

中嶋 香 論文内容の要旨

主 論 文

Periodontal Tissue Engineering by Transplantation of Multilayer sheets of Phenotypically Modified Gingival Fibroblasts.

(表現形を修飾した多層性歯肉線維芽細胞シートの移植による
歯周ティッシュエンジニアリング)

(中嶋 香、安部 達也、田中 麻弥、原 宜興)

(掲載雑誌名・Journal of Periodontal Research 掲載時期未定)
[ページ数 未定]

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：原 宜興 教授)

緒言

歯周治療の目標は歯周組織の再生である。現在の歯周再生治療は適応症が限られている。細胞移植に基づく歯周ティッシュエンジニアリングは次世代の治療法として期待されている。患者自身の細胞を採取の容易な自家組織から得て、移植材を作製することは拒絶反応や感染のリスクがなく、臨床応用の観点から重要なことである。しかし、そのような細胞の調達は限られている。歯肉線維芽細胞は採取の容易な自己細胞であるが、骨形成を抑制するので移植細胞としては不向きであると考えられてきた。この欠点を改善するために、アルカリフォスファターゼ (ALP) を発現するフィブロネクチン (FN) ベースの多層性歯肉線維芽細胞シート型移植材、以下、FN-ALP 細胞移植材を開発した。この移植材のデザインは *in vitro* での移植細胞の表現型の修飾や活性化が歯周組織の治癒を改善する、という仮説に基づいて設計した。本研究は、この移植材の歯周組織の治癒に及ぼす効果をラットの歯周組織欠損モデルを用いて調べたものである。

対象と方法

細胞は歯周外科手術時に採取した健常歯肉より得た。コンフルエントなモノレイヤ

一をアスコルビン酸 2 リン酸 (AsAP)、1ng/ml TGF- β および 10% FBS 添加の多層化培地で 6 日間培養し、ALP を誘導しない non-ALP 細胞シートを作製した。さらに、これを AsAP と 0.1ng/ml TGF- β 添加の ALP 誘導培地で 4 日間培養して FN-ALP 細胞シートを作製した。King らの方法に従ってラット下顎骨臼歯部に歯根に達する開窓型骨欠損を作成し、細胞シートを移植した。免疫抑制剤 FK506 を投与し移植後 5 日、10 日、14 日、28 日に屠殺し、固定、脱灰、パラフィン包埋した。歯周組織の治癒過程は組織学的、組織形態計測、免疫染色にて解析した。移植した細胞の局在をヒト特異的な抗体を用いた免疫染色で調べた。コントロール群は欠損のみで移植をしなかった非移植群と、non-ALP 細胞移植群の 2 群である。

結果

主な結果は以下の通りである。

- 欠損内部の膜性骨化
移植後 14 日目の FN-ALP 細胞移植群、非移植群では骨欠損内部は膜内骨化による新生骨で満たされた。non-ALP 細胞移植群では軟組織で満たされ骨形成は限られていた。
- 皮質骨上の軟骨内骨化
移植後 14 日目の FN-ALP 細胞移植群では欠損部に近接した皮質骨上に、多数の間葉系細胞に囲まれた大きな骨および軟骨の形成が認められた。組織形態計測の結果、硬組織形成の厚みは FN-ALP 細胞移植群はコントロールの 2 群に比較して有意に高かった。
- 削合した根面上のセメント質、歯根膜の形成
FN-ALP 細胞移植群において、28 日目には削合した根面上にエオジン好染で bone sialoprotein 陽性の硬組織の形成と、歯根と歯槽骨をつなぐコラーゲン線維の走行が確認された。非移植群においても同様の結果であった。
- 移植細胞の局在
移植細胞の局在をヒト特異的な抗体で調べた結果、移植細胞は骨芽細胞や前駆軟骨細胞に近接して存在し、新生骨および新生軟骨中には検出されなかった。移植細胞数は経時的に減少した。

結果および考察

今回、ラットの歯周組織欠損モデルにおいて、FN-ALP 細胞移植材はセメント質と歯根膜の形成を伴った歯槽骨の再生を支持し、さらに皮質骨上の骨形成を増加させることが明らかとなった。従って、この移植材が歯周組織再生医療において有用である可能性が示された。移植細胞の局在から、この移植細胞は骨形成細胞に分化するのではなく、宿主の細胞に作用して骨形成を促進したと示唆された。