

培養骨髄細胞シートと BMP 含有 FC-HAC スポンジの併用移植による異所性骨形成

北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室
○井上 加菜, 宮治 裕史, 福田 寛恵, 横山 裕之, 田中 佐織, 菅谷 勉, 川浪 雅光

Ectopic Bone Induction by Implantation of Cultured Bone Marrow Cell Sheets and BMP-Loaded FC-HAC Sponges

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

○INOUE Kana, MIYAJI Hirofumi, FUKUDA Hiroe, YOKOYAMA Hiroyuki,
TANAKA Saori, SUGAYA Tsutomu and KAWANAMI Masamitsu

【緒言】

当教室では、線維化アテロコラーゲンと熱変性アテロコラーゲンの複合体である FC-HAC スポンジが、骨再生用スキャフォールドとして有効であることを明らかにしてきた。一方、骨髄間質細胞は多分化能を有する間葉系幹細胞を含んでおり、骨芽細胞をはじめ様々な細胞に分化することが明らかになっている。そこで本研究では、培養骨髄細胞シートを BMP 含有 FC-HAC スポンジと併用して、ラット大腿骨筋間部の結合組織内に移植し、骨新生効果を組織学的に検討した。

【材料および方法】

F344 ラット (雄, 6 週齢) 16 匹の両側大腿骨を摘出後、骨髄を採取し附着性細胞を培養した。細胞がコンフルエントになった後は、アスコルビン酸、 β -グリセロリン酸、デキサメタゾン含有培地で培養し、さらに 3, 5, 7 日目に細胞 (7×10^5 cells/dish) を追加播種して積層させ、10 日目にシート状に剥離した。次に、F344 ラット (雄, 10 週齢) 24 匹の大腿二頭筋間部に移植を行った。移植試料は以下の 4 群とした。(1) Control 群: FC-HAC スポンジ (4%, $4 \times 4 \times 4$ mm, オリンパスステルモ), (2) Cell 群: FC-HAC スポンジに骨髄細胞シートを埋入, (3) BMP 群: FC-HAC スポンジを 100 μ g/ml の BMP 溶液 (rhBMP-2, アステラス製薬) に浸漬, (4) BMP-Cell 群: FC-HAC スポンジを 100 μ g/ml の BMP 溶液に浸漬し、骨髄細胞シートを埋入。移植 4 週後、組織を摘出して通法に従い切片を作製し、H-E 染色後に病理組織学的観察を行った。組織学的計測は新生骨面積および残存スポンジ面積について行い、ANOVA 検定および Kruskal-Wallis 検定を用いて統計学的処理を行った。

【結果と考察】

Control 群では骨形成は認められず、FC-HAC スポンジが残存していた。Cell 群では新生骨形成が認められ、骨梁と骨髄が観察された。骨梁には骨細胞や骨芽細胞が見られ、新生骨の周囲には FC-HAC スポンジが残存している部位も認められた。BMP 群では新生骨形成が見られたが、骨髄は認められなかった。骨梁は骨細胞や骨芽細胞が少なく、残存した FC-HAC スポンジと混在している部位が認められた。BMP-Cell 群では著明な新生骨形成が認められ、骨髄と骨梁が観察された。骨梁には骨細胞や骨芽細胞が見られ、FC-HAC スポンジの残存はほとんど認められなかった。

新生骨面積 (mm^2) は Control 群, Cell 群, BMP 群, BMP-Cell 群において、0.00, 0.05, 0.24, 2.05 で、BMP-Cell 群は他の 3 群より有意に大きかった ($p < 0.05$)。また残存スポンジ面積 (mm^2) は 0.63, 0.13, 0.05, 0.01 で、BMP-Cell 群は Control および Cell 群と比較して有意に少なかった ($p < 0.05$)。

これらの結果から、FC-HAC スポンジに BMP を含有させ骨髄細胞シートを埋入して移植することで、BMP と骨髄細胞の骨形成能により、新生骨形成が促進され多量の骨が形成されたと考えられた。また、この骨形成に伴って FC-HAC スポンジは吸収され骨組織に置換したと考えられた。

【結論】

培養骨髄細胞シートを BMP 含有 FC-HAC スポンジと併用して移植することで、高い骨新生効果が認められた。

FGF-2 刺激による歯根膜細胞からの VEGF の誘導

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)
○児嶋由子、柳田学、柏木陽一郎、小林良平、山下元三、山田聡、北村正博、村上伸也

FGF-2 induces VEGF expression by periodontal ligament cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○Yuko Kojima, Manabu Yanagita, Yoichiro Kashiwagi, Ryohei Kobayashi,
Motozo Yamashita, Satoru Yamada, Masahiro Kitamura, and Shinya Murakami

【目的】

近年、サイトカインや細胞増殖因子を局所応用することにより歯周組織再生を誘導する試みがなされている。当研究室では、FGF-2 の局所投与が有意な歯周組織再生を誘導し得ること、さらに、FGF-2 による細胞増殖促進・細胞外基質産生制御などの微小環境の整備が、その再生促進に寄与している可能性を示してきた。一方、細胞増殖ならびに創傷治癒過程に不可欠である、血管新生に対する FGF-2 の作用の詳細は未だ十分には明らかにされていない。本研究では、当研究室で樹立した培養マウス歯根膜細胞 (MPDL22) に FGF-2 刺激を与えた際の、VEGF (vascular endothelial growth factor) 発現を軸に、歯周組織再生における FGF-2 の血管新生に対する影響について検討した。

【材料及び方法】

- ① 2.5 週齢の BALB/c マウスの下顎大臼歯の歯根表面より採取して得られた細胞を、FGF-2 存在下で限界希釈法にてクローニングすることにより樹立したクローンから、最も Alkaline Phosphatase 活性の高いクローン (MPDL22) を用いた。100ng/ml FGF-2 を添加した 10%FCS 含有 α -MEM 培地にて継代を行った。
- ② 6 cm dish に 5×10^5 個播種した MPDL22 を FCS 非含有 α -MEM 培地にて 24 時間飢餓状態とした。その後 0, 1, 10, 50, 100, 500 (ng/ml) と濃度を振り分けた FGF-2 にて刺激を与え、ELISA にて VEGF の産生量をタンパクレベルで測定した。
- ③ ②と同様の濃度の FGF-2 刺激を与えた MPDL22 において、VEGF の mRNA 発現量を RT-PCR にて検討した。
- ④ MPDL22 における VEGF レセプター (VEGFR)-1, VEGFR-2 の発現を RT-PCR にて検討し、②と同様の FGF-2 刺激下においてこれらの発現量の変化を解析した。

【結果及び考察】

今回の結果から、FGF-2 刺激により血管内皮細胞増殖因子である VEGF がマウス歯根膜細胞から産生されることが明らかとなった。また、マウス歯根膜細胞における VEGF 産生量は、FGF-2 濃度依存的に上昇すること、また、VEGF の mRNA 発現量は FGF-2 刺激後 6 時間で最大値となることが明らかとなった。

FGF-2 による歯周組織再生誘導メカニズムの一端として、FGF-2 は直接的に自身が血管新生を促進しているのみならず、間接的に VEGF の発現を濃度依存的に制御することにより、血管新生を伴う局所環境の整備を促進している可能性が示唆された。

グルタミン酸シグナルによる歯根膜細胞の分化制御

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 (口腔治療学教室)
○藤原千春、山田 聡、田内拓史、梶川哲宏、尾崎亘弘、小澤康宏、村上伸也

Glutamate signaling regulates cytodifferentiation of periodontal ligament cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○ Chiharu Fujihara, Satoru Yamada, Takushi Tauchi, Tetsuhiro Kajikawa, Nobuhiro Ozaki,
Yasuhiro Ozawa and Shinya Murakami

【研究目的】

我々はこれまでに、メカニカルストレスが歯根膜細胞の特性・機能に及ぼす影響を解析するために、メカニカルストレス存在下におけるヒト歯根膜細胞の網羅的遺伝子発現解析を行った。その結果、メカニカルストレスにより、グルタミン酸シグナル関連分子の発現が上昇することを見出している。そこで本研究では、歯根膜細胞におけるグルタミン酸シグナルの機能について詳細な解析を行った。

【材料および方法】

本実験への協力で同意を得た患者から便宜抜歯された歯より、歯根膜細胞を採取、培養し、out-growth してきたヒト歯根膜細胞 (以下 HPDL) を用いた。グルタミン酸溶液 (100 μ M) で HPDL を刺激した際の硬組織形成関連遺伝子 *C-FOS*、*RUNX2*、*ALP* 遺伝子の発現変化を Real-time PCR 解析にて検討した。次に、HPDL を硬組織形成細胞へ分化誘導させた際の HPDL からのグルタミン酸の放出を検討するため、HPDL を石灰化誘導培地 (10% FCS, 50 μ g/ml アスコルビン酸, 10mM β -グリセロリン酸含有 α -MEM) にて 21 日間培養し、培養上清中に放出されるグルタミン酸量を 3 日毎に測定した。さらに、グルタミン酸放出阻害薬 Riluzole あるいはグルタミン酸受容体 (NMDA) 拮抗薬 MK801 存在下で HPDL を硬組織形成細胞へと分化させ、上記薬剤が ALP 活性および石灰化物形成能に及ぼす影響を検討した。さらに、6 週齢の雄 ICR 系マウスの上顎第一臼歯にスプリングを装着し、ダイヤルテンションゲージを用いて 10 g の矯正力を負荷した。矯正力負荷前と負荷後 (12, 24, 72 時間後) において、第一臼歯口蓋根を含む厚さ約 7 μ m の横断切片を作製し、グルタミン酸放出に関与するグルタミン酸小胞体トランスポーター *Vglut1* 遺伝子の発現局在を *in situ* にて検討した。

【結果】

Real-time PCR 解析の結果、HPDL を 100 μ M グルタミン酸溶液で刺激すると *C-FOS*、*RUNX2*、*ALP* 遺伝子の発現が上昇することが明らかとなった。石灰化誘導培地にて HPDL を硬組織形成細胞へ分化誘導させた際、ALP 活性が経日に上昇するに従って、培養 9 日目をピークとして、細胞から放出されるグルタミン酸量が有意に増加することが明らかとなった。Riluzole を用いた解析の結果、HPDL の硬組織形成分化の過程において、Riluzole 存在下では、濃度依存的に ALP 活性が抑制された。さらに、アリザリン染色の結果、培養 24 日目における石灰化物形成も 6.25 μ M 以上の Riluzole 存在下において、対照群と比較して有意に抑制された。また、Real-time PCR 解析の結果、*RUNX2*、*ALP* 遺伝子の mRNA 発現は、培養 12 日目以降、Riluzole の添加により対照群と比較して有意に抑制された。さらに、MK801 の添加により、対照群と比較して、濃度依存的に有意に ALP 活性および石灰化物形成が抑制されることが明らかとなった。*in situ hybridization* の結果、矯正力負荷 12 時間以降、牽引側において *Vglut1* 遺伝子の発現増加を認めた。

【結論および考察】

メカニカルストレスで誘導されるグルタミン酸シグナルは、歯根膜細胞の硬組織形成細胞への分化を正に制御することで、*in vivo* における骨改造と密接に関係している可能性が明らかとなった。

会員外研究協力者

山本 照子 (東北大学 大学院歯学研究科 歯科学専攻 口腔保健発育学講座 顎口腔矯正学分野)

Catechin が IL-17A 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の CCL20 産生に与える影響

¹⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 歯科保存学分野 ²⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔微生物学分野 日本学術振興会特別研究員 PD ³⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔保健支援学分野

○ 細川義隆¹⁾、細川育子²⁾、尾崎和美³⁾、中西正¹⁾、中江英明¹⁾、松尾敬志¹⁾

The effect of catechin on CCL20 production from IL-17A-stimulated human gingival fibroblasts

¹⁾Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School, ²⁾Department of Oral Microbiology, The University of Tokushima Graduate School, JSPS Research Fellow ³⁾Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School

○Yoshitaka Hosokawa¹⁾, Ikuko Hosokawa²⁾, Kazumi Ozaki³⁾, Tadashi Nakanishi¹⁾, Hideaki Nakae¹⁾ Takashi Matsuo¹⁾

【研究目的】

IL-17AはTh17細胞が産生するサイトカインであり、歯周炎病変局所でその発現が報告されている。また、IL-17A刺激によりヒト歯肉線維芽細胞(HGFs)のIL-8産生やICAM-1発現が亢進することも報告されており、IL-17Aが歯周炎の病態に関与していることが示唆されている。CCL20はCCR6をレセプターとするケモカインであり、Th17細胞の遊走に関与していることが明らかとなっている。我々はすでにIL-1βやTNF-α刺激によりHGFsのCCL20産生が亢進することを報告している。しかしながら、IL-17AがHGFsのCCL20産生に関与するかについては不明な点が多い。また、catechinは緑茶に多く含まれるポリフェノールであり、抗酸化作用、抗癌作用、抗炎症作用などがあることが報告されているが、ケモカイン産生に与える影響に関しては報告がなく不明な点が多い。本研究では、IL-17AがHGFsのCCL20産生に与える影響ならびにcatechinがHGFsからのCCL20産生に与える影響に関して検討を行った。

【材料および方法】

HGFsは智歯抜歯時に正常歯肉組織よりout growth法により分離し、10%FBSを含むDMEM培地にて培養し実験に用いた。まず、HGFsのIL-17 receptor発現をflow cytometryを用い解析した。次に、HGFsをIL-17Aで刺激しCCL20産生をELISA法により解析した。さらにcatechinの主な成分であるEpigallocatechin gallate (EGCG)ならびにEpicatechin gallate (ECG)にてHGFsを1時間前処理後IL-17A刺激を行い、CCL20産生をELISA法にて、細胞内シグナル伝達分子のリン酸化をwestern blot法にて解析を行った。また、IL-17A誘導CCL20産生に関与するシグナル伝達経路を解明するためにシグナル伝達阻害物質にて前処理後、IL-17A刺激を行いCCL20産生を確認した。最後に、EGCGおよびECGがIL-17 receptor発現に与える影響をflow cytometryを用い解析した。

【成績】

HGFsはIL-17 receptorを恒常的に発現していた。また、IL-17A刺激は濃度依存的にHGFsのCCL20産生を誘導した。EGCGとECGの前処理によりIL-17Aが誘導したCCL20産生は抑制された。また、IL-17Aが誘導したp38 MAPKならびにERKのリン酸化も抑制された。p38 MAPKおよびERK inhibitorはIL-17Aが誘導したCCL20産生を抑制した。さらに、EGCGおよびECG処理によりHGFsのIL-17 receptor発現は減少した。

【考察および結論】

今回の結果より、HGFsにはIL-17 receptorが機能的に発現し、IL-17A刺激によりCCL20産生が誘導されることが明らかとなった。また、EGCGならびにECGはp38 MAPKならびにERKのシグナル伝達経路を抑制することにより、IL-17Aが誘導したCCL20産生を抑制することが明らかとなった。また、EGCGおよびECG処理がIL-17 receptor発現を抑制することもcatechinによるCCL20産生抑制に関与している事も示唆された。これらの結果より、IL-17Aは歯周炎病変局所へのTh17細胞浸潤に関与していること、ならびに、catechinはHGFsからのCCL20産生を抑制することにより、Th17細胞浸潤を減少させることで、歯周炎治療に用いることが出来る可能性が示唆された。

***Porphyromonas gingivalis* 抗原および IL-6 刺激は血管内皮細胞において
転写因子 Egr-1 を介して MCP-1 の産生を増強する**

新潟大学超域研究機構

○前川知樹, 高橋直紀, 本田朋之, 宮下博考, 多部田康一, 山崎和久

***Porphyromonas gingivalis* antigens and interleukin-6 stimulate the production of monocyte
chemoattractant protein-1 via up-regulation of early growth response-1 transcription in human
coronary artery endothelial cells**

Center for Transdisciplinary Research, Niigata University
Tomoki Maekawa, Naoki Takahashi, Tomoyuki Honda, Hiroataka Miyashita,
Koichi Tabeta, Kazuhisa Yamazaki.

【目的】

歯周炎は局所の歯周組織破壊を引き起こすとともに全身に影響を及ぼすことが知られている。我々はこれまでに歯周病原細菌感染が全身レベルで炎症性サイトカイン Interleukin (IL)-6 や炎症マーカー C-reactive protein を上昇させ、心血管疾患のリスクを高めることを報告した。また、動物実験において口腔内あるいは直接血管内へ歯周病原細菌、特に *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の感染が動脈硬化性プラーク形成に関与するという報告がされている。今回我々は、動脈硬化症の発症、進展に重要な役割を果たしていることが知られている転写因子 Early growth response-1 (Egr-1) に着目し、炎症性サイトカインおよび歯周病原細菌成分がヒト冠状動脈血管内皮細胞に及ぼす影響について検討し、歯周炎の動脈硬化症への関与を明らかにすることとした。

【材料と方法】

ヒト冠状動脈血管内皮細胞 (HCAECs) を、増殖因子 EGM-2MV を添加した EBM-2 培地にて継代培養し実験に供した。HCAECs を 5×10^5 の濃度で 12 穴プレートに播種し、超音波破碎した *P.gingivalis* 381 株および SU63 株 (1-10 $\mu\text{g/ml}$)、IL-6 (1-10 ng/ml) および soluble IL-6 receptor (sIL-6R; 10-100 ng/ml) にて刺激した。Egr-1 および Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の遺伝子発現を real-time PCR 法にて、また Egr-1 のタンパク産生を Western blot 法にて解析した (1 時間刺激後)。また、培養上清中の MCP-1 タンパク産生を ELISA 法により測定した (16 時間刺激後)。MCP-1 産生に及ぼす Egr-1 の影響を検討するため、Egr-1 特異的 siRNA (10 nM) を transfect し、これを knock down した後、HCAECs を同様に刺激し MCP-1 産生を測定した。

【結果・考察】

P. gingivalis 抗原、IL-6/sIL-6R の刺激濃度依存的に Egr-1、MCP-1 遺伝子発現上昇およびタンパク産生の上昇が認められた。Egr-1 発現はその特異的 siRNA により約 80% knock down されたが、その結果、各種刺激による MCP-1 の産生は抑制された。MCP-1 発現は Egr-1 の活性化により制御されていることが知られているが、歯周病原性細菌、炎症性サイトカインは血管内皮細胞の Egr-1 の発現を上昇させることで、動脈硬化病変の形成に関わっている MCP-1 の産生に著明な影響を及ぼしていると考えられる。

【結論】

歯周組織における感染が血管内皮において Egr-1 を介し MCP-1 の産生を上昇させることで動脈硬化を促進させる事が示唆された。

NOD による歯周病原細菌の認識

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科、歯周病学分野

○金子高士、吉村篤利、原 宜興

NOD mediates sensing of periodontal pathogens

Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Takashi Kaneko, Atsutoshi Yoshimura, Yoshitaka Hara

〔目的〕

Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)1 と NOD2 は細胞質内に存在する病原体特異的分子パターン受容体で、感染細菌の細胞壁構成成分のペプチドグリカン (PGN) の断片によって活性化される。NOD の刺激は、転写因子 NF- κ B を活性化することにより、IL-8 などの炎症性サイトカイン産生を誘導する。NOD は多くの細菌感染症において宿主防御に重要であることが報告されているが、歯周病における NOD の役割については明らかではない。そこで本実験では歯周病原細菌の NOD1 および NOD2 活性化能を調べた。

〔材料および方法〕

1. 歯周病原細菌として *Porphyromonas gingivalis*、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*、*Fusobacterium nucleatum*、非歯周病原細菌として *Escherichia coli*、*Aerococcus viridans* を使用した。菌体より PGN を精製後、ムラミダーゼ mutanolysin 処理を行い可溶性 PGN (sPGN) を得た。
2. Human embryo kidney (HEK) 293T 細胞に NOD1 もしくは NOD2 を一過性に発現させ、加熱処理菌体または sPGN で刺激した。NOD1 のリガンドとして L-Ala- γ -D-Glu-meso-diaminopimelic acid (A-iE-DAP) を、NOD2 のリガンドとして muramyl dipeptide (MDP) を使用した。NF- κ B の活性化は luciferase を用いたレポーターアッセイによって測定した。
3. ヒト口腔上皮細胞株 HSC-2 細胞を 1000 U/ml の IFN- γ で 3 日間前処理後、sPGN で 24 時間刺激した。IL-8 の産生量は ELISA で測定した。

〔結果〕

NOD1 もしくは NOD2 を発現させた HEK 細胞を A-iE-DAP もしくは MDP で刺激すると NOD 特異的な NF- κ B の活性化が観察された。HEK/NOD1 細胞は *A. actinomycetemcomitans*、*F. nucleatum* と *E. coli* 菌体刺激により強く活性化されたが、*P. gingivalis* 菌体の活性化能は弱かった。またグラム陽性細菌の *A. viridans* は HEK/NOD1 細胞を活性化することはできなかった。sPGN で刺激しても *P. gingivalis* は他のグラム陰性菌と比較して弱い活性であった。HEK/NOD2 細胞は菌体刺激では *A. actinomycetemcomitans*、*E. coli* によって活性化された。また sPGN で刺激した時、すべての菌種に活性が認められたが、*P. gingivalis* の活性は一番低かった。

HSC-2 細胞は、MDP よりも A-iE-DAP により強く反応し、IL-8 を産生した。歯周病原細菌の sPGN で刺激した場合、*A. actinomycetemcomitans* と *E. coli* に強い活性が認められ、*P. gingivalis* の活性は低かった。

〔考察〕

菌種により PGN の組成が異なり、*P. gingivalis* や *F. nucleatum* は NOD1 の活性化に必須の meso-DAP がそれぞれ L-L-DAP、meso-Lanthionine に置換されていることが報告されている。またステムペプチドの長さも NOD1、NOD2 の活性化に影響を及ぼすことが知られおり、これらが NOD の活性能の相違と関連していると考えられた。今回の実験において *P. gingivalis* は *A. actinomycetemcomitans* や *F. nucleatum* と比較して NOD1、NOD2 を強く活性化できなかったことは *P. gingivalis* の自然免疫からの逃避機構の一つを示しているかもしれない。

会員外共同研究者：奥川剛志 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病学分野)、Neal Silverman (University of Massachusetts medical school, Infectious diseases)

関節リウマチ活動度と歯周疾患重症度との関連性

新潟大学医歯学総合病院歯科総合診療部¹、
新潟大学大学院医歯学総合研究科摂食環境制御学講座歯周診断・再建学分野²

○小林哲夫¹、小松康高²、横山智子²、石田光平²、山本幸司²、吉江弘正²

Association of Rheumatoid Arthritis Activity with Periodontal Disease Severity

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital¹

Div. of Perio., Dept. of Oral Biol. Sci., Niigata Univ. Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci.²

○Tetsuo Kobayashi¹, Yasutaka Komatsu², Tomoko Yokoyama², Kouhei Ishida², Kouji Yamamoto²,
Hiromasa Yoshie²

【研究目的】

関節リウマチ (RA) は本邦での有病率は約1%で、多発性関節破壊を特徴とする自己免疫性疾患である。RA と歯周疾患は病態形成にサイトカインが関与する点で類似していることが示唆されている。我々はこれまでに、RA 患者では歯周炎罹患率が高いこと、RA と歯周炎の双方に罹患する場合には特異的なサイトカイン遺伝子多型分布が認められることを報告した (*J Periodontol* 2007, 2009)。そこで今回は、RA 活動度と歯周疾患重症度および血清サイトカインレベルとの関連性について検討した。

【材料および方法】

新潟県立リウマチセンター外来を受診され、米国リウマチ協会の基準により診断された RA 患者 84 名 (男性 10 名、女性 74 名)、および健常者 22 名 (男性 4 名、女性 18 名) を対象とした。新潟大学歯学部および新潟県立リウマチセンター倫理委員会の承認のもとインフォームド・コンセントが得られた被験者を対象に歯周組織検査を行った。その後、末梢血を採取し血清を分離後、ELISA 法にて IL-1b, IL-6, IL-12p40, IL-12, IL-18, TNF- α , CRP の濃度を測定した。また、RA 活動度の指標として Disease Activity Score (DAS28) を算定し、低活動度群 (DAS28<3.2)、中活動度群 (3.2 ≤ DAS28 < 5.1)、高活動度群 (5.1 ≤ DAS28) の 3 群に分類した。

【結果】

- 1) RA 患者では健常者と比べて、血清中の IL-6, IL-12p40, IL-18, TNF- α , CRP の濃度はいずれも有意に高かった。しかしながら、IL-1b, IL-12 の濃度は検出限界未満であった。
- 2) RA 患者 84 名のうち、低活動度群は 28 名、中活動度群は 48 名、高活動度群は 8 名であった。これらの 3 群間において、プラークスコア、喫煙率、歯周検査項目 (PD, CAL, BOP など) はいずれも有意差が認められなかった。
- 3) RA 活動度 3 群間において血清中の IL-6, IL-18, TNF- α , CRP の濃度はそれぞれ有意差が認められ、DAS28 とも統計学的に有意な正の相関が見られた。

【考察および結論】

本研究でも RA 患者の歯周炎罹患率は 87% と非常に高く、RA と歯周炎の関連性が再確認された。RA 活動度は血清 IL-6, IL-18, TNF- α , CRP レベル に影響を受けているものの、今回の断面的調査では歯周組織の炎症・破壊指標とは関連していないことが示唆された。RA 患者には、ステロイド剤、抗リウマチ薬、非ステロイド性抗炎症薬、生物学的製剤などを組み合わせて使用している。これらの薬物療法は血清炎症マーカーおよびサイトカインレベルを抑制することから歯周組織の炎症・破壊レベルにも影響していることが考えられる。

謝辞：本研究の遂行にあたり御支援・御協力いただきました、新潟県立リウマチセンター村澤 章博士、および阿部麻美博士に深謝いたします。

咬合面ベニアあるいは接着アンレーによる審美的な咬合再建を図った症例 —MI の理念に基づいた Tooth Wear への介入—

愛知学院大学歯学部保存修復学講座 * 愛知学院大学歯学部有床義歯学講座
○劉 利恵、長谷川信洋*、河合利浩、佐藤かおり、富士谷盛興、千田 彰

A Case of Occlusal Veneers and Non-retentive Adhesion Onlays: Minimally Invasive Approach to Tooth Wear

Department of Operative Dentistry, Aichi Gakuin University

* Department of Removable Prosthodontics, Aichi Gakuin University

○RYU Toshie, HASEGAWA Nobuhiro*, KAWAI Toshihiro, SATOH Kaori

FUJITANI Morioki, SENDA Akira

【緒言】

近年、う蝕以外の歯の硬組織疾患として Tooth Wear が注目されている。これらには咬耗症、摩耗症、侵蝕症（酸蝕症）ならびにこれらに合併するくさび状欠損と象牙質知覚過敏症などがある。これらへの対応は急務であるが、対処法は十分確立されてはいない。今回演者らは、習慣性嘔吐の既往があり、かつ健康のためドリンク酢を常飲していた患者に発生した Tooth Wear に対して、MI の理念に基づいて介入した症例を報告する。

【症例の概要】

32 歳女性。咬み合わせの精査のため来院した。心療内科に通院しており、睡眠薬、抗うつ薬および抗不安薬を処方されていた。口腔内は習慣性の嘔吐とドリンク酢の常飲により、全顎にわたる重度の侵蝕を呈しており、上顎前歯部口蓋側および上下顎臼歯部咬合面に軽度の冷水痛を認めた。さらに咬合高径の低下によると思われる顎関節部の疼痛を認めた。

【治療方針】

応急的な処置として、冷水痛を訴えた部位には知覚過敏処置を施し、顎関節痛に対しては咬合挙上副子を用いて咬合挙上を図り、さらに食生活習慣の指導を行った。それにより知覚過敏の症状は軽減し、顎関節痛の緩和を認めた。またドリンク酢の飲用は中止された。当初の当院補綴科初診担当者による治療計画では、全歯抜髄後に全部被覆冠により補綴を行う予定であったが、応急処置により症状が緩和されたこともあり、患者が歯髄保存を強く希望したため、治療方針を再考した。その結果、コンポジットレジンを用いた咬合面ベニア、あるいは接着アンレーにより侵蝕部を修復することで咬合再建を図ることとした。

【治療経過ならびに考察】

研究用模型を調製した後、一般的な咬合高径を参考にしてインレーワックスで咬合面形態を再現しながら 6mm 程度咬合を挙上した。次いで、透明シリコン印象材（メモジル 2, Heraeus）にて咬合面形態を印象し、付形子を作製した。模型に分離材（ラバーセップ, Kerr）を塗布後、付形子を模型に戻しフロアブルコンポジットレジン（MI フロー、ジーシー）を注入した。調製された咬合面ベニア、あるいは接着アンレーは、接着性レジンセメント（リンクマックス、ジーシー）で装着された。

装着後、約 1 週間経過後に研磨と咬合の確認を行った。約 3 週間後に一部に破折を認めたため補修修復を行ったが、現在のところ経過は良好であり、患者の満足度は高い。

今回全顎にわたる Tooth Wear に対し、咬合面ベニア、あるいは接着アンレーにより、歯質をほとんど切削することなく咬合再建を行った。本治療法はコンポジットレジンを使用しているため、咬合高径を変化させたいときはレジンの添加や削除で容易に対応でき、破折などの事故がおこっても補修修復で対応できるなどメリットがあり、かつ審美的な回復も期待できる。

本治療法は口腔内の様々な被着面（金属、セラミックなど）に応じた接着を駆使することで実現できたものである。したがって、全部被覆冠により咬合再建を図る従前の方法と比べて、MI の理念に基づいた審美的な咬合再建を行うことができたので、この満足度が患者の QOL の向上を含めた質の高い全人的治療につながったものと考えられる。

【結論】

Tooth Wear において、コンポジットレジンを用いた接着を駆使した咬合面ベニア、あるいは接着アンレーによる咬合再建は、極めて歯質保存的であり、かつ審美性も兼ね備えた有用な対処法であることが判明した。

超音波振動チップによる髓室開拓から根管形成そして洗滌について

1) 日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座¹⁾

2) 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²⁾

○明石俊和 鶴町 保 小木曾文内

Evaluatino of an ultrasonic technique for access cavity preparation ,shaping and cleaning

Department of Endodontics Nihon University School of Dentistry¹⁾

Divisions of Advanced Dental Treatment Nihon University School of Dentistry²⁾

○Toshikazu Akashi Tamotu Turumachi Bunnani Ogiso

【はじめに】

根管治療を安全に安心して、そして、効率よく行うには髓室開拓から根管形成にいたる操作を簡素化することである。そのために、現在では手用切削器具による根管拡大法に換わる回転駆動装置や超音波振動切削を使用している器械的根管拡大法が活用されている。

回転駆動装置による根管形成は1) 随時太い切削ファイルに交換しなければならない2) 根管拡大時には根管洗浄効果が発揮できない3) 手用根管拡大法より切削ファイルが破折しやすいなど診療の効率化と安全性や安心感を得るには十分ではない。とくにニッケルチタンファイルによる根管形成法は手用ステンレスファイルと異なり破折の前兆である伸びや捻れの刃部変形が現れず突如、破折するため、製造メーカーでは使用頻度を規定し破折防止の対策法は行っているが、安全に安心して使用できるまでには到達していない。

一方、超音波振動装置による根管拡大法は切削チップが歯質に接触するとその部位の歯質の粉碎・破壊が起こり根管形成が行える。また、切削チップの振動によりキャビテーションが起こり、その衝撃波により根管内の洗滌・清掃が行えるので、歯質切削と根管系の清掃・洗滌そして根管内汚物の除去が同時に行える特長を持っている。

すなわち、超音波振動による根管形成は1) 髓腔開拓、髓角部、側壁除去、根管口明示2) 根管拡大・形成3) 根管内汚物、根管充填物除去4) 破折ファイル除去5) スメアー層除去などに幅広く使用できる。また、根管拡大・形成時の超音波チップは象牙質を破砕して拡大するため1種類、1本で行えるなどの利点もある。そこで超音波振動装置による根管形成法をシステム化するための以下の項目について検討したので報告する。

A) 超音波チップによる根管形成法

- | | |
|-----------------------|--------------------------|
| 1) 髓室開拓と髓角部、側壁除去 | 2) 根管口明示、ストレートラインアクセスの確保 |
| 3) 根管探索と作業長の決定 | 4) 根管の開通性と先導溝形成 |
| 5) 根管口上部 1/3 の根管拡大・形成 | 6) 根中央部 1/3 の根管拡大・形成 |
| 7) 根尖部 1/3 の根管拡大・形成 | 8) アピカルシートの付与、 |

B) 超音波チップによる根管清掃・洗浄法

- | | |
|------------------|------------|
| 1) 根管内汚物、根管充填物除去 | 2) スメアー層除去 |
| 3) 破折ファイル除去 | |

【結果および考察】

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| 1) 髓室開拓、髓角部除去が可能 | 2) 根管口の漏斗状拡大が可能 |
| 2) 根管口上部 1/3 の根管拡大・形成が可能 | 3) 根中央部 1/3 の根管拡大・形成が可能 |
| 4) 根尖部 1/3 の根管拡大・形成が可能 | 5) 根管洗浄が可能 |
| 6) 破折ファイル除去が可能 | |

振動している超音波チップが歯質に接触すれば象牙質が削除されるとともに超音波振動によるキャビテーション作用に加え、攪拌、叩き出し作用により根管系の洗滌・清掃効果が発揮される2面性有している。これは今までの根管拡大法にない特徴であり、今後増加する再根管治療の症例には期待する装置になる可能性がある。

【結 論】

超音波振動装置と超音波チップの使用により髓室開拓から根管形成そして根管洗浄等の操作が可能である。

中学生の顎下部蜂窩織炎と成人の外歯瘻を伴う下顎骨髄炎の比較

岡山大学病院歯周科¹, 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野², 内藤歯科医院³

○内藤仁美^{1,3}, 成石浩司¹, 峯柴淳二², 前田博史², 高柴正悟²

Comparative Case Study between Submandibular Phlegmon and Mandibular Osteomyelitis with Odontogenic Cutaneous Fistula

¹Department of Periodontics & Endodontics, Okayama University Hospital, ²Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ³Naito Dental Clinic

○Hitomi Naito^{1,3}, Koji Naruishi¹, Junji Mineshiba², Hiroshi Maeda², Shogo Takashiba²

【緒言】

歯科臨床の場合には、抜髄・感染根管治療中に歯根尖部の炎症が根尖周囲に波及し急性化をきたす場合にしばしば遭遇する。しかしながら、根管治療後の“チェアーサイド”において、急激に発熱などの激しい全身性急性症状を呈することは稀である。最近、我々は抜髄処置直後に入院下での全身管理を余儀なくされた全身性急性症状をきたした症例を経験した。今回、本臨床セッションの中で、下顎骨骨髄炎によって全身症状を呈した患者症例を併せて提示して比較することで、根管治療によって誘発される全身症状との関連性と年齢による違いを考察する。

【症例 1】

【患者】14歳の女性。2008年の学校検診で47のう蝕を指摘され、近医で覆随を含む修復処置を受けた。その後、咬合時に違和感を自覚していたが放置していた。約半年後、同歯に自発痛が生じたため加療を希望して当院を受診した。【既往歴】特記事項なし 【初診時現症】口腔外所見：右側顎下リンパ節の腫脹および圧痛がある。発熱はない。口腔内所見：47に打診痛がある。X線写真所見：47の歯髄腔内にセメント様不透過像がある。同歯の根尖部は不明瞭であり、根尖は閉鎖していない可能性がある。【歯科臨床診断】47部の急性化膿性歯髄炎 【治療経過】局所浸潤麻酔下（エピネフリン含有塩酸リドカイン液4.0ml）で抜髄処置を行った。年齢の割に根管は細く、治療中、根管内出血がなかった。抜髄完了後、仮封処置時に顎および手の震えが出始めたため、ベンゾジアゼピン系精神安定剤（5.0mg）を筋肉注射し、いったん震えは治まったが、血圧・脈拍・体温の上昇や顔面右半側の腫脹・開口障害が生じたため（蜂窩織炎と診断）、急遽、本院小児科に全身管理を依頼した（小児科ではセフェム系抗菌剤を静注、1週間の入院措置となった）。【入院時の経過】入院後2日間にわたって39°Cを超える発熱を生じた。CRP値：6.19（1日目）、1.98（2日目）、0.57（5日目）と推移した。当科においては、抜髄2日後に根管内の精査を行ったところ、綿栓に軽度の出血と漿液性の膿が付着していた。なお、根管内細菌検査において複数の嫌気性菌を検出した。【退院後の経過】全身状態に何ら問題はない。約1ヵ月後、同歯の炎症症状が消退したため、水酸化カルシウム製剤を用いて仮根管充填を行った。

【症例 2】

【患者】53歳の男性。18年前に近医にて35の感染根管治療を受けた。以後、良好に経過していたが、2008年6月に同部に自発痛を感じたため、同院にて再根管治療を受けた。しかし約3ヵ月後、左側顎下部が腫脹しはじめ、数日後には同部の腫脹・鈍痛に加えて発熱症状も現れたため、加療を希望して当科を受診した（紹介状持参）。【既往歴】特記事項なし 【初診時現症】口腔外所見：左側顎下部に外歯瘻が存在する。口腔内所見：35の頬側根尖部の圧痛はあるが、根管からの排膿はない（根管は開放状態であった）。頬側中央部に8mmの歯周ポケットが存在するが、根尖性歯周炎領域との交通はない。X線所見：35の根尖下方に辺縁不整な透過像が存在する。さらに、CT画像では下顎骨体部に骨欠損型を示す領域がある。【歯科臨床診断】35の根尖性歯周炎（歯根破折も関連）に起因する下顎骨骨髄炎 【治療経過】セフェム系抗菌薬の内服および静脈投与によって、2日後に同部の急性症状は消退した。その後、通法どおり感染根管治療を行った後、骨髄炎の緩解を確認した後（6ヵ月間、仮根管充填で経過観察後）、根管充填を行った。現在、同部の炎症症状は消失し、経過良好であるので補綴治療を進行中である。

【考察】

今回、根管内の感染源が起因となって激しい急性症状をきたした症例を提示した。症例1では、急性歯髄炎に対する抜髄処置直後に蜂窩織炎を発症し、入院を要するほどの激しい急性症状を呈したことを鑑みて、とりわけ若年者は、根管内に限局した感染源であっても、時として激しい全身症状をきたす可能性があることが示唆された。症例2は、比較的、頻りに臨床の場合で遭遇する事例であると考えられるが、成人以降の骨密度が高くなった年齢で持続感染による慢性根尖性歯周炎の場合には、骨髄炎あるいは外歯瘻といった病態をきたしやすいのかもしれない。このように、骨の緻密度に関連する年齢や生体の応答性を考慮した根管処置が必要であることを再認識した。