HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	再植後の歯根吸収に対するN-アセチルシステインの効果［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	西見, 光彦
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13476号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74010
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mitsuhiko_Nishimi_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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 西 見 光 彦

審査担当者
主査 教授 八 若 保 孝
副査 教授 田 村 正 人
副査 助教 南 川 元

学 位 論 文 題 名
再植後の歯根吸収に対する *N*-アセチルシステインの効果

審査は，審査担当者全員の出席の下，はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ，審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

歯の外傷において重篤なものの一つは完全脱臼である。再植が遅れると歯根の吸収が生じる可能性が高くなり， 予後不良例が増加する。外傷歯の歯根吸収は， 歯根膜の乾燥と， 歯髄壊死が原因により引き起こされる。根管治療には水酸化カルシウム（$Ca(OH)_2$）が広く使用されている。$Ca(OH)_2$は抗菌作用，抗炎症作用，硬組織形成能，歯根吸収抑制作用を持つため根管貼薬剤として適しているが，$Ca(OH)_2$の長期使用は象牙質の強度を低下させるとの報告があるため，より安全な根管貼薬剤が求められる。抗酸化アミノ酸である *N*-アセチルシステイン（NAC）は，抗炎症作用，抗菌作用を持つことが報告されている。外傷による炎症，細菌感染に対応することができると考えられるが，歯根吸収抑制作用があるとの報告はまだ無い。そこで，本研究では，外傷歯の歯根吸収に対する NAC の効果を検証するために，ラットの上顎第一臼歯を用いて外傷歯モデルを作製し，根管貼薬剤として $Ca(OH)_2$，NAC を使用した。併せて，RAW264.7 細胞に RANKL と NAC を作用させ，破骨細胞分化に対する NAC の効果を検討した。

生後 6 週齢の SD 系雄性ラットに全身麻酔を施した後， 上顎第一臼歯を抜歯， 1 時間乾燥させた。乾燥後再植のみを行った歯を control とし，近心根に 50% $Ca(OH)_2$，10 mM NAC を根管貼薬した後に再植したものを実験群とした。2 週間後に安楽死させ，試料を顎骨から取り出し固定，脱灰した。歯軸に対して垂直に厚さ 5 μm の薄切標本を作製し，H-E 染色，TRAP 染色を行い残存歯根面積（%）の測定と破歯細胞の観察を行った。また， RAW264.7 細胞に RANKL と各濃度の NAC（1 mM NAC， 5 mM NAC， 10 mM NAC）を添加して培養し， 生細胞を確認するために細胞内の ATP 量，破骨細胞数，核数の測定と，real-time PCR にて破骨細胞関連遺伝子の mRNA 発現量を定量することで，破骨細胞分化に対する NAC の効果も併せて検討した。

動物実験において， control では H-E 染色にて多核巨細胞を観察し， TRAP 染色にて破歯細胞であることを確認した。50% $Ca(OH)_2$， 10 mM NAC を貼薬して再植したところ，control と比較して歯根の吸収量，破歯細胞数が減少していた。残存歯根面積を測定したところ，control と比較して，50% $Ca(OH)_2$， 10 mM NAC では有意に歯根吸収を抑制したが，50% $Ca(OH)_2$， 10 mM NAC の間には差を認めなかった。細胞培養実験において， RAW264.7 細胞に各濃度の NAC を添加し培養しても NAC 無添加と比較して ATP 量の減少を示さなかった。RAW264.7 細胞に RANKL のみを加えた control と，各濃度の NAC を添加し培養した実験群の破骨細胞数を測定したところ，control，1 mM

NAC では巨大な破骨細胞が目立ち，5 mM NAC，10 mM NAC では破骨細胞の大きさが小さい傾向を示した。2 核以上の破骨細胞の数は，control と比較して 5 mM NAC，10 mM NAC で有意に減少していた。核数別の破骨細胞数を測定したところ，control と比較して，2 核，3 核で 10 mM NAC が，4 核，5 核で 5 mM NAC が有意に減少していた。real-time PCR による破骨細胞関連遺伝子の mRNA 発現量は，RANK，NFATc1，DC-STAMP，CD47，OC-STAMP，cathepsin K，Nox1 の項目で control と比較し 5 mM NAC，または 10 mM NAC で有意に減少していた。

本結果より，NAC の使用は，ラット外傷歯モデルでは歯根吸収抑制と破歯細胞数の減少傾向を示し，細胞培養では破骨細胞数の減少と破骨細胞関連遺伝子の発現抑制を示した。NAC は破骨細胞への分化，融合，破骨細胞の機能を抑制することにより，歯根吸収を抑制したと考えられた。以上より外傷歯における歯根吸収に対する NAC の応用の可能性が示唆された。

引き続き論文内容及び関連事項について，以下の項目を中心に質疑応答がなされた。

1） 本実験で使用した$Ca(OH)_2$の濃度と臨床的に使用している$Ca(OH)_2$の濃度との関係について
2） ６週齢，雄のラットを使用した理由について
3） ラット第一臼歯を使用した理由について
4） 残存歯根面積の計算方法について
5） 使用した NAC の濃度の根拠について
6） 破骨細胞の組織像と測定値の差異について
7） NAC は破骨細胞の分化，融合，機能のどこに作用しているかについて
8） 吸収が起きた歯根に対しての NAC の効果について
9） Nox1 の mRNA の発現時期について
10）NAC の炎症に対しての効果について

以上の質問に対して申請者からは適切かつ明確な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通じて，申請者が本研究並びに関連分野に対して十分理解し，幅広い知識を有していると考えられ，本研究のさらなる発展，進展が期待された。

以上のことから，担当者全員は，本研究が学位論文に十分値し，申請者が博士（歯学）の学位を授与される資格を有するものと認めた。