

第69回松本歯科大学学会（例会）

■日時：2009年11月14日(土) 14:20～16:40

■会場：講義館201教室

プログラム

一 般 講 演

14:20 開会の辞 森本 俊文 学長

14:25 座長 金銅 英二 教授

1. 血液凝固に対する田七の作用の検討

○橋本洋幸¹, 荒 敏昭^{1,2}, 藤波義明², 今村泰弘^{1,2},
服部敏己^{1,2}, 王 宝禮^{1,2}¹(松本歯大院・分子創薬), ²(松本歯大・歯科薬理)

2. OPG 遺伝子欠損マウスの歯槽骨吸収に対する骨吸収抑制剤の効果

○小出雅則¹, 二宮 禎², 中村美どり^{1,3}, 新井嘉則⁴, 小林泰浩¹,
高橋直之¹, 宇田川信之^{1,3}¹(松本歯大・総歯研・機能解析), ²(松本歯大・総歯研・形態解析),
³(松本歯大・口腔生化), ⁴(日本大学・歯学部)3. チタンインプラント表面加工の違いによる骨形成促進効果の *in vivo* における組織学的研究○八上公利^{1,4}, 伊藤和也², 中村美どり³, 村上広樹^{4,5}, 宇田川信之^{3,4},
定岡 直⁵, 中根 卓⁵, 笠原 香⁵, 柳沢 茂^{1,5}, 矢ヶ崎 雅¹¹(松本歯大・社会歯科), ²(株式会社ヨシオカ), ³(松本歯大・口腔生化),
⁴(モダンインプラントアカデミー), ⁵(松本歯大・口腔衛生)

15:01 座長 中村美どり 講師

4. 銀担持光触媒のう蝕原性レンサ球菌への殺菌効果

○平井 要^{1,6}, 菊池有一郎^{1,6}, 上田青海^{1,6}, 木曾有紀子⁶, 大石真太郎⁶,
宮下みどり^{5,6}, 柴田幸永^{2,6}, 吉澤英樹^{3,7}, 伊藤充雄^{4,8}, 藤村節夫^{1,6}¹(松歯大・口腔細菌学), ²(松歯大・総歯研・健康分析),
³(松歯大・生物), ⁴(松歯大・理工), ⁵(松歯大・口腔顔面外科),
⁶(松歯大院・健康分析), ⁷(松歯大院・形態解析), ⁸(松歯大院・生体材料)

5. 口腔外科手術における3次元石膏造形モデルの有用性

- 山田秀史, 石濱孝二, 梅村哲弘, 宮下みどり, 伊藤香那,
岡山政樹, 下地茂弘, 山田高久, 小笠原慶一, 中山洋子,
安田浩一, 山岡稔, 古澤清文
(松本歯大・口腔顎顔面外科)

特 別 講 演

15:30~16:30 座長: 小澤 英浩 研究科長

演題 「歯周病と全身疾患について ―最近の知見―」

講師 西原 達次 教授

(九州歯科大学歯学部 健康増進講座 感染分子生物学分野)

16:40 閉会の辞 小澤 英浩 大学院歯学独立研究科長

1. 血液凝固に対する田七の作用の検討

橋本洋幸¹, 荒 敏昭^{1,2}, 藤波義明², 今村泰弘^{1,2},
服部敏己^{1,2}, 王 宝禮^{1,2}

¹(松本歯大院・分子創薬), ²(松本歯大・歯科薬理)

【目的】

田七はウコギ科の生薬であり、明の時代に編集された「本草綱目」に記載された漢方薬である。田七の作用として滋養強壮、止血作用、鎮痛作用、抗炎症作用、血圧低下作用などがあり、歯科領域においては、田七の粉末を抜歯窩に充填することにより止血を行うことが報告されている。しかし血液凝固に対する田七の作用機序は解明されていないため、その作用について検討した。

【対象および方法】

田七（天中田七®，メディカル・サポート・インターナショナル社）の粉末をリン酸緩衝生理食塩水（PBS）および0.5%ウシ血清アルブミン（BSA）を含むPBS（PBS+BSA）に懸濁し、4℃で一晩旋回した後に0.45 μm フィルターでろ過滅菌し、田七溶出液とした。

健常な被験者から回収した血漿と田七溶出液を混合し、プロトロンビン時間（PT）および活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）を測定した（それぞれ血液凝固系の外因系・内因系のスクリーニング法）。田七の作用が熱安定性か否かを検討するために100℃、5分間で加熱処理し、同様の実験を行った。

【結果】

PBS 溶出田七およびPBS+BSA 溶出田七は濃度依存的にAPTTを延長させた。また、PBS+BSA 溶出田七はPBS 溶出田七と比較してAPTTの延長は軽度であった。PBS 溶出田七の場合には加熱処理の有無によるAPTTの差はなかったが、PBS+BSA 溶出田七の場合には加熱によりAPTTはコントロール（田七なし）よりも短縮した。一方、田七はPTに影響を与えなかった。

【考察】

脂溶性の成分はアルブミンに結合しやすい性質をもつことが知られている。したがって、PBSで溶出した場合には水溶性の成分のみが、PBS+BSAで溶出した場合には水溶性と脂溶性の両者の成分が溶出されると考えられる。本研究の結果から、田七は内因系を阻害する水溶性・熱安定性の成分と、内因系を促進する脂溶性・熱安定性の成分を含むことが示唆された。また、田七は外因系に影響を与えないことが示唆された。

2. OPG 遺伝子欠損マウスの歯槽骨吸収に対する骨吸収抑制剤の効果

小出雅則¹, 二宮 禎², 中村美どり^{1,3}, 新井嘉則⁴, 小林泰浩¹,

高橋直之¹, 宇田川信之^{1,3}

¹(松本歯大・総歯研・機能解析), ²(松本歯大・総歯研・形態解析),

³(松本歯大・口腔生化), ⁴(日本大学・歯学部)

【目的】

歯周病では、慢性的な炎症反応により破骨細胞が活性化され、歯槽骨吸収が起こる。しかし、歯周病に骨吸収関連遺伝子がどの程度関与しているかは明確でない。そこで、我々は骨吸収関連遺伝子として可溶性 receptor activator of NF-κB (sRANKL) と osteoprotegerin (OPG) の歯周病への関与を明らかにするため、これらの遺伝子改変マウスの歯槽骨を観察した。更に、歯槽骨吸収に対する骨吸収抑制剤の効果を解析した。

【方法と結果】

(1) 野生型 (WT: C57 BL/6), OPG 遺伝子欠損 (OPG 欠損) 及び sRANKL 遺伝子強発現 (sRANKL 強発現) マウスの下顎第一臼歯の歯槽骨をマイクロ CT で撮影し、根分岐部直下の骨量を定量した。12 週齢の WT の骨量は約60%であった。一方、sRANKL 強発現と OPG 欠損マウスの骨量は、約45%と

約25%であり、WTより低値を示した。(2) これらの遺伝子改変マウスの歯槽骨吸収を評価するため、セメントエナメル境から歯槽骨頂(CEJ:ABC)までの距離を測定した。8週齢では、いずれのマウスにも有意な差は認められなかった。しかし、12週齢のOPG欠損マウスにおいて、歯槽骨の著しい吸収が認められた。一方、sRANKL強発現マウスでは、WTと比較して歯槽骨吸収に有意な差が認められなかった。(3) 8週齢のOPG欠損マウスに、骨吸収抑制剤であるビスホスホネート(risedronate)を4週間投与(0.1 mg/kg/週2回)し、歯槽骨吸収の抑制効果を評価した。risedronate投与により、CEJ:ABCにおけるOPG欠損マウスの歯槽骨吸収は著明な回復が認められた。更に、risedronate投与により、下顎第一臼歯の根分岐部におけるOPG欠損マウスの骨量は約50%に回復した。

【考察】

OPGの減少は歯周病の進行に重要であることが明らかとなった。歯周治療において、OPG量を維持することは重要である。また、破骨細胞抑制剤は歯周病治療薬として応用可能であることが示唆された。

3. チタンインプラント表面加工の違いによる骨形成促進効果の*in vivo*における組織学的研究

八上公利^{1,4}, 伊藤和也², 中村美どり³, 村上広樹^{4,5}, 宇田川信之^{3,4},

定岡 直⁵, 中根 卓⁵, 笠原 香⁵, 柳沢 茂^{1,5}, 矢ヶ崎 雅¹

¹(松本歯大・社会歯科), ²(株式会社ヨシオカ), ³(松本歯大・口腔生化),

⁴(モダンインプラントアカデミー), ⁵(松本歯大・口腔衛生)

【目的】

近年、社会的要求からインプラントにはより早期の骨との結合と永久的な維持能力が必要となっている。現在主流のインプラントには生体親和性の良いチタンや表面形状に骨伝導能をもつナノレベルの粗面形状やハイドロキシアパタイト等の皮膜が用いられているが、骨誘導能および骨形成能はないとされている。近年、骨形成における細胞の分化および組織の構築には、幹細胞、成長因子、動性力学、および幾何構造の五大要素の全てが関連すると報告されている。すなわち、骨髄に存在する未分化間葉系幹細胞が適切な幾何構造を持つインプラント表面に付着・増殖し、その後、周囲組織や血管から供給されるBMPなどのサイトカインにより、早期に成熟骨芽細胞へと分化・増殖することが必要である。硬水イオン洗浄は金属表面を陽イオン化することによりOH⁻との結合が容易となるため親水性が高く、タンパク質や細胞の高い付着性および静着性が得られると考えられる。そこで今回我々は、インプラント体表面の親水性を高めることにより骨誘導能を持つインプラント体を開発することを目的として、G4チタニウムで作製したインプラント体に硬水イオン洗浄を行い、*in vivo*における骨形成状態および*in vitro*における細胞の付着状態について経時的に組織学的観察を行った。

【材料および方法】

インプラント体は、ブラスト+エッチング(BE)およびブラスト+エッチング+硬水イオン洗浄(BI)をそれぞれ使用した。動物は、生後17-19週(3.0-3.5kg)の白色ウサギを使用した。動物実験は、松本歯科大学動物実験倫理委員会の許可を得て指針に従って行った。全身麻酔・局所麻酔併用無痛下に、通法により両側頸骨骨幹部中央に直径3.8mm、長さ5.0mmのインプラント体を埋入した。埋入後2, 4, 6週目に動物を麻酔安楽死させ、組織を4%磷酸緩衝ホルマリンで固定した。そして、3D-CT撮影および連続研磨切片を作製し、インプラント体周囲の骨髄組織および骨形成状態について骨形態計測法と細胞レベルにおける組織染色により評価した。また、BEおよびBIに対する細胞付着実験では、それぞれの金属プレート上で未分化間葉系細胞(MC3T3-E1)を培養し、24時間までの付着状態の変化について走査電子顕微鏡(SEM)にて観察した。

【結果および考察】

BEに比べBIでは、埋入後2週目の3D-CT撮影および組織縦断面においてインプラント体長軸全

体への骨形成が始まっていた。また、BIでは埋入後2週目の横断面において皮質骨から離れた部分の骨髓において、インプラント体を直接囲むように類骨様組織の形成と連続した骨形成が観察された。また、培養実験によるMC3T3-E1細胞のSEMによる初期付着の観察では、BIではBEより付着細胞数の増加と細胞間密度の緊密化が見られた。

以上より、硬水イオン洗浄は、チタニウム製インプラントに骨形成促進効果を付加できる可能性が考えられた。

4. 銀担持光触媒のう蝕原性レンサ球菌への殺菌効果

平井 要^{1,6}, 菊池有一郎^{1,6}, 上田青海^{1,6}, 木曾有紀子⁶,
大石真太郎⁶, 宮下みどり^{5,6},

柴田幸永^{2,6}, 吉澤英樹^{3,7}, 伊藤充雄^{4,8}, 藤村節夫^{1,6}

¹(松歯大・口腔細菌学), ²(松歯大・総歯研・健康分析),

³(松歯大・生物), ⁴(松歯大・理工), ⁵(松歯大・口腔顔面外科),

⁶(松歯大院・健康分析), ⁷(松歯大院・形態解析), ⁸(松歯大院・生体材料)

【緒言】

二酸化チタンは光触媒として、消臭、防汚、抗菌、環境清浄化などの効果が期待され、広く応用されつつある。また、二酸化チタンに種々の金属を付着させることにより、この触媒は少しずつ性状が変化することが知られている。我々は、銀を配合した光触媒の応用を検討するため、*Str. mutans* と *Str. sobrinus* に対する殺菌効果などを検討した。

【方法】

光触媒は、石福金属興業株式会社より提供を受けた。供試菌株として *Str. mutans* Ingbritt 株と *Str. sobrinus* 6715株を用いた。照射する光は可視光線とし写真用電球を使用し、事前に照度を調節した。殺菌効果は各レンサ球菌の懸濁液に光触媒を入れ攪拌し、5分間あるいは10分間、可視光線を照射後、900μℓのSoybean-Casein Digest Broth with Lecithin and polysorbate 80に100μℓ加え10倍の段階希釈を行い、それをCASO agar (Merck) supplemented 0.2% Yeast extract に接種し48時間、37℃好気培養して、形成されたコロニー数をカウントした。バイオフィームは24ウェルのプレートで各レンサ球菌をショ糖存在下で1週間好気培養し形成させた。その後、ウェルを生理食塩水で洗浄し、生理食塩水を入れ、更に光触媒を入れて攪拌し光を照射した。洗浄後、0.1%トルイジンブルーで染色し、100%エタノールで溶出させた色素を96ウェルのプレートに移し、マイクロプレートリーダーを用い測定波長595nmで計測し、バイオフィームの量を算定した。また、24ウェルのプレートの底に滅菌したカバーガラスを沈め同様にしたものを走査電子顕微鏡にて観察した。

【結果と考察】

通常の光触媒では、殺菌効果は顕著ではなかったが、銀担持光触媒では、高い殺菌効果が認められ、10分の光照射でいずれの場合も、生存細菌数は0となった。光を照射しない場合でも、銀担持光触媒は10分後に生存細菌数を1/1000レベルに減少させた。銀担持光触媒は、光を照射しなくとも殺菌効果が見られたので、銀イオンが殺菌効果に大きく影響すると考えられる。バイオフィームの除去能は銀および通常の光触媒両者に見られた。銀担持光触媒の方がバイオフィームの除去能は高かったが、標準誤差が大きく有意差が見られないものもあった。光照射なしではバイオフィームはほとんど除去されなかった。バイオフィームの破壊に関しては、光照射が重要であった。通常の光触媒も可視光領域でも活性化を受けたと考えられる。殺菌機構とバイオフィーム破壊機構は、異なる機構である可能性も考えられる。走査電子顕微鏡による観察では、各光触媒がバイオフィームと密接に接触していることがわかったが、接点点での顕著な変化は確認出来なかった。

5. 口腔外科手術における3次元石膏造形モデルの有用性

山田秀史, 石濱孝二, 梅村哲弘, 宮下みどり, 伊藤香那,
岡山政樹, 下地茂弘, 山田高久, 小笠原慶一, 中山洋子,
安田浩一, 山岡 稔, 古澤清文
(松本歯大・口腔顎顔面外科)

【目的】

3次元造形モデルはCT画像のDICOMデータから実寸大に作成され、診断支援、手術支援として用いられる。当講座では2008年5月から顎変形症患者、顎骨腫瘍患者、顎顔面骨折患者等に対して導入している。治療計画、患者への説明に有用とされるばかりではなく、術前シミュレーションも可能なことから手術時間、出血量の減少等に貢献すると言われている。3次元造形モデルの有用性はこのように広く認識されているが、客観的に検討された報告は少ない。そこで、当講座において3次元造形モデルを使用して行った手術症例について検証した。

【方法】

2008年5月から2009年10月までの1年6か月の間に、3次元造形モデルを利用した28件の症例について、術式別に調査した。手術時間、出血量、術後合併症の発生率を算出し、過去の同様の術式を用いた3次元造形モデル非使用手術症例と比較した。手術時間は執刀開始から終術までの時間(分)とした。また、術後合併症は下唇知覚異常の発生率(%)とした。さらに下顎骨区域切除例におけるプレート再建時間として、腫瘍切除完了から関節頭整復確認のための術中X線写真撮影までの時間を麻酔記録から算出した。手術時間(分)、プレート再建時間(分)と出血量(g)の比較にはt検定を、また、術後知覚異常の発生率の比較には χ^2 検定を使用し、 $p < 0.01$ を有意とした。

【結果】

術式の内容は、下顎枝矢状分割術7例、上下顎骨切り術2例、オートガイ形成術3例、下顎骨区域切除術(プレート+遊離皮弁再建)5例、下顎骨区域切除術(プレート+縫縮)3例、下顎骨腫瘍摘出開放術2例、下顎骨骨折観血的整復固定術2例、非観血的整復術1例、プレート置換術、上顎骨部分切除術(上顎悪性腫瘍)と上顎洞根治術(術後性上顎嚢胞)が各1例であった。

3次元造形モデルを使用した下顎骨区域切除術(プレート+遊離皮弁再建)5例の手術時間と出血量の平均は671分、647gに対し、過去の術式では592分、890g、また同様に、下顎枝矢状分割術7例でも207分、299gに対し、過去の術式では194分、212gと有意差はなかった。その他すべての同じ術式で3次元造形モデル非使用群と比較したが、手術時間、出血量に差は認めなかった。3次元造形モデルを使用した下顎骨区域切除症例7例のプレート再建時間は平均39分で、非使用群21例の平均60分と比較すると明らかに時間の短縮が認められた($p < 0.01$)。下顎枝矢状分割術の下唇知覚異常発生率は70%から57%に減少傾向は認められたが有意な差は認められなかった。

【考察】

3次元造形モデルは、手術全体の手術時間短縮や、出血量の減少には反映しづらいことが考えられた。しかしながら、これまでの報告にあるとおり、手術のイメージのしやすさに加え、それをスタッフ全員が共有できる安心感は大きく、さらに精確なプレゼンディングによる機能・形態学的回復が期待できることから、患者側、医療者側両者にとって非常に有用であると思われた。