

機関番号： 11301

研究種目： 若手研究 (B)

研究期間： 2009 ~ 2010

課題番号： 21791875

研究課題名 (和文) 超音波顕微鏡を利用した顎顔面口腔領域の組織弾性の解析

研究課題名 (英文) The elastic properties of maxillofacial and oral region assessed by scanning acoustic microscopy

研究代表者

羽鳥 弘毅 (HATORI KOUKI)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号： 40372320

研究成果の概要 (和文) : 超音波顕微鏡は、組織切片内を伝導する超音波の音速を測定する顕微鏡である。本顕微鏡を用いて、下顎頭軟骨および歯根膜の音速変化を計測した。被験組織は明瞭に可視化された、被験組織内の音速は上昇した、また被験組織ではコラーゲンおよびアグリカンの局在が認められた。以上より成長段階において組織弾性は変化すること、またこれらの変化にはコラーゲン分子および非コラーゲン分子が関与していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文) : Scanning acoustic microscopy (SAM) enables us to assess the tissue elasticity based on the propagation of sound speed. The aim of this study is to elucidate the change of the elasticity of mandibular condylar cartilage (MCC) and periodontal ligaments (PDL) by using SAM. SAM clearly visualized two-dimensional distribution of the sound speed changes of MCC and PDL. The sound speed of MCC and PDL increased significantly in the course of development. Collagens and Aggrecan were expressed in the MCC and PDL. SAM is a powerful tool for evaluating the elasticity and its distribution in tissues. These results suggested that the change of tissues was induced by morphological development such as the production and/or cross-link of collagens, and the functional development such as occlusal construction.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：超音波顕微鏡，組織弾性，定量評価，下顎頭軟骨，歯根膜，コラーゲン性タンパク，アグリカン，架橋構造

## 1. 研究開始当初の背景

平成20年4月東北大学大学院医工学研究科が本邦に初設置された。医工学研究科医用イメージング研究分野に既設の超音波顕微鏡 (Scanning Acoustic Microscopy; SAM) は、「物質のヤング率は、物質内を伝導する

音速の二乗および物質の密度に比例する」という原理に基づいた顕微鏡である。

SAMの特徴として、「組織切片内を通過する音速の二次元分布を詳細にイメージング可能である」、「組織切片内を通過する音速を指標として、組織弾性を定量的に判断可能であ

る」および「画像解像度は  $8\mu\text{m}/\text{pixel}$  と高解像能を有する」ことが挙げられる。即ち SAM により、「組織切片上での詳細な弾性分布の観察が可能となった」。

そこで「本研究の当初の背景」は、「生理的および病理的条件下における顎顔面口腔領域組織内を伝導する音速を測定することにより『正常組織の機械的性質』、『組織・器官の成熟度』および『病理組織における機械的性質の変化』を詳細に把握」することである。

## 2. 研究の目的

「本研究の目的」は、

(1)「SAM を利用して組織内伝導音速を計測することにより『生理的発育段階』、『生理的成熟段階』および『老化段階』における顎顔面口腔領域の組織弾性の分布、経時的变化を評価すること」

および

(2)「(1)での結果との比較により『疾患モデル』および『病理的状態』における顎顔面口腔領域の組織弾性分布の相違や、経時的变化の相違を評価すること」を目的としている。

## 3. 研究の方法

### (1) 下顎頭軟骨弾性について

生理的成長段階でのラット下顎頭軟骨内を通過する音速の経時的变化を SAM により計測し、下顎頭軟骨弾性の生理的発達を明らかにする研究を行った。生後 7, 12, 16 および 20 週齢雄性 Wistar 系ラット (各群 7 匹ずつ) 合計 28 匹を実験に使用した。ラットを灌流固定後、下顎骨を取り出し、脱灰した。脱灰後、通法に従い厚さ  $5\mu\text{m}$  のパラフィン矢状断切片を作製した。これらの切片に対し SAM を用いて画像撮影を行った。また同切片で得られた SAM 像から下顎頭軟骨を通過する音速を計測し、各群間において統計的に比較検討した。また下顎頭軟骨弾性変化に関与すると考えられる I・II・X 型コラーゲンおよびアグリカンの発現について免疫組織化学的観察を行った。さらに、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施し組織を同定するとともに組織学的検討に供した。

### (2) 歯根膜弾性について

生理的成長段階でのラット歯根膜内を通過する音速の経時的变化を SAM により計測し、歯根膜弾性の生理的発達を明らかにする研究を行った。生後 3, 4, 5 および 7 週齢雄性 Wistar 系ラット (各群 7 匹ずつ) 合計 28 匹を実験に使用した。ラットを灌流固定後、下顎骨を取り出し、脱灰した。脱灰後、通法に従い厚さ  $5\mu\text{m}$  のパラフィン矢状断切片を作製した。これらの切片に対し SAM を用いて画

像撮影を行った。また同切片で得られた SAM 像から下顎第一臼歯歯根膜を通過する音速を計測し、各群間において統計的に比較検討した。また歯根膜弾性変化に関与すると考えられる I・III 型コラーゲンの発現について免疫組織化学的観察を行った。さらに、HE 染色を施し組織を同定するとともに組織学的検討に供した。

## 4. 研究成果

### (1) 下顎頭軟骨弾性について

SAM の画像解像度 (図 1) は、HE 染色像 (図 2) と比較して遜色はなく、下顎頭内の音速分布を鮮明に可視化した。

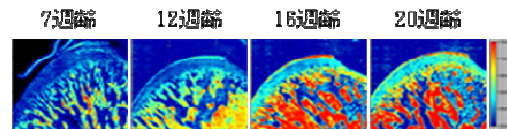


図 1 下顎頭軟骨 SAM 画像

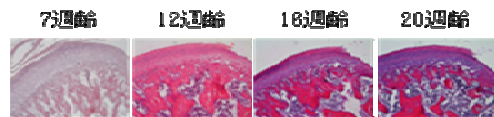


図 2 下顎頭軟骨 HE 染色像

また SAM 像から得られた各群の平均音速は 3 週齢で  $1,541\text{m/s}$ 、12 週齢で  $1,580\text{m/s}$ 、16 週齢で  $1,615\text{m/s}$  そして 20 週齢では  $1,623\text{m/s}$  であった。暦齢の異なる群間の比較から、下顎頭軟骨内を通過する音速は成長とともに有意に上昇することが示された (図 3)。

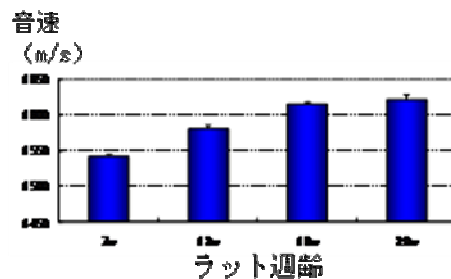


図 3 下顎頭軟骨内平均音速

免疫組織化学的検討から I 型コラーゲンは下顎頭表層の結合組織性被膜および軟骨下骨に局在が認められた (図 4)、II 型コラーゲンおよびアグリカンは下顎頭軟骨のみに局在が認められた (図 5 および 6)、さらに X

型コラーゲンは下顎頭軟骨と軟骨下骨の境界領域にのみ局在が認められた (図 7).

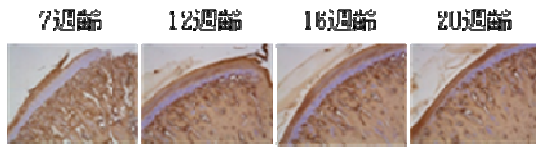


図4 I型コラーゲンの局在

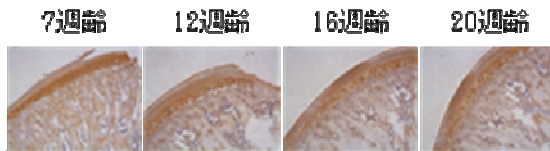


図5 II型コラーゲンの局在

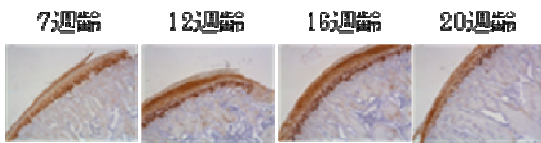


図6 マグリカンの局在

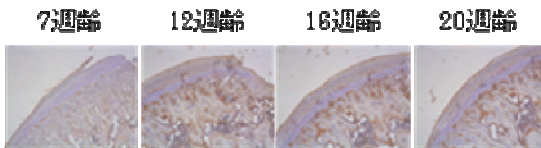


図7 X型コラーゲンの局在

以上より、下顎頭軟骨弾性は生理的成長とともに経時的に低下していくことが示唆された。これにはコラーゲン性および非コラーゲン性タンパクの架橋構造の変化、成長における咬合力変化などが関与していることが推察された。

(2) 歯根膜弾性について

SAMの画像解析度(図8)は、HE染色像(図9)と比較して遜色はなく、歯根膜内の音速分布を鮮明に可視化した。

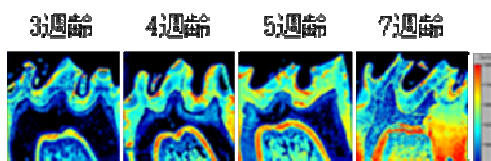


図8 歯根膜SAM像

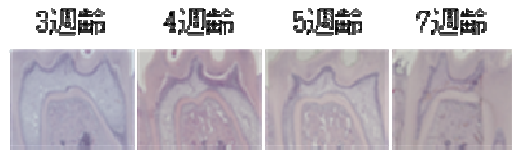


図9 歯根膜HE像

またSAM像から得られた各群の平均音速は3週齢で1,523m/s、4週齢で1,538m/s、5週齢で1,552m/sそして7週齢では1,559m/sであった。暦齢の異なる群間の比較から、下顎頭軟骨内を通過する音速は成長とともに有意に上昇することが示された(図10)。

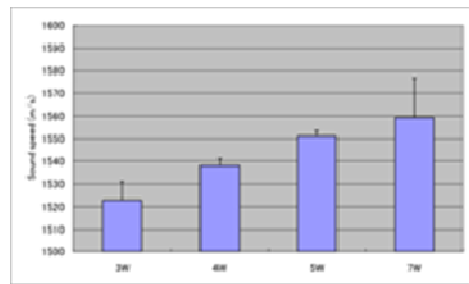


図10 歯根膜内平均音速

免疫組織化学的検討からI型コラーゲンは歯根膜および象牙質・歯槽骨に広く局在が認められた(図11)、III型コラーゲンは歯根膜内に分布する血管壁ならびにその周囲組織のみに局在が認められた(図12)。

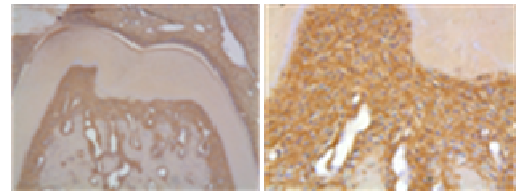


図11 I型コラーゲンの局在 (5週齢ラット)

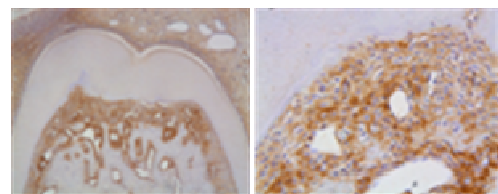


図12 III型コラーゲンの局在 (5週齢ラット)

以上より、歯根膜弾性は生理的成長とともに経時的に低下していくことが示唆された。これにはコラーゲン性タンパクの架橋構造の変化、成長における咬合力変化などが関与していることが推察された。

#### 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)

[雑誌論文] (計1件)

① Distribution of Type A and B Synoviocytes in the Adhesive and Shortened Synovial Membrane during Immobilization of the Knee Joint in Rats

Akira Ando, Yoshihiro Hagiwara, Yoshito Onoda, Kouki Hatori, Hideaki Suda, Eiji Itoi

Tohoku Journal of Experimental Medicine, 査読有, 2010, 221(12): 161-168.

[学会発表] (計4件)

① 超音波顕微鏡を利用したラット下顎頭軟骨弾性の経時的変化

羽鳥弘毅, 萩原嘉廣, 西條芳文, 安藤晃, 伊奈慶典, 安藤浩二, 白石成, 佐藤奨, 佐々木啓一

平成21年度社団法人日本補綴歯科学会東北・北海道支部総会ならびに学術大会. 査読有. 平成21年度社団法人日本補綴歯科学会東北・北海道支部総会ならびに学術大会プログラム・講演内容抄録集21ページ.

岩手県歯科医師会館8020プラザ, 岩手県盛岡市. 平成21年10月24・25日.

② Evaluation of Cartilage-Bone Complex Assessed by High Frequency Ultrasound Imaging System

Yoshihiro Hagiwara, Akira Ando, Yoshifumi Saijo, Yoshito Onoda, Hideaki Suda, Kouki Hatori, Eiichi Chimoto, Eiji Itoi

The 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. March 6-9, 2010. Ernest N. Morial Convention Center. New Orleans, Louisiana, USA. 査読有

③ Adhesions and Shortening of Synovial Membrane in Immobilized Rat Knee Joints

Akira Ando, Yoshihiro Hagiwara,

Yoshito Onoda, Kouki Hatori, Hideaki Suda, Eiichi Chimoto, Eiji Itoi

The 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. March 6-9, 2010. Ernest N. Morial Convention Center. New Orleans, Louisiana, USA. 査読有

④ Expression Patterns of Collagen Types I and III in the Capsule of a Rat Knee Contracture Model

Yoshito Onoda, Yoshihiro Hagiwara, Akira Ando, Hiroyuki Matsui, Kouki Hatori, Hideaki Suda, Eiichi Chimoto, Eiji Itoi

The 56th Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society. March 6-9, 2010. Ernest N. Morial Convention Center. New Orleans, Louisiana, USA. 査読有

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

羽鳥 弘毅 (HATORI KOUKI)

東北大学・大学院歯学研究科・助教

研究者番号: 40372320