

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
(自署)	研究の総括的指導
(自署)	
(自署)	

学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

教育研究分野 医歯薬学総合研究科 歯科矯正学分野	身分 大学院生	氏名 高橋 春香
論 文 題 名 歯の移動初期における歯根膜組織の大規模三次元イメージング		
論文内容の要旨 (2000字程度)		
<p>【緒言】</p> <p>歯根膜はコラーゲン線維束や細胞群から構成される線維性結合組織であり、矯正歯の移動初期には、矯正力が作用する圧迫側において圧縮変形することがわかっている。近年ではFocused Ion Beam Scanning Electron Microscopes (以下、FIB-SEM) を用いることで歯根膜に富むコラーゲン線維束の三次元解析は進んでいるものの、歯の移動初期における歯根膜の変形は大きな構造変化が生じるにも関わらず、その詳細は明らかでない。これは、歯根膜がセメント質と歯槽骨を介在する広範な領域を持った組織であるため、解像度と観察範囲のトレードオフの問題が生じることが原因と考えられる。一方、XeプラズマFIB-SEMは高解像度を持ちながら約$100 \times 100 \times 100 \mu\text{m}^3$の大規模な観察を可能とした。そこで本研究では、歯の移動初期における圧迫側歯根膜組織の詳細な三次元解析を行い、さらに歯根膜コラーゲン線維束の構造変化に関する知見を獲得することを目的として、XeプラズマFIB-SEMを用いて歯根膜の三次元観察を行い、そしてコラーゲン線維束の形態計測を行った。</p> <p>【材料ならびに方法】</p> <p>8週齢のICRマウスの切歯と上顎左側第一大臼歯にNi-Tiコイルスプリングを結紮し、10 gfの至適矯正力を付与した。24時間の歯の移動後に灌流固定し、装置を装着した左側第一大臼歯の周囲歯周組織を移動群、装置を装着していない反対側をControl群として摘出し、電子染色を行った。包埋した試料は、第一大臼歯口蓋根近心側の高さおよび頬舌的位置が歯根1/2程度となるように観察範囲を規定し、研磨した。XeプラズマFIB-SEMを用いて撮影した連続SEM像はソフトウェアDragonflyを用いて人工知能を応用したコラーゲン線維束と細胞核の自動抽出を行った。その後ソフトウェアImage J fijiを用いてコラーゲン線維束の形態計測を行った。コラーゲン線維束の両端をセメント質側、歯槽骨側とし両群それぞれの線維束断面積と断面の長径、短径を計測した。さらに長径に対する短径の割合を扁平率とし、断面積と合わせて評価した。</p> <p>【結果】</p> <p>XeプラズマFIB-SEMを用いることによって$50 \times 50 \times 50 \text{nm}^3$のボクセルサイズで、Control群では$73.4 \times 133.5 \times 85.3 \mu\text{m}^3$の領域を、移動群では$218.4 \times 127.4 \times 76.9 \mu\text{m}^3$の領域を観察することができた。これにより歯根膜におけるコラーゲン線維束の全長と歯根膜細胞、血管などの微細な構造物や、さらに歯槽骨内の骨細胞や破骨細胞を明瞭に観察することができた。</p> <p>続いて人工知能を用いることで連続SEM像からコラーゲン線維束と細胞核を組織抽出することに</p>		

論文内容の要旨（2000字程度）

成功した。コラーゲン線維束は、セメント質から歯槽骨壁に向かって互いに分岐、吻合しながら規則性を持って走行していた。また、コラーゲン線維束の走行方向と細胞核の長軸方向は異なっていることを観察することができた。さらに層状に折り重なった網目状のコラーゲン線維束の周囲に存在する多数の細胞核を三次元的に観察することができた。

次にコラーゲン線維束の両端であるセメント質側および歯槽骨側における線維束断面像から Control 群、移動群の断面積と扁平率を計測し、解析を行ったところ、両群はともにセメント質側よりも歯槽骨側の線維束断面積が有意に大きいことがわかった。両群の比較から矯正の歯の移動によって、セメント質側の断面形態は有意に扁平に変形し、歯槽骨側の断面積は有意に小さくなることがわかった。

【考察】

本研究では、Xe プラズマ FIB-SEM を用いることで、広範な領域を高解像度で観察し、歯の移動初期における歯根膜組織の詳細を明らかにした。さらに人工知能を応用することで歯根膜におけるコラーゲン線維束と細胞核の自動抽出に成功した。層状に折り重なった網目状のコラーゲン線維束の周囲に存在する多数の細胞核を三次元観察し、これはコラーゲン線維束が複数の歯根膜細胞に覆われているという以前の文献と同様の結果を示唆していると考えられる。コラーゲン線維束の断面形態の解析では、Control 群と移動群はともにセメント質側よりも歯槽骨側の線維束断面積が有意に大きいことがわかった。これはセメント質側から徐々に複数のコラーゲン線維束が合流していくことに起因すると考えられるが、コラーゲン線維の合成、成熟、走行とメカニカルストレスは密接に関連していることが報告されており、歯根膜が歯に加えられた多方面のメカニカルストレスを緩衝する形態学的適応の証左を示す可能性がある。矯正の歯の移動による変化では、セメント質側において断面形態が扁平に変形することが認められ、局所的な圧縮力によるコラーゲンの架橋結合の変化が原因と考えられた。歯槽骨側の変化に関しては、線維束の小型化が著明であり、コラーゲン代謝が活性化されたことが要因ではないか考えられた。

【結論】

以上より、歯の移動初期におけるコラーゲン線維束の断面形態の変化は、コラーゲンの結合変化やコラーゲン代謝の活性化など、メカニカルストレスとの関与が示唆された。