

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 佐野 拓人  
学位 博士 (保健学)  
学位記番号 新大院博 (保) 第 54 号  
学位授与の日付 令和 5 年 3 月 23 日  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
博士論文名 The Effect of Intentionally Perforating the Floor of the Pulp Chamber on Pulpal Healing after Tooth Replantation in Mice (髄床底部への意図的穿孔形成がマウス歯の再植後の歯髄治癒過程に及ぼす影響)  
論文審査委員 主査 教授 佐藤 英世  
副査 教授 佐藤 拓一  
副査 教授 池主 雅臣  
副査 教授 大島 勇人

博士論文の要旨

本研究は「歯の再植時の髄床底部への意図的穿孔形成が再植歯の歯髄腔への早期の血行回復を促し、結果として歯髄治癒促進に寄与する」という仮説を検証することを目的として遂行された。研究の概要と研究成果は下記に要約される。

【背景および目的】

申請者らはこれまでに歯の再植時の意図的歯根切除が早期の血行回復に働き、歯髄再生促進効果があること、再植後の歯髄内低酸素状態から早期の血行回復が歯髄静的幹細胞の活性化に必要であることが明らかになっている。しかしながら、根尖部歯髄には SCAP (Stem Cells from Apical Papilla) と呼ばれる幹細胞が存在しており、歯根切除術は血行の早期回復と引き換えに、この SCAP を喪失するという欠点がある。細胞の供給源である SCAP を喪失することは、歯の長期的な予後に影響を及ぼす可能性がある。従って、本研究では歯根長と SCAP の保持を可能にし、再植予後の改善に寄与することが期待出来る新規手法として、歯の再植時の髄床底部への意図的穿孔形成術が試みられた。本研究は「歯の再植時の髄床底部への意図的穿孔形成が再植歯の歯髄腔への早期の血行回復を促し、結果として歯髄治癒促進に寄与する」という仮説を検証することを目的として行われた。

【方法】

マウスを用いた歯の再植実験が行われた。深麻酔下で 3 週齢マウス上顎両側第一臼歯を抜去後、左側 (対照群) は即時再植し、右側 (実験群) は髄床底に直径 0.5 mm のカーバイドバーで穿孔形成し抜歯窩に再植された。術後 3 日~8 週まで経時的にアルデヒド系固定液にて灌流固定し、EDTA で脱灰・パラフィン包埋後、頭部矢状断パラフィン切片を作製し、HE 染色に加えて、象牙芽細胞分化マーカーである Nestin、細胞増殖活性解析のための Ki-67、マラッセの上皮遺残のマーカーとして CK14 の免疫組織化学が行われた。また、アポトーシスの評価のために TUNEL 染色が行われた。画像解析ソフトを用いて、対照群・実験群の歯髄・象牙質界面の Nestin 陽性率、歯髄腔内の Nestin 陽性/陰性硬組織形

成率、Ki-67 陽性細胞率、CK14 陽性マラッセの上皮遺残数、TUNEL 陽性細胞率が計測された。

#### 【結果と考察】

実験群では、対照群と比較して、術後 3～5 日での歯髄内アポトーシスの減少と細胞増殖活性の増加、術後 2 週の再植歯遠心根での Nestin 陽性率の有意な増加、歯髄腔内の第三象牙質形成の有意な増加が確認された。従って、実験群では、髄床底部への意図的穿孔形成が早期の血行回復を促し、歯髄中央部血管周囲の幹細胞・前駆細胞が対照群に比べて多く残存し、歯髄治癒を促進した可能性が示唆された。対照群では骨様組織形成が有意に多く見られたことから、実験群と対照群では、歯髄治癒に関わる幹細胞・前駆細胞の異なる動態が推測された。今回の実験では、実験群の髄床底穿孔部でアンキローキスが惹起され、マラッセ上皮遺残数は、穿孔形成により歯根膜組織の損傷を受けた実験群で少ない傾向があり、特に 7 日目では有意に少ないことが確認された。今後は穿孔の大きさを調整し、マラッセの上皮遺残細胞を含む歯周組織の損傷を最小限にすることでアンキローシスを抑制しつつ歯髄治癒を促進する方法論の確立が必要である。

本研究では、歯の再植時に髄床底部を人為的に穿孔形成することが、再植歯歯髄腔の血行回復に有利に働き、Nestin 陽性象牙芽細胞様細胞分化並びに第三象牙質形成を促進することが実証された。髄床底部穿孔形成術は、完全脱臼歯の再植において、SCAP を維持しつつ、歯髄を保存することが可能な新規治療方法の確立に繋がることが期待される。

#### 審査結果の要旨

学位申請論文は、主査 1 名、副査 3 名の計 4 名で審査を行った。

#### 1. 保健学における研究の価値と貢献

本論文は、歯の再植時に意図的に髄床底部に穿孔形成することが、再植後の歯髄腔内への血行回復を促し、結果として歯髄治癒を促進させることを実証した。先行研究の歯根切除による血行回復の促進と比較し、本論文の髄床底部穿孔形成術は、歯根長と根尖部に存在する幹細胞を保存したまま血行回復の促進が可能な手法である。研究結果は詳細な標本観察に基づいており、客観的な定量法と組み合わせることで適切に評価され論理的考察がなされている。本論文は新規性、有効性、信頼性のいずれも秀でており、保健学に貢献する優れた論文であると、判断する。

#### 2. 論文構成と内容に関する審査

本論文は、1. Introduction, 2. Materials and methods, 3. Results, 4. Discussion, 5. Conclusions で構成されており、論文の趣旨を把握するために、各章の内容は十分に詳細に書かれている。また、以下の点を全て満たしている。

- ・タイトルが、論文の趣旨を捉えており明解で簡潔である。
- ・目的と背景 (Introduction) が、明解かつ簡潔に記されている。
- ・理論/方法 (Materials and methods) が、正しく論理的であり、客観的に明解に記述されている。
- ・結果 (Results) が、正当で、図、写真、表が適切であり、客観的・論理的に記述されている。
- ・考察 (Discussion) が、正当で客観的・論理的であり、著者の主張や結論を支持するデータが十分である。

- 結論 (Conclusions) が、目的に対応して適切に導かれており、記述が簡潔である。
- 引用文献 (References) が、本文中に現れた順に適切に参照されている。
- 図、写真 (Figures) が、見やすく、数や表現が適切である。
- キャプションが、明解で適切である。
- 書式が、適切である (誤字脱字がない、文体が統一されている、用語が適切である、など)

よって、論文構成およびその内容は学位論文としての要件を満たすものであると判断する。

### 3. 総括

審査の結果、本論文は博士 (保健学) の学位論文として十分な価値を有するものとする。