

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座 三野智恵子に対する最終試験は、
主査 合田征司教授、副査 三辺正人教授、副査 山本利春准教授により、
論文内容ならびに関連事項に関して口頭試問をもって行われた。
臨床能力試験は口頭試問により行われた。
その結果、合格と認めた。

主 査 合田 征司

副 査 三辺 正人

副 査 山本 利春

論 文 審 査 要 旨

Adhesion of human periodontal ligament cells by three-dimensional culture to the
sterilized root surface of extracted human teeth
(ヒト抜去歯の滅菌歯根表面における三次元培養によるヒト歯根膜細胞の接着)

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

口腔科学学講座 三野 智恵子

(指 導： 河田 俊嗣 教授)

主 査 合田 征司 教授

副 査 三辺 正人 教授

副 査 山本 利春 准教授

論文審査要旨

本論文は高圧蒸気滅菌した歯根を用い、歯根膜細胞の接着、増殖を組織学的、生化学的に検討し、滅菌歯根表面に3次元培養により歯根膜細胞が接着・増殖できることを示した論文である。

自家歯牙移植の予後は、ドナー歯に付着する歯根膜とセメント質の質および量が強く影響すると考えられている。申請者はドナー歯の歯根膜を再生させることにより自家歯牙移植の予後成績が向上するのではないかと仮説を立て、抜去歯を3次元培養することにより、歯根膜を歯根上に再生させることを試みた。

今回、申請者は細菌の感染を考慮しドナー歯に対して高圧蒸気滅菌を行なった後3次元培養を行い、歯根膜細胞の接着及び増殖を組織学的、生化学的に検討した。滅菌歯根表面上での歯根膜細胞の接着及び増殖における基礎研究が進展することは、今後の歯科臨床に貢献することが明らかであり、意義ある研究目的である。

研究方法の概略は以下のとおりである。試料は神奈川県歯科大学倫理委員会(第252号)の規定に基づき矯正的理由のため抜歯された歯周病や齲蝕の認められない第一小白歯、第二小白歯を用いた。これらをランダムに(1)未滅菌群、(2)121°C2気圧20分高圧蒸気滅菌した滅菌群、(3)滅菌歯根表面上に歯根膜細胞(4×10^5 cells/mL)を混合したJel培地を使用し3週間3次元培養を行った群に分類した。滅菌歯根に播種する歯根膜細胞は抜去歯歯周組織からアウトグロース法にて回収した。回収した細胞は、アリザリンレッド染色とALP活性を定量することで歯根膜細胞としての表現型を確認し実験に供した。そして、上記3群それぞれに対し走査型電子顕微鏡にて組織学的観察を行なった。また、MTT Assayによりミトコンドリア活性を評価することで、滅菌歯根表面上での歯根膜細胞の増殖を確認した。研究テーマに対する研究方法の組み立ては論理的であり、適切な解析手法により実験が行われている。

結果として滅菌前後における歯根表面を比較すると、(1)未滅菌群では網目状の構造物が確認でき、赤血球、リンパ球などの球状の構造物が確認できたのに対し、(2)滅菌群では網目状の構造物は圧力や熱で変性し扁平な構造物となり、球状の構造物の数も減少した。(3)滅菌歯根表面で3次元培養を行った群では、SEM試料作製行程の脱水、乾燥を行ってもなお、変性した歯根表面上に新たに付着した歯根膜細胞が突起を伸ばして付着しているのが確認できた。MTT Assayによって測定したミトコンドリア活性は、7日目から増加した。これらより、滅菌歯根表面上で細胞が増殖したことが示唆された。以上の結果は、適切な方法により導き出された明快な結果である。

本論文では、滅菌歯根表面上での歯根膜細胞の接着、増殖が可能であった。実験に用いた歯根膜細胞は石灰化能を有することから本方法においてセメント質をも再生できることが示唆される。申請者が歯根膜細胞を歯根上に器官培養出来るということを新しく見出した点は高く評価できる。

本審査委員会は、論文内容および関連事項に関して、口頭試問を行ったところ十分な回答が得られることを確認した。本論文において滅菌歯根表面上での歯根膜細胞の接着、増殖を初めて解明したことは、セメント質再生の可能性を示唆するものであり、広く歯学の発展に寄与するとの結論に至った。本審査委員会は申請者が博士(臨床歯学)の学位に十分値するものと認めた。