

Title	口演
Journal	歯科学報, 110(4): 487-502
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10130/1990">http://hdl.handle.net/10130/1990</a>
Right	

## 口 演

### No.1 : 義歯洗浄剤中でのチタン合金の耐食性 — アルカリ性活性酸素系洗浄剤 —

武本真治, 服部雅之, 松本直也, 吉成正雄, 河田英司, 小田 豊 (東歯大・理工)

**目的:** これまでに純チタンを過酸化含有のアルカリ性義歯洗浄剤に浸漬すると変色することを報告している。しかし、過酸化含有のアルカリ性義歯洗浄剤によるチタン合金の変色程度については明らかになっていない。本研究では、アルカリ性の活性酸素系義歯洗浄剤に種々のチタン合金を浸漬し、その変色と光沢度を調べ、耐変色性に優れたチタン合金の検討を行う。

**方法:** 試料には、純チタン (TI), Ti-6Al-4V (T-AV), Ti-7Nb-6Al (TNB) および試作 Ti-20Cr (T-CR) を鏡面研磨して準備した。参照試料として、Co-29.5Cr-5Mo (COCR) を用いた。試料は、TI, TAV および TNB は加工材を、TCR と COCR は鋳造で作製した。試験した義歯洗浄剤には、活性酸素タイプ義歯洗浄剤 (赤ピカ, 松風) 1袋を100mL の蒸留水に加え、溶解させて用いた (pH 11.3)。それぞれの溶液浸漬前後の試料を色彩計および光沢度計で調べ、合金の変色程度を色差 ( $\Delta E^*ab$ ) と光沢度の減少度 ( $-\Delta G_s (20^\circ)$ ) で表した。また、溶液中に溶出した金属元素濃度を高周波誘導結合プラズ

マ発光分光分析装置で調べた。

**成績および考察:** 義歯洗浄剤に浸漬した TI, TAV および TNB の  $\Delta E^*ab$  はいずれも26以上、TCR と COCR では3以下であった。義歯洗浄剤に浸漬した TI, TAV および TNB の  $-\Delta G_s (20^\circ)$  は650~900%と大きく減少したが、TCR と COCR ではいずれも70%以下の減少であった。義歯洗浄剤中に TI, TAV および TNB から溶出した金属元素濃度は30  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以上で、TCR と COCR では10  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以下であった。これらのことから、義歯洗浄剤に浸漬した TI, TAV および TNB は腐食を伴って変色していることが明らかになった。一方、TCR と COCR では溶出も少なく、変色および光沢度の減少も小さいことから耐食性に優れると考えられる。

TI, TAV および TNB の変色は、チタン合金表面のチタン酸化物 (不動態被膜) がアルカリ性の溶液中で溶解するためと考えられる。しかし、クロム酸化物を表面に形成している TCR と COCR では、クロム酸化物が活性酸素系義歯洗浄剤に対して耐食性を高めていると考えられる。

### No.2 : 乳幼児の水分摂取機能発達におけるバルブ付きストローの影響

原 陸喜<sup>1)</sup>, 大久保真衣<sup>2)</sup>, 石田 瞭<sup>2)</sup>, 川田敬弘<sup>3)</sup>, 杉山哲也<sup>2)</sup>, 阿部伸一<sup>1)</sup>, 井出吉信<sup>1)</sup>

(東歯大・解剖)<sup>1)</sup> (東歯大・千病・摂食・嚥下リハ)<sup>2)</sup> (コンビ株式会社・プロダクトセンター)<sup>3)</sup>

**目的:** 離乳期には、上唇下唇をすばめたすすり飲みによる水分摂取機能の獲得が大切である。近年、すすり飲みが不十分のままストロー飲みが開始される事例を散見する。我々の報告例では、正常な水分摂取機能を獲得しかけていた児が、ストローを咬むことによりバルブが開き、中の液体を吸引させるという製品を使用したところ、哺乳期に見られる顎の上下運動をするように後戻りしてしまったケースもある。本研究では、水分摂取時に主にバルブ付きストローを使用している児 (VS群) とバルブ付き以外のストローを規定せず使用している児 (S群) に対し、ストロー及びコップスプーン使用時の顎の動きを観察し、比較検討したので報告する。

**方法:** 保育者がストロー飲みを積極的に使用したいとの方針があり、心身共に異常を認めない乳幼児 VS群7名, S群14名を対象とした。最低月齢児は8か月、最高月齢児は15か月であった。方法は、実際に水分摂取している児の様子をビデオ撮影の上、摂食機能評価を行った。撮影時の食具は、普段使用しているストロー、teteo コップスプーン<sup>®</sup> (株コンビ) に規定した。評価項目は、ストローでは顎の上下運動の有無、コップスプーンでは、口唇閉鎖の可否と顎の上下運動の有無とした。また対象児によ

っては外部観察評価以外にも、摂取中の舌運動の評価に超音波診断装置を用いることもあった。統計学的処理は、Pearson のカイ2乗検定 (SPSS16.0) を用いた。

**成績:** ストローで顎を上下させずに飲めた児は VS群0名, S群7名であり、顎を上下させた児は VS群7名, S群7名であった。また、コップスプーンで口唇閉鎖可能で顎を上下させなかった児は VS群0名, S群2名、口唇閉鎖可能だが顎を上下させた児は VS群1名, S群5名、口唇閉鎖不可能な児は VS群6名, S群7名であった。ストローを使用した水分摂取において、VS群とS群との間に有意差が認められた。しかし、コップスプーンを使用した水分摂取では有意差は認められなかった。

**考察:** ストローにおいて VS群の方がS群よりも顎を上下させる児が多くなった原因は、バルブ付きストロー使用時はストローを前歯よりも奥に入れ、前歯部で咬んで保持し、舌前後運動で搾り出すような陰圧形成を行うためだと考えられた。この動きは哺乳運動と同様であり、バルブ付きストローの継続使用が、多様な水分摂取方法の獲得に影響することが示唆された。

## No.3 : 20歳代日本人の20年後における歯列の変化

田井愛子, 茂木悦子, 末石研二 (東歯大・矯正)

**目的:** 口腔諸器官の経年的変化を把握することは、生体の加齢変化に対応し、各年代に対して調和のとれた咬合を付与する際、非常に重要であると考えられる。長期にわたって、機能を営むと咬合の変化が生じ、さらに歯・歯列弓上にも加齢変化があらわれることが報告されている。しかし、3次元計測を用いて、同一人物の加齢変化を検討した報告はほとんどない。本研究では、矯正治療後の長期安定性獲得のための因子を検討するため3次元計測を用いて、加齢に伴う歯列の変化量を計測した。

**方法:** 資料として、本大学、1990年代卒業者の20歳代に採得した模型と約20年後の40歳代に採得した模型の中で、ほぼ正常咬合であり、喪失歯がなく、保存処置がなされても小窩裂溝に留まるものを用いた。平行模型に規格化した模型を非接触型三次元模型形状測定装置 (Non-Contact shape Measuring System) (VMS-100F, UNISN, 大阪) を用いて、3D歯列画像 (3D dental cast image) を作成し、その画像をグラフィックワークステーション (Octane, Silicon Graphics, USA) のモデリングソ

フトウェア (SURFACER, Imageware Inc., USA) 上で展開して合成を行い、ブラインドエリアのない3D歯列画像を作成し、各部の計測を行い、2群の比較検討をした。基準咬合平面は、上下顎中切歯被蓋中心の前方基準点、両側上下顎第一大臼咬合面中心の後方基準点の3点を結んだものとし、歯列弓幅径・長径、歯槽弓幅径・長径、Angulation, Inclination, 下顎前歯部の crowding 量, Overjet, Overbite, 咬合高径を計測した。

**成績および考察:** 加齢に伴う歯列の変化として、歯列弓幅径・長径では、上顎の長径は増加し、幅径が減少した。下顎の長径は、減少した。Angulationでは、上顎の臼歯部が近心傾斜した。Inclinationでは、上顎前歯部の唇側傾斜、上顎臼歯部の舌側傾斜、下顎前歯部の舌側傾斜がみられた。下顎前歯部の crowding 量は増加し、Overjet, Overbiteは増加し、咬合高径が減少した。このことは、各個人に咬合を付与する際、あるいは咬合を付与した後の保定において考慮すべき事柄を示唆するものであった。

## No.4 : 勝田台歯科医院における歯周病治療、フッ化物塗布法、カリオグラムおよび3DS法による定期管理効果

佐々木脩浩<sup>1)</sup>, 佐々木紀子<sup>1)</sup>, 広瀬立剛<sup>1)</sup>, 広瀬邦子<sup>1)</sup>, 西村 優<sup>1)</sup>, 加納慶太<sup>2)</sup>, 伊藤幸太<sup>2)</sup>, 荒木優介<sup>2)</sup>, 中村 翔<sup>2)</sup>, 佐々木隆道<sup>2)</sup>, 西村逸郎<sup>2)</sup>, 東條倫子<sup>2)</sup>, 小林史卓<sup>2)</sup>, 北川千加子<sup>2)</sup>, 大内祐香<sup>2)</sup> (千葉県)<sup>1)</sup> (東歯大・千病・臨床研修歯科医)<sup>2)</sup>

**目的:** 一般開業医の歯科疾患に対する定期管理効果についての報告は少ない。我々はデータ管理ソフト「Asano Dental Solution」を用いて勝田台歯科医院の初診患者のデータ (2,810人, 2000年3月~2010年7月) を対象に定期管理を行い、その効果を検討した。

**方法:** 対象は勝田台歯科医院の2,810人中2,423人を、歯周精密検査, 口腔細菌のパソコンへの貼り付け, 口腔内写真, レントゲン写真の撮影を行った。それらのデータをもとに残存歯数, 骨吸収度, プロービングデプス, 出血歯面数, 喫煙累計本数, ブラークインデックス, 歯周病分類およびウ蝕チャートを分析しデータ入力をした。その中で、定期メンテナンス来院する患者数 [1年以内に2回あるいは2年を超えないで来院], 不定期に来院する患者数 [2年を超えて来院, 疼痛等不快感のあるときのみ来院, リコール待ち, 終了中断, 途中中断, 治療中, 引越し], さらに喫煙者・非喫煙者の残存歯数, ポケットの深さ, 唾液検査後のフッ素塗布および3DS (Dental Drug Delivery System) 使用の有無 (225人) の項目を入力した。予防処置9年後の定期管理患者および不定期患者について調べて、そ

れらのウ蝕・歯周病の状態について検討を加えた。統計はカイ二乗検定を行い、危険率5%未満を有意とした。

**成績:** 総登録患者数2,810人中62% (1,742人) が定期メンテナンスに来院する患者である。歯を失う原因の第1位 (541本, 2000年3月から2010年7月) は歯周病 (44.5%), 次にむし歯 (37.5%) そして歯根破折 (18%) の順序であった。尚、インプラント本数は153本であった。定期管理を受けている患者 (上記の62%) のうち、フッ素塗布およびクロロヘキシジン塗布した定期患者 (149名) では9年間全くカリエス (むし歯) の発生は観察されなかったが、1名は2本の歯根破折があり、歯を失った。さらに、クロロヘキシジン塗布後6カ月間、ミュータンスレンサ球菌は全く検出されていない。不定期患者の3名はカリエスが観察されている。さらに、1名は重症なカリエスのため、歯を3本失っていた。

**考察:** 149人の定期患者は来院ごとに必要なブラッシングの反復練習および歯垢染色に伴う苦手な部位への介入, 6ヶ月毎のフッ素塗布・抗菌剤塗布が新しいむし歯や歯周病の悪化を予防することを示した。

## No.5 : 東京歯科大学における卒前 BLS 実習の取り組み

岡田玲奈, 笠原正貴, 大川恵子, 湯村潤子, 松浦信幸, 間宮秀樹, 櫻井 学, 一戸達也,  
金子 讓 (東歯大・歯麻)

**目的:**「歯科医師国家試験制度改善検討部会報告書」(平成19年12月26日付)では, 口腔と全身との関わりや高齢者, 全身疾患を有する者等への対応について, より一層内容の充実を図るべきであるとしている。また, 平成21年歯科医師臨床研修推進検討会においても, 現在の歯科医療ニーズの多様化に対応できる歯科医師を養成する観点から, 慢性疾患を持つハイリスク患者への対応, 麻酔に関わる研修, 在宅歯科医療等の実施についても考慮する, としている。このように現在, 歯科医療教育における全身管理能力の育成が重要視されている。その中でも救急時の基本的技能である basic life support (BLS) は, 医療従事者として欠くことのできない重要な手技である。今回, 本学の卒前 BLS 実習の取り組みについて, 従来より実習内容を大幅に変更したので報告する。

**方法:** 本学第4学年では, 臨床基礎実習の一環として日本救急医療財団の救急蘇生法の指針に基づいた BLS 実習を実施している。今回われわれは, 2009年度の第4学年における BLS 実習について検討した。

**成績および考察:** 本実習では, BLS の手技を効果的に習得できるよう各手技の実習を細かな時間割制とした。実習時間は3時間で, 段階的に手技を習得し, 最終的には一連の流れを行えるようカリキュラムを工夫した。また, 1グループ当たり4人に1人のインストラクターがつくよう少人数制とした。蘇生練習用マネキン8体, AED トレーナーを8台新たに導入し, 十数人で1体だった蘇生練習用マネキンを4人に1体に増やして教育資源の充実を図った。解説にはスライドの他に, 独自に作成したデモンストレーション用の動画を用意した。成人に対する cardiopulmonary resuscitation (CPR) は一人法と二人法に分けて実習し, 乳児と小児の CPR の特徴についても講義した。学生をお互いに評価させ, モチベーションの向上を目指した。またインストラクターに対しても, 統一した指導を実践できるよう指導のポイントを文書にまとめて確認し, 一回ごとに反省会を設けてフィードバックを行った。安全で良質な歯科医療を提供できる人材を育成するために, いかに臨床的な対応を確実に身につけさせるか, 今後もさらなる改善を行っていきたい。

## No.6 : 小中学生における生活習慣病リスクと口腔および食生活との関連性

— 市川市すこやか健診およびすこやか口腔健診より —

大澤博哉<sup>1)</sup>, 浮谷得子<sup>1)2)</sup>, 竜崎崇仁<sup>2)</sup>, 櫻井美和<sup>1)</sup>, 杉原直樹<sup>1)</sup>, 須山祐之<sup>1)</sup>, 今井光枝<sup>1)</sup>,  
茂木悦子<sup>3)</sup>, 松久保 隆<sup>1)</sup> (東歯大・衛生)<sup>1)</sup> (市川市歯科医師会)<sup>2)</sup> (東歯大・矯正)<sup>3)</sup>

**目的:** 近年, 学校保健の現場で小児の生活習慣病の対策は重要な課題である。千葉県市川市では2008年度より市川市歯科医師会が医師会と協力し, 「すこやか口腔健診」を行っている。本研究の目的は, 学齢期の児童生徒の全身健康状態, 生活習慣, 口腔内状態の関連性を調査し, 解析された結果をもとに小児生活習慣病対策に役立てることである。

**方法:** 研究対象者は, 市川市公立小5年生(365名), 中学生1年生(324名)の計689名である。調査項目として, 生活習慣のアンケート調査, 身体測定, 血液検査, 口腔診査, 唾液検査を行った。検査結果から児童を小児生活習慣病のリスク群と正常群の2群に分類した。食生活習慣と口腔内状態の関連性について, ロジスティック回帰分析による調整オッズ比を求めた。

**成績および考察:** 1) 小児生活習慣病のリスクを持つ児童は5年生男子の中で32.2%, 5年生女子の中で19.8%, 中学1年生男子の中で20.6%, 中学1年生女子の中で18.0%であった。2) 小児生活習慣病

のリスク因子の有無についてロジスティック回帰分析で有意に関連性が認められた要因は, 朝食をとらない(調整後オッズ比: 2.05), 運動が嫌い (2.07), 刺激唾液 1 ml 中の *S. mutans* レベルが高い (1.74) であった。3) う蝕経験 (DMFT $\geq$ 2) についてロジスティック回帰分析で有意に関連性が認められた要因は, 朝食をとらない (1.96), 緑黄色野菜をほとんど食べる習慣が無い (1.46), 唾液中の *S. mutans* レベルが高い (1.83) であった。これらの結果は, 小中学生の朝食や野菜の摂取などの食習慣や運動習慣が小児生活習慣病のリスクと強く関連していることを示しており, 学校歯科保健活動における食育の重要性を示している。また, 唾液中の *S. mutans* レベルの高い児童は小児生活習慣病のリスク因子を有しており, う蝕経験が多かったことから, 糖質や脂質量の多い食生活により本菌のレベルは学齢期児童生徒の食生活習慣を把握するためのバイオマーカーの一つとなる可能性を示唆している。

## No.7 : 東京歯科大学千葉病院口腔外科における平成21年度初診患者の臨床統計

川上真奈, 恩田健志, 薬師寺 孝, 野村武史, 西堀陽平, 山内智博, 須賀賢一郎, 中野洋子,  
高木多加志, 内山健志, 高野伸夫, 柴原孝彦 (東歯大・口外)

**目的**：東京歯科大学口腔外科は昭和56年9月、大学の千葉市への移転を機に開設され、地域歯科医師会の協力の下、医療連携を重視しながら高度医療機関として活動してきた。口腔外科では歯、顎、口腔領域の予防と治療を目的とする歯科医学の一分野で、今日までに目覚ましい進歩を遂げており、本学口腔外科においても、口腔疾患の治療と制御、さらに口腔機能の保全と回復に向けて、治療水準を向上すべく基礎的かつ臨床的研究を積み重ねてきた。今後の口腔外科における医療提供の内容と質の向上を目指すために平成21年度の初診患者の臨床統計を行った。

**方法**：今回は平成21年4月1日から平成22年3月31日までの1年間における当科の初診患者を対象として、日本口腔外科学会調査企画委員会が作成した実績調査表に基づき、性別、年齢分布、月別患者数、来科地域、受診経路、疾患別、基礎疾患の有無についての臨床統計を行った。

**成績**：期間中に受診した初診患者数は8181例であった。年齢は生後2週間の新生児から97歳までで、平

均年齢は41歳であった。年齢別患者数は20歳代が最も多く、このうち歯の疾患、特に埋伏関連疾患が多数を占めていた。次いで、30代が多かった。基礎疾患有病者率が高くなり、歯周疾患や腫瘍性疾患、口腔粘膜疾患の割合の増加が認められた。月別患者数では3月が最も多く、12月が最も少なかった。来科地域はほとんどが千葉県内で、なかでも千葉市が最も多かった。受診経路は他の医院または歯科医院からの紹介受診が過半数を占めていた。疾患別では歯の疾患が過半数を占めていて、ついで顎関節疾患が多かった。基礎疾患を有している患者は35%で、高血圧症が最も多く、糖尿病、精神疾患、心疾患も多く認められた。

**考察**：今後高齢化社会に伴い、全身疾患を有している患者の増加が予想される。院内はもとより地域の医療機関との連携をさらに密なものとし、合併症の併発にも対応できるよう、口腔外科としての専門性に加えて全身管理の充実を図りながら、診療の向上に努めていきたいと考えている。

## No.8 : 東京歯科大学千葉病院手術室における麻酔症例の臨床統計 (2009年1月~12月)

久木留宏和, 川口 潤, 武田慶子, 後藤隆志, 大川恵子, 湯村潤子, 松浦信幸, 笠原正貴,  
間宮秀樹, 櫻井 学, 一戸達也, 金子 譲 (東歯大・歯麻)

**目的**：2009年に東京歯科大学千葉病院手術室で行われた麻酔症例を集計して検討した。さらに悪性腫瘍手術の術後気道管理の判断基準として運用が開始された「術後の気道確保の指針」の実際の適用状況について検討・考察したので報告する。

**方法**：2009年1月~12月に行われた手術室での歯科麻酔科管理症例を対象とし、総数、男女比、年齢、麻酔時間、手術内容、麻酔方法、出血量、輸血量、術前基礎疾患、術中合併症・術後合併症を麻酔記録から集計・分析した。さらに「術後の気道確保の指針」と実際に行われた気道管理法を比較した。

**成績および考察**：総症例数は644例で全身麻酔症例(以下全麻)は624例(男性287例, 女性337例), 局所麻酔症例(以下局麻)は20例(男性9例, 女性11例)であり、局麻は全例が静脈内鎮静法であった。全麻患者の平均年齢36歳で、16歳から40歳未満が301例と半数近くを占めた。局麻患者は平均年齢55歳であった。麻酔時間は全麻で平均3時間6分、最長14時間38分、局麻で平均1時間15分、最長3時間13分であった。全麻では顎変形症手術(236例)、プレート除去術(116例)、嚢胞摘出術(78例)の順が多かった。全麻の維持薬は、セボフルラン360例、

プロポフォール163例、亜酸化窒素-セボフルラン68例の順が多かった。出血量は平均119ml、最高4402mlであった。輸血は55例に行われ、自己血輸血が48例を占めた。術前基礎疾患は132例に認められ、高血圧症(51例)、気管支喘息(21例)の順が多かった。術中合併症は50例で、多くが血圧低下(26例)、血圧上昇(15例)、不整脈(3例)などの循環器系であり重篤なものはなかった。術直後の合併症は35例で、血圧上昇が21例、血圧低下が3例であった。悪性腫瘍切除術は49例で、そのうち頸部郭清術を含むものは20例あり、術後の気道確保方法として気管切開(以下気切)が7例、チューブ留置が5例、抜管した症例は8例であった。「術後の気道確保の指針」に適合していたのは16例で、気切相当だがチューブ留置としたものが1例、気切またはチューブ留置の症例で抜管したものが2例、チューブ留置または抜管の症例で気切したものが1例みられたが、問題となった例はなかった。「術後の気道確保の指針」は臨床的に概ね妥当と考えられたが、実際の運用にあたっては現場の判断が加えられた上で、適切な管理法が選択されていた。

No.9 : 東京歯科大学千葉病院歯科麻酔科外来症例の臨床統計 (2009年1月~12月)

征矢 学, 嘉数由美子, 黒田英孝, 佐塚祥一郎, 西澤秀哉, 大川恵子, 湯村潤子, 松浦信幸, 笠原正貴, 間宮秀樹, 櫻井 学, 一戸達也, 金子 譲 (東歯大・歯麻)

**目的** : 2009年1~12月に千葉病院歯科麻酔科が担当した症例について集計し, 検討したので報告する。  
**方法** : 患者数, 症例数, 男女比, 年齢分布, 患者分類, 処置内容および管理方法についてレトロスペクティブに集計した。  
**成績および考察** : 総患者数は2,136名, 総症例数6,582症例で, 男性936名, 女性1,200名, 0~19歳256名, 20~39歳770名, 40~59歳465名, 60~79歳578名, 80歳以上67名であった。患者分類はペインクリニック277名2,032例, 有病者590名1,180例, 障害者375名1,351例, 歯科恐怖症患者 (異常絞扼反射, 過換気症候群, 脳貧血症状, 非協力なども含む; DP) 414名1,235例, 口腔外科小手術患者345名505例, インプラント患者114名217例, 救急患者21名24例であった。有病者の内訳は循環器系408疾患, 呼吸器系疾患33疾患, 代謝内分泌系34疾患, 薬物アレルギーは22例, その他68疾患であった。2008

年と比較すると DP の増加が顕著であった。歯科処置中の管理法では精神鎮静法が2,276例と最も多く, 適応はDP800例, 障害者624例, 有病者556例, インプラント手術154例, 口腔外科小手術298例, 救急14例で, このうち2,261例がIVSであった。モニター監視は171例, 歯科麻酔科医スタンバイおよび体動抑制329例であった。歯科麻酔科外来での全身麻酔は119例で, 日帰り症例103例, 入院16例であった。また, 他科への院外出張症例は943例であり, そのうち出張 IVS は705例であった。IVS 中の合併症は SpO<sub>2</sub> の一過性の低下が最も多いが, 深呼吸の指示や下顎挙上によって改善した。Deep sedation ではムセを起こす症例も認められた。それ以外に血圧上昇, 不整脈, 血管迷走神経反射があったが重篤な合併症を起こした症例は認められなかった。

No.10 : 下顎偏位が前頭部脳神経活動および全身状態へ及ぼす影響

雨宮あい, 三島 攻, 黒川勝英, 柄澤健介, 額賀英之, 小澤卓充, 山崎 豪, 成松慶之郎, 中島一憲, 武田友孝, 石上恵一 (東歯大・スポーツ歯)

**目的** : 近年, 脳酸素代謝の無侵襲計測が行える近赤外線を用いた方法が, その時間分解能の高さ, 簡便性により脳機能イメージングに応用されるようになってきている。当研究室でも, 近赤外分光法 (NIRS) を用いて実験的下顎偏位 (偏位) および単純な計算が精神的ストレスとなり, 前頭前野背外側部の脳神経活動に変化を起こすことを報告してきた。今回, 前頭部における脳神経活動をより詳細に検討するため多チャンネル NIRS を用い, 併せて心拍数, 血圧, VAS, 新版 STAI の状態不安尺度を計測し検討を行ったので報告する。  
**方法** : 対象は, 本実験の主旨 (東京歯科大学倫理委員会承認番号164) を説明し, 同意の得られた顎口腔系に異常がなく, 神経学的・精神医学的疾患がない健康成人3名 (男性2名, 女性1名) である。測定は安静座位にて行い, fNIRS: OMM-2001 (SHIMADZU 社製) を用い, 前頭部の37チャンネルについて, 酸素化ヘモグロビン濃度 (oxy-Hb), 還元ヘモグロビン濃度 (deoxy-Hb), 全ヘモグロビン濃度 (total-Hb) を測定した。プローブ位置の MRI 画像への重ね合わせには, FUSION IMAGING ソフト (SHIMADZU 社製) を使用して脳マッ

ピングを行った。実験は, 課題前後の安静時ブロック (30秒) と課題時ブロック (180秒) を1サイクルとして連続3サイクル繰り返し行うブロックデザインとした。課題には, 非主咀嚼側の上下犬歯尖頭が接触する位置まで水平的に偏位させたスプリントを用いた。自律神経系機能の評価には, BP-608 Evolution II (オムロンコーリン社製) を用い, 心拍数と血圧のモニタリングを行った。心理的指標としては, 新版 STAI の状態不安尺度による評価を行い, 感情評価を VAS にて行った。統計学的検定は, 分散分析および多重比較を行った。  
**成績および考察** : NIRS では, 前頭前野背外側部において安静時に比べ偏位時に oxyHb の増加を認めた。また課題遂行前半に比して, 後半では oxyHb が増加していく傾向が認められた。被験者間の差はあるが, 時間の経過とともに左側に比べ右側の前頭前野背外側部において, 活動が増す傾向が認められた。また, 心拍数, 血圧, 状態不安得点, VAS 値も増加傾向を認めた。今後は症例数を増やし, より詳細な検討を行うとともに, ストレス刺激除去後の回復状態やストレスに対するガムの効果等を検討していく予定である。

## No.11：受傷後20日目で観血的整復固定術を施行した Le Fort II 型骨折の一例

岡本聡太<sup>1)</sup>, 小林史明<sup>1)</sup>, 吉野正裕<sup>1)</sup>, 右田雅士<sup>1)</sup>, 多田和弘<sup>1)</sup>, 渡部幸央<sup>2)</sup>, 村松恭太郎<sup>2)</sup>,  
小林大輔<sup>1)</sup>, 塩見周平<sup>1)</sup>, 重松司朗<sup>1)</sup>, 大島 仁<sup>1)</sup> (多摩総合医療センター)<sup>1)</sup> (東歯大・口外)<sup>2)</sup>

**目的：**一般に顔面骨骨折の観血的整復固定術は受傷後14日以内に行うことが望ましいとされる。今回われわれは受傷後20日目に Le Fort II 型骨折の観血的整復固定術を行った1例を経験したので報告する。  
**症例：**患者は53歳、男性。駅のホームより転落し、某脳外科救急病院へ搬送された。顔面骨骨折を認めたため受傷後5日目に当科へ紹介され初診となった。受診時前額部に120mmに及ぶ裂傷の創処置を前医で行っていた。3D-CTにて Le Fort II 型骨折および左側頬骨骨折を認め、鼻上顎複合体は右側後方へ回転偏位していた。受傷後20日目全身麻酔下に口腔内外から観血的整復固定術を施行した。右側経鼻挿管で行い、手術時間は4時間36分、麻酔時間は6時間55分、出血量は500mlであった。上方から頬骨前頭突起縫合部、眼窩下縁部骨折部を明示、骨折をフリーにしたが鼻上顎複合体は容易には可動化せず、梨状口側壁、鼻中隔および右側翼突上顎縫合部で骨切りを行ない、ロー鉗子でダウンフラクチャー、右側上顎結節を前方牽引することで整復可能であった。固定は1.3mmプレート計7枚、スクリュー30

本で行った。手術終了後抜管。気道閉塞なく口呼吸が可能であったため止血目的に両側鼻腔に鼻腔タンポンガーゼを留置した。術後は顎間固定せずに経口摂取が可能であり、咬合の偏位も認めず術後12病日で退院となった。

**考察：**受傷後20日経過した中顔面骨折症例の整復固定は困難であったが骨切りを行うことで良好な結果を得た。全身麻酔での挿管は経鼻挿管を選択したが術野の確保にはかなり苦労した。その点においては気管切開が有用と考えられた。しかし本症例では下顎骨骨折を伴わず、口呼吸が可能でまた咬合の偏位を認めなかったため顎間固定は行なわなかった。術後の気道閉塞も無く経鼻挿管が妥当であった。中顔面骨折は頭部外傷を併発することも多く、集学的治療が必要になることが多い。その為、関係各科での精査が必要で手術までに日数を要することがある。その場合には本症例のように骨切りの手技を用いることが必要となり、術前のプランニングが重要になると考えられた。

## No.12：下顎骨にみられた嚢胞腺癌の1例

重政理香<sup>1)</sup>, 大平貴士<sup>1)</sup>, 齊藤シオン<sup>2)</sup>, 八木澤潤子<sup>1)</sup>, 市川秀樹<sup>1)</sup>, 成田真人<sup>1)</sup>, 伊藤亜希<sup>1)</sup>,  
松崎英雄<sup>2)</sup>, 田中潤一<sup>1)</sup>, 橋本貞充<sup>3)</sup>, 高野伸夫<sup>4)</sup> (都立大塚病院・口腔科)<sup>1)</sup>  
(都立墨東病院・歯科口腔外科)<sup>2)</sup> (東歯大・病理)<sup>3)</sup> (東歯大・口外)<sup>4)</sup>

**目的：**嚢胞腺癌はWHO新分類(第3版2005年)で提唱された唾液腺腫瘍の1つである。本腫瘍の口腔領域における発生頻度は低く、顎骨に生じることは極めて稀である。今回我々は、下顎骨にみられた本腫瘍の1例を経験したのでその概要を報告する。  
**症例：**患者は79歳女性で、左側下顎第2大臼歯の自然脱落を自覚して近歯科医院を受診した。同院で脱落歯周囲歯肉に腫瘤を指摘され、某病院歯科口腔外科を紹介受診した。生検の結果、嚢胞腺腫の診断を得たものの、当院での加療を希望し紹介受診となった。初診時、左側臼後部に約25×25mm大の凹凸不整で境界明瞭、正常粘膜色を呈する弾性軟の無痛性腫瘤を認め、左側下顎骨の著明な骨吸収を来していた。そこで、口腔内外切開のもと、下顎骨辺縁切除による腫瘍切除術を施行した。その際、残存させる下顎骨下縁が骨折する可能性が高いと考えられたため、3D実態モデルを作製し予めプレベンディングした再建用プレートを装着してから切除を行った。病理組織学的所見として、H-E染色では不規則な乳頭状発育を伴う多数の管腔形成がみられ、細胞異

型と周囲組織への浸潤性増殖傾向が示唆され、またPAS染色では細胞内の粘液貯留が否定され、さらにKi67は軽度陽性でCKは陽性であることから、嚢胞腺癌の診断を得た。現在術後2年であるが、再発や転移は認められず、良好に経過している。

**考察：**嚢胞腺癌は、顎口腔領域では耳下腺及び口蓋腺などの唾液腺での発生がみられるものの、その頻度は全唾液腺腫瘍の中で0.2%と極めて低く、本症例のように下顎骨に発生した症例は渉猟する限り自験例のみであった。著明な骨吸収をきたした原因として、異所性に腺組織が顎骨内に封入されていた、あるいは思春期に抜歯した智歯抜歯窩に臼後腺が迷入したなどが考えられるが、いずれにせよ下顎骨内の異所性臼後腺から腫瘍が発生したと考えられた。本腫瘍はWHO及びAFIPにおいて低悪性度腫瘍に分類されているが、高悪性の様相を呈する症例が存在することや術後再発例もあり、再発までの期間が長期にわたることにより、的確な診断と術後長期間にわたる厳重な経過観察が必要と考えた。

### No.13 : (長期海外出張報告) Is 3p14 and 9p21 loss a useful tool for predicting second oral malignancy at previously treated oral cancer sites ?

野村武史 (東歯大・口外)

**目的** : 平成21年7月1日より1年間, カナダ・ブリティッシュコロンビア大学歯学部 of post doctoral fellow として口腔癌予防プログラムチーム (以下 OCPP と略す) に参加し, 研究活動を行ったのでその概要を報告する。

OCPP とは, 歯科医師を中心とした異業種で構成された組織で, ブリティッシュコロンビアがんセンターを含む多施設で包括的な臨床研究を行っている。現在までにこのチームで得られた成果として, 3番染色体短腕および9番染色体短腕の欠失, いわゆるヘテロ接合性の消失 (LOH) が前癌病変の癌化に大きく関与していることが判明している。さらに口腔癌診断機器 (蛍光照射器) Velscope の開発および研究を行っていることでも知られている。今回私が OCPP で与えられたテーマは, 「口腔癌患者の術後再発を予測する因子」の解明である。

**方法** : 対象は1995年から2009年にかけて dysplasia clinic で口腔扁平上皮癌と診断され, 根治的治療をした患者186名である。そして術後フォローアップ中に生検をおこない, low grade dysplasia と診断された症例である。これらをその後再発した症例と

非再発症例に分類し, 生検材料から DNA を抽出して実験に供した。

**成績および考察** : 再発症例103例と非再発症例83例を比較した結果, 原発部位, 治療法, 3p14 および 9p21 の LOH で  $p < 0.01$  の有意差を認めた。すなわち high risk site (舌および口底), 放射線療法 (外科的切除と比較し), 3p14 and/or 9p21 LOH の術後患者に再発が多いという結果になった。そして特に 3p14 and/or 9p21 の LOH およびその他の染色体 (4q, 8p, 11q, 13q, 17p) の LOH を合併している場合, 相対リスクが23.5~26.3倍まで増加した。さらに再発までの期間について解析すると, 術後6ヶ月~18ヶ月に再発したものが, 術後18ヶ月以降のものとは有意に5年累積生存率が低い結果となった。今後は2つの project を進めていく予定である。1つは術後の再発期間をさらに細分類化して, 3p14 および 9p21 の LOH が予後因子のマーカーとして有用であるか検討すること, 2つ目は Velscope の臨床応用である。後者については今後口腔癌の切除範囲の設定に有用であるか検討していきたい。

### No.14 : チタンインプラント埋入時の免疫応答 – サイトカインプロファイル –

小田貴士<sup>1)2)3)</sup>, 西村孝太<sup>1)3)</sup>, 伊藤太一<sup>1)3)</sup>, 加藤哲男<sup>1)2)4)</sup>, 吉成正雄<sup>1)2)</sup>, 矢島安朝<sup>1)3)</sup>

(東歯大・口科研・インプラント)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>2)</sup> (東歯大・口腔インプラント)<sup>3)</sup> (東歯大・化学)<sup>4)</sup>

**目的** : サイトカインは侵襲の程度や臨床症状とも密接に関係しており, その変動を知ることは, 感染予防や抗菌薬等の投与などに参考となる。しかし, 一般臨床では, 外傷, 手術, 感染症などの炎症の指標として白血球数やCRPなどが用いられ, インプラント手術後では, X線写真, 動揺度, CIST など局所的診査で術者の主観による観察がほとんどである。また, チタンインプラント埋入後の評価として, 局所的にサイトカインとの関連性を検討している報告はあるが, 全身的にチタンインプラントとサイトカインについて検討している報告はない。そこで本研究は, チタン埋入後の免疫応答 (Th1, Th2, Th17A) がどのように関わるのかを明らかにすることを目的として, 体液性免疫優位 (Th2 優位) の BALB/c と細胞性免疫優位 (Th1 優位) の C57/BL6 マウスを用いて, サイトカインプロファイルの検討を行った。

**方法** : BALB/c と C57/BL6 マウスを用い, 純チタンワイヤー (1 mm × 1 mm) を背中に皮下埋入し

たマウスを実験群とした。また, 対照群として, 純チタンワイヤーを埋入しないマウスを用いた。血液採取時期は, 術前, 3h 後, 24h 後, 3日後, 1ヵ月後, 3ヵ月後とした。採取した血液に対し, Multi-Analyte ELIS Array Kit : MEM-003A (コスモ・バイオ社) を用い, IL2, IL4, IL5, IL6, IL10, IL12, IL13, IL17A, IL23, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , TGF $\beta$  1 の各サイトカインの発現量を計測した。統計解析は, Mann-Whitney U 検定, Tukey 法を用いた。本研究は東京歯科大学実験動物施設管理委員会の承認を受け実施された。

**成績および考察** : BALB/c (対照群と実験群) と C57/BL6 (対照群と実験群) の比較では, 体液性免疫優位 (Th2 優位) の BALB/c が細胞性免疫優位 (Th1 優位) の C57/BL6 よりも有意に高値を示した ( $P < 0.05$ )。したがって, チタン埋入による影響は, 細胞性免疫優位マウスより体液性免疫優位マウスにおいて大きくなることが予測された。



## No.15: インプラント治療患者におけるコレステロール値が骨代謝マーカに及ぼす影響

小笠原龍一<sup>1)2)3)</sup>, 古谷義隆<sup>1)3)</sup>, 矢島安朝<sup>1)3)</sup> (東歯大・口科研・インプラント)<sup>1)</sup>  
 (東歯大・口科研・hrc7)<sup>2)</sup> (東歯大・口腔インプラント)<sup>3)</sup>

**目的:** インプラント治療では、骨粗鬆症に代表される骨代謝異常がインプラント周囲の骨形成の遷延や骨を喪失するリスクファクターになると言われている。近年、シンバスタチンに代表されるスタチン系薬剤服用患者では骨粗鬆症による骨折のリスクが減少するとの報告もあり、脂質代謝と骨代謝の関連性についての報告もみられる。インプラント治療患者でも高脂血症で治療を受けている患者もおり、それら患者の骨代謝がどのような影響を受けているかはいまだ不明である。そこで、インプラント治療患者におけるコレステロール値と骨代謝マーカの関連について検討した。

**方法:** 対象は、2008年8月から2010年2月までに、東京歯科大学千葉病院口腔インプラント科にインプラント治療を希望して来院し、術前検査として血液・尿検査を受けた患者391名(男性:142名,女性:249名,平均年齢54.9歳)とした。インプラント術前検査として行っている血液・尿検査のうち、総コレステロール値が正常値(220mg/dl $\leq$ )の患者群と異常値(>220mg/dl)の患者群に分け、総コレ

ステロール値と骨代謝マーカ(血清カルシウム・骨型アルカリフォスファターゼ・無機リン・オステオカルシン・副甲状腺ホルモン・尿中NTx・尿中デオキシピリジノリン)について、相関関係を検討した。また、問診で高脂血症治療薬を服用している患者18名(男性:5名,女性:13名,平均年齢65.2歳)についても、総コレステロール値と骨代謝マーカの相関関係を検討した。

**成績および考察:** 総コレステロール値が正常値の患者群と異常値の患者群ともに、総コレステロールに対するそれぞれの骨代謝マーカとの相関関係は認められなかった。また、高脂血症治療薬を服用している患者では、総コレステロール値が異常値を示す患者で副甲状腺ホルモンと負の相関を示し、また総コレステロール値が正常値を示す患者では血清カルシウムが弱い負の相関、NTxとデオキシピリジノリンにおいて弱い正の相関がみられた。高脂血症治療薬のうちスタチン系薬剤が最も骨代謝に影響があると言われており、今後はスタチン系薬剤を中心に骨代謝への影響を検討する予定である。

## No.16: ラジアルフロー型バイオリクターを用いたヒト骨髄間葉系幹細胞の三次元培養

片山愛子<sup>1)2)3)</sup>, 荒野太一<sup>1)2)3)</sup>, 小船和弘<sup>1)3)</sup>, 佐藤 亨<sup>3)</sup>, 吉成正雄<sup>1)2)</sup>  
 (東歯大・口科研・インプラント)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>2)</sup>  
 (東歯大・クラウンブリッジ補綴)<sup>3)</sup>

**目的:** 骨髄間葉系幹細胞は自己複製能および多分化能をもつ細胞であり、しかも自己骨髄から比較的容易に採取可能であるため、再生医療における細胞源として注目されている。一方、外傷や疾患等による大きな骨欠損に対する処置としては自家骨移植が一般的であるが、ドナー部位の状態によって適応が限られてくるといった欠点があり、また他の方法においても免疫反応等の問題がある。そこで自己の骨髄間葉系幹細胞を増殖させ、骨分化を期待して顎骨に移植することを本研究の最終目的とした。今回は、ラジアルフロー型バイオリクターを用いたヒト骨髄間葉系幹細胞(hMSC)の三次元培養について報告する。

**方法:** hMSC(Lonza Walkersville Inc.)を、10%FBSおよびペニシリン-ストレプトマイシン添加のDMEMで培養した。5継代目のhMSCを1週間培養後、スキャフォールドに細胞を播種した。スキャフォールドは気孔径70~110 $\mu$ m,気孔率80~95%,直径12mm,厚さ3mmのコラーゲンシートを用いた。hMSCを播種したコラーゲンシートを3枚重ねでラジアルフロー型バイオリクターに取り込み、培地を灌流させて37 $^{\circ}$ Cで1週間培養した。培地

交換は、培養開始後3日目から毎日行った。1週間後にスキャフォールドを回収し、HE染色による形態観察と、細胞数を評価した。細胞数はDNA抽出法によって計測した。コントロールには、培地灌流を行わずにプレート上で培養したものをを用いた。

**成績および考察:** バイオリクターによる灌流培養を行った場合、スキャフォールド外部から内部に至るまで、hMSCの増殖が観察された。一方灌流させずに培養した場合は、スキャフォールドの外周部にhMSCの存在が確認できたものの、内部ではほとんどhMSCを観察できなかった。それに対応してDNA抽出による細胞数の評価においても灌流培養では細胞の増殖が確認できたが、非灌流培養での細胞数は播種時と同程度かやや減少していた。以上の結果よりラジアルフロー型バイオリクターを用いた灌流培養では、培養期間を通してスキャフォールド全体に均等に培地が供給され、細胞増殖が進行したと思われる。臨床応用するにあたり、生体内に移植するためには三次元的にある程度の大きさと細胞密度が必要であると思われるため、ラジアルフロー型バイオリクターはin vitroでの培養組織構築には有用であると示唆される。

## No.17: 表面改質によるジルコニアインプラントの骨形成促進

## - 骨芽細胞様細胞の初期接着に及ぼす表面濡れ性の影響 -

渡邊浩章<sup>1)2)3)</sup>, 齋藤健介<sup>1)2)</sup>, 佐々木穂高<sup>1)3)5)</sup>, 國分克寿<sup>1)6)</sup>, 中川寛一<sup>2)</sup>, 吉成正雄<sup>1)3)4)</sup>(東歯大・口科研・インプラント)<sup>1)</sup> (東歯大・保存)<sup>2)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>3)</sup>(東歯大・理工)<sup>4)</sup> (東歯大・口腔インプラント)<sup>5)</sup> (東歯大・病理)<sup>6)</sup>

**目的:** ジルコニアは、金属に匹敵する強度を有しており、金属イオンの溶出がなく化学的安定であることから、チタンに代わるインプラント材料として関心が高まっている。しかし、生体不活性と考えられるジルコニアに骨形成能を付与するためには、表面形状に加えて表面濡れ性などの表面性状の改質が求められている。そこで今回は、表面濡れ性を向上させた表面処理を行い、骨芽細胞様細胞の初期接着能を検討した。

**方法:** 培養細胞としてマウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 細胞を用いた。材料は、直径13 mm、厚さ0.5mm のイットリア添加正方晶ジルコニア (TZP) をサンドブラスト処理 (粒径150 $\mu$ m アルミナ) 後、フッ化水素酸で酸処理 (15分) を施した試料を用いた。酸処理後は、蒸留水で洗浄 (15分) を行った。実験に際して、表面処理群 (実験群) として、酸処理後に①蒸留水に浸漬、②酸素プラズマ処理、③ UV 処理、④ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸漬処理の試料を用いた。これらの処理により TZP の親水性 (濡れ性) が向上することを予め接触角の測定にて確認した。また対照群として、酸処理後、大気中に2週

間保存した試料を用いた。TZP ディスクを24well plate に設置した後、10%FBS 含有の  $\alpha$ -MEM に懸濁された細胞密度  $1 \times 10^5$ /cm<sup>2</sup> の MC3T3-E1 を播種し、5%CO<sub>2</sub>, 37°C の環境下で細胞培養を行った。培養後3, 6, 12時間に、PBS 洗浄により浮遊細胞を除去し、WST-1 (Roche<sup>®</sup>) を添加して5% CO<sub>2</sub>, 37°C にて1時間インキュベートした。その後、マイクロプレートリーダー (SpectraMax M5, Molecular Devices) を用いて波長450nm にて吸光度を測定し、細胞の初期接着量を評価した。また、3, 6, 12時間培養後に、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液 (Wako 純薬) を添加し、30分間固定した試料を、100倍希釈 Phalloidin (Alexa Fluor 488, invitrogen) と200倍希釈 DAPI (invitrogen) を用いて染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM 5 DUO, Carl Zeiss) にて細胞形態を観察した。

**成績および考察:** 細胞の初期接着は経時的に増加傾向を示し、時間の経過と共にアクチン線維の伸展が認められた。また、大気中保存の対照群に比較し、表面処理群は細胞接着が有意に増加した。

## No.18: 象牙芽細胞における TRPM8 チャネルの発現の検索

高橋史子<sup>1)</sup>, 津村麻記<sup>2)3)4)5)</sup>, 澁川義幸<sup>2)3)4)</sup>, 村松 敬<sup>2)3)6)</sup>, 佐藤正樹<sup>2)4)5)</sup>, 市川秀樹<sup>3)4)7)</sup>,下野正基<sup>6)</sup>, 田崎雅和<sup>3)4)</sup> (東歯大・学生)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc8)<sup>2)</sup>(東歯大・口科研・hrc7)<sup>3)</sup> (東歯大・生理)<sup>4)</sup> (東邦大院・薬・薬物治療)<sup>5)</sup> (東歯大・病理)<sup>6)</sup>(都立大塚病院・口腔科)<sup>7)</sup>

**目的:** 象牙芽細胞膜上に発現しているイオンチャネルは外的刺激に伴う象牙質・歯髄感覚の伝達あるいは象牙質形成に重要な役割を果たしていると考えられているが、象牙芽細胞の刺激受容の基礎にあるイオン機構については明らかにされていない。一般に、刺激受容のうち熱・冷刺激などの温度刺激については温度感受性 TRP チャネルにより受容されることが知られている。そこで、冷刺激感受性チャネルである TRPM8 (transient receptor potential melastatin subfamily member8) チャネルの象牙芽細胞における発現を検索した。

**方法:** 新生仔ラット切歯から得られた歯髄スライス標本において、dentin sialoprotein, nestin, dentin matrix protein-1 の免疫染色により象牙芽細胞を同定し、fura-2 を用いた細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度 ([Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>) 計測を行った。

**成績:** 細胞外 Ca<sup>2+</sup> 存在下で TRPM8 チャネルアゴニストである WS3 を投与すると一過性に [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> が増加した。その増加は TRPM8 チャネルアンタゴニストであるカプサゼピンの投与により抑制された。

**考察:** 象牙芽細胞に TRPM8 チャネルが発現していることが示唆された。以前、我々は象牙芽細胞に TRPV1 (transient receptor potential vanilloid subfamily member1) チャネルが発現していることを報告した。従って、象牙芽細胞は熱刺激については TRPV1 チャネル、冷刺激については TRPM8 チャネルにより侵害刺激を受容していることが示唆された。今後、TRPM8 チャネルアゴニストである menthol, icilin, 選択的な TRPM8 チャネルアゴニストである WS12, またカプサゼピン以外の選択的あるいは強力な TRPM8 チャネルアンタゴニストによる薬理的検討を [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 測定を用いて行う。加えて、細胞外 Ca<sup>2+</sup> 非存在下における TRPM8 チャネルアゴニストの [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> に及ぼす影響についても検討を行う。

会員外共同発表者 (敬省略): 徳田雅行, 達山祥子 (鹿児島大・歯・歯科保存), 佐原資謹 (岩医大・口腔生理), 百瀬弥寿徳 (東邦大・薬・薬物治療)

## No.19: ラット三叉神経節細胞における ATP 受容体発現の検索

黒田英孝<sup>1)2)</sup>, 澁川義幸<sup>1)3)</sup>, 笠原正貴<sup>1)2)</sup>, 津村麻記<sup>1)3)</sup>, 佐藤正樹<sup>1)3)</sup>, 一戸達也<sup>1)2)</sup>, 田崎雅和<sup>1)3)</sup>,  
金子 讓<sup>2)</sup> (東歯大・口科研・hrc8)<sup>1)</sup> (東歯大・歯麻)<sup>2)</sup> (東歯大・生理)<sup>3)</sup>

**目的:** アデノシン三リン酸 (ATP) 受容体は侵害受容機構と関わり, また神経障害性疼痛の一部を担っている。脊髄後根神経節や脊髄グリア細胞における ATP 受容体の役割は多く報告されているものの, 三叉神経節における ATP 受容体機能の役割に関する報告は限られている。ATP 受容体はその構造より, イオンチャネル型 P2X 受容体と Gタンパク質共役型 P2Y 受容体とに分類され, それぞれにサブタイプがあることが確認されている。そこで, 今回われわれは, 三叉神経侵害受容機構における ATP 受容体の生理的または神経病理学的役割を解明すべく, ラットの三叉神経節ニューロンにおける ATP 受容体と, そのサブタイプの発現の検索を行ったので報告する。

**方法:** 新生仔ウイスターラット (3~7日齢) より三叉神経節ニューロンを単離し, 72時間初代培養を行い, Fura-2 を用いた細胞内  $Ca^{2+}$  濃度計測を行った。試薬は Na-ATP, P2X 受容体の agonist である  $\alpha$ ,  $\beta$ -MeATP と  $\beta$ ,  $\gamma$ -MeATP, P2X 受容体のサブタイプである P2X3 の antagonist である NF110 および, P2X4 の antagonist である 5-BDBD を用いた。

**成績:** 細胞外  $Ca^{2+}$  存在下で三叉神経節ニューロンに 100 $\mu$ M ATP, 1 $\mu$ M  $\alpha$ ,  $\beta$ -MeATP で刺激を行うと, 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度は上昇した。1 $\mu$ M  $\beta$ ,  $\gamma$ -MeATP 投与では細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の変化は見られなかった。細胞外  $Ca^{2+}$  非存在下では, 1 $\mu$ M  $\alpha$ ,  $\beta$ -MeATP, 1 $\mu$ M  $\beta$ ,  $\gamma$ -MeATP 投与において細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の変化は見られなかった。細胞外  $Ca^{2+}$  存在下で 1 $\mu$ M  $\alpha$ ,  $\beta$ -MeATP, 100 $\mu$ M ATP と 50 nM NF110 を同時に投与すると, 1 $\mu$ M  $\alpha$ ,  $\beta$ -MeATP 単独の投与と比較し, 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の増加が減弱した。一方, 1 $\mu$ M  $\alpha$ ,  $\beta$ -MeATP と 1 $\mu$ M 5-BDBD を同時に投与すると, 1 $\mu$ M  $\alpha$ ,  $\beta$ -MeATP 単独の投与と比較し, 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の増加に変化は認められなかった。

**考察:** 三叉神経節ニューロンには ATP 受容体が存在し, P2X 受容体, またそのサブタイプである P2X3 が存在していることが明らかになった。一方, 同受容体のサブタイプである P2X4 は存在しないことがわかった。今後, 三叉神経節ニューロンにおけるその他の P2X 受容体サブタイプの検索を行う予定である。

## No.20: マウス象牙芽細胞様細胞に対する eugenol の生理学的研究

田中らいら<sup>1)</sup>, 佐藤正樹<sup>2)3)4)</sup>, 津村麻記<sup>2)3)4)5)</sup>, 市川秀樹<sup>3)5)6)</sup>, 澁川義幸<sup>2)3)5)</sup>, 田崎雅和<sup>3)5)</sup>  
(東歯大・学生)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc8)<sup>2)</sup> (東歯大・生理)<sup>3)</sup> (東邦大・薬・薬物治療)<sup>4)</sup>  
(東歯大・口科研・hrc7)<sup>5)</sup> (都立大塚病院・口腔科)<sup>6)</sup>

**目的:** Eugenol はナツメグという植物性揮発油であり, 歯髄鎮静・鎮痛作用と消毒作用がある。また, 酸化亜鉛ユージオールセメントとして仮封, 直接・間接覆髄剤として利用されている。Eugenol の作用は古くから知られているが, その生理作用はまだ明らかになっていない。最近の研究では eugenol が象牙芽細胞に作用することを示唆する報告はあるものの, その細胞機構については不明な点が多い。そこで, 継代培養されたマウス由来象牙芽細胞様細胞 (Odontoblast lineage cells, OLC) を用いて, eugenol による細胞内  $Ca^{2+}$  濃度変化 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) を  $Ca^{2+}$  imaging を用いて解析した。

**方法:** OLC は DMEM にて, 3日間培養した。Eugenol は 99% アセトンに溶解し 100mM の stock solution を作成し, 5日以内に使用した。Stock solution を Krebs 液で, 0.1-10mM に調整した。OLC に fura-2/AM 溶液を暗所にて 1時間負荷し, 波長起励における蛍光強度の比を測定し,  $[Ca^{2+}]_i$  を測定した。

**成績:** OLC に 2-10mM eugenol を細胞外投与す

ると,  $[Ca^{2+}]_i$  が濃度依存的に増加した。また, 同一濃度で連続投与すると,  $[Ca^{2+}]_i$  増加が徐々に減少した。0.1-1 mM eugenol の細胞外投与では,  $[Ca^{2+}]_i$  は増加せず,  $[Ca^{2+}]_i$  が減少し, その減少は連続投与によって変化しなかった。

**考察:** Eugenol は, transient receptor potential (TRP) V1 チャネルを活性化し,  $[Ca^{2+}]_i$  を増加させることが示唆されている。マウス象牙芽細胞には, TRPV1 チャネルの発現が報告されている。従って, eugenol は, OLC に発現する TRPV1 を活性化することで  $[Ca^{2+}]_i$  を増加させると考えられた。また eugenol の連続投与は TRPV1 チャネルを脱感作する。象牙芽細胞には,  $Ca^{2+}$  排出系としての  $Na^+$ - $Ca^{2+}$  交換体の発現が示され, 高濃度 eugenol は TRPV1 チャネルに, 低濃度 eugenol は  $Ca^{2+}$  排出系に作用することで象牙芽細胞機能を調節すると考えられる。

会員外共同研究者 (敬称略): 藤澤真理, 徳田雅行 (鹿児島大), 百瀬弥寿徳 (東邦大)

## No.21: 機械的刺激により発現する筋特異的転写調節因子と細胞内ストレス関連因子

山本将仁<sup>1)</sup>, 岩沼 治<sup>1)</sup>, 阿部伸一<sup>1)2)</sup>, 井出吉信<sup>1)</sup> (東歯大・解剖)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc8)<sup>2)</sup>

**目的:** 筋肉に機械的刺激を与えると、筋肉に関連する様々な細胞外シグナルが関与して筋細胞の増殖・分化、筋タンパク質の合成・分解・代謝などに影響を与えていることが報告されている。しかしながら、機械的刺激を筋芽細胞に与えた際の筋特異的転写調節因子の発現について時系列的に調べた報告は少ない。そこで筋芽細胞 C2C12 に対し、機械的刺激を与えた際の筋特異的転写調節因子の発現について検索を行った。また、筋成熟の指標としてミオシン重鎖の Isoform である MyHC-2a に関しても同時期について調べ、筋特異的転写調節因子の発現時期と比較検討した。さらには細胞の過剰な増殖を制御すると考えられている細胞内ストレス関連因子 caspase に関しても同時に検索を行った。

**方法:** 試料はマウス骨格筋筋芽細胞株 (C2C12) を用いた。この細胞に機械的な伸展刺激を与えるため、伸展装置として Flexercell Strein Unit を用いた。培養プレートにこの細胞を  $1.0 \times 10^5$  個/ウェルの密度で播種した。生着のため 1 日置いた後、培養液を交換後、伸展を開始した。伸展刺激を与えていない対照群と共に経時的細胞数の計測、倒立顕微鏡

による観察を行った。さらに、筋特異的転写調節因子、MyHC-2a、caspase について LightCycler を用いて mRNA の発現量を測定した。

**成績および考察:** 細胞数は 24、36 時間後で優位に伸展群が増加していた。48 時間後では差がなかったが、これは伸展群がコンフルエントに近づいたためと思われた。mRNA の発現量に関する結果では、MyoD、Myf-5 は伸展開始 12 時間後にのみ対照群に比べ優位に発現がみられた。また、myogenin、MRF4 は細胞数に差がみられるようになる 24 時間後まで伸展群が対照群に比べ優位に発現していた。また MyHC-2a は 36、48 時間後で伸展群が対照群に比べ優位に発現していた。以上のことから、細胞数はまだ有意に増加していない初期に、筋特異的転写調節因子の中でも MyoD、Myf-5 は伸展刺激により多く発現し、細胞増殖を促している可能性が示唆された。そして myogenin、MRF4 は、その後の筋の分化に影響を与える可能性の一端が明らかとなった。さらには細胞伸展の初期のみに細胞内ストレス関連因子である caspase の発現がみられ、細胞の過剰な増殖を制御している可能性が考えられた。

## No.22: mdx マウス咬筋および前脛骨筋における Follistatin の発現の違いについて

小林史明<sup>1)</sup>, 岩沼 治<sup>1)2)</sup>, 廣木愛実<sup>1)</sup>, 阿部伸一<sup>1)2)</sup>, 井出吉信<sup>1)</sup> (東歯大・解剖)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>2)</sup>

**目的:** 卵巣刺激ホルモンを調節する因子である Follistatin は、近年組織再生に促進的働きをする因子である可能性が報告されるようになった。筋再生に関してもその発現が報告されたが、発現時期、局在など不明な点も残されている。筋ジストロフィーモデルマウス (mdx マウス) は膜タンパクのジストロフィンの欠乏により生後 2 週頃から全身的に筋線維が壊死する。その後壊死した筋線維に再生が起り、再生筋として筋本来の機能が維持される。また壊死・再生のピークは生後 3 週間後であることが知られている。その中で、mdx マウスの咬筋の壊死は他の筋組織に比べ軽微であるとの報告があるが、詳細は明らかではない。そこで、mdx マウス咬筋と前脛骨筋の成長期における壊死の程度について形態学的観察および Follistatin の発現の違いについて検索を行った。

**方法:** 生後 2、3、4 週齢の雄 mdx マウスについて、各ステージ 5 匹の咬筋および前脛骨筋を研究試料として用いた。東京歯科大学動物実験指針に基づきマウスを屠殺後、試料を摘出、急速凍結し、クリオスタットにて前額断連続凍結切片 (8  $\mu$ m) を作製した。切片に対して H-E 染色を施し観察を試み

た。また、抗 Follistatin 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行い、万能写真顕微鏡にてタンパクの局在を観察した。さらにウエスタンブロット法を用い、Follistatin の発現時期に関する検索を行った。

**成績および考察:** 前脛骨筋では、観察を行った生後 2 週から 4 週の間に、ほぼすべての細胞に壊死の像が観察された。しかし咬筋では約 3 割程度の細胞にしか壊死はみられなかった。Follistatin は前脛骨筋に強い発現がすべての時期で観察された。今回の研究結果から、mdx マウス咬筋は前脛骨筋と異なり、筋変性の程度が小さいということが明らかとなった。さらに咬筋において、Follistatin の発現が前脛骨筋に比べ弱かったことから、咬筋では筋再生が前脛骨筋ほど活発に行われていないと考えられた。また、Follistatin は再生初期の小さい細胞にのみ発現がみられ、これは咬筋、前脛骨筋ともに同様であった。今回の結果から、咬筋は前脛骨筋と比較し、膜構造の欠陥による細胞内部に及ぼす細胞内ストレスが小さく、壊死を免れていることが明らかとなり、その事が Follistatin の発現の違いとなって現れていると考えられた。

## No.23: マイクロCTによる上顎乳犬歯歯根吸収と後継永久歯の位置に関する研究

小山泰輔, 坂 英樹, 井出吉信 (東歯大・解剖)

**目的:** 乳歯の歯根吸収状態を把握することは、乳歯の治療を行うに当たり大変重要なことである。現在の小児歯科臨床において、歯根の状態を診査する手段は歯科用エックス線撮影が一般的であるが、エックス線写真から歯根の吸収状態を明確に判定することは困難であり、特に乳前歯部は歯根と永久歯胚が重複するため吸収状態を把握することは困難である。そこで今回上顎乳犬歯に注目し、乳歯歯根と後継永久歯および周囲との関係を明らかにするため、小児乾燥頭蓋骨を試料としてマイクロCTにて撮影し三次元立体構築を行い観察した。

**方法:** 研究試料は、歯牙の欠損、歯列不正、象牙質に及ぶ齶蝕を有するものを除外した東京歯科大学解剖学教室所蔵のインド人小児乾燥頭蓋骨を用いた。これらのうち上顎骨を、歯牙の萌出状態により乳歯列期から混合歯列期を4時期に分類し、上顎乳犬歯と後継永久歯の関係を非破壊にて観察するために、マイクロCT (テスコ社製 HMX 225-ACTIS) を用いて撮影した。撮影条件は、管電圧140kV、管電流100 $\mu$ A、倍率2.5倍で行い、16bitのRaw data

500枚を得た。得られたRaw dataより二次元スライス画像を作成し、各スライス画像のノイズ除去、コントラストの調整にはフォトタッチソフト (Photoshop6.0, Adobe) を使用した。この二次元スライス画像を三次元構築ソフト (VG Studio Max) により Volume Rendering 法を用いて三次元立体構築を行った。得られた立体構築画像より上顎乳犬歯歯根と後継永久歯および周囲との関係を観察した。また、上顎乳犬歯歯根と後継永久歯の骨小囊との関係を明確にするため歯根面-骨小囊間の最短距離を計測した。

**成績および考察:** 今回の観察では、犬歯を含む骨小囊が先行する乳犬歯歯根の舌側上方中央部から近心方向に傾斜しながら成長し、それに伴い乳犬歯の歯根吸収も根尖の舌側から進行する様子が立体的に観察された。また、歯根面-骨小囊間の最短距離を計測することにより、乳犬歯歯根が萌出相の推移とともに犬歯と近接していることを定量的に確認することが可能となった。

## No.24: 老化促進モデルマウスの経時的骨梁変化 - 動物実験用マイクロCTによる研究 -

野口 拓<sup>1)</sup>, 澤田幸作<sup>1)</sup>, 木下英明<sup>1)</sup>, 中原 賢<sup>1)</sup>, 松永 智<sup>1)2)</sup>, 阿部伸一<sup>1)2)</sup>, 井出吉信<sup>1)</sup>  
(東歯大・解剖)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>2)</sup>

**目的:** ヒトの老年性骨粗鬆症の研究として、老化促進モデルマウス P6 系統 (SAMP6) が用いられ、骨の形態的变化を観察した研究が数多く報告されている。しかしながら、これらの報告では同一個体を用いて経時的に骨梁構造の変化を観察したものはほとんど見られない。そこで本研究では、同一個体の SAMP6 における骨梁構造を経時的に観察し、その変化について考察を行った。

**方法:** 試料は16週齢の SAMP6 を3体、コントロールとして老化促進モデルマウス R1 系統 (SAMR1) 3体を用いた。これを動物実験用マイクロCT (R-mCT, RIGAKU, Japan) を使用し、左側脛骨大腿骨関節部を16週齢から17週齢の間、3日ごとに計5回の撮影を行った。撮影条件としては、管電圧85kV、管電流150 $\mu$ A、focusは5 $\mu$ m、voxel sizeは20 $\mu$ m $\times$ 20 $\mu$ m $\times$ 20 $\mu$ m、Matrix size 480 $\times$ 480、倍率は10倍、撮影モードを2分モードとした。マウスにイン

フルランを用いて、通法にしたがい吸入麻酔を施し全身麻酔下にて撮影を行った。得られたスライスデータから、経時変化計測ソフトウェア (Compare Analysis, Rigaku, Japan) を用いて、脛骨骨幹部近位端で皮質骨および骨梁構造の経時的変化を比較し、評価を行った。

**成績および考察:** 経時変化計測ソフトウェアの画像重ね合わせの比較では、脛骨皮質骨は SAMP6, SAMR1 いずれにおいても、経時的変化がほとんど認められなかった。しかし、海綿骨においては両者とも時間の経過に伴い、骨梁構造の変化による骨吸収と骨添加が画像に示された。また、SAMP6 と SAMR1 それぞれの経時的変化では、SAMP6 の方が骨梁構造の変化が少なく、SAMR1 では多かった。このことから、同一個体の経時的変化において、骨梁構造の低代謝回転が明らかになり、老年性骨粗鬆症の病態の一端が解明された。

## No.25: 家兎における実験的片咀嚼による下顎骨の生体アパタイト結晶の配向性の変化

小貝隆広<sup>1)2)</sup>, 森岡俊行<sup>1)3)</sup>, 西井 康<sup>2)</sup>, 野嶋邦彦<sup>2)</sup>, 末石研二<sup>2)</sup>, 吉成正雄<sup>1)</sup>(東歯大・口科研・インプラント)<sup>1)</sup> (東歯大・矯正)<sup>2)</sup> (東歯大・口腔インプラント)<sup>3)</sup>

**目的:** 下顎骨は、咀嚼筋や軟組織を介して外力を受けるだけでなく、歯を介して咬合力を直接負担するという特殊な環境に存在している。そのため、不正咬合や異常機能などによる長期の咀嚼障害は成長期の下顎骨の骨形態や内部構造、骨質に影響を与えると考えられる。骨質とは、骨密度 (BMD) 以外の骨強度を支配する因子である。近年、骨質指標の有力候補として、生体アパタイト (BAp) の配向性が挙げられ、BAp の配向性と力学的機能の関連が報告されている。しかし、力学的機能による BAp の配向性の変化を、条件を加えて検討した報告は少ない。本実験では、咀嚼による下顎骨への力学的影響が及ぼす骨質および骨量の変化を検討するため、成長期の兎下顎骨に実験的片咀嚼を作成し、BAp の配向性および BMD を解析した。

**方法:** 実験動物としては、生後5週齢の雄の日本白色家兎を使用し、食餌は固形飼料を用いた。家兎は、上下顎左側臼歯を歯髄の露出がないように歯頸部まで切断した。そして、右側を咀嚼側、左側を非咀嚼側と定義し、実験的片咀嚼の状態にした。歯の

切断は1回/2週で行い、17週齢まで飼育した。所定の期間が完了した後に屠殺し、頭部を剖出軟組織を除去し、下顎骨のみを抽出した。下顎骨は、 $\mu$ CTにより下顎骨体部の撮影を行なった。 $\mu$ CT撮影によって得られた画像データは、三次元構造解析ソフトウェアを使用し三次元画像の再構築を行い、3番目の臼歯を関心領域とし、前顎断した切片標本を作製した。その後、微小領域X線回折装置を用いて歯槽部2部位、基底部2部位での近遠心(長管骨)方向のBAp配向性を解析した。さらに、 $\mu$ CTのデータから、同部位でのBMDの計測を行なった。**成績および考察:** 咀嚼側下顎骨において、歯槽部では、近遠心方向のBAp配向性は低く、基底部においては高い値が観察された。これは、ヒト下顎骨における報告と同様であった。非咀嚼側下顎骨においては、咀嚼側と比べ基底部におけるBAp配向性の低下が認められた。BMDは、咀嚼側、非咀嚼側ともに歯槽部と基底部に大きな差は、認められなかった。これらの結果から、BAp配向性は力学機能を反映して変化することが示唆された。

## No.26: ヒト下顎骨における生体アパタイトの配向性と力学的性質の関係

松本達事<sup>1)2)3)</sup>, 森岡俊行<sup>1)3)</sup>, 古屋英敬<sup>1)4)</sup>, 松永 智<sup>1)2)3)</sup>, 井出吉信<sup>3)</sup>, 矢島安朝<sup>1)3)</sup>, 吉成正雄<sup>1)2)</sup>(東歯大・口科研・インプラント)<sup>1)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>2)</sup> (東歯大・口腔インプラント)<sup>3)</sup>(東歯大・解剖)<sup>4)</sup>

**目的:** ナノインデンテーション (Nanoindentation) 試験法は、対象物の微小領域に微小荷重を作用させて、その荷重-変位曲線から硬さおよび弾性係数の測定が可能であり、骨の微小領域組織の力学的性質が評価できる新たな試験法である。共同演者の森岡らは、骨質の指標としてナノオーダーで生体アパタイト (BAp) の配向性に注目してヒト下顎第一大臼歯皮質骨のBAp配向性の解析を行い、その結果を第288回本学会で報告した。下顎骨は大腿骨のような長管骨と比較して複雑な荷重にさらされているだけでなく、歯の喪失と共に吸収を起こす歯槽部といった特殊な形態を有する骨であることから、長管骨とは異なった配向を示すと同時に力学的な性質も異なると考えられる。そこで本研究は、ヒト下顎第一大臼歯皮質骨における歯槽部-基底部の硬さと弾性係数を計測し、同部位のBAp配向の異方性と比較することにより、ヒト下顎皮質骨BAp配向の異方性と力学的性質との関係について検討した。

**方法:** 東京歯科大学解剖学講座所蔵の日本人実習用遺体より、有歯顎下顎骨1側を採取し試料とした。

第一大臼歯を関心領域とし、第一大臼歯近心部、根分岐部、遠心部で前顎断した切片標本を作製した。その後、BAp配向性測定を行った歯槽部4部位、基底部3部位で超微小押し込み硬さ試験を行った。試験はNano indentation tester (エリオニクス社製、ENT-1100a)を用いた。試験機本体をシールドケースで覆い、ケース内部の試験温度28.0°Cに制御。一定速度0.1mN/sで10mN~50mNの最大荷重まで負荷し、その後荷重を1秒間保持、次いで負荷時と同速で除荷し、硬さおよび弾性係数を測定した。

**成績および考察:** ヒト下顎第一大臼歯皮質骨の硬さおよび弾性係数は歯槽部で小さく、基底部で大きな値を示した。これらの結果は、歯槽部で頬舌側共に近遠心方向のBAp結晶配向性は低く、下顎骨体部では基底部に向け段階的に近遠心方向への高いBAp結晶配向性と関係があることを示唆した。また、ナノインデンテーション試験は、皮質骨微小領域の力学的性質の評価に有効であることが明らかとなった。

## No.27: 口腔癌細胞における enolase 1 の機能

原 有沙<sup>1)2)</sup>, 村松 敬<sup>1)2)</sup>, 山口絢香<sup>2)</sup>, 國分克寿<sup>1)2)</sup>, 橋本貞充<sup>1)2)</sup>, 佐藤 裕<sup>1)3)</sup>, 片倉 朗<sup>1)4)</sup>,  
下野正基<sup>2)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>1)</sup> (東歯大・病理)<sup>2)</sup> (東歯大・生化)<sup>3)</sup>  
(東歯大・口健・口外)<sup>4)</sup>

**目的:** 口腔癌の早期発見のためにはスクリーニング検査が有用であり, このためにはバイオマーカーの開発が必須である。我々はこれまでに口腔癌患者の術前全唾液から検出されるものの, 術後全唾液および健常者の全唾液からは検出されないタンパクとして enolase 1 を報告しており, 口腔癌のバイオマーカー候補と考えている。しかしながら, enolase 1 が口腔癌細胞においてどのような機能を担っているのかは明らかではない。そこで, enolase 1 の機能を *in vitro* で解析することを試みた。

**方法:** 実験には口腔扁平上皮癌由来細胞株6種 (HSC2, HSC3, HSC4, Ca9-22, SAS, BSC-OF) を使用した。10%ウシ胎仔血清 (FBS) と抗生物質を含んだ培養液にて37°C, 5%CO<sub>2</sub>の条件下で培養した。Enolase 1 発現は各細胞から RNA を抽出し, 定量的リアルタイム PCR 法により検索した。さらに, enolase 1 発現ベクターを構築し, エレクトロポレーション法により enolase 1 mRNA

の発現量の低い口腔扁平上皮癌由来細胞株に導入し, ネオマイシンを添加した選択培地で培養し, 安定した形質転換株を得た。なお, 対照として, 遺伝子を組み込んでいないベクターを導入した細胞 (mock) を作製した。細胞増殖能を検索するためには形質移入細胞および mock 細胞を  $2.5 \times 10^5$  cells/ml で播種し, 24時間毎にトリプシンで処理し, コールターカウンターにて細胞数の計測を行い, 比較検討した。

**成績および考察:** Enolase 1 mRNA の発現量は Ca9-22 で最も低く, Ca9-22 に形質転換を行った。Enolase 1 遺伝子を導入した Ca9-22 細胞 (Ca9-22 pZDSB) と mock 細胞を比較したところ, 培養3, 4, 5日後では Ca9-22 pZDSB は細胞数が有意差をもって高くなるのが認められた ( $p < 0.01$ )。以上の結果から, enolase 1 は口腔癌細胞の増殖能に影響することが示唆された。

No.28: エムドゲイン<sup>®</sup>がマラッセ上皮遺残由来細胞に及ぼす影響

菊地 陽<sup>1)</sup>, 村松 敬<sup>2)3)</sup>, 澁川義宏<sup>3)4)</sup>, 白 賢<sup>2)</sup>, 原 有沙<sup>2)3)</sup>, 橋本貞充<sup>2)3)</sup>, 下野正基<sup>2)3)</sup>  
(東歯大・千病・臨床研修歯科医)<sup>1)</sup> (東歯大・病理)<sup>2)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>3)</sup>  
(東歯大・歯周)<sup>4)</sup>

**目的:** マラッセの上皮遺残は, 歯の発生の過程において, ヘルトヴィッヒ上皮鞘に由来するものであり, セメント質側の歯根膜中に存在する上皮細胞集塊であるが, 詳細な機能は明らかとなっていない。一方, 歯周組織再生療法の一つとしてブタ歯胚から抽出されたエナメルマトリックスタンパク (EMD) を多く含有するエムドゲイン<sup>®</sup>が臨床応用されているが, これはヘルトヴィッヒ上皮鞘から分泌される EMD がセメント芽細胞の分化を誘導していることを模倣したものである。しかしながらエムドゲイン<sup>®</sup>がマラッセの上皮遺残に与える影響については明らかとはなっていない。本研究ではエムドゲイン<sup>®</sup>がマラッセの上皮遺残に及ぼす影響を検索した。

**方法:** 実験にはブタマラッセ上皮遺残細胞 (北海道医療大学歯学部, 安彦義裕教授より供与) を用いた。実験群としては細胞を直径100mmの培養皿に  $5 \times 10^5$  個となるように播種し, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>の条件下で培養した。細胞がサブコンフルエントに達した後, エムドゲイン<sup>®</sup> (生化学工業, 東京) を培養

液に30μg/mlとなるように添加し, 24時間培養した。その後, RNA を抽出し, Gjal, Ameloblastin, BMP-2, BMP-4, Noggin の発現を定量的リアルタイム PCR 法にて検索した。対照群としてリン酸緩衝生理食塩水 (pH7.4) を培養液に添加した。

**成績および考察:** 実験群においては, ギャップ結合構成遺伝子である Gja 1 の発現が約3倍, エナメルマトリックスタンパクのひとつである Ameloblastin の発現が約2倍であった。骨形成タンパク関連遺伝子に関しては, BMP-2 は約2.5倍, BMP-4 においては約3倍の発現が認められた。一方, BMP に対して抑制性に働く Noggin についても実験群において約3倍の発現が認められた。これらの結果より, エムドゲイン<sup>®</sup>はマラッセ上皮遺残細胞に作用することによって Gja 1, Ameloblastin, BMP-2, BMP-4 等の硬組織形成関連遺伝子の発現を促進していると考えられた。また硬組織形成の抑制因子である Noggin の発現も亢進させていることより, 過剰な硬組織形成を抑制していることが示唆された。

## No.29: メカニカルストレス環境下でのマラッセ上皮遺残細胞の動態

白 賢, 村松 敬, 原 有沙, 山口絢香, 國分克寿, 榎谷保信, 橋本貞充, 下野正基  
(東歯大・病理)

**目的:** マラッセ上皮遺残細胞 (EMR) は Hertwig 上皮鞘に由来し, 歯根膜中のセメント質周囲に存在する細胞である。EMR には電顕的にギャップ結合が存在することや BMP 等の骨誘導タンパク (BMP) や Ameloblastin などのエナメル基質タンパクを発現することが知られている。しかし, メカニカルストレス (伸展力) を EMR に加えた際の動態は不明な点が多い。本研究では, EMR に伸展刺激を加えた際の Gjal (ギャップ結合構成遺伝子), (Ameloblastin), BMP2, BMP4, Noggin (BMP 抑制遺伝子) の動態を検索することを目的とした。  
**方法:** プタマラッセ上皮遺残細胞 (北海道医療大学歯学部・安彦善裕教授より供与) を 10% 仔牛血清添加培養液 ( $\alpha$ -MEM) で, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> の条件下で培養した。Type I collagen で表面処理を施した伸展性培養皿 (BioFlex<sup>®</sup> plates) に 1.0 × 10<sup>5</sup>/well の割合で細胞を播種した後, FX-4000<sup>TM</sup> Flexercell Tension Plus<sup>TM</sup> System にて 1 秒間伸展, 1 秒間弛

緩の周期で 18% の伸展力を 12 ならびに 24 時間, 刺激を継続した。その後, 細胞から RNA を抽出し, ABI7500 Fast system を用いた定量 RT-PCR を行い, Gjal (ギャップ結合構成遺伝子), (Ameloblastin), BMP2, BMP4, Noggin (BMP 抑制遺伝子) の発現を検索した。対象としては伸展刺激を加えないものを用いた。

**成績および考察:** Gjal の発現量は 12, 24 時間後では, いずれも対照群と比べて減少した。また, (Ameloblastin) の発現量は, 12 時間後では差は認められなかったが, 24 時間後には減少した。BMP 2, BMP4 の発現は, 12, 24 時間後のいずれも増加が認められた一方で, Noggin の発現は減少した。これらの結果より, 伸展刺激により培養マラッセ上皮遺残細胞では Gjal, Ameloblastin の発現が減少するものの, Noggin の発現を減少させることより, BMP2, BMP4 の発現を増加させていると考えられた。

No.30: *Porphyromonas gingivalis* と *Treponema denticola* の共凝集に関する ligant の解析

浅井知宏<sup>1)3)</sup>, 堀内 章<sup>1)3)</sup>, 藤井理絵<sup>1)</sup>, 石原和幸<sup>2)3)</sup>, 中川寛一<sup>1)</sup> (東歯大・保存)<sup>1)</sup>  
(東歯大・微生物)<sup>2)</sup> (東歯大・口科研・hrc7)<sup>3)</sup>

**目的:** 根尖性・辺縁性歯周炎の病巣には複数の菌種が存在し, これらの複数菌種による consortia は歯周炎の発症や進行に重要な役割を果たしている。*Porphyromonas gingivalis*, *Tannellera forsythia*, *Treponema denticola* は歯周病巣から高頻度で分離される菌群で red complex と呼ばれている。今回, 我々は歯周病原性菌による consortia 形成メカニズムを解析するため *Porphyromonas gingivalis* と *Treponema denticola* における共凝集に関する ligant の解明を試みた。

**方法:** *P. gingivalis* ATCC33277 および *T. denticola* ATCC35405 を TYGVS 培地で 48 時間予備培養を行った。*P. gingivalis* 250 $\mu$ l を TYGVS 液体培地 500 $\mu$ l を含む Type I-collagen coated flat-bottom microplates (IWAKI, Tokyo) に加え, *T. denticola* 250 $\mu$ l を TYGVS 液体培地 500 $\mu$ l を含み, 底部が 0.4 $\mu$ m filter の inner well (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) に接種後 micro plate に挿入した。また, 対照としては TYGVS 液体培地 750 $\mu$ l を inner well に加えた。48 時間嫌気培養後, *P. gingivalis* を集菌し, 洗浄した。得られた *P. gingivalis* のタンパクのプロファイルを 10-20% SDS-PAGE および抗 *T. denticola* 抗体を用いた Immunoblot によって解

析した。*P. gingivalis* と *T. denticola* の共培養によって認められるようになったバンドに対しては, PVDF 膜に転写後タンパクバンドを分離しエドマン法により N 末端アミノ酸配列分析を行った。

**成績および考察:** *T. denticola* と共培養した *P. gingivalis* タンパクプロファイルの解析の結果, 単独培養の *P. gingivalis* には存在しないおよそ 90kDa のタンパクバンドが認められた。Immunoblot の結果, この 90kDa のタンパクは *T. denticola* 抗体により検出された。エドマン法による N 末端アミノ酸配列分析の結果, 90kDa のタンパクは *T. denticola* の open reading frame TDE1072 によってコードされているタンパクであることが明らかになった。今回, 直接菌種同士が接することのない 0.4 $\mu$ m filter のフィルターを介した状態での共培養によって *P. gingivalis* のから *T. denticola* のタンパクが検出されたことは, *T. denticola* から vesicle が遊離後, *P. gingivalis* に付着し, その成分である *T. denticola* の TDE 1072 が検出されたと考えられる。本タンパクは *P. gingivalis* を繰り返し洗浄する事によっても検出されたため付着に関する可能性が考えられた。現在, *T. denticola* TDE1072 の *P. gingivalis* の付着性について検討中である。



No.31 : Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor regulates periodontal ligament cells behavior, inflammatory cytokines expression and periodontal destruction in smoking-associated periodontitis

Ying-Feng Liu<sup>1)2)</sup>, Yan Du<sup>2)</sup>, Kaichi Matsuoka<sup>2)3)</sup>, Kenichi Matsuzaka<sup>2)3)</sup>, Ling-Ying Wen<sup>1)2)</sup>, Xiao-Jing Wang<sup>1)2)</sup>, Takashi Inoue<sup>2)3)</sup> (Department of Pediatric Dentistry, School of Stomatology, Fourth Military Medical University, Xi'an, China)<sup>1)</sup> (Department of Clinical Pathophysiology, Tokyo Dental College, Chiba, Japan)<sup>2)</sup> (Oral Health Science Center hrc7, Tokyo Dental College, Chiba, Japan)<sup>3)</sup>

**Objective :** The aim of this study was to investigate how the  $\alpha 7$  subunit of nicotinic acetylcholine receptor ( $\alpha 7$  nAChR) regulates nicotine's effects on human periodontal ligament (PDL) cells behavior, inflammatory related cytokines expression and periodontal tissue destruction.

**Materials and methods :** *In vitro*, human PDL cells were cultured with different concentration of nicotine and/or alpha-bungarotoxin ( $\alpha$ -Btx). Cell proliferation, adhesion and migration were measured by WST-1, attachment and wound healing assay. The expression of  $\alpha 7$  nAChR, IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , RANKL and OPG in PDL cells were explored by real-time PCR and Immunofluorescence assay, respectively. *In vivo*, twenty-four male Sprague-Dawley rats were tied by silk ligatures around cervixes of the second maxillary molar and randomly received saline, nicotine and/or  $\alpha$ -Btx. All rats were sacrificed at day 28. The maxillae were harvested and paraffin serial sections were cut. Hematoxylin and eosin examina-

tion, and immunohistochemical staining of  $\alpha 7$  nAChR, IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , RANKL, OPG and TRAP were performed.

**Results and Discussion :** Both *in vitro* and *in vivo*, the expression of  $\alpha 7$  nAChR in PDL cells and periodontal tissues was up-regulated by nicotine, whereas partially suppressed by  $\alpha$ -Btx. Induced IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , RANKL and reduced OPG expression were correlated with  $\alpha 7$  nAChR expression. Nicotine significantly induced the migration, but inhibited the proliferation and adhesion of cultured PDL cells in a dose dependent manner. The present studies demonstrate that nicotine induces IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and RANKL, and reduces OPG expression by periodontal  $\alpha 7$  nAChR. In addition, nicotine inhibits human PDL cells attachment, proliferation and enhances PDL cells migration through activation of  $\alpha 7$  nAChR. All those effects are critical for the inflammatory reaction and periodontal destruction in the process of smoking-associated periodontitis.

No.32 : The behavior of transplanted rat cultured dental pulp cells with collagen type -1 gel in demineralized dentin tubes

Sultan Zeb Khan<sup>1)2)</sup>, Eitoyo Kokubu<sup>2)3)</sup>, Kenichi Matsuzaka<sup>1)2)</sup>, Takashi Inoue<sup>1)2)</sup> (Department of Clinical Pathophysiology, Tokyo Dental College, Chiba, Japan)<sup>1)</sup> (Oral Health Science Center hrc7, Tokyo Dental College, Chiba, Japan)<sup>2)</sup> (Department of Microbiology, Tokyo Dental College, Chiba, Japan)<sup>3)</sup>

**Purpose :** The purpose of this study was to investigate the behavior of cultured rat dental pulp cells (DPCs) with collagen type-1 gel transplanted into abdominal muscle.

**Materials and Methods :** Sixteen Sprague-Dawley male rats (100g/BW) were used in this experiment. Pulp tissue was obtained from the maxillary incisors. Then DPCs were primary cultured. After 3 passages of subculture, three types of graft samples were prepared; 1, cultured DPCs mixed with collagen type-1 gel, 2, cultured DPCs pellet alone as control 1, and 3, collagen type-1 gel alone as control 2. Both Demineralized and mineralized dentin tubes were made from another animals according to the methods of Koike *et al.* (J Periodont. Res. 2005). Each of the grafts were injected in to demineralized and non-demineralized dentin tubes, and auto transplanted into rectus abdominus muscles. Rats were sacrificed at 7, 14 and 21 days after the transplantation and fixed with 10% formalin and paraffin sections were cut and stained with HE, and for immunohistochemical or immunofluorescence staining, ALP, BSP, OPN and

PHALLOIDIN and DAPI were used as primary anti-bodies.

**Results and discussion :** Hard tissue like structure was observed around the transplanted DPCs mixed with collagen type-1 gel in demineralized groups and ALP, BSP, and OPN, showed positive staining for the mineralized matrix around the transplanted cultured at day 7. Immunofluorescence staining with Phalloidin and DAPI, also positively stained the cartilage-like matrix. However, in the mineralized tube with DPCs and collagen gel, in either mineralized or demineralized tubes with either DPCs pellets alone or collagen gel alone, did not show any mineralized matrix around the DPCs. Yu *et al.* (BMC Cell Biology 2010) reported that the differentiation potential of the DPCs changes during serial cell passaging. Collagen type-1 gel scaffold *in vivo* transplantation of DPCs augmented in cartilage like tissue formation. These results suggest that type I collagen gel is important as a scaffold for the cultured DPCs to produce cartilage-like hard tissue.