

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 波田野 典子

歯周組織とは、歯肉、歯周靭帯（歯根膜）、セメント質、歯槽骨（固有歯槽骨）の4つから構成されており、それらは外胚葉性間葉細胞由来の組織である。その周囲は中胚葉性間葉細胞由来の歯槽骨（支持歯槽骨）でかこまれており、歯周組織は炎症により組織が破壊されると、その組織の発生および組成の特徴から、再生はほぼ不可能であることが知られている。また、歯周炎は、様々な因子が複合して進行するため、原因の除去は困難であり、多くの場合、組織破壊と組織回復のサイクルを長期間繰り返す傾向がある。本研究は、歯周組織のうち、歯の喪失に大きく影響を及ぼす歯槽骨の再生に着目し、骨芽細胞分化誘導能を持つ骨形成性低分子化合物（ヘリオキサンチン誘導体：TH）の検討を行い、ヒトの歯周炎の発症過程を模倣したラット歯周炎モデルの確立、および、そのモデルを使用して骨形成性低分子化合物含有ゲルの歯槽骨再生効果を検討し、下記の結果を得ている。

1. 骨形成性低分子化合物（TH）の骨芽細胞分化誘導能を確認するため、マウス頭頂骨由来前骨芽細胞株である MC3T3-E1 細胞において、骨芽細胞分化マーカーを検討した。TH は曝露初期において、初期分化のみならず後期分化も促進させており、その作用は曝露 7 日目においても継続していることが示唆された。
2. TH は水に不溶なため、有機溶媒（ジメチルスルホキシド：DMSO）に溶解する必要がある。そこで、DMSO に代わって、生体親和性が高く、包接作用を持ち、親水性の高い (2-Hydroxypropyl)- β -cyclodextrin (CD) を用いた。CD に包接させたことによる TH の骨芽細胞分化誘導能を、MC3T3-E1 細胞における骨芽細胞分化マーカーの発現変化を指標に検討したところ、DMSO を溶媒としている時と同様の結果を得られ、細胞毒性も認めないことを確認した。
3. CD と TH を留められる担体として、生分解性を持ち、生体親和性の高い材料であるヒドロキシプロピルセルロース(HPC) を用いることを検討した。CD+HPC+TH はゲル状となり、DMSO に溶解させた時と同様に骨芽細胞分化誘導能をもち、細胞毒性を認めず、徐放性を持つことを確認した。
4. 簡便かつ再現性があり、ヒトにおける発症過程を模倣して炎症性骨欠損が誘導されるラット歯周炎モデルの確立を行った。Rovin らの方法を改変し、本研究では、絹糸のみを第 2 臼歯の歯冠隣接部から周囲組織を破壊、損傷させないように挿入し、歯頸部に巻き付ける方法を採用した。Rovin らは、病態の進行を観察しているのみで、歯周組織の自然治癒経過までは観察していなかったため、絹糸除去後の経過を 4 週間にわたり、病態の進行から治癒過程まで含めて観察した。口腔内所見では、歯肉に炎症症状を認めた。マイ

クロ CT による解析から、絹糸結紮 4 週間目において、全ての試験群において歯槽骨欠損像を認め、さらに絹糸除去 4 週間目においても歯槽骨は破壊されたままであることが確認できた。この所見は、絹糸結紮 4 週間目では骨の吸収を認めないという Rovin らの所見と異なっていた。組織学的解析により、炎症性骨吸収が生じており、絹糸除去 1 週間目以降は、炎症は慢性期に移行していることが示唆された。以上から、歯周炎の発症と進行を模倣するラット歯周炎モデルが確立されたと考えられた。

5. 確立したラット歯周炎モデルを用いて、薬剤送達用担体と組み合わせた骨形成性低分子化合物 TH を投与し、歯周組織の再生効果を検討した。急性炎症の消退した、絹糸除去 1 週間目に薬剤投与を行った。CD+HPC (対照側)、CD+HPC+TH (試験側) のいずれを投与しても口腔内所見において炎症症状は認めなかった。絹糸除去後 4 週間目 (薬剤投与後 3 週間目) に歯周組織への効果を評価したところ、マイクロ CT 画像においては対照側、試験側共に歯槽骨欠損が認められたが、TH 投与群の方が、骨破壊が減少していた。歯槽骨量の定量を行ったところ、根分岐部から歯槽骨までの距離において、対照群と比べて TH 投与群は有意に差を認めた。
6. マイクロ CT 画像を用い、3 次元画像を 2 次元画像に投射して距離を計測する場合は、投射方向のずれが生じている可能性が考えられることから、投射方向にかかわらず、線分の比は一定であることを利用して、根分岐部から歯槽骨までの距離とセメントーエナメル境から根分岐部までの距離の比を 1 試料ごとに算出し、対照群、TH 投与群に分けて検定を行った。その結果、対照群と比べて TH 投与群は有意に差を認めた。よって、比を用いることで、さらに定量の精度を上げることができた。
7. 上記実験においては、対照群、TH 投与群とも歯周組織の炎症性反応を認めないことが確認できた。

以上より、実験的に歯周組織における炎症と歯槽骨破壊を誘導するモデルを作製し、治療効果の評価をより正確に行うことが可能になり、ヒトにおける臨床治療に際する問題点も再現された。本研究で用いた、マイクロ CT 画像上の投射面における線分の比に着目した歯槽骨計測法の報告はこれまでにない。さらに、十分に歯槽骨欠損が生じたモデルが、現在まで存在しなかった。したがって、本研究で確立したモデルは、今後の歯周炎の病態生理の解明と治療学の発展に貢献すると考えられる。また、本研究で用いた骨形成性低分子化合物 (TH) は安全性が高く、生体親和性を持つ薬剤として使用可能であることが示唆されたことも、今後の歯周組織再生療法の発展に貢献をなすと考えられる。以上より、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。