研究結果，微量定量が可能であり，歯周疾患の客観的な炎症指標として有用であることが示唆された。しかし，GM-CSF量は測定限界値（7.6pg）以下であった。また，アミノ酸分析を行った結果，コラーゲン構成成分であるHypは検出限界（0.001/1,000残基）以下であったが，アミノ酸をRose-diagram解析したところ，歯周疾患の炎症状態によって特徴がみられた。

本研究から，GCF中のタンパク量，IL-1β量，MMP-8量の測定およびアミノ酸分析は部位特異性の歯周疾患を把握する歯周疾患診断法として有用であることが示唆された。

以上より，本論文は，歯周治療学の進歩発展に寄与するところが大であり，審査の結果，学位授与に値すると判定した。

氏名・（本籍）	**佐　藤　恭　代**（北海道）
学位の種類	博　士（歯学）
学位記番号	甲　第38号
学位授与の日付	平成8年3月22日
学位授与の要旨	学位規則第5条1項該当（課程博士）
学位論文題目	**ヒト歯周組織由来線維芽組胞の樹立と歯根面への結合組織性初期付着に関する研究**
論文審査委員	主　査　教　授　矢　嶋　俊　彦
	副　査　教　授　武　田　正　子
	副　査　教　授　小　鷲　悠　典

論　文　内　容　の　要　旨

Ⅰ．緒　　言

歯は，歯根膜および歯肉の結合組織性付着により，歯槽窩に連結されている。このような歯周組織の構造は歯周疾患により破壊され，歯根面は歯周ポケットに露出し，歯は支持・固定を失う。歯周治療の目的は，こうした疾患により失われた歯根膜および歯肉の結合組織性付着の代わりとなる新たな組織を露出根面に形成することにある。そこで，この失われた結合組織性付着を得るために，歯根面の適切な処理と同時に，結合組織細胞，特に歯肉由来線維芽細胞の遊走およびその細胞が形成するコラーゲン線維の歯根面への新たな付着・結合が重要なポイントとなる。結合組織性付着は，歯根セメント質のコラーゲン線維と歯根膜のコラーゲン線維が結合し，連続移行している状態を意味する。この結合組織性付着をより積極的に誘導させるために，近年，ルートプレーニングの後にクエン酸処理を行い，歯根面を脱灰する方法が行われている。この処理による歯根面の清浄化とコラーゲン線維の露出は，結合組織性付着の形成，すなわち線維芽細胞が形成するコラーゲン線維と，歯根面のコラーゲン線維の連続移行に有効であると報告されている。これらの報告は，ヒトあるいは動物を用いた生体での観察と，歯根横断切片と線維芽細胞を用いたin vitroの実験・観察に基づいているが，ほとんどの報告は，長期間の実験結果であり，結合組織性付着の成否に関わるその初期付着については十分理解されていない。そこで，今回の研究は，その結合組織性付着の初期形成過程を解き明かすことを目的とした。そこで，歯周治療の治癒過程において主体をなす線維芽細胞に注目し，コラーゲン線維形成の盛んなヒト歯肉組織由来線維芽細胞の樹立を試み，その性状について検討した。次にこの細胞を用いて，細胞シート上に歯根横断切片を静置させ，線維芽細胞，コラーゲンの配列・走行を検討する実験系を用いて，結合組織性付着，特にその初期付着の形成を経時的に観察した。

Ⅱ．材料と方法

1．ヒト歯肉由来線維芽細胞の樹立と細胞の性状

線維芽細胞の樹立：ヒト歯肉片からoutgrowth法によ

り線維芽細胞を遊走させ，増殖・継代をくり返し，細胞系を樹立，凍結保存し，実験に用いた。細胞は35㎜シャーレ中で10%仔ウシ血清を加えたαMEM培地で6週間培養し，以下の測定と観察を行った。

生化学的測定：DNA量，総タンパク質量，ヒドロキシプロリン量とALPase活性の変化を経時的に測定した。

組織学的観察：線維芽細胞の動態とコラーゲン線維の形成を光顕・電顕で観察した。

2．結合組織性初期付着実験

ヒト歯根横断切片（歯片）の作製：過去に歯周治療の既往のない歯周疾患による抜去歯と埋伏歯を抜去後直ちに−20°Cで保存し，実験に用いた。歯は歯根面をルートプレーニング後(セメント質表面が硬く滑沢の状態)，硬組織切断機で歯根を横断，研磨し，厚さ約150μmの歯片を作製した。培養開始直前に，飽和クエン酸溶液(pH1)で3分間脱灰処理を行った。

培養実験：線維芽細胞を35㎜シャーレ当り2×10^5個播種し，10%仔ウシ血清を加えたαMEM培地で5日間培養し，細胞シートを形成した。その細胞シート上に実験歯片を静置し，実験開始（0日）とした。

観察方法：結合組織性付着状態は，位相差顕微鏡と暗視野顕微鏡で経時的に観察・撮影し，画像処理および画像解析を行った。一部試料には鍍銀染色を，また，パラフィン切片をH-E染色し光顕で，さらに電顕でも観察した。

III．結果と考察

1．線維芽細胞の樹立と細胞の性状

樹立線維芽細胞の総タンパク質量とヒドロキシプロリン量の比較から，培養初期にはヒドロキシプロリン量がその大半を占め，ALPase活性は3週まで急な上昇を示し，その後ほぼ一定となった。また，コラーゲン線維形成能も高く，鍍銀染色で黒染される細網線維は培養1日から出現し始め，培養3週以降，褐色に染色される膠原線維が急速に増加した。組織切片でも，培養3週以降，下層領域に線維性基質の蓄積をともなった上下の細胞間隙が観察された。電顕的にも，2週までは横紋の不明瞭なコラーゲン細線維が多数観察されたが，その後，横紋を持つ成熟した細線維が増加した。

以上の結果から，樹立された線維芽細胞は代謝活性が高く，コラーゲン線維形成能も高い細胞であることが示され，結合組織性付着の実験に適した細胞が樹立できたと思われる。

2．結合組織性初期付着の形成

本実験において，歯周疾患罹患歯と埋伏歯における結合組織性付着の形成に大きな差異は認められなかった。5日間の前培養により形成された細胞シートに歯片を静置すると，数時間で歯根面（セメント質）に対して数個の線維芽細胞が立ち上がり，付着していた。暗視野観察では，この付着部位は明るい細胞群として認められた。歯根面に対して付着する細胞とともに，コラーゲン線維も見られ，全体としてシート状にシャーレ底面から歯根面へ浮上しているのが認められた。この付着部位は，培養初期で歯片全周に点在した。培養が進むにつれ，互いに癒合し，同時にその付着領域は歯根面から遠ざかる方向へも拡大した。また，暗視野像で細胞の歯根面に対する付着領域をトレースし，その面積を画像解析すると，面積増加率は培養3日まで高く，それ以降は低くなり，ほぼ前日と同じだけの増加を示した。

組織学的には，実験開始3～4日後に，付着細胞は歯片上面にまで達し，その内容は疎らな細胞のみで，線維性基質は見られなかった。培養7日以降，その細胞シート，シャーレ底面と歯根面で形成された三角形の領域は裾広がりに拡大し，線維性基質の充実が見られた。電顕的には，培養7日以降で，歯根面セメント質に対して，細胞がその長軸をもって付着し，またコラーゲン細線維の結合も観察された。

これらのことから，培養初期には細胞の付着領域を拡大して細胞間の上下の間隙を確保したのち，コラーゲン線維の本格的な形成・成熟により，結合組織性付着が形成されると思われる。

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

歯周病治療の基本は，歯周病の原因とその修飾因子を取り除き，失われた歯周組織を再生させ，正常な咬合機能を回復するところにある。そのために，歯周組織の再生・付着を目的とした歯周外科処置では，歯根面処理は重要である。しかし，どのような歯根面処理が歯周組織の再生・結合組織性付着にとって好ましいかについては不明な点が多い。

そこで，申請者は歯根面への初期付着機構を培養実験系を用いて経時的に組織細胞学的観察を行った。そのために，細胞増殖率，アルカリ性ホスファターゼ活性，コラーゲン線維形成能が非常に高いヒト歯肉線維芽細胞を新たに樹立した。次に，樹立された細胞系を用いて処理歯根面に対する結合組織性初期付着について，歯根横断切片（root slices）を前培養で形成された線維芽細胞シー

ト上に静置・密着させ，歯根面に垂直に細胞を移動・付着させる生体に近似した培養系を用いて観察した。

その結果，ルートプレーニングとクエン酸処理されたセメント質では，歯根面への活発な線維芽細胞の移動・付着があること，セメント質面に垂直な細胞シートを形成し，培養開始1週以降では，形成されたコラーゲン細線維は，露出したセメント質基質コラーゲン細線維と結合・連続しており，処理歯根面全面におよぶ結合組織性初期付着を形成すること，脱灰象牙質面への細胞付着は少なく，形成されたコラーゲン細線維と象牙質基質コラーゲン細線維との結合・連統は観察されず，セメント質面とは明らかに異なること等を明らかにした。

本研究では，この培養系は処理歯根面への線維芽細胞の誘導・分化，さらに組織構築を促進する生体に近似した実験系であり，歯根面処理後の歯周組織の再生・結合組織性付着の評価，また結合組織性付着機構の解明に非常に有用であることを示唆し，有益な基礎を築いたものといえる。

以上の結果から，本論文は博士（歯学）の学位論文に値するものと判定した。

氏名・（本籍）	**多　田　浩　二**（京都府）
学位の種類	博　士（歯学）
学位記番号	甲　第39号
学位授与の日付	平成8年3月22日
学位授与の要旨	学位規則第5条1項該当（課程博士）
学位論文題目	**歯加振時の音響インテンシティ測定に関する研究** **—実験用模型における打音の放射特性の分析—**
論文審査委員	主　査　教　授　坂　口　邦　彦
	副　査　教　授　猪　股　孝四郎
	副　査　教　授　小　鷲　悠　典

論　文　内　容　の　要　旨

Ⅰ．緒　　言

歯に加わった咬合力が周囲支持組織へ伝達する様相を知ることは，歯科治療を行う上で，顎口腔系諸機能の回復と保全の観点から重要である。

著者は，音響インテンシティ測定法を応用することで，打音の放射特性から，歯に加わった衝撃が周囲支持組織に伝達する様相を検索可能であると考えた。

そこで本研究では，人工歯または天然歯を植立した実験用模型を使用し，これらを加振して生じさせた打音を音響インテンシティ測定することで，歯科における本測定法の有効性について検討を行った。

Ⅱ．実験材料および実験方法

1．実験用模型

石膏製植立台（ブロック：100㎜×25㎜×15㎜）と，この中央部に人工歯の上顎左側中切歯または下顎左側第一大臼歯を植立したもの（RT1，RT6），また，同様に天然歯を各々植立したもの（NT1，NT6）の計5種類の実験用模型を使用した。

2．音響インテンシティ測定システム

① 実験用模型固定装置：予備実験の結果から，実験用模型は，釣り下げ固定法で固定した。

② 加振系：加振には，インパクトハンマーを使用した。予備実験の結果から，加振力を約14N，加振サイクルを10回/4秒とした。加振部は，RT1とNT1が切縁中央部，RT6とNT6が遠心頬側咬頭頂，ブロックが上面の中心部とした。加振方向は，RT1，RT6，NT1，NT6が歯軸方向，ブロックが上面に垂直方向とした。

③ 測定系：打音の受信は，音響インテンシティプローブで行った。打音受信時の測定平面は，予備実験の結果を参考に，実験用模型から50㎜の距離に60㎜×60㎜