

# 論文内容の要旨

論文提出者	田村 翔悟
論文題目	Effects of Fibrillin Application on Periodontal Ligament Regeneration in Mouse Model of Tooth Replantation

## 研究目的

マウス再植歯における fibrillin の歯根膜再生効果を検討することを目的とした。

## 試料および方法

4 週齢の C57Bl6 マウスを用いた。左側第 1 臼歯を抜歯・再植し、4 週後に歯根膜再生を形態学的に評価した。すなわち、1) Periostin、 $\alpha$  smooth muscle actin ( $\alpha$ SMA)、Bone sialoprotein (BSP) の免疫染色を行った。2) *Wnt1-cre* の *R26R* ノックインおよび非ノックインマウスに交換再植を行い、X-gal 染色で再生歯根膜組織の由来を評価した。3) fibrillin 標品の PBS 溶液と fibrillin 固相化 propylene glycol alginate (PGA) ゲルに歯を浸漬・塗布して再植し (fibrillin-PBS 群および fibrillin-PGA 群)、炎症性歯根吸収と骨性癒着の発生頻度の評価、Azan 染色の観察、画像解析ソフトによる再生歯根膜面積の計測を行った。4) 培養ヒト歯根膜線維芽細胞に対する fibrillin 標品の細胞遊走効果を検討した。

## 結果

抜歯後すぐの再植では歯根表層からの外部吸収や骨性癒着は観察されず、periostin は再生歯根膜全体に、BSP は無細胞セメント質に発現していた。 $\alpha$ SMA は、健常歯根膜では血管平滑筋細胞に発現していたが、再生歯根膜では歯根膜全体に強い発現がみられた。*Wnt1-cre;R26R* マウスを用いた交換再植における再生歯根膜には、X-gal 陽性と非陽性の細胞がどちらも観察された。Fibrillin 標品を用いた再植では、fibrillin-PBS 群で歯根表面の BSP の発現が失われ、30%以上に炎症性歯根吸収が生じていた。一方で、PGA 群では外部吸収は 20%に低下したが、40%に骨性癒着が観察された。Fibrillin-PGA 群では、外部吸収と骨性癒着は 6 例中 1 例のみに観察された。Fibrillin-PGA 群の再生歯根膜には、periostin が網目状に観察され、歯根膜面積は PGA 群の 3 倍であった。さらに、Azan 染色では、fibrillin-PGA 群の再生歯根膜に歯根表面から歯槽骨へと連続した密な膠原線維が観察され、健常歯根膜における斜走線維と同様の構造が示された。ヒト歯根膜線維芽細胞を用いた解析においては、fibrillin 標品の添加は細胞遊走能に明らかな効果を示さなかった。

## 考察

再植後 4 週では、 $\alpha$  SMA が歯根膜全体に観察された。 $\alpha$  SMA は血管平滑筋細胞だけでなく、筋線維芽細胞のマーカーでもあることから、この時期の再生歯根膜には、筋線維芽細胞が多く存在していることが考えられた。細胞外マトリックスとして細胞接着と遊走に関与する periostin は再生歯根膜全体に、無細胞セメント質マーカーである BSP は、歯根表面に連続して観察されたことから、4 週以降に炎症性歯根吸収や骨性癒着が生じる可能性は低いと考えられる。従って、本研究における fibrillin の効果の検討は、すべて再植後 4 週で行った。また、交換再植実験から、歯根表面に残存する歯根膜を失っても、抜歯窩からの細胞供給によって歯根膜が再生できる可能性が示されたことから、抜歯窩からの細胞供給を促すような脱落歯保存材としての fibrillin の効果を検討した。Fibrillin-PBS 群では、無細胞セメント質が失われ外部吸収が観察された。また、歯根膜線維は疎で periostin や  $\alpha$ SMA の発現も稀薄であり、脱落歯保存材としての効果は見られなかった。一方で、PGA 塗布では、骨性癒着が惹起されるものの炎症性歯根吸収の頻度は低下していたことから、fibrillin を PGA に混合し再植を行った。Fibrillin-PGA 群では、歯根吸収や骨性癒着を起こす頻度は低下し、periostin 発現や膠原線維形成が促進され良好な結果を得ることができた。免疫染色および Azan 染色の結果から、fibrillin は、periostin やコラーゲンと共役し歯根膜線維形成を促すことで歯根膜幅の維持に関与していると考えられた。fibrillin 標品は、培養歯根膜線維芽細胞に対しては細胞遊走効果を示さなかったことから、細胞増殖の促進や骨形成抑制などに寄与することで、歯根膜再生を促進している可能性が示唆された。