



Title	ラット実験的根尖病巣に対する免疫抑制剤 (Cyclosporin A) 投与の影響について
Author(s)	河原, 敬
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44026
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	かわはら たかし 河 原 敬
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 1 7 7 2 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 15 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科歯学臨床系専攻
学 位 論 文 名	ラット実験的根尖病巣に対する免疫抑制剤 (Cyclosporin A) 投与の影響 について
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 恵比須繁之 (副査) 教 授 森崎市治郎 助教授 石田 武 助教授 島袋 善夫

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

Cyclosporin A (CsA) に代表される免疫抑制剤の開発・発展により、臓器移植の成功率が著しく改善されてきた。免疫抑制剤投与に伴う宿主免疫能の低下により口腔感染症が増悪する可能性があることから、ほとんどの移植症例において免疫抑制剤投与前に口腔内感染巣の除去が行われている。

根尖性歯周炎は、感染根管治療を行っても治療効果の判定には長期間を要するため、免疫抑制剤投与前に治療の成否を判定することが困難で、免疫抑制剤投与中に根尖病巣が残存する可能性がある。一方、CsA の投与により根尖病巣がどのような変化を示すのかについて検討した報告は見られない。

本研究では、CsA の投与が実験的根尖病巣に及ぼす影響について検討するため、ラットに実験的慢性根尖病巣を惹起させた後、CsA を投与し、Computed Tomography (CT) を用いた三次元画像解析により、同一個体における根尖病巣の大きさを経時的に計測した。さらに、CsA の投与が根尖病巣に与える影響を調べるため、病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検索した。

【研究方法】

1. 実験的根尖病巣の惹起

全身麻酔下にて5週齢雄性 Wistar 系ラットの左右下顎第一臼歯を咬合面遠心小窩より露髄させた後、4週間放置し、実験的慢性根尖病巣を惹起した。

2. CsA の投与

実験的根尖病巣惹起後、CsA を 5、10 あるいは 20 mg/kg/day の割合で腹腔内投与した。また、CsA の投与は4週間行い、生理食塩水投与群を対照とした。

3. CT による根尖病巣の三次元画像解析

根尖病巣の大きさは、CsA 投与開始 0、1、2、4 週間後および CsA 投与終了 4 週間後に CT scanner (Light Speed Qx/I ver. 1.3, GE) にて計測した。ラット顎顔面部を冠状断層撮影した後、病巣部位を骨モードで再構成し、画像解析ソフト (Advantage Window TM/Ver. 3.1, GE) を用いて、実効スライス厚さ 0.2 mm で行った根尖病巣の冠状断層

像から最大横断面積を決定した。そして、得られた断層面積から各スライス間毎の体積を算出し、その総和を根尖病巣の体積とした。

4. 病理組織学的および免疫組織化学的検索

CsA 投与開始4週間後あるいは投与終了4週間後のラットを灌流固定後、下顎骨を摘出し、浸漬固定、低温脱灰した後、連続凍結切片（8 μ m）を作製した。得られた切片のうち根尖病巣の中央部で薄切されたものを選択し、hematoxylin-eosin 染色を施し、画像解析ソフトを用いて根尖病巣の断面積を測定するとともに病理組織学的検索を行った。他の一部の切片は、ラット T 細胞表面マーカー（CD3 および CD25）に対するモノクローナル抗体を用いた免疫染色を行い、各陽性細胞数は方眼マイクロメーターを用いて計測した。

【結果】

1. 根尖病巣の経時的変化

CsA 投与期間中における CsA 投与群の根尖病巣は、経時的に縮小する傾向を認めた。一方、対照群の根尖病巣は緩徐な拡大傾向を示した。CsA 投与開始4週間後では、いずれの CsA 投与群の根尖病巣の体積も対照群に比べて小さかった（ $p < 0.05$ ）。CsA 投与終了4週間後の根尖病巣の体積は、CsA 投与開始4週間後に比べ、すべての CsA 投与群で有意に増加した（ $p < 0.05$ ）のに対し、対照群において有意な増加は認めなかった。

2. 病理組織学的検索ならびに組織形態計測

全実験群において、根尖部に膿瘍形成がみられ、その周囲を線維性組織が被包しているのが観察された。CsA 投与開始4週間後では、いずれの CsA 投与群の切片上での根尖病巣の断面積も、対照群に比べ有意に小さかった（ $p < 0.05$ ）。CsA 投与終了4週間後の CsA 投与群では、病巣辺縁部における骨吸収形態は、部分的に不規則な形状を呈していた。

3. 免疫組織化学的検索

CsA 投与開始4週間後では、根尖病巣中における CD3 および CD25 陽性細胞数は、いずれの CsA 投与群も対照群と比較して有意に減少しており（ $p < 0.01$ ）、10 および 20 mg/kg/day 投与群において CD25 陽性細胞は、ほとんど観察されなかった。CsA 投与終了4週間後では、CD3 および CD25 陽性細胞は投与開始4週間後に比べ、増加する傾向を示し、CsA 投与群の CD3 陽性細胞数は対照群に比べ有意に多かった（ $p < 0.05$ ）。

【考察および結論】

1. ラットの実験的根尖病巣を CT により経時的かつ三次元的に計測する実験系を確立した。
2. CsA 投与により根尖病巣は経時的に縮小し、さらに投与を終了すると病巣は拡大することが明らかとなり、CsA 投与が根尖病巣の拡大・進展に抑制的に作用し、その作用は可逆的であることが解明された。
3. CsA 投与により根尖病巣内において T 細胞の浸潤および活性化が阻害され、投与を終了すると T 細胞の浸潤および活性化が再び生ずることが明らかとなり、CsA の薬剤効果が根尖病巣局所においても発現することが明らかとなった。
4. CsA 投与によるラットの実験的根尖病巣の縮小は、CsA 投与による実験的根尖病巣内への T 細胞の浸潤および活性化の抑制の結果、骨吸収性サイトカインによる骨吸収が阻害され根尖病巣が縮小した可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、ラットの根尖病巣を CT scanner を用いて経時的かつ三次元的に計測する手法を確立し、免疫抑制剤 Cyclosporin A の投与が病巣局所に及ぼす影響をその手法により検索するとともに、病理組織学的および免疫組織学的に調べたものである。その結果、Cyclosporin A の投与により、実験的根尖病巣は経時的に縮小し、投与を終了すると病巣は拡大することが明らかにされた。さらに、Cyclosporin A 投与中は根尖病巣内においても T 細胞の浸潤および活性化が阻害され、投与を終了すると再び T 細胞の浸潤および活性化がおこることが明らかにされた。

以上の研究成果は、免疫抑制剤投与中および投与終了後の根尖病巣の管理に、基礎となる重要な情報を提供するものであり、博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。