

4. FGM-coarseでは軟骨性骨化が顕著に観察されたのに対して、FGM-fineでは全く認められず、線維状ガラ

ス膜のメッシュ構造の影響が明らかに実証された。

学位論文審査の要旨

口腔領域において硬組織の再建は重要な課題であり、適切で効果的な硬組織再建法を開発するためには、硬組織形成という複雑な生物学的メカニズムの十分な理解が必要とされる。骨形成タンパク質 (Bone Morphogenetic Protein: BMP) は、不溶性骨基質 (Insoluble Bone Matrix: IBM) を、担体として異所性に埋植すると軟骨性骨化を経て骨組織を誘導することが知られている。しかし、BMP誘導軟骨性骨化のメカニズムを追求するうえで、IBMは、生体内吸収性であり、その形と大きさが逐次変化するため、軟骨分化の方向性、連続性を検討するのに適さず、また、短期間のうちに軟骨性骨化が進行するため、軟骨性骨化の一連の過程を詳細に分析、観察することが困難であるという欠点を有している。

そこで本申請者は、BMPの担体として、非吸収性であり、細胞外マトリックスの主要成分であるコラーゲン線維の三次元メッシュ構造に類似した構造を有する線維状ガラス膜 (Fibrous Glass Membrane: FGM) を使用することにより、BMP/FGM複合体が生体内での自然の軟骨性骨形成を再現して、軟骨性骨化のメカニズムを追求することが可能な系と成り得るかを検討した。

その結果、S-300 BMP (牛骨由来部分精製BMP) / FGM-coarse複合体は、従来より用いられてきたS-300 BMP/IBM複合体とは異なり連続性、方向性をもって軟骨・骨形成を誘導することが明らかとなり、軟骨の分化過程を生化学的に分析した結果、軟骨形成の指標であるII型コラーゲンの形成量は、S-300 BMP/IBM複合体と比較すると約6倍に達することが明らかとなった。また、全てのクラスのBMPを含有するS-300 BMPと純粋な recombinant human BMP2との比較では、両者ともに軟骨性骨化が認められたものの、軟骨・骨形成過程に明らかな差が認められた。さらに、FGM-coarse (メッシュサイズ1 μ m) では軟骨性骨化が顕著に観察されたのに対して、FGM-fine (メッシュサイズ0.6 μ m) では全く認められず、担体の幾何学的構造の影響が明らかに実証された。

これらより、BMP/FGM-coarse複合体が軟骨性骨化研究の優れたモデルとなることが明らかになった。

以上の結果から、本論文は、歯学の進歩発展に寄与するところが大きく、審査の結果、本申請者に対して博士 (歯学) を授与するのに十分に値するものと判定した。

氏名・(本籍)	永井康彦 (北海道)
学位の種類	博士 (歯学)
学位記番号	甲 第25号
学位授与の日付	平成6年3月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 (課程博士)
学位論文題目	実験的根面齶蝕の組織学的研究
論文審査委員	主査 教授 松田 浩一 副査 教授 武田 正子 副査 教授 矢嶋 俊彦

論文内容要旨

1. 目的

高齢社会の到来に伴い、高齢者に多い根面齶蝕の予防と治療法に関する研究の必要性が高まっている。

根面齶蝕の形態や進行速度は、歯冠部齶蝕とは異なると考えられているがそれについての組織学的研究は少ない。

実験的根面齶蝕の脱灰過程を脱灰初期より連続的に組

組織観察することは、齲蝕形態や進行過程の理解に役立つと共に予防、修復法への基礎を築くと考えられるが、そのような研究はほとんどなされていない。

以上の現状を踏まえ、本研究では、実験的根面齲蝕の組織学的な検索を行い、その成果を整理、統合して自然根面齲蝕の基礎的解明を行うと共に予防、修復法への基礎を築くことを目的とした。

2. 材料と方法

歯列矯正治療の目的で抜去された小白歯を、10%中性ホルマリン溶液で固定した後、硬組織切断機と耐水研磨紙を用いて、約100 μ mの研磨切片を作製した。その隣接面セメント質に100 μ m \times 5mmのwindowを残して全面にnail varnishを施し実験試料とした。実験的齲蝕様脱灰を起こさせるために用いた酸性ゼラチン溶液は、10%ゼラチン溶液に、0.1 Nの乳酸を加えて、pHをそれぞれ4.5, 5.0, 5.5, 6.0に調整した。これらの材料を用い以下の3種の実験を行い、組織学的検索を行った。**実験1・異なるpHの脱灰液による脱灰像**：実験試料をpH4.5, 5.5, 6.0の脱灰液に24時間浸漬し、観察、検討した。**実験2・同一実験試料による脱灰像の経時的变化**：同一実験試料をpH5.0または、5.5脱灰液に3時間単位で27時間まで浸漬し、観察、検討した。**実験3・脱灰過程における脱灰液のpH変化が脱灰像におよぼす影響**：pH4.5脱灰液に10時間浸漬後、window辺縁 nail varnishを除去し、pH5.5脱灰液にさらに10時間浸漬した。また逆にpH5.5脱灰液に10時間浸漬後、pH4.5脱灰液に10時間浸漬し、観察、検討した。

観察にあたっては光学顕微鏡およびコンタクトマイクロラジオグラフィー (CMR) を用いた。

3. 結果および考察

実験1・異なるpHの脱灰液による脱灰像

光学顕微鏡像：pHの低下に伴って脱灰進行速度は速く（脱灰巣は深く）、脱灰前線は、pH4.5, 5.5で象牙質に達していたが、pH6.0では、セメント質内に留まっていた。

CMR像：pH4.5, 5.5の脱灰巣では、X線吸収度の差異から5層に分けられた。それに対しpH6.0では、5層に分けることはできず、層出現の差異は脱灰液pHと関連することが示唆された。また、この巣内のセメント質最表部及び脱灰最前線深部にX線吸収度の高い高石灰化層が観察された。この層の出現は、自然齲蝕病巣でも指摘されており、脱灰巣内で遊離した無機イオンが浸透し、新たに再沈着した結果と推測された。

実験2・同一試料による経時的变化

ヒドロキシアパタイトの臨界pHであるpH5.5の脱灰液では、浸漬6時間でセメント・象牙境まで脱灰し、脱灰

巣内にX線吸収度の高い層と低い層による層状構造が認められた。セメント質には、低石灰化薄層を伴った高石灰化層の成長線があり、脱灰はその低石灰化薄層部分を優先的に脱灰したと考えられた。すなわち脱灰は、本来の組織構造を反映し、進行することが示唆された。層状構造の一部分では一度X線吸収度が低下し、再びX線吸収度が増した像が観察された。脱灰をさらに進めると、層状構造は消失する傾向を示したが、セメント質最表層の高石灰化層は、最後まで認められた。このことより脱灰巣内では、脱灰ばかりではなく、無機イオンの再沈着がおきていることが示唆された。

また、実験1にて、pH5.5脱灰液に24時間浸漬した結果では、脱灰最前線はセメント・象牙境を越え象牙質まで達していたのに対し、実験2では、セメント質内に留まっていた。この差異は、実験1では、持続的な酸侵襲を受けていたのに対し、実験2では、間欠的な酸侵襲であったためと思われ、同一酸性度であっても、持続的な侵襲と間欠的な侵襲とでは、脱灰進行が異なることが認められた。これは、自然齲蝕病変を考える上で重要な示唆を与えるものである。

pH5.0酸性ゼラチン溶液を用いた経時的变化では、pH5.5で観察された明瞭な層状構造や脱灰巣内での無機イオンの再沈着現象は見られず、セメント質最表層部のX線吸収度の高い層も早期に喪失した。pH5.0は、セメント質にとって、脱灰力が強く、層状構造の酸抵抗性にかかわらず全体に作用し、かつ進行速度が速かったことによると考えられた。すなわち脱灰進行速度が再石灰化現象を統制していることが考えられた。

実験3・脱灰過程における脱灰液のpH変化が脱灰像におよぼす影響

pH4.5で形成した脱灰巣は、pH5.5に浸漬後も影響を受けなかった。pH5.5で形成した脱灰巣は、pH4.5に浸漬後も影響を受けず、新たに脱灰がその深部に拡大していた。すなわち、すでに形成された脱灰巣は、新たな酸侵襲に対して抗脱灰性を高めていると考えられた。

4. 結論

抜去歯を用いて酸性ゼラチン溶液に浸漬し、実験的根面齲蝕様脱灰巣を形成、その組織学的検索を行った結果、以下の知見が得られた。

1. 脱灰液pHによって脱灰像は明瞭に異なり、pHの低下に伴い、脱灰深度も深くなった。
2. 同一酸性度脱灰であっても、それが持続的酸侵襲か、間欠的酸侵襲なのかにより脱灰深度は異なった。
3. セメント質最表層での高石灰化層の出現程度は、pH 5.5, 6.0では明瞭であったのに対しpH4.5では、不明瞭

なことが多かった。

4. pH4.5, 5.5脱灰巣では, X線吸収度の差異から5層に分けられたが, pH6.0では, 2層にしか識別されなかった。
5. pH5.5による脱灰進行は, セメント質本来の組織構造を反映して進行するため, X線吸収度の高い層と低い層の層状構造を呈した。しかしpH5.0では, そのような像は観察できず, 脱灰は急速に均質に進行した。
6. すでにあるpHで形成された脱灰巣は, 次に異なるpH

で脱灰してもその脱灰巣は, CMR像上変化を示さず抗脱灰性を示していた。

7. 脱灰最前線に沿う高石灰化層およびセメント質最表層の高石灰化層は, 脱灰巣内で遊離した無機イオンが再沈着した結果と考えられ, 脱灰巣内は脱灰と再石灰化の現象がカップリングしていると考えられた。

本研究における実験的根面齲蝕様脱灰巣の組織学的検索結果は, 自然根面齲蝕病変の理解に役立つとともに予防, 修復法を考える上で大きな示唆を与えるものである。

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

歯科保存学領域において, 高齢化社会の到来に伴い, 高齢者に多い根面齲蝕の予防と治療法に関する研究の必要性が高まっている。

根面齲蝕の形態や進行速度は, 歯冠部齲蝕とは異なると考えられているが, それについての組織学的研究は少ない。

また, 実験的根面齲蝕の脱灰過程を脱灰初期から連続的に組織観察することは, 齲蝕形態や進行過程の理解に役立つと共に予防, 修復法への基礎を築くと考えられるが, そのような研究はほとんどない。

そこで, 本申請者は自然根面齲蝕の基礎的解明と予防, 修復法への基礎を築くことを目的として, 酸性ゼラチン溶液を用いて実験的に歯の根面に齲蝕様脱灰巣を形成し, 経時的に光学顕微鏡とコンタクトマイクロラジオグラフィにて比較, 観察し, その成果を整理, 統合して検討した。

その結果, 脱灰液のpHによって脱灰像が明瞭に異なり, pHの低下に伴って脱灰深度が深くなり, また同じpHの溶液での脱灰であっても持続的酸侵襲か, 間欠的酸侵襲なのかにより脱灰深度が異なることを明らかにした。

また, pH4.5, 5.5脱灰巣は, X線吸収度の差異から5

層に分けられたが, pH6.0では, 2層にしか識別できなかった。

pH5.5による脱灰進行は, セメント質本来の組織構造を反映して進行するため, X線吸収度の高い層と低い層の層状構造を呈したが, pH5.0では, そのような像は観察できず, 脱灰は急速で均質に進行した。

セメント質最表層・脱灰最前線に沿う高石灰化層は, 脱灰巣で遊離した無機イオンが再沈着した結果と考えられ, 脱灰巣内は脱灰と再石灰化の現象がカップリングしていると示唆された。

また, 本申請者は, 脱灰過程における脱灰液pHの変化が脱灰像に及ぼす影響について検討した結果, 最初にあるpHで形成された脱灰巣は, 次に異なるpHで脱灰してもその脱灰巣は, コンタクトマイクロラジオグラフィー上変化を示さず抗脱灰性を示していた。

これらの知見は, 今後の根面齲蝕の基礎的解明と予防, 修復法のさらなる研究・考察をする上で有益な基礎を築いたものといえる。また, 実験方法および結果・考察・解釈等も全て妥当である。

以上のことより, 本審査委員会は本論文を博士(歯学)の学位論文として受理するに値すると判定する。