

Title	象牙質における加齢変化と微小亀裂との関連の検討
Author(s)	久保, 美寿穂
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/52353">https://doi.org/10.18910/52353</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 久 保 美 寿 穂 )	
論文題名	象牙質における加齢変化と微小亀裂との関連の検討
論文内容の要旨	
<p><b>【研究目的】</b></p> <p>歯科臨床において、歯の破折は歯の喪失原因となる。破折の原因となる亀裂に関して、若年では細管構造が亀裂伸展の抵抗を示し、高齢者では細管の閉塞が亀裂伸展の抵抗を低下させるという報告があり、亀裂は象牙質の細管構造と密接な関連があることが知られている。また、象牙質は、加齢によって細管の閉塞のように構造や物性が変化すると指摘されており、亀裂の伸展と加齢には密接な関係があると考えられる。象牙質の基質タンパク質であるコラーゲン線維においても、最終糖化生成物 (<b>Advanced Glycation End-products</b>以下<b>AGEs</b>) という非常に安定な物質を形成し象牙質の構造および物性への影響が指摘されているが、象牙質内の<b>AGEs</b>の局在や動態を調べた報告はなく、加齢に伴う象牙質における<b>AGEs</b>形成の詳細は未だわかっていない。そのため、象牙質の微細構造の加齢変化と亀裂の関連に関する詳細な研究は行われていない。本研究では、象牙質における形態学的変化、及び糖化修飾による生体学的変化と象牙質微小亀裂伸展との関連を解明することを目的とした。</p> <p><b>【材料と方法】</b></p> <p>1) 象牙質微小亀裂の超微形態学的評価</p> <p>試料に若年者 (30歳未満) と高齢者 (60歳以上) のヒト抜去歯を用い、ホイールソーにて歯軸と直交方向に1mm厚に切断した。未脱灰試料における亀裂の評価では、脱灰せず浸漬固定を行いエポキシ樹脂にて包埋した。圧子にて微小亀裂を作製しエポキシ樹脂で再包埋を行い、トリミング後に再々包埋を行った。硬化後、ウルトラミクロトームにて切片を作製し、透過型電子顕微鏡 (以下<b>TEM H800</b>、日立) および超高压電子顕微鏡 (以下<b>UHEM1</b>、<b>H8000</b>、日立) にて亀裂の観察を行った。脱灰試料における亀裂の評価では、亀裂作製を行った未脱灰試料を用いてウルトラミクロトームにて4<math>\mu</math>mの薄切切片を作製し、プレパラート上で10%<b>EDTA</b>にて脱灰し、倒立包埋法にて包埋後、超薄切片を作製して<b>TEM</b>観察を行った。</p> <p>2) 象牙質の石灰化度評価</p> <p>象牙質の組成分析と石灰化密度の測定を行った。組成分析では、包埋した象牙質未脱灰試料をウルトラミクロトームにて表面を露出させ、導電処理を施した後にエネルギー分散型X線分光法にて行った。分析装置にはエネルギー分散型X線分析装置 (以下<b>EDX</b>、<b>VE9800</b>、<b>KEYENCE</b>) を用いた。ミネラル密度測定では、包埋した象牙質未脱灰試料をコンピューター断層撮影 (以下<b><math>\mu</math>CT</b>、<b>R<sub>n</sub>CT2</b>、<b>Rigaku</b>) にて撮影を行った。撮影条件は、X線管電圧90kV、X線管電流160<math>\mu</math>Aとし、撮影時間は3分で撮影を行った。</p> <p>3) 象牙質コラーゲン線維における<b>AGEs</b>沈着の検討</p> <p>象牙質基質における<b>AGEs</b>関連物質の局在を調べるため免疫組織化学的染色を行った。試料を10%<b>EDTA</b>にて脱灰し、2%<b>PEA</b>による浸漬固定を行った後パラフィン包埋を行い、薄切切片を作製した。一次抗体に抗<b>AGE</b>マウスモノクローナル抗体を用い、二次抗体にはビオチン標識ラビット抗マウス<b>IgG</b>を使用し標識酵素にペルオキシダーゼ、発色基質にジアミノベンジジンを用いた。また、低荷重物性試験機にて脱灰試料の物性値測定を行った。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>1) 象牙質微小亀裂の超微形態学的評価</p> <p>未脱灰試料観察において、高齢者は、若年者と比較し象牙細管の直径が小さく、管周象牙質が肥厚している様相を認めた。<b>TEM</b>による亀裂観察においては、若年者では亀裂が象牙細管と交通し、象牙質内を断続的に、かつ蛇行して進む傾向が認められた。一方、高齢者においては、管間象牙質内を直線的に、また管周象牙質では肥厚した管周象牙質を回りこみながら、象牙質内を連続的に進む傾向が認められた。トモグラフィー撮影においては、若年者では象牙細管と交通し、高齢者では管周象牙質を迂回し象牙細管を避けるように伸展する様相を立体的に観察することができた。脱灰試料の観察においては、亀裂破断面に沿ってコラーゲン線維が断裂している像が観察されたが、</p>	

若年者と高齢者では断裂像の様相において著明な差は認められなかった。

## 2) 象牙質の石灰化度評価

EDXによる組成分析において、管間象牙質における若年者と高齢者間の比較では、カルシウム (Ca) とリン (P) の比率に顕著な差は認められず、炭素 (C) に対するCaの相対量においても有意差は認められなかった。また、 $\mu$ CT画像の分析による石灰化密度評価では、若年者と高齢者の両者間に有意差は認められなかった。

## 3) 象牙質コラーゲン線維におけるAGEs沈着の検討

免疫組織化学的染色に関して、若年者では歯髄近傍の象牙質のみにAGE陽性反応が強く認められた。高齢者では歯髄近傍の象牙質に強い陽性反応がみられ、歯髄近傍からエナメル象牙境に向かって陽性反応が徐々に減弱していく傾向を認めた。強拡大像からAGEs陽性部位に関しては、象牙細管周囲のコラーゲン線維に陽性反応が認められた。また、コラーゲン線維にAGEsが沈着することで、加齢に伴いコラーゲン線維の物性値の変化が認められた。

### 【考察および結論】

加齢に伴い管周象牙質が肥厚することが認められた。EDXによる組成分析から管間象牙質においては、若年者と高齢者の両者間に有意差は認められなかった。また、 $\mu$ CTによる石灰化密度の分析においても、若年者と高齢者間に有意差は認められなかった。そのため、加齢に伴う石灰化の亢進においては、管周象牙質の添加がその多くを占めており、加齢に伴う石灰化物の添加は総カルシウム量と比較し微量であると考えられる。

免疫組織化学染色から、象牙細管周囲のコラーゲン線維に沈着するAGEsは、加齢により増加することが認められた。また、管間象牙質を構成するCaの比率では、年齢による大きな差が認められなかったことから、加齢に伴うコラーゲン線維の分子構造変化が管間象牙質の変化の主体と考えられる。そのため加齢に伴うコラーゲン線維分子間の架橋構造が、象牙質の構造および物性を変化させていると考えられる。コラーゲン線維の断裂様相に顕著な変化は認められないため、コラーゲン線維へのAGEsの沈着は、象牙質の物性に影響を及ぼし管間象牙質における破断様相を変化させるが、コラーゲン線維単体の破断様相まで影響を及ぼすものではないと考えられる。

加齢に伴う管周象牙質の肥厚とコラーゲン線維へのAGEsの沈着は象牙質の構造および物性を変化させ、亀裂が管周象牙質外周を回り込みながら連続性を保つように伸展し、亀裂の伸展抵抗の低下に影響を及ぼしていると考えられる。

本研究により、未脱灰硬組織の微小亀裂の観察手法を提案できた。また加齢に伴い、管周象牙質の肥厚とコラーゲン線維へのAGEs関連物質の沈着により、象牙質の亀裂伸展様相が変化することを示せた。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 久 保 美 寿 穂 )			
		(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	教授	竹重 文雄
	副 査	教授	林 美加子
	副 査	准教授	中村 隆志
	副 査	講師	山口 哲
<b>論文審査の結果の要旨</b>			
<p>本研究は、象牙質における加齢による変化と微小亀裂伸展との関連を解明することを目的としたものである。</p> <p>その結果、象牙質の微小亀裂進展の様相は、若年者では象牙細管と交通しながら断続的に、高齢者では肥厚した管周象牙質を回りこみ連続的に進む傾向のあることが、さらに、象牙質コラーゲンの糖化は、若年者では歯髄近傍の象牙質に限局的に、高齢者では歯髄近傍からエナメル象牙境に向かって広範囲に認められることが示された。これらのことから、管周象牙質の肥厚とコラーゲン線維への糖化修飾による物性の変化が、加齢に伴う象牙質の微小亀裂伸展様相の変化に関与していることが明らかとなった。</p> <p>以上の研究成果は、象牙質の加齢と微小亀裂伸展様相の変化との関連について新しい知見を与えるものであり、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。</p>			