第 69 回日本大学歯学会総会・学術大会
〔抄録〕

期日　平成 29 年 5 月 21 日（日）
会場　日本大学歯学部　大講堂

《特別講演》

「細菌 - ウイルス - 宿主相互作用」の解明 ―新たな視点に立った感染症の理解と予防法の提示を目指して―

今井 健一　　日本大学歯学部細菌学講座

歯周疾患がさまざまな全身疾患の誘因となることが明らかになるとともに，超高齢化社会を迎え，口腔から全身を診ること及び全身の情報を基に歯科医療と患者支援を行うことが求められる時代となりました。また，口腔ケアが健康長寿のために重要であることが広く認識されつつあります。このような時代の変動の中で私は，口腔に止まらず全身的なテーマを，また未開拓な分野をテーマにと考え研究を進めて参りました。この一環として，宿主とウイルスとの相互作用にも着目いたしました。

感染症の発症と進展においては，単一病原体のみが関与することは稀で，多くの微生物が関与します。例えば，季節性インフルエンザでは，ウイルス感染のみの場合には比較的軽症で済みますが，細菌との共感染が起こると重症化し死亡率も高くなります。歯周疾患も多くの微生物が関与する典型例です。口腔には極めて多数の微生物が生息しており，そこでは宿主と微生物との相互作用が頻繁に起こります。しかしこれまでの研究は，細菌のみを対象としたものばかりでした。口腔がヘルペスウイルスや HIV など，多くのウイルスの感染及び潜伏の場となっていることが近年明らかとなり，口腔における細菌とウイルスとの共感染が注目されるようになりました。しかし，感染症研究において「微生物間相互作用」の解明は，国際的にも未着手な領域です。

私は，これまでの「宿主 - 寄生体相互作用」に加え，「細菌 - ウイルス相互作用」という視点から研究を進め，主に口腔細菌がウイルス感染症の進展にも広く影響を及ぼしている可能性を明らかにして参りました。また，細菌固有の感染症と考えられてきた歯周疾患においても，その進展には細菌感染とウイルス感染との負の連鎖が重要な役割を担っていることを証明しつつあります。

本講演では，これまでの研究内容に加え，医科歯科連携の推進及び EBM 実践のため，新たに開始した口腔細菌と呼吸器疾患に関する研究の一端を紹介させて頂きます。微生物間および微生物と宿主との多彩なクロストーク、すなわち「細菌－ウイルス－宿主相互作用」の解明が、感染症に対する新しい理解と新規の治療や予防法の開発につながると考えております。

《一般講演》

1. CAD/CAM 用レジンブロック接着に対するシラン処理剤と 4-META-Na_2SO_3 プライマーの併用効果

○岡村研太郎[1,2]，小平晃久[1,2]，平場晴斗[2]，野川博史[2,3]，小泉寛恭[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

近年，CAD/CAM 用レジンブロックを使用した歯冠修復は，保険導入に伴い歯科診療において急速に普及しているが，脱離の報告も多く，有効な表面処理方法について不明な点が多い。本研究の目的は，シラン処理剤と 4-META-Na_2SO_3 プライマーの併用が CAD/CAM 用レジンブロックとアクリル（MMA-TBB）レジンとの接着強さに及ぼす影響を比較検討することである。

材料及び方法

CAD/CAM 用レジンブロックは，VITA ENAMIC（VE，VITA Zahnfabrik），カタナアベンシアブロック（KA，クラレノリタケデンタル），Lava Ultimate（LU，3 M ESPE）を使用し，厚さ 2 mm の板状に切断後，常温重合レジンで包埋し試料を作製した。各試料は耐水研磨紙＃1500 にて注水研削後に噴射圧 0.2 MPa でアルミナブラスト処理を行い，接着面とした。シラン処理剤として，3-トリメトキシシリルプロピルメタクリレートとリン酸二水素 10-メタクリロイルオキシデシルを混和したもの（PZ プライマー，PZ，サンメディカル）を使用した。またプライマーとして 4-META-Na_2SO_3 プライマー（ティースプライマー，TP，サンメディカル）を用いた。

被着面の処理条件は，PZ 群，PZ と TP 併用群（PZ + TP），プライマー処理なしのコントロール群（UP）の計 3 条件とした。表面処理後，MMA-TBB を筆積み法で充填した。試験体は 37℃の精製水中に 24 時間保管し，水中熱サイクル 0 回（TC0）もしくは 20,000 回負荷後（TC20,000），せん断接着強さを測定した。

成績及び考察

TC0 において，VE は PZ と PZ + TP が UP と比較し有意に高い接着強さを示し，PZ と PZ + TP 間には有意差は認められなかったが，TC20,000 において，PZ + TP は PZ よりも高い接着耐久性を示した。また，TC0 において KA は UP，PZ，PZ + TP の順に高い接着強さを示し，LU は各条件間での接着強さに有意差は認められなかった。このことから，CAD/CAM 用レジンブロックの組成の相違が，PZ と PZ + TP の効果に影響していることが考えられた。また，VE と MMA-TBB との接着においては，TP の併用に

より接着耐久性を向上させることが示唆された。

2. 歯の実験的移動は大脳皮質の体部位局在地図を変化させる

○金子茉莉[1,2]，堀貫恵利[1,2]，小林真之[3,5]，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]
日本大学歯学部薬理学講座[3]
日本大学歯学部総合歯学研究所臨床研究部門[4]
日本大学歯学部総合歯学研究所顎口腔機能研究部門[5]

目的

我々は，歯根膜電気刺激に対する大脳皮質の応答性に局在性があること，および歯の実験的移動によって大脳皮質の応答性が増大することを明らかにしてきた。しかし，電気刺激は人工的な刺激であり，歯根膜本来の感覚受容を反映しているとは言えない。そこで本研究では，ラットの上顎切歯・臼歯歯根膜に機械刺激を行い，大脳皮質への投射部位の局在性を検討するとともに，上顎切歯・臼歯に実験的矯正力を加えたラットにおける歯根膜機械刺激に対する神経活動の可塑的変化について検討した。

材料及び方法

実験にはSDラット(6～7週齢)を用いた。ウレタン麻酔下にて，右側上顎切歯・臼歯歯根膜にそれぞれ結紮線を巻き固定した。その後，ラット左側頭部を開頭し，体性感覚野および島皮質領域を露出させ，膜電位感受性色素RH1691を負荷して皮質表面を染色した。歯根膜の電気刺激に対する大脳皮質神経活動は，実体顕微鏡にCCDカメラを搭載した光学計測システムを用いて記録した。歯を実験的に移動させるために，上顎右側切歯・第一臼歯間にクローズドコイルを挿入したモデル動物を作製し，矯正力負荷1，3，7日後の歯根膜機械刺激時の大脳皮質神経活動の変化を解析した。

結果及び考察

一次体性感覚野(S1)における上顎臼歯歯根膜の機械刺激に対する応答領域は，上顎切歯歯根膜応答領域の背尾側に位置していた。S1における上顎切歯歯根膜応答領域は矯正力負荷後，徐々に背尾側に移動した。また，矯正力負荷1日後のモデル動物のS1および二次体性感覚野および島皮質(S2/IOR)では，対照群と比較して上顎切歯・臼歯に対する最大応答領域が有意に増大した。矯正力負荷モデルのS2/IORでの興奮性の増大は，矯正治療に伴う痛みを反映していると考えられる。またS1における応答領域の移動は，歯の位置感覚異常を引き起こす可能性があると考えられる。

3. 戦没者遺骨のDNA鑑定プロジェクトに参加して(第2報)

○堤　博文，丸山　澄，伊澤　光，小室歳信
日本大学歯学部法医学講座

背景・目的

厚生労働省社会・援護局は，第二次世界大戦で戦死された戦没者の身元をDNA鑑定で特定し，遺族に返還するための事業を始めるにあたり，2001(平成13)年，身元の特定にDNA鑑定を用いることの適否について，特に長期間経過した遺骨および集団の遺骨を対象としたDNA鑑定の有効性について技術部会を立ち上げて検討し，2003(平成15)年3月,「戦没者遺骨のDNA鑑定に関する検討会報告書」をまとめた。これをもとに「戦没者遺骨のDNA鑑定」が始まり，当講座は2004年(平成16年)5月から鑑定機関として参画し，2009年の第61回本総会でその取り組みについて第1報を報告した。

2015(平成27)年9月，衆院本会議で可決された「戦没者遺骨収集推進法」において，政府は沖縄，硫黄島およびフィリピン等の南方系で収集可能とみられる60万柱を積極的に収骨し，向こう10年間でDNA鑑定を行って返還することを国の責務と位置づけた。昨年には2010年に中断されていたフィリピンでの36万人の遺骨収集を再開することが日比間で合意に至っている。すでに，当講座には平成29年度分の一部として遺骨126柱のDNA鑑定が依頼されている。

そこで今回は，戦没者遺骨のDNA鑑定のこれまでの概況を第2報として紹介する。

材料および方法

DNA試料は，戦没者では主に歯から，遺族では口腔粘膜上皮から抽出した。鑑定に使用するDNA型は，常染色体STR 21ローカス(Globalfiler PCR Amplification kit™)，Y染色体STR 25ローカス(PowerPlex® Y23 System，Y-filer PCR Amplifocation kit™)，およびX染色体STR 12ローカス(Qiagen argus x-12 kit)である。さらに，母系遺伝を示すミトコンドリアDNA型を検査して総合尤度比を求めて，縁戚関係の有無について検討した。

結果および考察

これまでに当講座で行った鑑定数は遺骨1235柱，遺族587家族740検体についてDNA鑑定を行い，199柱を遺族に返還した。今後60万柱のDNA鑑定を目前にして，真の意味での戦争はまだまだ終わらないことを痛感させられる。

4. リン酸と4-META-Na_2SO_3プライマーの併用がヒトエナメル質とアクリルレジンとの接着に及ぼす影響

○小平晃久[1,2]，岡村研太郎[1,2]，赤澤伸隆[2]，野川博史[2,3]，
小泉寛恭[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

エナメル質に対する接着において，機械的嵌合の獲得を主たる目的としたリン酸エッチングが広く臨床応用されている。近年，歯質との化学的な接着に有効である，4-META-Na_2SO_3プライマー(ティースプライマー，以下TP，サンメティカル)が開発されている。リン酸エッチングとTP処理の有効性はすでに報告されているが，これらを併用した場合の接着性能は不明な点が多い。本研究の目的は，リン酸エッチング後のTP処理がエナメル質とアクリル(MMA-TBB)レジンとの接着耐久性に及ぼす影響を検討することである。

材料及び方法

ヒト抜去大臼歯の包埋試料を作製し(倫許2014-4)，耐水研磨紙#800にて注水研削したエナメル質を被着面とした。被着面処理は，リン酸エッチング剤として，35-45%リン酸(Kエッチャント GEL，以下KE，クラレノリタケデンタル)および20-25%リン酸(表面処理材高粘度レッド，以下RG，サンメディカル)を使用し，TPを各

製造者指示に従って使用した。被着面の処理条件は，KE 単独，TP 単独，KE と TP 併用，および RG と TP 併用の計 4 条件とした。内径 3 mm のマスキングテープで被着面を規定後にステンレス鋼製リングを設置し，MMA-TBB レジンを筆積み法により充填した。接着試験体は 37℃の精製水中に 24 時間保管し，水中熱サイクル（5℃ -55℃に各 1 分間浸漬）を 0 回または 20,000 回負荷後にせん断接着強さを測定した。個々の条件間の比較は，Steel-Dwass 検定法を用い，水中熱サイクル前後の比較は，Mann-Whitney U 検定法を用いた。

成績及び考察

リン酸エッチング剤と TP を併用した 2 群は，他の群と比較して有意に高い接着耐久性を示した。この結果から，エナメル質と MMA-TBB レジンとの接着において，リン酸エッチングと TP 処理の併用は，単独使用と比較して有効であることが明らかとなった。また，TP 処理はリン酸エッチングにより脱灰されたエナメル質深部へのモノマーの浸透を促進することが示唆された。

5. 持続的な圧迫力が破骨細胞の分化に及ぼす影響

○松生理恵子[1]，田中秀樹[2,3]，中井久美子[2,3]，
馬谷原琴枝[4,5]，川戸貴行[2,3]，前野正夫[2,3]，清水典佳[4,5]
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]
日本大学歯学部衛生学講座[2]
日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門[3]
日本大学歯学部歯科矯正学講座[4]
日本大学歯学部総合歯学研究所臨床研究部門[5]

目的

歯科矯正治療による歯の移動では，矯正力が歯根膜を介して歯槽骨に伝達され，圧迫側では骨吸収が，牽引側では骨形成が優位となる。骨吸収の主役を担う破骨細胞の分化は，破骨細胞前駆細胞膜上の RANK に RANKL が結合することで促進する。本研究では，破骨細胞前駆細胞として RAW264.7 細胞に持続的な圧迫力（CF）を負荷し，破骨細胞の分化に及ぼす CF の影響を検討した。

材料および方法

本研究では，96-well plate に RAW264.7 細胞を播種した後，50 ng/mL RANKL，10% ウシ胎児血清（FBS）および 1% 抗生物質を添加した培地 100 μL に，RANKL および FBS を含まない培地を 0（コントロール）あるいは 250 μL を加えることで well 底面に定着した細胞に CF を与え，4 日間培養した。なお，培地の比重を 1 と仮定した場合，培地総量 100 μL（コントロール）に比べて 350 μL（CF 負荷）で，CF が約 0.8 g/cm^2 増加する。破骨細胞への分化は，細胞を TRAP 染色して確認した。また，細胞融合に関連する DC-STAMP と OC-STAMP，および RANKL の受容体である RANK の遺伝子発現を real-time PCR 法で調べた。

成績および考察

TRAP 陽性細胞は，培養 2 日目以降にコントロールと CF 負荷の両方で認められ，培養 4 日目には CF 負荷でより大きな TRAP 陽性細胞が観察された。核を 3 ～ 5 個有する細胞数は培養 2 日目と 3 日目に，核を 6 個以上有する細胞数は培養 4 日目に，コントロールに比べて CF 負荷で有意に多かった。RANK，DC-STAMP および OC-STAMP の発現は，すべての培養日において CF 負荷で有意に増加した。

結論

持続的な圧迫力の負荷は，RANK，DC-STAMP および OC-STAMP の発現を増加させて破骨細胞前駆細胞の融合を誘導し，破骨細胞への分化を促進することが示唆された。

6. 蛍光標識ペプチドの集積を利用した受容体と細胞応答の相関解明に向けた新規アプローチ

○大谷紗織[1,2,3]，藤田智史[2]，外木守雄[3]，小林真之[2]
日本大学大学院歯学研究科専攻 口腔構造機能学分野[1]
日本大学歯学部薬理学講座[2]
日本大学歯学部口腔外科学講座[3]

目的

受容体に作用する薬物に対する影響を単一ニューロン単位で観察した場合，その効果が乏しいものから，非常に強い効果が認められるものまで幅広い応答が認められることが知られている。従来このような効果の強弱は細胞レベルでのばらつき，個体差として処理されてきたが，そのばらつきが発生するメカニズムに関しては不明な点が多い。本研究では細胞によって発現している受容体数が異なるという仮説に基づき，蛍光標識を行ったペプチドを投与し，その集積による蛍光強度と細胞応答の相関を検討した。

材料及び方法

実験にはニューロンの種類を同定するため，抑制性ニューロンが緑色蛍光で標識された遺伝子改変動物である VGAT-Venus ラットを用いた。ウレタン麻酔下のラットの頭蓋骨に，直径約 1 mm の骨窓を形成し，硬膜を除去した。その後，蛍光標識したソマトスタチンアナログ（SS-A）を負荷し，神経細胞周囲に集積する蛍光物質を 2 光子励起顕微鏡で観察した。また，その SS-A による生体反応について，血管の収縮を指標として検討した。

成績及び考察

SS-A の集積の有無を興奮性，抑制性それぞれのニューロンにおいて検討した。その結果，大脳皮質Ⅱ / Ⅲ層に相当する表層から 200-250 μm の深さでは，興奮性ニューロンの約 1/3 で蛍光物質が集積し，残る 2/3 では集積は認められなかった。一方で抑制性ニューロンでは，約 10% で興奮性ニューロンでは認められなかった高い集積を示し，残る 90% のニューロンでは集積したもの，認められなかったものが半数ずつであった。中大脳動脈の血管径を指標として，蛍光強度と収縮量の経時変化を記録したところ，血管壁での SS-A による輝度が高くなると共に血管が収縮した。これらのことから，神経細胞によって SS-A の集積量にばらつきがあること，蛍光輝度と誘発される生体反応は比例関係にあることが示唆された。発表では，蛍光標識オレキシンを用いた神経細胞単位のカルシウムイメージングの結果についても呈示する予定である。

7. 異なる前装材料を用いたインプラント支持固定性補綴装置の破壊強度

○近藤有秀[1,2]，本田順一[2]，高田宏起[1,2]，神尾伸吾[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科専攻 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研究所 高度先端医療研究部門[3]

目的

陶材あるいは間接修復用コンポジットレジンを前装したジルコニアをフレームとするセメント固定式インプラント支持固定性補綴装置の破壊強度を評価すること。

材料および方法

下顎第二小臼歯，第一大臼歯，第二大臼歯の3歯欠損症例に対するインプラント支持固定性補綴装置による治療を想定し，直径4.1 mmと5.0 mmのインプラント体を使用した。二つのインプラント体をポリエーテル樹脂に植立後，既製のチタンアバットメントを装着した。インプラント支持固定性補綴装置は，ジルコニアフレームに陶材を前装したブリッジ(PLZ)，間接修復用コンポジットレジンを前装したブリッジ(ILZ)および陶材焼付金属ブリッジ(PFM)の3条件とした。フレーム形態は，アバットメント周囲は均一に0.5 mm，ポンティック部は直径3.4 mmの円柱状に統一した。PLZとILZはCAD/CAMにてジルコニアフレームを製作し，PFMはType4金合金にてフレームを製作した。その後，前装用シリコーンガイドと金型を用い，それぞれに前装材料を前装した。上部構造内面に対してアルミナブラスト処理後，グラスアイオノマーセメントを用いアバットメントに装着した。全ての試料は37℃精製水中にて24時間保管後，万能試験機を用いポンティック中央部に荷重を負荷し，破壊強度試験を行った。破壊強度試験後，試料の破壊形式を光学顕微鏡で観察した。

成績および考察

PFM(1.93±0.19 kN)とILZ(1.89±0.16 kN)の破壊強度は，PLZ(1.36±0.15 kN)と比較して有意に高い破壊強度を示し，また，PFMとILZ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支持固定性補綴装置は，臼歯部の最大咬合力に耐えうる破壊強度を有することが示された。また，ILZとPLZの破壊強度に差が認められた要因は，前装材料である陶材と間接修復用コンポジットレジンの弾性係数の違いにより，ジルコニアフレームへの応力分布が異なり，インプラント支持固定性補綴装置の破壊強度に影響を及ぼしたと推察された。

8. 低出力超音波の出力が軟骨細胞分化と軟骨基質発現に及ぼす影響

○昔農淳平[1]，田邉奈津子[2,6]，阿部仁子[3,6]，中山渕利[3,6]，
佐藤光保[3,6]，間中総一郎[4]，長尾麻由[4]，鈴木直人[2,6]，
前野正夫[5,6]，植田耕一郎[3,6]
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]
日本大学歯学部生化学講座[2]
日本大学歯学部摂食機能療法学講座[3]
日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座[4]
日本大学歯学部衛生学講座[5]
日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門[6]
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻応用口腔科学分野[7]

目的

低出力超音波(LIPUS)は，骨折治療に使用される医療機器で，骨折の治癒を約38%促進させることが報告されている。LIPUSの骨芽細胞への影響については多数報告されているが，軟骨細胞についての報告は少ない。そこで，本研究はLIPUS刺激による軟骨細胞の分化及び細胞外マトリックスタンパクの発現の影響について細胞生物学的に調べた。

材料及び方法

マウスEC由来クローン化細胞株(ATDC5細胞株)を6 Wellプレートに播種。コンフルエントを確認後，ITS-Xを添加した軟骨細胞分化培地にて14日間培養を行った。その後LIPUS刺激(出力30または60 mW/cm^2，刺激時間20 min/day)を3，5，7日間加えた。軟骨細胞の転写因子であるSox9，軟骨細胞の細胞外マトリックスタンパクであるAggrecan，Type Ⅱ Collagen(Col Ⅱ)，Type X Collagen(Col X)，細胞外マトリックス分解酵素であるMatrix Metaloproteinase 13(MMP13)，石灰化を示すマーカーであるAlkaline phosphatase(ALP)のmRNA発現についてreal-time PCRを用いて調べた。

結果

Sox9，Aggrecan，Col Ⅱは，LIPUS刺激開始5日目においてコントロールと比較して出力60 mW/cm^{2}で有意な増加が認められた。Col Xは，7日目にコントロールと比較して60 mW/cm^{2}で有意な増加が認められた。一方，MMP13は7日目においてコントロールと比較して30，60 mW/cm^{2}で有意な低下が認められ，加えてALPはコントロールと比較して60 mW/cm^{2}で減少傾向が認められた。

結論

LIPUS刺激は出力依存的に軟骨分化促進転写因子及び細胞外マトリックスタンパクの発現を増加させ，さらにLIPUSの出力の違いが軟骨細胞の分化や機能発現に異なる影響を与えることが示唆された。

9. アクティブ処理の有無がユニバーサルアドヒーシブの歯質接着性に及ぼす影響

○崔　慶一[1,2]，今井亜理紗[1,2]，鈴木総史[1,2]，瀧本正行[2,3]，辻本暁正[2,3]，黒川弘康[2,3]，髙見澤俊樹[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]
日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門[3]

緒言

近年，様々な被着体に使用可能なユニバーサルアドヒーシブの臨床使用頻度が増加している。また，このアドヒーシブは歯質に対して異なるエッチングモードでの使用が可能なところから，操作性および接着耐久性の向上が期待されている。一方，アドヒーシブの塗布方法はアクティブ処理を指示する製品が多いものの，被着体あるいはエッチングモードの違いによっては，その歯質接着性が影響を受ける可能性が考えられる。そこで，演者らは異なるエッチングモードにおけるエナメル質および象牙質に対するユニバーサルアドヒーシブのアクティブ処理の有無がその接着性に及ぼす影響について，剪断接着試験および走査型電子顕微鏡観察から検討を行った。

材料および方法

供試アドヒーシブは，Scotchbond Universal（3 M ESPE），All-Bond Universal（Bisco），G-Premio Bond（GC）および Adhese Universal（Ivoclar Vivadent）の 4 製品とした。接着試験に際しては，ウシ下顎前歯エナメル質および象牙質を SiC ペーパーの #320 まで研磨を行い被着面とした。被着面に対して製造者指示条件に従いアドヒーシブの塗布を行った。その際，アクティブ処理指示製品についてはこれを行わない群，アクティブ処理の指示がない製品についてはこれを行った群を加えた。次いで，内径 2.38 mm の Ultradent 接着試験用治具を歯質表面に固定しレジンペーストを填塞，照射を行い接着試験用試片とした。また，アドヒーシブ塗布に先立ちリン酸処理を行った条件についても同様に試片を製作した。試片は 37℃精製水中に 24 時間保管後，万能試験機を用いて剪断接着強さを測定した。

また，接合界面について，加速電圧 10 kV の条件で SEM 観察を行った。

成績および考察

象牙質においては，ユニバーサルアドヒーシブのアクティブ処理は，アドヒーシブおよびエッチングモードに関わらず象牙質接着性の向上に寄与する可能性が示唆された。一方，エナメル質においては，リン酸処理を行った群では，いずれの製品もその接着強さが低下する傾向を示した。以上より，被着体によって有効な塗布方法は異なることが示唆された。

10. 支台歯形態の違いが高透光性ジルコニアを用いたラミネートベニアの適合に及ぼす影響

○草場公亮[1,2]，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

支台歯形態の違いが高透光性ジルコニアを用いたラミネートベニアの適合に及ぼす影響を明らかにすること。

材料及び方法

上顎中切歯に対するラミネートベニア修復を想定し，上顎右側中切歯レジン製人工歯（A55 A-119，ニッシン）を使用した。支台歯形成として，唇側面を歯頚側 1/3 で 0.3 mm，切縁側 2/3 で 0.5 mm 形成した。切縁部の形態は，切縁を削除しない window preparation（以下 WP）と，切縁を 1.0 mm 歯軸に対し垂直に形成する incisal bevel preparation（以下 IBP）および切縁 1.0 mm，口蓋側を 1.0 mm シャンファー形成する incisal overlap preparation（以下 IOP）の 3 条件とした。形成したレジン製人工歯は，付加型シリコーン印象材（TAKE1 Advanced LB Wash，Kerr）にて印象採得を行い，超硬質石膏（ニューフジロック IMP，GC）にて作業用模型を製作した。

CAD/CAM を用いてジルコニアブロック（カタナジルコニア UTML A2，クラレノリタケデンタル）よりラミネートベニアを各群 11 個製作した。製作されたラミネートベニア内面に対して，アルミナブラスト処理（ハイアルミナ，松風）後，セラミックプライマープラス（クラレノリタケデンタル）を塗布し，レジン系装着材料（Panavia V5 ユニバーサル，クラレノリタケデンタル）にて装着した。装着後，光照射器（Optilux 501，Kerr）を用いて唇面および切縁から 20 秒ずつ光照射を行った。

辺縁適合の測定は，走査型レーザー顕微鏡 1 LM21 W（レーザーテック）を用いてラミネートベニアと支台歯辺縁の間隙量を歯頸側，切縁（口蓋側），近心，遠心の 15 か所ずつ，計 60 点を測定した。

成績及び考察

歯頸側において WP，IBP および IOP 間で間隙量に有意差は認められなかった。また，他の 3 部位と全周において WP は他の群と比較し有意に小さい間隙量を示し，また IBP は IOP と比較し有意に小さい間隙量を示した。以上のことから，支台歯の曲率の変化が大きい部位において，ミリングバーによる加工が不完全になるため，高透光性ジルコニアを用いたラミネートベニアの辺縁適合は，支台歯形態の違いにより影響を受けることが推察された。

11. 頭頸部癌患者に対する摂食嚥下リハビリテーション介入の意義と課題についての質的研究

○大西紗也子[1,2]，阿部仁子[2]，石山寿子[2]，原八重子[3]，中山渕利[2]，佐藤光保[2]，金子忠良[3]，植田耕一郎[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]
日本大学歯学部摂食機能療法学講座[2]，口腔外科学講座[3]

目的

頭頸部癌患者は，摂食嚥下機能障害を伴う事が多く，これによりQOL（生活の質：Quality of Life）の低下を招く。本研究では，頭頸部癌患者に対する摂食嚥下リハビリテーションの介入が，患者の機能回復と QOL にどの様な影響を与えるかを明確にし，その介入の意義と課題について検討した。

方法

頭頸部癌患者のうち舌癌患者を対象とし，術後半年以内の新規群（3 名）について，術前・術直後・術後 3 ヶ月において，心理面及び機能面の分析を進めた。心理面については患者個人のインタビューを実施し，修正版グラウンデッド・セオリーアプローチ（M-GTA）にて分析した。インタビューの内容から分析ワークシートを作成し，概念生成を行った。また，定量的分析として，身体面・精神面・口腔機能について QOL 質問票を点数化する事により QOL を評価

した。また，舌癌術後1年以上経過している長期群(6名)に対しても同様の評価を行い，新規群と比較検討した。なお，全ての被験者が術後に摂食嚥下リハビリテーションを行った。

結果および考察

新規群3名と長期群6名のインタビュー内容から28の概念が抽出され，さらに分析を進めた結果，10個の上位概念が挙がった。その結果，機能回復を目的とする「機能的リハビリテーション」だけでなく，術後の不安に対する心理的支援を含めた「心理的リハビリテーション」が重要であった。さらに，QOL評価の量的分析においても，新規・長期群共に，口腔機能障害の重症度と精神的健康スコアが必ずしも相関していなかった。このことから舌癌患者においては両方の要素の重要性が示唆された。また，時間の経過と共に，「食事」よりも「発音」に対する不安の比重が増大する傾向にあり，摂食嚥下リハビリテーションの介入において，摂食嚥下機能だけでなく構音機能の改善を図るためのリハビリテーションを強化していく必要があると考えられた。

12. CAD/CAM ブロックに対するユニバーサルアドヒーシブの接着耐久性

○大内　元[1,2]，秋葉俊介[1,2]，植田浩章[1,2]，白土康司[2,3]，遠藤　肇[2,3]，陸田明智[2,3]，坪田圭司[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]

日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門[3]

目的

近年，CAD/CAMシステムの発展に伴って，各種セラミックスあるいはハイブリッドレジンを用いたブロックが臨床応用されている．これらのブロックを用いて製作された歯冠修復物は，口腔内で機能することになるが，何らかの事故が生じた場合には補修修復を行うこととなる．補修修復に際しては，多くの被着体に接着可能なユニバーサル接着システムの有効性が期待されるものの，その長期接着耐久性に関しては不明な点が多いのが現状である．そこで演者らは，これらユニバーサル接着システムのCAD/CAM用ブロックに対する接着耐久性について，剪断接着試験および走査電子顕微鏡(SEM)観察を行うことによって検討した．

材料および方法

供試したユニバーサル接着システムは，試作化学重合型接着システムK5D-01(トクヤマデンタル)，市販のScotchbond Universal Adhesive(3M ESPE)およびAll-Bond Universal(Bisco)を用いた．被着体としては，ジルコニアおよび酸化アルミナ(日本ファインセラミックス)，IPS e.max CAD(Ivoclar Vivadent)，CEREC Blocs(Sirona)およびエステライトブロック(トクヤマデンタル)を用いた．これらを常温重合型レジンに包埋，研磨した後，ハイアルミナ(松風)を用いてサンドブラスト処理を行った．次いで，アドヒーシブを塗布，レジンペーストを填塞し光重合を行ったものを接着試験用試片とした．これらの試片は37℃精製水中に24時間保管し，さらに30,000回温熱負荷(TC)した後に，万能試験機を用いて剪断接着強さを測定した．また，各条件における処理面に関しては，通法に従ってSEM観察を行った．

成績および考察

いずれのアドヒーシブにおいても，24時間条件と比較して，TC条件では接着強さが低下する傾向を示し，その傾向は被着体によって異なるものであった．K5D-01の低下傾向は他のシステムに比較して小さいものであり，臨床における有用性が示唆された．

結論

本実験の結果，各ユニバーサル接着システムの接着耐久性は被着体および表面処理により異なる傾向が認められた．

13. CAD/CAM で製作された前装部とジルコニアフレームとの接着強さ

○木村文晃[1,2]，岩崎太郎[2]，伏木亮祐[2]，窪地　慶[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

歯科用CAD/CAMによりフレームと前装部を別々に切削加工し，それらを結合させて歯冠補綴装置を製作するCAD-onテクニックを想定し，ジルコニアフレームと前装部の材料として歯科切削加工用セラミックスとレジン材料との接着強さを評価すること。

材料及び方法

前装部の材料としてIPS e.max CAD(以下EMAX)，カタナアベンシアブロック(以下AV)を，被着体としてカタナジルコニア(以下ZR)を使用した。EMAX，AVは直径8.0 mm，厚さ2.5 mm，ZRは直径11.4 mm，厚さ2.5 mmの円形平板とした。レジン系装着材料はパナビアV5(以下PV5)を，プライマーはクリアフィルポーセレンボンドアクチベータ(以下Act)，クリアフィルフォトボンドボンディングエイジェント(以下CPB)，CPBとActの等量混和液(以下CPB + Act)を用いた。

EMAX，AVの表面を#600の耐水研磨紙で注水研削し，アルミナブラスト処理(AB)，9.6%フッ化水素酸処理，処理なしの3つの表面処理群に分けた。さらに各群に対してAct，CPB，CPB + Act，およびプライマー未塗布を加えた計4条件でプライマー処理を行った。ZR表面を#600の耐水研磨紙で注水研削後，AB処理を行い接着面とした。ZR表面に対して，CPBを塗布後，PV5を用いて，各種表面処理およびプライマー処理を行ったEMAX，AVを接着した。試料は，37℃精製水中に24時間浸漬後，万能試験機を用いてせん断接着試験を行った。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

EMAX試料では，Act，CPB+Actによるプライマー処理が，他のプライマー処理群に比較して有意に高い接着強さを示した。これにより，EMAXに対しては，シランを含むプライマーでの処理が，ジルコニアとの高い接着強さの獲得に有効であることが示された。AV試料では，AB群が他の表面処理群と比べて有意に高い接着強さを示したが，プライマー処理群間では有意差は認められなかった。このことから，AVに対しては，アルミナブラスト処理により接着面を粗造化し，機械的嵌合を獲得することが接着強さの向上に有効であると示唆された。

14. 物性とリクライニング姿勢が喉頭閉鎖に及ぼす影響：320-ADCT を用いた運動学的解析

○續　英高[1,2]，阿部仁子[2]，中山渕利[2]，佐藤光保[2]，植田耕一郎[1,2]
日本大学大学院歯学研究歯学専攻 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]

目的

320 列面検出器型 CT（以下 320-ADCT）が嚥下研究に導入され，3 次元的な運動学的解析が可能となった。前研究ではリクライニング姿勢 45 度において物性が食塊輸送と声帯閉鎖のタイミングに影響を与えることが示された。近年，リクライニング角度を調節した撮影が可能となり，本研究では物性とリクライニング姿勢（45 度・60 度）が嚥下時の喉頭閉鎖に及ぼす影響を 320-ADCT を用いて検討した。

方法

健常成人 12 名（男性 2 名，女性 10 名，平均年齢 41.9±19.3 歳）。嚥下 CT 専用リクライニング椅子に着座させ，とろみバリウム溶液（honey thick，1700 mPa）および液体バリウム溶液（thin）の嚥下をリクライニング 45 度，60 度で撮影した。60 度 honey thick，60 度 thin，45 度 thin の 3 施行の嚥下を順不同で実施した。撮影後，画像を 0.1 秒間隔に再構成と 3 D-CT 像を構築し，嚥下諸器官（舌骨・軟口蓋・喉頭蓋・喉頭前庭・声帯・食道）の運動開始・終了時間を比較検討した。

結果

60 度 thin は 60 度 thick に対し食塊先端が咽頭・食道に早期に到達し，声帯は早期に閉鎖した（P＜0.05）。60 度 thin と 45 度 thin では，食塊輸送の運動時間に有意差はみとめなかった。諸器官の運動開始時間にも有意差をみとめなかったが，45 度 thin に置いて被験者の 3 分の 1 が舌骨前上方運動開始前に声帯閉鎖開始をみとめた。

結論

リクライニング 60 度でも，液体は早期に咽頭に移送され，声帯のみが運動開始時間を早め，前研究と同様の物性による運動調整をみとめた。またリクライング 45 度と 60 度の比較では，一部の被験者で食塊移送時間に関係なく早期の声帯閉鎖をみとめ，重力の影響による防御的な反応と考えられた。声帯閉鎖が他の嚥下事象と独立して運動調整に寄与していることが示された。

15. Ablation of unmyelinated C-fibers modulates of GABAergic transmission in insular cortex.

○ Shota Murayama[1]，Masayuki Kobayashi[3,4] and Bunnai Ogiso[1,2]
Department of Endodontics，School of Dentistry，Nihon University[1]
Division of Advanced Dental Treatment，Dental Research Center，Nihon University[2]
Department of pharmacology，School of Dentistry，Nihon University[3]
Division of Oral and Craniomaxillofacial Research，Nihon University[4]

Purpose

Sensory experience plays critical roles in the refinement of cortical connections. The cortical plastic changes have been enthusiastically studied in the visual cortex that monocular deprivation during a juvenile period yields a strong shift of ocular dominance column toward the non-deprived eye（ocular dominance plasticity）. The unbalance of signal inputs causes plasticity in visual cortex. Therefore, we hypothesized that the addition of the primary afferent fibers（A δ and C-fiber）induces plastic changes in insular cortex（IC）, which receives orofatial nociceptive inputs. To test the hypothesis, we made the model whose C-fibers were ablated by capsaicin injection and examined plastic changes of inhibitory neuronal circuits in this model.

Materials & Methods

At postnatal days 1-2, neonatal rats received subcutaneous injection of capsaicin（50 μl）to the base of the neck. Miniature inhibitory postsynaptic currents（mIPSCs）were recorded from excitatory pyramidal neuron（Pyr）in IC layers II/III on 18 to 28 days after injection. Unitary IPSCs（uIPSCs）were recorded from the connection between inhibitory fast-spiking interneuron（FS）and Pyr. To evaluate the precise synaptic profiles including the number of release sites, release probability, and quantal size, we employed variance-mean（V-M）analysis. To estimate the quantal size of IPSCs in FS → Pyr connections, we replaced 2 mM $[Ca^{2+}]$ o with 4 mM Sr^{2+}, which induces asynchronous release of GABA（aIPSC）.

Results

Pyr of the capsaicin-treated rats（CAP）showed the smaller amplitude of mIPSCs than Sham without changing the frequency of mIPSC. The amplitude of uIPSCs obtained from CAP was also smaller than that from Sham. V-M analysis demonstrated the smaller quantal size in CAP compared to that in Sham. On the other hand, the release probability and the number of release sites were not statistically different between them. In agreement with the results of the mIPSCs and the quantal size of V-M analysis, the amplitude of aIPSCs in CAP was smaller than that in Sham.

Discussion

We demonstrated that inhibitory synaptic transmission in IC was significantly reduced by ablation of C-fibers. The suppression of postsynaptic mechanisms of $GABA_A$ receptors is likely to be an underlying mechanism of the smaller amplitude of m, u, and aIPSCs.

16. リン酸化 Extracellular Signal-regulated Kinase 陽性を示す三叉神経脊髄路核―視床・橋投射ニューロンの神経損傷後における機能変化

○岡田真治[1,2]，片桐綾乃[3,4]，岩田幸一[3,4]，
飯沼利光[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所機能形態部門[4]
日本大学歯学部総合歯学研究所顎口腔機能部門[5]

目的

口腔顔面領域の感覚は三叉神経脊髄路核や上部頸髄(C1)を経由し，視床後内側腹側核固有部(VPM)や橋結合腕傍核(PBN)に投射した後，体性感覚野や辺縁皮質に送られる。三叉神経障害性疼痛発症時の痛覚情報伝達機構において，三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)およびC1からの投射ニューロンが重要な役割を果たすと推測されるが，その機能変化には不明な点が多い。そこで本研究では，C-fiberまたはA-fiber入力を受ける投射ニューロンの機能変化を解明する。

材料および方法

眼窩下神経慢性絞扼モデルラット(ION-CCI)の右側VPM，PBNに逆行性神経トレーサーFluorogold(FG)を注入した。FGで投射ニューロンをラベルした後，左側上口唇にカプサイシンまたは機械刺激を加え，侵害刺激に反応するリン酸化Extracellular Signal-regulated Kinase(pERK)を指標に，VcおよびC1におけるC-fiberまたはA-fiber入力を受けるpERK陽性投射ニューロンの分布様式を解析した。なお，左側上口唇への刺激に対する逃避閾値低下が確認されたラットのみFGを注入した。

結果および考察

Sham群に対してION-CCI群では，VPM投射ニューロン数が増加し，また，カプサイシン，機械刺激ともにpERK陽性細胞数が増加した。さらに，カプサイシン刺激ではpERK陽性VPM投射ニューロン数およびpERK陽性PBN投射ニューロン数ともにION-CCI群で増加したが，機械刺激ではpERK陽性PBN投射ニューロン数のみの増加が認められた。

上記の結果より，三叉神経損傷により，VPMおよびPBNにおいてはC-fiber入力を受ける投射ニューロンの侵害情報伝達機能が，またPBNにおいてはA-fiber入力を受ける投射ニューロンにおいてその機能が増強される可能性が示された。

17. Burning Mouth Syndrome 患者の侵害熱刺激による脳賦活の経時変化

○小橋龍太郎[1,2]，篠崎貴弘[2]，今村佳樹[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]
日本大学歯学部口腔診断学講座[2]

目的

Burning Mouth Syndrome(以下，BMS)は，灼熱感様のピリピリとした疼痛を伴う疾患である。口腔には何ら器質的疾患は疑われず，更年期の女性に多くみられる。

慢性の疼痛刺激が継続しているBMS患者においては，サメーションによる疼痛の増幅現象が生じていると考えられる。

そこで，BMS患者のfunctional MRI(以下，f-MRI)を用いて，侵害熱刺激による脳賦活部位の時間的加重について検討を行った。

方法

MR装　置　はSiemens製Magnetom Symphony 1.5 Teslaにconeventional birdcage head-coilを使用して撮像した。

侵害熱刺激及び非侵害熱刺激は，被験者の右側手掌と右側下口唇にIntercross社製 NC200を用いてペルチェ素子により与え，MRIは水平仰臥位にて撮像した。侵害熱刺激を与えている32秒間を前半と後半の16秒にわけ，前半と後半の比較により時間的加重を計測した。

成績及び考察

BMS患者の侵害熱刺激時脳賦活の前半・後半比較により，後半は前半に比べて手掌刺激にて，視覚野，背側前帯状皮質，中側頭回，眼窩前頭野，下前頭前野，被殻，尾状核に，口唇刺激では，視覚野，前運動野，補足運動野，前頭前野背外側部，尾状核，紡錘状回，前頭眼野，腹側前帯状皮質，海馬により強い賦活が見られた。

前帯状皮質・島皮質などは，情動や感情を司る部位と言われている。BMS患者には不安傾向などがあり，ストレスにさらされていることが多く，同部位の時間的加重による賦活が強いことは，疼痛感覚が修飾され，より強い疼痛反応として表出させるものと考えられる。

この様に，脳の機能的面がBMS患者特有の疼痛反応に関与していると考えられる。

18. 電解酸性機能水を利用した歯内療法における殺菌効果の比較・検討

○岡村貞之介[1]，浅野正岳[2,4]，勝呂　尚[1,5]，田村宗明[3,4]，
今井健一[3,4]，小木曽文内[1,5]
日本大学歯学部歯科保存第Ⅱ講座[1]，
病理学講座[2]，
細菌学講座[3] 総合歯学研究所生体防御部門[4]，
総合歯学研究所高度先端医療研究部門[5]

目的

食塩水を電気分解して得られる電解酸性機能水(FW)と陰極水及びNaOClの殺菌効果及び生体為害性について比較・検討することを目的とした。

実験試料

1. FW(pH2.7，有効塩素濃度 20~30 ppm)
2. 陰極水(pH11.5，有効塩素濃度 0 ppm)
3. NaOCl(pH11.2~12.2，有効塩素濃度 10,000 ppm)
4. 供試菌種(*S. mutans, E. faecalis, P. gingivalis, C. albicans*)

方法

1)殺菌効果の比較

$1\times10^{6-8}$ CFU/mlに調整した各菌液10 μlを各機能水1 mlに懸濁し，30秒間反応させた。懸濁液をそれぞれ100 μl採取し，Brain Heart Infusion(BHI)寒天培地にプレーティングを行い，37℃で48時間培養後，コロニー数をカウントし各機能水の殺菌効果を比較した。

2)FWの殺菌効果についての検討

上記1.と同様の方法により，蒸留水により段階的に希釈したFWを用いて殺菌効果を検討し，pHの測定を行った。

3)殺菌メカニズムの検討

pH3 に統一し種々の有効塩素濃度を有する電解水を作製し，上記の 1. と同様の方法により殺菌効果について検討した。

結果

1)4 菌種に対して NaOCl と FW は強力な殺菌効果を示した。陰極水は *P. gingivalis* 以外には著名な殺菌効果を示さなかった。また生体為害性を調べるために乳酸脱水素酵素(LDH)の放出量を測定したところ，FW で多く放出されていたが NaOCl では測定できなかった。

2)*E. faecalis* に対して FW は有効塩素濃度 10 ppm 以上，強酸性領域で強い殺菌効果が認められた。

考察

NaOCl は強力な殺菌効果を有するが様々な臨床上の問題がある。FW は NaOCl と遜色ない殺菌効果を示し，また生体に対し安全なことから，根管洗浄剤として使用し得る可能性があることが示唆された。

19. 滅菌グローブとの接触による Ti メッシュの生物学的活性の低下と UV 処理による回復

○大久保貴久 [1,2]，月村直樹 [2,3]，石上友彦 [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Ⅱ講座 [2]

日本大学歯学部総合歯学研究所臨床研究部門 [3]

目的

GBR(Guided Bone Regeneration)等の骨再生に用いられる Ti メッシュは使用時に必要な量を切り取り保管される。またトリミング時に Ti メッシュはグローブやハサミ等と接触する。これらの接触において Ti メッシュが本来有する生物学的活性が低下し，そうであれば UV 処理により低下した生物学的活性が回復するという仮説を立てた。

材料及び方法

Ti メッシュを 3 群にわけた。Control 群(開封直後)，グローブで 3 分間接触した Glove 接触群，Glove 接触群に UV 処置を施した UV 群を用意した。UV 処理は UV 装置で 12 分間行った。全てのサンプルは滅菌した後に使用した。ddH_2O による接触角を計測した。SEM を用いて Ti メッシュの表面形状を評価した。XPS を用いて表面元素分析を行った。8 週齢の SD ラットの大腿骨より骨芽細胞を接取し Ti メッシュ上に播種，その後細胞接着数，細胞の形態，ALP 活性を測定した。

成績及び考察

SEM により細胞播種前の Glove 接触群の Ti メッシュ表面観察において顆粒状の構造体，不均一な電子線の反射像を確認した。Glove 接触群は Control 群より疎水性であったが，UV 群は超親水性になった。Glove 接触群では Si が増加したが C 量は変わらなかった。UV 群では Control と Glove 接触群の 40% 減少した。24 時間後の細胞接着数，Day5 の ALP 活性では，Glove 接触群は Control 群より半減した。しかし UV 群においてはこれらの値を大きく上昇し，Control 群のそれぞれ 1.5 倍，3 倍に達した。24 時間後の細胞伸長は Glove 群で有意に減少したが，UV 群では Control 群と同等まで回復した。グローブで触れた Ti メッシュ上での骨芽細胞の細胞活性は有意に低下する。活性が低下した Ti メッシュは UV 処置により骨芽細胞との活性を回復することが示唆された。

20. 脳虚血モデルラットにおける alarmin の挙動とその影響

○植木皓介 [1,2]，尾曲大輔 [3]，浅野正岳 [3]，大木秀郎 [2]

日本大学歯学部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 口腔外科学講座 口腔外科学分野 [2]

日本大学歯学部 口腔病理学講座 [3]

背景

Alarmin とは，細胞に障害が加わることにより細胞外に放出される分子の総称であり，代表的なものとして IL-1 α や high mobility group box protein 1(HMGB1)などが知られている。これらは，生体に加わった傷害に対して，これを修復すべく炎症を惹起させるための分子であると考えられている。

目的

脳血管疾患に随伴する生体内の種々の変化にも alarmin が関与するのではないかとの着想を得，脳梗塞に伴って alarmin 分子の発現がどの様に変化するのか検索することを目的とした。

方法

ラットの両側総頚動脈を結紮し脳血流を 30 分間遮断した後，結紮を解除することで血液を再灌流させ，脳虚血モデルラットとした。結紮前後の末梢血を採取し IL1-α・HMGB1 濃度を ELISA 法により測定した。また，灌流固定後の諸臓器における組織学的変化及び IL-1 α，HMGB1 の局在変化を免疫組織学的に検索した。

結果及び考察

HE 染色により，脳組織の一部にエオジン濃染領域の出現，神経細胞体核の膨潤など明らかな梗塞性変化が認められた。その他の諸臓器については，腎臓においてボーマン嚢の拡張が，脾臓は濾胞内静脈の拡張が認められた。肺，心臓，肝臓，胃においては顕著な変化は認められなかった。免疫染色の結果は，HMGB1 発現に関しては，肝臓の類洞を形成する内皮細胞や，脾臓のマクロファージ系の細胞，心筋細胞間の毛細血管内皮細胞などにおいて顕著な増強が認められた。一方, IL-1 α については大きな変化は認められなかった。蛍光免疫染色により脳内のマイクログリアが IL-1 α 陽性を示し，脳虚血に伴い形態の膨化と IL-1 α 染色性の変化を伴っていることが明らかとなった。末梢血液における IL-1 α 及び HMGB1 濃度は，結紮前と比較して，IL-1 α では濃度が上昇したのに対し，HMGB1 では顕著な変化は認められなかった。脳虚血モデルにおける alamin 分子の発現が，脳のみならず全身諸臓器において劇的に変化する事を示唆するものであり，脳虚血に随伴する病態の理解に極めて重要なものであると考えている。

21. Lamin A の過剰発現は骨芽細胞分化を促進する

○築根直哉 [1]，久保田達也 [1]，内藤昌子 [2,3]，高橋富久 [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]

日本大学歯学部解剖学第Ⅰ講座 [2]

日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門 [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科学研究所　高度先端医療研究部門 [5]

目的

核内膜タンパク質をコードする Lamin A 遺伝子の C 末側欠損変異は，骨粗鬆症を伴う早期老化症を引き起こす。しかしながら骨形

成における Lamin A の発現制御機構や機能について不明な点が多い。本研究では Lamin A 遺伝子の機能を明らかにするため，マウス頭蓋骨由来の骨芽細胞株（MC3 T3-E1）を用いて Lamin A の過剰発現細胞を樹立し，骨芽細胞分化への影響を解析した。

材料と方法

はじめに，MC3T3-E1 細胞を β-GP，アスコルビン酸，デキサメサゾンを含む分化誘導培地に BMP-2 存在下または非存在下で 21 日間培養を行い，Lamin A 遺伝子発現変化をリアルタイム PCR 法にて解析を行った。次に，MC3T3-E1 細胞を用いて，Lamin A を過剰発現する細胞を樹立した。BMP-2 を含む分化誘導培地で樹立された細胞を 21 日間培養し，Lamin A が骨芽細胞分化に及ぼす影響を解析した。評価方法として，アルカリフォスファターゼ（ALP）染色とアリザリンレッドによるカルシウム染色を行った。骨芽細胞分化に関連する遺伝子の発現変化を，リアルタイム PCR 法にて解析した。

結果

MC3T3-E1 細胞を分化誘導培地で培養すると，経時的に ALP 染色性が増加した。さらに BMP-2 を添加することで石灰化を伴う骨芽細胞分化を誘導した。Lamin A 遺伝子発現は，石灰化を伴う分化と関連して発現量が増加した。Lamin A の過剰発現は，MC3T3-E1 細胞の ALP 染色性や骨基質遺伝子（Col1, BSP, OC, DMP1）の発現量を増加させ，石灰化を伴う骨芽細胞分化を促進した。これらの結果から Lamin A 遺伝子は骨芽細胞分化や骨基質形成能を促進する働きをもつことが推察された。

22. 強心配糖体による口腔扁平上皮癌細胞の IL-8 産生抑制メカニズムの解析

○齋藤五月[1,2]，浅野正岳[3]，尾曲大輔[3]，月村直樹[2,4]，
石上友彦[2,4]
日本大学大学院研究科歯学専攻 応用口腔科学分野[1]
日本大学歯学部歯科補綴第Ⅱ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]

目的

強心配糖体は主に心不全の治療薬として用いられているが，悪性腫瘍にも効果を示すことが明らかとなり，これまで多くの研究がなされている。しかし，強心配糖体が口腔扁平上皮癌細胞に与える影響を検討しているものは少ない。そこで本研究では，強心配糖体であるウアバインが口腔扁平上皮癌細胞に与える影響について検討した。

材料及び方法

口腔癌細胞株（HSC-3）は，10% FCS-RPMI1640 培地により，37℃，5% CO_2 インキュベーター内で培養した。HSC-3 細胞を 1×10^5/24-well plate に播種し，ウアバインを 0，31，62，125 μM の濃度で，1 時間 pre-incubation した。さらに 6 時間培養後，ELISA により IL-8 濃度を測定した。IL-8 mRNA の発現変化は，real-time PCR により計測した。Luciferase assay は，HSC-3 細胞を 1×10^5/48-well plate に播種し，IL-8 遺伝子の 5'-untranslated region（5'-UTR）又は NF-κB を挿入した luciferase reporter vector を Lipofectamine により transfection することにより行った。transfection 後，細胞を 31 μM ウアバインにより 1 時間 pre-incubation した。さらに 6 時間培養後，細胞を passive lysis buffer により溶解し，Dual-Luciferase Reporter Assay System（Promega 社）を用いて luciferase activity を測定した。

成績及び考察

HSC-3 による恒常的な IL-8 産生はウアバイン濃度に依存して抑制され，31 μM ウアバイン存在下での IL-8 産生は，コントロールと比較して 53±1.3% に減少した。real-time PCR による検討の結果，IL-8 産生低下が遺伝子レベルの発現抑制によるものである可能性が示唆された。そこで，Luciferase assay により IL-8（5'-UTR），NF-κB の転写活性について検索したところ，ウアバイン存在下での NF-κB の luciferase 活性は，コントロールと比較して 48±0.06% に低下した。しかし，IL-8（5'-UTR）は 96±0.02% と変化が認められなかった。そこで IL-8（5'-UTR）1500 bp 上流域を含む reporter vecter を用いて，同様の方法で luciferase 活性を測定したところ，コントロールと比較して 41±0.05% 低下した。これらの結果から，ウアバインは HSC-3 による恒常的 IL-8 産生を転写レベルで抑制し，これは NF-κB によるものである可能性が示唆された。また，ウアバイン感受性 NF-κB 結合部位は IL-8 の 1500 ～ 150 bp 領域内に存在することが推測された。

23. 上下顎前方移動術前後における上気道形態変化と上顎骨移動方向の関係について

○中村亮太[1]，荻澤翔平[1]，佐藤貴子[1]，柳川圭一[1]，
青木淳也[1]，大谷紗織[1]，山田剛也[3]，金子忠良[1]，
大木秀郎[1,2]，外木守雄[1]
日本大学歯学部 口腔外科学講座 口腔外科学分野[1]
日本大学歯学部 三島歯科医療センター[2]
彦根市立病院 歯科口腔外科[3]

緒言

現在，睡眠時無呼吸症患者に対し，上下顎前方移動術（以下 MMA）を施行することで症状の緩和が可能であることが判明している。今回，MMA による上気道領域の形態変化を観察するため，咬合治療を目的に MMA を施行した症例に対し，術前および術後に撮影し，得られた CT-DICOM データをもとに上気道領域の 3D モデルを作成，術前後の気道容積および上顎骨移動量を計測し，比較を行ったので，その概要を報告する。

材料および方法

当院で顎変形症と診断され，2013 年 8 月から 2015 年 3 月の期間に MMA を施行し，術前および術後 1 年以降に CT 撮影を行った 14 症例に対し，三次元解析ソフト mimics® を用いて，術前後それぞれの上気道領域における基準平面ごとの容積を計測した。また，セファロ分析点である A 点および PNS における，SN 平面に対する上顎骨移動量を計測し，各症例の比較を行った。

結果

MMA 施行症例の上気道容積は，上気道全体で有意な拡大を認め，中でも軟口蓋中点～軟口蓋尖端の範囲においてもっとも大きな拡大率を示した。また，上気道容積の拡大と，A 点および PNS における上顎骨の前方移動量は，正の相関性を認めた。また，上気道容積の拡大と，上記 2 点における上顎骨の上方移動量は，概ね正の相関性を認めるものの，一部で負の相関性を認めた。

結語

MMA を施行することにより，上気道容積は有意に拡大されることが示唆された。さらに，上顎骨移動量に対し，概ね比例して気道容積は拡大することが示唆された。また，上顎骨上方移動と前方移

動の，上気道容積拡大に対する寄与を比較した場合，前方移動による寄与が大きいことが示唆された。

24. ラット大脳皮質に存在するコリン作動性ニューロンの役割

○金子啓介[1,2]，大井良之[2]，小林真之[3]

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麻酔学講座[2]

日本大学歯学部薬理学講座[3]

目的

島皮質は痛みや意識，種々の精神疾患に関与する大脳皮質である。前脳基底核からコリン作動性ニューロンの投射を受ける大脳皮質には，アセチルコリンと GABA を共放出するコリン作動性ニューロンが存在している。特に島皮質の浅層にはコリン作動性ニューロンが多く集積しており，局所的にアセチルコリンを放出することで前脳基底核からの投射に補助的な役割を果たしていると考えられる。そこで我々は，島皮質の局所神経回路におけるコリン作動性ニューロンのホールセル記録を行い，膜特性の変化とシナプス応答を検討した。

材料及び方法

実験には 20-35 日齢の VGAT-Venus(+/m)-ChAT-tdTomato(+/m)ラットを用い，島皮質を含む脳スライスを作製した。コリンエステラーゼの影響を排除するため，carbachol(5 μM)をアセチルコリン受容体のアゴニストとして使用した。アンタゴニストには atropine(100 μM)，pirenzepine(10 μM)，hexamethonium(30 μM)を使用した。ホールセル・パッチクランプ法にて島皮質のⅡ / Ⅲ層に存在するコリン作動性ニューロンから miniature excitatory postsynaptic current (mEPSC)，spontaneous excitatory postsynaptic current(sEPSC)，unitary inhibitory postsynaptic current(uIPSC)，paired-pulse ratio(PPR)の解析を行った。

結果及び考察

Carbachol(5 μM)はコリン作動性ニューロンを脱分極させ，自発的放電を誘発し，mEPSC および sEPSC の頻度の増加をさせた。この効果は，atropine(100 μM)または pirenzepine(10 μM)によって阻害されたが，hexamethonium(30 μM)では阻害されなかった。したがって，アセチルコリンはムスカリン M_1 受容体を介してコリン作動性ニューロンを過活動させることが明らかになった。また，uIPSC は atropine(100 μM)によってその振幅の減少を認めたが，PPR の変化は認められなかった。以上のことから，島皮質のコリン作動性ニューロンは前脳基底核からの投射を受けて活性化することによって，抑制性の出力を増大させることが明らかになった。さらに，アセチルコリンの共放出は GABA による抑制性伝達を増強させる効果を有すると考えられた。