







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	松村 奈穂美		
学位論文名	皮質骨由来細胞によるティッシュエンジニアリングは移植歯周囲への骨形成を促進する (Tissue engineering with compact bone-derived cell spheroids accelerates bone formation around transplanted tooth)		
論文審査委員	主査:	松本歯科大学 教授	平賀 徹 
	副査:	松本歯科大学 教授	小林 泰浩 
	副査:	松本歯科大学 教授	吉成 伸夫 
	副査:		
	副査:		
	副査:		
最終試験	実施年月日	2021 年 4 月 27 日	
	試験方法	□答 ・ 筆答	
学位論文の要旨			
<p>【目的】小児の永久歯の先天欠如に対する治療の選択肢として歯の移植が行われている。しかしながら、骨幅の狭い歯槽骨への歯の移植は困難であるため、適応となる症例に限られる点が問題であった。近年、培養細胞・担体・生理活性物質等を組み合わせることで組織を再生させるティッシュエンジニアリングの手法が注目されている。そこで本研究では、ティッシュエンジニアリングの手法を歯の移植に併用することで移植歯周囲に骨を形成させ、骨が狭小な歯槽部への歯の移植を可能にする方法について検討を行った。</p> <p>【材料と方法】3週齢雄性 C57BL/6J マウスを安楽死させた後、上顎第一・第二臼歯の抜去を行った。大腿骨と脛骨から骨髓細胞を採取した後、密度勾配遠心法にて単核球(MNC)を採取した。次に皮質骨を細切し、コラゲナーゼにて酵素処理を行い、皮質骨由来細胞(CBDC)を採取した。皮質骨由来細胞は、2継代後にスフェロイド形成用ディッシュへ播種し、24 時間後にスフェロイドを回収した。スフェロイドは使用時まで凍結保存した。細胞の担体として、アテロコラーゲンスポンジを用いた。CBDC 群(CBDC スフェロイド+アテロコラーゲンスポンジ+歯)、MNC 群(MNC+アテロコラーゲンスポンジ+歯)、Collagen 群(アテロコラーゲンスポンジ+歯)、および Tooth 群(歯のみ)の4群を設定し、それぞれを6~8週齢雄性 SCID マウス背部皮下へと移植した。4週後に移植組織を摘出し、中性ホルマリンにて固定後、μCT と分析用ソフトウェアを用いて新生骨の解析を行った。撮影後に組織を脱灰し、パラフィン包埋した。薄切標本は、H-E 染色、マッソントリクローム染色、TRAP 染色、および SP7 に対する免疫染色により評価した。</p> <p>【結果】4群とも骨形成が認められたが、新生骨量は CBDC 群が他の3群と比較して有意に多かった。4群すべてにおいて根管中隔に新生骨が認められた。他の群では歯根外側への骨形成は僅かであったのに対し、CBDC 群では歯根外側に多くの骨形成を認め、一部では新生骨は歯冠周囲に及んでいた。骨密度(BV/TV)は各群間で有意差が見られなかったが、CBDC 群では Tooth 群、Collagen 群と比較して骨梁数(Tb.N)が少なく、骨梁間隙(Tb.Sp)、骨梁中心距離(Tb.Spac)は低値であったことから、CBDC 群における新生骨の骨梁構造は疎疎であると考えられた。HE 染色では、4群とも幼弱な骨形成が見られ、新生骨と歯根の間には歯根膜様の線維性組織が介在していた。しかしながら、根尖部付近ではセメント質の肥大と置換性骨吸収がみられた。マッソントリクローム染色では、4群とも新生骨と歯根との間の線維は濃染する膠原線維であり、歯根膜様の構造が見られた。</p> <p>【考察】CBDC 群では、他の群と比較して新生骨量が有意に増加しており、新生骨は根幹中隔以外に歯根外側にも認められた。この結果から、CBDC スフェロイドによるティッシュエンジニアリングを併</p>			

(様式第 13 号)

用することで、歯の移植と同時に骨増生が得られる可能性が示された。一方、単離されたMNCでは明らかな骨形成は認められなかったことから、併用する細胞には高い骨形成能が必要と考えられた。新生骨と歯根との間には歯根膜様の膠原線維が存在し、ティッシュエンジニアリングによる骨形成においても歯根膜は維持されることが示された。しかしながら、歯根尖付近ではセメント質の過形成や置換性骨吸収も見られた事から、根尖部での骨性癒着や歯根吸収が起こる可能性には注意が必要と考えられた。本研究では異所性の移植モデルを用いているため、移植歯に対する機能負荷の影響について検討することはできなかった。今後は同所性の移植モデルを用いて、さらに機能負荷の影響や新生骨の長期予後についても検討を行う必要があると考えられた。

学位論文審査結果の要旨

本研究は、申請者らのグループが見出した優れた幹細胞性や高い骨分化能を有するマウス皮質骨由来細胞(CBDC)から形成されるスフェロイドを歯の移植に臨床応用するための基礎研究として、動物実験においてその有用性について検討した研究である。これまでの研究と同様にCBDCスフェロイドが高い骨誘導能を有することが示されたことに加えて、歯根膜再生の可能性を示唆する所見が得られた。また、従来のもものと比較して操作性の良い細胞担体としてアテロコラーゲンの有用性も示唆された。

本研究で得られた成果は、CBDCスフェロイドを歯の移植への臨床応用の可能性を高めるものであり、今後の我が国における歯科臨床および歯科医学の発展への寄与が期待されることから、博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。

最終試験結果の要旨

申請者の学位申請論文に関連して、以下のような項目を中心に口頭試験を行った。

1. SP7の機能、局在等について
2. 組織形態計測のパラメーターについて
3. CBDCが高い骨再生能を有する理由について
4. CBDCの比較対象について
5. CBDCとアテロコラーゲン併用の有用性について
6. 先天欠如の治療法としての歯の移植の利点について
7. 歯根膜の再生について

以上の質問に対して、文献的な考察を含めて概ね妥当な回答が得られたことから、学位申請者は本学大学院博士課程修了者と同等の知識と学力を有していると判断し、最終試験を合格と判定した。

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。