

# 鹿児島大学歯学部紀要

Annals of Kagoshima University Dental School

Volume 21

2001

— 目 次 —

- Quantitative Assessment of Bone Mineral Content  
in Dental Radiogram..... Takenori Noikura ... 1
- 骨芽細胞の分化と機能 ..... 田 村 正 人 ...15
- 咀嚼と歯槽骨骨塩量ならびに噛みしめと肘関節屈曲筋力に関する最近の知見  
..... 黒江 和斗, 飯野祥一朗, 森田三保子, 伊藤 学而 ...27
- 口腔癌に対する放射線照射併用超選択的動注化学療法  
の治療効果に関する検討 ..... 石 神 哲 郎 ...35
- 1999年鹿児島大学歯学部 SCI 発表論文リスト .....46

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、総説あるいは啓蒙的・解説的な論文を主体に掲載する。本学部の教官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. 和文原稿はA4版またはB5版400字詰め原稿用紙を用いて書き、英文原稿はA4版用紙に10ピッチ、ダブルスペースでタイプする。別にコピー部をつける。原稿をワープロで作成した場合は、フロッピーディスクをつける。
  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(5words以内)、5)抄録本文はA4版タイプ用紙で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<sup>3)</sup>によれば……  
例2: Hodgkin & Huxley<sup>1)</sup>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。全て図表, 写真などを含めて400字詰め原稿用紙5枚以内にまとめる。但し, 採否は編集委員会が決定する。

### 編集委員

小 椋 正 笠 原 恭 夫  
長 岡 英 一 西 川 殷 維  
(50音順)

# Quantitative Assessment of Bone Mineral Content in Dental Radiogram

Takenori Noikura

Department of Dental Radiology  
Kagoshima University Dental School  
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

## Abstract:

Aluminum Equivalent (AL equivalent) image system was developed to measure the bone mineral content in mandible using conventional dental radiography, intraoral digital dental radiography and panoramic radiography by one shot dual energy subtraction method. Z-score was used as evaluation of bone changes, because of variation of normal mandibular bone of AL equivalent values by age, gender and region.

For clinical application, Z-score was taken to evaluate of periapical bone changes after root canal treatment, bone changes in the around of implant, bone changes in elderly subjects, and bone changes of end stage of renal diseases. Furthermore, for application of animal experiments, AL-equivalent values were used to evaluate the effect of microgravity to the vertebral growth in growing rats, and effects on the bone mineral content by hindlimb suspension in rats.

## Key words:

Aluminum equivalent image, panoramic energy subtraction,  
mandible bone changes, the effect of microgravity to vertebral bone

## I. Preface

Various kinds of devices such as QCT and DEXA have been developed to measure bone mineral content for medical examination and treatment<sup>1,2)</sup>. However, it is quite difficult to adapt these devices to the jawbone. Therefore, dental radiogram was used to measure the bone mineral content in the jawbone. It is well known that aluminum (Al) or copper (Cu) step can be radiographed simultaneously and converted to Al or Cu equivalent value for quantitative analysis, which was used for densitometric measurement by

optical density scanning<sup>3,4)</sup>. However, these calculations were time consumption and not practical for clinical application.

We developed a computer-processing system<sup>5)</sup> to convert equivalent image using aluminum as a reference for intraoral dental radiography, intraoral digital radiography and panoramic radiography. As the equivalent value is indicated by X-ray attenuation according to aluminum thickness, it provides a value corresponding to the quantity of bone mineral content. Furthermore, the precision of aluminum equivalent value

obtained allows longitudinal comparison, that is, it was able to demonstrate not the absolutely quantity of bone mineral content, but relative changes.

For clinical applications, mandibular bone changes were examined in the periapical regions, around implants, in elderly subjects, and in renal osteodystrophy in which was suggested in elucidation on bone metabolism of  $VD_3$ . In an animal experiments, this method was used to examine the effect of a 14 days space-flight on the vertebrae of a rat. In further animal experiments, changes in bone mineral content of rat femur following suspension.

## II. Fundamental study for bone mineral content of mandible

### A. System of AL Equivalent system

The aluminum equivalent imaging system consists of dental film, TV-camera, Computer processing system and display. Data was input using a TV system and digitized to 8 bit density. The aluminum equivalent value was calculated by a cubic conversion curve to the gray level of the wedge. Equivalent image was newly presented as the density axis using the aluminum equivalent value, and displayed as either a black and white, or color image (Fig.1).

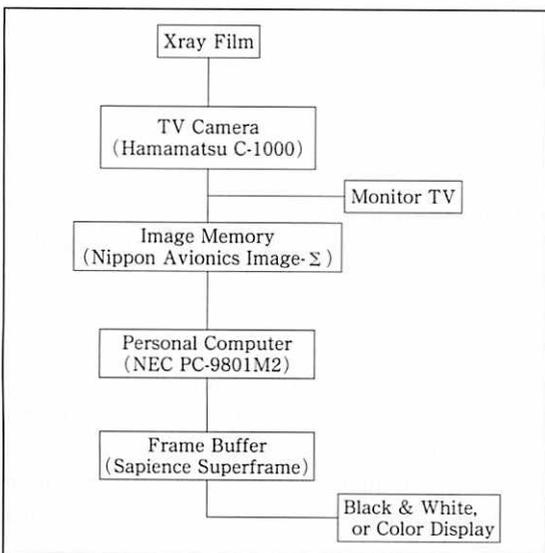


Fig. 1 Block Diagram of AL Equivalent System

### B. Indicator and aluminum wedge

An aluminum wedge for reference was attached to the indicator, and radiographed together on the dental film. The shape of reference was designed for easy input of the data into the computer using a wedge instead of a step. The thickness of the aluminum wedge varied from 0 mm to 16mm, and set with an indicator, that was radiographed on the dental film (Fig.2).

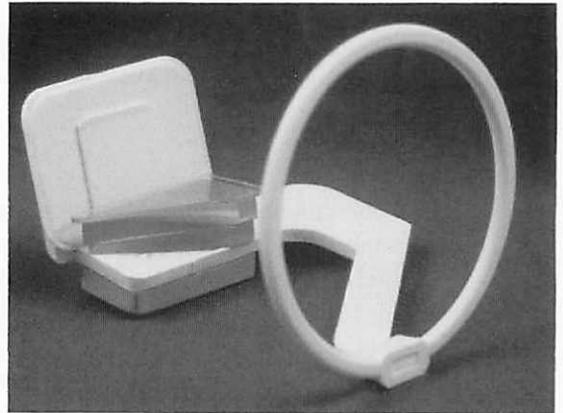


Fig. 2 Indicator with aluminum wedge

### C. Intraoral dental radiography

Dental radiogram was used to obtain aluminum equivalent image. As a reference, aluminum was adopted because it shows an attenuation coefficient similar to that of bone. Film was processed as film to the usual in an automatic developing machine (Fig.3-1).



Fig. 3-1 Dental Radiogram

A TV system (C1000, Hamamatsu Photonics) was used for inputting of images. The TV system is capable of high-speed input of plane data, but is still inferior to a laser or drum scanner in noise and



(charge-coupled device), and the X-ray generator is MAX-F1 (Morita Corp., Kyoto) at a tube voltage of 60 kV, a tube current of 10 mA, and a total filtration of Al 1.5mm and is synchronized with the electronic shutter of CCD. The pixel number of the CCD is 400 x 600, the size of a single pixel is 48 x 48  $\mu\text{m}$ , and the number of tones is 256 (8 bit). Image files are stored in magnet-optical discs. An image file consists of a header and a data portion. Data of the circumstances of radiography (patient information, date, time) are recorded in the text format in the header, and image data are recorded in the 1 byte/pixel binary format in the data portion. Image files were converted to the BMP format (standard image format) by Visual BASIC (Microsoft Corp., USA) of Windows using a personal computer (PC9821, NEC), these images were displayed, and the pixel values were determined. For equivalent imaging, an Al-wedge (0-16 mm



Fig. 4-1 Dixel Imaging System



Fig. 4-2 Al Equivalent Image by Dixel radiography

thick) was attached as a reference to the indicator with a sensor (Fig.4-1, 2).

### C. Panoramic radiography using energy subtraction method

Measurement of bone mineral content by one-shot dual energy subtraction of panoramic radiography was performed. For separating the bone mineral content from soft tissue on panoramic images, a one-shot dual energy subtraction method<sup>8, 9, 10)</sup> was employed by using computed radiography (CR-7000) and CR-workstation. The tube voltage was 80KVp with Sm-filter. Cu-filter of 0.4mm thickness was set between the first and the second imaging plate (IP). As references, aluminum cylinders (3-12mm) and aluminum wedge (2-18mm) which was theoretically created corresponding to tomographic image layer were put in water phantom, and set on chin-rest. The subtraction images were evaluated by CaCO<sub>3</sub> with urethane (standard Phantom), and compared with aluminum equivalent images of dental films. Aluminum equivalents of the CaCO<sub>3</sub> blocks as references in water radiographed on plane image were corresponded to panoramic subtraction images. Aluminum equivalents of CaCO<sub>3</sub> phantoms were separated from urethane as soft tissue by panoramic subtraction images. On the patient, panoramic subtraction images showed lower than dental aluminum equivalent images because of soft tissue, which were estimated about 20-30% content of soft tissue (Fig. 5-1, 2, 3, 4).

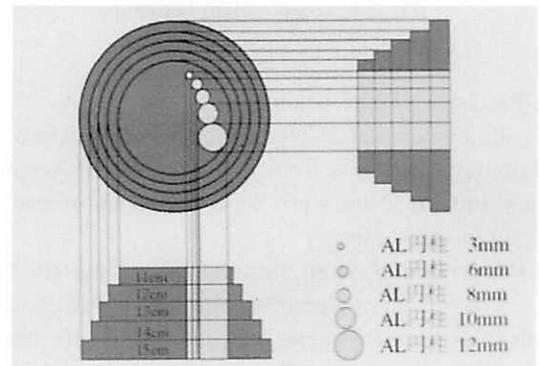


Fig. 5-1 Phantom for Energy Subtraction

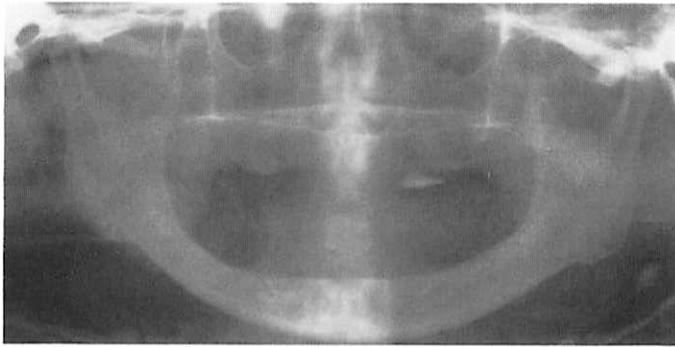


Fig. 5-2 Subtraction Bone Image by Panoramic Radiography

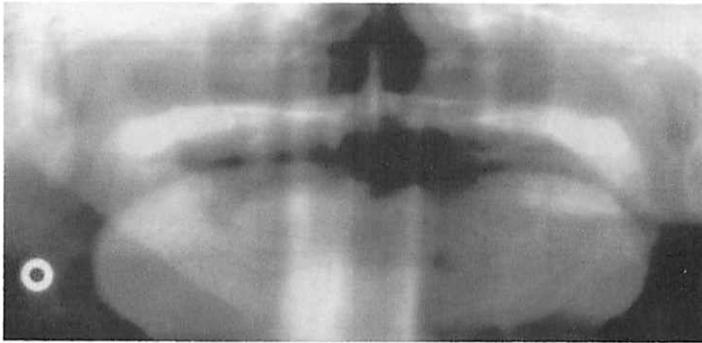


Fig. 5-3 Subtraction Soft Tissue Image by Panoramic Radiography

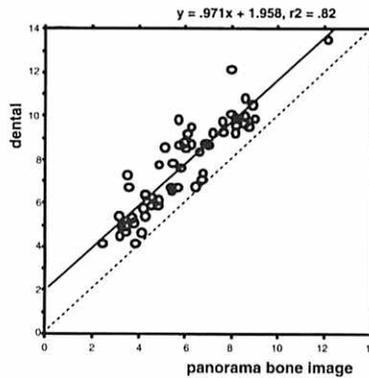


Fig. 5-4 Comparison AL-Eq value between Energy subtraction image and Dental image

**D. Evaluation of bone changes by aluminum equivalent images**

1. Data sampling area and aluminum equivalent values of normal mandibular bone

Data sampling area was located at each alveolar septum of the mandibular premolar and molar

regions by a range that does not exceed half the root length to avoid influence.

The mean and SD of aluminum equivalent values in normal alveolar septum of mandibular premolar and molar regions (Fig.6-1, 2).

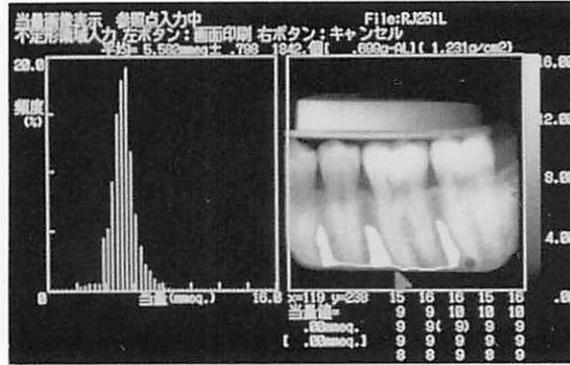


Fig. 6-1 Data Sampling Area and Aluminum Equivalent Values of Normal Mandibular Bone.

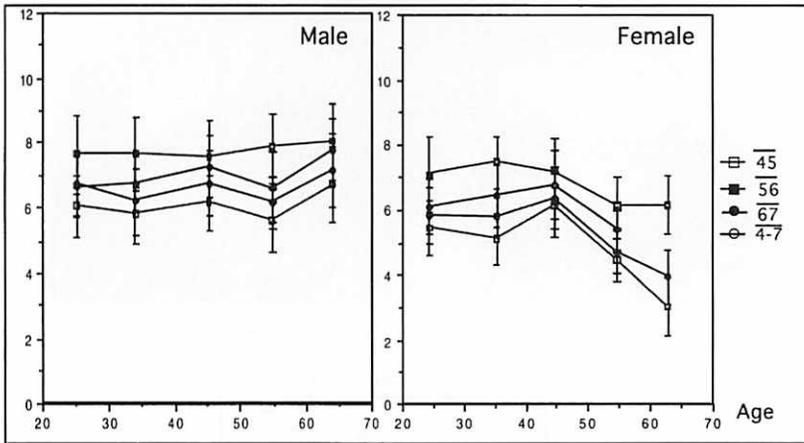


Fig. 6-2 The Mean and SD of Aluminum Equivalent Values in Alveolar Septum of Mandibular premolar and molar regions in Normal subjects.

2. Evaluation of bone changes by Z-score

Because Al equivalent value of normal mandibular bone changes by age, gender and region, bone changes were evaluated by normalization to the Z-score in the normal group. Z-score is calculated following a numerical formula. As the fundamental criterion for evaluation of bone changes, Z-score is based on  $\pm 2$  SD.

$$Z\text{-score} = \frac{\text{Sample Al-Eq} - \text{Ave. AL-Eq (normal)}}{\text{SD of Ave. AL-Eq (normal)}}$$

III. Clinical application

A. Periapical bone changes after root canal treatment

Periapical bone changes are usually observed as normal, radiolucent or radiopaque areas on radiograms. Here, differences between such macroscopic findings and equivalent image were compared. Furthermore, those relations to the condition of root canal fillings were examined. Periapical bone changes on radiograms were compared to analysis of Z-score of aluminum equivalent images. There were 1370 teeth used for evaluation. Bone changes of the root apices were divided into 3 groups by radiographic findings as normal, radiolucent or radiopaque. Al equivalent values were obtained from a sampling area at each root apex and evaluated by the Z-score from a normal root apex (Fig.7-1). Findings were divided

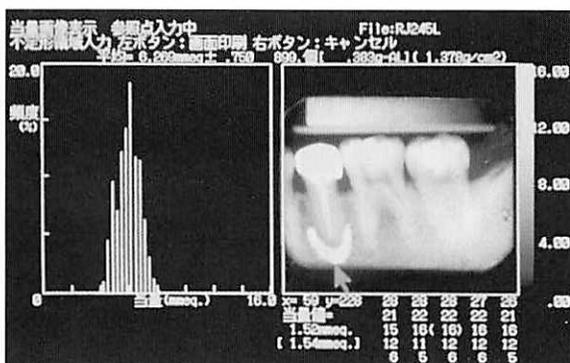


Fig. 7-1 Periapical Bone Changes after root canal treatment

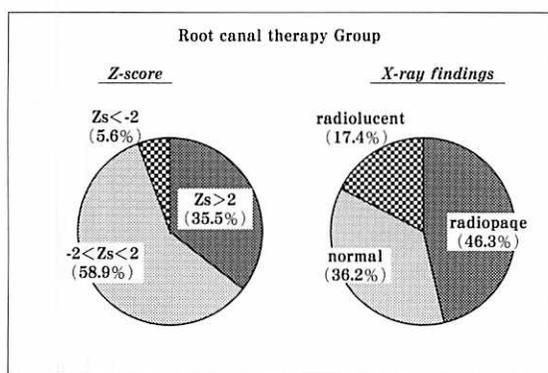


Fig. 7-2 Difference of Evaluation between Z-score and X-ray findings at Periapical Regions

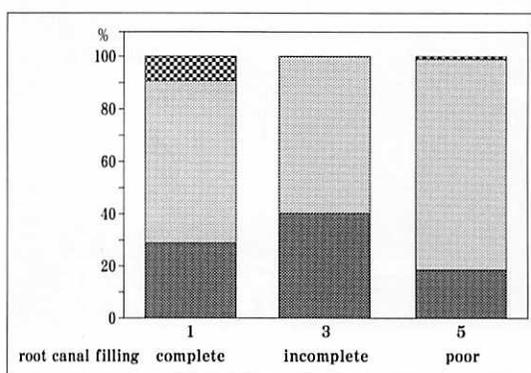


Fig. 7-3 Evaluation of Bone Changes by Z-score due to the Condition of Canal Filling

into below -2, between -2 and 2, and over 2 .

Lytic bone changes at the root apex were found in 17.4% by film findings and in 5.6% by Z-score. However, condensing osteitis was found in 46.3% on macroscopic findings, and in 35.5% by Z-score (Fig.7-2). These differences are considered due to a differences in the base density of the film causing evaluations of macroscopic findings from each other. Next, the relation to the condition of root canal fillings was examined to determine whether the condition of the root canal filling influenced the surrounding periapical bone. Radiograms were divided into 3 groups consisting of the complete root canal filling, the incomplete filling and the poor root canal filling based on the condition of the root canal filling. The results showed no relation to the condition of the root canal filling

in this series. Since there are many factors that influence bone changes such as time course after fillings, there dose not seem to be any simple conclusion (Fig.7-3).

**B. Evaluation of bone changes of around implants<sup>11)</sup>**

Implants have become common in dentistry and are now often performed. It is important to evaluate bone changes between the implant and its peripheral bone structure, which were used by radiograms. Here, bone changes caused by Biocerum and titanium were examined. Furthermore, progression of bone changes due to titanium were observed over 3 years (Fig.8-1, 2, 3). Al equivalent value and SD over time demonstrated bone changes due to Biocerum and titanium implants.

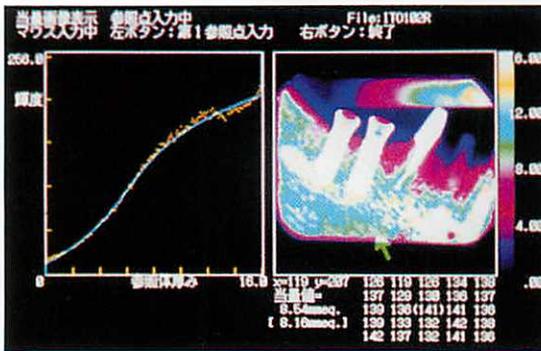


Fig. 8-1 Immediately after implant

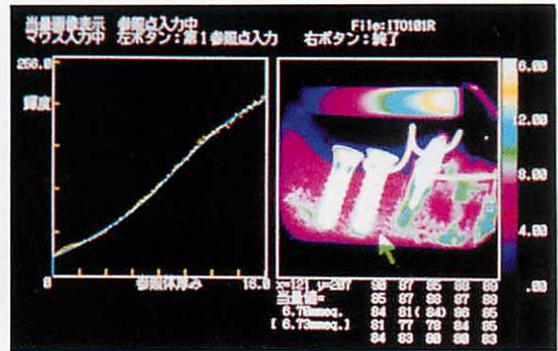


Fig. 8-2 3weeks after implant

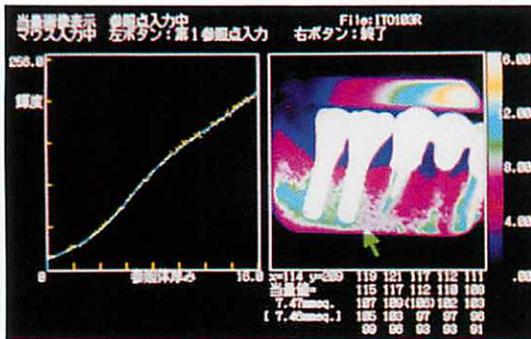


Fig. 8-3 6 month after implant

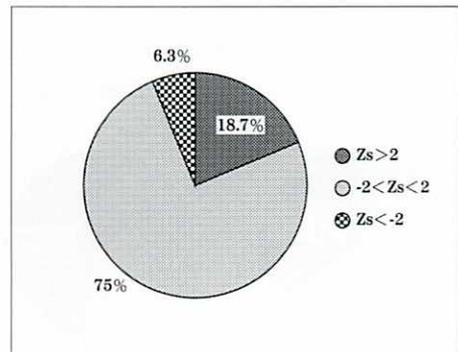


Fig. 8-4 Evaluation of Bone Changes with Titanium after 3 years by Z-score

Bone reaction was highest at about one year for Biocerum, while that for titanium occurred at about 6 months. Bone reaction seemed to occur earlier with titanium than with Biocerum. Bone changes around a titanium implant over 3 years were shown as the ratio to Al equivalent value. As the evaluation by Z-score at 3 years after implant, the normal level was estimated to be 75%, and sclerosing osteitis 18.7%, while bone resorption was 6.3% (Fig.8-4).

**C. Evaluation of mandibular bone changes in elderly subjects**

Human longevity is currently increasing and osteoporosis in females is especially becoming issue. Osteoporosis of the mandible was examined by Z-score. The elderly group consisted of 17 males and 39 females with average ages of 76.7 and 81

years, respectively. In the edentulous mandibular bone, the sampling area was set at the mental foramen as a standard point (Fig.9-1). Approximately 31% of the female group was thought to show osteoporosis in the mandible (Fig.9-2).

**D. Evaluation of mandibular bone changes of ESRD**

End stage renal diseases (ESRD) are known to cause bone changes not only in skeletal bone but also in the maxilla and mandible<sup>12, 13, 14</sup>. Over time, abnormal bone formation occurred in the maxilla during prolonged hemodialysis. The panoramic radiogram showed destructive enlargement and mixed radiolucent and radiopaque findings in the maxilla and mandible. The histologic findings demonstrated new bone formations arranged in parallel, while, loss of cortical bone and

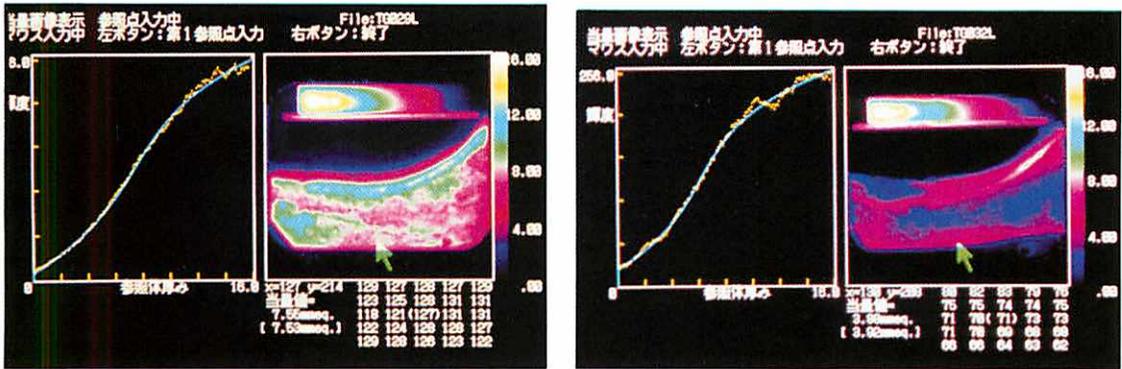


Fig. 9-1 Evaluation of mandibular Bone Changes in elder subjects.

83 years old, man.

85 years old, woman.

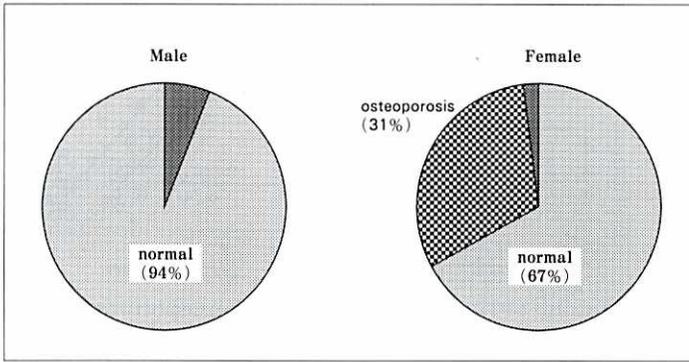


Fig. 9-2 Mandibular Bone Change in Old Age Group

disappearance of trabecular bone were also observed, and both condyles were destroyed. Dental radiogram also showed the disappearance of lamina dura and a ground glass appearance was indicated. These findings seemed typical of secondary hyperparathyroidism. In this study, two hundred and ten (119 males and 91 females) chronic hemodialysis patients were investigated. Patient ages ranged from 27 to 83 years with an average of 55.2 years in males and from 26 to 81 years with an average of 50.6 years in females. The duration of hemodialysis treatment ranged from 0.1 to 15 (average 5.8) years. The hemodialysis patients were divided into 3 groups by the level of serum I-PTH; group A: hyperparathyroidism (>300pg/ml), group B: normal (100<I-PTH<300pg/ml), group C: hypoparathyroidism (<100pg/ml) (Fig.

10-1). Correlation among BMC and serum biochemical variables was estimated in each group. According to this classification, there were 11 (5.2%) in the hyperparathyroidism group, 26 (12.4%) in the normal group and 173 (82.4%) in the hypoparathyroidism group (Fig.10-2). Correlation between factors of bone metabolism such as Z-score and serum biochemical factors in all hemodialysis patients was summarized (Fig.10-3). Then we focused in the relationship among Z-score, I-PTH, I-BGP and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in each 3 groups. In the hyperparathyroidism group, there was an inverse correlation between Z-score and PTH (r=-0.438) or BGP level (r=-0.274) (Fig.10-4, 5). As PTH and BGP increased, the Z-score decreased. However, there was no correlation between Z-score and PTH in the hypoparathyroidism group. The

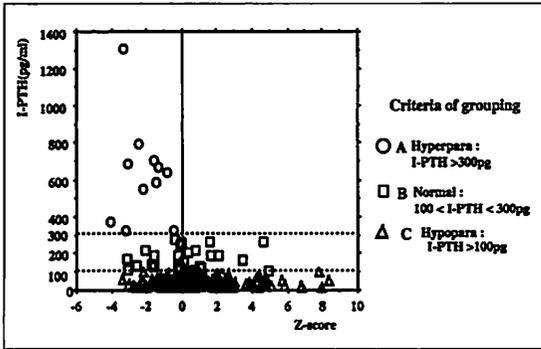


Fig. 10-1 Scattergram according to Z-score and I-PTH

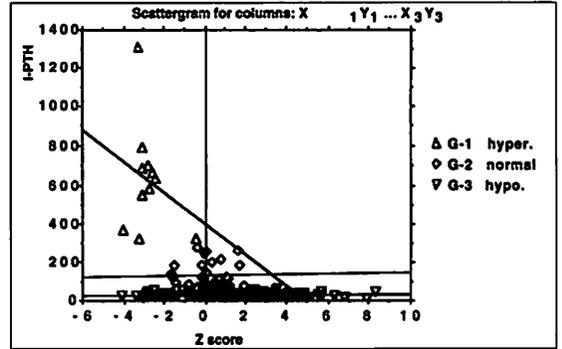


Fig. 10-4 Relation between Z-score and I-PTH in the Group

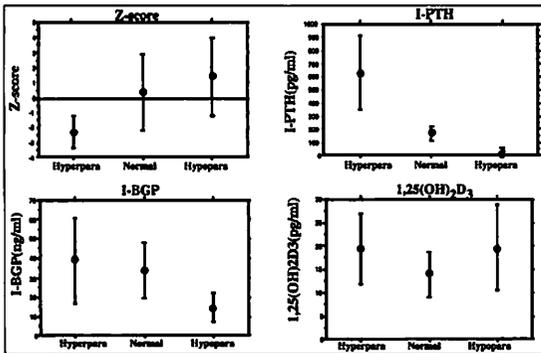


Fig. 10-2 Average and SD of Z-score, I-PTH, BGP and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in each groups

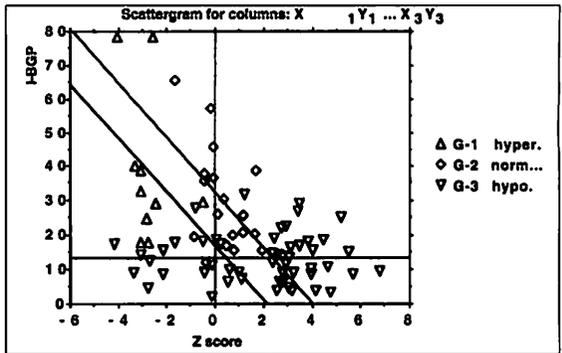


Fig. 10-5 Relation between Z-score and I-BGP in the Group

	Z-score	I-PTH	Hs-PTH	I-BGP	ALP	1,25VD <sub>3</sub>	Ca	P
Z-score	1							
I-PTH	*-0.337	1						
Hs-PTH	*-0.297	*0.638	1					
I-BGP	*-0.369	*0.503	0.788	1				
ALP	-0.139	*0.161	0.130	*0.467	1			
1,25VD <sub>3</sub>	-0.031	-0.123		-0.027	-0.007	1		
Ca	-0.008	*-0.316	*-0.341	-0.208	-0.215	0.160	1	
P	-0.118	*0.233	*0.451	0.120	0.016	-0.159	*-0.179	1

\*P<0,05

Fig. 10-3 Correlation Matrix for Variables

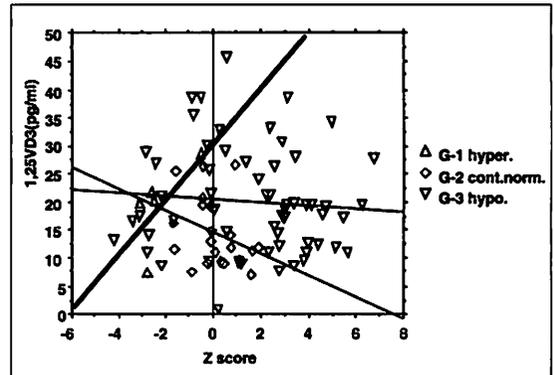


Fig. 10-6 Relation between Z-score and 1,25VD<sub>3</sub> in the Group

BGP level was within normal range but did not correlate with the Z-score. The serum 1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> level was below the normal range in the hemodialyzed group. A positive correlation was found between Z-score and 1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in the hyperparathyroidism group (r=0.67, p<0.01),

(Fig.10-6), but there was no correlation in the hypoparathyroidism group.

IV. Application for animal experiments

A. The Effect of Microgravity to the Vertebral Growth in Growing Rats<sup>15, 16, 17)</sup>

The effect of 14 days spaceflight on the vertebrae of rapidly growing rats was studied. Bone mineral density was measured from X-ray photographs (Fig.11-1), and the hardness of the vertebrae was measured with a Knoop microhardness tester. Histomorphometric examination was performed with a microcomputer aided system.

Twenty-five male Sprague-Dawley rats (8 week old) were used in this study. They were randomly assigned to the following five groups of five rats each: group A consisted of preflight ground control rats that were killed 2 h before launch; group B was made up of in-flight rats killed up to 5 h after landing; group C was the synchronous

ground control of group B; group D was 14 days spaceflight rats which were killed 9 days after landing; group E was synchronous ground control of group D (One of a series of articles that describes research conducted on dedicated life sciences missions flown on the US space shuttle). In respect of bone mineral content ( $\text{CaCO}_3 \text{ mg/cm}^2$ ) by Equivalent images, there is no significant difference between flight group (B, C) and synchronous group (B, D), (Fig.11-2). On project direction, significant correlation was observed between vertical and horizontal in the synchronous group(C, E), but in the flight group (B, D) there was disappeared in its relationship. Max length per a trabecule by Particle analysis showed tendency to shortening in group B, but in the group D which lived on the ground in 9 days after space flight,

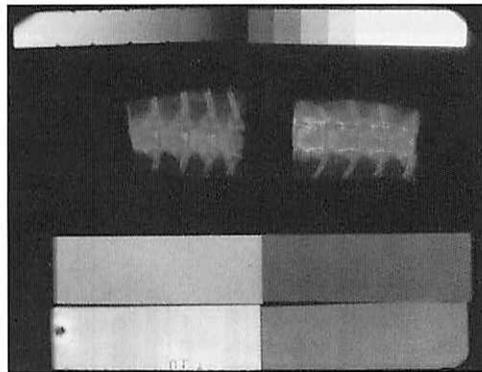


Fig. 11-1 X-ray image of vertebre

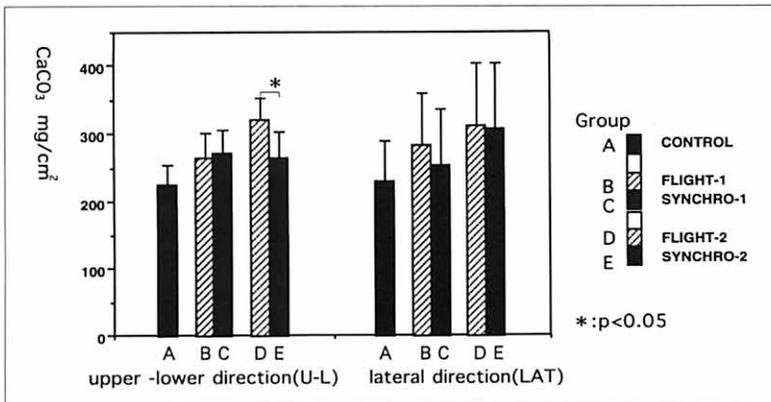


Fig. 11-2 Bone mineral content (Thoracic bone 3-10)

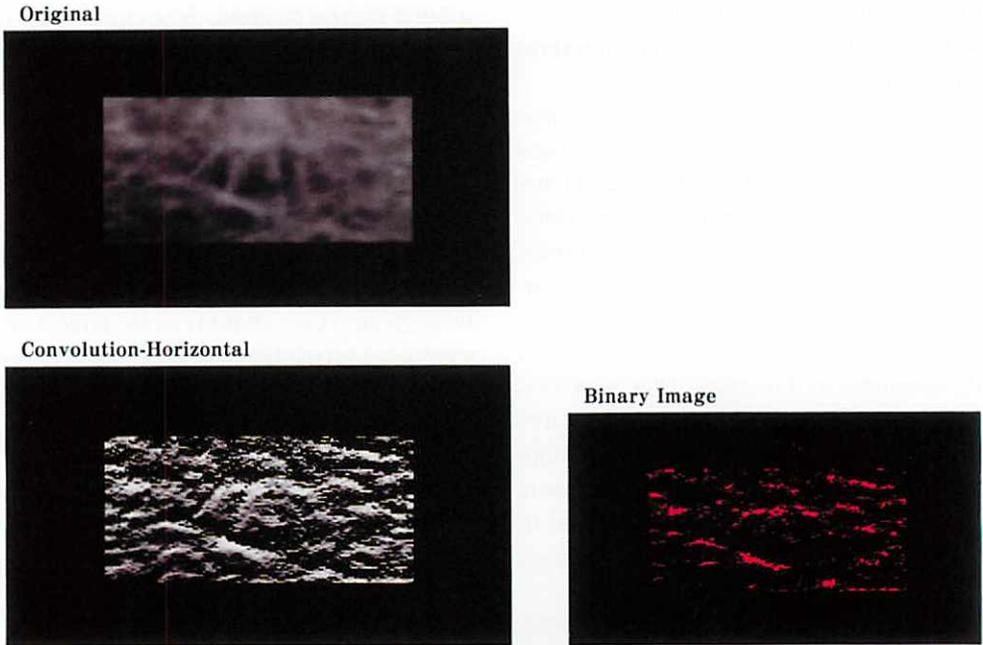


Fig. 11-3 Particle Analysis of trabecular bone

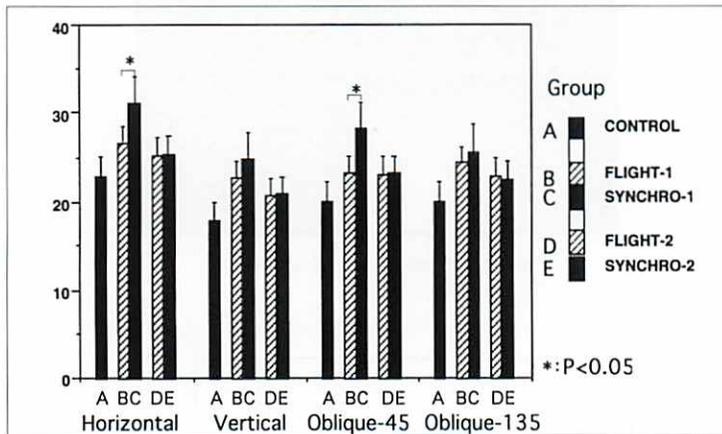


Fig. 11-4 Detected max length of trabecular bone (Th8 and 9)

they were become in same group E (Fig.11-3, 4). It was suggested recovery. Fractal dimension showed no difference between flight group and synchronous group. Hardness by Knoop test showed also no difference between flight group and synchronous group. In histomorphometry,

there found irregular and thick immature cortical bone, and decreased formation of lammellated bone (Fig.11-5).

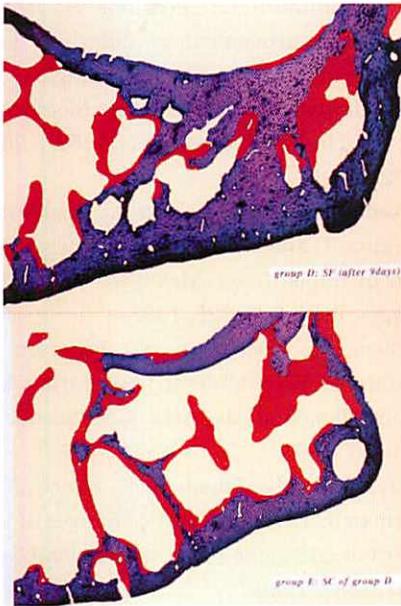


Fig. 11-5 Pathological finding upper control rat  
bottom flight rat

**B. Effects on the bone mineral content by hindlimb suspension in rats<sup>19)</sup>**

An experiment simulating a microgravity condition during space flight was performed by Professor Ohira of the National Institute of Fitness and Sports, Kanoya by suspending the tail of rats and relieving the hind legs from the body weight (Fig.12-1). The bone mineral content of the femur was measured in rats after 14-day suspension of the hind legs, which was the same duration as the 1993 flight of the NASA space shuttle Columbia (STS-58), and rats after 14 day suspension of hind legs followed by 23-day normal rearing. The bone mineral content was decreased after 14-day suspension of the hind legs compared with controls, but it tended to recover after 23-day normal life; the results were similar to those under the microgravity condition of space flight (Fig.12-2).

In summary, This AI-equivalent images was able to demonstrate not the absolutely quantity of bone mineral content, but relative changes. This

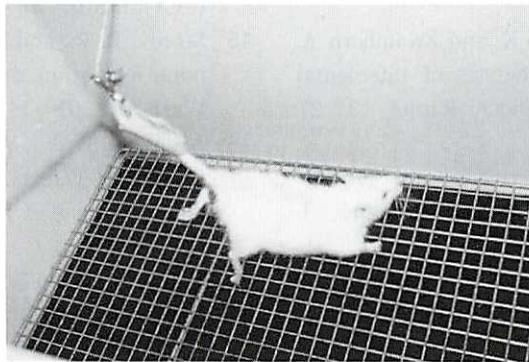


Fig. 12-1 Tail Suspension of Rat

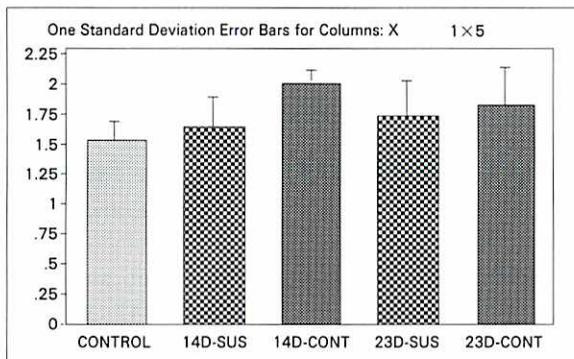


Fig. 12-2 Bone mineral content of femur

method can easily measure bone mineral content of mandibular bone, and evaluate various kinds of lesions. Furthermore, it is used for bone changes of experimental animals.

#### Reference

- 1) Kalender, W. A., Felsenberg, D., Louis, O., Loopez, P., Klotz, E., Osteaux, M. and Fraga, J.: Reference values for trabecular and cortical vertebral bone density in single and dual-energy quantitative computed tomography. *Europ. J. Radiol.*, 9 : 75-80, 1989.
- 2) Hagiwara, S., Miki, T., Nishizawa, Y., Ochi, H. and Mori, H.: Quantification of bone mineral contents using dual photonabsorptiometry in a normal japanese population. *JBMM*, 9 : 263-269, 1991.
- 3) Griffith, E. R., Stonebridge, J. B., Piernick, D. and Lehman, J. F.: Development of a method of X-ray densitometry for bone mineral measurement. *Am J Roentogenol.*, 52 : 128-149, 1973.
- 4) Trouerbach W., Hoornstra K. and Zwamborn A. W.: Microdensitometric analysis of interdental bone structure. *Dentomaxillofac. Radiol.*, 13 : 27-31, 1984.
- 5) Iwashita Y., Morita Y., and Norikura T. : Al-equivalent image of intra oral radiograms. *J. Dent. Radiol.* 29 : 289-294, 1989.
- 6) Nervig P., Wing K., Welander U.: Sens-A-Ray: A new system for direct digital intraoral radiography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 76 : 235-243, 1993.
- 7) Welander U., Nelvig P., Tronje G. et al.: Basic technical properties of a system for direct acquisition of digital intraoral radiographs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 75 : 506-516, 1993.
- 8) Ishigaki T., Sakuma S., Horikawa Y., Ikeda M., Yamaguchi H.: One-shot dual-energy subtraction imaging. *Radiology*. 161 : 271-273, 1986.
- 9) Stewart B. K., Huang H. K.: Single-exposure dual-energy computed radiography. *Med Phys.*; 17 : 866-875, 1990.
- 10) Ito W., Shimura K., Nakajima N., Ishida M., Kato H.: Improvement of detection in computed radiography by new single-exposure dual-energy subtraction. *SPIE Medical Imaging VI (Image Processing)*; 1652 : 368-395, 1992.
- 11) Takeda H., Itoh T., Takaki K., Nishimura K., Noikura T. and Oku R.: Radiological Observation of Implants by Means of AL-equivalent Images, 6(2), 323-326, 1993.
- 12) Rickers, H., Nielsen, A. H., Pedersen, R. S., Rodbro, P.: Bone Mineral Loss during Maintenance Hemodialysis. *Acta Med Scand*, 204 : 263-267, 1978.
- 13) Kelly, W. H., Mirahmadi, M. K., Simon, J. H. and Gorman, J. T.: Radiographic changes of the jaw bones in end stage renal disease. *Oral Surg*, 50 : 372-381, 1980.
- 14) Bras, J., Ooij, C. P., Abraham-Inpijn, L., Wilmink, J. M. and Kusen, G. J.: Radiographic interpretation of the mandibular angular cortex. *Oral Surg*, 53 : 647-650, 1982.
- 15) Morey, E. R., and D. J. Baylink. Inhibition of bone formation during space flight. *Science*. Wash. DC 201 : 1138-1141, 1978.
- 16) Jee, W. S. S., T. J. Wronski, E. R. Morey, and D. B. Kimmel. Effects of spaceflight on trabecular bone in rats. *Am. J. Physiol.* 244 : R310-R314, 1983.
- 17) Vailas, A. C., R. F. Zernicke, R. E. Grindeland, A. Kaplansky, G. N. Durnova, K. -C. Li, and D. A. Martinez. Effects of space-flight on rat humerus geometry, biomechanics and biochemistry. *FASEB J.* 4 : 47-54, 1990.
- 18) Kitajima, I., Semba, I., Noikura, T., et al. Vertebral growth disturbance in rapidly growing rats during 14 days of spaceflight. *J Appl. Physiol.*; 81 : 156-163, 1996.
- 19) Osako, T., Y. Ohira, G. Ito, Y. Iwashita, T. Norikura, and E. Maki. Structure and mineral content in weight-bearing bones following hind limb suspension in young rats. *Jpn. J. Physiol.* 41 : 923-932, 1991.

# 骨芽細胞の分化と機能

田村 正人

鹿児島大学歯学部口腔生化学講座

## Differentiation and function of osteoblast

Masato Tamura

Department of Oral Biochemistry,  
Kagoshima University Dental School,  
35-1, Sakuragaoka 8-chome, Kagoshima, 890-8544, Japan

### Abstract

Elucidation of molecular mechanisms controlling differentiation and function of osteoblasts is one of the major subjects in bone biology. Differentiation of cells is controlled at the level of transcription by various classes of transcription factors that have been identified through biochemical and genetic means. I showed an expression of rat osteocalcin gene in osteoblasts was mediated by basic helix-loop-helix (bHLH) type of transcription factors. Our study presented evidence that the E-box sequence, OCE1, and transcription factors interacting with this motif, are involved in osteoblast-specific osteocalcin gene transcription. Furthermore, I performed degenerate PCR cloning in order to identify cDNA clones encoding bHLH proteins expressed in osteoblasts. We got clones which sequences in the amplified region were homologous to the mouse twist-related HLH protein, Dermo-1. Dermo-1 mRNA was expressed in osteoblast-like cell lines, and could be involved in the osteoblastic differentiation in a negative manner.

Current many studies using gene deficient mice revealed how osteoblast differentiation and bone remodeling are controlled through many other type of transcription factors, Cbfa1 and homeobox protein family. Karsenty et al. showed that Cbfa1 is necessary for differentiation of mesenchymal progenitor cells to osteoblasts, and Cbfa1 controls bone formation by differentiated osteoblasts. Extracellular signals including hormones, growth factors, or cytokines as well as their intracellular mediators regulate osteoblast function. In this paper, I reviewed new understandings of the molecular control of osteoblast differentiation and function.

**Key words:** transcription factor, osteocalcin, helix-loop-helix protein, osteoblast, Cbfa1

## I. はじめに

骨は、石灰化した硬い組織であり骨格系の骨組みを形作るとともに、生体内のカルシウム恒常性を維持する代謝系の一つの臓器である。骨の細胞は、骨形成を司る骨芽細胞（いわゆる骨細胞を含む）と骨吸収の役割を果たす破骨細胞という主に2種類の細胞から成る。これら2つの細胞がどのように分化してできるか、ならびにそれらの細胞の機能がどのように調節されているかを解明することは、発生過程のみならず生体における骨の生理的な機構を理解するために重要である。「骨形成」とは、狭義には発生における骨格形成といった骨芽細胞の分化をいうが、広義には骨における細胞外基質の分泌とそれに引き続いて起こる石灰化といった骨芽細胞の機能を含めて用いる場合もある。ここでは、後者を「骨芽細胞の機能」として、前者の「骨芽細胞の分化」とは分けて論じる。

発生過程において、骨形成の様式には内軟骨性骨化と膜性骨化という二つの異なった様式がある。内軟骨性骨化では、将来、骨になるべきところに一時的に軟骨ができ、その軟骨中に血管が侵入し軟骨細胞がアポトーシスを起こし骨芽細胞に置き換わって骨が形成されるという様式である。以下の膜性骨化によらない部位の骨、特に長管骨はこの様式による。他方、膜性骨化は、一時的な軟骨を経ることなく、間葉系の前駆細胞が直接に骨芽細胞に分化して骨が形成されるしくみであり、頭蓋骨や顎骨などの骨はこの様式により形成される。

80年代初めには、硬組織、すなわち骨や歯に関する生化学的研究は、他の軟組織の臓器に関する研究に比べて著しく遅れていた。その原因としては、石灰化組織からタンパク質の抽出が容易ではなかったこと、ならびに硬組織における細胞の分離・同定が難しかったことが挙げられよう。80年代になって、ようやく硬組織からタンパク質を可溶化して抽出できるようになり、基質タンパク質が次々に明らかになった。またその頃には、細胞培養技術によって骨から得られた細胞株が樹立され、細胞培養が可能になった。以降、多くのcDNAや遺伝子がクローニングされたこともあって培養という*in vitro*の系を用いて、骨形成に関する遺伝子発現解析の研究が盛んに行われた。しかしながら、長管骨の成長や、骨の石灰化、リモデリングといった個体レベルの骨形成の機構は、*in vitro*の研究から解明するのは容易ではない。90年代になり、ES細胞や遺伝子相同組み換え法を利用したgene target法が普及し、ある遺伝子だけを喪失させたいわゆるノック

アウトマウスの作製ができるようになり、種々の遺伝子のノックアウトにおける硬組織や骨格形成の異常が次々と明らかになってきた。すなわち*in vivo*の個体を用いた研究から、骨芽細胞の分化と機能に関する遺伝子の役割が推測できるようになった。本稿では、骨の形成機構に焦点を当て、骨形成を司る骨芽細胞の分化ならびにその機能に関して、筆者がこれまで行ってきた研究成果も交えて最近の知見について概説したい。

## II. 骨芽細胞とは？

骨芽細胞は、いわゆる間葉系の未分化な細胞から分化すると考えられている。培養条件下では、骨芽細胞の形質は線維芽細胞と非常によく似ており、唯一の特徴としては細胞外の石灰化が挙げられる。線維芽細胞と骨芽細胞の間で発現している遺伝子には、それほど差異はなく、骨形成という生体内で特異な機能を有する細胞であるにもかかわらず、その細胞自体が産生するタンパク質のうち細胞の特異性を規定するものは多くない。かつて、骨の石灰化には、骨芽細胞が産生するコラーゲン以外の基質タンパク質が何らかの機能を果たしていると考えられ、オステオカルシン (BGP, bone gla protein)<sup>1)</sup>、オステオネクチン<sup>2)</sup>、オステオポンチン<sup>3)</sup>、matrix gla protein (MGP)<sup>4)</sup>、骨シアロプロテイン (BSP)<sup>5)</sup>などが精製された。そして、これら非コラーゲン性基質タンパク質は、骨の石灰化に必須であろうという仮説が80年代に提唱された。しかしながら、これまで報告されている骨芽細胞が特異的に産生する基質タンパク質としては、オステオカルシンのみであり、後述するノックアウトの実験から、その仮説は否定された。また、後述する転写調節因子の一つであるCbfa1は骨芽細胞で特異的な発現をしている。

オステオカルシンは、血中の量を骨代謝のマーカーとしても利用されるタンパク質である。ビタミンK欠乏動物で骨吸収が抑制されることからオステオカルシンは骨吸収に機能しているのではという予想がされていた。Karsentyらは、このオステオカルシンのノックアウトマウスを作製したところ、より多くの骨が形成されていたと報告している<sup>6)</sup>。すなわちオステオカルシンは骨形成には必須ではなく、骨形成と吸収のバランスに機能することが明らかになった。彼らはさらに詳細に検討を加え、個々の骨芽細胞の骨形成能力が増大していると指摘している。近年、MGPのノックアウトマウスも報告されたが、MGPの欠失において

も軟骨の成長板における石灰化亢進ならびに動脈血管壁の石灰沈着が観察されている<sup>7)</sup>。これらの報告から、オステオカルシンならびに MGP は、生理的には骨形成・石灰化を抑制する機能を有すると考えられるのである。

### Ⅲ. 骨芽細胞分化と HLH 型転写調節因子

近年、遺伝子クローニングにより遺伝子の転写開始点上流の解析が盛んに行われるようになった。そして、多くの転写調節因子がクローニングされてきた。細胞分化の過程では、遺伝子発現すなわち核内で転写を調節する機能を有する転写調節因子が重要な働きをすることが、多くの例から明らかになっている。骨芽細胞、軟骨細胞、脂肪細胞、筋肉細胞、線維芽細胞などの中胚葉由来細胞に分化する能力を有する前駆細胞が、いわゆる未分化間葉系細胞である。細胞分化においては、一般に分化するに伴って、段階的に分化しうる細胞が限定されていく。例えば、分化段階の低い細胞は5種類の細胞に分化しうるが、さらに分化段階が進むと最終的に2種類の細胞にしか分化できないというように、細胞分化振り分けの多段階機構がある。血液細胞の分化振り分けの機構は、これまでに非常に多くの研究がなされ、未分化段階、分化の中間段階そして最終分化段階と、細胞の分化方向の決定を行なう転写調節因子によって、それぞれの分化段階を規定することが報告されている。血液系細胞の分化においては、ロイシンジッパー型、GATA 型、ラントドメイン型、ヘリッ

クスループ-ヘリックス (HLH) 型など、構造が異なる転写調節因子群が分化段階に応じて協調的に機能することが報告されている<sup>8)</sup>。

なかでも、HLH 型転写調節因子群は細胞分化に関わるとして注目され、特に骨格筋細胞、神経細胞などの系で盛んに研究が展開されてきた。骨芽細胞と前駆細胞を同一とする骨格筋細胞では MyoD, myogenin, Myf-5, MRF-4 の4つの HLH 型転写調節因子は、myosin や muscle creatine kinase 等の骨格筋細胞に特異的に発現する遺伝子の転写を活性化し、お互い協調的に機能して分化を進行させる。また、これらの HLH 型因子を線維芽細胞に強制発現させると骨格筋細胞に分化させることができ、骨格筋分化におけるいわゆる「マスター遺伝子」ということができる<sup>9)</sup>。筆者は、骨芽細胞分化においても、この「マスター遺伝子」として機能する転写調節因子を見出すことを目的とした研究を行ってきた。

筆者らは、骨肉腫由来である骨芽細胞様細胞 ROS17/2.8 を用い、ラットオステオカルシン遺伝子のプロモーターを用い HLH 型因子の骨芽細胞分化における役割を検討した。MyoD 等の HLH 型因子は、組織非特異的に存在する E12, E47 といった分子とヘテロダイマーを形成して、遺伝子の転写開始点上流の CANNTG という E-box と呼ばれるコンセンサス配列の領域に結合して、転写活性を促進する。しかしながら、Id (Inhibitor of differentiation) という basic 領域を欠いた HLH 型因子は、MyoD 等の正の HLH

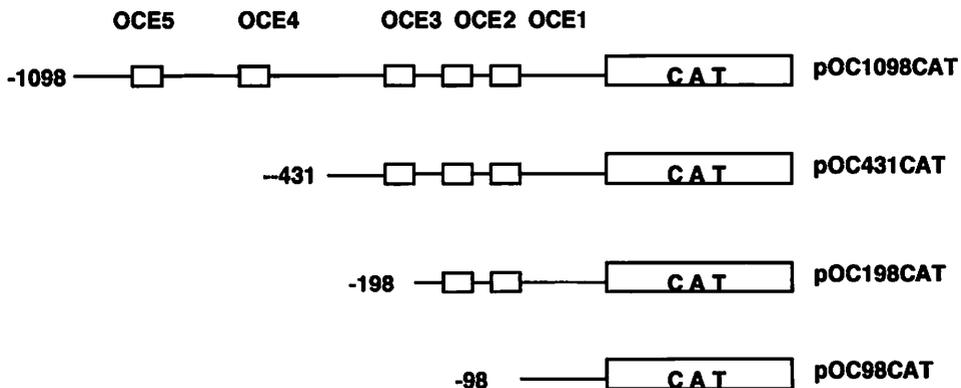


図1 種々の長さのラットオステオカルシン遺伝子プロモーターを挿入した CAT レポータープラスミドのコンストラクト。5' の数字は転写開始点を 0 としたプロモーターの長さを示し、ボックスは OCE1 から OCE5 までの E-box を示す。

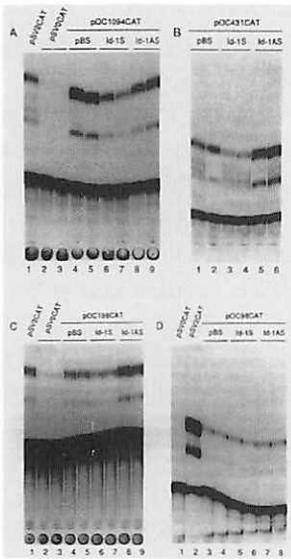


図2 ラットオステオカルシン遺伝子プロモーター活性の Id-1 による抑制効果 種々の長さのラットオステオカルシン遺伝子プロモーターを挿入した CAT レポータープラスミドならびに Id-1 のセンス、アンチセンス発現ベクターを ROS 17/2.8 細胞に共トランスフェクションした後、CAT 活性を測定した。

型因子とヘテロダイマーを形成し E-box への結合能を失い、細胞分化を抑制する<sup>10)</sup>。そこで、この分化抑制活性を有する Id-1 の発現ベクターを、ROS17/2.8 細胞にトランスフェクトして強制発現させる実験を行ったところ、ラットオステオカルシンのプロモーターの転写活性が低下することを見いだした(図1, 2)<sup>11)</sup>。すなわち、この結果はオステオカルシン遺伝子のプロモーターの転写活性に、HLH 型の転写調節因子が作用していることを示すものである。

ラットのオステオカルシン遺伝子の転写開始点上流には、いくつかの E-box 領域がある。筆者らは、転写開始点近傍にあるものから順に OCE1, OCE2, OCE3, OCE4, OCE5 と名付け、どの領域が Id-1 に応答するかを、種々の欠失ならびに部位特異的変異を用いた解析により同定した。すなわち、図1に示す種々の長さのコンストラクトを作製し、CAT アッセイを行った。-198 までのプロモーターを含むレポーターでは、Id-1 により活性は低下したが、pOC98CAT では Id-1 によって活性が低下しないことから、-198 から-98 の部位に存在する OCE1 もしくは OCE2 がこの応答に関与することが考えられた(図2)。そこで、OCE1 ならびに OCE2 の部位の塩基配列を変異させたプロモーターを作製し、CAT アッセイを行ったところ、OCE1 の変異によって活性の著しい低下を示した(図3)。以上の結果は、骨芽細胞においてオステオカルシン遺伝子プロモーターの OCE1 領域に

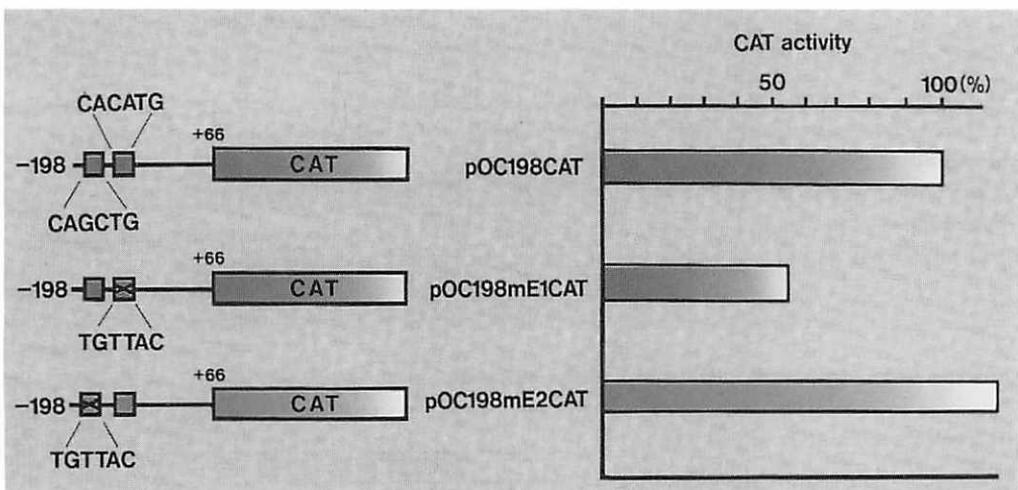


図3 ROS17/2.8 細胞における OCE1, OCE2 領域の変異の転写活性化に及ぼす効果 OCE1 および OCE2 領域の E-box の塩基配列を CANNTG から TGTTAC に置換させた pOC198E1CAT ならびに pOC198E2CAT を作製し、これらを ROS17/2.8 細胞にトランスフェクション後、CAT 活性を測定した。

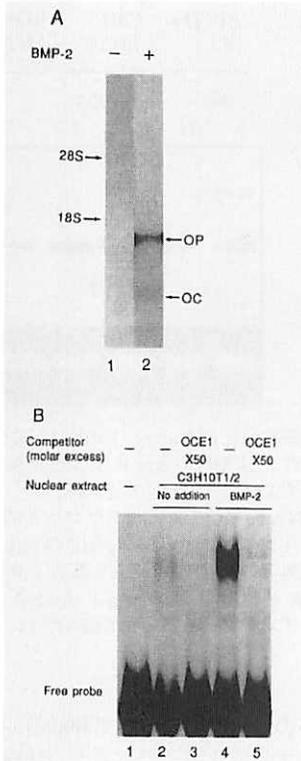


図4 C3H10T1/2細胞におけるヒト組換え BMP-2 のオステオカルシン mRNA の発現と核抽出物の OCE1 との結合活性 (A) C3H10T1/2 細胞に 500ng/ml の rhBMP で72時間処理した後、RNA を抽出し、オステオカルシン及びオステオポンチン mRNA の発現を Northern Blot によって調べた。(B) (A) と同様に rhBMP で72時間処理した C3H10T1/2 細胞から核抽出物を得、放射性標識した OCE1 プローブを用い、ゲルシフトアッセイを行った。

HLH 型の転写調節因子が作用していることを示している<sup>11)</sup>。

更に、ゲルシフトアッセイを行い、ROS17/2.8 の核抽出物に OCE1 に特異的に結合するタンパク質 (OCEBP と名付けた) の存在を示した。この結合は線維芽細胞 C3H10T1/2 では見られないが、培地中に組換えヒト骨誘導タンパク質 (rhBMP)-2 を添加し骨芽細胞に分化させ、オステオカルシンやオステオポンチン mRNA を産生する細胞から抽出した核抽出物では、結合が観察された<sup>11)</sup> (図4)。競合実験により、この OCEBP が多くの細胞に普遍的に存在する E12/E47 とは異なる骨芽細胞特異的な HLH 型転写

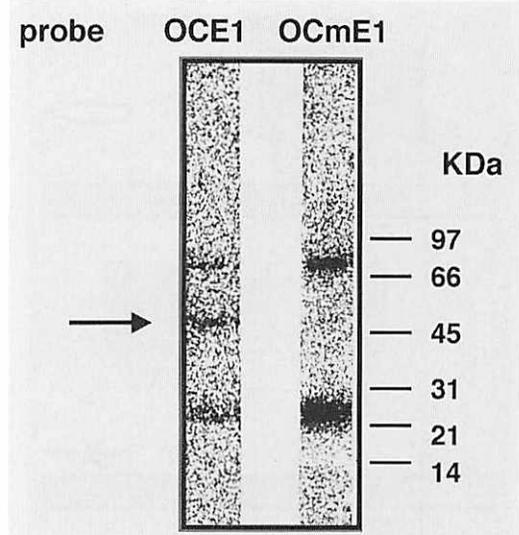


図5 Southwestern 解析による ROS17/2.8 細胞の OCE1 結合タンパク質 ROS17/2.8 細胞の核抽出物を SDS-PAGE した後、放射性標識した OCE1 ならびに E-box の塩基配列を CANNTG から TGTTAC に置換させた OCmE1 プローブを用いサウスウエスタン解析を行った。矢印で示したバンドが OCE1 プローブに対して、特異的な結合を示す。

因子である可能性があると考えられた<sup>11)</sup>。サウスウエスタン法によって、この OCEBP の分子量は 50KDa 付近であることがわかった (図5)。basic HLH 型転写調節因子のオステオカルシンプロモーターの OCE1 への転写活性化の模式図を図6に示した。

次に、筆者らは、骨芽細胞特異的な HLH 型因子を探索するため、既知の HLH 型因子の basic HLH の領域の共通塩基配列をもとに PCR プライマーを設計し、RT-PCR 法を用いて ROS17/2.8 細胞の cDNA ライブラリーより cDNA のクローニングを行った<sup>12)</sup>。いくつか得られたクローンの塩基配列を決定したところ、マウスの Dermo-1 という HLH 型因子のラットホモログと考えられるクローンを得た。Northern Blot 法を用いて、骨芽細胞分化と Dermo-1 mRNA の発現との相関を調べたところ、マウス骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 は培養経過時間の増加につれて石灰化を伴う骨芽細胞分化が進行するが、それに伴い Dermo-1 の mRNA の発現は低下した (図7)。また、線維芽細胞 C3H10T1/2 の培地中に組換え hBMP-2 を添加し、骨芽細胞に分化させると Dermo-1 の

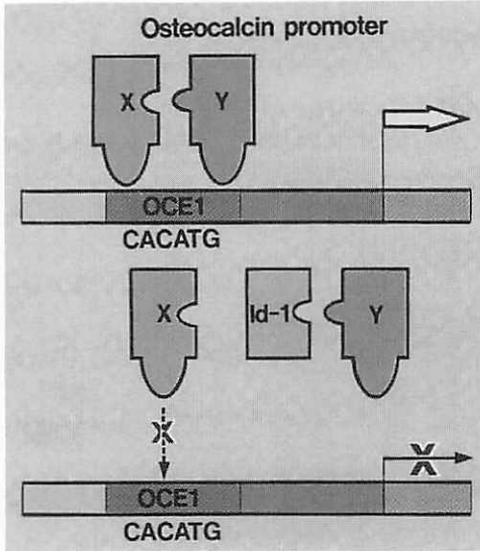


図6 basic HLH 型転写調節因子のオステオカルシンプロモーターの OCE1 への転写活性化  
basic HLH 型転写調節因子の X と Y は、CANNTG モチーフにホモもしくはヘテロダイマーで結合し転写を活性化する。DNA 結合領域を欠く Id が、basic HLH 型転写調節因子とヘテロダイマーを形成すると CANNTG モチーフに結合できず、転写を活性化することができない。

mRNA の発現は低下した (図7)<sup>12)</sup>。これらの結果は、骨芽細胞分化においてはある種の HLH 型転写調節因子は分化方向の逆に作用することを示すものである。Dermo-1 のターゲットとなる遺伝子はまだ見出されておらず、今後、これら転写調節因子のターゲット遺伝子を明らかにするべく研究を行っている。

#### IV. 骨芽細胞分化と runt ドメインを有する転写調節因子

Karsenty のグループは、マウスオステオカルシン遺伝子を用いて、その骨芽細胞特異的な発現に関与する領域を2つ同定し、OSE (osteoblast-specific cis-acting element) 1, 2 と名付け、OSE2 に結合する転写調節因子として Cbfa1 を同定した<sup>13)</sup>。Cbfa1 は、もともと急性骨髄性白血病の転座から見いだされた PEBP のファミリーであり、ショウジョウバエの体節形成遺伝子の中のペアルール遺伝子の一つ runt と相同性がある。Runt は runt ドメインと呼ばれる DNA 結合ドメインをもつ転写調節因子であり、ショ

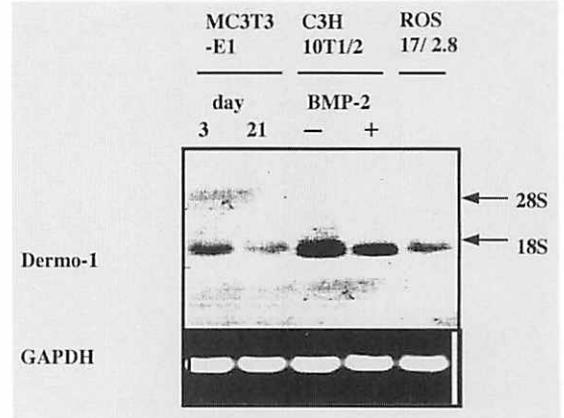


図7 骨芽細胞分化と Dermo-1 mRNA の発現

MC3T3-E1 細胞の未分化な3日目及び分化の進んだ21日目に RNA を抽出し、Dermo-1 mRNA の発現をノーザンブロットによって調べた (レーン1, 2)。500ng/ml の rhBMP で72時間処理した C3H10T1/2 細胞より、同様に RNA を抽出し、Dermo-1 mRNA の発現をノーザンブロットによって調べた (レーン3, 4)。

ウジョウバエの発生段階において神経系、眼や血球系の発生に関与する分化因子である<sup>14)</sup>。Cbfa1 は、発生段階では骨芽細胞の分化に先立って、将来骨芽細胞ならびに軟骨細胞に分化する前駆細胞に発現が始まり、引き続いて発現は骨芽細胞に特異的となる<sup>15)</sup>。肥大軟骨細胞では弱いレベルの発現が見られ、象牙芽細胞においても発現している<sup>16)</sup>。また、線維芽細胞や筋芽細胞に Cbfa1 を強制発現させると、骨芽細胞に特異的な遺伝子発現が誘導されることが報告された<sup>13)</sup>。

Cbfa1 のノックアウトマウスは、出生直後に死亡する。このマウスは、T 細胞などの造血系の異常が予想されたが、胸腺・皮膚・筋肉や血液像の異常はなく、軟骨分化自体には大きな障害は見られず、骨格系の形と大きさは正常のマウスとそれほど大差ないが、軟 X 線による観察から石灰化した骨が全く無く、骨芽細胞の分化が全く起こらない<sup>13, 15)</sup>。in situ ハイブリダイゼーションでは、骨端部ではオステオネクチンや MGP mRNA は正常と変わらず発現していたが、オステオポンチン mRNA の発現は非常に低く、オステオカルシン mRNA の発現する骨芽細胞は認められていない。以上から、Cbfa1 は軟骨性骨化において骨芽細胞分化に重要な機能を果たす転写調節因子であり、骨芽細胞分化の最も特異的なマーカーとされている。現在までのところ骨形成に関与すると考えられている

BMP, TGF- $\beta$ やそれらの受容体の発現をこのマウスで比較したところ、正常と差のあるものは見つかったという報告はない。また、このマウスは、破骨細胞を欠いており、破骨細胞の分化・形成には骨芽細胞が必須であるということを証明した。Cbfa1 遺伝子をヘテロでしか持たないマウスと、放射線照射によって作製された Ccd と呼ばれる変異マウスでは、鎖骨と頭蓋の低形成という症状が一致し、最も頻度の多い骨系統疾患である鎖骨頭蓋異形成症 (CCD) の症状と一致していた<sup>17)</sup>。Ccd の変異は Cbfa1 遺伝子の変異であることがわかり、CCD 患者は Cbfa1 遺伝子のヘテロな変異を有している<sup>18)</sup>。

しかしながら、後述するようにいくつかのノックアウトマウスにおいて、Cbfa1 の発現は他の転写調節因子によって調節されており、Cbfa1 の発現自体を調節するさらに上位の転写調節因子の存在が推定される。また、マウスにおいて Cbfa1 の発現が見られるのは胎生10.5日であるが、最初に骨芽細胞が現われるのはそれより4日後であり、Cbfa1 が制御している下位の転写調節因子群の存在も推定される。

### V. 骨芽細胞分化と Hox 遺伝子群

マウスの発生段階ではいくつかの Hox 遺伝子群も骨芽細胞分化に関わっている。Hox 遺伝子群はホメオボックスという構造をもつ転写調節因子群で、発生過程で頭尾軸に沿った部位特異的な形態形成を決定している。Hox 遺伝子群のノックアウトでは、体軸骨で正常のマウスに比べて、より頭部側の表現型が現われるというホメオティックな骨格の変異が生じている。例えば、Hoxb-4 のノックアウトでは第二頸椎が第一頸椎となる骨格異常が見られる<sup>19)</sup>。また、Hoxa-1, Hoxa-3 といったより頭部側のノックアウトではホメオティック変異は呈さず、鰓弓由来の骨・軟骨の形成に異常が見られ、Hox-9 より尾側の Hox 遺伝子のノックアウトでは、末梢である四肢の骨に変形を呈している。Hox 遺伝子の一つであるショウジョウバエの distress (Dll) 遺伝子のマウスホモログである Dlx5, Dlx6 は内軟骨性骨化の凝集の部位で発現しており、Dlx5 遺伝子をノックアウトすると頭蓋の形態異常や膜性骨化の遅延等の表現型を呈する<sup>20)</sup>。このマウスは、Cbfa1 の発現に影響がないことから Dlx5 遺伝子は、骨芽細胞分化において Cbfa1 遺伝子の下位もしくは

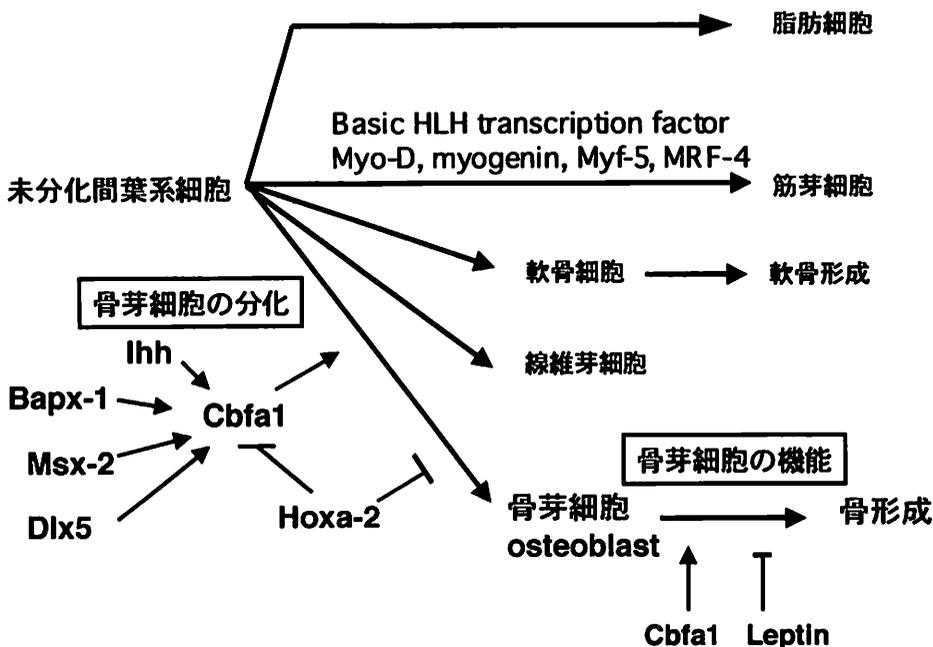


図8 未分化間葉系細胞から骨芽細胞への分化と骨芽細胞の機能

全く関連のない経路と考えられる。Dlx5とDlx6は同時に発現していることから、Dlx5のノックアウトで骨格系の異常が著しくないのは、類似した構造ならびに機能のタンパク質が代替的に働き、失われた遺伝子の機能を補完してしまういわゆる redundancy といった現象によるのかもしれない。他方、ショウジョウバエの筋節の Hox 遺伝子 Msh のマウスのホモログである Msx-2 のノックアウトでは、骨化の遅延と骨量の減少という、骨格系により大きな変異が生じる。このマウスでは、Cbfa1 及びオステオカルシン遺伝子の発現の減少がみられることから、Msx-2 は Cbfa1 の上位で機能しているものと考えられる<sup>21)</sup>。同様に、ショウジョウバエの Hox 遺伝子群のひとつである bagpipe のマウスのホモログである Bapx1 のノックアウトでも、Cbfa1 遺伝子の発現の減少を引き起こすことから、Bapx1 は Cbfa1 の上位で働いているものと考えられる<sup>22)</sup>。更に、Hoxa-2 のノックアウトでは第二鰓弓において Cbfa1 の異所性の発現を伴う骨形成が見られ、Hoxa-2 は第二鰓弓において局所的に Cbfa1 の発現を抑制し骨形成を抑制していることが示唆される。以上の知見を図8にまとめた。

## VI. 骨芽細胞分化と細胞増殖因子

発生期の骨形成には、さまざまな細胞増殖因子が骨芽細胞の分化に関与していることが考えられる。培養骨芽細胞を用いた実験では、BMP は Cbfa1 の発現を誘導することや TGF- $\beta$  は Cbfa1 の発現を減少させることが報告されているが、この作用は間接的でありその機構や生理的意味について、詳細は不明である。BMP は、もともと異所性の骨誘導活性から名付けられたが、のちに単一の分子ではなく多くの因子がファミリーをなしている。BMP は骨以外の組織でも発現しており、近年ではヒトの骨系統疾患との関連やマウスの骨格異常を呈する先天異常の研究から、発生過程で骨格を含めた種々の組織や器官の形態形成に関与していることが知られている<sup>23)</sup>。例えば、BMP-2 ならびに BMP-4 のノックアウトマウスは、胎生期に死亡し生まれてこない。BMP-4 もしくは BMP-2, 4 の I 型受容体である BMPR-IA (ALK3) のノックアウトでは中胚葉誘導が起らない。また BMP-7 のノックアウトでは過剰趾・肋骨の癒合などの骨格異常のみならず、目ならびに腎糸球体の欠損が報告されている。しかし、これらの機構についてはまだ明らかではない。

PTHrP (parathyroid hormone related peptide) は、もともと腫瘍による高カルシウム血症の起因物質

として見出だされ、PTH と構造上類似性があることからその名が付けられたタンパク質である。軟骨では PTHrP mRNA は静止・増殖軟骨細胞に発現している。PTHrP ノックアウトマウスでは出生後すぐに死亡するが、胎生18日には増殖軟骨細胞の著しい減少が見られ、増殖軟骨細胞から肥大軟骨細胞への分化の促進によって早期の骨化が起していることがわかった。

一方、Ihh (indian hedgehog) は細胞増殖因子の一つであり、増殖軟骨細胞から肥大軟骨細胞への移行部に発現している。hedgehog タンパク質の下流遺伝子とされる Patched や gli の発現は、外軟骨膜に認められる。PTHrP の発現は Ihh を発現している細胞と増殖軟骨細胞の境界ならびに外軟骨部分に発現が認められ、またニワトリの肢芽においてレトロウイルスで Ihh を異所性に発現させると PTHrP の発現が増加する。さらに *in vitro* の培養系で、PTHrP 受容体 (PTHrPR) ノックアウトマウスの胎生16.5日の軟骨細胞は、正常マウスの細胞より早く肥大化すること、正常マウスの軟骨細胞は PTHrP や Shh (sonic hedgehog) の添加により分化が抑制されるのに、PTHrPR ノックアウトマウスの軟骨細胞では PTHrP や Shh が作用しない<sup>24)</sup>。以上から、Ihh は、PTHrP の発現を制御して軟骨細胞の分化、肥大化を抑制するという機構が考えられている。Ihh 遺伝子のノックアウトマウスでは、骨芽細胞分化にも影響が見られており、Cbfa1 の発現が減少している。内軟骨性骨化の過程で、Ihh がどのような因子を介して骨芽細胞分化に関係するかはまだ不明である。

## VII. 骨芽細胞機能を調節する因子

骨は、生涯にわたって形成と吸収を繰り返し代謝している。これを、リモデリングといい、2つの相、すなわち骨吸収とそれに引き続いておこる骨形成が連続して起こる。骨粗鬆症は、加齢による性ホルモンの減少を主な原因とする疾患であり、骨量の減少と骨折のリスクが高くなる。この疾患では、骨のリモデリングに異常が生じ、結果として骨吸収が亢進している。骨粗鬆症患者の骨形成を増加させる方法が見出せれば、疾患の治療に大きく役立つと考えられる。リモデリングに作用する全身性のホルモンとしては、古くから知られる PTH、エストロゲンがまず代表的なものとして挙げられよう。

では、骨形成を調節する転写調節因子としては、どのようなものがあるのだろうか？既に述べた Cbfa1

は、すでに分化した骨芽細胞の骨形成に対しても促進的な効果があり、最終分化した骨芽細胞のオステオカルシン遺伝子や、転写開始点上流に *Cbfa1* の結合部位を有するいくつかの骨基質タンパク質遺伝子の発現を増加させる。ドミナントネガティブトランスジェニックマウス、すなわち、ドミナントネガティブとして機能するオステオカルシン遺伝子プロモーターの *Cbfa1* 結合部位を欠失させたもの ( $\Delta$  *Cbfa1*) を導入したマウスでは、骨格系の異常はなく生まれてくるが、その後成長が止まってしまう。このマウスでは、骨芽細胞の分化が阻害されているわけではなく、細胞あたりの基質タンパク質の合成や分泌が低下し、骨形成量が低下するとされている<sup>25)</sup>。すなわち、骨形成という骨芽細胞機能を *Cbfa1* が調節している (図 8)。

#### Ⅳ. 中枢性の骨芽細胞機能の制御機構

近年、ホルモンの一つとしてレプチンとよばれるタンパク質が発見され、注目されている。レプチンは脂肪細胞によって合成され、視床下部に存在するレセプターに結合して飢餓と肥満に関与している。レプチン欠損マウス (*ob/ob*) もしくはレプチン受容体の欠損マウス (*db/db*) では、肥満とともに、骨量が増加し、正常マウスの 2~3 倍となる<sup>26)</sup>。ヒトにおいても、レプチン遺伝子の遺伝的な欠損では、著しい肥満、性機能低下症と骨量の増加を呈する。また、脂質の代謝障害により脂肪細胞の欠損した脂肪異常栄養症という疾患では、骨量が増加し骨硬化症の症状を呈する。すなわち、レプチンは骨形成を抑制していると考えられる。

骨のリモデリングにレプチンはどのような機序で働いているのだろうか? *ob/ob* や *db/db* マウスでは、骨芽細胞や破骨細胞の分化、破骨細胞の機能は正常であることなどから、レプチンはすでに分化した骨芽細胞の機能に影響を与えていることが予想された。しかしながら、骨芽細胞にはレプチンの受容体は存在しないこと、また *ob/ob* マウスの脳室内にレプチンを注入する実験では、骨量が正常レベルに減少することから、血中のレプチンが循環して全身の骨の骨芽細胞に機能するのではなく、レプチンは視床下部からの何らかの中枢性のコントロールを介して骨芽細胞機能に影響を及ぼしていることを示唆している<sup>26)</sup>。最近、視床下部のメラノコルチンレセプター 4 というレプチン受容体に類似した受容体の変異によっても、肥満と骨量の増大を示すことが報告された<sup>27)</sup>。

#### Ⅸ. おわりに

これまでに述べたように、90年代に骨芽細胞の分化と機能について分子レベルでの解明が進み、骨研究は大きな進展を遂げた。今後、骨芽細胞分化における HLH 型転写調節因子、*Cbfa1* ならびに *Hox* 遺伝子群の上位や下位のシグナル、骨形成を制御する転写調節因子や中枢性の骨形成調節機構が更に解明されるにちがいない。本稿では触れなかったが、破骨細胞研究も大きく進展しており、骨芽細胞の機能を亢進させ骨量の減少を補う因子や機構が更に明らかになれば、骨粗鬆症のみならず顎骨・歯槽骨を標的とした歯科口腔領域の疾患の治療法に、広く応用されるのも夢ではないだろう。

#### 謝 辞

本稿において、紹介した筆者の研究は、東京医科歯科大学・難治疾患研究所において野田政樹教授らとの共同研究による。また、研究費は、文部科学省科学研究費の補助を受けた。

#### 文 献

- 1) Price, P. A. & Williamson, M. K.: Primary structure of bovine matrix Gla protein, a new vitamin K-dependent bone protein. *J. Biol. Chem.*, 260, 14971-14975, 1985
- 2) Termine, J. D., Kleinman, H. K., Whitson, S. W., Conn, K. M., McGarvey, M. L. & Martin, G. R.: Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell*, 99-105, 1981
- 3) Oldberg, A., Franzen, A. & Heinegard, D.: Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell-binding sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 83, 8819-8823, 1986
- 4) Price, P. A.: Gla-containing proteins of bone. *Connect. Tissue Res.*, 21, 51-57, 1989
- 5) Fisher, L. W., Hawkins, G. R., Tuross, N. & Termine, J. D.: Purification and partial characterization of small proteoglycans I and II, bone sialoproteins I and II, and osteonectin from the mineral compartment of developing human bone. *J. Biol. Chem.*, 262, 9702-9708, 1987
- 6) Ducy, P., Desbois, C., Boyce, B., Pinero, G., Story, B., Dunstan, C., Smith, E., Bonadio, J., Goldstein, S., Gundberg, C., Bradley, A. &

- Karsenty, G.: Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*, 382, 448-452, 1996.
- 7) Luo, G., Ducy, P., McKee, M. D., Pinero, G. J., Loyer, E., Behringer, R. R. & Karsenty, G.: Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature*, 386, 78-81, 1997
  - 8) Lenny, N., Westendorf, J. J. & Hiebert, S. W.: Transcriptional regulation during myelopoiesis. *Mol. Biol. Rep.*, 24, 157-168, 1997
  - 9) Garrell, J. & Campuzano, S.: The helix-loop-helix domain: a common motif for bristles, muscles and sex. *Bioessays*, 13, 493-498, 1991
  - 10) Benezra, R., Davis, R. L., Lockshon, D., Turner, D. L. & Weintraub, H.: The protein Id: a negative regulator of helix-loop-helix DNA binding proteins. *Cell*, 61, 49-59, 1990
  - 11) Tamura, M. & Noda, M.: Identification of a DNA sequence involved in osteoblast-specific gene expression via interaction with helix-loop-helix (HLH)-type transcription factors. *J. Cell Biol.*, 126, 773-782, 1994
  - 12) Tamura, M. & Noda, M.: Identification of Dermo-1 as a member of helix-loop-helix type transcription factors expressed in osteoblastic cells. *J. Cell Biochem.*, 72, 167-176, 1999
  - 13) Ducy, P., Zhang, R., Geoffroy, V., Ridall, A. L. & Karsenty, G.: *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*, 89, 747-754, 1997
  - 14) Speck, N. A. & Terry, S.: A new transcription factor family associated with human leukemias. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, 5, 337-364, 1995
  - 15) Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., Shimizu, Y., Bronson, R. T., Gao, Y. H., Inada, M., Sato, M., Okamoto, R., Kitamura, Y., Yoshiki, S. & Kishimoto, T.: Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*, 89, 755-764, 1997
  - 16) D'Souza, R. N., Aberg, T., Gaikwad, J., Cavender, A., Owen, M., Karsenty, G. & Thesleff, I.: *Cbfa1* is required for epithelial-mesenchymal interactions regulating tooth development in mice. *Development*, 126, 2911-2920, 1999
  - 17) Silience, D. O., Ritchie, H. E. & Selby, P. B.: Animal model: skeletal anomalies in mice with cleidocranial dysplasia. *Am. J. Med. Genet.*, 27, 75-85, 1987
  - 18) Mundlos, S., Otto, F., Mundlos, C., Mulliken, J. B., Aylsworth, A. S., Albright, S., Lindhout, D., Cole, W. G., Henn, W., Knoll, J. H., Owen, M. J., Mertelsmann, R., Zabel, B. U. & Olsen, B. R.: Mutations involving the transcription factor *CBFA1* cause cleidocranial dysplasia. *Cell*, 89, 773-779, 1997
  - 19) Horan, G. S., Kovacs, E. N., Behringer, R. R. & Featherstone, M. S.: Mutations in paralogous *Hox* genes result in overlapping homeotic transformations of the axial skeleton: evidence for unique and redundant function. *Dev. Biol.*, 169, 359-372, 1995
  - 20) Acampora, D., Merlo, G. R., Paleari, L., Zerega, B., Postiglione, M. P., Mantero, S., Bober, E., Barbieri, O., Simeone, A. & Levi, G.: Craniofacial, vestibular and bone defects in mice lacking the *Distal-less*-related gene *Dlx5*. *Development*, 126, 3795-3809, 1999
  - 21) Satokata, I., Ma, L., Ohshima, H., Bei, M., Woo, I., Nishizawa, K., Maeda, T., Takano, Y., Uchiyama, M., Heaney, S., Peters, H., Tang, Z., Maxson, R. & Maas, R.: *Msx2* deficiency in mice causes pleiotropic defects in bone growth and ectodermal organ formation. *Nat. Genet.*, 24, 391-395, 2000
  - 22) Tribioli, C. & Lufkin, T.: The murine *Bapx1* homeobox gene plays a critical role in embryonic development of the axial skeleton and spleen. *Development*, 126, 5699-5711, 1999
  - 23) Nakayama, T., Cui, Y. & Christian, J. L.: Regulation of BMP/Dpp signaling during embryonic development. *Cell Mol. Life Sci.*, 57, 943-956, 2000
  - 24) Kronenberg, H. M., Lanske, B., Kovacs, C. S., Chung, U. I., Lee, K., Segre, G. V., Schipani,

- E. & Juppner, H.: Functional analysis of the PTH/PTHrP network of ligands and receptors. *Recent Prog. Horm. Res.*, 53, 283-301, 1998
- 25) Ducy, P., Starbuck, M., Priemel, M., Shen, J., Pinero, G., Geoffroy, V., Amling, M. & Karsenty, G.: A *Cbfa1*-dependent genetic pathway controls bone formation beyond embryonic development. *Genes. Dev.*, 13, 1025-1036, 1999
- 26) Ducy, P., Amling, M., Takeda, S., Priemel, M., Schilling, A. F., Beil, F. T., Shen, J., Vinson, C., Rueger, J. M. & Karsenty, G.: Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*, 100, 197-207, 2000
- 27) Farooqi, I. S., Yeo, G. S., Keogh, J. M., Aminian, S., Jebb, S. A., Butler, G., Cheetham, T. & O'Rahilly, S.: Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *J. Clin. Invest.*, 106, 271-279, 2000



## 咀嚼と歯槽骨骨塩量ならびに噛みしめと 肘関節屈曲筋力に関する最近の知見

黒江 和斗, 飯野祥一朗, 森田三保子, 伊藤 学而

鹿児島大学歯学部歯科矯正学講座

### Recent findings on the relation among the chewing pattern, the maximal biting force, the alveolar bone mineral content and the elbow muscles' strength

Kazuto KUROE, Shoichiro IINO, Mihoko MORITA, Gakuji ITO

Department of Orthodontics, Kagoshima University Dental School  
8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8544, Japan

#### Abstract

Recent findings on the relation among the chewing pattern, the maximal biting force, the alveolar bone mineral content and the elbow muscles strength were discussed. The number of chewing cycle was significantly correlated to the occlusal contact area, maximal biting force and the alveolar bone mineral content. This may suggest that the number of mechanical stimulation from the chewing accelerate the remodeling of alveolar bone, which lead to the increase of the occlusal contact area, the maximal bite force and the alveolar bone density. The clenching of teeth increased the isometric strength of limb muscles via the soleus H-reflex. Using the occlusal sprint was worn in tooth crowding subject, the clenching of teeth increased the isometric strength of elbow muscles. This may interpret that the sprint has an effect of increasing occlusal contact area and to increase the elbow H-reflex. Further investigations must be directed toward the effect of the chewing and the tooth clenching on the physiology of oro-maxillary complex and body muscle function.

**Key words:** mastication, occlusal force, occlusal contact area,  
bone mineral content, muscle strength

## I. はじめに

咀嚼時の顎運動は、脳幹のパターンジェネレーターによりコントロールされた下顎のリズミカルな上下運動に、食物が介在して誘発される下顎の前後および側方運動が加わった咬断、粉碎、臼磨運動である<sup>1)</sup>。食物の種類や形状、硬さが違うと、咀嚼時の顎運動経路や回数<sup>2-4)</sup>、咀嚼筋活動の強さやタイミングが異なる<sup>3, 5-7)</sup>。咀嚼時の顎運動によって生ずる機械的刺激は、歯に咬耗を生じ<sup>4)</sup>、顎骨の形態<sup>8-12)</sup>、咀嚼筋の重量や筋線維の分化<sup>13)</sup>、歯槽骨内部の緻密性<sup>14-16)</sup>、歯槽骨骨塩量に影響を及ぼす<sup>16)</sup>。

咀嚼時の顎運動と歯列や咬合との関連について、偏咀嚼者の主咀嚼側では、反対側に比べて咀嚼運動経路はグライディングタイプを呈し<sup>17)</sup>、臼歯列は整直して咬合は緊密で、咬合接触面積も最大咬合力も大きいとされている<sup>18)</sup>。骨の緻密性の指標としてしばしば骨塩量が用いられるが<sup>19, 20)</sup>、下顎の歯槽骨骨塩量は咬合接触面積や最大咬合力と正の相関がある<sup>21)</sup>。最近の森田ら<sup>22)</sup>の報告によれば、ガムを一定時間咀嚼させたときの咀嚼回数、咀嚼周期、咀嚼運動経路は、臼歯部の咬合接触面積や最大咬合力、歯槽骨骨塩量と有意の相関がある。

歯の噛みしめは、咀嚼時だけでなく全身の運動中でも頻繁に行なわれている<sup>23, 24)</sup>。噛みしめを行なうと、歯根膜の圧受容器を介して歯根膜咀嚼筋反射が起こり<sup>25)</sup>、咀嚼筋に持続性の活動が誘発されて噛みしめの強度が調節される<sup>1)</sup>。噛みしめ強度は咬合接触面積と正の相関があるが<sup>26)</sup>、最大噛みしめを行なうと、咀嚼筋以外の、頸筋、腓腹筋、前腕伸筋、肩関節内転筋にも筋活動が認められる<sup>27, 28)</sup>。そして、咬合接触面積が大きく噛みしめ強度が大きいと、手足の筋力も大きいことが指摘されている<sup>29)</sup>。

近年、新しい検査機器が開発されて顎運動や咬合の解析が高い精度で行なわれるようになり、咀嚼や噛みしめにおける咬合の役割について新しい展開が求められている。ここでは、咀嚼と歯槽骨骨塩量、ならびに噛みしめと手足の筋力について、最近の文献と我々の教室の研究成果とを基に考察する。

## II. 咀嚼と歯槽骨骨塩量

咀嚼と歯槽骨骨塩量に関する研究は、実験動物あるいはヒトを対象として行われてきた。

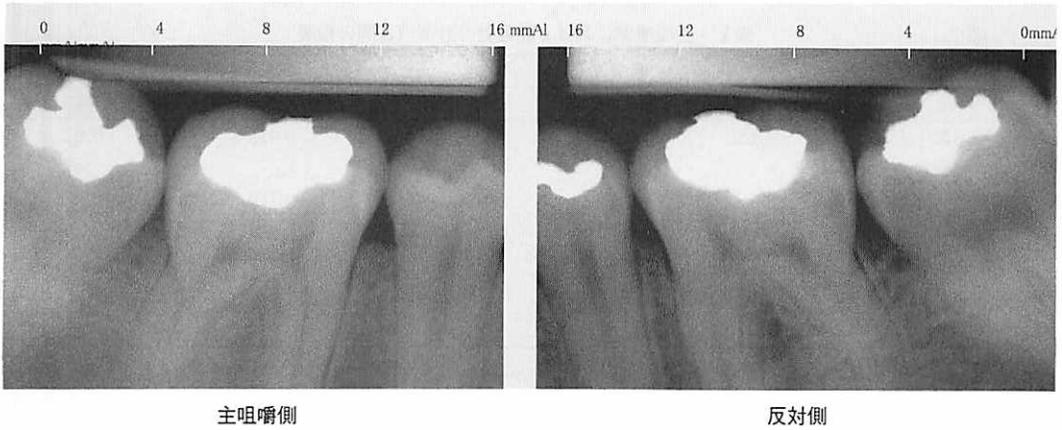
木村ら<sup>14)</sup>は、ラットを生後3週から6週間まで、粉末飼料群と固型飼料群に分けて飼育し、下顎切歯舌側歯槽骨のX線写真の濃度をアルミニウム当量に換

算して歯槽骨骨塩量を求め、また万能試験機による圧縮試験によって歯槽骨の破碎強度を求めた。その結果、粉末飼料群の歯槽骨骨塩量は0.89mm、破碎強度は13.40kg/cm<sup>2</sup>で、いずれも固型飼料群の1.48mmおよび20.50kg/cm<sup>2</sup>に比べて有意に低かった。このことから、ラットを粉末飼料で飼育すると下顎切歯歯槽骨の緻密性は低く、歯槽骨骨塩量も破碎強度も低いとしている。

首藤<sup>15)</sup>は、木村ら<sup>14)</sup>の方法に準じてラットを生後3週から6週間まで、粉末飼料群と標準固型飼料群に分けて飼育し、下顎切歯舌側歯槽骨のX線写真の濃度をアルミニウム当量に換算して骨塩量を求め、CMR像と走査型電子顕微鏡によって歯槽骨の骨梁構造を観察した。その結果、粉末飼料群では歯槽骨骨塩量は1.61mmで固型飼料群の1.90mmに比べて有意に低く、歯槽骨のハバース系が少なく、ハバース管周囲の骨小腔は不規則で緻密度が低かった。このことから、ラットを粉末飼料で飼育すると下顎切歯歯槽骨のハバース系が少なく、ハバース管周囲の骨小腔は不規則で緻密度も骨塩量も低いとしている。

一方、ヒトの咬合と下顎歯槽骨骨塩量の関係について、Shozushima *et al.*<sup>21)</sup>は、顎機能異常や歯の欠損のない歯学部学生46名(男子30名, 女子16名)を対象として、下顎大白歯部歯槽骨骨塩量と、最大咬合力および咬合接触面積との関連について報告している。歯槽骨骨塩量はX線写真の濃度を鉛の当量に換算して求め、最大咬合力と咬合接触面積は歯科用圧力感応シートにより求めた。下顎大白歯部の歯槽骨骨塩量は、咬合力および咬合接触面積とそれぞれ $r = -0.378$ ,  $r = -0.401$ の相関があり、いずれも有意であった。このことから、下顎大白歯部の最大咬合力と咬合接触面積が大きいと同部の歯槽骨骨塩量は高いとしている。

森田ら<sup>22)</sup>は、咀嚼時顎運動と臼歯部の咬合接触面積や最大咬合力、歯槽骨骨塩量との関連について報告している。鹿児島大学歯学部男子学生62名にガムを1分間自由咀嚼させ、片側の咀嚼回数が全咀嚼回数の75%以上を占めた偏咀嚼者23名を対象とした。歯槽骨骨塩量は、歯科用デジタルX線画像診断システム(図1)で得られた下顎両側第一大臼歯部歯槽骨のアルミニウム当量値(mmAl/m<sup>2</sup>)である。1分間のガム咀嚼時の顎運動を顎口腔機能統合検査装置で測定したところ、主咀嚼側の咀嚼回数、咬合相時間、最大側方幅は反対側に比べて有意に大きく(表1)、咀嚼回数は咬合相時間および最大側方幅と有意な正の相関があり、開口相、閉口相、咬合相の3相の時間には相互に有意な正の相関があった(表2)。また、主咀嚼側の下顎第一



(森田ら<sup>22)</sup>より)

図1 下顎第一大臼歯部歯槽骨のアルミニウム当量画像

表1 主咀嚼側と反対側における計測値の比較

	主咀嚼側	反対側
咀嚼時の顎運動に関する項目		
咀嚼回数 (30秒間)	36.0±7.5	2.4±2.8
咀嚼周期		
開口相時間 (sec/cycle)	0.26±0.06	0.26±0.07
閉口相時間 (sec/cycle)	0.23±0.05	0.23±0.05
咬合相時間 (sec/cycle)	0.25±0.05	0.24±0.05
咀嚼運動径路		
最大側方幅 (mm)	4.76±1.23	4.04±1.81
開口量 (mm)	19.82±4.75	20.22±3.28
第一大臼歯部に関する項目		
咬合接触面積 (mm <sup>2</sup> )	8.85±3.91	4.15±2.54
最大咬合力 (N)	210.1±75.7	111.0±58.7
歯槽骨骨塩量(mmAl/mm <sup>2</sup> )		
近心部	4.54±0.90	4.18±0.93
中央部	5.55±1.09	5.02±0.91
遠心部	5.36±0.88	4.99±0.81
平均	5.15±0.88	4.73±0.82
歯槽堤幅径 (mm)	12.9±1.2	12.8±1.2

n=23, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001

(森田ら<sup>22)</sup>より)

大白歯部における咬合接触面積, 最大咬合力, 歯槽骨骨塩量は反対側に比べて有意に大きく (表1), この3項目には相互に有意な正の相関があった (表3)。さらに, 主咀嚼側の咀嚼回数は下顎第一大臼歯部の咬合接触面積, 最大咬合力, 歯槽骨骨塩量と有意な正の相関があった (表4)。このことから, 臼歯部の咬合

接触面積と最大咬合力および歯槽骨骨塩量に影響を及ぼすのは, 咀嚼刺激のなかの咀嚼回数であろうと考察している。

マウスが粉末の練飼料を切歯で捕食するときの時間は平均0.9秒で, 固型飼料を捕食するときの3.6秒に比べて有意に短い<sup>4)</sup>。このことは, 上記の木村ら<sup>1)</sup> およ

表2 主咀嚼側における顎運動の計測項目間の相関

	咀嚼周期			咀嚼運動径路	
	開口相時間	閉口相時間	咬合相時間	最大側方幅	開口量
咀嚼回数	-0.328	-0.357	0.541*	0.415*	0.055
咀嚼周期					
開口相時間	-	0.646*	0.494*	-0.173	0.077
閉口相時間	-	-	0.646*	0.260	0.086
咬合相時間	-	-	-	-0.197	-0.235
咀嚼運動径路					
最大側方幅	-	-	-	-	-0.345

n=23, \*: p<0.05

(森田ら<sup>20)</sup>より)

表3 主咀嚼側における第一大臼歯部に関する項目の相関係数

	咬合接触面積	最大咬合力	歯槽骨骨塩量	歯槽堤頬舌幅
咬合接触面積	-	0.734***	0.388*	-0.211
最大咬合力	-	-	0.592**	0.142
歯槽骨骨塩量	-	-	-	0.315
歯槽堤頬舌幅	-	-	-	-

n=23, \*: P<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001

(森田ら<sup>20)</sup>より)

表4 主咀嚼側における咀嚼時の顎運動と第一大臼歯部に関する項目の相関係数

	咬合接触面積	最大咬合力	歯槽骨骨塩量	歯槽堤頬舌幅
咀嚼回数	0.418*	0.473*	0.482*	-0.760
咀嚼周期				
開口相時間	-0.197	-0.124	-0.167	0.255
閉口相時間	-0.084	0.545	0.030	0.223
咬合相時間	-0.414	-0.124	-0.167	0.255
咀嚼運動径路				
最大側方幅	0.450	0.402	0.122	-0.162
開口量	0.447	-0.392	0.120	-0.232

n=23, \*: P<0.05

(森田ら<sup>20)</sup>より)

び首藤<sup>19)</sup>の報告において、粉末飼料で飼育したラットでは下顎切歯歯槽骨のハバース系が少なく、ハバース管周囲の骨小腔は不規則で緻密度も骨塩量も低く、破碎強度も低いことと符号している。森田ら<sup>20)</sup>の報告においても、主咀嚼側の咀嚼回数は、下顎第一大臼

歯部の咬合接触面積、最大咬合力および歯槽骨骨塩量と有意の相関があり、これらのことから、咀嚼刺激のなかでも特に咀嚼回数が咬合接触面積を増やして最大咬合力と歯槽骨の緻密性を高める効果があると考えられる。

### Ⅲ. 噛みしめと手足の筋力

全身の筋力を発揮する時には、約25%の者が噛みしめをしているという<sup>20)</sup>。

河村ら<sup>21)</sup>は、健康な成年男子11人に5分間、臼歯部で木片を最大噛みしめさせ、顎運動に直接関わる咬筋、側頭筋、舌骨上筋群の筋活動と、頸筋、前腕伸筋、腓腹筋の筋活動とを筋電図で観察している。その結果、臼歯部で噛みしめることによって、顎運動に関わる筋群の活動が高まるだけでなく、頸筋、前腕伸筋、腓腹筋の筋活動も高まったとしている。

上野<sup>20)</sup>は、噛みしめの強さと身体運動機能との関連を検討するために、成人の正常咬合者12名を対象として、下顎安静時、咬頭嵌合時、最大噛みしめ(MVC)時の20%(20%MVC)、最大噛みしめ時の50%(50%MVC)、最大噛みしめ時(100%MVC)の6条件下で肩関節内転筋の等尺性最大筋力と平均筋力を測定している。その結果、内転筋の最大筋力は、いずれの噛みしめ時でも下顎安静時に比べて有意な増加を示さなかったが、平均筋力は、100%MVCでは下顎安静時に比べて5.4%の有意な増加を示した。また、咬頭嵌合時の噛みしめと最大筋力にはr=0.584、平均筋力にはr=0.683の相関があり、いずれも有意であった。このことから、噛みしめの強さは上肢の筋力に影響を及ぼすことを示している。

手足の筋活動を支配する脊髄の運動ニューロンの興



プラセボスプリント

オクルーザルスプリント

図2 スプリントの装着状態

(飯野ら<sup>29)</sup>より)

奮性は、脊髄単シナプス反射であるヒラメ筋H反射の振幅によって検知することができる<sup>30)</sup>。このヒラメ筋H波の振幅は歯を噛みしめると増大し、しかも噛みしめ強度とヒラメ筋H反射の促通量(振幅量)には正の相関がある<sup>31)</sup>。このことから、噛みしめによる咀嚼筋の活動が脊髄のヒラメ筋H反射の促通量を介して脊髄の運動ニューロンを興奮させると考えられている。

宮原<sup>31)</sup>は、顎口腔機能に異常のない成人11名を対象として、噛みしめとJendrassik手法(両手を組み合わせて閉眼させ、合図と同時に両手を左右に引っ張る)<sup>32, 33)</sup>および両拳の握りしめをそれぞれ随意性最大筋力で行なわせて、ヒラメ筋H反射の振幅量を求めた。その結果、ヒラメ筋H反射の振幅量はJendrassik手法で37.5%、両拳の握りしめで36.6%増加し、しかも噛みしめとヒラメ筋H反射の振幅量に有意な正の相関があった。このことから、手の随意性最大筋力発揮時におけるヒラメ筋H反射の促通量は、噛みしめの影響を受けて増加することを報告している。

飯野ら<sup>29)</sup>は、叢生歯列では咬合接触歯数が少ないため咬合力を僅かな歯で支えるが、スプリントを装着して噛みしめると咬合力が多く歯に分散されて手足の筋力は増大すると考えた。そこで、鹿児島大学歯学部男子学生のうち、筋力発揮時に歯を噛みしめる習慣のある正常咬合者13名(N群)と叢生者15名(C群)を選び、スプリントを装着して噛みしめ時の肘関節屈曲筋群の等尺性筋力の増大を調べた。スプリントとして、上下顎第一大臼歯を2~3mm離開した顎位で製作した全歯接触型のオクルーザルスプリントと、その咬合面部を削除したプラセボスプリントの2種類を用いた(図2)。スプリント非装着(NS)、プラセボスプリ

表5 スプリント装着による筋力の増大

人数	平均筋力		最大筋力	
	PSIによる増大	OSIによる増大	PSIによる増大	OSIによる増大
N群 13				
増大量(N)	2.8±17.5	8.1± 9.0	7.9±17.4	8.7±12.3
増大率(%)	1.8± 9.5	4.0± 4.7	3.7± 8.9	3.9± 5.6
C群 15				
増大量(N)	5.8±13.0	16.7±15.6	4.0±13.1	13.7±13.0
増大率(%)	3.3± 8.0	9.5± 8.5	1.6± 5.9	6.7± 6.3

mean±SD, Mann-Whitney, \*:p<0.05

(飯野ら<sup>29)</sup>より)

ント装着(PS)、オクルーザルスプリント装着(OS)の3条件下で、肘関節屈曲筋群の等尺性筋力の平均筋力と最大筋力を測定した。N群の平均筋力とC群の平均筋力ならびに最大筋力には、測定条件により有意なばらつきがあった(表5)。また、N群の平均筋力と最大筋力には、PSによる増大とOSによる増大とに有意差がなかった。しかしC群では、OSによる平均筋力の増大量と増大率、および最大筋力の増大率は、PSによる増大に比べて有意に大きかった(表5)。全被検者による相関分析では、平均筋力の増大量および増大率は咬合接触歯数との間にそれぞれ有意な負の相関があったが、最大筋力の増大量および増大率と咬合接触歯数には有意な相関がなかった(図3)。以上から、咬合接触歯数が少ないC群ではスプリントを装着すると咬合力は分散されて噛みしめ強度が増し、

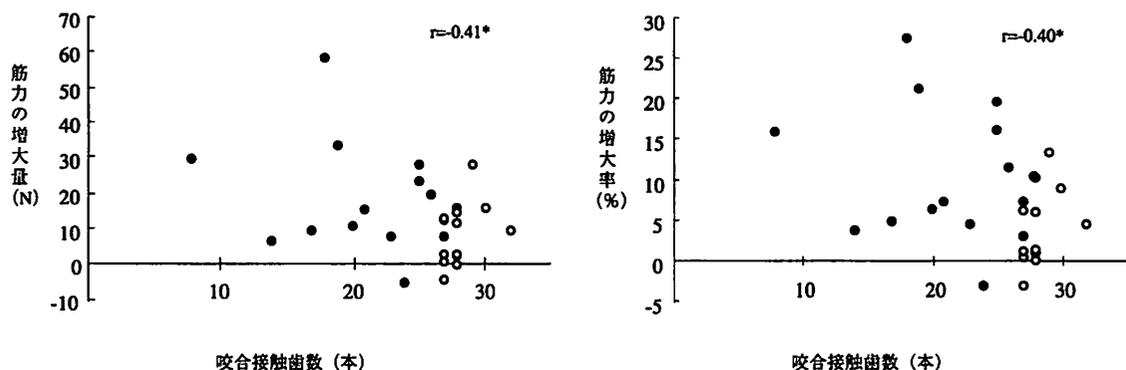


図3 OSによる平均筋力の増大と咬合接触歯数との散布図

○: N群, ●: C群, \*:  $p < 0.05$

(飯野ら<sup>20</sup>より)

肘関節屈曲筋力が増大すると考察している。

以上の報告から、歯の噛みしめは手足の筋活動に影響を及ぼすが、それは噛みしめによって脊髄の運動ニューロンが興奮するためであり、しかも噛みしめ強度に咬合接触歯数が関わっていることが理解される。しかし、噛みしめと脊髄の運動ニューロンを介したヒラメ筋H反射の促通量との関連において、咬合接触が果たす役割についてはようやく検討が始まったばかりであり、さらに多くの研究が必要と思われる。

#### IV. おわりに

近年、少子高齢化社会を迎えて、子どもの運動能力の低さと、高齢者の運動能力の維持が保健医療の分野で注目されている。歯科においても、不正咬合や顎変形症、顎機能障害などの顎顔面形態や顎機能に関する疾病が多く採り挙げられ、咀嚼器官の生理的あるいは病理的状态と咀嚼や咬合の役割について詳細な検討が求められている。本稿で引用した論文によれば、臼歯部の咬合接触面積が大きいと最大咬合力も同部の歯槽骨骨塩量も高く、しかもこれらに影響を及ぼすのは咀嚼刺激のなかでも咀嚼回数が大きな役割を果たしていた。また、歯の噛みしめは、脊髄のH反射の促通を介して手足の筋活動に影響を及ぼすが、顎運動に関わる筋群と手足の運動に関わる筋群との神経生理学的協調の様相が明らかになりつつある。

今後の方向として、咀嚼あるいは噛みしめが顎顔面ならびに身体各部の機能に及ぼす影響と機構についてさらに詳細な検討が必要と思われる。

#### 文 献

1. 中村嘉男, 森本俊文, 柴 芳樹, 古山俊介, 丸井隆之, 三枝木康丈, 寺澤 崇, 片倉伸郎, 真貝富夫, 小坂光男, 副田博之, 佐久間康夫, 林 治秀, 柳沢慧二, 足立 明, 角野隆二, 岩田幸一, 太田雅博, 天野仁一朗, 泰羅雅登, 稲永清敏, 佐藤豊彦, 入來篤史, 鈴木 隆, 佐藤俊英, 山本 隆, 小野田法彦, 村上俊樹, 山田好秋, 上羽隆夫, 松井洋一郎, 和田 健: 咀嚼. 基礎歯科生理学, 第3版, 中村嘉男, 森本俊文編, 332-344, 医歯薬出版株式会社, 東京, 1998
2. Smith, B. H.: Patterns of molar wear in hunter-gatherers and agriculturalists. *Am J Phys Anthropol*, 63, 39-56, 1984
3. 中島邦久, 志賀 博, 小林義典: 咀嚼運動経路のパターンからみた各種食品咀嚼時の咀嚼筋活動. *補綴誌*, 37, 1246-1258, 1993
4. 相星順子: 性状の異なる飼料で飼育したマウスの臼歯咬耗の形態. *日矯歯誌*, 53, 429-442, 1994
5. Liu, Z. J., Ikeda, K., Harada, S., Ito, G.: Functional properties of jaw and tongue muscles in rats fed a liquid diet after being weaned. *J Dent Res*, 77, 366-376, 1998
6. Ikeda, K.: Development of jaw muscles' function in rats fed a kneaded diet. *Orthod Waves*, 57, 163-172, 1998
7. Ikeda, K., Liu, Z. J., Harada, S., Kasahara, Y., Ito, G.: Alternating activities of masseter

- and digastric muscles in growing rats fed a kneaded diet, in *Neurobiology of Mastication - from Molecular to System Approach*. 1<sup>st</sup> ed., Eds. Nakamura, Y. and Sessle, B. J., 379-382, Elsevier, Amsterdam, 1999
8. 伊藤学而, 黒江和斗, 安田秀雄, 井上直彦, 亀谷哲也: 顎骨の退化に関する実験的研究. *日矯歯誌*, 41, 708-715, 1982
  9. 黒江和斗, 伊藤学而: 食物の軟化による咀嚼器官の退化. *西日矯歯誌*, 27, 19-24, 1983
  10. 大迫恒伸, 黒江和斗, 松尾 光, 宇都博幸, 小野晴美, 押川昌一郎, 山形圭一郎, 伊藤学而: 授乳形態と顎発育に関する実験的研究. *西日矯歯誌*, 33, 33-38, 1988
  11. Ito, G., Mitani, S., Kim, J. H.: Effect of soft diets on craniofacial growth in mice. *Anat Anz*, 165, 151-166, 1988
  12. 黒江和斗: 下顎頭と下顎窩の加齢変化に及ぼす咀嚼の影響. *日矯歯誌*, 50, 196-209, 1991
  13. 吉田礼子: 液状飼料飼育マウスの咀嚼筋筋線維の分化と発達に関する研究. *日矯歯誌*, 54, 52-63, 1995
  14. 木村光孝, 西田郁子, 牧 憲司, 高橋宙文, 渡辺博文, 野沢典央, 堤 隆夫, 岡 裕美子: 食物の硬軟による成長期下顎骨の変化に関する実験的研究. *小児歯誌*, 29, 291-298, 1991
  15. 首藤洋治: 顎骨の成長に関するX線的, 光顕的ならびに走査電顕的研究—食物の硬軟による歯槽骨の変化—. *九州歯会誌*, 46, 574-595, 1992
  16. 高橋 忠: 成長期ラットの下顎骨に対する食物の硬軟の影響に関する研究. —骨塩量, 強度ならびに形態変化—. *九州歯会誌*, 48, 188-209, 1994
  17. Wilding, R. J. C., Lewin, A: A model for optimum functional human jaw movements based on values associated with a preferred chewing patterns. *Arch oral Biol*, 36, 519-523, 1991
  18. 林 幸男: 咀嚼機能と歯列形態に関する研究習慣—習慣性咀嚼側と上下顎歯の位置関係について—. *日大口腔科学*, 21, 223-234, 1995
  19. 井上哲郎, 串田一博, 宮本繁仁, 矢島秀世, 伊丹康人, 山下源太郎: X線像による骨萎縮度判定の試み. *骨代謝*, 13, 187-195, 1980
  20. 牧 憲司, 葛立 宏, 堤 隆夫, 尾崎章寿, 木村光孝: 学童期小児の下顎骨骨塩量と咬合力に関する臨床研究. *小児歯誌*, 32, 316, 1994
  21. Shozushima, M., Nakano, H., Kubota, M., Kamegai, T., Ishikawa, F., Saito, H., Sakamaki, K.: Bone mineral content of human mandible related to bite force and occlusal area. *Dent J Iwate Med Univ*, 21, 215-222, 1996
  22. 森田三保子, 黒江和斗, 伊藤学而: 咀嚼による機械的刺激と下顎大白歯部歯槽骨骨塩量との関連(会). 第59回日本矯正歯科学会大会, 大阪市, 2000
  23. Kaufman, A., Kaufman, R.: Use of the MORA to reduce headaches on members of the U. S. Olympic Luge Team. *Basal Facts*, 5, 129-133, 1983
  24. 大山喬史: スポーツ歯学の臨床, 初版, 124-126, 医学情報社, 東京, 1983
  25. Fujii, H., Mitani, H.: Reflex responses of the masseter and temporal muscles in man. *J Dent Res*, 52, 1046-1050, 1973
  26. 高橋正光, 浅野和巳, 葛西一貴, 岩澤忠正: 感圧フィルムによる咬合力分布と顎顔面形態の関連について. *日大口腔科学*, 21, 141-148, 1995
  27. 河村洋二郎, 藤本順三, 船越正也, 三木敬一: 噛みしめにより生じる身体機能変化に就いて. *阪大歯誌*, 1, 47-58, 1956
  28. 上野俊明: 噛みしめと上肢等尺性運動の関連性に関する研究. *口病誌*, 62, 212-253, 1995
  29. 飯野祥一郎, 黒江和斗, 中山二博, 市来 誠, 前田哲男, 大渡昭彦, 祁答院公興, 伊藤学而: オクルーザルスプリントと肘関節屈曲筋群の等尺性筋力との関連. *Orthod Waves*, in press, 2001
  30. 田中勳作: 随意運動制御の脊髄神経機構筋電図学的研究. *神経学レビュー*, 3, 61-92, 1989
  31. 宮原隆雄: ヒトのヒラメ筋H反射の噛みしめによる変調. *口病誌*, 58: 670-686, 1991
  32. Delwaide, P. J. and Toulouse, P.: Facilitation of monosynaptic reflexes by voluntary contraction of muscles in remote parts of the body. Mechanics involved in Jendrassik maneuver. *Brain*, 104, 701-719, 1981
  33. Delwaide, P. J. and Toulouse, P.: The Jendrassik maneuver: Quantitative analysis of reflex reinforcement by remote muscle contraction. In: *Motor control mechanisms in health and disease*. Ed. Desmed, J. E., 661-669, Raven, New York, 1983



# 口腔癌に対する放射線照射併用超選択的動注化学療法 の治療効果に関する検討

石神 哲郎

鹿児島大学歯学部附属病院・特殊歯科総合治療部

## Study on the effect of superselective intra-arterial infusion chemotherapy combined with radiation therapy for oral cancer.

Tetsuro Ishigami

Department of Special Care Dentistry,  
Kagoshima University Dental Hospital

### Abstract

Tumor blood vessels are different from the normal capillary vessels in point of the function and anatomical form. They supply not only nutrition and oxygen but also anticancer agents in cases of the chemotherapy. Transplanted VX2 carcinoma in the tongue, treated by bleomycin or non-treated, were investigated ultrastructurally, microangiographically, and injection replica scanning electron microscopically. The results obtained experimentally observed with these methods were interpreted to indicate anticancer agent damages the tumor vascular system when intravenous administration repeated. This harmful effect seemed to be an important factor for controlling tumor in clinical practice.

Therefore, to reduce the damages for the tumor blood vessel, superselective intra-arterial infusion chemotherapy were administered for the oral cancer. Because only once administration, it is taken the highly concentration of the anticancer agent in the tumor tissue and lesser damages for the blood vessels. In addition, hyperfractionated radiotherapy was combined with simultaneously.

This therapy was performed on 16 patients. When the irradiation dosage reached about 10Gy, intra-arterial infusion chemotherapy was planned. Angiographic images was obtained into the main feeding artery of the tumor via the femoral artery applied by Seldinger's technique at first. The formula of Calvert is clinically useful to determine the carboplatin dosage.

This method had a remarkable antitumor effect and mild adverse reactions. Total response rate was calculated as 100%.

As to the histopathological effects of 14 cases examined, Grade IIa was 3 cases, and Grade IIb;4, Grade III;2, Grade IV;5 respectively according to the pathological effects on Oboshi-Shimosato's classification. Regarding the relationship between clinicopathological malignancy and effects of this preoperative treatment, the histopathological response tended to diminish as the malignancy grade became higher.

Based on these histopathological findings, it showed that the efficacy of this combination therapy for the primary lesions was high. The curability of the surgical procedures subsequent to this therapy was considered to improve the prognosis of the oral cancer.

#### Key words:

tumor blood vessel, effect of anticancer agents, ultrastructural changes, superselective intra-arterial infusion chemotherapy, clinico-pathological study

#### 1. はじめに

近年、腫瘍が増殖し浸潤する過程における血管系の態度や、あるいは腫瘍に対する化学療法の効果と血管密度との関係など腫瘍組織内に存在する血管の役割に関する研究がすすめられている。

腫瘍組織内に存在する血管は腫瘍血管と呼ばれ、腫瘍血管は形態と機能において正常組織内に存在する血管系とは著しく異なっていることが解明されてきている<sup>1,2)</sup>。腫瘍血管は、腫瘍組織への栄養供給路であるとともに、抗癌剤投与に際しては薬剤の到達路ともなるため癌の化学療法においては重要な意義をもつ<sup>3)</sup>。口腔癌の治療においては、化学療法が重要な位置を占めており、臨床的には抗癌剤は経静脈的に投与される場合が多い<sup>4)</sup>。そこで、抗癌剤の経静脈投与が腫瘍血管におよぼす影響を検索する目的で、実験腫瘍である家兎 VX2 舌癌を用いて、口腔癌に対する治療効果の高い抗癌剤であるプレオマイシン (BLM) を投与し、腫瘍血管の変化を観察した<sup>5)</sup>。

その結果は、硫酸バリウムを用いた血管造影法による観察では腫瘍血管の分布は減少し、狭小化を呈していたり寸断化している像が観察された (写真1)。腫瘍血管の血管内皮細胞の微細構造について透過型電子顕微鏡で観察すると、細胞間隙は開大し、細胞質の一部が水疱状に血管内腔に突出していたり、著しく電子密度の高い細胞と低い細胞が同一の血管において認められた。また、基底膜が多層化している所見も観察された (写真2)。腫瘍血管のレジン注入法による血管鋳型像の走査型電子顕微鏡による観察では、盲端状に

伸長する新生血管の長さが短小化しており、鋳型表面は凹凸不正な像が印記されていた (写真3)。

これらの所見から、抗癌剤の投与開始初期には、腫瘍血管の透過性亢進と相俟って BLM は腫瘍細胞へ直接的に作用して腫瘍の増殖を抑制し腫瘍細胞の壊死を生じさせるが、やがて BLM の影響は腫瘍血管自身にもおよび、血管内皮細胞は障害を受け壊死性変化を呈し、腫瘍組織への血流量が低下することが推測された。これらの変化は、腫瘍組織への栄養や酸素供給を減少させるため腫瘍細胞の増殖には不利に作用するが、抗癌剤の局所到達性も阻害されるため、腫瘍細胞への直接作用が減少する可能性が示唆された。

とくに、抗癌剤の腫瘍血管に対する障害作用は、抗腫瘍効果の持続という点で重要な因子であり、障害を軽減する抗癌剤の投与法の開発が検討されてきており、抗癌剤の動注療法と放射線の同時併用療法もその一つである。

そこで鹿児島大学歯学部附属病院第1口腔外科では、血管造影下に腫瘍の支配動脈を確認し、カルボプラチン (CBDCA) を超選択的に動注する化学療法と放射線多分割照射の同時併用療法 (以下、本療法と略) を、1997年8月から本学医学部放射線科と共同で開始した<sup>6)</sup>。

動注化学療法は、経静脈的化学療法に比べ、腫瘍組織内に高濃度の抗癌剤を集中させることが可能であり、かつ全身的な副作用が比較的軽微であるうえに、短期間に優れた一次効果が得られる治療法であることが報告されている<sup>7,8)</sup>。1回で高濃度の抗癌剤を集中的に

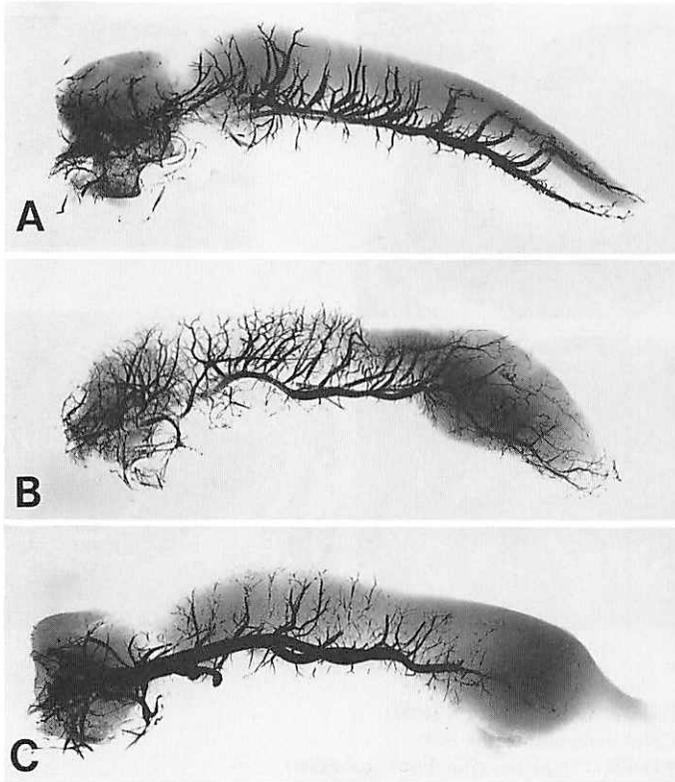


写真1 血管造影写真(舌側面像)

- A : 正常家兎, 舌動脈から分枝した血管網の直線的な走行が観察される。  
 B : 腫瘍組織移植舌, 腫瘍組織内へ大小さまざまな血管が不規則に走行し, 一部では網状を呈している。  
 C : BLM 投与群, 腫瘍組織内へ向かう血管網はその分布密度が減少し, 狭小化してほとんど観察されない。

腫瘍組織内に到達させることは, 前述のような抗癌剤による腫瘍血管の影響が顕著になる前に化学療法を終了させることが可能となり, 合理的であると考えられる。

また, 近年の Interventional Radiology のめざましい進歩により, 一段と選択的にカテーテルを終末動脈付近に挿入する超選択的動注療法が実施されるようになったため, 正常組織の保護に配慮しつつかつ抗癌剤の腫瘍集中性を一層高めることが可能になってきた<sup>9)</sup>。

## 2. 本療法の概要

本療法の概要は, 放射線治療に関しては, 1回1.5 Gy, 1日2回, 週10回照射する多分割照射が原則的に採用され, 照射総線量は全例30Gyであり, 動注療法を実施する時期は, 照射線量が10Gy前後に達した

時期を目安とした(図1)。放射線治療に関して今回実施した多分割照射法は, 1日に複数回照射することで正常組織と腫瘍組織の放射線障害の差を大きくし, 短期間に高線量を照射し腫瘍制御を高める方法であり<sup>10)</sup>, 頭頸部癌, 肺癌, 食道癌などで広く用いられ良好な成績が報告されている<sup>11)</sup>。そのうえに, 動注化学療法を放射線照射と併用することにより, 腫瘍細胞の heterogeneity に幅広く対応でき, 治療効果は一層増強されるものと考えられた。

本療法を術前治療と位置づけて実施し, その後に根治手術を4週間以内に行なった。

## 3. 超選択的動注化学療法について

血管造影ならびに動注化学療法は, Seldinger 法により大腿動脈からカテーテルを挿入して外頸動脈造影

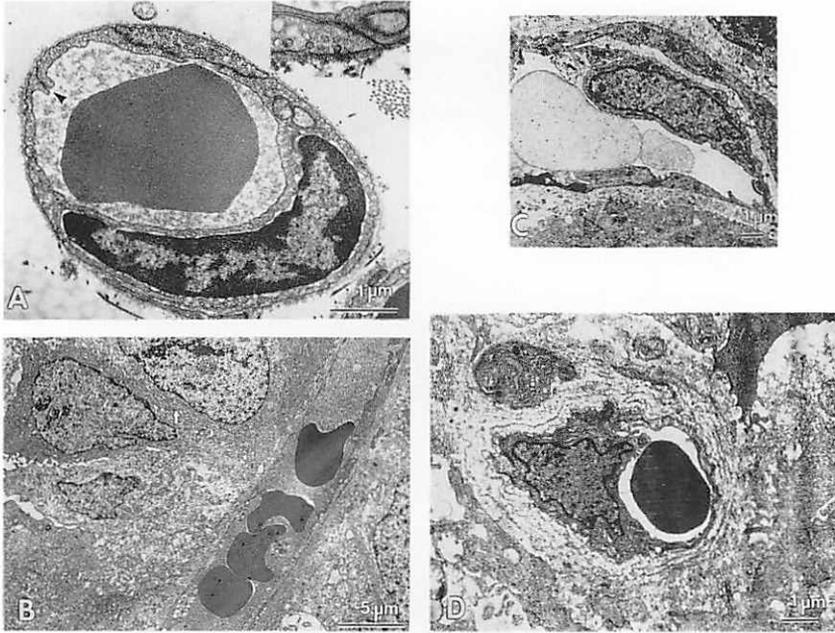


写真2 透過型電顕写真

- A : 正常家兎の舌毛細血管写真 (×24000)  
 矢頭は marginal fold を示す。  
 挿入写真は tight junction を示す (×40000)。
- B : 腫瘍組織概観 (×3000)  
 腫瘍細胞 (t) に隣接して、菲薄な内皮細胞に囲まれた管腔内に赤血球が観察される腫瘍血管が認められる。
- C, D : BLM 投与群の腫瘍血管写真  
 C : 電子密度の低い血管内皮細胞の細胞質の一部分が管腔内へ突出している。同一血管を構成する血管内皮細胞間に電子密度の違いも観察される (×7500)。  
 D : 多層化した基底膜が血管を囲繞している (×11000)。

を行い、原発腫瘍の支配動脈の同定を行い、インジゴカルミン注入による確認後 CBDCA を注入した (写真4)。

#### 4. 臨床的治療効果について

本治療法を施行した口腔癌患者16例の臨床的概要を検討してみると<sup>6)</sup>、性別は男性10例、女性6例であり、年齢は34歳から77歳におよび、平均年齢は57.3歳であり、原発部位は、舌が7例、下顎歯肉、口底、上顎歯肉、頬粘膜がそれぞれ2例、口峽咽頭が1例であり、全例が扁平上皮癌であった (表1)。進展度分類に関する TNM 分類では T1 が1例、T2 が12例、T4 が3例であった (表1)。

検索対象の16例中8例 (50%) と半数が65歳以上の

高齢者であったにもかかわらず、本療法による重篤な合併症を生じることも少なくかつ良好な一次効果を得られたことから、最近では比較的高齢者も本療法の適応に含めるようになってきた。

臨床的治療効果の判定は、CR 2例、PR14例で奏効率率は100%であった。部位別の臨床的効果に関しては、CR と判定した2例はいずれも舌が原発部位であった (表2)。

動注に使用された血管は、舌癌に対しては全例が舌動脈であり、下顎歯肉癌には顔面動脈が、上顎歯肉癌には顎動脈が、口峽咽頭癌には顔面動脈がそれぞれ主として使用された。口底癌の2例に対しては、両側の舌動脈を使用した症例と一側の顔面動脈を使用した症例があった (表3)。

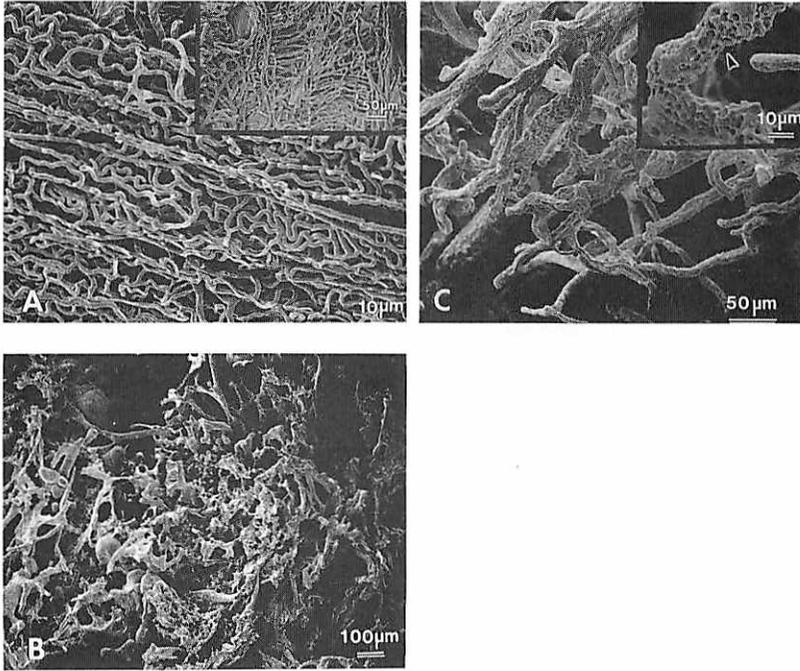


写真3 血管鑄型像

A : 正常家兎舌の血管鑄型像 (×500)

毛細血管網の血管鑄型の太さはほぼ均一であり、分枝と蛇行、彎曲しながら同一方向に伸長している。

挿入写真：血管鑄型が交錯する部位では、格子状に観察される (×200)。

B : 腫瘍組織移植舌の血管鑄型像 (×100)

外形不整で、扁平化した不規則な網状血管網を呈している。血管の終末部は盲端状となり、伸長の方向に規則性は認められない。

C : BLM 投与群の舌血管鑄型像 (×330)

網状血管網から壊死組織の方向へ向かう血管は、長さが短少化している。

挿入写真：血管鑄型の表面には多数の凹凸が印記されている (×740)。

Linac:	1回 1.5 Gy, 1日2回, 週10回: 計 30 Gy : 多分割照射											
day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
午前	RT①	RT③	RT⑤	RT⑦		RT⑨	RT⑪	RT⑬	RT⑮	RT⑰	RT⑱	
				+								
				動注 : 照射線量が10Gy前後に達した時期に行う								
午後	RT②	RT④	RT⑥		RT⑧	RT⑩	RT⑫	RT⑭	RT⑯	RT⑳		

RT : 放射線治療

図1 放射線治療スケジュール

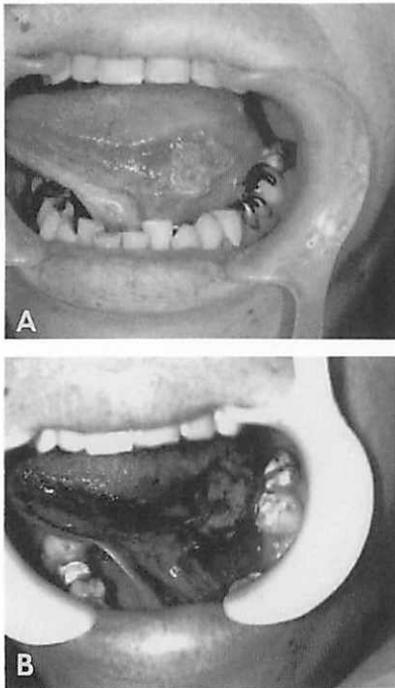


写真4 インジゴカルミン注入による血管支配確定

A: T2 舌癌 (症例11) の病態写真

B: 腫瘍濃染像 (同一症例)

舌動脈に注入したインジゴカルミンにより、  
腫瘍全体が染色されている。

超選択的動注の手技に関しては、放射線科専門医が施行することにより、順調に比較的容易に実施可能であったが、顎動脈と舌動脈に注入を必要とする症例に時間を要する傾向があった。口腔領域の悪性腫瘍は、ほとんどが舌動脈、顎動脈、顔面動脈の分枝に注入することにより超選択的動注化学療法が可能であったが、解剖学的な血行支配が複雑な部位もあり、動注血管を決定することに時間を要したり、複数の血管に分割して投与せざるえない場合も認められた。中村ら<sup>12)</sup>も、腫瘍の占拠部位から考えられる解剖学的支配動脈と外頸動脈造影から得られた腫瘍の支配動脈が一致しない場合があることを報告しており、抗癌剤注入にあたっては、造影剤による腫瘍濃染と色素剤による腫瘍着色の両者による確認が必要であると思われた。

本治療法と根治手術との関係を見ると、放射線・動注療法の術前治療期間は平均16.4日であった。この間に骨髄抑制や放射線性口内炎の増悪等により本療法を

中断せざるえなかった症例は認められなかった。本療法終了後、手術までの待機期間は平均25.5日であり、薬物有害反応や放射線性口内炎などの副作用のために予定手術が延期された症例はなかった(表3)。

CBDCAの投与量に関しては、最少250mgから最高500mgにおよび平均364.7mgであった(表3)。投与量の決定はCalvert<sup>13)</sup>の式を用い、血中濃度曲線下面積(AUC: area under the curve)を4.5に設定したが、白血球減少、血小板減少、悪心、下痢などは比較的軽度であり重篤なものは認められなかった。他の薬物有害反応に関して最も多くみられたのは、経管栄養や麻薬投与を要する比較的重症の口内炎であり全例に認められた(表4)。

従来は、放射線と抗癌剤の併用では、それぞれの副作用が増強して発現し、重篤な合併症を併発したり、回復まで時間を要し手術までの期間や入院期間が延長せざるえないことがあることも報告されている<sup>14)</sup>が、今回のわれわれの術前治療期間に関する検索では、本療法では化学療法と放射線療法の両者を約一か月間で終了し、良好な一次治療効果を得て、さらに全身的な有害反応を軽症に終わらせることにより、全例予定手術を実施することが可能であり、本治療法は、術前の担癌期間が相当に短縮しうると思われた。

また、多分割照射法による1日に2回の放射線照射は、超選択的動注化学療法の効果を相乗的に高めたと考えられ、照射線量を従来の50Gy前後から30Gyに節減しても治療効果に遜色はなかった。

## 5. 組織学的効果について

臨床的效果判定が主として肉眼的所見に依存し、表面的な変化しか捉えないことや治療によって脱落した腫瘍の隆起部は組織学的効果判定の対象とされえないこと、さらに歯肉癌においては顎骨深部に浸潤した腫瘍の触診が困難であるため臨床的治療効果判定には限界があり、肉眼的変化に基づいた切除範囲の設定は危険であることが指摘されているので<sup>15)</sup>、鹿児島大学歯学部附属病院第1口腔外科では縮小手術を施行せず、初診時の腫瘍占拠範囲を含めて切除する根治手術を行っており、その切除標本を用いて組織学的効果の検索を行った。

本療法を適用した16症例のうち、一次治療として本療法が施行され、その後に手術療法を実施されたことにより本療法単独の組織学的効果の検索が可能であったのは、14例であった(表1)<sup>6)</sup>。

原発部位における組織学的効果に関しては、大星・

表1 症例の概要

性別	年齢	診断	TNM	stage	病理診断	YK分類	分化度	臨床病理学的悪性度	臨床的效果	組織学的効果	
1	男性	59歳	口峽咽頭癌	T2N0M0	II	SCC	4 D	moderately	高悪性	P R	IV
2	男性	50歳	舌癌	T1N0M0	I	SCC	4 C	poor	高悪性	P R	II a
3	女性	49歳	口底癌	T2N0M0	II	SCC	3	well	中悪性	P R	II b
4	男性	69歳	口底癌	T2N1M0	III	SCC	3	moderately	未手術	P R	手術拒否
5	男性	69歳	舌癌	T1N0M0	I	SCC	4 C	moderately	中悪性	C R	IV
6	男性	63歳	舌癌	T2N0M0	II	SCC	4 C	moderately	高悪性	P R	III
7	男性	51歳	舌癌	T2N0M0	II	SCC	4 C	well	中悪性	P R	II a
8	男性	34歳	舌癌	T2N0M0	II	SCC	3	well	低悪性	C R	III
9	女性	77歳	下顎歯肉癌	T4N2bM0	IV	SCC	3	moderately	中悪性	P R	II b
10	男性	69歳	上顎歯肉癌	T4N0M0	IV	SCC	2	well	低悪性	P R	II b
11	女性	47歳	舌癌	T2N0M0	II	SCC	4 C	moderately	中悪性	P R	IV
12	女性	71歳	上顎歯肉癌	T2N0M0	II	SCC	3	well	中悪性	P R	II b
13*	男性	57歳	舌癌	T4N2bM0	IV	SCC	4 C	poor	未手術	P R	二次症例
14	女性	75歳	下顎歯肉癌	T2N0M0	II	SCC	3	moderately	中悪性	P R	IV
15	女性	70歳	頬粘膜癌	T2N1M0	III	SCC	4 C	moderately	中悪性	P R	II a
16**	男性	78歳	頬粘膜癌	T2N1M0	III	SCC	3	moderately	低悪性	P R	IV

男性 10例 平均年齢 57.3歳  
女性 6例

\* : 他院にて既治療例 (経静脈的化学療法 : MTX + 5FU + CDDP)

\*\* : 温熱療法併用

↓  
高悪性 3例 PR 14例 II a 3例  
中悪性 8例 CR 2例 II b 4例  
低悪性 3例 III 2例  
IV 5例

表2 部位別臨床的效果

部位	臨床的效果			
	PD	NC	PR	CR
舌			●●●●●●	●●
口底			●●	
上顎歯肉			●●	
下顎歯肉			●●	
頬粘膜			●●	
口峽咽頭			●	

下里分類では、Grade Iの症例は認められず、Grade II aが3例、Grade II bが4例、Grade IIIが2例、Grade IVが5例であり、Grade II b以上が全例の78.6%を、特にGrade III、IVで50%を占めていた(表1)。

原発部位と組織学的効果との関連については、特に舌が原発部位である症例においては全体の66.7%がGrade III、IVを呈しており、良好な結果であった(表5)。全体的な組織学的効果に関しては、Grade II b以上が78.6%と比較的高値であり、なかでもGrade III、IVといった著効例が50%と高率に認められた。口腔癌のうちで最も発生頻度高い舌癌<sup>16)</sup>に対するCR率が高くかつ組織学的効果もGrade III、IVが2/3以上を占めていたことは、本療法の口腔癌に対する治療法としての意義を一段と高めるものと考えられた。

## 6. 臨床病理学的悪性度と治療効果について

次に、初診時の各症例の臨床所見および病理組織学的所見から評価した臨床病理学的悪性度を求め、各々

表3 本療法実施症例の概要と治療期間

症例番号	原発部位	CBDCAの量	動注血管	カテーテル挿入の印象	動注の合併症	放射線・動注療法期間	左記治療終了後手術までの期間	
1	口咽頭癌	375mg	外頸動脈	普通, しかし支配血管決定が困難だった。		22日	19日	
2	舌癌	410mg	舌動脈	易		14日	21日	
3	口底癌	380mg	顔面動脈	難		14日	20日	
4	口底癌	280mg	舌動脈	普通, しかし施術時間が長かった。		14日	未手術	
5	舌癌	400mg	舌動脈	普通		18日	46日	
6	舌癌	360mg	舌動脈	難	動注翌日の狭心症様胸部痛	14日	26日	
7	舌癌	360mg	舌動脈	易		18日	32日	
8	舌癌	440mg	舌動脈	易, しかし薬剤注入時疼痛あり	動注時の灼熱感と疼痛 動注翌日の下顔面～頸部の腫脹	15日	22日	
9	下顎歯肉癌	300mg	顔面動脈	易		15日	28日	
10	上顎歯肉癌	320mg	顎動脈	易		19日	27日	
11	舌癌	400mg	舌動脈	易		18日	29日	
12	上顎歯肉癌	300mg	顎動脈	普通	眼窩下部皮膚の潰瘍形成	19日	25日	
13	舌癌	500mg	舌動脈(両側)	普通		15日	25日	他院にて経静脈的 化学療法の既治療例
14	下顎歯肉癌	250mg	顔面動脈 顎動脈	普通		18日	15日	
15	頬粘膜癌	400mg	顎動脈	普通		15日	32日	
16	頬粘膜癌	360mg	顔面動脈 顎動脈	普通		15日	15日	温熱療法併用
	平均	364.7mg				16.4日	25.5日	

表4 薬物有害反応

	Grade 0	1	2	3	4
血液					
白血球数	10	5	1	0	0
血小板数	15	1	0	0	0
血色素	11	3	2	0	0
消化器系					
悪心・嘔吐	5	9	3	0	0
口内炎	0	0	3	6	7
下痢	3	12	1	0	0
肝臓					
GOT/GPT	15	0	1	0	0
血清ビリルビン	16	0	0	0	0
腎/泌尿器					
血清クレアチニン	16	0	0	0	0

(日本癌治療学会薬物有害反応判定基準による)

表5 原発部位と組織学的効果との関連

部	舌	口底	上顎歯肉	下顎歯肉	頬粘膜	口咽頭
	●●					●●
		●				●●
			●●			
			●			●
		●				●
						●
	I	IIa	IIb	III	IV	

組織学的効果

表6 臨床病理学的悪性度の評価

評点		1	2	3	4	5	6
臨床所見	stage + 発育様式	stage I, II + 外向性発育	stage I, II + 内向性発育 stage III, IV + 外向性発育	stage III, IV + 方向性発育			
病理所見	分化度 C.A.T.* 分裂指数**	高~中等度分化型 C.A.T.(I) 分裂指数(少)		中等度~低分化型 C.A.T.(II, III) 分裂指数(少, 中)			低分化型 C.A.T.(III) 分裂指数(多)
	単核細胞浸潤***	多	中または少				
	癌浸潤様式	1型または2型			3型	4C型	4D型

合計点数：低悪性(4~7点)  
中悪性(8~12点)  
高悪性(13~17点)

## \*C. A. T. の判定

- I型：細胞異型の著しくないもの  
II型：I度とIII度の中間型  
III型：細胞異型の著しいもの

## \*\*分裂指数の判定(200倍の光顕下における数視野での分裂細胞数の平均)

- 少数：1~5個  
中等度：6~10個  
多数：11個以上

## \*\*\*単核細胞浸潤の判定(200倍の光顕下の数視野での平均)

- 少：1~50個  
中：51~100個  
多：101個以上

表7 臨床病理学的悪性度と組織学的効果との関連

臨床病理学的悪性度	低悪性			●	●	●
	中悪性	●●	●●●		●●●	
	高悪性	●			●	●
		I	II a	II b	III	IV
組織学的効果						

の悪性度毎に分けて本療法の奏効状況を検索した。臨床病理学的悪性度の判定基準は、新崎ら<sup>17)</sup>が報告した評点法を採用した(表6)。すなわち初診時の腫瘍の臨床所見と病理組織学的所見に対する1~6の各評点を与えて、その合計得点を求め悪性度を判定するもの

である。

この方法により14症例の臨床的悪性度を判定すると、最低5点から最高15点にまで分布し平均は10.4点であり、高悪性が3例、中悪性が8例、低悪性が3例であった(表1)。

臨床病理学的悪性度と組織学的悪性度との関連については低悪性群3例は、すべてが組織学的効果がGrade II b以上を呈していた。中悪性群8例では、Grade II b以上が6例(75%)と高率に占めていた。高悪性群3例のうち2例(66.6%)にも、Grade III, IVと良好な組織学的効果が認められた(表7)。

組織学的効果がGrade II aと不十分だった症例は、臨床病理学的悪性度でも中悪性と高悪性であり、本治療に抵抗性を示す症例が存在することも推測された。その一方で、高悪性群に対しても組織学的効果がGrade III, IVと高い組織学的効果が認められたことは、口腔癌の術前治療本来の目的にも合致し、本療法

を術前治療として実施する意義は高いと考えられた(表7)。

### 結 語

今後は、頸部リンパ節転移が明らかな症例に対する本治療法の適用の有無、本治療法が血管系組織に及ぼす影響の有無と血管吻合への影響の有無の検討、さらにシスプラチンとの効果の比較、支配血管の同定が困難な症例や血管攣縮を生じた症例への対応などを検討する予定である。

### 参考文献

- 原 広子：口腔粘膜扁平上皮癌における腫瘍血管の電顕的観察—特に内皮細胞を中心に—。日口外誌 33：270-289, 1987.
- 渡辺達夫：腫瘍血管に関する実験的研究。第2編 腫瘍血管と癌化学療法との関連について。岡山医学会誌 91：89-99, 1979.
- Lazo J. S.: Endothelial injury caused antineoplastic agents. *Biochem Pharmacol* 35：1919-1923, 1986.
- 向井 洋, 川島清美, 杉原一正, 山下佐英：当科における扁平上皮癌の術前化学療法。鹿歯紀要 14：7-14, 1994.
- 石神哲郎：家兎 VX2 癌に及ぼす抗癌剤の影響に関する電子顕微鏡学的研究。—腫瘍血管の変化を中心として—。日口外誌 36：1-20, 1990.
- 石神哲郎, 川島清美, 山口孝二郎, 田畑雅士, 松井竜太郎, 有村憲治, 向井 洋, 杉原一正：口腔癌に対する超選択的動注化学療法と放射線照射の併用療法に関する臨床病理学的検討。日口診誌 13：175-186, 2000.
- Korogi, Y., Hirai, T., Nishimura, R., Hamatake S., Sakamoto, Y., Murakami, R., Baba Y., Arakawa, A., Takahashi, M., Uji, Y., Taen, A.: Superselektive intraarterial infusion of Cisplatin for squamous cell carcinoma of the mouth: Preliminary clinical experience. *Am J Roentgenology* 165：1269-1272, 1995.
- 大矢亮一, 池村邦男, 大成宣弘, 中田 肇：口腔癌進行症例に対する超選択的動注化学療法と放射線照射併用療法の経験。口腔腫瘍 8：287-293, 1996.
- 松本 恒, 横山純吉, 滋賀清人, 西條 茂：頭頸部悪性腫瘍に対する動注療法。山田章吾監修, IVR—手技, 合併症とその対策。第1版, メジカルビュー社, 東京, 1998, 25-31頁.
- Withers, H. R.: Biologic basis for altered fractionation schemes. *Cancer* 55：2086-2095, 1985.
- 唐澤久美子, 小島菜穂子, 姫井健吾, 兼安祐子, 喜多みどり, 大川智彦, 石井哲夫：局所進行IV期頭頸部癌に対する化学療法併用多分割照射法の成績。頭頸部腫瘍 24：341-345, 1998.
- 中村昭一, 大矢亮一, 金子 茂, 池村邦男, 大成宣弘, 中田 肇：頭頸部癌に対する超選択的動注化学療法時における Digital Subtraction Angiography の検討。口科誌 47：546, 1998.
- Calvert, A. H., Newell, D. R., Gumbrell, L. A., O'Reilly, S., Burnell, M., Boxall, F. E., Siddik, Z. H., Judson, I. R., Wiltshaw, E.: Carboplatin Dosage: Prospective evaluation of a simple formula based on renal function, *J Clin Oncol* 7：1748-1756, 1989.
- 川島清美, 向井 洋, 吉田雅司, 国芳秀晴, 松井竜太郎, 杉原一正：口腔癌に対する CDDP 少量投与と放射線照射併用療法の臨床的検討。日口診誌 11：71-77, 1998.
- 米持武美, 関山三郎, 星 秀樹, 杉山芳樹, 三沢肇, 笹森 傑, 小幡和郎：下顎歯肉扁平上皮癌に対する動注化学療法と放射線同時併用療法の治療成績について。日口外誌 44：841-851, 1998.
- 向井 洋, 杉原一正, 吉田雅司, 石神哲郎, 山下佐英：悪性腫瘍患者の当科における臨床統計的観察—最近15年間の285例について—。口腔腫瘍 5：19-28, 1993.
- 新崎 章：口腔扁平上皮癌における induction chemotherapy の意義に関する臨床病理学的研究。日口外誌 40：421-437, 1994.

## 平成12年度鹿児島大学歯学部公開講座 「顔学入門」

於：県歯科医師会会館  
平成13年2月4日

開会式：四元 貢 鹿児島県歯科医師会会長  
大工原恭 鹿児島大学歯学部長

1. 顔に現れる口, 鼻, のどの働き  
伊藤学而 (歯学部歯科矯正学: 教授)
2. 薩摩の顔の歴史学  
原口 泉 (法文学部人文学科: 教授)
3. 歯科補綴治療における顔貌の評価  
長岡英一 (歯学部歯科補綴学Ⅱ: 教授)
4. 顔と「わたし」—顔のもつ心理的意味をめぐって—  
梶原和美 (歯学部歯科基礎科学: 講師)

### 実施報告

世話人 島田和幸 (歯学部口腔解剖学Ⅱ: 教授)

本講座は、鹿児島大学歯学部主催で鹿児島県歯科医師会の協力により開催された。本年は少し趣を変え、歯科医療従事者のみの対象ではなく、顔に興味を持つ方々にも参加可能な内容をとということで歯科臨床に関する演題2題、鹿児島県の歴史文化に関係した郷土の偉人の顔、患者の治療に際しての臨床心理学的分析等についてそれぞれの専門家に講演を依頼した。歯科医療従事者のみならず当日は顔に関して興味を普段から持っておられる市民の参加者もあり、わずかな講演時間であったが内容はもりだくさんなものとなった。参加者からは熱心な質疑応答もなされ、予定時間をオーバーする状況であり、また一般参加者からも好評であった。



## 鹿兒島大学歯学部発表論文 (1999年SCIリスト雑誌分)

1. Kajihara, T., Ohnishi, T., Arakaki, N., Semba, I., & Daikuhara, Y.: Expression of hepatocyte growth factor/scatter factor and c-Met in human dental papilla and fibroblasts from dental papilla. *Arc. Oral Biol.*, 44, 135-147, 1999
2. Arakaki, N., Kajihara, T., Arakaki, R., Ohnishi, T., Kazi, J. A., Nakashima, H. & Daikuhara, Y.: Involvement of oxidative stress in tumor cytotoxic activity of hepatocyte growth factor/scatter factor. *J. Biol. Chem.*, 274, 13541-13546, 1999
3. Nakamura, O., Kazi, J. A., Ohnishi, T., Arakaki, N., Kajihara, T., Shao, Q. & Daikuhara, Y.: Effect of rat fetuin on stimulation of bone resorption in the presence of parathyroid hormone. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63, 1383-1391, 1999
4. Musa, D. M. A. A., Kobayashi K., Yasuda, I., Iijima, M., Christoffels, V. M., Tomomura, M., Horiuchi, M., Ohnishi, T., Kajihara, T., Daikuhara, Y., Lamers, W. H. & Saheki, T.: Involvement of a cis-acting element in the suppression of carbamoylphosphate synthetase I gene expression in the liver of carnithine-deficient mice. *Mol. Gen. Metab.*, 68, 346-356, 1999
5. Tamura, M. & Noda, M.: Identification of dermo-1, as a member of helix-loop-helix type transcription factors expressed in osteoblastic cells. *J. Cell. Biochem.*, 72, 167-176, 1999
6. Nashimoto, M., Tamura, M. & Kaspar, R. L.: Selection of cleavage site by mammalian tRNA 3' processing endoribonuclease. *J. Mol. Biol.*, 287, 727-740, 1999
7. Nashimoto, M., Wesemann, D. R., Geary, S., Tamura, M. & Kaspar, R. L.: Long5' leaders inhibit removal of a 3' trailer from a precursor tRNA by mammalian tRNA 3' processing endoribonuclease. *Nucleic Acids Res.*, 27, 2770-2776, 1999
8. Nashimoto, M., Tamura, M. & Kaspar, R. L.: Minimum requirements for substrates of mammalian tRNA 3' processing endoribonuclease. *Biochemistry*, 38, 12089-12096, 1999
9. Irifune, M., Sugimura, M., Takarada, T., Maeoka, K., Shimizu, Y., Dohi, T., Nishikawa, T. & Kawahara, M.: Propofol anaesthesia in mice is potentiated by muscimol and reversed by bicuculline. *Br. J. Anaeth.*, 83, 665-657, 1999
10. Arakaki, R., Tamamura, H., Premanathan, M., Kanbara, K., Ramanan, S., Mochizuki, K., Baba, M., Fujii, N. & Nakashima, H.: T134, a small molecule CXCR4 inhibitor, has no cross drug-resistance with AMD3100, a CXCR4 antagonist with a different structure., *J. Virol.*, 73 : 1719-1723, 1999
11. Xu, Y., Tamamura, H., Arakaki, R., Nakashima, H., Zhang, X., Fujii, N., Uchiyama, T. & Hattori, T.: Marked increase in anti-HIV activity, as well as inhibitory activity against HIV entry mediated by CXCR4, linked to enhancement of the binding ability of tachyplestin analogs to CXCR4., *AIDS Res. Human Retroviruses*, 15 : 419-427, 1999
12. Yoshida, T., Akasaka, T., Choi, Y., Hattori, K., Yu, B., Mimura, T., Kaneko, Y., Nakashima, H., Arakaki, R., Premanathan, M., Yamamoto, N. & Uryu, T.:

- Synthesis of polymethacrylate derivatives having sulfated maltoheptaose side chains with anti-HIV activities., *J. Polymer Science*, 37 : 789-800, 1999
13. Yasukawa, M., Hasegawa, A., Sakai, I., Ohminami, H., Arai, J., Kaneko, S., Yakushijin, Y., Maeyama, K., Nakashima, H., Arakaki, R. & Fujita, S.: Down-regulation of CXCR4 by human herpesvirus 6 (HHV-6) and HHV-7., *J. Immunol.*, 162 : 5417-5422, 1999
  14. Premanathan, M., Kathiresan, K. & Nakashima, H.: Mangrove Halophytes: a source of antiviral substances., *South Pacific Study*, 19 : 49-57, 1999
  15. Meta, A., Torigoe, N., Ito, Y., Arakaki, R., Nakashima, H. & Sugimura, K.: Peptide-motif analysis of phage clones selected by anti-CCR5 monoclonal antibody (2D7)., *Protein Research, Peptide Science 1998* : (Ed. by M. Kondo), pp489-492, 1999
  16. Satoh, K., Kihara, T., Ida, Y., Sakagami, H., Koyama, N., Premanathan, M., Arakaki, R., Nakashima, H., Komatsu, N., Fujimaki, M., Misawa, Y. & Hata, N.: Radical modulation activity of pine cone extracts of *Pinus elliottii* var. *Elliotii*. *Anticancer Res.*, 19 : 357-364, 1999
  17. Motohashi, N., Kawase, M., Kurihara, T., Shirataki, Y., Kamata, K., Nakashima, H., Premanathan, M., Arakaki, R., Kanbara, K., Satoh, K., Sakagami, H., Saito, S. & Nakamura, T.: Relationship between radical intensity and biological activity of cacao husk extracts. *Anticancer Res.*, 19 : 1125-1129, 1999
  18. Katsuraya, K., Nakashima, H., Yamamoto, N. & Uryu, T.: Synthesis of sulfated oligosaccharide glycosides having high anti-HIV activity and the relationship between activity and chemical structure. *Carbohydrate Res.*, 315 : 234-242, 1999
  19. Premanathan, M., Kathiresan, Yamamoto, N. & Nakashima, H.: *In vitro* anti-human immunodeficiency virus activity of polysaccharide from *Rizophora mucronata* Poir., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63 : 1187-1191, 1999
  20. Sato S, Kanamoto T. & Inoue M.: *Abiotrophia elegans* strains comprise 8% of the nutritionally variant streptococci isolated from the human mouth. *J Clin Microbiol.*, 37 : 2553-2556, 1999
  21. Borjihan, G., Katsuraya, K., Nakashima, H. & Uryu, T.: Synthesis and anti-HIV activity of sulfated polysaccharides containing acetamido groups., *Sen'i Gakkaishi*, 55 : 323-330, 1999
  22. Premanathan, M., Arakaki, R., Izumi, H., Kathiresan, K., Nakano, M., Yamamoto, N. & Nakashima, H.: Antiviral properties of a mangrove plant, *Rizophora apiculata* Blume, against human immunodeficiency virus., *Antiviral Res.*, 44 : 113-122, 1999
  23. Gao, Y., Katsuraya, K., Kaneko, Y., Mimura, T., Nakashima, H. & Uryu, T.: Synthesis, enzymatic hydrolysis, and anti-HIV activity of AZT-spacer-curdlan sulfate., *Macromolecules*, 32 : 8391-8324, 1999
  24. Katsuraya, K., Jeon, K-J, Nakashima, H. & Uryu, T.: NMR studies on structure and action mechanism of sulfated dodecyl laminaripentaosidewith high anti-human

- immunodeficiency virus activity., *Polymer Journal*, 31 : 924-928, 1999
25. Sakagami, H., Satoh, K., Ida, Y., Koyama, N., Premanathan, M., Arakaki, R., Nakashima, H., Hatano, T., Okuda, T. & Yoshida, T.: Induction of apoptosis and anti-HIV activity by tannin-and lignin-related substances., *Plant Polyphenols 2 : Chemist. ry, Biology, Pharmacology, Ecology*, (Ed. by Gross et al.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp595-611., 1999\*
  26. Meta, A., Torigoe, N., Ito, Y., Arakaki, R., Nakashima, H. & Sugimura, K.: Inhibition of M-tropic HIV-1 infection by the fd phage-gene 3 protein with MIP-1a-binding activity., *Molecular Immunol.*, 36 ; 1249-1254, 1999
  27. Hirayama, Y., Ushijima, T., Kuramoto, T., Kitano, M., Sugimura, T. & Nagao, N.: Linkage mapping of rat *Msh2* DNA mismatch repair gene on chromosome 6. *Exp. Anim.*, 48, 63-64, 1999
  28. Hirayama, Y., Wakazono, K., Yamamoto, M., Kitano, M., Tatematsu, M., Nagao, M., Sugimura, T. & Ushijima, T.: Rare mutations of *p53*, *Ki-ras*, and b-Catenin genes and absence of *K-sam* and *c-erbB-2* amplification in *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine-induced rat stomach cancers. *Mol. Carcinog.*, 25, 42-47, 1999
  29. Kajihara, T., Ohnishi, T., Arakaki, N., Semba, I. & Daikuhara, Y.: Expression of Hepatocyte Growth Factor/Scatter Factor (HGF/SF) and c-Met in human dental papilla and fibroblasts from dental papilla. *Arch. Oral Biol.*, 44, 135-147, 1999
  30. Kobayashi, S., Satomura, K., Levsky, JM., Sreenath, T., Wistow, GJ., Semba, I., Shum, L., Slavkin, HC. & Kulkarni, AB.: Expression pattern of macrophage migration inhibitory factor during embryogenesis. *Mech. Dev.*, 84, 153-156, 1999
  31. Kubo, T., Shiga, T., Hashimoto, J., Yoshioka, M., Honjo, H., Urabe, M., Kitajima, I., Semba, I. & Hirasawa, Y.: Osteoporosis influences the late period of fracture healing in a rat model prepared by ovariectomy and low calcium diet. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 68, 197-202, 1999
  32. Lu, L.-M., Shisa, H., Tanuma, J. & Hiai H.: Propylnitrosourea-induced T-lymphoma in LEXF RI strains of rats: genetic analysis. *Brit J Cancer*, 80, 855-891, 1999.
  33. Inoue, K., Y. X. SONG, Fujii, K., Kadokawa, A. & Kanie, T. : Consistency of alginate impression materials and their evaluation. *J Oral Rehabil.*, 26, 203-207, 1999
  34. Inoue, K., Fujii, K., Kanie, T., Kadokawa, A. & Tsukada, G.: An evaluation of acrylic complete-dentures using the discrimination of elastic bodies or viscous fluids. *J Oral Rehabil.*, 26, 608-612, 1999
  35. Furuichi, Y. & Birkhed, D.: Retention of fluoride/triclosan in plaque following different modes of administration. *J. Clin. Periodontol.*, 26, 14-18, 1999
  36. Furuichi, Y., Rosling, B., Volpe, A. R. & Lindhe, J.: The effect of a triclosan/copolymer dentifrice on healing after non-surgical treatment of recurrent periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 26, 63-66, 1999
  37. Izumi, Y., Taniguchi, T., Maruyama, Y. & Sueda, T.: Effective periodontal treatment in a patient with Type IIA von Willebrand's disease: report of a case. *J.*

- Periodontol., 70, 548-553, 1999
38. Izumi, Y., Hiwatashi-Horinouchi, K., Furuichi, Y. & Sueda, T.: Influence of different curette insertion depths on the outcome of non-surgical periodontal treatment. *J. Clin. Periodontol.*, 26, 716-722, 1999
  39. Sato, S., Kanamoto, T. & Inoue, M.: *Abiotrophia elegans* stains comprise 8% of the nutritionally variant streptococci isolated from the human mouth. *Clin. Microbiol.* 37, 2553-2556, 1999
  40. Yoshihara, T., Matsumoto, Y., Suzuki, J., Sato, N. & Oguchi, H.: Effect of serial extraction alone on crowding: Relationships between tooth width, arch length, and crowding. *Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop.*, 116, 6, 691-696, 1999
  41. Masumoto, Y., Morinushi, T., Kawasaki, H., Ogura, T. & Takigawa, M.: Effects of three principal constituents in chewing gum on electroencephalographic activity. *Psychiatry Clin. Neurosci.*, 53, 17-23, 1999
  42. Liu, Z. L., Yamagata, K., Kasahara, Y. & Ito, G.: Electromyographic examination of jaw muscles in relation to symptoms and occlusion of patients with temporomandibular joint disorders. *J Oral Rehab*, 26, 33-47, 1999
  43. Tabata, M., Sugihara, K., Matsui, R., Yonezawa, S., Abeyama, K. & Maruyama, I.: Angiosarcoma of the tongue: report of a case with immunohistochemical findings. *J. Oral Pathol. Med.*, 28, 92-95, 1999
  44. Fukumoto, H., Nishio, K., Ohta, S., Hanai, N., Fukuoka, K., Ohe, Y., Sugihara, K., Kodama, T. & Saijyo, N.: Effect of a chimeric anti-ganglioside GM2 antibody on ganglioside GM2-expressing human solid tumors in vivo. *Int. J. Cancer*, 82, 759-764, 1999
  45. Yasunori, S., Yasunori, N., Kenji, M. & Minoru, U.: Application of titanium-alloy endodontic implants in conjunction with periradicular surgery. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 88, 4, 484-487, 1999
  46. Sugiyama, K., Yokoyama, K., Satoh, K., Nishihara, M. & Yoshitomi, T.: Does the Murphy eye reduce the reliability of chest auscultation in detecting endotracheal intubation? *Anesthesia Analgesia*, 88, 1380-1383, 1999
  47. Yokoyama, K. & Oku, T.: Rheumatoid arthritis-affected temporomandibular joint pain analgesia by linear polarized near infrared irradiation. *Can J Anesth*, 46, 683-687, 1999



## 編 集 後 記

今年度も、一般公募はしないこととし、退官と新任とを合わせて4人の先生方に論文執筆を依頼して、例年通りSCIリストと公開講座の概要とを掲載することにしました。全国的に大学の組織改革が進み、本学歯学部も医学部との部局化大学院に向けて動き始め、附属病院では概算要求していた特殊歯科総合治療部が設置され、院内措置により一般歯科総合診療部が立ち上がりました。このような時期にあって、ご寄稿いただいた論文はいずれも時代に相応しい内容であり、SCIリストは過去最高を記録した昨年の63編には届かなかったものの過去2番目の47編を数え、顔学入門と題した公開講座は歯科医療従事者だけでなく一般市民の参加も得て実施されました。何かと多忙な中を紀要発刊にご協力いただいた関係各位のご尽力に感謝申し上げます。

(編集委員 長岡英一)

平成 13 年 3 月 15 日 印刷

平成 13 年 3 月 25 日 発行

発行所

鹿児島大学歯学部 代表 大工原 恭

鹿児島市桜ヶ丘八丁目35-1

印刷所

斯文堂株式会社

鹿児島市新屋敷町14-16

電話番号 099-226-3747

