

## 学位論文審査の結果及び最終試験の結果の要旨

学位申請者氏名	三村 泰亮	
学位論文名	マウス歯根膜における咬合過重負荷時の HSP47 の機能的役割 (Functional role of HSP47 in the periodontal ligament subjected to occlusal overload in mice)	
論文審査委員	主査：	松本歯科大学 教授 音 琴 淳 一 (印)
	副査：	松本歯科大学 教授 宇田川 信 之 (印)
	副査：	松本歯科大学 教授 中 村 浩 彰 (印)
	副査：	(印)
	副査：	(印)
	副査：	(印)
最終試験	実施年月日	2016 年 9 月 7 日
	試験方法	口答 ・ 筆答
学位論文の要旨		
<p><b>緒 言：</b> マイクロスクリューピン応用による実験的外傷性咬合の誘起により、マウス下顎第一臼歯に対して咬合性外傷を惹起する動物実験モデルを共同研究者らと確立し、過重負荷により根分岐部歯根膜に生じる咬合性外傷の病理組織学的検討を行ってきた。これまでの先行研究から、外傷性咬合負荷 4 日後の歯根膜咬合性外傷部位では、歯根膜線維芽細胞が著しく増加することを明らかにした。歯根膜線維芽細胞は、歯根膜組織の主要な構成細胞であり、咬合性外傷が生じた歯根膜組織の組織応答に重要な役割を有していると考えられる。そこで本論文は、歯根膜線維芽細胞の有する多彩な機能に着目し、線維芽細胞のコラーゲン合成と深く関わる分子シャペロン機能を有する HSP47 の発現推移をひとつの指標として、継続的過重負荷ならびに過重負荷解除における根分岐部歯根膜組織の咬合性外傷性変化を病理・免疫組織学的所見に基づき解析した。</p> <p><b>材料と方法</b></p> <p>1. 実験材料： ddY マウス (7 週齢) 30 匹を使用した。</p> <p>2. 実験方法： ソムノペンチル腹腔内投与による全身麻酔を行い、ストレートハンドピースを用い上顎第一臼歯咬合面にラウンドバーにて穿孔した。穿孔部にマイクロプラススクリューを植立し、対合歯となる下顎第一臼歯に咬合性外傷を惹起させた。</p> <p>実験 1) 継続的過重負荷による検討 マイクロプラススクリュー植立後、1 日、4 日、7 日、14 日における、継続する咬合負担過重による根分岐部歯根膜の組織学的変化について、病理・免疫組織学的検討を行った。なお、無処置部を対照群とした。</p> <p>実験 2) 過重負荷解除による検討 はじめにマイクロプラススクリューによる外傷性咬合負荷を 4 日間加え、次いでマイクロプラススクリューを除去して 3 日、6 日、10 日、30 日後の咬合性外傷歯根膜部の病理、免疫組織学的検討を行った。無処置のマウスを対照群とした。</p> <p><b>結果および考察</b></p> <p>1. 病理組織学的検討： <u>実験 1)</u> 対照群の歯根膜線維芽細胞は歯質から放射状に配列するかに思えたが乱雑に存在した。これは、生理的条件下での咬合力による影響と思われた。1 日例は、血管拡張しており、その中に赤血球が充満しており、咬合負担過重が加わった様子が分かった。4 日例の歯根膜は、ヘマトキシリンに濃染する円形の細胞核を有する細胞の密度が上昇し、歯根膜が</p>		

(様式第 13 号)

咬合負担過重に対し細胞数を増加させることで適応することが考えられた。7 日例 では、4 日例と比較し歯根膜線維芽細胞の密度が低下していた。さらに、歯根膜中央部における多核巨細胞の出現と、セメント質および歯槽骨表面には蚕食性吸収窩の形成を認めた。この時点で、歯周組織の硬組織改造現象が著しく行われ始めたことが推察された。14 日例の多核巨細胞を伴う硬組織吸収窩は 7 日例より拡大していた。

実験 2) 外傷性咬合除去 3 日例における歯根膜は、咬合負担過重を加えた実験群に比べて著しい血管拡張は認めなかった。これは、咬合負担過重が解除され充血が減退したためと考えられた。6 日例の歯根膜では、充血傾向を示す毛細血管は少なく、破骨細胞は歯槽骨付近に認められたが、3 日例に比べてその数は減少していた。10 日例は、歯槽骨には拡大が進んだハウシッポ窩を認め、破骨細胞数の増加所見を示した。これらの破骨細胞は、予め負荷した咬合負担過重により誘導されたものだと考えられた。30 日例の歯根膜組織は対照群と同様な所見を呈し、歯根膜は生理的恒常性が保たれる状態になったと思われた。

## 2. 免疫組織化学的検討 (HSP47) :

実験 1) 咬合負荷後 1 日例では、HSP47 陽性反応を示す線維芽細胞は上皮付着部の付近で増加した。4 日例における HSP47 陽性反応は、対照群と比較し増強傾向を示した。7 日例の HSP47 陽性反応は更に増強を認め、14 日例では、最も強い陽性反応が認められた。

実験 2) 外傷性咬合除去 3 日例の歯槽骨表面には HSP47 陽性を示す細胞が整然と配列しており、負荷 4 日例における組織学的所見と類似した。6 日例でも 3 日例と比較して陽性反応は増強傾向を示した。10 日例は 6 日例より著しく陽性反応を示す細胞が減少し、HSP47 の発現が緩和される状態が推察された。

## 結 論

咬合性外傷部におけるコラーゲン線維損傷へ対する応答と外傷性咬合に伴う過重負荷の解除後に生じる歯根膜組織修復過程における HSP47 の機能的役割の一端が示された。

## 学位論文審査結果の要旨

学位審査論文は実験的外傷性咬合が歯周囲組織への影響について、特に負荷除去後の変化も明らかにするために、HSP47 をターゲットとして組織学的ならびに免疫組織学的に検討したものである。

その結果、歯根膜組織における修復過程のある部分において HSP47 の役割が示唆される結果が得られた。

本論文の手法ならびに得られた結果分析と結論は適切であり、臨床への示唆も考察で示されていた。その結果、本論文を博士 (歯学) の学位論文に値すると評価できた。

## 最終試験結果の要旨

最終試験は、学位論文内容について、投稿原稿ならびにプレゼンテーションを行い、その後、論文ならびに英語能力についての口頭試問を各審査委員により行った。質問は以下の通りである。

### 音琴淳一 教授

- 1) タイトルに日本語では表記されていない「Occlusal overload」を用いた理由は何ですか
- 2) スクリューピンの材質は何ですか。また植立までに前処理をしましたか
- 3) 7 週令マウスを使用した理由は何ですか
- 4) 14 日まで負荷をかけ観察を継続した理由、4 日でスクリューをはずして治癒を 60 日観察した理由は何ですか
- 5) 今回のモデルはブラキシズムでいう何にあたりますか

### 宇田川信之 教授

- 1) 免疫染色における control 抗体を用いた染色方法と結果について教えてください
- 2) HSP47 欠損ノックアウトマウスの知見を述べてください

### 中村浩彰 教授

- 1) スクリューを用いたモデルの利点について
- 2) HSP47 のコラーゲン形成のマーカーとしての意義について
- 3) 歯根膜線維の吸収を判定するマーカーについて
- 4) 反対側の臼歯に生じる組織反応について

審査当日の回答ならびにその後の適切な回答が得られた。よって本申請者が博士 (歯学)

(様式第 13 号)

として十分な見識を有するものとして最終試験結果を合格と判定した。

判 定 結 果	合格                      ・                      不合格
---------	--

備考

- 1 学位論文名が外国語で表示されている場合には、日本語訳を( )を付して記入すること。
- 2 学位論文名が日本語で表示されている場合には、英語訳を( )を付して記入すること。
- 3 論文審査委員名の前に、所属機関・職名を記入すること。