



Title	三次元立体培養ヒト歯根膜線維芽細胞を用いた最適矯正力に関する検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	羽二生, 芽里
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第11248号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55746
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Meri_Haniu_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 羽 二 生 芽 里

主査 教授 飯 田 順 一 郎

審 査 担 当 者 副査 教授 鈴 木 邦 明

副査 教授 田 村 正 人

学 位 論 文 題 名

三次元立体培養ヒト歯根膜線維芽細胞を用いた最適矯正力に関する検討

審査は主査、副査全員が一同に会して口頭で行った。はじめに申請者に対して本論文の概要の説明を求めたところ以下の内容について論述した。

【目的】 矯正力による歯の移動機構で圧迫側歯根膜における破骨細胞分化は、歯根 膜線維芽細胞が分泌するサイトカインにより制御されと考えられており、今までの実験では、直接細胞に機械的刺激を加えるなどの報告であった。そこで、本研究では *in vivo* に近い実験系を再現し、歯根膜線維芽細胞に種々の機械的圧縮を加え、産生される破骨細胞分化に関するサイトカイン遺伝子発現量の変化と圧縮量との関係を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】 矯正治療時便宜抜去された健全な第一小臼歯の歯根膜からヒト歯根膜線維芽細胞を採取した。5 継代目の培養細胞を $\phi 5 \times 3\text{mm}$ のコラーゲンスポンジに充填し1週間培養（三次元立体培養）後、インキュベーター内でコラーゲンスポンジを 1/3 (1mm)、1/4 (0.75mm) 圧縮した。0 (コントロール)、1、3、6、12、24 時間後に破骨細胞分化に関するサイトカイン遺伝子発現の変化を Real time PCR にて検索した。

【結果と考察】 1/4、1/3 圧縮後の歯根膜線維芽細胞の充填状態は、コントロールと比べ同程度であった。予備実験において 1/2 圧縮時における同様の観察を行ったが、24 時間後には、ほとんど細胞が観察されなかった。また、シャーレを観察すると 1/2 圧縮では、シャーレ内のスポンジ外に多数の細胞が認められたため、圧縮力が強すぎたことによりスポンジ内の細胞がシャーレ内へ排出されたか死滅したと考えられる。従って、本研究においては、1/3、1/4 の圧縮による破骨細胞分化関連サイトカイン遺伝子発現量の変化を観察することとした。三次元立体培養ヒト歯根膜線維芽細胞を使用した実験方法では、圧縮負荷中も細胞に栄養を行き渡らせることができ、矯正力負荷時の圧迫側で、歯根膜が圧迫された時の状態に、より近い現象を再現できたと考えられた。すなわち *in vitro* の実験下で、より *in vivo* に近い歯根膜を再現した実験系であると考えられる。破骨細

胞分化に関するサイトカインである TNF- α 、IL1- β 、VEGF、FGF2 の mRNA 発現量は、1/4、1/3 圧縮すべての時点でコントロールより有意に増加し、OPG の発現量は、1/3 圧縮 24 時間後の条件以外有意に減少していた。1/3 圧縮 24 時間後の OPG の mRNA 発現量は、コントロールと同程度であった。また、すべての mRNA の発現傾向は 1/3 圧縮時と 1/4 圧縮時の間で類似していたが、1/4 圧縮時の方が多い傾向があった。この結果は 1/4 圧縮時の方がより有効に骨吸収活性を持続できる可能性を示唆しているものと考えられる。

【結論】in vivo の歯根膜の圧迫側に近い実験系を確立して歯根膜線維芽細胞に機械的刺激を加えることができた。矯正治療において歯根膜幅を 1/4 圧迫することが効率的な歯の移動を誘導できるものと考えられた。

引き続き審査担当者と申請者の間で、論文内容及び関連事項について質疑応答がなされた。

主な質疑応答は以下の項目である。

- (1) 細胞の種類と数について
- (2) 結果の経時的変化の物質ごとの差について
- (3) 調べたサイトカインの種類について
- (4) 骨形成系との関連について
- (5) 臨床との関連について
- (6) 今後の研究の展開について

本研究は、矯正歯科治療において用いる最適な矯正力を考える上で、歯根膜細胞の産生する破骨細胞誘導関連因子の量に着目し、検討したもので、歯科矯正治療の発展に直結する意義のある研究成果である。また、できるだけ生体の歯根膜に近い状態を in vitro で再現するために、三次元立体培養の手法を考案し、今後の同様の研究の発展に寄与するところも大きい研究成果であり、高く評価できる。本研究の内容は、歯科医学に発展に十分に貢献するものであり、また申請者は、質問に対して適切な説明をもって回答し、本研究の内容を中心とした専門分野はもとより、関連分野について十分な理解と学識を有していることが確認された。以上の審査内容から、審査担当者全員は、学位申請者が博士(歯学)の学位を授与するに値するものと認めた。