

氏 名	高橋 春香
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	歯 学
学位授与番号	博甲第7024号
学位授与の日付	令和6年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科機能再生・再建科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	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
論文審査委員	柳 文修 教授 稲葉 裕明 准教授 岡田 正弘 准教授

学位論文内容の要旨

【緒言】

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。

【材料ならびに方法】

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。

【結果】

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。

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。

論文審査結果の要旨

【緒言】

歯根膜は矯正歯科治療において歯に加えられた矯正力を伝播し歯槽骨改造を誘導する重要な役割を担っている。歯の移動初期には、力の作用する圧迫側歯根膜が圧縮する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。本研究では、Xe プラズマ Focused Ion Beam Scanning Electron Microscopes（以下、FIB-SEM）を用いて高解像度かつ広範囲の三次元画像を取得し、圧迫側歯根膜の形態学的解明を試みた。

【方法】

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、24 時間矯正力を付与した。同部歯周組織を移動群、反対側を Control 群として灌流固定後に摘出し、電子染色を行った。Xe プラズマ FIB-SEM で撮影した連続 SEM 像は人工知能を応用し、コラーゲン線維束と細胞核の自動抽出を行った。線維束の両端をセメント質側、歯槽骨側とし断面積と、断面の長径、短径から扁平率を算出し、評価した。統計解析は、各群の平均値から F 検定を行い、等分散性を確認したのち、対応のない t 検定を用いた。有意水準は 5%とした。

【結果】

Xe プラズマ FIB-SEM による観察は、解像度を $50 \times 50 \times 50 \text{ nm}^3$ のボクセルサイズに設定し、Control 群においては $73.4 \times 133.5 \times 85.3 \text{ } \mu\text{m}^3$ の領域を、移動群においては $218.4 \times 127.4 \times 76.9 \text{ } \mu\text{m}^3$ の領域を撮影した。歯根膜コラーゲン線維束は、分岐、吻合を繰り返して走行し、走行方向と細胞核の長軸方向は異なっていた。線維束はセメント質側よりも歯槽骨側の断面積が有意に大きいことがわかった。さらに矯正歯の移動によって、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】

歯根膜コラーゲン線維束はセメント質側に比較し、歯槽骨側の断面積が有意に大きく、歯の移動によってセメント質側では扁平に変形し、歯槽骨側は小型化することが明らかになった。これに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。

本研究では、Xe プラズマ FIB-SEM を使用することで高解像度、かつこれまでにない広範な領域の歯周組織を観察することに成功し、歯の移動初期における歯根膜コラーゲン線維束の形態変化に関する新しい知見を得た。得られた成果は新規性に富んでおり、また歯の移動時における種々の生化学的作用との関連を解明するうえでの礎となるものである。今後歯の移動における歯根膜コラーゲン線維改変の解明が期待される。

よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文としての価値を認める。