

# 2021 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	<b>加齢による歯の組成の生学的変化を利用した年齢推定法の開発</b>
キーワード	①年齢推定、②AGEs、③象牙質

## 研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	アサミ ルリ 浅見 瑠璃
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	明海大学 歯学部 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	明海大学 歯学部 助教
プロフィール	明海大学歯学部歯学科を卒業し、歯科医師免許を取得。 明海大学大学院歯学研究科歯学専攻博士課程(歯科法医学)に進学し、博士号(歯学)を取得。 明海大学歯学部歯科法医学分野助教として勤務。 現在は同大学歯学部解剖学分野に所属し、解剖・組織学の研究・教育に従事している。

## 1. 研究の概要

歯は無機成分が主体で原型保存性が高く、死後も長期間残存し、加齢により歯の内外部に明白な変化が認められることから、歯は個人識別の試料として非常に有用である。

これまでに歯を用いた年齢推定に関する報告は数多く、加齢変化が顕著に現れるとされる第二象牙質の沈着による歯髄腔の狭窄程度を指標とした年齢推定法は、様々な手法や指標を用いた研究が行われてきた。研磨標本、パノラマエックス線撮影装置、口内法エックス線撮影装置、マイクロ X 線 CT、歯科用コーンビーム CT を用いて、加齢と共に生じる歯髄腔の狭窄変化に着目し、年齢推定に応用している。しかし、その精度は対象とする歯種や着目部位により推定年齢幅があり、咬耗等により歯髄腔の狭窄に影響を及ぼす点や、修復処置が施されている歯では正確な年齢推定ができない点など、適応範囲が限定される。

それらの問題点を改善するため、生化学的・分子生物学的手法による歯を用いた年齢推定法の開発が行われつつある。テロメア長の短縮との相関、ミトコンドリア DNA の欠失の有無、アスパラギン酸のラセミ化との関連が挙げられる。さらに近年、老化機構の観点から終末糖化産物 (Advanced Glycation End products: AGEs) に着目した研究が医療分野において急速に展開されている。歯科分野においても、これまでに透過型電子顕微鏡を用いた加齢による象牙質の AGEs 修飾の観察や、免疫組織化学染色による AGEs の局在に関する研究がなされてきた。しかし、AGEs 蓄積量の個人識別への有用性や適用範囲などの解析はなされていない。

そこで本研究において、申請者は象牙質および歯周組織における AGEs の蓄積に基づいた新規年齢推定法の開発を試みる。本研究は、これまでにはなかった新しい年齢推定法を提供できると期待される。

## 2. 研究の動機、目的

これまでに申請者は、マイクロ X 線 CT を用いた上顎小臼歯の加齢による歯髄腔の狭窄度に基づく年齢推定法について報告した (Asami R, et al. Age estimation based on the volume

change in the maxillary premolar crown using micro CT. Legal Medicine. 37: 18-24, 2019)。その結果、上顎第二小臼歯の決定係数が 0.65 であった。以前に報告された他歯種での年齢推定を行った決定係数と比較すると、下顎中切歯で 0.67~0.76、下顎小臼歯で 0.64~0.70、上下顎第一大臼歯で 0.54~0.68 であることから、これまでに報告のない上顎小臼歯を用いた年齢推定に関する研究では、過去に報告された決定係数と近似する結果が得られたことが判明した。

これらの推定精度は比較的高いものの歯種や着目部位により推定年齢の幅があり、咬耗等により歯髓腔の狭窄に影響を及ぼす点や、修復処置が施されている歯では正確な年齢推定ができない点など、適応範囲が限定されることから、申請者は形態学的変化に基づく年齢推定法では除外されていた試料であっても年齢推定が可能な方法はないか一考した。

近年、老化機構の観点から AGEs に着目した研究が医療分野において急速に展開されている。アミノ酸と還元糖を加熱すると褐色の色素が生成するメイラード反応によって、糖化されたアミノ酸は不可逆的な AGEs となる。食品の加熱により糖とアミノ酸との間に褐色物質のメラノイジンが生成され、着色や香りの変化に関わる反応として食品化学の領域で注目されてきた。近年になり、生理的条件下でもメイラード反応は進行し、生体内に AGEs が蓄積することで、老化や全身疾患（認知症、癌の転移、高血圧症、動脈硬化等）への関与が明らかとなっている（図 1）。

そこで、形態的年齢推定法にとらわれず、老化機構の観点から、加齢と共に蓄積される AGEs に着目し、生化学的手法を用いて象牙質および歯周組織中の AGEs の定量をすることによってより精度の高い年齢推定法が開発されるのではないかとこの着想に至った。

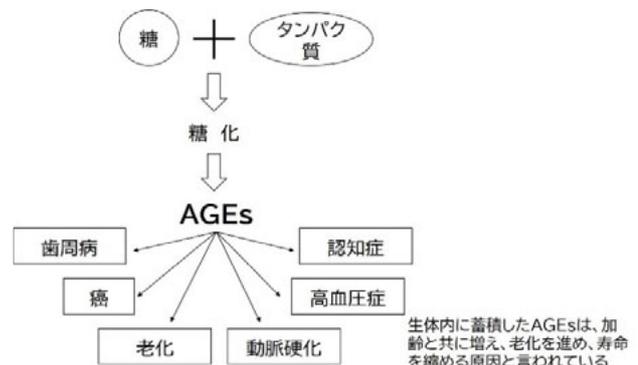


図 1 AGEs の影響

### 3. 研究の結果

本研究で使用した試料は、明海大学付属明海大学病院および研究協力施設を受診した 20~39 歳の第三大臼歯 8 本である。なお、これらの試料はう蝕がなく、既往歴が明らかであり、対象者には予め本研究の趣旨を説明し、内容について理解した上で、抜去歯の提供の同意を得た。なお、本研究は本学倫理委員会の承認を得た（承認番号：A2014）。

得られた抜去歯は脱灰、パンチアウト、加水分解処理の後、Woessner の方法によりサンプル中の Hydroxyproline (HYP) 量の測定、および高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による AGEs の検出・定量を行い、AGEs 量/HYP 量を、一定量の象牙質中に含まれる AGEs の relative content とした。加えて、定めた 2 領域間での AGEs を比較した。本研究の手順を図 2 に示す。

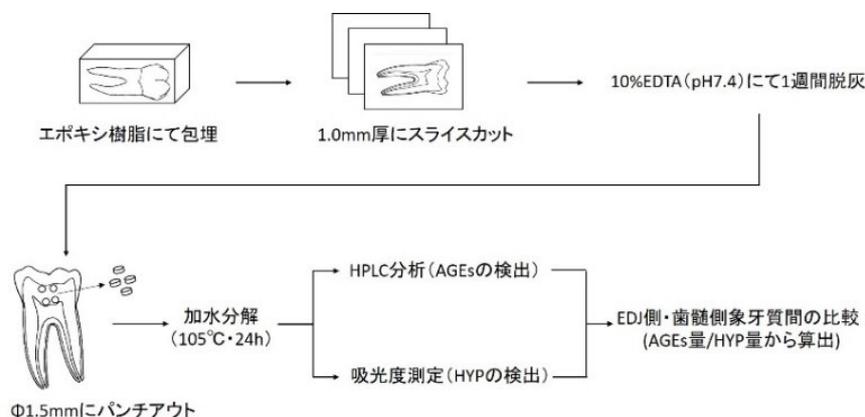


図 2 分析チャート

エナメル象牙境付近の象牙質における AGEs 比の平均は  $9.161 \times 10^{-6}$ 、歯髄腔付近の象牙質における AGEs 比の平均は  $6.153 \times 10^{-6}$  であり、有意差が認められた ( $p < 0.05$ ) (図 3)。

AGEs とは、アミノ基と還元糖が非酵素的に反応した結果生成される物質をいい、加齢とともに増え、生体内に蓄積される。中でもコラーゲン線維は AGEs の影響を受けやすく、AGEs によってコラーゲン間に

無秩序な架橋構造が形成される結果、伸展性を低下させ、脆弱化を引き起こす。

象牙質の有機性基質のほとんどはコラーゲンで、歯髄外周の境界部に位置する象牙芽細胞が、象牙質の全層を貫く象牙細管中に突起を伸ばし、生涯にわたり、象牙質を形成する。今回の結果より、エナメル象牙境付近と歯髄腔付近では明らかに AGEs 蓄積の差が認められた。象牙芽細胞によって形成された象牙質のうち、エナメル象牙境付近と歯髄腔付近の象牙質では形成時期が異なることから、形成時期の早いエナメル象牙境付近の象牙質コラーゲンには AGEs が多く蓄積していると考えられる。今後の展望として、試料数を増やすとともに、年代間での比較や AGEs 蓄積に基づく年齢推定への応用を検討している。

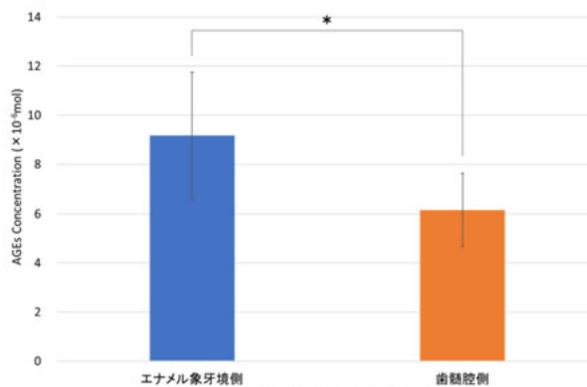


図3 一定量の象牙質中に含まれるAGEs量

#### 4. 研究者としてのこれからの展望

2011年に発生した東日本大震災や2016年の熊本地震、そして今後科学的に想定される南海トラフ巨大地震、さらに地震以外にも台風、大雨、大雪、洪水、土砂災害、津波、火山噴火など日本は災害大国といっても過言ではない。このような大規模自然災害が発生し、多数の死者が出た場合、身元確認作業が必須であり、その手段としてまず考えられるのは、身体的特徴や所持品による確認、歯科所見による確認、指掌紋による確認、DNA鑑定による確認がある。無論のこと、このような自然災害発生時だけでなく、事件・事故で扱われる身元不明死体に対しても同様に身元確認が行われる。しかしながら、発見時の遺体は状況によっては腐敗、燃焼または白骨化している場合もあり、その場合は、物理的・化学的な侵襲に比較的影響を受けない歯科所見による個人識別が非常に有用であると考えられている。

本研究は歯科分野における AGEs 研究の発展に加え、これまでの形態学的変化に着目した年齢推定法では、試料選別時に除外された咬耗や修復処置を認める歯でも、本研究の方法により年齢推定が可能となれば個人識別を行う際の選択肢が増え、さらには個人特定の精度の向上に繋がると考える。従って、本研究による年齢推定法の確立は、身元確認に大きく貢献することが期待されるだけでなく、死者の尊厳を守ることに繋がる。

#### 5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

2021年度女性研究者奨励金に採択いただき感謝申し上げます。本奨励金により、象牙質コラーゲン中に蓄積する AGEs のうち、エナメル象牙境に隣接する象牙質と、歯髄腔に隣接する象牙質における AGEs 蓄積の比較をしたところ、新しい知見が得られました。

本研究の遂行にご支援いただきました、日本私立学校振興・共済事業団とその関係者の皆様に深く感謝申し上げます。