



Title	超高磁場 MRI を用いたう蝕の進行に伴う可逆性・不可逆性歯髄炎の新規診断法の基盤の確立
Author(s)	森山, 輝一
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/95998
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (森山 輝一)

論文題名

超高磁場 MRI を用いたう蝕の進行に伴う可逆性・不可逆性歯髄炎の新規診断法の基盤の確立

【研究目的】

近年、歯髄保存の重要性が注目されており、従来は抜髄処置の適応であったう蝕が原因の露髄に対しても、不可逆的炎症に陥った歯髄組織のみを選択的に除去する生活歯髄切断（断髄）処置をおこなうことで、残存した健全歯髄の保存が可能であることが多く報告されている。しかし、現在臨床で用いられている温度診や電気歯髄診などの歯髄診査法では、歯髄の炎症がどこまで拡大しているかを術前に正確に決定するのは困難であり、より客観的な診査法の開発は喫緊の課題である。そこで本研究では、主に軟組織の検査法として広く使用され、微細な領域を観察可能な超高磁場 Magnetic Resonance Imaging (MRI) を用いて、う蝕に罹患した後の歯髄組織の炎症について経時的な評価をおこなうこととした。加えて、病理組織学的評価を併用することにより、う蝕の進行に伴う可逆性および不可逆性歯髄炎を判定する非破壊的な新規術前診断法の基盤を確立することを目的とした。

【材料・方法】

本研究における動物実験は、大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認のもと、大阪大学動物実験規定に則って実施した（承認番号：動歯 R-01-017-0）。

実験 1. MR 画像を用いたラット歯髄組織の定量評価のための内在性コントロールの確立

雄性 Sprague-Dawley (SD) ラットの頭部に対して、生後 28 日齢から 70 日齢にわたり週 1 回、7 tesla (T) MRI により T2 強調画像と T2 map 画像を撮影した。撮影した T2 map 画像について Image J を用いて解析をおこない、同一撮影面の T2 強調画像上において、ラットの日齢および個体に依存せず、ほぼ一定の T2 値を示す部位を探索した (n = 4)。探索後に得られた部位を、以降の実験において内在性コントロールとして用いることとした。なお本研究では、周辺と比較して高い MR 信号領域が認められる部位を「高 MR 信号領域」と、低い MR 信号領域を認める部位を「低 MR 信号領域」と呼称することとした。

実験 2. MRI を用いたう蝕由来歯髄炎の経時的観察

生後 14 日齢の雄性 SD ラットの口腔内に *Streptococcus mutans* MT8148 株を感染させ、スクロース高配合う蝕誘発飼料を摂取させて飼育することにより、う蝕を誘発させた。その後、う蝕誘発を継続しつつ、28 日齢から 70 日齢にわたり同一個体を対象に、週 1 回の MRI (T2 強調画像)、ならびにマイクロ CT 画像を撮影した。う蝕の進行の指標については、マイクロ CT 画像において象牙質脱灰層が象牙質厚さの 1/3 ~ 2/3 のものを moderate 群、2/3 以上のものを severe 群、露髄に至るものを exposed 群と分類し、う蝕のない歯を sound 群とした。さらに Image J を用いて、う蝕直下の歯髄における MR 信号強度を、実験 1. にて確立された内在性コントロールと比較することにより定量評価をおこなった (各群 n = 8)。

実験 3. う蝕の各進行段階における歯髄の病理組織学的評価

実験 2. と同様の方法でう蝕を誘発した各群のラットに対して、MRI (T2 強調画像)、マイクロ CT 画像を撮影後、屠殺をおこなった。その後、通法にて薄切切片を作成し、ヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色、ならびに T リンパ球等の炎症性細胞のマーカーである CD43、マクロファージのマーカーである CD68、そして不可逆性歯髄炎の分子マーカー候補と報告されている Matrix metalloproteinases 9 (MMP9) の各々に対する抗体を用いて免疫組織化学染色を実施した。

実験 4. 断髄による不可逆性歯髄炎領域の特定

断髄実験に使用する各種歯科材料の、MRI 撮影時における磁化率アーチファクトの有無を確認するために ProRoot® MTA、歯面処理剤、コンポジットレジン、内径 3 mm、高さ 10 mm のテフロ

ン製のモールド内に填入し、得られた硬化体を蒸留水で満たしたマイクロチューブ内に入れ、その後 7T MRI を用いて、各チューブの T2 強調画像を撮影した。コントロールとしては、何も充填していないモールドを用いた。

う蝕が進行し、exposed 群に至ったラットに対して、MRI (T2 強調画像)およびマイクロ CT 画像の撮影をおこなった。その後、ラウンドバーを用いて、う蝕と T2 強調画像における低 MR 信号領域の歯髄を除去した。止血を確認後、ProRoot® MTA を露髄面に貼付し、歯面処理の後、コンポジットレジンで充填した。6 週間経過後、MRI (T2 強調画像)、マイクロ CT 画像の撮影、H-E 染色、ならびに CD43, CD68, および MMP9 の各々に対する抗体を用いた免疫組織化学染色をおこない、断髄の結果を評価した。

【結果・考察】

実験 1. ラット臼歯の歯髄を含む T2 map 画像を、同一撮影断面の T2 強調画像を参照しながら Image J により解析した結果、ラットの咬筋深部において日齢・個体に依存せず、有意差なくほぼ一定の T2 値が得られることが示された ($p > 0.05$, one-way ANOVA, Tukey test)。この結果から、今後の MRI を用いた実験における定量評価は、咬筋深部を内在性コントロールとして使用することとした。

実験 2. う蝕誘発群と sound 群の歯髄における T2 強調画像を比較したところ、う蝕の各進行段階において特異的な T2 強調画像が得られることが同一個体において経時的に観察された。このことから、う蝕の進行状況に応じて、歯髄組織において異なる病態が引き起こされている可能性が示された。一方 Image J により、う蝕近傍歯髄組織における MR 信号強度について、咬筋深部における MR 信号強度に対する MR 信号比の定量評価をおこなった結果、sound, moderate, および severe 群間においては統計学的な有意差は認められなかったのに対して、exposed 群においては他の群と比較して有意に低い MR 信号比が得られた ($p < 0.05$, one-way ANOVA, Tukey test)。

実験 3. 病理組織学的評価の結果、moderate 群においては T2 強調画像上での高 MR 信号領域とほぼ一致して、CD43 もしくは CD68 を発現する炎症性細胞の浸潤が認められた。severe 群では高 MR 信号領域の拡大とともに、両炎症性細胞の浸潤が moderate 群よりも広範囲に拡大する様子が観察された。さらに exposed 群では、露髄部近傍の歯髄組織において観察された低 MR 信号領域において、両炎症性細胞が他群よりも多く集積している像が観察された。また、sound, moderate, および severe 群の歯髄組織には MMP9 の発現が認められなかったのに対して、exposed 群では低 MR 信号領域とほぼ一致して MMP9 の発現が観察された。以上の結果より、MR 信号強度が有意に低下している領域においては、CD43, CD68, そして MMP9 の強い発現が認められ、同部にはより重篤な歯髄炎が発症しているものと考えられた。

実験 4. 断髄実験で使用する全ての歯科材料に関して、明らかな磁化率アーチファクトは観察されなかった。このことから、本検証に用いた歯科材料を用いて、断髄実験をおこなうこととした。

断髄より 6 週間経過後のマイクロ CT 画像より、断髄部直下に第三象牙質の形成を認め、かつ根尖部透過像は認められなかった。また T2 強調画像より、断髄直下の歯髄においては生活反応が認められた。さらに H-E 染色と各種免疫組織化学染色の結果より、歯髄組織内、および根尖周囲組織において明らかな炎症所見は認められなかった。以上の結果から、低 MR 信号領域を指標に不可逆性炎症に陥った歯髄組織を除去する断髄をおこなうことにより、残存した歯髄組織は正常状態に回復することが示唆された。これは MRI を用いることで、不可逆性歯髄炎が発症している領域を術前に非破壊的手法にて診断可能であるということを示すものである。

【結論】

超高磁場 MRI を用いることで、非破壊的かつ定量的な、う蝕由来不可逆性歯髄炎の新規診断法の基盤が確立された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (森 山 輝 一)		
	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授 林 美加子
	副 査	教授 村上 秀明
	副 査	准教授 大川 玲奈
	副 査	講師 村上 旬平
論文審査の結果の要旨		
本研究は、ラットう蝕由来歯髄炎モデルに対して、超高磁場 MRI と病理組織学的評価を用いることにより、歯髄炎の新たな術前診断法の確立を目指したものである。 その結果、超高磁場 MRI により歯髄組織内における不可逆性炎症領域の検知が可能であり、病理組織学的評価からも MRI を用いた術前歯髄診断の妥当性が示された。 以上のように非侵襲的な術前歯髄診断技術の基盤が確立されたことは、歯髄炎の病態解明と歯髄保存療法の普及に大きく寄与するものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。		