



Title	成長期における液状飼料摂取がラット歯根膜およびセメント質に与える影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	中道, 祥之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第15961号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/92431">https://hdl.handle.net/2115/92431</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Yoshiyuki_Nakamichi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



# 学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 中道 祥之

学位論文題名  
成長期における液状飼料摂取がラット歯根膜およびセメント質に与える影響

キーワード（5つ）ラット，液状飼料，歯根膜，有細胞セメント質，BrdU

現代の食生活では軟らかい食物を摂取する機会が増えてきており、特に成長期ではその傾向が顕著である。このような食生活は口腔周囲組織の成長に悪影響を及ぼすのではないかと懸念され、成長期の動物に軟食を与える研究が行われてきた。ところで歯根膜とセメント質は歯周組織を構成する要素であり、全体として咬合力や回転の力などに耐え、歯の固定を営んでいる組織である。それゆえ、歯根膜やセメント質の健全な発育は歯科臨床において大切であり、軟食摂取が歯根膜やセメント質の発育に及ぼす影響を解明することは重要であるが、それについての先行研究は少なく不明な点が多く残されている。そこで本研究では成長期ラットを液状飼料で飼育し、組織学的、組織計量学的および免疫組織化学的に検索することで、液状飼料摂取が歯根膜とセメント質の発育にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした。

生後 14 日齢の Wistar 系雄性ラットを母親と一緒に搬入し、7 日後に離乳させ対照群と実験群に分けた。対照群には固形飼料を、実験群には同飼料を粉末化したものを水道水と練和して作製した液状飼料を与え、これらを 0～8 週間飼育した。実験中は毎日動物の体重を測定し、健康状態を観察した。各飼育期間終了後、増殖細胞マーカーである 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与し、1 時間後に 4 %パラホルムアルデ

ヒド溶液にて灌流固定を行った。摘出した上顎複合体を 10%EDTA 溶液で脱灰後、左側をパラフィン包埋し上顎左側第一臼歯近心根の矢状断切片を作製した。その際には、第一臼歯のその他の歯根や第二・第三臼歯の位置関係を基準に、切片にずれや傾きがないかを常に確認しながら薄切を行った。切片にはヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色およびアザン染色を施し、歯根膜とセメント質を組織学的に観察するとともに、設定した部位または箇所において組織計量を行った。また、BrdU 免疫染色を施し、陽性歯根膜細胞数を計測し単位面積あたりの BrdU 陽性細胞数を算出した。体重、各組織計量項目、単位面積あたりの BrdU 陽性細胞数について対照群と実験群の間において Mann-Whitney U 検定を用いて有意差検定を行い、 $p < 0.05$  を有意差ありと判定した。

実験期間において対照群、実験群ともに体重は経時的に増加し、両群間に有意差は認められなかった。また、すべてのラットの健康状態に問題はなかった。0 週の HE 染色標本においては歯根膜に豊富な線維がみられ、規則的に配列していた。これらの線維は、アザン染色標本では鮮青色を呈していた。対照群 1~8 週、実験群 1~8 週においても同様の所見が認められ、両群を比較して明らかな組織学的な差異はみられなかった。組織計量学的解析を行ったところ、いずれの部位、期間においても有意差は認められなかった。一方、有細胞セメント質は 0 週ではみられなかった。対照群では近心側で 2 週、遠心側で 1 週以降有細胞セメント質が認められ、経時的に増加していった。実験群の有細胞セメント質は対照群と比較して少なく、組織計量学的解析において実験群が有意に小さい値を示している部位がみられた。BrdU 陽性を示す歯根膜細胞は 0 週で多くみられた。以後両群ともに経時的に減少していった。1~2 週では対照群の陽性細胞は実験群の陽性細胞と比較して多く認められたが、4~8 週においては染色像にほとんど違いはなかった。単位面積あたりの BrdU 陽性細胞数は、1 週および 2 週において対照群と比較して実験群は有意に少ない部位を認めた。

これまでも動物に軟食を与える数多くの研究が行われてきた。これらの研究では軟食

で飼育された動物と固形飼料で飼育された動物の間に体重差は認められず、実験中の健康状態も問題ないとされており、軟食摂取は全身状態に影響を及ぼさないと考えられている。本研究でも同様に、体重は両群間で有意差はなく健康状態も問題はなかった。したがって本研究の実験群にみられる変化は全身状態による間接的な影響ではなく、液状飼料摂取による直接的な影響であると考えられる。これまでの軟食摂取が歯根膜に与える影響を検索した研究では、組織計量学的やX線的に歯根膜腔が狭窄すると述べられている。一方、本研究では歯根膜腔の機能的な線維配列が維持され、組織計量学的にも有意差は認められなかったが、その理由は観察部位の違いによるのかもしれない。なぜならば、先行研究では下顎臼歯を対象としているのに対して本研究では上顎臼歯を対象としているからである。類似の現象は顎骨においても認められており、軟食摂取させたラットにおいて上顎骨よりも下顎骨の方が有意に減少することを証明した研究もある。以上のことを考え合わせると軟食飼料摂取によって引き起こされる影響は上顎よりも下顎で強く起こりやすいのかもしれない。本研究において、液状飼料開始初期において歯根膜細胞の増殖活性低下が認められた。この結果は液状飼料摂取による咬合力の減少が発育期間における歯根膜細胞の増殖や更新に悪影響を及ぼすことを示唆している。ラット臼歯から分離した歯根膜細胞を培養しBrdU免疫染色を行ったところ陽性細胞率は減少するという類似の報告もあり、咬合力が健全な歯根膜の成長や維持に重要な役割を行っていると思われる。先行研究において粉末飼料で飼育した成長期ラットのセメント質の形成は抑制されると報告されている。また、咬合機能を喪失させたラットのセメント質でも同様の結果が起こるとされており、これらは実験群の有細胞セメント質は対照群に比べてその形成が抑制される傾向が認められたことと一致している。そのメカニズムの詳細は本研究の結果だけでは明らかではないが、可能性として2つの要因が考えられる。1つは、セメント芽細胞のセメント質形成能の低下である。過去には機械的負荷の減少はセメント芽細胞のセメント質形成を抑制すると述べている報告や、セメ

ント質－歯根膜－歯槽骨のネットワーク間で機械的負荷に応じて石灰化の調節を行っている」と述べている報告もある。したがって、本研究でも液状飼料の継続的摂取による機械的負荷の減少がセメント芽細胞の活性に影響を与えたのかもしれない。もう1つはセメント芽細胞の増殖抑制である。本研究では実験群において歯根膜細胞の増殖活性低下が認められた。歯根膜細胞にはセメント芽細胞の前駆細胞である未分化間葉細胞が含まれていることから、成長期における有細胞セメント質形成に必要なセメント芽細胞の供給が数的に不足したのかもしれない。

本研究の結論として成長期ラットにおける液状飼料摂取は歯根膜細胞の増殖活性を低下させることに加えて、有細胞セメント質の形成を抑制することが明らかとなった。このことは成長期に軟らかい食事を好んで摂ることは歯周組織の発育に好ましくない影響を与えることを示唆しており、子供たちによく噛んで食べることの重要性を提唱する科学的な根拠の1つになり得ると考えられる。