

平成30年 6月13日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20454

研究課題名(和文)象牙質の構造および材質パラメータが疲労破壊抵抗性に及ぼす影響

研究課題名(英文)Contribution of Microstructures and Compositions to the Mechanical Properties of Human Dentin

研究代表者

新野 侑子 (SHINNO, YUKO)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：80736249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：象牙質の機械的強度の評価にあたり、従来の象牙細管の異方性(構造パラメータ)の評価だけではなく、象牙質のハイドロキシアパタイトのc軸配向性や象牙質コラーゲン中の老化架橋(AGEs)などの材質パラメータを評価した。アパタイト配向性の評価では、象牙細管の走行に対して垂直にアパタイト結晶のc軸が配向しているという特徴が認められ、配向性が強いものほど機械的強度も大きい傾向にあることがわかった。老化架橋であるペントシジン量の定量結果では、ペントシジンはとくに歯冠部において年齢とともに増加する傾向にあった。歯冠部歯根部ともに老化架橋であるペントシジンが多い程、機械的強度が低下する傾向が見られた。

研究成果の概要(英文)： In the evaluation of the mechanical strength of dentin, not only the evaluation of the anisotropy of dentin tubule (structural parameter) but also the evaluation of quality parameters such as the c-axis orientation of hydroxyapatite of dentin and non-enzymatic cross-links known as advanced glycation end-products (AGEs) in dentin collagen.

In the evaluation of the apatite orientation, the preferential alignment of the c-axis of apatite was perpendicular to the dentinal tubule orientation. The mechanical strength significantly increased in the specimens with strong alignment of their apatite c-axis. The pentosidine content in crown dentin significantly increased with aging, while that in root dentin did not increase significantly. The results also showed significant negative correlation between the pentosidine content and the mechanical strength.

研究分野：歯学

キーワード：歯学 象牙質 ハイドロキシアパタイト コラーゲン ペントシジン

1. 研究開始当初の背景

歯科臨床において、徹底したプラークコントロールによってう蝕や歯周病などの細菌感染症はほぼ予防できるものの、過剰な力の負担に起因する歯の破折は防止することが困難であり、破折が抜歯の主原因であったとの報告がある。従って、歯の強度特性、なかでも歯の大部分を占める象牙質の特性を明らかにすることは、歯の破折の防止策を考える上で極めて重要である。

これまでに象牙質の機械的強度については、年齢や組成の違いによる個体差、象牙細管の走行方向による異方性、乾燥による影響など様々な研究がなされてきた。申請者らは、象牙細管の走行方向により曲げ強さに異方性があることや、加齢による象牙細管閉鎖が曲げ強さの低下につながることを明らかにしてきた。

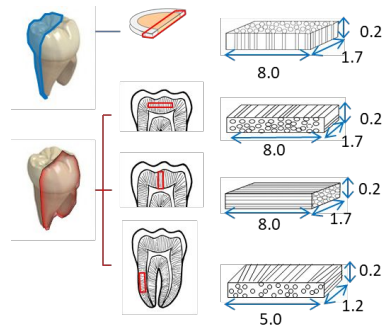
ところで、象牙質と組成が似た硬組織である骨の研究では、2000年のNIHの骨粗鬆症にかかるコンセンサスにより、骨強度は70%が骨密度に、30%が骨質に依存していると提唱され広く受け入れられている。さらに近年では、骨力学特性を構造パラメータと材質パラメータの両視点から検討するようになってきている。すなわち、構造パラメータとして骨微細構造や基質構造を、材質パラメータとして骨コラーゲン架橋・成分やアパタイト結晶のサイズおよび配向性などに注目し、これらの要因を複合的な視点でとらえて骨の強度を評価することが妥当であると考えられている。そこで申請者らは、象牙質の強度特性の適正な評価を行うために、従来までに行われてきた象牙細管の異方性や閉鎖度といった構造パラメータの分析に加えて、コラーゲンの分子間架橋の構成成分やハイドロキシアパタイトの配向度、さらにはコラーゲン/ミネラル比といった材質パラメータについての検討が必要であるとの考えに至った。

2. 研究の目的

本研究では、象牙質における代表的な構造パラメータである象牙細管方向を規定した試料において、材質パラメータのうちコラーゲン中の老化架橋(ペントシジン)含有量、ハイドロキシアパタイトのc軸配向性、およびコラーゲン/ミネラル比と、疲労破壊抵抗性との関連を明らかにすることによって、これらの構造および材質パラメータが象牙質の強度に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1) 構造パラメータとしての象牙細管方向を規定した棒状試料の作成した。歯の履歴(年齢、性別、歯種)が明らかなく蝕および破折のない新鮮ヒト抜去大白歯を用い、同一歯の歯冠部および歯根部象牙質より棒状試料を採取する。歯冠部棒状試料は、 $0.2 \times 1.7 \times 8.0$ mmで象牙細管の走行方向が異なるも



のを3種類作製し、歯根部棒状試料は、 $0.2 \times 1.2 \times 5.0$ mmで試料の長軸を歯軸方向と規定した。なお、試料は4 HBSS溶液に浸漬保管した。

2) 材質パラメータとしての象牙質ハイドロキシアパタイトのc軸配向性の評価については、透過型微小領域X線回折装置(R-AXIS BQ, Rigaku)を用いて、Mo-K線を50kV, 90mAで照射し、5分間の回折データから(002)および(310)のX線回折ピークの積分強度比を測定した。試料のX線入射面におけるすべての方向のハイドロキシアパタイト配向性を測定した。

3) 材質パラメータとしてのコラーゲン/ミネラル比の測定については、厚さ200 μ mの象牙質薄切試料を採取し、鏡面研磨したものをを用いた。フーリエ変換赤外線分光装置(NICOLET6700, Thermoscientific)にて試料の歯冠部および歯根部を測定した。得られた赤外線吸収スペクトルから、amide(コラーゲン)およびリン酸基P04(ミネラル)のピーク比を計測した。

4) 材質パラメータとしての象牙質コラーゲン中のペントシジンの蛍光定量については象牙質試料を液体窒素下で凍結粉碎し、物理・化学処理および加水分解処理に供した後、陽イオン交換高速液体クロマトグラフィー(LC9, Shimadzu)を用いてペントシジンの有する自然蛍光特性によって蛍光定量を行った。

5) 強度試験の実施

3点曲げ試験用の金属ホルダーに試料を固定して、現有設備である電磁式微小試験機(MMT-101N, Shimadzu)を用いて、象牙質の疲労破壊挙動をみる予定であったが、4)のペントシジンの蛍光定量にあたり、象牙質試料から十分な量の試料を採取するのが困難であり、実験に大幅な遅れが生じたため、現在進行中である。疲労破壊試験に先立ち3点曲げ試験を行い、構造パラメータおよび材質パラメータとの関連を評価をした。

6) 象牙質試料を白金蒸着し走査型電子顕微鏡を用いて2000倍で観察し、単位面積あたりの象牙細管数における閉鎖した象牙細管数

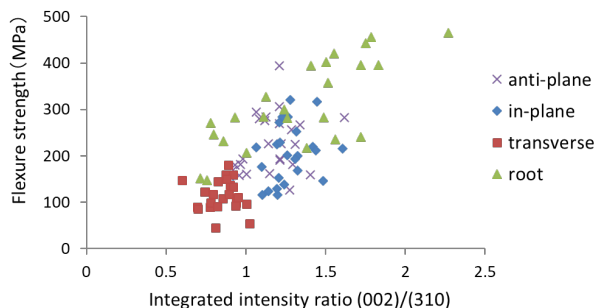
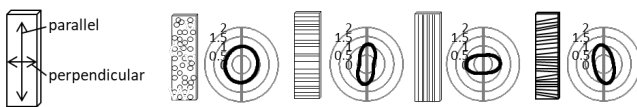
の割合を計測した。

4. 研究成果

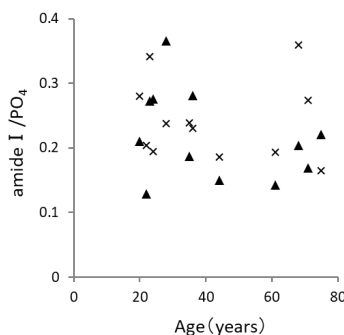
1) 材質パラメータとしてのハイドロキシアパタイトのc軸配向性の評価では、透過型微小領域 X 線回折装置を用いて、Mo-K 線を 50kV, 90mA で照射し、5 分間の回折データを採取した結果、象牙細管の走行に対して垂直な方向の積分強度比が有意に大きいことがわかった。つまり、象牙細管の走行に対して垂直にアパタイト結晶の c 軸が有意に配向しているという特徴が認められた。アパタイト配向性が強いものほど、曲げ強さも大きい傾向にあることがわかった。

Integrated intensity ratio of (002)/(310) corresponding to the preferential alignment of the c-axis of apatite

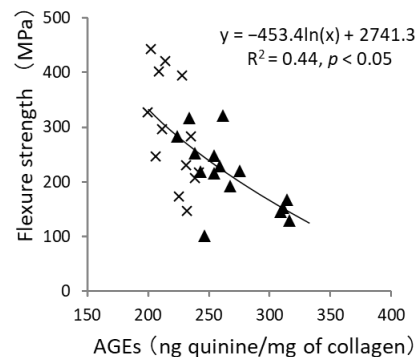
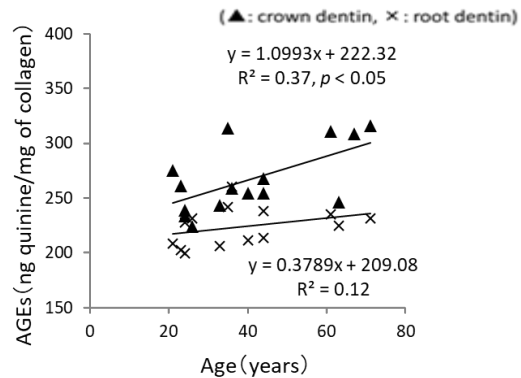
Types of specimen	anti-plane	in-plane	transverse	root
Measuring direction				
Parallel	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1*	0.8 ± 0.1	1.3 ± 0.4*
Perpendicular	1.3 ± 0.2	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.1*	0.9 ± 0.2



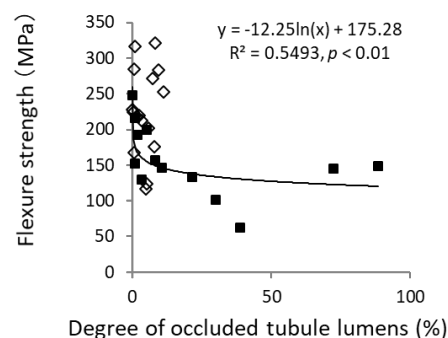
2) フーリエ変換赤外線分光法では、材質パラメータとして歯冠部および歯根部のコラーゲン/ミネラル比の測定を分解能 800cm^{-1} 、積算回数 128 回の条件で反射法にて行った。得られた赤外線吸収スペクトルから amide (コラーゲン) およびリン酸基 (ミネラル) のピーク比を計測したところ、コラーゲン/ミネラル比と年齢との間に相関は認められなかった。



3) 高速液体クロマトグラフィーによるペントシジン量の定量結果では、ペントシジンはとくに歯冠部において年齢とともに増加する傾向にあった。歯冠部歯根部ともに老化架橋であるペントシジンが多い程、曲げ強さが低下する傾向が見られた。



4) 走査型電子顕微鏡観察による象牙細管密度と細管閉鎖度の計測結果では、細管密度が高い程、曲げ強さが低下する傾向にあり、40 歳以上で、細管閉鎖度が高くなるにつれ曲げ強さが低下することがわかった。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 4 件)

須崎尚子, 新野侑子, 廣瀬奈々子, 山口哲, 今里聡, 林美加子. 第 145 回日本歯科保存

学会秋季学術大会，キッセイ文化ホール（長野県松本市）

R.Uemura, K.Yagi, Y.Shinno, J.Miura, M.Hayashi. 94th IADR, ソウル, 韓国

R.Uemura, K.Yagi, Y.Shinno, J.Miura, Y.Matsuda, M.Hayashi. 95th IADR, サンフランシスコ, アメリカ合衆国

須崎尚子, 新野侑子, 廣瀬奈々子, 山口哲, 今里聡, 林美加子. 第 147 回日本歯科保存学会秋季学術大会, 盛岡地域交流センター（岩手県盛岡市）

〔図書〕(計 2 件)

新野侑子, 林美加子. ヒョーロンパブリッシャーズ, 日本歯科評論 2016 年 11 月号 p47-58

新野侑子, 林美加子. ヒョーロンパブリッシャーズ, 日本歯科評論 2017 年 11 月号 p33-44

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新野 侑子 (SHINNO, Yuko)

大阪大学歯学部附属病院・医員

研究者番号：80736249