

最 終 試 験 の 結 果 の 要 旨

神奈川歯科大学大学院歯学研究科小児歯科学分野 中 島 知 佳 子 に
対する最終試験は、主査 槻 木 恵 一 教授、 副査 石 井 信 之 教授、
副査 高 橋 俊 介 教授、 副査 岡 暁 子 教授により、論文内容ならびに
関連事項につき口頭試問をもって行われた。

その結果、合格と認めた。

主 査 槻 木 恵 一 教授

副 査 石 井 信 之 教授

副 査 高 橋 俊 介 教授

副 査 岡 暁 子 教授

論 文 審 査 要 旨

Progress of LPS-induced apical lesion in rat immature
mandibular molars

神奈川歯科大学大学院歯学研究科

小児歯科学分野 中島知佳子

(指 導： 木本 茂成 教授)

主 査 槻木 恵一 教授

副 査 石井 信之 教授

副 査 高橋 俊介 教授

副 査 岡 暁子 教授

論文審査要旨

小児歯科臨床において、歯髄に感染を来した根未完成歯の歯根形成機序への影響は不明であり、感染歯髄や根尖歯周組織における遊走細胞、細胞間伝達物質の介在、および歯根形成メカニズムの解明が望まれていた。本研究では、感染実験モデルを構築して、根尖歯周組織の病理組織学的変化を観察することで、根尖性歯周炎の治癒過程に関与する因子の解明を試みており、その背景および目的は明確であり、今後の小児歯科臨床を見据えた貴重な研究であると評価できる。

方法は、生後 6 週齢 Wistar 系ラット（雄）に全身麻酔後、自作処置台に固定し、ラバーダム防湿下にて下顎右側第一臼歯を露髄させた。露髄部を洗浄後、根管内に Pg-LPS（処置群）または LPS フリー液（対照群）を 0.6 μ l (1.0 μ g/ μ l) 注入し、セメントで仮封しており、図での詳細な説明もされモデルとして有用であることが分かった。また、処置の 2 週間後、下顎右側第一臼歯根尖部から組織を採取し、抗体アレイにてサイトカイン等のタンパク質相対発現量を比較しており、マクロファージの分極や血管新生に関与する特定の蛋白については免疫組織学的染色法を用いた発現の確認が行われ点も評価できる。特に川本法により下顎臼歯根尖部の非脱灰凍結連続切片を作製し、HE 染色、TRACP-5b/ALP 活性染色、各種抗体を用いた免疫染色を行っている。この川本法による非脱灰切片を用いた解析は硬組織研究において重要な手法であり、丁寧な解析が行われ、研究手法について問題はない。さらに本研究は本学の実験動物倫理委員会の承認（#21-014）を得て実施しており、実験動物倫理規範に準拠して実験が実施されているのを確かめた。

その結果、LPS のみを直接ラット根未完成歯根尖部に作用させ、露髄後放置する方法と比較して定量的な LPS 注入の効果を検索することが可能であり、根尖性歯周炎のモデルが確立されている。さらに、抗体アレイの結果、硬組織誘導に関与するとされる Smad3 や ER \cdot 、ILK、IL-4 等が増加し、炎症性サイトカインである TNF のレセプター、TNF-R1 は減少した。 μ CT 撮影により、処置群では根尖部透過像の広がり認め、特に処置 2 週間後では対象群と比較して根尖部透過像体積は有意に増加していた。TRACP-5b/ALP 活性染色の結果、処置 2 週間後では ALP 陽性細胞と TRACP-5b 陽性細胞が歯槽骨の同一部位で認められ、対象群では処置群と比較して ALP 陽性細胞が TRACP-5b 陽性細胞より多く認められた。また、免疫染色の結果、CD68 は処置 1 週間後で強い発現を示し、その後低下した。CD163 は処置 2 週間後でより強い発現を示した。M2 マクロファージへの分極を誘導する IL-4、血管新生マーカーである VEGF/CD34 は、対象群と比較して処置 1 週間後でより強い発現を示した。以上の結果は明快であり、研究テーマに対する研究方法の組み立ては論理的であり、適切な解析手法により実験が行われている。以上より、歯槽骨破壊の進行と血管新生、M2 マクロファージへの極性変化が認められ、炎症から炎症治癒過程に関与するサイトカインを明らかにしたことは、根尖部の修復に関するメカニズムの一端の解明につながり新規性のある知見であると評価した。特に本

研究で発現の増加したサイトカインが治癒の因子になることが示唆され、今後の新しい治療法の開発につながる今後の小児歯科臨床に貢献する研究であると評価した。

本審査委員会は申請者が博士（歯学）の学位に十分値するものと認めた。