

Title	Proliferation , migration and apoptosis of periodontal ligament cells after tooth replantation
Author(s)	佐藤, 弘一
Journal	歯科学報, 110(4): 522-523
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/1999">http://hdl.handle.net/10130/1999</a>
Right	

氏名(本籍)	佐藤弘一 (神奈川県)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	第1768号(甲第1043号)
学位授与の日付	平成20年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Proliferation, migration and apoptosis of periodontal ligament cells after tooth replantation
掲載雑誌名	Oral Diseases 第16巻3号 263~268頁 2010年
論文審査委員	(主査) 下野 正基教授 (副査) 井出 吉信教授 山田 了教授 井上 孝教授

### 論文内容の要旨

#### 1. 研究目的

歯牙の再植は外傷による歯牙脱臼の処置、難治性根尖性歯周組織炎や歯根破折の口腔外での処置の際に行われる。再植時には歯根に付着している歯根膜細胞の量や活性が成功の可否を左右することが知られている。Andreasenら(1994)は再植後の細胞増殖速度や歯根膜の幅により、成否が異なることを報告しており、またMineら(2005)は病理組織学的に検討し、再植後、数日で歯根に付着していた歯根膜が増殖し、時間の経過に伴い歯槽骨側の歯根膜との境界が不明瞭なってくると報告している。しかしながら実際に歯根に付着していた歯根膜細胞と歯槽骨側の歯根膜細胞がどのように結びついていくのかは不明な点が多い。そこで本研究では、再植後の歯根膜細胞の細胞増殖ならびに動態、細胞死(アポトーシス)を経日的に検索した。

#### 2. 研究方法

実験にはSprague-Dawley系雄ラット(4週例)28匹を用いた。チオペンタール腹腔内投与による全身麻酔下に実験を行った。

細胞増殖の検索のためには、上顎第一臼歯を完全脱臼させた後、同歯牙を直ちに再植し、隣在歯と固定した。その後、3、5、7日後に10%中性緩衝ホルマリン溶液により灌流固定、10%EDTA溶液にて脱灰し、通法にしたがいパラフィン切片を作製した。切片は細胞増殖核抗原(PCNA)に対する抗体により、免疫組織化学的染色を行った。

再植後の歯根膜の動態を検索するためには、上顎第一臼歯を抜去後、PKH26red fluorescent cell linker kit(シグマ社)にて染色させることにより、歯根表面に付着している歯根膜細胞をラベリングしてから再植し、隣在歯と固定した。その後、移植直後、2、3週後に10%中性緩衝ホルマリン溶液により灌流固定、10%EDTA溶液にて脱灰し、通法にしたがい凍結切片を作製した。切片はAlexa fluor488phalloidinとDAPIにより対比染色を行った後、蛍光顕微鏡にて観察した。

細胞死の観察のためには、上記同様に3、5日、2、3週後にパラフィン包埋切片を作成し、ApopTag Plus peroxidase in situ apoptosis detection Kit(Chemicon International社)を用いて、染色を行った。

#### 3. 研究成績および考察

細胞増殖に関しては、PCNA陽性を示した細胞は歯槽骨寄り、中央部、セメント質寄りのいずれの部分に

においても観察されたが、再植後、3、5日では歯根側の部分では陽性細胞が少なかったが、歯槽骨側の部分では陽性細胞が多く認められた。その一方で7日目になると、歯槽骨側の増殖能は下がり、歯根側の細胞の増殖能が上昇することが明らかとなり、いずれにおいても統計学的に有意差を認めた( $P < 0.01$ )。

PKH26によりラベルされた歯根膜細胞は再植直後では断裂部に認められるのみであったが、経日的に歯根膜中央部から歯槽骨寄りの部分にラベルされた細胞が認められ、毛細血管にもラベル細胞が観察された。しかしながら歯根表面や歯根寄りに存在する歯根膜細胞にはラベルされた細胞は認められなかった。

アポトーシスを生じた細胞は、歯根側、中央部、歯槽骨側のいずれにおいても観察されたが、初期には歯根側で多数(20-30%)られたが、時間の経過とともに、減少(5-10%)する像が認められた。

これらの結果より、再植後の歯根膜では歯根膜内の部位、時期によって異なる増殖パターンを示し、細胞増殖後の細胞は恒常性の維持を保つために細胞死を生じると考えられた。また、歯根に付着した歯根膜の最表層に存在した細胞は中央部1/3の部位で増殖するものと考えられた。

### 論文審査の要旨

歯牙再植は、外傷による歯牙脱臼の処置、難治性根尖性歯周組織炎、歯根破折の口腔外での処置、補綴的な意図的歯牙再植の際に行われるが、再植後の治癒過程において、歯根に付着していた歯根膜細胞と歯槽骨側の歯根膜細胞がどのように結びついていくのかは不明な点が多い。そこで本研究では、ラットを用い、再植後の歯根膜細胞の細胞増殖ならびに動態、細胞死(アポトーシス)を部位を分けて経日的に検索した。

その結果、細胞増殖に関しては、増殖細胞核抗原(PCNA)をマーカーとして免疫組織化学的に検索したが、再植後、3、5日では歯根側の部分では陽性細胞が少なかったが、歯槽骨側の部分では陽性細胞が多く認められた。一方、7日目になると、歯槽骨側の増殖能は下がり、歯根側の細胞の増殖能が上昇することが明らかとなり、いずれにおいても統計学的に有意差を認めた。PKH26によりラベルされた歯根膜細胞は再植直後では断裂部に認められるのみであったが、経日的に歯根膜中央部から歯槽骨寄りの部分にラベルされた細胞が認められ、毛細血管にもラベル細胞が観察された。しかしながら歯根表面や歯根寄りに存在する歯根膜細胞にはラベルされた細胞は認められなかった。

細胞死(アポトーシス)を生じた細胞は、歯根側、中央部、歯槽骨側のいずれにおいても観察されたが、初期には歯根側で多数(20~30%)られたが、時間の経過とともに、減少(5~10%)する像が認められた。これらの結果より、再植後の歯根膜では歯根膜内の部位、時期によって異なる増殖パターン、細胞死のパターンを生じることが明らかとなった。また、歯根に付着していた歯根膜の最表層に存在した細胞は中央部1/3の部位で増殖することが明らかとなり、これらの現象を通して再植後の歯根膜細胞は治癒に向かうと考えられた。

本審査会では1)論文の構成、2)観察部位を分けた理由、3)観察期間の妥当性、4)PKH26の染色性、について質問が出されたが、概ね適切な回答が得られた。さらに今後の研究の展望や附図について要望がなされたが、本審査委員会は提出された論文の成果が歯科医学の発展に寄与するところ大であり、学位授与に値すると判定した。