

# 第77回日本大学歯学会総会・学術大会

期日 令和7年5月18日(日)

会場 日本大学歯学部 創設百周年記念講堂

## 《特別講演》

### 難治性根尖性歯周疾患へのマクロとミクロのアプローチ

武市 収 日本大学歯学部歯科保存学第II講座

根尖性歯周疾患は口腔内常在菌によって発症すると考えられている。そのため、治療法のポイントは根管内に感染した細菌を徹底的に除去し、その状態を維持することにある。しかし、根管治療を繰り返しても治癒せず難治化する症例や、根管治療が終了したにも関わらず再発する症例も多く、根尖性歯周疾患の治療は簡単ではない。

リーマーやファイルを使用した根管治療はゴールドスタンダードであるが、ニッケルチタンロータリーファイルは複雑な根管系に対する機械切削を実現し、根管形成の能率化を図ることを可能にした。また、mineral trioxide aggregate (MTA) に代表される歯内治療に関連した様々な材料や機器が開発され、歯内治療は大きな進化を遂げつつ、今なお進化を続けていく。中でも、マイクロスコープやコーンビーム CT を応用した検査や治療法はとても有用で、歯内治療の成功率向上に大きく寄与し、要抜去と判断された歯であっても保存するに至った症例も少なくない。これらの機器を使用することで、手探りの根管治療を回避し、「エンドの可視化」を可能とした。

難治性根尖性歯周疾患の発症には細菌感染と複雑な根管系が関係しているのは周知の事実であるが、それ以外の要因としてヒトヘルペスウイルスの関与が考えられる。特に、Epstein-Barr ウィルス (EBV) はバーキットリンパ腫などの悪性腫瘍やシェーグレン症候群などの自己免疫疾患発症に関与し、炎症や骨吸収を促すことなどが知られている。

我々はこれまで、根尖病変中に EBV が潜伏感染しており、難治性根尖性歯周疾患関連細菌が產生する酪酸の関与で EBV が再活性化することや、再活性化した EBV が骨吸収関連サイトカインの発現を誘導することなどを明らかにした。すなわち、細菌感染で生じると考えられていた根尖性歯周疾患には、ウイルス感染が大きく関わっている可能性が示唆され、根尖性歯周疾患に関するこれまでの常識を覆すこととなった。本講演では、難治性根尖性歯周疾患に対する歯内治療の実際と EBV に関するこれまでの研究成果について解説したい。

## 《一般講演》

### 1. 喫煙が ELOVL2 のメチル化に及ぼす影響—初代培養口腔粘膜線維芽細胞を用いた解析

○西澤英里佳<sup>1,2</sup>, 小方彩乃<sup>3,4</sup>, 古川明彦<sup>2,5</sup>, 岡野雅春<sup>3,4</sup>, 生木俊輔<sup>2,5</sup>, 近藤真啓<sup>3,4</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>

日本大学歯学部法医学講座<sup>3</sup>

日本大学大学院総合歯学研究所 社会歯学研究部門<sup>4</sup>

日本大学大学院総合歯学研究所 生体防御部門<sup>5</sup>

#### 目的

加齢や生活習慣、疾患などの要因は、種々の遺伝子の CpG メチル化を変化させる。最近、長鎖脂肪酸伸長酵素をコードする ELOVL2 のメチル化が、年齢（加齢）と強い相関を示すことが明らかにされ注目を集めている。一方喫煙習慣は老化を促進させると考えられているが、喫煙がこのような年齢依存的なメチル化変化を示す遺伝子の CpG に及ぼす影響は明らかにされていない。そこで、両者の関連性を解析するための手段としてヒト口腔粘膜線維芽細胞 (HOMF) の初代培養実験系を立ち上げ、本研究ではニコチン刺激および酸化ストレスが ELOVL2 のメチル化に及ぼす影響について検討した。

#### 材料および方法

HOMF を 10%FBS 加 DMEM 培養液にて、5%CO<sub>2</sub>、37°C 条件下で継代培養を行った。継代 11 回 (P11) および 34 回 (P34) の HOMF に 100 μg/ml ニコチンまたは 100 μM 過酸化水素を添加し、3 日間培養を継続した。その後、NucleoSpin Tissue Kit を用いてゲノム DNA を抽出し、バイサルファイト処理を実施した。そして、リアルタイムメチル化特異的 PCR をを行い、ELOVL2 のメチル化率を算出した。また、Cellular Senescence Detection Kit を用いて、各群の老化状態を解析した。

#### 成績および考察

ELOVL2 のメチル化が、HOMF の継代回数に伴い増加することを確認した。P11 HOMF へのニコチンまたは過酸化水素の添加は、ELOVL2 のメチル化率に影響を与えたかった。一方、過酸化水素を添加した P34 HOMF における ELOVL2 のメチル化率は、対照群と比べて高値を示した。また、ニコチンあるいは過酸化水素を添加した P34 HOMF では、senescence-associated β -galactosidase 活性が対照群と比べて増加傾向を示した。以上の結果から、酸化ストレスは細胞の老化を促進させ、ELOVL2 のメチル化状態を変化させる可能性が示唆された。

## 2. 肋軟骨由来軟骨細胞を用いた顎骨欠損の修復

○西川昂佑<sup>12</sup>, 二宮 穎<sup>34</sup>, 髙内美穂<sup>25</sup>, 生木俊輔<sup>25</sup>, 高橋富久<sup>34</sup>, 米原啓之<sup>25</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

顎骨欠損や歯槽骨欠損の再建では、自家骨を移植することで良好な予後が得られるが、自家骨は採取できる骨量が制限される。これまでに、軟骨片を骨欠損部に移植することで骨再生が得られており、また培養軟骨細胞を用いることで必要量が確保できるため、軟骨を用いた骨欠損治療が期待されている。本研究では、新たな骨再生法を開発するため、ラットの肋軟骨から採取した軟骨細胞の顎骨欠損部修復能について検討した。

### 材料および方法

深麻酔下で5週齢雄性Wistarラットから肋軟骨を摘出し、酵素処理によって軟骨細胞を採取した。同時に、頭頂骨から骨芽細胞を採取した。培養後、細胞からRNAを抽出して、qPCRによって、aggrecan (AGN), typeII collagen (Col II), およびtypeX collagen (Col X) の遺伝子発現を調べた。また、免疫染色によって、それぞれの細胞におけるAGNとCol IIの発現を比較した。移植実験では、下顎骨に4mm径の骨欠損を作製し、培養した軟骨細胞をスキヤホールド (PCL)とともに自家移植 (CPCL群) した。移植後、7日ごとにマイクロCTで骨欠損部を撮影し、非移植群 (control群) と細胞を含まないPCL移植群 (PCL群) を比較した。

### 結果および考察

採取した軟骨細胞は骨芽細胞よりもAGN, Col II, およびCol Xの発現が高いことが示された。また、免疫染色からも、軟骨細胞にAGNとCol IIの発現が認められた。CPCL群とcontrol群では、移植2週目に骨欠損部辺縁に硬組織形成が認められた。移植3週目になると、CPCL群に硬組織が広範囲に形成され、control群やPCL群よりも骨欠損修復が促進した。以上の結果から、ラット肋軟骨細胞の移植は、顎骨欠損治療に有用であることが示唆された。

## 3. 三叉神経痛発症に対する三叉神経節における好中球の役割

○Zhou Yue<sup>1,2</sup>, 人見涼露<sup>23</sup>, 岩田幸一<sup>23</sup>, 篠田雅路<sup>23</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>

日本大学歯学部生理学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所 機能形態学部門<sup>3</sup>

### 目的

三叉神経痛は、激しい顔面痛発作を惹起する神経障害性疼痛の一つである。周囲の血管による三叉神経根の圧迫が主な病因であると考えられているが、その詳細なメカニズムは不明である。本研究では、三叉神経根を持続的に圧迫することで作製した三叉神経痛モデルラットを用いて、三叉神経痛発症に対する三叉神経節における好中球の役割を検討した。

### 方法

雄性SDラットの左側三叉神経根をガラス管で持続的に圧迫する群をTNC群、圧迫しない群をSham群とした。TNCまたはsham処置後、口髭部皮膚への機械刺激に対する逃避閾値 (MHWT) を測定した。Activating transcription factor 3 (ATF-3) 免疫組織化学的染色により三叉神経節 (TG) ニューロンの損傷を評価した。また、処置後7日目、三叉神経根における好中球エラスター (ELA2) 陽性細胞数とTGにおけるELA2とELA2受容体であるprotease-activated receptor-2 (PAR2) の局在を免疫組織化学的に解析し、western blotting法にてTGのELA2量を測定した。また、ELA2拮抗薬 (Sivelestat) およびPAR2拮抗薬 (FSLLRY-NH2) をTG内に処置後7日目まで持続投与し、処置後3, 5, 7日目にMHWTを測定した。

### 結果

処置後3日目よりTNC群のMHWTは低下した。処置後3, 7日目において、TNC群ではATF-3陽性TGニューロンが認められた。処置後7日目、TNC群において三叉神経根のELA2陽性好中球数が増加し、TGのELA2発現量も増加した。PAR2は両群のTGニューロンに発現した。また、SivelestatおよびFSLLRY-NH2のTG内持続投与により、TNCによるMHWTの低下が抑制された。

### 考察

TNCによるTGニューロンの損傷後、TGに集積した好中球からのELA2分泌が増加し、そのELA2がTGニューロンのPAR2に作用することで口腔顔面部に機械アロディニアが発症する可能性が示された。

#### 4. 未切削エナメル質への歯面処理剤の使用がユニバーサルアドヒーシブ応用型2ステップ接着システムの初期接着性に及ぼす影響

○武藤 玲<sup>1,2</sup>, 庄司元音<sup>2</sup>, 須田駿一<sup>2,3</sup>, 柴崎 肇<sup>2,3</sup>,  
石井 亮<sup>2,3</sup>, 黒川弘康<sup>2,3</sup>, 陸田明智<sup>2,3</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、ユニバーサルアドヒーシブをプライマーとして用いる2ステップ接着システムが臨床使用されている。しかし、ユニバーサルアドヒーシブ応用型2ステップ接着システムの未切削エナメル質への接着性について、異なるエッティング剤を使用した際の接着性については不明な点が多い。そこで、異なるエッティング剤を用いた際の接着強さ、エナメル質処理面の表面自由エネルギー測定とともに走査型電子顕微鏡(SEM)観察することで検討を加えた。

##### 材料および方法

接着システムとして、ユニバーサルアドヒーシブ応用型2ステップ接着システムのG2 Bond Universal(GC)を使用した。対照として、ユニバーサルアドヒーシブのScotchbond Universal Plus Adhesive(Solventum)および2ステップ接着システムのOptiBond eXtra(Kerr)を用いた。また、エッティング剤として35%リン酸エッティング剤のUltraEtch(UE, Ultradent Products),接着性リン酸モノマーを含有したMulti Etchant(ME, YAMAKIN)および有機酸を含有したEnamel Conditioner(EC, 松風)を用いた。接着試験に際しては、歯冠部中央が平坦なヒト抜去上頸前歯を用いた。唇側エナメル質をSiCペーパーの#320まで研削を行ったものと、未切削エナメル質とを、それぞれ被着面とした。アドヒーシブの塗布条件としては、エッチ&リンスマードおよびセルフエッティングモードの2条件とした。次いで、ISO 29022に準じて接着試験用試片を作成し、24時間後に剪断接着強さを測定した。さらに、通法に従って、エナメル質処理面のSEM観察を行った。

##### 結果および考察

いずれの条件においても切削エナメル質は、未切削条件に比較して接着強さが高くなる傾向を示した。切削・未切削エナメル質にかかわらず、いずれの接着システムにおいてもUEは他のエッティング剤に比較して高い値を示した。ECの切削エナメル質では、UEと同等の接着強さを2ステップシステムでは示したが、未切削エナメル質ではUEに比較して有意に低い値を示した。MEは、いずれの条件にかかわらず他のエッティング剤に比較して低い値を示した。これらの成績は、SEM像の観察とも一致するものであった。

#### 5. 異なる混和条件によるバイオセラミックス系シーラーの骨芽細胞における石灰化および生体親和性への影響

○岡野真之<sup>1,2</sup>, 安川拓也<sup>2,3</sup>, 田邊奈津子<sup>4</sup>, 津田啓方<sup>4</sup>,  
林 誠<sup>2,3</sup>, 武市 収<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所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

日本大学歯学部生化学講座<sup>4</sup>

##### 目的

近年、歯内療法領域においてバイオセラミックスを含む歯科材料が臨床応用されており、そのなかでもバイオセラミックス系シーラーの普及は著しい。MTAマルチシーラー(クラーク)およびニシカキヤナルシーラーBG multi(日本歯科薬品)は広く臨床で使用されており、2つのシーラーの特徴として付属する粉末成分の量を調整することで、クリーム状やパテ状など性状を変えることが可能であるが、その比率の変化による骨芽細胞への影響は明らかにされていない。本研究の目的は、異なる混和比で作成した試料が骨芽細胞にどのような影響を与えるかを明らかにすることである。

##### 材料および方法

被験試料はMTAマルチシーラー(以下、MMS)とニシカキヤナルシーラーBG multi(以下、NBG)で、対照試料としてProRoot MTA(Dentsply Sirona)を用いた。また、使用細胞はマウス頭蓋冠由来株化骨芽細胞であるMC3T3-E1細胞を用いた。

MMSは粉液比1:1および2:1の条件にて混和、NBGはペースト/パウダー重量比10:0および10:6の条件にて混和した。ProRoot MTAは製造者の指示通りに混和した。これらの混和物を直徑9mm、厚さ3mmの型枠に填入し、37°C、相対湿度100%、5%CO<sub>2</sub>の条件下で24時間静置し硬化させ、 $\alpha$ -minimum essential medium( $\alpha$ -MEM)中に3日間浸漬した。その後、MC3T3-E1細胞を播種した細胞培養用プレート上のcell culture insertに被験試料を静置し、試料を設置しないものを陰性コントロールとした。

実験1. 被験試料の骨芽細胞に対する生体親和性について、Cell counting kit-8(同人化学)を用いて1、2および3日目の細胞数を測定した。

実験2. 本実験条件における被験材料より遊離するCa<sup>2+</sup>濃度をCalcium E-test Wako(和光純薬)を用いて7日目まで測定した。

実験3. 本実験条件におけるALP活性をQuantiChrom Alkaline Phosphatase Assay Kit(Funakoshi)を用いて7日目まで測定した。

##### 結果および考察

MMSはProRoot MTAと同程度のCa<sup>2+</sup>を放出し、陰性コントロールと同程度の細胞数およびALP活性の増加を認めたことから、MMSは混和条件に関わらず骨芽細胞の増殖に影響が少ないシーラーである可能性が示唆された。

## 6. 象牙細管封鎖を促すハイドロキシアパタイト様結晶の生成：均一二相性リン酸カルシウムセメント (Biphasic Calcium Phosphate Cement) の新規応用

○井上聖也<sup>1,2</sup>, 鈴木裕介<sup>2,3</sup>, 林 誠<sup>2,3</sup>, 武市 収<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所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

### 目的

均一二相性リン酸カルシウムセメント (BCPC) は、同一粒子内に  $\alpha$ -リン酸三カルシウムおよびリン酸四カルシウムを分散させることで、効率的にハイドロキシアパタイト (HA) を生成する特性を有する。そのため、HA は象牙質面に塗布すると象牙細管の物理的封鎖、歯質の耐酸性向上や再石灰化促進効果を示すことが報告されており、BCPC の適応は高齢者の根面う蝕や象牙質知覚過敏症に対する新たな治療法となり得ると考えた。そこで本研究では、BCPC が生成する HA によるウシ抜去歯象牙細管の物理的封鎖性を走査型電子顕微鏡 (SEM) により観察し、象牙質知覚過敏症抑制材としての有用性を評価することを目的とした。

### 材料および方法

#### ①供試材料

Powder BCP 粉末 (Median Diam 8.2  $\mu\text{m}$ ) +1.5M クエン酸 3 ナトリウム

Liquid 2.5M 酸性リン酸カルシウム溶液

#### ②牛歯試片の作製

ウシ下顎前歯歯頸部象牙質をモデルトリマー (MT 10, モリタ東京製作所) および自動研削機 (Buehler Minitech, Presi) を用いて、 $4 \times 4 \times 1$  mm のブロック体に調整した。その後、耐水シリコーンカーバイトペーパー #800, #1,200, #2,500 の順で研磨し、超音波洗浄したものを象牙細管開口モデルとした。

#### ③BCPC の塗布

BCPC を 10 秒混和後、30, 40, 50 秒の 3 条件で塗布。24 時間水中保管後、SEM 観察 (ERA-8800FE; Elionix) を行った。

#### ④SEM 観察

塗布面および象牙細管方向に割断した縦断面を観察し、象牙細管封鎖性を評価した。

### 成績および考察

BCPC の塗布により、象牙細管表面は HA 様結晶構造により覆われており、塗布条件の違いによる影響は認められなかつた。縦断面観察では、象牙細管内に BCPC が浸透し、HA 様結晶構造によるタグ様構造が形成されていた。すなわち、水中保管後も BCPC がウォッシュアウトされていないことから、口腔内環境下においても安定した HA 様結晶構造の生成が可能であると考えられる。

## 7. FGF-2 添加コラーゲンメンブレンの歯槽堤保存術への応用

○鬼澤 崇<sup>1</sup>, 高山忠裕<sup>2,3</sup>, 磯部俊介<sup>1</sup>, 新井嘉則<sup>3,4</sup>, 佐藤秀一<sup>2,4</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>

日本大学歯学部歯科放射線学講座<sup>3</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>4</sup>

### 目的

近年、欠損部への歯科インプラント治療を応用する機会が多くなってきている。しかしながら、抜歯後の歯槽骨吸収により、インプラント体埋入に必要な骨の幅や高さが不足している場合が多く存在する。歯槽骨吸収を最小限に抑えるために歯槽堤保存術 (alveolar ridge preservation; RP) という術式が考案される。RP では、骨移植材とバリアメンブレンが使用される。代表的なバリアメンブレンとしてコラーゲンメンブレン (collagen membranes; CM) が知られている。本研究では、ラットの上顎第一臼歯の抜歯を行い、塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor; FGF-2) を CM に添加した再生ユニット (CM/FGF-2) を応用し、抜歯窓の治癒に及ぼす影響について検討した。

### 材料と方法

雄性近交系ラット (F344/jcl) 8 週齢を用い、上顎第一臼歯の抜歯を行った。抜歯のみの群を control 群とし、抜歯窓を CM で被覆した群を CM 群、CM に FGF-2 を低用量 0.5  $\mu\text{g}$  添加した群を FGF-2[L] 群、高用量 2.0  $\mu\text{g}$  添加した群を FGF-2[H] 群とし 4 群に分けた。CM を設置後、ポリプロピレン糸で縫合を行った。実験動物用 3D マイクロ CT (マイクロ CT) を用い、エックス線学的に抜歯窓治癒過程の観察と骨形態変化の計測を術後 4 週までの隔週において行った。

### 結果

術後 1, 2 週は control 群と比べ FGF-2[H] 群で骨増加量は顕著な増加を認めた。また、術後 4 週で頬側骨の減少量は control 群と比較して、CM 群、FGF-2[L] 群、FGF-2[H] 群で抑制された。

### 結論

CM/FGF-2 を抜歯窓に応用することで、術後早期における抜歯窓の治癒機転が認められ、頬側骨の吸収を抑制できることが示唆された。

## 8. ラット下顎角骨欠損モデルにおける BMP-2 添加コラーゲンメンブレンの骨造成に及ぼす効果

○磯部俊介<sup>1</sup>, 高山忠裕<sup>2,3</sup>, 鬼澤 崇<sup>1</sup>, 新井嘉則<sup>3</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Ⅲ講座<sup>2</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>3</sup>

### 目的

インプラント体埋入の際に十分な骨幅や骨の高さが不足した欠損部に対する歯科インプラント治療では骨再生誘導法を検討する必要がある。術中にスペースの確保を目的としてバリアメンブレンを使用する場合があり、その代表例としてコラーゲンメンブレン (collagen membrane; CM) が知られている。我々の研究グループでは以前より CM 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、歯槽骨再生量の更なる改善や歯槽骨再生に要する治癒期間短縮の必要性を探求してきた。そこで本研究では、新たな成長因子である骨形成タンパク (bone morphogenetic protein; BMP-2) を CM に添加した再生ユニット (CM/BMP-2) を考案し、骨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

雄性近交系ラット (F344/jcl) 8 週齢の下顎角に、内径 4.0 mm のトレファインバーで下顎角骨欠損モデルを作製した。欠損のみ (control 群), 欠損を CM で被覆 (CM 群), CM に BMP-2 を低用量 0.5 µg 添加 (BMP-2[L] 群), 高用量 2.0 µg 添加 (BMP-2[H] 群) し被覆した 4 群に分けた。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 HE 染色による組織学的評価を、術後 6 週において行った。

### 結果と考察

エックス線学的観察から、control 群, CM 群と比較し、CM/BMP-2 群で骨欠損部に骨様組織の再生を認めた。また、BMP-2[L] 群と比較した際に BMP-2[H] 群の方が欠損部に骨様組織の再生を認めた。組織学的評価では生体為害性を示す組織像は認められなかった。以上から、CM/BMP-2 群は骨造成を顕著に促すことが示唆された。

### 結論

CM/BMP-2 群は、control 群および CM 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、新規骨造成ユニットとして応用される可能性が考えられる。

## 9. 歯肉線維芽細胞の FGF-2 発現に及ぼす LIPUS 刺激の影響

○林みに彩<sup>1,2</sup>, 中井久美子<sup>2,3</sup>, 田中秀樹<sup>2,3</sup>, 川戸貴行<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>

日本大学歯学部衛生学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所 機能形態学部門<sup>3</sup>

### 目的

Low Intensity Pulsed Ultra Sound (LIPUS) は、骨芽細胞の機能を賦活化することから骨折治療などに臨床応用されている。また、Fibroblast Growth Factor (FGF)-2 は成長因子の 1 つであり、歯肉線維芽細胞が産生する FGF-2 は歯周組織のリモデリングや創傷治癒に関与することが知られている。本研究では、セルフケアに用いられる刷毛部から LIPUS を発する電動歯ブラシ (超音波歯ブラシ) の使用を想定して、歯肉線維芽細胞 (HGNF) に LIPUS 刺激を加え、FGF-2 発現に及ぼす影響を調べた。

### 材料および方法

HGNF を 6-well 培養プレートに播種し、2% ウシ胎児血清、1% 線維芽細胞サプリメントおよび 1% 抗生物質溶液を含む培地で培養した。細胞がコンフルエンスに達した時点で、オステオトロン V (伊藤超短波株式会社) の発振器を培養プレート底面にゲルを介して密着させ、3 分間、細胞に LIPUS 刺激を加えた。LIPUS による刺激条件は、超音波歯ブラシ (伊藤超短波株式会社) の仕様を参照して、出力 15 mW/cm<sup>2</sup>、周波数 1.5 MHz とした。刺激から 12 時間後に回収した細胞溶解液中の FGF-2 タンパク発現を、Western blotting 法で調べた。得られたタンパクバンドは、画像解析ソフトを用いて半定量化した。

### 結果および考察

Western blotting 像において、分子量マーカーの 15~31 KDa 付近に抗ヒト FGF-2 抗体に反応を示す複数のタンパクバンドが認められた。また、これらのタンパクバンドは、未刺激の細胞に比べて LIPUS 刺激を受けた細胞において強く認められた。

FGF-2 には低分子量と高分子量のアイソフォームが存在し、前者は 18 KDa、後者は 22~34 KDa の分子量と推定されている。また、低分子量の FGF-2 は細胞外に分泌後、細胞膜上の受容体に結合する一方で、高分子量の FGF-2 は核内に移行することが知られている。これらの知見と本研究の結果から、超音波歯ブラシの使用を想定したレベルの LIPUS の刺激は、低分子量と高分子量の両方の FGF-2 の発現を誘導し、歯肉線維芽細胞の機能に影響を及ぼす可能性が示唆された。

## 10. 二次口蓋癒合時における TGF- $\beta$ 3 および FGF2 の Cross-talk についての解明

○福増仁知香<sup>1,2</sup>, 青木三奈<sup>2</sup>, 中嶋 昭<sup>2,3</sup>, 納村泰弘<sup>2,3</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>

日本大学歯学部歯科矯正学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所 臨床研究部門<sup>3</sup>

### 目的

Transforming Growth Factor-beta (TGF- $\beta$ ) は、二次口蓋の正中癒合上皮 (Medial Edge Epithelium: MEE) に強い遺伝子発現を示すことが明らかとなってきている。TGF- $\beta$ 3<sup>-/-</sup> mouse では、MEE が上皮癒合せず口蓋裂となることが知られている。一方、Fibroblast growth factor (FGF) シグナル伝達経路もまた、口蓋の発生において重要な役割があることが明らかとなってきており、FGF2 は上皮および口蓋中後部の間葉系細胞に発現している。しかし、二次口蓋癒合時における、TGF- $\beta$ 3 および FGF2 のそれぞれの機能を knockdown および double knockdown した際の cross-talk については、十分に明らかとなっていない。本研究目的は、二次口蓋の organ culture により、TGF- $\beta$ 3 および FGF2 の機能を siRNA 处理で single knock down および double knockdown を行い、二次口蓋癒合時における TGF- $\beta$ 3 および FGF2 との cross-talk signaling の詳細を明らかにすることである。

### 材料および方法

ICR (Wild type) マウスの胎生 13 日目 (E13) の二次口蓋を摘出し、二次口蓋の器官培養を行う。Control 群については control siRNA、knockdown 群については、500 nM の TGF- $\beta$ 3、FGF2 の siRNA を含有した培養液にて、37°C、5% CO<sub>2</sub>-air atmosphere の環境下で培養を行った。培養時間は 24 時間 (E14 相当)、48 時間 (E15 相当) および 72 時間 (E16 相当: 口蓋融合期) まで Culture した。免疫染色にて E14 および E13+24h の MEE における TGF- $\beta$ 3 および FGF2 の二次口蓋発現、mRNA 発現については real-time RT-PCR 法、タンパク発現については Western blot 法により発現量を比較し検討を行った。

### 成績および考察

Control 群では、72 時間後の二次口蓋は癒合していたが、FGF2, TGF- $\beta$ 3/FGF2 の siRNA 添加群のいずれにおいても癒合遅延もしくは癒合不全を生じていた。TGF $\beta$ 3-FGF2 の Cross talk については TGF $\beta$ 3 を knockdown した際の FGF2 の発現は上昇し、siFGF2 を knockdown した場合では、TGF- $\beta$ 3 の発現は有意に増加していた。したがって、二次口蓋癒合時における TGF- $\beta$ 3 および FGF2 はそれぞれ発現が減少すると互いに発現を rescue する事が示唆された。

## 11. 接着性舌側リテナー再接着時における大気圧プラズマ処理がボンディング材浸入性に及ぼす影響について

○栗栖有希<sup>1,2</sup>, 木村浮子<sup>1,2</sup>, 小泉寛恭<sup>4,5</sup>, 米山隆之<sup>4,5</sup>, 納村泰弘<sup>2,3</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>

日本大学歯学部歯科矯正学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所 臨床研究部門<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所 生体工学研究部門<sup>5</sup>

### 目的

保定時に接着性舌側リテナーが一部脱離した場合の再接着について、大気圧プラズマ処理が脱離した接着材と歯面との隙間に充填する接着材の浸入性に及ぼす影響を検討した。

### 試料および方法

試料は、耐水研磨紙 #800 まで削合研磨した牛歯エナメル質平面とコンポジットレジンブロック平面間に 50 μm, 100 μm, 150 μm のテープを介在させ間隙を作り、C 型クランプで固定し作製した。プラズマ照射群には、窒素ガスプラズマ照射をその間隙に 20 秒間行った。その後、直ちにワニステップユニバーサルボンド (スコッチボンド, 3M) を間隙に塗布、浸透させ光照射を実施した。処理後の試料を 37°C の蒸留水中に 24 時間放置後、牛歯エナメル質とコンポジットレジンを分離した。光学顕微鏡でボンディングの間隙への浸入距離および面積を測定し、プラズマ照射群とコントロール群（非照射群）の比較は Mann-Whitney U test で、間隙の厚さは Kruskal-Wallis 検定後 Steel-Dwass test にて多重比較を行った。

### 結果および考察

プラズマ照射群では、コントロール群と比較し、ボンディング材の浸入距離が最大 2.8 倍、浸入面積が最大 4.1 倍有意に増加した。また、浸入距離については、100 μm と 150 μm は、50 μm と比較し有意 ( $p < 0.05$ ) に大きかった。これらの結果から、プラズマ処理により歯質表面およびコンポジットレジンの表面が改質され、ボンディング材の浸透を促進した可能性が考えられた。

### 結論

本研究により、プラズマ処理は接着性舌側リテナーの再接着時、歯面とレジンとの間に接着材を浸入させる有効な手段であることが示唆され、脱離していない装置を撤去する手間を省き、臨床現場のチェックタイム短縮に寄与する可能性を示した。今後は、異なる接着材や、ガス種によるプラズマ処理の効果についても検討する。

## 12. 関節リウマチが摂食嚥下障害および食生活に及ぼす影響

○小出偉貴<sup>1,2</sup>, 中山渕利<sup>1,2,3</sup>, 阿部仁子<sup>1,2,3</sup>, 米永一理<sup>1,2,3</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>

日本大学歯学部摂食機能療法学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所 臨床研究部門<sup>3</sup>

### 目的

リウマチ（RA）は、関節の疼痛や可動域制限、関節の腫れなどの症状が全身に認められ、生活の質にも影響を及ぼす。しかしながら、RA患者における摂食嚥下障害の実態は十分に明らかになっていない。本研究では、RA患者における摂食嚥下障害の実態と、それらが食事量や生活全般に与える影響を明らかにすることを目的とした。

### 方法

2024年9月～12月まで、共同研究先の医療法人慈誠会にて、RAと診断された成人患者185名を対象に調査を実施した。調査項目は、年齢、性別、BMI、RA罹患期間、現在および過去の症状、食事の際に困っている症状（噛めない、飲みづらい、むせる等）、食事量の変化（現在・発症前・最重症期との比較）、体重変化、運動状況、健康度、精神状態、幸福度等とした。

### 結果

回答者の平均年齢は69.0歳、罹患年数は平均16.3年であった。現在の食事の際に困っている症状としては、「あごが痛い」(18.1%)、「時間を探す」(16.7%)、「むせる」(12.1%)、「飲みづらい」(10.5%)が主に挙げられた。現在の食事量は、RA最重症期を100%とすると平均で101.1% ( $P>0.05$ )、RA発症前を100%とすると平均で88.1% ( $P<0.05$ )であった。また、現在のBMIは22.0 kg/m<sup>2</sup>であり、体重は発症前と比べると平均で1.9 kg減少 ( $P<0.05$ )し、最重症期と比べると0.5 kg増加 ( $P>0.05$ )していた（いずれも対応のあるt検定）。またとくに、食事の際に困っている症状を訴える群では、食事量が減少している者が多い傾向にあった。

### 結論

本研究により、RAが摂食嚥下や食生活にも影響を及ぼし、食事量や体重減少に関与する可能性が示された。今後、RA患者の摂食嚥下障害と運動状況、健康度、精神状態、幸福度等との関連性を解析し、歯科からRAに対する包括的な介入方法について検討する必要がある。

## 13. 5 mol% イットリア部分安定化ジルコニアの厚みがレジン系装着材料との接着耐久性に及ぼす影響

○星野恵佑<sup>1,2</sup>, 窪地 慶<sup>2,3</sup>, 高田宏起<sup>2</sup>, 新井聰美<sup>1,2</sup>,

中世大嗣<sup>2,3</sup>, 小峰 太<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所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

### 目的

5 mol% イットリア部分安定化ジルコニア (5Y-PSZ、以下PSZ) の厚みが、PSZとレジン系装着材料との接着耐久性に及ぼす影響を評価することを目的とした。

### 材料および方法

被着体として2種類の異なる厚みのPSZ円形平板（直径11.0 mm、厚さ2.0 mmおよび2.5 mm）と直径の異なるPSZ円形平板（直径8.0 mm、厚さ2.5 mm）を用いた。すべてのPSZ被着面に対して、#600の耐水研磨紙で注水研削後、0.2 MPaの噴射圧で10秒間、噴射口からの距離10 mmでアルミニナブラスト処理を行った。それぞれの厚みのPSZに対して、①デュアルキュア型レジン系装着材料・光照射あり（以下UI-40）、②直接修復用コンポジットレジン・光照射あり（以下CM-40）、③デュアルキュア型レジン系装着材料・光照射なし（UI-0）、④化学重合型レジン系装着材料・光照射なし（OP-0）の4条件で接着を行った。製作した試料は、37°C精製水中に24時間保管し、半数の試料に対して繰り返し荷重試験125,000回を行った。その後、万能試験機を用いてせん断接着試験を行った。せん断接着試験後、破断面を实体顕微鏡および走査電子顕微鏡を用いて観察した。また、微小硬度計を用いて各レジン系装着材料の重合後の硬度（ヌープ硬さ）を測定した。

### 成績および考察

繰り返し荷重試験前のUI-40およびCM-40においては、厚さ2.0 mmおよび2.5 mmでせん断接着強さに有意差は認められなかったが、繰り返し荷重試験後では、厚さ2.0 mmが2.5 mmと比較して有意に高いせん断接着強さを示した。また、ヌープ硬さに関しては、光照射の行わなかったUI-0およびOP-0では、厚さ2.0 mmおよび2.5 mmで有意差は認められなかった。しかし、光照射を行ったUI-40およびCM-40では、厚さ2.0 mmが2.5 mmと比較して有意に高いヌープ硬さを示した。以上の結果から、5 mol% イットリア部分安定化ジルコニアの厚みが2.0 mmの場合には、接着面に対し照射光が到達し、レジン系装着材料が十分に硬化したことで、接着耐久性の獲得に有効であったことが示唆された。

#### 14. 血管形成が歯の矯正移動に及ぼす影響

○篠原理恵<sup>1,2</sup>, 二宮 穎<sup>3,4</sup>, 高橋富久<sup>3,4</sup>, 納村泰弘<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所 機能形態部門<sup>4</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所 臨床研究部門<sup>5</sup>

##### 目的

歯列矯正時の圧迫側では、血流障害が起因して破骨細胞の分化が促進し、活発な歯槽骨吸収が生じる。一方で、破骨細胞は血液中に存在する单球に由来するため、歯を移動させるには血管が必要である。これらのように、歯の移動には血管が深く関わっているのだが、歯の移動を制御する血管の機能については、いまだ十分に解明されていない。本研究では、血管新生を誘導したマウスの歯に矯正力を加えることで、血管形成が歯の矯正移動に及ぼす影響について検討した。

##### 材料および方法

8週齢雄性C57BL6マウスの腹腔内に5, 10 mg/kgの血管新生促進剤(COA-Cl)を投与した後、3, 5日目に上・下顎を摘出して、qPCRと免疫組織染色によってVEGFの発現を調べた。また、COA-Cl投与3日後に矯正装置(OTM)を取り付けて第1臼歯に矯正力を負荷した。その後、マイクロCTを用いて経日的に歯の移動を観察した。さらに、酵素処理によってマウス臼歯から採取した歯根膜細胞(PDLs)を培養し、12-well plateに $1 \times 10^5$  cells/wellの細胞数で播種した。培地に1, 10, 100 μMのCOA-Clを添加し、48時間の培養後RNAを抽出し、qPCRによってVEGF, RANKL, OPGの発現を調べた。

##### 結果および考察

10 mg/kg COA-Cl投与群は、3日目で歯周組織にVEGFの発現が増加し、血管形成が促された。5 mg/kg COA-Cl投与群は、control(0 mg/kg)群と比べて歯の移動量に差がみられなかつたが、10 mg/kg COA-Cl投与群ではOTM処置1日目から有意な増加が認められた。PDLsの培地にCOA-Clを添加すると、PDLsによるVEGFとRANKLの発現が増加する一方で、OPGの発現は減少した。以上の結果から、血管形成がRANKL/OPG比の増加と歯の移動を促すことが示された。

#### 15. IL-1 $\alpha$ knockout (KO) 細胞におけるpIL-1 $\alpha$ の細胞内機能の追求

○田村宏貴<sup>1,2</sup>, 角田麻里子<sup>3,4</sup>, 浅野正岳<sup>3,4</sup>, 菊入 崇<sup>2</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>

日本大学歯学部小児歯科学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部病理学講座<sup>3</sup>

日本大学歯学部総合歯学研究所 生体防御部門<sup>4</sup>

##### 目的

IL-1 $\alpha$ は、細胞内でprecursor IL-1 $\alpha$ (pIL-1 $\alpha$ )として産生された後に酵素で分断され、核移行配列(NLS)を有するpropieceIL-1 $\alpha$ (ppIL-1 $\alpha$ )とmature IL-1 $\alpha$ (mIL-1 $\alpha$ )にわかれ。大部分のpIL-1 $\alpha$ は細胞外へ放出されるが、残留したpIL-1 $\alpha$ はNLSを有することから核に移行し遺伝子発現に関与するがその詳細は不明である。本研究は、IL-1 $\alpha$  knockout(KO)細胞を用いて、pIL-1 $\alpha$ の細胞内機能を追求することを目的とした。

##### 材料および方法

ヒト上皮癌細胞株(HSC-3)からCRISPR/Cas9法で、IL-1 $\alpha$  KO細胞(a7)を樹立した。HSC-3とHSC-a7のIL-6, IL-8およびIL-1 $\beta$ の発現をreal-time PCRとELISA法で検索した。HeLaとHSC-3のIL-1 $\alpha$ 反応性は、recombinant pIL-1 $\alpha$ (rpIL-1 $\alpha$ )を用いて行った。pIL-1 $\alpha$ の細胞内機能に関与する分子内領域の特定は、pIL-1 $\alpha$ , mIL-1 $\alpha$ , ppIL-1 $\alpha$ およびpIL-1 $\alpha$ のNLS欠失変異体( $\Delta$ NLS)で検討した。

##### 結果および考察

HSC-a7はHSC-3と比較してIL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ の産生が低下しており、転写レベルで抑制されていることが明らかとなつた。一方、HSC-a7にpIL-1 $\alpha$ を過剰発現させると、IL-6産生がHSC-3と同レベルに回復した。また、HSC-3はrIL-1 $\alpha$ に反応しなかつたことから、pIL-1 $\alpha$ は、HSC-3の核内でIL-6およびIL-8遺伝子発現を増強させていると考えられた。この効果は、mIL-1 $\alpha$ , ppIL-1 $\alpha$ および $\Delta$ NLSでは確認されなかつた。pIL-1 $\alpha$ はイントラクインとしてIL-6の発現に関与し、この効果はpIL-1 $\alpha$ という分子形態が完全体である場合にのみ発揮されるものと考えられた。

## 16. CAD/CAM 用歯冠補綴材料で製作した前歯部ハイブリッドアバットメントクラウンの破壊強度

○齊藤丈磨<sup>1,2</sup>, 本田順一<sup>2,3</sup>, 小林達朗<sup>2,3</sup>, 小峰 太<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所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

### 目的

本研究では、チタンベースに異なる CAD/CAM 用歯冠補綴材料で製作された補綴装置を接着した前歯部ハイブリッドアバットメントクラウン (HAC) の破壊強度を比較、検討した。

### 材料および方法

上顎中切歯欠損症例に対するインプラント治療を想定し、インプラント体を常温重合レジンに埋入した。実験群には、CAD/CAM 用歯冠補綴材料として、高透光性ジルコニア (TZ), 二ケイ酸リチウム含有セラミックス (LD), およびコンポジットレジン (CR) の 3 種類を使用した。補綴装置は、チタンベースにワックスパターン形成し、それを口腔内スキャナーでスキャン後、CAD ソフトを用いて同一の形態になるよう設計し、ミリング加工によって製作した。補綴装置の接着前処理として、TZ および CR の内面にはアルミナブラスト処理およびプライマー処理を、LD の内面にはフッ化水素酸処理およびプライマー処理を行った。チタンベースの接着前処理はプライマー処理のみを行った。その後、全ての補綴装置をレジン系接着材料を用いてチタンベースに接着した。

製作した HAC をインプラント体に締結後、アクセスホールは直接修復用コンポジットレジンにて充填した。全ての試料は 37°C 精製水中に 24 時間保管後、万能試験機を用いて、水平方向に対して 135° の角度で固定し、破壊強度を測定した。

### 成績および考察

HAC の破壊強度は TZ が  $1.5 \pm 0.2$  kN, LD が  $0.8 \pm 0.2$  kN, CR が  $0.6 \pm 0.4$  kN であり、全ての群間において統計学的な有意差を認めた ( $P > 0.05$ )。これは、TZ は LD および CR と比較して高い曲げ強さを有しているため、破壊強度が高くなったと考えられる。また LD は CR と比較して高い曲げ強さを有し、さらに微細な結晶を高密度に析出しているため、アクセスホール周囲の表面性状が安定しており、圧縮荷重に対して抵抗し CR よりも高い破壊強度を示したと推察される。本研究で評価した全ての HAC は、前歯部の生理的咬合力とされる 0.37 kN を越えており、臨床応用の可能性が示唆された。

## 17. 支台歯形成デザインと使用材料の違いがオクルーザルベニアの適合に及ぼす影響

○西原佑哉<sup>1,2</sup>, 岩崎太郎<sup>2,3</sup>, 伊藤恵吾<sup>2,3</sup>, 小峰 太<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所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

### 目的

支台歯と補綴装置の適合は、補綴装置の予後に影響を与えることが報告されている。本研究では、支台歯形成デザインと使用材料の違いが支台歯とオクルーザルベニアの内面適合に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

### 材料および方法

下顎右側第一大臼歯に対するオクルーザルベニア (OV) を用いた治療を想定し、レジン製人工歯の支台歯形成を行った。支台歯形成デザインは、フィニッシュラインをバットジョイントとし、咬合面を平坦にしたもの (FP) および FP の近遠心側にボックス形態を付与したもの (BP) の 2 つとした。咬合面の形成量は 1.5 mm とした。支台歯をスキャニング後、セメントスペースを 90  $\mu\text{m}$  とし設計した。設計後、二ケイ酸リチウム含有ガラスセラミックス (EM) とジルコニア (M4Y-M5Y, ZR) をミリングし焼成、焼結を行った。内面隙間量の測定は、シリコーンレプリカ法を用いて行った。OV 内面に歯科適合試験用材料 (FC) を塗布し、支台歯に圧接した。硬化後、OV 内面から FC を撤去し、歯科汎用アクリル系レジンを用いて包埋を行い、シリコーンレプリカを製作した。レプリカ試料は精密低速切断機を用いて近遠心方向に均等に 3 分割した。分割した各試料の内面に対して近心側、中央、遠心側の 3 点の測定点を設定し測定点近傍を 10 点、計 90 点をデジタルマイクロスコープで測定した。

### 成績および考察

各測定点の平均値を合計し、内面隙間量を比較した結果、EM 群、ZR 群とともに FP が有意に小さい値を示した。また、いずれの支台歯形成デザインも EM 群は ZR 群に比較して有意に小さい値を示した。この結果から、材料や支台歯形成デザインの違いは内面適合に影響を及ぼすことが示された。また、各測定点の値と設定したセメントスペースとの差は、BP 群 (8.4 ~ 69.8  $\mu\text{m}$ ) と比較し FP 群 (-3.6 ~ 26.3  $\mu\text{m}$ ) が小さい値を示し、設定値に近似した値が得られた。BP におけるボックス形態の付与がスキャニングやミリングのエラーを引き起こし内面適合に影響を及ぼすと考えられる。