



Matrix-assisted laser desorption/ionization
imaging mass spectrometry revealed traces of
dental problem associated with dental structure

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-04-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 平野, 裕一 メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/10271/2701 |

博士(医学) 平野 裕一

論文題目

Matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry revealed traces of dental problem associated with dental structure

(マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析イメージング法は歯の構造と関連する歯科疾患の痕跡を明らかにした)

[はじめに]

歯は哺乳類において最も硬い器官であり、大別して歯冠部と歯根部から成る。歯冠部の最外層を構成するエナメル質、その内側及び歯根部の大部分を構成する象牙質、中心部の歯髄という解剖学的構造を持つことが知られている。歯が失われる原因は主に歯周病やむし歯などの歯科疾患であり、なかでも30歳以上の約80%が罹患していると考えられていることから歯周病が近年問題視されている。しかしながら、その根本的な治療法は未だ確立されておらず、治療法の確立に向けて歯周病における物質組成の変化を明らかにすることが必要となっている。

近年開発された質量分析イメージング法 (imaging mass spectrometry: IMS) は検体への簡単な前処理により、その物質組成を解析することを可能とする。本研究では matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI) イオン化法をベースとしたIMSを初めて歯に応用することで、従来別の手法を用いて報告されてきた C、F、Na などの原子よりも分子量の大きな分子を可視化し、その解剖学的な構造を解析することを試みた。更に、歯周病の歯を解析し、正常な歯のデータと比較することで歯周病特異的に分布する物質を探索し、歯周病への影響について検討した。

[材料ならびに方法]

通常診療において3本の正常な歯と3本の歯周病の歯を計6人の患者から抜歯し、試料として測定した。抜歯後の試料はすぐに精製水で洗浄し、 -20°C にて凍結保存した。歯の構造を維持するために川本法を用いて厚さ4 μm の凍結切片を作成し、導電性スライドガラス上に貼りつけた。試料中における分子化合物のイオン化を促進するためマトリクスとして2,5-dihydroxybenzoic acid (Sigma Aldrich) を選択し、専用装置(島津製作所)によって試料表面に蒸着し、ultraflex II (Bruker Daltonics) にて測定を行った。

尚、本研究は患者の文書での同意の下、本学医の倫理委員会の承諾を受けて行った。

[結果]

正常な歯に対してIMS測定を行ったところ、その測定条件の最適化によりシグナルを検出することに成功した。このIMSデータからエナメル質、象牙質、歯髄の質量スペクトルを抽出することにより、それぞれの構造を特徴づける分子組成を反映したシグナル群を明らかにした。各構造に特異的なシグナルを用いて構築したイオンイメージは、対応するそれぞれの構造を再現した。更に歯髄において特徴的であったシグナルの局在が歯根表面にも確認された。これらのシグナルはリン脂質の豊富な質量範囲に存在していることから、リン脂質を豊富に含む歯髄と歯根膜が同時に可

視化されたと考えられる。次に歯周病の歯から得られた IMS データを解析し、歯の各構造から得られた質量スペクトルを正常な歯と比較したところ、全体的な傾向に大きな差は見られなかった。しかし、エナメル質、象牙質、歯髄の各構造に特異的なシグナルから再構成したイオンイメージを比較したところ、リン脂質に対応するシグナルが歯周病の歯の歯根膜においては失われていた。更に歯根表面部において m/z 496.3 のシグナルが蓄積していることが確認され、スペクトルからだけではとらえられない変化がイオンイメージから初めて明らかになった。歯周病の歯における m/z 496.3 のシグナル強度は正常な歯と比較して有意に高いことが統計解析によって確認され、その強度の変化から歯根内部まで浸透している様子が観察された。

[考察]

本研究において我々が MALDI-IMS を用いて検出した歯の構造に特異的なシグナルのうち、エナメル質や象牙質で見られたものの多くはリン酸カルシウム由来と予想される。歯根膜と歯髄に特異的に見られたリン脂質由来と思われるシグナルは、歯髄の周辺部に特に多く局在していたことから、線維芽細胞などを反映していると考えられる。歯根表面に蓄積していた m/z 496.3 のシグナルは、先行研究からリゾホスファチジルコリン (lysophosphatidylcholine: LPC) (16:0) であると推定される。特に歯根表面で強く検出されているが、内部まで浸透している様子が見られたことから、疾患初期から歯周病菌の内毒素にさらされ続けてきた影響に依るものであると考えられる。LPC の増加は炎症作用機序に大きく関与するという知見が近年得られており、本研究において歯根表面に蓄積した LPC が歯周病の完治を困難にしている事実を可視化したものと考えられる。

[結論]

我々は IMS を用いて歯のエナメル質、象牙質、歯髄というそれぞれの構造を特徴付けている物質の分布を可視化し、これを解析した。正常な歯と歯周病の歯の結果を比較することで歯周病の影響として LPC の蓄積と歯根膜の喪失を初めて明らかにすることに成功した。