

博士（歯学）二宮 昭

学位論文題名

再植歯に Platelet-Derived Growth Factor(PDGF)
を応用した場合の組織反応

学位論文内容の要旨

緒言

歯の再植は、患歯の保存を目的として、脱落した歯や一度抜歯して処置を加えた歯を歯槽窩に再植立するものであり、その成否は歯根膜組織の状態に深く関連していることが明らかになってきたが、抜歯操作や乾燥等により歯根膜組織が損傷を受けることも多く、その場合に有効な回復手段がないのが現状である。近年、創傷治癒過程の分子生物学的検索が進んでおり、各種サイトカインがその過程で重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。その中で、血小板由来増殖因子（PDGF）は、主に血小板から放出され、創傷部位に到達する最初の増殖因子の一つで、強力な治癒促進効果をもっており、また線維芽細胞の増殖、遊走に対する効果が高いことから、歯根膜組織の損傷回復に有効ではないかと考えられる。しかし、PDGFが歯の再植時にどのような影響を与えるかを研究した報告は、ほとんどないのが現状である。そこで本研究は、歯根膜損傷部の骨性癒着を減少させ、再植の成功率を高める治療法として、PDGFを用いた場合の効果を検討する目的で、ビーグル犬の前歯を抜去し、歯根膜損傷部を人工的に作製した後、PDGFを塗布して再植し、病理組織学的に比較検討した。

材料および方法

実験動物には、雄ビーグル犬6頭を用い、被験歯には上下顎切歯、第一前臼歯の合計48本を用いた。再植術は、メスで歯肉線維を切断し、ダイヤモンド

コーティング抜歯鉗子を用いて抜歯し、ただちに生理食塩水に浸し、歯根中央部の全周にわたり幅3mmの歯根膜組織をセメント質を損傷しないようにメスで除去し、作成した歯根膜損傷部の両端にラウンドバーでノッチをつけた。被験歯は、PDGF群（18歯）、AC群（18歯）、および対照群（12歯）の3群に分類し、PDGF群はrecombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) 5 μ gをアテロコラーゲンインプラント50 μ lに混和して根面に塗布し、AC群はアテロコラーゲンインプラントを50 μ l根面に塗布し、対照群は歯根膜損傷部作製のみで何も塗布しなかった。各々の処置を行った後、10分以内に被験歯を歯槽窩に再植し、固定は行わなかった。各被験歯は再植2週後に抜髓し、根管充填を行った。実験期間は、術後2週、4週、8週とし、各実験期間終了後屠殺し、通法に従い脱灰、パラフィン包埋した。各ブロックは近遠心方向に厚さ7 μ mに薄切し、ヘマトキシリン・エオジン重染色（HE染色）を行い、病理組織学的観察を行うとともに、組織計測を行った。組織学的計測は、各被験歯ごとに歯根の頬舌側中央に最も近い切片と、その切片から頬側と舌側に250 μ m離れた部位の切片の計3枚を選び、近心と遠心の根面について次の項目を測定し、それらの合計6カ所の平均値を各被験歯の値とした。計測項目は、①ノッチ間距離、②骨性癒着量、③新生セメント質量、④残存セメント質量とし、統計学的分析は、Mann-Whitney U 検定によって行った。

結果

1. 臨床所見

被験歯は臨床的に異常なく経過し、歯肉の腫脹、動搖度の増加、脱落は無かった。

2. 病理組織学的観察

再植2週後の歯根膜損傷部では、対照群、AC群、PDGF群ともセメント質上に骨様組織の形成が観察され、歯槽骨側より形成された新生骨と一部で連続していた。

再植4週後の歯根膜損傷部では、対照群は骨性癒着がすべての例で広い範囲に観察された。AC群は骨性癒着がほとんどの例で観察された。PDGF群は、骨性癒着は他の群と異なり中央部でもほとんど観察されず、根面と歯槽骨との間

に多数の線維芽細胞様細胞が観察された。

再植8週後の歯根膜損傷部では、対照群は骨性癒着がかなりの範囲で観察され、根面と接近したところに層板骨の形成が認められ、ノッチ内部には新生セメント質の形成が認められたが、中央部では認められなかった。AC群は所々に骨性癒着が見られ、ノッチ内部にはセメント質が形成され、損傷部中央に向かって伸びていた。PDGF群は骨性癒着はほとんど観察さず、ノッチ内部には新生セメント質の形成が著明で、ノッチからノッチまで歯根膜損傷部全体にわたって新生セメント質が形成されているものも見られた。この新生セメント質と歯槽骨との間には、歯根膜と同様な機能的配列を示す線維が多数認められ、並行して紡錘形の細胞が多数存在していた。

3. 病理組織学的計測

1) ノッチ間距離

ノッチ間距離は、各観察期間、および各群間に有意差はなかった。

2) 骨性癒着量

骨性癒着量は、2週後では対照群がAC群、PDGF群に比べ多い傾向が見られたが各群間で有意差はなかった。4週後では対照群とAC群はPDGF群に比べて明らかに多く、危険率5%で有意差が認められた。8週後ではAC群とPDGF群の間に有意差はなくなっていたが、PDGF群と対照群との間には危険率5%で有意差が認められた。

3) 新生セメント質量

新生セメント質量は、2週後では各群間に差はなかったが、4週後ではPDGF群と対照群との間に危険率5%で有意差が認められた。8週後では、PDGF群と対照群、およびAC群と対照群の間に危険率5%で有意差が認められた。

4) 残存セメント質量

残存セメント質量は、各観察期間の各群間に有意差はなかった。

考察

本研究の対照群は、骨性癒着が全期間で3群中最も多く観察され、8週後でも新生セメント質の形成は少なかった。骨性癒着量は再植2週後が最大で、経時に減少する傾向が見られた。

AC群は、再植2週後に対照群と比べ骨性癒着が少ない傾向が見られたが、これは、アテロコラーゲンゲルが歯槽骨と根面の間に介在することによって骨の増殖が抑制されたためではないかと考えられる。しかし、再植2週から4週後にかけて骨性癒着が増加しており、アテロコラーゲンゲルは2~3週で吸収されて骨の増生が生じたのではないかと思われる。PDGF群では、骨性癒着は再植2週後に観察されたが、4週、8週になるとほとんど観察されず、新生セメント質の大幅な再生が観察された。また、PDGF群で新生セメント質の形成が全期間にわたり最も多く観察されていることから、歯根膜組織による治癒が他の群よりも早く進行していたのではないかと考えられる。またPDGFはマクロファージの遊走、細胞外基質の産生、血管新生を促進し、刺激されたマクロファージが局所に集まり二次的に他の増殖因子（PDGF、TGF- β 、bFGFなど）が産生され、さらに創傷治癒が進行することから、長期にわたり効果が持続したものと思われる。一方、PDGFは破骨細胞の増殖や、骨芽細胞の分化、成熟の抑制、および歯根膜線維芽細胞のアルカリリフォスファターゼ活性の低下などの作用もあり、骨性癒着の抑制に大きく影響したのではないかと思われる。

まとめ

今回、再植歯の歯根膜損傷部にrhPDGF-BB配合アテロコラーゲンゲルを塗布して再植することにより、骨性癒着の減少と新生セメント質を含む歯根膜組織の再生を観察することができた。このことは、現在行われている再植の成功率の向上、さらには今まで再植の非適応症とされていた彎曲根を有する歯、根分割歯、歯周病罹患歯などへ適応を拡大できる可能性を示唆するものである。

学位論文審査の要旨

主査 教授 加藤 熙
副査 教授 久保木 芳徳
副査 教授 大畠 昇

学位論文題名

再植歯に Platelet-Derived Growth Factor(PDGF) を応用した場合の組織反応

審査は主査、副査が一同に会して論文提出者に対し口頭で行った。はじめに申請者に對し本論文の要旨の説明を求めたところ、以下の内容について論述した。

歯の再植は、外傷などで脱落した歯や通常の治療では保存が困難な歯を一度抜歯して処置を加えて歯槽窩に再植立するものであり、その成否は歯根膜組織の状態に深く関連していることが明らかになってきた。しかし、日常の臨床では抜歯操作や抜歯後の乾燥等により歯根膜組織が損傷を受けることも多く、その場合、有効な回復方法がないのが現状である。近年、創傷治癒過程の分子生物学的検索が進み、各種サイトカインがその過程で重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。その中で、血小板由来増殖因子（PDGF）は、主に血小板から放出され、創傷部位に到達する最初の増殖因子の一つで、強力な治癒促進効果をもっており、また線維芽細胞の増殖、遊走に対する効果が高いことから、歯根膜組織の損傷回復に有効ではないかと考えられる。しかし、PDGFが歯の再植時にどのような影響を与えるかを研究した報告は、ほとんどないのが現状である。そこで本研究は、歯根膜損傷部の骨性癒着を減少させ、再植の成功率を高める治療法として、PDGFを用いた場合の効果を検討する目的で、ビーグル犬の歯を抜去し、歯根膜に損傷部を人工的に作製した後、PDGFを塗布して再植し、病理組織学的ならびに組織計測学的に検討した。

材料および方法

実験動物には、雄ビーグル犬6頭を用い、被験歯には上下顎切歯、第一前臼歯の合計

48本を用いた。再植術は、抜歯鉗子を用いて抜歯し、歯根中央部の全周にわたり幅3mmの歯根膜組織をセメント質を損傷しないようにメスで除去し、作成した歯根膜損傷部の両端にラウンドバーでノッチをつけた。被験歯は、PDGF群、AC群、および対照群の3群に分類し、PDGF群はrecombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) 5 μ gをアテロコラーゲンインプラント50 μ lに混和して根面に塗布し、AC群はアテロコラーゲンインプラントを50 μ l根面に塗布し、対照群は歯根膜損傷部作製のみで何も塗布しなかった。各々の処置を行った後、10分以内に被験歯を歯槽窩に再植し、固定は行わなかった。各被験歯は再植2週後に抜髓し、根管充填を行った。実験期間は、術後2週、4週、8週とし、各実験期間終了後屠殺し、通法に従い脱灰、パラフィン包埋した。各ブロックは近遠心方向に厚さ7 μ mに薄切り、ヘマトキシリン・エオジン重染色(HE染色)を行い、病理組織学的観察を行うとともに、組織計測を行った。

結果

再植2週後、歯根膜損傷部は対照群、AC群、PDGF群ともセメント質上に骨様組織が形成がされ、歯槽骨側より形成された新生骨と一部で連続しており、各群間に明確な差は見られなかった。

再植4週後、対照群は骨性癒着がすべての例で、AC群はほとんどの例で広い範囲に観察された。PDGF群は、骨性癒着が中央部でもほとんど観察されず、根面と歯槽骨との間に多数の線維芽細胞様細胞が観察され、組織計測では他の2群との間に有意差が見られた。

再植8週後、対照群は骨性癒着がかなりの範囲で観察され、根面と接近したところに層板骨の形成が認められ、ノッチ内部に新生セメント質の形成が認められた。AC群は所々に骨性癒着が見られ、ノッチ内部にはセメント質が形成されていた。一方、PDGF群は骨性癒着がほとんど観察されず、対照群との間に有意差が見られ($P<0.05$)、ノッチからノッチまで歯根膜損傷部全体にわたって新生セメント質が形成されている標本も認められた。この新生セメント質と歯槽骨との間には、歯根膜と同様な機能的配列を示す線維が多数認められ、並行して紡錘形の細胞が多数存在していた。

考察

本研究のPDGF群では、骨性癒着は再植2週後に観察されたが、4週、8週になるとほとんど観察されず、新生セメント質の大幅な再生が観察された。PDGF群は新生セメント質の形成が全期間にわたり最も多く観察されていることから、歯根膜組織による治癒が他の群よりも早く進行し、骨性癒着を防ぎセメント質形成を促したのではないかと考えら

れる。また、PDGFはマクロファージの遊走、細胞外基質の産生、血管新生を促進し、刺激されたマクロファージが局所に集まり二次的に他の増殖因子（PDGF、TGF- β 、bFGFなど）が産生されることが明らかにされており、さらに創傷治癒を進行させ、長期にわたり効果を持続させたものと思われる。一方、PDGFは破骨細胞の増殖や、骨芽細胞の分化、成熟の抑制、および歯根膜線維芽細胞のアルカリフォスファターゼ活性の低下などの作用があることが報告されており、局所の骨性癒着抑制に大きく影響したものと思われる。

引き続き審査担当者と申請者との間で、論文内容及び関連事項について質疑応答がなされたが、これらの質問に関して申請者は本研究から得た知見と文献を引用して明解かつ適切な回答を行った。本研究は、再植歯の歯根膜損傷部にrhPDGF-BB配合アテロコラーゲンゲルを塗布して再植することにより、骨性癒着を抑制し新生セメント質を含む歯根膜組織を再生できる可能性を示唆した点が高く評価された。これらのこととは、歯科医学の発展に十分貢献するものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと判断した。