



| | |
|---------------------|---|
| Title | 生活歯髄切断材料における抗酸化アミノ酸の応用 [論文内容及び審査の要旨] |
| Author(s) | 高木, 康多 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(歯学) |
| Dissertation Number | 甲第15928号 |
| Issue Date | 2024-03-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/91757 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Kota_Takagi_abstract.pdf, 論文内容の要旨 |



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 高木 康多

学位論文題名
生活歯髄切断材料における抗酸化アミノ酸の応用

キーワード（5つ）生活歯髄切断，N-アセチルシステイン（NAC），Mineral Trioxide Aggregate (MTA)，Dentin Sialophosphoprotein (DSPP)，デンティンブリッジ

乳歯および幼若永久歯において齲蝕除去により露髄を生じ、歯髄の炎症が歯冠部歯髄に限局している場合には歯冠部歯髄を根管口部で切断する生活歯髄切断法を用いる。近年は生活歯髄切断に用いられる材料として水酸化カルシウム製剤やMineral Trioxide Aggregate (MTA)が覆髄材料として使用されることが多くなっている。MTAは水酸化カルシウム徐放性材料としての一面があり、覆髄後の治癒過程は水酸化カルシウム製剤を使用した際の治癒過程と組織学的に類似していることが報告されている。本研究ではMTAで行う生活歯髄切断に抗炎症作用と抗菌作用を有する、抗酸化アミノ酸であるN-アセチルシステイン（NAC）を添加し、NACの生活歯髄切断材料への応用について検討した。

実験には生後4週齢のSD系ラットを用いた。ラットに全身麻酔を施し、両側上顎第一臼歯に対して生活歯髄切断を行った。覆髄材にはMTAならびにMTAに50mgのNACを添加したもの（MTA-NAC）を使用した。覆髄材の上部は4-META/MMA-TBBレジンで被覆した。また、覆髄材を使用せずに直接4-META/MMA-TBBレジンで被覆したものをコントロールとした。生活歯髄切断後、3または7日間飼育し、ラットを安楽死させた後、上顎骨を摘出し、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液を用いて24時間浸漬固定を行った。10%EDTA溶液で試料を4週間脱灰し、通法に従いパラフィン包埋し、薄切標本作製した。その後、ヘマトキシリン・エオジン染色（H-E染色）を行い、光学顕微鏡にて組織学的に観察した。一次抗体として抗Dentin Sialophosphoprotein (DSPP)抗体、抗Osteopontin抗体を使用した免疫染色を行ない、光学顕微鏡にて観察した。また、ヒト歯髄幹細胞に対するMTAならびにNACの細胞増殖への影響を評価するためにヒト歯髄幹細胞を用いて細胞

生存率を評価した。MTAセメントを細胞培養液に浸漬し、MTA浸漬液を作製し、さらにMTA浸漬液にNACを250mMで溶解したものを用意した。ヒト歯髄幹細胞を細胞培養液、MTA浸漬液ならびにNAC含有MTA浸漬液で12、24、36、48時間培養し、cell counting kit-8を添加し、吸光度を測定することにより細胞生存率を求めた。

生活歯髄切断後3日目において、H-E染色の結果、コントロールでは広範囲に高度の炎症性細胞の浸潤が認められた。MTAでは歯髄切断面直下に限局した中等度の炎症性細胞の浸潤が認められた。MTA-NACでは歯髄切断面直下に極めて軽度の炎症性細胞の浸潤が認められた。DSPP染色の結果、コントロールとMTAではDSPP陽性部位は認められなかった。一方でMTA-NACでは歯髄切断面直下にDSPP陽性部位が認められた。Osteopontin染色の結果、コントロールではOsteopontin陽性部位は認められなかった。また、MTAでは歯髄切断面直下にOsteopontin陽性部位が認められ、MTA-NACでは歯髄切断面直下ならびに根管上部にOsteopontin陽性部位が認められた。

生活歯髄切断後7日目において、H-E染色の結果、コントロールでは歯髄切断面直下ならびに根管上部に中等度の炎症性細胞の浸潤が認められた。MTAでは、歯髄切断面直下に限局した軽度の炎症性細胞の浸潤が認められた。MTA-NACでは歯髄切断面直下にわずかに炎症性細胞の浸潤が認められた。また、デンティンブリッジの形成が認められた。DSPP染色の結果、コントロールではDSPP陽性部位は全く認められなかった。MTAでは歯髄切断面直下ならびに根管壁に沿った部分にDSPP陽性部位を認めた。MTA-NACは形成されたデンティンブリッジの広範囲でDSPP陽性部位を認めた。Osteopontin染色の結果、コントロールでは歯髄切断面直下にOsteopontin陽性部位が認められた。MTAでは歯髄切断面直下ならびに根管上部にOsteopontin陽性部位が認められた。MTA-NACでは歯髄切断面直下から根管上部にかけてOsteopontin陽性部位が認められた。染色結果からMTA-NACはMTAに比べ、炎症性反応を軽減し、デンティンブリッジの形成を促進した。

ヒト歯髄幹細胞を各培養液で培養し、cell counting kit-8で細胞生存率を求めた結果、MTA浸漬液で細胞生存率は低下したが、NAC含有MTA浸漬液では、48時間後には細胞生存率は回復し、コントロールと同様になった。

本研究では抗酸化アミノ酸であるNACをMTAに添加することによりpHを低下させ、強アルカリの刺激を低下させた。pHを低下させることにより石灰化誘導能が低下する可能性が考えられたが、NACによりDSPPやOsteopontinの発現が增強されるとともに石灰化は強く誘導された。MTAは現在使用されている生活歯髄切断材料の中では予後が良好とされており、そのMTAと比較して炎症性反応が軽減し、デンティンブリッジの形成が促進された。以上のことから、生活歯髄切断材料にNACを応用することが有用であることが示された。