

白発現と局在の変化をウェスタンブロットリング法、ならびに免疫組織化学的手法を用いて明らかにしたものである。

従来、成長におけるバイグリカン、デコリンの蛋白発現と局在の変化について観察した研究はなかった。この点で、本研究によりバイグリカンとデコリンの蛋白発現がそれぞれ異なった変化を示すこと、デコリンの局在に領域差が顕著になることを認められることを立証したことは高く評価できる。

今後、液状試料などを用い顎関節の機能を変化させ、プロテオグリカンの変化を調べることにより、顎口腔機

能の発達におけるプロテオグリカンの役割を解明することも可能と考えられ、このことは発症機構が明らかでない顎関節症の病因論の解明への初期段階となるものと考えられる。

以上のことより、顎関節円板におけるプロテオグリカンの増減および局在の変化が、成長に伴う顎口腔機能の発達、あるいは顎関節における生力学的環境の変化と密接に関連していることを立証したことは、歯科医学・医療の発展に寄与するところ大であり、よって博士(歯学)の学位授与に値するものと考えられる。

氏名・(本籍)	鈴木 百合子 (北海道)
学位の種類	博士(歯学)
学位記番号	甲 第83号
学位授与の日付	平成12年3月17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	ヒト永久歯象牙質ハイドロキシアパタイトの結晶性とCa/Pの関係
論文審査委員	主査 教授 五十嵐 清 治 副査 教授 大野 弘 機 副査 教授 田 隈 泰 信

論文内容の要旨

【目 的】

齲蝕病因の解明に多くの研究がなされ、カリオロジーの発展により齲蝕予防に対して関心が高まっている。齲蝕病因には、宿主、細菌、基質があげられる。宿主要因の一つとして歯質があり、歯質要因のなかでも歯の主要構成成分であるハイドロキシアパタイトの結晶性は、歯質の耐酸性に関与する一因子である。ハイドロキシアパタイトのCa/Pは理論上1.67であるが、実際の測定値ではそれよりも低い値を示すのが一般的である。これはアパタイト結晶中のCa²⁺やPO₄³⁻が他の様々なイオンと置換したり、格子欠陥が存在する結果である。また、Ca/Pが理論値よりも低いほどイオンの置換や格子欠陥の頻度も高いと考えられる。格子欠陥が存在すると、アパタイトの結晶構造に歪みが生じ、結晶性の低下とともに耐酸

性が低下する。これらのことから、Ca/Pは歯の結晶性を示す指標の一つとなると考えられる。しかし、ヒト歯質のCa/Pと結晶性の関係について詳細に検討した研究は報告されていない。また結晶性と耐酸性の関連については、合成ハイドロキシアパタイトを用いた実験的研究がほとんどである。さらに結晶の崩壊すなわち齲蝕の発生に関する研究では主にエナメル質齲蝕について報告されている。齲蝕の進行により修復処置を余儀なくされる場合、多くは象牙質におよぶ齲蝕がほとんどである。そこで本研究では、象牙質の結晶性と耐酸性の関連について検討するために歯根の完成度の異なる永久歯の象牙質についてCa/Pを化学的分析法によって測定した。さらに、ヒト抜去永久歯の象牙質について、結晶性を微小部X線回折法によって調べ、Ca/Pとの相関関係を検討した。

【材料および方法】

1. 材料

本実験では履歴の明らかなヒト抜去永久歯を用い、歯種は限定しなかった。Ca/Pのバラツキを調べる研究では、計10歯を用いた。結晶性の解析についての研究では、このうち計4歯を選択して用いた。

これら10歯の歯根の完成度は歯科用X線写真像から判断し、歯根の成熟段階の違いから根未完成歯、根完成歯として2群に分け、以下の実験について検討した。

2. 切片の作製および調整方法

抜去歯の表面付着物を機械的に除去し、注水下にて清掃し、水洗、乾燥させた。その後、被験歯を歯科用アクリルレジンに包埋し、重合させた。包埋したブロックはダイヤモンドディスクカッターを用いて1方向に1mm間隔で切れ目を入れた後、切れ目に接着剤を流し込み固定した。同様に2方向目の切れ目も1mm間隔で入れ固定後、3方向目で切り落とし、厚さ1mmの板状の切片を得た。Ca/Pを測定した部位と隣接する部位についてX線回折を行った。Ca/PとX線回折法による結晶性を対比する際に位置関係が混乱しないように板状のままX線回折を行った。

一方、化学分析の実験に用いる切片は、包埋・固定に用いたレジン成分をアセトンで溶解・除去し、歯質のみを取り出した。取り出した歯質切片は超純水で洗浄後、乾燥させ、重量を測定した後、用いた。象牙質切片を12N塩酸5mlで溶解し、蒸留水を加えて全量100ml、酸濃度0.6Nのサンプル溶液とした。なお、化学分析においては計207個の象牙質切片を用いた。

3. 化学分析によるCa/Pの算出

サンプル溶液中のカルシウム濃度を原子吸光法で、リン濃度を比色定量法で測定し、Ca/Pを算出した。なお実験手技の再現性を確認するため、Ca/Pが各々異なる3種のリン酸カルシウムを濃度既知の標準試料として用い、本法におけるカルシウムおよびリンの分析精度を確認した。

4. 微小領域X線回折法による結晶性の解析

化学分析によりCa/Pを算出した切片に隣接する象牙質切片を取り出し、その結晶性をX線回折法によって調べた。測定には微小領域X線回折装置(RINT-2000, 理学電機)を用いた。測定部位は化学分析を行った切片と接する面とし、切片約1mm²の対角線上の交点、すなわち中心点とした。測定条件は、電圧40kV、電流50mA、ステップ幅0.05°, サンプリング時間1000秒、走査範囲20°~140°, コリメータ50μmとした。

5. Ca/Pと結晶性の相関

各々の象牙質切片の回折線から強度を読み取り結晶性を評価するために、面間隔の異なる3つの面、すなわちミラー指数(002), (300)回折ピーク強度を結晶性の指標として用いた。Ca/Pを調べた207個の象牙質切片のうち54個について、化学分析法により求めたCa/Pと、X線回折により得られた回折線中の002, 300回折ピーク強度との相関関係を調べた。

【結果および考察】

一般に生体ハイドロキシアパタイトのCa/Pは理論値より低い値を示す報告がほとんどである。今回の研究においても、その傾向は同様であった。さらに、歯種や部位によってCa/Pの値は異なることが明らかになった。特に歯の成熟段階から根未完成歯、根完成歯の2群に分けてヒストグラムを作成し検討した結果、根未完成歯ではCa/Pが1.48から1.63の間に分布し、根完成歯では1.48から1.78まで分布した。根完成歯では、根未完成歯に比較し大きな分散を示した。このヒストグラムの結果から歯質の成熟に伴ってCa/Pの値が高い方へ広がりを示すと考えられた。

Ca/Pの実測値が理論値よりも低くなる原因は、アパタイト結晶中のイオン置換や格子欠陥が存在する結果である。格子欠陥が存在すると、アパタイトの結晶構造に歪みが生じ、結晶性の低下とともに耐酸性が低下する。このことから、Ca/Pは歯の結晶性を示す指標の一つとして考えられる。しかし、Ca²⁺がSr²⁺などの陽イオンと置換した場合もCa/Pは低くなるが、一方、CO₃²⁻などのようにPO₄³⁻の位置に置換する陰イオンの場合ではCa/Pが高くなり、ヒト生体ハイドロキシアパタイトにおけるCa/Pの意義は必ずしも明らかではなかった。そこで、化学分析によってCa/Pを算出した切片に隣接する象牙質切片の面について、X線回折法によってハイドロキシアパタイトの結晶性を検討した。さらに、ミラー指数(300), (002)回折ピーク強度を結晶性の指標とし、Ca/Pとの相関関係を検討した。その結果、002回折ピークにおいてはCa/Pと結晶性の間に正の相関を認めた。このことから、Ca/Pが1.50から1.70という範囲内ではCa/Pが高くなるにつれ結晶性も高くなるという結果が得られた。よって、Ca/Pを測定することで歯の結晶性の状態を予測でき、それを基に耐酸性あるいは抗齲蝕性を判断する一つの指標として臨床上有用な指標となり得る可能性のあることが示唆された。

学位論文審査の要旨

歯の主要構成成分であるハイドロキシアパタイトの結晶性は、歯質の耐酸性に関する一因子である。一般に齶蝕感受性は幼若な歯質で高く、加齢に伴い低下するといわれている。また、電子顕微鏡像の詳細な解析から、 CO_3^{2-} の置換によって結晶構造の原子配列に乱れが生じ、結晶の崩壊がおこることが確認されている。すなわち、結晶性の低下により齶蝕感受性が高まり、耐酸性あるいは抗齶蝕性の低下によって、齶蝕に罹患しやすくなる。ハイドロキシアパタイトの結晶性の良い状態では、Ca/Pは理論値の1.67に近づくと考えられるが、一般に生体ハイドロキシアパタイトのCa/Pは理論値より低い値を示す報告がほとんどである。しかし、これまでにヒト象牙質の各部位や成熟過程の違いによるCa/Pの変動については十分に究明されていない。そこで本研究では、ヒト永久歯象牙質の歯根完成歯と未完成歯の2つの群についてCa/Pを算出した。さらに、Ca/Pを算出した切片に近接した象牙質切片についてX線回折法によって結晶性を評価し、Ca/Pと結晶性の相関関係を検討した。

得られた結果は次の通りである。1. 被験歯10歯から

得た象牙質切片を用いてCa/Pを算出したところ、象牙質の部位によってCa/Pが異なっていた。しかし、本実験の範囲内では被験歯の部位や履歴による系統的な傾向は認められなかった。2. Ca/Pのヒストグラムを作成したところ、根未完成歯ではCa/Pが1.48から1.63の間に、根完成歯では1.46から1.78までに分布し、根完成歯の方がCa/Pの分散は大きかった。3. 各部の象牙質切片を微小領域X線回折法によって分析した結果、部位によってハイドロキシアパタイトによる回折線強度は異なっていた。4. Ca/PとX線回折法で得られた結晶性との相関を調べた結果、正の相関が認められた。

以上のことからCa/Pを測定することで歯の結晶性の状態を予測でき、それを基に耐酸性あるいは抗齶蝕性を判断する一つの指標として臨床上有用な指標となり得る可能性のあることが示唆された。

本研究から得られた結果は、歯科医学特に齶蝕学の進歩発展に寄与するところは大きく、よって審査の結果、本論文は博士(歯学)の学位を授与に値すると判定した。

氏名・(本籍)	藤 條 一 江 (北海道)
学位の種類	博 士 (歯学)
学位記番号	甲 第84号
学位授与の日付	平成12年3月17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	ヒト歯槽骨由来骨芽細胞様細胞におけるbFGFの効果
論文審査委員	主 査 教 授 五十嵐 清 治 副 査 教 授 矢 嶋 俊 彦 副 査 教 授 賀 来 亨

論文内容の要旨

【目 的】

歯科領域において、顎を構成する骨体部と歯槽骨の骨形成に中心的な役割を担っている骨芽細胞に関する研究は顎の発育、咀嚼機能の発育に密接に関わる重要な研究

である。現在、骨芽細胞機能および骨の局所代謝に関わる局所因子としてのサイトカインの研究は急速に進められている。basic Fibroblast Growth Factor(以下bFGF)は骨に含まれる主要なサイトカインの1つでin vivoにおいてラットの骨折の治癒促進、骨髄への投与による骨