

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06381

研究課題名（和文）超微形態解析と物性評価で探る歯の老化現象の解明

研究課題名（英文）Evaluation of teeth aging by ultrastructural analysis and mechanical properties measurement

研究代表者

久保 美寿穂（KUBO, MIZUHO）

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：60757813

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：AGEsと全身疾患との関連は知られているが、AGEsと歯の関連に関する研究報告は少ない。そこで、本研究は、AGEsによる象牙質コラーゲン線維への影響を検討した。象牙質コラーゲン線維を免疫組織化学染色にてAGEsの局在を評価し、ナノインデーター装置を用いてヤング率の変化を評価した。その結果、加齢により象牙質コラーゲン線維内の糖化修飾が増加しヤング率を大きく変化させることで、歯自身の物性に影響を与えることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Relation between AGEs and systemic disease is known, however, there are few reports about relation between AGEs and teeth. In this study, we analyzed influence of AGEs on teeth. Location of AGEs in dentin collagen was evaluated from results of immunostaining and Young's modulus of dentin collagen was measured with an indenter. As a result, it is clear that AGEs increase in dentin collagen, harden dentin collagen with age, and influence mechanical property of teeth.

研究分野：歯科保存学

キーワード：象牙質 コラーゲン線維 糖化

1. 研究開始当初の背景

歯の喪失原因となる歯根破折の病態の研究は多く行われている。歯は加齢によっても歯根破折の生じやすくなると言われており、歯の加齢変化と破折の病態についての報告も多くある。しかし、老化の原因の一つである『糖化』と歯の関連についての研究はあまり行われていない。

加齢により糖化反応が起こり、生体内に多く存在する基質タンパク質の一種であるコラーゲン線維に血中の還元糖により最終糖化生成物 (Advanced Glycation End-products: 以下 AGEs) を生成し、非生理的架橋を形成することが知られており、糖化は全身疾患にも関与していることが明らかになっている。糖化と歯の関連を明らかにすることで、糖化と歯根破折や齲蝕といった歯科疾患との関連を明らかにできるだけでなく、歯の状態から全身状態の評価を行える可能性がある。

2. 研究の目的

象牙質コラーゲン線維における AGEs の局在を明らかにし、AGEs が象牙質コラーゲン線維の物性に与える影響を検討する。

3. 研究の方法

若年者と高齢者の健全象牙質を用意する。

(1) 健全象牙質を 10%EDTA にて 3 週間脱灰し、2%PFA にて固定を行う。その後、パラフィン包埋を行い、ミクロトームにて薄切切片を作製する。抗 AGE 抗体を用いて免疫組織化学染色を行う。

(2) 健全象牙質を 10%EDTA にて 3 週間脱灰し、2%PFA にて固定を行う。その後、変形をなるべく抑えた環境下で 2 週間乾燥させた試

料を試料台にレジンにて固定を行い、ナノインデント装置にてヤング率の測定を行う。

4. 研究成果

(1) 象牙質コラーゲン線維を免疫組織化学染色にて AGEs の局在を評価した。

歯冠象牙質では、歯髄近傍の象牙質で強い AGEs 陽性反応が認められ、特に象牙細管周囲に強い AGEs 陽性反応が認められた。また、若年者と比較して高齢者に強い AGEs 陽性反応が認められた (図 1)。

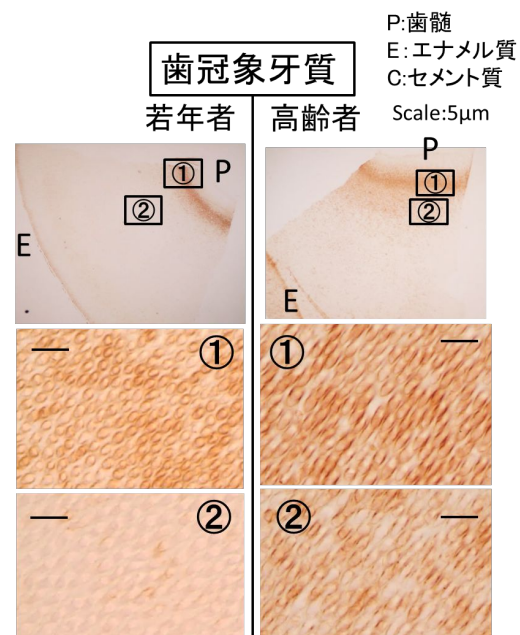


図 1 : 歯冠象牙質における免疫組織化学染色の結果

歯根象牙質では、象牙細管周囲に強い AGEs 陽性反応が認められ、若年者と比較して高齢者に強い AGEs 陽性反応が認められた (図 2)。

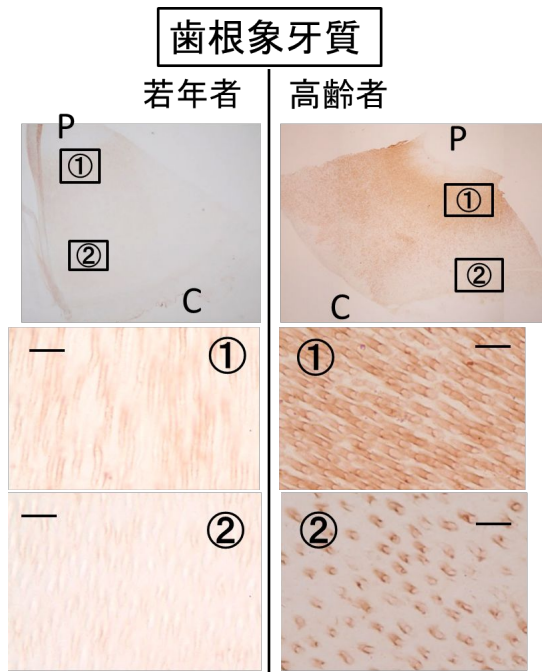


図2：歯根象牙質における免疫組織化学染色の結果

(2) ナノインデーター装置を用いてヤング率の変化を評価した。

歯冠象牙質と歯根象牙質において、高齢者の象牙質コラーゲン線維のヤング率の方が、若年者よりも高くなることが明らかとなった。この結果から象牙質コラーゲン線維は加齢により硬くなることが分かった。

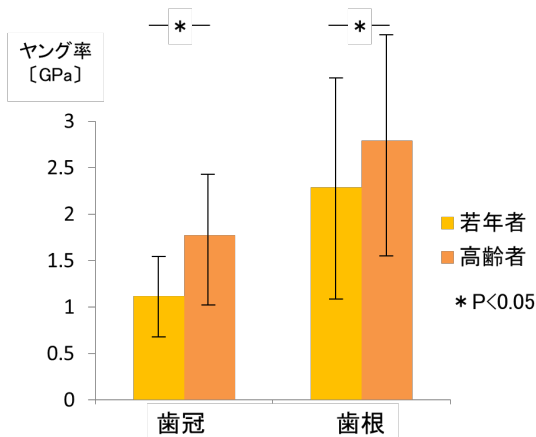


図3：インデンテーションによる象牙質コラーゲン線維のヤング率測定結果

以上の結果から、加齢により象牙質コラーゲン線維内の糖化修飾が増加し、象牙質コラーゲン線維の物性が変化すると考えられる。そして、加齢に伴う AGEs の修飾が歯自体の物性に影響を与える可能性を示すことができた。

また、象牙質コラーゲン線維のヤング率をナノインデーター装置で測定する手法の開発により、軟性の生体材料のインデンテーション法へ応用できる可能性がある。

今後、研究成果を専門雑誌にて報告予定である。

参考文献

Fukushima S, Shimizu M, Miura J, Matsuda Y, Kubo M, Hashimoto M, Aoki T, Takeshige F, Araki T. Decrease in fluorescence lifetime by glycation of collagen and its application in determining advanced glycation end-products in human dentin. Biomed Opt Express, 査読有、2015, 6, 1844-56.

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)

Y Matsuda, J Miura, M Shimizu, T Aoki, M Kubo, S Fukushima, M Hashimoto, F Takeshige, T Araki. Influence of Nonenzymatic Glycation in Dentinal Collagen on Dental Caries. JDR, 査読有、2016, 95, 1528-1534.

〔学会発表〕(計2件)

久保美寿穂、三浦 治郎、松中 大介、田中 展、竹重 文雄、渋谷 陽二、ナノインデンテーションにおける象牙質コラーゲン線維の物性評価、第5回日本真空学会機能性薄膜部会ナノキャラクタリゼーション専門部会、2015年10月23日、東京

J Miura, Y Matsuda, M Shimizu, M Kubo, F Takeshige, S Enomoto, S Arai, 3-dimensional Analysis of Non-enzymatic Glycation in Caries Using Immunohistochemical FIB/SEM, International Association for Dental Research, 2017年3月23日~25日、USA

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

該当なし

取得状況(計0件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保美寿穂 (KUBO Mizuho)
大阪大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号: 60757813

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者
該当なし

(4) 研究協力者
該当なし