

第58回松本歯科大学学会（総会）**■日時：2004年7月3日(土) 8：30～15：40****■会場：講義館201教室****プログラム****特 別 講 演****10：30～11：30** 201教室

座長 塩島 勝 教授

日常臨床に役立つ歯科心身医学への誘い^{いざない}

牛山 崇 博士（牛山歯科医院・埼玉）

13：00～13：50 201教室

座長 学会長 小澤英浩 教授

私が見てきた斑状歯

近藤 武 教授（松本歯科大学・口腔衛生学講座）

評議員会・総会（2004年度）**11：40～12：30** 201教室**一 般 講 演****8：25** 開会の辞 音琴淳一 助教授**8：30** 座長 音琴淳一 助教授

1. 微酸性電解水の環境細菌に対する殺菌作用について—デンタルユニットへの応用—

○小町谷美帆¹，山口 昭²，平井 要³，山下秀一郎⁴，伊藤充雄⁵¹(松本歯大・総合診療)，²(千葉県)，³(松本歯大・口腔細菌)，⁴(松歯大院・機能評価)，⁵(松本歯大・歯科理工)

2. 透明根管模型による根管洗浄効果に関する実験—カルシペックスの除去効果について—

○原 洋介，継 祐介，緒方 真，山田博仁，笠原悦男（松本歯大・歯科保存Ⅱ）

3. 根尖位置により抜歯部位を決定した症例

○金山隼人，大嶋嘉久，岡藤範正，栗原三郎（松本歯大・歯科矯正）

9:06 座長 山田博仁 講師**4. 3 DXによる下顎第三大臼歯抜歯の術前検査—その有用性について—**

○内田啓一, 永山哲聖, 黒岩博子, 安河内直美, 新井嘉則, 塩島 勝
(松本歯大・歯科放射線)

田中 晋, 森 亮太, 安田浩一, 古澤清文 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

5. 侵襲性歯周炎患者に対して歯周組織再生療法を行った症例における歯科用小型X線CT (3 DX^R) を用いた歯槽骨再生量の臨床評価

○久野知子^{1,3}, 音琴淳一^{1,3}, 太田紀雄^{1,3}, 内田啓一², 新井嘉則^{2,4}, 塩島 勝^{2,4}
¹(松本歯大・歯科保存Ⅰ), ²(松本歯大・歯科放射線),
³(松本歯大・健康分析), ⁴(松本歯大・病態評価)

9:30 座長 田中 晋 講師**6. コラーゲンパウダーを用いたミコナゾール含有義歯性口内炎治療薬の開発**

○吉田敬子¹, 王 宝禮², 平井 要³, 黒岩昭弘¹, 酒匂充夫¹, 山根修太郎¹,
海田健彦¹, 宇田 剛¹, 吉田茂生¹, 伊藤充雄⁴, 五十嵐順正¹
¹(松本歯大・歯科補綴Ⅰ), ²(松本歯大・歯科薬理),
³(松本歯大・口腔細菌), ⁴(松本歯大・歯科理工)

7. レボブピバカインのラット歯髄神経に対する局所麻酔作用

—リドカイン, メピバカインとの比較—

○織田秀樹, 澁谷 徹, 大河和子, 姫野勝仁, 谷山貴一, 廣瀬伊佐夫
(松本歯大・歯科麻酔)

9:54 座長 鷹股哲也 教授**8. レジンコーティング処理した金銀パラジウム合金の接着強さ**

○寺島伸佳¹, 吉田貴光^{1,2}, 洞沢功子¹, 鬼澤 徹¹, 白鳥徳彦¹, 新納 亨¹,
田村 郁³, 永沢 栄^{1,2,3}, 伊藤充雄^{1,2,3}
¹(松本歯大・歯科理工), ²(松本歯大・総歯研・生体材料), ³(松本歯大・生体材料)

9. OSCEにおける口腔内診査課題の問題点について

○音琴淳一^{1,2}, 植田章夫^{1,3}, 山本昭夫^{1,4}, 山下秀一郎^{1,5}, 上松隆司^{1,3}, 中山 聡^{1,6},
澁谷 徹^{1,7}, 塩島 勝^{1,8}, 黒岩昭弘^{1,9}, 宮沢裕夫^{1,6}
¹(松本歯大・OSCE小委員会), ²(松本歯大・歯科保存Ⅰ),
³(松本歯大・口腔顎顔面外科), ⁴(松本歯大・歯科保存Ⅱ), ⁵(松本歯大・総合診療),
⁶(松本歯大・小児歯科), ⁷(松本歯大・歯科麻酔), ⁸(松本歯大・歯科放射線),
⁹(松本歯大・歯科補綴Ⅰ)

10:30 特別講演**13:00 特別講演**

14:00 座長 増田裕次 教授

10. 三叉神経中脳路核ニューロン膜興奮性に関わる h チャンネル活性に対する細胞内外の Ca イオンの役割

○ 富田郁雄^{1,2}, 田中 晋¹, 安田浩一^{1,3}, 古澤清文^{1,2}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・機能評価), ³(松歯大院・生体調節)

11. オトガイ舌骨筋一次求心線維の副交感神経節後ニューロンへの入力様式に関する研究—形態学および電気生理学的検討—

○ 杉浦真貴^{1,2}, 安田浩一^{1,2}, 森 亮太¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・生体調節), ³(松歯大院・機能評価)

12. 三叉神経運動核およびその周囲に分布するサブスタンス P・セロトニン共存軸索終末の生後変化

○ 中村雅明^{1,2}, 安田浩一^{1,2}, 小片 桂¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・生体調節), ³(松歯大院・機能評価)

14:36 座長 山下照仁 講師

13. 破骨細胞の分化におけるムラミジペプチド (ペプチドクリカン成分) の作用の解析

○ 楊 淑華¹, 高橋直之², 高橋昌宏¹, 茂木真希雄³, 上松隆司¹, 小林泰浩²,

中道裕子², 高田春比古⁴, 宇田川信之⁵, 古澤清文¹

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・機能解析), ³(愛知学院大・薬理),

⁴(東北大・口腔微生物), ⁵(松本歯大・口腔生化学)

14. ヒト破骨細胞分化における PGE₂ の役割についての解析

○ 武 郁子^{1,2}, 山本洋平³, 坪井秀規⁴, 小林泰浩¹, 栗原三郎², 宇田川信之⁵, 高橋直之¹

¹(松歯大院・機能解析), ²(松本歯大・歯科矯正), ³(愛知学院大・歯周病),

⁴(阪大医学部・整形外科), ⁵(松本歯大・口腔生化学)

15. ポリリン酸の骨芽細胞と破骨細胞に対する作用

○ 八丁裕次^{1,2}, 上松隆司^{1,2}, 高橋昌宏¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・病態評価), ³(松歯大院・機能評価)

15:12 座長 今村泰弘 講師

16. 唾液腺癌細胞における ABC binding cassette (ABC) transporter の発現

○ 植本浩子^{1,2}, 上松隆司^{1,2}, 堂東亮輔¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・病態評価), ³(松歯大院・機能評価)

17. *Porphyromonas gingivalis* の外膜蛋白質 Rag 変異株の薬剤感受性

○ 上田青海¹, 齋藤珠実², 柴田幸永³, 平井 要¹, 宮沢裕夫^{2,3}, 吉村文信⁴, 藤村節夫^{1,3}

¹(松本歯大・口腔細菌), ²(松本歯大・小児歯科),

³(松歯大院・健康分析), ⁴(愛知学院大・微生物)

15:40 閉会の辞 今村泰弘 講師

講演抄録

特別講演 1 日常臨床に役立つ歯科心身医学への誘い^{いざない}

牛山 崇 (牛山歯科医院・埼玉県, 日本歯科心身医学会理事, 日本心身医学会代議員)

歯科医療は歯科医師と患者の人間関係が疎く親しみが無いといわれている。臨床医家として高度な歯科治療技術を修得することは必須なことではあるが、あくまでも治療を受ける患者はそれぞれが個性を持った、生きている人間であることを忘れてはならない。

本講演では生身である患者への配慮が拙かったために不幸な結果になってしまった実症例や、心的状態が歯科治療に如何に影響を及ぼしているかを具体的な実験データなどを用いて披露し、心身医学的素養を身につけることが何故ゆえ必要であるかを強調し、更には日常臨床に有用な、知っておくと好ましい歯科心身医学の概要についても言及した。

歯科医師過剰の時代とはいえ良好な治療者(スタッフを含む)―患者関係があれば、多くの患者に信頼され、好かれる歯科医師やスタッフになれるといえよう。

「心身医学を研鑽していただきたい」という演者の切なる願いを込めた今回の講演を端緒に、歯科心身症で悩む、とりわけ信州近隣で悩んでいる患者の診療をしてくださる歯科医師やスタッフが誕生することを、また日常臨床で心身医学の真髄を実践される歯科医師やスタッフがますます増えてくることを望んでいる。

参考図書として次の書を推薦させていただきます。

- 1) 牛山崇(共著):「あなたの歯は泣いている」―歯科心理学へのいざない―, 口腔保健協会 日常臨床に具体的に役立つ歯科心身医学, 歯科心理学について紹介した書です。気楽に読めるにもかかわらず、内容豊富な書だと思います。
- 2) 牛山崇: 歯科治療時の不安・恐怖と歯科心身医学〜良好な医師・患者関係の確立を目指して〜(その1)(その2), 日歯会誌, **55** (8) 15-20, **55** (9) 31-36, 2002
- 3) 牛山崇(共著)〈日本歯科心身医学会編・発行〉: 歯科心身医学, 医歯薬出版
- 4) 牛山崇(共著): 行動療法ケース研究「歯科心身症と行動療法」, 岩崎学術出版

特別講演 2 私が見てきた斑状歯

近藤 武 (松本歯大・口腔衛生)

斑状歯は歯の形成期(成熟期)に、過剰なフッ素を摂取することでおこる、エナメル質形成障害のひとつである。その症状は歯面の白濁、褐色の着色、実質欠損と様々で、わが国では、1928年、岡山県の事例が最初に報告された。

1931年、アメリカでその原因が、飲料水中の高濃度のフッ素であることが、水質検査および動物実験で明らかとなった。その後、アメリカ公衆衛生局はアメリカ全土で飲料水中フッ素濃度と、斑状歯発現の程度および発現率の関係(用量-影響・反応関係)について調査を行った。

また、飲料水中のフッ素は斑状歯の原因であるとともに、むし歯の発生を抑制することも明らかとなった。その結果、上水道にフッ素を添加することで、むし歯予防を行う試みが、1945年から始まった。このことをきっかけに、現在、フッ素によるむし歯予防がひろく行われている。

反面、多量のフッ素摂取は、重度斑状歯、骨フッ素症などの健康障害をひきおこすことで、規制すべき環境汚染物質となっている。そのため水道水は、0.8 mg/l 以下、工場排水では 8 mg/l 以下に規制されている。しかし、過去にこの基準値を超えるような事例が、宝塚市、西宮市、長野県下でも発生し、大きな社会的問題となっている。

フッ素汚染は程度の差はあるものの中国、インド、アフリカと多発している。特に中国の北部地区で

は飲料水汚染、南部地区では石炭煤煙による食品汚染による、フッ素中毒が問題となっている。これらの実態も、開放政策により海外にも広く知られるようになって来た。

演者は1973年、本学に赴任して以来、飲料水による事例で西宮市、長野県麻績村・喬木村、中国河北省、石炭煤煙による汚染食品の事例では四川省、江西省、貴州省、飲茶による事例では、内モンゴル自治区で調査を行って来た。特に食品汚染は著しくトウガラシのフッ素濃度は最も高いものでは2%であった。

これらの調査結果をもとに、斑状歯を通してフッ素汚染の実態を明らかにしてきた。以上の結果より、過去のフッ素暴露量と斑状歯発生状況の関係についてより、厳しく見ることの必要を実感している。これまで演者が経験して来た、斑状歯例を供覧することにより、その関係をよりわかりやすく、明らかなものとした。

*斑状歯は学術用語集（歯学編）では「歯のフッ素症」となっているが、国際疾病分類での病名、過去の調査で多用されてきたことにより、今回の発表では「斑状歯」とした。

1. 微酸性電解水の環境細菌に対する殺菌作用について

——デンタルユニットへの応用——

小町谷美帆¹、平井 要²、山口 昭³、山下秀一郎⁴、伊藤充雄⁵

¹(松本歯科大学総合診療科)、²(松本歯科大学口腔細菌学講座)、³(千葉県山口歯科医院)、

⁴(松本歯科大学大学院歯学独立研究科顎口腔機能制御講座)、⁵(松本歯科大学歯科理工学講座)

【目的】

タービン等に水を供給するデンタルユニット（以下ユニット）の循環系は、細菌に汚染されやすく、ユニット内を流れている水が清潔な状態に保たれているかは疑問が残る。ユニットの水循環に対し有効な消毒法はほどこされておらず、様々な細菌に汚染されていると報告されているのが現状である。そこで今回、本学総合診療科使用のユニットに微酸性水製造装置を取り付けることにより得られた微酸性電解水と、通常ユニットで使用している水（以下通常使用水）をそれぞれ採取し、細菌による水質汚染状況の計測と、院内感染起因微生物に対する殺菌力の分析を行い、微酸性電解水の使用効果について検討を行った。

【方法】

細菌は水が停滞している時に繁殖しやすいため、48時間循環を停止した微酸性電解水と通常使用水を採取した。また、循環を再開し9時間循環後の水も同様に採取し、計4種類をサンプルとした。一般細菌検出用に標準寒天培地、大腸菌検出用に遠藤培地を用い、サンプルをフィンピペットで0.01、0.1、1 ml、滅菌プラスチックシャーレにとり、好気条件下37℃48時間、混濁培養し、4種類間での細菌汚染の違いについて細菌数の計測を行った。また、院内感染起因微生物に対する微酸性電解水の殺菌力を測定するために、黄色ブドウ球菌、MRSA、緑膿菌、カンジダの4種類の菌を供試し、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）中に菌を懸濁させ、吸光度550 nmでOD 2.0に調整し、細菌懸濁液とした。細菌懸濁液100 µlを濾過滅菌済み微酸性電解水とコントロールとして濾過滅菌済み通常使用水900 µlに対して加え、微酸性電解水は1、5、10分間放置し、通常使用水は10分間放置後、各条件においてSCDLP培地で10倍ずつ段階的に希釈を行い、その希釈液を寒天培地に接種し、好気条件下37℃48時間培養し、形成された集落のカウントを行い菌数とした。

【結果と考察】

細菌による水質汚染状況は、微酸性電解水では、48時間停止後、9時間経過後ともに一般細菌、大腸菌ともに検出されなかった。通常使用水では、大腸菌は検出されなかったが、一般細菌では48時間停止後は平均327.0個/ml、9時間循環後は平均154.1個/mlの細菌が認められ、水道法の定める水質基準を上回る一般細菌が検出されたため、飲用水には好ましくないと考えられた。Mann-WhitneyのU検定

では、微酸性電解水と通常使用水との間に有意差 ($P < 0.05$) が認められた。院内感染起因微生物に対する微酸性電解水の殺菌力は、4種類の細菌で十分に認められた。通常使用水では、4種類ともに細菌数に殆ど変化がなく、殺菌効果は認められなかった。微酸性電解水の使用はバイオハザードの予防に有効であることが示唆された。

2. 透明根管模型による根管洗浄効果に関する実験

——カルシベックスの除去効果について——

原 洋介, 継 祐介, 緒方 真, 山田博仁, 笠原悦男 (松本歯大・歯科保存Ⅱ)

【目的】近年、水酸化カルシウムが根管貼薬剤として使用されているが、ペースでの貼薬となるため根管に残留しやすく、緊密な根管充填を妨げないためには確実な除去が求められる。本研究の目的は、ボトル給液方式の超音波根管洗浄法による水酸化カルシウムペーストの除去効果について、透明根管模型を用いて実験を行い、従来の洗浄方法との比較を行った。

【方法】管間側枝6本を有する複根管模型3本を内包する規格透明アクリルブロックを作製し、3つのブロックに対して根尖-1mmを作業長として40サイズまで根管拡大、フレアー形成を施した。カルシベックス (日本歯科薬品) を根管模型に注入し、3日、7日そして30日間、37℃の孵卵器で保管し、以下の方法で洗浄した。A) 超音波根管洗浄器 (ENAC 6 長田電機工業, 以下 ENAC 6) に #30 プラガーを装着し、作業長-2mmまで挿入し、パワーレベル5、流量50 ml/分にて1根管につき1分間弱酸性水の超音波洗浄。B) 従来の27 G 洗浄針 (以下、従来型) を作業長-2mmまで挿入し、10% Na-CLO と 3% H₂O₂ を1根管あたりそれぞれ2 ml で交互洗浄。C) 27 G クリーンウォッシュニードル (以下、側穿孔型) を作業長まで挿入し、B) と同様に交互洗浄を行った。洗浄効果の判定は、主根管および管間側枝内に残ったカルシベックスを肉眼的に観察し、洗浄効果を判定した。

【結果および考察】貼薬3日群の主根管の洗浄性は、ENAC 6、従来型、側穿孔型の3方法とも比較的良好な結果が得られた。管間側枝の洗浄性については、ENAC 6 が、18本ある側枝の全てを除去できたのに対して、従来型が5本、側穿孔型が4本で ENAC 6 が、カルシベックスの除去に効果的であることが示唆された。貼薬7日群についても、主根管の洗浄性は、3日群とほぼ同様の結果であったが、管間側枝については、ENAC 6 が、18本の全てを除去できたのに対して、従来型が3本、側穿孔型が4本と ENAC 6 は、短期間の貼薬では、カルシベックスの除去に効果的であることが示された。

30日間の長期貼薬では、カルシベックスの乾燥による硬化によって、管間側枝の洗浄性については、ENAC 6 が18本中13本、従来型が3本、側穿孔型の2本と ENAC 6 は従来法と比較して、より良い結果であった。しかしながら、主根管については、根管壁、特に根尖部分にカルシベックスが残留しやすい傾向があり、3日、7日群と比較して劣った結果で、ENAC 6 であっても、除去困難であることが示唆された。このことは、根管充填後の、根尖部封鎖性に影響するものであり、現在、さらに検討を加えた安全かつ効率的な除去方法の実験を続行しているところである。

3. 根尖位置により抜歯部位を決定した歯科矯正症例

金山隼人, 大嶋嘉久, 岡藤範正, 栗原三郎 (松本歯大・歯科矯正)

【目的】矯正臨床において、ディスクレパンシーを解消するには第一小臼歯の抜歯が一般的である。しかしながら、様々な理由により、前歯部の抜歯を余儀なくされ、通常の前歯部排列と異なる排列を行わざるを得ない場合もある。今回われわれは、歯科矯正治療の診断時における抜歯部位の選択を歯根尖の位置を参考に決定した症例を経験したので報告する。

【症例】患者は、初診時年齢11歳9ヵ月の男子で、前歯部叢生を主訴として当科に来院した。顔貌所見として、正貌は左右対称で、側貌はストレートタイプ、上唇の突出が認められた。側貌頭頭X線規格写真所見で骨格的に大きな不調和は認められなかった。下顎両側側切歯の先天欠如を認めるが、スペースは認められない。また、上顎両側側切歯は舌側に転位し、側切歯と犬歯とが唇舌的に重なっていた。

抜歯部位として、通法では上顎両側第一小臼歯が考えられた。しかし、歯根尖の移動量が多いものほど、歯根吸収をより起こしやすくその程度も強くなるという報告があり、今回歯根尖位置によって抜歯部位を決定することとした。そこで、上顎両側側切歯、上顎両側犬歯の歯根尖位置確認のためパノラマ縦断断層 X 線写真を撮影した。その結果、根尖移動量がより少なくなるように、舌側に転位している上顎両側側切歯の抜去を行い、上顎両側犬歯を本来の側切歯の位置に移動し、再排列を行った。また、その際に発生する上下顎前歯部歯冠幅径の不調和の改善には、下顎両側犬歯遠心面部、第一小臼歯近心面部の隣接面削合を行った。

【結果】治療期間16ヵ月であった。上顎両側犬歯は側切歯の位置にあるがアーチ形態は良好であった。犬歯を側切歯部、第一小臼歯を犬歯部に排列したため犬歯誘導でなく左右ともグループファンクションであった。また、隣接面削合を行ったことで、上下顎前歯部歯冠幅径が改善され、臨床的に対咬関係や機能などに大きな異常は見られなかった。パノラマ縦断断層 X 線写真による診断通り、犬歯根尖の移動量を最小限に抑えることができ、治療を短期間で終了することができた。歯科用小型 X 線 CT（以下、3 DX）にて確認したところ臨在している中切歯、犬歯の根尖位置の関係および歯根の状態は良好であった。

【まとめ】1. 上顎両側側切歯を抜歯したため、歯の移動量が少なく短期間で治療を終了することができた。2. 歯の移動量が少なかったため、根吸収などを抑えることができた。3. 積極的に下顎両側犬歯、第一小臼歯の形態修正を行ったことでより緊密な対咬関係が得られた。4. パノラマ縦断断層エックス線写真、3 DX などの断層写真を用いることは、根尖の位置関係の把握に有用であった。

4. 3 DX による下顎第三大臼歯抜歯の術前診査

——その有用性について——

内田啓一、永山哲聖、黒岩博子、安河内知美、新井嘉則、塩島 勝（松本歯大・歯科放射線）
田中 晋、森 亮太、安田浩一、古澤清文（松本歯大・口腔顎顔面外科）

【目的】

下顎第三大臼歯と下顎管との関係について歯科用小型 X 線 CT（3 DX、モリタ製作所、京都）の有用性を検討した。

【方法】

2004年4 - 5月に本学歯科病院で撮影した3 DXの画像を使用して、下顎管の根尖部に対する位置関係の分類、下顎管への接触の有無、下顎管の圧排の有無、セメントエナメル境から下顎管までの距離、根尖部から下顎管までの距離について検討した。

下顎管の根尖部に対する位置関係の分類は、頬側：下顎管が根中央部の頬側に位置する。舌側：下顎管が根中央部の舌側に位置する。根尖頬側：下顎管が根尖部の頬側に位置する。根尖舌側：下顎管が根尖部の舌側に位置する。根尖側：下顎管が根尖の先端部に位置する。歯根間：下顎管が複数根の間に位置する。と定義した。

下顎管への接触の有無は、歯根膜腔または根尖が下顎管壁に接触している場合接触ありとした。接触なしについてはさらに、その距離が1 mm 以上と未満で分類した。

下顎管の圧排の有無は、下顎管の陥凹があり、上壁がある場合、圧排あり、上壁がない場合を骨非介入型とした。

セメントエナメル境から下顎管までの距離は、近心側、遠心側のセメントエナメル境から下顎管上壁までを計測した。

根尖部から下顎管までの距離は、根尖から下顎管壁までを計測した。また、歯根膜腔と下顎管壁が接している場合、下顎管の陥凹があり下顎管壁がない場合も0 mmとした。

【結果】

今回35症例について検討を行った。その結果、下顎管の根尖部に対する位置関係の分類は、頬側0

例, 舌側 1 例, 根尖頰側 20 例, 根尖舌側 4 例, 根尖側 10 例, 歯根間 0 例であった。下顎管への接触の有無は, 接触ありが 20 例, 接触なしが 15 例であった。接触なしの症例のうち 2 例が 1 mm 未満で, 13 例が 1 mm 以上であった。下顎管の圧排の有無は, 圧排ありが 0 例, 圧排なし 26 例, 骨非介在型 9 例であった。セメントエナメル境から下顎管までの距離は, 近心側では平均 7.6 mm, 標準偏差 3.1, 最高 13.1 mm, 最低 1.6 mm, 遠心側では平均 12.9 mm, 標準偏差 2.5, 最高 17.4 mm, 最低 7.1 mm, であった。根尖部から下顎管までの距離は, 平均 1.4 mm, 標準偏差 2.0, 最高 6.9 mm, 最低 0 mm, であった。

【考察】

今回の結果から, 下顎管の根尖部に対する位置関係において, 舌側に下顎管が存在する症例は少数ではあったが, 下顎管が圧排されている傾向が認められた。これは, 舌側には下顎管が通過するスペースが少ないためと考えられた。

以上のことから, 3 DX は下顎第三大臼歯と下顎管との三次元的な位置関係や圧排の有無, を把握するため大変有効であった。

5. 侵襲性歯周炎患者に対して歯周組織再生療法を行った症例における歯科用小型 X 線 CT (3 DX[®]) を用いた歯槽骨再生量の臨床評価

久野知子¹, 音琴淳一¹, 太田紀雄¹, 内田啓一², 新井嘉則³, 塩島 勝³

¹(保存 I, 健康分析), ²(歯科放射線), ³(歯科放射線, 病態評価)

【目的】歯科用小型 X 線 CT (3 DX[®]) は 360 度方向の投影データを収集し三次元再構成処理を行うことにより歯槽骨吸収の立体的な構造を容易に観察することができる。よって歯周組織再生療法の評価を行う目的で 3 DX[®] に対象歯を撮影することは大変有用であると考えられる。今回, 3 DX[®] を用いて侵襲性歯周炎患者の歯周組織再生療法の評価を行ったので報告する。

【症 例】患者: 29 歳, 男性 (会社員) 初診: 2002 年 3 月 8 日 主訴: 口腔内の検査を希望。全身既往歴, 家族歴: 特記すべき事項はない。局所既往歴: 小学生の頃より上顎前歯部の腫脹, 消退を繰り返すも積極的な歯周治療は受けず放置。局所現病歴: 数ヶ月前に結婚し, 妻に口臭を指摘され口腔内の精査加療を希望して 2002 年 3 月, 松本歯科大学病院に来院。

臨床診断: 侵襲性歯周炎

治療経過: 初診時の口腔内診査では全顎的に歯肉の発赤, 腫脹を認め, 歯周組織検査では全顎的に 4 ~ 8 mm の歯周ポケットが認められた。歯周基本治療終了後の口腔内診査にて排膿が認められた部位 (上顎右側側切歯, 上顎左側第一大臼歯) については抗生物質の局所投与を 4 週間行った。排膿の消失を確認した後, 再評価を行い PPD が 4 mm 以上ある部位に対して歯周外科治療を行った。[6] と [3] に対しては GTR 膜とエムドゲインゲル[®] を併用した歯周組織再生療法を行い, 手術前に口内法 X 線写真と 3 DX[®] による対象歯の 3 DX[®] 撮影を行った。歯周治療後, 3 ヶ月毎のメンテナンスに移行し 12 ヶ月までの経過を追った。その結果, CAL は [6] 遠心頰側部において 5 mm, [3] 遠心舌側部で 4 mm の改善を認めた。さらに口内法 X 線写真において [6] は垂直幅約 1.4 mm, 近遠心幅約 0.5 mm, [3] は垂直幅約 1 mm の歯槽骨再生を確認できた。3 DX[®] 画像による評価において [6] 遠心部に垂直幅 2.4 mm, 近遠心幅 0.5 mm, 頰舌幅 2.7 mm, [3] は垂直幅 3.4 mm, 近遠心幅 3.5 mm, 頰舌幅 5.7 mm の歯槽骨の再生を確認した。なお, 現在は全顎的に歯周組織の良好な状態が維持されている。

【考察】3 DX[®] は撮影後の画像を回転し, 重ね合わせることで治療前後を比較することができる。3 DX[®] による評価により従来の口内法 X 線撮影で計測できない頰舌側幅は 2.7 mm, 5.7 mm と改善していたことが示された。今回, 歯槽骨再生量は口内法 X 線撮影による評価と 3 DX[®] による評価で誤差を認めた。これは本症例におけるものだけかどうか今後検証する必要がある。歯周組織再生療法における 3 DX[®] の使用は, 患者に外科的侵襲を与えず歯槽骨再生の状態を詳細に把握することができた。

6. コラーゲンパウダーを用いたミコナゾール含有義歯性口内炎治療薬の開発

吉田敬子¹, 王 宝禮², 平井 要³, 黒岩昭弘¹, 酒匂充夫¹, 山根修太郎¹,
海田健彦¹, 宇田 剛¹, 吉田茂生¹, 伊藤充雄⁴, 五十嵐順正¹

¹(松本歯大・歯科補綴Ⅰ), ²(松本歯大・歯科薬理),

³(松本歯大・口腔細菌), ⁴(松本歯大・歯科理工)

【目的】*B. Jørgensen* は義歯粘膜面に塗布し、持続的にミコナゾールを放出しカンジダを減少させる“デンチャーラッカー”というカンジダ起因性義歯性口内炎治療薬の有用性を示した。私達は、安全性の面において優れる生体由来材料による同様のドラッグデリバリーシステムを開発することを目的に、接着性タンパク質を応用して、ミコナゾールを低濃度で一定時間、義歯粘膜面に保持し、カンジダ起因性義歯性口内炎を治療する新しい技術の検討を行った。

【方法】菌株は *Candida albicans* JCM 1542, 薬剤は硝酸ミコナゾール (以下, MCZ), 接着性タンパク質として魚の鱗から抽出したコラーゲンパウダー (以下, コラーゲン) を供試した。実験1; 抗真菌剤感受性試験法により, MCZ の薬剤最小発育阻止濃度の測定を行った。実験2; コラーゲンを用いて MCZ 塗布剤を作製し, レジンプレート上に塗布し, *C. albicans* に対する抗菌性試験を行った。実験3; コラーゲンを用いた 1 µg/ml MCZ 塗布剤と, 抗真菌剤 (フロリドゲル経口用) の MCZ 濃度を 1 µg/ml に調整したものの抗菌性の比較を行った。

【結果】

- 1) *C. albicans* に対する MCZ の MIC は 0.01 µg/ml であった。
- 2) コラーゲンは MCZ の抗菌活性に影響を示さなかった。
- 3) MCZ 濃度 0.1 µg/ml 及び 0.01 µg/ml のとき *C. albicans* の致死量は 75% であった。
- 4) MCZ 濃度 1 µg/ml のとき *C. albicans* の致死量は 100% であった。
- 5) コラーゲンを用いた MCZ 濃度 1 µg/ml 塗布剤は, MCZ 濃度 1 µg/ml に調整した抗真菌薬より強い発育阻止を示した。
- 6) コラーゲンを用いてミコナゾールを塗布することにより, レジンプレート上の *C. albicans* の発育を阻止した。

【考察】コラーゲンによるミコナゾールの塗布が, カンジダ起因性義歯性口内炎を治療する新しい方法として効果的であることが示唆された。また, *B. Jørgensen* らが発表した, 従来のミコナゾールラッカーの 55 mg/ml より極めて低濃度の 1 µg/ml で *C. albicans* の成長を抑制することができた。

今後は, 低濃度のミコナゾールを義歯粘膜面により長時間保持できるように, コラーゲンの改良が必要であると考えられる。

7. レボブピバカインのラット歯髄神経に対する局所麻酔作用

——リドカイン, メピバカインとの比較——

織田秀樹, 澁谷 徹, 大河和子, 姫野勝仁, 谷山貴一, 廣瀬伊佐夫 (松本歯大・歯科麻酔)

【目的】長時間作用性局所麻酔薬であるブピバカインは, 鏡像異性体の R (+) 体と S (-) 体を同等量含むラセミ体である。このうち S (-) 体のみで構成されたものがレボブピバカインで, ブピバカインに比べ中枢神経系, 心臓循環器系に対する毒性が低いとされている。しかし口腔領域の局所麻酔作用については報告が少なく, 詳細は明らかではない。そこでわれわれは, ラットの口腔内粘膜に浸潤麻酔を行い, 歯髄電気刺激に伴う体性感覚誘発電位 (SEP) の変化を指標として, レボブピバカインの局所麻酔作用を, リドカイン, メピバカインと比較検討した。

【方法】実験は雄性ウィスター系ラット (週齢 8~12 週, 体重 200~250 g) を用い, ペントバルビタール 50 mg/kg を腹腔内投与後, 気管切開を行い浅麻酔自発呼吸下で行った。歯髄刺激はラットの上顎切歯歯髄に双極性電極を挿入し, 刺激強度 2.0~6.0 mA, 0.1 msec の矩形波単一パルス を 1 Hz で連続 50 回与え, 反対側の三叉神経支配領域の第一次体性感覚野上の頭皮に針電極を刺入し, SEP を導出した。

局所麻酔薬は1/80,000エピネフリン添加2%リドカイン(2% L-E), 0.75%レボブピバカイン(0.75% LB), 1/200,000エピネフリン添加0.75%レボブピバカイン(0.75% LB-E), 3%メビバカイン(3% M)の4種類(各7例)と, 対照として乳酸リンゲル液(6例)を用い, 上顎切歯根尖相当部の口蓋粘膜に局所麻酔薬50 μ l を傍骨膜注射により注入した. SEPの記録は局所麻酔薬注射直前から注射180分後まで合計20回行った.

SEPの解析は歯髄電気刺激により得られたSEP第1次反応成分の最初の陽性波 P_1 と, それに続く陰性波 N_1 を計測対象とし, その頂点間振幅 $|P_1-N_1|$ を測定した. 各群内の $|P_1-N_1|$ の経時的変化の検定は $|P_1-N_1|$ の実測値を用いて, 反復測定による一元配置分散分析を行った後, Dunnettの多重比較検定を行った. また局所麻酔薬の群間比較は $|P_1-N_1|$ の百分率換算値を用いて, Mann-Whitney検定を行った. いずれも危険率5%未満を有意差ありとした.

【結果】0.75% LBでは注射2.5分後から100分後まで, 2% L-Eでは注射2.5分後から120分後まで, 3% Mでは注射2.5分後から15分後と25分後で $|P_1-N_1|$ は有意に減少し, その後回復傾向を示した. 0.75% LB-Eでは $|P_1-N_1|$ は注射2.5分後から有意に減少し, 180分後でも回復はみられなかった. また0.75% LBと2% L-Eとの群間比較で有意差は認められず, $|P_1-N_1|$ の変化はほぼ同様であった.

【考察】今回の実験結果から, ラット口蓋への浸潤麻酔において0.75% LBは2% L-Eとほぼ同等の局所麻酔効果が得られることが明らかになった. したがって0.75% LBはエピネフリンの使用を避けた方が望ましい症例に対して, 安全に使用できる局所麻酔薬となる可能性がある. また0.75% LBに1/200,000エピネフリンを添加することにより局所麻酔持続時間は著明に延長したことから, エピネフリンを添加する際にはさらに低濃度にする必要があると思われる.

8. レジンコーティング処理した金銀パラジウム合金の接着強さ

寺島伸佳¹, 吉田貴光^{1,2}, 洞沢功子¹, 鬼澤 徹¹, 白鳥徳彦¹,

新納 亨¹, 田村 郁³, 永沢 栄^{1,2,3}, 伊藤充雄^{1,2,3}

¹(松本歯大・歯科理工), ²(松本歯大・総歯研・生体材料), ³(松本歯大・生体材料)

【目的】金属とレジンの接着は歯科材料において必要不可欠である. メタルコアとフルクラウンとのレジンセメントの合着・レジン前装冠の前装部分の接着・部分床義歯の金属部分と床用レジンの接着など, 多くの組み合わせが考えられる. 今回は, 金銀パラジウム合金とレジンの接着力の向上を目的として, アルミナ粉末の表面にレジンをコーティングしサンドブラスト処理を行うことにより, 接着力の向上を試みた.

【実験材料および方法】アルミナ粉末に対するレジンのコーティングは, アルミナ粉末中にレジンを混合し, 重合を行い, 粉碎を行った. 配合の分量は, 4 (アルミナ粉末) 対 1 (レジン)・6 対 1・8 対 1・10 対 1・15 対 1・20 対 1 とした. 又, 今回はメタルコアとフルクラウンの合着を目的として, GC リンクマックス(クリア)を使用した. 又, 比較として, 業者指定のメタルプライマーⅡとセルフエッチングプライマー処理を行った. 接着力の測定は, 縦10 mm・横5 mm・厚さ1 mmの金銀パラジウム合金を研磨紙600番で研磨し, 4 kg/cm²の圧でアルミナ粉末をそれぞれ15秒間, ブラスト処理を行った. 処理面に50 μ m のテフロンフィルムに直径6 mmの穴をあけ 接着剤を約0.1 gをセットし, 同様に処理した合金板を乗せ, それを15分間・3 kgの加重をかけ, 皮膜厚さを統一した. その後, 24時間・湿度100%で保管した後, 引張圧縮試験機を用い(今田製 SV-301) 引張せん断試験を行った.

【結果および考察】アルミナ粉末のみ使用したものは, レジンをコーティングしたものに比べて, 明らかに接着力が小さく, レジンコーティングの効果が認められた. しかし, 業者指定のメタルプライマーⅡ・セルフエッチングプライマー処理することで, アルミナのみ使用したものは若干の接着力の向上は見えたがレジンをコーティングしたものに関しては, その効果を得ることは出来なかった. これは, C & B スーパーボンドとセルフエッチングプライマーとの接着に問題がある可能性も考えられる. 配合に

関しては6対1～10対1のものの効果が確認できた。この範囲以外は、レジンの量が多くても、少なくともそれ以上の接着力の向上は得られなかった。又、レジン（6対1）でコーティングしたアルミナを金銀パラジウム合金板にプラスト処理をしたものを顕微鏡（23倍）にて確認したところ、多くのレジンのコーティングされた面が確認された。これらによって、接着力が向上しているものと推測される。合着材としてC&Bスーパーボンドを使用した場合、すべての条件で引張強さはかわらなかった。

【結論】本研究の結果、アルミナにレジンをコーティングすることによって、接着力が上がることが確認できた。しかし、レジンの配合量や、メタルプライマーⅡ・セルフエッチングプライマー処理との関係、又 他のプライマー等については、今後検討することが必要であると考えられた。

9. OSCE における口腔内診査課題の問題点について

音琴淳一^{1,2}, 植田章夫^{1,3}, 山本昭夫^{1,4}, 山下秀一郎^{1,5}, 上松隆司^{1,3},

中山 聡^{1,6}, 澁谷 徹^{1,7}, 塩島 勝^{1,8}, 黒岩昭弘^{1,9}, 宮沢裕夫^{1,6}

¹(松本歯科大学 OSCE 小委員), ²(歯科保存Ⅰ), ³(口腔顎顔面外科), ⁴(歯科保存Ⅱ),

⁵(総合診療), ⁶(小児歯科), ⁷(歯科麻酔), ⁸(歯科放射線), ⁹(歯科補綴Ⅰ)

【目的】

平成18年度の共用試験本格運用に向けて、OSCE のコア課題の事前教育と統一した評価基準による客観的評価は重要となる。今回、本年2月19日に本学で行われた OSCE トライアルにおける口腔内診査課題を対象として課題作製から実施、評価までの結果を行った。これを報告するとともに、OSCE 実施に関する本課題における問題点を抽出したので報告する。

【対象と方法】

1) 課題作製

① 課題作製

課題は OSCE コアステーションの「2 基本的診察および検査能力」のうち「2-1 口腔内状態の記録（口腔内診査）」である。

課題を口腔内診査に決定したのは2003年10月、課題の学内における検討は2003年11月末に終了し、2003年12月～2004年1月に共用試験機構のブラッシュアップを受けた。2004年1月に内部評価者間の評価表の回覧、課題内容と実施会場レイアウトの打ち合わせを行った。口腔内診査用模型は保存科と補綴科の課題評価担当者がそれぞれ作製した。内外部評価者による合同の最終打ち合わせを OSCE 実施日午前中に行った。

② 課題内容

OSCE 課題は一連の診療の流れであり、課題1の医療面接終了後に行われる口腔内診察というシナリオであった。患者様は53歳男性で、主訴は歯痛。現病歴は3～4ヶ月前に近医で治療を受けた左上の前歯が、3日前から冷水にしみ、昨夕は食後の熱いお茶で尾を引く痛みがあり、鎮痛剤を飲んでも治らず、昨夜は眠ることができなかったので来院した、という設定であった。一般目標（GIO）は、「口腔内の情報収集を行なうために患者様の口腔内状態の記録に求められる基本的態度、技能を身につける。」であった。

課題内容は、医療面接終了後、患者様としてマネキンに対して口腔内診察を行い、記録係に診査内容を診療録に記録させ、その結果を患者様に伝えるという内容である。評価は19項目、21点満点であった。さらに5段階の概略評価を行った。

2) 実習

基本的な診査や齲蝕、修復物の判別は歯科保存学基礎実習で行っていた。さらに受験者への事前実習を行った。OSCE 受験者は102名であり2名は欠席であった。

3) 評価者、介補者

評価者は課題が4系列で、1ST 毎に3人の評価者が必要なため、外部評価者数は4名、内部評価

者数は8名の計12名とした。介補者は4名で受験者の読み上げる診査内容を診療録に記録し、課題後にマネキンの位置や診療器具を元に戻した。OSCE実施終了後、評価者ならびに受験者にアンケートを実施した。

4) 評価方法

評価結果は課題の総合点、評価項目の点数の不一致率・数を内部・外部評価者について算出した。

【結果】

ライトの使用、頬側にある楔状欠損とレジン修復は他の評価と比較して成績が悪かった。また「結果を正しく患者様へ伝えること」、「椅子の高さの調節」および「器具の使用」について内部と外部評価者の評価点一致率が基準とされている70%を下回っていた。

客観的評価項目については評価者間に有意差を認めなかったが、主観的評価としての概略評価における評価者同士の一致率は受験者の約半数と少なかった。

【考察】

課題に関する資料は課題作成時より配布されており、これに関する問題提起は直前の事前実習や実施当日の打ち合わせまでほとんど無かったにも関わらず、課題直前に評価用紙の問題点が提起されることがあり、課題実施をあらかじめ評価者間同士で行う必要があると思われる。

また、今回の課題実施により病院内における各診療科の口腔内診査のコンセンサスを取り、登院前に行われる基礎実習や講義に反映させることが重要であることが示された。

10. 三叉神経中脳路核ニューロン膜興奮性に関わる h チャネル活性の神経調節機構

——細胞内外 Ca イオンの役割——

富田郁雄^{1,2}, 田中 晋¹, 安田浩一^{1,3}, 古澤清文^{1,2}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・機能評価), ³(松歯大院・生体調節)

【目的ならびに方法】顎運動パターンの修飾に関わる三叉神経中脳路核ニューロンの膜興奮性の調節機構には、静止膜～閾膜電位レベルにおいて活性化される内向き整流性 K チャネル (h チャネル) が関与している。この h チャネルの開閉は、グルタミン酸受容体の活性により抑制性に修飾を受けていることを、演者らはこれまでの研究で明らかにしてきた (Tanaka et al., Soc for Neurosci Abstr 605.6, 2001)。こうした修飾作用を含めてチャネルの開閉には、種々の情報分子とりわけ細胞内外 Ca イオン動態が密接に関わっていることが他の神経伝達系において指摘されている。そこで今回われわれは whole-cell patch-clamp recording 条件下で、生後 7-12 日齢の中脳路核ニューロンの h チャネル活性に伴って発現する h-current に対する細胞内外 Ca イオン濃度変化の影響について検討を加えた。また、current-clamp 条件下において反復発射活動を誘発させた際のスパイク発射特性の変化についても検討した。

【結果ならびに考察】細胞外あるいは細胞内 Ca イオン濃度の減少に伴い、h-current のピーク電流値が抑制されたことから、h チャネルの活性調節に細胞内外 Ca イオン濃度が関与していることが示唆された。また細胞内 Ca ストアの内、ryanodine, InsP₃ レセプターが共に h チャネル活性の調節に関わっていることや、グルタミン酸受容体活性により誘発される h-current の抑制効果が細胞内 Ca イオン濃度により制御されていることが明らかとなった。さらに、群発活動条件下において細胞内 Ca イオン濃度の減少は、スパイク発射持続時間の延長ならびにスパイク発射周波数順応の遅延を誘発したことから、細胞内 Ca イオン濃度の減少に際しては、他のチャネルコンダクタンスへの相互作用により膜の興奮性を調節している可能性が示唆された。

11. オトガイ舌骨筋一次求心線維の副交感神経節後ニューロンへの入力様式に関する研究

——形態学および電気生理学的検討——

杉浦真貴^{1,2}, 安田浩一^{1,2}, 森 亮太¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・生体調節), ³(松歯大院・機能評価)

【目的】ラットのオトガイ舌骨筋は嚥下などに関わる体性運動神経に加えて、副交感神経による遠心性支配を受ける (Exp. Brain Res. 2003). また、免疫組織化学染色による光学顕微鏡下の観察では, vasoactive intestinal peptide (VIP) 陽性を示す副交感神経節後ニューロンの周囲に, Substance P 陽性を示す一次求心線維の終末が観察されたことから, オトガイ舌骨筋一次求心線維からの感覚情報は, 副交感神経節後ニューロンの活動を modulate していることが示唆されている. 本研究では, 副交感神経節後ニューロンの超微細構造を観察すると共に, Substance P が副交感神経節後ニューロンの活動に与える影響について電気生理学的な検討を加えた.

【方法】実験には Wistar 系ラットを用いた. 1) 電子顕微鏡学的検討; オトガイ舌骨筋に分布する神経枝を含む舌下神経幹を摘出・固定後, マイクロスライサーにて連続切片を作製した. 一次抗体として抗 Substance P 抗体 (一次求心線維標識) と抗 VIP 抗体 (副交感神経節後ニューロン標識) を用いた一連の免疫組織化学反応を行い, エポン樹脂包埋後, 超薄切片を作製し電子顕微鏡にて観察した. 2) 電気生理学的検討; In vitro で副交感神経節後ニューロンからの神経放電を導出し (Exp. Brain Res. 2003), Substance P あるいは NK1 受容体拮抗薬 (GR 82334) の投与による神経放電の変化について検討した.

【結果および考察】1) 電子顕微鏡学的検討では, Substance P 陽性軸索終末と VIP 陽性の細胞体とのシナプス接合様構造が観察された. 2) 電気生理学的検討では, Substance P によって神経放電数は増加し, GR 82334 によって Substance P の作用は block された. これらより, オトガイ舌骨筋一次求心線維は同筋を支配する副交感神経節後ニューロンに直接入力し, その神経伝達には Substance P が興奮性に作用していることが示唆された.

12. 三叉神経運動核およびその周囲に分布するサブスタンス P・セロトニン共存軸索終末の生後変化

中村雅明^{1,2}, 安田浩一^{1,2}, 小片 桂¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・生体調節), ³(松歯大院・機能評価)

【目的】三叉神経運動核 (Vmo) は細胞構築によって背外側亜核 (Vmo. dl) と腹内側亜核 (Vmo. vm) に分類され, 前者には閉口筋群, 後者には開口筋群の運動神経細胞が局在する. これまでに演者らは, 顎運動と上気道の保持という観点から, Vmo. dl, Vmo. vm および Vmo の周囲 (SVmo) における神経伝達 (修飾) 物質のサブスタンス P (SP) の発現様相と生後変化について研究を展開し, その成果として, SP は SVmo に最も多く発現し, 生後変化は 3 領域共に生後 4~7 日に最高値を示すことを明らかにしている. また, 近年 Vmo に存在する SP 陽性軸索終末の多くはセロトニンも共存し, 両者の相乗作用によって Vmo の興奮性を修飾していることが報告されている. 本研究は, SP とセロトニン共存軸索終末の生後変化を明らかにすると共に, それぞれの受容体についても検討した.

【方法】実験には胎生 19 日, 生後 0, 4, 7, 14, 21, 28, 70 日齢の Wistar 系ラットを用いた. 1) 二重蛍光免疫染色法によって Vmo. dl, Vmo. vm および SVmo における SP・セロトニン共存軸索終末の生後変化を検討した. 2) Real Time-PCR 法を用いて 3 領域における SP 受容体 (NK1) とセロトニン受容体 (5-HT1A & 1B) の mRNA 総量の生後変化を検討した.

【結果および考察】二重蛍光免疫染色では, 3 領域共に SP あるいはセロトニンを含有する軸索終末の 90% 以上が SP・セロトニン共存軸索終末で, それらの共存率に生後変化を認めなかった. Real Time-PCR 法による受容体発現量は, NK1 は生後 4 日に最高値を示し, 5-HT1A と 5-HT1B では生後 7 日に最高値を示した. これらは, 呼吸機能が成熟する時期に対応した変化と考えられた.

13. 破骨細胞の分化におけるムラミルジペプチド (ペプチドグリカン成分) の作用の解析

楊 淑華¹, 高橋直之², 高橋昌宏¹, 茂木真希雄³, 上松隆司¹,
小林泰浩², 中道裕子², 高田春比古⁴, 宇田川信之⁵, 古澤清文¹

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松本歯大・総歯研), ³(愛知学院大・薬理),
⁴(東北大・口腔微生物), ⁵(松本歯大・口腔生化学)

【目的】 Toll 様受容体 (TLR) は病原微生物の様々な構成成分を認識する受容体である。リポ多糖 (LPS) は TLR 4 を介し, ペプチドグリカン (PNG) は TLR 2 を介して細胞内にシグナルを伝達する。一方, PNG の構成成分であるムラミルジペプチド (MDP) は, 細胞内のシグナル伝達因子である Nod 2 を介して作用を発現する。今回我々は, 破骨細胞形成に対する MDP の作用を解析し, MDP も破骨細胞形成を促進する因子であることを明らかにした。

【方法と結果】 (1) マウス骨芽細胞と骨髄細胞の共存培養系において, MDP は単独では破骨細胞分化を誘導せず, 活性型ビタミン D₃ および PGE₂ により誘導された破骨細胞形成にも MDP は促進効果を示さなかった。しかし MDP は, LPS および IL-1 が誘導する破骨細胞形成を著しく促進した。(2) 骨髄マクロファージの培養系において, RANKL と M-CSF が誘導する破骨細胞形成を MDP は促進しなかった。(3) LPS, IL-1, 活性型ビタミン D₃ は骨芽細胞の RANKL の発現を促進した。MDP は LPS と IL-1 が誘導する RANKL の発現を更に促進したが, 活性型ビタミン D₃ の作用を増強しなかった。(4) 骨芽細胞は MDP の受容体である Nod 2 mRNA を発現していなかった。LPS と IL-1 は骨芽細胞における Nod 2 発現を誘導したが, 活性型ビタミン D₃ は Nod 2 の発現を誘導しなかった。(5) TNF- α は骨芽細胞における Nod 2 発現を誘導した。MDP は TNF- α が誘導する破骨細胞形成を更に増強した。

【結論】 MDP は骨芽細胞に作用し, 炎症性因子である LPS, IL-1 および TNF α による RANKL 誘導作用を増強し, 破骨細胞形成を促進した。LPS, IL-1 および TNF α は骨芽細胞の Nod 2 の発現を誘導し, MDP はこの誘導された Nod 2 を介して RANKL 発現を促進する可能性が示された。

14. ヒト破骨細胞分化における PGE₂ の役割についての解析

武郁子^{1,2}, 山本洋平³, 坪井秀規⁴, 小林泰浩¹, 栗原三郎², 宇田川信之⁵, 高橋直之¹

¹(松歯大院・機能解析), ²(松本歯大・歯科矯正), ³(愛知学院大・歯周病),
⁴(阪大医学部・整形外科), ⁵(松本歯大・口腔生化学)

【目的】 現在までの動物実験の結果から, PGE₂ は強力な骨吸収促進因子であることが明らかとなっている。しかし, リウマチ患者に対する PG 合成酵素 (COX 2) 阻害剤の投与による骨吸収抑制効果が認められないことも知られている。そこで, 今回我々はヒト破骨細胞形成における PGE₂ の作用についての解析を行った。

【方法】 (1) ヒト末梢血より CD 14 陽性細胞 (マクロファージ) を単離し, RANKL および M-CSF 存在下で PGE₂ を添加し 7 日間培養した。破骨細胞の同定は, 抗ビトロネクチンレセプター抗体染色により行った。(2) PGE₂ レセプター (EP 1~4) の発現を RT-PCR 法にて検討した。(3) PGE₂ による cAMP 産生量を ELISA 法にて測定した。(4) ヒト骨芽細胞株である SaOS 4/3 細胞と CD 14 陽性細胞の共存培養系における破骨細胞形成に対する PGE₂ の作用を検討した。(5) 同一培養ディッシュにマウス骨髄マクロファージと, ヒト CD 14 陽性細胞をスポットで播種し, RANKL および M-CSF 存在下で PGE₂ を添加し 7 日間培養した。

【結果と考察】 (1) PGE₂ および EP 2/4 アゴニストは RANKL が誘導するヒト破骨細胞形成を強力に抑制した。PKA 阻害剤 (H 89) は PGE₂ による抑制作用を解除した。(2) マクロファージは EP 2 と EP 4 を発現していた。(3) PGE₂ および EP 2/4 アゴニストはマクロファージにおける cAMP 産生を促進した。(4) SaOS 4/3 細胞を用いた共存培養系において, PTH 誘導性の破骨細胞形成を PGE₂ は強力に抑制した。また COX 2 阻害剤 (NS 398) は PTH による破骨細胞形成をさらに促進した。(5)

PGE₂添加により、ヒト破骨細胞形成のみならず、マウスの破骨細胞形成も強力に阻害された。以上の結果から、マウスの培養系と異なり、PGE₂はヒト破骨細胞の分化抑制因子である可能性が示された。またPGE₂の破骨細胞分化抑制作用はEP 2/4, cAMP-PKA経路を介することが示唆された。さらに、PGE₂はヒトマクロファージに作用して、何らかの液性因子の産生を促し、ヒトおよびマウスの破骨細胞分化を抑制することが示唆された。

15. ポリリン酸の骨芽細胞と破骨細胞に対する作用

八丁裕次^{1,2}, 上松隆司^{1,2}, 高橋昌宏¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・病態評価), ³(松歯大院・機能評価)

【目的】

ポリリン酸はリン酸が直鎖状に重合したリン酸ポリマーのナトリウム塩で、多くの細胞や組織に存在するものの、その生理的役割は明らかにされていない。本研究では、ポリリン酸の骨芽細胞と破骨細胞への作用についてマウス骨芽細胞と骨髄細胞の *in vitro* の実験系で検討した。

【方法】

マウス骨芽細胞と骨髄細胞を用いた共存培養系（6日間）の前半3日間または後半3日間に1 mMの鎖長の異なるポリリン酸を加え、形成された破骨細胞数をTRAP染色で検討した。また、コラーゲンゲル上の共存培養で得た成熟破骨細胞を象牙質切片上に播種した後、各鎖長のポリリン酸（1 mM）を添加して48時間培養した。形成された吸収窩は、マイヤーのヘマトキシリンで染色して観察した。ポリリン酸（1 mM）を添加して成熟破骨細胞の形態的变化を経時的に観察した。骨芽細胞と骨髄細胞の生細胞数は、ポリリン酸を加えて3日間培養後にAlamar Blue assayで検討した。骨芽細胞を3日間培養し、上清中のアルカリフォスタファゼ（ALP）活性を測定するとともに骨芽細胞のアポトーシスについてAnnexinV/PIを用いたフローサイトメトリーで解析した。

【結果・考察】

- 1) 平均鎖長60, 100以上の1 mMのポリリン酸は、6日間培養した後半3日間（破骨細胞分化期間）に作用して破骨細胞の誘導を抑制した。
- 2) ポリリン酸は、24時間以内に鎖長依存的に成熟破骨細胞数を減少させるとともに吸収窩数を減少させた。
- 3) ポリリン酸はマウスの骨髄細胞の生細胞に影響を与えないが、骨芽細胞のアポトーシスを誘導し、ALP活性を鎖長依存的に上昇させた。

以上の結果から1 mMのポリリン酸は破骨細胞の形成と機能を抑制するとともに、骨芽細胞の選択分化を誘導する可能性が示唆された。

16. 唾液腺癌細胞におけるATP binding cassette (ABC) transporterの発現

植本浩子^{1,2}, 上松隆司^{1,2}, 堂東亮輔¹, 古澤清文^{1,3}

¹(松本歯大・口腔顎顔面外科), ²(松歯大院・病態評価), ³(松歯大院・機能評価)

【目的】本研究では、ヒト正常唾液腺組織と唾液腺癌由来培養細胞を用いて、ATP依存性に薬剤排泄する蛋白であるATP-binding cassette (ABC) transporterとglutathione 関連酵素であるglutathione S-transferase (GST)の発現について検討した。

【方法】正常ヒト唾液腺と癌組織におけるABC transporterの発現は、抗 multidrug resistance gene (MDR) 1抗体、抗 multidrug resistance-associated protein (MRP) 1抗体を用いて免疫細胞組織化学的に検索した。扁平上皮癌と唾液腺癌組織におけるMDR 1, MRP 1, GSTの発現では陽性率、平均陽性細胞率ならびに染色強度について検討した。また唾液腺癌培養細胞に抗癌剤を処理し、MDR 1, MRP 1, GST- α , GST- μ , GST- π の発現についてWestern blot, RT-PCRで検討した。

【結果および考察】正常ヒト顎下腺組織ではMDR 1, MRP 1, GSTが線条部導管上皮細胞の基底嵌

入部と排泄部導管上皮細胞に発現し、唾液腺癌では扁平上皮癌に比べ、MDR1、MRP1の陽性率、平均陽性細胞率ならびに染色強度が高いことが明らかとなった。また正常唾液腺において発現の低いGST-piは唾液腺癌細胞では高発現し、VCR処理した唾液腺癌培養細胞では、MRP1とGST-piの誘導能が高いことが明らかとなった。グルタチオン合成酵素阻害剤であるButhionine Sulfoximine (BSO)と、GST阻害剤であるCurcuminを用いてMRP1の機能抑制を検討したところ、VCR耐性細胞の薬剤感受性が上昇し、50%増殖抑制濃度は著しく低下した。以上の結果から、唾液腺癌細胞の抗癌剤耐性獲得にはMDR1の発現に伴う自然耐性に加え、GST-piで触媒した解毒抱合体を排出するMRP1が関与していると考えられた。

17. *Porphyromonas gingivalis* の外膜蛋白質 Rag 変異株の薬剤感受性

上田青海¹, 齋藤珠実², 柴田幸永³, 平井 要¹, 宮沢裕夫^{2,3}, 吉村文信⁴, 藤村節夫^{1,3}

¹(松本歯大・口腔細菌), ²(松本歯大・小児歯科),

³(松歯大院・健康分析), ⁴(愛知学院大・微生物)

【目的】歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* の外膜蛋白質 RagAB (receptor antigen AB) は、W 50株からその遺伝子がクローン化されたが、その機能についてはまだ明らかにされていない。本研究では、*ragA* 遺伝子破壊株を作製しその性状について調べた。

【方法】*P. gingivalis* W 83株の *ragA* 内部配列を増幅できるプライマーを設計しPCRにて増幅後、プラスミドベクターにクローン化した。DNA シークエンサーでクローン化したDNA配列がW 83株の塩基配列と一致する事を確認した。次に、このクローン化した断片内に本菌染色体内で発現するエリスロマイシンカセットを挿入したリコンビナントを得た。このリコンビナントを直線化し、W 83株へエレクトロポレーションにて導入した。親株染色体上の *ragA* と導入したDNA断片間で相同性組換えを誘起させ、組換え体をエリスロマイシン耐性株として選択した。mRNAの発現をRT-PCRにて調べ、外膜蛋白質をSDS-PAGEで展開する事によってRagAが発現していない事を確認した。親株とこの破壊株との増殖能について0.2%イーストエキス含有ブレインハートインフュージョン液体培地 (2.5 µg/ml ヘミン, 5 µg/ml メナジオン, 0.01%システイン) を用いて嫌気培養を行ない12時間毎にOD₆₀₀を測定した。薬剤の最小発育阻止濃度 (MIC) については適宜抗生物質を倍数希釈したブルセラ血液寒天培地 (2.5 µg/ml ヘミン, 5 µg/ml メナジオン, 0.01%システイン) を作製したのち、各培養液を塗抹し1週間嫌気培養を行ない測定した。

【結果および考察】

- ① *ragA* 破壊株について：*ragA* 転写と共に、その下流にある *ragB* の mRNA レベルでの発現は抑制されていた。これと共にRagAとRagB蛋白質も外膜から消失していた。この事からRagABは同じプロモーターを利用している事がわかった。
- ② *ragA* 破壊株における増殖能では親株に比べ殆ど差が認められなかった。
- ③ 薬剤感受性について：親株と破壊株について様々な薬剤のMIC値を測定したところ、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ビユーロマイシン、エチジウムブロマイドについて親株に比べ2-4倍程度、感受性が増加した。これらの薬剤の作用部位や構造に共通性が認められないことから、RagABは異なる薬剤を菌体外に排出する多剤排出ポンプとして機能する可能性、またはRagAB欠損によって多剤排出ポンプもしくは外膜の透過性に影響を与えている可能性が考えられる。