

ふりがな 氏名	よう にゅうしん 楊 妞馨
学位の種類	博士（歯学）
学位記番号	甲 第 962 号
学位授与の日付	令和 5 年 3 月 3 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項に該当
学位論文題目	Identification of Senescent Cells in Peri-implantitis and Prevention of Mini-implant Loss Using Senolytics （インプラント周囲炎における老化細胞の同定とセノリティクスによるミニインプラント脱落の防止）
学位論文掲載誌	International Journal of Molecular Sciences 第 24 巻 第 3 号 令和 5 年 1 月
論文調査委員	主査 松本 尚之 教授 副査 橋本 典也 教授 副査 本田 義知 教授

### 論文内容要旨

ミニインプラントを用いた矯正歯科治療において、インプラント周囲炎が引き起こす脱落は喫緊の課題である。近年、様々なストレスにより誘導された細胞老化が、炎症性サイトカインやケモカインなどの分泌現象（SASP）を介して、周囲の細胞や組織を障害することにより様々な炎症性疾患に関与することが明らかとなった。また、老化細胞除去薬（senolytics）の応用により、老化細胞の除去を介して様々な疾患の症状を改善することが報告されている。しかし、インプラント周囲炎と老化細胞の関係についてはほとんど報告がなされている。そこで本研究では、ガムリングを用いたラットインプラント周囲炎モデルを作成し、老化細胞の存在について評価を行った。さらに、老化細胞除去薬（DQ: dasatinib + quercetin）の投与による、老化細胞除去効果とインプラントの動揺や脱落に及ぼす影響について検討を行った。

Sprague Dawley 雄性ラット（8 週齢、平均体重約 200g）上顎前歯の 4mm 後方の頬側歯槽骨にミニインプラントを埋入した。さらに、インプラントと粘膜の間に矯正用ガムリング（GR）を設置した。埋入後、4 日おきに DQ を経口投与した。GR を設置しない implant 群（対照群）、GR を設置する implant+GR 群（実験群 1）、さらに DQ を投与する implant+GR+DQ 群（実験群 2）の 3 群に分けた（各 n=5）。埋入後 12 日、24 日でサンプルを回収し、組織学的解析を行った。蛍光免疫染色により炎症マーカー（IL-6、TNF- $\alpha$ ）および老化マーカー（p19、p21、p16）の評価を行った。ミニインプラント埋入時、12 日後、24 日後にペリオテスト M を用いてミニインプラントの動揺度を測定し、また脱落の有無を確認した。

実験の結果、実験群 1 では炎症マーカー (IL-6、TNF- $\alpha$ ) および老化マーカー (p19、p21、p16) 陽性領域の増加が認められた。また、実験群 2 では実験群 1 と比較して老化マーカー (p19、p21、p16) 陽性領域の減少が認められた。埋入後、対照群では経時的に動揺度の低下を認めたのに対し、実験群 1 では動揺度の顕著な上昇を示し、24 日後には 60% のサンプルが脱落した。それに対し、実験群 2 では動揺度は経時的に低下を認め、さらに 24 日時点で脱落するサンプルは認めなかった。本研究の結果、作成したラットインプラント周囲炎モデルにおいて、老化細胞が存在することが明らかになった。さらに、DQ の投与により、老化細胞を除去できるだけでなく、インプラントの動揺と脱落を改善できることが示唆された。

## 論文審査結果要旨

近年の矯正歯科治療では、ミニインプラントの使用頻度が徐々に増えてきている。このような場合、ミニインプラント周囲炎による脱落が喫緊の問題となっている。近年、様々なストレスによって引き起こされる細胞の老化が、炎症性サイトカインやケモカインの分泌 (SASP) などの現象によって周囲の細胞や組織を傷つけ、様々な炎症性疾患に関与していることが明らかになってきた。さらに、老化細胞除去薬を経口投与することにより、老化細胞を除去して様々な疾患の症状を改善できることが明らかにされている。しかしながら、インプラント周囲炎と老化細胞の関係については、ほとんど研究が行われていない。本研究では、Gum-Ring を用いたラットインプラント周囲炎モデルを作成し、老化細胞の存在を評価した。また、老化細胞を除去する薬剤 (DQ : ダサチニブ+ケルセチン) を投与し、ミニインプラントの動揺度やインプラントの脱落に与える影響について検討を行なった。

本研究では、8 週齢の雄の Sprague Dawley ラットを用いて、上顎前歯から 4mm 後方の頬側歯槽骨にミニインプラントを埋入した。また、ミニインプラントと粘膜の間に歯列矯正用 Gum-Ring (GR) を設置した。実験グループは、GR を設置しない implant 群 (コントロール群), implant+GR 群, implant+GR+DQ 群 (各群 n=5) の 3 群を設定した。術後 12 日目と 24 日目にサンプルを回収し、組織学的に分析した。炎症マーカー (IL-6、TNF- $\alpha$ ) および老化マーカー (p19、p21、p16) を蛍光免疫染色で評価した。また、ミニインプラント装着時、術後 12 日後、24 日後にペリオテスト M で動揺度を測定し、脱落の有無も確認した。

実験の結果、implant+GR 群では、炎症マーカー (IL-6、TNF- $\alpha$ )、老化マーカー (p19、p21、p16) の陽性面積が増加することが確認された。さらに、implant+GR+DQ 群では、implant+GR 群に比べて老化マーカー (p19、p21、p16) の陽性面積の減少が観察された。術後、動揺度は対照群では経時的に減少したが、implant+GR 群では有意に増加した。24 日後の implant+GR 群では 60% のミニインプラントが脱落した。一方、実験群 2 では、経時的に動揺度が減少し、24 日後に脱落したサンプルはなかった。この結果から、ラットインプラント周囲炎モデルには、老化細胞が存在することが示された。さらに、DQ の経口投与により、老化細胞が除去されるだけでなく、ミニインプラントの可動性や脱落が改善されることが示された。

これらの結果から、本研究のラットインプラント周囲炎モデルは、今後のインプラント周囲炎の研究に新たなアイデアを提供できるものと考えられる。また、老化細胞除去薬は、臨床分野でミニインプラント脱落を防ぐ治療法として使用できる可能性が証明された点において、本論文は博士 (歯学) の学位を授与するに値すると判定した。