

# 第 72 回 日本大学歯学会総会・学術大会 〔抄録〕

期日 令和 2 年 5 月 17 日(日)

会場 日本大学歯学部 大講堂

新型コロナウイルス感染拡大防止の為、中止

## 《特別講演》

### 口腔衛生とメタボリックシンドロームの関連性

川戸貴行 日本大学歯学部衛生学講座

メタボリックシンドロームは、肥満に加えて高血糖、高血圧、脂質異常を併せ持つ状態であり、これらの異常が集積する背景には、慢性的なエネルギー過多による内臓脂肪の蓄積があります。限界まで脂肪滴を蓄えた脂肪細胞や、脂肪組織に浸潤したマクロファージから様々な炎症性因子が産生されることから、過度に蓄積した内臓脂肪は軽微な慢性炎症状態にあるとされ、インスリン抵抗性や血栓形成につながると考えられています。食生活と運動習慣はエネルギー過多に直接に影響しますが、喫煙やストレスなど生活習慣に関連する多くがメタボリックシンドロームの発症に関係するとされ、その予防には多面的なアプローチが必要となります。

最近、口腔の健康状態と全身の健康との関連性を示す疫学研究が数多く報告され、肥満、糖尿病、メタボリックシンドロームについては、因果関係の分析も盛んに行われています。現在歯数の減少に伴う咀嚼機能の低下は日常の食事内容に影響して、糖の摂取やエネルギーの過剰を誘引します。また、歯周病は、成人期以降における歯の喪失の原因となるだけでなく、歯周病原菌の持続感染に続く軽微な慢性炎症が、肥満、糖尿病、メタボリックシンドロームのリスクを押し上げる可能性が指摘されています。日本大学歯学部衛生学講座では、歯周病や口腔清掃習慣とメタボリックシンドロームの発症との関連性に関する研究が継続して行われており、これまでに、歯周病の有病期間が長いと肥満、高血糖、高血圧が陽性化するリスクが高いことや、良好な口腔清掃習慣が肥満の発症に抑制的に働くことを示す疫学研究の結果が得られています。また、基礎研究では、歯周病の発症によってインスリン抵抗性や肝臓中の脂肪量が増加することや、炎症性因子の刺激を受けた脂肪細胞では、脂肪組織の増加や炎症の惹起に影響する細胞外基質タンパクの分解酵素の発現が増加するなど、メタボリックシンドロームの発症への影響を示唆する知見が得られています。

本講演では、メタボリックシンドロームと口腔の健康との関連性を調べたこれらの研究を紹介しながら、生活習慣病の予防の視点での口腔衛生の重要性を考えることができるとと思います。

## 《一般講演》

### 1. 歯由来 DNA のメチル化率を用いた年齢推定法の検討

○小方彩乃<sup>1,2</sup>, 近藤真啓<sup>2,3</sup>, 村山良介<sup>2,3</sup>, 網干博文<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻口腔健康科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部法医学講座<sup>2</sup>

日本大学大学院総合歯学研究所社会歯学研究部門<sup>3</sup>

#### 目的

DNA シトシン残基のメチル化は、遺伝子の発現制御に関わるエピジェネティックな変化として注目されている。最近、体液を試料としたパイロシーケンス解析から、特定遺伝子のプロモーター領域におけるメチル化率と年齢との相関が見出され、法医学分野で年齢推定への実用化に期待が寄せられている。そのためには高い再現性、簡便、迅速かつ安価な手法が求められる。そこで本研究では、歯由来 DNA を試料としたリアルタイムメチル化特異的 PCR(以下、MSP)による年齢推定法の開発を目的とした。

#### 試料および方法

はじめに 20 ~ 79 歳の抜去歯(29 例)から通法に従い genomic DNA を抽出後、バイサルファイト処理を行った。次に ELOVL2 の上流に存在する CpG 配列を標的としたメチル化認識プライマー、ヒト Alu 配列に対するプライマーを作成し、リアルタイム MSP を行い、percent methylated reference(以下、PMR)を算出した。さらに PMR を説明変数とする年齢推定のための回帰式を算出し、その精度について検討した。

#### 成績および考察

各試料における PMR は実年齢と強い相関を示した( $R^2=0.71$ )。また、男女別の分析による決定係数は男性で 0.61、女性で 0.82 であり有意差は認められなかった。回帰式より算出した推定値と実年齢との差の平均値は 8.94 歳であった。

本解析で得られた歯を試料とした ELOVL2 メチル化率と年齢との相関は、体液(血液および唾液)を試料とした先行研究による相関の精度と同程度であった。また、本解析法は 1 箇所の遺伝子解析領域のみを年齢推定のための指標としたにもかかわらず、一定の推定精度を示した。以上の結果から、本解析法は法医実務に十分応用可能と思われた。

今後はさらなる推定精度の向上を目指し、新たな標的遺伝子の検索を行う予定である。

## 2. 島皮質Ⅱ / Ⅲ層における疼痛情報処理機構 — *in vivo* ホールセル・パッチクランプ法による 解析—

○小林理美<sup>1,2</sup>, 小林真之<sup>2</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔機能学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部薬理学講座<sup>2</sup>

### 目的

島皮質では、視床から口腔・顔面領域の疼痛信号がⅣ層のニューロンに伝達されたのち、Ⅱ / Ⅲ層のニューロンへ伝わる。Ⅱ / Ⅲ層のニューロンは隣接する皮質にも投射するため、末梢から伝達された感覚情報を皮質内で統合する役割を担っている。島皮質Ⅱ / Ⅲ層の抑制性ニューロンは周囲の興奮性ニューロンの活動を抑制し、興奮と抑制のバランスを保っている。慢性疼痛の発症は末梢からの過剰な疼痛刺激が繰り返され、Ⅳ層からのⅡ / Ⅲ層のニューロンへの入力が強まることで、興奮と抑制のバランスが崩れることが一因と考えられているが、疼痛情報がⅡ / Ⅲ層へ伝達された際の各々のニューロンの応答様式は不明な点が多く、疼痛発生機序と慢性疼痛への移行を解明するには、その詳細を明らかにする必要がある。

### 材料及び方法

Vesicular GABA transporter transgenic - Venus 陽性ラットの 上顎右側第一大臼歯に電極を全身麻酔下で挿入し、島皮質相当部を開窓、硬膜を除去し *in vivo* 標本を作製した。*In vivo* 標本を二光子励起顕微鏡下で、ホールセル・パッチクランプ法を用い、歯髄刺激時の興奮性および抑制性ニューロンの電気的な応答を記録し、興奮性シナプス後電位 (EPSP)・抑制性シナプス後電位 (IPSP) の解析を行った。

### 結果及び考察

ニューロンのサブタイプを興奮性ニューロン (Pyr)、抑制性ニューロンのうち fast-spiking ニューロン (FS)、FS 以外の nonFS の 3 種類に分類した。EPSP の振幅は Pyr が nonFS に対し有意に大きかった。また、EPSP における一回刺激当たりのスパイクの数は Pyr に対し nonFS および FS が有意に多かった。IPSP では time to peak において Pyr が nonFS に対して有意に長かった。そして有意差はなかったものの、EPSP および IPSP のどちらにおいても、半値幅は FS が最も短い傾向にあった。以上のことから、抑制性ニューロンが疼痛刺激に対して興奮性ニューロンより活動性が上昇していること、中でも FS の疼痛刺激に対する応答潜時が短いことが示唆された。

## 3. 顎矯正手術による顎骨移動と顎顔面形態が上気道抵抗に及ぼす影響について

○阿崎宏昭<sup>1,2</sup>, 篠塚啓二<sup>2</sup>, 外木守雄<sup>2</sup>

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<sup>1</sup>

日本大学歯学部口腔外科学講座<sup>2</sup>

### 目的

我々は、現在まで顎矯正手術を行った患者の術前後での気道形態の変化を検索し、①顎変形の程度による検討、②顎骨移動による上気道変化の検討、③流体力学的手法を用いて気道拡大による、手術の効果、有用性、移動距離の相関などを検討し、報告してきた。本研究は、気道の抵抗性に着目し、全身麻酔の気道チューブの抜管のための気道評価に用いられるカフリークテストを応用したカフリーク圧 (Cuff leak pressure; CLP) を用いて、顎顔面骨格形態及び顎矯正手術による顎骨移動と気道抵抗性の変化を解析し、その関連性を生理学的に検討した。

### 材料及び方法

対象は顎矯正手術 (Le Fort I 型骨切り術、下顎枝矢状分割術、オトガイ形成術) を施行する患者のうち、奇形や先天性の骨格異常を認めるものを除外した症例とした。全身麻酔時の挿管直後 (術前) 術中及び抜管前 (術後) に患者へ純酸素を投与し、その流量を 6 L とし換気を手動換気にきりかえ、APL 弁を完全に閉める。気道内圧が 10 cmH<sub>2</sub>O になる直前で、気管チューブのカフの空気をゆっくり完全に抜き、しばらく待って気道内圧が一定の停止状態に達した時の圧を CLP とし、測定した。骨格形態の分析は、手術前に撮影した側面頭部 X 線規格写真を用いて、Sassouni 弧状分析法により分類した。測定したデータを収集し、骨格形態分類の各群間及び顎骨移動に伴う変化と CLP の比較・変化の評価を行った。

### 成績及び考察

顎顔面骨格形態において、Sassouni6 で CLP が最も高く、sassouni9 で最も低値を示した。この結果は、以前に報告した上気道部の SPAS (Superior Posterior Airway Space) の幅径と一致しており、SPAS との関連が示唆された。顎矯正手術術前後の CLP は、下顎を後方に移動した症例においては、CLP が増加する傾向にあった。また、上下顎を前方移動及びオトガイ - 舌筋 / 舌骨筋群前方牽引術 (GA) を行った症例は減少する傾向にあった。

以上より、骨格形態及び顎骨移動は気道抵抗と関連しており、CLP を測定することで、生理学的評価が可能であることが示唆された。

#### 4. 三叉神経障害性疼痛における Interleukin-33 の役割

○木村有貴<sup>1,2</sup>, 林 良憲<sup>2</sup>, 岩田幸一<sup>2</sup>, 外木守雄<sup>1</sup>,  
篠田雅路<sup>2</sup>

日本大学歯学部口腔外科学第 I 講座<sup>1</sup>

日本大学歯学部生理学講座<sup>2</sup>

##### 目的

口腔顔面領域における外傷や手術等による末梢神経障害を機に、損傷組織の治癒後にも慢性的に口腔顔面領域に痛みが継続することが報告されている。しかし、口腔顔面領域における末梢神経損傷後の異常疼痛発症メカニズムは未だ十分に解明されていない点が多い。本研究では、上顎神経損傷後に発症する顔面部機械アロディニアに対する Interleukin(IL)-33 の役割について検討する。

##### 方法

実験には雄性 C57 BL/6 J マウス(6 w)を用いた。深麻酔下にて、口腔内より切開を加え、上顎神経の剖出及び 6-0 絹糸での半結紮(PNL)を施行した PNL マウスおよび上顎神経の剖出のみを施行した Sham マウスを作製した。PNL 後 5 日目まで口髭部に von Frey フィラメントを用いて機械刺激を与え、逃避反射閾値を測定した。さらに PNL 後 5 日目、4%PFA を用いた灌流固定を行い、三叉神経脊髄路核尾側重核(Vc)における IL-33 の局在および発現変化を免疫組織化学的に解析した。

##### 結果

PNL 後 1 日目より有意な逃避反射閾値の低下が認められ、5 日目において逃避反射閾値が最も低下した。Vc の三叉神経第二枝入力領域において、PNL マウスの IL-33 陽性細胞数は sham マウスに比べて有意に増加した。また Vc において、Ibal(marker of microglia)および Glial fibrillary acidic protein(GFAP; marker of astrocyte)陽性細胞において IL-33 発現は認められなかったが、Oligo2(marker of oligodendrocyte)陽性細胞において IL-33 発現が認められた。

##### 考察

以上のことから、上顎神経損傷後に発症する顔面部機械アロディニアには、Vc の三叉神経第二枝入力領域における oligodendrocyte の IL-33 発現上昇が関与する可能性が示唆された。

#### 5. 歯根膜感覚情報処理を行う大脳皮質神経細胞の 3 次元的検索

○小林秀太郎<sup>1,5</sup>, 藤田智史<sup>2</sup>, 新井嘉則<sup>3</sup>, 小林真之<sup>4</sup>,  
外木守雄<sup>5</sup>

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<sup>1</sup>

日本大学歯学部基礎自然科学分野<sup>2</sup>

日本大学歯学部歯科放射線学講座<sup>3</sup>

日本大学歯学部薬理学講座<sup>4</sup>

日本大学歯学部口腔外科学第 I 講座<sup>5</sup>

歯科臨床において、しばしば強い歯痛にも関わらず、痛みが上下顎のどちらにあるのか分からない歯痛錯誤が認められる。我々の光学計測法による研究では、上下顎の臼歯歯根膜への電気刺激が誘発する大脳皮質における興奮が主に二次体性感覚野と島皮質の境界領域(S2/IOR)で認められ、その応答領域の大半は重複することが明らかになっている。しかし、歯根膜からの情報を処理するニューロンの 3 次元的な分布様式、各ニューロンの発火特性については明らかになっていない。本研究では、マウス上下顎臼歯歯根膜への電気刺激に応答するニューロンの 3 次元的な分布様式及び経時変化を、2 光子励起顕微鏡を用いた Ca<sup>2+</sup> イメージング法で検討した。実験には、Ca<sup>2+</sup> 指示タンパクである GCaMP6s を興奮性ニューロンに発現した遺伝子改変マウスを用い、神経活動に伴う細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度の上昇に依存して起こる蛍光強度の変化を観察した。ウレタン麻酔下で S2/IOR に相当する頭蓋骨を開窓し、歯根膜に電気刺激(5 V, 10 パルス 20 Hz)を行った際の応答を表層から 100 μm から 400 μm まで 1 μm 間隔で記録を行い、応答した部位を 3 次元的に再構築した。その結果、歯根膜刺激に応答するニューロンは脳表に対して垂直方向にクラスターを形成する傾向があり、マイクロカラム状構造を呈している可能性が示された。これらのマイクロカラムは表層から深くなるにつれ、多く分布する傾向が認められた。また、ニューロンによって上下顎の刺激に対する応答の大きさは異なり、優位性が存在することが示唆された。これらのことから、臼歯歯根膜からの情報を処理する大脳皮質ニューロンの多くは、上顎、下顎の両方からの入力を受けており、歯痛錯誤の根底にあるメカニズムに対して、このような情報処理様式が関わっている可能性が示唆された。

## 6. 骨組織修復における p53 の機能的役割

○永島利通<sup>1,2</sup>, 二宮 禎<sup>3,4</sup>, 高橋富久<sup>3,4</sup>, 外木守雄<sup>2,5</sup>  
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<sup>1</sup>  
日本大学歯学部口腔外科学第 I 講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部解剖学第 I 講座<sup>3</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態学部門<sup>4</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究所生体防御部門<sup>5</sup>

### 目的

顎骨骨折や顎変形症の術後は、咬合や咀嚼に不自由が生じるため、いかにして損傷部位の早期修復を図るかが大きな課題である。腫瘍抑制因子 p53 は、血球系細胞や上皮細胞などの細胞周期を負に制御する。近年、p53 は転写因子 osterix の発現を阻害し、骨芽細胞分化を抑制することが報告されているが、骨組織修復過程における p53 の関与は、いまだ十分に解明されていない。そこで、本研究では、間葉系細胞の骨組織修復過程における p53 の役割を検討した。

### 材料および方法

C57BL6 マウス(6 週齢, オス)の大腿骨中央部に骨欠損(1 mm 径)を作成し、その修復過程をマイクロ CT によって経時的に観察した。同時に、欠損部での leptin receptor(LepR)局在を免疫組織化学的に評価した。また野生型マウス(WT)の骨髄から採取した間葉系細胞(BMSCs)を骨芽細胞へ分化誘導し、p53 発現を検索した。さらに、p53 欠損マウスから採取した BMSCs の骨芽細胞分化能、細胞増殖能および創傷治癒能について、WTBMSCs と比較検討した。

### 結果および考察

骨欠損部位において、骨欠損作製 5 日目でわずかに硬組織形成が確認でき、7 日目には広範囲に硬組織の形成が認められた。修復過程では、LepR 陽性細胞は骨欠損初期から出現し、その後、新生骨周囲に局在が認められた。一方、培養実験では、BMSCs を骨芽細胞へ分化誘導しても p53 の遺伝子発現は変化しなかった。しかしながら、p53 欠損 BMSCs では、WTBMSCs と比較して高い骨芽細胞マーカーの発現がみられた。同様に、p53 欠損 BMSCs は WTBMSCs よりも高い細胞増殖および創傷治癒能が確認できた。

以上の結果から、間葉系細胞における p53 発現抑制は、骨欠損修復を促進する可能性が示唆された。

## 7. 舌癌性疼痛に対する Pannexin1 の関与

○小山 亮<sup>1,2</sup>, 岩田幸一<sup>3</sup>, 古川明彦<sup>2</sup>, 金子忠良<sup>2</sup>,  
米原啓之<sup>2</sup>, 篠田雅路<sup>3</sup>  
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<sup>1</sup>  
日本大学歯学部口腔外科学第 II 講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部生理学講座<sup>3</sup>

### 目的

舌癌の進展に伴い舌癌性疼痛が発症することが知られているが、その詳細なメカニズムは不明である。近年、脊髄においてヘミチャンネルを形成する膜タンパクである Pannexin1(Panx1)を介したシグナルが二次ニューロンの興奮性調節に関与していることが報告されている。そこで本研究では、ラット舌癌モデルにおける舌癌性疼痛に対する三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)に発現するパネキシンの役割を検討した。

### 材料・方法

6 週齢 Fischer 雄性ラットの舌にラット由来の扁平上皮癌(SCC)細胞を接種し、舌癌モデルを作製した。対照群として phosphate buffered saline(PBS)を接種した。SCC 細胞接種または PBS 接種後、浅麻酔下にて接種部への機械刺激に対する逃避反射閾値(MHWT)を経日的に測定した。また、SCC 細胞接種後すぐに Panx1 inhibitor(10 panx)または vehicle(PBS)の大槽内持続投与を開始し、経日的に舌の MHWT を測定した。さらに、SCC 細胞または PBS 接種後 14 日目 Vc において、GFAP(marker of astrocyte), NeuN(marker of neuron)および Ibal(marker of microglia)陽性細胞における Panx1 発現を免疫組織学的に解析した。

### 結果

SCC 細胞接種後 6 日目を以降、対照群と比較して舌 MHWT の有意な低下が認められた。SCC 細胞接種後の 10 panx 大槽内持続投与は、SCC 細胞接種後 6 日目を以降の舌 MHWT 低下を有意に抑制した。接種後 14 日目、Vc の lamina I および lamina II において、Ibal 陽性細胞に Panx1 発現を認めた。

### 結論

舌癌の進展に伴い発症する舌癌性疼痛には、Vc の lamina I および lamina II に存在する Microglia の Panx1 を介したシグナルが関与している可能性が示唆された。

## 8. 慢性閉塞性肺疾患 (COPD) モデルマウスに歯周病原菌 *Fusobacterium nucleatum* が及ぼす影響

○鈴木隆太<sup>1,2</sup>, 神尾宜昌<sup>3</sup>, 今井健一<sup>3</sup>, 金子忠良<sup>2</sup>,  
米原啓之<sup>2</sup>

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<sup>1</sup>

日本大学歯学部口腔外科学第II講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部細菌学講座<sup>3</sup>

### 背景及び目的

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) は、慢性気管支炎や肺気腫と呼ばれた疾患の総称で、世界の死因第3位となっているため、重症化を防止することは重要である。近年、歯周病が COPD の増悪に関与していることが疫学研究により指摘されている。また、COPD 急性増悪患者の喀痰では、歯周病原菌である *Fusobacterium nucleatum* (*F.n.*) の抗体価が増加することや、*Fusobacterium* 属の検出割合が増えることが報告されており、*F.n.* が COPD の増悪に関係している可能性がある。COPD の炎症状態は、デンタルプラークの誤嚥が関与していると考えられているものの、そのメカニズムは不明である。そこで本研究では、*F.n.* の誤嚥が COPD の増悪に及ぼす影響を分子レベルで検討した。

### 材料及び方法

C57BL/6J マウスにエラストラーゼを経気道的に投与することにより COPD モデルを作製した。モデルマウスに *F.n.* もしくは PBS (対照群) を 1 週間連続で誤嚥させた。誤嚥後 1, 3 日目, 6 週目に気管支肺胞洗浄液 (BALF) を採取後、肺を摘出した。肺組織切片の H-E 染色像より平均肺胞壁間距離 (Lm) 値を測定した。遺伝子およびタンパク質の発現状態は、real-time PCR と ELISA によりそれぞれ測定した。

### 結果及び考察

*F.n.* 誤嚥群は、対照群と比較し Lm 値が増加しており、肺胞壁の破壊を認めた。BALF 中の総細胞数を計測した結果、*F.n.* 誤嚥群では増加しており、肺への細胞遊走が促進されたと考えられる。また、real-time PCR により肺組織中の遺伝子発現状態を調べた結果、肺胞壁の破壊に関わる MMP-12 および COPD 増悪時に産生が亢進する MUC5AC が、*F.n.* の誤嚥により増強した。また、ELISA により BALF 中の炎症性サイトカイン CXCL-1 濃度を測定した結果、*F.n.* 誤嚥群では対照群に比べ過剰に産生していた。

以上の結果より、COPD モデルマウスにおける *F.n.* の誤嚥は、肺胞壁の破壊を促進し、COPD 増悪患者に類似した状態になることから、*F.n.* の誤嚥は COPD を増悪させる可能性があることが示唆された。

## 9. 被着歯面の湿潤状態がユニバーサルアドヒーズの歯質接着性に及ぼす影響

○嶋谷祐輔<sup>1,2</sup>, 辻本暁正<sup>2,3</sup>, 新井友依子<sup>1,2</sup>, 高宮 寛<sup>1,2</sup>,  
鈴木美穂<sup>1,2</sup>, 水谷聖人<sup>1,2</sup>, 高見澤俊樹<sup>2,3</sup>, 宮崎真至<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学部研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科保存学第I講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>3</sup>

### 目的

近年、歯質接着システムの開発方向は、歯面処理に汎用性を有するとともに様々な被着体に対して接着を可能としたユニバーサル性を有するアドヒーズへと向っている。このような潮流の中で、新規ユニバーサルアドヒーズが開発された。この接着システムは、従来のユニバーサルアドヒーズが有するユニバーサル性ととも、被着歯面の湿潤状態にかかわらず良好な歯質接着性が得られることを特徴としているものの、その詳細は不明である。そこで、新規ユニバーサルアドヒーズの歯質接着性について、接着試験とともに接合界面の電子顕微鏡観察から検討した。

### 材料および方法

供試した新規ユニバーサルアドヒーズは Prime & Bond Universal (PU, Dentsply Sirona) であり、対照として市販のユニバーサルアドヒーズとシングルステップセルフエッチアドヒーズを用いた。

### 剪断接着試験

エナメル質あるいは象牙質に対し、リン酸エッチング材を用いて 15 秒間エッチングした試片と、これを行わない試片を製作した。また、これらの試片の湿潤状態を Dry および Wet 条件の 2 群に分けて被着歯面を製作した。通法に従って接着試験用試片を製作し、試片を 37°C 精製水中に 24 時間保管後あるいはサーマルサイクリング試験機を用いて温熱負荷を 10,000 回負荷後、万能試験機を用いて、接着強さを測定した。

### SEM 観察

通法に従って試片を製作し、その接合界面を加速電圧 10 kV の条件で観察した。

### 成績および考察

PU のエナメル質および象牙質に対する接着強さは、被着面の湿潤状態によって影響を受けなかった。一方、PU のエナメル質および象牙質に対する接着強さは、いずれの条件においても他のユニバーサルアドヒーズと同等の値を示したものの、シングルステップセルフエッチアドヒーズと比較して有意に高い値を示した。

### 結論

新規ユニバーサルアドヒーズは、歯質に対する良好な接着性能を有しているとともに被着歯面の湿潤状態の影響を受けにくいことが示された。

## 10. 機能性ガラスを用いた根面齲蝕予防への応用法の確立

○杉村留奈<sup>1,2</sup>, 黒川弘康<sup>2,3</sup>, 須田俊一<sup>2</sup>, 三枝 真<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科保存学第 I 講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>3</sup>

### 研究目的

根面齲蝕の予防に関しては、その発症過程が複雑なこともあり、多方面からの検討が必要である。今回、根面齲蝕モデルに機能性ガラス含有ペーストを応用した際の象牙質脱灰抑制効果について、光干渉断層画像法(OCT)を用いて検討した。

### 材料および方法

機能性ガラスである S-PRG フィラー含有ペーストの PRG プロケアジェル(PRG, 松風), サホライド液歯科用 38%(SAF, ビーブランド・メディコーデンタル)およびクリンプロ歯磨きペースト F1450(CLI, 3M ヘルスケア)を用いた。

ウシ歯根根部から象牙質ブロックを切り出し、乳酸緩衝液に 10 分間浸漬した後に人工唾液中に保管する操作を 1 日 2 回、28 日間行い、根面齲蝕モデルとした。

根面齲蝕モデルを、以下に示す条件で保管した際の状態変化を、OCT の最大ピーク強度値および  $1/e^2$  幅とから検討するとともに、レーザー顕微鏡(LSM)観察を行った。

- 1) 未処理群：根面齲蝕モデルを 1 日 2 回、乳酸緩衝液に 10 分間浸漬した後、人工唾液中に保管する操作を 28 日間継続した群
- 2) 処理群：根面齲蝕モデルに対して PRG, CLI あるいは SAF を塗布した試片を、1 日 2 回、乳酸緩衝液に 10 分間浸漬した後、人工唾液中に保管する操作を 28 日間継続した群

### 成績および考察

最大ピーク強度値は、未処理群で実験期間の経過に伴い上昇したのに対し、処理群では低下し、その傾向は PRG および SAF で処理した条件で顕著であった。また、実験 28 日後の LSM 像では、未処理群で象牙細管の露出が観察されたが、処理群では試片表面を覆う析出物が観察された。OCT は、歯質に照射した光の様相を光学干渉計によって捉えるものである。未処理群では象牙質の脱灰進行によって表面が粗糙化し、照射光線の散乱が大きくなることで最大ピーク強度値が上昇したのに対し、処理群では析出物の存在で脱灰が抑制され、最大ピーク強度値が低下したものと考えられた。

### 結論

PRG の応用は、象牙質の脱灰抑制ならびに再石灰化促進に有効であることが示された。

## 11. シランカップリング剤含有自己接着性レジンセメントの CAD/CAM レジンブロックに対する接着性

○高橋奈央<sup>1,2</sup>, 黒川弘康<sup>2,3</sup>, 三枝 真<sup>1,2</sup>, 小森谷康司<sup>2,3</sup>, 石井 亮<sup>2,3</sup>, 笠原悠太<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科保存学第 I 講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>3</sup>

### 目的

CAD/CAM 冠用レジンブロック(以後、CAD/CAM ブロック)に対する接着操作として、サンドブラスト処理後にシランカップリング剤を塗布することが推奨されている。一方、CAD/CAM ブロックのフィラー粒径、形状および含有量は各製品間で異なることから、製品によってシラン処理の効果が異なる可能性がある。

そこで、シランカップリング剤を含有した自己接着性レジンセメント(以後、シラン含有 SARC)の、各種 CAD/CAM ブロックへの接着性について検討した。

### 材料および方法

シラン含有 SARC として、SA ルーティング Multi(クラレノリタケデンタル)を、対照として、ブロック HC セム(松風)を用いた。CAD/CAM ブロックとして、セラスマート 300(ジーシー)、アーケティカビタエナミック(カポデンタルシステムズ)および松風ブロック HC スーパーハード(松風)を用いた。

#### 1. 接着試験用試片の製作

CAD/CAM ブロックをスライスし、常温重合レジンに包埋した後、露出面を SiC ペーパー #320 で研削、10 秒間サンドブラスト処理した。このサンドブラスト面に対して、Ultradent 接着試験用治具を固定し、練和したレジンセメントを填塞、60 秒間照射したものを接着試験用試片とした。なお、ブロック HC セムでは、サンドブラスト面を、レジンブロック用プライマー(HC プライマー、松風)を用いて製造者指示条件で処理した後にレジンセメントを填塞した。

#### 2. 接着強さの測定

接着試験用試片を照射終了直後から、 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度  $90 \pm 5\%$  の条件で 15 分および 24 時間保管した後、剪断接着強さを測定した。また、サーマルサイクル 10,000 回および 30,000 回負荷後の試片についても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接着強さは、接着操作後の経過時間およびレジンブロックの種類によって影響を受け、その傾向は製品によって異なるものであった。その要因としては、レジンブロック表面でのレジンセメントのヌレ性の違いあるいはレジンセメントの重合性などが影響したものと考えられた。

## 12. S100 タンパクは歯根肉芽腫に発現し病態の調節に関与する

○田村隆仁<sup>1,2</sup>, 羽鳥啓介<sup>2,3</sup>, 氷見一馬<sup>2</sup>, 武市 取<sup>2,3</sup>  
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻・応用口腔科学分野<sup>1</sup>  
日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

### 背景および目的

カルシウム結合タンパク S100(S100 タンパク)は、様々な細胞で発現し 20 種類超のサブクラスが発現し、多くの疾患に関与することが知られている。中でも S100A4, A8, A9 は慢性炎症性疾患でその組織内に発現し、その病態調節への関与が報告されている。しかしながら、口腔内の慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫でのその発現とその機能については不明であることから、その解明を目的とし、本研究の着想に至った。

### 材料および方法

1. 外科的歯内療法への適応と診断された根尖病巣を採取し、病理組織学的検索にて歯根肉芽腫と判定された組織を本実験に供試した。なお完全埋伏智歯の抜歯の際に健常歯肉組織をコントロールとして採取した(日本大学歯学部倫理委員会 EP18 D014)。
2. 歯根肉芽腫組織および健常歯肉組織から S100A4, A8 と A9 の遺伝子発現量の検索を行なった。併せて炎症関連物質である TNF- $\alpha$ , I $\kappa$ B, IL-10 の遺伝子発現量の検索も行なった。コントロールとして、健常歯肉においても同様に行なった。
3. 供試試料中での S100A4, A8 と A9 の局在を検索するため、酵素抗体法および二重蛍光抗体法にて免疫組織化学的検索を行なった。

### 結果

1. Real-time PCR において、S100A4, A8 および A9 遺伝子発現量は健常歯肉組織と比較し有意に高かった。また各炎症関連物質との相関性では S100A4 は I $\kappa$ B に対して負の相関性を、また S100A8 は全てに対して正の相関性を、S100A9 は IL-10, TNF- $\alpha$  に対して正の相関性をそれぞれ示した。
2. 免疫組織化学的検索においては歯根肉芽腫中で S100A4, A8 および A9 の発現を認めたが、健常歯肉では認めなかった。

### 考察

以上の結果から歯根肉芽腫において S100A4 は増悪の方向へ、S100A8 と A9 においては増悪および治癒の両方向に関与している可能性が示唆された。

## 13. 口腔がんの発生・悪性化における転写因子 AP2E の役割の解明

○酒井 嶺<sup>1,2</sup>, 藤原恭子<sup>3</sup>, 高橋富久<sup>3</sup>, 佐藤秀一<sup>2</sup>  
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>  
日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部第Ⅰ解剖学講座<sup>3</sup>

### 目的

口腔がんの治療は外科的な切除が主流であるが、顔貌の変形や飲食・会話能力の障害を生じ得ることから、QOL の向上に向けて有効で副作用の少ない治療法の開発が求められている。これまでに、治療標的の探索や有効な診断マーカーの開発を目的として、口腔がんの発生・進展に関連する分子メカニズムの解明が行われてきた。口腔がんを含む多くのがん組織において、転写因子 AP-2 epsilon(AP2E)の発現が低いほど生存率が低く、また培養がん細胞における AP2E の発現を抑制すると細胞が抗がん剤耐性を獲得することも報告されている。これらの事実から、AP2E はがん抑制遺伝子としての機能をもつことが考えられるが、その詳細な機序については不明な点が多い。本研究では、口腔がんの細胞機能における AP2E の役割を解明することを目的とし、AP2E 遺伝子の過剰発現により誘導されるヒト歯肉がん細胞の表現形質の変化について解析した。

### 材料と方法

ヒト歯肉がん細胞株 Ca9-22 に AP2E の配列を組み込んだプラスミドを導入し、AP2E を安定的に高発現するクローンを樹立した。WST8 アッセイにより増殖速度を調べたのち、シスプラチン耐性能、酸化ストレス耐性能および低グルコース耐性能について検討した。さらに、フローサイトメーターを用いて細胞周期の進行速度について解析した。

### 結果と考察

AP2E 過剰発現細胞の増殖速度はコントロールと比較して有意に低下した。シスプラチン、過酸化水素、低グルコース濃度に対する耐性については一定の傾向はみられなかった。AP2E 過剰発現細胞では G2/M から G1 に戻る速度が低下したが、死細胞画分 sub-G1 の比率はコントロールと比較して違いがみられなかった。以上の結果から、AP2E は M 期の進行の制御に関与している可能性が示唆された。

## 14. Advanced glycation end products は骨芽細胞の COX2 発現を促進させる

○富田景子<sup>1,4</sup>, 田邊奈津子<sup>2,3</sup>, 鈴木直人<sup>2,3</sup>, 佐藤秀一<sup>4,5</sup>  
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>  
日本大学歯学部生化学講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究 機能形態学部門<sup>3</sup>  
日本大学歯学部歯科保存学第三講座<sup>4</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究 高度先端医療研究部門<sup>5</sup>

### 目的

歯周病は細菌感染が引き起こす炎症によって歯槽骨吸収が起こる炎症性骨疾患である。糖尿病と歯周病の増悪については本学歯学講座の森田らが、疫学的な因果関係を報告している (Morita et al., J Periodontol.2010)。近年, 糖尿病の原因因子として, 過剰な糖とタンパク質のメイラード反応で生じる終末糖化産物 (Advanced glycation end products; AGEs) の関与が注目されている。しかしながら, AGEs が骨芽細胞に及ぼす細胞生物学的メカニズムの詳細については明らかにされていない。そこで, グラム陰性菌内毒素であるリポ多糖 (Lipopolysaccharide; LPS) を添加した骨芽細胞様細胞に AGEs を用いて, AGEs 刺激が骨芽細胞の炎症のメディカルメディエーターである prostaglandinE<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) に及ぼす影響を検討することを目的として, 本研究を企図した。

### 材料および方法

MC3T3-E1 細胞を 6 well plate に播種し, LPS (10 ng/ml) と AGEs (100 μg/ml) を添加した。培養 3, 7 および 14 日目にそれぞれ細胞を回収し, Cyclooxygenase (COX) 1, COX2 および AGEs の受容体 RAGE の遺伝子発現を real-time PCR 法を用いて調べた。

### 成績

COX2 の遺伝子発現は LPS+AGEs 添加群で LPS 単独群と比較して, 培養 14 日目で有意な増加を示した。RAGE の遺伝子発現は LPS+AGEs 添加群で培養 3 日目に増加した。しかし, COX1 の遺伝子発現はいずれの培養日数においても有意な変化は認められなかった。

### 考察

骨芽細胞への AGEs 刺激は, LPS 誘導性の COX2 および RAGE の遺伝子発現を増加させた。以上の結果より, AGEs が骨芽細胞の LPS 誘導性の炎症を促すことにより炎症性骨吸収を促進する可能性が示唆された。

## 15. ラット下顎角骨欠損モデルにおける FGF-2 添加コラーゲンメンブレンの骨増生に及ぼす影響

○古畑光昭<sup>1</sup>, 高山忠裕<sup>2,3</sup>, 妹尾一輝<sup>1</sup>, 山本崇申<sup>2</sup>, 小澤康正<sup>2</sup>, 尾崎愛美<sup>4</sup>, 佐藤秀一<sup>2,3</sup>  
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>  
日本大学歯学部歯科保存学第三講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>  
日本大学歯学部衛生学講座<sup>4</sup>

### 目的

近年, 歯周病治療や歯科インプラント治療において, 失われた歯周組織とくに歯槽骨再生を積極的に促す方法が数多く考案されており, その代表的な方法としてコラーゲンメンブレン (collagen membranes; CMs) が広く臨床応用されている。しかしながら現在, 組織の回復量や再生に要する期間の短縮など更なる改善の必要性が求められている。我々の研究グループでは以前より CMs に生体為害性のない成長因子を添加する新規再生ユニットを考案し研究を遂行してきた。そこで本研究では, 日常臨床で使用可能である線維芽細胞増殖因子 (Fibroblast Growth Factor-2; FGF-2) を CMs に添加した再生ユニット (CMs/FGF-2) を作製し, 骨再生に及ぼす影響についてラット下顎角骨欠損モデルを用いて検討した。

### 材料と方法

10 週齢の雄性近交系ラット (F344/jcl) 10 頭の両側下顎角に, 内径 4.0 mm のトレファインバーを用いて, 下顎角骨欠損モデルを作製し計 20 ヶ所の骨欠損モデルを作製した。欠損のみ (control 群), 欠損を CMs で被覆した群 (CMs 群), CMs に FGF-2 を低用量 0.5 μg 添加 (FGF-2[L] 群), 高用量 2.0 μg 添加 (FGF-2[H] 群) し被覆した群に分けた。

術後 2, 4 および 6 週において, 実験動物用 3D マイクロ CT (マイクロ CT) によるエックス線学的観察と術後 3 および 6 週で HE 染色, TRAP 染色, Runx2 染色を行い組織学的観察を行った。

### 結果と考察

エックス線学的観察から, control 群, CMs 群と比較し, CMs/FGF-2 群で骨欠損部に骨様組織の再生を認めた。また, FGF-2[L] 群と比較した際に FGF-2[H] 群の方が欠損部に骨様組織の再生を認めた。組織学的観察から, control 群, CMs 群と比較し, CMs/FGF-2 群で骨芽細胞, 血管新生, 破骨細胞が多く観察された。

以上から, CMs/FGF-2 群は骨再生を顕著に促すことが示唆された。

### 結論

CMs/FGF-2 群は, control 群および CMs 群と比較して, 骨欠損部に骨様組織の再生を認めたことから, 新規骨再生ユニットとして応用される可能性が考えられる。



## 16. 歯周炎を伴った歯周組織の痛覚変調に対する酪酸の関与

○村上尚希<sup>1,2</sup>, 篠田雅路<sup>3</sup>, 長嶋秀和<sup>2</sup>, 佐藤秀一<sup>2</sup>, 岩田幸一<sup>3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部生理学講座<sup>3</sup>

### 目的

歯周炎は歯周組織の破壊や骨吸収を伴った疾患であるにも関わらず、痛みを伴わずに進行することが知られている。しかし、その歯周組織痛覚変調メカニズムに関しては、不明な点が多い。本研究では、歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) が産生する短鎖脂肪酸の一つである酪酸に着目し、歯周炎を伴った歯周組織の痛覚変調に対する酪酸の関与について検討した。

### 材料及び方法

浅麻酔下にて上顎第二臼歯の周囲に5-0絹糸を結紮後、絹糸周囲に *P.g.* を播種して歯周炎モデルマウスを作製した。結紮後14日間、浅麻酔下にて上顎第二臼歯歯頸部歯肉に electronic von Frey を用いて機械刺激を行い、逃避反射閾値を測定した。結紮後2日目、イオンクロマトグラフィーを用いて歯頸部歯肉の酪酸を定量し、三叉神経節における酪酸の受容体である GPR41 の発現を免疫組織化学的に解析した。また、結紮後14日間、歯頸部歯肉に GPR41 antagonist (ヒドロキシ酪酸) を連日投与し、同部位における機械刺激に対する逃避反射閾値を測定した。

### 成績および考察

結紮後14日間、歯頸部歯肉への機械刺激に対する逃避反射閾値に変化は認められなかった。結紮後2日目、歯頸部歯肉の酪酸量が増加し、三叉神経ニューロンにおいて GPR41 の発現を認めた。ヒドロキシ酪酸の連日投与開始後8日目より、歯頸部歯肉への機械刺激に対する逃避反射閾値が有意に低下した。

以上のことから、*P.g.* が産生する酪酸が GPR41 を介して歯周炎発症に起因した三叉神経節ニューロン興奮性増強を抑制することにより、歯周組織の疼痛が減弱される可能性が示された。

## 17. 歯周病と COPD 増悪との関連

### 一歯周病原菌 *F. nucleatum* は呼吸器のバリア形成を破壊する一

○横江 将<sup>1,2</sup>, 今井健一<sup>3,4</sup>, 佐藤秀一<sup>2,5</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部細菌学講座<sup>3</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科生体防衛部門<sup>4</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科高度先端医療研究部門<sup>5</sup>

### 背景及び目的

歯周病原菌と誤嚥性肺炎との関連は以前から知られているが、最近、歯周病が慢性閉塞性肺疾患 (COPD) の増悪因子であることが欧米のみならず我が国でも報告された。COPD は肺泡が破壊された肺気腫と慢性気管支炎の総称で世界の死因第3位となっている。しかし、歯周病がどのように COPD の増悪に関与しているのかは不明である。COPD が進行すると気管支や肺胞上皮のバリア機能が破壊されるため、細菌やウイルスの侵入による炎症が惹起されることが知られている。また、COPD 急性増悪患者の喀痰では歯周病原菌 *Fusobacterium nucleatum* (*F.n.*) の抗体価が増加することも報告されている。そこで今回、*F.n.* が呼吸器のバリア機能を破壊するのでないかと推察し、気管支上皮細胞とマウスを用いた実験を行った。

### 材料及び方法

トランスウェルプレートで気管支上皮細胞を培養し *F.n.* を添加後、経上皮電気抵抗値 (TER) の測定と、蛍光標識したデキストランを用いて細胞間隙径路の評価を行う事によりバリア機能を評価した。また、バリア形成に関わる17種の遺伝子発現を real-time PCR で検討した。さらに、マウスに *F.n.* を誤嚥させた後、デキストランを投与することで肺におけるバリア破壊を検討した。

### 結果及び考察

*F.n.* は時間及び濃度依存的に気管支上皮細胞における TER 値を低下させたことから、*F.n.* によりバリア形成が阻害されていることが推察された。実際に、*F.n.* の添加によりデキストランの透過性が促進したため、上皮細胞のバリア破壊が起こっていることが解った。また、*F.n.* を誤嚥させたマウスにおいては、血清中にデキストランが検知された事から、肺胞のバリア破壊が起こっていることが示唆された。バリア破壊のメカニズムを検討するためバリア形成に関わる遺伝子17種の発現をスクリーニングした。その結果、*F.n.* により Claudin1 や ZO2 等のバリア形成に係る遺伝子の発現が低下することが認められた。以上の結果から、歯周病原菌は呼吸器上皮のバリア形成の破壊を引き起こし、肺炎起因菌などの感染を惹起することで、COPD の増悪に関与していることが示唆された。

## 18. 口腔粘膜損傷後に発症する機械・熱痛覚過敏に対する加齢の影響

○大音 樹<sup>1,2</sup>, 浦田健太郎<sup>2,3</sup>, 岩田幸一<sup>4,5</sup>, 篠田雅路<sup>4,5</sup>, 飯沼利光<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科補綴学第I講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科顎口腔機能研究部門<sup>3</sup>

日本大学歯学部生理学講座<sup>4</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科機能形態部門<sup>5</sup>

### 目的

加齢は神経系に様々な変化を引き起こし、疼痛感受性に影響を及ぼす事が知られているが、口腔内における疼痛受容機構の加齢性変調の報告は少ない。そこで本研究では、老化促進モデルマウスを用い、口腔粘膜損傷後の機械痛覚変調機構に対する加齢の影響を三叉神経節(TG)に発現する Macrophage に着目し解析した。

### 材料及び方法

深麻酔下にて、老化促進モデルマウス(SAMP8, 以下P8)及び正常発育マウス(SAMR1, 以下R1)の左側口蓋粘膜に切開を加え、P8切開群とR1切開群とし、対照群としてP8非切開群及びR1非切開群を各実験に用いた。行動観察実験として、切開部にデジタルフォンプライによる機械刺激あるいはサーマルプローブによる熱刺激を加え、頭部引っ込み逃避反射閾値を経日的に計測した。次に、切開後3日目および14日目に4%パラフォルムアルデヒドによる灌流固定後、TGにおけるIbal(marker of macrophage), CD11c(marker of pro-inflammatory macrophage:M1)およびCD163(marker of anti-inflammatory macrophage:M2)陽性細胞の発現を免疫組織化学的に解析した。

### 成績及び考察

切開後3日目、R1と比較してP8では口蓋粘膜への機械刺激に対する逃避閾値の低下が有意に増強した。また、P8では切開前の熱刺激に対する逃避閾値が有意に高く、切開処置後の熱痛覚過敏からの回復が促進した。切開後3日目および14日目では、IbalおよびCD11c共陽性細胞が観察され、R1と比較してP8ではCD11c発現が増強した。切開後、CD163発現に変化は見られなかった。

以上の結果より、加齢により口腔内の痛覚過敏は変調する事が明らかとなり、TG中における活性化マクロファージとM1の発現増加が関与する可能性が示された。

## 19. *P. gingivalis*の短線毛 Mfa1 は TLR2 を介して気管支上皮細胞から炎症性サイトカイン産生を誘導する

○高橋佑和<sup>1</sup>, 今井健一<sup>2,4</sup>, 飯沼利光<sup>3,5</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部細菌学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部歯科補綴学第I講座<sup>3</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科生体防御部門<sup>4</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科顎口腔機能研究部門<sup>5</sup>

### 背景及び目的

高齢者や要介護者は口腔機能が低下するため、口腔細菌を含んだ唾液や食物残渣を誤嚥する機会が多く肺炎の発症リスクが高まる。しかし、口腔細菌による肺炎発症機序はよく解っていない。*Porphyromonas gingivalis*(*P.g.*)は、FimAとMfa1の二種類の線毛を介して宿主に付着することで感染性を発揮する。また、線毛自体が様々な生物活性を有することが知られている。線毛は菌体の最外層に存在するため、細菌を誤嚥した場合、宿主細胞に最初に作用する病原因子であると考えられる。

そこで本研究では、*P.g.*の線毛が呼吸器上皮細胞に作用し肺炎の発症において中心的な役割を担う炎症性サイトカインを誘導するか否かを受容体の関与と併せて検討した。

### 材料及び方法

精製した線毛を気管支上皮細胞に添加し、炎症性サイトカインの発現をreal-time PCRとELISAにて定量した。TLRの関与を調べるために、TLR未発現の293細胞にTLR2もしくはTLR4を強制発現させた細胞(293/TLR2と293/TLR4)にNF- $\kappa$ Bレポータープラスミドを導入後Luciferase assayを行った。また、中和抗体を用いた実験を行いTLRの関与を検討した。

### 結果及び考察

気管支上皮細胞にMfa1を加えた結果、添加後3時間でIL-8とIL-6の遺伝子発現が強く誘導された。Mfa1は量依存的にIL-8とIL-6の産生を誘導したが、興味深いことに高濃度のFimAとLPSを添加しても、両サイトカインの産生は認められなかった。Mfa1は293/TLR2細胞においてNF- $\kappa$ Bを活性化したが、293細胞と293/TLR4細胞では変化がなかった。さらに、TLR2の中和抗体処理において、Mfa1誘導性のIL-8とIL-6の産生はコントロールレベルまで抑制された。

我々は、これまでに*P.g.*菌体自体が炎症性サイトカインを誘導する事を見出しているが、今回新たに、*P.g.*のMfa1が気管支上皮細胞のTLR2を介してIL-8とIL-6を誘導することにより肺炎を惹起する事が示唆された。

## 20. ジルコニア接着ブリッジにおけるフレームワーク形態の違いが適合に及ぼす影響

○木谷 仁<sup>1,2</sup>, 草場公亮<sup>2</sup>, 小峰 太<sup>2,3</sup>, 松村英雄<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯科専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅲ講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯科研究所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

### 目的

フレームワーク形態の違いがジルコニア接着ブリッジの適合に及ぼす影響を明らかにすること。

### 材料及び方法

上顎側切歯欠損に対し上顎中切歯を支台歯とした接着ブリッジ治療を想定し、上顎右側中切歯レジン製人工歯(A55 A-119, Nissin Dental Products)を支台歯として使用した。支台歯には、舌側切縁側にショルダー形態、舌側切縁側以外にシャンファー形態、欠損側隣接面にボックス形態(2.0 mm × 2.0 mm × 0.5 mm)、舌側中央にピンホール(半径1.0 mm, 深さ0.5 mm)を形成した。形成した人工歯は、付加型シリコーンゴム印象材(TAKE1 Advanced LB Wash, Kerr)を用いて印象採得を行い、超硬質石膏(New Fuji Rock IMP, GC)を注入して作業用模型を製作した。作業用模型をCAD/CAMでスキャニング後、接着ブリッジのポンティック唇側面に陶材を前装するスペースを確保するため、CADを用いて唇側面を最終的な歯冠形態から前装陶材分をカットバックしたフレームワークを設計した。前装陶材築盛量の違いにより、ポンティック部の唇側面を0.5 mm(以下CB 0.5)、1.0 mm(以下CB 1.0)、および2.0 mmカットバックした群(以下CB 2.0)の3群とした。CAMを用いてジルコニアブロック(Katana Zirconia HT, Kuraray Noritake Dental)を切削加工し、フレームワークを各群12個製作した。適合の測定はレプリカ法で行い、シリコーンレプリカを近遠心方向に3分割し、接着ブリッジと支台歯の内面間隙量を近心、中央、遠心の3か所ずつ計90点に対して、走査レーザー顕微鏡(ILM21W, Lasertec)を用いて測定した。

### 成績及び考察

フレームワーク形態間においてCB 2.0は、CB 1.0, CB 0.5に対して有意に小さい内面間隙量を示し、CB 0.5はCB 1.0に対して有意に大きい内面間隙量を示した。この結果から、ポンティック部の体積が大きくなると、ミリング後に行う焼成時のジルコニアの収縮量が大きくなり、フレームワーク形態の違いによりジルコニア接着ブリッジの適合に影響を及ぼしたと考えられる。

## 21. 有機硫黄化合物が貴金属合金と MMA-TBB レジンの接着に及ぼす影響

○竹鼻康輔<sup>1,2</sup>, 小平晃久<sup>2,3</sup>, 平場晴斗<sup>2,3</sup>, 野川博史<sup>2,3</sup>,

小泉寛恭<sup>4,5</sup>, 松村英雄<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅲ講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

日本大学歯学部歯科理工学講座<sup>4</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科生体工学研究部門<sup>5</sup>

### 目的

貴金属への接着において、有機硫黄化合物含有プライマーの有効性が報告されている。本研究の目的は、新たな有機硫黄化合物含有プライマーを用いて、貴金属合金への接着強さに及ぼす影響について比較検討を目的とした。

### 材料および方法

プライマーは、10-メタクリロイルオキシデシル-(2-チオヒダントイン-4-イル)プロピオネート(MDTHP)を含んだ貴金属用プライマー(TH, サンメディカル)、V-プライマー(VP, サンメディカル)およびメタルタイト(MT, トクヤマデンタル)を用いた。被着体は、金銀パラジウム合金(キャストウェル M.C.12, ジーシー)、タイプIV金合金(キャストイングゴールド M.C.タイプIV, ジーシー)および陶材焼付用金合金(DeguDent Universal, Degussa AG)の3種類の円形平板状試料を用いた。試料は注水研削し、3種類のプライマーによる表面処理を行ったものをそれぞれTH群, VP群およびMT群とした。被着面に設置したリング内に、アクリルレジン(MMA-TBBレジン)を筆積み法により充填し、37℃水中に24時間浸漬後、せん断接着強さを測定した。得られた結果に対して、ノンパラメトリック検定であるKruskal-Wallis検定とSteel-Dwass多重比較検定を行った。また、X線光電子分光法(XPS)により、TH処理後にアセトン洗浄を行った金銀パラジウム合金表面の分析を行った。

### 成績および考察

金銀パラジウム合金とタイプIV金合金に対するせん断接着強さは、TH群がVP群やMT群と比較して有意に高い値を示した。陶材焼付用金合金へのせん断接着強さは、VP群と比較して有意に高い値を示したが、MT群との間に有意差は認められなかった。

また、XPSによってTH処理を行った金銀パラジウム合金表面にS 2pとN 1sのピークが検出された。このことからMDTHPはアセトン洗浄後も合金表面に強固に結合していると考えられた。

本研究において、MDTHPによる表面処理は貴金属合金とMMA-TBBレジンの接着強度の向上に有効であることが示唆された。

## 22. ジルコニアに付与した維持装置が前装用コンポジットレジンとの接着強さに及ぼす影響

○松島圭佑<sup>1,2</sup>, 窪地 慶<sup>2</sup>, 高田宏起<sup>2</sup>, 木村文晃<sup>2</sup>,  
小峰 太<sup>2,3</sup>, 松村英雄<sup>2,3</sup>  
日本大学大学院歯学研究科歯科専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>  
日本大学歯学部歯科補綴学第三講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部総合歯科研究所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

### 目的

ジルコニアに付与した維持装置が前装用コンポジットレジン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

前装材料としてコンポジットレジンであるエステニア C&B (EST), 被着体としてジルコニアの円形平板(ZR, カタナジルコニア HT)を使用した。ZR 表面を# 600 の耐水研磨紙にて注水研削後, アルミナブラスト処理を行った。その後 ZR は接着面にグレース陶材(GL, セラビアン ZR E glaze)を焼成した群(ZR-GL), グレース陶材塗布後, 平均粒径が 50  $\mu$ m, 70  $\mu$ m および 105  $\mu$ m の白色アルミナを付与し焼成した群(ZR-AL50, ZR-AL70 および ZR-AL105), アルミナブラスト処理のみ(ZR-AB)の 5 つの表面処理群に分けた。その後, 各群に対してクリアフィルポーセレンボンドアクチベーター(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(CPB), CPB と ACT の等量混和液(CPB + ACT)およびプライマー未塗布(UP)の 4 条件でプライマー処理を行った。その後, ZR 表面に EST オバークを塗布, 光重合後, ステンレス鋼製リングを設置し, リング内に EST ボディを充填, 光重合を行った後に加熱重合を行った。37°C 精製水中に 24 時間保管した試料および水中熱サイクルを 5,000 回負荷した試料に対し, 万能試験機を用いてせん断接着試験を行った。試験後, 試料は実体顕微鏡を用いて破壊形式の観察を行い, 走査電子顕微鏡による観察を行った。

### 成績及び考察

表面処理間の比較では, UP 群において ZR-GL70 と ZR-AL105 が他の表面処理群と比較して有意に高い接着強さを示した。また, プライマー間の比較において水中熱サイクル負荷前では, ZR-AB, ZR-AL50, ZR-AL70 および ZR-AL105 で, 負荷後では, ZR-AL50, ZR-AL70 および ZR-AL105 で CPB+ACT が他のプライマー群と比較して有意に高い接着強さを示した。以上のことから, アルミナの平均粒径が 70  $\mu$ m 以上で良好な機械的嵌合力を得ることができると考えられる。また, リン酸エステル系モノマー MDP とシランカップリング剤 3-TMSPMA の併用が良好な接着強さの獲得に有効であることが示唆された。

## 23. リン酸酸性フッ化ナトリウム溶液の使用が CAD/CAM 用コンポジットレジンブロックの表面性状に及ぼす影響

○三神 航<sup>1,2</sup>, 小泉寛恭<sup>3,4</sup>, 野川博史<sup>2,5</sup>, 平場晴斗<sup>2,5</sup>,  
小平晃久<sup>2,5</sup>, 赤羽俊亮<sup>2</sup>, 松村英雄<sup>2,5</sup>  
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野<sup>1</sup>  
日本大学歯学部歯科補綴学第三講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部歯科理工学講座<sup>3</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>4</sup>  
日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門<sup>5</sup>

### 目的

う蝕予防歯面塗布剤であるリン酸酸性フッ化ナトリウム溶液(以下 APF)の使用は, コンポジットレジンの表面を粗造にするという報告がある。しかし APF の使用が, CAD/CAM 用コンポジットレジンブロックの表面に対してどのように影響するか不明な点が多い。本研究は, APF の使用が CAD/CAM 用コンポジットレジンブロックの表面性状に及ぼす影響を検討した。

### 材料および方法

供試した CAD/CAM 用コンポジットレジンブロックは, アルテサーノ(山八歯材), セラスマート, グラディアブロック(ジーシー), デントクラフト HR ブロック(ヨシダ), エステライトブロック(トクヤマデンタル), Enamic(VITA Zahnfabrik), カタナアベンシアブロック(クラレノリタケデンタル), KZR-CAD HR2(ヤマキン), 松風ブロック HC, 松風ブロック HC Hard(松風)および Mazic Duro(vericom)を選択した。比較対照として CAD/CAM 用陶材ブロックである VITABLOCS Mark II(VITA Zahnfabrik)を使用した。各ブロックを厚さ 2mm に切断し, 耐水研磨紙 # 2000 にて注水研削した後, 粒径 3  $\mu$ m のダイヤモンドペーストを用いて研磨した。APF はフルオール液歯科用 2%(東洋製薬)を使用した。各ブロック表面に対し 4 分間ブラシで APF を塗布後, 水洗, 乾燥を行い, この操作を 8 回繰り返した。表面性状の分析方法として処理前後の各試料の光沢度, 算術平均高さ(以下 Sa)および算術平均粗さ(以下 Ra)を測定した。APF 塗布前後の比較は, Mann-Whitney U 検定法を用いた。また, 表面観察は, 走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて行った。

### 成績および考察

APF 塗布後, 光沢度はアルテサーノ以外のブロックで有意に低下した。また Sa の数値は全てのブロックで有意に大きくなり, Ra の数値はアルテサーノ, デントクラフト HR ブロック以外のブロックで有意に大きくなった。また APF 塗布後の SEM 観察では, 表面に粗造な像が認められた。

本研究の成果から CAD/CAM 用コンポジットレジンブロックへの APF の塗布は, ブロック表面を粗くすることが明らかになった。

## 24. 歯根膜細胞における leptin receptor 陽性細胞の役割

○中村純基<sup>1,2</sup>, 二宮 禎<sup>3,4</sup>, 高橋富久<sup>3,4</sup>, 本吉 満<sup>2,5</sup>

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<sup>1</sup>

日本大学歯学部歯科矯正学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部解剖学第I講座<sup>3</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科機能形態学部門<sup>4</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究科臨床研究部門<sup>5</sup>

### 目的

歯科矯正治療での歯牙移動時に牽引側に多くみられる骨芽細胞は、主に歯根膜幹細胞(PDLSC)から供給される。しかしPDLSCの単離には、複数のマーカーを併用しなければならず、単独で単離可能な特異的なマーカーの同定が必要とされている。近年、leptin receptor(LepR)が、骨髄間葉系幹細胞に対して、高い特異性をもつことが報告されている。そこで我々は、歯根膜組織におけるLepR陽性細胞の幹細胞性と骨芽細胞への分化能について検討した。

### 材料および方法

雄 ddy マウス(5週齢)の上・下顎臼歯を抜歯し、酵素処理後、歯根膜細胞(PDL)を採取した。フローサイトメトリー(FCM)を用いて、6日間培養したPDL中のLepR陽性細胞の割合を解析した。同時に、magnetic-activated cell sortingを使用し、PDLからLepR陽性細胞を単離し、幹細胞マーカー(CD44, CD106, CD146)の発現を調べた。また、lipoprotein-related protein 1(LRP1)siRNAをLepR陽性細胞に導入し、骨芽細胞分化関連因子の発現について検討した。

### 結果及び考察

FCM解析から、歯根膜組織にLepR陽性細胞が約55%存在することが明らかになった。単離したLepR陽性細胞はLepR陰性細胞よりも高い幹細胞マーカーの発現を示した。LRP1 siRNAはLepR陽性細胞のBMP2, BMP4, およびOPGの発現を低下させたが、RANKLの発現を増加させた。これらの結果から、幹細胞性を有するLepR陽性細胞は、LRP1の発現によって骨芽細胞分化を促進し、間接的に破骨細胞の分化を抑制することで、歯槽骨の再生に重要な役割をもつことが示唆された。

## 25. BMS患者における非侵害性および侵害性温度条件刺激に対する conditioned pain modulation の変調

○小笹佳奈<sup>1,2</sup>, 野間 昇<sup>2,3</sup>, 岡田明子<sup>2,3</sup>, 篠崎貴弘<sup>2,3</sup>, 高根沢大樹<sup>1,2,3</sup>, 西原千紗<sup>1,2,3</sup>, 今村佳樹<sup>2,3</sup>

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔健康科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部口腔診断学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部付属歯科病院ペインクリニック科<sup>3</sup>

### 目的

バーニングマウス症候群(BMS)は舌や歯肉、口蓋粘膜等に器質的な障害が認められないにもかかわらず慢性的な疼痛や違和感を訴える歯科固有の疾患である。

本研究では、BMS患者と健康ボランティアにおいて表皮内電気刺激(IES)を用いてtemporal summation(TS)とconditioned pain modulation(CPM)を観察した。

### 方法

BMS患者32名(58.4 ± 11.9歳)と健康ボランティア女性31名(50.5 ± 8.4歳)を対象に、右側下口唇にIESを用いてテスト刺激を行った。なお刺激の強さは、患者の自覚する刺激強度がnumerical rating scale(NRS)で20-30/100となるように調節した。一方、条件刺激としては、左側手掌にペルチェ素子を用いて温熱刺激(40℃, 47℃)を加え、CPM効果を検討した。口唇部のテスト刺激に対する主観的評価は単発および10回連続刺激後に行い、単発刺激時のNRSと10回連続刺激後のNRSの差をもって、TSを算出した。左側手掌に40℃と47℃の条件刺激を与えている間、口唇部へはIESの刺激を加えた。条件刺激終了直後に、NRSを用いて主観的評価を測定し、CPMの評価を行った。

### 結果及び考察

BMS群と健康ボランティア群の両方で観察された。BMS群と健康ボランティア群ともに単発刺激に比べ10回連続刺激後のNRSは有意に増加し、条件刺激なしのTSは両群で認められた。健康ボランティアでは、条件なしのTSは40℃の非侵害性条件刺激、47℃の侵害性条件刺激により有意に抑制した。一方、BMS群では条件なしのTSは40℃の非侵害性条件刺激、47℃の侵害性条件刺激によりTSの抑制は認められなかった。健康ボランティアにおいてCPM効果は、47℃条件下のCPM値は40℃条件下のCPM値と比較して有意に増強したが、BMS群において40℃条件下ではCPM効果を認めたが、47℃条件下ではCPM効果は認められなかった。

BMS患者は下降性疼痛抑制の減弱がBMS発症になんらかの影響を与えている可能性が示された。

## 26. 咀嚼運動によるレスティングステートの変化の検討

○高根沢大樹<sup>1,2,3</sup>, 篠崎貴弘<sup>2,3</sup>, 野間 昇<sup>2,3</sup>, 岡田明子<sup>2,3</sup>,  
小笹佳奈<sup>1,2</sup>, 西原千紗<sup>1,2,3</sup>, 浅野早弥香<sup>1,2</sup>, 今村佳樹<sup>2,3</sup>  
日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 口腔健康科学分野<sup>1</sup>  
日本大学歯学部口腔診断学講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部付属歯科病院ペインクリニック科<sup>3</sup>

### 目的

Burning Mouth Syndrome(以下, BMS)は, 正常な徴候と検査所見にも関わらず続く, 舌やその他の口腔粘膜の灼熱痛を伴う疾患である。近年の研究から, 本疾患の発症には口腔局所の病態変化だけでなく, 何らかの中樞神経系の関与が示唆され, 疼痛関連ネットワークの変化も報告されている。さらに, BMS患者では食事に際して痛みの軽減を自覚することが知られている。近年, レスティングステート(rs)fMRIによる解剖学的に解離した脳領域間の神経活動パターンの類似の程度を検討できるようになった。そこで我々は, 被検者に無味無臭のガムを咀嚼させ, その前後で脳のレスティングステートの変化を調べた。

### 方法

被検者は, 日本大学歯学部付属歯科病院口腔診断科およびペインクリニック科でBMSと診断された12名(平均年齢: 57.5 ± 9.5歳)の女性のと, 対照として年齢のほぼ一致した15名(平均年齢: 52.2 ± 9.7歳)の健康な女性とした。MRI装置内で仰臥位にて無味無臭のガムを咀嚼させ, その前後でGE社製3T MRIでfunctional MRI(fMRI)撮像を行い, Statistical Parametric Mapping 12(SPM12)とConn functional connectivity toolbox(CONN, v.18 b)を用いて脳の機能的結合を解析した。

### 成績および考察

健常者とBMS患者では, ガム咀嚼前後での脳のconnectivityの変化に相違があった。

ガム咀嚼後のBMS群と対照群との脳connectivityの差異を見ると, 前頭眼野皮質と頭頂弁蓋, 縁上回前部, 淡蒼球と下側頭回前部, 小脳とFrontoParietalネットワーク, が減弱した。一方, 前頭眼野皮質とDefaultModeネットワーク, 淡蒼球と尾状核, 小脳と海馬傍回部, 側頭後頭紡錘状回と小脳, 虫部8と虫部10のネットワークが増強していた。

BMS群は前頭眼野皮質とデフォルトモードネットワーク, 淡蒼球と尾状核に関連するネットワークに増強が見られ, 淡蒼球と下側頭回前部のネットワークに減弱がみられたことから, BMS患者におけるガム咀嚼時の疼痛調節系にこれらの脳活動が影響する事が示唆された。