

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	畑 山 敬 秀
論文題目	Regeneration of gingival tissue using in situ tissue engineering with collagen scaffold (生体内再生の手法によるコラーゲン足場を用いた歯肉組織の再生)		
(論文内容の要旨)			
<p>重度の歯周病や齲蝕により抜歯した後は、骨欠損とともに粘膜部の欠損が認められる。歯科領域における骨欠損部に対しては、様々な骨補填材が開発され臨床応用されているが、粘膜の再生材料が少ないのが現状である。骨の再生を促すためには、粘膜の再生を早期に治癒させることが重要となる。そこで、臨床応用に即した in situ Tissue Engineering の考え方に基づく足場材料の開発を検討した。実験では、架橋材を用いずより良い架橋条件と為害性のないアテロコラーゲンのみでコラーゲンを作製し、短期間で歯肉を治すことを目的に、ビーグル犬で検討することにした。既存の作製方法である pH3.0 の水溶液から作製したコラーゲン (CS-pH3.0) と、新たな方法として pH7.4 の懸濁液から作製したコラーゲン (CS-pH7.4) を用い、両者を、臨床応用を念頭にシート状に加工する工夫を施し、その後架橋剤を加えず熱脱水架橋を行った。成人ビーグル犬 (n = 9; 雄、雌; 体重 : 8-14 kg) を対象とした。犬の前歯または臼歯付近の頬側歯肉に、直径 6mm の歯肉パンチを利用し欠損を作製した。欠損部に CS-pH7.4 または CS-pH3.0 の足場材料を埋入し、対照として欠損作製のみのコラーゲン足場のない群を Blank とした。欠損領域 (コラーゲン足場の有無にかかわらず) およびその周囲領域は、歯周包帯で完全に覆い、歯科用接着樹脂を用いて隣接する歯に固定した。処置後 2 週間で屠殺し、HE (Hematoxylin-Eosin) 染色で標本作製した。光学顕微鏡によって選択された画像の切片を取り込んでマイクロコンピュータでデジタル化した。標本上で欠損させた隣接部の正常部分の歯肉を以下では正常歯肉と記し、欠損部にコラーゲンを埋入した部分または欠損作製のみの部分 (Blank) を以下では治癒側の歯肉と記した。観測者 4 人が盲目的に上皮部分と粘膜下組織に分けそれぞれの厚みを測定した。正常歯肉の上皮部分の厚みの平均値と粘膜下組織の厚みの平均値の和を正常歯肉の厚み a とした。同様に治癒側の上皮部分の厚みの平均値と粘膜下組織の厚みの平均値の和を治癒側の歯肉の厚み b とした。正常歯肉の厚みから治癒側の歯肉の厚みを引いたもの (a - b) を目的変量とし、各処置における正常歯肉の厚みから治癒側歯肉の厚みを引いた値を求めた。(a - b) が 0 に近い場合、再生していると解釈した。観測者によるばらつきを考慮するため線形混合モデルを用いた解析を行い、評価を行った。本解析では、処置にのみ依存する部分 (固定効果) と計測者によって依存する部分 (ランダム効果) に分けてモデル化を行った。線形混合モデルを用いた解析によって Blank と CS-pH3.0 の比較、Blank と CS-pH7.4 の比較を行い評価した。CS-pH3.0、CS-pH7.4 はそれぞれ Blank に比べて有意に高値を示し、上皮組織と粘膜下組織の再生に有効であった (回帰係数=-931.6、p 値=0.01) (回帰係数=-1146.5、p 値=0.001)。CS-pH3.0 と CS-pH7.4 を比較すると有意差は認められなかったが、線形混合モデルを用いた解析から導かれた回帰係数より、CS-pH3.0 と CS-pH7.4 の比較では、CS-pH7.4 の方が再生に対して有効であることが示唆された。今回作製したコラーゲン CS-pH7.4 は 2 週間という短期間で歯肉上皮や粘膜下組織の再生が認められた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

歯科領域における骨欠損部に対しては様々な骨補填材が臨床応用されているが、粘膜の再生材料は少ない。そこで臨床応用に即した足場材料の開発を検討した。既存の作製方法である pH3.0 の水溶液から作製したコラーゲン (CS-pH3.0) と、新たな方法として pH7.4 の懸濁液から作製したコラーゲン (CS-pH7.4) を用い、両者を臨床応用を念頭に、シート状に加工する工夫を施し、その後架橋剤を加えず熱脱水架橋を行った。ビーグル犬 (n=9) を対象に歯肉を欠損させ、CS-pH3.0 または CS-pH7.4 を挿入し、対照として欠損作製のみの群を Blank とした。2 週間後屠殺し、標本上で欠損部に再生された歯肉の厚みを観測者 4 人が盲目的に上皮部分と粘膜下組織に分け測定し、その結果を線形混合モデルを用いた解析により評価した。再生部分の厚みを比較検討すると、CS-pH3.0 と CS-pH7.4 は、それぞれ Blank に比べ有意に高値を示した。CS-pH7.4 と CS-pH3.0 を比較すると有意差は認められなかったが、線形混合モデルを用いた解析から導かれた回帰係数により、CS-pH7.4 の方が高値であることが示唆された。病理学的にも CS-pH7.4 は 2 週間という短期間で歯肉の再生が認められた。

以上の研究は、歯肉再生のための材料開発に有用な情報を与えるものであり、今後の歯肉組織再生医療の発展に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 1 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降