

氏名	友藤 孝明
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博 甲 第 2169 号
学位授与の日付	平成 13 年 3 月 25 日
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	イヌ歯肉線維芽細胞の生物活性に及ぼすブラッシング力と時間の影響
論文審査委員	教授 永井 教之 教授 村山 洋二 教授 渡邊 達夫

学位論文内容の要旨

【 緒言 】

ブラッシングによる歯肉の炎症の改善は、歯垢除去だけでなく、歯肉に対する機械的刺激の効果（マッサージ効果）にも起因していると考えられる。ところがブラッシングによる機械的刺激が大きすぎる場合、歯肉を損傷し、かえって炎症が増悪することが知られている。ブラッシングの機械的刺激の大きさに関わる因子としてブラッシング力と時間が挙げられる。本研究では、異なるブラッシング力と時間を組み合わせた機械的刺激をイヌ歯肉に与えて、歯肉線維芽細胞の応答を細胞増殖とコラーゲン合成の観点から組織学的、免疫組織化学的に検討した。

【 材料および方法 】

雑種成犬 12 頭を用いた。被験部位は、上顎第 2, 3, 4 小臼歯と下顎第 3, 4 小臼歯及び第 1 大臼歯の近心頬側とした。実験の前処置として、歯肉縁上縁下の歯石を除去し、スクレーパーによる 1 日 1 回の歯垢除去を 2 週間行った。3 種のブラッシング力(100 gf, 200 gf, 250 gf) と 3 種のブラッシング時間 (10 秒, 20 秒, 40 秒) 及び対照 (歯垢除去のみ) を、歯種による偏りがないように、ラテン方格法を用いて割り付けた。歯ブラシの頸部にひずみゲージを貼付し、出力をブラッシング力としてモニターした。実験期間は 3 週間とし、1 日 1 回ブラッシングまたは歯垢除去を行った。

1. 組織染色

イヌを安楽死させた後、歯肉を 4%パラホルムアルデヒド溶液で 24 時間固定した。続いて 10%EDTA 緩衝液で脱灰してからパラフィン包埋を行い、頬舌断面が観察できるような厚さ 4 μ m の連続切片を作製した。免疫染色は一次抗体として抗 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) モノクローナル抗体と抗 I 型プロコラーゲンモノクローナル抗体 (PIP) を反応させ、アビジン・ビオチン複合体法に従いジアミノベンチジン発色させた。またマイヤーのヘマトキシリンにて後染色を行った。

2. 評価方法

内縁上皮直下において、結合組織を光学顕微鏡で400倍の視野で観察した。内縁上皮の最根尖側から歯肉頂に向けて、0.1mmの幅で、連続して10ヶ所の単位面積内(0.1 mm × 0.1 mm)に存在する線維芽細胞数、PCNA陽性線維芽細胞数、PIP陽性線維芽細胞数を数えた。そして全細胞中に占めるPCNA陽性線維芽細胞とPIP陽性線維芽細胞の割合(%)をPCNA陽性率、PIP陽性率として求めた。

3. 統計処理

すべての測定値に対して1頭毎の平均を求めた。各々の群間の比較には、一元配置の分散分析とDunnnettの方法による多重比較を行った。またブラッシング力と時間のPCNA陽性率とPIP陽性率への影響力を比較するため、強制投入法による重回帰分析を行った。

【結果】

各ブラッシング群の値を対照との比で表したとき、線維芽細胞密度は1.0~1.2倍、PCNA陽性率は1.1~1.8倍、PIP陽性率は0.8~1.9倍といずれも対照と同程度かそれよりも高い値を示した。ブラッシング時間が20秒のときのブラッシング力の違いについて、PCNA陽性率とPIP陽性率はともに200 gfで最大となり、PCNA陽性率については対照と比べて有意($p < 0.001$)に高かった。またブラッシング力が200 gfのときのブラッシング時間の違いについて、PCNA陽性率は20秒、PIP陽性率は10秒でそれぞれ最大となり、対照と統計学的な有意差(PCNA陽性率、 $p < 0.001$; PIP陽性率、 $p < 0.05$)が認められた。また重回帰分析を用いてブラッシング力と時間の標準偏回帰係数を求めたところ、標準偏回帰係数は、PCNA陽性率で0.26(ブラッシング力)と0.06(ブラッシング時間)、PIP陽性率で0.16(ブラッシング力)と-0.23(ブラッシング時間)となった。

【考察】

イヌ歯肉線維芽細胞のPCNA陽性率とPIP陽性率は、200 gf・20秒(PCNA陽性率)と200 gf・10秒(PIP陽性率)のブラッシング力と時間で、それぞれ最大となった。この結果は、イヌ歯肉線維芽細胞の増殖とコラーゲン合成を高めるのに適切なブラッシング力と時間があることを示唆している。線維芽細胞の増殖とコラーゲン合成は、組織の修復過程においてみられる現象である。したがって適切なブラッシング力と時間による機械的刺激は、歯肉の炎症を早期に改善させるのに効果的であると考えられる。

【結論】

イヌ歯肉に異なるブラッシング力と時間を組み合わせた機械的刺激を与えた。その結果、歯肉線維芽細胞のPCNA陽性率とPIP陽性率が高くなった。またその変化はブラッシング力と時間の大きさに比例するのではなく、この実験条件下で200 gf・20秒(PCNA陽性率)と200 gf・10秒(PIP陽性率)が適切なブラッシング力と時間であることが分かった。

論文審査結果の要旨

ブラッシングによって歯肉の炎症が改善されるとする研究報告は多いが、これらの内容は、歯垢などの起炎物質を対象とした消炎効果を見たものがほとんどである。しかし、ブラッシングには歯垢除去効果と歯肉に対する機械的刺激があると考えられるが、機械的刺激による歯肉の組織変化を検索した研究はない。本研究では、イヌ歯肉を組織学的に炎症のない状態に設定し、ブラッシング力およびブラッシング時間が、付着上皮に隣接する結合組織におよぼす変化について検討した。その結果、以下の知見を得た。

1. 歯肉線維芽細胞のPCNA陽性率とprocollagen type I-C peptide (PIP)陽性率はブラッシングにより、対照群よりも高い値を示し、PCNA陽性率は200 gf-20 秒、PIP陽性率は200 gf-10 秒のブラッシング力と時間の組み合わせの場合に、最大の値を示した。
2. 重回帰分析から、PCNA陽性率はブラッシング力、PIP陽性率はブラッシング時間の影響をより強く受けた。

これらのことは、組織学的に炎症像がみられない歯肉において、ブラッシングによる機械的刺激を加えると、線維芽細胞の増殖とコラーゲン合成に変化を来すことを示している。