

“診る”技術を支えるための“見る”技術の開発



研究ノート

三浦治郎*

Development of Visualization Technologies for Treatment Techniques

Key Words : visualization, dentin, collagen, nano technology, electron microscope

1. はじめに

高齢化社会を迎えて歯に要求される寿命も長くなり、いくつになっても自分の歯でおいしく物を食べるにより質の高い生活 (QOL: Quality of Life) を維持することが求められるようになってきています。「歯を失わない」ということは歯科治療を考える上で非常に重要なポイントで、最小限の侵襲でなるべく歯を痛めないように治療を行うことが必要とされ、歯科治療の現場においても「MI」(Minimal Intervention: 最小限の侵襲) といわれる治療コンセプトが広くいわれています。歯の治療は、「歯を抜いたり削ったりする痛いもの」という考え方は遠い昔話となっています。

虫歯の治療では感染した部位を器具で取り、コンポジットレジンといった修復材料を充填したり、金属を被せたりといった処置を行います。「処置した歯は何年の耐久性があるか?」を考えるに当たって、歯の微細構造や人工材料との界面がどのような構造になっているかを知ることがとても重要です。

歯は非常にユニークな構造をしています。外表面が生体内でもっとも硬い組織 (モース硬度で6~7) で組成の96%がリン酸カルシウムなどの無機物である「エナメル質」に覆われており、その内部が、無機物であるハイドロキシアパタイトと有機物のコラーゲン線維からなる「象牙質」により構成されて

います。象牙質の内側には「歯髄」といわれる神経や血管が存在し、象牙質内にはその歯髄から分岐した枝が入る象牙細管といわれる1~2 μm ほどの管が無数に伸びています。こういった歯の微細構造観察技術は、20世紀半ばにおける電子顕微鏡の発明と共に飛躍的に進歩し歯科医学に大きな恩恵をもたらしました。

近年になり、私たちは幸運なことにナノテクノロジーの進歩から様々な観察手法の発展を享受しました。ここでは、構造観察に関係する話を中心にさせていただきますが、臨床を通じた社会との関連についても述べていきたいと思います。

2. 歯科における「界面」の重要性

歯科治療の大きな特色として、生体と人工材料との「界面」が多様なバリエーションで存在することがあげられます。虫歯などで破壊された部位に人工的に金属やコンポジットレ진을詰めている状態はいわば生体と人工材料が接している状態を人為的に作り出した構造となっています。また、歯を失った部位にチタン製のスクリューを埋入するインプラント治療においても骨とチタンという界面が存在します。一見違う処置ですが、どちらも界面構造をいかに長期的に安定させるかが治療の成否を握っていることは同じです。このような硬組織に形成される界面の構造を観察することは非常に重要であるとともに多くの困難が伴います。我々の研究グループが関心を寄せ取り組んでいるのは、人工材料と骨や歯といった硬組織との界面を観察する技術です。

3. ナノテクノロジーの恩恵

3-1: 超微細加工技術

歯科における界面観察技術の開発は多くの研究者が手がけておりますが、試料加工技術と観察技術の



*Jiro MIURA

1976年9月生

大阪大学大学院 歯学研究科 分子病態口腔科学専攻 (2006年)

現在、大阪大学大学院 歯学研究科 療養口腔保健学講座 (歯学部附属病院口腔総合診療部) 助教 博士(歯学) 総合歯科診療学、構造生物学

TEL: 06-6879-2386

FAX: 06-6879-2387

E-mail: miura_j@dent.osaka-u.ac.jp

精度をいかに上げるかが課題となっています。特に、歯のような硬組織は、透過型電子顕微鏡観察が可能な厚さ(50-100 nm)まで薄く加工するのが非常に困難であり、研究を遂行する上で大きな壁となっています。電子顕微鏡による観察においても、電子線の透過力の問題から厚さによっては内部構造の観察が困難であるといった問題もあります。さらに、界面観察は試料を剥離させないため、見たい部位のみを加工する必要があります。

我々は、ガリウムイオンを照射してターゲットの原子をはじきとばすこと(スパッタリング現象)により試料切削加工を行う集束イオンビーム加工装置を取り入れ、高い精度での試料加工を試みております。この手法は、1979年に米国ヒューズ研究所のSeliger博士らにより開発された技術を用いたもので、リアルタイムで観察しながら加工を行うことができるため、界面観察のような特定の部位のみの切削が必要な場合にも適しており、微細加工の自由度を飛躍的に高めることが可能となりました。(例:図1-1)

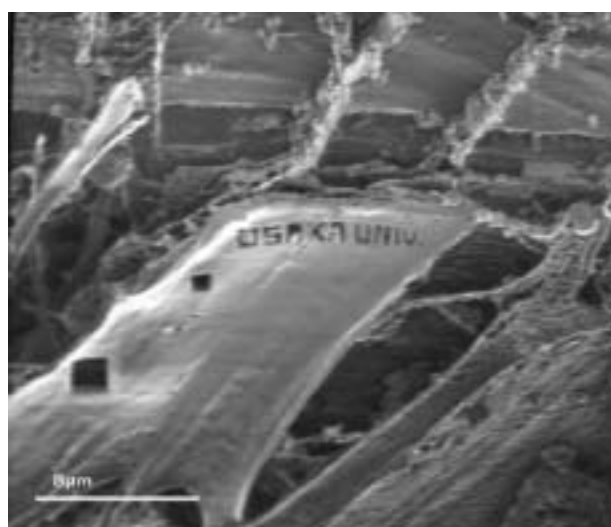
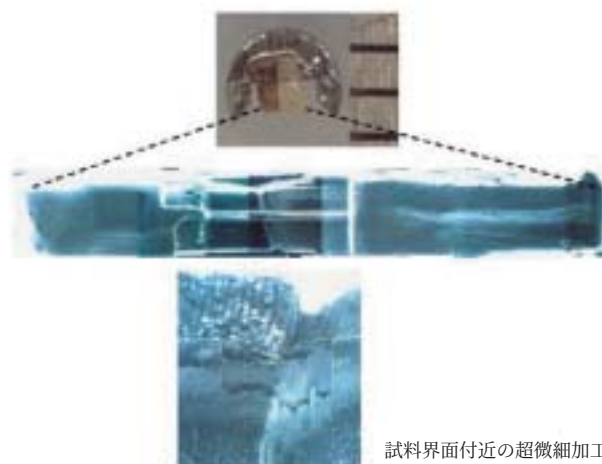


図1-1 集束イオンビームにて組織上に書いた幅8 μmの「osaka univ.」の文字。

本手法にて加工したトモグラフィー用試料を(図1-2)に示します。中央にレジンと象牙質の界面が入るように設定し両側を削り込み、トモグラフィー撮影に必要な形状を考慮して幅100 μm、厚さ2 μmにて切削加工を行いました。このような細かい設定は手作業での加工は不可能であり、集束イオンビーム加工法を用いて初めて可能になるといえます。



試料界面付近の超微細加工

図1-2 集束イオンビーム加工装置を用いた歯・コンポジットレジン界面の観察切片作製

3-2: 超高压電子線トモグラフィー法

硬組織観察においては、加工技術だけでなく観察技術開発も非常に重要かつ困難な部分になります。我々の研究グループでは、超高压電子顕微鏡(図2-1)を用いたトモグラフィー観察を行っております。大阪大学の所有する超高压電子顕微鏡は加速電圧三百万ボルトを誇り現在世界で最高レベルの電子線透過力を持ち、ミクロン寸法の厚い試料をナノオーダーの分解能(格子分解能:0.14nm)で構造解析できる特徴を有しています。歯科医学研究の分野では、加工の困難な硬組織や、超薄切片では十分な情報が得られない生物試料などの観察に大きな力を発揮しております。

超高压電子線トモグラフィー観察を用いることにより、レジンの接着界面に存在するハイブリッドレイヤー(コラーゲン線維と接着剤が混在した層:図2-2)や超薄切片では構造が捉えられない接着界面にある気泡、コンポジットレジンに含有されるフィラーといった構造の3次元構造観察が可能になりました。接着界面の微細構造が明らかになることにより寿命の長い界面を構成する材料や接着技術の開発への応用が検討されています。

3-3: type1 コラーゲンの架橋を捉える

生体の多くの組織に含まれ、象牙質を構成する成分の中でも大きな割合を占める type1 コラーゲンの構造解析の研究も進めております。最新の研究では、コラーゲン線維特有の3重らせん構造をもつ構造が象牙質の物性に大きな影響を与える因子なのではな



図2-1 超高压電子顕微鏡（左）と、遠隔操作室（右）

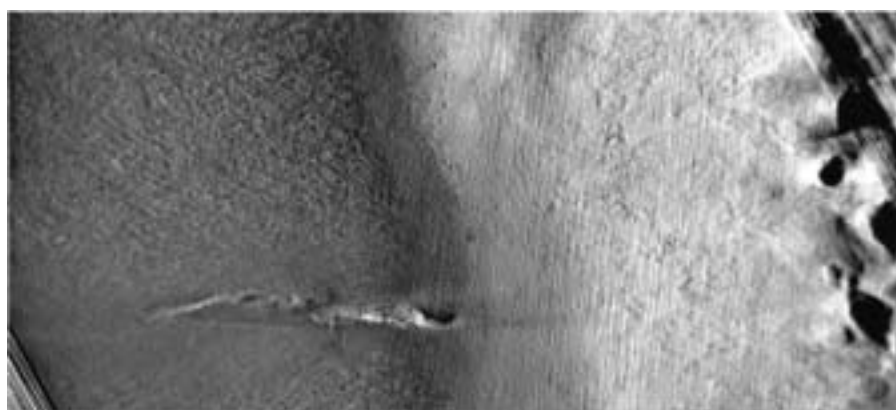


図2-2 トモグラフィー断層観察による象牙質-ボンディング層-レジンの界面 (×5000)

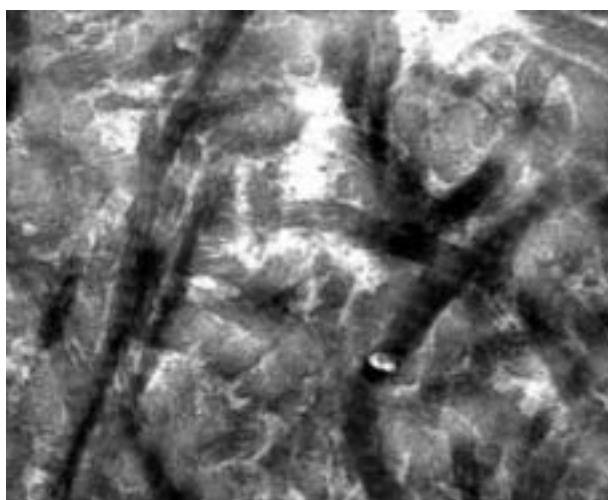


図3-1 象牙質内のコラーゲン線維の断面像。
無数のコラーゲン分子が絡み合って太いコラーゲン線維を構成しているのがわかる。(×75000)

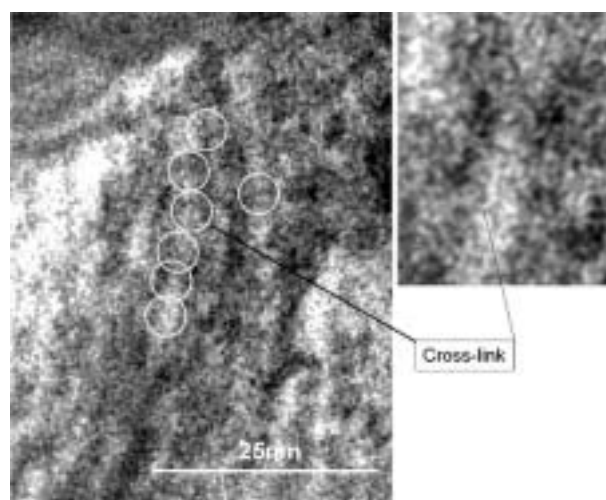


図3-2 コラーゲン線維内の架橋構造。
枠内が架橋構造と思われる部位を示す。

いかと注目されています。(図3-1)。我々は、分子間の架橋構造の分布を調べる観察手法を確立することにより、象牙質強度に関連する因子を解明し、歯の破折といった現象の原因解明につながると考えています。将来的には象牙質を強化する方法などの提案が可能になると考えています。現在、水溶性ポリフェノールを分子間架橋に選択的に付着させることにより電子線の透過量を変化させ架橋構造の分布や比率などを観察する技術を開発中で、数年以内にコラーゲン線維内の架橋構造の観察手法を確立したいと考えています(図3-2)。この技術は、歯科だけでなく皮膚の老化の定量的な評価など他分野にも応用可能な技術になると期待されています。

4. まとめ

歯科治療の長期的な予後を推測する手段として、治療を科学的かつ直感的に評価できる可視化技術は非常に重要な役割を占めます。可視化を行う際に、超微細加工技術といったナノテクノロジーは、得られる画像の精度や自由度を高める上でこれからも重要な役割を果たしていくと考えられます。可視化の仕事は、超高压電子顕微鏡やこれから開発が期待されるX線顕微鏡、さらに観察を支える固定方法や電子染色手法など様々な領域が融合してひとつの画像が得られます。我々のグループも、工学領域との共同研究の件数が増え、「骨や歯といった硬組織をいかにして加工し微細構造を観察するか」という命題に対して、様々な専門領域を持つグループが集ま

り盛んに意見交換が行われております。

これからも歯科医学臨床に関わる者の使命として、歯科治療に用いる材料や治療技術の正しい評価を行う上で必要な可視化技術を、様々な方法で高め、「診る」技術を科学的に支えるための「見る」技術を開発していこうと考えています。

参考文献

- 1) Gilbert PFC. (1972). The reconstruction of a three-dimensional structure from projections and its application to electron microscopy. Direct methods, *Proc R Soc Lond B Ser Biol Sci* 182:89-102.
- 2) Kremer JR, Mastronarde DN, McIntosh JR. Computer visualization of three-dimensional image data using IMOD. *J Struct Biol* 116:71-76. 1996
- 3) 阪大複合機能ナノファウンダリ研究成果報告書 第1巻 (2007) P50-51
超高压電子線トモグラフィーを用いた歯牙における非脱灰試料の超微細構造解析
- 4) 阪大複合機能ナノファウンダリ研究成果報告書 第2巻 (2008)
超高压電子顕微鏡を用いた歯科修復材料と象牙質の接着界面微細構造観察
- 5) Miura J, Nakai H, Maeda Y, Zako M. Multi-scale analysis of stress distribution in teeth under applied forces. *Dent Mater*. 2009 25:67-73

