

**難治性根尖性歯周炎において根尖孔外バイオフィーム以外の原因の関与が考えられた1症例**

大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○永山智崇、朝日陽子、住岡龍一、米田直道、野杻由一郎、恵比須繁之、林美加子

A Refractory Periapical Periodontitis with Other Reasons than Extraradicular Biofilm

: A Case Report

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○NAGAYAMA Tomotaka, ASAHY Yoko, SUMIOKA Ryuichi, YONEDA Naomichi,

NOIRI Yuichiro, EBISU Shigeyuki, HAYASHI Mikako

**【緒言】**

根管内に臨床上的問題がなくかつ通法の歯内療法を施しても治癒しない、いわゆる難治性根尖性歯周炎に対する研究の結果、これまでに根尖孔外バイオフィームが関与することが明らかにされてきた (Noiri Y et al, J Endod. 2002)。一方で、難治性根尖性歯周炎に関わるバイオフィーム構成細菌種を調べた研究の結果、外科的歯内療法で 31% (32 症例中 10 症例)、抜歯で 65% (23 症例中 15 症例) しか根尖孔外バイオフィームが関与しておらず、他の原因も関与することが示唆された (藪根敏晃ら、2012 年春季日本歯科保存学会)。今回、難治性根尖性歯周炎に対して歯根端切除術で対応したが根尖孔外バイオフィームが確認されず、咬合性外傷ならびに根尖病変の 3 次元的形態が関与していると考えられた症例を経験したので報告する。

**【症例】**

41 歳女性。2011 年 12 月に出向先で初診。左上 1 に根尖部腫脹、違和感、瘻孔あり。3 年前に同様の症状があり、近医を受診するも原因不明と言われた。1 年前にも軽度ながら同様の症状があった。術前のデンタルで歯冠部には歯髄腔に近接するう蝕は認められなかったが、根尖病変は存在していた。通法通り根管治療を行い、Ca(OH)<sub>2</sub>で経過観察するも症状改善せず、2012 年 5 月に当科に転院した。

**【結果】**

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認を受け遂行された (承認番号 H20-E11、H26-E38)。難治性根尖性歯周炎と判断して CBCT を撮影したところ根尖病変が大きかったため、2013 年 1 月に MTA を Orthograde で根管充填後、2013 年 3 月に歯根端切除術を行った。術後の経過は良好で、2 年 7 か月後の 2015 年 11 月に CBCT を撮影したところ根尖病変の治癒も良好であったが、厳密には根尖周囲の海綿骨の一部に透過性の充進が認められた。

**【考察】**

患歯 (左上 1) がう蝕由来でなく失活した原因として、咬合性外傷の関与が考えられる。これは、右上 1 の歯髄腔が狭窄している (生活歯) ことから推察できる。咬合性外傷の直接的な原因は右上下 7 の交叉咬合および右上 8 の挺出による咀嚼運動時の干渉の回避であるが、中切歯の歯軸傾斜や被蓋関係からも推察されるように、口腔内外圧 (口唇の巻き込み癖や低位舌) やクレンチングなど、他の咬合の問題も間接的な要因として潜んでいる。このような状況の中で、右上 1 は歯髄の反応が適応的であったが、左上 1 は根尖部に力がかかって歯髄が失活し、壊死した歯髄が抗原となり炎症反応が起こり、慢性に根尖病変が形成されたものと考えられる。

難治性根尖性歯周炎となった原因としては、第一に根尖孔外バイオフィームが考えられたが、SEM 観察より否定された。根尖孔外バイオフィーム以外の他の要因として考えられたのは、根尖病変の 3 次元的形態と咬合性外傷の根尖病変への影響である。根尖病変の 3 次元的形態に関しては、瘻孔形成により皮質骨の穿孔が認められ、根尖病変に免疫が効きにくい状況になっていたことが推察される。さらに、根尖部に力が加わり続けることで、炎症が消退しにくい状況になっていたと思われる。しかしながら、現在まで右上 8 を抜歯していないにもかかわらず、歯根端切除術後に骨欠損部が再生し治癒が達成されたことを考えると、根尖病変の局所環境 (病理学的、免疫学的、力学的) も難治性根尖性歯周炎が成立する原因の一つと言える。

**【結論】**

難治性根尖性歯周炎の診断と治療にあたっては、症例に応じて病態をより詳細に把握し、的確な原因除去とリスク因子への対応が必要である。

(本研究の一部は、科学研究費補助金 (基盤研究(A) 20249076、基盤研究(C) 26462880) の補助の下で行われた)

## 外傷を原因とする置換性歯根吸収歯に対応した 2 症例

岡山大学病院 総合歯科

○塩津 範子, 河野 隆幸, 小野 早和子,  
武田 宏明, 桑山 香織, 鳥井 康弘

**Two case reports of tooth ankylosis caused by trauma**  
Comprehensive Dental Clinic, Okayama University Hospital  
○SHIOTSU Noriko, KONO Takayuki, ONO Sawako,  
TAKETA Hiroaki, KUWAYAMA Kaori, TORII Yasuhiro

### 【緒言】

外傷歯の合併症の一つに歯根吸収がある。特に置換性吸収が起こった場合はそれを止めることは困難であり、吸収の進行に伴い歯周組織に感染が起こるため、最終的に抜歯が必要となる場合が多い。今回、外傷後に置換性吸収を起こした歯に対して 2 種類の方法で対応し、補綴処置を行った症例を報告する。

### 【症例 1】

**患者:** 23 歳, 男性 **主訴:** 21 部頬側歯肉の腫脹

**現病歴:** 1999 年に野球のボールが上顎前歯に直撃し, 11 完全脱臼, 21 側方性脱臼した。すぐに近医で 11 の根管治療と 11, 21 の整復固定を受けた。21 は受傷直後に根管治療を行わなかったが, 3 ヶ月後頃から変色を認めたため根管治療を行った。2006 年 11 月頃から 21 部頬側歯肉の腫脹を自覚していたが, 疼痛がないため放置していた。しかし, 腫脹が改善しないため 2007 年 1 月に岡山大学病院総合歯科を受診した。

**口腔内所見:** 21 部頬側歯肉膿瘍(+), 打診痛(-), 金属音(+)

**デンタルエックス線所見:** 21 根尖側 1/2 程度の歯根膜腔の消失および骨による歯根の置換を認めた。

**診断:** 21 置換性歯根吸収

**治療経過:** 2009 年 2 月に感染源の除去を目的に抜歯を行った。この際, 骨削除を行い, 骨と歯質の区別がつかない部分は残した。その後, 上唇小帯形成術を行い, 2007 年 10 月に 11, 22 を支台歯とした接着ブリッジを装着した。仕事の都合のため, ブリッジ装着後終診となったが, 装着時には 11 近心と 22 近心の付着歯肉の消失および 21 頬側歯肉の陥凹を認めていた。

### 【症例 2】

**患者:** 21 歳, 女性 **主訴:** 11, 21 違和感, 21 部頬側近心歯肉の腫脹

**現病歴:** 2009 年 5 月に交通事故で上顎前歯部を強打し, 11 は不完全脱臼と歯冠破折を, 21 は完全脱臼と歯冠破折を認めたため, 21 再植後に 11, 21 の整復固定を受けた。同年 6 月に歯髄反応がないため根管治療を行い, その後 CR 充填で形態回復を行った。2012 年 3 月頃から 11, 21 に違和感を覚える時があり, 近医で洗浄やスクレーピングにて経過観察を行っていたが, 次第に症状が増悪してきたため, 2013 年 9 月に当科を受診した。

**口腔内所見:** 21 部頬側歯肉膿瘍(+), 11, 21 打診時違和感, 21 金属音(+)

**デンタルエックス線所見:** 21 根尖側 2/3 程度の歯根膜腔の消失および骨による歯根の置換を認めた。

**診断:** 21 置換性歯根吸収

**治療経過:** 21 歯頸部の吸収像の拡大を認めたため, Malmgren B<sup>1)</sup>らの報告に従い, 2014 年 5 月に歯肉を剥離し, 歯冠および根管内のガッタパーチャポイントの除去を行った。この際, 骨縁下 2mm 程度までの歯根を削除し, 残りはそのままとした。術後, 約 6 ヶ月で残存歯根のほぼ完全な消失と骨による置換を確認したため, 2015 年 5 月に 11 全部被覆冠, 22 部分被覆冠のブリッジを装着した。術後 18 ヶ月経過時においても頬側歯肉の陥凹は起こっていない。

### 【まとめ】

置換性外部吸収が起こった場合, 広範囲な骨削除を伴う抜歯により対応する場合が多い。しかし, 外傷の好発部位である上顎前歯では骨削除に伴い, 審美性が低下する可能性が高い。実際, 症例 1 では頬側歯槽骨の削除により歯肉の陥凹が起こり, 審美性が低下している。一方, 症例 2 の場合は大きな審美性の低下を招くことなく, 補綴物が装着できた。炎症の程度にもよるが, 置換性吸収が起こった歯に対しては無理な抜歯を行うのではなく, 可能であれば歯や歯槽骨の削除を最小限にとどめ, 歯根部を置換吸収させた方が良く考える。

参考文献: 1) Malmgren B, et al. Surgical treatment of ankylosed and infra-positioned reimplanted incisors in adolescents. Scand J Dent Res 1984; 92: 391-399.

## 試作口腔内内視鏡システムの歯内治療への応用 -安定した術野の確保-

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科学部門  
○長谷川篤司、池田 哲、伊佐津克彦

### Application to endodontic treatment of experimental oral endoscope system - Securing of stable operative field -

Department of Conservative Dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,  
Showa University School of Dentistry  
○HASEGAWA Tokuji, IKEDA Satoshi, ISATSU Katsuhiko

#### 【研究目的】

現在、口腔内内視鏡システム(Oral Scope 00S-1:オサダ社)が市販に至り、主に診察、診断に応用されている。これは歯内治療領域においては、髓腔内、根管内の精密な観察、検査に応用されており、歯科用顕微鏡に比べて設備やトレーニングなどを必要とせず、簡便に歯科用顕微鏡に準ずる観察が可能になってきている。

この市販内視鏡システムは診察における局所観察に重点を置いているため、操作用ハンドピースと観察用チップが剛性高く接合されていることで観察チップ先端を観察したい部位にスムーズに誘導できる反面、観察と同時に治療操作を行うことは困難であった。そこで我々は、第1回日本歯科保存学会において観察用チップ基部とチップ先端とを約90cmの柔軟なファイバーで連結するように設計した試作観察用チップを設計して、根管内を観察しながらリーマーなど主要切削器具が使用できる可能性について報告した。さらに、第142回日本歯科保存学会においては試作観察用チップの先端部をさらに小型化し、治療歯の髓腔内に固定できる試作クランプを設計して術野の安定した画像が得られる可能性について報告している。

一方、我々は波長約405nmの青色励起光が健全象牙質から緑色励起蛍光を発光させる反面、う蝕象牙質から赤色励起蛍光を発光させる特性を利用したう蝕象牙質識別システムを報告し(第131~133回日本歯科保存学会)、さらにはう蝕象牙質を励起蛍光で認識しながら除去するシステムを設計して報告してきた(第134回、第140回)。他方では、この波長の青色励起光は治療中の根尖病変からの滲出液などを含んだペーパーポイントからも赤色励起蛍光を発光させる特性を確認し、励起蛍光が歯内及び根尖病変の評価に有用であることを報告してきた(第139回)。

今回、これまでの研究で得られた情報を基にさらに歯内治療臨床に応用可能なシステムを試作したので報告する。

#### 【材料と方法】

##### 試作内視鏡システム

観察用チップは以前の研究の成果を基に、観察用チップ基部とチップ先端とを約90cmの柔軟なファイバーで連結するように設計した。ハンドピースは、白色LED光源と青色LED光源を装備し、観察用チップ基部を取り外して180度回転することによって光源を切り替えられるように新規に設計した。画像制御はWindows OS ver 8.1上で観察用ソフトOSADA Oral Scope Viewerで行った。

##### 試作クランプ

前回試作した比較的複雑な構造のテフロン性クランプからオートクレーブで滅菌可能かつ、シンプルな構造の金属クランプを採用した。

#### 【成果】

試作されたシステムは、髓腔あるいは根管内の安定した術野を確保して画像を提供しながら、リーマーなど従来の手用切削器具歯内治療を使用できた。さらに、白色LED光では肉眼的に判別できない感染象牙質を青色LED光源に切り替えて観察することで赤色に蛍光させて検出できることが明らかとなった。

#### 【考察と結論】

本システムの歯内治療におけるさらなる有効利用について引き続き広範に検討する必要があると考えられた

## 青色励起光による根尖病変即時評価システムの開発 -赤色励起蛍光の分光分析-

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科学部門  
○瀧野浩之、伊佐津克彦、勝又桂子、山田理、長谷川篤司

### Development of immediate evaluation system of endodontic lesions by the blue light - Spectroscopic analysis of red light-induced fluorescence -

Department of Conservative dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,  
Showa University School of Dentistry

○TAKINO Hiroyuki, ISATSU Katsuhiko, KATSUMATA Keiko, YAMADA Michi, HASEGAWA Tokuji

#### 【研究目的】

感染根管治療成功のカギは根尖周囲組織、根管内および象牙細管内微生物の減少を正確に評価し、現症に適した処置を実施することにある。根尖周囲組織、根管内および象牙細管内の無菌性（菌数の十分な減少）は根管内細菌の嫌気培養検査によって評価され、炎症性滲出液の存在はカタラーゼ反応の有無などによって評価される。しかしながら根管内細菌培養検査には24~48時間を要するために、根管充填の可否を即時判定できるシステムが求められている。演者らは、第142回保存学会で、感染根管内に静置したペーパーポイントに対して波長405nmの青色励起光を照射すると赤色励起蛍光が発現することを見出すとともに、ペーパーポイントが赤色励起蛍光を発現する症例は細菌嫌気培養検査でも陽性を示す傾向を確認し、励起蛍光が根管内細菌を即時評価する指標になり得る可能性を報告した。本研究ではこれら試作根管内細菌即時評価システムの精度を確認するとともに、赤色励起蛍光の発現メカニズム解明の一助として、赤色励起蛍光を分光分析してスペクトル特性を検討したので報告する。

#### 【材料および方法】

##### 試作励起蛍光撮影装置

市販一眼レフカメラのレンズフード内でレンズに直接映り込まない位置にレーザー光源（波長405±10nm：最大出力5mW）を取り付けて試作励起蛍光撮影装置を製作した。撮影時にはカメラレンズを真下に向けてレンズフードと接地面とで簡易な暗箱状態を構成し、レーザー光源からの励起光によって発現した赤色励起蛍光を肉眼で確認するとともに撮影・記録した。

##### 症例

感染根管治療中の188根管を対象とした。各被験症例において仮封を除去した後、根管内にEDTAを満たして超音波発振装置にて貼薬した薬剤を除去、滅菌生理食塩水を根管内に滴下した後、ペーパーポイント2本を根管内に約30秒静置した。このうち1本を細菌嫌気培養検査に供し、もう1本のペーパーポイントからの励起蛍光を上記試作装置で撮影した後、試作顕微鏡マルチ測光システムを用いて分光分析に供した。

#### 【成績および結論】

今回対象とした188根管のうち、62根管で細菌嫌気培養検査の結果が陽性であった。このうち、41根管でペーパーポイントからの赤色励起蛍光が肉眼で確認でき、かつ、試作顕微鏡マルチ測光システムを用いて分光分析すると620nmと680nm付近において、2つのピークを示す特徴的なスペクトル特性を示していた。一方、21根管では肉眼およびカメラ撮影によってもペーパーポイントからの赤色励起蛍光を観察できなかったが、試作顕微鏡マルチ測光システムでは、低いながらも前述の620nmと680nm付近に2つのピークを示す特徴的なスペクトルを示した。

今回、細菌嫌気培養検査で陽性となる感染根管62症例に対し、試作顕微鏡マルチ測光システムではすべての症例で特徴的なスペクトル特性を示した。試作励起蛍光撮影装置ではこれら62感染根管の内、41根管で赤色励起蛍光発現を肉眼で確認できたことから、根管内細菌の即時評価の指標となり得る可能性が示唆されたものの、その精度は必ずしも十分ではないと考えられた。これら精度の向上には、赤色励起蛍光を増強するプライマー、あるいは赤色励起蛍光以外を減衰する光学フィルターなどについても検討が必要と考えられる。

さらに、根管内細菌に関連して発現した赤色励起蛍光のスペクトル特性は、う蝕罹患象牙質で観察されるスペクトル特性とほぼ同様であることが明らかとなった。今後、励起蛍光発現メカニズム解明にはう蝕原因菌との関連も併せて検討すべきであると考えている。

## エックス線写真の濃度差による根管形態判別の可能性

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座  
○西田太郎, 前田宗宏, 勝海一郎

### Passibility of Root Canal Ramification by Radiographic Density

Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo  
○NISHIDA Taro, MAEDA Munehiro, KATSUUMI Ichiroh

#### 【はじめに】

下顎切歯は単根管であるが、歯根の強度な扁平により根管の分岐や湾曲が起り治療難度の高い歯種である。根管の処置に際し、術前のエックス線撮影は欠かすことが出来ないが、エックス線写真による画像診断では唇舌的な根管の分岐や湾曲を判断することは困難である。近年、三次元的に根管形態の観察が可能なCBCT撮影が術前の検査に利用されているが、被曝線量やコストの問題からエックス線撮影による検査がまだまだ主流となっている。

本研究は、下顎切歯に対しエックス線撮影を行い、根管と象牙質の濃度差から根管形態の判別が可能か否かを検討することを目的に行った。

#### 【材料と方法】

実験にはあらかじめマイクロCT (ELE-SCAN, 日鉄エレックス) により、根管の分岐とその位置を確認した複根管性のヒト抜去下顎切歯6本を用いた。抜去歯の使用に際しては、日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認 (NDU-T2011-20) を得た。

撮影には歯科用エックス線撮影装置 (ビーナスアルファ, 吉田精工) とエックス線フィルム (Ultra-speed, Kodak) を用い、管電圧 60kV, 管電流 10mA, 照射時間 0.20 秒の条件で、唇側から正放線投影となるように撮影した。フィルムはメーカー指定の現像液と定着液 (GBX 現像定着液, Kodak) を用い、指定の方法で処理した。フィルムはスキャナ (GT-X970, EPSON) を用いスキャンし、グレースケールのJPEG形式でパソコンに保存した。

根管の白黒の濃度 ( $K_c$ ) と周囲象牙質の白黒の濃度 ( $K_d$ ) を画像処理ソフト (Photoshop CS4, Adobe) を用い、根尖からセメントエナメル境まで 1mm 毎に測定した (単根管部: 48カ所, 複根管部: 29カ所)。その後、根管と象牙質の濃度差 ( $\Delta K = K_c - K_d$ ) を計測した。測定値は統計処理ソフト (JMP11, SAS Institute, USA) を用いSteel-Dwassの多重比較検定を行い、評価した。

#### 【結果とまとめ】

単根管部の  $K_c$  の平均が 70.1 (SD: 6.6),  $K_d$  が 67.0 (SD: 8.1) で、単根管部の  $K_c$  は  $K_d$  と比較し有意に高い値を示した ( $p < 0.05$ )。複根管部の  $K_c$  の平均は 65.9 (SD: 5.7),  $K_d$  が 63.8 (SD: 6.6) で、複根管部の  $K_c$  と  $K_d$  に統計学的差異は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

さらに、 $\Delta K$  の平均は単根管部が 3.1 (SD: 2.9), 複根管部が 2.1 (SD: 2.6) で、最大で 9.0 の濃度差の部位が存在した。

以上の結果より、エックス線写真上で根管と象牙質の濃度を計測することで、根管の分岐を予測できる可能性が窺われた。臨床では、歯とともに歯槽骨などの周囲組織がエックス線写真に写り込むため読影は困難になるが、濃度の変化に注意し必要に応じて偏心投影もしくはCBCT撮影の併用を考慮する必要性が認められた。今後、さらに詳細な検討を行う予定である。

## 人工歯槓状根を用いた歯内療法学実習の教材作製へのコーンビーム CT の活用

- 1) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座、  
2) 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学、3) 日本歯科大学新潟病院 総合診療科  
○北島佳代子<sup>1)</sup>、新井恭子<sup>1)</sup>、飯野華絵<sup>2)</sup>、横須賀孝史<sup>3)</sup>、佐藤友則<sup>3)</sup>、松田浩一郎<sup>3)</sup>、  
北野芳枝<sup>1)</sup>、朝比奈壮郎<sup>1)</sup>、三好敏朗<sup>1)</sup>、五十嵐 勝<sup>1,2)</sup>

### Application of CBCT to prepare educational materials for endodontic practice using artificial tooth with C-shaped canal

- 1) Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata,  
2) Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata, 3) Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

○KITAJIMA Kayoko<sup>1)</sup>, ARAI Kyoko<sup>1)</sup>, IINO Hanae<sup>2)</sup>, YOKOSUKA Takashi<sup>3)</sup>, SATOH Tomonori<sup>3)</sup>,  
MATSUDA Koichiro<sup>3)</sup>, KITANO Yoshie<sup>1)</sup>, ASAHINA Takeo<sup>1)</sup>, MIYOSHI Toshiro<sup>1)</sup> and IGARASHI Masaru<sup>1)</sup>

【目的】 本学第4学年の歯内療法学実習では、ファントム上でのシミュレーション実習の前に根管処置を理解させる目的で、まず透明根管模型を手で把持し、直視下で根管拡大形成から根管充填までを行っている。その後、象牙質人工歯を電氣的根管長測定が可能な顎模型に植立し、ファントムに装着して作業長決定法を加えた実習を行っている。2014年度からは、新たに開発した下顎第二大臼歯槓状根の実習を加え、根管充填後に歯科用デジタルエックス線撮影で実習評価を行った。その結果、アンダーカットの取り残しや根管壁の菲薄化、歯根の亀裂、破折、穿孔等の偶発例が散見され、槓状根管の立体的な解剖形態の十分な理解がされていないと判断された。そこでコーンビームCT (CBCT) を用いて本人工歯のコンピューター断層撮影を行い、得られた画像を利用した根管形態の教育と実習評価への応用の可否について検討した。

【材料と方法】 根管模型は、単根性の下顎左側第二大臼歯槓状根で、天然歯の槓状根と槓状根管を参考として製作した根尖孔を2つ有するC形槓状根管模型 (B-END3J002 #37, ニッシン) である。材質は象牙質の硬さに可及的に類似した樹脂で、造影性を付与し、エナメル質部はエックス線不透過性が高く、象牙質部と区別することができる。この人工歯を歯根模型スタンド (INT-001, ホクシンエレクトロニクス) に装着し、歯科用CBCT (3 DX MULTI-IMAGE MICRO CT FPD8, モリタ) にて撮影を行った。ガイドレーザーの交点を頰側歯根中央相当部に設定し、管電圧 70.0 kV、管電流 20mA、照射時間 17500ms、スライス厚 0.640mm でCBCT画像を撮影した。

【結果】 本人工歯の根管の走向ならびに象牙質とエナメル質部の形態をCBCT画像で観察することができた。歯冠部には広い髓室があり、根管は咬頭頂から9.5mmの位置でC形の単根管となり、根尖手前5mmまで続いている。その位置から2根管に分岐し、根尖端で2つの根尖孔として開口している。C形根管は近心、遠心、頰側方向に一旦広がり、根尖手前5mmの分岐部に向かって収束する形態を呈していた。そのためC形の根管開始部の下には強いアンダーカットが存在していた。また、舌側の縦溝は13mmの位置から根尖に向かって現れ、根管内方への象牙質陥凹の開始は、縦溝の位置より歯冠側寄りに存在していることが確認された。

【考察】 実習前示説講義では、術前歯科用デジタルエックス線の頬舌写真と任意の位置で作製した水平断面写真を用いて解剖形態の説明を行っている。根尖部の幅径が小さいことや、舌側の縦溝の存在についても説明していたが、学生実習では、C形の開始位置から根尖側にあるアンダーカットの取り残しや根管の菲薄化、根尖部歯根の亀裂や破折、穿孔等の偶発事故が散見され、根管形態の三次元的な把握が十分できていないことが推察された。今回、歯根の三次元形態をあらゆる角度から容易に観察することができ、近遠心壁のみならず頰側壁にもアンダーカットが残存しやすいことが明らかとなった。この部位を十分に除去することにより、根尖部へのアクセスがストレートになり根管拡大時の根管壁への負担荷重を軽減し、根尖部の亀裂や破折、穿孔を回避し、緊密な根管充填を行うことができる可能性が推察された。また、根管内方への象牙質陥凹が縦溝発現部位より高位から存在していることが確認され、根管治療時の不用意な拡大による根管壁の菲薄化を招来する危険性を回避できる可能性が示唆された。これらの画像を学生にも提示することにより、三次元的な根管形態をより正確に容易に把握させることができ、歯内療法学実習に有効であると考えられた。

【結論】 複雑な形態を有する人工歯の歯内療法学実習においてCBCTの三次元画像を併用することは、処置対象歯の根管解剖を理解するのに役立つ、その結果教育効果が向上し、今後の実習評価への応用が期待されることが示された。

## 福岡歯科大学歯内治療学基礎実習で使用した天然歯に類似した 歯髄腔を有する新型人工歯のX線学的評価

福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野

○水上 正彦, 二階堂 美咲, 中山 英明, 松本 和磨, 稲永 晃子, 西崎 竜司, 赤尾 瑛一,  
畠山 純子, 松本 典祥, 春名 千英子, 松崎 英津子, 泉 利雄, 阿南 壽

### A radiological evaluation of new artificial teeth containing pulp cavity similar to the natural teeth in endodontic basic training at Fukuoka Dental College

Department of Operative Dentistry and Endodontics, Fukuoka Dental College

○MINAKAMI Masahiko, NIKAIIDO Misaki, NAKAYAMA Hideaki, MATSUMOTO Kazuma, INANAGA Akiko,  
NISHIZAKI Ryuji, AKAO Eiichi, HATAKEYAMA Junko, MATSUMOTO Noriyoshi,  
HARUNA Chieko, MATSUZAKI Etsuko, IZUMI Toshio, ANAN Hisashi

**【研究目的】** 歯内治療学基礎実習は、卒前臨床実習および卒業後臨床研修の基盤となる技能を修得するための重要な過程である。一方、実習に天然歯を使用する場合、学生はリアルな歯内治療の感覚を得ることができる反面、歯髄腔の狭窄等により画一的な実習技能の評価が困難な点が指摘されてきた。また、従来の人工歯の根管は単調な直線的形状であったことより、実際の根管の形状との乖離が示唆されていた。そこで、福岡歯科大学ではこれまでの実習で指摘された人工歯の問題点である根管形態を改良することにより、天然歯に類似した歯髄腔を有する人工歯を作製した。今回、4年次の歯内治療学基礎実習に新規に開発した人工歯を導入し、複根歯の抜髄、根管充填のシミュレーション実習を行った後に、近遠心方向からのX線学的評価を行った結果、若干の興味ある知見が得られたのでここに報告する。

**【材料】** ニッシン社製人工歯（歯髄腔に着色剤含有） A-END3B001 #14、#16

**【方法】** 平成27年度4年次学生を対象とした。抜髄法、根管充填法の基礎実習を新たな人工歯を用いて行った。根管充填後、ライターにより視診にて根管充填良好と評価された人工歯28本を用いた。内訳として#14を14本、#16を14本を用いた。近遠心方向からのX線撮影を行い、根管充填後の緊密度および死腔の有無を指標として評価した。

**【成績】** 視診により、根管充填を施された人工歯#14 (n=14)、#16 (n=14) は根管充填状態良好と判定された。一方、近遠心方向からX線撮影を行い、充填状態良好と判断されたのは、全体の21.4%であり、#14では14本中2本の14.3%、#16では14本中4本の28.6%であった。また死腔は全体の67.9%に認められ、#14では14本中10本の71.4%、#16では14本中9本の64.4%、アンダー根充は全体の32.1%であり、#14では14本中5本の35.7%、#16では14本中4本の28.6%であった。

**【考察】** 今回は担当ライターが視診にて根充良好と判断した人工歯を近遠心方向からのX線撮影を行うことにより、根管充填の緊密度を評価した。その結果、X線学的に根管充填良好と判断されたものは21.4%であった。また、全体の67.9%に死腔が認められた。X線にてシーラーの溢出像が観察されたことより、X線写真上に観察された死腔は人工歯の造影性の問題ではないことが推察された。さらに、アンダー根充は32.1%であったことより、根管治療において重要である作業長の確認が順守されておらず、根管処置時の作業長がメインポイントに反映されていないことが示唆された。すなわち、視診にて根管充填良好と判断されたものでも、X線撮影を行うことにより、シーラー根充の問題点が明らかとなった。また、根管の透明性を有する人工歯においても根管充填の評価にはX線撮影の重要性が窺われた。さらに、人工歯では通常の頬舌方向ではなく、近遠心方向からのX線評価も可能であり、臨床の現場よりも根管充填の評価をより厳密に行うことが可能であることが推察された。

**【結論】** 人工歯における根管充填の近遠心方向からのX線学的評価は、学生の知識の理解度や技能の習熟度などの確認に有用であることに加えて、確実な根管充填処置を行うことへの動機づけに有益である可能性が考えられた。

**【学会外研究分担者】**

湯浅 賢治、香川 豊宏（福岡歯科大学 診断・全身管理学講座 画像診断学分野）

## 3D プリンタを用いて作製した槓状根管の試作研究用模型

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座  
○関谷美貴, 前田宗宏, 勝海一郎

### The Prototype Model of C-shaped Root Canal by 3D Printer

Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo  
○SEKIYA Miki, MAEDA Munehiro, KATSUUMI Ichiroh

#### 【はじめに】

日本人における下顎第二大臼歯の槓状根管の出現頻度は他民族と比較して高いことから、臨床で遭遇する機会は多い。また、槓状根管の形態は変異に富み複雑なため、治療の難易度は高くなる。

3D プリンタはコンピュータ上で作られた三次元画像データをもとに立体物を造形する装置であり、近年の歯科医療分野においてもさまざまな形での応用が期待されている。本研究の目的は、槓状根管における根管の拡大形成や根管充填のための研究用標準模型および実習用教育模型を 3D プリンタで作製することである。

#### 【材料と方法】

10%中性ホルマリン水溶液中に保存されたヒト抜去歯から、齶蝕がなく槓状根管形態を有すると思われる歯を 11 本抽出した。抜去歯の使用に際しては、日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認 (NDU-T2015-33) を得た。

歯を水洗乾燥した後、マイクロ CT (ELE-SCAN, 日鉄エレクトクス) を用いて断層撮影を行い、画像処理ソフト (TRI/3D-BON, ラトックシステムエンジニアリング) により三次元画像構築を行った。三次元画像を観察し、Fan ら<sup>1)</sup> の分類で C1 (分岐や分割のない連続した“C”を示す) の根管形態に最も近い 1 歯を選択した。

得られた三次元画像から歯質を抽出した二値画像処理データと、その反転像から根管形態を抽出した二値画像処理データを作成し、それぞれ STL 形式データに変換した。なお、STL 形式データに変換する際、TIFF 形式データ上における歯質表面の突起ノイズやくぼみの補正を行った。さらに、元画像データにおける根管の最狭窄部は 0.2mm 未満であり、元画像データのままで再現が困難だったため、下顎第二大臼歯の生理的根尖孔の大きさ (0.3mm 程度) に近くなるようデータを補正したうえで作製を行った。

補正した STL 形式データを基に、3D プリンタと造形用樹脂模型を用いて槓状根管模型の作製を行った。

#### 【結果とまとめ】

歯質を抽出したデータから 3D プリンタにより作製された槓状根管模型は、抜去歯と比較して外観に大きな差異は認められなかった。さらに、根管形態を抽出したデータから、槓状根管模型ブロックを作製することができた。

以上より、今回 3D プリンタによって抜去歯とほぼ同形態の槓状根管模型と槓状根管模型ブロックが作製可能であることを確認した。今後はさらに精度の高い根管模型の作製や、これらの模型を用いて槓状根管歯の形態的特徴を踏まえた根管の拡大形成・根管充填法の研究を効率よく進めていく予定である。

#### 【参考文献】

1) Fan B, Cheung GS, Fan M, Gutmann JL, Bian Z. C-shaped canal system in mandibular second molars: part I-anatomical features. J Endod 2004; 30: 899-903.

## 歯内療法におけるラバーダム防湿法の意識調査

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学講座

○藤巻龍治, 鈴木二郎, 石井信之

An attitude survey of rubber dam isolation technique at the endodontic treatment

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry,

Kanagawa Dental University

OFUJIMAKI Ryuji, SUZUKI Jiro, TANI-ISHII Nobuyuki

### 【目的】

ラバーダム防湿法は、歯内療法における基本的術式であり、治療成績に影響を与えることが報告されている。しかし国内においては、十分な装着が成されていないと報告されている反面、医療者側からのインフォームド・コンセント、歯科用顕微鏡を用いた治療やインターネット環境の整備に伴い、ラバーダム防湿を患者側から希望される機会を散見するようになった。本研究は、歯内治療時のラバーダム防湿について患者、歯科医師、歯科衛生士および歯学部学生にアンケート調査を行った。

### 【材料および方法】

神奈川歯科大学付属病院に来院後、歯内療法を実施した患者群 50 名、ならびに医療者群（歯科医師 90 名、歯科衛生士 38 名、歯学部 6 年生 123 名）計 301 名を調査対象とした。調査は、共通項目として、ラバーダム防湿の装着可能時間、不快事項、今後の装着希望についてアンケートを実施、また歯科医師にはラバーダム防湿使用状況と行わない理由、歯科衛生士および歯学部 6 年生には、ラバーダム防湿の臨床実地経験、患者群にはラバーダム防湿の経験と知った経緯を設定した。なお統計学的解析については、カイ二乗検定を行った。

### 【結果】

患者はラバーダム防湿を望むか否かについて、「望む」と回答した患者群 82.2% に対し医療者群 20.4%（歯科医師 33.3%、歯科衛生士 15.8%、歯学部 6 年生 12.2%）だった。ラバーダム防湿の存在を知っていた患者群は 22.2% であった。また、ラバーダム防湿が治療効果を上げると思うと回答した歯科医師は 98% であった反面、時間がかかり面倒 45.8%、患者が苦しみ嫌がる 35.4%、保険点数が算定できない 29.2% との理由が認められた。装着を我慢できる時間について、最も回答が多かったのは「30 分～45 分」であった。

### 【考察および結論】

本研究において、ラバーダム防湿が治療効果を上げると思うと回答した歯科医師は 98% であった反面、時間がかかり面倒、患者が苦しみ嫌がる、保険点数が算定できないとの理由が認められた。しかし、ラバーダム防湿は 2 分以内に装着できるとも報告されており、患者側の 82.2% はラバーダム防湿を希望していることが示された。ラバーダム防湿の不快事項については、佐々木らの報告<sup>1)</sup>、本実験結果からも患者はラバーダム防湿に対して、医療者側が考えているほど不快に感じていないことが確認された。国内でのラテックス・アレルギー IgE 抗体陽性率は欧米より低く、頻度の高い医療従事者で 1.1% から 3.8% と報告され、問診（医療従事者・二分脊椎症・頻回手術既往・バナナやキウイ等のラテックス・フルーツ）に問題がなければ、積極的な装着が望まれた。

1) 佐々木み子, 吉川剛正, 吉岡隆知ほか. 歯内療法時のラバーダムは不快か?—歯科医師と患者の意識調査—. 日歯内療法誌 2006; 27: 2-5.

### 細胞診を用いた歯周ポケット内上皮細胞の動態

福岡歯科大学<sup>1</sup>総合歯科学講座総合歯科学分野,<sup>2</sup>再生医学研究センター,<sup>3</sup>総合歯科学講座高齢者歯科学分野

○瀬野 恵衣<sup>1</sup>, 大野 純<sup>2</sup>, 萩尾 佳那子<sup>1</sup>, 山口 真広<sup>3</sup>, 山田 和彦<sup>1</sup>, 柘尾 陽介<sup>1</sup>, 米田 雅裕<sup>1</sup>, 廣藤 卓雄<sup>1</sup>

#### Dynamics in keratinocytes of the sulcular epithelium by cytopathologic techniques

<sup>1</sup>Division of General Dentistry, Department of General Dentistry, <sup>2</sup>Research Center for Regenerative Medicine, <sup>3</sup>Division of General Dentistry, Department of Geriatric Dentistry, Fukuoka Dental College

○Kei Seno<sup>1</sup>, Jun Ohno<sup>2</sup>, Kanako Hagio<sup>1</sup>, Masahiro Yamaguchi<sup>3</sup>, Kazuhiko Yamada<sup>1</sup>, Hiromitsu Morita<sup>1</sup>, Masahiro Yoneda<sup>1</sup>, Takao Hirofujii<sup>1</sup>

#### 【目的】

歯周炎は、歯周ポケット内での細菌から産生される LPS 刺激により誘導される。LPS 刺激の初期ターゲットは、歯周ポケットの接合上皮および歯肉溝上皮・ケラチノサイト (KC) であると考えられる。その結果、ポケット内 KC の恒常性が破綻して、歯周炎が発症・進行して行くと考えられる。したがって、ポケット内 KC の LPS 関連変化 (傷害) を明らかにすることが、病変の進行程度および治療効果を判断するのに重要である。そこで、本研究ではポケット内 KC の LPS 関連変化を明らかにする目的で、低侵襲かつ容易に細胞の採取を行うことができる細胞診を応用した。そして、歯肉溝上皮 KC での①LPS レセプター発現および②刺激に対する細胞反応の一つである autophagy 誘導について検索した。

#### 【方法】

実験デザインは、細胞診による歯周組織 KC の性状解析と LPS 刺激による in vitro におけるヒト KC 細胞の性状解析とした。1) 細胞診によるアプローチ: 細胞採取部位は、歯周ポケット内の歯肉溝上皮とポケット外の遊離歯肉上皮とした。採取法はサイトブラシによる擦過法で採取し、塗抹法および Liquid based cytology (LBC) 法で標本を作製した。細胞染色はギムザ法およびパバニコロウ (Pap) 法を応用した。2) in vitro におけるヒト KC 細胞への LPS 刺激: HaCaT 細胞を E. Coli あるいは Gingivalis 由来 LPS により 6 時間~24 時間刺激を行った。3) 細胞免疫細胞学的検索: 細胞診標本および LPS 刺激 HaCaT 細胞に対して、免疫蛍光法を応用して (1) TLR-2, TLR-4 および CD14 抗体を用いた LPS 発現、(2) LC3 および Beclin-1 による autophagy 誘導および (3) CD68 抗体によるマクロファージ分布の検索を行った。

#### 【結果・考察】

1) 歯肉溝上皮および遊離歯肉上皮 KC の形態学的特徴: 両 KC ともに表層型扁平上皮細胞が主体であった。しかしながら、遊離歯肉部 KC ではオレンジ G (OG) 陽性細胞が歯肉溝部 KC より多く認められた。この結果は、遊離歯肉上皮での角化傾向を示していると考えた。また、歯肉溝上皮においては、多数の単核円形細胞の浸潤が認められ、炎症性背景を呈していた。2) KC における LPS レセプター発現: LPS 刺激 HaCaT 細胞は、TLR および CD14 の発現がみられた。すなわち、LPS 刺激により KC に同レセプターの発現が誘導されることを示している。一方、細胞診標本においては、歯肉溝上皮 KC において TLR および CD14 発現細胞が、遊離歯肉上皮 KC よりも多く認められた。陽性所見は表層型扁平上皮細胞に認められたが、脱核している角化細胞には染色性はみられなかった。これらの結果は、歯周ポケット内歯肉溝上皮 KC は、LPS に曝露され LPS 関連変化が生じている可能性を示唆した。3) KC における autophagy 誘導: LPS 刺激による HaCaT 細胞での autophagy 誘導は、LC3 陽性 autophagosome の検出および autophagy 開始マーカーの一つである Beclin-1 発現により確認された。細胞診標本においては、LPS レセプター発現に相関して autophagy が誘導される傾向が明らかとなった。すなわち、LC3 陽性 autophagosome および Beclin-1 は遊離歯肉上皮 KC に比較して、LPS レセプターを発現する歯肉溝上皮 KC において発現率の上昇を認めた。KC での LPS 関連変化の一つとして、autophagy 誘導が関与することが明らかとなった。autophagy が KC の恒常性維持あるいは細胞傷害性に働いているのかは、今後の検討課題である。

#### 【結論】

歯肉溝上皮 KC への細胞診の応用により、可視的な LPS 関連変化の動態が推測できることが明らかとなった。また、病変進行に対して autophagy の関与が示唆された。

## *Porphyromonas gingivalis* の増殖及び揮発性硫黄化合物産生に対する *Enterococcus faecium* WB2000 株の抑制作用

<sup>1)</sup>福岡歯科大学 総合歯科学講座, <sup>2)</sup>福岡歯科大学 口腔保健学講座  
○樋口拓哉<sup>1)</sup>, 谷口奈央<sup>2)</sup>, 藤本暁江<sup>1)</sup>, 米田雅裕<sup>1)</sup>, 埴岡 隆<sup>2)</sup>, 廣藤卓雄<sup>1)</sup>

### The inhibitory effects of *Enterococcus faecium* WB2000 on the growth and the production of volatile sulfur compounds of *Porphyromonas gingivalis*

<sup>1)</sup>Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

<sup>2)</sup>Department of Preventive and Public Health Dentistry, Fukuoka Dental College

○Higuchi T<sup>1)</sup>, Taniguchi N<sup>2)</sup>, Fujimoto A<sup>1)</sup>, Yoneda M<sup>1)</sup>, Hanioka T<sup>2)</sup>, Hirofujii T<sup>1)</sup>

#### 【目的】

これまでに、乳酸菌 *Enterococcus faecium* (Ef) WB2000 株には、齶蝕原因菌であるミュータンスレンサ球菌に対して、増殖抑制作用及び付着抑制作用があることを報告した (Int J Dent, 2011:2011:834151)。本研究では、歯周病原細菌であり口臭成分を産生する *Porphyromonas gingivalis* (Pg) に対する Ef WB2000 株の影響を調べた。

#### 【方法】

##### Pg の増殖に対する作用

Pg ATCC 33277 株の増殖に対する乳酸菌の影響を調べた。供試菌株は、Ef WB2000 株、*Streptococcus salivarius* (Ss) JCM 5707 株、*Lactobacillus salivarius* (Ls) CIP 103140 株、*L. reuteri* (Lr) JCM 1112 株である。Pg ATCC 33277 株 ( $1 \times 10^7$  colony forming unit (CFU)/mL) と乳酸菌 ( $1 \times 10^6$  CFU/mL) とを混合後、嫌気培養し、6 時間後、12 時間後、24 時間後に生菌数を測定した。

##### Pg の揮発性硫黄化合物 (VSC) 産生に対する作用

Pg 5 株 (ATCC 33277 株、W50 株、W83 株、臨床分離株 2 株) の VSC 産生に対する Ef WB2000 株の影響を調べた。Pg ( $1 \times 10^7$  CFU/mL) と Ef WB2000 株 ( $1 \times 10^6$  CFU/mL) とを混合後、嫌気培養し、24 時間後、48 時間後に生菌数及び培養液の硫化水素濃度とメチルメルカプタン濃度をガスクロマトグラフ (Model GC2014, 島津製作所) を用いて測定した。

#### 【結果】

##### Pg の増殖に対する作用

Ef WB2000 株は Pg ATCC 33277 株との混合培養により、培養 6 時間後において、Pg ATCC 33277 株の生菌数を  $1 \times 10^3$  CFU/mL 以下まで減少させた。一方、他の乳酸菌 (Ss JCM 5707 株、Ls CIP 103140 株、Lr JCM 1112 株) は、培養 6 時間後における Pg の生菌数はほとんど減少させず、培養 12 時間後に  $1 \times 10^3$  CFU/mL 以下まで減少させた。乳酸菌の生菌数を調べたところ、Ef WB2000 株は他の 3 株よりも増殖が早いことがわかった。

##### Pg の VSC 産生に対する作用

Ef WB2000 株は Pg と混合培養することによって、24 時間後にはいずれの Pg 株についても生菌数を  $1 \times 10^3$  CFU/mL 以下まで減少させた。ガスクロマトグラフを用いた培養液の VSC 濃度分析では、いずれの Pg 株についても培養 48 時間におけるメチルメルカプタン濃度の顕著な抑制が認められた。

#### 【考察】

Ef WB2000 株は他の 3 種の乳酸菌株に比べて増殖が早かったことから、Pg の増殖をより早く抑制したと考えられる。メカニズムとしては、乳酸菌が Pg の増殖に必要な栄養素を奪ったことや、乳酸菌が産生する有機酸によって培地 pH 値の低下が起こったことが予想される。また Pg の増殖が抑制された結果、メチルメルカプタンの産生が抑制された。Ef WB2000 株は、歯周病や口臭の予防に役立つと考えられる。

#### 【結論】

Ef WB2000 株は Pg の増殖を抑制し、メチルメルカプタンの産生を抑制した。

#### 【利益相反開示】

演題発表に関連し、開示すべき利益相反関係にある企業・団体等の有無: 無し

オートファジーを用いたヒトケラチノサイトの LPS 刺激適応能とその経路

1 福岡歯科大学 総合歯科学分野、2 病態構造学分野、3 高齢者歯科学分野

○萩尾佳那子<sup>1,2</sup>、大野 純<sup>2</sup>、山口真広<sup>3</sup>、瀬野恵衣<sup>1</sup>、榎尾陽介<sup>1</sup>

山田和彦<sup>1</sup>、米田雅裕<sup>1</sup>、廣藤卓雄<sup>1</sup>、橋本修一<sup>2</sup>

Autophagy-mediated adaptation of human keratinocytes stimulated by LPS

1 Department of General Dentistry, Division of General Dentistry, Fukuoka Dental College

2 Department of Morphological Biology, Division of Pathology, Fukuoka Dental College

3 Department of General Dentistry, Division of Geriatric Dentistry, Fukuoka Dental College

○Kanako Hagio, Jun Ohno, Masahiro Yamaguchi, Kei Seno, Yosuke Masuo

Kazuhiko Yamada, Masahiro Yoneda, Takao Hirofujii, Shuichi Hashimoto

【研究目的】歯周組織の被覆上皮組織およびポケット接合上皮組織を構成するケラチノサイト(KC)はストレスに対する対処法を展開していると考えられる。歯周病において接合上皮 KC は LPS のターゲットとなる。それらの刺激に対して、自食作用であるオートファジーを用いた適応の可能性について検討した。また、LPS 刺激 KC におけるオートファジーの発現経路である TLR2、TLR4 と TLR4 下流シグナルの発現について検討した。

【材料・方法】1) ヒト KC には HaCaT 細胞を用いて、10% FBS 含有 DMEM で培養した。E. coli 由来および P. gingivalis 由来 LPS を各濃度で培地に添加して、16 時間反応させた。コントロールは、LPS 非添加群および LPS 阻害剤 PMB を LPS に混合して検討した。2) オートファジー誘導の判定：(1) LC3 によるオートファゴゾームの検出、(2) オートファジー関連遺伝子の免疫細胞染色法および Western Blotting (WB) 法による検索。3) 細胞内 ROS 発現の検索：LPS 刺激およびコントロール細胞での細胞内 ROS 発現を、ROS/RNS Detection Kit により検索した。さらに、ROS 関連遺伝子の発現を WB 法により検討した。4) TLR4 シグナル及び TLR2 のオートファジー誘導への関与：LPS 刺激細胞、コントロール細胞での TLR2 及び TLR4 と TLR4 下流シグナルの MyD88、TRIF 発現を WB 法にて検索。5) 阻害実験によるオートファジー経路の検討：MyD88 阻害剤および PI3K3 複合体・阻害剤である 3-methyladenine (3-MA) および Wortmannin (Wm) を用いて、WB 法にて検討した。6) 1) ~ 5) 実験での E. coli Bioparticle の細胞内取り込みの検討。

【結果・考察】1) LPS 刺激による KC でのオートファジー誘導は細胞内 ROS 蓄積に関与する：刺激 KC においては、細胞内 ROS の蓄積が明らかとなった。この ROS 蓄積に関連して、phospho-AMPK 発現および PI3K/Beclin-1 発現が増強された。3-MA および Wm 投与により阻害されたことより、PI3K/Beclin-1 経路の活性化がオートファジー誘導に関与することが示唆された。しかしながら、ROS 蓄積は経時的にオートファジー発現が亢進するに伴い、減弱傾向がみられた。また、LPS 刺激によりオートファジーが誘導された細胞においては、E. coli 由来の Bioparticle の細胞内への取り込みが明らかとなった。細胞内での particle の局在は、autophagosome と一致した。この結果は、particle の取り込みにオートファジーが関与することを示している。2) TLR4 及び TLR2 シグナルの活性化はオートファジーを誘導し、細胞内 ROS 蓄積を減弱する：LPS 刺激により、TLR4 及び TLR2 発現が認められた。刺激細胞においては、TLR4 シグナルの下流に位置する MyD88 および TRIF 発現も確認された。さらに、MyD88 阻害剤の投与により、オートファジー・マーカーである LC3-II および phospho-Beclin-1 発現が減弱し、細胞免疫染色においても autophagosome 陽性細胞数も減少した。同様に、Bioparticle の取り込みも減少した。この結果は、TLR4→MyD88 経路がオートファジー誘導に関与することを示唆している。また、TLR4/MyD88 経路の活性化が、細胞内 ROS 蓄積を減少させることが阻害剤の投与実験から明らかとなった。しかしながら、phospho-AMPK 発現は MyD88 阻害によっても変化しなかった。

【結論】以上の結果から、ヒト KC は LPS 刺激により、TLR4/MyD88→AMPK→PI3k/Beclin-1 経路の活性化によりオートファジーが誘導された。さらに、細胞内 ROS 検索および Bioparticle 取り込み実験から、LPS 刺激により誘導されたオートファジーは、LPS ストレス回避に関与する可能性が示唆された。

## ヒト FDC-SP 遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響

日本大学松戸歯学部歯周治療学講座<sup>1</sup>, 口腔科学研究科<sup>2</sup>,  
○岩井泰伸<sup>1</sup>, 能田佳祐<sup>1</sup>, 山崎瑞穂<sup>1</sup>, 加藤彩子<sup>1</sup>, 松井沙莉<sup>1</sup>,  
高井英樹<sup>1,2</sup>, 中山洋平<sup>1,2</sup>, 小方頼昌<sup>1,2</sup>

### Effects of Inflammatory Cytokines on Human FDC-SP Gene Expression

○Yasunobu Iwai<sup>1</sup>, Keisuke Noda<sup>1</sup>, Mizuho Yamazaki<sup>1</sup>, Ayako Kato<sup>1</sup>, Sari Matsui<sup>1</sup>,  
Hideki Takai<sup>1,2</sup>, Yohei Nakayama<sup>1,2</sup> and Y. Ogata<sup>1,2</sup>  
Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo<sup>1</sup>  
Research Institute of Oral Science<sup>2</sup>

#### 【研究目的】

Follicular dendritic cell-secreted protein (FDC-SP) は、濾胞樹状細胞で発現する低分子の分泌タンパク質であるが、歯周組織では歯根膜および接合上皮での発現が報告されている。今回我々は、歯根膜および上皮細胞での FDC-SP の遺伝子発現に対する炎症性サイトカインの影響を解析することを目的とした。

#### 【材料および方法】

不死化ヒト歯根膜細胞 (HPL-hTERT) およびヒト歯肉癌由来上皮細胞 (Ca9-22) をコンフルエントになるまで培養し、無血清の  $\alpha$ -MEM 培地で 12 時間培養後、interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ; 1 ng/ml)、tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ; 10 ng/ml) で刺激し、経時的 (3、6、12、24 時間) に細胞を回収した。ISOGENII (NIPPON GENE) を用いて全 RNA を抽出し、Prime Script RT reagent kit (Takara) を用いて cDNA の合成を行い、FDC-SP mRNA 量の変化を real-time PCR で検索した。また、RIPA lysis buffer (Santa Cruz) を用いてタンパク質を抽出し、FDC-SP タンパク質量の変化をウェスタンブロットで解析した。種々の長さに調整したヒト FDC-SP のプロモーター配列を挿入したルシフェラーゼコンストラクトを作成し、Lipofectamine 2000 (Invitrogen) を用いて細胞に導入し、ルシフェラーゼアッセイを行った。また、ヒト FDC-SP 遺伝子プロモーターの-345 塩基対上流までに存在する YY1、C/EBP2 および C/EBP3 配列に、ミューテーションを挿入した-345 ミューテーションコンストラクトを用いたルシフェラーゼアッセイを行った。さらに、各種リン酸化阻害剤を使用してルシフェラーゼアッセイを行い、刺激後の細胞内情報伝達系を解析した。HPL-hTERT を IL-1 $\beta$  で刺激後、核内タンパク質を抽出し、FDC-SP プロモーター中の転写因子応答配列との結合を [ $\gamma$ -<sup>32</sup>P] ATP を用いてゲルシフトアッセイを行った。

#### 【結果および考察】

HPL-hTERT 細胞を IL-1 $\beta$  で刺激すると、FDC-SP mRNA 量は、12 時間後に最大となった。Ca9-22 細胞を TNF- $\alpha$  で刺激すると、FDC-SP mRNA 量は、12 時間後に最大になり、24 時間後に減少した。FDC-SP のタンパク質量は、HPL-hTERT 細胞を IL-1 $\beta$  刺激すると、3 および 6 時間後に増加し、12 時間以降に減少した。Ca9-22 細胞を TNF- $\alpha$  で刺激すると、3 および 6 時間後に FDC-SP タンパク質量の増加を認め、12 時間以降に減少した。FDC-SP ルシフェラーゼコンストラクト (-116~-948 塩基対上流) を HPL-hTERT 細胞および Ca9-22 細胞に導入し、IL-1 $\beta$  または TNF- $\alpha$  で刺激すると、プロモーター配列を含むコンストラクトの転写活性は、HPL-hTERT 細胞では IL-1 $\beta$  刺激で、Ca9-22 細胞では TNF- $\alpha$  刺激で転写活性が上昇した。転写開始点から-345 塩基対上流までに存在する YY1、C/EBP2 および C/EBP3 配列にミューテーションを導入した-345mYY1、-345mC/EBP2 および-345mC/EBP3 ミューテーションプラスミドを作成した。-345mYY1 では、IL-1 $\beta$  および TNF- $\alpha$  刺激後の転写活性の上昇が抑制された。また、-345mC/EBP2 および-345mC/EBP3 では、IL-1 $\beta$  および TNF- $\alpha$  刺激後の転写活性の上昇が部分的に抑制された。各種リン酸化阻害剤を使用したルシフェラーゼアッセイの結果、A キナーゼ阻害剤、チロシンリン酸化阻害剤、MEK1/2 阻害剤および PI3 キナーゼ阻害剤によって、IL-1 $\beta$  および TNF- $\alpha$  刺激による転写活性の上昇が抑制された。ヒト FDC-SP プロモーター中の YY1、GATA、Oct-1 および C/EBP 配列への HPL-hTERT の核内タンパク質の結合は、IL-1 $\beta$  刺激 3 時間後に増加し 12 時間後に最大となった。

#### 【結論】

FDC-SP 遺伝子発現は、歯根膜および歯肉上皮の炎症時に増加することから、慢性歯周炎局所で増加すると考えられた。今後は、HPL-hTERT 細胞と Ca9-22 細胞での炎症性サイトカインに対する反応の違い、およびヒト FDC-SP 遺伝子プロモーター中の転写因子応答配列に特異的に結合する転写因子を検索する予定である。

研究協力者：広島大学大学院医歯薬保健学研究所口腔顎顔面病理病態学；高田 隆、北川雅恵

## 歯肉上皮細胞における TGFβ1 によるアメルチン遺伝子発現の調節

日本大学松戸歯学部歯周治療学講座<sup>1</sup>, 日本大学松戸歯学部口腔科学研究所<sup>2</sup>  
○中山洋平<sup>1,2</sup>, 松井沙莉<sup>1</sup>, 能田佳祐<sup>1</sup>, 山崎瑞穂<sup>1</sup>, 岩井泰伸<sup>1</sup>, 松村浩禎<sup>1</sup>, 小方頼昌<sup>1,2</sup>

### Regulation of Amelotin Gene Expression by TGFβ1 in Gingival Epithelium Cells

<sup>1</sup>Department of Periodontology, <sup>2</sup>Research Institute of Oral Science,  
Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba, Japan

○Yohei Nakayama<sup>1,2</sup>, Sari Matsui<sup>1</sup>, Keisuke Noda<sup>1</sup>, Mizuho Yamazaki<sup>1</sup>  
Yasunobu Iwai<sup>1</sup>, Hiroyoshi Matsumura<sup>1</sup> and Yorimasa Ogata<sup>1,2</sup>

#### 【研究目的】

アメルチン (AMTN) は、エナメル質形成の成熟期エナメル芽細胞から分泌され、成熟期エナメル芽細胞層内基底板および萌出後の歯肉接合上皮内基底板にその発現が認められるエナメルタンパク質である。AMTN 遺伝子過剰発現マウスは、不規則なエナメル小柱の配列と薄いエナメル質を呈し、また、AMTN 遺伝子欠失マウスではエナメル質石灰化不全を呈することから、AMTN はエナメル質の成熟に関与することが考えられている。歯周組織の再生、歯肉切除前後、歯牙移動および歯周炎といった、歯周組織の変化におけるアメルジェニン (AMEL), アメロプラスチン (AMBN), オーダム (ODAM) などのエナメルタンパク質の発現変化についてはいくつか報告がある。しかし、これらの歯周組織の変化における AMTN 遺伝子の発現変化および機能の解析は不十分である。以前、我々は慢性炎症時における AMTN 遺伝子発現の上昇を示した。そこで今回、炎症およびアポトーシスを時に歯肉接合上皮で増加するトランスフォーミング成長因子 β1 (TGFβ1) を歯肉上皮細胞へ作用させ、*in vitro* におけるアポトーシスを想定し、AMTN 遺伝子発現変化を検索および考察したので報告する。

#### 【材料および方法】

マウス歯肉上皮細胞 (GE1 cells) におけるアポトーシスを評価するために、TGFβ1 (10 ng/ml) を経時的に作用させた後、抽出した DNA の断片化をラダー泳動法にて評価した。また、同様に TUNEL 染色法よりアポトーシスの評価を行った。次に、GE1 細胞を TGFβ1 (10 ng/ml) で経時的に刺激、または Smad3 および Bax を細胞内で過剰発現させ、全 RNA を抽出し、AMTN 遺伝子発現の変化を Real-time PCR で解析した。種々の長さで調節したマウス AMTN 遺伝子プロモーター配列を挿入したルシフェラーゼプラスミドを作製し、TGFβ1 (10 ng/ml) で 24 時間刺激または Smad3 過剰発現下における AMTN 遺伝子の転写活性を解析した。これらの結果と転写因子結合配列解析ソフトによる検索から、AMTN 遺伝子プロモーター中のコンセンサス Smad3 応答配列 (SBE) を予想し、これらの SBEs を含む塩基配列を増幅するプライマーを設計した。TGFβ1 (10 ng/ml) の経時的刺激、Smad3 および Bax 過剰発現下において、設計したプライマーを使用したクロマチン免疫沈降法 (ChIP アッセイ) を行い、Smad3 と AMTN プロモーター配列との結合の変化を調べた。

#### 【結果および考察】

GE1 細胞におけるアポトーシスは、TGFβ1 (10 ng/ml) 刺激 24 時間後から認められた。また、Smad3 および Bax 過剰発現下においてもアポトーシスが誘導された。TGFβ1 (10 ng/ml) を経時的に GE1 細胞に作用させると、AMTN の mRNA 量は、刺激後 24 時間で最大になり、その後徐々に減少した。ルシフェラーゼアッセイの結果から、TGFβ1 刺激および Smad3 過剰発現による AMTN 遺伝子プロモーターの活性には、-1651~-878 塩基対に存在する応答配列が関係していることが予想された。ChIP アッセイの結果、TGFβ1 刺激および Smad3 過剰発現によって、SBE5、6 および 7 応答配列への Smad3 の結合が一過性に増加し、その結合は Bax 過剰発現で抑制された。これらの結果から、歯肉上皮細胞のアポトーシスの初期において、AMTN 遺伝子発現は一過性に上昇し、その遺伝子発現の変化は、Smad3 の AMTN 遺伝子プロモーターへの経時的結合の変化に関係していることが示唆された。

研究協力者：トロント大学歯学部 Matrix Dynamics Group, Bernhard Ganss

## フィラミン A による細胞周囲コラーゲンマトリックスの組織化およびリモデリングの調節

日本大学松戸歯学部歯周治療学講座<sup>1</sup>, 日本大学口腔科学研究所<sup>2</sup>  
○目澤 優<sup>1,2</sup>, 小方頼昌<sup>1,2</sup>

**Filamin A Regulates Organization and Remodeling of Pericellular Collagen Matrix.**  
Department of Periodontology<sup>1</sup>, Research Institute of Oral Science<sup>2</sup>, Nihon University School of  
Dentistry at Matsudo  
○Masaru Mezawa<sup>1,2</sup> and Yorimasa Ogata<sup>1,2</sup>

### [目的]

アクチン結合タンパク質であるフィラミン A (FLNa) は、アクチン細胞骨格ネットワークの機能、安定性およびシグナリング機能に關与する。フィラミンは、分子量 280kDa の 2 量体構造で、N 末端側のアクチン結合部位でアクチンフィラメントに結合し、接着斑の安定化、機械的保護や創傷治癒などの接着依存的なプロセスの調節を多種類のタンパク質と相互作用して行う。細胞接着に關した細胞外基質のリモデリングは、細胞増殖、細胞の生死および組織ホメオスタシスのために重要であるが、細胞周囲マトリックスを管理する細胞骨格については理解されていないことが多い。そこで我々は、細胞周囲コラーゲンの合成・分解・分布におけるアクチン結合タンパク質の役割を調べた。

### [材料および方法]

FLNa WT マウスと FLNa コンディショナルノックアウトマウス (線維芽細胞および骨芽細胞のみ FLNa 発現を欠如) における臼歯部への咬合力負荷後の歯根膜のコラーゲンのターンオーバーを調べた。臼歯部根分岐部の組織切片を使用し、歯根膜幅やコラーゲンの組織化をそれぞれマッソン・トリクローム染色およびピクシリン・レッドにより染色し測定した。また、コラーゲンの調整やリモデリングにおける FLNa の影響を調べるために、FLNa 発現マウス線維芽細胞 (FLNa WT 細胞) と FLNa shRNA ノックダウンマウス線維芽細胞 (FLNa KD 細胞) を培養し、イミノプロット法、qPCR 法および全反射顕微鏡 (TIRF) を使用した免疫染色法により、 $\beta 1$  インテグリンの発現やコラーゲン  $\alpha 1$  鎖 mRNA、コラーゲン分子、細胞外コラーゲン分解産物である 3/4 コラーゲンおよびマトリックスメタプロテアーゼ (MMP) の発現を分析した。

### [結果]

マウス臼歯部に咬合力を負荷して 2 週間後の根分岐部の歯根膜幅は FLNa の存在もしくは力の負荷期間に関わらず変化は認められなかったが、コラーゲン密度に関しては、コントロールと比較して、FLNa WT マウスと FLNa KD マウスはそれぞれ 1.9 倍、2.4 倍増加した。また、歯根膜の機能に重要な直線状のコラーゲン繊維の走行は FLNa KD マウスは FLNa WT マウスと比較して 1.3 倍減少した。培養した FLNa KD 細胞は、FLNa WT 細胞と比較してコラーゲンの分解、MMP-9 および MT1-MMP (MMP-14) 発現に關与していることが分かった。それとは逆に FLNa WT 細胞では、コラーゲン分解酵素であるカテプシン B やコラーゲンが内在化されたリソソームの蓄積をみる指標となる LAMP2 の発現は FLNa KD と比較して 2 倍以上上昇した。FLNa WT 細胞は、また FLNa KD 細胞と比較して活性化  $\beta 1$  インテグリンの発現が 13 倍上昇した。また、TIRF 顕微鏡を使用した接着斑の解析では、培養 6 時間後に形成されるタリンおよびビンキュリンの接着斑の数に違いがないことを示したが、FLNa KD 細胞の  $\alpha$ -SMA 数は、FLNa WT と比較して 1.5 倍減少した。これらに違いがコラーゲンのリモデリング不足によるものかを判断するために、これら接着斑マーカーと細胞外コラーゲン分解産物である 3/4 コラーゲンとで共免疫染色し、共存の割合を調べた。培養 6 時間後のタリン、 $\alpha$ -SMA と 3/4 コラーゲンとの共存に明らかな違いが認められた。

### [結論]

FLNa は、コラーゲン合成・分解経路に対して強く影響を与えることにより、細胞周囲マトリックスの構造や機能を決めるのに重要な役割を示すことが分かった。

研究協力者：トロント大学歯学部 Christopher McCulloch

## 歯周組織構成細胞関連転写因子の抑制による軟骨細胞への誘導

日本大学松戸歯学部歯周治療学<sup>1</sup>、口腔科学研究所<sup>2</sup>  
○高井英樹<sup>1,2</sup>、能田佳祐<sup>1</sup>、岩井泰伸<sup>1</sup>、山崎瑞穂<sup>1</sup>、小方頼昌<sup>1,2</sup>

Induction to chondrocyte by Inhibition of periodontal tissues cell-related transcription factors  
Department of Periodontology Nihon University School of Dentistry at Matsudo<sup>1</sup>, Research Institute of Oral Science<sup>2</sup>  
○Hideki Takai<sup>1,2</sup>, Keisuke Noda<sup>1</sup>, Yasunobu Iwai<sup>1</sup>, Mizuho Yamazaki<sup>1</sup>, Yorimasa Ogata<sup>1,2</sup>

【目的】歯周組織再生療法の確立には、歯周組織（歯槽骨、歯根膜、歯肉およびセメント質）を構成する細胞（歯周組織構成細胞）の生物学的特性を十分に理解する必要がある。歯周炎は、歯根膜の破壊と骨欠損を引き起こす疾患であり、歯周炎により生じた欠損部位を再生するために用いられるエナメルマトリックスタンパク質およびFGF2は歯周組織構成細胞の分化を制御している。FGF2は、骨芽細胞の分化と軟骨細胞の成熟に関与するRunx2の発現を増加させるが、骨芽細胞、軟骨細胞、筋芽細胞および脂肪細胞は、共通の間葉系細胞から分化し、骨芽細胞はRunx2とOsterix、軟骨細胞はSoxファミリー、筋芽細胞から筋管はMyoDファミリー、脂肪細胞はCEBPファミリーとPPAR $\gamma$ 2がそれぞれ必須な役割を果たしている。そのため、転写因子の発現をコントロールする事で、ターゲット細胞を異なる性質の細胞に誘導できる可能性が示唆されている。今回我々は、歯周組織構成細胞に発現する転写因子のmRNAおよびタンパク質発現を解析し、歯周組織構成細胞で重要な役割を果たす転写因子を解析した。

【材料および方法】ヒト骨芽細胞様細胞（Saos2）を $\alpha$ MEM培地、ヒト歯肉線維芽細胞（HGF）およびヒト歯根膜線維芽細胞（HPDL）をDMEM培地で培養し、細胞を回収後、種々の転写因子 mRNA を定量 PCR 法で解析した。さらに歯周組織構成細胞で優位に発現する転写因子に対する siRNA を HPDL に 72 時間トランスフェクション後、細胞を回収し、種々の転写因子 mRNA およびタンパク質量の変化を定量 PCR 法および Western Blot を用いて解析した。

【結果および考察】Saos2、HGF および HPDL から抽出した全 RNA から種々の転写因子 mRNA を解析した結果、骨芽細胞分化マーカーである ALP と骨芽細胞分化に重要な転写因子である Dlx3、Runx2 および Sp7 遺伝子は、HGF と HPDL に比べて Saos2 で多く発現していた。筋芽細胞分化に重要な MyoD ファミリー（Myf5、MyoD、MyoG）遺伝子と脂肪細胞分化に重要な CEBP $\beta$  および PPAR $\gamma$  遺伝子発現は、3 種類の細胞で同等であった。また、軟骨細胞分化に重要な Sox5 遺伝子および軟骨細胞の成熟に重要な Runx3 遺伝子は、HGF および HPDL に比べて Saos2 で多く発現していた。さらに、未分化細胞で多く発現する KLF12 遺伝子、線維芽細胞で多く発現する Twist2 遺伝子および黄色靭帯由来細胞で多く発現する Pax9 遺伝子は、Saos2 に比べて HGF および HPDL で多く発現していた。以上のことから、歯周組織構成細胞では、3 種類の転写因子（KLF12、Twist2 および Pax9）の遺伝子発現が重要である事が示唆された。siRNA を用いて HPDL での KLF12、Twist2 および Pax9 の発現を抑制した結果、軟骨細胞で重要な転写因子である Sox5 mRNA およびタンパク質量の増加が認められた。

【結論】骨芽細胞様細胞に比較して KLF12、Twist2 および Pax9 が歯周組織構成細胞（特に HGF および HPDL）で重要な転写因子である事が示唆された。さらに上記 3 つの転写因子の発現を抑制する事で歯根膜細胞は軟骨細胞に誘導される事が示された。

## ラット GBA モデルにおいて増生した新生組織の移植骨としての効果

日本大学大学院歯学研究科 歯学専攻応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部 保存学教室歯周病学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部 総合歯学研究所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

○津徳亮成<sup>2,3</sup>, 蓮池 聡<sup>2,3</sup>, 山田 豊<sup>2,3</sup>, 久保田 達也<sup>1</sup>, 沼崎 光<sup>2</sup>, 佐藤秀一<sup>2,3</sup>

### Effect of newly augmented tissue as bone graft materials derived from rat GBA model.

<sup>1</sup>Division of Applied Oral Science, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

<sup>3</sup>Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Katsuyoshi Tsunori<sup>2,3</sup>, Akira Hasuike<sup>2,3</sup>, Yutaka Yamada<sup>2,3</sup>, Tatsuya Kubota<sup>1</sup>, Hikaru Numasaki<sup>2</sup>, Shuichi Sato<sup>2,3</sup>

#### 【目的】

歯周炎によって破壊された歯周組織を再生させることを目的とした歯周組織再生誘導 (guided tissue regeneration : GTR) 法の原理を利用した、歯槽骨再生誘導法 (guided bone regeneration : GBR) 法は、インプラント治療に応用されている。とくに、骨増生 (guided bone augmentation : GBA) 法は既存骨のない部位に新生骨を増生させる方法であり、効果的に骨増生を行うためには、骨移植材を用いることが有効であると示されている。骨移植材には自家骨、他家骨、異種骨および人工骨などがある。これらの移植材の中で、自家骨はゴールドスタンダードと考えられているが、採取量に制限がある。そこで本研究では、ラット GBA モデルにおいて増生した新生組織を移植骨として応用することについてマイクロ CT 撮影を用いた解析によって検討した。

#### 【材料および方法】

8週齢雄性ラット (F344/Jcl) 30 匹に一次手術として、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内注射 (50 mg/kg) の全身麻酔を行った。ついで、ラット頭頂部に 2% 塩酸リドカイン (1 : 80,000 アドレナリン含有歯科用キシロカインカートリッジ) 約 0.5 ml を用いて局所麻酔を施し、頭部皮下に切開を加えて皮膚骨膜弁を形成、剥離、翻転した。左側頭頂骨に、直径 5 mm の外周溝をトレフィンバーにて作製、この溝の内側に 5ヶ所の骨髄穿通をラウンドバーにて作製し、20 匹のラットには規格化された円筒状プラスチックキャップ (内径 4.4 mm, 高さ 1.5 mm) を設置、残りの 10 匹のラットには、プラスチックキャップを設置せず、骨膜は吸収性縫合糸を、皮膚は非吸収性縫合糸を用いて縫合を行った。

術後 12 週に二次手術として上記と同様の麻酔法を施したのち、右側頭頂骨に直径 5 mm の骨欠損をトレフィンバーにて形成、これを受容床とした。プラスチックキャップ設置を行った群のうち、10 匹のラットには、プラスチックキャップを除去し新生組織のみをボーンスクレイパーを用いて採取、これを自家移植骨として充填し実験群とした。残りの 10 匹のラットには、充填は行わず、これを陰性対照群とした。さらに、偽手術を行った 10 匹では、左側頭頂骨よりボーンスクレイパーを用いて自家骨を採取して、骨欠損部に充填し、陽性対照群とした。術直後から 12 週まで隔週で 3D マイクロエックス線 CT 撮影し、骨欠損の閉鎖率と新生骨様組織の定量分析を行った。

#### 【結果および考察】

マイクロ CT 観察の結果から、実験群は、陽性対照群同様に陰性対照群と比較し、優位に周囲の頭頂骨と連続した骨再生の傾向が認められた。また、閉鎖率および新生骨様組織の定量分析の結果、実験群および陽性対照群は陰性対照群と比較し、有意に再生が認められた。

#### 【結論】

これらの結果から、ラット GBA モデルにおいて増生した新生組織の自家骨移植における移植骨としての有効性が示唆された。

### 新世代の骨移植材: Biphasic Calcium Phosphate Cement の ラット頭頂骨モデルにおける病理組織学的評価

日本大学大学院歯学研究科 歯学専攻応用口腔科学分野<sup>1</sup> 日本大学歯学部 歯科保存学第Ⅲ講座<sup>2</sup>  
日本大学歯学部 総合歯学研究所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup> 日本大学歯学部<sup>4</sup>  
○小澤 康正<sup>1</sup>, 好士 亮介<sup>2,3</sup>, 久保田 達也<sup>1</sup>, 山本 崇申<sup>1</sup>, 菅原 明喜<sup>4</sup>, 藤川 謙次<sup>2</sup>, 佐藤 秀一<sup>2,3</sup>

#### A New Generation Bone Substitute Material: Histopathological Evaluation of Biphasic Calcium Phosphate-based Cement in Rat Calvarial Model

Division of Applied Oral Sciences, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan<sup>1</sup>

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan<sup>2</sup>

Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan<sup>3</sup>

Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan<sup>4</sup>

○Yasumasa Ozawa<sup>1</sup>, Ryosuke Koshi<sup>2,3</sup>, Tatsuya Kubota<sup>1</sup>, Takanobu Yamamoto<sup>1</sup>,  
Akiyoshi Sugawara<sup>4</sup>, Kenji Fujikawa<sup>2</sup>, Shuichi Sato<sup>2,3</sup>

【研究目的】近年  $\alpha$ -Tricalcium Phosphate ( $\alpha$ -TCP) と Tetracalcium Phosphate (TTCP) が同じ粒子中に均一に分散し単峰性粒度分布を示す均一二相性の粉部と酸性リン酸カルシウム溶液 (Acidic Calcium Phosphate Solution: Ca-P Soln) を液部とする Biphasic Calcium Phosphate-based Cement (BCP-cement) が開発され報告もなされている (Sugawara et al., Hirayama et al., IADR. 2015)。BCP-cement は、優れた操作性を示すと同時に理想的硬化時間の設定が可能であり、さらに骨移植部への応用に際して形状賦形性・保持性と流出抵抗性及び十分な物理的強度を示し、かつ、短時間で Hydroxyapatite (HA) に転化・置換するという特徴を有している。以上のことから、BCP-cement は硬組織代替材として歯・骨への応用が期待され、予備的実験でも良好な結果が示されている。本研究では、BCP-cement をラット頭頂骨欠損に移植した場合に生じる骨形成性の基礎的分野からの判定と臨床応用の可能性について検討を行った。

【材料および方法】F344/Jcl オス 9 週齢ラットに全身麻酔下にて皮膚骨膜弁を剥離・翻転した後、トレファインパーにて頭頂骨両側に矢状縫合を避けて臨界内側性骨欠損 (直径 5 mm) を作製した。BCP-cement は、粉部 (Ca/P 比: 1.8) に溶液減水材として Trisodium Citrate (3Na-citrate) を、液部には流出抵抗剤として Polyvinylpyrrolidone (PVP) k25 を適量混入したものを P/L 比: 3.0 で 30 秒間練和してペースト状にしたものを骨欠損部に移植した。また、骨欠損部に市販骨セメントの Biopex-R を移植した場合と何も移植しなかった場合を対照群とした。術野の経時的変化は、術直後及び術後 3, 8 週に 3D マイクロ X 線 CT で撮影して観察を行った。また、移植部における新生骨への蛍光標識として Tetracycline を安楽死 1 週間前に腹腔から投与した。術後 8 週で安楽死させ、移植部を含む周囲組織をパラフィン包埋後、脱灰切片を作成して HE 及び TRAP で染色し光学顕微鏡で観察を行った。また、骨移植部への骨形成状態を NIH 画像解析ソフトを用いて定量的に評価した。さらに、試料の一部は非脱灰切片として蛍光顕微鏡にて観察した。なお、本研究は日本大学歯学部動物実験委員会の承認 (承認番号: AP14D015) を受け実施した。

【成績】病理組織学的観察より BCP-cement は良好な既存骨面への結合性を示し形状賦形性・保持性および流出抵抗性を有する状態での骨形成が移植部全域に観察された。すなわち、骨形成は周囲既存骨から移植部へ骨伝導性に生じるだけでなく、移植材を内・外側より被覆する骨膜との接合部にも層状の新生骨の形成が認められ、さらに移植材内部に対する骨置換性の新生骨形成が行われることが TPAP 染色で確認された。これに対して Biopex-R では、移植時に賦形した形状は体液等への流出により形状保持は不十分であり、移植部への骨形成も 50% 以下であった。また、骨欠損部に移植材を用いなかった場合は、骨欠損部に損傷修復過程で発生する僅かな新生骨形成が既存骨周囲に観察されるのみであった。

【考察】以上の結果より、BCP-cement は移植直後と同じ形状が保持された状態で既存骨面と骨膜接合部から骨伝導性骨形成が行われるだけでなく、破骨細胞による移植材の吸収を起点とする骨置換性骨形成が生じる事が明らかになった。このようなことより、BCP-cement は物性的にも優れた生体適合性・親和性を有する骨移植材であると考えられた。

【結論】臨界内側性骨欠損間隙部に対する骨移植材として、BCP-cement は形状賦形性・保持性及び流出抵抗性を有する極めて有効な骨移植材であることが示された。

(本研究の一部は、メディカルユースアンドエイと太平洋化学産業の支援によって行われた。)

## PS リポソームおよびハイドロキシアパタイトの併用による骨欠損修復の組織学的検討

福岡歯大・歯科保存学分野

○畠山 純子、松本 典祥、赤尾 瑛一、西崎 竜司、二階堂美咲  
中山 英明、水上 正彦、松崎 英津子、泉 利雄、阿南 壽

### Histological analysis of the bone defect repair by PS liposomes and hydroxyapatite

Department of Operative Dentistry and Endodontics, Fukuoka Dental College

○HATAKEYAMA Junko, MATSUMOTO Noriyoshi, AKAO Eiichi, NISHIZAKI Ryuji, NIKAIIDO Misaki  
NAKAYAMA Hideaki, MINAKAMI Masahiko, MATSUZAKI Etsuko, IZUMI Toshio, ANAN Hisashi

**(緒言)** 細胞膜リン脂質のホスファチジルセリン (PS) を含むリポソーム (PSL)は破骨細胞前駆細胞から成熟破骨細胞への成熟を抑制し、慢性関節リウマチ動物モデルにおける骨破壊を抑制することが知られている (Wu Z. et al., J. Immunol. 2010)。また、ハイドロキシアパタイト (Hydroxyapatite 以下 HAP) は高い気孔率と親水性を有し、骨芽細胞の活性を高めることや破骨細胞増加の抑制により骨補填材として臨床応用されている (Yamazaki et al., Biomed Mater Res Part B: 2009)。我々はこれまで、ラット頭頂骨骨欠損モデルを用いて HAP と PSL の併用について  $\mu$ CT を用いて解析し、本学会に報告した (畠山ら、第 142 回日本歯科保存学会、2015 年 春季大会)。今回、PSL と HAP 併用が骨形成に及ぼす影響について、組織学的検索を行ったので報告する。

**(材料および方法)** **1. PS リポソームの調整:** PS リポソームの調整はこれまでの報告の通り行った。すなわち phosphatidylcholine (PC) と phosphatidylserine (PS) の乾燥リン脂質フィルムを molar ratio 7:3 の割合で PBS に溶解し、氷上で 10 分間超音波振動を与えて溶解した。0.22 $\mu$ m のフィルター滅菌を行い、調整から 3 日以内に実験に供した。**2. 動物実験:** 動物実験は福岡歯科大学動物センターにより承認 (承認番号 08007) を得て、10 週齢雄性 Wistar ラット 45 匹を用いて行った。イソフルラン (フォーレン吸入麻酔液、アボットジャパン) による吸入麻酔後、ラット頭頂部を剃毛し切開線を入れ、皮膚および骨膜を剥離反転した。注水下でトレフィンバー (直径 5 mm, GC 社製) により、円形の骨欠損を作製した。欠損部に ①HAP 粒子 (APACERAM-AX, HOYA Technosurgical) を 6 mg + PBS 10  $\mu$ l 埋入 ②HAP 粒子 6 mg + PS リポソーム 10  $\mu$ l 添加 ③コントロールとして何も埋入しない の 3 種類を施した。その後、骨膜と皮膚のそれぞれを縫合した。処置の 2、4、8 週間後に屠殺し、4% paraformaldehyde 水溶液で灌流固定を行い、頭部を取り出した。**3. 組織学的検索:** 10% EDTA にて脱灰した後、パラフィン包埋した組織切片を 4  $\mu$ m の厚さで薄切した。HE 染色、マッソントリクローム染色を行った。また酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色およびアルカリ性ホスファターゼ (ALP) 染色 (TRACP & ALP double-stain Kit, タカラバイオ) にて染色を施し観察した。

**(結果)** **1.** HE 染色およびマッソントリクローム染色により、コントロール群では術後 2、4 週目の骨欠損部は間葉系細胞や細胞間基質と血管によって満たされていた。8 週目では骨欠損部の骨断端部から新生骨の形成が認められた。一方 HAP 群、HAP+PSL 群では、術後 2、4 週目では骨欠損部内の充填物周囲に新生骨が形成され、その表層に扁平あるいは楕円形の形状を示す多数の骨芽細胞様細胞が観察された。8 週目では HAP+PSL 群では骨断端部に骨梁の伸展、特に骨窩洞底部の骨修復が進行し、骨組織で満たされてようとしており、形成された海面骨骨梁は肥厚していた。骨基質はマッソントリクローム染色で赤染される部位と既存骨と同程度に青染する部位が層板構造をなし、骨小腔の配列も規則的であった。一方、HAP 群では、HAP 周囲にエオジンに淡染する独立した骨は認められるものの、骨断端部からの骨量の伸展が骨梁は HAP+PSL 群に比べ薄かった。**2.** TRAP 染色により、Control 群で術後 4、8 週目において、骨断端部に TRAP 陽性の多核の細胞が認められた。HAP 群では HAP 周囲に独立した新生骨と多くの TRAP 陽性の細胞が認められた。HAP 群および HAP+PSL 群で新生骨表層において TRAP 陽性の細胞が観察された。

**(結論)** HAP と PSL の併用により、新生骨表面に扁平あるいは楕円形の形状を示す多数の骨芽細胞様細胞が観察された。また、TRAP 陽性の破骨細胞様細胞が観察されたことから、骨欠損部ではリモデリングが繰り返されることにより、石灰化度が高い層板構造をなす骨組織が形成される可能性が示唆された。

**(学会外研究分担者)** 高山扶美子、武 洲、中西 博 (九州大学 歯学研究院 口腔機能分子科学)

## 羊膜を培養基質とした培養歯根膜由来細胞シートにおける 歯周組織再生に関わる因子の探索

京都府立医科大学 大学院医学研究科 歯科口腔科学

○雨宮 傑, 足立哲也, 遠藤悠美, 市岡宏顕, 足立圭司, 西垣 勝, 大迫文重, 山本俊郎, 金村成智

### Search of the Factor about Periodontal Regeneration in the Human Periodontal Ligament Cell Sheets Cultured on Amniotic Membrane Substrate

Department of Dental Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine

○AMEMIYA Takeshi, ADACHI Tetsuya, ENDO Yumi, ICHIOKA Hiroaki, ADACHI Keiji,

NISHIGAKI Masaru, OSEKO Fumishige, YAMAMOTO Toshiro, KANAMURA Narisato

#### 【研究目的】

本研究の最終目的は、歯周組織再生に有効な新規培養細胞シートを開発することである。羊膜は抗炎症、感染抑制を有し、さまざまな細胞の培養基質としての有用性・有効性が注目されている生体材料である。われわれはこれまで、羊膜を基質に用いた培養歯根膜由来細胞 (PDL 細胞) シートを作製し、実験動物への移植にて新生骨 (歯周組織) 再生能を有することを報告してきた (第 141 回学術大会)。これら研究成果をもとに、羊膜上培養 PDL 細胞シートの組織修復作用および骨再生能についてのメカニズムを解明するために、同培養シートにおける歯周組織再生 (組織修復作用および骨再生能) に関わる因子について探索を行い、若干の知見が得られたので報告する。

#### 【材料および方法】

本研究は本学医学倫理審査委員会の許可を得たうえで実施した (RBMR-C-1111-2)。羊膜は帝王切開時の胎盤より採取し、PDL 細胞は抜去歯より採取した歯根膜を初代培養後、3~4 代継代したものを研究に利用した。上皮細胞を剥離、除去した羊膜上にて PDL 細胞を 3 週間の培養を行い、羊膜上培養 PDL 細胞シートを作製した。上記にて得られた培養 PDL 細胞シートに対して DNA マイクロアレイ法による網羅的遺伝子発現解析、ならびに酵素免疫定量 (ELISA) 法によるタンパクの定量測定を行った。なお、対照群は PDL 細胞とした。

#### 【成績】

マイクロアレイにて歯周組織再生に関与する遺伝子解析を行ったところ、PDL 細胞と比較して羊膜上培養 PDL 細胞シートにて、Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1/CXCL12), CXCL14, およびインスリン様増殖因子 1 (Insulin-like growth factor-1: IGF-1) の各遺伝子が強発現しており、real-time PCR による定量解析においても発現量増加を示していた。また、CXCL14, IGF-1 においてタンパクの高発現が認められた。

#### 【考察】

SDF-1/CXCL12 と CXCL14 は互いに作用し、様々な種類の間葉系幹細胞の遊走に重要な役割を果たすケモカインとされる。なかでも、SDF-1/CXCL12 は PDL 細胞で合成・分泌され、間葉系幹細胞の凝集を誘導することで歯根膜の恒常性 (再生と修復) に関与すると考えられている。また、IGF-1 は骨芽細胞の分化・機能に関与し、歯周組織の再生を促進する増殖因子とされる。本研究にて羊膜上培養 PDL 細胞シートはこれらの遺伝子の強発現および発現量が増加していたが、タンパクの高発現までを認められたのは CXCL14, IGF-1 のみであった。今後、SDF-1/CXCL12 のタンパク発現については、移植実験などによる検討が必要と考えている。

#### 【結論】

羊膜は PDL 細胞培養に有用な基質であり、羊膜上培養 PDL 細胞シートは歯周組織再生への有効性がある可能性が示された。本研究の一部は、JSPS 科研費 (25861966) の助成を受けた。

#### (参考文献)

1. Amemiya T, Nakamura T, Yamamoto T, *et al.* Autologous transplantation of oral mucosal epithelial cell sheets cultured on an amniotic membrane substrate for intraoral mucosal defects. *PLoS One.* 10(4): e0125391, 2015.
2. Adachi K, Amemiya T, Nakamura T, *et al.* Human periodontal ligament cell sheets cultured on amniotic membrane substrate. *Oral Dis.* 20: 581-590, 2014.

## 広汎な唇側歯槽骨の骨破壊を伴う歯内-歯周病変 (Weine クラス III) に対して再生療法を行った症例：24 ヶ月予後

大阪歯科大学病院歯周治療科\*1、大阪歯科大学歯周病学講座\*2  
○白井義英\*1、河野智生\*2、高橋貫之\*2、田幡 元\*2、梅田 誠\*1,2

### A case of guided tissue regeneration for bone destroyed because of endodontic-periodontal disease (Weine Class III) : 24 months

Osaka Dental University Hospital, Periodontology\*1, Osaka Dental University, Department of Periodontology\*2

○Yoshihide SHIRAI\*1, Tomoo KONO\*2, Tsurayuki TAKAHASHI\*2, Hajime TABATA\*2, Makoto UMEDA\*1,2

#### [緒言]

歯内病変により 2 次的に生じた広汎な歯槽骨破壊を伴う歯周病変に対して再生療法を行った。

#### [症例]

上顎左側中切歯の腫脹と排膿を主訴として当院に来院された患者 (女性、62 才) に対して歯周基本治療終了後、患者の同意を得たのちに歯周組織再生療法を行った。まず、最初に歯内治療を行い、同時に 2 次性交合性外傷も認められたので、暫間補綴物を装着した後に再生療法を行った。切開線については審美性を考慮して最小限の切開とし、歯内病変除去後に接着材料で歯根形態を復元、また、歯槽骨破壊も大きいので人工骨でスペースを付与した後に吸収性歯周組織再生用材料を設置した。また、歯肉弁に骨膜減張切開を加え施術部を完全に被覆する様に懸垂縫合を行った後に、歯冠方向へ歯肉弁を持ち上げるように縦切開への単純縫合も追加した。術後 5 日間は抗菌薬を服用、施術部へのブラッシングを再開させる 2 週目までは毎食後に含嗽剤の使用を指示した。術後 6 ヶ月の再評価後、歯周組織の安定を待ってから暫間補綴物にしてあった歯牙に対して最終補綴物を装着した。

#### [経過]

術後 2 週目までは歯肉に軽度の発赤を認めた。2 週目より軟毛ブラシにてブラッシングを始めると発赤も消退し始めた。術後 3 週目に全ての抜糸を行った。

6 週目までは週 1 回来院してもらい専門的機械的清掃を施しながら、同時に施術部に僅かな炎症性の変化も生じていないか観察を続けた。術後 24 ヶ月まで 1 ヶ月毎に口腔清掃状態の確認を行った。臨床評価として、術前と術後 24 ヶ月の PD と CAL を計測する。それと同時に X 線評価も行う。術前の PD は頬側近心から 8, 10, 8mm, CAL は 9, 12, 9mm (唇側中央部) であったのが術後 12 ヶ月では PD が 4, 2, 3mm, CAL が 2, 3, 2mm に改善されていた。また、X 線的には施術時と比較して術後 12 ヶ月頃より歯根部周辺の歯槽骨において術後 24 ヶ月まで不透過性が経時的に増加していくのが明確に観察された。

#### [予後]

本症例の様に歯内病変から歯槽骨破壊を生じた場合には感染部が広範囲となるため治癒を左右する要因も多いことから治癒期間に若干の遅れが生じたものと思われた。歯内病変の汚染部を完全に除去し歯根吸収を生じていた部分の接着材料が施術後も安定した状態を維持しており、再生療法により得られた付着と骨再生の維持は術後の口腔清掃状態を良好に保つことが重要であると思われた。

#### [考察]

この症例の様に、歯内-歯周病変の治療に関して歯内病変由来による歯周病変では、初発原因と思われる歯内治療から確実に行った後に、骨再生も伴う様な再生療法を実施することが重要と思われた。

#### [結論]

歯内病変により生じたと考えられる歯内-歯周病変に関して歯内治療後に外科処置を行うことによって、より確実な病因除去が可能になり良好な治癒が得られると考えられる。また、術前・術後を通じてのインフェクションコントロールを維持することにより長期に渡って歯周組織の安定が得られたと思われた。

今回の症例の様に上顎前歯部での唇側歯槽骨破壊が広範囲におよぶ場合に、審美性も十分に考慮したうえでの再生療法を行うことも最重要であると思われる。

## 歯内一歯周病変クラスⅢに対して歯周組織再生療法を行った一症例

大阪歯科大学歯周病学講座  
○田幡 元・本多 正直・梅田 誠

### A case report of periodontal regeneration for endodontic-periodontal lesions class III

Department of Periodontology, Osaka Dental University

○Hajime Tabata, Masanao Honda, Makoto Umeda

#### 【はじめに】

歯内一歯周疾患症例では、十分な診査や治療を行っても予後不良となる場合が多いが、その一方で適切な鑑別診断と治療を行うことによって症状が改善し、長期的な歯の保存が可能となる症例が存在するのも事実である。

今回、感染根管処置および歯周組織再生療法を行うことにより、良好な結果を得ることができたので報告する。

#### 【症例の概要】

患者：65歳 男性、初診日：2013年6月7日、

主訴：下顎左側臼歯部の疼痛、および違和感、全身既往歴：特記事項になし、

口腔既往歴：若いころより歯は丈夫で歯科医院に通院することはなかった。齶蝕処置のために近医を通院経験はあるが、歯周治療の経験はない。2010年に38の智歯周囲炎のため当院口腔外科にて抜歯を行っている。今回、歯肉の出血や歯の動揺に気づき近医に通院し続けているが一向に改善することがないので、友達に相談したところ当病院に通院されており、勧められて当病院歯周治療科を来院した。

#### 【診査・検査所見】

全顎にわたるプラークが歯頸部に付着しておりPCRは80.5%であり、全顎的に歯頸部歯肉に発赤が認められた。37遠心から頬側にかけて歯肉に発赤、腫脹が認められた。エックス線所見として遠心から分岐部にかけて歯槽骨の吸収が認められた。プロービングデプスは遠心に9mm、頬側に8mmあり、根分岐部にLindhe & Nymanの分類2度の分岐部病変が認められた。

#### 【診断】

軽度慢性歯周炎（一部重度）、37部歯内一歯周病変の分類クラスⅢ、根分岐部病変2度

#### 【治療計画】

1、歯周基本治療：口腔清掃指導、スケーリング・ルートプレーニング（SRP）、感染根管治療、咬合調整、暫間補綴物の作製、2、再評価検査、3、歯周外科処置：エナメルマトリックスタンパク質の応用手術と自家骨移植術の併用、4、再評価検査、5、口腔機能回復治療

#### 【治療経過】

2013年6月25日から9月4日まで歯周組織検査、口腔清掃指導、SRP、咬合調整、暫間補綴物の作製を行い、2013年9月20日に再評価検査を行った。37部遠心から頬側にかけて6mm以上のポケットが残存しBOPが認められたため歯周組織再生療法を行うこととした。術式としては歯槽骨の吸収が大きくこと欠損幅も2mm以上であったため歯周組織再生療法と骨移植術との併用をおこなうこととし、2013年10月8日にエナメルマトリックスタンパク質の応用手術と自家骨移植術を施行した。2014年5月に同部位の最終補綴を行い、SPTへ移行。そののち3カ月に一度のSPTをおこなう。

#### 【考察・結論】

本症例では、下顎左側第3大臼歯の抜歯後の治癒不全から炎症が波及し歯内一歯周病変の分類のクラスⅢのなった症例に対して歯周組織再生療法を行い良好な結果を得ることができた。歯内一歯周病変のクラスⅢは根尖周囲の骨吸収と歯周炎による骨吸収とが連絡し合併した病変であり、高度な歯槽骨の吸収が認められる。このような症例に対してまず感染根管処置を行い、その後に歯周外科処置を行うことで感染部位を確実に除去することで、重度の歯槽骨の吸収がある症例においても歯周組織の再生が可能であると考えられる。今後はSPTによる徹底したプラークコントロールを行い、炎症のコントロールを行っていくことが重要であると思われる。

## 広汎型重度慢性歯周炎患者に歯周組織再生療法およびダイレクトレジン充填による 歯間部離開閉鎖を行った一症例

1 日本歯科大学生命歯学部 歯周病学講座 2 五十嵐歯科室  
○五十嵐(武内) 寛子<sup>1,2</sup> 沼部 幸博<sup>1</sup>

A case of periodontal regenerative therapy and direct resin filling for interproximal  
space for generalized chronic severe periodontal patient.

1 The Nippon Dental University, School of Life at Dentistry at Tokyo, Department of Periodontology  
2 Igarashi Dental Office

○Hiroko Igarashi· Takeuchi<sup>1,2</sup> Yukihiro Numabe<sup>1</sup>

[はじめに] 重度慢性歯周炎患者に歯周組織再生療法およびダイレクトレジン充填による歯間部離開閉鎖を行い良好な治療経過を得ている症例を報告する。

[初診] 42歳女男性、初診日2013年11月7日 主訴：上顎前歯部の隙間を埋めたい。歯科的既往歴は、近院にて2週間前に齶蝕治療済み。口腔衛生指導を受けた経験はなし。口腔清掃状況は3回/日の歯ブラシ、歯間ブラシやデンタルフロスおよび洗口剤を使用。歯周病を指摘されたことはない。全身的既往歴の特記事項なし。10年前より禁煙継続中。

[診査・検査所見] 視診にて12および43の交叉咬合、11-23に歯間離開を認める。縁上歯石や歯肉の発赤は認められない。4mm以上の歯周ポケットは58.9%、特に6mm以上のポケットは23部位に認められ、BOPは32.1%であった。デンタルエックス線において全学的に高度な骨吸収を認めた。41、31および上下左右の臼歯部には6mm以上のポケットが認められ、特に48の近心傾斜にともない47の遠心部には10mm以上のポケットが存在した。

[診断] 広汎型重度慢性歯周炎

[治療方針] 1)歯周基本治療 2)再評価 3)歯周外科治療 4)再評価 5)ダイレクトレジン充填による歯間部離開閉鎖 6)再評価 7)SPT

[診断名] 広汎型重度慢性歯周炎

[治療経過・治療成績] 全顎的な口腔衛生指導をはじめ歯周基本治療を行った。再評価後に48の抜歯、4mm以上の歯周ポケットを認める17-14、24-27、47-44部に歯周外科手術、また垂直性骨欠損を認める36、37に対しエナメルマトリックスタンパク質を用いた歯周組織再生療法を行った。術後は4mm以上の歯周ポケットは5.4%、6mm以上の歯周ポケットは0部位となり病状は安定しSPTへ移行し3ヶ月ごとに来院中である。なお、術前再評価後に上顎前歯部のBOP(-)を確認しダイレクトレジン充填による歯間部離開閉鎖を行った。

[考察] 現在の口腔内の状況及び歯周病のメカニズムを指導することにより、一連の歯周治療に対し協力的であった。初診時のO'Leary PCRは35.7%であったが2回目の計測時には15%に減少したことは、正しい清掃補助器具の使用の指導が効果的であったことを示唆すると考えらえる。左右上下臼歯部に対し歯周外科治療を行う前に、患者のモチベーションの維持のため術前再評価後ダイレクトレジン充填による歯間部離開閉鎖を行った。同部位に対し、歯間ブラシではなくフロスにて清掃するように指示を行った。本症例は良好な経過を経ているが、長期的な安定を維持するため今後も注意深いメンテナンスを行っていく必要がある。

## 歯科用エックス線 CT 装置の根分岐部病変診断への応用

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 歯周病学分野  
○竹内祥吾, 小柳達郎, 小川実穂, 井川貴博, 須田智也,  
竹内康雄, 和泉雄一

### The application of cone beam computed tomography data for the diagnosis of furcation defects

Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University  
○Shogo Takeuchi, Taturou Koyanagi, Miho Ogawa, Takahiro Ikawa, Tomonari Suda,  
Yasuo Takeuchi, Yuichi Izumi

[目的] 歯周治療を行う上で根分岐部の状態を正確に把握することは重要である。現状ではエックス線写真に基づく2次的な評価や、プロービングポケット深さやボーンサウンディングによる臨床検査による診断を行っているが、これらの診断と実際の根分岐部の状態には差違が生じていることも多い。根分岐部病変に対する治療法はその進行度により変わるため、根分岐部の状態を正確に把握できる信頼性の高い術前検査が必要である。現在、Cone-Beam Computed Tomography (CBCT) は顎顔面口腔領域における骨の形態を3次的に評価することが可能であることから幅広く活用されており、根分岐部病変の診断にも応用可能と考えられる。本研究ではCBCTの根分岐部病変に対する術前検査の有用性を検討した。

[材料および方法] 本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認(第766号)を得て行った。根分岐部を対象に歯周外科治療を予定した歯周炎罹患患者(15名)に対し、CBCT (GALILEOS; Sirona, Japan) による手術予定部位の撮影を行った。CBCT画像解析では、下顎骨正中の皮質骨と上顎臼歯部海面骨の2点を基準として骨量の定量化を行った後、根分岐部の状態を計測した。また浸潤麻酔下にてボーンサウンディングによる根分岐部病変の検査を行った。その後、全層弁にて歯肉を剥離回転し、目視下にて根分岐部病変を観察した。CBCT画像、ボーンサウンディング、および歯周外科時、それぞれの根分岐部病変の診断(Lindhe&Nymanの分類)の整合性について比較検討した。

[結果] 根分岐部病変に対し、ボーンサウンディング、CBCT画像、歯周外科の検査結果を比較した。ボーンサウンディングと歯周外科の検査結果には高い整合性が認められたが、計測が難しい部位におけるボーンサウンディングでは、その整合性にばらつきも認められた。一方で、CBCT画像による検査結果と歯周外科の検査結果には常に高い整合性が認められ、ボーンサウンディングでは計測が困難な部位においてもCBCT画像を用いることにより根分岐部病変の診断が可能であった。

[考察および結論] CBCT 画像解析により予測された根分岐部病変と術中の根分岐部病変の状態はおおよそ一致していたことより、根分岐部病変の術前検査においてCBCTは有益であることが示唆された。当該装置を用いることで、歯や歯槽骨の形態を3次的に調べることができ、従来のエックス線写真では診断が困難な根分岐部を含む症例などでも正確な歯周組織の状態を把握することが可能である。今後、歯周外科治療の術前および術後の評価等にも応用が期待される。

### 歯周治療中に観察された歯周ポケット内の顆粒様構造物について

1) 日本大学歯学部保存学教室歯科保存学第Ⅲ講座

2) 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療部門

○吉沼直人<sup>1), 2)</sup>, 高野麻由子<sup>1)</sup>, 奥津誠一郎<sup>1)</sup>, 江澤庸博<sup>1)</sup>, 菅野直之<sup>1), 2)</sup>, 佐藤秀一<sup>1), 2)</sup>

Particle-like Substance in Periodontal Pocket

Nihon University School of Dentistry, Department of Periodontology<sup>1)</sup>

Nihon University School of Dentistry, Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center<sup>2)</sup>

○Naoto YOSHINUMA<sup>1), 2)</sup>, Mayuko TAKANO<sup>1)</sup>, Seiichiro OKUTSU<sup>1)</sup>, Tsunehiro EZAWA<sup>1)</sup>, Naoyuki SUGANO<sup>1), 2)</sup>, Shuichi SATO<sup>1), 2)</sup>

#### 【緒言】

歯周病の進行を助長する因子のひとつとしてプラークリテンションファクターがある。プラークリテンションファクターはプラークの蓄積量を増加させ炎症を亢進させる因子で歯石、う蝕、口呼吸、歯列不正などがあげられる。演者らは、歯周治療中に観察された歯石と肉眼的に明らかに異なる形状の歯周ポケット内の顆粒様構造物がプラークリテンションファクターとなっていた可能性がある3症例を報告する。

#### 【症例 1】

患者は初診時（1993年）、20歳の女性で下顎左側臼歯部の歯肉腫脹を主訴として日本大学歯学部附属歯科病院に来院した。全身既往歴に特記事項はなかった。広汎型侵襲性歯周炎と診断し、歯周基本治療、歯周外科治療後に再評価を行いサポータティブペリオドンタルセラピー（以後、SPT）に移行した。初診時より約16年経過後の2009年のSPT時に下顎左側臼歯部頰側の歯肉辺縁部に白色の顆粒様構造物が多数観察された。同部位のプロビングポケットデプス（以後、PPD）は1～3mmであった。患者に問診したところ、「粒の大きなハミガキ粉を使用している。」という。歯磨剤の歯周ポケット内埋入の可能性もあるため、その使用を中止させた。以後、同様の構造物は観察されず現在に至る。

#### 【症例 2】

患者は初診時（2000年）、37歳の男性で下顎左側大臼歯部の咀嚼時の咬合痛を主訴として当歯科病院に来院した。全身既往歴は前立腺炎以外に特記事項はなかった。広汎型侵襲性歯周炎と診断し、歯周基本治療、歯周外科治療および口腔機能回復治療後に再評価を行いSPTに移行した。初診より約8年経過後の2008年のSPT時に上顎右側臼歯頰側の歯肉辺縁部に白色の顆粒様構造物が多数観察された。PPDおよびポケットからの出血（以後、BOP）を測定したところ15（歯式はFDI方式とする）近心頰側のPPDは3mmでBOP(+)であった。グレーシースケーラーにてスケールリング・ルートプレーニング（以後、SRP）を行ったところ、歯肉縁下から顆粒様構造物が除去できた。患者に問診したところ、症例1と同様な答えであった。歯磨剤の歯周ポケット内埋入の可能性もあるため、その使用を中止させた。以後、同様の構造物は観察されず現在に至る。

#### 【症例 3】

患者は初診時（2011年）、34歳の女性で全顎的な歯肉腫脹を主訴として当歯科病院に来院した。全身既往歴はB型肝炎以外に特記事項はなかった。広汎型侵襲性歯周炎と診断し、歯周基本治療、再評価後PPD 4mm、BOP(+)の23に対し歯周外科治療（フラップ手術）を行った。歯肉弁を剥離後に歯根面を観察したところ、頰側歯根面にプラーク様沈着物とともに周囲に比べ明らかに塑造な白色の顆粒様構造物が認められた。歯周外科治療後、3ヵ月後の再評価でPPD 3mm以下となりBOP(-)となった。術後問診したところ、症例1と同様な答えであった。歯磨剤の歯周ポケット内埋入の可能性もあるため、使用を中止させた。以後、同様に構造物は観察されず現在に至る。

#### 【考察】

歯磨剤の研磨剤の成分は炭酸カルシウムや無水ケイ酸等で水に不溶性である。歯肉退縮が進行した歯周病患者にはバス法を指導する機会が多い。その際、歯磨剤成分を歯肉ポケット内に押し込む可能性があり、不溶性の研磨剤の歯周ポケット内の残留が考えられる。そして、このような残留異物がプラークリテンションファクターになる可能性が考えられる。長谷川ら（日歯周誌、1997年）は歯周外科治療で採取した歯肉組織を観察し、SRP、フラップ手術などによる歯石等の石灰化物の歯肉組織への埋入の可能性を示唆した。歯周ポケット内の異物が歯周病に直接、どのような影響をおよぼすかは明らかではなく、今後の研究が必要である。本症例報告に関しては各患者から口頭および文書による同意を得ている。

### 歯周炎併発と関節リウマチ活動度との関連性の解析

新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部<sup>1</sup>

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野<sup>2</sup>

○小林哲夫<sup>1,2</sup>、島田惇史<sup>2</sup>、吉江弘正<sup>2</sup>

#### Analysis of the relationship between periodontitis coincidence and the disease activity of rheumatoid arthritis

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital<sup>1</sup>

Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences<sup>2</sup>

○Tetsuo Kobayashi<sup>1,2</sup>, Atsushi Shimada<sup>2</sup>, Hiromasa Yoshie<sup>2</sup>

#### 【目的】

関節リウマチ (RA) は関節滑膜を病変の主座とする全身性炎症性疾患であり、本邦での有病率は約 0.5%と推定され、30～50 歳代の女性に好発する。近年、RA と歯周病との関連が注目されており、RA に罹患すると臨床的アタッチメントレベル (CAL) が有意に増加し、歯周病が重症化することがメタアナリシスで報告されている。一方、歯周病患者の RA リスクについては、RA 有病率が有意に高いという報告と有意差を認めない報告があり、見解は一致していない。そこで今回、歯周炎併発 RA 患者と非併発 RA 患者を対象に、RA 臨床指標について比較・検討を行った。さらに、*Porphyromonas gingivalis* peptidylarginine deiminase (PPAD) を介した蛋白シトルリン化は RA の病態形成に関与することが示唆されており、PPAD に対する血清抗体価についても比較・検討を行った。

#### 【材料および方法】

1. 対象：新潟大学歯学部倫理委員会・新潟県立リウマチセンター倫理委員会の承認のもと、同センターを受診し、インフォームドコンセントが得られた、歯周炎併発 RA 患者 44 名 (併発群)、非併発 RA 患者 13 名 (非併発群) を対象とした。
2. 歯周検査：O'Leary's プラークコントロールレコード (PCR)、歯肉炎指数 (GI)、プロービング時出血 (BOP)、プロービング深さ (PD)、ならびに臨床的アタッチメントレベル (CAL) を測定した。
3. RA 検査：RA 活動度 (DAS28-CRP)、投薬状態 (ステロイド、抗リウマチ薬、非ステロイド性消炎鎮痛薬、生物学的製剤) を評価した。
4. 血清検査：リウマトイド因子 (RF)、C 反応性蛋白 (CRP)、マトリックスメタロプロテアーゼ-3 (MMP-3)、インターロイキン 6 (IL-6)、腫瘍壊死因子 alpha (TNF- $\alpha$ ) の血清濃度、ならびに抗環状化シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体)、抗 PPAD の血清抗体価を各々 ELISA 法にて測定した。
5. 統計解析：Mann-Whitney *U* test にて併発群と非併発群間で統計解析し、 $P < 0.05$  にて有意差ありとした。

#### 【結果および考察】

今回の歯周炎併発群と非併発群間では年齢・性別分布・喫煙状態での有意差は認められなかった。歯周検査の結果、残存歯数は同等であったものの、PCR、GI、BOP、PD、CAL の平均値については歯周炎併発群で有意に高い測定値を示した。RA 検査の結果、RA 罹患期間、DAS28-CRP、投薬状態について、いずれも有意な群間差は認められなかった。また、血清検査の結果、RF、CRP、MMP-3、IL-6、TNF- $\alpha$  の血清濃度ならびに抗 CCP・抗 PPAD 血清抗体価についても有意な群間差は認められなかったものの、抗 CCP 抗体価は歯周炎併発群で高い傾向を示した。抗 CCP 抗体を含めた抗シトルリン化蛋白抗体は細菌性 PPAD の他に PAD4 等の生体由来 PAD を介しても産生されることが知られており、今後は大規模な RA 患者を対象にして、細菌性 PPAD と生体由来 PAD、シトルリン化蛋白産生を評価していく必要があると考えられる。

#### 【結論】

本研究では歯周炎併発と関節リウマチ活動度との関連性を認めなかった。今後は大規模集団での検討が必要である。  
会員外共同研究者：中園 清博士、村澤 章博士、伊藤 聡博士 (新潟県立リウマチセンター)

## ジルコニアとチタンディスク上でのヒト歯肉上皮前駆細胞の形態観察

朝日大学歯学部口腔感染医療学講座歯周病学分野<sup>1</sup>,  
朝日大学歯学部共同研究所<sup>2</sup>, 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野<sup>3</sup>  
○森永啓嗣<sup>1</sup>, 濱 拓弥<sup>1</sup>, 安田忠司<sup>1</sup>, 堀田康明<sup>2</sup>, 玉置幸道<sup>3</sup>, 渋谷俊昭<sup>1</sup>

**Attachment of human primary gingival epithelial cell on titanium and zirconia**  
Asahi University School of Dentistry Department of Periodontology<sup>1</sup>  
Asahi University School of Dentistry Central Research Institute of Oral Science<sup>2</sup>  
Asahi University School of Dentistry Department of Dental Materials<sup>3</sup>  
○Hirotsugu Morinaga<sup>1</sup>, Takuya Hama<sup>1</sup>, Tadashi Yasuda<sup>1</sup>, Yasuaki Hotta<sup>2</sup>,  
Yukimichi Tamaki<sup>3</sup>, Toshiaki Shibutani<sup>1</sup>

### 【目的】

欠損部の補綴治療にインプラント治療が有用であり、審美性、生体親和性、金属に匹敵する強度などの利点より、ジルコニアはチタンに変わる材料として注目されている。しかしインプラント治療において、インプラント周囲炎やインプラント周囲粘膜炎を起こしている症例が数多く見られ、問題となっている。それらの予防には、インプラント体と上皮の接合部での防御が重要である。本研究はジルコニアに対する上皮前駆細胞の付着状態を検討する目的で、ジルコニアディスクと純チタンディスク上で上皮前駆細胞を培養した後、上皮前駆細胞の経時的な付着形態変化を走査型電子顕微鏡にて観察することである。

### 【材料と方法】

試料はジルコニアディスク (3YSB-E, ZPEX)、チタンディスクの全 3 種をこの研究に用いた。実験前に各ディスクはオートクレーブにて滅菌した。各試料は表面粗さ、表面ぬれ性の測定を行った。ディスク上に CELLnTEC 社のヒト歯肉上皮前駆細胞を 3 継代したものを播種し、37.0°C の CO<sup>2</sup> インキュベーター内で CELLnTEC 社の CnT-PR を培地に用いて 1、12、24、48 時間培養した後水洗し、グルタルアルデヒドおよび四酸化オスニウムを用いて固定、脱水した。その後、t-ブチルアルコールにて凍結乾燥し、オスミウムコーティング後走査型電子顕微鏡にてディスク上に残った付着細胞を観察した。

### 【結果および考察】

表面粗さ測定においては、ジルコニアディスク(3YSB-E)は  $0.533 \mu\text{m} \pm 0.086$ 、ジルコニアディスク(ZPEX)は  $0.601 \mu\text{m} \pm 0.012$ 、チタンディスクは  $0.229 \mu\text{m} \pm 0.093$  で、比較的チタン表面は平滑であった。

表面濡れ性の測定では、3YSB-E は  $72.6^\circ \pm 3.2$ 、ZPEX は  $70.0^\circ \pm 2.3$ 、チタンディスクは  $90.5^\circ \pm 3.0$  で、チタンに比べジルコニアディスク(3YSB-E 及び ZPEX)の方が接触角が小さかった。

走査型電子顕微鏡にて観察したところ、チタン、ジルコニア両群ともに時間を追って細胞が付着、進展、分裂増殖していく様子が観察された。細胞の形態の構成比もそれに伴い各群では、実験開始直後では球形細胞が多いのに対し、時間が経過するにつれ扁平細胞の割合が多くなっていった。チタンと比べジルコニア群では培養 1、12 時間で付着細胞数が多く見られ、培養 24 時間では各群に差はなかった。培養 48 時間においてチタンと ZPEX 間では差がなかったものの、3YSB-E 群においては付着細胞が少なかった。全付着細胞数については、チタンディスクにおいて経時的に増加が見られた。ジルコニアディスク(3YSB-E 及び ZPEX)においては 12 時間をピークにやや減少していく形で観察された。

以上の結果より、ジルコニア群はチタン群と比較し早期に上皮前駆細胞が付着した。この理由としては、表面性状の違いによるもの、またはジルコニアとチタン表面での電位差によって初期付着に差があるのではないかと考えられる。

### 【結論】

ヒト歯肉上皮前駆細胞は、上皮細胞と同様にジルコニアディスクおよびチタンディスクに付着することが示唆された。

## 機能性 TCP(*f*TCP),NaF 配合歯磨剤が 人工脱灰エナメル質の再石灰化に及ぼす *in vitro* での効果

スリーエム ジャパン株式会社 ヘルスケアカンパニー 技術本部 歯科用製品技術部  
○田島健一、宮本康司、折谷忠人

### In-Vitro Remineralization Efficacy of Tooth Paste Containing functional TCP and Sodium Fluoride on Artificial Caries-like Enamel Lesions

3M Japan Limited Health Care Company Dental Products Technical Department

○Kenichi Tajima, Koji Miyamoto, Tadato Oritani

#### 【緒言】

実質欠損を伴わないエナメル質の初期脱灰に対しては、フッ化物やミネラルの使用により再石灰化を促進することが推奨されている。リン酸三カルシウム (TCP) は、骨や歯牙を構成するミネラル成分であり、様々な歯科材料分野で利用されている。しかしながら、溶解度の高いフッ化物 (NaF) との共存下では、フッ化カルシウム ( $\text{CaF}_2$ ) を生成しその効果を減じることも知られている。この対策として、酸化カルシウムのまわりに有機物を存在させた機能性の TCP (*f*TCP) を用いることにより、1ペースト内で  $\text{CaF}_2$  を生成することなくフッ化物イオンを保護でき、両方の効果を期待できるという技術が Karlinsey<sup>1)</sup> によって報告されている。本研究では *f*TCP とフッ化物を配合した歯磨剤の人工脱灰エナメル質に対する再石灰化効果を *in vitro* における pH サイクル試験により評価し、エナメル質のう蝕予防に対する有用性を検討した。

#### 【材料および方法】

ウシ下顎前歯をダイヤモンドカッターを用いて 10×10×3mm のエナメル-象牙質ブロックを切り出し、エナメル質表面が露出するようにアクリル樹脂にて包埋した。エナメル質側面を耐水研磨紙#4000 まで研削後、4×4 mm の処理面をネイルバーニッシュにて規定した。試料は脱灰液 (1.5mM Ca, 0.9mM P and 50mM Acetic Acid, pH 4.5) に 10 時間浸漬し、人工脱灰エナメル質を作製した。歯磨剤として以下の 3 種を設定した。(1) 950 ppmF, *f*TCP (クリンプロ トゥース クリーム、スリーエム ジャパン社製), (2) 950 ppmF, (3) 1,450 ppmF とするよう歯磨剤を常法により調製した。上記試料を用いて、歯磨剤スラリーで 1 分間処置 (①) →再石灰化溶液に 1 時間浸漬 (②) →脱灰液に 3 時間浸漬→②→① →再石灰化溶液に一晩浸漬からなるサイクルを 4 サイクル実施した。微小硬さ試験器 (HM-220D, ミツトヨ) にて測定したサイクル前後の試料表面の硬度からビッカース硬度変化量 ( $\Delta$ VHN) を算出し、分散分析と Tukey の多重比較で有意水準 5% にて統計処理を行った。

#### 【結果】

各群に含まれる遊離フッ化物イオン濃度を測定したところ、それぞれ(1) 813 ± 8.64 ppm, (2) 803 ± 5.11 ppm, (3) 955 ± 3.40 ppm であり、(1)と(2)の結果に有意差はなかった ( $p > 0.05$ )。pH サイクル試験前後のビッカース硬さの変化量  $\Delta$ VHN を右図に示す。950 ppmF および *f*TCP を含む(1)群および 1,450 ppmF を含む(3)群の  $\Delta$ VHN は、950ppmF のみを含む(2)群に比べ有意に高かった。

#### 【考察】

本実験結果から、*f*TCP を加えることによりフッ化物のみを加えた場合に比べ、エナメル質表面が有意に強化されることが明らかとなった ( $p < 0.05$ )。また、950 ppmF と *f*TCP の組み合わせが 1,450 ppmF と同等程度 ( $p > 0.05$ ) の再石灰化効果を有することが示唆され、*f*TCP とフッ化物を配合する歯磨剤のエナメル質う蝕予防の有用性を確認できた。

#### 【文献】

1) R. L. Karlinsey, A. C. Mackey, *J. Mater. Sci.*, (2009) 44: 346

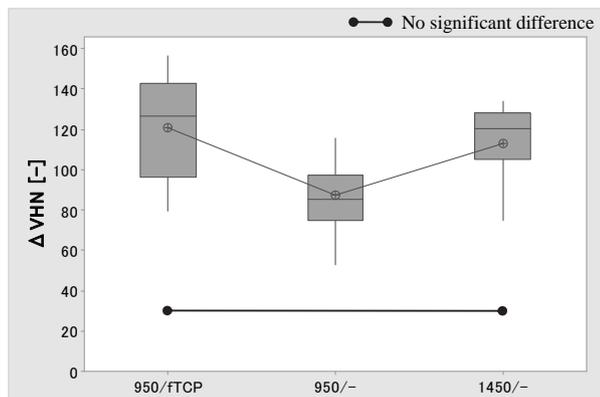


Fig. Surface Microhardness Recovery (Change in Vickers Hardness) of enamel specimens after pH cycling test

## フッ化物による再石灰化作用における キシリトールとグリセロリン酸カルシウムの併用効果

花王株式会社 パーソナルヘルスケア研究所  
○松岡純枝、永田亮輔、細矢 学、矢納義高

**Effect of Xylitol and Calcium glycerophosphate with fluoride on remineralization**  
R&D-Personal Health Care Products Research, Kao Corporation  
○MATSUOKA Sumie, NAGATA Ryosuke, HOSOYA Manabu, YANO Yoshitaka

### 【研究目的】

初期齲蝕病変の症状である表層下脱灰は再石灰化により回復が可能であり、再石灰化を促進する方法として、歯磨剤へのフッ化物の応用が有効である。フッ化物による再石灰化には、唾液や歯由来のカルシウムとの反応によるエナメル質表面での  $\text{CaF}_2$  の形成が関与している。そこで我々は、フッ化物による再石灰化作用におけるキシリトール (Xyl) とグリセロリン酸カルシウム (GPCa) の併用効果について検証した。

### 【材料および方法】

- 1) フッ素取り込み量：エナメル質モデルとするハイドロキシアパタイト粉 (HAp 粉) に各試験液 (NaF 添加溶液；A 群、NaF+Xyl 添加溶液；B 群、NaF+Xyl+GPCa 添加溶液；C 群) を添加し、2 分間振とうした。各試験液で処理した HAp 粉をイオン交換水にて洗浄後、1M HCl にて溶解させ HAp 粉中のフッ素量を測定した。
- 2) 表面硬度変化：ウシ切歯の歯冠部より作成したエナメル質ブロックを脱灰ゲル (pH4.5, 0.1M 乳酸緩衝液) に 37°C, 3 日間浸漬し、人工的な表層下脱灰病変を作製した (脱灰ブロック)。その後、脱灰ブロックを各試験液 (上記同様) にて 37°C, 5 日間の pH サイクリング処理と 2 日間の再石灰化液への浸漬処理を施し、処理前後でのブロック表面のヌーブ硬度を測定した。さらに、ブロックから薄片を作製し、X 線顕微鏡観察を行った。

### 【結果および考察】

- 1) フッ素取り込み量比較試験の結果、HAp 粉へのフッ素取り込み量は他の群と比較して C 群が有意に高かった。これはグリセロリン酸カルシウムの添加により、HAp 表面に  $\text{CaF}_2$  粒子が多く吸着したためと考えられる。
- 2) 表面硬度変化試験の結果、B 群は A 群に対し硬度が高まる傾向が見られ、C 群では他の群と比較して表面硬度は有意に高かった。また、X 線顕微鏡による観察から、A 群では脱灰部位が観察されたのに対し、C 群では脱灰部位が認められなかった。これらの結果は、キシリトール及びグリセロリン酸カルシウムがフッ化物による  $\text{CaF}_2$  の形成と脱灰部分のミネラル密度を高めたものと考えられる。

### 【結論】

フッ化物にキシリトール及びグリセロリン酸カルシウムを併用することは、フッ素による歯の再石灰化を促進する。

## 海藻由来レクチンを用いた口腔バイオフィーム感染症の制御

岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野<sup>1</sup>

岡山大学病院 新医療研究開発センター<sup>2</sup>

岡山大学病院 歯周科<sup>3</sup>, 株式会社 医学生物学研究所<sup>4</sup>

○塩田 康祥<sup>1</sup>, 伊東 孝<sup>2</sup>, 河田 有祐<sup>3</sup>, 大久保 圭祐<sup>1</sup>, 伊東 昌洋<sup>1</sup>, 今村 幸治<sup>4</sup>,  
大森 一弘<sup>3</sup>, 山本 直史<sup>3</sup>, 高柴 正悟<sup>1</sup>

### Control of Oral Biofilm Infection Using Marine Algal Lectin

<sup>1</sup>Okayama University, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

<sup>2</sup>Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital

<sup>3</sup>Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital

<sup>4</sup>Medical & Biological Laboratories Co., Ltd.

○SHIOTA YASUYOSHI<sup>1</sup>, ITO TAKASHI<sup>2</sup>, KAWATA YUSUKE<sup>3</sup>, OKUBO KEISUKE<sup>3</sup>, ITO MASAHIRO<sup>1</sup>, IMAMURA Koji<sup>1</sup>,  
OMORI KAZUHIRO<sup>3</sup>, YAMAMOTO TADASHI<sup>3</sup>, TAKASHIBA SHOGO<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

超高齢社会に突入した昨今、国の政策によって全年齢、特に高齢者の残存歯数は増えているが、口腔感染管理の対応策が定まっていないという問題がある。よって、新規の発想に基づいた口腔ケアのゴールドスタンダードとなり得る材料の探索と早期の実用化が求められている。

我々は、口腔感染管理のためにバイオフィームの形成の初期段階、すなわち細菌が歯面上の唾液成分由来の糖鎖を受容体として行う初期付着に注目し、その付着を競合的に阻害するレクチンに注目した。レクチンとは糖鎖を認識し結合するタンパクの総称で、生体中で種々の生理活性に関わることが知られている。また、ある種のレクチンは連鎖球菌のバイオフィームの形成を阻害するという報告があり、*Streptococcus mutans* を対象とした我々の先行研究では、Galβ1-3GalNAc (Core 1 構造) を認識するレクチンがバイオフィームの形成を阻害する傾向を報告した。一方で、陸生植物レクチンと比較して分子量が小さく、抗原性が低く、安定した物性をもつ海藻由来レクチンに近年注目が集まっている。Galβ1-3GalNAc を認識する海藻レクチンを探索した結果、ミル (海松) という緑藻を発見した。ミルレクチンは、*S. mutans* のバイオフィームの形成を阻害し、またヒト由来細胞への安全性および動物に対する単回経口投与における安全性を示すことを過去に報告した。

本研究ではミルレクチンの持続的な安全性を検討する目的で、ラットに対する反復経口投与試験を行った。また、過去の報告では *S. mutans* のみを対象としたが、初期付着への関与が示唆されている他の連鎖球菌種および、口腔内にとどまらずバイオフィーム感染症の原因菌として知られる *Staphylococcus aureus* に対するミルレクチンのバイオフィーム形成阻害効果を検討した。

#### 【材料および方法】

##### 1. ラットに対する反復経口投与試験

6週齢のラットをミルレクチン (400 μg/mL, 1,000 μg/mL) 投与群, 対照 (精製水) 群に分類し、ディスパーザブル胃ゾンデおよびシリンジを用いて、1日に1回試薬を強制的に2 mL/kg 経口投与した。試験期間は28日間として、体重測定を毎日実施した。

投与後28日に静脈血を採取し、剖検を行った。採取した血液から4°C, 4,500回転/分, 20分間の遠心分離によって血清を分離し、肝・腎機能の計7項目について血液生化学試験を実施した。

##### 2. 多菌種に対するバイオフィーム形成阻害効果の検討

*S. salivarius*, *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. aureus* の4菌種を用いた。96穴マイクロプレート上にヒト唾液の上清を固相し、唾液をミルレクチンおよび対照に設定した7種類のレクチン, bovine serum albumin で被覆し、さらに唾液上に培養した各種細菌を播種した。レクチンは希釈用 buffer を用いて100 μg/mL に希釈したものをを用いた。37°C で20時間培養後、クリスタルバイオレットで染色・抽出し、バイオフィームの定量を行った。同時に走査電子顕微鏡 (SEM) で細菌の付着様相と形態を観察した。

#### 【成績および考察】

##### 1. ラットに対する反復経口投与試験

精製水投与群とミルレクチン投与群において、体重変動の差異はなかった。試験期間中、飲水、摂餌の目立った変化、異常行動、活動量の減少といった動態の変化はなかった。剖検時、器官、組織の肉眼的な変化は観察されなかった。血液生化学試験結果として、雌雄別に各検査値を比較したところ、群間に有意差はなかった。

##### 2. 多菌種に対するバイオフィーム形成阻害効果の検討

ミルレクチンは *S. salivarius* および *S. aureus* に対しては、バイオフィームの形成を有意に抑制した。 *S. mitis* および *S. gordonii* に対しては、わずかにバイオフィームの形成を抑制する傾向があったが、有意差はなかった。SEM 画像を観察すると、細菌の付着様相は、計測したバイオフィームの形成量と一致していた。ミルレクチンを作用させた際、細菌の外観は変化させないが、連鎖している菌体数が減少している様相が観察できた。

#### 【考察とまとめ】

ミルレクチンは動物への持続的投与において安全性を示した。また、複数種の細菌に対してバイオフィーム形成阻害効果を示した。ミルレクチンの効果は菌種非特異的ではなく、特異的であることが推察される。今後は各菌種の唾液への付着様式および結合ドメインを考慮して、より詳細な付着抑制機序を解明していく。

## Streptococci 由来 Histone-Like DNA binding Protein の分泌機構と 病原因子としての呼吸器感染症における役割

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 口腔科学部門 臨床歯学系 歯科保存学分野  
○湯本浩通、平尾功治、細川由樹、松尾敬志

### Secretion mechanism of *Streptococcal* Histone-Like DNA binding protein and its pathogenic roles in respiratory infection

Department of Conservative Dentistry, Clinical Dentistry, Oral Science, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima  
University Graduate School

○Hiromichi YUMOTO, Kouji HIRAO, Yuki HOSOKAWA, Takashi MATSUO

#### 【研究目的】

近年、口腔微生物と様々な全身疾患の関連性が報告され、口腔常在菌叢の中でも優勢な Streptococci は、感染性心内膜炎、心臓血管疾患、脳出血、肝臓・脳膿瘍や呼吸器感染症との関与が示唆されている。超高齢化社会を迎えた現在、要介護施設等で感染症が発症・蔓延化し、その治療や予防が大きな社会問題となっており、特に高齢者では、肺炎が死亡原因に占める割合が高く、中でも誤嚥性肺炎がその発症に深く関与している。我々は、これまでに Streptococci 内で高度に保存 (アミノ酸配列で 89-94% の identity) されている Histone-Like DNA binding Protein (HLP) に着目し、その病原性に関してヒト単球でサイトカイン産生を増強する事 (Cellular Microbiology, 2008) や HLP が Streptococci 自身の生存・増殖に必須の蛋白質である事 (Molecular Microbiology, 2008) を報告した。しかし、HLP の分泌メカニズムは明らかとなっていない。最近、グラム陰性菌のみならず陽性菌でも Extracellular Vesicle (eV) の存在が報告され、eV により炎症惹起作用を有する物質が菌体外へ運搬される事も示された (Nat Rev Microbiol, 2015)。そこで本研究では、HLP の分泌における vesicle の関与に加えて、HLP の口腔-咽頭-気道上皮細胞に対する病原性について解析を行った。

#### 【材料および方法】

既に報告した方法 (Cellular Microbiology, 2008) で得た rHLP と抗 HLP 抗体を用いた。

1. HLP の Streptococci 菌体での発現解析: 数種の Streptococci 菌体表層ならびに菌溶解液中の HLP 発現量は、これらを ELISA plate に吸着させた後、抗 HLP 抗体を用いた ELISA 法にて検出した。Positive Control として HLP down-regulated strain を、Negative Control として *E. coli* を用いた。
2. Streptococci biofilm 中の HLP と Vesicle の局在観察: 形成した *Streptococcus intermedius* biofilm 中の HLP と Vesicle の局在を TEM ならびに抗 HLP 抗体を用いた免疫電顕法により観察した。
3. rHLP 刺激によるヒト単球ならびに口腔-咽頭-気道上皮細胞における ICAM-1, IL-8 及び CCL20 発現量の解析: rHLP (0.5-25 µg/ml) で THP-1 細胞やヒト口腔粘膜上皮細胞株 (RT-7)、咽頭上皮細胞株 (Detroit562)、気道上皮細胞株 (NCI-H292) や肺上皮細胞株 (A549) を 24 時間刺激した後、CD54 (ICAM-1), IL-8 や CCL20 発現量を蛍光免疫細胞染色法、FACS ならびに ELISA 法にて解析した。

#### 【結果および考察】

1. Streptococci では菌体内のみでなく、菌体表層にも HLP の発現が確認された。
2. TEM および免疫電顕観察により、菌体外の Vesicle 様構造物表面に抗 HLP 抗体が反応した。
3. rHLP (10 µg/ml) で THP-1 細胞を刺激した場合、蛍光免疫細胞染色と FACS により CD54 の発現増強が観察され、JNK inhibitor (SP600125) によりその発現は部分的に抑制された。また rHLP で口腔-咽頭上皮細胞を刺激した場合、濃度依存的に ICAM-1, IL-8 及び CCL20 の発現増強が認められ、さらに気道-肺上皮細胞を刺激した場合も、濃度依存的に IL-8 及び CCL20 の発現増強が認められた。

これらの結果より、HLP が vesicle により菌体外へ分泌される可能性、さらに HLP は単球や口腔-咽頭-気道上皮細胞に炎症を惹起させることが示唆された。特に CD54 は Rhino virus の Receptor であることから、高齢者では肺炎発症・重症化に関与する可能性も示唆された。

(会員外共同研究者) 弘田克彦、三宅洋一郎 (徳島大学大学院 医歯薬学研究部 口腔微生物学分野)

## 税務署職員における口腔衛生指導(航空自衛隊隊員との比較) 第3報

奥羽大学歯学部口腔衛生学講座<sup>1)</sup>、歯科保存学講座<sup>2)</sup>、薬理学講座<sup>3)</sup>  
○車田文雄<sup>1)</sup>、廣瀬公治<sup>1)</sup>、齋藤高弘<sup>1)</sup>、佐藤穂子<sup>2)</sup>、佐々木重夫<sup>2)</sup>、木村裕一<sup>2)</sup>、長岡正博<sup>3)</sup>

### Oral hygiene guidance for Tax office staff (compared with JASDF staff) III

Dept. Preventive Dentistry and Conservative Dentistry and Pharmacologic Dentistry OHU University  
School of Dentistry

○Fumio KURUMADA, Kimiharu HIROSE, Takahiro SAITOH, Yasuko SATOH, Shigeo SASAKI, Yuichi KIMURA,  
Masahiro NAGAOKA

#### 【 緒 言 】

先の第143回本学会を含め、4年前から当学会にて、職場における集団口腔健康管理の目的で、航空自衛隊第27警戒群大滝根山分屯基地の隊員等の対照群として、同じ国家公務員で勤務定時制である国税局職員の一連の口腔衛生について発表してきた。前々回は、齶蝕活動性試験の相関傾向のデータを基に、各々の歯周病活動性試験の傾向を発表し、前回は、齶蝕誘発性の抑止に関係する歯垢非形成食品に着目して、2職場間の1ヶ月間の昼食データを基に食餌指導を実施した結果について発表した。そこで今回は、ストレス及び疲労に効果があるといわれる3大栄養素の摂取、すなわち「タンパク質・ビタミン・ミネラル」に着目し、若干の知見を得ることができたので、ここに報告する。

#### 【 方法および結果 】

< 予定献立表より >

- ① 航空自衛隊第27警戒群大滝根山分屯基地における献立(某月の昼食)
- ② 福島県内の某税務署における献立(某月の昼食)

上記献立より、土、日、祝日を除く昼食について、食事のバランスにおいては、「タンパク質」を多く含む食品、すなわち、牛肉・豚肉・鶏肉、魚介類、たまご、乳製品、大豆製品等、および「ビタミン」では、B群(豚肉、ごま等)、C群(パセリ、ブロッコリー、ピーマン、イチゴ、レモン等)、E群(植物油、ナッツ類等)、ならびに「ミネラル」では、カルシウム(干しエビ、干し魚、豆腐、乳製品、小松菜、海藻類等)、マグネシウム(海藻類、ナッツ類、ごま、ほうれん草等)により、データを分析した結果、食事のバランスでは、航空自衛隊の方が税務署より釣り合いが取れており、食事自体のメニューの工夫が凝らされていた。タンパク質では、両者共に同等であり、主菜は肉・魚がメインであった。ビタミンでは、特にC群が自衛隊の方が税務署より積極的に摂取されていた。ミネラルにおいては、カルシウム・マグネシウム共に、自衛隊のメニュー方が充実されており、精神を安定させる食材が積極的に取り込まれていた。

#### 【 考察および結論 】

1. タンパク質においては、人のエネルギー源であり、1日の活力を生み出すことより、両者共に積極的に主菜として取り入れられていたことより、ストレス耐性として十分に補給されていることがうかがわれた。
2. ビタミンでは、特にC群は、体内に蓄積できない栄養素のため、不足するとストレスに対する抵抗力が弱まり、自衛隊では訓練により大量に失われる事も危惧され、毎回の食事で税務署より積極的に補給されていたものと考えられる。
3. ミネラルにおいては、カルシウム・マグネシウム共に、自衛隊のメニュー方が充実されており、特にカルシウム摂取においては、毎回必ず牛乳が出されており、乳製品摂取の習慣化がストレス耐性の一助となっていると思われる。
4. すなわち、自衛隊では栄養士の資格の持つ隊員自らが献立を作成し、また調理に携わる隊員への指導が徹底しているために、部隊の食事に対する声の反映につながり、調和の取れた食事内容がうかがわれた。また、メニューが充実されており、生野菜の繊維類および漬け物ならびに咀嚼回数が多い食材摂取での大まかな歯垢除去、また味付けとしての酢の使用で、唾液の中和作用および分泌作用のあるメニューが積極的に取り込まれていたことにより、前回同様、齶蝕活動性の低下につながることを示唆された。