

## 齲蝕自然発症ラットエナメル質の物理化学的性状について(北海道医療大学博士論文の内容および審査の結果要旨(平成8年度))

著者名(日)	原口 克博
雑誌名	東日本歯学雑誌
巻	15
号	1
ページ	78-80
発行年	1996-06-30
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1145/00008166/">http://id.nii.ac.jp/1145/00008166/</a>

癒合した部分では上皮全層にわたり認められた。これらを電顕的に観察すると、メッケル軟骨周囲部ではむしろネクロシスの形態をとっていたが、歯胚の一部および退縮エナメル上皮の部分に明らかなアポトーシス小体が観察された。以上の結果から、口腔組織発生過程を含めた様々な部において、アポトーシスの経過をとる生理的細胞死が観察され、これらは口腔組織の恒常性の維持のために重要な働きを担っているものと考えられた。

本審査委員会では、1)研究の目的、意義、2)TUNEL法によるアポトーシス判定の信頼性、3)歯胚発生過程におけるアポトーシスを示す細胞は上皮系か、間葉系か、4)上皮におけるturn overとアポトーシスの関係、などについて質問が行われたが、適切な回答が得られた。本論文は歯学の発展に寄与するところ大であり、博士(歯学)の学位論文として価値あるものと判定した。

氏名・(本籍)	原 口 克 博 (北海道)
学位の種類	博 士 (歯学)
学位記番号	乙 第23号
学位授与の日付	平成8年3月22日
学位授与の要旨	学位規則第5条2項該当(課程博士)
学位論文題目	齶蝕自然発症ラットエナメル質の物理化学的性状について
論文審査委員	主 査 教 授 松 田 浩 一 副 査 教 授 矢 嶋 俊 彦 副 査 教 授 大 野 弘 機 副 査 教 授 上 田 五 男

## 論 文 内 容 の 要 旨

### I. 緒 言

齶蝕発症要因のうち、細菌および食物の影響については、既に多くの知見が得られているが、宿主要因に関してはいまだ十分な検討がなされていない。

エナメル質の物理化学的性状は、主要な宿主要因の一つであり、エナメルアパタイトの結晶学的、物理化学的な性質が齶蝕感受性と深く関連しているのではないかと推論されてきた。しかし、実際の齶蝕発症において、エナメル質の物理化学的性状の差異がどの程度発症に関与しているかは、明らかではない。この点を追求するには、その構造および物理化学的性状を明らかにする必要がある。

本研究では固型飼料のみで齶蝕が自然発症するラット(SDCラット)とその対照系のラット(CSCラット)について、白歯部エナメル質の物理化学的性状を、X線回折、赤外吸収スペクトル分析、比重測定、化学分析(Ca/

P比)およびエナメル質の耐酸性を併用して調べ、両系統間および系統内における世代間、月齢間の差異について検討を行った。

### II. 実験材料および方法

#### 1. 実験動物

実験動物は、SDCラットとCSCラットを使用した。実験に用いたラットは、世代により2つのグループに分けた。すなわち、8、9世代の両系統のラットの計90匹をAグループとし、13から15世代の両系統のラット計85匹をBグループとした。

#### 2. 試料の作製方法

生後1、2、3、4カ月のラットを屠殺後、上下顎を取り出し、軟組織を取り除いた。白歯部を片顎ずつエポキシ樹脂で包埋し、近遠心的に切断し、一顎から片側について厚さ0.3mm程度の切片を2~3枚採取した。この切片からエナメル質のみを注意深く削り取った。この削片

をメノウ乳鉢と乳棒で粉碎し、200メッシュの標準篩を通過させた後、蒸留水で洗浄し、十分に乾燥させた。また、比較試料として、ヒト健全エナメル質および湿式法と乾式法の2種類の合成HAPを用いた。

### 3. X線回折および赤外吸収スペクトルの測定

回折角( $2\theta$ ) $10\sim 60$ 度の範囲について粉末試料のX線回折を行った。赤外スペクトル測定は、KBr錠剤法を用いて $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$ の範囲を10回積算した。

### 4. 比重の測定

各粉末試料の比重は、ピクノメータ法によって測定を行った。

### 5. カルシウムおよびリンの定量

各試料粉末を0.5Nの過塩素酸0.5mlに溶解させ、5分間遠沈後の上澄み液を試料とした。カルシウムの定量はイオンクロマト法により行った。また、リンの定量は、リン・モリブデン比色法にて行った。

### 6. エナメル質の耐酸性

各粉末試料を0.1Nの乳酸緩衝液に浸漬し、エナメル質を脱灰させ、溶出したCa量とP量を原子吸光度計とリン・モリブデン比色法にて測定した。

## III. 結果および考察

X線回折像および赤外吸収スペクトルから、ラットエナメル質は、ヒトエナメルと同様にヒドロキシアパタイト(HAP)であることが確認された。しかしX線回折像は、ピーク鋭度が低く、近接したピークがよく分離していないこと、 $2\theta=20$ 度付近にブロードなピークが存在すること、 $2\theta$ がJCPDSのHAPの標準値からシフトしていることなどが認められた。

ピーク幅の顕著な広がりと、(310)面からの回折角がa軸の格子定数が減少する方向にシフトしていることなどから、その結晶性はヒトエナメル質に比べてかなり劣るものと思われる。ラットのエナメル質は成熟度が比較的低い段階で萌出するものと思われる。

さらに、一部の試料(Aグループの3, 4ヶ月)には、DCPD( $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )の回折角に相当する $2\theta=11.6, 20.7$ 度に比較顕著なピークが存在していた。

乾式法アパタイトは、X線回折において良好な結晶性を示し、赤外スペクトルにおいては、リン酸根の二つの振動モード $\nu_3$ および $\nu_4$ に由来するピークがいずれも鋭く、かつ明瞭に分離した。また、水酸イオンに由来するピークも検出された。ところがラットでは、 $\nu_3$ と $\nu_4$ ピークがブロードであり、水酸イオンのピークはわずかに認められる程度であった。また、ラットエナメルの $\nu_3$ ピークは、成熟エナメルより $10\text{cm}^{-1}$ 程度低波数側にシフトしていることから、結晶性が低く未成熟段階であることを示して

いた。さらに、赤外スペクトルからラットエナメル質中には、夾雑物として、炭酸根をもつ不純物の存在が認められた。Ca/P比の平均値は、1.91と理論比1.67よりもかなり大きかった。このことと赤外スペクトルの結果を考え合わせると、ラットエナメル質の結晶性が低いのは、炭酸根がアパタイトのリン酸根を置換したかたちで結晶中に混入しているためと考えられた。

比重の測定値( $2.2\pm 0.4$ )はいずれも純粋なアパタイトについての文献値3.27より小さく、ヒトエナメル質( $2.9\pm 0.4$ )よりも低い値であった。

また、エナメル質の耐酸性の測定の結果では、両系統間に統計的な有意な差は認められなかった。

以上のX線回折像、赤外スペクトルおよびCa/P比から得られたアパタイトの結晶性に関しては、系統間における差異は特に認められなかった。世代間ではAグループよりもBグループの方が良好な結晶性を示し、A, B両グループとも月齢間で結晶性の差がわずかに認められた。また、夾雑物についても系統間で特に差異はなく、Aグループの3, 4ヶ月にDCPDの混在が確認された以外、世代間、月齢間においても大きな差は認められなかった。ただし、比重においてのみt検定の結果、生後1および4ヶ月で両系統間に有意な差が認められた。

## VI. 結 論

- 1) 両系統ラットのエナメル質は、ヒトエナメル質および合成アパタイトよりもアパタイトの結晶性が低い状態であった。
- 2) ラットエナメル質の結晶性を低下させている因子は、炭酸根がアパタイトのリン酸根を置換するかたちで混在しているためと考えられた。
- 3) 両系統ラットエナメル質には、炭酸塩、リン酸塩(DCPD)および有機物質等が混在していた。
- 4) 世代間および月齢間では、結晶性の差異がわずかに認められたが、両系統間に結晶性の差異は認められなかった。
- 5) ラットエナメル質の比重は、ヒトエナメル質および合成アパタイトよりも小さい。また、両系統のラットエナメル質の比重は、統計的に有意な差が認められた。
- 6) 両系統ラットエナメル質の耐酸性は、統計的に有意な差は認められなかった。

以上より、両系統ラット齲蝕発症性の差に対して、エナメル質の物理化学的性状のみが起因すると考える根拠は乏しかった。

## 学 位 論 文 審 査 の 要 旨

齶蝕は多因子性疾患であると言われている。しかし、実際の齶蝕発症において、どの因子が、どの程度齶蝕発症に関与しているかは、明らかでない。齶蝕の要因を究明するには、発症要因をできるだけ複雑化しない齶蝕モデル動物を用いて検討する必要がある。

本研究は、宿主要因の一つであると考えられる歯質の物理化学的構造について検討することを目的として、固型試料のみで齶蝕が自然発症するラット（SDCラット）とその対照系のラット（CSCラット）の臼歯部エナメル質のX線回折、赤外吸収スペクトル分析、比重測定、化学分析（Ca/P比）および耐酸性の測定を行い、両系統間および系統内における世代間、月齢間の差異について検討を行った。その結果、両系統ラットの物理化学的性状に関して、以下のことが明らかになった。

- 1) 両系統のラットエナメル質は、ヒトエナメル質および合成ヒドロキシアパタイトよりもアパタイトの結晶性が低い状態であった。
- 2) ラットエナメル質の結晶性を低下させている因子は、炭酸根がアパタイトのリン酸根を置換するかたちで混在しているためと考えられた。
- 3) 両系統ラットエナメル質には、炭酸塩、リン酸塩

（DCPD）および有機物質等が混在していた。

- 4) 世代間および月齢間では、結晶性の差異がわずかに認められたが、両系統間に結晶性の差異は認められなかった。
- 5) ラットエナメル質の比重は、ヒトエナメル質および合成ヒドロキシアパタイトよりも小さかった。また、両系統のラットエナメル質の比重は、統計的に有意な差が認められた。
- 6) 両系統ラットエナメル質の耐酸性は、統計的に有意な差が認められなかった。

以上により、両系統ラットの齶蝕発症性の差がエナメル質の物理化学的性状のみが起因すると考える根拠は乏しかった。今後は、ラットエナメル質の小窩裂溝部の耐酸性、それに影響をあたえるエナメル小柱の配列状態等の局所的な組織構造および他の宿主要因である唾液成分、唾液量などによる自浄性について検討する必要があると考えられた。

以上の結果から、本論文は、歯科保存修復学の進歩発展に寄与するところが大きく、審査の結果、学位授与に値すると判定した。