

第8回（2015年）  
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科  
口腔先端科学教育研究センター

# 歯系研究発表会 プログラム・抄録集



平成27年12月5日（土）  
鹿児島大学桜ヶ丘キャンパス鶴陵会館大ホール

**第8回（2015年）**  
**鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 口腔先端科学教育研究センター**  
**歯系研究発表会 プログラム・抄録集**

日 時：平成27年12月5日（土）

会 場：鹿児島大学桜ヶ丘キャンパス鶴陵会館大ホール

**開会式** [8:50 ~ 9:00]

研究科長挨拶

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科長 馬場 昌範

歯学部長挨拶

鹿児島大学歯学部長 松口 徹也

**セッション1【コンペティション部門・大学院生】** [9:00 ~ 9:44] （発表時間9分、質疑応答時間2分）

**座長** 西村 正宏（口腔顎顔面補綴学分野）

- 1 9:00 嚥下における口唇の三次元動態と舌圧変化の関連性の検討  
森園 健（小児歯科学分野）
- 2 9:11 内臓感覚が唾液分泌と嚥下反射に及ぼす影響  
菅 真有（歯科矯正学分野）
- 3 9:22 自衛隊員の野外訓練後の口腔内状況の変化  
山下 浩司（予防歯科学分野）
- 4 9:33 研修歯科医の OSCE 医療面接における非言語コミュニケーションが指導歯科医および模擬患者の  
評価へ与える影響  
古川 周平（歯科医学教育実践学分野）

**休 憩** [9:44 ~ 9:54]

**セッション2【コンペティション部門・大学院生】** [9:54 ~ 10:38] （発表時間9分、質疑応答時間2分）

**座長** 小松澤 均（口腔微生物学分野）

- 5 9:54 IGF-1 is an autocrine regulator for differentiation and hypoxic responses of osteoblasts  
Muhammad Subhan Amir（口腔顎顔面外科学分野/口腔生化学分野）
- 6 10:05 Bone morphogenetic protein 9 (BMP9) の歯根膜細胞の機能への影響に関する研究  
古江 きらら（歯周病学分野）
- 7 10:16 ラット頭蓋骨欠損モデルを用いた recombinant human bone morphogenetic protein-9/コラーゲン  
担体の骨形成評価  
篠原 敬哉（歯周病学分野）
- 8 10:27 VEGF-C による骨髄間葉系幹細胞の骨分化促進効果の検討  
村上 寿理（口腔顎顔面外科学分野/口腔顎顔面補綴学分野）

**休 憩** [10:38 ~ 10:48]

**セッション3【コンペティション部門・大学院生】**〔10:48～11:32〕（発表時間9分、質疑応答時間2分）

**座長** 田口 則宏（歯科医学教育実践学分野）

- 9 10:48 新規歯科矯正用アンカースクリュー補助装置が骨に与える影響  
大賀 泰彦（歯科矯正学分野）
- 10 10:59 ラット三叉神経節における体部位局在の解析：組織透明化と神経トレーサーを組み合わせた新しい三次元再構築技術を用いて  
千堂 良造（歯科麻酔全身管理学分野/歯科機能形態学分野）
- 11 11:10 ヒト大腸癌細胞 DLD-1 における Snail 導入は N-cadherin 発現なしに浸潤能を付与する  
田中 荘子（口腔顎顔面外科学分野/生化学・分子生物学分野）
- 12 11:21 乳癌細胞株 MCF7 における PCP4/PEP19 の役割と意義  
吉村 卓也（口腔顎顔面外科学分野/病理学分野）

**休憩**〔11:32～11:42〕

**セッション4【コンペティション部門・大学院生】**〔11:42～12:37〕（発表時間9分、質疑応答時間2分）

**座長** 宮脇 正一（歯科矯正学分野）

- 13 11:42 片側性唇顎口蓋裂を伴う患者における顎裂側中切歯の矯正治療による歯の移動と歯根吸収との関連  
古川 みなみ（歯科矯正学分野）
- 14 11:53 瘢痕拘縮抑制を目的とした新規創被覆材の動物実験への応用  
古閑 崇（口腔顎顔面外科学分野）
- 15 12:04 片側性唇顎口蓋裂における NAM と Hotz 床による術前顎矯正が上顎発育に及ぼす影響  
—出生時から乳歯列完成期までの縦断的三次元解析—  
木村 菜美子（口腔顎顔面外科学分野）
- 16 12:15 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のバクテリオシン耐性機構の解析  
有井 かおる（歯周病学分野/口腔微生物学分野）
- 17 12:26 グリチルレチン酸誘導物質の黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性について  
大山 健太郎（口腔顎顔面外科学分野/口腔微生物学分野）

**昼食**〔12:37～13:27〕

**セッション5【学部学生部門】**〔13:27～13:49〕（発表時間9分、質疑応答時間2分）

**座長** 馬嶋 秀行（顎顔面放射線学分野）

- 18 13:27 歯科用ユニットの水質調査～菌の繁殖を防ぐには～  
柏木 孝文ら（口腔微生物学分野）
- 19 13:38 Mechanical stress helps to maintain the differentiation potency of mesenchymal stem cells  
成 昌ファン（口腔生化学分野）

**休憩**〔13:49～13:54〕

セッション6【コンペティション部門・若手研究者】〔13:54～14:49〕（発表時間9分、質疑応答時間2分）

座長 齊藤 充（口腔生理学分野）

- 20 13:54 矯正学的歯の移動における炎症反応の細胞シグナル伝達経路の解明—圧刺激による骨芽細胞のケモカインの発現誘導にはIL-1 $\beta$ とMyD88シグナル伝達系が必要である—  
前田 綾（歯科矯正学分野/口腔生化学分野）
- 21 14:05 オステオポンチン/オステオカルシン分泌比に着目した骨芽細胞多様性分化の実証  
楠山 譲二（口腔病理解析学分野/口腔生化学分野）
- 22 14:16 味覚と摂食行動を結びつける新たな神経回路  
岩井 治樹（歯科機能形態学分野）
- 23 14:27 梅抽出成分MK615による歯周病治療へのアプローチ  
森元 陽子（歯科保存学分野）
- 24 14:38 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* の新規 small regulatory RNA の同定及び発現性の解析  
大貝 悠一（口腔微生物学分野）

休憩〔14:49～14:59〕

セッション7【一般部門】〔14:59～15:23〕

（発表時間6分、質疑応答時間2分）

座長 菊地 聖史（歯科生体材料学分野）

- 25 14:59 形状記憶ポリマーを用いた新規根管充填法の開発  
塚田 岳司（歯科保存学分野）
- 26 15:07 コンポジットジャケットクラウンの繰り返し衝撃に対する破折抵抗性に関する研究  
梶原 雄太郎（咬合機能補綴学分野）
- 27 15:15 歯科矯正用アンカースクリューの安定性と安全性の向上を目的とした維持力強化補助装置（スパイクアンカー）の開発  
権 相豪（歯科矯正学分野）

セッション8【一般部門】〔15:23～15:55〕

（発表時間6分、質疑応答時間2分）

座長 佐藤 友昭（歯科応用薬理学分野）

- 28 15:23 亜酸化窒素吸入とイーजीリスニング音楽が自律神経機能に与える影響  
山下 薫（歯科麻酔全身管理学分野）
- 29 15:31 遺伝子多型を介する機能性ディスペプシアと睡眠時ブラキシズムの関連  
福嶋 美佳（歯科矯正学分野）
- 30 15:39 持続的な荷重負荷による骨形成促進の新たな試み  
小柳 宏太郎（歯科矯正学分野/歯科機能形態学分野）
- 31 15:47 骨格性下顎前突症における下顎骨の後退量と睡眠時無呼吸との関連性  
丸谷 佳菜子（歯科矯正学分野）

休憩〔15:55～16:05〕

セッション9【一般部門】〔16:05 ～ 16:37〕

(発表時間6分、質疑応答時間2分)

座長 杉浦 剛 (顎顔面疾患制御学分野)

- 32 16:05 ヒト歯肉線維芽細胞における MMP-1 産生に対する GLP-1 受容体作動薬の調節作用  
作田 哲也 (歯科保存学分野)
- 33 16:13 覆髄剤貼付による壊死層形成の役割—アラーミンの硬組織誘導の解析—  
宮下 桂子 (歯科保存学分野)
- 34 16:21 ニッケルチタンファイルにより形成された湾曲根管へのポイントの適合性の解析  
川上 克子 (歯科保存学分野)
- 35 16:29 三叉神経核—視床—皮質回路による痛覚感受性の制御メカニズムを解析する  
倉本 恵梨子 (歯科機能形態学分野)

研究発表会彰式〔16:37 ～ 16:57〕

閉会式〔16:57 ～ 17:00〕

センター長挨拶

口腔先端科学教育研究センター・センター長 仙波 伊知郎

# 1

## 嚥下における口唇の三次元動態と舌圧変化の関連性の検討

森園 健（小児歯科学分野・博士課程4年）

【目的】本研究では、嚥下時の口唇周囲軟組織の三次元動態を口角の動きとして捉え、嚥下口腔期の主体をなす舌圧を同期観察することによって、嚥下動作時の口唇と舌の協調動態の解明をする。

【材料と方法】健常成人を対象に5 mlと20 mlの水を口腔内に保持させて自分のタイミングにて各々3回一口で嚥下させ、口唇周囲の軟組織動態を定量評価し、嚥下時舌圧と同期観察した。さらに、①嚥下時の最大舌圧値、②嚥下時の最大口角間距離と安静時口角間距離の差（口角間距離変化量）、嚥下に伴い口唇が運動してから舌が機能するまでのタイミングを調べるために、③舌圧が最大となる時間と口角間距離変化量が最大となる時間の差（口唇-舌 時間）を求めた。上記3項目において、水量の相違による差について、Wilcoxon 検定を用いて求め、さらに個体内変動と個体間変動を求めた。

【結果】一口量が増すと、最大舌圧値に差はなかったが、口角間距離変化量は有意に大きく、口唇-舌 時間は短くなった。また、求めた上記3項目における個体内変動は個体間変動よりも小さくなり、一口量が増すと最大舌圧値の個体間、個体内変動は大きく、口角間距離変化量と口唇-舌 時間の値は小さくなった。

【考察】嚥下時の一口量が増すと口唇の協調性がより求められ、舌よりも口唇の動きを大きくすることで嚥下動作を補助し、口唇-舌 時間が短くなったと推察された。また、上記3項目の①と②の個体内変動が小さな値を示したことより、被験者が安定した舌と口唇の動きを行ったことが考えられた。さらに②と③は、一口量が増すと個体間、個体内変動とも小さくなったことから、多量の水を一口で嚥下するには、舌と口唇の協調性がより求められるため、嚥下動作のばらつきが減少したことが推察された。以上より、嚥下時の口角の三次元動態解析は口唇機能の客観的評価法として有効であると考えられた。

# 2

## 内臓感覚が唾液分泌と嚥下反射に及ぼす影響

菅 真有（歯科矯正学分野・博士課程4年）

# 3

## 自衛隊員の野外訓練後の口腔内状況の変化 山下 浩司（予防歯科学分野・博士課程3年）

【目的】自衛隊員を対象として、口腔清掃が困難かつ精神的身体的ストレスが増加する7日間の野外訓練を行った後の口腔内状況の変化を調べ、隊員の口腔衛生維持のための基礎的知見を得ることを目的とした。

【対象および方法】陸上自衛隊春日井駐屯地所属の隊員62名（男性59名、女性3名、年齢 $34.7 \pm 8.8$ 歳）を対象とし、野外訓練前および7日間の野外訓練後に、アンケート調査、口腔内診査、歯垢および唾液の採取を行った。これらの試料を用いて、歯垢中の細菌比率、唾液中の抗菌物質、 $\alpha$ -アミラーゼ活性を測定した。

【結果】訓練中は歯磨き回数が減少し、一度も歯を磨かなかった隊員は40%であった。訓練後はCPI個人コードの増加が認められ、6分画中の3分画以上のコードが悪化した隊員は53%であった。訓練中に歯磨きをした人に比べて、しなかった人は7.51倍悪化分画数が多くなることが認められた。また、訓練後は歯垢中の *Streptococcus sanguinis*、*Streptococcus gordonii* の比率の増加が認められ、歯磨き、洗口剤の使用、間食頻度との関連が認められた。さらに、訓練後は唾液中の lactoferrin 濃度の増加が認められた。

【考察】野外訓練時は口腔清掃が困難な状況にあり、歯垢中の細菌比率や唾液中の抗菌物質濃度に変化が認められた。訓練後は、*S. sanguinis* と *S. gordonii* の比率が増加しており、訓練中のプラークの成熟が考えられる。lactoferrin 濃度の増加は、清掃状態の悪化による口腔組織の炎症性変化に伴うものと考えられる。これらの結果は、自衛隊員のみならず、大規模災害等で口腔清掃が困難な状況にある被災者の口腔衛生を良好に保つための介入法の確立に役立てることができ、国民の健康に大きく寄与するものと考えられる。

# 4

## 研修歯科医のOSCE医療面接における非言語コミュニケーションが指導歯科医 および模擬患者の評価へ与える影響 古川 周平（歯科医学教育実践学分野・博士課程2年）

【目的】非言語コミュニケーションは、医療面接において患者と信頼関係を構築する上で極めて重要な方法である。歯科医師の医療面接における非言語コミュニケーションが患者の評価に与える影響について明らかにするために、今回研修歯科医を対象として、標準模擬患者（Standardized Patients 以下SP）との医療面接における非言語コミュニケーションの特徴を調べ、指導歯科医およびSPの評価との関連を検討した。

【材料と方法】平成26年度研修歯科医の研修修了時OSCEにおける初診時医療面接（5分）のビデオ動画記録、指導歯科医およびSPの評価を資料とした。指導歯科医の評価の高かった5名（高評価群）と低かった5名（低評価群）を抽出し、これを映像分析ソフトELAN(EUDICO Linguistic Annotator)を用いて分析した。非言語コミュニケーションは、Ishikawaらの方法に準じて評価した。評価項目は「話の内容に応じた表情」「目線の合った割合」「視線の合う状況」「頷きの頻度」「ジェスチャーの頻度」「ジェスチャー以外の行動の頻度」「姿勢」「体の向き」「話す速さと大きさ」「声の高さと抑揚」の10項目であり、結果は、指導歯科医評価、SP評価とあわせて検討した。

【結果】頷きの頻度の低いものは指導歯科医評価もSP評価も共に低かったが、ジェスチャーの頻度が低いものは指導歯科医評価ではすべて低評価であったが、SP評価では明らかな違いは認められなかった。

【考察】指導歯科医およびSP評価の高い者は、頷きを「適度に」行う傾向にあった。今回の研究では対象数10名と少なく、十分な検討ができなかったため、今後は対象数を増やし、より詳細な分析を行い、歯科医師の医療面接における非言語コミュニケーションの効果的な活用の一助となるように引き続き研究を続けていきたい。

## 5 IGF-1 is an autocrine regulator for differentiation and hypoxic responses of osteoblasts Muhammad Subhan Amir (口腔顎顔面外科学分野・博士課程1年)

Hypoxia is known to inhibit osteoblast proliferation, differentiation, and matrix mineralization. The development of a new strategy to overcome inhibitory effects of hypoxia on bone regeneration is needed in the maxillofacial and oral surgery area. Runx2 is necessary and sufficient for osteoblast differentiation. It promotes the expression of a number of osteogenic markers including collagen I, osteopontin, and osteocalcin. Runx2 enhances the stability and transcriptional activity of HIF-1 $\alpha$  and stimulates the expression of VEGF. The expression of insulin growth factor-1 (IGF-1), an important regulator of osteoblastic growth, survival, differentiation and mineralization, was significantly suppressed in hypoxic culture condition of osteoblasts. This result suggested that the decreased production of osteoblast-derived IGF-1 may be responsible for the defective osteogenic differentiation under hypoxic condition. This study was performed using MC3T3-E1 and primary osteoblast derived from newborn mouse calvariae which were cultured under normoxic (20% O<sub>2</sub>) or hypoxic (2% O<sub>2</sub>) condition. IGF-1 expression was significantly suppressed in hypoxia. Instead, the expression of both IGF receptor type1 (IGFR-1) and type2 (IGFR-2) were upregulated. Hypoxia inhibited osteogenic differentiation, characterized by less cell calcification as well as decreased expression of ALP, BSP and OCN. IGF-1 expression was gradually decreased during osteogenesis. IGFR-1 and IGFR-2 expressions were upregulated in the initial phase of osteogenic differentiation. In order to understand the role of IGF-1 in osteoblasts, osteoblasts were treated with recombinant IGF-1. IGF-1 stimulation rapidly induced to phosphorylate ERK, p38 and Akt in osteoblasts. IGF-1 also significantly increased Runx2 mRNA expression. These results have suggested that osteoblast-derived IGF-1 is an autocrine regulator involved in osteoblast differentiation. IGF-1 were suppressed by hypoxic condition and thus delay bone differentiation. Addition of IGF-1 to hypoxic osteoblasts may recover their differentiation.

## 6 Bone morphogenetic protein 9 (BMP9) の歯根膜細胞の機能への影響に関する研究 古江 きらら (歯周病学分野・博士課程3年)

**【目的】** BMP9 は強力な骨分化誘導能を有しており、歯周組織再生療法への応用が期待されるが、歯周組織における同分子の作用機序については不明な点が多い。近年、BMP2 の下流にて phosphoinositide 3-kinase (PI3K) /Akt 経路の関与の報告があるが、十分に解析されていない。また、BMP9 刺激により誘導されるサイトカインとそのレセプターについての報告や、これら分子の発現への PI3K/Akt 経路の関与は不明である。本研究の目的は、BMP9 刺激による歯根膜細胞の骨分化およびサイトカインとそのレセプター発現における PI3K/Akt 経路の関与について解明することである。

**【材料と方法】** 本研究では正常ヒト歯根膜由来線維芽細胞 (LONZA 社) を用いた。Recombinant human BMP9 (rhBMP9) を添加後、Western blot 法による Akt の解析を行った。rhBMP9 刺激後の alkaline phosphatase (ALP) 活性、骨関連遺伝子の発現、石灰化に対する PI3K 経路の関与については選択的阻害剤 (LY) を用いた。さらに rhBMP9 刺激に応答したサイトカインについて PrimerArray (Takara) および ELISA 法により解析した。

**【結果】** rhBMP9 刺激後に Akt のリン酸化の上昇を認めた。ALP 活性、骨関連遺伝子の発現、石灰化では rhBMP9 刺激により亢進・促進が認められたが、LY の添加により抑制された。PrimerArray により BMP9 刺激後に SDF1 発現の増強が認められ、ELISA 法により SDF1 のタンパク産生についても増加が認められたが、LY の添加により抑制された。

**【考察】** rhBMP9 刺激により促進された歯根膜由来線維芽細胞の骨分化および SDF1 発現において PI3K/Akt 経路の関与が示唆された。本研究より、rhBMP9 は歯周組織の骨分化を促すだけでなく、血管新生能および細胞遊走を制御する SDF1 産生の誘導を介して歯周組織の再生を促す可能性が示唆された。



# 7

## ラット頭蓋骨欠損モデルを用いた recombinant human bone morphogenetic protein-9/ コラーゲン担体の骨形成評価 篠原 敬哉（歯周病学分野・博士課程4年）

# 8

## VEGF-Cによる骨髄間葉系幹細胞の骨分化促進効果の検討 村上 寿理（口腔顎顔面外科学分野・博士課程2年）

【目的】Vascular endothelial growth factor (VEGF)シグナルは骨の再生、修復、リモデリングにおいて重要な働きをしていると考えられている。VEGFファミリーのVEGF-Cはリンパ管新生因子として知られており、リンパ管新生促進によりリンパ浮腫の改善や創傷治癒効果が報告されているが、これまで間葉系幹細胞や骨芽細胞の骨分化促進効果や骨再生・修復に与える効果についての報告はない。そこで今回、骨髄由来間葉系幹細胞に対するVEGF-Cの骨分化促進効果について評価を行った。

【材料と方法】ヒト骨髄由来間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cell:MSC)において、VEGF-CのレセプターであるVEGFR3の発現をウエスタンブロッティングによって発現解析を行った。MSCにVEGF-Cを添加することによる細胞増殖効果についてWST-1 assayによって評価を行った。骨分化誘導培地にVEGF-C (0, 1, 10, 25, 50 ng/ml)を添加し2週間培養を行った後、アリザリンレッド染色によって石灰化の評価を行った。また、アルカリフォスファターゼ活性測定、および骨分化マーカー遺伝子発現をリアルタイムPCRによって定量を行った。

【結果】MSCにおいてVEGF-CのレセプターであるVEGFR3の発現が確認された。VEGF-Cの添加によりアルカリフォスファターゼ、オステオカルシン遺伝子発現も顕著に増加することが確認された。またVEGF-Cの添加によりMSCの骨分化誘導7日目においてアルカリフォスファターゼ活性の顕著な上昇が認められ、石灰化も促進することが明らかとなった。

【考察】本研究によってリンパ管新生因子であるVEGF-Cが骨髄由来間葉系幹細胞の骨分化を促進させることが初めて見出された。間葉系幹細胞とVEGF-Cを組み合わせたハイブリッド療法が、より効果的な骨再生治療法となる可能性が示唆される。

ラット三叉神経節における体部位局在の解析：組織透明化と神経トレーサーを  
組み合わせた新しい三次元再構築技術を用いて  
千堂 良造（歯科麻酔全身管理学分野・博士課程1年）

【目的】三叉神経は顎顔面・口腔領域の知覚を司り、三叉神経節より三枝に分かれる。それぞれの神経枝の大まかな受容野は明らかにされているものの、特定の神経節細胞が担当する領域や受容野の範囲の違いと神経節内での細胞体の存在部位の関係性、すなわち体部位局在はほとんど明らかにされていない。本研究では、顎顔面口腔のそれぞれの領域に感覚受容野をもつ神経節ニューロンの細胞体が三叉神経節内においてどのように分布するのか、詳細な体部位局在を明らかにする。更には痛覚や温度感覚などの感覚モダリティと体部位局在との関係性をも明らかにし、三次元機能アトラスの作成を行う。

【材料と方法】ラット三叉神経節の三次元再構築を行うための新しい技術の確立のために検討すべき項目は以下の4点である：1)切片の厚さと、CUBIC法による組織透明化にかかる日数の関係を調べる；2)透明化の処理後もシグナルが残存する逆行性トレーサーを選定する；3)透明化した厚い標本の画像取得方法および定量解析の方法を検討する；4)化学的マーカーに対する免疫染色を行い、モダリティと体部位局在の関係性を明らかにする。

【結果】ラットの感覚毛へ逆行性トレーサーのFluoroGoldを注入し、三叉神経節の細胞体が標識されることを確認した。逆行性標識された標本を300 $\mu$ mの厚さで薄切し、透明化処理を行った後でも、神経節の細胞体においてシグナルが観察された。驚くべきことに、透明化前と比較し、透明化後の標本の方が、感度高くシグナルを検出できた。

【考察】透明化処理により、逆行性トレーサーのSN比が向上し、低倍率でも感度高く観察できた。組織の透明化により、励起光が組織の深部まで到達し、また、蛍光が組織を効率よく通過し検出機まで届くためと考えられる。この技術を用いて三叉神経節における詳細な感覚モダリティ-体部位局在地図を描くことで、今後、三叉神経における神経障害性疼痛の病態解明、治療法の開発にまで役立つことが期待される。

# 11 ヒト大腸癌細胞 DLD-1 における Snail 導入は N-cadherin 発現なしに浸潤能を付与する 田中 荘子 (口腔顎顔面外科学分野・博士課程 4 年)

【目的】転写因子 Snail は EMT (上皮間葉転換) 誘導因子のひとつとして知られている。ヒト大腸癌細胞株 DLD-1 へ Snail を導入し強制発現させた場合、当該細胞で EMT が誘導されるか否か。について 1) 形態変化は起こるか、2) カドヘリンスイッチが起こるか、3) EMT マーカー発現に変化が見られるか否か。4) その他性質変化はあるか、という項目について検証を行った。

【材料と方法】材料/DLD-1: 上皮系ヒト大腸癌細胞。β-catenin 分解に関わる APC (adenomatous polyposis coli) に変異を有しており、分解を受けなかった β-catenin が蓄積している。A431: ヒト扁平上皮癌細胞

方法/リン酸カルシウム法にて Snail-HA-cDNA を導入、コントロールとして DsRed-HA-cDNA を導入した。

【結果】DLD-1 細胞に転写因子 Snail を導入すると、紡錘形への形態変化、上皮マーカーの低下の通常の EMT と同様の事象を認めたが、主な間葉系マーカーの発現は認めなかった。マイクロアレイ解析データとこの結果はほぼ一致していた。また、DLD-1-Snail 株は浸潤能、遊走能においては顕著な上昇を示した。

【考察】E-cadherin と N-cadherin の発現が逆転するカドヘリンスイッチは、EMT と関連している。カドヘリンスイッチは良性腫瘍の悪性、浸潤性腫瘍への転化、それに続く腫瘍性細胞の転移に関与する。大腸癌細胞 DLD-1 における Snail 導入時の変化は、主な間葉系マーカーの発現が認められないこと以外は EMT の特徴である敷石状形態から紡錘形態への変化、上皮マーカーの低下、浸潤性、遊走性の向上を示していた。よって、DLD-1 細胞においては Snail 導入によるカドヘリンスイッチは起こらないこと、癌細胞の浸潤、転移には必ずしも N-cadherin を必要としないことが示唆された。

# 12 乳癌細胞株 MCF7 における PCP4/PEP19 の役割と意義 吉村 卓也 (口腔顎顔面外科学分野・博士課程 4 年)

【目的】PEP19 は小脳で特異的に発現し、抗アポトーシス機能を持つと報告されている。我々は乳癌における発現と抗アポトーシス機能を報告してきた。しかし、未だ不明の点が多く、機能・メカニズムを解明することは癌の治療、予後予測等に貢献する可能性が高い。本研究は PEP19 の新しい機能を検討することを目的とする。

【材料と方法】乳癌細胞株 MCF7 を用い、PEP19 と Bmi-1 を Knockdown する (si-PEP19、si-Bmi-1) ことで細胞に与える影響を real-time PCR、Western Blot、wound healing assay、浸潤試験、免疫染色、RhoA/Cdc42/Rac1 活性化実験、細胞接着実験、細胞周期分析を用いて評価した。

【結果】si-Bmi-1 では PEP19 の有意な発現減少を認め、si-PEP19 では Bmi-1 の減少も認めた。両群ともに Western Blot にて EMT 関連タンパクの発現変化を認め、機能的にも遊走能、浸潤能の有意な減少を認めた。細胞形態は両群とも敷石状へと変化し、filopodia 様突起の数は減少したが、si-Bmi-1 では RhoA/Cdc42/Rac1 の活性変化を認めたのに対し、si-PEP19 では変化がなかった。また si-PEP19 細胞を再播種すると接着能が低下し、接着した細胞でも subG1 期が増加していた。

【考察】PEP19 は乳癌において細胞形態、遊走能、浸潤能、接着能にも影響している可能性が示唆された。また、唾液腺癌サンプルを用いた PEP19 の免疫染色にて明らかな発現増強も確認しており、今後、唾液腺癌における研究を行う予定である。

# 13

## 片側性唇顎口蓋裂を伴う患者における顎裂側中切歯の矯正治療による 歯の移動と歯根吸収との関連

古川 みなみ（歯科矯正学分野・博士課程2年）

# 14

## 癒痕拘縮抑制を目的とした新規創被覆材の動物実験への応用

古閑 崇（口腔顎顔面外科学分野・博士課程1年）

**【目的】**口唇口蓋裂児に対して行われる口蓋形成術は、術後の癒痕拘縮による上顎劣成長を引き起こす。本研究では、口蓋形成術後の創部に適した新規創被覆材料を、物質・材料研究機構（NIMS）と共同開発し、さらにその材料と相乗的な効果を期待できる癒痕抑制因子を模索し併用することで、術後の癒痕抑制に効果的な新規創被覆材の実用化を目指す。

**【材料と方法】**本研究は、動物実験系と細胞実験系を組み合わせで行う。動物実験系では、ラットの背部に作成した全層皮膚欠損を新規および既存の被覆材で被覆し、創面積や創収縮率の変化や、組織切片における $\alpha$ SMAなどの筋線維芽細胞マーカーや細胞外基質成分の発現について評価する。細胞実験系では、口蓋粘膜上皮細胞、線維芽細胞、マクロファージを組み合わせた創環境に近い三次元共培養実験系を構築し、筋線維芽細胞分化、細胞外基質分泌、癒痕形成に関与する因子の発現などを評価する。さらに、同実験系にてHGFやbFGFなどの癒痕抑制因子を併用してその影響を調べ、新規創被覆材と併用する因子の候補を同定する。その後、再度動物実験にて新規創被覆材と細胞実験で候補となった因子を併用して創部に応用し評価する予定である。

**【結果】**既存の創被覆材の創への影響を評価した結果、受傷後4日目、7日目のいずれでも被覆材無群はテルダーミス群、ネオバール群に比べ、有意な創収縮および創面積の縮小を示した。また、組織切片での $\alpha$ SMAの発現量に関しても同様の結果を示した。

**【考察】**既存の創被覆材にて創部を被覆した結果、各被覆材は総収縮および総面積縮小を有意に抑制し、さらに $\alpha$ SMAの発現を抑制していたため、癒痕拘縮に役割を担う筋線維芽細胞の発現を抑えることができたと考えられる。今後は新規創被覆材を使用した研究を進めるとともに、長期的な評価も行う。

# 15

片側性唇顎口蓋裂における NAM と Hotz 床による術前顎矯正が上顎発育に及ぼす影響

— 出生時から乳歯列完成期までの縦断的三次元解析 —

木村 菜美子（口腔顎顔面外科学分野・博士課程 2 年）

# 16

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のバクテリオシン耐性機構の解析

有井 かおる（歯周病学分野・博士課程 1 年）

【目的】本研究では細菌が産生する抗菌ペプチドであるバクテリオシンによるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) への耐性化の検証ならびに耐性機構の解明を目的としている。本研究で明らかにする項目としては 1. MRSA である MW2 株の種々のバクテリオシン作用による薬剤耐性株の出現頻度の確認、2. バクテリオシン耐性化機構の解明を目指している。【材料と方法】黄色ブドウ球菌 (Sa) は MRSA である MW2 株を、バクテリオシンとしては乳酸菌が産生するバクテリオシンである精製ナイシンを用いた。Sa MW2 株に  $10^5$  cell に高濃度ナイシン A (2 MIC of MW2 相当) を 24 時間作用させ、生存していた Sa MW2 株を分離した。それを再度、高濃度ナイシン A (2 MIC\*相当) にて 24 時間作用させ、分離する工程を 3 回繰り返し、最終的に 30 株のナイシン A 耐性株候補を分離した。これを通常培地で通常条件下で培養した結果、14 株のナイシン A 耐性株 (SAN1~14 と命名) を得た。この 14 株におけるナイシン A の最小発育濃度 (MIC) を液体培地希釈法にて検証した。遺伝子発現は acid phenol 法により RNA 抽出後作製した cDNA を用いて、定量性 PCR 法により検証した。【結果】親株である Sa MW2 株の MIC が  $16 \mu\text{g/ml}$  であったのに対し、SAN5 は  $128 \mu\text{g/ml}$ 、それ以外の 13 株は  $64 \mu\text{g/ml}$  を示した。遺伝子解析の結果、SAN8 株では本来二成分制御系因子により発現誘導の起こるナイシン A 耐性遺伝子の発現が、ナイシン A 非作用時においても恒常的に発現していることが明らかになった。一方、SAN5 株ではこれまでナイシン A 耐性遺伝子として認識されていた遺伝子の発現は消失し、機能未知のレギュレーターである MW1875 と同じく機能未知の ABC トランスポーターである MW1874-71 遺伝子発現が MW2 株に比較し 10~50 倍上昇していることが明らかになった。【考察】MRSA である Sa MW2 株は、バクテリオシンであるナイシン A を高濃度、長期間暴露することにより、一部の菌は耐性化することが明らかになったが、耐性化のメカニズムは異なることが示唆された。

# 17

## グリチルレチン酸誘導物質の黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性について 大山 健太郎（口腔顎顔面外科学分野・博士課程3年）

【目的】黄色ブドウ球菌(*Sa*)は、ヒトの鼻腔・口腔・皮膚等の常在菌として知られているが、種々の化膿性疾患等の日和見感染症を引き起こす。本研究は、天然成分である甘草から抽出されるグリチルレチン酸誘導体の *Sa* に対する抗菌効果について検討することが目的である。

### 【材料と方法】

*Sa* 臨床分離株として、メチシリン耐性 *Sa*18 株とメチシリン感受性 *Sa*32 株を用いた。甘草由来グリチルレチン酸誘導物質として、グリチルレチン酸二カリウム(GRA-K)、3-サクシニルオキシグリチルレチン酸二ナトリウム(S-GRA)、グリチルレチン酸(GRA)、グリチルレチン酸ステアリル(GRA-S)、ステアリン酸グリチルレチニル(SA-GR)を用いた。抗菌活性評価は、微量液体希釈法(MIC法)と短時間処理による殺菌効果の検討を行った。グリチルレチン酸誘導物質の作用機序を検証する目的で、菌体結合能試験、マイクロアレイ、糖要求度試験並びに real time PCR を行った。

【結果】 *Sa* 臨床分離株 50 株について検討を行った結果、GRA 及び S-GRA において強い抗菌活性が認められ、その作用は静菌的であった。菌体結合能試験により、GRA 及び S-GRA は *Sa* 菌体との結合が認められた。マイクロアレイ並びに糖要求度試験より、グリチルレチン酸誘導物質は *Sa* の糖代謝に影響を及ぼすことにより、抗菌作用を示している可能性が示唆された。また、グリチルレチン酸誘導物質は黄色ブドウ球菌の病原性因子の調節を担う RNAIII を顕著に抑制した。

【考察】本研究より、GRA 及び S-GRA は *Sa* に対し静菌的な抗菌活性を有することが明らかになった。また、*Sa* との結合性を認め、*Sa* の糖代謝に影響を及ぼしていることから、GRA 及び S-GRA は *Sa* と結合し、その糖代謝を抑制することにより抗菌作用を示している可能性が示唆された。

# 18

## 歯科用ユニットの水質調査～菌の繁殖を防ぐには～ ○柏木 孝文\*、田島 理那\*、西里 利依子\*、細田 智枝\*、宮原 佑佳\*、 右田 裕乃\*\*（口腔微生物学分野・\*歯学部3年、\*\*歯学部2年）

【目的】歯科用ユニットは歯科治療行為を行う場であるが、これまで歯科用ユニットの汚染状態に関する報告は少ない。歯科用ユニットの水質中細菌数を調べることで、よりよい洗浄方法を検討することが本研究の目的である。

【材料と方法】各診療科の歯科用ユニットから、水銃洗浄前(A)、水銃洗浄後(B)、コップの水を、各々9/18(金)と9/28(月)に採取した。採取した水サンプルは原液と、100倍希釈したものを用い、いずれも細菌培養用普通寒天培地に100  $\mu$ l 播種した。2～3日、5% CO<sub>2</sub> 下で好気培養後、培地に育成したコロニーの数を数え、各サンプルの汚染状況を比較、検討した。

【結果】これまでの結果から、週末未使用の間において細菌が増殖傾向にあること、ユニット洗浄後は洗浄前に比べ細菌数が減少すること、使用年数が長いもしくは消毒機能が無いユニットでは、細菌数が多い傾向が認められた。

【考察】歯科用ユニットは厚生省から出されている現行水質基準より多くの細菌が認められ、汚染度が一般水道水に比べ高い傾向にあることが示唆された。また、診療前の洗浄には細菌数を減少させる効果が認められているが、一定時間水の使用のなかった月曜の朝の洗浄後の細菌数は金曜に比較し多いことから、月曜の洗浄方法を改良する余地はあると考える。今後は、現行水質基準よりはるかに多くの細菌が認められた、使用年数の高い歯科用ユニットや消毒機能のないユニットの洗浄方法について、今後改良方法を模索したいと考えている。

# 19

## Mechanical stress helps to maintain the differentiation potency of mesenchymal stem cells 成 昌ファン（口腔生化学分野・歯学部5年）

【目的】間葉系幹細胞（MSC: Mesenchymal Stem Cell）は自己複製能力を持つ多能性細胞であり、培養条件を変えることで、骨芽細胞、軟骨芽細胞、脂肪前駆細胞、筋芽細胞へと分化することができる。MSCを長く継代培養するにつれて、次第に多分化能が失われることが知られており、移植等の臨床応用に必要なMSCの数を確保する際のハードルとなっている。そのためMSCの効率の良い臨床応用のためには、MSCの分化多能性を維持させる新しい細胞培養法の開発が必要である。【材料と方法】マウス間葉系幹細胞株ST2細胞にLIPUS（低出力超音波）を照射したあと、間葉系幹細胞の未分化に関わる転写因子の発現をRealtime RT-PCRで確認した。次にマウス胎仔頭蓋冠由来骨芽細胞前駆細胞を、LIPUSで刺激しながら1~12継代培養した。継代した細胞を骨分化誘導し、石灰化物形成能と骨分化マーカーの発現を調べ、分化能を評価した。またさらにLIPUSを照射しながら継代培養した骨芽細胞前駆細胞の分化関連遺伝子の発現を解析した。またST2細胞をLIPUSで刺激した後、Western blottingでシグナル伝達分子の活性化を解析し、Syk特異的阻害剤やsiRNAを用いて、Sykのシグナル伝達への関与を調べた。【結果】ST2細胞にLIPUSを照射したところ、分化能維持に関わる転写因子であるNanogの発現レベルが顕著に上昇した。骨芽細胞前駆細胞にLIPUSを照射することで、継代培養による石灰化基質形成の低下や骨分化マーカー遺伝子群の発現レベルの減少が抑制され、骨分化能を維持できた。継代培養するとNanog, Sox2, Msx2の発現が減少し、PPAR $\gamma$ 2の発現が上昇したが、LIPUS刺激はこれらの遺伝子群の発現も回復させた。また、未分化なMSCに特異的に高発現しているSykが、LIPUS刺激によって強く活性化しており、Syk活性を抑制することでLIPUSによるNanogの発現レベルの上昇が抑制された。【考察】MSCにLIPUSを照射しながら培養することで、継代による骨分化能の喪失を防ぐことができることが分かった。今後、LIPUSの適切な出力強度や照射時間を検討し、異なる組織由来のMSCにおいてその効果を試すことで、MSCの分化能を維持させる新しい培養法の確立を目指したい。

# 20

## 矯正学的歯の移動における炎症反応の細胞シグナル伝達経路の解明—圧刺激による骨芽細胞のケモカインの発現誘導にはIL-1 $\beta$ とMyD88シグナル伝達系が必要である— 前田 綾（歯科矯正学分野・助教）

# 21

## オステオポンチン/オステオカルシン分泌比に着目した骨芽細胞多様性分化の実証

楠山 譲二 (口腔病理解析学分野・助教)

【目的】骨芽細胞は、①骨基質産生、②破骨細胞活性化を介した骨吸収調節、③免疫制御、を併せ持つ多機能性細胞である。元来、骨芽細胞は分化に従い、骨分化マーカーであるオステオカルシン(OCN)とオステオポンチン(OPN)の発現を上昇させ、多機能を担う成熟細胞へ様に分化するとされてきた。我々は骨分化誘導時に c-Jun N-terminal Kinase (JNK)の活性を抑制すると、石灰化誘導型の一般的な骨芽細胞(OCN 分泌型)と異なり、OPN を多量に発現するタイプの骨芽細胞(OPN 分泌型)が出現することを見出した。本研究では、「骨芽細胞の多様性分化」という新規概念の実証を試みた。【材料と方法】マウス新生仔頭蓋骨由来骨芽細胞を、骨分化誘導因子(アスコルビン酸、BMP、FGF2)と JNK 阻害剤を加えて培養し、OCN と OPN の発現量を比較した。次に未分化骨芽細胞、OPN 分泌型、OCN 分泌型骨芽細胞から mRNA を精製し、マイクロアレイで各細胞の遺伝子発現量比の網羅解析を行った。更に OPN 分泌型の誘導に必須の転写因子を同定するため、OPN 分泌型に特異的な転写因子群を強制発現または発現抑制した細胞株を樹立し、分化誘導による OPN 発現量を解析した。また JNK 特異的フォスファターゼである DUSP16 のノックアウトマウス(DUSP16 KO)を樹立し、骨芽細胞の多様性分化に与える影響を解析した。【結果】異なる骨分化誘導因子全てで、JNK 活性の抑制によって、OPN 分泌型骨芽細胞への分化が誘導された。マイクロアレイ解析で OPN 分泌型が特徴的に発現する転写因子、分泌タンパク質、細胞表面分子が明らかとなり、特に抑制性転写因子である Id4 が OPN 分泌型への分化に必須であることが分かった。また JNK 活性亢進が予想される DUSP16 KO 由来骨芽細胞は野生型に比較し、OPN 分泌型の出現が少なかった。【考察】骨芽細胞分化には OPN 分泌型と OCN 分泌型の少なくとも 2 種が存在し、その分化誘導は JNK で制御される可能性がある。JNK 活性の抑制で OPN 分泌型が誘導され、これは Id4 によって制御されていることが示唆される。今後、in vivo での実証を加え、骨芽細胞の多様性分化という新規概念を確立させたい。

# 22

## 味覚と摂食行動を結びつける新たな神経回路

岩井 治樹 (歯科機能形態学分野・助教)

【目的】摂食行動は、生命を維持するためだけではなく、超高齢者社会を迎えた今日、生活の質(QOL)を高めることにとって重要な問題である。この摂食行動の原動力となる食物に対する応答や欲求は、脳に存在する線条体腹側部に埋め込まれていることが想定されている。例えば、おいしい料理に含まれる幸福感や摂食行動を促進させる意欲など、この脳領域が活性化することが報告されている。しかし、食物に含まれる味情報を伝播する味覚神経回路と線条体腹側部が、どのような神経回路網を構成し、摂食行動を表出させているのか不確定である。線条体は、一般的に皮質および視床からの入力を受けることが知られており、我々はここから、線条体腹側部にも同様の神経機構があることを想定した。実際、線条体腹側部は皮質味覚野からの投射を受けることが報告されているが、視床味覚野から線条体腹側部への投射は不確定である。本研究では、視床味覚野から線条体腹側部へどのような入力があるのかを明らかにすることを目的とした。【材料と方法】ラット視床味覚野[後内側腹側核小細胞部(VPMpc)、卵形中心傍核(OPC)、内側中心核(CM)、束傍核(PF)腹外側部および腹内側部、後結合野(RRe)]から線条体腹側部への神経路を同定するために、この脳領域に順行性トレーサーを注入した。さらに、橋味覚野[内側結合腕傍核(MPB および MPBE)]から視床へ投射するニューロンと視床から線条体腹側部へ投射するニューロンが神経連絡を構成しているかどうか確認するために、橋味覚野に順行性トレーサーを前述の方法で注入し、線条体腹側部に逆行性トレーサーを注入した。【結果】橋味覚野の MPB および MPBE は、視床味覚野の OPC を経由して線条体腹正中部に、PF 腹外側部を経由して線条体腹外側部に、CM、PF 腹内側部、および RRe を経由して線条体腹内側部に、そして、VPMpc を経由して前交連後脚間質核にそれぞれ投射した。④考察：本研究において、橋味覚野から視床味覚野を介して直接的に線条体腹側部へ投射する神経回路の存在が明らかとなった。この神経回路は、皮質を介さないことから、味覚情報が意識に登ることなく、直接的に線条体腹側部に働きかけ、本能的な面での摂食行動の制御に関わっていることが示唆された。



【目的】歯周病は歯を喪失する大きな原因であり、歯周病原細菌によって惹起される炎症性疾患である。日本の“梅”は古来より家庭の食卓になじみが深く、健康増進効果があるとされている。近年、梅肉抽出成分 MK615 には抗腫瘍作用、抗酸化作用、抗炎症作用などがあることが報告されている。今回の研究の目的は歯肉線維芽細胞を用いて、歯周病原菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* および *Porphyromonas gingivalis* の LPS 刺激により産生される炎症性サイトカインを MK615 が抑制することを明らかにし、歯周病予防および治療への新しいアプローチとして発展させることである。【材料と方法】ヒト歯肉線維芽細胞(Gin-1)を通法により培養し、24well プレートに播種した。刺激の1時間前に MK615 (0, 0.1, 1 および 10  $\mu$  l/ml) で全処理した後、歯周病原菌である *A. actinomycetemcomitans* および *P. gingivalis* の LPS (100ng/ml) で6時間刺激した。LPS 刺激後の上清を回収し、Human IL-6 および IL-8 ELISA キットを用いて IL-6 および IL-8 濃度を測定した。*A. actinomycetemcomitans* および *P. gingivalis* の LPS 刺激時の IL-6 および IL-8 産生における MAPK 経路も特異的インヒビターを用いて検索した。【結果】Gin-1 を *A. actinomycetemcomitans* LPS または *P. gingivalis* LPS 100 ng/ml で刺激したところ、培養上清中への IL-6 および IL-8 産生は著しく上昇するが、MK615 で前培養したところ MK615 の濃度依存的に IL-6 および IL-8 産生は抑制された。また、*A. actinomycetemcomitans* LPS および *P. gingivalis* LPS 刺激による IL-6 および IL-8 産生は p38MAPK インヒビター添加により抑制された。【考察】我々はこれまでにマクロファージ系細胞において歯周病原菌の LPS 刺激における炎症性サイトカインの産生を MK615 が抑制することを示した。今回の研究で歯肉線維芽細胞からの IL-6 および IL-8 の産生を MK615 が抑制することが明らかになり、歯周組織において MK615 が歯周病治療や予防に重要な役割を果たす可能性が示唆された。

【目的】*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) は歯周病原菌のひとつであり、様々な病原性因子を有する。しかしながら、その病原性因子の遺伝子発現調節の報告例は少ない。本研究では、遺伝子発現制御を担う小分子 RNA として知られる small regulatory RNA (sRNA) の同定を行い、同定された sRNA の遺伝子発現調節に及ぼす影響を解析することを目的とする。

【材料と方法】対数増殖期まで培養した Aa HK1651 株より Total RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用い 500 bp 以下の RNA をターゲットとした塩基配列の決定を行った。得られた塩基配列のうち、遺伝子間領域および遺伝子の逆鎖に発現しているものを sRNA とした。一部の sRNA においては、様々な培養条件での発現性をノーザンブロットング法により解析した。

【結果】遺伝子間領域においては 646 個、遺伝子上の逆鎖においては 614 個の sRNA を同定した。これらは独立した 2 回の解析において同じ傾向を示した。これらの一部は培養条件を変えることにより発現性に変動を示した。

【考察】本研究により、新たに 1058 個の sRNA を Aa より同定した。これらの一部は生体を模した環境で発現変動を示すため、生体中で何らかの遺伝子発現制御を担っている可能性が考えられる。今後は、sRNA による病原性因子の発現制御を解析することにより Aa の病原性について新たな知見を得ることを目指す。

【目的】歯科医にとって非常に馴染み深いガッタパーチャに形状記憶機能を付与し、この機能を利用した操作性や封鎖性に優れた新規の根管充填法の開発を目的としている。

【材料と方法】主成分はガッタパーチャ（トランスポリイソプレン）であり、このポリマーを架橋させることにより形状記憶機能を備えた試料の試作を行った。この試料について、形状記憶性、形状回復応力あるいは弾性率等の熱的、理工学的性質についての測定を行った。さらに根管充填用ポイントを試作し、根管充填の操作性について検討した。また、長期的な封鎖性についても調べた。

【結果】架橋剤の配合率を調整することにより、口腔内温度である 37℃の温度刺激で形状の回復が可能となり、また、良好な封鎖性を得るための弾性率への調整も可能であることがわかった。この結果に基づいて根管充填用ポイントを試作し、人工根管を用いて根管充填を行った。操作性については、根管充填用ポイントを根管に挿入し軽く圧接するだけで、37℃の温度刺激によってポイントの形状が回復し、根管を封鎖することが可能であった。また、その後長期にわたって封鎖性試験を行っているが、良好な封鎖が得られている。

【考察】歯内療法最終的な仕上げの処置である根管充填は、その歯牙の予後の良否を左右する極めて重要な処置であるにもかかわらず、現行の根管充填法は、いずれも直視することが不可能であり形状が把握しづらい根管を、歯科医の感覚を頼りに充填するというような確実性に乏しくテクニカルセンシティブティーの高い方法である。本研究における新規の根管充填法は、根管充填用ポイントに備わった形状記憶機能を利用することにより、簡単な操作で、効率よく、長期にわたって確実に根管を封鎖できる可能性を秘めており、新しいタイプの根管充填法の開発が期待できる。

【目的】本研究は、オペーク材料と支台材料、および装着材料の違いが小臼歯部ジャケットクラウンの破折抵抗性に与える影響について検討したものである。

【材料と方法】形成したレジン歯をもとに、Castwell M. C. 12 で金属支台（ME）を Build-It FR にてレジン支台（CR）を作製。ジャケットクラウンはボディ材料として Meta Color Prime Art Body Paste を、オペーク材料として Top Opaque（TO）および Jacket Opaque（JMO）を使用し作製。作製したクラウンは Panavia F2.0（PA）および Super-Bond C&B（SB）を用いることで装着した。これにより、2×2×2=8 通りの組み合わせで試料を 6 個ずつ作製した。作製した試料を半径 4.0mm の半球状ステンレス製荷重子を用いて、280N、1Hz で繰り返し衝撃試験を行い、破折を引き起こすまでに要した衝撃回数を、そのジャケットクラウンの破折抵抗値として記録した。その後、結果を統計処理にて分析した。

【結果】CR に装着した場合は、TO を用いた場合に比べて JMO を用いたジャケットクラウンの破折抵抗性は有意に向上し、CR/JMO の組み合わせが最も高い破折抵抗性を示した。また、CR に装着した場合はすべての試料で支台歯ごと一塊として破折していた。

【考察】CR/JMO の組み合わせが最も高い破折抵抗性を示したのは、弾性率の近似した支台歯、セメント、修復材料同士が強固に接着することで一塊の物体のように振舞ったのが要因であると考えられる。また、JMO が衝撃を吸収する緩衝材として働いたことも、一因であると考えられる。

歯科矯正用アンカースクリューの安定性と安全性の向上を目的とした  
維持力強化補助装置(スパイクアンカー)の開発  
権 相豪 (歯科矯正学分野・博士課程2年)

亜酸化窒素吸入とイージーリスニング音楽が自律神経機能に与える影響  
山下 薫 (歯科麻酔全身管理学分野・医員)

【目的】われわれは精神鎮静法を用いて歯科治療時のストレスを軽減し、さらにヘッドホンでイージーリスニング音楽を聴いてリラックスしながら歯科治療が受けられるリラックス歯科外来を専門外来として立ち上げて実践している。本研究では、亜酸化窒素吸入鎮静法と聴覚を利用したイージーリスニング音楽が、自律神経活動にどのような影響を与えるか調べることを目的としている。今回、亜酸化窒素吸入鎮静法とヘッドホンによる音楽聴取が自律神経機能に及ぼす影響について検討したので報告する。【材料と方法】有志健康成人に脳波・心電リアルタイム解析システム MemCalc/Makin2 の電極を装着した。安静状態で循環動態、自律神経機能、中枢神経機能の各パラメータをパソコンに取り込んだあと、30%亜酸化窒素と70%酸素を鼻マスクから吸入させて各パラメータを測定記録した。次にポータブルオーディオシステムにノイズリダクションヘッドホンを接続してアイネクライネナハトムジーク第2楽章(音楽1)を聴かせて各パラメータを測定記録したあと、ラデツキー行進曲(音楽2)を聴取させて同様の測定記録を行い、酸素投与5分後にも同様の測定記録を行った。また、音楽2→音楽1の順に聴取させ、各パラメータを測定記録する実験も行った。【結果】亜酸化窒素の吸入により、交感神経緊張度の指標である LF/HF が減少した群と増加した群が認められた。LF/HF 減少群では、亜酸化窒素吸入を行うと LF/HF は減少し、HF は増加する傾向が認められた。亜酸化窒素吸入鎮静に音楽を併用すると、LF/HF は増加し、HF は減少する傾向が認められた。また、減少群では、聴取する音楽の順序を入れ替えても、LF/HF、HF の推移に影響がなかった。【考察】亜酸化窒素吸入は自律神経に作用するが、その影響には個人差があり交感神経が緊張するタイプと副交感神経が緊張する2タイプに分かれることが示唆された。減少群では亜酸化窒素吸入単独では交感神経緊張度が減少し、副交感神経緊張度が増加する ( $P < 0.05$ ) が、音楽併用をすることで交感神経緊張度が増加し、副交感神経緊張度が減少する傾向が認められた(有意差なし)。減少群では亜酸化窒素吸入鎮静に併用した音楽によって精神的緊張が強くなってしまう可能性があることが示唆された。

29

遺伝子多型を介する機能性ディスペプシアと睡眠時ブラキシズムの関連  
福嶋 美佳（歯科矯正学分野・博士課程1年）

30

持続的な荷重負荷による骨形成促進の新たな試み  
小柳 宏太郎（歯科矯正学分野・博士課程3年）

【目的】 Matrix metalloproteinase (MMP)-1 は線維芽細胞や軟骨細胞から分泌され、炎症における組織破壊や組織のリモデリングに関与している。GLP (glucagon-like peptide)-1 受容体作動薬は DPP (dipeptidyl peptide)-4 阻害薬と共に、現在、2型糖尿病患者に対して最も多く使用されている経口糖尿病治療薬であり、合わせてインクレチン関連薬と称される。インクレチン関連薬は膵臓に対する作用以外に、心保護作用、腎保護作用やマクロファージにおける抗炎症作用など多彩な膵外作用を示すが、歯肉線維芽細胞における役割については未だ不明な点が多い。そこで本研究ではヒト歯肉線維芽細胞において腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ ; TNF- $\alpha$ )が誘導する MMP-1 の産生に GLP-1 受容体作動薬がどのような影響を与えるかについて検討した。【材料と方法】 ヒト歯肉線維芽細胞を用い、種々の濃度の GLP-1 受容体作動薬(liraglutide と exenatide)を含む培地で刺激し、MTT 法により生存能の評価を行った。また、同細胞を TNF- $\alpha$  と GLP-1 受容体作動薬を含む培地で刺激し、培養上清を回収した後、ELISA にて MMP-1 産生量を調べた。測定結果については、Mann-Whitney *U*-test を用いて危険率 5%で統計処理を行った。【結果】 ヒト歯肉線維芽細胞において TNF- $\alpha$  は MMP-1 の産生を誘導した。両 GLP-1 受容体作動薬はヒト歯肉線維芽細胞の生存能に影響を与えなかったが、liraglutide がヒト歯肉線維芽細胞において TNF- $\alpha$  が誘導する MMP-1 の産生を増強したのに対して、exenatide は MMP-1 の産生に影響を与えなかった。【考察・結論】 今回の結果より、同じ GLP-1 受容体作動薬がヒト歯肉線維芽細胞において TNF- $\alpha$  が誘導する MMP-1 の産生に対して異なる調節を示す可能性が示唆された。これは薬剤の半減期の違いを反映する可能性も考えられるが、現在、ヒト歯肉線維芽細胞において TNF- $\alpha$  が誘導する別の炎症性メディエーターに対する GLP-1 受容体作動薬の影響を検討し、合わせて考察してみたい。

【目的】水酸化カルシウムを歯髄組織に直接貼付すると「デンティンブリッジ」と呼ばれる硬組織が生じるが、その形成のメカニズムは不明な点が多い。一方、組織内においては、壊死細胞から周辺細胞に向けて放出される「アラーミン」が自然免疫誘導や修復にかかわることが、近年、明らかになってきている。本研究では、アラーミンのひとつである HMGB-1 が硬組織形成にどのように関わるか、明らかにする。

【材料と方法】象牙芽細胞系統の株細胞である OLC（マウス由来／秋田大・杉山先生より供与）にアラーミンの一種である HMGB-1 (high mobility group box protein1) を投与し石灰化誘導の有無を確認した。また、ラットの歯髄細胞を初代培養し、この培地に HMGB-1 を投与して一定日数をおいた後、培養上清を回収した。この培養上清を象牙芽細胞系統の株細胞である TGC 細胞（GFP 導入ラット由来／岡山大・辻極先生より供与）の培地に添加し、石灰化誘導の有無を検討した。

【結果】OLC に直接 HMGB-1 を投与したところ、石灰化誘導の作用は確認できなかった。また、ラット歯髄細胞を初代培養し、この培地に HMGB-1 を投与後、回収した培養上清を TGC に加えた実験では石灰化誘導が見られた。

【考察】歯髄の中にアラーミンに反応して象牙芽細胞の石灰化誘導因子を出す細胞が存在する可能性が示唆された。今後、この細胞の同定と、石灰化誘導因子の同定を行う予定である。

【目的】ニッケルチタン(以下、NiTi)NiTi ファイルで形成した根管を充填する方法として、最終拡大に用いた NiTi ファイルと相似形のマスターポイントを用いた単一ポイント充填法が行われつつある。単一ポイント充填法では一本のポイントとシーラーを使用するため、ポイントの適合性が得られればシーラー層が薄くなり、高い封鎖性が期待できる。本研究は、湾曲根管において拡大テーパーおよびサイズの因子がポイントの適合性に与える影響を検索し、精度の高い根管充填法の確立へ発展させることを目的とした。【材料と方法】エンドウェーブを用い、#30、35 もしくは 40 (.06 テーパー)、#25、30、35 (.04 テーパー) を最終拡大サイズとして、湾曲根管を有する透明ブロックを形成し、根管充填を行った後、試料を根尖から 1mm 間隔で 5mm まで根管長軸と垂直な方向に試料を切断した。画像解析ソフトウェアにより各切断面のマスターポイント充填率 (%) およびシーラー層の厚みの最大値 (mm) を求め、統計処理を行った。【結果】拡大が小さい号数では、良好な値が得られた。一方で拡大号数が上がると、マスターポイントの適合性が低くなり充填率が低下し、シーラー層も厚くなった。全ての群で根尖部の充填率が低く、根管口に近づくにつれて充填率は増加した。根尖部ではマスターポイントの根管内の位置が偏移しやすく、根管壁とマスターポイントの距離が異なるためにシーラーの厚みに差があることが、#40 の根尖付近の試料間の比較によって明らかになった。ポイントの適合性においては、テーパーよりも拡大号数が与える影響の方が大きかった。【考察】ファイルは根尖付近での根管偏移量が大きくなり、形成後の根管形態が直線化し、ポイントの適合性が低下する。充填率は#40 群の根尖から 1mm の位置で最も低く、マスターポイントの充填率が 53%を示す例もありシーラー層が厚いため根尖部の封鎖性が低下することが示唆される。NiTi ファイルにおいても、拡大サイズが大きくなる場合は、根尖および湾曲を考慮し、ファイルに負担が少ない根管形成を行う必要がある。

【目的】痛みの感じ方は精神状態により変化することが知られる。これは視床や大脳皮質など上位中枢からの下行性投射が、脳幹の痛覚抑制回路を介して痛みの入力を制御するシステムの働きによると考えられる。このシステムの異常により、痛みの入力が増強することが慢性疼痛の原因の一つと考えられ、注目されている。本研究では痛覚制御を行う上位中枢の中でも、特に三叉神経核から強い入力を受ける「視床・内側下核(Sm)」に注目し、痛覚制御メカニズム発現の基盤となる神経回路の解明を目指した。【材料と方法】ラットの Sm は、機能的に異なる 2 つの領域に区別される：三叉神経核／脊髄の侵害受容ニューロンから直接、痛覚入力を受ける Sm 背側部；および直接入力を受けない Sm 腹側部の 2 領域である。それぞれが形成する神経回路を単一細胞レベルで解明するため、①VGluT2(小胞性グルタミン酸輸体 2)により Sm の 2 つの領域を区別し、②シンドビスウイルスベクターを用いて、単一の Sm ニューロンを軸索末端まで標識し、再構築した。【結果】単一の Sm 背側部ニューロンは大脳皮質の前頭前野の一部、眼窩野腹外側部(VLO)に限局して軸索投射した。一方、単一の Sm 腹側部ニューロンはむしろ、VLO を避けるようにして、その周囲に軸索投射し、離れた 2 か所に軸索 bush を形成したのが特徴的であった。VLO は、中脳水道周囲灰白質への投射が知られ、痛覚抑制の機能をもつと推測される。従って、Sm 背側部は三叉神経核から侵害刺激情報を受け、痛覚抑制系を活性化するという、ネガティブフィードバックの神経回路を形成していることが示唆された。【考察】Sm には、侵害刺激により活性化するニューロンのほか、活動が抑制されるニューロン、刺激に応答しないニューロンの、3 種類の存在が報告されている。今回の解析で明らかになった二つの神経回路と、どのように対応するのか、今後は傍細胞記録法を用いて、電気生理学的性質と、形態学的特徴の両者を合わせて解析し、機能を明らかにしていく。さらに生体において光遺伝学技術を用いて Sm を活性化し、推測された機能の検証を行い、最終的には、慢性疼痛の病態解明、治療法の開発に繋げたい。

