

鹿児島大学歯学部紀要

Annals of Kagoshima University Dental School

Volume 36

2016

— 目 次 —

【巻頭言】

申年は大学飛躍の年！…………… 歯学部長 松口 徹也 … 1

【総説論文—退職教員—】

口腔顎顔面外科手術における経鼻挿管の諸問題
…………… 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科麻酔全身管理学分野 梶山 加綱 … 3

【総説論文—教授・准教授・講師就任教員—】

閉口筋感覚—運動制御機構の特異性
…………… 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻 生体機能制御学講座 口腔生理学分野 齋藤 充 … 11

歯科用接着システムの開発に求めるもの
…………… 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻 顎顔面機能再建学講座 歯科保存学分野 西谷 佳浩 … 19

酸化ストレスを抑制するミトコンドリア局在マンガンスーパーオキシドディスムターゼの機能
…………… 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 腫瘍学講座 顎顔面放射線学分野 犬童 寛子 … 25

総説：口腔ケア Up to date
…………… 鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科・顎顔面機能再建学分野・顎顔面疾患制御学分野 上川 善昭 … 35

In situ tissue engineering approach を応用した歯周組織再生療法の試み
…………… 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻 顎顔面機能再建学講座 歯周病学分野 白方 良典 … 41

材料系中研の紹介 —基礎と臨床をつなぐ—
…………… 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科生体材料学分野 河野 博史 … 59

成長因子の歯周組織再生療法への応用について
…………… 鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 成人系歯科センター 歯周病科 中村 利明 … 65

【公開講座報告】

平成27年度 鹿児島大学歯学部公開講座報告
…………… 鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 顎顔面機能再建学講座 咬合機能補綴学分野 南 弘之 … 75

【鹿児島大学歯学部発表論文】

2014年 SCI(または JCR) リスト雑誌に公表された業績 (IF 2013) …… 77

鹿 歯 紀

Ann. Kagoshima Dent.

鹿児島大学歯学部紀要投稿規定

1. 本誌は歯科医学の研究や教育に関して特定のテーマに基づき、総説あるいは啓発的・解説的な論文を主体に掲載する。本学部の教員は下記の規定に従い、誰でも投稿することが出来る。投稿論文の採否は、編集委員会が決定する。
 2. 本誌は年1回発行する。
 3. 論文の掲載は受理の順とする。ただし編集委員会より特に依頼した原稿については、別に委員会が定める。
 4. 掲載料は無料とし、別刷50部を贈呈する。
 5. 原稿はA4版にワープロで作成し、必要により、CDをつけて提出する。
 6. 表紙(原稿第一枚目)には、1)表題、2)著者名、3)所属、4)欄外見出し(和文25字以内)、5)図表の数、6)原稿の枚数、7)別刷請求部数(朱書)、8)編集者への希望などを書く。
 7. 英文抄録(Abstract)をつけ、その表紙には、1)タイトル、2)著者名、3)所属、4)Key words(5 words以内)、5)抄録本文は250語以内とする。
 8. 和文中の外国文字はタイプとし、和綴りにするときは片かなとする。イタリック指定をしたいところは、アンダーラインを引きその下にイタリックと書く。動物名などは原則として片かなを用いる。単位及び単位記号は、国際単位系による。
 9. 本文の欄外に赤字で図表を挿入すべき位置を指定する。
 10. 項目分は、I, II, …… さらにA, B …… さらに1, 2 …… さらにa, b …… というように分ける。
 11. 文献表の作り方
 - 1) 本文中に文献を引用するときは文中の該当する箇所または著者名の右肩の引用の順に従って、番号を付ける。3人以上連名の場合は、“ら”または“et al.”を用いる。

例1：前田ら³⁾によれば ……
例2：Hodgkin & Huxley¹⁾によれば ……
 - 2) 末尾文献表は引用の順に整理し、本文中の番号と照合する。著者名は、et al. と略さず全員を掲げる。
 - 3) 雑誌は著者：表題、雑誌名、巻、頁(始-終)、西暦年号の順に記す。
 - 例1：3) 前田敏宏, 渡辺 武, 水野 介, 大友信也：B型肝炎ウイルスに対するモノクローナル抗体. 細胞工学, 1, 39-42, 1982
 - 例2：1) Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. : The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo*. J. Physiol. (Lond.), 116, 473-496, 1952
 - 4) 単行本は著者名, 書名, 版数, 編集名, 章名, 引用頁, 発行所, その所在地の順に記す。論文集などの場合は雑誌に準じるが, 著者名:章名, 書名, 版数, 編集名, 引用頁, 発行所, 所在地, 西暦年号の順に記す。

例1：金子章道：視覚・感覚と神経系(岩波講座現代生物化学8), 初版, 伊藤正男編, 38-57, 岩波書店, 東京, 1974
例2：McElligott, J. G. : Chap 13, Long-term spontaneous activity of individual cerebellar neurons in the awake and unrestrained cat., In; Brain Unit Activity during Behavior, 1st ed., M. I. Phillips, Ed., 197-223, Charles C. Thomas, Springfield, 1973
 - 5) 孫引きの場合は原典とそれを引用した文献及びその引用頁を明らかにし, “より引用”と明記する。
 - 6) 雑誌名の省略名は雑誌により決めてあるものについてはそれに従い, 決めてないものについては日本自然科学雑誌総覧(1969, 日本医学図書館協会編, 学術出版会)またはIndex Medicusによる。これらにないものについては, 国際標準化機構の取り決めISO R4(ドクメンテーションハンドブック, 1967, 文部省, 大学学術局編, 東京電気大学出版局, 39 - 42頁参照)に従う。
12. その他
集会などの内容紹介, 海外だより, ニュース, 討論, 意見, 書評, 随筆など歯科医学または歯科医学者に関係あるあらゆる投稿を歓迎する。但し, 採否は編集委員会が決定する。
 13. 本紀要に掲載された論文, 抄録, 記事等の著作権は, 鹿児島大学歯学部へ帰属する。

編集委員
岩崎 智憲, 嶋 香織
南 弘之
(50音順)

巻頭言

申年は大学飛躍の年！

歯学部長 松口 徹也

平素より鹿児島大学歯学部の活動にご理解とご協力をいただき、厚くお礼申し上げます。このたび鹿児島大学歯学部紀要第36巻を皆様にお届けできることを、歯学部長として喜ばしく思います。

今年2016年は申の年になります。ある新年会のスピーチで、「羊から申への知能指数の向上で今年は知的な年になると思われ、大学にとってきっと良い年になるはずです。」という戯れ言を述べさせていただきました。しかし現実には、現在の国立大学をとりまく状況は決して甘いものではありません。国からの運営交付金の減額、人件費の増大、少子化の影響などで、全国の国立大学の経営は苦しい状況にあり、各局に研究費や人件費の削減が要求されるなど、強い逆風に曝されているといえます。

昨年は、厳しい予算状況の元、私共歯学部では、英語授業や学生の研究室配属を含めた大胆な学部生授業カリキュラムの変更や、北米・東南アジア等の歯科大学3校との学部間学術協定の新規締結、学生離島実習の与論・奄美・種子島3島への拡充など、多くの改革を実現することができました。2016年もこの流れを絶やさないよう、学部にとって必要な改革を積極的に押し進めていくつもりです。状況が厳しいからといって萎縮するのではなく、むしろ、厳しい環境を変革のチャンスと考え、よりよい組織を目指した構造改革を押し進めていくべきだと考えます。

巻頭言として、今年の学部の施策として重視しているものから3つを選んでお話しします。1つめは大規模災害への対応です。鹿児島は、懸念される桜島大噴火や南海トラフ地震による大きな被害を受ける可能性があります。鹿児島大学歯学部は南九州唯一の歯科大学として、有事の際の個人識別や歯科診療に積極的に貢献する義務があると考えます。その体制作りのために、昨年「大規模災害対策準備委員会」を学部内に立ち上げました。この委員会を中心として、現場での対

応、教員・学生教育を絡めた有機的な対災害体制を、スピード感をもって整備していく予定です。

2つめは学部における男女参画機会の均等化です。日本では1999年に制定された男女共同参画社会基本法の下で様々な提言がなされていますが、2012年の世界経済フォーラムの男女格差報告では、日本は世界135ヶ国中101位と、途上国以下の評価に留まっています。鹿大歯学部では、2015年に2名の女性准教授が誕生するなど、女性教員の積極的な採用を心がけていますが、まだ十分とは言えない状況です。最近の歯学部入学者における女性の増加が目立っており、鹿児島大学歯学部の昨年度の入学者における女性比率は約60%もあります。優秀な卒業生の雇用確保という点でも、男女参画機会の均等化は歯学部の喫緊の課題だと考えています。

3つめの重視点は、学部生の学習環境の改善です。昨年末から、歯学部講義棟内の学生控え室の改善に取り組んでおり、周囲の環境や机椅子の整備を行うことで、学年を越えて学生が学び合うことのできるスペースへと変化しつつあります。一方、前述した女性学生の急増に学部の施設整備が追いついていない部分もあり、例えば女子学生用のロッカーの不足など対応を要する点も認められます。施設整備は予算の問題などで直ぐには対応できない点も多々あるのですが、大学本部の理解も求めながら、早期の改善へ向けて努力をしていくつもりです。

最後に私事になりますが、今年は私の学部長としての任期が満了する年になり、4月以降は新学部長の元で更なる学部の発展を目指すことになります。今までのご支援に感謝するとともに、今後とも、より良い学部への成長のために関係者の皆様のご支援とご協力を賜りますよう、宜しく申し上げます。

口腔顎顔面外科手術における経鼻挿管の諸問題

梶山 加綱

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科麻酔全身管理学分野

I. はじめに

口腔顎顔面領域の手術では、術野と気道が同一部位を占めるために多くの症例で経鼻挿管が選択される。経鼻挿管は口腔内の術野が広い、咬合関係を見ることができる、開口障害のある症例にも適用できる、術後の人工呼吸管理において違和感が少ないなどの利点がある。一方、鼻粘膜を損傷しやすい、鼻腔内分泌物が気管に押し込まれ肺合併症が起こりやすい、鼻腔の狭窄によりチューブサイズが細くなり気道抵抗が大きくなる、吸引カテーテルが細く粘稠な気管内分泌物を吸引しにくい、挿管操作に時間がかかる、チューブ固定により外鼻変形と鼻翼損傷が起こりやすい、術中にチューブの切断や断裂、あるいは内腔の閉塞といったチューブトラブルが起こりやすいなどの欠点があり、経口挿管に比べてリスクが高い¹⁻³⁾。

そこで、本稿では、著者らがこれまでにに行った研究の成果を踏まえて、口腔顎顔面外科手術における経鼻挿管に纏わる問題点とその解決策について考えてみたい。

II. 挿管時の鼻出血

経鼻挿管時の最も頻度の高い合併症として鼻出血がある。気管チューブ挿入時の鼻出血は粘膜の損傷部位により鼻腔粘膜、鼻甲介、咽頭粘膜からの出血に分けて考えると理解しやすい。

鼻腔粘膜からの出血を防止するには、挿管前に血管収縮薬を塗布する、鼻腔を機械的に拡大する、チューブの表面を潤滑化する、経口挿管よりも細いチューブを選択するなどの方法がある⁴⁾。血管収縮薬としてはアドレナリンの使用が一般的だが、アドレナリンの投与は血圧上昇や心拍数増加をきたす可能性がある。Kameyamaら⁵⁾はアドレナリンにリドカインを加えることにより循環動態変動を抑えることができたことと述べている。著者らは鼻腔内に2%リドカインゼリーを注入して鼻腔内面を潤滑すると同時に表面麻酔し、次に0.01%濃度のアドレナリンを浸漬した綿棒を鼻腔に

挿入して、鼻粘膜の血管を収縮させるとともに左右側の鼻腔の広さを比較する。綿棒を留置することにより鼻腔の機械的拡大も期待できる。気管チューブのサイズは、綿棒が3本挿入できれば、男性で内径7.5mm、女性で内径7.0mmを基準に考えている。鼻腔が狭ければさらに細いチューブを選択する。

稀ではあるが気管チューブで中鼻甲介を損傷させることがある⁶⁾。Williamsら⁷⁾は、経鼻挿管時に中鼻甲介を事故的に削り取ってしまった症例を報告している。中鼻甲介の破損を防ぐには気管チューブを下鼻道に挿入する必要がある⁸⁾。著者らは綿棒の挿入方向を参考にリドカインゼリーを塗布したチューブを顔面に対して垂直に挿入し、ただちにチューブを頭側に傾斜させることにより先端を下方に向け、鼻腔底を添わせるように進めている⁹⁾。

鼻腔内を通過した気管チューブが後鼻孔を出た所で咽頭後壁に突き当たって、それ以上進まなくなることがある。このとき無理に力を加えると咽頭粘膜を傷つける。咽頭後壁粘膜の損傷は重篤である。Tintinalliら¹⁰⁾は、71例の経鼻挿管を行ったところ咽頭後壁粘膜を裂傷した症例が2例あったと報告している(図1)。わが国においてもチューブが咽頭後壁粘膜下軟



図1. 咽頭後壁粘膜損傷
経鼻的に挿入された気管チューブは咽頭後壁粘膜を損傷することがある。(文献10)より引用)



図2. EndoFlex[®]チューブによる咽頭鼻部通過性の向上
EndoFlex[®]チューブの使用により咽頭鼻部通過性が向上した。(文献20)より引用)

組織に迷入した症例¹¹⁾、咽頭後壁粘膜を穿孔して前頸部の傍臓器結合組織腔に達した症例¹²⁾、皮下気腫や縦隔気腫を生じた症例¹³⁾などが報告されている。鼻腔から挿入したチューブが咽頭鼻部を円滑に通過できれば咽頭後壁の粘膜損傷を防ぐことができるし、鼻出血を軽減させることもできる¹⁴⁾。これまでに種々の方法¹⁵⁻¹⁹⁾が提唱されているが、著者ら²⁰⁾は、咽頭鼻部がほぼ直角に彎曲していることに原因があると考えて、friction lockの操作でチューブ先端を屈曲させることができるEndoFlex[®]チューブ(Merlin Medical社製)の使用を試みた。容易に通過した場合をsmooth、抵抗を感じた場合をimpingedと評価したところ、標準型のPortexチューブ(Smith Medical社製)を使用した場合には30例中13例がimpingedと判定され、EndoFlex[®]チューブを使用した場合には30例すべてがsmoothと評価された(図2)。しかし、EndoFlex[®]チューブの欠点として、先端が声門部を通過した直後にfriction lockを解除しても屈曲が戻るのに時間を要すること、カフの材質が比較的硬く脱気したときに生じる皺が鋭利であること、経鼻用のpreformed型が販売されていないことなどが指摘されている²¹⁾。

そこで、著者ら²²⁾は、標準型のPortexチューブの先端をスタイレットで屈曲させる方法を検討した。チューブにスタイレットを挿入して先端から8cmの所で前方に60°屈曲させた群(図3)とスタイレットを挿入しなかった群を比較したところ、スタイレット非使用群では50例中20例がimpingedと評価されたのに対して、スタイレット使用群では50例すべてがsmoothと判定された。鼻出血の頻度はスタイレット非使用群で50%、スタイレット使用群で20%であった。さらに、チューブ先端の形状にも関係があると考



図3. スタイレットにより先端を屈曲したPortexチューブ
気管チューブにスタイレットを挿入して先端を前方に60°屈曲させた。(文献22)より引用)

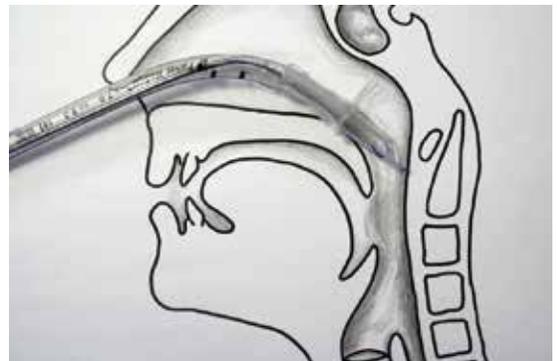


図4. スタイレットを挿入したParker Flex-Tip[®]チューブ
柔らかく丸みを帯びた先端が咽頭鼻部粘膜の損傷を軽減させた。(文献22)より引用)

えて、Parker Flex-Tip[®]チューブ(Parker Medical社製)についても検討した²²⁾。Parker Flex-Tip[®]チューブは標準型のチューブと異なり、ベベルが下方を向いていて、先端が柔らかくて丸みを帯びている。このParker Flex-Tip[®]チューブにスタイレットを挿入して先端部分を屈曲したところ50例すべてがsmoothと判定され、鼻出血の発生頻度は4%に減少した。Parker Flex-Tip[®]チューブの柔らかく丸みを帯びた先端が咽頭鼻部粘膜の損傷を軽減し、下方に向いたベベルが咽頭後壁に添うように滑走したと思われる(図4)。

本研究結果から、Parker Flex-Tip[®]チューブの中にスタイレットを挿入して先端を屈曲させる方法(チューブ先端屈曲法)はチューブの鼻腔内通過性を向上させて鼻出血を減少させることが明らかとなった。

Ⅲ. 声門下部の通過障害

経鼻挿管では気管チューブが声門を通過した直後に先端が気管前壁に突き当たって、それ以上進まなくなることがある(図5)。このとき無理にチューブを進めようと過度の力を加えると気管前壁の粘膜を損傷する。これはチューブの向かう方向と気管軸が一致していないことによる。経鼻的に挿入されたチューブの進行方向は咽頭鼻部の解剖と環椎後頭関節の屈曲角度により規定される。解決策として、ベベルを上方に向けるためにチューブを時計回り方向に90°回転させる、チューブの彎曲を逆方向に向けるために180°回転させる、気管軸をチューブの方向に一致させるために頸部を前屈するといった方法などがある²³⁾。しかし、チューブを回転させると鼻粘膜を損傷する可能性があるし、頸部を前屈すると声門を目視することが難しくなる。

そこで、著者ら²⁴⁾は、気管チューブ先端の形状²⁵⁾に着目して、チューブ先端部が柔らかく丸みを帯びている Parker Flex-Tip[®]チューブの声門下部通過性について検討した。標準型の Portex チューブと Parker Flex-Tip[®]チューブを用いて smooth と impinged で評価した結果、impinged と判定された症例は Portex 群で 50 例中 25 例 (50%)、Parker 群で 50 例中 7 例 (14%) であり、Portex チューブに比べて Parker Flex-Tip[®]チューブの方が声門下部を通過しやすいことがわかった。Parker Flex-Tip[®]チューブは先端部分が柔らかく丸みを帯びているので、気管前壁を突き上げることなく、先端部の上面が滑走して前方に進むことができたと推測される(図6)。

本研究結果から、経鼻挿管においてチューブの声門下部通過性を向上させるには、ベベルが下方を向いて先端が丸みを帯び、かつ材質の柔らかい Parker Flex-Tip[®]チューブが適していると思われた。

Ⅳ. 気管チューブの位置移動

口腔顎顔面領域の手術では術中に頸部や頭部の位置を変化させることが多い。頸部郭清術、下顎骨連続離断術、顎下腺摘出術などでは頸部を後屈して頭部を回旋するし、口蓋形成術、口蓋腫瘍摘出術、咽頭弁移植術などでは頸部を後屈して舌圧子付きの開口器を装着する。頸部を後屈したり頭部を回旋すると気管チューブは引き抜かれてカフによる声帯圧迫や偶発的脱管などの危険性が高まる。一方、舌圧子でチューブを押すとチューブが深く入り過ぎて片肺挿管になりやすくなる。



図5. Portex チューブによる声門下部通過障害
気管チューブが声門を通過した直後に先端が気管前壁にあたる可能性がある。(文献24)より引用)

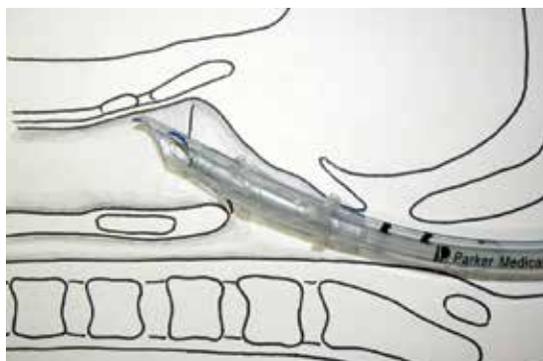


図6. Parker Flex-Tip[®]チューブによる声門下部通過性の向上
Parker Flex-Tip[®]チューブの使用により声門下部通過性が向上した。(文献24)より引用)

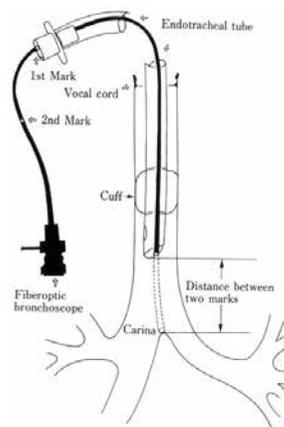


図7. 気管支ファイバースコープによる Double Marking Method
チューブ先端から気管分岐部までの距離は2つのマークの間の長さに等しい。(文献29)より引用)

気管チューブの位置移動に関する研究は、従来から胸部X写真を計測することにより行われてきた²⁶⁻²⁸⁾。しかし、X線撮影は手術室内に装置を搬入して頻回に撮影することの煩雑さと周囲への放射線被爆という問題を有している。著者ら²⁹⁾は、X線確認法に変わる方法として気管支ファイバースコープによる Double Marking Method (図7) を考案し、全身麻酔中の頭位変換によりチューブがどの程度移動するのかを検討した。その結果、水平位を基準とすると頸部前屈位で気管分岐部側へ平均21mm、後屈位で口腔側へ平均24mm、頭部回旋位で口腔側へ平均7mm、後屈回旋位では口腔側へ平均25mm 移動した。さらに、変換角度による相違を調べると、チューブ先端の移動距離はいずれの頭位においても30°変換群よりも45°変換群の方が顕著であり、角度依存性の変位が認められた²⁹⁾。

本研究において、前屈時の移動距離は21mm、後屈時は24mm、後屈回旋時は25mmであったが、これはあくまでも平均値である。実際には前屈位で最大26mm、後屈位で29mm、後屈回旋位では31mm 移動した症例もあった。このことから臨床的には前屈位を取る手術ではあらかじめチューブの先端を気管分岐部から少なくとも26mm 上方、後屈位を取る手術ではカフの近心端を声門から少なくとも29mm 下方、後屈回旋位を取る手術では少なくとも31mm 下方に位置させておけば、大部分の症例でチューブ変位に伴う合併症を防ぐことができると思われる。

したがって、挿管時にカフの近心端が声門を通過してから31mm 挿入した時点 (A) と呼吸音に変化したところから26mm 引き抜いた時点 (B) の間、たとえば、カフの近心端が声門を通過したのが外鼻孔で23cm、呼吸音に変化したのが30cm とすれば、26.1cm (A) と27.4cm (B) の間の約26.5cm でチューブを固定すれば、カフによる声帯圧迫、事故的脱管、偶発的片肺挿管をほぼ全例において防ぐことができると考えられる。しかし、気管の長さは個人により異なる。気管が短い症例では声門から31mm 下方と気管分岐部から26mm 上方の両方を満足することができないこともある。その場合は、頸部廓清術や下顎骨離断術のように頸部を後屈して頸部を回旋する手術ではチューブが引き抜かれる可能性が高いので、チューブ先端から気管分岐部までの距離を26mm より短くする。嚢胞摘出術や抜歯術のように著しい後屈位を必要としない手術であればチューブが引き抜かれる可能性は低いので、声門からカフまでの距離を31mm より短くできる。こうして手術に伴う頭位変化と気管の長さの両方を考慮

に入れてチューブの固定位置を決定する。

V. 呼吸音変化の信頼性

術中の偶発的片肺挿管は低酸素血症、非挿管側の無気肺、挿管側の肺の過膨張、気胸、血圧低下、心停止といった重篤な合併症を引き起こす^{30,31)}。一般に片肺挿管の有無を判別するには聴診器で左右の呼吸音を比較する方法が広く行われている。しかし、聴診法は必ずしも確実な方法であるとはいえない³²⁾。

著者ら³³⁻³⁶⁾は、呼吸音の変化は気管チューブ先端の形状に関係しているのではないかと考え、経鼻挿管を予定された成人患者を対象に呼吸音に変化したときのチューブ先端の位置を気管支ファイバースコープで計測した。使用したチューブは Murphy eye の付いていない Portex Blue Line[®] チューブ (Smith Medical 社製)、Murphy eye が片側に設置されている Portex Clear[®] チューブ (Smith Medical 社製)、Murphy eye が両側に設置されている Parker Flex-Tip[®] チューブ (Parker Medical 社製) の3種類で、それぞれ Magill 群、Murphy 群、Parker 群とした。その結果、Magill 群ではチューブの先端が気管分岐部を越えて右主気管支に平均1.5cm 挿入されたときに呼吸音に変化し、平均3.2cm 挿入されたときに呼吸音が消失した。Murphy 群では平均2.0cm 挿入されたときに呼吸音に変化し、平均3.2cm 挿入されたときに呼吸音が消失した。Parker 群では平均1.7cm 挿入されたときに呼吸音に変化し、平均3.6cm 挿入されたときに呼吸音が消失した (図8, 9)。

このことから Murphy eye が設置されていないチューブではベベルの近心端が気管分岐部を約0.5cm

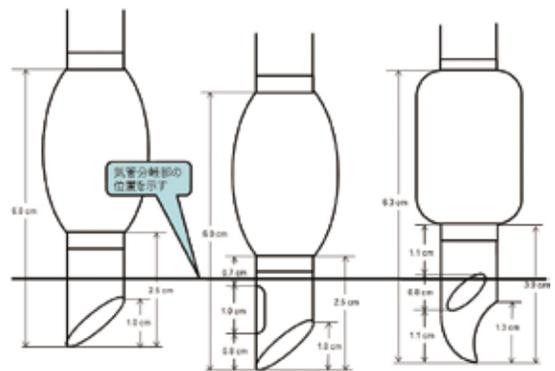


図8. 呼吸音変化時の気管チューブ先端の位置
Magill 群 (左) ではチューブ先端が右主気管支に平均1.5cm、Murphy 群 (中央) では平均2.0cm、Parker 群 (右) では平均1.7cm 挿入されたときに呼吸音に変化した。

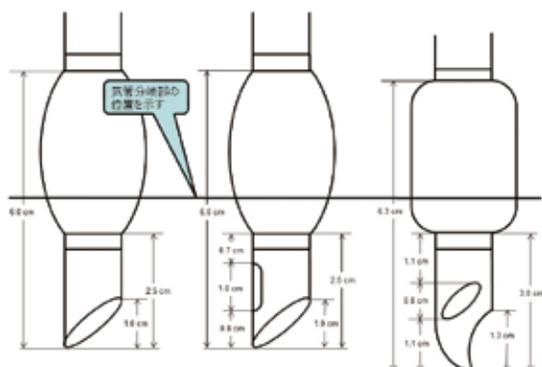


図9. 呼吸音消失時の気管チューブ先端の位置
Magill 群 (左) と Murphy 群 (中央) ではチューブの先端が右主気管支に平均3.2cm, Parker 群 (右) では平均3.6cm 挿入されたときに呼吸音が消失した。

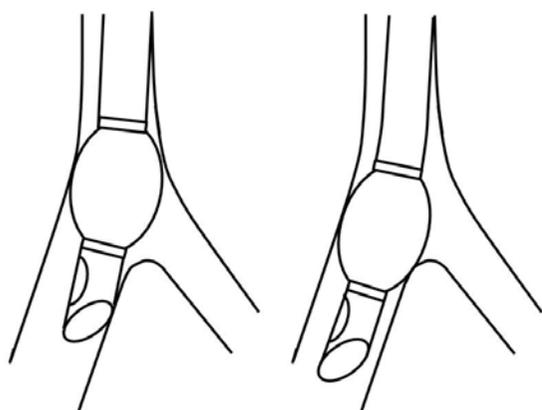


図10. Murphy 群における呼吸音の変化と呼吸音の消失
Murphy eye の近心端が気管分岐部にはほぼ一致したときに呼吸音に変化し (左)。膨張したカフが左肺へのガス流入を完全に遮断したときに呼吸音が消失した (右)。

越えたとき、左側に Murphy eye が設置されているチューブと両側に Murphy eye が設置されているチューブでは Murphy eye の近心端が気管分岐部にほぼ一致したときに呼吸音に変化することが判明した。チューブ先端が右主気管支に挿入されて左肺へのガス流入量が多少減少しても、ベベルや側孔を介して左肺へのガス流入量がある程度維持されていれば呼吸音は変化しない³⁷⁾。ガス流入量が著しく減少して初めて呼吸音に変化する³⁸⁾。一方、呼吸音の消失はチューブの先端がさらに深く挿入されて、膨張したカフが右主気管支に楔入して左肺へのガス流入を完全に途絶したときに認められると推測された (図10)。このことはカ

フなしチューブでは左肺へのガス流入の完全な途絶が起こりにくいので、チューブをさらに深く挿入しても呼吸音がなかなか消失しないという研究結果³⁹⁾からも確かめられた。

本研究結果から、術中に呼吸音に変化した場合、Murphy eye が付いていないチューブでは「先端からベベル近心端を少し超えた長さ」、左側に Murphy eye が設置されているチューブと両側に設置されているチューブでは「先端から Murphy eye のほぼ近心端までの長さ」を目安にチューブを引き抜く必要がある。したがって、聴診法の信頼性はチューブ先端の側孔の有無と位置を知ることにより向上させることができると考えられた。

VI. 抜管後の鼻出血

経鼻挿管に伴う鼻出血は抜管後にも起こりうる。Coe ら⁴⁰⁾は、経鼻挿管を行った126症例を対象に抜管後の鼻出血を調べて39例 (31.0%) に鼻出血がみられたと報告している。寺山ら⁴¹⁾は、抜管後に鼻腔から血塊の排出と約100mlの大量出血があり、上気道閉塞により緊急に輪状甲状軟骨膜穿刺を行った症例を報告している。術中に顎間固定を要する手術では抜管後の鼻出血は深刻な合併症を引き起こす。挿管時に鼻出血があっても抜管後に鼻出血が起こるとは限らない。挿管時に鼻出血がなくても抜管後に鼻出血をみることもある。抜管時にはカフ内に注入されている空気をシリンジで抜く。このときカフ表面に皺ができる。この皺の鋭縁が気管チューブを抜去する際に鼻粘膜を損傷する可能性がある。挿管時にはカフに潤滑剤を塗布するので皺による粘膜損傷を防ぐことができる。しかし、抜管時にはこのような予防処置を行うことができない。

そこで、著者らはチューブが鼻腔内を通過する際に脱気したカフに再度空気を注入して、皺ができないようにすれば粘膜損傷を防ぐことができるのではないかと考えた。カフ用シリンジの内面にリドカインスプレーを噴霧して内筒を滑りやすくしておき、シリンジに10mlの空気を入れてからカフ内の空気量相当分だけ減らす。たとえば、カフ注入量が3mlなら内筒を7mlの目盛に合わせる。そして、シリンジでカフを脱気してから抜管操作を行い、カフが咽頭部に達した頃にカフに10mlの空気を注入し、シリンジを接続したまま開放しておく。すると、カフが鼻腔内を通過するにつれてシリンジの内筒が滑るように動いて、カフ内の空気が少し抜け、カフ容量は自動的に調節され



図11. カフ再膨張法による抜管操作

カフが鼻腔内を通過する際に脱気したカフに再度空気を注入して皺ができないようにすれば鼻腔粘膜の損傷を防ぐことができる。

る。カフはある程度の膨張を維持したまま鼻腔内の形態に添って鼻腔粘膜に接しながら鼻腔内を通過する。シリンジ内面の潤滑化により内筒は自由に動くので、膨張したカフは鼻粘膜に過剰な圧を加えることなく鼻腔内を通過することができる(図11)。たとえ抜管中に鼻腔粘膜から出血しても膨張したカフが鼻腔を閉鎖してタンポンの役割を果たすので、血液の咽頭内流入を防ぐことができるという利点もある。

このカフ再膨張による抜管法は真鍋庸三講師が発案したので、著者らは「真鍋式抜管法」と呼んでいるが、その有効性を検討するために全身麻酔台帳と麻酔チャートの記録を後ろ向きに調査した。2015年4月1日から10月31日までの7か月間にカフ付き気管チューブを経鼻的に挿管した症例は113例であった。これを抜管法別に検討すると、通法通りの抜管法を用いた症例は55例で、そのうち10例(18.2%)は抜管後に鼻出血があり、2例は大量出血が持続したため耳鼻咽喉科に救急処置を依頼した。カフ再膨張法を用いて抜管操作を行った症例は58例で、抜管後鼻出血をみた症例は1例もなかった。カフ再膨張抜管法で使用したチューブはPortexチューブが8例、RAEチューブが30例、Parkerチューブが20例であり、チューブの種類と関係なく鼻出血を認めなかった。

本研究結果から、抜管後鼻出血の主たる原因は脱気したあとにカフ表面に生じる皺の鋭縁であり、抜管時にカフを再膨張させて皺をなくすことにより抜管後の鼻出血を減少させることができると考えられた。

VII. おわりに

経鼻挿管は経口挿管に比べてリスクが高く、いろいろな合併症が起こる危険性がある。しかし、エビデンスに基づいた予防策を積極的に講ずることにより安全な全身麻酔を実施することができると考えられる。

本論文の著者に開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) 一戸達也：口腔外科手術と全身麻酔，歯科麻酔学，第7版，金子 譲監修，福島和昭他編，415-416，医歯薬出版，東京，2011.
- 2) 深山治久：気管麻酔，歯科麻酔学，第6版，古屋英毅他編，415-416，医歯薬出版，東京，2003.
- 3) 深山治久，伊藤弘通，神野成治，増井峰夫，海野雅浩，嶋田昌彦，高田耕司，野田賢司，久保田康耶：経鼻気管内挿管の鼻出血予防法．日歯麻誌，16，349-352，1988.
- 4) Hall, C.E., Shutt, L.E.: Nasotracheal intubation for head and neck surgery. *Anaesthesia*, 58, 249-256, 2003.
- 5) Kameyama, K., Watanabe, S., Kano, T., Kusakawa, J.: Effects of nasal application of an epinephrine and lidocaine mixture on the hemodynamics and nasal mucosa in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surgery*, 68, 2226-2232, 2008.
- 6) Dost, P., Armbruster, W.: Nasal turbinate dislocation caused by nasotracheal intubation. *Acta Anaesthesiol Scand*, 41, 795-796, 1997.
- 7) Williams, A.R., Burt, N., Warren, T.: Accidental middle turbinectomy: a complication of nasal intubation. *Anesthesiology*, 90, 1782-1784, 1999.
- 8) Ahmed-Nusrath, A., Tong, J.L., Smith, J.E.: Pathways through the nose for nasal intubation: a comparison of three endotracheal tubes. *Brit J Anaesth*, 100, 269-274, 2008.
- 9) Moore, D.C.: Middle turbinectomy: a complication of IMPROPER nasal intubation? *Anesthesiology*, 92, 1504-1505, 2000.
- 10) Tintinalli, J.E., Claffey, J., Michigan, D.: Complications of nasotracheal intubation. *Ann Emerg Med*, 10, 142-144, 1981.
- 11) 山本直子，百田義弘，岸本直隆，小谷順一郎：経鼻気管チューブが鼻咽頭嚢に迷入した1症例．日歯麻誌，42，291-292，2014.

- 12) 瀬上夏樹, 松本信夫, 華房英樹: 経鼻挿管に併発した稀なる一合併症. 日歯麻誌, 15, 348-352, 1987.
- 13) 国森ひとみ, 神野成治, 脇田 亮, 生澤右子, 泉川仁美, 稲田裕仁, 外園智唯, 海野雅浩: 挿管チューブによる咽頭部損傷で生じた皮下・縦隔気腫の症例. 日歯麻誌, 35, 192-196, 2007.
- 14) Sim, W.S., Chung, I.S., Chin, J.U., Park, Y.S., Cha, K.J., Lee, S.C., Kim, Y.C.: Risk factors for epistaxis during nasotracheal intubation. *Anaesth Intensive Care*, 30, 449-452, 2002.
- 15) Kim, Y.C., Lee, S.H., Noh, G.J., Cho, S.Y., Yeom, J.H., Shin, W.J., Lee, D.H., Ryu, J.S., Park, Y.S., Cha, K.J., Lee, S.C.: Thermosoftening treatment of the nasotracheal tube before intubation can reduce epistaxis and nasal damage. *Anesth Analg*, 91, 698-701, 2000.
- 16) Seo, K.S., Kim, J-H., Yang, S.M., Kim, H.J., Bahk, J-H., Yum, K.W.: A new technique to reduce epistaxis and enhance navigability during nasotracheal intubation. *Anesth Analg*, 105, 1420-1424, 2007.
- 17) Watt S, Pickhardt D, Lerman J, Armstrong, J. Creighton, P.R., Feldman, L.: Telescoping tracheal tubes into catheters minimizes epistaxis during nasotracheal intubation in children. *Anesthesiology*, 106, 238-242, 2007.
- 18) Enk, D., Palmes, A.M., Aken, H.V., Westphal, M.: Nasotracheal intubation: a simple and effective technique to reduce nasopharyngeal trauma and tube contamination. *Anesth Analg*, 95, 1432-1436, 2002.
- 19) Morimoto, Y., Sugimura, M., Hirose, Y., Taki, K., Niwa, H.: Nasotracheal intubation under curve-tipped suction catheter guidance reduces epistaxis. *Can J Anaesth*, 53, 295-298, 2006.
- 20) Sugiyama, K., Takahashi, N., Kohjitani, A.: The EndoFlex[®] tube enhances navigability through the nasal cavity during nasotracheal intubation. *Anesth Analg*, 108, 1358-1359, 2009.
- 21) Liu, J.H., Xue, F.S., Liano, X., Zhang, Y.M.: Awake nasal intubation using a combination of the EndoFlex tube and fiberoptic bronchoscopy in patients with difficult airways. *Acta Anaesthesiol Scand*, 54, 121-122, 2010.
- 22) Sugiyama, K., Manabe, Y., Kohjitani, A.: A styletated tracheal tube with a posterior-facing bevel reduces epistaxis during nasal intubation: randomized trial. *Can J Anaesth*, 61, 417-422, 2014.
- 23) 横山武志, 片岡由紀子, 友田三保, 神原哲也, 真鍋雅信, 西山友貴: 経鼻的気管挿管の一工夫 - 輪状軟骨または気管前壁へ先当たりするチューブの進め方-. 日臨麻会誌, 21, 218-221, 2001.
- 24) Sugiyama, K., Manabe, Y., Kohjitani, A.: The Parker Flex-Tip tube prevents subglottic impingement on the tracheal wall during nasotracheal intubation, *Anesth Analg*, 115, 212-213, 2012.
- 25) Watanabe, S., Yaguchi, Y., Suga, A., Asakura, N.: A "Bubble-Tip" (Airguide) tracheal tube system: its effects on incidence of epistaxis and ease of tube advancement in the subglottic region during nasotracheal intubation. *Anesth Analg*, 78, 1140-1143, 1994.
- 26) Conrardy, P.A. Goodman, L.R., Lainge, F., Singer, M.M.: Alteration of endotracheal tube position. *Crit Care Med*, 4, 8-12, 1976.
- 27) Donn, S.M., Kuhns, L.R.: Mechanism of endotracheal tube movement with change of head position in the neonate. *Pediatr Radiol*, 9, 37-40, 1980.
- 28) Toung, T.J.K., Grayson, R., Saklad, J., Wang, H.: Movement of the distal end of the endotracheal tube during flexion and extension of the neck. *Anesth Analg*, 64, 1029-1038, 1985.
- 29) 梶山加綱, 横山幸三, 水枝谷渉: 全身麻酔中の頭位と気管内チューブの位置に関する研究—気管支ファイバースコープによる検索—. 日歯麻誌, 22, 475-490, 1994.
- 30) Brunel, W., Coleman, D.L., Schwartz, D.E., et al.: Assessment of routine chest roentgenograms and physical examination to confirm endotracheal tube position. *Chest*, 96, 1043-1045, 1989.
- 31) Schwartz, Z.E., Lieberman, J.A., Cohen, N.H.: Women are at greater risk than men for malpositioning of endotracheal tube after emergent intubation. *Crit Care Med*, 22, 1127-1131, 1994.
- 32) Owen, R.L. & Cheney, F.W.: Endobronchial intubation: a preventable complication. *Anesthesiology*, 67, 255-257, 1987.
- 33) Sugiyama, K., Yokoyama, K.: Reliability of auscultation of bilateral breath sounds in confirming endotracheal tube position. *Anesthesiology*, 83, 1373,

- 1995.
- 34) 梶山加綱, 横山幸三, 水枝谷涉: 聴診法による呼吸音の変化と気管内チューブ先端の位置. 臨床麻酔, 18(7), 965-966, 1994.
 - 35) Sugiyama, K., Yokoyama, K., Satoh, K., Nishihara, M., Yoshitomi, T. : Does the Murphy eye reduce the reliability of chest auscultation in detecting endobronchial intubation? *Anesth Analg*, 88, 1380-1383, 1999.
 - 36) 梶山加綱, 佐藤 裕, 横山幸三: 呼吸音の変化と気管チューブ先端の位置に関する研究, 日歯麻誌, 24(5), 805-808, 1996.
 - 37) Kato, H., Suzuki, A., Nakajima, Y., Makino, H., Sanjo, Y., Nakai, T., Shiraishi, Y., Katoh, T., Sato, S.: A visual stethoscope to detect the position of the tracheal tube. *Anesth Analg*, 109, 1836-1842, 2009.
 - 38) Kubota, Y., Toyoda, Y., Kubota, H., Yamasaki, Y. : Confirmation of endotracheal tube position. *Chest*, 98, 1306, 1990.
 - 39) Sugiyama, K., Manabe, Y., Kohjitani, A.: Unrecognized bronchial intubation associated with the uncuffed pediatric tracheal tube with bilateral Murphy eyes. *Pediatr Anesth*, 22, 1191-1196, 2012.
 - 40) Coe, T.R., Human, M.: The peri-operative complications of nasal intubation: a comparison of nostril side. *Anaesthesia*, 56, 447-450, 2001.
 - 41) 寺山 星, 小松郷子, 西山友貴, 花岡一雄: 抜管後に気道閉塞を来した第一第二鰓弓症候群の麻酔経験. 麻酔, 49, 1270-1273, 2000.

閉口筋感覚－運動制御機構の特異性

齋藤 充

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
先進治療科学専攻 生体機能制御学講座 口腔生理学分野

Specificities of the sensorimotor mechanisms controlling jaw movements

Mitsuru Saito

Department of Oral Physiology, Field of Functional Biology and Pharmacology,
Advanced Therapeutic Course,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences,
8-35-1, Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

ABSTRACT

During eating food, we sense size, hardness and texture, as well as temperature, taste and flavor of foods. We can chew various foods smoothly and efficiently by utilizing such sensory information. This indicates that the excellent sensorimotor mechanisms underlie the control of jaw movements during mastication. The nervous and muscular apparatus involved in mastication can be divided to three groups: 1) higher-order centers such as the cortical masticatory area, basal ganglia, and cerebellum, 2) the “central pattern generator (CPG)” and its closely related neural network in the brainstem, and 3) sensory organs (including muscle spindles, periodontal mechanoreceptors and temporomandibular joint receptors), primary sensory neurons (PSNs), alpha/gamma motor neurons (MNs) and jaw-closing/opening muscles. All these groups of the apparatus play essential roles during mastication. However, it is thought to be essential to clarify the characteristics of stretch reflex circuit when investigating the properties of motor control system. Because sensory inputs into and motor commands from the higher-order centers/CPG are definitely mediated through the PSNs and MNs, respectively, the functions of higher-order centers/CPG cannot completely be elucidated unless the properties of PSNs and MNs is well understood. In this article, I will explain the specificities of the jaw-jerk reflex circuit, PSNs in the mesencephalic trigeminal nucleus and trigeminal MNs with the results of our related research.

Key words: mastication, jaw movement, mesencephalic trigeminal neuron, trigeminal motoneuron, jaw-closing muscle

I 緒言

我々は毎日様々な食物を咀嚼するが、その際に食物の温度・味・匂いなどを感じている。また、これらの感覚ほど明確に認知していないが、食物の大きさ・硬さ・表面のテクスチャも同時に感じ取っており、特に意識しなくとも、そういった食物の性状に応じた顎運

動パターンを選択し、適した筋力を発揮して咀嚼することができる。つまり、日々何気無く行っている咀嚼運動は、実は高度な感覚－運動制御機構の上に成り立っている。

こうした咀嚼運動を実現している神経筋機構を、大まかに中枢～末梢の3つのレベルに分けると①上位中

枢（大脳皮質咀嚼野・大脳基底核・小脳など）、②脳幹の中樞パターン生成器（central pattern generator; CPG）および周辺の神経回路、③感覚器（筋紡錘・歯根膜機械受容器・顎関節受容器など）・一次感覚ニューロン（primary sensory neuron; PSN）・ α/γ 運動ニューロン（motor neuron; MN）・筋となる。咀嚼運動の遂行には、これら全てがそれぞれ不可欠な働きを担っている。

しかし、運動制御において最も基礎的な機構は「筋紡錘-PSN- α MN-筋」を反射弓とする伸張反射回路であり、その特性を知ることは当該の運動系の特徴を理解する上で欠かすことができない。また、上位中枢やCPGに入力する感覚情報およびそこから出力される運動指令は、全て末梢のニューロンを介して伝達されるため、上位脳やCPGの機能を詳らかにする前提としてもPSNやMNの特性を解明することは重要と考えられる。これらの理由から、私はこれまで③の研究に注力してきた。具体的には、閉口筋の伸張反射回路を構成する三叉神経中脳路核（mesencephalic trigeminal nucleus; MTN）および三叉神経運動核（trigeminal motor nucleus; TMN）のニューロンの特性について、主に電気生理学および免疫組織化学的手法を用いて研究を続けてきた。本稿では、四肢筋など他の運動系には認められない、閉口筋の伸張反射回路およびMTN・TMNニューロンの特異な性質について、私と共同研究者の研究成果を交えつつ略説する。

II 閉口筋伸張反射回路の特異性

伸張反射は、筋が引き伸ばされることによって筋紡錘が活性化され、同筋を支配する α MNが興奮し筋が収縮する現象である。この反射の回路は、随意運動において重要な役割を果たすことが知られている。随意運動時には、上位からの運動指令が直接 α MNへ伝達され、錘外筋を収縮させる「 α 経路」と、運動指令が先ず γ MNへ伝達され、錘内筋線維の収縮蛋白（中央部には欠如）を収縮させることで筋紡錘を活性化し、伸張反射回路を介して間接的に α MNを興奮させ錘外筋を収縮させる「 γ 経路」がある。この2つの経路の寄与率は、筋ごとに異なり、また同じ筋においても運動の様式に応じて変化するが、一般的に筋力や関節角の正確なコントロールが必要な筋および運動様式で γ 経路の寄与が大きくなる。

図1は、四肢筋（A）と閉口筋（B）の伸張反射回路の解剖学的・組織学的特徴を模式的に表したもので、一次終末（環螺旋形終末）-Ia群感覚神経線維を起点とする単シナプス性の経路のみを描いている。両

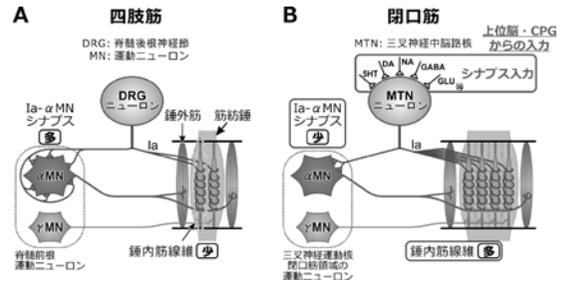


図1 四肢筋と閉口筋の伸張反射回路

者の伸張反射回路には解剖学的・組織学的に大きな違いがあり、それらによって機能的差異が生じる。特に注目すべき相違点として、閉口筋では四肢筋に比して①1個のIaニューロンが1個の α MNに対して形成するシナプス結合が少ない¹⁾、②1個の筋紡錘に含まれる錘内筋線維が多い（ヒトでは咬筋が最多²⁾）、③Iaニューロン（=MTNニューロン）が豊富なシナプス入力を受ける³⁾、という3つが挙げられる。

神経筋疾患が無い状態ではオトガイ部の下方への叩打により生じる下顎張反射（閉口筋における伸張反射）は微弱で、また、閉口筋ではH反射（Ia線維束の電気刺激により伸張反射と同様の応答が得られる）も惹起しにくい⁴⁾ことが知られており、容易に伸張反射やH反射を引き起こすことができる四肢筋とは明らかに対照的である。これは主として、上記①のために興奮性シナプス後電位（excitatory postsynaptic potential; EPSP）の空間的加重が充分でなく閾膜電位に到達し難いことによると考えられる。これらの性質から「閉口筋は、張力調節における筋紡錘の寄与が小さく、劣った制御系である」との意見もあったが、②の特徴と併せて鑑みると逆に「優れた制御系である」ことが示唆される。錘内筋線維数が多いと、一定の筋伸張に対して筋紡錘が生じる活動電位の頻度の変化は急峻となり、分解能は上昇する。一方、Ia- α MNのシナプス結合が弱いことで、 α MNにおける活動電位誘発の成否や発火頻度はEPSPの時間的加重の程度、即ち筋紡錘に由来する活動電位の頻度に依存することになる。つまり、閉口筋の伸張反射回路は、分解能の高い筋紡錘感覚情報に基づいて α MNの活動を緻密に制御することが可能な構造であると考えられる。

閉口筋筋紡錘の応答特性や閉口筋MNの発火特性について、1960~70年代^{5,6)}から現在に至るまで、国内外の複数の研究グループによって主に電気生理学的手法を用いた研究が進められ、上記の想定を支持する所見が蓄積されてきた。しかし、電気生理学的特性を

決定するイオンチャネルの発現様式や、特定の機能型の細胞に発現するマーカー分子の存否について免疫組織化学的手法を用いて得た解析結果を、電気生理学的所見と結び付けて考察した研究は僅少であった。そこで我々のグループは、電気生理学的特性とその基盤となる形態学的・分子的特性を統合的に理解するための研究を進めてきた。

Ⅲ 三叉神経運動核 (TMN) ニューロンの特異性

先に、伸張反射回路を介した筋張力調節の基本機構について触れておく。1個の α MNとその支配下にある錘外筋線維を合わせて運動単位と呼び、これらが集合して筋を形成している。運動単位を構成する α MNの細胞径と、運動単位が発揮しうる張力には正の相関があり、 α MNが大きいほど、その運動単位は大きな張力を発揮しうる (図2A)。

各運動単位の発揮張力は、 α MNの発火頻度が高いほど上昇する。これを筋張力の「頻度調節」という。一方で、どれだけ運動単位が収縮に参加するかによっても筋張力は変化する。これを「運動単位の動員による調節」と呼ぶ。実際には、伸張反射回路を介する α MNへの入力強度に応じて、「頻度調節」と「運動単位の動員による調節」が同時に行われる。つまり、筋全体で発揮しようとする張力が小さい時には、小型 α MNの運動単位だけが動員され、かつ、その発火頻度も低い。そこから発揮張力を増そうとすると、既に動員済みの運動単位の発火頻度が上昇していくと共に、より大きな α MNの運動単位が新たに動員される (図2B; 改変引用⁷⁾)。この様に平行してみられる個々の運動単位の発火頻度上昇と運動単位の動員進行は、以下の様な機構によっている。

一般的に、1個の筋紡錘に由来するIa群感覚神経線維は、同筋を支配している α MNの大半とシナプス接続しており、これは閉口筋においても当て嵌まる⁸⁾。 γ MNの活動によってIa群感覚神経線維の活動電位の頻度が上昇していくと、同筋の α MN群全体に対しほぼ一様に入力する興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current; EPSC) の頻度も上昇しEPSPの時間的加重が強くなる。細胞径が小さい α MNは、膜表面積が小さくイオンチャネル数が少ないため高い入力抵抗を示す。従って、一定のEPSCに対して小さい α MNほど大きなEPSPを生じ、より容易に閾膜電位へ到達して運動単位が動員される。 γ MNの活動が更に強まりIa群線維の発火頻度が上昇するにつれ、徐々に大きな α MNが動員されて行く。これを、サイズの

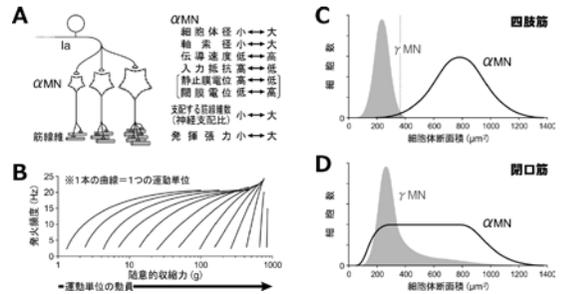


図2 運動単位とMNの細胞体径

原理に基づいた運動単位の序列動員⁹⁾と呼ぶ。よって、 α MNの細胞径の分布は、筋力調節の特性を理解する上で極めて重要である。

A MNの細胞体径分布

Frieseらはマウス腰髄前根ニューロン (下肢領域) について、それぞれコリン作動性ニューロン (MNはコリン作動性)、 α MN、 γ MNのマーカーであるcholine acetyltransferase (ChAT), neuronal nuclei (NeuN), estrogen-related receptor type 3 (Err3) を用いて、 α MNと γ MNを識別した上で細胞径の分布を解析した。MN全体では明確な二峰性を呈し、大径および小径の細胞群の峰はそれぞれ専ら α MNと γ MNで占められていた (図2C; 改変引用¹⁰⁾)。一方、Isogai-Moritaらはラット閉口筋運動ニューロンについて同様の手法を用いて解析したところ、 γ MNと同程度の径を持つ小型 α MNが存在しており、 α MNの細胞径の分布が広がった (図2D; 執筆中)。また、Fukatsuらは、閉口筋MNにおいて細胞体径と入力抵抗・静止膜電位・閾膜電位の関係を調べた。すると、細胞体径と入力抵抗・静止膜電位との間に明瞭な負の相関が、細胞体径と閾膜電位との間に正の相関の傾向がそれぞれ認められた (執筆中)。これらことから、閉口筋 α MNの細胞径の広い分布が、閉口筋において広範囲 (弱～強) かつ精緻な張力調節を可能としている、出力側の機構のひとつと考えられる。

B MNにおける漏洩 K^+ チャネルの発現様式

「細胞径が大きくなるほど膜面積は増大し、膜上の漏洩チャネルの数が増えることで入力抵抗が下がる」というアイデアは、古くから当然のものと考えられてきたし、特に電気生理学的所見との矛盾は見出されて来なかった。しかしこのアイデアは、静止膜電位や入力抵抗を決定していると考えられている、機能的に

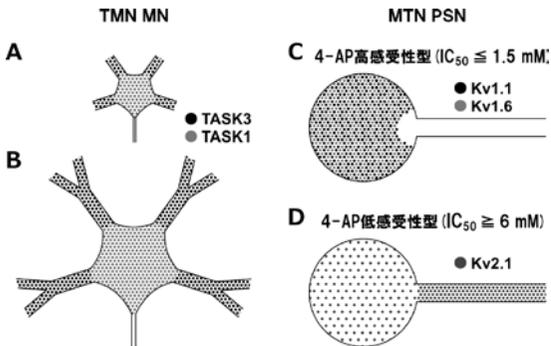


図3 TMN MNにおけるTASKチャンネルとMTN PSNにおける電位依存性K⁺チャンネルの発現様式

「漏洩K⁺チャンネル」¹¹⁾と呼ばれるものが、細胞膜全体に均一に発現している場合にのみ正しいと言える。この「漏洩K⁺チャンネル」の実体は長らく不明であったが、ニューロンにおいてはTASK1およびTASK3と呼ばれるpH感受性K⁺チャンネルであることが近年明らかとなった¹²⁾。

そこで、Emuraらは、TMNのMNにおけるTASK1とTASK3の発現を免疫組織化学的に解析した。その結果、TASK1とTASK3はそれぞれ専ら細胞体と樹状突起に発現しており、その分布は相補的であった(図3A, B; 執筆中)。TASK1とTASK3は生理的pH範囲において異なるコンダクタンスを持つなど、機能的に明確な差があることから、少なくともTMNのMNにおいては、細胞体径と入力抵抗に関する古典的アイデアは正しくないことが明らかとなった。

この特異なチャンネル分布の機能的意義は明らかでは無いが、TMNの大型MNは豊富な樹状突起を有しており、生理的pH範囲ではTASK3がTASK1よりも大きなコンダクタンスを持つことから¹³⁾、大型のMN程TASK3の割合が増大し入力抵抗はより低下する。つまり、漏洩K⁺チャンネルが細胞膜に様に分布している場合に比べ入力抵抗の分布範囲は拡大することになる。先に述べた、TMNの α MNに特異な細胞径の広い分布と併せ、閉口筋における精緻な張力調節を可能とする機構のひとつと考えられる。

C 一酸化窒素による入力抵抗の調節

また、我々が行った培養細胞あるいはアフリカツメガエル卵母細胞におけるチャンネル発現実験の結果から、TASK1は一酸化窒素(NO)-cGMP-cGMP依存性蛋白キナーゼ系の活性化によって上方制御されることが明らかとなり¹⁴⁾、逆にTASK3は抑制されること

が示唆されている(Tanakaら; 執筆中)。TMNはNO作動性の入力を受けることが知られているが¹⁵⁾、実際にそのNO入力系が活性化された場合の影響は未解明である。*in vitro*標本においてcGMPの膜透過性アナログである8-Br-cGMP溶液を灌流投与した実験では、小型MNで入力抵抗や静止膜電位が有意に低下した。一方、大型MNでは入力抵抗や静止膜電位の変化は有意でないものの、細胞周囲の電気刺激によって誘発されたEPSPの振幅が増大した(Fukatsuら; 執筆中)。

D 各細胞種における電位依存性チャンネルの発現様式

次に、TMN閉口筋領域のニューロンについて、 α MN/ γ MN/介在ニューロンの別および細胞体径によって、発火特性を決定付ける各種電位依存性チャンネルの発現に差があるか否か解析した。詳細は省略するが、 α MNは4-aminopyridine(4-AP)感受性の電位依存性K⁺電流を発現しており、比較的小径で低閾値Ca²⁺スパイク(low-threshold Ca²⁺ spike; LTS)を呈するタイプと、比較的大径でLTSを持たないタイプに分かれた。つまり、大型および小型の α MNは、入力抵抗の違いだけでなく異なる発火特性を示すことが明らかとなった。 γ MNや介在ニューロン(恐らくGABA作動性抑制性ニューロン)もそれぞれ異なる発火特性を示した。これらの発火特性の違いが持つ生理学的意義については今後検討していきたい。

IV 三叉神経中脳路核(MTN)ニューロン

四肢筋の伸張反射回路におけるIaニューロンは脊髄後根神経節(dorsal root ganglion; DRG)、つまり脊髄の外に存在している。一方、閉口筋の伸張反射回路におけるIaニューロンは、先に述べた通りMTNのPSNであり、PSNとして唯一例外的に中枢神経系内に位置している。両者は共に偽単極性の形態を持ち、樹状突起を有していない。しかし、機能的なシナプス入力を事実上受けていないDRGのPSN¹⁶⁾に対し、MTNのPSNにはIIでも述べた様に各種神経伝達物質作動性のシナプスが接合している。

こういった特徴から、MTNのPSNには2つの機能モードが想定される。つまり、ひとつは筋紡錘情報を忠実に伝えるPSNモードであり、もうひとつは上位脳やCPGからのシナプス入力に依存した発火、或いは、Chandlerらのグループが報告している様な律動的なバースト発火^{17, 18)}により興奮する介在ニューロン(interneuron; IN)モードである。そこで、想定されるこれらの機能モードが、少なくともイオン機構とし

て存在しうるものなのか、存在するならばモードを切り換える「スイッチ」の役割を担うものは何なのか、解析を試みた。

MTN を含む脳幹薄切標本において、MTN 内の PSN ニューロンに対し全細胞パッチクランプを形成し、主に各種電位依存性チャンネルの特性の解析を念頭に、電気生理学および免疫組織学的解析を行い、次の所見を得た。

A 電位依存性 K^+ チャンネルの発現とその作用

図 3 C, D は、MTN PSN の細胞体および幹軸索における、3つの異なる電位依存性 K^+ チャンネル $Kv1.1$, $Kv1.6$, $Kv2.1$ の発現様式を模式的に示したものである¹⁹⁾。この内、4-AP に対する感受性が高い $Kv1.1$ および $Kv1.6$ は細胞体に密に存在し、幹軸索には全く発現していなかった。これとは対照的に、4-AP に対する感受性が低い $Kv2.1$ は、幹軸索において密度が高く、細胞体で低密度であった。

末梢の感覚受容器に由来する活動電位列をミミックするために、幹軸索上に置いた単極微小電極を通じて連続電気刺激を与えた。その状態で、4-AP を投与して $Kv1.1$, $Kv1.6$ を大きく抑制すると、幹軸索上で誘発された活動電位列の不应期が延長し、誘発可能な発火頻度の上限が低下した (図 4 A)。一方、シナプス入力によって生じる活動電位列をミミックするため、パッチ電極を経由して連続的に細胞内通電を与えた。その状態で4-AP を投与すると、見掛け上の閾膜電位が低下し、投与前よりも容易に活動電位を誘発できた (図 4 B)。つまり、4-AP 高感受性の $Kv1.1$ および $Kv1.6$ 電流は、末梢の筋紡錘に由来する活動電位列の中継には促進的に働き、シナプス入力による活動電位の生成には抑制的に働くことが示された。これらの4-AP 高感受性電流は、脱分極によって不活性化され、逆に過分極によって脱不活性化される。つまり、MTN PSN の膜電位が過分極している場合は、4-AP 感受性電流が脱不活性化されることで、シナプス入力による活動電位は発生しにくくなるとともに、末梢由来の活動電位列の不应期が短縮して高頻度の感覚情報をより忠実に伝導できる PSN モードをとり、逆に膜電位が脱分極している時には、4-AP 感受性電流が不活性化されることで、シナプス入力による活動電位生成が促進されることになる。

B HCN チャンネルによる興奮性入力の抑制

上記した4-AP 感受性 K^+ 電流のみでは、想定される

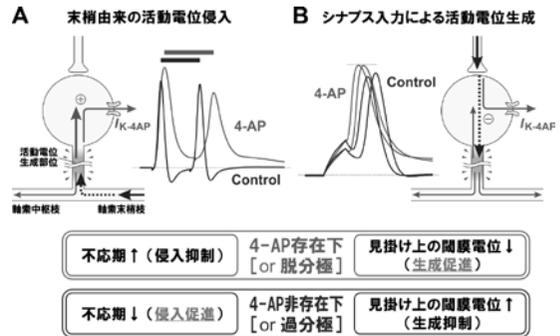


図4 MTN PSN における4-AP 感受性電流の作用

機能モードの切り換えにはインパクトが不足している印象が拭えない。そこで、他の電流系についても検討したところ、hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated cation (HCN) チャンネルによって担われる電流 (h 電流) が AMPA 型グルタミン酸受容体チャンネルを介する EPSC / EPSP を抑制することを見出した (投稿中)。

MTN PSN にグルタミン酸あるいは AMPA 溶液をパフ投与し、h 電流を促進する cAMP 溶液および抑制する Cs^+ イオンの影響を観察すると、cAMP および Cs^+ 灌流後は興奮性の電流応答がそれぞれ有意に減少および増大した。h 電流は膜の過分極によって活性化されるので、膜電位が過分極している時には EPSC が抑制され、逆に脱分極している時はその抑制が解除された。

電子顕微鏡レベルの免疫組織学的解析の結果、MTN PSN の細胞体膜表面に無数に存在している微絨毛様の突起²⁰⁾ において、AMPA 型グルタミン酸受容体チャンネルと HCN チャンネルが共存していること、そこにグルタミン酸作動性終末が接続していることが判明した。電気生理学の実験および数学的シミュレーションによる検討の結果、この興奮性シナプス入力の無効化は、AMPA 受容体チャンネルを通じて微絨毛様突起内に流入する Na^+ イオンの一時的な蓄積によることが示唆された。

C 持続性 Na^+ チャンネルによる膜電位振動

先に触れた様に、MTN PSN では膜電位が脱分極すると律動的なバースト活動を呈することが知られている。しかし、Chandler らのグループの業績において説明されているイオン機構に疑問が生じたことから、当グループで電気生理学および免疫組織化学的に解析し直したところ、I 型の代謝調節型グルタミン酸受容

体と持続活性化型電位依存性 Na^+ チャネル Nav1.6が幹軸索に共存しており、蛋白キナーゼC酵素活性によってNav1.6が上方制御されると、単発の活動電位発生および膜電位振動発生の閾膜電位が低下し、膜電位振動も増強されることが明らかになった²¹⁾。

D MTN PSNにおける機能モードの切り換え

これまでの所見をまとめると、4-AP感受性 K^+ 電流 ($I_{\text{K-4AP}}$)、h電流 (I_{h})、持続活性化型電位依存性 Na^+ 電流 (persistent Na^+ current; I_{NaP}) の3つの電流系が矛盾無く協調し、MTN PSNが過分極した際には、末梢の感覚情報の忠実な中継に適したモード (PSNモード) に、逆に脱分極した時には、上位からの入力に従って活動電位やバースト発火を生じるモード (INモード) に切り換わることが示唆された (図5)。

先に述べた様に、四肢筋の運動系にはこれに相当する機構は存在せず、閉口筋に特異的な感覚-運動制御機構の最たるものであると言える。こういった機構が、顎運動制御系の優れた特徴の基礎となっている可能性は高いと考えられるが、具体的な生理学的意義については未解明であり、更なる研究が必要である。

V 今後の研究の展開

口腔と全身の健康が様々な面で密接に関係していることに疑いを挟む余地は無いが、咬合・咀嚼不全が神経系を介して全身機能・高次脳機能の障害を惹起する機構については未だ不明な点が多い。例えば、高齢ラットにおいて、歯冠削除により咬合支持を崩壊させたり、軟性飼料による飼育を長期間行くと、記憶・学習に重要な大脳皮質・海馬へ投射する前脳基底部コリン作動性ニューロン (basal forebrain cholinergic neuron; BFCN) の細胞死が惹起される²²⁾。また、高齢でないモルモットで咬合支持を失わせる、あるいは、逆に咬合を挙上すると、上記の様なBFCNの細胞死は生じないものの、記憶・学習能力は低下するとの実験結果が得られている (Fujinamiら; 執筆中)。これらの現象の神経機構は未解明だが、脳幹内においてMTNが、高次脳機能との関連が深い結合腕傍核内側部およびストレス反応に関連する青斑核と互いに近接していることと関係があるのではないかと考えている。

また、咬合状態と全身運動の関連についても不明な点が多い。安定した咬合を行うことで四肢・体幹の筋力は増加すると信じられているが、筋の種類によっては逆に筋力が有意に低下することもある (上肢外転筋群²³⁾)。MTN PSNの軸索末梢枝には頸髄へと下行する

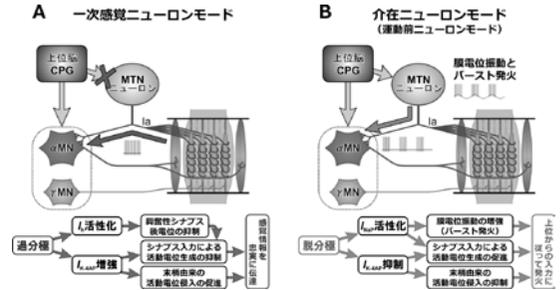


図5 MTN PSNにおける機能モードの切り換え

枝があることから²⁴⁾、噛み締め運動により高まったMTN PSNニューロンの活動によって頸髄に存在する抑制性介在ニューロンが活性化され、上肢外転筋群のMNプールを抑制していると考えられるが証明はできていない。

今後は、巧みな咬合・咀嚼運動を遂行するための神経機構に関する研究と平行して、上記の様な咬合・咀嚼機能不全と高次脳機能障害・全身の運動機能との関連について神経生理学的な解析を進めたい。

謝辞

本稿で紹介した研究の遂行にあたっては、下記の皆様の御指導・御協力を賜りました。厚く御礼申し上げます。

大阪大学大学院歯学研究科 姜英男先生・豊田博紀先生・佐藤元先生、鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 倉本恵梨子先生、久留米大学医学部 村井恵良先生、京都大学大学院医学系研究科 金子武嗣先生、京都大学霊長類研究所 高田昌彦先生、IST Austria 重本隆一先生、Freiburg 大学 Akos Kulik 先生、国立循環器病研究センター研究所 岡澤慎先生、慶北大学歯学部 Yong-Chul Bae 先生、ソウル大学歯学部 Gehoon Chung 先生

引用文献

- 1) Appenteng, K., Donga, R., & Williams, R. G.: Morphological and electrophysiological determination of the projections of jaw-elevator muscle spindle afferents in rats. *J Physiol*, 369, 93-113, 1985
- 2) Eriksson, P. O., Butler-Browne, G. S., & Thornell, L. E.: Immunohistochemical characterization of human masseter muscle spindles. *Muscle Nerve*, 17, 31-41, 1994
- 3) Lazarov, N. E.: Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian trigeminal ganglion

- and mesencephalic trigeminal nucleus. *Prog Neurobiol*, 66, 19-59, 2002
- 4) Fujii, H. & Mitani, H.: Reflex responses of the masseter and temporal muscles in man. *J Dent Res*, 52, 1046-1050, 1973
 - 5) Cody, F. W., Lee, R. W., & Taylor, A.: A functional analysis of the components of the mesencephalic nucleus of the fifth nerve in the cat. *J Physiol*, 226, 249-261, 1972
 - 6) Takata, M., Kato, I., & Kawamura, Y.: Analysis of the excitation mechanism of the trigeminal motoneuron in the cat. *Jpn J Physiol*, 18, 15-22, 1968
 - 7) Monster, A. W. & Chan, H.: Isometric force production by motor units of extensor digitorum communis muscle in man. *J Neurophysiol*, 40, 1432-1443, 1977
 - 8) Shigenaga, Y., Mitsuhiro, Y., Shirana, Y., & Tsuru, H.: Two types of jaw-muscle spindle afferents in the cat as demonstrated by intra-axonal staining with HRP. *Brain Res*, 514, 219-237, 1990
 - 9) Henneman, E.: The size-principle: a deterministic output emerges from a set of probabilistic connections. *J Exp Biol*, 115, 105-112, 1985
 - 10) Friese, A., Kaltschmidt, J. A., Ladle, D. R., Sigrist, M., Jessell, T. M., & Arber, S.: Gamma and alpha motor neurons distinguished by expression of transcription factor *Err3*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, 13588-13593, 2009
 - 11) Goldman, D. E.: Potential, Impedance, and Rectification in Membranes. *J Gen Physiol*, 27, 37-60, 1943
 - 12) Millar, J. A., Barratt, L., Southan, A. P., Page, K. M., Fyffe, R. E., Robertson, B., & Mathie, A.: A functional role for the two-pore domain potassium channel TASK-1 in cerebellar granule neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, 3614-3618, 2000
 - 13) Meuth, S. G., Budde, T., Kanyshkova, T., Broicher, T., Munsch, T., & Pape, H. C.: Contribution of TWIK-related acid-sensitive K⁺ channel 1 (TASK1) and TASK3 channels to the control of activity modes in thalamocortical neurons. *J Neurosci*, 23, 6460-6469, 2003
 - 14) Toyoda, H., Saito, M., Okazawa, M., Hirao, K., Sato, H., Abe, H., Takada, K., Funabiki, K., Takada, M., Kaneko, T., & Kang, Y.: Protein kinase G dynamically modulates TASK1-mediated leak K⁺ currents in cholinergic neurons of the basal forebrain. *J Neurosci*, 30, 5677-5689, 2010
 - 15) Pose, I., Fung, S., Sampogna, S., Chase, M. H., & Morales, F. R.: Nitroergic innervation of trigeminal and hypoglossal motoneurons in the cat. *Brain Res*, 1041, 29-37, 2005
 - 16) Kayahara, T., Takimoto, T., & Sakashita, S.: Synaptic junctions in the cat spinal ganglion. *Brain Res*, 216, 277-290, 1981
 - 17) Del Negro, C. A. & Chandler, S. H.: Physiological and theoretical analysis of K⁺ currents controlling discharge in neonatal rat mesencephalic trigeminal neurons. *J Neurophysiol*, 77, 537-553, 1997
 - 18) Wu, N., Enomoto, A., Tanaka, S., Hsiao, C. F., Nykamp, D. Q., Izhikevich, E., & Chandler, S. H.: Persistent sodium currents in mesencephalic v neurons participate in burst generation and control of membrane excitability. *J Neurophysiol*, 93, 2710-2722, 2005
 - 19) Saito, M., Murai, Y., Sato, H., Bae, Y. C., Akaike, T., Takada, M., & Kang, Y.: Two opposing roles of 4-AP-sensitive K⁺ current in initiation and invasion of spikes in rat mesencephalic trigeminal neurons. *J Neurophysiol*, 96, 1887-1901, 2006
 - 20) Liem, R. S., Copray, J. C., & van Willigen, J. D.: Ultrastructure of the rat mesencephalic trigeminal nucleus. *Acta Anat (Basel)*, 140, 112-119, 1991
 - 21) Chung, G., Saito, M., Kawasaki, Y., Kawano, T., Yin, D., Lee, S., Kogo, M., Takada, M., Bae, Y. C., Kim, J. S., Oh, S. B., & Kang, Y.: Generation of resonance-dependent oscillation by mGluR-I activation switches single spiking to bursting in mesencephalic trigeminal sensory neurons. *Eur J Neurosci*, 41, 998-1012, 2015
 - 22) Terasawa, H., Hirai, T., Ninomiya, T., Ikeda, Y., Ishijima, T., Yajima, T., Hamaue, N., Nagase, Y., Kang, Y., & Minami, M.: Influence of tooth-loss and concomitant masticatory alterations on cholinergic neurons in rats: immunohistochemical and biochemical studies. *Neurosci Res*, 43, 373-379, 2002
 - 23) Sato, H., Kawano, T., Saito, M., Toyoda, H., Maeda, Y., Turker, K. S., & Kang, Y.: Teeth clenching reduces arm abduction force. *Exp Brain Res*, 232, 2281-2291, 2014
 - 24) Shigenaga, Y., Sera, M., Nishimori, T., Suemune, S., Nishimura, M., Yoshida, A., & Tsuru, K.: The central

projection of masticatory afferent fibers to the trigeminal sensory nuclear complex and upper cervical spinal cord. *J Comp Neurol*, 268, 489-507, 1988

歯科用接着システムの開発に求めるもの

西谷 佳浩

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
先進治療科学専攻 顎顔面機能再建学講座 歯科保存学分野

Requirement for development of dental adhesives

Yoshihiro Nishitani

Department of Restorative Dentistry and Endodontology
Field of Oral and Maxillofacial Rehabilitation
Advanced Therapeutic Course
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima, 890-8544, Japan

ABSTRACT

Alan Boyde and his colleagues first described smear layers-covered dental hard tissues. Later, David Eick and his group examined smear layer-covered dentin and showed how acid-labile are smear layers. A superior bond strength has come to be provided for the resin-dentin interface in the current dental adhesive systems as a result that the acid-etching treatment for the enamel/dentin was examined to remove smear layers. Moreover, latest adhesive systems which gave top priority to convenience in clinic have developed. On the other hand, as a cause of the collapse of the resin-dentin interface, collagen degradation by host-derived enzymes (MMPs) has been focused attention. However, latest adhesive systems are not developed in consideration of improvement of the resin-dentin bond's durability. Development of the dental adhesive that improves durability by inactivating dentin MMPs is required.

Key words: Acid-etching, dental adhesive system, collagen degradation

I. はじめに

歯科用接着システムの目覚ましい発展により、現在のコンポジットレジン修復においては早期脱離や術後疼痛の問題は皆無となっている。一般的には1955年に Buonocore¹⁾ が報告したエナメル質をリン酸で処理すると MMA (即時重合) レジンがエナメル質に接着するという論文が、修復材料の歯質に対する接着に関する最初の論文と言われている。しかしながら充填材として物性に優れた即時重合レジンを使用したことから多くの臨床家に受け入れられることはなかった。

1960年代になり、現在のコンポジットレジンの原型が開発されると同時に、回転切削器具で削った象牙質を覆う挫滅層、いわゆるスミヤー層が着目されるようになった。その結果、象牙質についても酸による歯面処理方法が詳細に検討されるようになり、米国ではエナメル質と象牙質をリン酸で処理するトータルエッチング法が、日本では歯質脱灰後に水洗をしないセルフエッチングプライミング法が主流となっている。いずれにおいても現在の歯科用接着システムにおいては象牙質に対して酸処理が必須となっており、それによっ

て強固な接着が得られるようになっている。

一方でコンポジットレジン修復後、数年以上経ってから歯質とレジンの接着界面に二次う蝕が生じる結果、再治療を余儀なくされるケースは少なからず認められる。接着界面劣化の原因の一つとして、象牙質マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs)^{2,3)}の影響が着目されている。歯質への強固な接着を獲得するためには象牙質の酸処理は必要不可欠であるが、酸処理によって象牙質 MMPs が活性化される⁴⁾ことから、今後のボンディングレジンの開発においては、象牙質 MMPs 活性を抑制または不活化できるような付加価値が求められる。

II. スミヤー層と酸処理について

スミヤー層は、切削具による歯質切削後の象牙質表面を覆う切削片や切削屑の層と定義される⁵⁾。1963年の Alan Boyde らの報告⁶⁾を初めとして、回転切削器具により象牙質の表層はスミヤー層で覆われ、酸処理によってその直下の象牙質が露出することが明らかとなった^{7,8)}。その結果、1960年代から1970年代にかけてのレジン-象牙質接着はスミヤー層で覆われた象牙質への接着であり、エナメル質の引張接着強さが11~20 MPa⁹⁾であるのに対して象牙質の引張接着強さは5 MPa 程度であり、象牙質表層にレジン浸透しておらず実際にはスミヤー層の凝集破壊を測定していることが明らかとなった¹⁰⁾。接着阻害因子となるスミヤー層はリン酸エッチング処理によって容易に除去されるが、リン酸エッチングによって完全にスミヤー層が除去された象牙質表層では、新たな問題が生じることとなった。脱灰前後のエナメル質および象牙質表層を Figure 1 に示す。リン酸エッチングを行うことによって象牙質においても10 MPa 以上の接着強さが得られるものの、コンポジットレジンの重合収縮力がボンディングレジンと窩壁との接着力よりも上回る¹¹⁾結果、窩洞辺縁にギャップが生じた場合に、スミヤー層を全て除去した象牙質表層は象牙細管が開口しており、辺縁漏洩に起因する術後の歯髄炎を容易に誘発する一因となった。酸処理については、その後使用するリン酸の濃度や酸処理時間についても検討が行われている。1980年代にはリン酸処理後に象牙質プライマーを塗布してボンディングを行う3ステップの接着システムが開発された。象牙質プライマーの使用は象牙質接着を向上させるには効果的であるものの、接着操作が煩雑となった。その後、酸性の接着性レジンモノマーを応用したセルフエッチングプライマーが開発さ

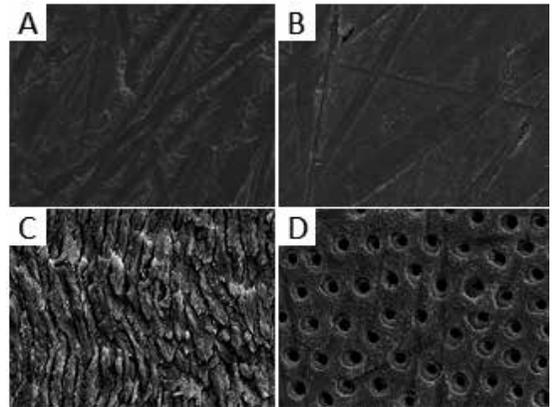


Figure 1. Microscope images of Enamel/Dentin surface (×3000)
A: Smear layer-covered Enamel, B: Smear layer-covered Dentin, C: Acid-etched enamel, D: Acid-etched dentin

れ、1990年代には酸処理とプライマー処理が同時に行える2ステップの接着システムが開発された。セルフエッチングプライマーによる歯質の脱灰はリン酸エッチングに比べてマイルドな脱灰となることから、エナメル質に対するリン酸エッチングの効果を重視した製品としてリン酸エッチング後にプライマーとボンディングレジンの機能を有するアドヒーズを応用する2ステップの接着システムも開発されている(トータルエッチング)。日本においてはセルフエッチングシステムが圧倒的に支持されており、現在では2ステップをさらに発展させた1ステップ接着システムが主流となっている。歯面の酸処理方法とステップ数によってこれまでの接着システムは分類される。すなわち、エナメル質の酸処理のみを対象とした初期の接着システム(第1,2世代)、エナメル質を選択的にエッチングする3ステップ接着システム(第3世代)、トータルエッチングの3ステップ(第4世代)、トータルエッチングの2ステップ(第5世代)、2ステップセルフエッチングシステム(第6世代)、1ステップのセルフエッチングシステム(第7世代)と分類することができる。現在臨床応用されている接着システムにおいても象牙質を酸処理することによって強固な接着が得られている。

III. 象牙質 MMPs による接着界面の劣化

レジン-象牙質接着界面においてレジンが十分に浸透していない場合や、接着界面のレジンが溶出した場合には、微小漏洩が生じることによって接着界面の崩壊に至ることが明らかとなっている^{12,13)}。象牙質にお

いても MMPs-2,-8,-20の存在が示され^{2,3)}, Pashley らは細菌が存在しない条件下においても250日後に象牙質コラーゲンが分解されること、コラーゲナーゼインヒビターを加えた条件下では分解が抑制されることを見出した¹⁴⁾。このことから象牙質 MMPs がレジン-象牙質接着界面の劣化の一因と考えられた。また接着システムで行われる程度のマイルドな酸処理を施した象牙質では MMPs が活性化される^{15,16)} ことから、歯面処理時の酸処理によって歯質は脱灰されるものの、酵素活性は阻害されないと考えられる。4種の接着システム (Table 1) を用いて象牙質を酸処理した場合の酵素活性について Figure 2 に示す。37%リン酸処理を除いて、いずれの接着システムで酸処理した場合

でも酵素活性が上がる結果となっている。これらのことを踏まえて、レジン-象牙質接着界面の耐久性を向上させるための研究は数多く行われており、象牙質 MMPs に特異的なインヒビターを応用する研究も行われている^{17,18)} が、臨床応用は非現実的であるといえる。接着界面の劣化の一因となる象牙質 MMPs を不活化するためには、歯面処理時に亜鉛またはカルシウムをキレートする方法^{19,20)} または酵素を架橋する方法²¹⁾ が望ましいと考えられる。しかしながら、通常の接着システムにキレート剤や架橋剤を配合することは、接着システム本来の性能が得られなくなる可能性があり、配合量には限度がある²²⁾。生体内で応用可能な添加物という制約の中で、現在も国際的に研究が行われている²³⁻²⁵⁾。

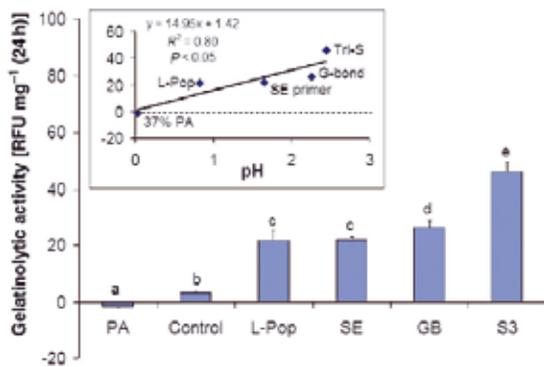


Figure 2. Comparison of gelatinolytic activity of human mineralized dentin powder following no treatment (control) or etching for 15 s (phosphoric acid, PA) or 5 min for L-Pop, SE, GB or S3. GB, G-Bond; L-Pop, Adper Prompt L-Pop; S3, Clearfil Tri-S; SE, Clearfil SE Bond primer; RFU, relative fluorescent units. Values represent the mean \pm standard deviation (SD), n = 4 plates or 32 wells. Inset: gelatinolytic activity vs. pH of acidic agents.

IV. おわりに

以上のように歯科用接着システムの耐久性に関しては解決すべき問題が残っている。しかしながら、近年開発されている接着システムは、1ステップ接着システムの歯面処理時間の短縮に加えて、貴金属、非金属、ジルコニアなどの歯質以外の被着体にも前処理が不要となるマルチタイプの接着システムとなっている。酸処理方法についても同一の製品でトータルエッチング、セレクトティブエッチング、セルフエッチングのいずれでも可能とするシステムもあり、オールエッチモードとなっている。これらはユーザーの利便性向上を最優先して開発されたシステムであり、耐久性の向上を目的としたものではない。今後も象牙質 MMPs の不活化についても考慮した耐久性を向上させる接着システムを開発されることが求められる。

Table 1. Commercial adhesive systems tested

Brand name	Abbreviation	pH	Company	Composition
Adper Prompt L-Pop	L-Pop	0.88	3M-ESPE, St Paul, MN, USA	Phosphate methacrylates, water, ethanol, silanated colloidal silica, photoinitiator
Clearfil SE Bond Primer	SE Bond	1.76	Kuraray Medical, Tokyo, Japan	Primer: MDP, HEMA, H ₂ O, ethanol; Adhesives: MDP, HEMA, bisGMA, CQ, silanated colloidal silica
Clearfil S3	Tri-S	2.44	Kuraray Medical	MDP, HEMA, bisGMA, water, ethanol, CQ, silanated colloidal silica
G-Bond	G-Bond	2.25	GC Corporation, Tokyo, Japan	4-MET, phosphate acid, monomer, UDMA, silica, photoinitiator, water, acetone

bisGMA, 2,2-bis(4-2-hydroxy-3-methacryloyloxy-propoxyphenyl)propane; CQ, camphorquinone; HEMA, 2-hydroxyethyl methacrylate; MDP, 10-methacryloyloxyde camethylene phosphoric acid; 4-MET, 4-methacryloyloxyethyl trimellitic acid; UDMA, dimethylacryloyloxyethyl 2,2,4(3,3,5)-trimethylhexamethylene dicarbamate.

参考文献

- 1) Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*, 34, 849-853, 1955.
- 2) The localization of matrix metalloproteinase-20 (MMP-20, enamelysin) in mature human teeth. Sulkala M, Larmas M, Sorsa T, Salo T, Tjäderhane L. *J Dent Res*, 81, 603-607, 2002.
- 3) Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. *Arch Oral Biol*, 52, 121-127, 2007.
- 4) Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, Carvalho RM, Tjäderhane L, Tay FR, Pashley DH. *Eur J Oral Sci*, 114, 160-166, 2006.
- 5) 保存修復学専門用語集, 第1版, 日本歯科保存学会編, 45, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2009.
- 6) Boyde A, Switsur VR, Stewart ADG. An assessment of two new physical methods applied to the study of dental tissues. *Advances in Fluorine Research and Dental Caries Prevention*, 1, 185-193, Oxford, Pergamon Press, 1963.
- 7) Eick JD, Wilko RA, Anderson CH, Sorenson SE. Scanning electron microscopy of cut tooth surfaces and identification of debris by use of the electron microprobe. *J Dent Res*, 49, 1359-1368, 1970.
- 8) Gwinnett AJ. Smear layer: morphological considerations. *Oper Dent*, 9 (Suppl 3), 3-12, 1984.
- 9) Fusayama T. *New Concepts in Operative Dentistry*, Quintessence Publishing Co., Inc., Chicago, p. 69, 1980.
- 10) Pashley DH, Horner JA, Brewer PD. Interactions of conditioners on the dentin surface. *Oper Dent*, 5, 137-150, 1992.
- 11) Davidson CL, de Gee AJ, Feilzer A. The competition between the composite-dentin bond strength and the polymerization contraction stress. *J Dent Res*, 63, 1396-1399, 1984.
- 12) Hashimoto M, Ohno H, Kaga M, Endo K, Sano H, Oguchi H. In vivo degradation of resin-dentin bonds in humans over 1 to 3 years. *J Dent Res*, 79, 1385-1391, 2000.
- 13) Hebling J, Pashley DH, Tjäderhane L, Tay FR. Chlorhexidine arrests subclinical degradation of dentin hybrid layers in vivo. *J Dent Res*, 84, 741-746, 2005.
- 14) Pashley DH, Tay FR, Yiu C, Hashimoto M, Breschi L, Carvalho RM, Ito S. Collagen degradation by host-derived enzymes during aging. *J Dent Res*, 83, 216-221, 2004.
- 15) Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, Carvalho RM, Tjäderhane L, Tay FR, Pashley DH. Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives. *Eur J Oral Sci*, 114, 160-166, 2006.
- 16) Mazzoni A, Pashley DH, Nishitani Y, Breschi L, Mannello F, Tjäderhane L, Toledano M, Pashley EL, Tay FR. Reactivation of inactivated endogenous proteolytic activities in phosphoric acid-etched dentine by etch-and-rinse adhesives. *Biomaterials*, 27, 4470-4476, 2006.
- 17) De Munck J, Van den Steen PE, Mine A, Van Landuyt KL, Poitevin A, Opdenakker G, Van Meerbeek B. Inhibition of enzymatic degradation of adhesive-dentin interfaces. *J Dent Res*, 88, 1101-1106, 2009.
- 18) Breschi L, Martin P, Mazzoni A, Nato F, Carrilho M, Tjäderhane L, Visintini E, Cadenaro M, Tay FR, De Stefano Dorigo E, Pashley DH. Use of a specific MMP-inhibitor (galardin) for preservation of hybrid layer. *Dent Mater*, 26, 571-578, 2010.
- 19) Osorio R, Erhardt MC, Pimenta LA, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin-dentin bonds' resistance to degradation. *J Dent Res*, 84, 736-740, 2005.
- 20) Sauro S, Mannocci F, Toledano M, Osorio R, Pashley DH, Watson TF. EDTA or H3PO4/NaOCl dentine treatments may increase hybrid layers' resistance to degradation. *J Dent*, 37, 279-288, 2009.
- 21) Lynn L. H. Huang-Lee, David T. Cheung and Marcel E. Nimni. Biochemical changes and cytotoxicity associated with the degradation of polymeric glutaraldehyde derived crosslinks. *J Biomed Mater Res*, 24, 1185-1201, 1990.
- 22) Nishitani Y, Hosaka K, Hoshika T, Yoshiyama M, Pashley DH. Effects of chlorhexidine in self-etching adhesive: 24 hours results. *Dent Mater J*, 32, 420-424, 2013.
- 23) Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Hoshika T, Carrilho M, Breschi L, Tjäderhane L, Nishitani Y, Carvalho

RM, Looney S, Tay FR, Pashley DH. The requirement of zinc and calcium ions for functional MMP activity in demineralized dentin matrices. *Dent Mater*, 26, 1059-1067, 2010.

- 24) Tezvergil-Mutluay A, Agee KA, Uchiyama T, Imazato S, Mutluay MM, Cadenaro M, Breschi L, Nishitani Y, Tay FR, Pashley DH. The inhibitory effects of quaternary ammonium methacrylates on soluble and matrix-bound MMPs. *J Dent Res*, 90, 535-540, 2011.
- 25) Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee KA, Key WO, Scheffel DL, Breschi L, Mazzoni A, Tjäderhane L, Nishitani Y, Tay FR, Pashley DH. Effect of phosphoric acid on the degradation of human dentin matrix. *J Dent Res*, 92, 87-91, 2013.

酸化ストレスを抑制するミトコンドリア局在マンガンスーパーオキシサイドディスムターゼの機能

犬童 寛子

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
腫瘍学講座 顎顔面放射線学分野

Beyond the function of Manganese superoxide dismutase in oxidative stress

Hiroko P. Indo

Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences
Department of Oncology, Maxillofacial Radiology Division
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544
TEL: +81-99-275-6272 FAX: +81-99-275-6278
e-mail: hindoh@dent.kagoshima-u.ac.jp

ABSTRACT

It is well known that reactive oxygen species (ROS) causes various redox related diseases. Recent studies have shown that peroxidant molecules, such as hydrogen peroxide, work actively as signaling molecules in cancer cells. Superoxide is considered to be a major factor in oxidant toxicity, and mitochondria are the major source of superoxide. The reaction of superoxide generated from mitochondria with nitric oxide is faster than superoxide catalyzed reaction, and produces peroxynitrite. Then, peroxynitrite produces hydroxyl radicals and nitrogen dioxide, and oxidizes and nitrates DNAs, lipids and proteins, etc., and induces cell death. Thus, based on research conducted after Fridovich's seminal studies, we now propose a modified superoxide theory. Manganese superoxide dismutase (MnSOD), which scavenges superoxide anions generated from mitochondria, is an important enzyme in cellular homeostasis, cellular defense and functional dynamics. MnSOD expression and/or activity is generally lower in cancer cells than in their normal cell counterparts, while other studies demonstrate that cancer tissues possess elevated MnSOD expression compared to normal tissues. It suggests that regulation of MnSOD may confer differential outcomes in the protection of normal and cancer cells against agents that cause oxidative stress. Furthermore, expression and/or the activity of MnSOD may affect the antioxidant capacity and overall health of cells by altering mitochondrial metabolism, leading to the development and progression of cancer. It might be suggested that altered MnSOD activity on the mitochondrial metabolism in cancer cells is a key factor of cancer treatment strategy.

Key words: Reactive oxygen species (ROS), Superoxide, MnSOD

はじめに

活性酸素種 (ROS) は、生体内の酸化ストレスを増加させ、癌、糖尿病などの生活習慣病、難治性疾患と

いった様々な疾患と関連しており、我々もこれまでに多くの研究報告を行ってきた¹⁻⁴⁾。一方、生体内には低分子のグルタチオンをはじめ、ビタミンC、ビタミン

ンE, コエンザイム Q10などの抗酸化物質や抗酸化酵素群が存在しており, 酸化ストレスを防御し, 生体の恒常性 (ホメオスタシス) を維持している。

酸化還元 (Redox) は, 細胞内代謝における重要な反応であり, また細胞内シグナルとしても働いている。ROS がシグナルトランスダクションとして働き, タンパク質のシステイン残基をはじめ, 種々のアミノ酸残基の酸化的修飾を引き起こし, タンパクの構造, 機能を調節するといった翻訳後修飾は生体の酸化ストレス状態に非常に重要な役割を果たしている。近年, ゲノミクス, トランスクリプトミクス, プロテオミクス, メタボロミクスなどといった網羅的解析が飛躍的に進歩し, 様々な疾患の原因解明, 治療法の確立に大きく貢献している。この総説では, ミトコンドリアから生成される活性酸素スーパーオキシドとミトコンドリア内マトリックスに局在し, そのスーパーオキシドを除去する酵素マンガンスーパーオキシドディスムターゼ (MnSOD) の役割について, その一部を紹介したい。

1. ミトコンドリアから産生される活性酸素

ミトコンドリアのおもな生理的役割は, エネルギー産生, つまり ATP を産生することである。ATP の合成経路には, 酸素を必要としない嫌氣的な解糖系と酸素を必要とする好氣的な酸化的リン酸化があり, ミトコンドリアの第一義的な機能は, この酸化的リン酸化である。すなわち酸素を利用することにより, 解糖系よりも効率よく多くの ATP を産生している。この酸化的リン酸化は, ミトコンドリア内膜に存在する電子伝達系で行われている。電子伝達系は, 約100種類のタンパク質が関与しており, 様々な酵素が複合体 (Complex I ~ IV) を形成している。ミトコンドリアでは, 驚くべきことに酸化的リン酸化のほか, イオンチャンネル, 細胞内カルシウムホメオスタシス, 脂肪酸 β 酸化, 中性脂肪サイクル, ウレアサイクル, アミノ, 脂肪, ヘム, プリン, ステロイドおよびステロイドホルモン合成など, 代謝に関与する多彩な機能が備わっている。また, 細胞内の鉄はミトコンドリアに最も多く存在しており, Fe-S クラスターの形で後述する電子伝達系の Complex I, II, III の活性中心をなし, 酸化還元を行う上で重要な役割を担っている。

通常, 電子伝達系から2~3%の電子が漏れ, この漏れ出た電子が近傍の最も反応性の高い酸素分子と反応し, スーパーオキシドを産生する。スーパーオキシドの主な発生部位としては, Complex I⁵⁾と

Complex III⁶⁾がよく知られているが, Complex II もミトコンドリアから産生される活性酸素に寄与しており, Complex II からのスーパーオキシドの発生部位は, コハク酸塩酸化部位の末端であることが示唆されている⁷⁾。電子伝達系阻害剤であるロテノン, アンチマイシン A, シアン剤により電子伝達系から産生される活性酸素が増加することが知られている⁸⁻¹²⁾。我々は, Complex I—ユビキノン (補酵素 Q—CoenzymeQ) 経路を阻害するロテノン (ROT), Complex II を阻害する3-ニトロプロピオン酸 (3-NPA), Complex II—ユビキノン経路を阻害するテノイルトリフルオロアセトン (TTFA), Complex III を阻害するアンチマイシン A (AA), Complex IV を阻害するシアン化ナトリウム (NaCN) を用い, ミトコンドリアから産生される活性酸素を測定した。その結果, すべての阻害剤によって活性酸素の上昇が見られ, このことから電子伝達系複合体のすべての部位において, 活性酸素が生成される可能性が示唆された¹³⁾。

電子伝達系と直接関与していないミトコンドリアの他の酵素もミトコンドリア由来の活性酸素産生的一端を担っており, ジヒドロオロト酸オキシダーゼがジヒドロオロト酸のオロト酸への変換の際に副産物として¹⁴⁾, また TCA サイクルの酵素である α -ケトグルタル酸デヒドロゲナーゼも NADH/NAD⁺ 依存的に活性酸素が生じることが報告されている¹⁵⁾。

2. スーパーオキシドセオリー

酸化ストレスは, 酸化還元の連鎖反応により次々と細胞内の活性酸素を発生させ, DNA, 脂質, タンパク質などに様々なダメージを与える。スーパーオキシドの発生系としては, 細胞質では, キサンチンオキシダーゼ (Xanthine oxidase: XO), NADPH オキシダーゼ (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase), また, 上述したミトコンドリアの電子伝達系がよく知られている^{16,17)}。

スーパーオキシドがイニシエーターとなり, 活性酸素発生系の中心をなすという「スーパーオキシドセオリー」はスーパーオキシドディスムターゼ (Superoxide dismutase:SOD) の発見者である Irwin Fridovich 博士によって提唱された。

しかし, 約10年後, Sawyer らがスーパーオキシドの反応性は低く, 強い酸化剤ではないと報告した¹⁸⁾ことから, この「スーパーオキシドセオリー」は次第に蔭を潜めるようになった。スーパーオキシドは, SOD によって過酸化水素 (H_2O_2) と水 (H_2O) に

変換される。 H_2O_2 はスーパーオキシド同様、それほど強い活性力をもたないがROSのひとつである。さらに、この H_2O_2 はカタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼによって、速やかに水と酸素に変換され、無害化される。しかし、 H_2O_2 は二価鉄の存在下では、活性の強いヒドロキシルラジカル ($HO\cdot$) と三価鉄に変換される。この反応は「フェントン反応」と呼ばれる。さらに、フェントン反応によってできた三価鉄は、スーパーオキシドによって、二価鉄に戻り（ハーバーワイス反応）、二価鉄が再び H_2O_2 と反応（フェントン反応）し、 $HO\cdot$ を生成する。このように、スーパーオキシドはそれ自体、活性や反応性はそれほど強くないが、連鎖反応を引き起こすことで、活性や毒性の強いROSを生み出すことから、これまで重要視されてきた。この理論に従えば、MnSODが増えれば $HO\cdot$ の生成量も当然増えることになる。しかし、我々のMnSODを過剰発現させた細胞株を用いた実験では、MnSODが増えると $HO\cdot$ は減少しており、フェントン・ハーバーワイス反応だけでは説明ができないことが明らかとなった。

一酸化窒素とスーパーオキシドによってパーオキシナイトライト ($ONOO\cdot$) が生成されるが、この $ONOO\cdot$ は反応性や毒性が強く、チロシンのニトロ化、SH基の酸化といったタンパク質の修飾を引き起こすこと、脂質過酸化を引き起こすことが知られている¹⁹⁾。

$ONOO\cdot$ のプロトン化した形である $ONOOH$ は、 $HO\cdot$ と二酸化窒素ラジカル ($NO_2\cdot$) に変換され、その後、ヒドロキシル化、ニトロ化によってそれぞれ硝酸イオン (NO_3^-) に異性化される^{3,19)}。

我々は、MnSODがスーパーオキシドのレベルを低下させるだけでなく、スーパーオキシドと $ONOO\cdot$ との結合を抑えることにより、 $ONOO\cdot$ から生成される $HO\cdot$ を抑え、それによって引き起こされる脂質過酸化、ミトコンドリア膜のカルジオリピンの酸化、放射線誘導アポトーシスを抑制することを示した。我々は、このようにミトコンドリアから出てくるスーパーオキシドが酸化ストレス連鎖反応を調節する重要なイニシエーターであると提唱し、これを新たに「ミトコンドリアルスーパーオキシドセオリー」と呼んでいる³⁾。

3. マンガンスーパーオキシドディスムターゼ (MnSOD)

ミトコンドリアは、エネルギーを産生する重要な細

胞内小器官であり、また酸素消費量が多く、活性酸素が多く産生されるにもかかわらず、ミトコンドリアの遺伝子DNAはヒストンに保護されていないため変異しやすい。ミトコンドリアにはスーパーオキシドを消去するMnSODをはじめ、 H_2O_2 を消去するグルタチオンペルオキシダーゼ (GPx)、ペルオキシレドキシン (PRX) などの抗酸化酵素が存在している。

これら抗酸化酵素系と活性酸素産生系の不均衡がDNAやタンパク質に障害を及ぼし、強いてはアルツハイマーやパーキンソンなどの神経疾患、動脈硬化、発癌、老化といった様々な疾患と関与していると考えられ、抗酸化物質を用いた治療も報告されている^{20,21)}。

MnSODはヒトでは第6番目の染色体、マウスでは第8番目の染色体にその遺伝子が存在する。22kDaのモノマーからなる4量体を形成し、活性中心はMnであり、His26, His74, Asp159, His163のアミノ酸によって配位されている。MnSODはの遺伝子SOD2は核にコードされており、MnSODのcDNAは666bpで最初の72bpはミトコンドリア移行するためのリーダーシークエンス (Mitochondrial targeting sequence : MTS) であり、24のアミノ酸に翻訳される。MTSは塩基性のアミノ酸を多く含み、全体としてはプラスの電荷を持っている。ミトコンドリアの外膜はマイナスに帯電しており、電気的に引き寄せられていることが考えられていた。しかし、その後の研究で、ミトコンドリアの外膜と内膜上には「膜透過装置」があることがわかってきた。外膜の膜透過装置はTOM (Translocate of the outer mitochondrial membrane) 複合体、内膜の膜透過装置はTIM (Translocate of the inner mitochondrial membrane) 複合体とよばれる。外膜に存在するTOM複合体は、膜通過可能なミトコンドリアタンパク質を認識する受容体として働いており、タンパク質の高次構造がほどけた一次構造の状態を外膜を通過させるためのチャネルでもある。内膜に存在するTIM複合体は、マトリックスまたは内膜のタンパク質を認識する受容体で、タンパク質を内膜に通過させる¹⁷⁻¹⁹⁾。この膜透過装置を通過してマトリックスに入ったMnSODはMTSの部分はずれ、三次元構造をした成熟したMnSODの形態になると考えられている²²⁻²⁴⁾。MTSの中のValがAlaになった変異ではMnSODのミトコンドリアへの移行やmRNAの安定性の低下が示されている²⁵⁾。我々はMTSを欠失したMnSODのcDNAを作成し、MnSODの局在の重要性について検討した。MTSを欠失したMnSODの過剰発現細胞株では正常なMnSODを過剰発現させた細胞株と比較して、

MnSOD の活性 / 発現量が低下し、ミトコンドリアから生成される活性酸素および放射線誘導アポトーシスの抑制が見られなかった²⁶⁾。これらの結果は、MnSOD が正常に機能するためにはミトコンドリア内に局在する必要があるということを示している。MnSOD のその重要性については、MnSOD 遺伝子ノックアウトマウスが生後2週間しか生きられないこと、このノックアウトマウスは、心筋症、脂肪肝、骨格筋アシドーシス、またミトコンドリア障害に基づく中枢神経細胞変性を示すことから証明されている^{27,28)}。

4. シグナルセンサーとしてのミトコンドリア内の活性酸素の役割

SOD2 遺伝子は、転写因子である nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF κ B), Forkhead box O3 (FOXO3a) によってその発現は制御されている。これらの転写因子は、ミトコンドリア内の活性酸素の量によってその発現量が調節されており、ミトコンドリア内の活性酸素がシグナルセンサーとなりうることが考えられる。

Storz らは、ミトコンドリア内の活性酸素が Src を介し、NF κ B を活性化することで細胞死を抑制すること²⁹⁾、Connor らは、ミトコンドリア内の H₂O₂ が PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog Deleted from Chromosome 10) を酸化することによって血管新生を調整すること、また *in vivo* においても発現が血管新生の表現系を調整している³⁰⁾。また、Kaewpila らは、MnSOD がスーパーオキシドを介し、hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF1- α) を調整していること³¹⁾ を報告している。これらの結果は、ミトコンドリア内の活性酸素が何らかのシグナルセンサーとして働いていることを示唆している。酸化ストレス応答シグナルとしてよく知られているものとして Nuclear factor (erythroid-derived 2) -like 2 (Nrf2) と Kelch like-ECH-associated protein 1 (Keap1) から成る Nrf2-Keap1 シグナリングがある。Nrf2-Keap1 の活性は、Keap1 のシステイン残基 (Cys 残基) の酸化的修飾によりおこることが知られている³²⁾。我々は、ミトコンドリアから生成される活性酸素が Nrf2-Keap1 シグナリングを調整していることを報告した。活性酸素がシグナルトランスダクションとして働き、タンパク質の Cys 残基をはじめ、種々のアミノ酸残基の酸化的修飾を引き起こし、タンパクの構造、機能を調節するといった翻訳後修飾は、生体の酸化ストレス状態に非常に重要な役割を果たしている。しかし、活性酸素による直接的

なシグナリングの活性化については、未だ不明な点も多い。

細胞内のタンパク質の Cys 残基、グルタチオン、遊離 SH 基などのチオール基 (SH: スルフヒドリル基) は酸化還元反応を受けやすく、細胞内のチオールレベルは酸化ストレスマーカーの指標とされており、分子内チオール基の酸化 / 還元状態によってタンパク質の機能や活性酸素シグナリングが調整されていることが考えられる。

我々はラット胃上皮粘膜癌様細胞株 (RGK1) に MnSOD の遺伝子を過剰発現させ、ミトコンドリア内の活性酸素を抑制した状況下での細胞内チオールレベルの変化について検討した。細胞内チオールレベルの検出には還元型のチオール基に結合する5-IAF (5-iodoacetamidofluorescein) を用いた。MnSOD 過剰発現株ではコントロールに比べて、還元型のチオールレベルを示す蛍光強度が著明に増加していた (図1-A)。次にこれらのタンパクを二次元泳動したところ、いくつかの異なるスポットが検出された (図1-B)。これらの検出されたスポットのタンパク質は Cys 残基や分子内チオール基が変化し、タンパクの機能に変化をもたらしていることが考えられる。これらのことから、ミトコンドリア内の活性酸素がシグナルセンサーとして酸化ストレスを調節することで、いくつかのタンパク質の機能や活性酸素シグナリングを変化させることが示唆された。

5. MnSOD と癌

癌細胞では、酸素が十分な環境下においてもエネルギー効率の悪い解糖系が有意に働くことが知られており、Warburg 効果と呼ばれている³³⁾。癌細胞では、ROS など何らかの異常によってミトコンドリアの電子伝達系に破綻が生じ、酸化的リン酸化からのエネルギーを十分に得ることができない。そのため、代償的に解糖系が有意に働くことで不足したエネルギーを得ていると考えられ、正常の細胞に比べてグルコースの取り込みが劇的に増加していることが知られている。実際、PET (positron emission tomography) はこの現象を利用した検査法であり、「全身の小さな癌を早期に発見できる」として、癌検診にも広く活用されている³⁴⁾。

癌細胞において、好気性解糖系はアポトーシスの抵抗性を増加させることによって癌細胞の増殖を亢進している³⁵⁾。実際、酸化的リン酸化を活性化する薬として、ピルビン酸脱水素酵素 (ピルビン酸をアセチル

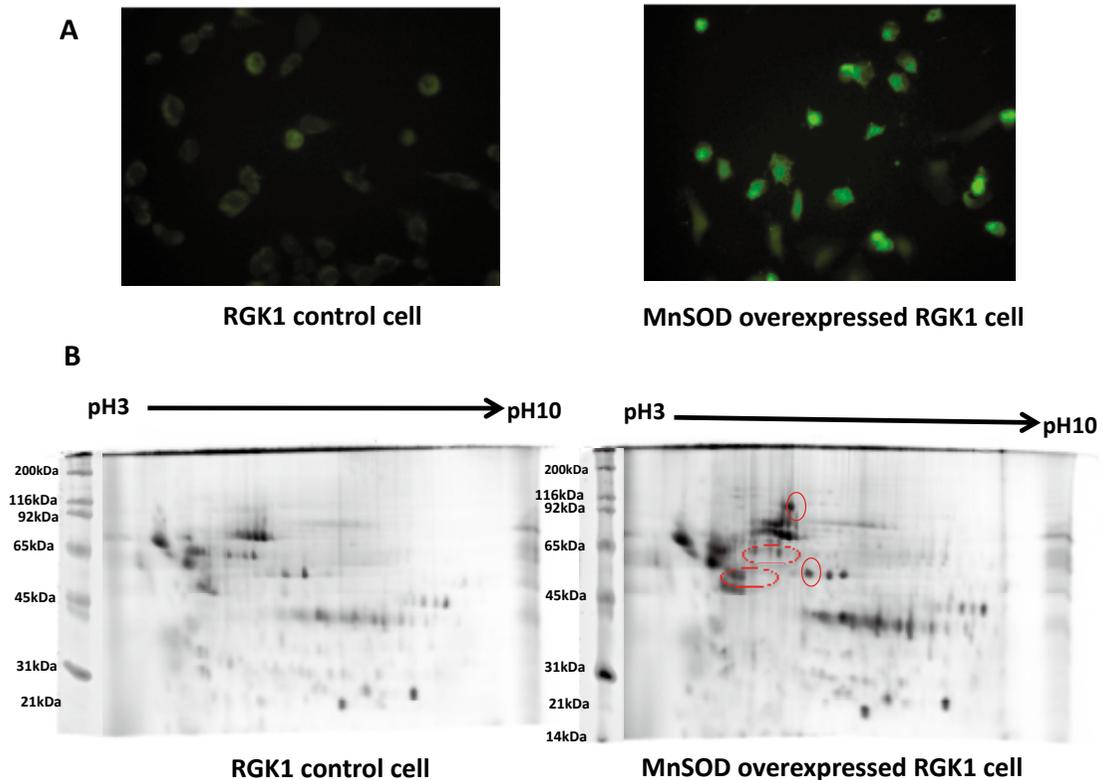


図1: MnSOD 過剰発現による細胞内チオールレベルの変化

RGK1細胞に MnSOD を過剰発現させ、ミトコンドリア内の活性酸素を抑制した状況下での細胞内チオールレベルの変化、すなわち酸化ストレスの大きさについて検討した。細胞内チオールレベルが増加すると細胞内酸化ストレスの程度は小さくなる。生細胞に還元型のチオール基に結合する5-IAF (5-iodoacetamidofluorescein) を用いてラベリングしたのち、蛍光強度を共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。MnSOD の過剰発現株では、その蛍光強度が有意に増加していた(A)。それらのタンパクを回収し、2次元泳動を行ったところ、MnSOD 過剰発現株ではコントロールに比べていくつかの異なるスポットが認められた(B)。参考文献34) より一部改変

CoAに変換する)を活性化するジクロロ酢酸ナトリウム(DCA)は転移性乳がん細胞の増殖を阻害するという報告がある³⁶⁾。また酸化リン酸化と解糖系のバランスが癌化と関連している、解糖系の亢進の結果、癌やその周囲組織が酸性化することによって、癌細胞を浸潤・転移しやすい環境にしているとの説もあるが、未だわかっていないことも多い。

正常なラット胃上皮粘膜細胞株(RGM1)とその癌様変異株RGK1細胞にMnSODを過剰発現させたときのミトコンドリア代謝機能評価をしたところ、正常細胞のMnSOD過剰発現RGM1株では酸化的リン酸化を亢進していたが、癌細胞のMnSOD過剰発現RGK1株では酸化的リン酸化が抑制されていた(図2)。これらの結果は、MnSODの発現量は正常細胞では、細胞

内の酸化ストレス状態を抑えることにより細胞保護的に働き、一方、癌細胞では酸化的リン酸化を抑制し、解糖系にスイッチすることで癌の増殖を促進している可能性を示唆している。我々は、この癌細胞において、MnSODの過剰発現は、Actin, talin, S100A4の相互作用を増強することによって癌の浸潤を増加させることを報告している³⁷⁾。

MnSODの発現量がエネルギー代謝にも関係しており、酸化的リン酸化と解糖系のスイッチの役割をしている可能性が考えられるが、MnSODの発現量は癌の種類、性質によって異なっており、またミトコンドリア内の活性酸素発生量の違いによってもシグナル伝達に変化するため、さらなる検討が必要であると思われる。

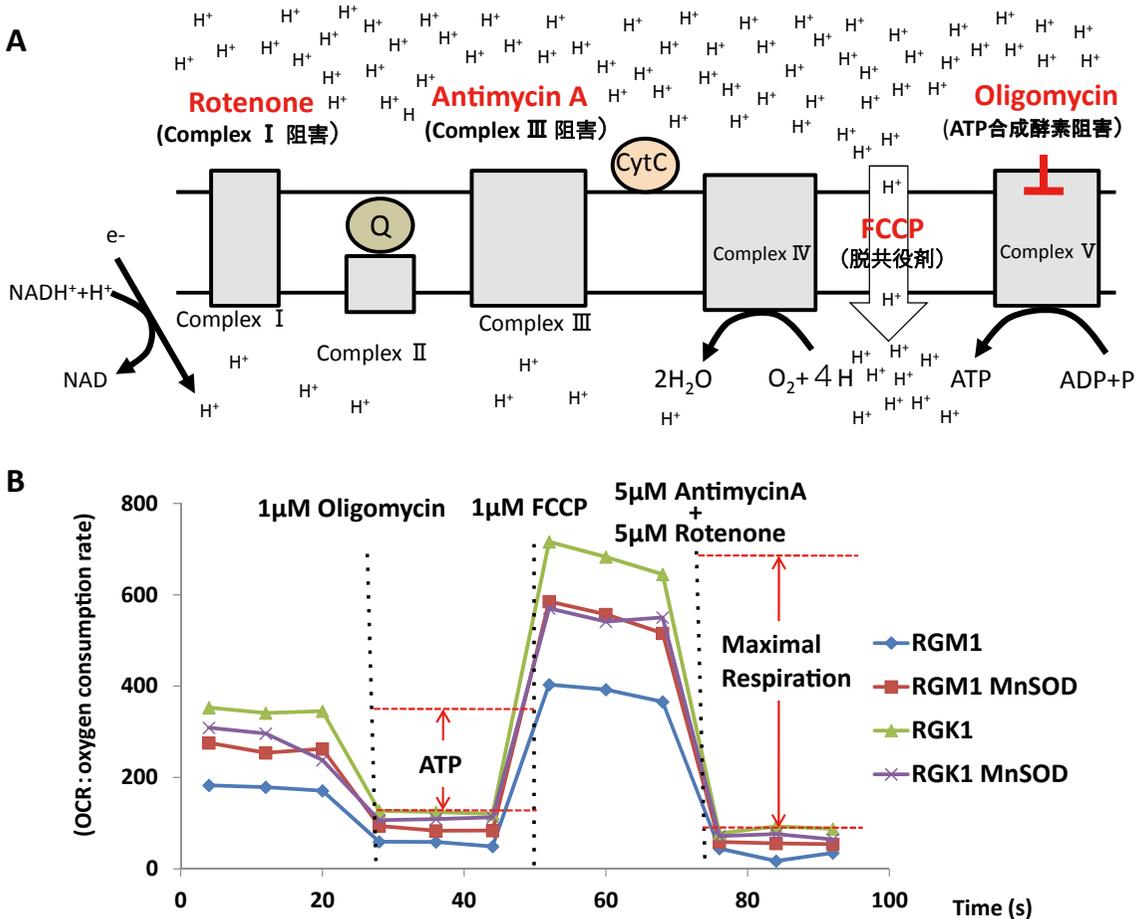


図2：正常なラット胃上皮粘膜細胞株（RGM1）とその癌様変異株 RGK1細胞に MnSOD を過剰発現させたときのミトコンドリア代謝機能評価

(A) に示す電子伝達系の阻害剤、脱共役剤を用い、細胞外フラックスアナライザー XF (Seahorse Bioscience, MA, USA) によるミトコンドリア代謝機能評価を行った。

正常細胞の MnSOD 過剰発現株では、コントロール株に比べ、電子伝達系の阻害剤、脱共役剤によって ATP 産生、最大呼吸量は増加していたが、癌細胞の MnSOD 過剰発現株では減少していた (B)。MnSOD は正常細胞では酸化的リン酸化を亢進し、癌細胞では酸化的リン酸化を抑制していることが示された。

6. 結論と今後の展望

今回の総説では、図3に示すように、我々が提唱している「ミトコンドリアルスーパーオキシドセオリー」の概要と MnSOD の機能について紹介した。MnSOD は、酸化還元酵素としての酸化ストレス応答シグナルのみならず、癌細胞の細胞周期、代謝経路、転移などの他のシグナルも調整していることが予想される。癌細胞において、MnSOD の活性/発現量は酸化的リン酸化と解糖系のスイッチをすることにより、

癌の増殖を調節している可能性があり、我々は MnSOD の高い活性/発現量が、細胞内のチオールレベルを変化させ、浸潤・転移能に関連していることを明らかにした³⁷⁾。MnSOD は腫瘍マーカーとして癌の診断、MnSOD 製剤として癌治療に用いられているが、その一方で MnSOD の過剰発現株では放射線^{26,38)}、抗がん剤³⁹⁾に抵抗性を示すことが報告されている。これまで、放射線照射による細胞死を誘導するメカニズムの解明、放射線抵抗性の獲得に関する研究、癌の浸潤転

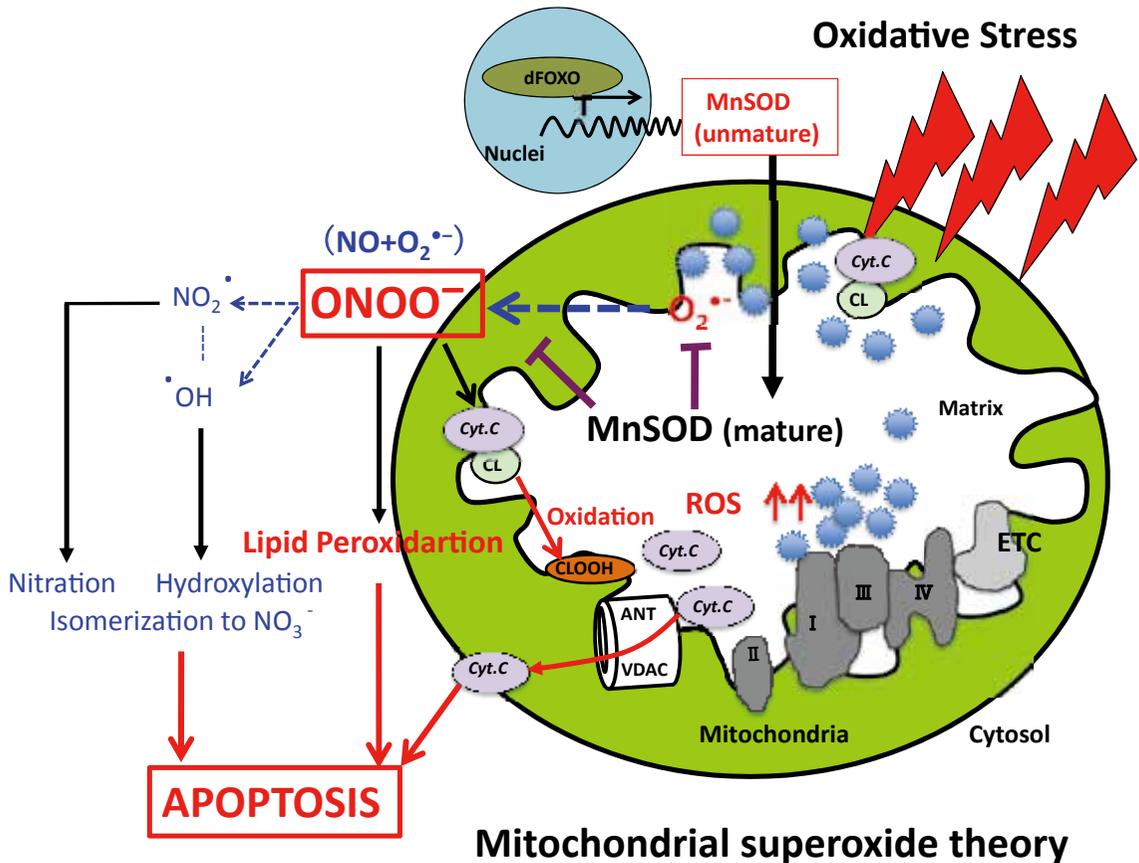


図3：ミトコンドリアスーパーオキシドセオリー³⁾

MnSOD がスーパーオキシドのレベルを低下させるだけでなく、スーパーオキシドと $ONOO^-$ との結合を抑えることにより $ONOO^-$ からの生成される $HO\cdot$ を抑え、それによって引き起こされる脂質の過酸化、ミトコンドリア膜のカルジオリピンの酸化、放射線誘導アポトーシスを抑制することを示している。

移に関する研究は、数多くなされているが、放射線抵抗性の獲得と癌の浸潤・転移についての関連性については、未だ詳細に解明されておらず、不明な点も多い。癌の放射線治療において、放射線抵抗性の獲得は重要な問題であり、その後の予後にも大きな影響を及ぼす。MnSOD のさらなる機能を調べることは、癌克服のための放射線抵抗性の機序解明の一助となる可能性があり、また放射線抵抗性の獲得と癌細胞の転移因子との関連性を明らかにすることによって、これらの基礎研究が臨床に反映されるように、さらなる研究を遂行していく所存である。

参考文献

- 1) Majima, H. J., Indo, H. P., Suenaga, S., Kaneko, T., Matsui, H., Yen, H-C., Ozawa, T.: Mitochondria as Source of Free Radicals, In; Free Radical Biology in Digestive Diseases, Naito, Y., Suematsu, M., Yoshikawa, T., Ed., Front Gastrointest Res., 29, 12-22, Karger, Basel, 2011.
- 2) Majima, H. J., Indo, H. P., Suenaga, S., Matsui, H., Yen, H-C., Ozawa, T.: Mitochondria as Possible Pharmaceutical Targets for the Effects of Vitamin E and its Homologues in Oxidative Stress-Related Diseases. Curr Pharm Des, 17(21), 2190-2195, 2011.
- 3) Indo, H. P., Yen, H-C., Nakanishi, I., Matsumoto, K., Tamura, M., Nagano, Y., Matsui, H., Gusev, O.,

- Cornette, R., Okuda, T., Minamiyama, Y., Ichikawa, H., Suenaga, S., Oki, M., Sato, T., Ozawa, T., St Clair, D. K., Majima, H. J.: A Mitochondrial Superoxide Theory for Oxidative Stress Diseases and Aging. *J Clin Biochem Nutr*, 56(1), 1-7, 2015.
- 4) Majima, H. J., Indo, H. P., Nakanishi, I., Suenaga, S., Matsumoto, K., Matsui, H., Minamiyama, Y., Ichikawa, H., Yen, H-C., Hawkins, C. L., Davies, M. J., Ozawa, T., St Clair, D. K.: Chasing Great Paths of Helmut Sies "Oxidative Stress". *Arch Biochem Biophys*, In Press, 2016.
 - 5) Takeshige, K. & Minakami, S.: NADH- and NADPH-dependent formation of superoxide anions by bovine heart submitochondrial particles and NADH-ubiquinone reductase preparation. *Biochem. J.*, 180(1), 129-135, 1979.
 - 6) Trumpower, B. L.: The protonmotive Q cycle. Energy transduction by coupling of proton translocation to electron transfer by the cytochrome bc1 complex. *J. Biol. Chem.*, 265(20), 11409-11412, 1990.
 - 7) McLennan, H. R. & Degli Esposti, M.: The contribution for mitochondrial respiratory complexes to the production of reactive oxygen species. *J. Bioenerg. Biomembr.*, 32(2), 153-162, 2000.
 - 8) Boveris, A. & Cadenas, E.: Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration. *FEBS Lett.*, 54(3), 311-314, 1975.
 - 9) Cross, A. R. & Jones, O. T.: Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim. Biophys. Acta*, 1057(3), 281-298, 1991.
 - 10) Zhang, J. G., Nicholls-Grzemski, F. A., Tirmenstein, M. A., Fariss, M. W.: Vitamin E succinate protects hepatocytes against the toxic effect of reactive oxygen species generated at mitochondrial complexes I and III by alkylating agents. *Chem. Biol. Interact.*, 138(3), 267-284, 2001.
 - 11) Yamagishi, S., Edelstein, D., Du, X., Kaneda, Y., Guzman, M., Brownlee, M.: Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J. Biol. Chem.*, 276(27), 25096-25100, 2001.
 - 12) Muller, F. L., Liu, Y., Van Remmen, H.: Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *J. Biol. Chem.*, 279(47), 49064-49073, 2004.
 - 13) Indo H. P., Davidson, M., Yen, H-C., Suenaga, S., Tomita, K., Nishii, T., Higuchi, M., Koga, Y., Ozawa, T., Majima, H. J.: Evidence of ROS generation by mitochondria in cells with impaired electron transport chain and mitochondrial DNA damage. *Mitochondrion*, 7(1-2), 106-118, 2007.
 - 14) Forman, H. J. & Kennedy, J.: Dihydroorotate-dependent superoxide production in rat brain and liver: a function of the primary dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 173(1), 219-224, 1976.
 - 15) Tretter, L. & Adam-Vizi, V.: Generation of reactive oxygen species in the reaction catalyzed by α -ketoglutarate dehydrogenase. *J. Neurosci.*, 24(36), 7771-7778, 2004.
 - 16) Matsumoto, S., Koshiishi, I., Inoguchi, T., Nawata, H., Utsumi, H.: Confirmation of superoxide generation via xanthine oxidase in streptozotocin-induced diabetic mice. *Free Radic. Res.*, 37(7), 767-772, 2003.
 - 17) Turrens, J. F., Boveris, A.: Generation of superoxide anion by the NADH dehydrogenase of bovine heart mitochondria. *Biochem J.*, 191(2), 421-427, 1980.
 - 18) Sawyer, D. T. & Valentine, J.S.: How Super is Superoxide. *Acc. Chem. Res.*, 14(12), 393-400, 1981.
 - 19) Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A., Freeman, B. A.: Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 87(4), 1620-1624, 1990.
 - 20) Hayashidani, S., Tsutsui, H., Shiomi, T., Suematsu, N., Kinugawa, S., Ide, T., Wen, J., Takeshita, A.: Fluvastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitor, attenuates left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction. *Circulation*, 105(7), 868-873, 2002.
 - 21) Kinugawa, S., Tsutsui, H., Hayashidani, S., Ide, T., Suematsu, N., Satoh, S., Utsumi, H., Takeshita, A.: Treatment with dimethylthiourea prevents left ventricular remodeling and failure after experimental myocardial infarction in mice: role of oxidative stress. *Circ. Res.*, 87(5), 392-398, 2000.
 - 22) Mihara, T. & Onuma, T.: Cytoplasmic chaperons in precursor targeting to mitochondria: The role of MSF

- and hsp70. *Trends Cell Biol.*, 6(3), 104-108, 1996.
- 23) Lithgow, T.: Targeting of proteins to mitochondria. *FEBS Lett.*, 476(1-2), 22-26, 2000.
- 24) Koehler, C. M.: Protein translocation pathways of the mitochondrion. *FEBS Lett.*, 476(1-2), 27-31, 2000.
- 25) Sutton, A., Imbert, A., Igoudjil, A., Descatoire, V., Cazanave, S., Pessayre, D., Degoul, F.: The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*, 15(5), 311-319, 2005.
- 26) Indo, H. P., Inanami, O., Koumura, T., Suenaga, S., Yen, H-C., Kakinuma, S., Matsumoto, K., Nakanishi, I., St Clair, W., St Clair, D. K., Matsui, H., Cornette, R., Gusev, O., Okuda, T., Nakagawa, Y., Ozawa, T., Majima, H. J.: Roles of mitochondria-generated reactive oxygen species on X-ray-induced apoptosis in a human hepatocellular carcinoma cell line, HLE. *Free Radic. Res.*, 46(8), 1029-1043, 2012.
- 27) Li, Y., Hung, T-T., Carlson, E. J., Melov, S., Ursell, P. C., Olson, J. L., Noble, L. J., Yoshimura, M. P., Berger, C., Chan, P. H., Wallace, D. C., Epstein, C. J.: Dilated cardiomyopathy and neonatal lethality in mutant mice lacking manganese superoxide dismutase. *Nat. Genet.*, 11(4), 376-381, 1995.
- 28) Lebovitz, R. M., Zhang, H., Vogel, H., Cartwright, J. Jr., Dionne, L., Lu, N., Huang, S., Matzuk, M. M.: Neurodegeneration, myocardial injury and perinatal death in mitochondrial superoxide dismutase deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 93(18), 9782-9787, 1996.
- 29) Storz, P. & Toker, A.: Protein kinase D mediates a stress-induced NF-kappaB activation and survival pathway. *EMBO J.*, 22(1), 109-120, 2003.
- 30) Connor, K. M., Subbaram, S., Regan, K. J., Nelson, K. K., Mazurkiewicz, J. E., Bartholomew, P. J., Aplin, A. E., Tai, Y. T., Aguirre-Ghiso, J., Flores, S. C., Melendez, J. A.: Mitochondrial H₂O₂ regulates the angiogenic phenotype via PTEN oxidation. *J. Biol. Chem.*, 280(17), 16916-16924, 2005.
- 31) Kaewpila, S., Venkataraman, S., Buettner, G. R., Oberley, L. W.: Manganese superoxide dismutase modulates hypoxia-inducible factor-1 alpha induction via superoxide. *Cancer Res.*, 68(8), 2781-2788, 2008.
- 32) Dinkova-Kostova, A. T., Holtzclaw, W. D., Cole, R. N., Itoh, K., Wakabayashi, N., Katoh, Y., Yamamoto, M., Talalay, P.: Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are the sensors regulating induction of phase 2 enzymes that protect against carcinogens and oxidants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 99(18), 11908-11913, 2002.
- 33) Warburg, O.: On respiratory impairment in cancer cells. *Science*, 124(3215), 269-270, 1956.
- 34) Ido, T., Wan, C. N., Casella, V., Fowler, J. S., Wolf, A. P., Reivich, M., Kuhl, D. E.: Labeled 2-deoxy-D-glucose analogs: 18F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-D-glucose, 2-deoxy-2-fluoro-D-mannose and 14C-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose. *J. Labeled Compounds Radiopharm.*, 14(2), 175-183, 1978.
- 35) Fogg, V. C., Lanning, N. J., MacKeigan, J. P.: Mitochondria in cancer: at the crossroads of life and death. *Chin. J. Cancer*, 30(8), 526-539, 2011.
- 36) Sun, R. C., Fadia, M., Dahlstrom, J. E., Parish, C. R., Board, P. G., Blackburn, A. C.: Reversal of the glycolytic phenotype by dichloroacetate inhibits metastatic breast cancer cell growth in vitro and in vivo. *Breast Cancer Res. Treat.*, 120(1), 253-260, 2010.
- 37) Indo, H. P., Matsui, H., Chen, J., Zhu, H., Hawkins, C. L., Davies, M. J., Yarana, C., St Clair, D. K., Majima, H. J.: Manganese superoxide dismutase promotes interaction of actin, S100A4 and Talin, and enhances rat gastric tumor cell invasion. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 57(1), 13-20, 2015.
- 38) Motoori, S., Majima, H. J., Ebara, M., Kato, H., Hirai, F., Kakinuma, S., Yamaguchi, C., Ozawa, T., Nagano, T., Tsujii, H., Saisho, H.: Overexpression of mitochondrial manganese superoxide dismutase protects against radiation-induced cell death in the human hepatocellular carcinoma cell line HLE. *Cancer Res.*, 61(14), 5382-5388, 2001.
- 39) Chen, P. M., Cheng, Y. W., Wu, T. C., Chen, C. Y., Lee, H.: MnSOD overexpression confers cisplatin resistance in lung adenocarcinoma via the NF- κ B/Snail/Bcl-2 pathway. *Free Radic. Biol. Med.*, 79, 127-137, 2015.

総説：口腔ケア Up to date

上川 善昭

鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科・顎顔面機能再建学分野・顎顔面疾患制御学分野

Review of Oral care, Up to date

Yoshiaki Kamikawa

Field of Maxillofacial Diagnostic and Surgical Science, Department of Oral and Maxillofacial Rehabilitation,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima, 890-8544, Japan

ABSTRACT

When the report that oral care decreased the risk of developing pneumonia (Yoneyama 1999), oral care was regarded as an important tool in perioperative period. So, in the early stages, nurse play leading role in oral care and tend to look only oral cleanliness, dentures were not required. As eating by mouth is important and be able to cure a disease, denture is necessary in perioperative period. To take particular note of candida is needed the reasons why that denture base materials have a relationship with candida species.

The key point of oral care, especially with oral candidiasis, is presented in this review.

Key words: Oral care, Oral candidiasis, Denture, Nano Ag, Egg York antibody

超高齢化社会が現実となって久しい¹⁾が、歯科診療機関を受診する自立した患者においても多くの全身疾患を抱え、医学的に高度に管理されていることは珍しくない。食べること、特に美味しい食事は誰でもが望む欲求であり、健康を維持するには適切な熱量と栄養の摂取が必須である。怠ると、有病者はもとより老年者や要介護者では免疫能が低下してしまう。

口腔保清が周術期の呼吸器疾患の発生を抑制するとの報告 (Yoneyama 1999)²⁾ 以来、口腔ケアが重要視されてきた。医科が先行して行ってきた口腔ケアでは口腔を清掃して清潔に保つことのみ重点が置かれて、義歯がおざなりにされてきた。しかし、老年者では義歯をおざなりしたままでは摂食が困難となり健康維持はいうまでもなく、病気からの回復を望むことは困難である³⁾。

口から食べられるように援助して全身の健康維持を目指すことが、われわれ歯科医師の責務である。これを効果的に行うにあたっては、義歯の正しい管理、特に義歯と関連する口腔カンジダを理解することが重要である^{3,4)}。

I. 口腔カンジダ症の原因と近年の傾向

口腔内に真菌であるカンジダが定着、増殖して何らかの症状をあらわす疾患であり、抗菌剤や消毒薬の長期連用による菌交代現象、副腎皮質ホルモン、免疫抑制剤の長期連用や自己免疫疾患、HIV などの免疫能低下による日和見感染で生じる^{5,7)}。

カンジダはヒトの口腔常在真菌で弱毒菌であるので健康人には無害である^{5,7)}。しかし、近年、カンジダと多くの口腔粘膜疾患が関連するという報告が増えて

いる⁸⁻¹⁰。原因菌の大部分は *Candida albicans* とされているが、*C. glabrata* などの none albicans が義歯と関連して増えてきている¹¹⁻¹⁴。

II. 口腔カンジダ症の新分類と症状

学問的にはいろいろな分類があるが、臨床的には理解しにくい。寺井（2007）と上川（2006）が提唱した分類^{3,11,12,15,16}は臨床的に理解しやすく、多くの職種がたずさわる口腔ケアでは有意義である。①白い口腔カンジダ症、②赤い口腔カンジダ症、③厚い口腔カンジダ症、④二次性口腔カンジダ症、という新分類³にそって以下に説明する。

①白い口腔カンジダ症（偽膜性カンジダ症）

乳児の鵝口瘡に代表される、口内にぬぐうと容易に除去できる、白い膜やヨーグルト澱様の白いかすが認められる病変である（写真1）。

②赤い口腔カンジダ症（紅斑性カンジダ症）

口内が赤くなる（紅斑性）カンジダ症である。舌乳頭が無くなり平滑となる萎縮性カンジダ症（写真2）や義歯性カンジダ症（義歯性口内炎）として教科書にも掲載されていたが、本邦では注目されることはなかった。舌や口腔粘膜の一部あるいは大部分が周りよりわずかに赤くなった病変（写真2, 3）であり、この部分からカンジダが検出される。昨今、紅斑性カンジダ症と舌や口内のヒリヒリ感（灼熱感）や痛みとの関連を示唆する報告が増えている¹⁷。抗真菌剤投与により紅斑とヒリヒリ（灼熱感）が消退する。口内は透明な粘膜下の毛細血管を反映して赤いので見逃されやすく認知されにくかった。しかし、これを見逃すと後述する③厚いカンジダ症や④二次性口腔カンジダ症へと進展しやすい。

③厚い口腔カンジダ症

粘膜が厚く硬くなる肥厚性カンジダ症（写真4）である。慢性の経過をたどり頬粘膜や舌が厚くなり腫瘤を形成して腫瘍と間違えられることも多い。このような腫瘤は悪性の場合もあるので専門医の診察が必要である。頬粘膜の咬合線部（頬粘膜の口角後方）や舌縁が好発部位である^{5,8,12}。正中菱形舌炎とされてきた舌背中央部の肥厚性病変もカンジダが原因である¹⁸。これらは抗真菌剤で治癒するが、手術が必要となることもある。

④二次性口腔カンジダ症

これにはカンジダ性潰瘍（写真5）、粘膜がささくられてはがれる剥離性口唇炎（写真6）、口角が赤く切れる口角炎（写真7）がある。副腎皮質ホルモン軟膏



写真1
偽膜性口腔カンジダ症



写真2
紅斑性口腔カンジダ症



写真3
義歯性口腔カンジダ症

を塗布して一時的に軽快したがすぐに再発するものはカンジダ検査を行い、カンジダが検出されたら抗真菌剤を投与すると劇的に軽快する⁸⁻¹²。紅斑とレース状



写真4
肥厚性口腔カンジダ症



写真7
口角炎



写真5
カンジダ性潰瘍



写真8
口腔扁平苔癬



写真6
剥離性口唇炎

の白斑が混在し接触痛を伴う口腔扁平苔癬（写真8）は難治性の疾患で、アレルギーやC型肝炎と関連するとされているが、治療に副腎皮質ホルモン軟膏を連用することが多く、カンジダが定着増殖して増悪することがある。このような症例では抗真菌剤を使用すると症状が改善することが多い⁸⁻¹²⁾。

しかし、これらの疾患では、カンジダが原因でないものもあり、特にびらんや潰瘍では悪性の場合もあるので専門医の診察が必要である^{3,4,8,9,11)}。

Ⅲ. 口腔カンジダ症の薬物療法

本邦で上市されている口腔カンジダ症に保険適用を持つ抗真菌剤には、①ファンギゾンシロップ[®]（ブリストルマイヤーズスクイブ）、②ハリゾンシロップ[®]（昭和薬品化工）、③フロリドゲル[®]（持田製薬）、④イトラコナゾールカプセル50[®]（ヤンセンファーマー）、⑤イトラートカプセル50[®]（日本ケミファ）、⑥イトリゾール内用液[®]（ヤンセンファーマー）がある。これらはポリエン系とアゾール系に分類される。

ポリエン系はカンジダの細胞壁を破壊する殺菌的薬剤である。ファンギゾンシロップ[®]とハリゾンシロップ[®]は小児用のシロップであるが、原液のままあるいは50倍液を含み含嗽したのちゆっくりと嚥下する。併用禁忌が少なく口腔内に広がりやすく使いやすいうえに効果が高い^{4,6,9,11,12,19,20}。

アゾール系はカンジダの細胞膜合成酵素を阻害し効果を発揮する。フロリドゲル[®]、イトラコナゾールカプセル[®]、イトリゾール内用液[®]とイトラートカプセル50[®]である。しかし、この酵素はヒトの肝臓の薬物代謝酵素と類似しており併用薬が効きやすくなるので注意が必要である^{4,6,9,11,12,19-21}。

フロリドゲル[®]はミコナゾールのゲル状剤で口腔内に滞留しやすく粘膜の局所に高濃度で長時間作用するように工夫されており、高い効果を示す。誤嚥も少なく摂食嚥下機能障害をもつ患者さんにも使いやすいのが特徴である。分子量が大きくて腸管からの吸収は1%程度とされているので血中移行が少なく為害作用も少ない。カンジダとの直接作用で奏効している^{4,6,9,11,12,19-21}。

イトラコナゾールカプセル[®]、イトラートカプセル50[®]、イトリゾール内用液[®]は同じくイトリゾールであるが、カプセルは食事の影響を受けやすく食直後に内服しなければ奏効しない。イトリゾール内用液[®]は、血中への移行が良いように添加物が加えられ食事の影響を受けないように工夫されているが、添加剤の影響で下痢が生じやすい。液状で含嗽してゆっくりと内服するのでカンジダに対して口腔内の直接作用と血中から口腔粘膜へ移行した後の作用の2回作用し効果が高い^{4,6,9,11,12,19-21}。

このように剤型と患者の併用薬や全身状態を考慮した薬剤選択が重要である¹⁷⁻¹⁹。

Ⅳ. 口腔カンジダ症の予防法

口腔乾燥とカンジダ症との関連

唾液は①粘膜保護作用、②自浄作用③抗菌作用④緩

衝作用、⑤味覚への作用をもつ。

これらを具体的に下記にて説明する。

①粘膜保護作用

唾液はムチンを含んでいるので粘性があり、口腔粘膜を物理的的刺激から守る。

②自浄作用

唾液により食査や微生物が洗い流される。

③抗菌作用

唾液にはリゾチームやイムノグロブリンなどの抗菌酵素が含まれている。

④緩衝作用

唾液は口内の酸性度（pH）を一定に保つ。

⑤味覚への作用

唾液は食物成分を溶かして味覚に作用する⁷⁻⁹。

つまり、口腔乾燥で唾液分泌が不足すると虫歯になりやすかったり、歯周病になりやすかったり、味覚の異常が生じる。同様に抗菌酵素の不足と自浄作用の低下によりカンジダが定着増殖する^{3,8,9,22}。口腔乾燥により口腔が酸性に傾くと酸性環境を好むカンジダは増え続ける²²。さらに、粘膜保護作用の低下により粘膜が傷つき粘膜のバリアーが破壊されカンジダが粘膜下に侵入し仮性菌糸をだして定着する。さらに、仮性菌糸の周りに種々の細菌が集まりバイオフィームを形成してしまうと抗菌剤が効きにくくなる²³。

噛むことにより唾液分泌は促進されるので、ガムを噛むことや、口腔筋機能訓練を行うことにより、口腔乾燥が改善されて口腔カンジダ症の予防となる⁷⁻¹⁰。

Ⅴ. カンジダを意識した口腔ケア

赤いカンジダ症に分類されるものに義菌性カンジダ症（写真3）がある。義菌装着者のデンチャープラークからは *C. albicans* だけではなく *C. glabrata* が検出されることが多いが、一般的に *C. glabrata* にはアゾール系抗真菌剤が効きにくいので注意が必要である。

義菌清掃の注意事項としては、カンジダに対して効力のある義菌洗浄剤を使用する必要がある。カンジダに効力のない洗浄剤を使用しても無意味である。義菌洗浄剤にはカンジダに効力があることが明記されたピカ[®]（ロート製薬）を使用する。ほ乳瓶洗浄剤のMilton[®]（キョーリン製薬）も有効とされているが、塩素を含んでいるので金属を使用した金属床義歯や部分床義歯には注意が必要である³。口腔カンジダ症を反復して発症する患者では義菌新製も考慮すべきである。

VI. 口腔カンジダ症の予防

いずれの疾患においても予防に優る治療法はない。歯垢や舌苔を機械的に除去する方法は口腔カンジダ症の予防に有効である^{3,8,9)}。しかし、熱心なあまり過度な刺激を加えたり、歯ブラシを粘膜や舌背に使用したりすると口腔粘膜を損傷しやすい。また、ポピドンヨードやアルコールを含有した洗口剤を連用すると菌交代により口腔カンジダ症を惹起する³⁾。スポンジブラシに水を含ませて口腔粘膜や舌背をやさしく擦過する方法が推奨される。

新しい予防法としてカンジダ卵黄抗体を利用した口腔カンジダ症の予防とナノ銀粒子を応用した予防がある。

ニワトリの母子免疫システムを活用したのが、卵由来のタンパク質・卵黄抗体 (IgY) である。カンジダ卵黄抗体はカンジダの口腔内への定着を阻止する。カンジダの接着因子に抗体が結合して、口腔粘膜上皮細胞への接着を阻害するとともに酵素、毒素等にも付着して病原因子を不活化する。卵黄抗体の特徴は特異性が非常に高く、親和性が強く瞬時に抗原抗体反応が成立しすぐに効果が発現する。卵黄の加工食品なので安全で、薬剤耐性に関与しないので、薬剤耐性菌を作らず、薬剤耐性菌に対しても効果がある^{24,25)}。このようにカンジダ卵黄抗体は義歯材料や口腔粘膜へのカンジダ付着阻止効果が強い^{24,25)}。すでに実用化されテルモオーラルジェル (テルモ社製) と SMILE HONEY (ゼトック社製) として市販され高い効果を示している。

さらにナノ銀粒子を利用した義歯性カンジダ症の予防法がある。銀は古来より高い防腐作用と安全性を持つことが知られており、近年、高い抗菌性と安全性により衣料品や医療品に多用されている。ナノ銀粒子は銀の分子数個分と非常に小さく表面積が大きいので、多くの電子が乖離しやすく高い抗菌効果を現す²⁶⁾。micro wave を利用して義歯床に抗菌作用を持たせる新技術 (特願2013-105663号) では、材料表面に存在するナノ銀粒子の量を自在にコントロールすることが可能となり高い抗菌効果を示し、ピカッシュ®として実用化されている²⁴⁾。

VII. 口腔ケアでの注意事項

重要なことは、カンジダ症を疑ったときには速やかにカンジダ検査を行い適切な抗真菌剤を使用することである。患部のぬぐい液がプラークをプレパラートに塗抹しグラム染色をすれば容易に診断がつき^{5,6)}、迅速に抗真菌薬を投与できる。培養の結果が出るまでには

24時間以上必要であるが、培養による菌種の同定も治療上必要である^{3,6-9)}。

カンジダ症の患部をいきなりこするとカンジダを呼吸器や消化管へ播種することになる。患部に抗真菌剤を塗布して症状が消退するのを待つことが望ましい。また、口腔粘膜の過度の擦過では、粘膜のバリアーが破壊された結果、通過するはずだったカンジダが口腔粘膜に定着してしまう。口腔粘膜のプラークはやさしく拭き取りそのあとに保湿剤を塗るなどの工夫が必要である^{3,6-9)}。

以上、カンジダを意識した口腔ケアについて概説した。本稿がささやかなりとも皆様の臨床にお役に立つことがあれば幸甚です。

参考文献

- 1) 超高齢社会の現状, 平成25年版情報通信白書, 第2章, 第3節1. 総務省, 2015
- 2) Yoneyama T, Yoshida M, Matsui T, et al: Oral care and pneumonia. Oral Care Working Group. Lancet. Aug 7; 354(9177): 515, 1999.
- 3) 上川善昭, 永山智宏, 川崎清嗣, 他: 口腔ケアに必要な口腔カンジダ症の基礎知識-診断・治療と口腔ケアによる口腔カンジダ症の予防-. 口腔ケア学会雑誌2010; 4(1): 17-23
- 4) 杉原一正 (監修), 上川善昭 (分担), 他: 口腔の緩和医療・緩和ケア, 永末書店, 京都, 2013
- 5) Scully C.: Candida and Candidosis: A Review. Crit. Rev. in Oral Biol. and Med.: 5(2), 125-157, 1999
- 6) 山口英世: 病原真菌と真菌症 (第4版). 南山堂, 東京, 2007
- 7) 歯科口腔領域のやさしい免疫の話, 藤林孝司, 書林書店, 1983
- 8) 上川善昭 (編) (共著), 生田図南, 津島克正, 福重真佐子: チェアーサイドの口腔カンジダ症ガイドブック, デンタルダイヤモンド社, 東京, 2013
- 9) 中川洋一, 上川善昭 (共著), 岩淵博史: 知っておきたい! 口腔カンジダ症, 永末書店, 東京, 2013
- 10) Kimori H, Yamamoto K, Kamikawa Y, et al. Factors associated with the presence of atrophic tongue in patients with dry mouth. Gerodontology 2013 May 30.
- 11) 口腔カンジダ菌と口腔粘膜疾患の意外な関連: 上川善昭, 杉原一正, Mebio, p4-11 Vol.23, No.11, 2006
- 12) 杉原一正 (監修), 上川善昭, 金川昭啓, 口腔カ

- ンジダ症アトラス, *Therapeutic Research*, 28(8); 1661-76, 2007
- 13) 川崎清嗣, 上川善昭, 杉原一正, 他: 有床義歯使用者の口腔カンジダ菌種に関する研究. *日本口腔ケア学会雑誌* 3(1): 44-47, 2009
- 14) Kawasaki K., Kamikawa Y., Sugihara K., et al: A clinical study on the relationship between dentures and oral *Candida* species. *Oral Therap. Pharmacol.* 30(1), 29-34, 7-15, 2011
- 15) 寺井陽彦, 島原政司: 古くて新しい真菌症: 続・赤いカンジダ症, *日本歯科評論*: 267(5): P137-45, 2007
- 16) 寺井陽彦, 島原政司: 古くて新しい真菌症-続・赤いカンジダ症-. *日本歯科評論*: 67: 137-145. 2007
- 17) 佐藤田鶴子: 再発性舌炎の基礎と臨床. *医真菌雑誌*, 45(4), 233-237, 2004
- 18) Cooke, B. E. D., Median rhomboid glosstis candidiasis and not a developmental anomaly. *Br. J. Mermatol.* 1975; 93: 399-405
- 19) 坂本春男 (編), 上川善昭 (分担), 他: Q&A 歯科のくすりがわかる本2014歯界展望別冊, 医歯薬出版, 東京, 2013
- 20) (一社)日本歯科薬物療法学会 (編), 上川善昭 (分担), 他: 歯科用薬剤ガイド-症例別処方プログラム, デンタルダイヤモンド社, 東京, 2014
- 21) 朝波惣一郎 (編), 上川善昭 (分担): 歯科疾患名から治療薬と処方例がすぐ分かる本, クインテッセンス出版, 東京, 2014
- 22) ドライマウスの臨床: 斉藤一郎監修, 中川洋一他著, 永末書店, 2005
- 23) 二川弘樹, 牧平清超江, 草 宏, 他: 口腔カンジダの付着およびバイオフィルム形成, *医真菌雑誌* 46(4): 233-242, 2005
- 24) El-Sayed Moustafa Ibrahim, A.K.M. Shofiqur Rahman, et al: In vitro and in vivo effectiveness of egg yolk antibody against *Candida albicans* (anti-CA IgY). *Vaccine*, 26(17), 2073-2080, 2008
- 25) Y. Kamikawa, J. Fujisaki, T. Nagayama, et al.: Use of *Candida*-specific chicken egg yolk antibodies to inhibit the adhering of *Candida* to denture base materials: prevention of denture stomatitis. *Gerodontology* 2014; doi: 10.1111/ger. 12163
- 26) Y. Kamikawa, D. Hirabayashi, T. Nagayama, et al: In Vitro Antifungal Activity against Oral *Candida* Species Using a Denture Base Coated with Silver Nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, Article ID 780410, 6 pages, 2014

***In situ* tissue engineering approach を応用した 歯周組織再生療法の試み**

白方 良典

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻
顎顔面機能再建学講座 歯周病学分野

Challenges for periodontal regenerative therapy using an *in situ* tissue engineering approach

Yoshinori Shirakata

Department of Periodontology
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

ABSTRACT

Periodontitis is a globally prevalent inflammatory disease that causes the destruction of the tooth-supporting periodontal tissue (i.e. gingiva, alveolar bone, periodontal ligament, and root cementum). In the past 4 decades, a variety of procedures, including bone grafting, guided tissue regeneration, the use of enamel matrix derivative and growth factors (GFs), either alone or in combination, have been performed to accomplish periodontal regeneration. More recently, tissue engineering technologies using scaffolds, GFs and cells have been developed in regenerative medicine. However, all current approaches have been shown to have variable outcomes and limitations. To obtain favorable periodontal healing, there is an ongoing need to develop more reasonable therapeutics based on self-repair capacity in injured periodontal defects where the progenitor/stem cells from neighboring tissues can be recruited for *in situ* periodontal regeneration. In this review, the emerging various challenges for periodontal regenerative therapy using an “*in situ* tissue engineering approach” that avoid the *ex vivo* culture of cells are addressed for future clinical management of periodontal intrabony defects.

Key words: periodontal tissue engineering approach, growth factors, scaffolds, mechanical stress, blood supply

I. はじめに

歯周病はバイオフィルムを形成するプラーク（歯周病原性細菌）によって惹起される炎症性疾患であり、2001年には人類史上最も有病率の高い感染症の一つとギネスブックに認定されている。一般に歯周病はその進行が遅く自覚症状を認め難いため歯槽骨吸収を伴う重度の歯周組織破壊をきたす歯周炎患者も少なくない。このような歯周病患者に対して、プラークコントロールに始まる歯周基本（原因除去）治療や、歯肉剥離掻爬術（フラップ手術）を主体とする切除療法により一定の歯周組織の改善が得られている。しかし、こ

れらの処置後には歯肉退縮や審美性の低下を伴うことが多く、またその治療様式の多くはプラーク抵抗性の低い長い上皮性付着である^{1,2)}とされている。さらに深い骨縁下欠損や根分岐部病変に対してはこれら従来の治療だけではその効果に限界がある。そこで、中等度・重度慢性歯周炎により破壊された歯周組織（歯肉、歯槽骨、セメント質および歯根膜）の形態と機能を完全に回復し、咀嚼機能や審美性の向上を目的に様々な歯周組織再生療法や生体材料が開発され臨床応用されてきた。1990年代からは疾病により失われた組織・臓器の形態と機能を再生すべく幹細胞、足場材（スキャ

ホールド), および増殖因子の3要素を積極的に利用する組織工学的手法(Tissue engineering)を取り入れた再生医学が幕開け, 特に近年では人工多能性幹細胞(induced pluripotent stem (iPS) cells)を用いた技術の発展もあり, 種々の細胞をソースにした細胞移植療法が脚光を浴びている。著者らはこれまで予知性の高い歯周組織再生療法の検証とその確立を目指し研究を行ってきた。そこで今回, 歯周組織再生療法を効果的に実践する際に必要となるエビデンスの整理と, 歯周組織における新たな *in situ* (欠損その場での) 組織工学アプローチの有用性と意義を考察してみたい。

II. 歯周組織の特徴と歯周組織再生療法の現状

A. 歯周組織における創傷治癒のバイオロジー

一般にカリエス, 歯根破折, 外傷等が認められた場合, 部分的な「切除: resection」や「充填: fill」に始まり, 欠損部位については各種歯科材料を用いた「修復: restore」, あるいは義歯, ブリッジ, インプラント等を用いて「置換: replace」するといった概念のもとで治療が行われることが多い。しかしながら, 天然歯の保存を本質的に目指すには歯肉縁下を含めた歯周組織が健全でなければならず, 歯周組織破壊を認める場合は歯周組織の「再生: regeneration」を達成しなければならない。そこで歯周組織の特殊な構造と創傷治癒のバイオロジーを正しく理解する必要がある。つまり歯周組織は①歯肉・歯槽骨・歯根膜・セメント質といった軟・硬・軟・硬の異なる組織が連続して存在するサンドイッチ構造を有する組織複合体であり, その治療においては, ②歯肉弁と歯槽骨側の有血管性の創傷面と歯根側の無血管性の創傷面を結びつける治療であり, さらに③創傷治癒の過程において口腔内細菌・汚染から隔離できない開放状態にある³⁾ことを念頭に置かねばならない。現在, 歯周組織再生療法の適応は一般に垂直性骨内欠損と1度-2度の根分岐部病変とされている。垂直性骨内欠損において, 歯槽骨とセメント質の再生はその残存骨壁数に有意に影響を受け, 特に1壁性骨欠損と3壁性骨欠損では全く異なり⁴⁾, 3壁性骨欠損は1壁性骨欠損に比べ3mm以上のクリニカルアタッチメント(CAL)ゲイン(歯に付着する上皮性付着と結合組織性付着の増加・獲得)が2.7倍になるとする報告⁵⁾もある。さらに垂直性骨欠損の角度が小さく(狭く)深い程, CALゲインが得られ易いことが知られている⁶⁾。また血餅の保持が困難となる1-2壁性骨欠損や2度の根分岐部病変においては, 骨再生をサポートする骨移植材が必要となること

が多いが, この骨移植材については, ①骨形成能: 移植材中の前骨芽細胞および骨芽細胞が実際に新生骨形成を促進する能力, ②骨誘導能: 移植材中の成長因子が未分化間葉系細胞にシグナリングを行い新生骨形成を促進もしくは誘導する能力, および③骨伝導能: 移植材がスキャホールドとして隣在する既存骨に由来する前骨芽細胞あるいは骨芽細胞の遊走・増殖を促し新生骨形成を生じさせるといった3つの属性⁷⁾を有することが望ましいことが知られている。

B. 歯周組織再生療法の選択

歯周組織再生療法に関する多くの基礎研究・臨床研究から 歯槽骨内欠損において歯周組織再生療法を成功させるためには 1)患者, 2)欠損, 3)適切な外科的アプローチおよび 4)使用する生体材料の4要素の全てを適切に吟味, 選択したうえで欠損部における①創傷治癒の安定化, ②創傷部の保護および③組織再生のスペース確保を図ることが極めて重要である⁸⁾ことが知られている。近年では拡大鏡, マイクロスコープやマイクロインスツルメントの普及も進み minimally invasive surgery (最小侵襲手術)を主とした外科手技の改変・改良, さらに種々の新規マテリアルの開発が進み歯周組織再生療法の選択の指針が見直され^{9, 10)}, 天然歯の保存が積極的に試みられてきている(図1)。

C. 歯周組織再生療法の変遷

歯周組織再生療法は, 臨床的に 1)ポケットプロビング深さ(PPD)の減少, 2)CALゲインの獲得 3)生理的な歯槽骨の形態回復, そして 4)組織学的な歯槽骨, 歯根膜, セメント質の再生を目的とする。これまでの歯周組織再生療法の変遷¹¹⁾(図2)と概要を以下に示す。

1) 骨移植術

歯周外科処置における骨移植術は文献的には1923年の Hegedus にまでさかのぼるが, 1960年代から盛んとなりこれまで多くの骨移植材が開発・臨床応用されている⁷⁾。なかでも自家骨は骨形成能, 骨誘導能, 骨伝導能を全て有すると考えられ, 骨移植材として第一選択であり良好な成績が得られるが, 採取部位へ外科的侵襲, 供給量の制限, 早期吸収等の問題がある。欧米ではヒト凍結乾燥脱灰骨などの同種骨や牛由来の異種骨が多用されているが, 本邦においては感染リスクや倫理的問題等もあり厚労省未認可医用材料が多い。こうした背景から安全性, 供給性の高いハイドロキシアパタイト(HA)やリン酸三カルシウム(TCP)といっ

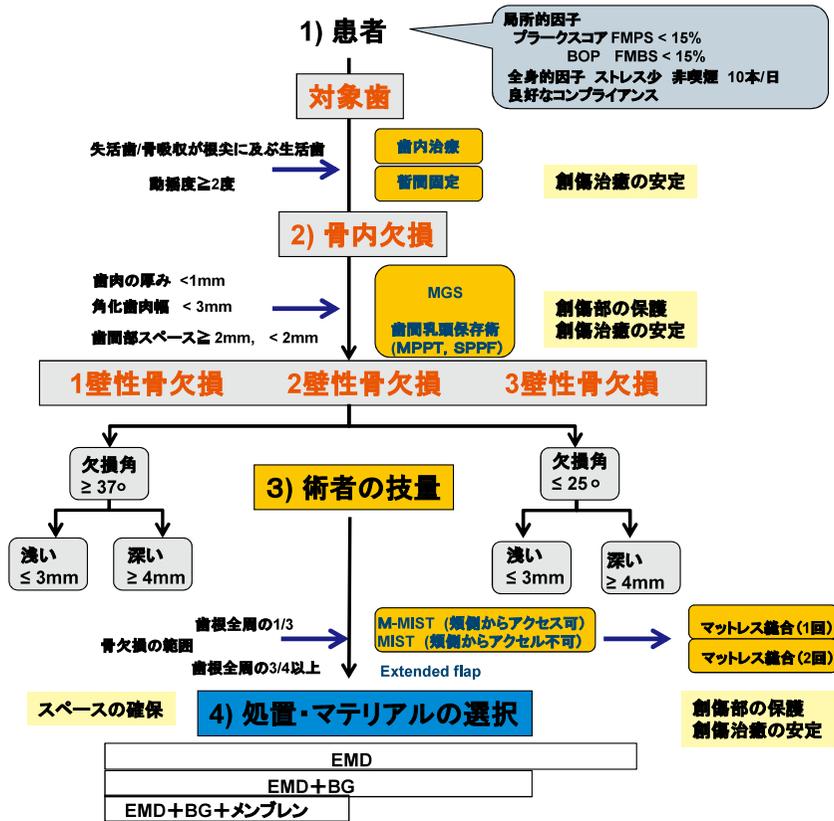


図1. 骨内欠損における歯周組織再生療法のデジジョンツリーとその治療戦略
 (Froum, S., Cortellini, P. et al より一部引用改変)
 FMPS: 全顎におけるブラークスコア, FMBS: 全顎におけるプロービング時の出血,
 MGS: 歯肉歯槽粘膜炎形成術, MPPT: 改良型歯冠乳頭保存術, SPPF: 単純型歯冠乳頭
 保存フラップ, M-MIST: 改良型低侵襲外科テクニック, MIST: 低侵襲外科テクニ
 ック, EMD: エナメルマトリックスデリバティブ, BG: 骨移植術

た人工骨が開発されている。しかしながら非吸収性の HA の歯周骨内欠損への応用後、残存する HA 顆粒と歯根の癒着や、HA へのプラーク蓄積に起因する歯周炎の再発等の報告¹²⁾もあり、非吸収性材料の使用は術後感染のリスクが高いことが示唆されている。そこで、我々は吸収性でかつ複雑な歯周骨内欠損へ注入可能な TCP セメント (CPC) に着目した。CPC は欠損部へ注入後、体温下で急速に硬化し生体内で骨置換を伴いながら徐々に吸収する特性を有する人工骨として整形外科領域で最初に報告¹³⁾された。まず CPC の歯周組織欠損における効果を検証すべく、イヌの顎骨に外科的に作製した骨内欠損 (閉塞型欠損, 3 壁性骨欠損) へ移植を行った。12 週後の組織学的評価において CPC は生体親和性が高く、良好なスキヤホールド

として骨伝導能を発揮しその周囲に骨形成が認められた。さらに CPC と露出歯根面の間には欠損底部から伸展する新生セメント質と歯根膜様組織を認め、CPC が創傷治癒の安定にも大きく寄与していることが示唆された¹⁴⁾。その後、ヒト骨内欠損における CPC 移植 (実験群) とフラップ手術 (コントロール群) の臨床的効果の比較検証を目的に臨床試験¹⁵⁾を行った。術後 1 年において両処置群共に術前に比べて有意に PPD の減少と CAL ゲインの獲得が認められ臨床的にも改善が認められた。しかしながら両群間においていずれの臨床的パラメーターにも有意差は認められなかった。実験群では CPC の充填量が多かった部位においては術後に一部、露出が認められた。露出を認めなかった部位においても 1 年後にレントゲン上で CPC の残存が

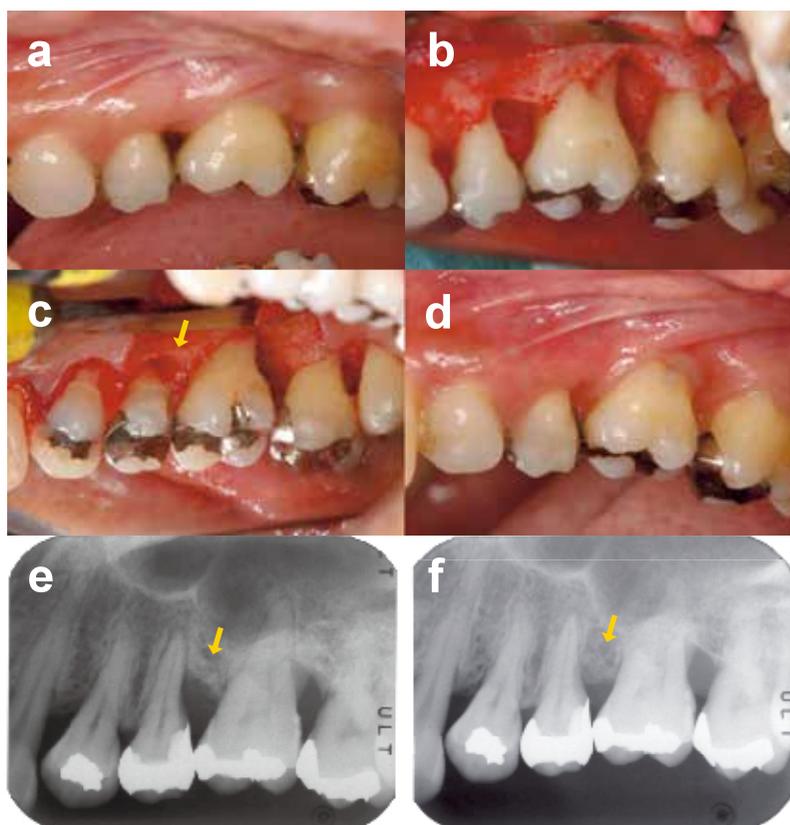


図3. ヒト1壁性骨欠損(25遠心)における EMD と自家骨移植の併用症例

(a)術前, (b)術中(デブライドメント後 頬側), (c)術中(デブライドメント後 口蓋側) 25遠心の1壁性骨欠損(矢印)に EMD と自家骨を併用移植, (d)術後17カ月, (e)術前レントゲン写真, (f)術後レントゲン写真(17カ月) PPDは3mm 減少し3mmのCALゲインが得られた。

て広く多彩な効果を発揮し良好な創傷治癒に関わること²¹⁾, 臨床研究ではフラップ手術単独と比較して有意にCALゲインの獲得量が大きいこと²²⁾, EMDの歯周組織欠損への応用によりGTR法と同等の良好な臨床成績が得られるとの報告^{23,24)}がされるようになった。さらにEMD応用後の歯根面においては歯根発生期に認められる無細胞性外部線維性セメント質が優勢で, 歯根膜線維の走行が機能的配列を有すること²⁵⁻²⁷⁾, さらに臨床的にEMDの応用はGTR法に比べて1)メンブレンを用いないことから手術時間, 外科的侵襲が少なくさらに術後の合併症や肉肉退縮が少ない²⁸⁾, 2)複数歯における骨内欠損に応用しやすい, 3)歯根の近接, 歯列不正等の影響を受けにくい等の理由もあり適応症も広く頻繁に用いられている(図1, 表1)。4)増殖因子の応用

現在, 特定の細胞の遊走, 増殖, 分化を促進する生理活性物質(サイトカイン)である増殖因子(成長因子: Growth factor)として骨誘導タンパク(bone morphogenetic protein: BMP), インシュリン様増殖因子(insulin like growth factor: IGF), 血小板由来増殖因子(platelet-derived growth factor: PDGF), 塩基性線維芽細胞増殖因子(basic fibroblast growth factor: bFGF)等が知られている。異所性骨形成を誘導する物質としてUristらにより骨基質中から発見されたBMP²⁹⁾はいち早く遺伝子工学的に作製が可能となりリコンビナントタンパクとして利用されるようになった。中でもBMP-2はその強力な骨形成作用について数多くの報告がされてきた。しかしながら歯周骨内欠損への応用においては著名な歯槽骨形成を認めるものの, アンキロシスや歯根吸収等の問題点^{30,31)}が指摘されている。本邦では強力な血管

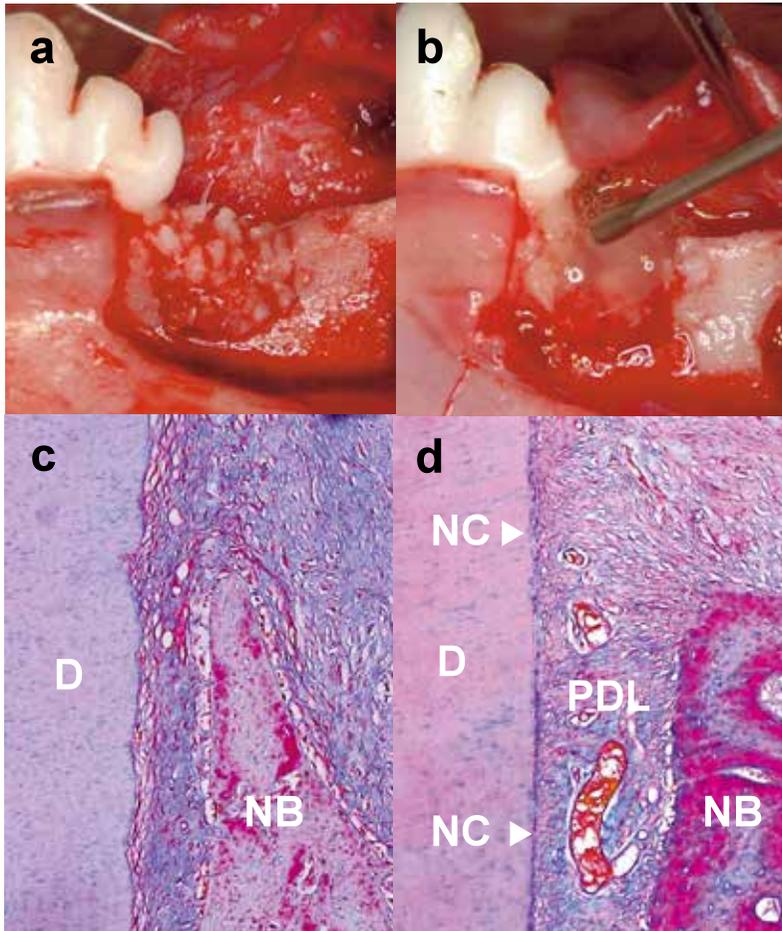


図4. イヌ1壁性骨欠損における自家骨移植単独とEMDと自家骨移植併用処置の比較 (a)自家骨移植のみ, (b)自家骨移植とEMDの併用処置, (c)自家骨移植後の欠損内最歯冠側の治癒像(術後8週). 新生骨形成は認めるがセメント質形成は認めない., (d)自家骨移植とEMD併用後の欠損内最歯冠側の治癒像(術後8週). 無細胞性セメント質の形成と機能的配列を有する緻密な歯根膜組織に注目. D:象牙質, NC:新生セメント質, NB:新生骨, PDL:歯根膜)(アザン染色)

新生促進作用を有するサイトカインである bFGF に関する基礎研究, 臨床研究が盛んに進められ, 基礎研究においては bFGF が培養ヒト歯根膜由来細胞 (HPDL) の遊走と増殖を促進すること, HPDL からのオステオポンチンやヒアルロン酸等の細胞外基質の産生を高めることが明らかとなっており, 歯周組織再生に適した微小環境を創出する可能性が示唆されている³²⁾。またリコンビナントヒト線維芽細胞増殖因子-2 (rhFGF2) /HPC (ヒドロキシプロピルセルロース) ゲル (以下 rhFGF2) を骨内欠損に用いた多施設臨床治験においてその安全性が確認され, さらに rhFGF-2 と EMD の

比較臨床試験の結果, rhFGF-2の方がEMDより放射線学的評価において骨形成量が多いことが報告³³⁾されている。現在, 日本発のサイトカインを用いた新たな歯周組織再生療法として, その使用認可が待ち望まれている。

5) 各種併用療法

歯周組織は前述のように軟組織と硬組織が隣接する生体内でも極めて特異的な組織複合体であるため理想的な歯周組織再生を獲得するためには単一の因子, 処置だけでなく種々の因子を併用する必要性が考えられる。特に骨壁の裏打ちのない骨縁下欠損 (Non-

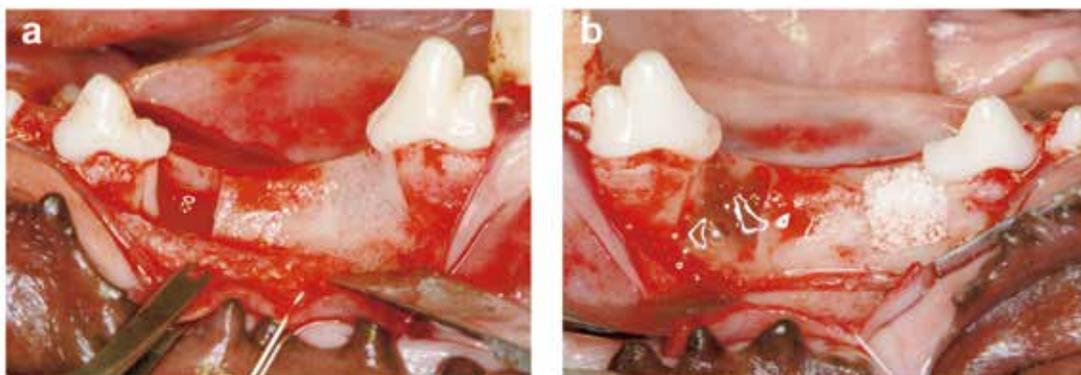


図5. イヌ下顎骨における2壁性骨欠損

(a)左：歯肉剥離搔爬術(OFD)，右：rhFGF2の応用 (b)左：EMDの応用，右：PDGF/ β -TCPの充填（文献26より引用）

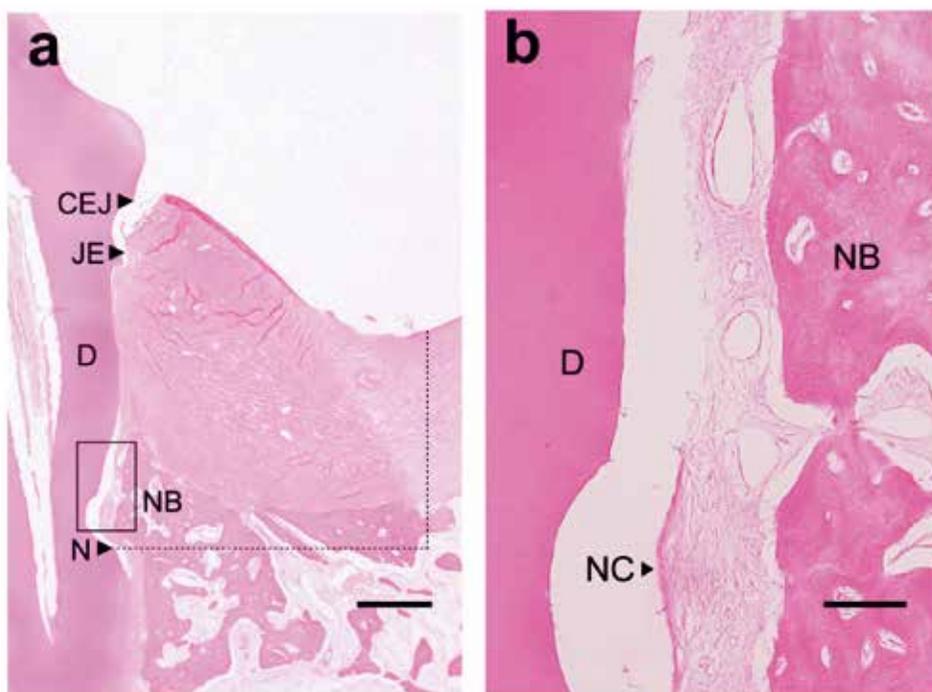


図6. 歯肉剥離搔爬術(OFD)術後の治癒像

(a)弱拡大像。歯周組織再生は欠損底部に局限している。破線部は欠損範囲を示す。(scale bar: 1mm) (b)根尖側フレーム部の強拡大像、歯根膜線維は疎で歯根に並走している。(scale bar: 200 μ m) CEJ：セメントエナメル境，JE：上皮の最根尖側，NB：新生骨，NC：新生セメント N：根尖部ノッチ，D：象牙質，ヘマトキシリン・エオジン染色（文献26より引用改変）

contained defect: 1-2壁性骨欠損)においては, EMDは粘性を有するゲルであるためEMD単独ではフラップの崩落, 歯周組織再生に必要な場の確保が十分に得られない懸念も報告されている^{34,35}). こうして現在, EMD単独処置による臨床的限界の克服と1-, 2-壁性の骨内欠損での臨床成績の向上, 適応症の拡大を目指しEMDとメンブレンや種々の骨移植材が併用されることが多くなっている。本邦で使用できる骨移植材には制限があるが, EMDと自家骨の併用処置はEMD単独処置に比べ有意に術後の歯肉退縮量が抑制され, アタッチメントゲインの獲得率が高いとの報告^{36,37})がある。当科におけるEMDと自家骨の併用症例でも臨床的パラメーターおよび放射線学的評価において良好な結果が認められている(図3)。なおイン1壁性骨欠損モデルにおいて自家骨移植のみとEMDと自家骨移植の併用後の治療像を組織学的に比較検証した結果, 自家骨移植のみではセメント質形成が乏しいのに対し, EMDを併用することにより歯槽骨再生のみならずシャーピー線維を密に埋入したセメント質の再生が欠損底部から歯冠側まで連続的に認められた(図4)。またNon-contained defectに対してはPDGFと β -TCPの併用使用を前提としたGEM21S[®](日本国内未認可)が北米を中心に使用されており, 良好な臨床効果が報告³⁸)されている。

前述のように, 各々の歯周組織再生療法は利点, 欠点を有し, またそれらの適応症の選択が不適切な場

合には本来の治療効果が発揮されることはない。そこで我々はEMD, rhFGF2, GEM21S[®](以下PDGF/ β -TCP)の応用を実験群として, 歯肉剥離搔痒術(OFD)を対照群としてイン2壁性骨欠損(深さ5mm, 頬舌径5mm, 近遠心径5mm)(図5)においてこれらの歯周組織再生に及ぼす効果について比較検討を行った²⁶)。術後8週での組織学的所見として, OFD群では, 既存骨骨頂の吸収が著しく欠損底部に僅かに新生骨形成が認められた(図6)のに対し, 実験群では既存骨骨頂および欠損底部より欠損歯冠側にかけて顕著な新生骨形成が認められた(図7-図9)。また実験群では歯根面に沿って機能的な配列を有するシャーピー線維の埋入を伴った新生セメント質の伸展, および歯根膜様組織が認められた。新生セメント質形成に関してOFD群では, 欠損底部に局限するのみであったのに対し, EMD群では薄い無細胞性セメント質が, rhFGF2群およびPDGF/ β -TCP群では厚い細胞性セメント質が優位に認められた(図6-図9)。組織形態計測結果として, 実験群はOFD群より, またrhFGF2群はEMD群より統計学的に有意に新生骨形成量が多かった(表2)。このように2壁性骨欠損におけるEMD群, rhFGF2群, PDGF/ β -TCP群で各々良好な歯周組織再生が認められた。しかしながらEMDのみではスペースメンテナンスが困難で, 無細胞性セメント質の再生には有効であるが顕著な骨誘導能を有さない可能性が示唆された。rhFGF2群は担体を用いなかっ

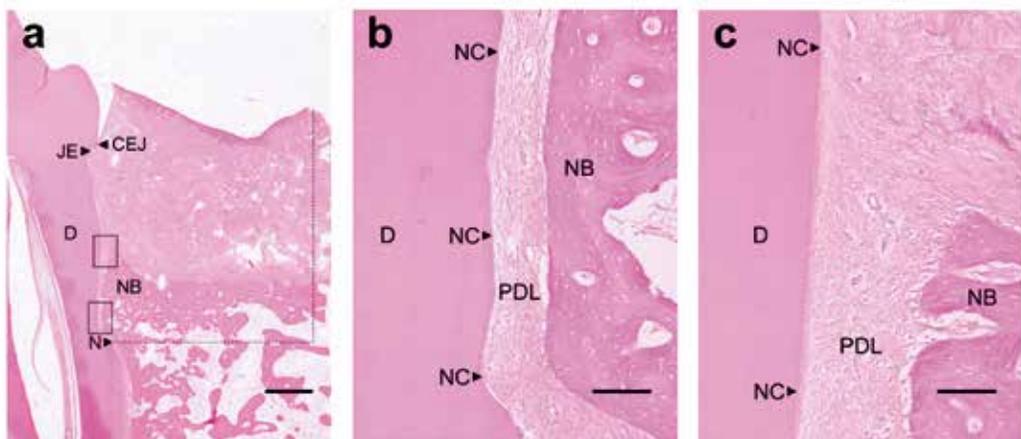


図7. EMD 応用後の治療像

(a)弱拡大像, 新生骨形成が歯根に沿って認められる。破線部は欠損範囲を示す。(scale bar: 1mm), (b)根尖側フレーム部の強拡大像, (c)歯冠側フレーム部の強拡大像, 新生骨と無細胞セメント質間に斜走する歯根膜線維が密に認められる。(scale bar: 100 μ m) CEJ: セメントエナメル境, JE: 上皮の最根尖側, NB: 新生骨, NC: 新生セメント質, PDL: 歯根膜, N: 根尖部ノッチ, D: 象牙質, ヘマトキシリン・エオジン染色(文献26より引用改変)

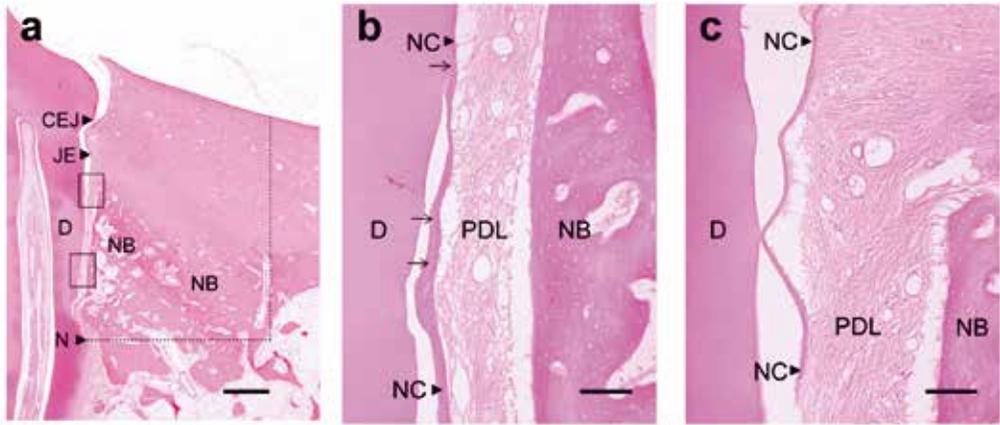


図8. rhFGF2応用後の治癒像

(a)弱拡大像, 既存骨頂部から歯冠側に向けて著名な骨形成が認められる。破線部は欠損範囲を示す。(scale bar: 1mm), (b)根尖側フレーム部の強拡大像, 矢印:セメント細胞, (c)歯冠側フレーム部の強拡大像, シャーピー線維の埋入・非埋入した厚い細胞性セメント質を認める。(scale bar: 100 μ m) CEJ:セメントエナメル境, JE:上皮の最根尖側, NB:新生骨, NC:新生セメント質, PDL:歯根膜, N:根尖部ノッチ, D:象牙質, ヘマトキシリン・エオジン染色 (文献26より引用改変)

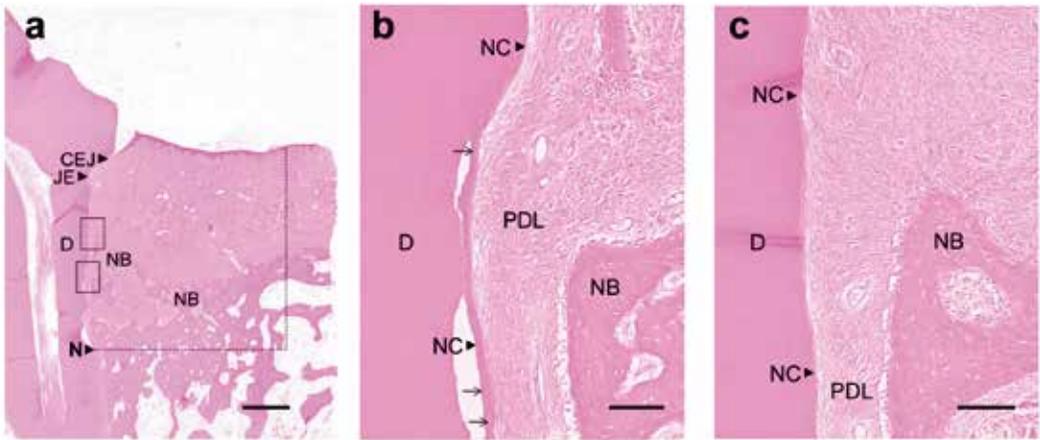


図9. PDGF/ β -TCP 応用後の治癒像

(a)弱拡大像, 既存骨頂部から歯冠側に向けて骨形成が認められるが, 欠損中央部では β -TCPの残留と一部, 線維性の被包化が認められる。破線部は欠損範囲を示す。(scale bar: 1mm) (b)根尖側フレーム部の強拡大像, 細胞性セメント質を主体として機能的配列を有する歯根膜線維が認められる。矢印:セメント細胞 (c)歯冠側フレーム部の強拡大像, 薄い無細胞性セメント質が連続的に根尖側から伸展している。(scale bar: 100 μ m) CEJ:セメントエナメル境, JE:上皮の最根尖側, NB:新生骨, NC:新生セメント質, PDL:歯根膜, N:根尖部ノッチ, D:象牙質, ヘマトキシリン・エオジン染色 (文献26より引用改変)

表2. 各処置後の組織学的パラメーター (平均±SD, mm)

	処置内容				統計学的有意差
	1 OFD	2 EMD	3 rhFGF2	4 PDGF/ β -TCP	
DH	6.3±0.2	6.2±0.4	6.5±0.1	6.2±0.4	NS
JE	0.8±0.4	0.3±0.2	0.7±0.2	0.8±0.2	1vs.2 (P<0.05) 2vs.3 (P<0.05) 2vs.4 (P<0.05)
CT	2.4±0.8	1.4±1.0	1.2±0.7	0.6±0.5	1vs.3 (P<0.01) 1vs.4 (P<0.01)
NB	3.1±0.5	3.3±0.7	4.1±0.8	3.7±0.3	1vs.3 (P<0.01) 2vs.3 (P<0.05)
NC	3.0±0.7	4.6±1.2	4.3±1.3	4.7±0.7	1vs.2 (P<0.01) 1vs.4 (P<0.01)

DH: 欠損高さ, JE: 上皮の深部増殖量, CT: 結合組織性接着 (セメント質なし), NB: 新生骨形成量, NC: 新生セメント質形成量, NS: 統計学的有意差なし (文献26より引用改変)

たにも関わらず臨床治験の結果同様 新生骨形成量が最も多く骨誘導能が極めて高いことが示唆された。PDGF/ β -TCP 群では β -TCPの骨伝導能の発現, 欠損部で血餅, 創傷治癒の安定化により安定した歯周組織再生が認められた。しかし rhFGF2 群と比較し骨形成量が少なく β -TCPの残留が一部で認められ, 骨移植材の吸収速度が改めて課題となることが示唆された。このように成長因子の種類や用いる骨移植材により併用療法後の治癒像はそれぞれ異なる可能性があるが, それが臨床的な長期的予後にどのように関わるかは未だ判明していない³⁹⁾。

Ⅲ. 歯周組織再生における *in situ* tissue engineering approach の可能性

医科領域ではスキャホールドと増殖因子の応用に加え, 体外からの細胞移植を組み合わせた組織工学 (Tissue engineering) の手法⁴⁰⁾により積極的かつ多量の組織・器官再生を目的に現在, 盛んに研究報告されている⁴¹⁾。口腔領域においても骨髄由来間葉系幹細胞 (BMSCs)⁴²⁾, iPS細胞⁴³⁾, 歯肉線維芽細胞⁴⁴⁾等を細胞ソースとした顎骨・歯周組織再生が報告され多くの期待が寄せられている。しかし細胞採取の侵襲, 限られた幹細胞数, 分化コントロール手法の確立, 外来遺伝子の導入等の課題と共に実用化に関わるコスト, チェアサイドに至るまでの時間のコントロール等, 解決すべき点が少ない⁴⁵⁾。元来, GTR法においても重要な役割を有するとされる歯根膜細胞 (歯根膜幹細胞) は欠損周囲に内在し BMSCs よりはるかに高い増

殖能があり⁴⁶⁾, 損傷を受けるとそれは6倍になる⁴⁷⁾こと, さらに多分化能を有する⁴⁸⁾ことが知られている。そこで, 歯周組織欠損 (その場) において創傷治癒の安定と歯根膜細胞のポテンシャルを最大限に発揮するべく Non-contained defect において意図的な骨欠損の改変 (改造) のうへ, スキャホールドと EMD を用いたいわば *in situ* (その場での) 組織工学アプローチを考案しその有用性を検証した。イヌの1壁性骨欠損において 1) EMDのみ (EMD群), 2) 有茎自家骨移植 (Bone swaging: BS)のみ (BS群) 3) EMDとBSの併用 (EMD/BS群), および 4) EMD, BSとCPCの移植 (EMD/BS/CPC群) の4処置 (図10) を無作為に施し, 8週後, 組織学的評価を行った。その結果, EMD群ではセメント質形成は認めるものの既存骨の吸収が著しく (図11), 欠損改変を行ったBS群では骨吸収が抑制されこと (図12, 図13), EMD/BS/CPC群は全群間で新生骨形成量 (高さ, 面積) およびセメント質形成量も最大で, 機能的配列を有するシャービー線維を有する歯根膜組織の再生が有意に認められた (図14, 表3)。このことは 1) BSにより欠損の狭小化, 血餅の安定化, 血液供給が維持されたこと, 2) 自家骨が有する骨形成能・骨伝導能・骨誘導能が効果的に発揮されたこと, 3) EMDによる上皮の深部増殖抑制効果, 新生セメント質の形成, 固有歯槽骨の誘導, それに伴う結合組織性付着の獲得が計られたこと, 4) CPCの既存骨側のみの充填により, 吸収速度の遅い骨移植材の充填量をコントロールしたうへで, 有茎自家骨の安定化, 骨伝導能の発現および既存

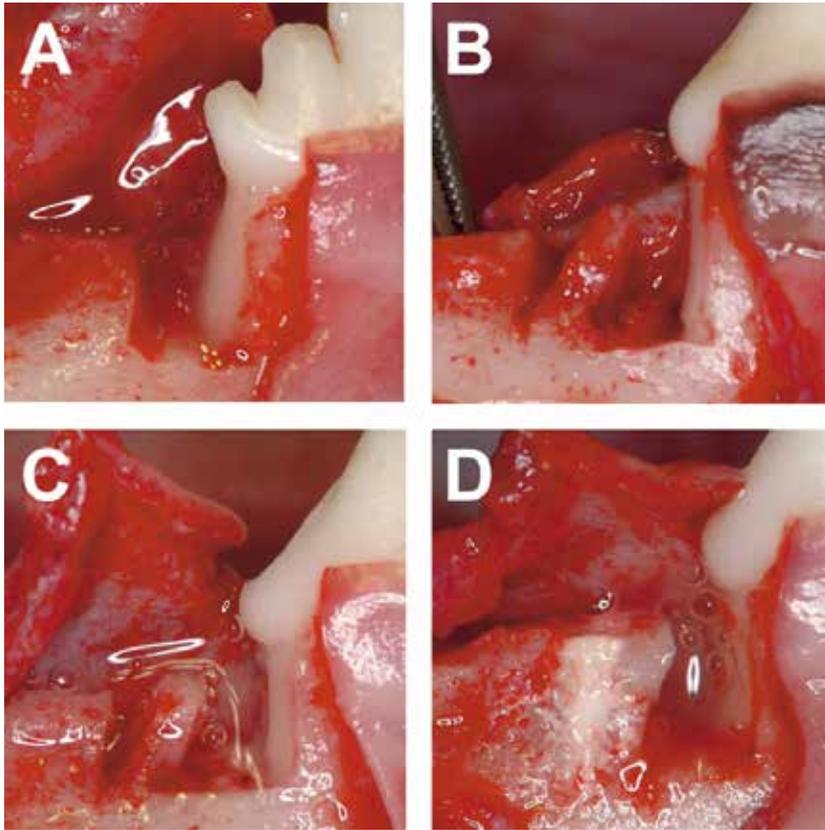


図10. イヌ下顎骨における1壁性骨欠損

(A)EMDのみ, (B)BSのみ, (C)EMD/BS併用, (D)EMD/BS/CPC(リン酸三カルシウムセメント)併用(文献49より引用)

骨の吸収を効果的に抑制したことに起因するものと考えられる。このように生体外から細胞移植を行わず歯周組織欠損内における処置のみで良好な歯周組織再生が得られることが示唆された⁴⁹⁾。しかしながらBSは適応症に限界があるため、さらに異なるアプローチの必要性も考えられる。創傷治癒を考慮する際、動物実験や臨床研究から骨髓穿孔(IMP)による血液供給の促進が骨再生に有効なことが報告^{14, 50)}されている。これにより骨髓中の未分化間葉系細胞が欠損部に浸潤し、線維素血餅が形成される。さらに動力学効果が骨芽細胞の活動を刺激し細胞外基質の産生をはじめ骨形成や骨改造を促すこと⁵¹⁾、適切な矯正力を付与することにより歯周組織欠損内で骨添加が促進すること⁵²⁾、また近年、難治性の骨折等に対して微弱な超音波パルス波(LIPUS)で刺激することで骨修復の過程に関わる種々の細胞の遊走・増殖・分化が誘導され創傷治

癒に関わるシグナル分子の発現が増加すること⁵³⁾、歯根膜細胞の骨分化を促進させる⁵⁴⁾等が報告されている。このように血液供給の確保や各種のメカニカルストレスを歯周組織欠損へ付与することでin situ tissue engineering approachがより確実になるものと考えられる(図15)。今後、歯周組織本来の生物学的・解剖学的・発生学的なバックグラウンドに基づき、歯周組織欠損内で戦略的に物理刺激や適切な生体シグナル分子/足場材を用いることで、内在性幹細胞である歯根膜を軸に、周辺細胞の活性化と細胞周辺環境の整備によりシンプルかつ効率的に歯周組織再生を計る本アプローチは合理的であると考えられる。さらに本アプローチの有効性が確立されれば、臨床的に細胞移植療法より簡便、低侵襲、低コストでありながら高い安定性、安全性が担保され、汎用性と予知性が極めて高い治療法を多くの歯周病患者者に提供し得るものと思われる。

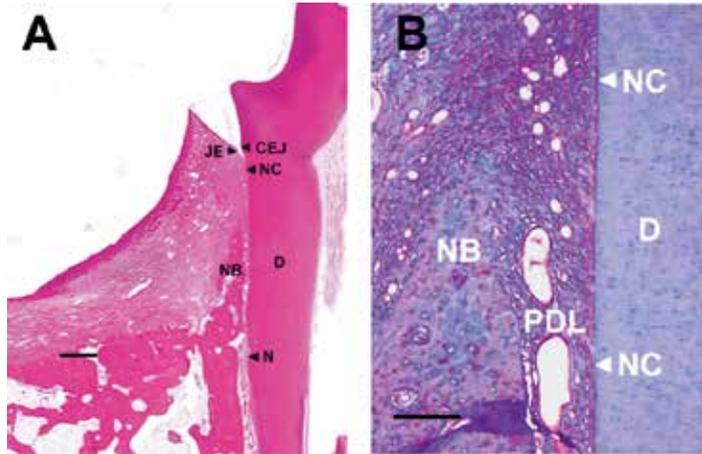


図11. EMD 応用後の治癒像

(A) 弱拡大像, 新生骨形成が歯根に沿って薄く認められる。scale bar: (1mm), ヘマトキシリン・エオジン染色, (B) 骨頂部の強拡大像, 新生骨と無細胞性セメント質間に斜走する歯根膜線維が密に認められる。(scale bar: 150 μ m) CEJ: セメントエナメル境, JE: 上皮の最根尖側, NB: 新生骨, NC: 新生セメント質, PDL: 歯根膜, N: 根尖部ノッチ, D: 象牙質, アザン染色 (文献49より引用改変)

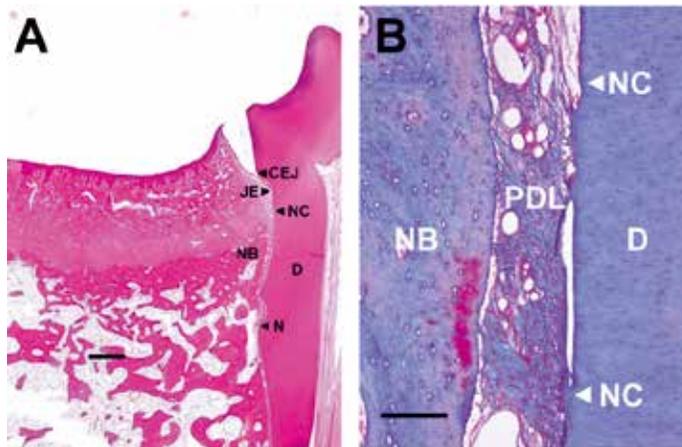


図12. BS 後の治癒像

(A) 弱拡大像, 既存骨の吸収は抑制され新生骨形成が歯冠側に向けて認められる。(scale bar: 1mm) ヘマトキシリン・エオジン染色, (B) 欠損中央部の強拡大像, 新生骨と細胞性セメント質間に斜走する歯根膜線維を伴う部分がある。(scale bar: 150 μ m) CEJ: セメントエナメル境, JE: 上皮の最根尖側, NB: 新生骨, NC: 新生セメント質, PDL: 歯根膜, N: 根尖部ノッチ, D: 象牙質, アザン染色 (文献49より引用改変)

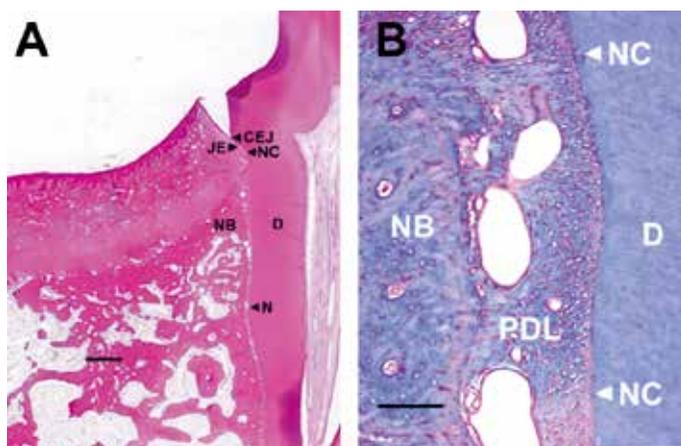


図13. EMD/BS 併用後の治癒像

(A) 弱拡大像, 既存骨の吸収は抑制され新生骨形成が歯冠側に向けて認められる。(scale bar: 1mm) ヘマトキシリン・エオジン染色, (B) 骨頂部の強拡大像, 新生骨と無細胞セメント質間に斜走する歯根膜線維が密に認められる。(scale bar: 150 μ m) CEJ: セメントエナメル境, JE: 上皮の最根尖側, NB: 新生骨, NC: 新生セメント質, PDL: 歯根膜, N: 根尖部ノッチ, D: 象牙質, アザン染色 (文献49より引用改変)

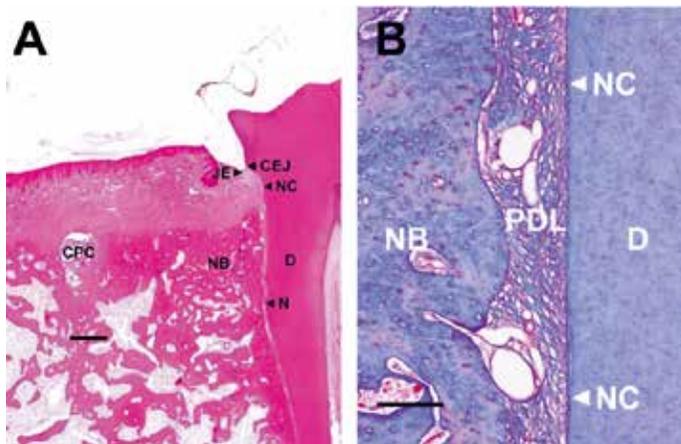


図14. EMD/BS/CPC 併用後の治癒像

(A) 弱拡大像, 既存骨の吸収が完全に抑制され著名な骨形成が認められる。(scale bar: 1mm) ヘマトキシリン・エオジン染色 (B) 骨頂部の強拡大像, 新生骨と無細胞セメント質間に斜走する歯根膜線維と血管が豊富に認められる。(scale bar: 150 μ m) CEJ: セメントエナメル境, JE: 上皮の最根尖側, NB: 新生骨, CPC: リン酸三カルシウムセメント, NC: 新生セメント質, PDL: 歯根膜, N: 根尖部ノッチ, D: 象牙質, アザン染色 (文献49より引用改変)

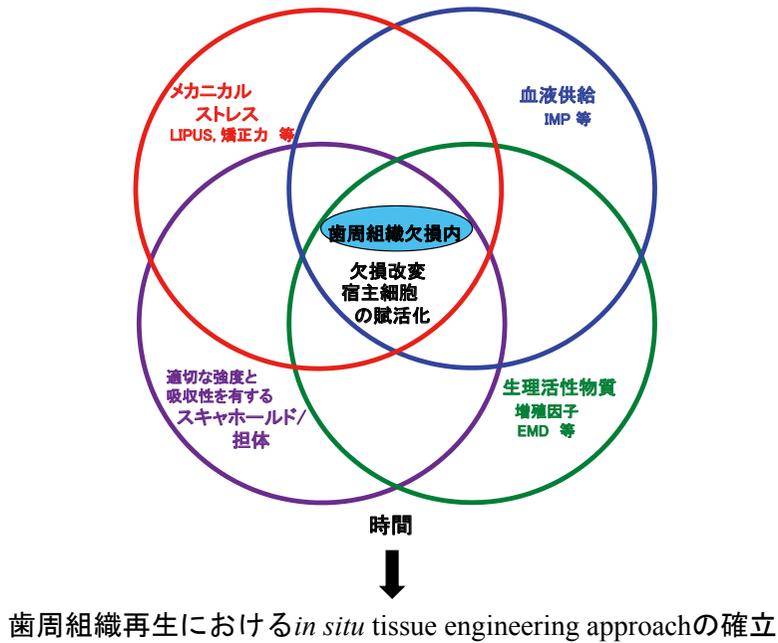


図15 歯周組織再生における *in situ* tissue engineering approach の概念図

表3. 各処置後の組織学的パラメータ— (平均± SD, mm/mm²)

	処置内容				統計学的有意差
	1 EMD	2 BS	3 EMD/BS	4 EMD/BS/CPC	
DH	4.97 ± 0.33	4.96 ± 0.46	5.02 ± 0.34	5.08 ± 0.40	NS
JE	0.05 ± 0.05	0.51 ± 0.20	0.20 ± 0.11	0.14 ± 0.10	1vs.2 1vs.3 2vs.3 2vs.4
CT	0.28 ± 0.16	0.52 ± 0.46	0.15 ± 0.14	0.13 ± 0.15	2vs.3 2vs.4
NB	3.32 ± 0.45	2.74 ± 0.33	2.88 ± 0.98	3.73 ± 0.30	2vs.4 3vs.4
NBA	3.68 ± 0.33	3.48 ± 1.26	3.38 ± 1.37	5.68 ± 1.66	1vs.4 2vs.4 3vs.4
NC	4.63 ± 0.42	3.93 ± 0.56	4.67 ± 0.30	4.78 ± 0.54	1vs.2 2vs.3 2vs.4

DH: 欠損高さ, JE: 上皮の深部増殖量, CT: 結合組織性接着 (セメント質なし), NB: 新生骨形成量, NBA: 新生骨面積, NC: 新生セメント質形成量, NS: 統計学的有意差なし (文献49より引用改変)

IV. おわりに

現在、種々多様な医用材料や歯周外科手技が開発されており、これらの臨床応用に際し、術者により異なった選択やアプローチもなされており治療成績に必ずしも一貫性が認められていない。現在、高い再現性と予知性を有し真の歯周組織再生を可能とする方法・材料は未だ確立されていないが、いかなる処置においても常に生物学的エビデンスの構築・検証とその深い理解を伴ったうえでの臨床が重要と考えられる。今後臨床に還元できる研究を推進すると同時に、日々の臨床の中から浮かび上がる clinical question を見逃さずさらに発展的な研究と予知性の高い歯周治療へと繋げていきたい。

参考文献

- 1) Listgarten, M. A., Rosenberg, M. M.: Histological study of repair following new attachment procedures in human periodontal lesions. *J Periodontol.* 50, 333-344, 1979
- 2) Stahl, S. S., Froum, S. J., Kushner, L.: Healing responses of human intraosseous lesions following the use of debridement, grafting and acid tooth treatment. II. Clinical and histologic observations: one year postsurgery. *J Periodontol.* 54, 325-338, 1983
- 3) 安藤修：裏づけのある歯周再生療法 原理、原則に基づいた臨床のために 第2章 歯周組織の再生条件の重要性－骨内欠損の治療様式と再生条件－、初版、23-78、クインテッセンス出版株式会社、東京、2006
- 4) Kim, C. S., Choi, S. H., Chai, J. K., Cho, K. S., Moon, I. S., Wikesjö U. M., Kim, C. K.: Periodontal repair in surgically created intrabony defects in dogs: influence of the number of bone walls on healing response. *J Periodontol.* 75, 229-235, 2004
- 5) Tonetti, M. S., Lang, N. P., Cortellini, P., Suvan, J. E., Adriaens, P., Dubravec, D., Fonzar, A., Fourmoussis, I., Mayfield, L., Rossi, R., Silvestri, M., Tiedemann, C., Topoll, H., Vangsted, T., Wallkamm, B.: Enamel matrix proteins in the regenerative therapy of deep intrabony defects. *J Clin Periodontol.* 29, 317-325, 2002
- 6) Klein, F., Kim, T. S., Hassfeld, S., Staehle, H. J., Reitmeir, P., Holle, R., Eickholz, P.: Radiographic defect depth and width for prognosis and description of periodontal healing of intrabony defects. *J Periodontol.* 72, 1639-1646, 2001
- 7) 白方良典 和泉雄一：臨床歯周病学 第3編 アドバンス編－専門的な歯周治療－第1章 骨移植術、初版、吉江弘正 伊藤公一 村上伸也 申基喆 編、258-265、医歯薬出版、東京、2007
- 8) Susin, C., Fiorini, T., Lee, J., De Stefano, J. A., Dickinson, D. P., Wikesjö, U. M.: Wound healing following surgical and regenerative periodontal therapy. *Periodontol* 2000. 68:83-98, 2015
- 9) Froum, S., Lemler, J., Horowitz, R., Davidson, B.: The use of enamel matrix derivative in the treatment of periodontal osseous defect: Clinical decision tree based on biologic principle of regeneration. *Int J Periodont Rest Dent.* 21:437-449, 2001
- 10) Cortellini, P., Tonetti, M. S.: Clinical concepts for regenerative therapy in intrabony defects. *Periodontol* 2000. 68: 282-307, 2015
- 11) 白方良典, 吉元剛彦, 中村利明, 谷山勝義, 竹内尚士, 野口和行. 歯周組織再生療法の現状と今後の展望 鹿児島県歯科医師会会報, 679, 5-7, 2011
- 12) Yoshinuma, N., Sato, S., Fukuyama, T., Murai, M., Ito, K.: Ankylosis of nonresorbable hydroxyapatite graft material as a contributing factor in recurrent periodontitis. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 32, 331-336, 2012
- 13) Constantz, B. R., Ison, I. C., Fulmer, M. T., Poser, R. D., Smith, S. T., VanWagoner, M., Ross, J., Goldstein, S. A., Jupiter, J. B., Rosenthal, D. I.: Skeletal repair by in situ formation of the mineral phase of bone. *Science.* 267 :1796-1799, 1995
- 14) Shirakata, Y., Oda, S., Kinoshita, A., Kikuchi, S., Tsuchioka, H., Ishikawa, I.: Histocompatible healing of periodontal defects after application of an injectable calcium phosphate bone cement. A preliminary study in dogs. *J. Periodontol.* 73: 1043-1053, 2002
- 15) Shirakata, Y., Setoguchi, T., Machigashira, M., Matsuyama, T., Furuichi, Y., Hasegawa, K., Yoshimoto, T., Izumi, Y.: Comparison of injectable calcium phosphate bone cement grafting and open flap debridement in periodontal intrabony defects: A randomized clinical trial. *J. Periodontol.* 79: 25-32, 2008
- 16) Melcher, A.H.: On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol.* 47: 256-260, 1976
- 17) Mayfield, L., Soderholm, G., Hallstrom, H.,

- Kullendorff, B., Edwardsson, S., Bratthall, G., Bragger, U., Attstrom, R.: Guided tissue regeneration for the treatment of intraosseous defects using a bioabsorbable membrane: A controlled clinical study. *J Clin Periodontol.* 25: 585-595, 1998
- 18) Needleman, I., Tucker, R., Giedrys-Leeper, E., Worthington, H.: Guided tissue regeneration for periodontal intrabony defects: A Cochrane Systematic Review. *Periodontol 2000.* 37: 106-123, 2005
- 19) Schüpbach, P., Gaberthüel, T., Lutz, F., Guggenheim, B.: Periodontal repair or regeneration: structures of different types of new attachment. *J Periodontol Res.* 28: 281-293, 1993
- 20) Araújo, M., Berglundh, T., Lindhe, J.: The periodontal tissue in healed degree III furcation defects: An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol.* 23: 532-541, 1996
- 21) Bosshardt, D. D.: Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *J Clin Periodontol.* 35: 87-105, 2008
- 22) Froum, S. J., Weinberg, M. A., Rosenberg, E., Tarnow, D.: A comparative study utilizing open flap debridement with and without enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intrabony defects: a 12-month re-entry study. *J Periodontol.* 72: 25-34, 2001
- 23) Sculean, A., Donos, N., Blaes, A., Lauemann, M., Reich, E., Brex, M.: Comparison of enamel matrix protein and bioabsorbable membrane in the treatment of intrabony periodontal defects. A split-mouth study. *J Periodontol.* 70: 255-262, 1999
- 24) Pontoriero, R., Wennström, J., Lindhe, J.: The use of barrier membranes and enamel matrix proteins in the treatment of angular bone defects. A prospective controlled study. *J Clin Periodontol.* 26: 833-840, 1999
- 25) Hammarström, L.: Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol.* 24: 658-668, 1997
- 26) Shirakata, Y., Taniyama, K., Yoshimoto, T., Miyamoto, M., Takeuchi, N., Matsuyama, T., Noguchi, K.: Regenerative effect of basic fibroblast growth factor on periodontal healing in two-wall intrabony defects in dogs. *J Clin Periodontol.* 37: 374-381, 2010
- 27) Kalpidis, C. D., Ruben, M.P.: Treatment of intrabony periodontal defects with enamel matrix derivative: a literature review. *J Periodontol.* 73, 1360-1376, 2002
- 28) Sanz, M., Tonetti, M. S., Zabalegui, I., Sicilia, A., Blanco, J., Rebelo, H., Rasperini, G., Merli, M., Cortellini, P., Suvan, J. E.: Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or barrier membranes: results from a multicenter practice-based clinical trial. *J Periodontol.* 75: 726-733, 2004
- 29) Urist, M. R.: Bone formation by autoinduction. *Science.* 150: 893-899, 1965
- 30) Wikesjö, UME., Selvig, K. A.: Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol 2000.* 19: 21-39, 1999
- 31) Takahashi, D., Odajima, T., Morita, M., Kawanami, M., Kato, H.: Formation and resolution of ankylosis under application of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) to class III furcation defects in cats. *J Periodontol Res.* 40: 299-305, 2005
- 32) Murakami, S.: Periodontal tissue regeneration by signaling molecule(s): what role does basic fibroblast growth factor (FGF-2) have in periodontal therapy?. *Periodontol 2000.* 56: 188-208, 2011
- 33) Kitamura, M., Akamatsu, M., Kawanami, M., Furuichi, Y., Fujii, T., Mori, M., Kunimatsu, K., Shimauchi, H., Ogata, Y., Yamamoto, M., Nakagawa, T., Sato, S., Ito, K., Ogasawara, T., Izumi, Y., Gomi, K., Yamazaki, K., Yoshie, H., Fukuda, M., Noguchi, T., Takashiba, S., Kurihara, H., Nagata, T., Hamachi, H., Maeda, K., Yokoto, M., Sakagami, R., Hara, Y., Noguchi, K., Furuuchi, T., Sasano, T., Imai, E., Ohmae, M., Koizumi, H., Watanuki, M., Murakami, S.: Randomized placebo-controlled and controlled non-inferiority phase III trials comparing trafermin, a recombinant human fibroblast growth factor 2, and enamel matrix derivative in periodontal regeneration in intrabony defects. *J Bone Miner Res.* doi:10.1002/jbmr. 2738, 2015
- 34) Polimeni, G., Koo, K. T., Qahash, M., Xiropaidis, A. V., Albandar, J. M., Wikesjö, U. M.: Prognostic factors for alveolar regeneration: effect of a space-providing biomaterial on guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol.* 31: 725-729, 2004
- 35) Siciliano, V. I., Andreuccetti, G., Siciliano, A. I., Blasi, A., Sculean, A., Salvi, G. E.: Clinical outcomes after

- treatment of non-contained intrabony defects with enamel matrix derivative or guided tissue regeneration: a 12-month randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* 82: 62-71, 2011
- 36) Guida, L., Annunziata, M., Belardo, S., Farina, R., Scabbia, A., Trombelli, L.: Effect of autogenous cortical bone particulate in conjunction with enamel matrix derivative in the treatment of periodontal intraosseous defects. *J Periodontol.* 78: 231-238, 2007
- 37) Yilmaz, S., Cakar, G., Yildirim, B., Sculean, A.: Healing of two and three wall intrabony periodontal defects following treatment with an enamel matrix derivative combined with autogenous bone. *J Clin Periodontol.* 37: 544-550, 2010
- 38) Nevins, M., Giannobile, W. V., McGuire, M. K., Kao, R. T., Mellonig, J. T., Hinrichs, J. E., McAllister, B. S., Murphy, K. S., McClain, P. K., Nevins, M. L., Paquette, D. W., Han, T. J., Reddy, M. S., Lavin, P. T., Genco, R. J., Lynch, S. E.: Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol.* 76: 2205-2215, 2005
- 39) Bosshardt, D. D., Sculean, A.: Does periodontal tissue regeneration really work?. *Periodontol 2000.* 51: 208-219, 2009
- 40) Langer, R., Vacanti, J. P.: Tissue engineering. *Science.* 260: 920-926, 1993
- 41) Griffith, L. G., Naughton, G.: Tissue engineering -current challenges and expanding opportunities. *Science.* 295: 1009-1014, 2002
- 42) Kim, S. H., Kim, K. H., Seo, B. M., Koo, K. T., Kim, T. I., Seol, Y. J., Ku, Y., Rhyu, I. C., Chung, C. P., Lee, Y. M.: Alveolar bone regeneration by transplantation of periodontal ligament stem cells and bone marrow stem cells in a canine peri-implant defect model: a pilot study. *J Periodontol.* 80: 1815-1823, 2009
- 43) Duan, X., Tu, Q., Zhang, J., Ye, J., Sommer, C., Mostoslavsky, G., Kaplan, D., Yang, P., Chen, J.: Application of induced pluripotent stem (iPS) cells in periodontal tissue regeneration. *J Cell Physiol.* 226: 150-157, 2011
- 44) Yu, X., Ge, S., Chen, S., Xu, Q., Zhang, J., Guo, H., Yang, P.: Human gingiva-derived mesenchymal stromal cells contribute to periodontal regeneration in beagle dogs. *Cells Tissues Organs.* 198: 428-437, 2013
- 45) Chen, F. M., Zhang, J., Zhang, M., An, Y., Chen, F., Wu, Z. F.: A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. *Biomaterials.* 31, 7892-7927, 2010
- 46) Tamaki, Y., Nakahara, T., Ishikawa, H., Sato, S.: In vitro analysis of mesenchymal stem cells derived from human teeth and bone marrow. *Odontology.* 101, 121-132, 2013
- 47) Gould, T. R., Melcher, A. H., Brunette D. M.: Migration and division of progenitor cell populations in periodontal ligament after wounding. *J Periodontol Res.* 15, 20-42, 1980
- 48) Seo, B. M., Miura, M., Gronthus, S., Burtold, P. M., Batouli, S., Brahimi, J., Young, M., Robey, P. G., Wang, C. Y., Shi, S.: Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet.* 364, 149-155, 2004
- 49) Shirakata, Y., Yoshimoto, T., Takeuchi, N., Taniyama, K., Noguchi, K.: Effects of enamel matrix derivative in combination with bone swaging and calcium phosphate bone cement on periodontal regeneration in one-wall intrabony defects in dogs. *J Periodontol Res.* 48, 37-43, 2013
- 50) Crea, A., Deli, G., Littarru, C., Lajolo, C., Orgeas, G. V., Tatakis, D. N.: Intrabony defects, open-flap debridement, and decortication: a randomized clinical trial. *J Periodontol.* 85, 34-42, 2014
- 51) Burger, E. H., Klein-Nulend, J.: Responses of bone cells to biomechanical forces in vitro. *Adv Dent Res.* 13, 93-98, 1999
- 52) Nemcovsky, C. E., Beny, L., Shanberger, S., Feldman-Herman, S., Vardimon, A.: Bone apposition in surgical bony defects following orthodontic movement: a comparative histomorphometric study between root- and periodontal ligament-damaged and periodontally intact rat molars. *J Periodontol.* 75, 1013-1019, 2004
- 53) Padilla, F., Puts, R., Vico, L., Raum, K.: Stimulation of bone repair with ultrasound: a review of the possible mechanic effects. *Ultrasonics.* 54, 1125-1145, 2014
- 54) Hu, B., Zhang, Y., Zhou, J., Li, J., Deng, F., Wang, Z., Song, J.: Low-intensity pulsed ultrasound stimulation facilitates osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells. *PLoS One.* 9, e95168, 2014

材料系中研の紹介 - 基礎と臨床をつなぐ -

河野 博史

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科生体材料学分野

はじめに

私事ではあるが、平成27年8月より歯科生体材料学分野に所属することとなった。平成15年度から平成18年度にかけての大学院時代以来、8年振りに歯科材料に関する研究を主とした日常を迎えるにあたり、期待と不安が半々といったところであったが、講座の諸先生方のおかげで申し分のない環境に身を置かせていただいている。

平成20年4月から平成27年7月まで在籍していた歯科総合診療部では、研修歯科医、あるいは臨床実習生への診療指導を主たる業務としていた。そこでは常々、彼らに対し、「自分が治療で使用する材料のことくらい、もっと理解しておいて欲しい」という思いを感じていた。もちろん、すべての研修歯科医、臨床実習生に対してというわけではなく、彼らの中には非常に歯科材料に造詣の深い者もいるわけであるが、かといって、ごくごく一部の限られた者たちに対してだけそういった思いを抱いていたというわけでもない。やはり、全体的な印象として、「材料のことをもっと勉強して欲しい」という思いがあったように感じる。たまたま、私が担当した時期の者たちが芳しくなかったののだろうか。いや、彼らは私の時代とは異なり、臨床実習前にはCBTがあり、何より私の時とはまったく比べ物にならない厳しい国家試験に合格していたりするわけで、知識においては寧ろ優秀と断言していい筈である。そもそも、私自身が、臨床実習生、そして研修歯科医の時分には指導歯科医の先生方からみて、まったくもって彼らと同様の、「材料のことをもっと勉強した方がよい」という存在であったように思う。少し自己弁護させていただくと、歯学部生時代の私の成績は、決して目を覆いたくなるようなものではなかった、ということをし添えておきたい。然るに、この原因を何故と考えると、いわゆる科目基盤型教育、すなわち、「基礎は基礎、臨床は臨床」というカリキュラムにその一因があったようにも感じられる。

幸い、鹿児島大学歯学部ではカリキュラム改革が実施され、平成27年度入学生よりアウトカム基盤型教育による、順次性のあるカリキュラムでの教育が開始されている。今後は、基礎と臨床の統合された知識を有した臨床実習生、研修歯科医が育ってくることであろう。

では、学ぶ側が基礎と臨床の統合された状態になるのに対し、教える側はどうであろうか。個々の教員、あるいは特定の講座間では、基礎と臨床の連携が非常に図られているのであろうが、歯学部全体としては、まだまだ連携を深めていけるといった感があるように思う。私の大学院時代には歯科理工学教室（現歯科生体材料学）の管轄であった材料系中研も、今では歯学部の管轄となっており、事前予約等の必要はあるものの、以前に比べて自由に機器を使用できる環境になっているのではないだろうか。

前置きが長くなってしまったが、本稿では、歯学部全体で材料系中研を活用していただくことを期待し、設置されている代表的な機器の紹介させていただくこととする。

材料系中研の測定機器

・ X線回折装置

材料系中研に入ってすぐ左手に設置されているのが、試料水平型多目的X線回折装置（X-ray diffractometer: XRD）（Ultima IV, リガク）である（図1）。日本分析機器工業会（JAIMA）によるXRDの原理を以下に抜粋する。

XRDとは、試料にX線を照射した際、X線が原子の周りにある電子によって散乱、干渉した結果起こる回折を解析することを測定原理しており、この回折情報を用いることにより、粉末試料では構成成分の同定や定量、結晶サイズや結晶化度、単結晶試料では分子の三次元構造、加工材料試料では残留応力や内在する歪み、蒸着薄膜では密度や結晶性、結晶軸の方向や周



図1：X線回折装置（Ultima IV，リガク）



図3：走査型電子顕微鏡（JSM-5510LV，日本電子）

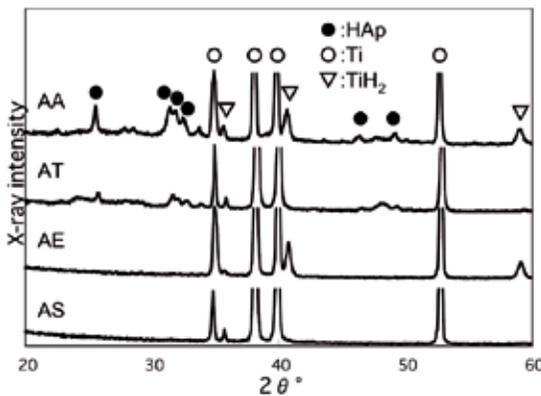


図2：チタンとハイドロキシアパタイトのX線回折パターン例

期，小角散乱測定では，ナノスケールの粒子の大きさや形状・粒径分布を知ることが可能である。対象試料としては，無機・有機物質の粉末，高分子材料，タンパク質，金属部品，有機・無機薄膜半導体，エピタキシャル膜，コロイド粒子などが測定可能である。¹⁾

XRDでの分析では，上述したようにその手法が多岐にわたることから，様々な物質を分析対象とすることが可能である。興味を持たれた方には，JAIMA ホームページや，リガク，島津製作所といったXRDを製作している企業のホームページ等にて，分析原理の詳細について閲覧することを推奨したい。

本稿ではX線回折法における定性分析の例として，チタンとハイドロキシアパタイトのX線回折結果を示す（図2）。X線回折法による定性分析は，実測した回折パターンと既知物質の回折パターンと比較することで結晶相を同定する。既知物質の広範なデータベースが利用できる場合，未知物質の同定も可能となる。図2では，下3つの回折パターンがチタンの回折パ



図4：エネルギー分散型蛍光X線分析器（JED-2201，日本電子）

ターンを示しており，一番上回折パターンではチタンの回折ピーク以外に，ハイドロキシアパタイトに特徴的な26度付近の(002)面，32度付近の(211)面，33度付近の(300)面の回折ピークが明瞭に観察できる。

・ 走査型電子顕微鏡

材料系中研入口のドアを開けると，右手正面にもう一つドアを確認することができる。そのドアから入った部屋の一番奥に設置されているのが，走査型電子顕微鏡（Scanning Electron Microscope: SEM）（JSM-5510LV，日本電子）である（図3）。設置機器の使用記録を見てみると，このSEMが材料系中研にある機器の中では最も使用頻度が高いようである。したがって，SEMでの形態観察，分析に精通している教員や大学院生は多数存在すると考え，本稿ではSEMの測定原理等に関しては割愛させていただき，SEMに付属しているエネルギー分散型蛍光X線分析器（Energy dispersive X-ray spectrometer: EDS; EDX）（JED-2201，日本電子）について紹介したい（図4）。以下に日本

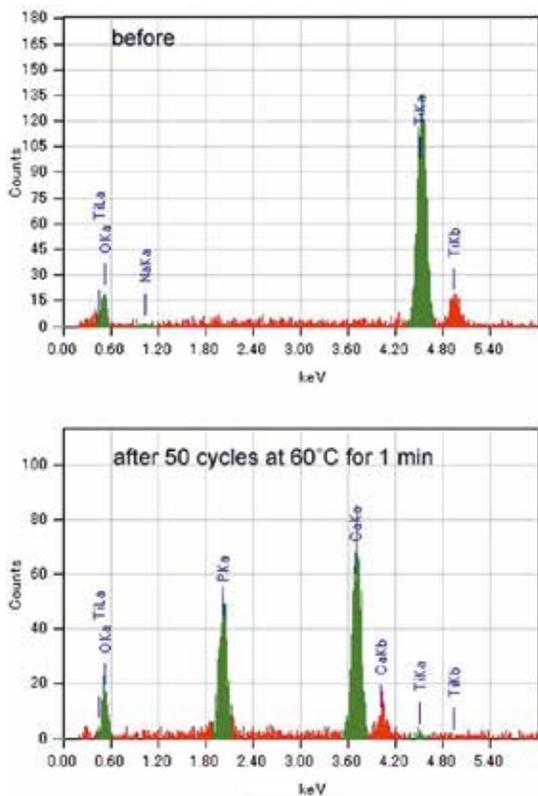


図5：チタンとハイドロキシアパタイトのEDSスペクトル例

電子のホームページより、EDSの解説を抜粋する。

EDSは試料から放出された構成元素の特性X線をSi半導体検出器で検出し、アナライザーで捉えた特性X線を弁別してCRT上にスペクトルとして表示する。分析SEMはスペクトルのエネルギー位置から定性分析を、特性X線の強度（カウント数）から定量分析を行える装置である。この装置は企業における欠陥品の検査及び原因究明、環境問題の解明、ハンダと基板との接続面解明、塗装膜の観察と分析、金属中の介在物の同定、金属疲労破壊、混入異物の形態観察と元素分析等の幅広い分野で活躍している。²⁾

EDS検出器に入射したX線は、そのエネルギーに比例した数の電子-正孔対を作るため、これを電流として取り出し、測定することで入射したX線のエネルギーを知ることができる。波長分散X線分光法（Wavelength dispersive X-ray spectrometry: WDS; WDX）と比較するとエネルギー分散能が低く検出感度も低くなるが、検出器の取り付けに幾何学的な制限が少ないため、SEMへの装着が可能ということである。SEM



図6：エネルギー分散型蛍光X線分析器の液体窒素注入口



図7：フーリエ変換赤外分光光度計（FT/IR-460 plus, 日本分光）

およびEDSに関しても、JAIMAホームページや、日本電子等のホームページ上において分析の原理について詳細に解説されている。

ここでも例として、チタンとハイドロキシアパタイトのEDSスペクトルを示す（図5）。緑色がメインピークを表しているのであるが、上がチタン、下がチタン上にハイドロキシアパタイト（ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ）が析出した試料のスペクトルである。

尚、使用に際し、EDS検出器に液体窒素を注入する（図6）必要があるため、分析時には液体窒素を確保しておく必要がある。

・ フーリエ変換赤外分光光度計

SEMの反対側、部屋の入口のすぐ右手に設置されているのが、フーリエ変換赤外分光光度計（Fourier Transform Infrared Spectroscopy: FT-IR）（FT/IR-460 plus, 日本分光）である（図7）。JAIMAによるFT-IRの原理を以下に抜粋する。

FT-IRは、試料に赤外光を照射し、透過または反射

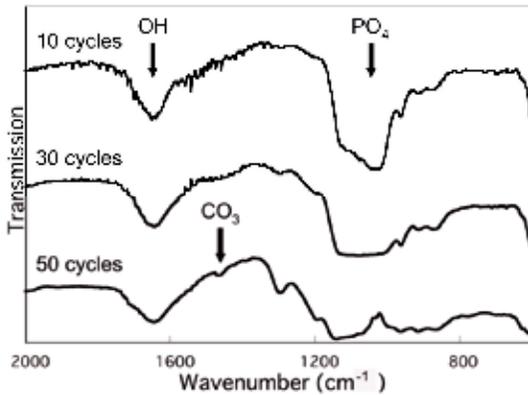


図8：ハイドロキシアパタイトのFT-IRスペクトル例



図9：顕微システムの液体窒素注入口

した光量を測定する。赤外光は、分子結合の振動や回転運動のエネルギーとして吸収されるため、分子の構造や官能基の情報をスペクトルから得ることができ、物質定性・同定に関する有効な情報を得ることができる。また、吸収する光量は、物質の濃度や厚みに比例することから、スペクトル上のピークの高さや面積を用いて特定の分子の定量を行うことも可能である。³⁾

赤外線を分子に照射すると、分子を構成している原子間の振動エネルギーに相当する赤外線を吸収する。この吸収度合い（IR スペクトル）は物質固有のパターンを示すことから、これを調べることによって物質の定性、あるいは定量分析を行うのが赤外分光法である。JAIMA のフーリエ変換赤外分光光度計の原理と応用³⁾に記載があるように、IR スペクトルを測定する方法は色々存在するが、現状、材料系中研にあるFT-IR では、付属の顕微システム（IRT-30、日本分光）を使用しての透過法、あるいは反射法での測定が望ま

しい。FT-IR に関しては、JAIMA のホームページ以外にも、日本分光のホームページにて原理等が詳細にまとめられている。

ここでは顕微 FT-IR による定性分析の例として、ハイドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) のスペクトルを示す（図 8）。リン酸基 (PO_4) に対応した 1000cm^{-1} 付近の強い吸収スペクトルが確認できる。

尚、IRT-30にて測定を行う場合、液体窒素を注入する（図 9）必要があるため、分析時には液体窒素を確保しておく必要がある。

おわりに

現在、大学を取り巻く環境は厳しいと言わざるを得ない。国立大学協会政策研究所の平成27年5月の報告書には、国立大学では外部資金の獲得等に努力してきたが、運営費交付金削減の法人化による代償効果は附属病院を除いては限界に達し、交付金削減がそのまま教育・研究機能や組織の縮小として反映されるフェーズに入っている⁴⁾と記載されている。また、文部科学省科学技術政策研究所の神田由美子氏らの報告⁵⁾で、大学教員の研究時間は減少していることが明らかにされている。

今回紹介した機器に関しては、鹿児島大学の学内共同教育研究施設である機器分析施設にすべて揃ってはいる。しかしながら、同施設は予約システムにて利用の届け出が必要で、場所が郡元キャンパスであることを鑑みると、上述したように日々研究環境が厳しくなっていく中で、空き時間を効率的に利用しての測定を実施することはかなり困難であろう。また、同施設での XRD および FT-IR の利用には、利用者資格として「X線発生装置等取扱者」として認められた者のみ機器の操作ができるという制約も設けられている。機器が同様のものであるならば、歯学部の教員、大学院生は、機器分析施設よりも材料系中研の機器を使用する方かなりのメリットがあると思う。

分析機器は高額である。が、高額であってもいつでも使えるという性質のものではない。例えば、今回紹介した機器はいずれも OS が Windows であるが、通常の PC と同様に OS のアップグレードを実施することはできない。メーカーが動作確認の検証を行い、保障した躯体でなければ、分析機器の動作を保証しないためである。そのため、Windows XP から Windows 7 に変更するだけで、メーカーが用意した PC ごとの交換となってしまう、数十万のコストが生じることになってしまうのである。今後ますます研究環境が厳し

くなっていくことが予想される中、古くなった機器が更新されずに廃棄されてしまう可能性も十分に考えられる。したがって、機器が正常に使えるうちにどんどん活用するのが良策であるように思ってしまうのである。

今回紹介した材料系中研にある機器が、諸先生方の今後の研究、教育の一助となることを切に願っている。

参考文献

- 1) 分析の原理：20 X線回折装置の原理と応用。
http://www.jaima.or.jp/jp/basic//pdf/basic_20.pdf
- 2) 汎用走査電子顕微鏡の応用について。 <http://www.jeol.co.jp/applications/detail/887.html>
- 3) 分析の原理：19 フーリエ変換赤外分光光度計の原理と応用。
http://www.jaima.or.jp/jp/basic//pdf/basic_19.pdf
- 4) 運営費交付金削減による国立大学への影響・評価に関する研究～国際学術論文データベースによる論文数分析を中心として～。国立大学協会 政策研究所。2015年5月。
<http://www.janu.jp/report/files/2014-seisakukenkyujo-uneihi-all.pdf>
- 5) 減少する大学教員の研究時間―「大学等におけるフルタイム換算データに関する調査」による2002年と2008年の比較―。文部科学省科学技術政策研究所。2011年12月。
<http://www.nistep.go.jp/achiev/ftx/jpn/dis080j/pdf/dis080j.pdf>

成長因子の歯周組織再生療法への応用について

中村 利明

鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 成人系歯科センター 歯周病科

The application of growth factors for the periodontal regenerative therapy

Toshiaki Nakamura

Department of Periodontology, Advanced Dentistry Center, Kagoshima University Medical and Dental Hospital.

ABSTRACT

Periodontitis is an inflammatory disease resulting in the loss of tooth-supporting tissues including the periodontal ligament, cementum, and alveolar bone, ultimately resulting in tooth loss. Two innovative approaches, guided tissue regeneration and application of enamel matrix derivative, have been found to achieve periodontal regeneration that reproduced essentially normal structure. However, these regenerated tissues were limited to a small part of the damaged area. Thus, further progress is needed in regeneration-based treatment of periodontal disease. So far, several regenerative methods using growth factors including bone morphogenetic proteins (BMPs), platelet-derived growth factor, and basic fibroblast growth factor, have been developed to treat periodontal defects and have achieved favorable results in animal studies and clinical trials. These factors exert their pleiotropic effects, stimulating key events required for periodontal regeneration. Here, I would like to describe the conventional periodontal regenerative therapies, and discussed the application of growth factors including BMP-9 for the periodontal regenerative therapy.

Key words: Periodontitis, Regenerative therapy, Growth factor, BMP

I. 緒言

歯周病は組織破壊性の慢性炎症性疾患であり、歯周病により歯が失われると、歯槽骨は次第に吸収し、口腔機能回復に様々な制約が生じる。歯周病により破壊される歯周組織は歯槽骨、セメント質、歯根膜といった複数の異なる組織によって構成されており、これら失われた歯周組織を再生させるべく現在、骨移植術、Guided tissue regeneration (GTR) 法、エナメルマトリックスデリバティブ (Enamel matrix derivative: EMD) を中心とした歯周組織再生療法が実施されている。レントゲンにおいて垂直性骨吸収が認められた場合、その欠損が深ければ深いほど10年後にその歯の喪失率は高くなるため¹⁾、このような垂直性骨欠損に対する歯周

組織再生療法は歯の長期的な保存という意味において重要な処置であり、現在までに一定の成果を挙げているものの、多くの患者がその恩恵を受けているとは言い難い。また、既存の歯周組織再生療法は改善すべき点が多く残されており、そのためさらなる適応症の拡大と予知性の改善および、技術的な問題を克服し、効率的な歯周組織再生を成すために Tissue engineering の3要素の観点から、成長因子、細胞移植、Scaffold について盛んに研究が行われている。本稿では、歯周組織再生療法について概説するとともに、現在、我々が取り組んでいる Bone morphogenetic protein (BMP)-9 を軸とした歯周組織再生へのアプローチについて解説したい。

II. 現在の歯周治療および歯周組織再生療法

歯周組織再生とは歯支持組織である歯槽骨、歯根膜およびセメント質を伴う再生と定義される²⁾。現在、本邦における日常臨床では、垂直性骨欠損もしくは根分岐部病変を伴う歯周組織欠損に対して骨移植術、GTR法およびEMDが歯周組織再生療法として実施されている。

A. 骨移植術

骨移植術に用いられる骨移植材としては自家骨、他家骨、異種骨および人工骨がある。現在、骨移植材として理想的な性質をすべて兼ね備えたものは存在しないため、それぞれの材料が持つ性質（骨形成能、骨誘導能、骨伝導能、生体内での吸収速度、臨床的操作性

など）を充分理解した上で適応することが肝要である。自家骨は骨形成能を持ち、古くからゴールドスタンダードとして用いられてきたが（図1）、採取量および採取部位に制限がある。他家骨（本人以外の骨）としては、骨誘導能を持つ脱灰凍結乾燥他家骨（demineralized freeze-dried bone allograft: DFDBA）があり、米国において広く使用されているものの、本邦では未認可である。そのため、本邦では採取量、採取部位などに制限を受けない代替材料として異種骨および人工骨が期待される。異種骨として国内承認されているものはウシ焼成骨であるボーンジェクト[®]とBio-Oss[®]があり精製処理法の違いからその物性には違いがある。また、これらは非常に吸収が遅い（もしくは



図1. 骨移植術（自家骨）：右下2番頰側～近心に存在するカップ状の骨欠損（レントゲン上では近心に垂直性骨吸収像として確認出来る）に対して、舌側に存在する骨隆起から自家骨を採取し、自家骨移植を行った。術前：5mmのPPD（上）と近心に垂直性の骨吸収像（下、矢印）が認められた。術中：自家骨移植前（上）、移植後（下）、術後（1年）：近心の透過像の改善が認められる（下、矢印）



図2. 骨移植術（異種骨）：右下6番近心に存在する3壁性骨欠損に対する適応症例。術前：5mmのPPDと近心に垂直性の骨吸収像（下、矢印）が認められた。術中：骨移植前（上）、移植後および骨移植材（下）、術後（約5年）：近心の透過像の改善が認められる（下、矢印）

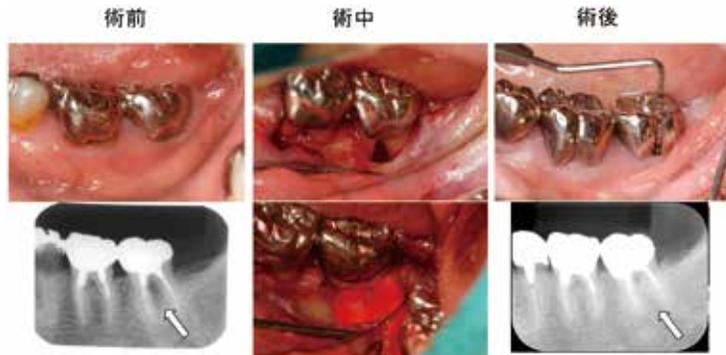


図3. GTR法：根分岐部病変に対する適応症例。術前：左下7番頰側中央に7mmのPPDと2度の根分岐部病変（LindheとNyman）および分岐部に局限した骨吸収像（下、矢印）が認められた。術中：分岐部搔爬・形態修整およびSRP後（上）、吸収性メンブレン設置後（下：ジーシーメンブレン）、術後（約7年）：PPDは3mm、根分岐部病変は1度に改善し、レントゲン上では根分岐部の透過像の改善が認められる（下、矢印）



図4. EMD（エムドゲイン[®]ゲル）：右下6番近心に存在する骨欠損に対する適応症例。術前：右下6番近心に8mmのPPD（CAL=10mm）と、近心に垂直性の骨吸収像（下、矢印）が認められた。術中：EMD塗布前の骨欠損状態。レントゲンでは確認出来ないが近心から舌側を取り巻く複雑な骨欠損が確認出来る（下、矢印）、術後（約6年）：PPDは3mmで5mmのCALのgainを認め、レントゲン上では近心垂直性骨欠損の著明な改善が認められる（下、矢印）

吸収されない）ため、移植材の感染に常に注意しなければならない³⁾。ボーンジェット[®]は歯周組織欠損への骨移植材としての保険適応があり当科でも使用されている（図2）。Bio-Oss[®]は骨組織と類似した構造を有しており、欧米を中心に骨増生時の骨移植材として頻用されている。他にも、様々な種類の骨移植材が存在するが、国内におけるこれらを使用するには様々な制約があり、承認されている物は限られている⁴⁾。

B. GTR法

Nymanらによって報告⁵⁾されたGTR法は、骨欠損開口部に遮断膜（メンブレン）を設置し、上皮および歯肉結合組織由来の細胞の侵入を阻止することで、歯

根膜由来細胞を選択的に誘導し、歯周組織再生を図るものである。適応となる骨欠損は2～3壁性の垂直性骨欠損と1度および2度の根分岐部病変（LindheとNymanの分類）で、メンブレンとしては非吸収性、吸収性のあるものがあるが、非吸収性膜として頻用されていた延伸多孔質ポリテトラフルオロエチレン（ePTFE）製のゴアテックスGTRメンブレンは2012年3月をもって販売中止となっている。幅の狭い骨欠損では両者に臨床効果の差はないとされ、現在は二次手術の必要が無い吸収性メンブレンが主流である（図3）。メンブレンの取り扱い、設置に熟練を要するため、後述のEMDにその座を引き渡した感があるが、

骨欠損形態によっては GTR が適している場合もあり、またメンブレン使用の概念は Guided bone regeneration (GBR) に通じ、その重要性に変わりはないと思われる。

C. EMD

一般に、再生は部分的に発生を模倣すると考えられるが、エナメルマトリックスタンパク質は、歯根の発生段階において内外エナメル上皮が根尖側に移動し形成されるヘルトヴィッチ上皮鞘より分泌されるタンパク質で、歯根形成段階においてセメント質の形成に重要な役割を果たしている⁶⁾。そのためエナメルマトリックスタンパク質の歯周組織再生の可能性が検討され⁷⁾、このタンパク質を幼若ブタの歯胚より EMD として精製、商品化したものがエムドゲイン[®]である。骨内欠損における術後10年の臨床評価において、EMD は Open flap debridement と比較して有意に臨床的アタッチメントレベル (CAL) の獲得が大きく、GTR と EMD の間には差が無かった報告されている⁸⁾。当科においても GTR 法と変わらない臨床成績を取っており⁹⁾、平成20年7月より先進医療「歯周外科治療におけるバイオ・リジェネレーション法」としても実施しているところである (図4)。現在、EMD にプロピレングリコールアルジネートを加えてゲル状にしたプレフィルドシリンジタイプのエムドゲイン[®]ゲルとして利用可能で、その適用方法は様々な注意点はあまるもの、歯根面に塗布するだけで、この術式の簡便さはメンブレンを用いる GTR 法にはない優れた面であり、歯周組織再生療法のあるべき姿の一つを具現化したものであるといっても過言ではない。

Ⅲ. 成長因子の応用

A. Platelet-derived growth factor (PDGF)

PDGF は血管新生作用や間葉系細胞の遊走および増殖促進作用を持つとされ、その創傷治癒促進効果を期待し幅広い分野で臨床応用が検討されている成長因子である¹⁰⁾。歯周領域では古くは1989年に insulin-like growth factor-1 (IGF-I) とのコンビネーションによる歯周組織再生に関する *in vivo* の効果が Lynch らにより報告されている¹¹⁾。PDGF は5つのアイソフォームが存在し (PDFG-AA, -BB, -AB -CC, -DD)、2005年に FDA (アメリカ食品医薬品局) により承認された GEM 21S[®] (図5: 国内未承認) はリコンビナントタンパクである rhPDGF-BB とキャリアーの β -リン酸三カルシウム (β -tricalcium phosphate: β -TCP) との組み合わせで (図5)、無作為化比較試験による術後3年の海外での臨床試験の結果では、キャリアーのみと比

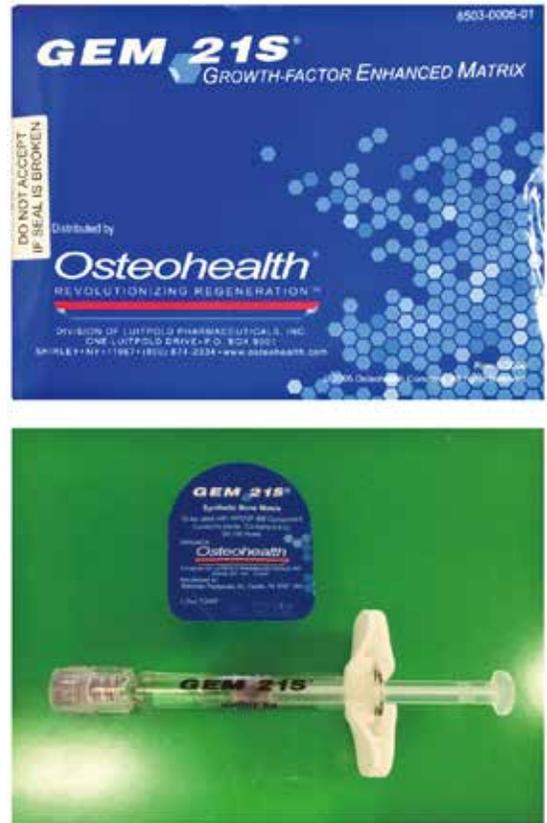


図5. GEM 21S[®]: 0.3 mg/ml の rhPDGF-BB と Synthetic bone matrix (β -TCP) がセットになっている。(Osteohealth 社)

較して、0.3mg/ml の rhPDGF-BB とキャリアーの併用により歯周ポケット深さ (PPD) の改善と CAL の獲得において優れていたと報告しているが¹²⁾、GEM 21S[®] に同封されている β -TCP の有効性には疑問も呈されている¹³⁾。すべての成長因子において言えることではあるが、コンビネーションとして用いるキャリアーとしてどれがベストかというエビデンスは少なく、各種コラーゲン製剤、骨補填材などとの併用においては注意が必要であり、今後のエビデンスの構築が望まれる。

B. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2)

FGF はウシ下垂体から発見されたタンパクで、FGF-1~23からなるファミリーを形成している。中でも FGF-2 は basic-FGF (bFGF, 塩基性線維芽細胞増殖因子) とも呼ばれる成長因子で、歯根膜細胞の増殖・遊走および強力な血管新生作用を有しており、主に大阪大学の研究グループにより歯周組織再生への有効性に関する基礎的研究が進められ、日本において大規模



図6. FGF-2 (bFGF): 右上3番遠心に存在する垂直性骨欠損に対する適応症例。術前: 右上3番遠心に7mmのPPDと、垂直性の骨吸収像(下, 矢印)が認められた。術中: FGF-2填塞前の骨欠損状態。遠心に2~3壁性の骨欠損が確認出来る(矢印), 術後(約1.5年): PPDは3mm, レントゲン上では遠心垂直性骨欠損の著明な改善が認められる(下, 矢印)

な臨床治験(鹿児島大学歯周病科も参加)が実施された(図6)。FGF-2によるヒトの歯周組織再生に関して、第Ⅲ相臨床治験(有効性およびエムドゲイン®ゲルとの比較試験)の術後36週の結果が2015年に発表され¹⁴⁾、FGF-2は、エムドゲイン®ゲルに劣る臨床評価項目は認められず、かつレントゲンをういた骨再生の評価においてFGF-2の有効性が確認されたとしている。2015年10月1日に製造販売承認申請を行ったとの発表があり、国内での承認を待つ段階であるが、FGF-2の歯周組織再生領域に与えるインパクトは大きく、さらなる展開が期待される。

C. BMPs

1965年にUristにより脱灰骨基質中に存在する異所性骨形成能を持つ因子として報告された¹⁵⁾ BMPは、その後、遺伝子のクローニングの結果、現在は20種類近くのアイソフォームが存在する。BMPはアクチビン、インヒピン、およびtransforming growth factor beta (TGF- β)と共にTGF- β superfamilyを構成し、(i) BMP-2, -4, (ii) BMP-5, -6, -7, -8, (iii) BMP-9, -10, (iv) BMP-3, -3b, -13, -11, -12, -14, -16の4つのサブグループに分類され、発生や組織の恒常性維持など様々な機能を担っている¹⁶⁾。BMPはセリン/スレオニンキナーゼ型受容体である7種類のI型受容体と3種類のII型受容体に各々のリガンドに特徴的な受容体の組み合わせで結合し、これらを通じてsmadシグナリングやMAPキナーゼカスケード等を活性化し、様々な作用を発揮している¹⁷⁾。これらBMPsの中で、主にBMP-2, -7 (osteogenic protein-1: OP-1), growth/differentiation factor (GDF)-5が歯周組織再生への応用について検討されて

いる。BMP-2および-7は未分化間葉系細胞の骨芽細胞への分化調節に重要な働きを持つBMPであり、古くから骨再生において中心的な役割を果たすと考えられ、骨形成促進因子として*in vitro*, *in vivo*の両面から様々な組織、細胞において詳細に検討されてきたが、歯周組織再生において、イヌやサルの歯周組織欠損モデルを用いた検討から、治癒/再生を促進する結果は得られているものの、歯根吸収/アンキローシスも観察されている¹⁸⁾。結果として、現在までヒトにおいては歯周組織再生領域での適応は認められておらず、歯科においては上顎洞挙上術もしくは歯槽堤増大術時の骨再生に関しての適応にとどまっており、整形外科領域では、脊椎固定や脛骨骨折などに適応されている¹⁹⁾。臨床応用時には、基礎研究で報告されているBMP-2や-7の濃度と比較してかなり高濃度で使用されておりその費用対効果については検討が必要で、またその適応外使用による数々の有害事象も散見されている²⁰⁻²²⁾。GDF-5は、cartilage-derived morphogenetic protein-1 (CDMP-1)の別名をもつ成長因子であり、骨格形成予定領域に凝集した間葉系細胞に発現し、後に四肢の長軸方向の成長をはじめ、関節・腱・靭帯の形成過程で発現・機能している²³⁻²⁵⁾。またGDF-5遺伝子の変異によりマウスにおいて短四肢が、ヒトにおいては軟骨形成不全症が起こることが知られている^{26, 27)}。歯は付着器官である歯根膜とセメント質により歯槽骨と結合しているが、この付着器官は歯小囊より発生し、その段階においてGDF-5, -6, -7がこの領域に発現することが報告されており²⁸⁾、我々は歯周組織再生におけるGDF-5の有効性を検討するために、ヒ

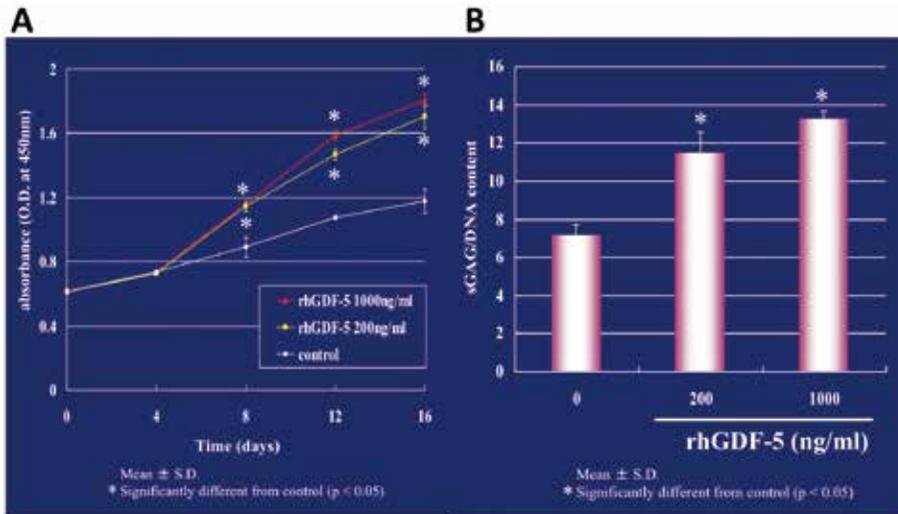


図7. GDF-5のHPDLにおける細胞増殖(A)・sGAG産生(B)促進効果(Nakamura T. *et al.* *J Periodontal Res* 2003; 38: 597-605. より引用改変)

ト歯根膜細胞 (Human periodontal ligament: HPDL) に対する rhGDF-5 の細胞生物学的作用を解析した。その結果, rhGDF-5 による骨芽細胞分化マーカーの上昇は認められなかったものの, 増殖と細胞外マトリックスの一つである Sulfated glycosaminoglycan (sGAG) の産生を促進することを見出し (図7), 歯周組織再生に適した環境を創出する可能性が示唆された²⁹⁾。その後, *in vivo* における GDF-5 のキャリアーとして吸収性コラーゲンスポンジ (ACS), β -TCP などを用いた研究を経て³⁰⁾, rhGDF-5/ β -TCP の組み合わせを用いたヒトにおける第2相の臨床試験が行われ, 術後24週において臨床パラメーター (PPD および CAL) の改善を認め (ただしコントロール群との有意差は無し), また組織学的観察において BMP-2, -7 と異なり歯根吸収/アンキローシスは認めなかったとの報告が成された^{31, 32)}。これらのことから GDF-5 は, 有望な歯周組織再生の Biologic agent の一つと考えられている。

IV. BMP-9

BMP-9 (別名 GDF-2) は胎生期マウスの肝細胞から発見され³³⁾, BMP-2 や BMP-7 とともに骨形成性の BMP に分類されており, 肝細胞増殖作用, 脂質代謝酵素誘導作用, リンパ管形成制御作用など様々な作用を有する。数ある BMPs の中で BMP-2 が骨形成因子のゴールドスタンダードと考えられていたが, BMP-9 は間葉系幹細胞を骨芽細胞様に分化する能力が

BMP-2 と同等かそれ以上であると報告³⁴⁾ され, 筋肉に損傷がある場合にのみ同部位に異所性骨形性能を示すというユニークな特徴も有している³⁵⁾。また BMP-9 は, BMP-2, -4, -7 や GDF-5 など現在まで研究されてきた BMPs と異なり, BMP antagonist である Noggin³⁶⁾ や抑制性の BMP である BMP-3 の作用を受けにくい³⁷⁾。現在, 我々は, このように BMP-2 と異なる特徴を持ちながらも osteogenic な性質を保持する BMP-9 に着目し, 有望な歯周組織再生促進因子の候補として基礎研究に着手している。当講座において, 再生療法における細胞ソースの一つとして脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cells: DFAT) に着目して研究を進めているが, まず DFAT の骨芽細胞様分化調節因子としての BMP-9 の可能性について検討を行った。DFAT は成熟脂肪細胞から天井培養と呼ばれる方法で体外培養することにより得られる多分化能を持つ線維芽細胞様の細胞群であるが³⁸⁾, ラット由来 DFAT (rDFAT) において BMP-9 は FK506 と共刺激することにより著しい骨関連遺伝子の発現と ALP 活性および石灰化を亢進し, また BMP-9 と FK506 共刺激により上昇した ALP 活性は noggin により抑制されないことを見出した³⁹⁾ (図8)。FK506 (tacrolimus) は, 免疫抑制剤の一つで Cyclosporine A などと共に, 臓器移植などで広く用いられている。この FK506 は, BMP または TGF の I 型受容体の細胞質側 GS ドメインに結合し, シグナル伝達を抑制している FKBP12 に結合しその複合体が受容

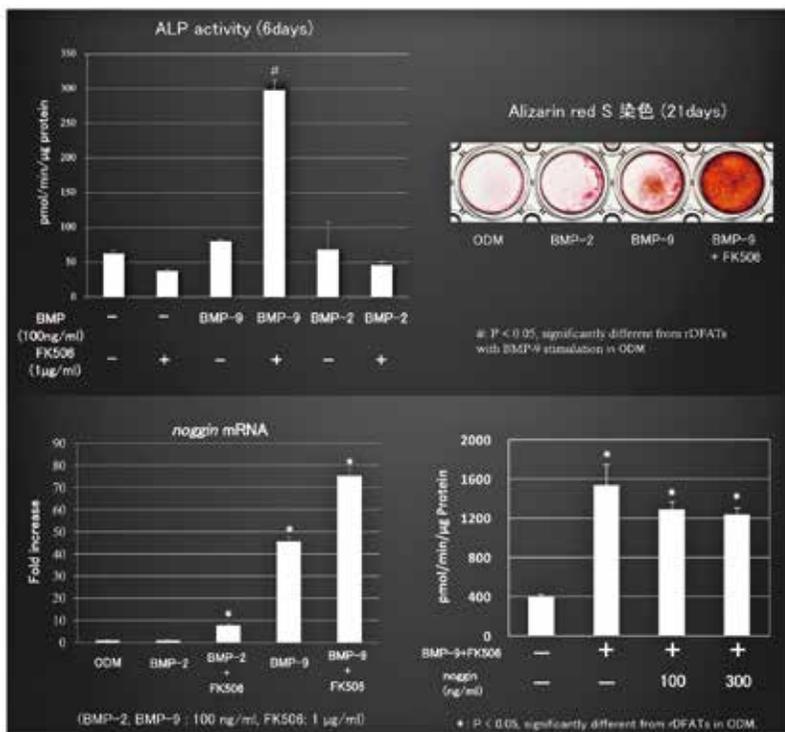


図8. rDFATにおけるBMP-9とFK506共刺激による骨芽細胞様分化促進(上段)とNoggin耐性(下段)(Nakamura T. *et al. Biochem Biophys Res Commun* 2013; 440: 289-294. より引用改変)

体から離れることで、その抑制性を解除すると考えられている¹⁶⁾。そのため、BMP-9の機能発揮における補助因子としてFK506を用いたDFATを効率的に骨芽細胞様細胞へ分化させる可能性が示唆された。次に歯周組織の再生過程において重要な役割を担うヒト歯根膜由来線維芽細胞(hPDLF)に対するBMP-9の作用について検討を行ったところ、BMP-9はhPDLFsの骨関連遺伝子の発現、ALP活性および石灰化物形成をBMP-2よりも有意に亢進させることを確認している⁴⁰⁾。ヒト歯根膜由来幹細胞(PDLSC)において、遺伝子導入によるBMP-9の強発現により骨芽細胞様分化が促進されることも報告されており⁴¹⁾、BMP-9は歯周組織再生において石灰化組織の形成にはPositiveに作用すると推察される。前述の通り、BMP-9はBMP-2と異なる作用を持ち、またその作用を発揮する受容体群も異なる。そのため、今後BMP-2をはじめとした他のBMPとBMP-9との骨・歯周組織再生における作用の違いを明らかにし、BMP-9を用いた効率的な再生療法の基盤を確立するべく、様々な視点から検討しているところである。

V. おわりに

歯周組織再生療法において、様々な成長因子の応用が検討され、その有効性が示されているが、EMDをはるかに凌駕する結果を提示しているといえるものは未だ存在しない。しかし、成長因子単独もしくはキャリアーとの併用による応用は、臨床において非常にシンプルですみやかに導入できる術式であり、BMP-9をはじめとしてまだまだ検討する余地のある成長因子またはその補助因子は存在すると考えている。細胞移植療法など様々な組織再生のストラテジーが検討されているが、その適応症や予知性という面で、今後棲み分けが成されていくものと思われる。しかしながら、将来的に有効かつ魅力的な歯周組織再生療法が多く確立されたとしても、原因除去療法である歯周基本治療により、歯周組織再生に適した環境を創出することが最も大切であることに変わりはないと思われる(図9)。歯周治療に限ったことではないが、常にその疾患の原因を探索し、治療に当たる、その延長線上に再生療法が存在することを忘れてはならない。

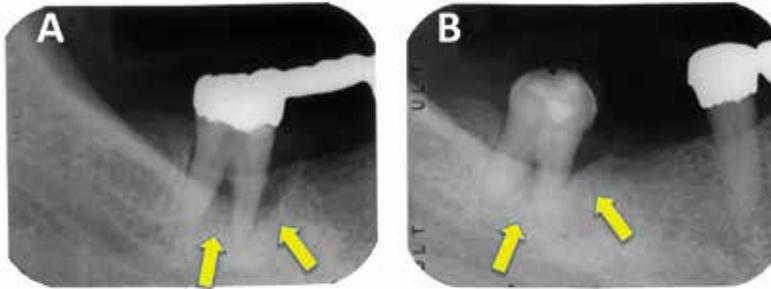


図9. 原因除去療法(歯周基本治療)による歯周組織の改善:A:初診時右下7番。近心にPPD 9mm, 頬側中央にPPD 12mmと2度の根分岐部病変(LindheとNyman)を認め、レントゲン上で近心および分岐部に骨吸収像(矢印)が認められた。B:歯周基本治療後。PPDは3~4mmになり、レントゲンの不透過像の改善が認められた(矢印)。初診時保存困難と思われたが、一連の治療終了6年経過後も問題なく機能している。原因除去をベースとした歯周基本治療の重要性を示している。

VI. 謝辞

本稿を寄稿するにあたり、野口和行教授および鹿児島大学歯周病学分野の医局員の方々と、大学院時代に様々な形で御指導いただき研究の基礎を築いて頂いた東京医科歯科大学 和泉雄一教授、昭和大学 山本松男教授に深甚なる謝意を表します。

VII. 参考文献

- Papapanou PN, Wennstrom JL: The angular bony defect as indicator of further alveolar bone loss. *J Clin Periodontol*, 18, 317-322. 1991.
- Garrett S: Periodontal regeneration around natural teeth. *Ann Periodontol*, 1, 621-666. 1996.
- Yoshinuma N, Sato S, Fukuyama T, Murai M, Ito K: Ankylosis of nonresorbable hydroxyapatite graft material as a contributing factor in recurrent periodontitis. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 32, 331-336. 2012.
- 佐藤 秀一, 伊藤 公一: 歯周組織再生および骨再生における骨移植材の現状 どの骨移植材が最も効果的か? *日本歯周病学会会誌*, 55, 300-311. 2013.
- Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H: New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 9, 290-296. 1982.
- Brookes SJ, Robinson C, Kirkham J, Bonass WA: Biochemistry and molecular biology of amelogenin proteins of developing dental enamel. *Arch Oral Biol*, 40, 1-14. 1995.
- Hammarstrom L: Enamel matrix, cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol*, 24, 658-668. 1997.
- Sculean A, Kiss A, Miliauskaite A, Schwarz F, Arweiler NB, Hannig M: Ten-year results following treatment of intra-bony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol*, 35, 817-824. 2008.
- 町頭 三保, 中村 利明, 白方 良典, 金城 守明, 瀬戸口 尚志, 和泉 雄一: 歯周治療におけるエムドゲインゲルの臨床的評価. *鹿児島大学歯学部紀要*, 25, 39-44. 2005.
- Hollinger JO, Hart CE, Hirsch SN, Lynch S, Friedlaender GE: Recombinant human platelet-derived growth factor: biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am*, 90 Suppl 1, 48-54. 2008.
- Lynch SE, Williams RC, Polson AM, et al.: A combination of platelet-derived and insulin-like growth factors enhances periodontal regeneration. *J Clin Periodontol*, 16, 545-548. 1989.
- Nevins M, Kao RT, McGuire MK, et al.: Platelet-derived growth factor promotes periodontal regeneration in localized osseous defects: 36-month extension results from a randomized, controlled, double-masked clinical trial. *J Periodontol*, 84, 456-464. 2013.
- Ridgway HK, Mellonig JT, Cochran DL: Human histologic and clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate for the treatment of periodontal

- intraosseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 28, 171-179. 2008.
- 14) Kitamura M, Akamatsu M, Kawanami M, et al.: Randomized placebo-controlled and controlled non-inferiority phase III trials comparing trafermin, a recombinant human fibroblast growth factor 2, and enamel matrix derivative in periodontal regeneration in intrabony defects. *J Bone Miner Res*. 2015.
- 15) Urist MR: Bone: formation by autoinduction. *Science*, 150, 893-899. 1965.
- 16) Sanchez-Duffhues G, Hiepen C, Knaus P, Ten Dijke P: Bone morphogenetic protein signaling in bone homeostasis. *Bone*, 80, 43-59. 2015.
- 17) Miyazono K, Kamiya Y, Morikawa M: Bone morphogenetic protein receptors and signal transduction. *J Biochem*, 147, 35-51. 2010.
- 18) Stavropoulos A, Wikesjo UM: Growth and differentiation factors for periodontal regeneration: a review on factors with clinical testing. *J Periodontol Res*, 47, 545-553. 2012.
- 19) Carreira AC, Lojudice FH, Halcsik E, Navarro RD, Sogayar MC, Granjeiro JM: Bone morphogenetic proteins: facts, challenges, and future perspectives. *J Dent Res*, 93, 335-345. 2014.
- 20) Neovius E, Lemberger M, Docherty Skogh AC, Hilborn J, Engstrand T: Alveolar bone healing accompanied by severe swelling in cleft children treated with bone morphogenetic protein-2 delivered by hydrogel. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 66, 37-42. 2013.
- 21) Woo EJ: Adverse events reported after the use of recombinant human bone morphogenetic protein 2. *J Oral Maxillofac Surg*, 70, 765-767. 2012.
- 22) Woo EJ: Adverse events after recombinant human BMP2 in nonspinal orthopaedic procedures. *Clin Orthop Relat Res*, 471, 1707-1711. 2013.
- 23) Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P, et al.: Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. *Development*, 126, 1305-1315. 1999.
- 24) Merino R, Macias D, Ganan Y, et al.: Expression and function of Gdf-5 during digit skeletogenesis in the embryonic chick leg bud. *Dev Biol*, 206, 33-45. 1999.
- 25) Storm EE, Kingsley DM: GDF5 coordinates bone and joint formation during digit development. *Dev Biol*, 209, 11-27. 1999.
- 26) Storm EE, Huynh TV, Copeland NG, Jenkins NA, Kingsley DM, Lee SJ: Limb alterations in brachypodism mice due to mutations in a new member of the TGF beta-superfamily. *Nature*, 368, 639-643. 1994.
- 27) Thomas JT, Lin K, Nandedkar M, Camargo M, Cervenka J, Luyten FP: A human chondrodysplasia due to a mutation in a TGF-beta superfamily member. *Nat Genet*, 12, 315-317. 1996.
- 28) Morotome Y, Goseki-Sone M, Ishikawa I, Oida S: Gene expression of growth and differentiation factors-5, -6, and -7 in developing bovine tooth at the root forming stage. *Biochem Biophys Res Commun*, 244, 85-90. 1998.
- 29) Nakamura T, Yamamoto M, Tamura M, Izumi Y: Effects of growth/differentiation factor-5 on human periodontal ligament cells. *J Periodontol Res*, 38, 597-605. 2003.
- 30) Lee J, Wikesjo UM: Growth/differentiation factor-5: pre-clinical and clinical evaluations of periodontal regeneration and alveolar augmentation--review. *J Clin Periodontol*, 41, 797-805. 2014.
- 31) Stavropoulos A, Windisch P, Gera I, Capsius B, Sculean A, Wikesjo UM: A phase IIa randomized controlled clinical and histological pilot study evaluating rhGDF-5/beta-TCP for periodontal regeneration. *J Clin Periodontol*, 38, 1044-1054. 2011.
- 32) Windisch P, Stavropoulos A, Molnar B, et al.: A phase IIa randomized controlled pilot study evaluating the safety and clinical outcomes following the use of rhGDF-5/beta-TCP in regenerative periodontal therapy. *Clin Oral Investig*, 16, 1181-1189. 2012.
- 33) Song JJ, Celeste AJ, Kong FM, Jirtle RL, Rosen V, Thies RS: Bone morphogenetic protein-9 binds to liver cells and stimulates proliferation. *Endocrinology*, 136, 4293-4297. 1995.
- 34) Cheng H, Jiang W, Phillips FM, et al.: Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am*, 85-A, 1544-1552. 2003.
- 35) Leblanc E, Trenszt F, Haroun S, et al.: BMP-9-induced muscle heterotopic ossification requires changes to the skeletal muscle microenvironment. *J Bone Miner Res*, 26, 1166-1177. 2011.
- 36) Wang Y, Hong S, Li M, et al.: Noggin resistance

- contributes to the potent osteogenic capability of BMP9 in mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*, 31, 1796-1803. 2013.
- 37) Kang Q, Sun MH, Cheng H, et al.: Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Ther*, 11, 1312-1320. 2004.
- 38) Matsumoto T, Kano K, Kondo D, et al.: Mature adipocyte-derived dedifferentiated fat cells exhibit multilineage potential. *J Cell Physiol*, 215, 210-222. 2008.
- 39) Nakamura T, Shinohara Y, Momozaki S, Yoshimoto T, Noguchi K: Co-stimulation with bone morphogenetic protein-9 and FK506 induces remarkable osteoblastic differentiation in rat dedifferentiated fat cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 440, 289-294. 2013.
- 40) Fuchigami S, Nakamura T, Furue K, Sena K, Shinohara Y, Noguchi K: Recombinant human bone morphogenetic protein-9 potently induces osteogenic differentiation of human periodontal ligament fibroblasts. *Eur J Oral Sci*. in press.
- 41) Ye G, Li C, Xiang X, et al.: Bone Morphogenetic Protein-9 Induces PDLSCs Osteogenic Differentiation through the ERK and p38 Signal Pathways. *Int J Med Sci*, 11, 1065-1072. 2014.

平成27年度 鹿児島大学歯学部公開講座報告

南 弘之

鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科
顎顔面機能再建学講座 咬合機能補綴学分野

講座名：日常の臨床で活躍する接着技法

開催地：指宿市民会館

開催日時：平成27年10月31日（土）14：30～18：00

主催：鹿児島大学歯学部

共催：指宿市歯科医師会、南薩歯科医師会、
枕崎市歯科医師会
（三地区歯科医師会合同研修会を兼ねる）

講座の趣旨・内容：

日常の歯科診療において「接着」という言葉が定着してきた。歯科治療において接着技法を駆使することは、歯の切削量を最小限にし、健全歯質をできるだけ保存することにも繋がり、ひいては歯の寿命を延ばすことに貢献することとなる。しかし、臨床の現場では手技の浸透が不十分なことがあり、失敗例も耳にする。本講座では、日常に臨床に役立ててもらうことを目的に、歯質、および、歯冠修復物との接着に関して基礎と臨床を紹介することを目的とした。

受講対象者：歯科医師、歯科衛生士、歯科技工士

プログラム

司会進行 亀山秀和

指宿市歯科医師会 学術担当理事

1. 開会の辞・挨拶

濱田靖子 指宿市歯科医師会 会長

2. 挨拶、導入 南 弘之 教授

3. コンポジットレジン修復について考える

歯科保存学分野 西谷佳浩 教授

4. 接着技法の観点から支台築造を再考する

咬合機能補綴学分野 南 弘之 教授

5. 歯冠補綴装置の接着に活かす接着技法

咬合機能補綴学分野 村原貞昭 助教

6. 質疑応答

7. 閉会の辞

馬渡成太郎 指宿市歯科医師会 副会長

本年度の歯学部公開講座は、平成27年10月31日（土）に、指宿市民会館にて、指宿市歯科医師会、南薩歯科医師会、枕崎市歯科医師会の三地区歯科医師会合同研修会を兼ねて開催された。当日は、指宿市歯科医師会の濱田靖子 会長、南薩歯科医師会の崎元 誠 会長、枕崎市歯科医師会の山下 福嘉 会長をはじめとして、総勢49名という多数の出席を得た。



講演では、まず、西谷教授が歯質との接着について、ボンディング材の変遷と各ステップでの特徴や接着機構について紹介された。さらに、最新のユニバーサルタイプの接着システムもとりあげて、その特徴や取り扱いについて解説された。続いて南が、支台築造における接着操作の重要性について解説し、レジン築造と金属築造のそれぞれの利点と欠点とともに、接着操作の手技について臨床例をまじえて紹介した。最後に村原助教は、ジルコニア、セラミックス、コンポジットレジンなどの各種歯冠補綴装置の装着に用いる材料やその使用法について、補綴装置の材料ごとに説明した。

歯科の臨床における接着技法は広く浸透してきている反面、用いられる材料の種類が多いことから、混乱を招いている。本講座の講演内容は日常の臨床に直結したテーマであったためか、各講演に対して活発な質疑がなされ、さらに、講演終了後にも、講師に直接熱心に質問する参加者もおられた。

講座終了後には懇親会にお招きいただいた。参加者には、鹿児島大学の卒業生や、鹿児島大学のいずれかの講座に在籍しておられた先生、また、ご子息が鹿児島大学歯学部学生として在籍している先生もおられ、非常に活発な交流の機会ともなった。大学と地域の橋渡しの役目を十分に果たすことができたと考えている。

最後に、本公開講座の開催にあたり、開催地をご紹介いただいた鹿児島県歯科医師会の黒木 敦朗 常務理事、開催にご尽力いただいた指宿市歯科医師会の濱田 靖子 会長、南薩歯科医師会の崎元 誠 会長、枕崎市歯科医師会の山下 福嘉 会長、ならびに、実務に携わられた指宿市歯科医師会の亀山 秀和 学術担当理事に、厚くお礼申し上げます。また、公開講座の準備・実施にご助言、ご尽力いただいた学内の関係諸氏に感謝申し上げます。



鹿児島大学歯学部発表論文（2014年 SCI(または JCR) リスト雑誌に公表された業績 (IF2013))

1. Nagao S, Goto T, Kataoka S, Toyono T, Egusa H, Yatani H, Maki K. Expression of neuropeptide receptor mRNA during osteoblastic differentiation of mouse iPS cells. *Neuropeptides* 2014; 48(6): 399-406. (2.546)
2. Ozeki K, Goto T, Aoki H, and Masuzawa T: Fabrication of hydroxyapatite thin films on zirconia using a sputtering technique. *Bio-Medical Materials and Engineering* 2014; 24(5):1793-1802. (0.847)
3. Tomonari H, Miura H, Ooki M, Nakayama A, Harada S. Diverse contributions of Tas1r2/Tas2rs within the rat and mouse soft palate to sweet and bitter neural responses. *Neurosci Lett* 2014; 569: 63-67. (2.055)
4. Miura H, Ooki M, Kanemaru N, Harada S. Decline of umami preference in aged rats. *Neurosci Lett* 2014; 577: 56-60. (2.055)
5. Miura H, Kusakabe Y, Hashido K, Hino A, Ooki M, Harada S. The glossopharyngeal nerve controls epithelial expression of Sprr2a and Krt13 around taste buds in the circumvallate papilla. *Neurosci Lett* 2014; 580: 147-152. (2.055)
6. Miura H, Scott JK, Harada S, Barlow LA. Sonic hedgehog-expressing basal cells are general post-mitotic precursors of functional taste receptor cells. *Dev Dyn* 2014; 243(10): 1286-1297. (2.668)
7. Kusuyama J, Bandow K, Shamoto M, Kakimoto K, Ohnishi T, and Matsuguchi T. Low Intensity Pulsed Ultrasound (LIPUS) Influences the Multilineage Differentiation of Mesenchymal Stem and Progenitor Cell Lines through ROCK-Cot/Tpl2-MEK-ERK Signaling Pathway. *J Biol Chem* 2014; 289(15): 10330-10344. (4.600)
8. Li T, Liao X, Lochhead P, Morikawa T, Yamauchi M, Nishihara R, Inamura K, Kim SA, Mima K, Sukawa Y, Kuchiba A, Imamura Y, Baba Y, Shima K, Meyerhardt JA, Chan AT, Fuchs, CS, Ogino S, Qian ZR. SMO Expression in Colorectal Cancer: Associations with Clinical, Pathological, and Molecular Features. *Ann Surg Oncol* 2014; 21(13): 4164-4173. (3.943)
9. Nakajo K, Takahashi M, Kikuchi M, Takada Y, Okuno O, Sasaki K, Takahashi N. Inhibitory effect of Ti-Ag alloy on artificial biofilm formation. *Dent Mater J* 2014; 33(3): 389-393. (0.943)
10. Yamaguchi T, Soutome S, Oho T. Purification of a novel fibronectin binding protein from '*Granulicatella paradiacens*'. *Pathog Dis* 2014; 71(1): 73-80. (2.554)
11. Tomonari H, Kubota T, Yagi T, Kuninori T, Kitashima F, Uehara S, Miyawaki S. Posterior scissors-bite: Masticatory jaw movement and muscle activity. *J Oral Rehabil* 2014; 41(4): 257-265. (1.934)
12. Kuninori T, Tomonari H, Uehara S, Kitashima F, Yagi T, Miyawaki S. Influence of maximum bite force on jaw movement during gummy jelly mastication. *J Oral Rehabil* 2014; 41(5): 338-345. (1.934)
13. Ohmure H, Sakoguchi Y, Nagayama K, Numata M, Tsubouch H, Miyawaki S. Influence of experimental esophageal acidification on masseter muscle activity, cervicofacial behavior, and autonomic nervous activity in wakefulness. *J Oral Rehabil* 2014; 41(6): 423-431. (1.934)
14. Maeda A, Uehara S, Suga M, Nishihara K, Nakamura N, Miyawaki S. Changes in grafted autogenous bone during edgewise treatment in patients with unilateral cleft lip/palate or alveolus. *Cleft Palate-Craniofacial J* 2014; 51(5): 525-532. (1.106)
15. Tomonari H, Ikemori T, Kubota T, Uehara S, Miyawaki S. First molar crossbite is more closely associated with a reverse chewing cycle than anterior or premolar crossbite during mastication. *J Oral Rehabil* 2014; 41(12): 890-896. (1.934)
16. Iwasaki T, Takemoto Y, Inada E, Sato H, Saitoh I, Kakuno E, Kanomi R, Yamasaki Y. Three-dimensional cone-beam computed tomography analysis of enlargement of the pharyngeal airway by the Herbst appliance. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2014; 146(6): 776-785. (1.382)
17. Inada E, Saitoh I, Murakami D, Kubota N, Takemoto Y, Iwasaki T, Nakamura-Ohshima K, Hayasaki H, Yamasaki Y. Relationship between nasal and skeletal landmarks on lateral cephalograms of adults. *Aust J Forensic Sci* 2014; 46: 339-347. (0.704)
18. Murakami D, Inada E, Saitoh I, Takemoto Y, Morizono K, Kubota N, Iwasaki T, Oku T, Yamasaki Y. Morphological

- differences of facial soft tissue contours from child to adult of Japanese males: A three-dimensional cross-sectional study. *Arch Oral Biol* 2014; 59(12): 1391-1399. (1.880)
19. Iwasaki T, Takemoto Y, Inada E, Sato H, Suga H, Saitoh I, Kakuno E, Kanomi R, Yamasaki Y: The effect of rapid maxillary expansion on pharyngeal airway pressure during inspiration evaluated by computational fluid dynamics. *Int J Pediat Otorhinolaryngol* 2014; 78(8): 1258-1264. (1.186)
 20. Sato M, Inada E, Saitoh I, Matsumoto Y. An efficient and convenient method for MiniPrep analysis of recombinant plasmids. *J Biomed Sci Eng* 2014; 7: 105-107. (0.740)
 21. Suga H, Mishima K, Nakano H, Nakano A, Matsumura M, Mano T, Yamasaki Y, Ueyama Y. Different therapeutic mechanisms of rigid and semi-rigid mandibular repositioning devices in obstructive sleep apnea syndrome. *J Craniomaxillofac Surg* 2014; 42(8): 1650-1654. (2.597)
 22. Tancharoen S, Tengrungsun T, Suddhasthira T, Kikuchi K, Vechvongvan N, Tokuda M, Maruyama I. Overexpression of receptor for advanced glycation end products and high-mobility group box 1 in human dental pulp inflammation. *Mediators Inflamm* 2014; 754069. (2.417).
 23. Tsukada G, Tokuda M, Torii M. Temperature triggered shape memory effect of transpolyisoprene-based polymer. *J Endod* 2014; 40(10): 1658-1662. (2.788).
 24. Tsukada G, Sueyoshi H, Kamibayashi H, Tokuda M, Torii M. Bending strength of zirconia/porcelain functionally graded materials prepared using spark plasma sintering. *J Dent* 2014; 42(12): 1569-1576. (2.840)
 25. Shirakata Y, Nakamura T, Shinohara Y, Taniyama K, Sakoda K, Yoshimoto T, Noguchi K. An exploratory study on the efficacy of rat dedifferentiated fat cells (rDFATs) with a poly lactic-co-glycolic acid/hydroxylapatite (PLGA/HA) composite for bone formation in a rat calvarial defect model. *J Mater Sci Mater Med* 2014; 25(3): 899-908. (2.379)
 26. Ross RD, Viridi AS, Liu S, Sena K, Sumner DR. Particle-induced osteolysis is not accompanied by systemic remodeling but is reflected by systemic bone biomarkers. *J Orthop Res* 2014; 32(7): 967-973. (2.972)
 27. Ross RD, Edwards LH, Acerbo AS, Ominsky MS, Viridi AS, Sena K, Miller LM, Sumner DR. Bone Matrix Quality After Sclerostin Antibody Treatment. *J Bone Miner Res* 2014; 29(7): 1597-1607. (6.589)
 28. Angle SR, Sena K, Sumner DR, Virkus WW, Viridi AS. Combined Use of Low-Intensity Pulsed Ultrasound and rhBMP-2 to Enhance Bone Formation in a Rat Model of Critical Size Defect. *J Orthop Trauma* 2014; 28(10): 605-611. (1.803)
 29. Nishi Y, Seto K, Kamashita Y, Kaji A, Kurono A, Nagaoka E. Survival of microorganisms on complete dentures following ultrasonic cleaning combined with immersion in peroxide-based cleanser solution. *Gerodontology* 2014; 31(3): 202-209. (0.806)
 30. Hashiguchi C, Kawamoto S, Kasai T, Nishi Y, Nagaoka E. Influence of an antidiabetic drug on biomechanical and histological parameters around implants in type 2 diabetic rats. *Implant Dent* 2014; 23(3): 264-269. (1.110)
 31. Murakami M, Nishi Y, Kamashita Y, Nagaoka E. Comparison of a saliva wetness tester and a moisture-checking device in patients with maxillary obturator prostheses. *Gerodontology* 2014; 31(2): 83-88. (0.806)
 32. Tanigawa T, Shibata R, Ouchi N, Kondo K, Ishii M, Katahira N, Kambara T, Inoue Y, Takahashi R, Ikeda N, Kihara S, Ueda H, Murohara T. Adiponectin deficiency exacerbates age-related hearing impairment. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1189. (5.177)
 33. Ishii M, Shibata R, Shimizu Y, Yamamoto T, Kondo K, Inoue Y, Ouchi N, Tanigawa T, Kanemura N, Ito A, Honda H, Murohara T. Multilayered adipose-derived regenerative cell sheets created by a novel magnetic tissue engineering method for myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2014; 175(3): 545-553. (6.175)
 34. Hao CN, Shintani S, Shimizu Y, Kondo K, Ishii M, Wu H, Murohara T. Therapeutic Angiogenesis by Autologous Adipose-Derived Regenerative Cells: Comparison With Bone Marrow Mononuclear Cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014; 307(6): H869-H879. (4.012)
 35. Ishii M, Shibata R, Kondo K, Kambara T, Shimizu Y, Tanigawa T, Bando-Kureishi, Y, Nishimura M, Ouchi N, Murohara T. Vildagliptin stimulates endothelial cell network formation and ischemia-induced revascularization via an

- endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2014; 289(39): 27235-27245. (4.573)
36. Fujinaga T, Kumamaru W, Sugiura T, Kobayashi Y, Ohyama Y, Ikari T, Onimaru M, Akimoto N, Jogo R, Mori Y. Biological characterization and analysis of metastasis-related genes in cell lines derived from the primary lesion and lymph node metastasis of a squamous cell carcinoma arising in the mandibular gingiva. *Int J Oncol* 2014; 44(5): 1614-1624. (2.773)
 37. Kobayashi Y, Sugiura T, Imajyo I, Shimoda M, Ishii K, Akimoto N, Yoshihama N, Mori Y. Knockdown of the T-box transcription factor Brachyury increases sensitivity of adenoid cystic carcinoma cells to chemotherapy and radiation in vitro: implications for a new therapeutic principle. *Int J Oncol* 2014; 44(4): 1107-1117. (2.773)
 38. Kamikawa Y, Mori Y, Nagayama T, Fujisaki J, Hirabayashi D, Sakamoto R, Hamada T, Sugihara K. Frequency of clinically isolated strains of oral *Candida* species at Kagoshima University Hospital, Japan, and their susceptibility to antifungal drugs in 2006–2007 and 2012–2013. *BMC Oral Health* 2014; 14: 14. (1.128)
 39. Kamikawa Y, Hirabayashi D, Nagayama T, Fujisaki J, Hamada T, Sakamoto R, Kamikawa Y, Sugihara K. In Vitro Antifungal Activity against Oral *Candida* Species Using a Denture Base Coated with Silver Nanoparticles. *J Nanomaterials* 2014; 410-415. (1.611)
 40. Fuchigami T, Nakamura N, Nishihara K, Matsunaga K, Hasegawa H. Short-term molding effects on the upper alveolar arch following unilateral cleft lip repair with/without nasal vestibular expansion. *Cleft Palate-Craniofacial J* 2014; 51(6): 557-568. (1.238)
 41. Fuchigami T, Kibe T, Koyama H, Kishida S, Iijima M, Nishizawa Y, Fujii T, Ueda M, Nakamura N, Kiyono T, Kishida M. Regulation of IL-6 and IL-8 production by reciprocal cell-to-cell interaction between ameloblastoma and stromal fibroblasts through IL-1 α . *Biochem Biophys Res Commun* 2014; 451(4): 491-496. (2.297)
 42. Nishihara K, Nozoe E, Maeda A, Hirahara N, Okawachi T, Miyawaki S, Nakamura N. Outcome following secondary autogenous bone grafting before and after canine eruption in patients with unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate-Craniofacial J* 2014; 51(2): 165-171. (1.238)
 43. Habu M, Koyama H, Kishida M, Kamino M, Iijima M, Fuchigami T, Tokimura H, Ueda M, Tokudome M, Koriyama C, Hirano H, Arita K, Kishida S. Ryk is essential for Wnt-5a-dependent invasiveness in human glioma. *J Biochem* 2014; 156(1): 29-38. (3.073)
 44. Morotomi T, Matsunaga K, Kusuha H, Itani Y, Nakao H, Asamura S, Isogai N. Long term result of a biodegradable osteo-inductive copolymer for the treatment of orbital blowout fracture. *J Cranio Maxillofac Surg* 2014; 42(5): 443-447. (1.610)
 45. Hamada T, Souda M, Yoshimura T, Sasaguri S, Hatanaka K, Tasaki T, Yoshioka T, Ohi Y, Yamada S, Tsutsui M, Umekita Y, Tanimoto A. Anti-apoptotic Effects of PCP4/PEP19 in Human Breast Cancer Cell Lines: A Novel Oncotarget. *Oncotarget* 2014; 5(15): 6076-86. (6.627)
 46. Tamura M, Matsui H, Tomita T, Sadakata H, Indo HP, Majima HJ, Kaneko T, Hyodo I. Mitochondrial reactive oxygen species accelerate gastric cancer cell invasion. *J Clin Biochem Nutr* 2014; 54(1): 12-17. (2.294)
 47. Ito H, Matsui H, Tamura M, Majima HJ, Indo HP, Hyodo I. Mitochondrial reactive oxygen species accelerate the expression of heme carrier protein 1 and enhance photodynamic cancer therapy effect. *J Clin Biochem Nutr* 2014; 55(1): 67-71. (2.245)
 48. Kohjitani A, Miyata M, Iwase Y, Ohno S, Tohya A, Manabe Y, Hashiguchi T, Sugiyama K. Associations between the autonomic nervous system and the second derivative of the finger photoplethysmogram indices. *J Atheroscler Thromb* 2014; 21(5): 501–508. (2.770)
 49. Sugiyama K, Manabe Y, Kohjitani A. A styletted tracheal tube with a posterior-facing bevel reduces epistaxis during nasal intubation: a randomized trial. *Can J Anaesth* 2014; 61(11): 417-422. (2.306)
 50. Sugiyama K, Manabe Y, Kohjitani A. Mechanism of stylet-facilitated nasotracheal intubation. *Can J Anaesth* 2014; 61(11): 1057-1058. (2.306)
 51. Ouchi K, Koga Y, Nakao S, Sugiyama K. Dexmedetomidine dose-dependently enhances local anesthetic action of

lidocaine, *J Oral Maxillofac Surg* 2014; 72(3): 472-480. (1.333)

52. Tomoyasu Y, Higuchi H, Mori M, Takaya K, Honda Y, Yamane A, Yabuki A, Hayashi T, Ishii-Maruyama M, Jinzenji A, Maeda S, Kohjitani A, Shimada M, Miyawaki T. Chronic dental pain in dental patients: retrospective investigation over 12 years. *Acta Med Okayama* 2014; 68(5): 269-275. (0.746)
53. Yoshida T, Ogawa T, Taguchi N, Maeda J, Abe K, Rodis O M, Nakai Y, Y Torii, Konoo T, Suzuki K. Effectiveness of a simulated patients training programme based on trainee response accuracy and appropriateness of feedback. *Eur J Dent Educ* 2014; 18(4): 241-251. (1.448)

編 集 後 記

鹿児島大学歯学部紀要の第36号をお届けいたします。今回も巻頭言をお引き受けいただきました松口歯学部長はじめ、退官教員として歯科麻酔全身管理学 梶山教授，新任教員として，歯科保存学 西谷教授，口腔生理学 齋藤教授，顎顔面疾患制御学 上川准教授，歯周病学 白方准教授，顎顔面放射線学 犬童准教授，歯周病学 中村講師，歯科生態材料学 河野講師には，ご多用中にも関わらずご執筆いただきましたことに感謝申し上げます。

鹿児島大学歯学部紀要は，今号から電子版の配信のみといたしました。本来ならば，今号までは印刷物も製作し，誌面にて次号より電子版のみとする旨を告知するという過程を経るべきかもしれません。しかし，大量の印刷物が毎号残っていることや，鹿児島大学を挙げて取り組んでいる費用削減の流れに従う必要があること，従来より電子化が議論されてきたこと，学内の他学部の紀要の多くが電子版のみとなっていること，などを考慮して，今号から一気に電子版のみといたしました。さらに，執筆者への別刷りの無料配布も今号までとし，次号より，別刷希望者には実費をご負担いただく予定です。

私のような古代人は「紙媒体の出版物のページをめくる」ことで情報を得てきましたので，永らくの伝統を急激に変えることには抵抗がありますが，これも時代の流れなのでしょう。発行様式が変わりましても，鹿児島大学歯学部紀要編集へのご協力を宜しくお願い申し上げます。

(編集委員長 南 弘之)

平成 28 年 3 月 25 日 印刷

平成 28 年 3 月 25 日 発行

発行所

鹿児島大学歯学部 代表 松口 徹也
鹿児島市桜ヶ丘八丁目35-1

印刷所

斯文堂株式会社
鹿児島市南栄2-12-6
電話番号 099-268-8211