

博士（歯学）高木洋美

学位論文題名

ラット歯槽骨の成長と加齢に伴う
骨細胞間ネットワークの形態変化

学位論文内容の要旨

【目的】

従来、歯科矯正治療の主な対象は若年者であったが、近年、その対象には高齢者が増加してきている。

ところが、高齢者における歯槽骨の性状については、若年者と比較して骨密度の減少と歯槽骨頂部における骨組織量の減少、骨芽細胞および破骨細胞の活性低下などの変化が認められることが報告されているものの、矯正力の付与による歯槽骨の添加と吸収に深く関与すると考えられる骨細胞間ネットワークの成長と加齢に伴う変化に関してはほとんど明らかにされていない。

そこで本研究では、ラット臼歯を用いた矯正的歯牙移動の実験を行うための基礎データを得ることを目的として、ラット下顎第一臼歯部の歯槽骨を用い、蛍光顕微鏡法および樹脂鋳型走査電子顕微鏡法により、歯槽骨の成長と加齢に伴う骨細胞間ネットワークの形態変化を観察した。

【材料と方法】

実験材料として、生後 1, 2, 3, 6, および 12 カ月齢の雌の Wistar 系ラットを用い、10% ホルマリンにて灌流固定後、下顎骨の第一臼歯相当部を頸舌的に切断した。

蛍光顕微鏡用標本では、通法に従って Villanueva bone 染色を施し、樹脂包埋の後、落射蛍光顕微鏡で観察した。

樹脂鋳型標本では、試料を 0.5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液に浸漬して有機基質を除去した後、樹脂溶液中に浸漬・重合させた。重合ブロックを 1 N 塩酸によるエッティング 5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液による表面処理の後、走査型電子顕微鏡で観察した。なお、本研究では頸側歯槽骨および根尖部歯

槽骨を観察の対象とした。

【結果】

蛍光顕微鏡標本による類骨、低石灰化骨、および石灰化骨の分布変化、ならびに樹脂鋳型標本による骨小腔および骨細管の形態変化に関する観察結果を総合したところ、ラット歯槽骨は6つの領域（領域AからF）に分類された。

1. 蛍光顕微鏡標本による観察結果

1カ月齢から12カ月齢までの全期間を通して、固有歯槽骨の歯根膜面では一層の赤色を呈する類骨層（領域A）が、また歯槽頂部から支持歯槽骨の外骨膜側ではやや厚い一層の橙色を呈する低石灰化骨層（領域B）が認められた。

一方、両者の間に存在する緑色を呈する石灰化骨領域（領域C、D、E、F）を高倍率で観察すると、1カ月齢ではほとんどすべての骨小腔で小腔内壁に低石灰化領域の存在を示す橙色の帯が観察された（領域C）。このような骨小腔は幼若な骨細胞を容れる骨小腔（幼若骨小腔）、またこのような帯を有しない骨小腔は成熟あるいは老化した骨細胞を容れる骨小腔（成熟骨小腔および老化骨小腔）と考えられる。

その後、2カ月齢では、観察される骨小腔のほとんどは幼若骨小腔（領域C）であるものの、外骨膜側で成熟骨小腔（領域E）が観察されるようになり、3カ月齢になると幼若骨小腔と成熟骨小腔の割合は完全に逆転して、観察される骨小腔のほとんどが成熟骨小腔（領域E）となり、幼若骨小腔（領域C）が観察されるのは歯槽頂部と根尖部、および歯根膜側の狭い領域のみとなった。また6カ月齢になると、3カ月齢では多数の幼若骨小腔が観察された根尖部においても成熟骨小腔（領域E）および老化骨小腔（領域F）が観察される領域が広がり、12カ月齢ではわずかに歯槽頂部および歯根膜側の狭い領域でのみ幼若骨小腔（領域C）が観察され、それ以外の領域はすべて成熟骨小腔（領域E）あるいは老化骨小腔（領域F）となるが、老化骨小腔の占める割合は拡大する傾向にあった。

2. 樹脂鋳型標本による観察結果

幼若な骨組織である類骨（領域A）と低石灰化骨（領域B）については、樹脂鋳型標本の作製過程において除去されてしまうため、鋳型標本で骨小腔

や骨細管を観察することはできなかった。そのため、石灰化骨領域（領域C, D, E, F）における樹脂鑄型標本の観察結果について述べる。

領域Cは、1カ月齢では石灰化骨のほとんどすべてを占めているが、12カ月齢では歯槽頂部および歯根膜側の狭い領域のみとなってしまう領域である。この領域に存在する骨小腔の大きさは短径3~7μm, 長径6~13μmと比較的小型で、かつ球形ないしは卵形を呈している。また、骨細管の太さは0.8~1.0μmで、比較的少数の骨細管が放射状に派出している。この領域では全体的に骨小腔の数は少なく、その分布密度も低い。なお、領域Cのうち、固有歯槽骨側では、歯根膜から骨内に進入するシャーピー線維束が存在しているため、骨細管はこの線維束を避けるように不規則に走行している。

一方、領域Dに存在する骨小腔と骨細管の形態は、基本的に領域Cと同様の形態的特徴を示しており、鑄型標本のみでは両者を区別することはできない。すなわち、領域Dにおける領域Cとの違いは、蛍光顕微鏡により骨小腔内壁に橙色の帯が観察されないことのみである。

領域Eは、2カ月齢では外骨膜側の狭い領域であるが、3カ月齢になるとほとんどの石灰化骨領域にまで拡大する。しかし、6カ月齢以降になると範囲を縮小して外骨膜側の領域のみとなる。この領域に存在する骨小腔の大きさは短径4~10μm, 長径12~24μmと領域Cに比べてかなり大型であり、かつその長軸が歯根膜面に対して平行な紡錘形を呈している。また、骨細管の太さは0.6~0.8μmと領域Cとほぼ同様であるが、その数は増加しており、かつ紡錘形を呈する骨小腔の長軸に対して垂直な方向（すなわち、歯根膜面に対して垂直な方向）に走行している。この領域では全体的な骨小腔の数も増加し、その分布密度も高くなっている。

領域Fは、6カ月齢において領域Eが占めていた領域の歯根膜側1/2の領域と置き換わるように出現する領域で、12カ月齢では外骨膜側の方向へさらに拡大する。この領域に存在する骨小腔の大きさは短径3~8μm, 長径7~18μmと領域Eと比べてやや小さく、かつ卵形を呈している。また、骨細管の太さは0.6~1.0μmで、骨小腔の長軸に対して垂直な方向（一部放射状）に走行しているが、その数は領域Eに比べると減少している。この領域では全体的な骨小腔の数も減少しており、その分布密度も低くなっている。

【考察】

固有歯槽骨および歯槽頂部の領域においては常に活発な骨改造が行われていること、また支持歯槽骨では歯が萌出してから後もしばらくの間は骨形成

が活発に行われているが、3カ月齢をピークとして、その後は加齢に伴う骨細胞の老化により次第に活性が低下していくことが示唆された。また、骨細胞間ネットワークの発達程度は骨細胞の活性変化と同調しており、歯槽骨の成長に伴って次第に発達し、3カ月齢で最も良く発達するが、その後は加齢に伴って次第に退化すると考えられた。

一方、幼若骨細胞において放射状に走行していた骨細管は、成熟骨細胞になるとほとんど全てが歯根膜面に対して垂直な方向に並行して走行するようになり、この走行は老化骨細胞になって骨細管の数が減少してもほとんど変わることはなかった。このような歯根膜面に対して垂直な方向に並行して走行する骨細管は、外力による骨の微小な変形を受容するための装置として働いている可能性があると考えられた。

学位論文審査の要旨

主査 教授 飯田 順一郎

副査 教授 吉田 重光

副査 教授 脇田 稔

学位論文題名

ラット歯槽骨の成長と加齢に伴う 骨細胞間ネットワークの形態変化

審査は各審査担当者が個々に申請者に対する口頭試問の形式で行い、論文の概要の説明を求めるとともに、その内容及び関連分野について試問した。

近年、歯科矯正治療の対象として高齢者が増加しているが、矯正力の付与による歯槽骨の添加と吸収に深く関与すると考えられる骨細胞間ネットワークの成長と加齢に伴う変化に関してはほとんど明らかにされていない。そこで、ラット臼歯を用いた矯正的歯牙移動の実験を行うための基礎データを得ることを目的として、ラットの歯槽骨の成長と加齢に伴う骨細胞間ネットワークの形態変化を経時的に検索した。

実験材料として、生後1、2、3、6、および12カ月齢の雌性 Wistar 系ラット下顎第一臼歯部の歯槽骨を用いた。未脱灰骨組織標本に Villanueva bone 染色を施して蛍光顕微鏡により類骨、低石灰化骨、および石灰化骨の分布変化を、また樹脂鑄型標本を作製して走査電子顕微鏡により骨小腔の形態と数、および骨細管の走行と数、太さなどを観察した。

固有歯槽骨では観察した全ての期間を通して常に幼若な骨細胞が観察され、歯根膜に面する領域では一層の類骨層が観察された。一方、支持歯槽骨においては、1カ月齢ではそのほとんどすべてが幼若な骨細胞で構成されていたが、2カ月齢を過ぎるとこれら幼若骨細胞は次第に成熟骨細胞へと変化し、3カ月齢になると歯槽頂部と根尖部を除いた支持歯槽骨のほとんどすべてが成熟骨細胞によって占められるようになった。その後、6カ月齢になると成熟骨細胞は次第に老化骨細胞へと変化し、12カ月齢では歯槽頂部と外骨膜側に近接する領域を除いた支持歯槽骨の大部分が老化骨細胞によって占められるようになった。

固有歯槽骨および歯槽頂部の領域においては常に活発な骨改造が行われていること、また支持歯槽骨では歯が萌出してから後もしばらくの間は骨形成が活発に行われてい

るが、3カ月齢をピークとして、その後は加齢に伴う骨細胞の老化により次第に活性が低下していくことが示唆された。また、骨細胞間ネットワークの発達程度は骨細胞の活性変化と同調しており、歯槽骨の成長に伴って次第に発達し、3カ月齢で最も良く発達するが、その後は加齢に伴って次第に退化すると考えられた。一方、幼若骨細胞において放射状に走行していた骨細管は、成熟骨細胞になるとほとんど全てが歯根膜面に対して垂直な方向に並行して走行するようになり、この走行は老化骨細胞になって骨細管の数が減少してもほとんど変わることはなかった。このような歯根膜面に対して垂直な方向に並行して走行する骨細管は、外力による骨の微小な変形を受容するための装置として働いている可能性があると考えられた。

近年高齢者の矯正治療が増加してきているが、歯槽骨の加齢変化について詳細に検討した報告は少ない。歯科矯正治療においては矯正力を加えることにより、歯槽骨の吸收と添加の組織変化を惹起して歯を移動させることが必要である。この骨の添加吸収の制御には骨細胞間の情報伝達が重要な役割を有するであろうことがこれまでに示唆されているものの、全体的なネットワークとしてその加齢変化についてこれまでに論じられてはいない。この観点から、本研究は、ラット歯槽骨の加齢変化を Villanueva 骨染色法で観察した後、組織鋳型法を用いて骨小腔ならびに骨細管の連絡の加齢変化を SEM で形態的に観察することで評価し、骨の改造現象の加齢変化に言及しようとするものである。得られた結果は骨小腔、骨細管のネットワークの形態、連絡の加齢による顕著な変化を示しており、骨微細構造の加齢変化という解剖学的に重要な情報を提供したことに留まらず、歯科矯正学的にも、年齢による最適矯正力を考える上で極めて重要な情報を提供したものと、高く評価できる。

口頭試問において、審査担当者から、

- 1) 歯槽骨の組織学的形態について
- 2) Villanueva 骨染色法の特徴と骨の成長段階を分別できる根拠
- 3) 励起波長による見え方の差
- 4) 樹脂鋳型法を用いる際に留意すべき点とその理由
- 5) 樹脂鋳型法以外の骨細胞間ネットワークの観察法
- 6) 骨細胞間ネットワークの存在意義とその発達を判断する基準
- 7) 矯正力による歯の移動様相の加齢変化と結果との関連性
- 8) 組織学的研究に関する一般的な事項
- 9) 今後の研究の展開

などの試問が成されたが、いずれに対しても明快な回答が得られた。以上から、申請者は本研究に直接関係する事項のみならず、関連分野における基礎的、臨床的な広い知識を有していると認められた。よって審査担当者は口頭試問の結果に合格の評価を与え、申請者は博士（歯学）の学位を授与される資格を十分に有するものと認めた。