

第 68 回 日 本 大 学 歯 学 会 総 会 ・ 学 術 大 会 〔 抄 録 〕

期日 平成 28 年 5 月 29 日(日)

会場 日本大学歯学部 大講堂

《特別講演》

機能水研究を通じて解ってきたこと alarmin 分泌促進と創傷治癒

浅野正岳 日本大学歯学部病理学講座

食塩水を電気分解して得られる電解酸性機能水(以下 functional water:FW)は、pH2.7、有効塩素濃度 20~30 ppm を呈する。FW を用いることにより、臨床的には「癌の増殖を抑制した」、「火傷の治りを早めた」などとする臨床経験が多数報告されている。FW のこうした生理学的機能はどのようにして発揮されるのか。このメカニズム解明のために、培養上皮細胞に FW を作用させることで生じる変化について cytokine array という方法を用いて実験を行った。その結果、interleukin-1 α (IL-1 α) の分泌が増強されるという現象を見出した。*in vitro* の実験から、FW による IL-1 α 分泌亢進は、遺伝子発現の変化に依存せず、細胞内に予め蓄積された IL-1 α が細胞外に放出される現象であることが明らかとなった。細胞が障害を受けた際に、その周囲の細胞に生体の置かれた危機的な状況を知らせる生体防御効果を発揮する分子は alarmin と呼ばれ、IL-1 α はその代表的なものであることが知られている。それでは FW により分泌された IL-1 α はどのような効果を有しているのだろうか。IL-1 α は炎症反応に関与するサイトカインであるのに加え、創傷治癒促進効果があるとされている。そこで、FW は alarmin である IL-1 α 分泌を促進することで創傷治癒を促進するのではないかとこの着想を得た。これに基づき、マウスの皮膚に人為的に創傷を作成し、FW の創傷面積縮小に対する効果を観察したところ、生理食塩水などに比較して、約 20% 面積縮小を促進する効果を示した。また同様の実験を IL-1 α knockout mouse を用いて行ったところその効果は相殺された。以上の結果は、FW 刺激が細胞障害刺激であり、障害を受けた細胞は alarmin である IL-1 α 分泌を通じて創傷治癒を促進させるということを示していた。本発表では、IL-1 α による創傷治癒メカニズムについて最近の知見を含めて報告したいと考えている。

《一般講演》

1. 根管充填処置歯からの DNA 型判定

○伊澤 光^{1,2}, 堤 博文^{1,2}, 丸山 澄^{1,2}, 小室歳信^{1,2}

日本大学歯学部法医学講座¹

日本大学歯学部総合歯学研究所社会歯学研究部門²

目的

歯は経年的変化が少なく、形態が安定しているために死後数十年経過しても、歯髓組織から DNA を抽出し、DNA 型判定は可能である。

被検試料とされる歯については、多量の DNA 抽出を視野に歯や根管処置歯などを除いた、いわゆる健全歯を選別し行ってきた。しかし、鑑定の実務上、常に健全歯を入手することができるわけでもなく、根管処置歯を試料とせざるを得ないこともある。歯は解剖学的に根管側枝やイスマスなどを有することから、DNA 型判定は可能であると考えられる。

そこで、根管処置歯を試料とし、歯の保存年数を考慮した DNA 型判定の可否について検討した。

材料および方法

試料は、当講座に保存された抜去歯の中からエックス線写真撮影を行い、根管充填歯 19 歯(男性 9 歯、女性 10 歯、抜去後 10 年~抜去後 33 年)および健全歯 15 歯(男性 7 歯、女性 8 歯、抜去後 10 年~15 年)を用いた。DNA 抽出は TBONE EX KIT (DNA チップ研究所)を用い、PCR 増幅は Globalfiler PCR Amplification kit (life technologies) および PowerPlex Y23 System (Promega) に従って行った。電気泳動は 3130 Genetic Analyzer (life technologies) で行い、型判定は GeneMapper ID-X Software Version1.4 (life technologies) を使用した。

成績および考察

34 歯の常染色体 STR21 ローカスを検討した結果、根管充填歯 19 歯では 2 ローカス検出できなかったものが 2 歯、1 ローカス検出できなかったものが 5 歯であった。また、健全歯では 1 ローカス検出できなかったものが 2 歯あった。

男性 16 歯の性染色体 STR23 ローカスを検討した結果、根管充填歯 9 歯では 5 ローカス検出できなかったものが 2 歯、4 ローカス検出できなかったものが 1 歯、1 ローカス検出できなかったものが 4 歯であった。また、健全歯では全てのローカスにおいて検出可能であった。

本研究において、健全歯はもとより根管処置歯について 20 ローカス程度の DNA 型判定が可能であり、法医学鑑識領域における個人識別には十分利用できることが判明した。

2. 三叉神経脊髄路核および上部頸髄投射ニューロンにおける Extracellular Signal-regulated Kinase のリン酸化

○斎藤弘人¹, 片桐綾乃^{3,4}, 岩田幸一^{3,4}, 祇園白信仁^{2,5}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅰ講座²

日本大学歯学部生理学講座³

日本大学歯学部総合歯学研究機関形態部門⁴

日本大学歯学部総合歯学研究機関口腔機能研究部門⁵

目的

口腔顔面領域における侵害情報の上行路は、三叉神経脊髄路核中間亜核(Vi)、三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)および上部頸髄(C1)の侵害受容ニューロンを経由し、視床後内側腹側核固有部(VPM)および視床内側核群床へ投射する2経路と、橋の結合腕傍核(PBN)に投射する経路が存在する。しかし、これら投射ニューロンの形態学的特徴や情報伝達機構には不明な点が多い。そこで本研究では、侵害刺激に反応する神経興奮マーカーである phosphorylated Extracellular Signal-regulated Kinase(pERK)およびP物質の受容体であるNeurokinin 1(NK1)受容体の投射ニューロンにおける発現分布を検討し、侵害情報を伝える投射ニューロンの投射様式解明を目的とした。

材料及び方法

SD雄性ラットの右側VPM、内側中心核(CM)およびPBNに逆行性神経トレーサーFluorogold(FG)を注入した。7日後、左側上唇にカプサイシン刺激を施し、Vi-C1におけるFG標識投射ニューロン、pERK陽性細胞、NK1陽性細胞の発現を免疫組織学的に解析した。

成績及び考察

Vi-C1において、視床投射ニューロンはFG注入側の対側に、PBN投射ニューロンは両側性に分布が認められた。pERK/NK1陽性のVPM投射ニューロンはVcに局限していたのに対し、CM投射ニューロンは、数が少なく、分布に偏りは認められなかった。pERK/NK1陽性のPBN投射ニューロンはVcからC1に広く分布していた。pERK/NK1陽性のFG標識投射ニューロンは10%ほどで、侵害受容ニューロンの多くは介在ニューロンであることが示唆された。また、pERK/NK1陽性投射ニューロンは投射先によってVi-C1における吻尾側的な分布様式が違っていたが、この結果は三つの投射経路の機能的な違いを反映していると考えられる。

3. 電解酸性機能水(functional water ; FW)により誘導される alarmin について

○楠 正文¹, 五條堀孝廣^{2,3}, 太田裕崇¹, 菅野直之^{4,5}, 浅野正岳^{2,3}, 佐藤秀一^{4,5}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部病理学講座²

日本大学歯学部総合歯学研究機関生体防御部門³

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座⁴

日本大学歯学部総合歯学研究機関高度先端医療研究部門⁵

目的

ヒト口腔扁平上皮癌由来培養細胞(OSCC)にFWを作用させることにより誘導されるサイトカインについて網羅的な解析を行ったところ、これまでに明らかとなっているIL-1 α に加えてEMMPRIN(extracellular matrix metalloproteinase inducer)の発現増強を確認した。EMMPRINは細胞外基質分解酵素(matrix metalloproteinase ; MMP)を誘導する因子として知られている。細胞障害に伴って細胞から分泌される分子として各種 alarmin の存在が知られており、IL-1 α は代表的な alarmin とされている。FWによりIL-1 α と同時にEMMPRINが誘導されるという点に着目し、EMMPRINが alarmin の一種なのではないかとの着想を得た。本研究ではEMMPRIN誘導のメカニズムとEMMPRINとIL-1 α の分泌様式の違いについて検討することとした。

材料および方法

OSCC(HSC3, Ca9-22)を、FW(pH2.7, 酸化還元電位1,100 mV以上、遊離有効塩素濃度30 ppm, 三浦電子)で30秒間刺激した後、培養液中でさらに1, 3, 6, 12時間培養した。培養上清および細胞溶解液を回収し、ELISA法によりEMMPRINタンパク発現量を測定した。遺伝子発現については上記と同様にFWで処理した細胞を0.5, 1, 3, 6時間培養し、RNA抽出、cDNA作製後にreal-time PCR法により比較した。FW以外の刺激によるEMMPRIN発現については、酸化ストレス(H₂O₂)およびヒートショック(42℃)を行った細胞を2時間培養し、培養上清および細胞溶解液を回収し、ELISA法により測定した。

成績および考察

HSCおよびCa9-22の両細胞においてFW作用後1時間で培養上清中のEMMPRINの有意な増加がみられた。一方、細胞溶解液においてはFW作用群ではEMMPRINの有意な減少がみられた。また、HSC3およびCa9-22の両細胞においてFW作用群とcontrol群ではEMMPRIN遺伝子の発現に有意差はなかった。H₂O₂および42℃のヒートショック群では、培養上清中にEMMPRINの有意な増加がみられ、IL-1 α においても同様の結果がみられた。以上の結果から、FWは遺伝子発現増強によらず、細胞内に蓄積されたEMMPRINを細胞外に分泌させる可能性が考えられる。また、EMMPRINは alarmin の一種である可能性が示唆された。

4. 電解酸性機能水の線維芽細胞および骨芽細胞に対する影響

○本澤慶子^{1,2}, 齋木あかり^{1,2}, 浅野正岳^{3,5}, 本吉 満^{2,4}, 清水典佳^{2,4}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔構造機能学分野¹

日本大学歯学部歯科矯正学講座², 病理学講座³

日本大学歯学部総合歯学研究所 臨床研究部門⁴, 生体防御部門⁵

目的

電解酸性機能水(FW)は食塩水を電解することにより得られる水である。高い殺菌効果を有しており、この点については多くの報告がある。一方、臨床的には抜歯窩の治癒促進などFWが生体に対して何らかの効果を示すことが知られている。そこで本研究では歯周組織を構成する線維芽細胞や骨芽細胞に着目し、FWの作用がこれらの細胞にどのような影響を及ぼすかについて検討した。

材料および方法

実験には、子宮頸癌由来株化線維芽細胞(HeLa)およびマウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞(MC3 T3-E1)を用いた。FW刺激によるサイトカイン分泌の変化についてはHuman XL Cytokine Array Kit(R&D)を用いて検索した。方法としてはFWでHeLaを30秒間刺激し、さらに6時間培養後の培養上清をcytokine arrayに供した。また、MC3 T3-E1にrecombinant human(rh)EMMPRINおよびrh basic FGF(bFGF)(R&D)を60分間作用させ、さらに24時間培養後の培養上清を回収し、Quantikine ELISA Kit(R&D)を用いてIL-6およびVEGF濃度を測定した。

結果および考察

Cytokine Arrayの結果、HeLaにFWを作用させることによりEMMPRIN、bFGFおよびEndoglinの分泌上昇が認められ、ELISAによりEMMPRINおよびbFGFの分泌増強を確認した。そこで、EMMPRIN、bFGFに注目し、骨芽細胞に対するこれらの影響について検討した結果、MC3 T3-E1に対してrh EMMPRINを作用させた群ではIL-6およびVEGFともにコントロール群と比較し発現量の差はみられなかった。一方、rh bFGFを作用させた群では3nMをピークにIL-6およびVEGFの発現量は増加し、その後は低下した。さらにrh EMMPRINとrh bFGFを同時に作用させたところIL-6の発現の減少が確認された。以上より、HeLaから分泌されたbFGFはMC3 T3-E1に対して増殖・分化促進に働き、EMMPRINとは相互にシグナル系においてクロストークしていることが示唆された。

5. 急性歯髄炎により誘導される歯痛錯誤の末梢神経機構

○古宮宏記¹, 清水康平^{1,3}, 岩田幸一^{2,4}, 小木曾文内^{1,3}

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹

日本大学歯学部生理学講座²

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門³

日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門⁴

目的

急性歯髄炎が発症した際に起きる歯痛錯誤は、適切な診断と治

療を行う上で大きな問題となる。このような異所性異常疼痛のメカニズムの一つとして侵害受容ニューロンの異常興奮が考えられているがその詳細は不明である。本研究では、急性歯髄炎によって引き起こされる歯痛錯誤発症における末梢神経機構の一端を解明することを目的とした。

材料及び方法

右側上顎第一臼歯歯髄(M1)内へのComplete Freund's Adjuvant(CFA)投与3日目で、ラットを浅麻酔し、その後、同側顎二腹筋に双極電極を挿入し筋放電量が安定するまで静置し、同側上顎第二臼歯(M2)を露髄させ髄腔内に Capsaicin 投与を行った。それぞれの群で投与前後の反射性顎二腹筋活動を経時的に計測し筋活動量の解析を行った。また、M1へのCFA投与およびM2へのFluorogold(FG)投与3日目に、ラットを麻酔し、灌流固定を行った。その後、三叉神経節内でSatellite細胞の活性化マーカーであるGlial Fibrillary Acidic Protein(GFAP)およびGap結合の構成タンパクであるConnexin43(Cx43)発現を免疫組織学的手法にて検索し、GFAPおよびCx43陽性細胞に取り囲まれたFG陽性細胞数について解析を行った。さらに、歯髄炎モデルラットのTG内にCx43阻害薬(Gap26)を、CFA投与前3日より7日間持続投与し、M2へのCapsaicin刺激後の反射性顎二腹筋活動を経時的に計測し解析を行った。

成績

反射性顎二腹筋活動はCFA群で有意な増加を示した。Cx43を発現しているGFAP陽性細胞によって囲まれたFG陽性神経節細胞数の割合はCFA群で有意に多かった。TG内へのGap26投与により、反射性顎二腹筋活動は有意に抑制された。

考察及び結論

M1歯髄炎はM2に痛覚過敏が引き起こすことが示された。発症メカニズムの一つとして、M1の炎症により三叉神経節内でのSatellite細胞の活性化およびそれに引き続くCx43の発現増加によって活性型Satellite細胞がM2支配神経節細胞周囲にまで波及し、M2神経節細胞活動を亢進され、結果的にM2の痛覚過敏が引き起こされたと考えられる。さらに、活性型Satellite細胞の拡散にはSatellite細胞に存在するCx43が関与する可能性が示された。

6. 骨粗鬆症ラット頭頂骨の骨増生に対するPTH(1-34)の影響

○久保田達也¹, 津徳亮成², 小澤康正¹, 山本崇申¹, 築根直哉¹, 蓮池 聡², 佐藤秀一^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座²

日本大学歯学部総合歯学研究所 高度先端医療研究部門³

目的

現在、骨粗鬆症薬として使用されているPTH(1-34)が骨形成を促進することが示唆されている。本研究では、骨粗鬆症におけるPTH(1-34)の骨増生に対する影響を検討することを目的に、Ovariectomized(OVX)ラット頭頂骨にGuided Bone Augmentation(GBA)モデルを設置し、PTH(1-34)を腹腔内投与、PTH(1-34)の骨増生に対する影響を検討した。

材料と方法

雌性 Wistar ラット 12 匹を 2 群に分け、6 週齢時に、OVX 手術を行った。さらに 8 週間飼育をした。

14 週齢時に頭頂骨を露出させ、トレフィンバーを用いて左右対称に 5 mm の外周溝を形成し、ラウンドバーにてその内側に 5 カ所の骨髓穿通孔を形成した。そして、規格化されたプラスチックキャップ(内径 4.4 mm, 高さ 1.5 mm)を設置した。実験群に、週 3 回 PTH(1-34) (35 μ l/kg) を腹腔内投与、対照群には、生理食塩水を週 3 回腹腔内投与した。実験動物用 3D マイクロエックス線 CT を用いて、手術日を 0 週とし 12 週まで毎週撮影し、新生骨様組織の定量分析を行った。その後、軟組織を含む骨組織を採取し、組織切片を作製、組織学的評価を行った。

結果と考察

マイクロ CT の観察結果から術後 4 週から 12 週まで実験群、対照群ともに新生骨の形成が観察された。術後 8 週から 12 週では、実験群は、対照群と比較して有意に新生骨の形成が促進された。

結論

OVX ラット GBA モデルにおいて、PTH(1-34) の投与は、骨外側方向への骨増生を有意に促進した。従って、PTH(1-34) の間歇投与は、骨粗鬆症においても骨増生を促進する可能性が示唆された。

7. *Mecp2* の欠損が孤束核での DNA メチル化関連遺伝子発現に及ぼす影響

○伊藤寿典^{1,2}, 石山未紗², 岩佐聡子², 浅野正岳³, 白川哲夫²

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔健康科学分野¹

日本大学歯学部小児歯科学講座²

日本大学歯学部病理学講座³

目的

MECP2 遺伝子の異常により引き起こされるレット症候群では、臨床症状の一つとして摂食機能の異常がみられる。レット症候群モデル雄マウスにおいても 5 週齢以降に摂食機能の低下がみられるが、その病態の詳細は明らかではない。今回、*Mecp2* を欠損したレット症候群モデル雄マウスについて、嚥下運動に関与している延髄孤束核(NTS)での DNA メチル化関連遺伝子の発現変化について検討した。

方法

Mecp2 ヘテロ欠損雌マウスと C57 BL/6 J 雄マウスを交配して得られた *Mecp2* 欠損雄仔マウス(hemi)を用いた。また野生型雄仔マウス(wild)をコントロールとして用いた。

2 週齢の hemi と wild を 10% イソフルランにて麻酔したのち脳を全摘出し、クリオスタット上で左右両側の延髄孤束核をパンチアウトした。得られた組織より RNA を抽出し、cDNA を合成して、*Gad1*, *Tet1*, *Tet2*, *Tet3*, *Dnmt3a*, *Dnmt3b* の mRNA 量をリアルタイム PCR で測定した。

結果および考察

hemi と wild を比較したところ、2 週齢で体重に差はみられなかったが、wild に比べ hemi では *Gad1*, *Dnmt3a*, *Tet3* の

mRNA 発現が有意に減少していた。一方、*Tet1* mRNA は有意に増加していた。また *Dnmt3b*, *Tet2* については両者間に有意な差は認められなかった。

hemi において DNA メチル化酵素である *Dnmt3a* や DNA 脱メチル化酵素である *Tet1*, *Tet3* の mRNA 発現に変化が認められたことから、hemi の孤束核では離乳前に既に DNA メチル化レベルが変化している可能性が考えられた。今後、*Mecp2* の欠損がどのような機序で DNA メチル化関連遺伝子の発現に影響を与えたかについて検討する予定である。

8. シランモノマーの違いがシリカガラスとアクリルレジンとの接着に及ぼす影響

○岡崎智世^{1,2}, 小泉寛恭^{2,3}, 野川博史^{2,3}, 赤澤伸隆^{1,2}, 平場晴斗^{1,2}, 松村英雄^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅲ講座²

日本大学歯学部総合歯学研究科高度先端医療研究部門³

目的

シラン化合物はケイ素酸化物とレジンの接着に有効であるが、接着耐久性には改善の余地があることが知られている。解決策の一つとして疎水性の高いシランの応用が考えられるが、異なるモノマーの性能について評価を行った報告は少ない。本研究の目的は、シランモノマーの種類および加熱処理の有無が、ケイ素酸化物とアクリルレジンとの接着耐久性に及ぼす影響を比較検討することである。

材料及び方法

シリカガラス円形平板試料を、耐水研磨紙にて研削後、アセトン溶液中にて 10 分間超音波洗浄を行った。シランとして 3-(トリメトキシシリル)プロピルメタクリレート(3-TMSPMA, 東京化成工業)と 3-(4-メタクリロイルオキシフェニル)プロピルトリメトキシシラン(3-MPPTS)の 2 種を採用し、メタクリル酸メチル(MMA, 東京化成工業)の 1 および 2 mol% 溶液を調製した。これらは試料表面にプライマーとして塗布された。比較対照群はブライミング処理なしとし、合計 5 条件の設定とした。さらに、各群半数の試料に対し、加熱重合器(KL-310, クラレノリタケデンタル)にて熱処理を行った。表面処理後、被着面にステンレス鋼製リングを固定し、アクリル(MMA-TBB)レジンを充填した。接着試験体は 37℃ 水中 24 時間浸漬後、水中熱サイクルを 0 回、10,000 回負荷し、接着試験を行った。

成績及び考察

シラン処理を施した群において、加熱処理を行った群が、行わなかった群と比較して有意に高い接着強さを示した。

水中熱サイクル 10,000 回負荷後、3-MPPTS 塗布 + 加熱処理群が他の群に比して有意に高い接着強さを示した。

以上の結果から、シリカガラスとアクリルレジンの接着においては、疎水性がより高いとされる 3-MPPTS による表面処理が耐久性の向上に有効であることが示唆された。

9. ラット下歯槽神経切除モデルにおける GDNF 局所投与による知覚回復の評価

○渡辺雅弘¹, 篠田雅路², 吉沼直人^{3,4}, 菅野直之^{3,4}, 岩田幸一², 佐藤秀一^{3,4}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部生理学講座²

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座³

日本大学歯学部総合歯学研究高度先端医療研究部門⁴

目的

神経成長因子 Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor (GDNF) は軸索形成を促進することで断裂した神経組織を再生することが知られており、運動機能と感覚機能の回復を図るために様々な調査が進められている。本研究はラット下歯槽神経切除モデルを作製し、切除部位へ GDNF を局所投与することで下歯槽神経の組織的再生と機能回復を併せて評価を行い、末梢での神経組織再生機構の一端を解明することを目的とした。

材料および方法

SD ラット (6-7 週齢, ♂) に三種混合麻酔薬 (ドミツール 0.375 mg/kg, ミダゾラム 2 mg/kg, ベトルファール 2.5 mg/kg) を腹腔内投与し、メスで頬部を切開し、歯科用電動式ハンドピース (Tas-35 LX, OSADA) と滅菌歯科用スチールバー (ISO No.1/008-1/012, JOTA, Switzerland) で下顎骨を切削し、下歯槽神経を明示し約 2 mm 切除した。切除部位に GDNF 1.25 μ g と生理活性物質徐放剤 2.5 mg (Medgel®, メドジェル) を混和したものをフィブリン製剤 80 μ g (ペリプラスト P, CSL ベーリング) と共に填入した。

Vehicle 群には GDNF と同量の 0.1 MPBS と生理活性物質徐放剤の混和物をフィブリン製剤と共に填入した。患部を 4-0 ナイロン糸で縫合し、術後 1 日目から隔日で 13 日目までイソフルラン吸入による浅麻酔下でラット下唇の機械刺激に対する疼痛反射閾値の測定を行った。

処置後 3, 5 日目のラットを三種混合麻酔薬にて深く麻酔し、通法に従いラットの灌流固定を行った。その後、下歯槽神経切除部位を摘出し、連続組織標本を作成後、シュワン細胞のマーカーである Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) および GDNF 受容体である GFR- α 1 の発現を免疫組織学的手法にて検索し、解析を行った。

成績および考察

Antibody 投与群と比較して GDNF 投与群は 9 日目で知覚回復に有意な差を認めた。Vehicle 群と比較して GDNF 投与群は 5, 7 日目で知覚回復に有意な差を認めた。以上の成績から、GDNF は知覚の回復を優位に促し、GDNF 受容体 (GFR- α 1) ブロックにより知覚の回復が優位に抑制されたことから、GDNF は感覚神経の機能回復を促進する可能性が示唆された。

10. 延髄腹側呼吸ニューロン群での *Gad1* 発現とそのエピジェネティック制御

○木舩 崇^{1,2}, 石山未紗², 岩佐聡子², 浅野正岳³, 白川哲夫²

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔健康科学分野¹

日本大学歯学部小児歯科学講座²

日本大学歯学部病理学講座³

目的

メチル化 CpG 結合タンパク 2 をコードする遺伝子 *MECP2* の異常が原因で発症する疾患としてレット症候群があり、同症候群では無呼吸や過呼吸などの呼吸異常がみられる。今回、*Mecp2* を欠損したマウスについて、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の一つであるバルプロ酸 (VPA) を発達期に投与し、呼吸機能ならびに呼吸中枢での CpG メチル化とヒストンアセチル化レベルがどのような影響を受けるかを検討した。

材料及び方法

Mecp2 ノックアウトマウス (hemi) と野生型マウス (wild) を用いて、全身型プレチスモグラフにより 2 週齢の hemi および wild のマウスの呼吸を記録した。また 2 週齢の hemi および wild の脳を摘出して延髄腹側の呼吸関連ニューロン群 (ventral respiratory group, VRG) のパンチアウトを行い、得られた組織より RNA を抽出し、*Gad1* mRNA 量を測定した。また VRG より DNA を抽出し *Gad1* プロモーターの CpG メチル化レベルを測定した。さらにクロマチン免疫沈降法にて、大脳皮質の *Gad1* プロモーター上での MBD1, MBD2 の結合を調べた。また生後 8 日より 7 日間、VPA (200 mg/kg) を腹腔内投与し、その影響について調べた。

成績及び考察

Hemi と wild を 2 週齢で比較すると、hemi は無呼吸回数が有意に多く、VRG での *Gad1* mRNA 量は減少していた。VPA 投与により hemi では無呼吸回数が減少し、*Gad1* mRNA 量は増加した。*Gad1* プロモーターの CpG メチル化について、hemi が wild に比べメチル化率が有意に高かったが、VPA 投与によりメチル化率が低下した。

hemi では *Gad1* mRNA 発現の低下が無呼吸回数増加の原因の一つと考えられ、*Gad1* プロモーターの高メチル化が *Gad1* mRNA 発現の低下に関与している可能性が示唆された。

11. シリカガラスに対する表面処理の違いがレジンス装着材料との接着強さに及ぼす影響

○守 世里奈^{1,2}, 伏木亮祐², 矢川彰悟^{1,2}, 小峰 太^{2,3}, 松村英雄^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅲ講座²

日本大学歯学部総合歯学研究高度先端医療研究部門³

目的

表面処理の違いがシリカガラスとレジンス装着材料との接着強さに及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

材料及び方法

被着体として直径 11.0 mm と直径 8.0 mm、厚さ 2.5 mm のシ

リカガラスの円形平板を用いた。平面部を被着面とし # 1500 の耐水研磨紙にて注水研削した後、直径 5.0 mm の穴の開いたマスキングテープで接着面積を規定した。接着面積を規定後、クリアフィルフォトボンドボンディングエージェント (CPB, クラレノリタケデンタル), クリアフィルポーセレンボンドアクチベーター (Act, クラレノリタケデンタル), CPB と Act の等量混和液 (CPB+Act), CPB のキャタリストのみ (CPBC) と Act の等量混和液 (CPBC+Act), CPB のユニバーサルのみ (CPBU) と Act の等量混和液 (CPBU+Act), さらにプライマー未塗布 (NP) を加えた計 6 条件にて各被着体に対し表面処理を行った。

その後、クリアフィルエスティックセメント (ユニバーサル, クラレノリタケデンタル) を用いて、5 N の荷重下において直径の異なる試料どうしを接着し、試料に対して垂直方向に光照射 (Optilux 501, Kerr) を 5 秒間行った。製作した試料を、室温下にて 30 分間放置後、37℃ 精製水中に 24 時間浸漬した。せん断接着試験は、万能試験機 (Type 5567, インストロン) を用いてクロスヘッドスピード毎分 0.5 mm の条件で行った。せん断接着試験後、実体顕微鏡 (Stemi DV4, Carl Zeiss) を用いて、試料の破壊様式を観察した。

成績及び考察

CPB+Act が他のプライマーと比較し有意に高い接着強さを示した。次いで、CPBC+Act が Act, CPB, CPBU+Act, NP に比較し有意に高い接着強さを示した。

以上のことから、CPBC に含まれる酸性機能性モノマーである MDP が、シランの加水分解を促進させることで、高い接着強さを獲得できることが示唆された。また、CPBC+Act に比較して CPB+Act が有意に高い接着強さを示したことから、CPBU に含まれる化学重合促進剤が、CPBC に含まれる化学重合触媒と反応することで、強固な接着を獲得できたと考えられる。

12. ラット下顎角骨欠損に対する Osteogenic protein-1 添加コラーゲン膜の影響

○尾崎愛美¹, 高山忠裕^{2,4}, 山本崇申¹, 小澤康正¹, 井口慎也¹, 鈴木大悟¹, 長尾麻由¹, 中嶋 昭^{3,4}, 田邊奈津子^{5,7}, 鈴木直人^{5,7}, 前野正夫^{6,7}, 佐藤秀一^{2,4}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座²

日本大学歯学部歯科矯正学講座³

日本大学歯学部総合歯学研究高度先端医療研究部門⁴

日本大学歯学部生化学講座⁵

日本大学歯学部衛生学講座⁶

日本大学歯学部総合歯学研究機能形態部門⁷

目的

現在、歯周組織再生誘導 (GTR) 法や骨組織再生誘導 (GBR) 法などの再生療法が臨床において広く応用されている。その一つとしてコラーゲン膜を用いた方法があり、これはスペースメイキングの役割として使用され、再生過程に単独で積極的に働くものではないことは周知の事実である。また、成長因子である Osteogenic protein-1 (OP-1) は医科領域で応用されており、未分化間葉系細胞や骨芽細胞前駆細胞を成熟骨芽細胞へ分化誘導させることが報告

されている。このような背景を踏まえ、コラーゲン膜に OP-1 を添加することで骨組織再生機転を促進する可能性を想定した。そこで、OP-1 添加コラーゲン膜がラット下顎角骨欠損モデルに対する骨再生に及ぼす影響についてエックス線学および組織学的に検討することを目的とした。

材料および方法

9 週齢の雄性近交系ラット (F344/jcl) の下顎角に、内径 4.0 mm のトレファインバーを用いて、下顎角臨界骨欠損モデルを作製した。欠損のみ (Control 群), 欠損をコラーゲン膜で被覆 (CM 群), 欠損をコラーゲン膜に OP-1 を 0.5 μg (CM/OP-1 [L] 群), もしくは 2.0 μg (CM/OP-1 [H] 群) 添加し被覆した群に分けた。実験動物用 3D マイクロ CT (μCT) を用いて同一個体における経時的 (2, 4 および 6 週) な骨再生をエックス線学的に観察した。また、術後 6 週の組織切片をヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡下で評価を行った。

成績および考察

術後 2, 4 および 6 週において、 μCT 像から Control 群と比較して CM 群, CM/OP-1 [L] 群, CM/OP-1 [H] 群で欠損部に骨様組織の再生を認めた。また、CM/OP-1 [L] 群と比較し、CM/OP-1 [H] 群において骨欠損の顕著な改善が見られた。新生骨量、骨密度および骨欠損閉鎖率についても同様の結果が得られた。組織学的所見においても CM/OP-1 [H] 群において既存骨から連続した明らかな骨の再生像を認めた。

以上より、ラット下顎角骨欠損モデルにおいて、OP-1 添加コラーゲンメンブレンが骨再生を積極的に促すことが示されたことから、今後新たな再生療法の構築の足掛かりとなる可能性が示唆された。

13. 姿勢の変化が安静時と咀嚼時の唾液分泌量に及ぼす影響

○平井皓之¹, 中山潤利^{2,3}, 植田耕一郎^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔健康科学分野¹

日本大学歯学部摂食機能療法学講座²

日本大学歯学部総合歯学研究機能形態部門³

目的

摂食嚥下障害患者において、誤嚥防止や食塊移送を補助する目的で体幹を倒したリクライニング位で経口摂取を行うことがある。しかし、近年の研究ではリクライニング位において咀嚼効率が低下し、咀嚼時間が延長することが報告されている。また、唾液分泌量の低下が咀嚼効率と咀嚼時間に関連することから、本研究では姿勢の変化が唾液分泌量に及ぼす影響について検証した。

対象および方法

健康成人 (男性 5 名, 女性 7 名, 平均: 30 ± 3.0 歳) を対象とし、30° 仰臥位, 90° 座位, 前屈位における安静時唾液分泌量と咀嚼時唾液分泌量を測定した。安静時唾液分泌量については、左右耳下腺乳頭部と舌下小丘部にガーゼを 3 分間留置した後、その重量変化を測定値とした。咀嚼時唾液分泌量については、唾液を嚥下しないよう注意しながらガーゼを咀嚼してもらい、1 分ごとにガーゼと一緒に口腔内の全ての唾液を吐き出すことを 3 回連続して行い、各々の重量変化を測定値とした。各試行順は被験者ごとに予

め無作為に決め、試行間に 50 cc の飲水と 7 分間の休憩を入れた。以上の操作を 2 日間、同時刻に行い、その平均値を用いて有意差の検定を行った。

結果および考察

安静時の耳下腺唾液分泌量は、前屈位、90°座位、30°仰臥位の順で低下する傾向にあり、左側耳下腺唾液分泌量で 30°仰臥位と前屈位の間に有意差を認めた。

咀嚼時唾液分泌量でも同様の傾向が認められ、咀嚼開始から 1 分後で 30°仰臥位と 90°座位、および 30°仰臥位と前屈位の間に有意差を認め、2 分後、3 分後も同様の結果であった。

以上の結果から、リクライニング位は他の姿勢に比べて唾液分泌量が低下する可能性が示唆され、そのことが咀嚼能率の低下や口腔乾燥症状の悪化に関連する可能性があると考えられた。

14. レジン系装着材料の重合様式の違いが高透過性ジルコニアとの接着強さに及ぼす影響

○矢川彰悟^{1,2}、守 世里奈^{1,2}、岩崎太郎²、伏木亮祐²、小峰 太^{2,3}、松村英雄^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅲ講座²

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門³

目的

レジン系装着材料の重合様式の違いが高透過性ジルコニアとの接着強さに及ぼす影響を明らかにすること。

材料及び方法

被着体として高透過性ジルコニア円形平板(以下 UTML, カタナジルコニア UTML, クラレノリタケデンタル)を使用した。被着体は、直径 11.4 mm と直径 8.0 mm、厚さ 2.5 mm の 2 種類のジルコニア円形平板とし、ジルコニア表面を #600 の耐水研磨紙(3 M)にて注水研削を行った。その後、内径 5.0 mm の穴が開いた厚さ 50 μ m の片面テープで接着面積を規定し、各種レジン系装着材料を用いて、直径の異なるジルコニア試料を接着した。レジン系装着材料として、デュアルキュア型であるバナビア V5(以下 PV5, クラレノリタケデンタル)とクラパール DC(以下 DC, クラレノリタケデンタル)、光重合型であるクラパール LC(以下 LC, クラレノリタケデンタル)を用いた。その後、光照射器(Optilux 501, Kerr)を用いて、試料に対して垂直方向に 40 秒間光照射を行った群(以下 1 D)および試料の 4 方向から接着面に対し 45 度の角度で 10 秒間ずつ光照射を行った群(以下 4 D)の 2 群に分けて光照射を行った。製作した試料は、室温下の暗室中にて 1 時間(以下 1 H)と 24 時間(以下 24 H)の 2 条件で保管した。せん断接着強さの測定は、万能試験機(インストロン, Type 5567)を用いてクロスヘッドスピード毎分 0.5 mm の条件で行った。せん断接着試験後、各試料は実体顕微鏡にて破壊形式を観察した。

成績及び考察

PV5 において 1 H と 24 H ともに、4 D は 1 D に比較して有意に高いせん断接着強さを示したことから、PV5 に含まれる重合促進剤が十分な光照射により機能し、高い接着強さが得られたと考察される。また、1 H における 4 D において PV5 が、他のグループに比較し有意に高い接着強さを示したが、24 H において 1 D と

4 D はともにグループ間で有意差が認められなかった。このことから、接着から 24 時間後においては、デュアルキュア型と光重合型レジン系装着材料の接着強さは同等であることが示された。

15. 歯根肉芽腫における SIRT1 遺伝子の発現

○工藤 洋¹、武市 収^{1,2}、羽鳥啓介^{1,2}、牧野公亮¹、小木曾文内^{1,2}

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²

背景

SIRT1 は NAD⁺依存性ヒストン脱アセチル化酵素であり、細胞内の NF- κ B, p53 などの標的タンパク質に作用することで生体内において多様な働きを担っており、SIRT1 は生体組織内での炎症やアポトーシスに影響を与えることが知られている。慢性根尖性歯周炎は種々の炎症により根尖部歯周組織に生じる病変であり、慢性炎症内での SIRT1 が炎症性細胞の活性や根尖病巣の成長に関与している可能性がある。

研究目的

根尖病巣内での SIRT1 の局在と同酵素の炎症性細胞活性化について、Real-time PCR 法及び蛍光抗体法を用いた免疫組織化学的染色により検討する。

材料及び方法

1. 供試試料: 臨床的に難治性根尖性歯周炎と診断され、歯内外科処置または抜歯処置が適応とされた患者を被験者として、根尖病巣組織(n = 27)を外科的に採取した。採取されたサンプルはただちに分割し、一方は RNA 抽出、他方は 5 μ m の凍結切片を作製した。すべてのサンプルは HE 染色を施し、病理組織学的に歯根肉芽腫と診断された試料(n = 20)のみを実験に用いた。また、完全水平埋伏歯の抜歯の際に採取した健常歯肉組織(n = 5)をコントロールとして用いた。なお、試料の採取にあたっては歯学部倫理委員会の承認を得て実施した。(倫許 2014-6 号) 2. 細胞培養: U-937 を 1 \times 10⁶/ml に調整し、LPS(*E.coli* 0111:B4 由来)、Resveratrol にて刺激を行った。3. 免疫組織化学的検索: 凍結切片を用いて、抗ヒト SIRT1 ラビットモノクローナル抗体を用いた蛍光染色を行った。4. Real-time PCR 法: 組織または培養細胞から mRNA を抽出し SIRT1 特異的プライマーを用いて遺伝子発現を検索した。

成績及び考察

歯根肉芽腫中のリンパ球、マクロファージに SIRT1 タンパクが発現しており、SIRT1 遺伝子の発現量は健常歯肉と比較して有意に高いことが確認された。U-937 は LPS または Resveratrol の単独刺激よりも双方の刺激により SIRT1 遺伝子の発現量増加が確認された。以上により、SIRT1 は炎症が生じた場合に強く発現し炎症治癒に関与している可能性が示唆された。

16. 切端咬合及び咬合高径の増加が嚥下時の舌骨上筋群に与える影響

○林 晃成¹, 佐藤光保^{2,3}, 大西紗也子¹, 早田真由美¹, 植田耕一郎^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔健康科学分野¹

日本大学摂食機能療法学講座²

日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門³

目的

咬頭嵌合位における咬合高径の変化が嚥下時の舌圧や舌骨上筋群に与える影響についての報告はあるが、咬合位を変えて咬合高径を変化させたときの影響はほとんど報告されていない。そこで切端咬合位での咬合挙上が嚥下時の舌骨上筋群に与える影響について表面筋電図を用いて検討を行った。

対象および方法

対象は顎関節症や不正咬合がない健康成人7名(男性5名, 女性2名: 平均年齢 29 ± 3.4 歳)とした。表面電極設定部位は舌骨上筋群のオトガイ下導出とし、咬頭嵌合位、切端咬合位および切端咬合位で舌圧子(一枚の厚径が1.5 mm)を1~3枚咬ませた3種の厚径の異なる状態で嚥下開始から終了までの筋活動電位の活動時間と積分値を測定した。測定値はpaired-t test 及び一元配置分散分析で有意差の検定を行った。なお有意水準は5%とした。

結果および考察

切端咬合位では咬頭嵌合位に比べ嚥下時の舌骨上筋群の筋活動時間と積分値に有意な増加が認められた。これは切端咬合位での下顎の軽度前方移動に伴い舌骨上筋群の伸展が起こり、また臼歯部での咬合接触がなくなることにより嚥下時の下顎骨の強固な固定ができないことで円滑な嚥下動作が行えず、嚥下にかかる時間が延長し、舌骨上筋群に対する負荷が増大した可能性が考えられる。切端咬合位で舌圧子を咬ませた場合には厚径が増すに伴い測定値は増加傾向を示すものの、舌圧子を咬ませない切端咬合位に比べ有意な変化は認められなかった。切端咬合位での軽度な咬合高径の増加は舌骨上筋群の筋活動時間および積分値に影響しないことが分かった。

17. レジンセメントへの照射強度がCAD/CAMレジンプロックの象牙質接着性に及ぼす影響

○柴崎 翔^{1,2}, 黒川弘康^{2,3}, 川本 諒^{2,3}, 村山良介², 遠藤 肇², 高見澤俊樹^{2,3}, 宮崎真至^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科保存学第I講座²

日本大学総合歯学研究所生体工学研究部門³

目的

デュアルキュア型レジンセメントへの照射強度が、CAD/CAMレジンプロックの象牙質接着性に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

レジンセメントとして、Estecem Adhesive Resin Cement(EC, トクヤマデンタル), RelyX Ultimate Adhesive Resin Cement(RU, 3M ESPE), ResiCem Dental adhesive Resin Cement(RC, 松風)およびPanavia V5(PV, クラレノリタケデンタル)を、

CAD/CAM レジンプロックとして松風HC ブロック A3-LT(松風)を用いた。

ウシ下顎前歯歯冠部の唇側中央部に象牙質平坦面が得られるよう、耐水性SiCペーパーの#600を用いて調整し、象牙質被着面とした。

CAD/CAM レジンプロックを直径4 mm、高さ2 mmの円柱状に加工した後、アルミナ粒子でサンドブラスト処理し、超音波洗浄したものをCAD/CAM 試片とした。

CAD/CAM 試片および象牙質被着面を各製造者指示条件で処理した後、練和したセメントを塗布したCAD/CAM 試片を荷重0.2 Nの条件で圧接、余剰セメントを除去した。セメントをDual-cureで硬化させる条件では、CAD/CAM 試片の2方向から照射強度をそれぞれ400あるいは800 mW/cm²に設定し、30秒間光照射を行った。Self-cureで硬化させる条件では、5分間圧接したものを接着試験用試片とした。

これら試片を $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $90 \pm 5\%$ の条件で24時間保管した後、剪断接着強さを測定した。

成績および考察

供試したレジンセメントの24時間後の接着強さは、Self-cure条件と比較してDual-cure条件で有意に高い値を示した。また、レジンセメントへの照射強度の違いでは、いずれのセメントにおいても、照射強度が高い条件でCAD/CAM レジンプロックの象牙質への接着強さは上昇する傾向を示し、とくに、PVおよびRUでは400 mW/cm²と比較して、800 mW/cm²の条件で有意に高い値を示した。このように、レジンセメントへの照射強度の違いが接着強さに影響を及ぼした要因としては、セメントに使用される重合開始材系の違いなどが考えられた。

結論

CAD/CAM レジンプロックの象牙質に対する接着強さは、レジンセメントへの照射強度に影響を受けることが明らかとなった。

18. 歯根肉芽腫におけるFOXO3Aの発現

○石井佳笑¹, 羽鳥啓介^{1,2}, 武市 収^{1,2}, 牧野公亮¹, 小木曾文内^{1,2}

日本大学歯学部歯科保存学第II講座¹

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²

背景

Forkhead box O3A(FOXO3A)は、種々の癌において腫瘍抑制の役割を果たす転写因子であり、関節リウマチをはじめとする慢性炎症で発現し、細胞のアポトーシス誘導性転写因子であるFas ligand(FASL)の伝達機構を制御することで、慢性炎症を抑制すると報告されている。このことから、口腔内の慢性炎症であり、骨吸収を伴う根尖性歯周炎である歯根肉芽腫においてもFOXO3Aが発現し、その病態に関与していることが示唆される。

研究目的

免疫組織化学的検索およびReal time PCR法を行い歯根肉芽腫におけるFOXO3AおよびFASLの発現を検討する。

材料および方法

1. 口腔内診査およびエックス線診査に基づき慢性根尖性歯周

炎で外科的歯内療法または抜歯が適応とされた患者の根尖病巣組織を採取し、直ちに分割した後パラフィン切片の作製およびRNA抽出を行った。ヘマトキシリン・エオジン染色を行い歯根肉芽腫と診断された試料を本研究に用いた。なお完全水平埋伏智歯の抜去の際に採取した健康歯肉組織をコントロールとして用いた。(日本大学歯学部倫理委員会倫許 2014-6)

2. 供試試料中のFOXO3A発現を酵素抗体法にて免疫組織化学的に検索を行った。併せてマーカーとしてCD3, CD79 α およびNeutrophil Elastaseを用いてそれぞれTリンパ球、Bリンパ球および好中球におけるFOXO3Aの発現を二重蛍光染色にて検索を行った。
3. 歯根肉芽腫でのFOXO3AおよびFASL遺伝子発現を検索するため、FOXO3AとFASLの特異的プライマーを用いて、Real time PCR法を行った。各試料の遺伝子発現レベルはGAPDHの発現量により標準化を行った。コントロールとして、健康歯肉においても同様に行った。

成績および考察

免疫組織化学的検索において、FOXO3Aは健康歯肉組織では発現は認められず、歯根肉芽腫中のTリンパ球、Bリンパ球および好中球での発現が認められた。Real time PCR法において、歯根肉芽腫におけるFOXO3A遺伝子およびFASL遺伝子発現量は、健康歯肉組織と比べ有意に高かった。以上のことから、歯根肉芽腫中においてFOXO3AおよびFASLが発現していることが明らかとなった。

19. ラット頭頂骨GBAモデルを用いた骨外側方向の骨増生に対する骨膜の影響

○山本崇申¹、小澤康正¹、久保田達也¹、佐藤秀一^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座²

日本大学歯学部総合歯科学研究所 高度先端医療研究部門³

目的

これまで、ラット Guided Bone Augmentation(GBA)モデルを用いて骨外側方向の骨増生を検討してきた。しかし、骨外側方向に十分な骨を常に増生させることは困難である。その理由の一つとして、ラットGBAモデルにおける骨増生は既存骨側から起こるため、骨外側方向での骨増生が不十分となるためではないかと考えた。そこで、本研究ではラットGBAモデルのプラスチックキャップ上面を開放し、骨外側方向への骨増生に対する骨膜の影響を放射線学的および組織学的に検討した。

材料と方法

雄性Fischerラット(9週齢)に吸入麻酔後、全身麻酔を施した。次いで、頭頂部に局所麻酔を施し、矢状縫合に沿って切開を加え皮膚骨膜弁を形成、剥離、翻転した。そして、矢状縫合を中心に左右対称に直径5mmのトレファインバーにて、脳硬膜に達しない深さの外周溝を作製し、#2のラウンドバーを使用し、5カ所骨髄穿通し、実験母地とした。実験はプラスチックキャップの上面に穴を開けた群(開放群)、上面にチタンメッシュ(Jeli Tiメッシュ)を設置した群(Ti群)およびプラスチックキャップ群(PC

群)の3群とした。それぞれのキャップを接着性レジンで溝に固定した後、骨膜で被覆し、さらに、皮膚を縫合した。術直後を0週とし、以後2週ごとにマイクロCT(R-mCT, リガク)を12週間行い、経時的にキャップ内の新生骨様組織を観察評価した。また、術後12週の組織切片をヘマトキシリン・エオジン染色し光学顕微鏡下で観察した。

結果と考察

観察結果より、3群ともに経時的に骨外側方向に新生骨様組織の増生が認められた。とくに、Ti群は開放群およびPC群と比較して有意な骨増生を認めた。しかし、開放群とPC群間の骨増生に有意差は認められなかった。

以上のことから、ラットGBAモデルのキャップ上面にチタンメッシュを設置し、骨膜で被覆すると骨外側方向への骨増生が促進する可能性が示唆された。

20. 間接修復用コンポジットレジンを用いたインプラント上部構造の破壊強度

○高田宏起^{1,2}、神尾伸吾²、本田順一^{1,2}、田口耕平²、小峰 太^{2,3}、松村英雄^{2,3}

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹

日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅲ講座²

日本大学歯学部総合歯科学研究所 高度先端医療研究部門³

目的

間接修復用コンポジットレジンを用いたセメント固定式インプラント上部構造の破壊強度を比較検討する。

材料および方法

下顎第一大臼歯欠損に対するインプラント治療を想定し、インプラント体をポリエステル樹脂に植立した。インプラント上部構造は、ジルコニアフレームに前装用陶材を前装したクラウン(ZAC)、ジルコニアフレームに間接修復用コンポジットレジン前装したクラウン(ZIC)、ジルコニアフレームにCAD/CAMで製作された前装用コンポジットレジン接着したクラウン(ZCC)、CAD/CAMで製作されたモノリシックコンポジットレジンクラウン(MCC)の計4条件とした。

ジルコニアフレームは全周0.5mmの厚みとし、歯科用CAD/CAMにより製作した。ZACおよびZICは、ジルコニアフレームにそれぞれ陶材および間接修復用コンポジットレジンを築盛、前装した。ZCCはジルコニアフレーム、MCCはアバットメントにそれぞれスキャニング用ワックスアップを行い、それを基に、歯科用CAD/CAMを用いてコンポジットレジンブロックから前装部およびクラウンを製作した。その後、ZCCについては、ジルコニアフレームと前装部コンポジットレジンレジン系装着材料にて接着した。

全ての試料をレジン系装着材料にて、アバットメントに接着した。試料を37℃精製水中に24時間保管後、万能試験機を用いて破壊強度試験を行った。

成績及び考察

MCCの破壊強度(3.9±0.3kN)はZIC(3.3±0.5kN)と比較して有意に高い値を示した。ZAC(3.5±0.6kN)、ZICおよびZCC(3.7±0.5kN)間、またZAC、ZCCおよびMCC間の破壊強度に有意差

は認められなかった。

本研究で評価された全てのインプラント上部構造は、臼歯部の最大咬合力に耐えうる破壊強度を有していることが示された。また、ジルコニアフレームに前装する上部構造において、間接修復用コンポジットブロックを応用して前装部を CAD-on した上部構造は、陶材および間接修復用コンポジットレジンで築盛法で前装した上部構造と同程度の破壊強度を有することが示唆された。

21. 異なる部位の根管象牙質に対するレジンコアの接着性

○松吉佐季^{1,2}, 坪田圭司^{2,3}, 鈴木崇之², 島村 稔², 田村ゆきえ², 瀧本正行², 陸田明智^{2,3}, 宮崎真至^{2,3}
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹
日本大学歯学部歯科保存学第 I 講座²
日本大学総合歯学研究科生体工学研究部門³

目的

近年、失活歯症例に対して、健全歯質の保存を目的として直接法による支台築造が行われる頻度が増加している。しかし、直接支台築造用レジン(コア用レジン)を用いた歯冠修復法においては、高い予知性を得るためのエビデンスは十分とは言えないのが現状である。そこでコア用レジンを用いた臨床技法の確立を目的として、市販のレジンコアシステムの根管象牙質の異なる部位に対する接着性について、接着強さ試験および接合界面の走査電子顕微鏡(SEM)観察を行うことによって検討した。

材料および方法

供試したコア用レジンには、ビューティコア(BC, 松風), DC コアオートミックス ONE(DC, クラレノリタケデンタル), ユニフィルコア(UC, ジーシー)およびエステコア(EC, トクヤマデンタル)の合計 4 製品とした。

被着体としては、2～3 歳齢のウシ下顎前歯を用いた。歯根部の根尖側 2/3 を切除した後、頬舌方向で縦切した。さらに、歯頸部および歯頸部から切端側 8 mm の部位で切断し、切端側から切縁群、歯頸群および歯根群とに分類した。これらの試片を、通法に従って研削したものを接着試片とした。各製造者指示条件で歯面処理を行った後、レジンペーストを填塞、光重合したものを接着試験用試片とした。これらの試片を 37℃ 精製水中に 24 時間保管した後、万能試験機を用いて剪断接着強さを測定するとともに、コア用レジンと根管象牙質との接合状態について SEM を用いて観察した。

成績および考察

供試したコア用レジンの接着強さは、いずれの製品においても頬舌側間での接着強さに違いは認められなかったものの、切端群および歯頸群に比較して歯根群で接着強さは低くなる製品もあった。製品間での接着強さは、EC が他の製品と比較して接着強さは高くなる傾向が認められた。SEM 観察においては、いずれのシステムにおいてもギャップは認められず良好な接合界面が認められた。

結論

本実験の結果から、コア用レジンの根管象牙質接着強さは、製品によって異なるものの歯根群で接着強さが低下するシステムが

あることが明らかとなった。

22. イントラカインとしての IL-1 α の機能

○大林美穂^{1,2}, 塩野目尚², 齋藤五月^{1,2}, 尾曲大輔^{3,4}, 浅野正岳^{3,4}, 石上友彦^{2,5}
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹
日本大学歯学部歯科補綴学第 II 講座²
日本大学歯学部病理学講座³
日本大学歯学部総合歯学研究科生体防御部門⁴
日本大学歯学部総合歯学研究科臨床研究部門⁵

目的

IL-1 は炎症や感染防御に重要な役割を果たす炎症性サイトカインとして知られている。もともと内在性発熱因子やリンパ球活性化因子、胸腺細胞増殖因子、破骨細胞活性化因子などとして同定されたことから分かるように、多様な生物活性を持つ。

IL-1 には α と β の二種類の分子種が存在し、遺伝子は同じクロモソーム上に近接して存在する。そのなかで IL-1 α は 34 kDa の precursor form(pIL-1 α)として細胞内で産生された後、カルパインによりプロセッシングされ、中央部分から C 末端側のみの mature form(mIL-1 α)となって細胞外に分泌され、様々な機能を発揮する。しかし、pIL-1 α は mIL-1 α と同等な生物活性を有することや、通常の ER-Golgi の transport 経路をとらないことなど、IL-1 β とは異なった性質をもっている。なかでも pIL-1 α は核移行シグナルを持ち、核内で遺伝子の転写を control する機能を有していることから intrakine と呼ばれおり、きわめて興味深い分子である。

本研究では IL-1 α の intrakine としての働きをみるために IL-1 α 強制発現細胞を用いて新たな target gene を検索すると共に、これらの発現と誘導にどのような影響を与えるかを目的とした。

材料および方法

ヒト子宮頸癌由来細胞株(HeLa)および口腔扁平上皮癌細胞株(HSC-3)は 10% ウシ胎児血清加 DMEM 培地により培養した。full length IL-1 α を expression vector pcDNA に subcloning し (pcDNA-IL-1 α) トランスフェクションに用いた。transfection は Thermo Fisher Scientific 社製 Lipofectamine plus 試薬を用いた。transfection 後、培養上清および細胞溶解液を回収し、ELISA kit(R&D SYSTEMS)を用いて IL-1 α および IL-8 濃度を測定した。IL-8 mRNA 発現は real-time PCR により、また、IL-8 遺伝子の転写レベルでの発現調節については luciferase assay により検討した。

成績および考察

pcDNA-IL-1 α transfectant (IL-1 α transfectant)は培養上清および細胞溶解液中に高濃度の IL-1 α を産生した。また IL-1 α transfectant では mock transfectant に比較して有意に IL-8 産生が増強されていた。real-time PCR の結果、この増強は転写レベルで誘導されていることが明らかとなった。IL-1 α は intrakine として細胞核内で様々な遺伝子発現の調節に関与する可能性が示唆された。