

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：32650

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20629

研究課題名(和文) 培養歯根膜細胞とGBR法を併用した新規歯牙移植法の確立

研究課題名(英文) Establishment of new tooth transplantation method using cultured periodontal ligament cells and GBR method

研究代表者

勢島 典 (SESHIMA, FUMI)

東京歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：40550017

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：抜去歯根から採取した歯根膜組織は、象牙板上で歯根膜細胞の付着が認められた。移植歯にあたっては、アンキローシスを認められた。アンキローシスの発生には、移植歯の歯根に十分な量の歯根膜細胞が得られなかったことが考えられる。以前の報告で、9平方ミリメートル以上の歯根膜欠損があるとアンキローシスが生じると報告されており、今回の状況は、歯根膜組織の存在が十分に得られおらず、また、増殖が十分得られていなかったことが考えられる。今後、移植歯に対して、十分な量の歯根膜細胞の増殖播種と定着を促す有効な増殖因子の検索と使用を検討する。また、凍結保存後の移植歯の機能的な使用に関しても今後検討を行っていく。

研究成果の概要(英文)：Periodontal tissue collected from the extracted dental root showed attachment of periodontal ligament cells on the ivory plate. In transplanted teeth, ankyloosis was recognized. It is conceivable that a sufficient amount of periodontal ligament cells could not be obtained in the root of the transplanted tooth for the occurrence of ankyloosis. In the previous report, it is reported that ankyloosis occurs when there is a periodontal defect of 9 square millimeters or more, and the current situation is that sufficient existence of periodontal ligament tissue is not obtained and sufficient proliferation is obtained. It is thought that it was not. From now on, we will investigate the effective use of growth factors to promote proliferation seeding and establishment of a sufficient amount of periodontal ligament cells for transplanted teeth. We will also study the functional use of transplanted teeth after cryopreservation.

研究分野：歯周病

キーワード：歯牙移植 歯根膜

1. 研究開始当初の背景

移植歯の治療成績には、移植に要する時間、歯根膜に対する機械的外傷、脱水などの要因が大きく関与する。再植歯に関する臨床的ならびに実験的研究では、歯根膜の生存がアンキローシスを防ぐ上で重要な要素であることを示されている。(Andreasen JO, Int J Oral Surg 1981)

歯周組織再生における塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2)は血管形成の誘導、化学走化性、細胞の増殖能を有することが示され、歯周組織再生に適した増殖因子であることが明らかにされている (Takayama S et al., J Dent Res 2001)。申請者らは、イヌを用いた実験モデルによる再植歯において、FGF-2は再植歯根の歯根膜組織の再生を促進することをすでに示している。(Seshima F et al., Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2010)

抜去歯の保存に関しては、様々な保存液が開発され、凍結保存した歯の移植再植においても良好な結果を示している (Schwartz O, Int J Oral Maxillofac Surg, 1986)。しかしながら、歯表面の歯根膜が多く失われている際にはこれら保存液を用いてもアンキローシスを起こすことも知られている。このため、歯根膜を取り除いた歯根表面に歯根膜組織を再生させ、移植を行うことは有用であると考えられる。

この際、重度歯周炎に罹患している部位は移植床として不適切であり得る。そのため、GBR を行い十分な歯槽骨量を得て移植を行うことで、十分な歯周組織再生を得られ機能的にも歯周炎罹患前の状態に近づけられることが考えられる。

2. 研究の目的

予後不良と判定された歯を抜歯後、処理した歯根表面に自己由来の歯根膜組織を再構築し、骨造成を行った後に移植することにより、インプラントなどの人工物ではない患者生来の歯による口腔機能再構築を目指す。患者に受け入れやすい安全な治療の開発を目指す。再植、移植に関する研究は多々みられるが、失った歯槽堤の改善と、歯根膜組織を再構築させた歯の移植を組み合わせた研究は見られず、移植難症例となる顎堤のない患者への治療確立を目指す。

歯周病で保存が困難な歯を抜歯し、自己由来歯根膜細胞を歯根表面に播種増殖させ、抜歯窩に Guided Bone Regeneration (GBR) で骨増生を行った後に、移植するという新規治療法の確立を目指す。具体的には、in vitro において、抜去ルートプレーニング後の歯根表面に歯根膜細胞を播種し定着させる技術を検討し、in vivo においての結果に基づき臨床応用を踏まえ、実験的に作成した骨窩洞で歯周組織の再生状態の解析を行う。

3. 研究の方法

本研究には、Sprague-Dawley ラット (SD ラット) を使用。本研究では、イソフルラン (5 vol%) による麻酔導入後、ペントバルビタールを (40 mg/kg) を用いて全身麻酔を行い、十分に除痛が得られた状態で行い、手術後もエサなどに十分配慮を行った。また、実験部位には、2%キシレスチンで局所麻酔を施し施術を行った。

SD ラットの切歯・臼歯を抜歯し、同歯の歯根膜細胞を直径 6mm にウシ歯根をスライスカットした象牙板上に播種培養し効果を検索する。細胞増殖および細胞の遊走能を確認する。また、象牙板上での接着能を観察す

る。

まずは、両側の歯の抜歯即時移植を行う。歯の移植にあたって、上下顎 M1 を抜去。歯根表面をルートプレーニング後反対側に移植。対照群は、抜歯後直ちに反対側に移植を行う。

次に、凍結保存を行った後、上下顎 M1 切歯を抜去。上下顎 M1 歯根表面にルートプレーニングを行う。歯根表面に切歯から採取した歯根膜細胞を播種培養する。培養終了後、抜歯部に直径 2mm の骨窩洞を作成し移植。対照群は、抜歯後 1 ヶ月凍結保存後に移植を行う。なお、全ての実験は全身麻酔下で行う。

標本の作製にあたっては、ペントバルビタール系全身麻酔薬の overdose による屠殺と上下顎 M1 部の採取を行なう。

通法に従い、パラフィン包埋切片を作成し、組織形態学的観察として、H-E 染色をおこなう。移植歯の周囲組織の観察を行う。

4 . 研究成果

抜去歯根から採取した歯根膜組織は、象牙板上で歯根膜細胞の付着が認められた。移植歯にあたっては、アンキローシスを認められた。

アンキローシスの発生には、移植歯の歯根に十分な量の歯根膜細胞が得られなかったことが考えられる。アンキローシスに関しては、Andreasen and Kristerson は 9 mm^2 以上の歯根膜欠損があるとアンキローシスが生じると報告されており、今回の状況は、歯根膜組織の存在が十分に得られおらず、また、増殖が十分得られていなかったことが考えられる。

しかしながら、下野と井上らは残存する歯根膜腔の幅とアンキローシスとの関連について、広範囲の歯根膜欠損があっても骨と離れていればアンキローシスは起こらないと報告

されており、今回の骨窩洞の大きさが歯根のサイズと十分に距離があったのかなど今後検討が必要である。

今後、移植歯に対して、十分な量の歯根膜細胞の増殖播種と定着を促す有効な増殖因子の検索と使用を検討する。

また、凍結保存後の移植歯の機能的な使用に関しても今後検討を行っていく。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0 件)

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

勢島 典 (SESHIMA FUMI)

(東京歯科大学・歯学部・講師)

研究者番号：40550017

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()