

平成 21 年 6 月 2 日現在

研究種目：若手 (B)

研究期間：2006 ～ 2008

課題番号：18791469

研究課題名 (和文) 咬合性外傷歯の非外科的修復方法の開発

研究課題名 (英文) A develop of non-surgical repair method for occlusal trauma

研究代表者

都築 尊 (Tsuzuki Takashi)

福岡歯科大学咬合修復学講座 講師

研究者番号：70330967

研究成果の概要：

ラット咬合面にワイヤーを接着し、過剰咬合モデル動物を製作した。0日、2日、4日、7日目に屠殺し、下顎右側臼歯を顎骨ごと採取した。頬側、分岐部、舌側で組織切片を製作し、TRAP (+) 細胞をカウントしたところ、頬側は牽引側、舌側と分岐部は圧迫側になっていることが考えられた。続いて蛍光免疫染色にてI型コラーゲン、XII型コラーゲンの染色像を観察すると、I型コラーゲンの局在に経時的変化はみられなかったが、XII型コラーゲンにおいて、経時的なタンパクの局在変化がみられた。さらに、この変化は、圧迫側よりも牽引側で早期に観察された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,600,000	0	1,600,000
2007年度	1,100,000	0	1,100,000
2008年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	210,000	3,610,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴理工系歯学

キーワード：咬合性外傷，線維結合コラーゲン，修復

1. 研究開始当初の背景

咬合性外傷の治療は、咬合力を軽減することとされている。臨床においては、歯槽骨が吸収し、二次性の咬合性外傷となりやすい歯周病罹患患者の場合、一歯あたりの負荷を軽減するために、プロビジョナルレストレーションにより力のコントロールがなされ、長期にわたり咬合の管理が必要とされる。そして、最終補綴でもスプリントされることが多い。

一方、大臼歯を早期に喪失して、咬合支持

が小臼歯に集中する場合、咬合性外傷ぎみの小臼歯が部分床義歯の鈎歯となり、なしくず的に小臼歯を喪失し、結果総義歯に移行するパターンが多い。その解決策として、残存歯の連結固定が挙げられるが、天然歯の切削を余儀なくされることも多々あり、患者に受け入れられないことがある。また、歯科インプラントにより、残存歯の負荷を軽減することはできるが、すべての患者にインプラントが適応できるとは限らない。したがって申請

者は、歯根膜を修復促進する因子を発見することで、患者のリスクを軽減しつつ、長期に安定した咬合を与えることが可能であると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、最小限の生態侵襲もしくは非外科的に歯根膜を修復、再生させることをゴールとして、咬合性外傷と歯根膜構成成分の関係を明らかにすることである。

3. 研究の方法

過剰咬合モデルには、8週齢♀ウイスターラットを用いた。ネブタールにて麻酔を施したラットの上顎右側に、0.8mm コバルトクロムクラスプ線をスーパーボンドにて接着し、早期接触部を製作した。餌は通常の固形飼料とし、自由に水分が補給できる環境で飼育した。過剰負荷を与えてから2日目、4日目、7日目に屠殺し、下顎右側臼歯を顎骨ごと採取した。固定はパラフォルムアルデヒドにて行い、10%EDTAで2週間脱灰後、液体窒素とコンパウンドにて凍結包埋した。第1臼歯を近心根、中央分岐部、遠心根。第2臼歯を近心分岐部、遠心根。第3臼歯を近心分岐部にそれぞれ分割し、通法に従い前頭断にて6mm厚の凍結切片を製作し、ヘマトキシリン・エオジン染色、TRAP染色、抗I型コラーゲン、抗XII型コラーゲン抗体による免疫組織学的検討を行った。また、抜歯した歯根表面より歯根膜を抽出し、リアルタイムPCRにてmRNAの定量を行った。

4. 研究成果

(1) 実験期間中に歯の動揺はみられなかったが、過剰咬合を与えて7日目において、下顎右側咬合面舌側に著明な咬耗を認めた。(図1)



図1 左：0日目のラット下顎咬合面
右：7日目のラット下顎咬合面

(2) コントロール群において、TRAP(+)細胞はすべての切片において歯根の頬側に存在する傾向にあった。実験群では、舌側と分岐部にTRAP(+)細胞が多数出現した。(図2-4)したがって、頬側が牽引側、舌側、分岐部が圧迫側と考えられた。TRAP(+)細胞出現部の歯根膜線維の走行として、コントロール群では規則的な走行であるのに対して、実験群では歯根膜線維芽細胞の密度が高く、不規則な線維走行を示した。また分岐部におい

ては圧平された歯根膜線維芽細胞が過剰咬合初期に観察され、7日目には丸い形態の細胞が不規則に密集していた。

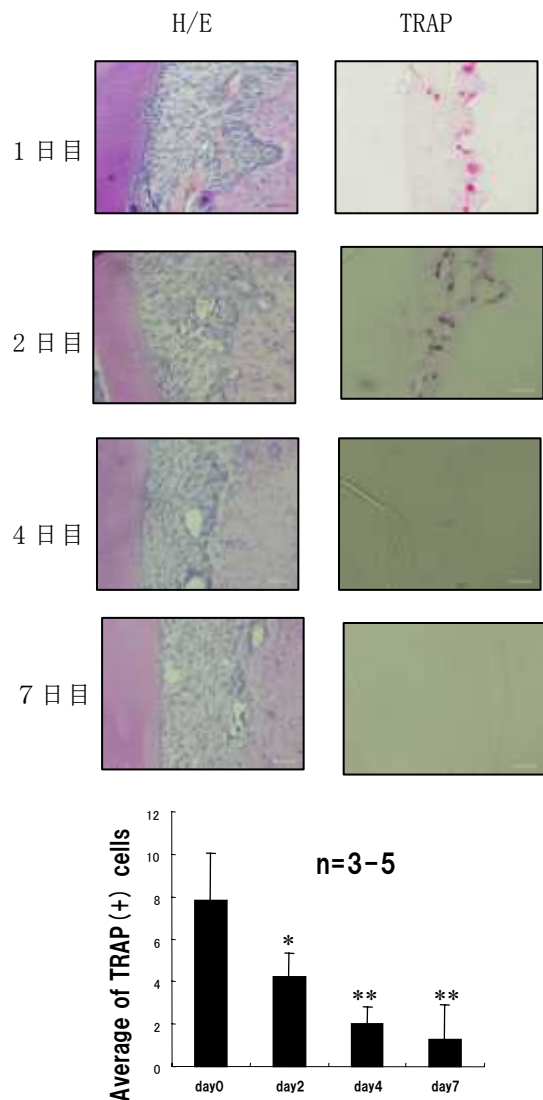
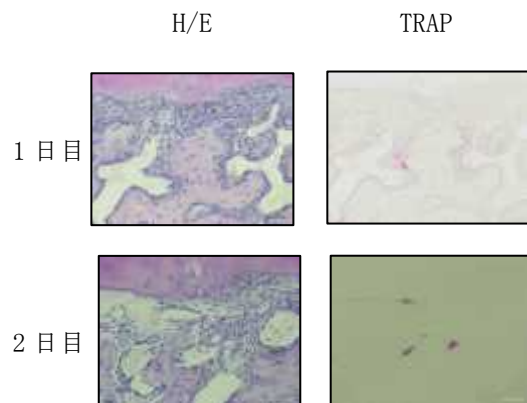


図2：頬側歯頸部におけるTRAP(+)細胞数



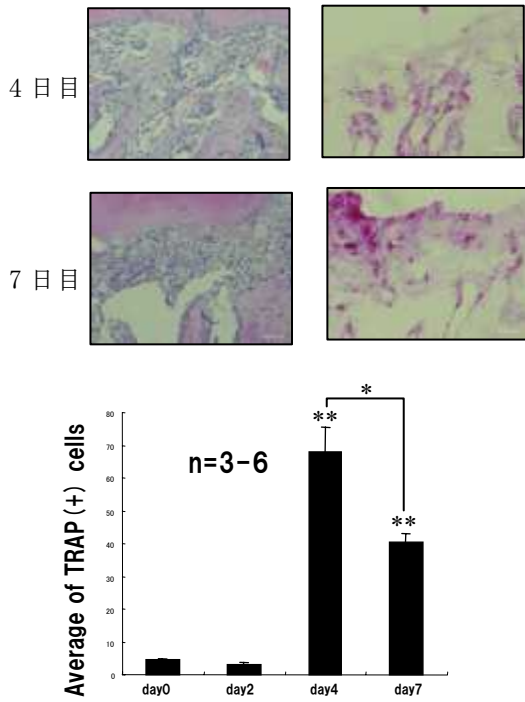


図3：分岐部における TRAP(+)細胞数

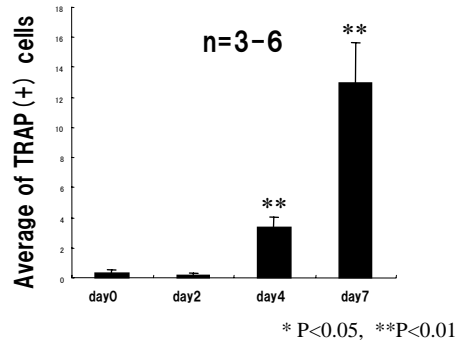
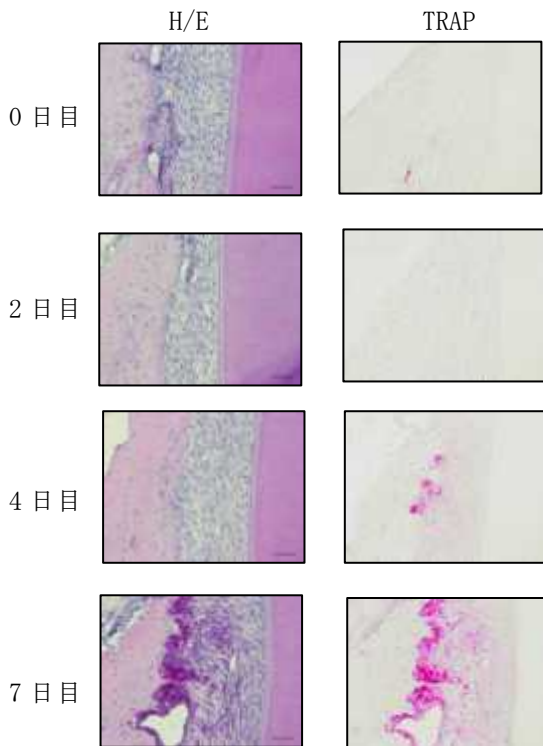


図4：舌側歯頸部における TRAP(+)細胞数

(3) すべての観察部位において、I型コラーゲンは細胞間に存在し、過剰負荷期間を経て、局在に大きな変化は観察されなかった。(図5, 図6, 図7)

一方XII型コラーゲンは、0日群では規則的な線維の走行や細胞周囲の特異的な局在は観察されなかったが(図5, 図6, 図7)、経目的に局在が変化した。

頬側歯頸部においては、2日目以降より細胞周囲に局在が観察された。分岐部と舌側歯頸部においては、4日目以降より細胞周囲の局在が観察された。

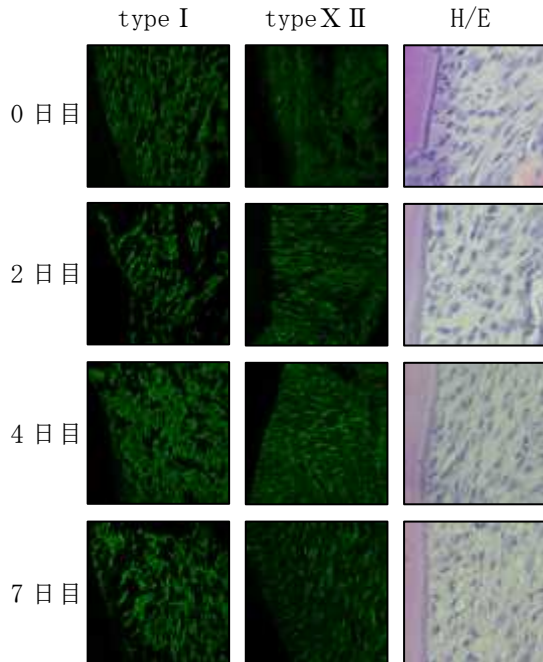


図5：頬側歯頸部におけるXII型コラーゲンの経時的局在変化

type I type XII H/E

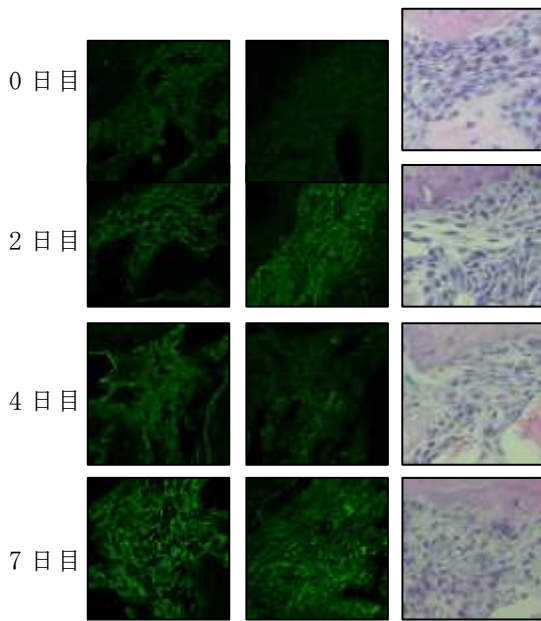


図 6：分岐部におけるX II型コラーゲンの経時的局在変化

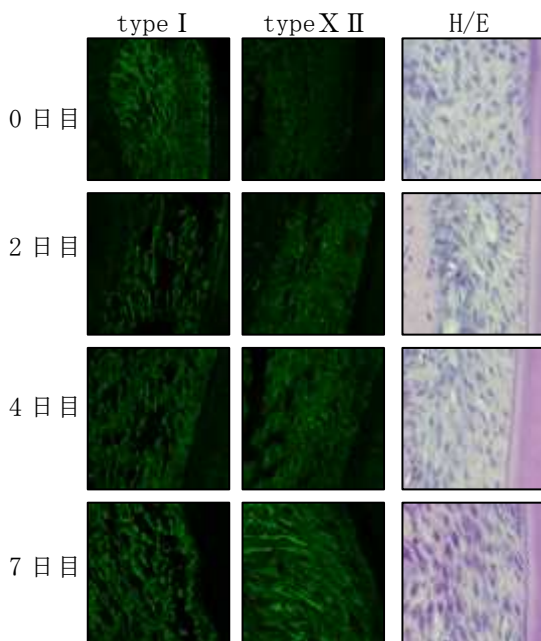


図 7：舌側歯頸部におけるX II型コラーゲンの経時的局在変化

(4)

7日目の過剰咬合ラットの歯を抜歯し、歯根より歯根膜細胞を採取し、total RNAを採取した。リアルタイムPCRにてII、III、IV、VIII、XII型コラーゲンmRNAを定量した。7日目の歯根膜細胞においては、すべての値が減少し

ていた。(図8)

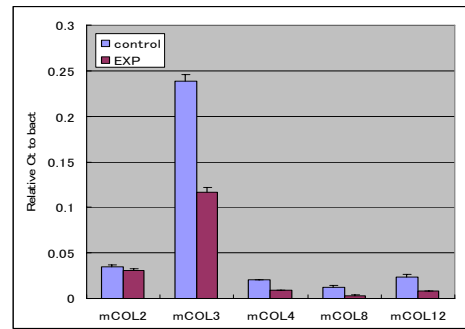


図 8：歯根膜細胞における各種コラーゲンのmRNAの経時的量変化

(5)

今回、本過剰咬合モデルを用いて、下顎第1臼歯の前頭断での組織学的検討を行なった。頬側の歯槽骨においては、活発な骨リモデリングが観察された。本モデルで過剰咬合を与えることにより、TRAP(+)細胞が分岐部と舌側に集中した。これは、臼歯の咬耗を考えると、咬合力が舌側に集中し、頬側が牽引側、舌側が圧迫側になったと考えられる。day0において、頬舌側PDLに特に変化がなかったことから、本モデルは、生理的骨吸収と過剰負荷による病的骨吸収を比較するモデルになりうると考えられる。

線維結合型コラーゲンに分類されるXII型コラーゲンは、I型コラーゲン周囲に存在し、腱や靭帯、歯根膜など、頻りにストレスがかかる部位に分布している。矯正移動モデルにおいて、牽引側のPDLがXII型コラーゲンmRNAを発現することが報告されており、その構造や分布から、XII型コラーゲンは、結合組織の安定、恒常性維持の役割をもつことが示唆されている。今回、圧迫側と牽引側でXII型コラーゲンの局在変化に時間差があったことは、PDLが負荷のかかり方を感知し、タンパクの局在を変化させている可能性を示唆している。今後本モデルを用いて、歯周組織の負荷応答についての詳細を検討していく所存である。

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 0件)

〔学会発表〕(計 2件)

①コーヌステレスコープ義歯により清掃性と装着感に考慮した症例

都築 尊

平成20年日本補綴歯科学会九州中国四国支部合同学術大会

平成 20 年 8 月 30 日

② コーヌステレスコープ義歯の長期経過症
例

都築 尊, 松山繁樹, 清國祐紀, 田代琢
二, 根本哲臣, 清水博史, 高橋 裕

第 35 回福岡歯科大学学会総会

平成 20 年 12 月 14 日

[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

都築 尊 (Tsuzuki Takashi)

福岡歯科大学咬合修復学講座 講師

研究者番号: 70330967

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: