



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_review.pdf, 審査の要旨



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 高木 康多

主査 教授 八若 保孝
審査担当者 副査 特任教授 菅谷 勉
副査 教授 友清 淳

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

審査は、審査担当者全員の出席の下、公聴会形式で実施された。はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者ならびに公聴会参加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。

乳歯および幼若永久歯において、歯髄の炎症が歯冠部歯髄に局限している場合には生活歯髄切断法（生切）を用いる。近年は生切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。本研究では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MTAに添加し、NACの生切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切を行った。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、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。生切後、3または7日間飼育し、上顎骨を摘出し、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液で24時間浸漬固定を行った。試料を4週間脱灰し、脱水、パラフィン包埋し、薄切標本を作製した。その後、ヘマトキシリン・エオジン染色（H-E染色）および一次抗体として抗Dentin Sialophosphoprotein (DSPP) 抗体、抗Osteopontin抗体を使用した免疫染色を行い、光学顕微鏡にて組織学的に観察した。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、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で溶解したものを作製した。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浸漬液で各時間培養し、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。

生切後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局限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、MTA-NACのみ歯髄切断面直下に陽性部位が認められた。

Osteopontin染色の結果、MTAでは歯髄切断面直下に、MTA-NACでは歯髄切断面直下ならびに根管上部に陽性部位が認められた。

生切後7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軽度の炎症性細胞の浸潤が認められた。MTA-NACでは炎症性細胞の浸潤がわずかに歯髄切断面直下に認められ、デンティンブリッジの形成が認められた。DSPP染色の結果、MTAでは歯髄切断面直下ならびに根管壁に沿った部分に、MTA-NACは広範囲で陽性部位を認めた。Osteopontin染色の結果、コントロールでは歯髄切断面直下に、MTAでは歯髄切断面直下ならびに根管上部に、MTA-NACでは歯髄切断面直下から根管上部にかけて陽性部位が認められた。

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。NACによりDSPPやOsteopontinの発現が増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切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、生切材料にNACを応用することが有用であることが示された。

引き続き、論文内容および関連事項について審査者から以下のような質問がなされた。

- (1) NAC を単独で覆髄材として使用することについて
- (2) NAC の濃度設定について
- (3) 免疫組織染色時に使用した一次抗体について
- (4) MTA に NAC を添加することで NAC 自体の機能が低減してしまう可能性について
- (5) NAC の抗炎症作用の機序について
- (6) MTA セメントの組成について
- (7) MTA 浸漬液、MTA 浸漬液に NAC を溶解した培養液それぞれの作製方法について
- (8) MTA 浸漬液で細胞生存率が減少したことについて
- (9) MTA に NAC を添加した覆髄材の硬化速度と強度について
- (10) MTA に NAC を添加した覆髄材の抗菌性について

以上の質問に対して申請者から適切な回答が得られた。審査担当者との質疑応答を通して、申請者が本研究ならびに関連分野を十分に理解し、幅広い知識を有していることが明らかになり、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、審査担当者全員が、本研究が学位論文に十分に値し、申請者は博士(歯学)の学位を授与される資格があると認めた。