

# 野田 さわこ 論文内容の要約

主 論 文

Soft Tissue Engineering with Micronized-Gingival Connective Tissues

微細切歯肉結合組織移植による軟組織再生

野田 さわこ, 住田 吉慶, 大場 誠悟, 山本 英幸, 朝比奈 泉

Journal of Cellular Physiology In Press

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: 朝比奈 泉 教授)

## 《緒 言》

近年、歯科インプラント治療における角化歯肉獲得の重要性が再認識されており、角化歯肉再生のために遊離歯肉移植 (FGG) や結合組織移植 (CTG) といった歯肉粘膜移植が行われている。しかしながら、これらの手技は移植組織の採取量が制限され、採取部への侵襲が大きく、高度の技術を要する。さらに、創傷治癒後の瘢痕拘縮を引き起こす場合も少なくない。そのため、これらの手技に替わる角化歯肉の再生・増大を可能とする新規治療法の開発が望まれている。そこで、われわれは極めて少量 (2x2x2mm 程度) の歯肉結合組織の微細切組織移植 (Micro-graft) によって角化歯肉の再生を目指した。Micro-graft は、操作の簡便さから皮膚の創傷治癒や毛髪、骨、脂肪組織の再生治療に臨床応用され、その有効性が報告されている。組織微細切装置 (Rigenera®) により 50-100  $\mu$ m 程度の大きさに細切された組織は、組織幹細胞や前駆細胞、成長因子などを含み、細胞単離を行なわなくても、組織再生の誘導に効果的に使用することができる。また、Rigenera®により細切された組織は、採取した組織量の 20 倍程度のサイズの創傷治癒に有効であることが示唆されているため、従来の組織移植と比較して、極めて少量の組織採取で対応でき、採取部位の侵襲を大きく軽減できる。

従来の FGG や CTG では、通常 30~40x10x2mm 程度の移植組織を片側の口蓋粘膜から採取し、広範囲に移植が必要な場合では左右両側の口蓋粘膜から組織が採取される。本研究で検討する方法の特徴は、組織採取量が従来の 20~30 分の 1 程度と極めて少量であることが特徴であり、採取部への侵襲を大幅に軽減できると考えられる。

本研究では、皮膚欠損に対する micro-graft の創傷治癒促進及び組織再生能について検討を行なった。

## 《対象と方法》

8週令のヌードマウスの背部皮膚欠損モデルを作出使用した。ブタ上顎結節部角化歯肉より採取した結合組織 (8mm<sup>3</sup>) を Rigenera®にて細切し、直径5mmのウシ真皮由来アテロコラーゲン (テルダーミス®, Olympus Terumo Biomaterials) に播種後、ヌードマウス背部皮膚全層欠損 (直径5mm) 部に移植を行った。移植後、7・14・21日で

移植試料を採取し、創傷治癒の評価を行った。無処置群（欠損のみ；Control群）、テルダーミス®のみ移植した群（AC群）、AC+Micro-graft群（MG群）の3群を設定し、それぞれの群について皮膚組織の再生状態（閉創と拘縮の程度）や再生組織の組織学的・免疫組織学的観察を行なった。さらに、Micro-graftによる組織再生効果のメカニズムについて、組織回復に関わる遺伝子や蛋白質の発現解析によって検討を加えた。

#### 《結 果》

創部の肉眼的所見では、移植7日目での各群における差異は顕著ではないが、14日目でMG群で優位な上皮欠損部の再生を認めた。欠損治癒率は、コントロール群では欠損の60%、AC群では74%であった。MG群では85%程度上皮化していた。21日目では3群とも上皮化の亢進を認めたものの、MG群では創は完全に上皮化していた。さらに、MG群では瘢痕拘縮の状態は有意に低く、MG群の創傷治癒における有用性が示唆された。

そこで、創傷部の組織再生状態について、組織学的に観察したところ、H&E染色において14日目でMG群で連続した上皮様構造を認めた。また21日目ではコントロール群・AC群でも上皮による被覆は認めたが、MG群に比べて上皮層は菲薄であった。さらに21日後ではMG群でサイトケラチン染色陽性なのに対しAC群は陰性であった。

組織再生のメカニズムを検討するため、血管新生状態をvWF蛍光染色で評価したところ、MG群で14日から21日後にかけて有意差を持って陽性細胞数が多く認められた。この結果から、MG群で有意に血管新生が誘導されていたと考えられる。また、MG群での血管新生を多く認めるとともに、皮膚付属器と思われる構造も認められた。

移植した細切組織の動態をPKH26で追跡したところ、移植後7日目で上皮下層ならびに、移植試料結合組織中の間葉系細胞に移植組織由来の移植細胞が検出された。組織再生のメカニズムの一端として、細切組織によるparacrineおよびangiocrine作用が示唆されたため、移植試料中のSDF-1/CXCR4 systemや血管新生因子などの発現解析を行なった。その結果、MG群でのSDF-1/CXCR4 systemやVEGF経路の遺伝子発現に有意な亢進を認めた。

#### 《考 察》

Micro-graftは、創傷治癒促進と瘢痕拘縮抑制の効果を示し、これらの効果が移植した微細切組織に含まれる線維芽細胞やMSCの分泌する成長因子によるもの、すなわち、微細切組織からのparacrineおよびangiocrinの作用によることが示唆された。この手法は、採取した組織の約20倍程度の組織再生が可能と思われ、極めて少量の組織で簡便に組織再生を誘導することができる。採取部位の歯肉粘膜に対する侵襲は低く、歯肉組織再生へ予知性の高い治療法になり得ると考えられる。