

## 第53回松本歯科大学学会 (例会)

■日時：2001年12月1日(土) 8:30~12:15

■会場：講義館201教室

## プログラム

## 一般講演

8:30 開会の辞 学会長 西連寺永康 学長

8:35 座長 川上敏行 教授

1. p 38 MAP kinase シグナルの破骨細胞分化における重要性

○李 小彤, 高橋直之 (松本歯大・総合歯研・機能解析)  
宇田川信之 (松本歯大・口腔生化)2. IL-1 刺激ヒト歯肉線維芽細胞における MMP-1 と I 型  
collagen 遺伝子の発現: RT-PCR による検討○三村晴世 (準会員)  
平岡行博 (松本歯大・口腔生化)

3. プロピレングリコールによる細胞内カルシウム濃度の上昇

○服部敏己, 前橋 浩 (松本歯大・歯科薬理)

9:05 座長 宇田川信之 教授

4. ラット白歯再植後における初期組織変化について

○小川秀海, 栗原三郎 (松本歯大・歯科矯正)

5. 口腔扁平上皮癌における Involucrin および collagen type VII の発現

○木村晃大, 堀尾哲郎, 長谷川博雅 (松本歯大・口腔病理)

6. 癌細胞に由来する  $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase 活性

—O-グリカン型糖蛋白に対する作用について—

○松浦 隆, 上松隆司, 田中 仁, 栢本大祐, 堂東亮輔, 古澤清文, 山岡 稔  
(松本歯大・口腔顎顔面外科)

**9:35** 座長 上松隆司 助教授

7. 重度歯周炎に対するエムドゲイン®使用経験  
 ○日垣孝一, 椎名直樹, 伊藤茂樹, 音琴淳一, 太田紀雄 (松本歯大・歯科保存I)
8. 下顎骨に水平的偏位のみられる患者の顎運動について  
 ○酒徳明彦, 栗原三郎 (松本歯大・歯科矯正)
9. 顎関節症IV型における各種X線撮影法の検出能  
 ○音成貴道, 黒岩博子, 塩島 勝, 藤木知一, 内田啓一 (松本歯大・歯科放射線)  
 深澤常克, 児玉健三 (松本歯大・病院・放射線検査室)

**10:05** 座長 高橋直之 教授

10. 側方発育型腺腫の細胞増殖活性とアポトーシスの発現  
 ○山田治樹 (山梨医大・第1外科)  
 堀尾哲郎, 木村晃大, 長谷川博雅 (松本歯大・口腔病理)
11. 実験的に誘導したラット顎下腺の萎縮とその後の再生  
 ○松浦幸子, 小澤英浩 (松本歯大・口腔解剖II)  
 古澤清文 (松本歯大・口腔顎顔面外科)
12. 唾液腺導管上皮細胞における ATP-binding cassette transporter の発現  
 ○堂東亮輔, 上松隆司, 田中 仁, 松浦 隆, 栢本大祐, 古澤清文, 山岡 稔  
 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

**10:35** 座長 黒岩昭弘 助教授

13. 歯科用金属材料の高温物性と凝固組織に関する研究  
 —金銀パラジウム合金の固液共存温度領域における組織と組成について—  
 ○永沢 栄, 吉田貴光, 伊藤充雄 (松本歯大・歯科理工)  
 溝口利英 (松本歯大・総合歯研・生体材料)
14. 治療環境の汚染状況に関する調査  
 ○紀田晃生, 大須賀直人, 竹内瑞穂, 鬼沢良子, 岩崎 浩, 宮沢裕夫  
 (松本歯大・小児歯科)  
 平井 要 (松本歯大・口腔細菌)
15. 小児歯科領域における噴射切削装置の応用  
 ○中村浩志, 中村美どり, 宮沢裕夫 (松本歯大・小児歯科)

**11:05** 座長 澁谷 徹 助教授

16. 呼吸に同期して活動する舌下神経運動細胞へのサブスタンス P 陽性軸索終末の加齢変化  
 ○中山洋子, 安田浩一, 田中瑞穂, 田中三貴子, 森 亮太, 古澤清文  
 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

17. オトガイ舌骨筋の活動に関与する副交感神経様神経の機能特性について  
○森 亮太, 安田浩一, 田中三貴子, 田中瑞穂, 小松 史, 中山洋子, 古澤清文  
(松本歯大・口腔顎顔面外科)

18. CNV 脳波の皮質発生部位について

○熊井敏文 (松本歯大・口腔生理)

**11:35** 座長 山本昭夫 助教授

19. プロポフォールが有効であった異常絞扼反射の一症例

○織田秀樹, 澁谷 徹, 谷山貴一, 廣瀬伊佐夫 (松本歯大・歯科麻酔)

20. セボフルラン・ニトログリセリン低血圧麻酔における血清および尿中の無機弗素濃度の変化について

○谷山貴一, 澁谷 徹, 織田秀樹, 廣瀬伊佐夫 (松本歯大・歯科麻酔)

**11:55** 座長 音琴淳一 助教授

21. 発達障害者の歯科治療への適応予測のための簡便な検査の検討

○穂坂一夫, 正田行穂, 西連寺央康, 岡田尚則, 北村瑠美, 川瀬ゆか, 小島広臣,  
大槻征久, 大槻真理子, 高井経之, 小笠原 正 (松本歯大・障害者歯科)  
笠原 浩 (Eastman Dental Institute, University of London)

22. 脳血管障害により摂食嚥下障害をきたした患者へのアプローチ

○小笠原 正, 大槻征久, 川瀬ゆか, 小島広臣, 西連寺央康, 岡田尚久, 高井経之  
(松本歯大・障害者歯科)  
笠原 浩 (Eastman Dental Institute, University of London)

**12:15** 閉会の辞 副学会長 小澤英浩 副学長

## 講演抄録

### 1. p38 MAP kinase シグナルの破骨細胞分化における重要性

李 小彤, 高橋直之 (松本歯大・総合歯研・機能解析)

宇田川信之 (松本歯大・口腔生化)

目的: RANKL はマクロファージから破骨細胞への分化を促進すると共に, 成熟破骨細胞の骨吸収活性を誘導する. 一方, p 38 MAP kinase (p 38) は JNK や ERK と共に MAP kinase に分類されるセリンスレオニンキナーゼであり, 胚発生や細胞周期の制御そして細胞の増殖と分化といった生体の基本現象において重要な役割を果たしていることが証明されてきた. そこで, 破骨細胞の分化と機能発現における p 38 の役割を解析した.

方法: 破骨細胞の分化はマウスの骨芽細胞と骨髄細胞を活性型ビタミン D の存在下における共存培養系および骨髄マクロファージからの RANKL と M-CSF を用いた培養系を用いて解析した. 成熟破骨細胞の生存は, 共存培養系において形成された破骨細胞を酵素処理を行うことによりプレート上で純化したものを用いた. また, 破骨細胞前駆細胞と純化した破骨細胞における p 38 のリン酸化を p 38 リン酸化特異的抗体を用いた western blotting 法で検討した.

結果: (1)p 38 に特異的な阻害剤である SB 208530 (SB) は, 共存培養系における活性型ビタミン D が誘導する破骨細胞形成および骨髄マクロファージからの RANKL と M-CSF による破骨細胞分化を強力に抑制した. (2)SB は RANKL による成熟破骨細胞の延命および吸収窩形成活性, 器官培養系における骨吸収活性には何ら効果を示さなかった. (3)RANKL は骨髄マクロファージの p 38 のリン酸化を促進したが, 破骨細胞の p 38 リン酸化は促進しなかった. (4)RANKL と同様に, TNF $\alpha$ , IL-1, LPS は破骨細胞の生存を促進する活性を有している. これら各種因子によって支持される破骨細胞の生存に対して, SB は何ら効果を示さなかった. さらに, 骨髄マクロファージにおいては, RANKL, TNF $\alpha$ , IL-1, LPS は p 38 のリン酸化を強く促進したが, 純化破骨細胞においてはこれらのサイトカインを処理しても, p 38 のリン酸化は全く誘導されなかった.

考察: p 38 のリン酸化は破骨細胞の分化に必須なシグナルであるが, 破骨細胞では p 38 のシグナル伝達系が作動しないように調節されていることが示された. また, 破骨細胞は骨髄マクロファージから分化するにも拘わらず, LPS 刺激による炎症性サイトカインの産生能を消失している. この LPS に対する両細胞の反応性の差異は, p 38 のシグナル伝達の差異に起因する可能性が示唆された.

### 2. IL-1刺激ヒト歯肉線維芽細胞における MMP-1 と I 型 collagen 遺伝子の発現: RT-PCR による検討

三村晴世 (準会員)

平岡行博 (松本歯大・口腔生化)

目的: 線維芽細胞は MMP-1 (matrix metalloproteinase-1, 間質コラゲナーゼ) と collagen の産生に関与して結合組織の生成と改造を行っていると考えられている. 近年 IL-1 をはじめとする多くの炎症性サイトカインがさまざまな細胞に作用し, 細胞外マトリックス成分の分解に関与する MMPs の産生を調節していることが明らかにされつつあるが, その遺伝子の発現の詳細は未だ明らかではない. MMP-1 と collagen 遺伝子の発現は, 炎症に伴う歯周組織の変化および歯周疾患の病原論を解明する上で重要であると考えられる. そこで私たちは, IL-1 刺激によるヒト歯肉線維芽細胞における MMP-1 と collagen の遺伝子発現の変化を経時的に検討した.

材料と方法: 歯肉線維芽細胞培養液中に IL-1 $\beta$  を添加し, 刺激 0, 0.5, 1, 2, 24, 48 時間経過後に細胞を分離して総 RNA を抽出した (IL-1 $\beta$  刺激細胞は松本歯科大学歯科矯正学講座, 上松節子博

士からご恵与頂いた)。Ready-To-Go You-Prime First-Strand Beads (Amersham Pharmacia 社) で cDNA の合成を行い、RT-PCR に供した。対照として  $\beta$ -actin を用い、MMP-1 と I 型 collagen 遺伝子の発現を比較した。PCR 産物は塩基配列を決定し、目的の配列が増幅されていることを確認した。

結果：1 歯肉線維芽細胞の IL-1 $\beta$  刺激、無刺激で MMP-1 遺伝子の発現を認めた。

2 I 型 collagen 遺伝子は IL-1 $\beta$  無刺激で発現しておらず、IL-1 $\beta$  刺激で発現が誘導された。

3 2つの遺伝子の発現は経時的に促進され、24時間、48時間後で顕著であった。

考察：線維芽細胞の成長促進因子である bFGF の刺激を受けた歯根膜線維芽細胞では MMP-1 の発現を促進する一方、I 型 collagen の発現を抑制するという報告がある。歯周組織における炎症反応に伴う組織破壊と、それに続く組織修復には、MMP-1 と collagen とのバランスが重要であると考えられ、今回得られた結果は、炎症性サイトカインであっても種類によってはこのバランスを保つ作用を持っていることを示唆していた。即ち、サイトカインの種類によって collagen 代謝に関わる遺伝子の制御機構が異なると考えられた。

### 3. プロピレングリコールによる細胞内カルシウム濃度の上昇

服部敏己, 前橋 浩 (松本歯大・歯科薬理)

目的：Propylene glycol (PG) は人体に安全な物質として注射薬の溶媒に汎用され、その濃度は40% $\nu$ に達しているものもある。しかし溶媒として使われた PG が発汗、頻脈、頻呼吸そして癲癇発作を惹起するとの報告もある。

また動物実験では PG の注射により注入部位において皮膚攣縮が観察されている。今回は、この現象と細胞内カルシウム濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) との関係を明らかにすることを目的として実験を行なった。

材料および方法：①材料には雄性マウスの横隔膜神経筋標本を用いた。神経筋接合部の電氣的応答はガラス微小電極を用いて細胞内誘導した。②材料には NGF を含んだ DMEM により培養した PC 12 細胞を用いた。蛍光性  $Ca^{2+}$  指示薬には fura-2/AM を用いた。 $[Ca^{2+}]_i$  は画像解析システムにより計測した。

結果：①PG (5%) は微小終板電位 (m.e.p.p.) の発生頻度を有意に上昇させた。PG (0.1-2.0%) は濃度依存的に終板電位 (e.p.p.) の振幅を増大させた。PG (5%) は quantal content を増大させた。②PG (0.1-20%) は濃度依存的に  $[Ca^{2+}]_i$  を上昇させた。細胞外液  $K^+$  は濃度依存的に PG (5%) の作用を強めた。PG (5%) による  $[Ca^{2+}]_i$  上昇に対して 50 $\mu$ M CdCl<sub>2</sub>, 1 $\mu$ M  $\omega$ -conotoxin GVIA および nifedipine, nicardipine, verapamil および diltiazem (いずれも 10 $\mu$ M) は抑制したが、50 $\mu$ M NiCl<sub>2</sub> および  $\omega$ -agatoxin IVA (50および300 $\mu$ M) は影響を与えなかった。

考察：マウス神経筋標本において PG が m.e.p.p., e.p.p および quantal content を増大させたことから、伝達物質遊離を促進していることが推察された。伝達物質遊離には  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇が必須であるので、PC 12細胞を用いて調べたところ、PG は濃度依存的に  $[Ca^{2+}]_i$  を上昇させた。PG の  $[Ca^{2+}]_i$  上昇作用に対して CdCl<sub>2</sub> (非特異的  $Ca^{2+}$  チャンネルブロッカー)、 $\omega$ -conotoxin GVIA (N 型ブロッカー) および nifedipine, nicardipine, verapamil および diltiazem (いずれも L 型ブロッカー) は抑制したが、NiCl<sub>2</sub> (T 型および R 型ブロッカー) および  $\omega$ -agatoxin IVA (P/Q 型ブロッカー) は影響を与えなかったことから、 $Ca^{2+}$  の流入は L 型および N 型チャンネルを介していることが考えられる。以上のことから PG による皮膚攣縮には  $[Ca^{2+}]_i$  の上昇による伝達物質遊離の促進が関与していると結論された。

### 4. ラット臼歯再植後における初期組織変化について

小川秀海, 栗原三郎 (松本歯大・歯科矯正)

目的：歯科矯正治療と再植との臨床的な関連としては、再植歯固定時のボンディング法の応用や、再植歯の位置を矯正治療により是正する場合などが考えられる。さらに、抜歯された小白歯を欠損部へ自家

移植することもあり、その小白歯は、根尖完成歯である場合が多い。

そこで今回我々は、ラットの根尖完成歯における臼歯再植時の初期組織変化を明確にすることを目的として、歯根膜組織の経日的変化を組織学的に観察し、その再生修復過程について検討した。

材料と方法：8週齢のWistar系雄性ラット、27匹を使用した。抜歯前処置としてWaldo法により、上顎第一臼歯(M1)と第二臼歯(M2)間にゴムを陥入させ、3日間の歯の移動を行ったのち、M1を抜去し、即座に同部位に再植を行った。また再植時に、対合歯である下顎M1およびM2の歯冠を破壊することにより、対合歯の咬合力を排除した。感染予防として、抗生剤を再植時に歯と抜歯窩に滴下し、さらに、当日と3日後に腹腔に投与した。実験群として、再植後1, 3, 7日に屠殺したもの、対照群として、歯の移動および再植を行っていないものを用いた。各実験期間終了後、灌流固定したのち、上顎部を摘出し、4%パラホルムアルデヒド・カコジル酸ナトリウム水溶液にて6時間室温で浸漬固定した。10% EDTA 溶液で脱灰した後、アルコール系列で脱水、パラフィンにて包埋した。上顎第一臼歯の近心頬側根または近心舌側根に平行な厚さ5  $\mu\text{m}$  の縦断連続切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡にて観察を行った。

結果：8週齢ラットの臼歯は、根尖部のセメント質が肥厚しており、抜歯前処置としてのWaldo法を用いない場合、抜歯は困難であった。しかし、Waldo法を用いた場合には、抜歯を容易に行うことができた。再植後1日では歯根膜線維の断裂を認めたが、再植後3日に修復が始まり、再植後7日では歯根膜が再生修復されていた。

考察：抜歯前処置としてWaldo法を用いた場合、移動後の歯根は歯槽窩内で、辺縁歯槽骨の吸収や、歯根膜腔の拡大が起きていると思われ、そのために抜歯を容易に行うことができた。再植後1~3日では歯根膜線維の断裂が認められ、再植後7日では連続した歯根膜が再生されていた。このことは、対合歯の咬合力を排除したことにより、再植後1日~3日における歯根膜線維の再生修復期間では、炎症反応を抑制することが可能となり、再植後の歯周組織の再生について、良好な結果が得られたものと考えられる。

まとめ：再植を行うにあたり、抜歯前処置としてWaldo法を応用することにより、抜歯を容易に行うことができた。また、対合歯の咬合力を排除した再植歯においては、経日的に歯根膜線維の良好な再生修復が認められた。

## 5. 口腔扁平上皮癌における Involucrin および Collagen type VII の発現

木村晃大, 堀尾哲郎, 長谷川博雅 (松本歯大・口腔病理)

緒言：口腔領域の代表的悪性腫瘍に扁平上皮癌がある。扁平上皮癌の中には、著明な異型性を欠き、時に明らかな浸潤を示さない症例があり、微小浸潤癌の鑑別には苦慮することが少なくない。そこで、微小浸潤癌の診断の補助的手段を確立するために、口腔粘膜上皮や口腔扁平上皮癌における Involucrin と Collagen type VII の発現を検討した。

方法：材料は、扁平上皮癌の診断が得られている口腔領域に発生した8例の生検材料を用いた。10%中性緩衝ホルマリンにて固定後、パラフィン包埋処理されたブロックから、通報に従い4  $\mu\text{m}$  パラフィン切片を作製した。同標本に対し、Hematoxylin-eosin 染色を行い、その後、免疫組織化学的に検索した。免疫染色は、一次抗体に anti-Involucrin 抗体と anti-Collagen type VII 抗体を使用した。Involucrin は200倍にて、また、Collagen type VII は75倍に希釈して、4℃で一晩反応させた。その後、DAB 発色、ヘマトキシリンにて対比染色を行い、癌部と非癌部の染色性を観察した。

結果：Involucrin は非癌部の扁平上皮上層に発現し、有棘細胞層下部と基底細胞は陰性であった。癌部では基底細胞層を除く全層で発現がみられ、陽性を示す基底細胞も少数みられた。

Collagen type VII は非癌部の基底膜部分に強く発現していたが、癌部では発現の減弱もしくは消失傾向にあった。

考察：Involucrin は分化に関連したタンパク質で表皮上層に陽性反応をみるが、癌腫のみならず乾癬

などの非腫瘍性病変でも異常発現すると報告されている。すなわち、場合によっては表層細胞だけでなく、下層の細胞にも発現する。Collagen type VIIは基底膜に存在するタンパク質であり、正常では基底膜に発現がみられるが、癌腫ではしばしば発現がみられないことがあると報告されている。今回の結果で、Involucrinは非常に分化の良いと思われる扁平上皮癌の有棘細胞層に発現しており、疣贅癌では部分的に基底細胞層に反応を見ることができ、少なくとも一部で分化の異常があるとみられた。Collagen type VIIは正常部で発現を認めたが、微小浸潤癌や疣贅癌そして扁平上皮癌では、その発現が弱く、もしくは消失傾向にあった。

今回は限定された口腔癌で、検索数も少なく断定は出来ないが、少なくとも両抗体の発現は、癌部と非癌部で異なる反応が得られ、癌腫での診断の補助的手段として利用できる可能性が示された。

結語：今後は症例数を増し、境界領域病変を追加して、Collagen type VIIなどの有用性を検討していく予定である。

## 6. 癌細胞に由来する $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase 活性

### —O-グリカン型糖蛋白に対する作用について—

松浦 隆, 上松隆司, 田中 仁, 栢本大祐, 堂東亮輔, 古澤清文,  
山岡 稔 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

$\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase (Nagalase) は、ムチン型糖鎖の  $\alpha$ -N-acetylgalactosaminide-Ser または-Thr 結合を加水分解する O-glycanase である。本研究では O-グリカン型糖蛋白である Gc-MAF と G-CSF に対する頭頸部癌細胞由来 Nagalase の影響を検討した。

口腔癌培養細胞としてヒト口腔扁平上皮癌由来の TM 細胞、ヒト唾液線癌由来の HSG 細胞を用いた。各細胞は、組織培養用無血清培地 SFM-101 で 5 日間培養後、活性を測定した。Exo-Nagalase 活性は p-Nitorophenyl- $\alpha$ -N-acetylgalactosaminide を基質として用い、Endo-Nagalase 活性はこれにガラクトースが結合した基質を用いて、反応で遊離した p-nitorophenol の吸光度を測定した。

測定した結果、TM 細胞では pH 4.5, pH 7.0 においてわずかな活性を、HSG 細胞においては pH 4.5 で高い活性を認めた。

Gc-MAF, Gc-MAF + HSG 上清 (Nagalase 分画) および Gc protein を添加して培養したヒトマクロファージの活性酸素産生能とラテックスビーズの貪食能を検討した結果、活性酸素産生能、貪食能ともに Gc-MAF > Gc-MAF + 分画上清 > Gc protein 添加群の順に高かった。

続いて Nagalase が実際にヒトマクロファージの活性化に影響を与えるかをマクロファージ活性酸素産生能と貪食能を用いて検討した。

TM 細胞および HSG 細胞の培養上清中に CHO 細胞由来 rh-G-CSF を添加し反応させたのち、BALB/c マウス腓骨細胞培養上清中に添加し寒天培地中で 14 日間培養後コロニー形成数を算定した。G-CSF + TM, G-CSF + HSG 細胞培養上清添加群は、コロニー形成数が有意に減少した ( $p > 0.05$ )。

以上の結果より悪性腫瘍に由来する Nagalase の Exo および Endo 活性は O 型糖鎖をもつ macromolecule の  $\alpha$ -N-acetylgalactosaminyl 鎖を水解し、その生物活性に影響を与えることが示唆された。

## 7. 重度歯周炎に対するエムドゲイン®使用経験

日垣孝一, 椎名直樹, 伊藤茂樹, 音琴淳一, 太田紀雄 (松本歯大・歯科保存 I)

歯周組織の再生療法において GTR 法により形成される新生セメント質は、歯根膜細胞由来の細胞性セメント質であり、本来の無細胞性セメント質とは異なり真の再付着再生とは言えなかった。1998年に厚生省の認可を受けたエムドゲイン®は、ブタの発生期の歯牙周囲から抽出されたエナメル基質タンパクであり、歯牙胎生期における歯周組織の付着獲得に先立ってエナメル・タンパクが分泌されて生じる一連の歯周組織の再生過程のメカニズムを再現するとされている。

そこで臨床的に歯周組織の付着再生が困難である2壁性骨欠損があり隣接歯のない重度歯周炎に対して、反対側同名歯を対照として治療を行う機会が得られた、エムドゲイン®を使用した1症例を報告する。

対象は松本歯科大学病院歯周病科に精査加療を主訴に来院した58歳男性患者であり、特記すべき全身疾患はなかった。全顎的に歯肉に発赤・浮腫性腫脹が著しく、歯周組織チャート診査、X線写真より全顎慢性中等度～重度成人性歯周炎と診断した。

基本治療終了後の再評価で、ポケットの深さ6mm以上、X線写真上の歯槽骨欠損がCEJから4mm以上認められた下顎右側第一、第二小白歯にエムドゲイン®を使用し、同様の歯槽骨欠損像を認める反対側同名歯をコントロールとして歯肉剥離掻爬術を行なった。エムドゲイン®の使用術式はまず局所麻酔を行ない、歯肉弁保護のため、歯肉溝内切開を行い粘膜骨膜弁を翻転剥離し、不良肉芽除去後キュレット型スケーラーにて最終ルートプレーニングを行った。術野の洗浄と防湿を十分に行ない、ルートプレーニング後の汚染されたセメント質や根面上に残存したスミア層を除去するために歯根面を20% EDTAにて15秒間処理し、エムドゲイン®を歯根面に塗布した。エムドゲイン®はエナメルタンパクを冷凍乾燥したものにPGA液(Propylene Glycol Alginate)を加えるため、浸透、溶解するのに30分は静置する必要がある。その後ゲル状のものを気泡が入らないようにシリンジにて吸引し根面に塗布する。その後縫合を行ない歯周パックは行わなかった。術式は歯肉剥離掻爬術を修得していれば全く問題がなかった。

今回、エムドゲイン®を応用した2壁性の歯槽骨欠損では、隣在歯がなかったため咬合性因子の完全な除去が困難で、歯槽骨吸収の回復が十分とは言えなかった。しかし、コントロールと比較して歯肉退縮は少なくアタッチメントロスの回復は良好な結果が得られた。

この結果からエムドゲイン®を用いた予知性のある歯周組織再生療法を行なうには咬合の因子が深く関与していることが示された。また教室で行なった10数例のエムドゲイン®使用症例について歯周外科処置後の術後から現在まで、患者の自覚症状を含めエムドゲイン®使用における安全性に関する不具合は生じていない。

## 8. 下顎骨に水平的偏位のみられる患者の顎運動について

酒徳明彦, 栗原三郎 (松本歯大・歯科矯正)

歯科矯正臨床において、水平的下顎偏位のある症例は比較的頻繁にみられるが、通常、それらの歯科矯正治療には困難を伴うことが多い。その理由として歯性および骨格性の不均衡が考えられるが、顎運動の不均衡も治療を困難にしている要素のひとつであると思われる。そこで今回われわれは、下顎の水平的偏位と顎運動の不均衡との関係を明確にするために、本研究をおこなった。

資料には、松本歯科大学病院矯正歯科を受診し、初診時に顎機能検査を行っている患者で、早期接触などの歯のガイドによる下顎の誘導を認めなかったものを用いた。

口腔模型分析を行い、上下顎歯列正中の水平的偏位量を求め、次に、3次元6自由度顎運動解析装置コンピュータ・アキジオグラフ(GAMMA社)にて顎機能検査を行い、開閉口運動時の矢状および側方顎路傾斜角、下顎頭運動距離について症例ごとの左右差を求めた。上下顎歯列正中の水平的偏位量と、矢状顎路傾斜角の左右差との関連性は認められず、側方顎路傾斜角、下顎頭運動距離との間でも同様に関連性は認められなかった。

しかし、水平的偏位量が5.5mmのところ、矢状顎路傾斜角に左右差の大きいものと少ないものの2つに別れるところがあり、その中の任意の4症例を詳しく検討してみたところ、上下顎歯列正中の水平的偏位量が同じ症例でも、骨格的に左右差のある場合において、矢状顎路傾斜角に左右差のみられる傾向が認められた。また、下顎頭が形体的・基質的に変化を起こしてしまっている症例では、骨格的左右差が顎機能に現れない場合のあることが確認できた。

歯列正中の偏位においては叢生の状態、歯数の異常など、歯性の問題だけでも大きく評価が変わって

しまい、必ずしも下顎全体の偏位を表せていないこと、また、顎路傾斜角測定においても、筋や靭帯、関節円板などの軟組織の影響も含まれてくることなどから、これらに影響する多くの要因を1つずつ検討していくことの必要性が示唆された。

また、X線写真を使った各症例の詳細な検討にて、下顎骨自体に左右の変形のある症例では矢状顎路傾斜角にも左右差のある傾向がみられる一方、下顎骨の位置が偏位していても、それ自体の形体および顎運動には左右差がないものもあり、下顎骨の形態が関連している可能性が示唆された。

## 9. 顎関節症IV型における各種X線撮影法の検出能

音成貴道, 黒岩博子, 塩島 勝, 藤木知一, 内田啓一 (松本歯大・歯科放射線)  
深澤常克, 児玉健三 (松本歯大・放射線検査室)

目的: 顎関節学会による顎関節症の分類で、X線検査(顎関節腔造影検査を除く)で診断可能なものは、IV型のみである。顎関節の撮影には多数の種類があるが、患者の負担(被爆線量, 経済的等)を軽減するためにも、診断に必要な検査のみを行わなければならない。そこで、放射線検査室で行われている撮影法について、下顎頭骨変形の抽出能を検討した。

材料と方法: 被写体は乾燥頭蓋骨右側顎関節とし、下顎頭前縁にX線不透透性の光重合型コンポジットレジン(ライトフィルII, 松風)を幅約1cmで、厚さ0.5, 1.0, 1.5, 2.0mmの4種類に分けて付加し、骨棘を形成した。頭蓋骨を水中に沈め、パノラマX線撮影, パノラマ顎関節撮影(パノラマ四分画), 側斜位経頭蓋投影法(Schüller法), 眼窩下顎枝方向投影法(オルビトラムス投影法), 直線断層撮影(セクトグラフ)を撮影した。5種類の骨棘(なし, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0mm)と5種類の撮影法を組み合わせ、計25枚のフィルムを歯科放射線医4名が観察を行い、右側下顎頭の骨変形を5:ある, 4:あると思う, 3:分からない, 2:ないと思う, 1:ない, の5段階で評価を行った。

結果と考察: 骨変形がある・あると思うを骨変形ありに、骨変形がない・ないと思うを骨変形なしに分類した。分からないを骨変形ありとなしのいずれかに含み、検討を行った。分からないを骨変形なしに含むと、パノラマX線写真, パノラマ四分画写真, セクトグラフでは accuracy, sensitivity, specificity, Positive Predictive Value (P. P. V.), Negative Predictive Value (N. P. V.) はほぼ同程度であったが、Schüller法, オルビトラムス投影法では低くなった。分からないを骨変形ありに含むと、パノラマX線写真, パノラマ四分画写真, セクトグラフ, オルビトラムス投影法では同程度の値を示したが、Schüller法では低い値を示した。これらのことから、パノラマX線写真, パノラマ四分画写真, セクトグラフが骨変形検出率の高い検査法となった。オルビトラムス投影法は分からないが多く、これは下顎頭前縁の骨変化を観察するには、正面方向からでは困難であろうと推測される。パノラマX線写真は広範囲の観察が可能のため必要であろうと考えられる。パノラマ四分画写真はパノラマX線写真よりも骨変形の検出率が高く、開閉口の撮影が可能である。セクトグラフは撮影のために軸方向撮影が必要で、その写真をトレースし、角度・距離を分析することで撮影が可能となる。また、片側・咬合位のための撮影法である。これらのことから、顎関節症IV型が疑われる患者の初診時のX線検査には、パノラマX線写真, パノラマ四分画写真を撮影するのが望ましいと考えられる。

## 10. 側方発育型腺腫の細胞増殖活性とアポトーシスの発現

山田治樹 (山梨医大・第1外科)

堀尾哲郎, 木村晃大, 長谷川博雅 (松本歯大・口腔病理)

目的: 細胞の増殖と消失を制御する遺伝子のアンバランスは腫瘍の発生を招き、これらの相互関係が腫瘍形態を左右すると考えられる。そこで、世界的に認知されつつある非ポリープ状大腸腫瘍の生物学的性格を明らかにするために細胞増殖活性とアポトーシスの相互関係を検索した。特に今回は、側方発育型腫瘍の一種で、山田・長谷川ら (Clinicopathological Characteristics in Large Non-Polypoid Colorectal Adenomas with Granule-Aggregating Appearance; J. Int. Med. Res., in press) によって提唱

されている顆粒状を呈する一群, すなわち granule-aggregating tumor (以下 GAT) について検討した。

方法: 材料は山梨医科大学付属病院で切除された非ポリープ状の側方発育型腺腫 (Non-PA) の中, 内視鏡的にその表面のほとんどが直径 2 mm 以下の顆粒状隆起からなる 26 例の GAT と, ポリープ状の腺腫 (PA) 19 例を用いた。なお Non-PA は腫瘍径が 10 mm 以上で潰瘍形成がなく, 組織学的に絨毛状腺腫成分が 75% 未満であり, 背景因子として FAP が無いものとした。試料は 10% 中性緩衝ホルマリンで固定後, 通法に従ってパラフィン切片を作成した。アポトーシスの検索には, 断片化した DNA に対する抗体: 抗 single-stranded DNA ウサギポリクロナール抗体 (DAKO, Denmark) を, 細胞増殖活性の検索には核タンパクの一種である Ki-67 抗原に対する Ki-67 マウスモノクローナル抗体 (Novocastrol, UK) を用いた。またアポトーシスと Ki-67 標識率は, 腫瘍を上下各 2 層に分けて各々 1000 個以上の腫瘍細胞中の陽性細胞を数えて算定し, Mann-Whitney *U* test で  $p < 0.05$  を有意とした。

結果: 腫瘍下層のアポトーシスは, GAT が PA よりも有意に高く ( $4.54 \pm 1.86 > 0.34 \pm 0.48$ ;  $P < 0.0001$ ), 逆に上層では PA が有意に高かった ( $1.21 \pm 1.47 < 2.67 \pm 0.93$ ;  $P < 0.0001$ )。一方, Ki-67 標識率は腫瘍下層では有意に GAT が PA より低く, ( $22.4 \pm 7.8 < 33.4 \pm 11.7$ ;  $p = 0.0016$ ) 上層では両群に有意差はなかった。

考察: GAT と PA では腫瘍細胞の増殖傾向が明らかに異なり, GAT 下部の細胞の増殖活性が低い。これは, 腫瘍下部ではアポトーシスによって増殖が抑制されているためと考えられ, アポトーシスが GAT の形状を決定する重要な因子であると言える。側方発育型大腸腫瘍と言う概念は極めて曖昧であるが, GAT は生物学的に独立した疾患単位であると考えられる。今回の我々の検索は, GAT が側方発育型の腫瘍群を構成する少なくともひとつの腺腫であることを明らかにした。

## 11. 実験的に誘導したラット顎下腺の萎縮とその後の再生

松浦幸子, 小澤英治 (松本歯大・口腔解剖Ⅱ)

古澤清文 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

目的: 唾液腺の主導管を結紮すると唾液腺は萎縮する。輸送路閉塞により分泌不可能となった腺細胞内で, 分泌されない分泌顆粒が自己消化された結果である。一方, 結紮により萎縮した唾液腺が, 結紮解除により再び分泌機能を発揮できるようになると腺は再生されるが, その調節機構は不明である。“唾液輸送路確保”がどのように終末部の腺細胞に伝えられ再生を促すのか—その機構解明のため, ラット顎下腺を用い唾液腺の再生過程, 特に腺細胞出現に先がけ起こる変化を検索している。

方法: 雌性ウイスター系ラットを用い, 右側顎下腺の主導管を, 周囲をテフロンチューブで覆った縫合糸で結紮した。4 週後, 結紮を解除し, 経時的に顎下腺を, 光顕・電顕で観察した。

結果・考察: 4 週間, 主導管を結紮された顎下腺は, 顆粒を持った腺房細胞はほとんど消失し, また導管は管腔が拡張し, 線条部・顆粒管部などの特徴を失った盲管よりの構造で占められていた。終末部を構成する細胞は,  $\beta$  アドレナリン作動薬・イソプロテレノールに全く反応せず, したがって, 結紮解除が神経系で伝えられる可能性は低いものと思われた。結紮解除 3 週後以降から, 終末部に顆粒を持った細胞が出現し始めた。これ以前, 導管部では細胞分裂とアポトーシスによる細胞死によって, さかんに再構築されている様子が認められた。導管上皮細胞に頻繁にみられるアポトーシス細胞の基底部はすべて薄く広がった上皮細胞の細胞質で被われ, 結合組織内でおこる例のようなその後のマクロファージによる処理は起こらず, 管腔内に突出し, 導管を通して排除されることを示した。またアポトーシスをおこしている導管細胞の基底部を包み込んでいる電子密度の高い細胞は, 管腔に面することはなく筋上皮細胞のように伸縮性のある細胞である可能性が高い。このような, 腺房細胞出現に先がけおこる導管の再構築が, その終末部での腺房細胞出現に何らかのシグナルとなることが示唆された。

(本研究の一部は 2000 年度松本歯大特別研究補助金により執り行われた。)

## 12. 唾液腺導管上皮細胞における ATP-binding cassette transporter の発現

堂東亮輔, 上松隆司, 田中 仁, 松浦 隆, 栢本大祐, 古澤清文,  
山岡 稔 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

ATP-binding cassette (ABC) transporter は膜結合蛋白であり, ATP 依存性に種々の物質を細胞内から細胞外に輸送する機能を有している。

本研究では, ABC transporter である MDR1, MRP1, MRP2 および LRP のヒト正常唾液腺における発現を免疫組織学的に検討するとともに, transporter 親和性物質によって顎下腺由来培養細胞に各種 transporter が発現誘導されるか検討した。MDR1 と MRP1 の発現部位は重複し, とくに, 線条部と排泄部導管上皮細胞の細胞膜における発現部位は, ATPase 活性が高値を示す部位と一致していた。MDR1 と MRP1 に結合するステロイドホルモンはそれぞれが異なっていることから, 同一部位において異なる基質の代謝, 排泄を行い機能分担しているものと考えられた。MRP2 は導管上皮の Baso-lateral membrane と交連結合部に発現していることから, 導管上皮の基底側で物質輸送を行っている他, 細胞間輸送の調節に関与していることが推測された。LRP は, 介在部および線条部導管上皮細胞の核膜周囲から管腔側細胞質にかけて, 顆粒状に発現していたことから, 小胞輸送に関与していると考えられた。顎下腺由来培養細胞における ABC transporter の発現誘導は, ステロイドホルモンや抗癌剤でそれぞれ発現誘導されることが明らかとなった。すなわち, 正常唾液腺細胞に発現している ABC transporter は, 癌化または, 親和性薬物によって, 発現が亢進するものと考えられた。

以上の結果より, ヒト唾液腺に ABC transporters が生理的に発現し, 物質代謝に何らかの役割を果たしていることが推察された。また, 唾液腺導管上皮細胞に由来する唾液腺癌細胞は抗癌剤に対して自然耐性を示すほか, 薬剤によって多剤耐性形質を獲得することが示唆された。

## 13. 歯科用金属材料の高温物性と凝固組織に関する研究

——金銀パラジウム合金の固液共存温度領域における組織と組成について——

永沢 栄, 吉田貴光, 伊藤充雄 (松本歯大・歯科理工)  
溝口利英 (松本歯大・総合歯研・生体材料)

金属材料の高温物性は, 鑄造体の適合性や, 熱処理における変形に影響を与える重要な因子である。しかしながら, 凝固収縮というような基本的データですら, 明らかになっていないのが現状である。そこで, 最も使用されている, 金銀パラジウム合金について高温物性の検討を行った。

金銀パラジウム合金は, キンパラ S12 (石福) を選択し, 棒状インゴットと鑄造体に対して, 熱膨張の測定, 昇温, 冷却時の温度変化の測定, 固液共存領域における組織観察と成分組成の分析を行った。

凝固組織の観察は, ボーセレンファース内において, 所定温度に10分間保持し, ただちに水中急冷することにより組織を固定し, 金属顕微鏡を用いて行った。成分元素の分析は EPMA を用いて, 固相組織, 液相組織, 酸化膜については各5点, 全体の平均組成についてはランダムな10点の分析を行い, その平均値と標準偏差を求めた。

熱膨張と, 昇温, 冷却時の温度変化の結果より, S12の固相点温度は838℃, 液相点温度は958℃, 溶融に伴う膨張は0.932%となり, 妥当な値が得られた。また, 昇温時には900℃近辺で, 冷却時には955℃付近で何らかの変化が生じていることが判明した。

組織は, 860℃では, 通常の金属組織を示しており,  $\beta$ 相と思われる白い Pd リッチ相,  $\alpha$ 1相と思われる中間相,  $\alpha$ 2相が見られた。885℃では微細な粒状組織を示し, 910℃になると, かゆ状を呈した組織となり, 丸い粒子の間に液相であったと思われる部分が現れた。935℃では, 液相であったと思われる細かい組織が, 明確に現れたが, この温度になっても, Pd リッチ相は残留していた。960℃では, 液相と, 固相が完全に分離し, かつ固相の粒が下部に沈殿していた。さらに, 970℃においても, 僅かに固相の存在が認められた。

1000℃からゆっくりと凝固させた、960℃の組織は、固相と思われる部分は粗大化樹枝状晶を呈し、昇温時とは大きく異なっていた。

この各温度における組織変化より、熱膨張ならびに温度変化における900℃、955℃近辺における変化は液相の接続と切断に対応しているものと考えられた。

なお、本研究の一部は、2001年度・松本歯科大学・特別研究補助金により行われたものである。

#### 14. 治療環境の汚染状況に関する調査

紀田晃生, 大須賀直人, 竹内瑞穂, 鬼沢良子, 岩崎 浩, 宮沢裕夫 (松本歯大・小児歯科)  
平井 要 (松本歯大・口腔細菌)

目的: B型, C型肝炎, MRSAをはじめとする感染症による院内感染が問題視されている。その中で, 歯科医療は観血的処置を伴うことが多く, 院内感染の危険度も高い。特に小児歯科では, 学校など集団生活をおくっている児童が治療の対象となるので数々の細菌がもちこまれる機会が多い。この対応として一般には問診により感染症を有する患者をスクリーニングすることで院内感染を防いでいるが, 方策として十分ではない。そこで医療現場では定期的に汚染状況を評価することが重要である。今回, 我々は簡易培地を使用し, 診療室の入り口となる待合室付近の汚染状況を定期的に評価したので報告する。  
方法: 小児歯科診療室の待合室のなかで, 1. 床 2. 椅子 3. 入り口扉 4. エアコン吹き出し口, 遊戯場のなかで1. じゅうたん 2. 積木 3. むいぐるみ 4. すべり台の8カ所を選び, 合計12日間の定期的な汚染状況を評価した。

調査方法は, 来院患者の居ない時間帯の午前(8時30分)と患者来院後の午後(5時30分)の2回, 上記の場所において, 一般生菌数用寒天培地(日水製薬株式会社製 SCD寒天培地: クリーンスタンプ®)および多剤耐性黄色ブドウ球菌用寒天培地(日水製薬株式会社製 MSO寒天培地: クリーンスタンプ®)にて通法により採取し, インキュベーター(井内盛栄堂製)にて35℃で48時間培養を行った。判定は菌種のコロニー数をそれぞれカウントした。また, 調査日の気温, 湿度および患者来院数についても同時に調査した。また, 多剤耐性黄色ブドウ球菌用寒天培地において偽陽性と判断されたコロニーについては, スライドラテックス凝集反応による同定をMRSA-LA「生研」®(デンカ生研株式会社製)を用いて判定した。

結果: 一般生菌数用寒天培地による判定は, 診療室の待合室付近よりも遊戯場の方に多数認められた。遊戯場ではじゅうたんに最も多くみられた。待合室ではエアコン吹き出し口に多くみられ, 午前と午後の評価では午後のコロニー数が平均で2倍程度多くみられ, 患者数が多ければコロニー数も比例して増加する傾向にあった。

多剤耐性黄色ブドウ球菌用寒天培地による判定では, 遊戯場ではすべり台に最も多くみられ, 待合室付近ではエアコン吹き出し口に多くみられた。また, これら陽性反応のコロニーをスライドラテックス凝集反応により同定した結果ではすべて陰性であった。

考察: 一般細菌のコロニー数の判定では, じゅうたん, エアコン吹き出し口に多くみられた。多剤耐性黄色ブドウ球菌用寒天培地による判定では, エアコン吹き出し口に多くみられた。これらの場所が汚染されている理由としては, 本学の診療室の床の清掃方法は, 電気掃除機, 薬液を浸したモップ等によって行っているため, 清掃が困難な場所が汚染されていると推測できた。通常の清掃・消毒が困難な場所は, より定期的に汚染状況を評価するとともに, 清掃方法の改善が示唆された。

#### 15. 小児歯科領域における噴射切削装置の応用

中村浩志, 中村美どり, 宮沢裕夫 (松本歯大・小児歯科)

緒言: 現在, 小児歯科臨床において歯牙の切削には, 主に回転切削装置が用いられている。しかし, 回転切削装置による歯牙の切削は, 通常切削時の加圧, 振動, 発熱および疼痛を伴うことが明確であり, このことが精神発達途上にある小児患者の歯科治療を敬遠する一因となっている。また実際の臨床にお

いても、回転切削が歯の硬組織や歯髄におよぼす傷害なども多くの報告がなされている。このような様々な不快事項を軽減する目的で、回転切削以外の切削法として近年、様々な切削法が考案された。噴射切削装置の研究も1945年に R. Black によって考案されて以来、今日の噴射切削法 (Air-abrasion) がいろいろな歯科研究機関で開発されてきた。我々は小児歯科領域における応用に関しての基礎的研究も着手している。しかし今日まで噴射切削法は、エナメル質の歯面処理もしくは初期のエナメル質限局性齲蝕の除去程度に留まり窩洞形成にまでは至らず歯質の質的に適切な基準値は判明されていないのが現状である。

今回は噴射切削装置による窩洞形成時、噴射粒子の粒径の選択、適切な噴射圧、歯質への反応、修復物に与える影響など、エナメル質、象牙質に対する切削効率の検討をし、噴射切削による窩洞形態がどのような形態的特徴を示すか検討をおこなった。

試料作成ならびに実験方法：実験に用いた装置は、アメリカン・デンタル・テクノロジー社・デニックス社製の噴射切削装置 Whisperjet® KCP-1000型である。この噴射切削装置は、酸化アルミナ粒子27  $\mu\text{m}$  と50  $\mu\text{m}$  の2種類を40~160 psi で微粉末を5段階の空気圧で噴射し、歯面に接触することなくエナメル質、象牙質および周囲硬組織の切削を可能にする装置である。

噴射条件は、粒子径50  $\mu\text{m}$  (Fine)・噴射圧160 psi・ノズル-試料間距離1 mm とし、試料唇面に対し窩洞底部が象牙質に至るまで約2~4秒間噴射し、単純窩洞を形成した。次いで試料の窩洞の長軸方向へ可及的平行に切片を作成し、実体顕微鏡下にて撮影した。次に、後藤らの計測基準に従って窩洞の展開角の計測を行った。

結果および考察：Whisperjet®は噴射切削によるエナメル質窩洞の窩縁部形態は、比較的滑らかな丸みを帯びた形態が乳歯および永久歯試料ともに観察された。

窩洞形態は、ほとんどが、窩洞底部に点角および線角の存在しないV字型のものとU字型であった。

乳歯エナメル質の展開角は平均60.5° (1 S. D.  $\pm$  7.2) これに対して永久歯エナメル質の展開角は36.3° (1 S. D.  $\pm$  11.8) と小さい値を示した。また、乳歯形成窩洞の象牙質の開放角は平均30.7° (1 S. D.  $\pm$  10.7) で、永久歯形成窩洞の象牙質開放角は平均18.9° (1 S. D.  $\pm$  6.3) より大きい値を示した。

以上の結果によりエナメル質の展開角の値の相違は歯質自体の結晶格子の強度とエナメル質の厚さの違いによるものと考えられた。

## 16. 呼吸に同期して活動する舌下神経運動細胞へのサブスタンス P 陽性軸索終末の加齢変化

中山洋子, 安田浩一, 田中瑞穂, 田中三貴子, 森 亮太, 古澤清文 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

目的：上気道の保持に関与するオトガイ舌筋の機能が出生後急激に変化するに伴い、呼吸と嚥下運動の切り換えが一時的に制御不能になることが報告され、その原因として神経伝達物質の中枢神経内分布の変化が指摘されている。これまでの研究で、オトガイ舌筋を支配する運動神経細胞の中で呼吸に同期して活動する細胞 (Inspiratory genioglossal motoneuron: IGGm) は、舌下神経核腹内側亜核の外側部で吻尾的には吻側1/4を中心に局在すること (IGGm 局在領域)、また、神経伝達物質のサブスタンス P は IGGm の呼吸性活動の調整に関与することを明らかにした。本研究では1) IGGm 局在領域におけるサブスタンス P 含有軸索終末の分布様相の加齢変化、2) サブスタンス P 含有軸索終末と IGGm 局在領域の運動神経細胞とのシナプス接合様式について検討した。

方法：実験1) 胎生19日、生後0, 4, 7, 10, 14, 21, 70日齢の Wistar 系ラットを各5匹用いた。深麻酔下で灌流固定 (4% paraformaldehyde-0.5% glutaraldehyde-0.1 M phosphate buffer) を行い、脳幹を摘出し、クライオスタットにて凍結横断連続切片を作製した。1次抗体に Polyclonal rabbit anti-substance P を用いた一連の免疫組織化学染色を行い、DAB にて発色後、ニュートラルレッドで対比染色を施した。光学顕微鏡下で IGGm 局在領域に観察されたサブスタンス P 陽性軸索終末数を求め、次に IGGm 局在領域の体積をコンピューターにて算出し、各日齢における IGGm 局在領域内のサブスタン

ス P 陽性軸索終末分布密度 (サブスタンス P 陽性軸索終末数/IGGm 局在領域の体積) を比較した。実験 2) 生後 0, 4, 7 日齢のラット各 1 匹用いた。深麻酔下で灌流固定を行い、脳幹を摘出し、マイクロスライサーにて横断連続切片を作製した。実験 1) と同様の免疫組織化学染色を行い、光学顕微鏡下で舌下神経核の IGGm 局在領域を切り出した。通法に従いエポキシ樹脂包埋後、電子顕微鏡にて観察した。

結果および考察：1) IGGm 局在領域におけるサブスタンス P 陽性軸索終末の分布密度は、胎生 19 日齢  $8.7 \pm 0.6$ , 生後 0 日齢  $32.4 \pm 0.3$ , 4 日齢  $135.4 \pm 8.8$ , 7 日齢  $209.1 \pm 5.8$ , 10 日齢  $31.1 \pm 0.7$ , 14 日齢  $27.7 \pm 0.5$ , 21 日齢  $5.2 \pm 0.1$  (個/100  $\mu\text{m}^3$ ) で 70 日齢では観察されなかった。胎生 19 日でわずかにみられたサブスタンス P 陽性軸索終末は出生後より増加し、出生 7 日頃をピークに減少を始め、出生 21 日頃にはほとんど観察されなくなることが明らかとなった。2) 今回観察されたサブスタンス P 陽性軸索終末と IGGm 局在領域の運動神経細胞とのシナプス接合は合計で 58 個 (生後 0 日齢 = 7 個, 4 日齢 = 18 個, 7 日齢 = 33 個) で、それらはすべて遠位樹状突起 (一次樹状突起より遠位) にシナプス接合していた。

以上の結果より出生直後におけるオトガイ舌筋の呼吸性活動にサブスタンス P が関与することが示唆された。

#### 17. オトガイ舌骨筋の活動に関与する副交感神経様神経の機能特性について

森 亮太, 安田浩一, 田中三貴子, 田中瑞穂, 小松 史, 中山洋子,  
古澤清文 (松本歯大・口腔顎顔面外科)

目的：これまでの研究で、ラットのオトガイ舌骨筋は舌下神経本幹を経由する神経と頸神経ワナを経由する神経によって二重に運動支配され、舌下神経本幹経由の運動神経細胞は舌下神経核腹外側亜核に位置し、嚥下反射時に活動することを明らかにした。一方、頸神経ワナを経由する神経の細胞体は舌下神経核腹内側亜核に位置し、呼吸や嚥下に関与しない持続的な神経放電を示した。さらにこの神経は、舌下神経の内側枝と外側枝の分岐部付近で節後ニューロンとシナプス接合することが示唆されていることから副交感神経と考えられた。今回の研究では、この副交感神経様神経について、*in vitro* で電気生理学的に検討した。

方法：実験には Wistar 系ラットを用いた。塩酸ケタミン  $0.1-0.2 \text{ mg/g}$  の腹腔内麻酔下で、甲状舌骨筋枝より末梢側の頸神経ワナと、舌下神経の内外側枝およびオトガイ舌骨筋枝を含む舌下神経本幹を一塊として摘出した。摘出した舌下神経幹は酸素飽和人工脳脊髄液を灌流した recording chamber に固定した。オトガイ舌骨筋枝の切断端より神経放電を導出し、以下の記録を行った。

- 1) 頸神経ワナに双極タングステンフック電極を装着し、 $\pm 16 \mu\text{A}$  の電気刺激を加え、オトガイ舌骨筋枝から導出された神経放電の変化を観察した。
- 2) オトガイ舌骨筋枝から神経放電を導出し、Nicotine ( $100 \mu\text{M}$ ,  $10 \text{ mM}$ ; Nn 受容体 agonist), Mecamylamine ( $10 \text{ mM}$ ; Nn 受容体 antagonist), Pirenzepine ( $10 \text{ mM}$ ; M1 受容体 antagonist) の投与による放電数の変化を解析した。

結果および考察：

- 1) 頸神経ワナに加えた電気刺激の極性によってオトガイ舌骨筋枝からの神経放電数は増加あるいは抑制された。これは、本神経系にシナプス接合が存在することを指示する結果と考えられた。
- 2) Nicotine は Nn 受容体 agonist に分類されているが、一般に Nn 受容体に対して低濃度では興奮性に高濃度では抑制に作用するとされている。本実験においても Nicotine  $100 \mu\text{M}$  では神経放電数は増加したが、 $10 \text{ mM}$  では抑制された。Nn 受容体 antagonist の Mecamylamine 投与では、神経放電は抑制された。また M1 受容体 antagonist の Pirenzepine 投与でも神経放電の抑制が認められた。以上の結果から本神経系は副交感神経様の機能特性を有することが示唆された。

## 18. CNV 脳波の皮質発生部位について

熊井敏文 (松本歯大・口腔生理)

目的: CNV は事象数秒前から発生する頭蓋表面陰性の関連電位としてよく知られているがこれは生体行動における準備過程を反映したものとされている。電位は前頭部から中心部にかけて優位に記録されるがその脳内発生源はあまりハッキリと確定されていない。今回は異なった体部位を使った運動系の課題を考案し対応する CNV 電位の頭蓋分布からその発生源を考察してみた。

方法: 被験者に警告音 (W) と 3 連続標的音 (3I) の音刺激セット (1 秒インターバル) をランダムな間隔で 20 回与えた。標的周波数は高中低の 3 種類用意しそのランダム提示に対してかみ締め、手指、足指のそれぞれ決められた動作をしてもらった。課題は Homogeneous と Heterogeneous な動作の 2 種類が考案され、前者は同一体部位での連続動作で後者は異なった体部位での連続動作から成り立っている。頭蓋での記録部位は前頭左右中央の 5 箇所、関連する筋電位も同時に記録した。

結果: いずれの課題においても前頭部の電極から最も大きな CNV が記録され、頭頂部からのものは最も小さかった。このうち Homogeneous paradigm においては足指動作では中心部に、かみ締めと手指動作では側頭部に優位な CNV 電位が発生した。Heterogeneous paradigm では足指動作を最後にもってきた課題では中心部電極の CNV 電位に持続がみられ、かみ締めを最後に持ってきた課題では側頭部電極の電位が持続する傾向を示した。(記録の初期部分では顕著な差はみられなかったがこれは前頭部に発生した電位の影響によるものと思われる。) また以上のいずれの課題でも同側異側共に側頭部での顕著な左右差は観測されなかった。

総括: 本結果は CNV の発生には前頭部と (一次) 運動野の 2 つの部位が関与していると考えようまく説明できる。このうち前頭部のものは運動系動作の内容に独立して発生するので感覚刺激における情報解析に関係し、運動野のものは動作と脳地図の関連に一致がみられるので、運動の準備に関係していると考えられる。神経的な機構としては、事象に関連した細胞の静止電位を上昇させ (頭蓋表面では陰性に記録される) 行為を素早く起動させる為の準備をすると考えるのが最も合理的な説明のように思われる。

## 19. プロポフォルが有効であった異常絞扼反射の一症例

織田秀樹, 澁谷 徹, 谷山貴一, 廣瀬伊佐夫 (松本歯大・歯科麻酔)

緒言: 異常絞扼反射を有する患者は、ブラッシングが十分に行えずう蝕や歯周病に罹患しやすく、また歯科治療がきわめて困難となる。このような症例の歯科治療時の管理方法には静脈内鎮静法が多く用いられている。

今回われわれは、異常絞扼反射を有する患者に対して静脈内鎮静法を行い、フルニトラゼパムに比べてプロポフォルがより有効であった症例を経験した。

症例: 22歳の女性、体重46 kg、歯科矯正治療の前処置として左右の下顎水平埋伏智歯の抜歯を予定した。

既往歴に特記すべき事項はなかったが、異常絞扼反射のため臼歯部のブラッシングが行えず、デンタルエックス線写真撮影も不可能だった。口腔内診査を行ったところ上顎は口蓋側、下顎は前歯部舌側および臼歯部頬舌側に歯科用ミラーを挿入すると嘔気が認められた。

1 回目は 8] の抜歯を行った。フルニトラゼパム 0.4 mg の静脈内投与により、至適鎮静度が得られたにもかかわらず、下顎臼歯部舌側に歯科用ミラーを挿入すると嘔気が認められた。処置中もタービンで歯牙分割をしている際に、嘔気が認められたため、フルニトラゼパムを 0.3 mg 追加投与した。それ以後は嘔気・異常絞扼反射はなく抜歯を終了したが、止血用ガーゼを噛ませたところ嘔気のためガーゼの留置はできなかった。また処置中にフルニトラゼパムを追加投与してから帰宅するまでに約 2 時間 30 分を要した。

フルニトラゼパムでは完全に異常絞扼反射を抑制することができなかったため、2 回目の 8] の抜歯

ではプロポフォールを使用することにした。プロポフォール0.6 mg/kgを静脈内投与した後、5 mg/kg/hrで持続注入を行ったところ至適鎮静度が得られ、口腔内へのミラーの挿入、抜歯操作により嘔気・異常絞扼反射はみられなかった。抜歯終了時にプロポフォールの投与を中止して止血用ガーゼを嚙ませても嘔気は認められなかった。また回復も速やかで、プロポフォールの投与中止から約30分で帰宅が可能となった。

考察：全身麻酔薬であるプロポフォールは、持続注入により一定の麻酔深度を得ることが可能で、調節も容易であるという特徴から、最近では静脈内鎮静法にも使用されている。このプロポフォールは制吐作用を有するといわれ、これが歯科治療中の異常絞扼反射に対しても有効であると考えられた。

## 20. セボフルラン・ニトログリセリン低血圧麻酔における血清および尿中無機弗素濃度の変化について

谷山貴一，澁谷 徹，織田秀樹，廣瀬伊佐夫（松本歯大・歯科麻酔）

近年のハロゲン化麻酔薬は生体内代謝中に腎毒性に関連する血清無機弗素濃度が上昇することが知られているが、低血圧麻酔時のそれについては余り知られていない。今回、セボフルラン麻酔下のニトログリセリン（TNG）による低血圧麻酔時の血清および尿中の無機弗素濃度の変化を検討したので報告した。

方法：対象はASA分類I度で笑気・酸素・セボフルラン麻酔下で、出血量の減少と輸血節減のためTNGを用いた低血圧麻酔群（TNG群）と笑気・酸素・セボフルラン麻酔を施行した対照群（control群）の2群とした。TNG群では、手術開始後循環動態の安定した時点よりTNG 2～5 μg/kg/分を投与し、収縮期血圧を80～90 mmHgに維持した。無機弗素の測定は両群ともに麻酔導入前、導入1時間後、2時間後、4時間後、麻酔終了2時間後、4時間後、および24時間後と48時間後の時点とした。血清および尿中無機弗素濃度の測定には、オリオン社製複合弗素電極96-09と同社製 model 720 A イオンアナライザーを用いて測定した。統計処理には Student's t-test を用いて危険率5%以下を有意差ありとした。

結果：血清無機弗素濃度は麻酔開始4時間後に最大（TNG群 $23.04 \pm 2.49 \mu\text{mol/l}$ 、control群 $20.13 \pm 2.33 \mu\text{mol/l}$ ）に達したが、両群間に有意差はなかった。尿中無機弗素濃度は血清と同様に4時間後に最大値（TNG群 $2823.78 \pm 279.7 \mu\text{mol/l}$ 、control群 $1299 \pm 135.65$ ）を示し、有意に低血圧麻酔群で高濃度であった。しかし、術中の時間尿当たりの無機弗素排出量の比較検討では、両群ともに差はなかった。

考察：セボフルランは、1分子中に7つの弗素を持ち、生体内代謝により弗素を生じる。Mazzeらによると、メトキシフルラン麻酔後の腎障害の血清無機弗素濃度の閾値は $50 \sim 80 \mu\text{mol/l}$ とされている。また一般に、腎血流量は平均動脈圧が $80 \sim 180 \text{ mmHg}$ の範囲では、血流自己調節機能により維持されているが、血流自己調節機能は低血圧麻酔により消失し、腎血流量は平均動脈圧の変化により増減することが知られており、セボフルラン・TNG低血圧麻酔では血清無機弗素濃度の上昇が示唆される。しかし今回の検索では、血清無機弗素濃度は、両群間に有意な差は認められず、尿中無機弗素濃度では低血圧麻酔群の有意な上昇が認められたが、これは尿量の減少によると考えられ、単位時間当たりの尿中無機弗素量では両群間に有意な差は認められなかった。

結語：以上の検索結果から、セボフルラン麻酔は低血圧麻酔時において、無機弗素濃度は腎毒性に関連する閾値には達しないと示唆を得た。

## 21. 発達障害者の歯科治療への適応予測のための簡便な検査の検討

穂坂一夫, 正田行穂, 西連寺央康, 岡田尚則, 北村瑠美, 川瀬ゆか, 小島広臣, 大槻征久,  
大槻真理子, 高井経之, 小笠原 正 (松本歯大・障害者歯科)  
笠原 浩 (Eastman Dental Institute University of London)

知的能力の発達が遅滞している障害者では、歯科治療を恐れて泣き騒ぐなど不協力的な行動を示すことが少なくない。われわれは、発達障害者の歯科治療への適応性について一連の研究を行ってきた。これまでに、忙しい日常診療においても短時間で簡単に歯科治療への適応性を判断できるようにするための検査項目の選択を試みて、健常低年齢児では「ボタンをはめる」という検査項目に有用性があることを明らかにした。今回は発達障害者において、この検査項目の実際の臨床の場での有用性を検討した。

対象者は、松本歯科大学病院特殊診療科を治療のため受診した運動および視聴覚障害のない発達障害者55名であった。平均年齢は $24.4 \pm 12.5$ 歳で、主な障害の種類は精神遅滞38名、ダウン症候群9名、自閉症8名であった。調査は対象者全員にボタンをはめるように指示し、その状況を確認した。歯科治療中の患者の外部行動は、担当医(術者)と治療に関与していない同一の歯科医師(観察者)のそれぞれが評価した。なお、治療内容は充填処置、歯冠修復、歯内療法、外科的処置(抜歯など)に限定した。得られた外部行動の結果と検査項目との関係を Fisher の直接確率検定および判別の中率にて検討した。

歯科治療中に適応行動を示した症例は、術者の判定で検査項目が「できる群」42名中35名(83.3%)、「できない群」13名中3名(23.1%)であった。観察者の判定では、「できる群」85.7%、「できない群」23.1%に適応行動が認められた。両者ともに両群間に有意差( $P < 0.01$ )を認めた。判別の中率は術者81.8%、観察者83.6%であり、術者と観察者ともに同じような結果であった。さらに、局所麻酔を施した治療において、検査項目が「できる群」と「できない群」を比較すると、術者では危険率1%で、観察者では危険率5%で有意に「できる群」が治療中に適応行動を示す症例が多かった。また、タービンを使用しての治療でも術者、観察者ともに治療中に適応行動を示す症例の出現率は検査項目が「できる群」と「できない群」との間に有意差( $P < 0.05$ )を認め、「できる群」では適応行動を示す症例が多かった。検査項目が「できる群」では、局所麻酔やタービンを使用しての治療でも適応できる傾向が示された。

この検査項目をクリアできた症例では8割以上が治療に適応行動を示していたが、1~2割の症例に不適応行動が認められ、ボタンをはめることができる発達レベル以外の不適応要因の存在が示唆された。また、検査項目がクリアできなかった症例の7~8割に不適応行動が認められ、検査項目がクリアできない症例では治療に適應することが著しく困難である可能性が高いと考えられた。

以上の結果から、健常低年齢児の歯科治療への適応性を予測する検査項目「ボタンをはめる」は、発達障害者の実際の臨床においても有用性の高いことが示された。

## 22. 脳血管障害により摂食嚥下障害をきたした患者へのアプローチ

小笠原 正, 大槻征久, 川瀬ゆか, 小島広臣, 西連寺央康, 岡田尚久,  
高井経之 (松本歯大・障害者歯科)  
笠原 浩 (Eastman Dental Institute, University of London)

今回、脳幹部出血により経管栄養となった患者の摂食嚥下障害に対してアプローチを行った症例を経験したので、報告した。

患者: 52歳男性

疾患: 左前頭葉脳動脈奇形, くも膜下出血後遺症(左片麻痺), 症候性てんかん

既往: 43歳時にくも膜下出血のため、某大学病院に3か月間入院した。44歳時に4回にわたり脳動脈奇形の手術が行われ、4回目の手術時に脳幹部出血を起こした。それ以後、歩行困難、経管栄養となった。

現症：身長は170 cm, 体重54 kg, 心拍数65回/分, 血圧170/70 mmHg, SpO<sub>2</sub> 95%, ADL は全介助であった。現在の摂食状況はエンシュアリキッド® 4 缶を経管栄養にて摂取し, お昼に楽しみ程度におちよこ 1 杯のそばを約 1 時間かけて食べるのみであった。食事時のむせと水分を飲む時のむせは時々みられる。

経過：平成13年7月19日に摂食嚥下障害の訴えを聴取し, 8月9日にスクリーニング検査, 内視鏡検査を実施した。取り合えずの方針を説明し, 昼食時に直接訓練の実施を指示した。9月4日に嚥下造影検査を実施し, 10月2日に本症例の摂食嚥下障害の病態と方針, 管理栄養士による摂食嚥下食の種類と作り方について説明した。そして引き続きの訓練を指示した。

評価：口腔内所見としては, 開口度は30 mm 以上, 口唇閉鎖は正常, 舌突出は偏位なく可能ではあったが, 不十分であった。舌の側方運動はまったくできなかった。軟口蓋挙上時に口蓋垂の右偏位が認められた。スクリーニング検査では, RSST が 0 回, Thermal stimulation の効果 (+), 機能検査において改訂水飲みテストは 4 点, 水飲みテストで 20 ml がむせなく飲むことができた。食物テストも 4 点であった。いずれのテスト時も喉頭挙上は問題なかった。内視鏡検査所見は, 咽頭内の痰 (-), 喉頭蓋, 披裂ヒダ, 声帯の構造, 動きに異常はみられなかった。またゼリー嚥下時に喉頭内侵入はみられなかった。嚥下造影検査所見は, 嚥下反射が弱い, 口腔内での送り込み不良であったが, すべての食物形態で誤嚥はみられなかった。しかしながら, 咽頭残留はわずかに認められた。摂食中の SpO<sub>2</sub> は 94~96 であった。

以上の検査結果, 摂食・嚥下障害の臨床的病態重症度分類では, 「機会誤嚥」と診断された。治療方針としては, 間接訓練として, 舌運動訓練, thermal stimulation, 直接訓練の際の体位は, 垂直座位, 食物形態は咀嚼しないで嚥下できるものを選択し, 一口量はティースプーン一杯, そして複数回嚥下を指示した。その結果, RSST が 0 回から 3 回に増加し, 経口摂取量もおちよこ一杯からカップ半分が増え, 食事時のむせもまったくみられなくなった。摂食訓練を行った結果, 一定の効果が認められた。本症例を通して摂食嚥下障害患者に対して, 今後さらに大学病院の役割が増すものと思われた。