

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

論文提出者	後藤 昌彦
論文審査委員	(主 査) 朝日大学・歯学部・教授 萩谷 俊昭 (副 査) 朝日大学・歯学部・教授 江丸 貞一 (副 査) 朝日大学・歯学部・教授 田沼 順一 (外部審査) 星城大学・リハビリテーション学部・教授 久保 金弥
論文題目	ニコチン経口摂取がラット歯槽骨に及ぼす影響
<p>論文審査の要旨</p> <p>歯周病はプラークなどの細菌因子だけではなく、宿主因子、環境因子などが関与し歯周病の発症や進行を促進していると言われている。その中でも喫煙は環境因子の代表的なリスクファクターと言える。タバコに含まれる三大有害物質はニコチン、タール、一酸化炭素であり、その中でもニコチンについての研究が多く報告されている。ニコチンは歯周治療後やインプラント治療後の創傷治癒に影響を及ぼし治癒の遅延を起こすと言われている。また、ニコチンには破骨細胞を活性化させ、歯周組織の破壊を促進させる報告がある。しかしながら、ラットなどの生体を用いた研究は少なく、未だ解明されていないのが現状である。</p> <p>ラットを用いて、ニコチン含有蒸留水を 6 か月間、経口投与することにより、ニコチンが歯槽骨に及ぼす影響を組織学およびマイクロ CT を用いた画像解析により観察することが目的である。</p> <p>実験の材料と方法には、実験動物はウイスター系雄性ラット(生後 16 週齢) 10 匹を用いた。実験部位は上顎左側第二臼歯とした。ラットは実験群 5 匹、コントロール群 5 匹に分けた。実験群にはニコチン含有蒸留水 (0.1mg/L) をコントロール群には蒸留水を経口摂取させた。飲料水を経口摂取させた時点を実験開始とし、ベースライン(BL)とした。両群とも実験が終了するまで飲料水を自由摂取させた。両群のラットは BL から 6 か月目の屠殺時まで 1 か月毎に体重測定を行った。体重測定後、ソムノペンチル® (共立製薬株式会社, 東京) にて腹腔内投与 (0. 55ml/kg) にて全身麻酔を行い、ScanXmate-RB 090SS (コムスキャンテクノ株式会社, 東京) を使用し、Micro Computed Tomography (マイクロ CT 撮影) (ダイナミック撮影) を行った。屠殺後にラット上顎組織を採取し、組織を正中で左右に分割し、上顎左側第二臼歯をマイクロ CT 撮影 (水平撮影) にて撮影した。マイクロ CT 撮影後、採取した組織は 4%パラホルムアルデヒド固定液にて固定を行った。固定後、10%EDTA 液にて脱灰、パラフィンにて包埋した。厚さ 4μm の薄切切片 (頬・口蓋側方向) を作製した。作製した切片はヘマトキシリン・エオジン染色 (H-E 染色) と酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ染色 (TRAP 染色) を行った。マイクロ CT 画像は画像解析ソフト (TRIBon、Osirix) により頬側と口蓋側の CEJ から歯槽骨頂までの距離を計測した。また、根分岐部の骨密度 (BMD) についても計測を行った。TRAP 染色像では歯槽骨骨頂部および根分岐部の TRAP 陽性多核細胞数の計測を行った。</p>	

その結果、マイクロ CT 撮影後、画像解析ソフトにより CEJ から歯槽骨頂までの距離を計測した結果、両群とも経時的に歯槽骨の吸収が認められた。実験開始後 6 か月目のコントロール群の頬側は $83.1 \pm 13.9 \mu\text{m}$ 、口蓋側は $68.6 \pm 6.9 \mu\text{m}$ に対し、実験群の頬側は $171.5 \pm 50.9 \mu\text{m}$ 、口蓋側は $112.2 \pm 29.6 \mu\text{m}$ であった。頬側、口蓋側どちらも実験群で有意に歯槽骨の吸収の増加を認めた。特に、実験群の頬側で高い歯槽骨吸収を認めた。根分岐部の BMD においてはコントロール群 ($614.8 \pm 96.5 \text{mg/cm}^3$) と実験群 ($607.2 \pm 131.3 \text{mg/cm}^3$) を比較した結果、有意差は認められなかった。TRAP 染色像の頬側においてはコントロール群 (4.2 ± 1.9 個) と比較し、実験群 (9.8 ± 4.1 個) において TRAP 陽性多核細胞が有意に認められた。

考察としては *In vitro* の研究においてニコチンは破骨細胞の分化や骨の主な構成要素であるリン酸カルシウムの吸収を促進させることや RANKL を活性化させ破骨細胞による骨吸収を促進することが報告されている。

In vivo の研究では歯周病に罹患していない患者の前歯部の CT 撮影を行い歯槽骨の幅や CEJ から歯槽骨頂までの距離を測定した研究では、いずれも非喫煙者に比べ喫煙者の方が有意に骨幅の減少や骨吸収の増加が認められた。

本研究においても、ニコチンの長期経口摂取により歯槽骨の TRAP 陽性多核細胞数の比較では実験群がコントロール群より TRAP 陽性多核細胞数が多く認められた。また、頬側と口蓋側における歯槽骨の吸収の促進を示した。特に、頬側歯槽骨に著明な吸収活性を示したことは上顎第二臼歯の歯軸の傾斜や対合歯との咬合関係により頬-口蓋側的に咬合性の外力を受けやすく、また、頬側歯槽骨の骨幅が薄いなどの歯周組織の構造状の問題により骨吸収が起こりやすい状態になっており、ニコチンを摂取することにより RANKL が活性化し骨吸収を促進させただけでなく、間接的に水分や食料摂取不足による栄養失調、またはストレスなどが関係し歯槽骨に影響を与えたのではないかと考えられる。

結論として、ニコチンの長期経口摂取はラット歯槽骨の吸収を増加させることが示唆された。特に頬側の骨吸収を促進させることが示唆された論文である。

以上の結果を評価し、本論文は博士（歯学）の学位を授与するに値すると判断するものである。