



Title	紫外線照射による象牙質強化メカニズムの解析
Author(s)	古谷, 優
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59272
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	古 谷 優
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯学)
学 位 記 番 号	第 2 5 0 4 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 3 月 22 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学 位 論 文 名	紫外線照射による象牙質強化メカニズムの解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 恵比須繁之 (副査) 教 授 竹重 文雄 准教授 寺岡 文雄 准教授 村上 秀明

論 文 内 容 の 要 旨

日常臨床においてしばしば遭遇する失活菌の歯根破折を防止する方法として、象牙質の強化もその一つに挙げられる。象牙質に組成が類似した骨の機械的強度には、無機成分のみならず有機質の主成分であるタイプ I コラーゲンの分子間架橋が影響を及ぼすことが知られている。申請者が所属する研究室では、最近、架橋形成促進因子の一つである紫外線照射によって、ヒト象牙質の機械的強度が上昇することが明らかとなった。本研究では、紫外線による歯の象牙質の強化メカニズムの解明を目的とし、紫外線照射によるタイプ I コラーゲンの分子レベルでの変化を多面的に解析した。

まず、紫外線照射による象牙質強化の最適条件を確定するために、片持ち梁曲げ試験を実施した。破折および齲蝕の無いヒト抜去第三大臼歯歯冠部より作製した象牙質棒状試料に、波長 365nm の紫外線を、強度 800、1200、1600、3200mW/cm²、時間 5、15、30 分のそれぞれの条件で照射したものを片持ち梁曲げ試験に供し、曲げ強さを測定した。さらに、水中への再浸漬が曲げ強さの変化に及ぼす影響についても分析した。その結果、紫外線を強度 1600mW/cm²にて 15 分照射した場合、非照射群の 79.4±13.9MPa と比較して 190.3±45.6MPa と有意に高い値を認め、7 日間水中浸漬後も強化効果の 42%が保持されていた。また、曲げ試験終了後の試料破面に白金蒸着処理を施し、走査型電子顕微鏡にて破面観察を行った結果、紫外線照射後の破面は非照射群と比較して凹凸に富んだ様相を示していた。

次に、紫外線照射による象牙質表面温度の変化を測定するために、厚さ 1mm の象牙質円盤状試料底面に熱電対を設置し、室温にて紫外線照射時の底面での温度上昇を 5 秒間隔で測定し、相対温度上昇として表した。強化効果の高い 1200 および 1600mW/cm²、10 分の照射で、23.2 および 29.9℃の温度上昇が確認され、いずれも照射後約 5 分で温度上昇はピークに達することが分かった。

さらに、微細構造における機械的性質の変化を調べるためにナノインデンテーションを行った。象牙質円盤状試料に、紫外線を強度 1600mW/cm²、15 分照射後、ナノインデンターを用い

て微小押し込み硬さおよび弾性係数を測定した。また、原子間力顕微鏡の画像より象牙細管からの距離と機械的性質の関係を分析し、紫外線照射前後での象牙質の微細構造における物性変化を測定した。その結果、紫外線照射により、管間象牙質では押し込み硬さは照射前後で $0.81 \pm 0.25 \text{ GPa}$ から $1.12 \pm 0.43 \text{ GPa}$ に上昇し、弾性係数も $0.81 \pm 0.25 \text{ GPa}$ から $1.12 \pm 0.43 \text{ GPa}$ へと有意に上昇した。一方、管周象牙質では押し込み硬さおよび弾性係数ともに変化がなかった。

そして、象牙質脱灰試料に、紫外線を強度 1200 、 1600 mW/cm^2 にて 5 、 15 分のそれぞれの条件で照射し、紫外線照射前後でのコラーゲン分子間距離の変化を X 線回折にて分析した。また、紫外線照射後、7 日間水中に再浸漬した試料の分子間距離も測定した。その結果、紫外線照射前のコラーゲン分子間距離は $13.9 \pm 0.2 \text{ \AA}$ であったものが、照射後では $12.5 \pm 0.3 \text{ \AA}$ に収縮することが分かった。また、7 日間水中浸漬後は $13.9 \pm 0.3 \text{ \AA}$ と照射前の状態に戻っていた。

次に、象牙質脱灰試料に紫外線を強度 1200 、 1600 mW/cm^2 にて 30 分間連続照射し、紫外線によるコラーゲンの経時的な分子構造変化を顕微レーザーラマン分光分析装置にて分析した。その結果、コラーゲンの構成成分であるプロリンのイミド環の炭素に相当する 922 cm^{-1} や、側鎖の CH_2 および CH_3 の炭素に相当する 1323 、 1407 、 1453 cm^{-1} にピークの上昇を認め、その変化は $5 \sim 10$ 分で完了した。

また、象牙質を脱灰凍結粉碎処理して得たコラーゲンに、強度 1600 mW/cm^2 にて 30 分紫外線照射し、陽イオン交換高速液体クロマトグラフィーによる分子間架橋定量を行った。還元性架橋は Borohydrine にて標識し、非還元性架橋ならびに老化架橋に関しては自然蛍光を定量測定し、紫外線照射による架橋の変化について評価した。その結果、物性を下げる要因となる老化架橋が照射前は $2.4 \pm 0.3 \text{ mmol/collagen}$ であったのに対し、照射後には $1.7 \pm 0.3 \text{ mmol/collagen}$ と減少していることが分かった。一方、還元性および非還元性架橋には変化が認められなかった。

最後に、紫外線照射によるコラーゲンからのラジカルの発生の可能性を考え、強度 1600 mW/cm^2 にて 30 秒から 15 分紫外線照射した際に発生するラジカルを $5,5\text{-Dimethyl-1-pyrroline N-oxide}$ にて捕捉し、電磁スピン共鳴法にて測定した。試料として象牙質を脱灰凍結粉碎処理して得たコラーゲンと、コラーゲン構成アミノ酸であるプロリンおよびグリシンを用いた。その結果、紫外線照射によりコラーゲンから継続的に OH ラジカルが発生していることが確認された。また、紫外線をプロリンに 30 秒照射した場合には、COO ラジカルも同時に発生していることが分かった。

これらの結果より、紫外線照射によってタイプ I コラーゲンを多く含む管間象牙質が選択的に強化され、水中浸漬後も強化効果が保持されていることから、コラーゲン分子における化学変化が象牙質の機械的強度の上昇につながったと考えられる。また、コラーゲン分子間距離は、紫外線照射で収縮するものの、水中浸漬後に元の状態にもどっていることより、その化学変化は分子内および近接する分子間で生じたものと考えられる。さらに紫外線は、象牙質コラーゲンの構成成分であるプロリンのイミド環の炭素や側鎖の CH_2 および CH_3 の炭素に作用することが分かり、それらの化学的変化は、OH ラジカルの発生による老化架橋の破壊や、COO ラジカルが構造の安定化に働く架橋や分子間結合の形成を促進することで生み出された可能性が推察された。

まとめると、紫外線照射により象牙質の機械的強度は上昇し、水中浸漬後もその強化効果は

保持された。その強化メカニズムは、象牙質の構造の緻密化のみならず、老化架橋の破壊や新たな分子結合をともなったタイプ I コラーゲンの分子内および分子間における化学変化に起因することが示された。これらの反応は、速やかかつ口腔内で許容範囲の温度上昇で完了することより、象牙質の強化による歯根破折防止法へと臨床応用できる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、紫外線による象牙質の強化メカニズムを解析したものである。

その結果、紫外線による象牙質強化は、象牙質の構造の緻密化のみならず、新たな分子結合をともなったタイプ I コラーゲンの分子内および分子間における化学変化に起因する可能性が示された。この反応は、速やかに進行するとともに、口腔内で許容範囲の温度上昇で完了することより、象牙質の強化による歯根破折防止法へと臨床応用できることが示唆された。

以上の研究成果は、象牙質の物理化学特性に新たな知見を加えるものであり、本研究は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。