

北海道医療大学歯学雑誌

The Dental Journal of Health Sciences University of Hokkaido

北 医 療 大 歯 誌
第30巻 第1号 平成23年6月
目 次

〔総説〕

- 1 ナノ表面制御によるチタンインプラントの最適化
会田 英紀, 河野 舞, 豊下 祥史, 小川 隆広, 越野 寿 (1)
9 レーザースペックル血流計による血流動態のイメージング解析
新岡 丈治, 石井 久淑, 和泉 博之 (9)
23 A Short Review of Bangladesh Dentistry
Mohammad Ali Akbor Polam and Takashi Saito (23)

〔原著〕

- 29 胎生期および生後マウス下顎軟骨におけるtenascin-C, fibronectinの免疫組織化学的研究
柴田 俊一, 佐藤 麗, 田巻 玉器, 小原 伸子, 鈴木 裕子 (29)
37 3次元有限要素法によるインプラント傾斜埋入下顎骨モデルの応力解析
仲井 太心, 遠藤 一彦, 中山 英二, 広瀬由紀人, 越智 守生 (37)
45 国家試験合格サポートプログラムの開発と検証
角館 直樹, 千葉 逸朗 (45)

〔症例報告〕

- 51 骨移植後の顎裂部に歯の移植を行った長期観察2症例
村井 茂, 松沢 史宏, 飯嶋 雅弘, 石野 善男, 村井かおる, 甲田 尚央, 伊藤 麻衣,
上地 潤, 六車 武史, 林 一夫, 中垣 晋, 溝口 到 (51)

〔学位論文〕

- 57 口腔扁平上皮癌細胞に対するmTOR阻害剤の抗腫瘍効果に関する研究
植村 太輔 (57)
60 三次元Procrustes法に基づく日本人歯列弓の平均的三次元形態と主成分分析
齋藤 貞政 (60)
62 口腔領域由来上皮細胞におけるDrosomycin-like Defensinの発現解析
佐藤 悅 (62)
64 ラットにおける咀嚼動態の変化に伴う酸化ストレス誘導に関する研究
鈴木 裕仁 (64)
66 歯科インプラント治療における顎骨の変化に関するX線学的検討
高橋 耕一 (66)
68 ストレス関連内分泌介在物質が β ディフェンシン発現変化に及ぼす影響に関する研究
高藤美帆子 (68)
70 フィチン酸含有仮着・合着用セメントの開発
館山 元一 (70)
73 インプラント周囲炎インプラントと健康なインプラント周囲における細菌叢の比較と検討
田村 直 (73)
76 3次元有限要素法によるインプラント傾斜埋入モデルの下顎骨の構築と応力解析
仲井 太心 (76)
78 糖尿病関連分子によるヒト β ディフェンシン発現の変化について
畠山 翔太 (78)
80 FGF-2 が歯根膜細胞群中STRO-1 $^{+}$ /CD146 $^{+}$ 細胞の増殖と分化能に与える影響
日高 竜宏 (80)

〔歯学情報〕

- 82 最近のトピックス (82)
93 北海道医療大学歯学会第29回学術大会 一般講演抄録 (93)
105 会務報告 (105)
109 北海道医療大学歯学会会則 (109)
111 北海道医療大学歯学雑誌 投稿規程 (111)
118 編集後記 (118)

北海道医療大学歯学会役員

会長　和泉 博之
専務理事　越智守生
常任理事　千葉 逸朗・安彦 善裕 (庶務担当)
　　　　　中澤 太・遠藤 一彦 (会計担当)
　　　　　和泉 博之・古市 保志・坂倉 康則 (編集担当)
　　　　　越野 寿・柴田 俊一 (企画担当)
監事　橋本 昇・東城 庸介

Editorial Board

Editor-in-Chief : Hiroshi IZUMI
Members : Morio OCHI, Takashi SAITOU, Takanori SHIBATA,
Taishin TAKUMA, Yosuke TOJYO, Itaru MIZOGUCHI

The Dental Society of Health Sciences University of Hokkaido

President : Hiroshi IZUMI
Vice President : Morio OCHI
Auditors : Noboru HASHIMOTO, Yousuke TOJYO
Directors : Kazuhiko ENDO, Futoshi NAKAZAWA, Yasushi FURUICHI,
　　　　　Hisashi KOSHINO, Yasunori SAKAKURA, Shunichi SHIBATA,
　　　　　Itsuo CHIBA, Yoshihiro ABIKO, Hiroshi IZUMI

Address of Office

c/o Health Sciences University of Hokkaido, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293, Japan

Address of Editorial Board

Hiroshi IZUMI
Division of Physiology, Department of Oral Biology, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido,
Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293, Japan
E-mail:izumih@hoku-iryo-u.ac.jp
Phone: +81 133-23-1239; Fax: +81 133-23-1402

北海道医療大学歯学雑誌
第30巻 第1号 平成23年6月
目 次

〔総説〕

- 1 ナノ表面制御によるチタンインプラントの最適化
会田 英紀, 河野 舞, 豊下 祥史, 小川 隆広, 越野 寿 (1)
9 レーザースペックル血流計による血流動態のイメージング解析
新岡 丈治, 石井 久淑, 和泉 博之 (9)
23 A Short Review of Bangladesh Dentistry
Mohammad Ali Akbor Polan and Takashi Saito (23)

〔原著〕

- 29 胎生期および生後マウス下顎頭軟骨におけるtenascin-C, fibronectinの免疫組織化学的研究
柴田 俊一, 佐藤 麗, 田巻 玉器, 小原 伸子, 鈴木 裕子 (29)
37 3次元有限要素法によるインプラント傾斜埋入下顎骨モデルの応力解析
仲井 太心, 遠藤 一彦, 中山 英二, 広瀬由紀人, 越智 守生 (37)
45 国家試験合格サポートプログラムの開発と検証
角館 直樹, 千葉 逸朗 (45)

〔症例報告〕

- 51 骨移植後の顎裂部に歯の移植を行った長期観察2症例
村井 茂, 松沢 史宏, 飯嶋 雅弘, 石野 善男, 村井かおる, 甲田 尚央, 伊藤 麻衣,
上地 潤, 六車 武史, 林 一夫, 中垣 晋, 溝口 到 (51)

〔学位論文〕

- 57 口腔扁平上皮癌細胞に対するmTOR阻害剤の抗腫瘍効果に関する研究
植村 太輔 (57)
60 三次元Procrustes法に基づく日本人歯列弓の平均的三次元形態と主成分分析
齋藤 貞政 (60)
62 口腔領域由来上皮細胞におけるDrosomycin-like Defensinの発現解析
佐藤 悅 (62)
64 ラットにおける咀嚼動態の変化に伴う酸化ストレス誘導に関する研究
鈴木 裕仁 (64)
66 歯科インプラント治療における顎骨の変化に関するX線学的検討
高橋 耕一 (66)
68 ストレス関連内分泌介在物質が β ディフェンシン発現変化に及ぼす影響に関する研究
高藤美帆子 (68)
70 フィチン酸含有仮着・合着用セメントの開発
館山 元一 (70)
73 インプラント周囲炎インプラントと健康なインプラント周囲における細菌叢の比較と検討
田村 直 (73)
76 3次元有限要素法によるインプラント傾斜埋入モデルの下顎骨の構築と応力解析
仲井 太心 (76)
78 糖尿病関連分子によるヒト β ディフェンシン発現の変化について
畠山 翔太 (78)
80 FGF-2が歯根膜細胞群中STRO-1⁺/CD146⁺細胞の増殖と分化能に与える影響
日高 竜宏 (80)

〔歯学情報〕

- 82 最近のトピックス (82)
93 北海道医療大学歯学会第29回学術大会 一般講演抄録 (93)
105 会務報告 (105)
109 北海道医療大学歯学会会則 (109)
111 北海道医療大学歯学雑誌 投稿規程 (111)
118 編集後記 (118)

The Dental Journal of Health Sciences University of Hokkaido
VOL. 30, NO. 1, JUNE, 2011
CONTENTS

REVIEW

- 1 **Nanoscale surface modification of titanium implants**
 Hideki AITA, Mai KONO, Yoshifumi TOYOSHITA, Takahiro OGAWA and Hisashi KOSHINO (1)
9 **Imaging analysis of blood flow distribution with laser speckle flowmeter**
 Takeharu NIOKA, Hisayoshi ISHII and Hiroshi IZUMI (9)
23 **A Short Review of Bangladesh Dentistry**
 Mohammad Ali Akbor Polan and Takashi Saito (23)

ORIGINAL

- 29 **An immunohistochemical study of tenascin-C and fibronectin in mandibular condylar cartilage of fetal and postnatal mice**
 Shunichi SHIBATA, Rei SATO, Tamaki YOKOHAMA-TAMAKI, Nobuko OBARA, Yuko SUZUKI (29)
37 **Analysis of FE mandible model with some tilted-implants by 3D-FEM**
 Taishin NAKAI, Kazuhiko ENDO, Eiji NAKAYAMA, Yukito HIROSE, Morio OCHI (37)
45 **Support Program for National Dentistry Examination**
 Naoki KAKUDATE, Itsuo CHIBA (45)

CLINICAL REPORT

- 51 **Two cases with long-term observation of tooth transplantation into the bone-grafted alveolar cleft.**
 Sigeru MURAI, Fumihiro MATSUZAWA, Masahiro IJIMA, Yoshio ISHINO, Kaoru MURAI,
 Naohisa KOHDA, Mai ITO, Jun UECHI, Takeshi MUGURUMA, Kazuo HAYASHI, Susumu NAKAGAKI,
 Itaru MIZOGUCHI (51)

ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION

- 57 **A study on the anti-tumor effects of mTOR inhibitor in oral squamous cell carcinoma cells**
 Taisuke UEMURA (57)
60 **Three-dimensional average shapes and principal component analysis about Japanese dental arches based on the three-dimensional Procrustes method**
 Sadamasa SAITO (60)
62 **Differential expression of Drosomycin-like Defensin in Human Oral Cells**
 Jun SATO (62)
64 **Research for Derivation of Oxidative Stress with Changes of Mastication Dynamic Stage in Rats**
 Hiroyuki SUZUKI (64)
66 **Radiographic Analysis of Alteration of Bone Levels in Implant Procedures**
 Koichi TAKAHASHI (66)
68 **Effect of corticosteroid and noradrenaline on beta-defensins expression stimulated with Toll-like receptors agonists**
 Mihoko TAKAFUJI (68)
70 **Development of temporary and luting cements containing phytic acid**
 Genichi TATEYAMA (70)
73 **Comparison of Bacterial Flora in Peri-implantitis and Healthy implant sulcus**
 Naoki TAMURA (73)
76 **Analysis of FEA mandible model with some tilted-implants by 3D-FEM**
 Taishin NAKAI (76)
78 **Effect of diabetes-related molecules on expression of beta-defensins**
 Shota HATAKEYAMA (78)
80 **The effect of FGF-2 on proliferation and differentiation potentials of STRO-1⁺/CD146⁺ cells in human periodontal ligament**
 Tatsuhiro HIDAKA (80)

DENTAL INFORMATION

- 82 **Recent topics** (82)

〔総説〕

ナノ表面制御によるチタンインプラントの最適化

会田 英紀^{1,2)}, 河野 舞¹⁾, 豊下 祥史¹⁾, 小川 隆広²⁾, 越野 寿¹⁾

1) 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系咬合再建補綴学分野

2) UCLA歯学部, Jane and Jerry Weintraub再生生体工学センター, アドバンスド歯科補綴学, 生体材料, 病院歯科部門, 骨・インプラントサイエンス研究チーム (LBIS)

Nanoscale surface modification of titanium implants

Hideki AITA^{1,2)}, Mai KONO¹⁾, Yoshifumi TOYOSHITA¹⁾, Takahiro OGAWA²⁾ and Hisashi KOSHINO¹⁾

1) Division of Occlusion and Removable Prosthodontics, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

2) Laboratory for Bone and Implant Sciences (LBIS), The Jane and Jerry Weintraub Center for Reconstructive Biotechnology, Division of Advanced Prosthodontics, Biomaterials and Hospital Dentistry, UCLA School of Dentistry

Abstract

This article reviews the currently available nanotechnology both at experimental and therapeutic levels with a view to clinical implications and application in implant dentistry, particularly involving pre-implant regenerative therapy as represented by bone augmentation and guided bone regeneration, and also the placement of implants. The review focuses on nanotechnology-driven surface modification of dental implants. Nanotechnology appears to offer the potential to improve biological responses. A few dental implant products with nano-scale surface features are commercially available. However, it would be immature to claim success for developing these nanotechnology-based products before completing a biological and topographical characterization, control and optimization of the surfaces. As a candidate for addressing this, this article introduces a novel nanonodular structuring of titanium. We created a biomimetic micro-to-nanoscale hierarchy topography of TiO₂ by applying a recently reported nanonodular self-assembly technique on acid-etch-created micropit titanium surfaces. The size of the nanonodules could be controlled by varying the assembly time. The micro-to-nanoscale hierarchical structured surfaces were proven to enhance, markedly, the strength of bone-titanium integration compared to microstructured surfaces without these nanonodules. We also demonstrated that biological effects were most pronounced when the nanonodules were optimized to a diameter of 300nm within the micropits both *in vitro* and *in vivo*. In conclusion, an initial step towards implementing nanotechnology has been successfully launched to show its potential to improve current implant dentistry, however further studies are required to assure the benefit and credibility to advance current therapeutic concepts and to overcome current challenges in the field.

Key words :チタンインプラント, ナノテクノロジー, 表面改質, 生体活性, オッセオインテグレーション

目 次

1. 緒言	3.1. 背景
2. ナノテクノロジーの医療分野への応用	3.2. ナノスケールでの表面改質の試み
3. ナノテクノロジーのインプラント表面改質への応用	3.3. ナノ表面制御技術によるナノ構造体の最適化
	4. 結論

受付：平成23年3月30日

緒 言

口腔インプラントは口腔の形態と機能を再構築し、さらにその状態を維持していく上で有効な治療戦略のひとつであり、年々その需要は高まっている。オッセオインテグレーテッドインプラントは、Bränemarkらの機械加工により仕上げられた滑沢な表面をもつ純チタン機械研磨面に始まり (Bränemark et al., 1969)，その後、治療術式の進歩と様々な表面改質に支えられて、一定の予知性を示す臨床エビデンスが蓄積されてきた。しかしながら、インプラント治療の適応には一定の制約があり、適応と判断された症例に対する成功率は90–95%であると報告されている (Pye et al., 2009)。ここで議論すべきことは、現在報告されている成功率を算出するための母集団は、一定の適応を満たした歯列欠損を有する患者群であり、インプラント治療を希望するすべての患者ではないということである。一方で、オッセオインテグレーションの質を評価する代表的なパラメータのひとつである骨–インプラント接触率に注目してみても、その値は経時に増加していくものの、そのまま増加し続けることはなく一定期間後にプラトーに達する。現在臨床応用されているチタンインプラントの骨–インプラント接触率の値は平均で45–70%の範囲である (Buser et al., 1991; Weinlaender et al., 1992; Berglundh et al., 2007; De Maeztu et al., 2008)。インプラントの脱落症例では、インプラント界面でのオッセオインテグレーションが失われていることから、インプラントが口腔内で長期的に安定して機能を営むためには、この骨–インプラント接触率は少しでも100%に近づくことが理想であると考えられる。そこで今後、適応症の拡大ならびに治癒期間のさらなる短縮など患者主導型のインプラント治療を実践し、口腔関連QoLのさらなる向上を目指していくうえで、より高いオッセオインテグレーション能をもつ次世代インプラントの開発は必要不可欠であると考える。

本レビューでは、生命科学分野への応用が期待されているナノテクノロジーに注目し、現在公表されているナノテクノロジーのうち、特にインプラント表面改質に応用可能であるもの、あるいはその潜在性をもつものを紹介する。その中でナノスケールの表面性状を有すると謳っているデンタルインプラントの製品に対してのレビューも交えながら、その生物学的活性について従来のインプラント表面との比較検討を行う。最後にわれわれが発明した新規ナノ表面制御テクノロジーについて解説し、ナノスケールで最適化された表面微細構造を有するチタンインプラントのすぐれた骨芽細胞親和性ならびに

骨親和性についても紹介する。

ナノテクノロジーの医療分野への応用

ナノテクノロジーと生命科学を融合させて、高度の医療を実現しようとする基礎と臨床にまたがる研究分野をナノメディシンと呼ぶようになって久しい。ナノメディシンとは、物質をナノスケールすなわち原子や分子レベルで自在に制御することにより、1) バイオチップなどのナノバイオデバイスおよび量子ドット (Quantum dot) を用いた生体イメージング技術に代表される診断技術への応用、2) ドラッガーデザイン、薬物送達システム (Drug delivery system (DDS)) および再生医療を目指した新規バイオマテリアルの開発に代表される治療技術への応用を目指す学問領域である。ナノスケールで物質を観察し、制御することによって初めて発見されたナノ固有の現象や材料特性が報告されていることから、ナノテクノロジーが生命科学にブレークスルーをもたらすことが大きく期待されている。

分子生物学という観点から、すべての生命現象は分子レベルのスケールで動作するシステム活動の結果と考えることができ、生体内では分子認識と分子認識に基づくセルフアッセンブリが多数、随所に起こり、それらが統合されて個体としての生命活動を営んでいる。このことは、インプラント歯科学において最も重要な生体反応であるオッセオインテグレーションについても例外なくあてはまるものであるから、インプラント埋入前の遺伝子診断、メインテナンス中のナノバイオモニタリング、オッセオインテグレーションの早期獲得を目指した新規バイオマテリアルの開発およびインプラント周囲炎の治療を目指した創薬ならびにDDSの開発にナノテクノロジーを導入することはきわめて有効であると考える。

ナノテクノロジーのインプラント表面改質への応用

3.1. 背景

オッセオインテグレーションとは、純チタン表面に光学顕微鏡レベルで、線維性組織を介在することなしに骨が直接接触した状態と定義されている。骨内にインプラントが埋入されると、埋入部位では創傷の治癒過程で新生骨が形成される。われわれは、骨–インプラント界面では、周囲の正常な海綿骨領域と比べて有意に高い骨分布密度を示すこと (Ogawa and Nishimura, 2003)，酸処理チタン表面の新生骨は、周囲の海綿骨と比べて約3倍の硬さを有していること (Butz et al., 2006) より、チタン表面における骨形成は通常の創傷治癒の過程でインプ

ラント周囲に起こる骨形成とは明らかに様相が異なっていることを示した。このことから、オッセオインテグレーションの獲得にいたる骨新生は、チタン表面を足場とする一種のティッシュエンジニアリングとみなすことができる。つまり、チタン表面における骨新生では、チタンそのものがチタン表面近傍の骨形成原細胞が付着するための足場として機能すると同時に、付着した細胞を賦活させ、その増殖と機能分化を制御する役割を担っている。また、方法論的還元主義の観点からも、インプラント表面のオッセオインテグレーション能を評価するためには、細胞レベルでの研究成果が極めて重要であると考えられる。*in vitro*の実験系において、主な研究対象となる骨芽細胞の大きさは平均で20–50μmであることからも、ナノスケールでの表面改質がチタン表面における細胞挙動に影響をおよぼすことは容易に想像できる。

これまでオッセオインテグレーション能の向上を目指して、インプラント体表面に対して、各種酸処理、サンダーブラスト、あるいは両者の混合処理により表面を削除する方法や各種コーティング法により付加的に表面を改質する方法が試みられてきた。これらの表面改質によりインプラント表面の表面微細構造、化学的性状ならびに物理化学的性状が変化する。このうち表面微細構造を特徴付ける代表的なパラメータのひとつである表面粗さに注目すると、算術平均粗さが1.0–2.0μmの中等度の粗造な表面を有するインプラントが臨床的に最も優れた成績を示しているとされている。しかし、同時にこのカテゴリーに属するインプラント間にはオッセオインテグレーション能に関して、大きな有意差は認められないと考えられている (Jokstad et al., 2003; Albrektsson and Wennerberg, 2004a, b)。しかしながら、これらはいずれもマイクロスケールでの評価にとどまっており、ナノスケールの表面微細構造がチタン表面における骨形成原細胞の挙動に与える影響に関しては不明な点が多い。

これらのことより、ナノテクノロジーはインプラント歯科学に大きな革新をもたらす可能性を持ったテクノロジーとして期待されている。

3.2. ナノスケールでの表面改質の試み

前述の通り、ナノテクノロジーはインプラント歯科学分野の多岐にわたる応用の可能性を秘めている。このうちインプラント体の表面改質への応用にしぼって文献を検索すると、表1, 2に示す多数の報告がある。表面改質の方法による分類としては、1) 物理学的修飾、2) 化学的修飾、3) 生物学的修飾の3つに大別される(表1)。また、表面改質の成分組成による分類としては、1) 生体分子による修飾、2) 無機化合物による修飾、3) 金属および合金による修飾、4) 複合体による修飾の4つに大別される(表2)。われわれの知る限りにおいて、これまでに実際に製品化されて臨床応用にいたったものは3つであり、そのうち2つは化学的修飾によるもので、残りのひとつは物理化学的修飾によるものと説明されている。

このうちのひとつはOsseoSpeedTM (Astra Tech AB, Mölndal, Sweden) であり、二酸化チタン粒子によるブラスト処理の後にフッ化水素による酸処理を施したものである(以下、TiO₂/HFサーフェイス)。SEM観察により、TiO₂/HFサーフェイスの表面には直径約100nmのナノ構造体が付与されていることが確認されている(Guo et al., 2007)。サンダーブラスト処理のみの表面(以下、TiO₂サーフェイス)に比べて、TiO₂/HFサーフェイスではサンプルディスク上で培養したヒト間葉系幹細胞の骨関連遺伝子の遺伝子発現の亢進が認められている(Cooper et al., 2006)。また、*in vivo*の実験系において、TiO₂/HFサーフェイスはTiO₂サーフェイスと比べて有意に高い骨–インプラント接触率と骨–インプラント結合強度を示したという報告がある(Ellingsen et al., 2004; Cooper et al., 2006)。しかしながら、X-ray photoelectron spectroscopy (XPS)を用いた表面元素分析によりTiO₂/HFサーフェイスの表面には0.8%のフッ素原子が検出されていることから、前述の生物学的効果があらわれたのはナノ構造体が付与されたことによるものなのか、フッ素の作用によるものなのかは明らかになっていない。

もうひとつはNanoTiteTM (BIOMET 3i, Palm Beach, USA) であり、塩酸と硫酸を用いて二重に酸処理した純

表1 ナノ表面制御の方法論的分類

Approaches	Methods	References
Physical modification	Physical vapor deposition	Coelho et al., 2005; Ogawa et al., 2008
	Nanolithography	Kubo et al., 2009
	Femtosecond laser	Lyuksyutov et al., 2003
Chemical modification	Acid treatment	Guo et al., 2007
	Sol-gel processing	Advincula et al., 2006; Nishimura et al., 2007
Biological modification	DNA coating	Putnam, 2006
	Protein coating	Schuler et al., 2006

表2 ナノ表面構造体の組成成分分類

Categories	Assembled substances	References
Biological molecules	Cell-adhesive epitopes	Schaffner et al., 1999 ; Huang et al., 2003 ; Elmengaard et al., 2005 ; Senyah et al., 2005 ; Rammelt et al., 2006 ; Schuler et al., 2006 ; Balasundaram and Webster, 2007 ; Sargeant et al., 2008
	DNA	Dunn et al., 2005 ; Zhao et al., 2005 ; Putnam, 2006 ; Park et al., 2007a ; Zhang et al., 2007
Ceramics	Carbons	Price et al., 2003b ; Webster et al., 2004a
	Calcium phosphates including HA*	Coelho et al., 2005 ; Thian et al., 2005 ; Wang et al., 2006 ; Adamopoulos and Papadopoulos, 2007 ; Mendes et al., 2007 ; Nishimura et al., 2007 ; Lin et al., 2009 ; Lee et al., 2009
	Al ₂ O ₃ **	Price et al., 2003a ; Briggs et al., 2004 ; Mendonca et al., 2009
Metals and alloys	TiO ₂ ***	Kommireddy et al., 2005 ; Chen and Mao, 2006 ; Yao and Webster, 2006 ; Advincula et al., 2007 ; Jeong et al., 2007 ; Ogawa et al., 2008 ; Kubo et al., 2009
	Cr-Co et al.	Howlett et al., 1999 ; Webster and Ejiofor, 2004 ; Papageorgiou et al., 2007 ; Ogawa et al., 2008
Composites	Collagen/HA	Itoh et al., 2005 ; Teng et al., 2008
	TiO ₂ /HA	Oh et al., 2005
	Calcium phosphate/Chlorhexidine	Scharnweber et al., 2007
	Ti/PLGA****	Smith et al., 2007

*Hydroxyapatite

**Alumina

***Titanium dioxide

****Poly-lactic-co-glycolic acid

チタンならびにチタン合金表面にハイドロキシアパタイト (HA) のナノパーティクルを化学的に沈着させたものである (以下, ナノHAサーフェイス). このナノHAサーフェイスの特徴は, 従来のHAコーティングサーフェイスのようにインプラント表面がすべてHAで覆われているのではなく, 表面の約50%は酸処理面が露出していることである (Nishimura et al., 2007). ヒト上顎臼歯部に埋入したインプラント表面に新生された骨を組織計量学的に評価したところ, 二重酸処理のみの表面 (以下, HCl/H₂SO₄サーフェイス) に比べて, ナノHAサーフェイスでは骨-インプラント接触率が埋入後4, 8週ではそれぞれ3, 1.2-2.5倍に増加した (Goene et al., 2007 ; Orsini et al., 2007). また, *in vivo*のラット実験モデルにおいて, ナノHAサーフェイスはHCl/H₂SO₄サーフェイスと比べて埋入後2週の骨-インプラント結合強度は1.3倍に増加していたことが報告されている (Nishimura et al., 2007 ; Lin et al., 2009). しかしながら, これらの生物学的効果があらわれたのはナノ構造体が付与されたことによるものなのか, HAの作用によるもののかは明らかになっていない.

最後も前述のNanoTiteTM同様にインプラント表面にHA

のナノパーティクルを付加したものであるが, イオンビームデポジションという物理蒸着によってHAの被膜を形成する点が異なる (Bicon, Boston, USA). チタン合金に対して, アルミナ (Al₂O₃) によるプラスト処理と硝酸による酸処理を施したもの (以下, Al₂O₃/HNO₃サーフェイス) にHAのナノパーティクルを物理蒸着することによって全面に300-500nmのアモルファスなHA薄膜が形成される (以下, ナノHA薄膜サーフェイス). *in vivo*のイヌ実験モデルにおいて, ナノHA薄膜サーフェイスはAl₂O₃/HNO₃サーフェイスと比べてインプラント表面における骨形成が促進されたとの報告があるが, 表面微細構造に関しての詳細は不明である (Coelho and Suzuki, 2005).

これらの表面はいずれもナノスケールでの表面微細構造をコントロールするまでには至っておらず, チタン表面に付与したナノ構造体の化学的組成ならびに結晶構造も不明であり, 報告されている生物学的な効果がどのようなメカニズムで発現するのかも明らかにされていない. これらの点から, 現状ではいずれの表面改質法もナノテクノロジーに基づく新規表面制御技術として確立されていないと考える.

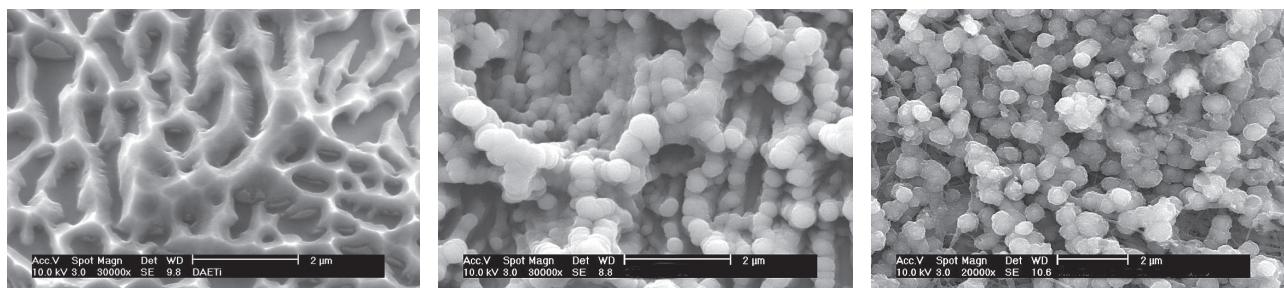


図1 マイクローナノスケール階層化生体模倣表面のSEM像（左：酸処理チタン、中央：マイクローナノスケール階層化生体模倣表面、右：酸処理チタン上に形成された石灰化組織）

3.3. ナノ表面制御技術によるナノ構造体の最適化

われわれは、ナノテクノロジーの一つである物理蒸着（Physical Vapor Deposition）の技術をインプラントの表面改質に応用して、マイクロスケールの表面粗さを有するチタン表面に附加的に自己組織化による二酸化チタンのナノ構造体を付与する技術を開発した（Ogawa et al., 2008）（図1）。本技術の先進性のひとつは、物理蒸着時間に変えることで、ナノ構造体の大きさを容易に制御することが可能となることである。酸処理チタン表面に粒径100, 300, 500nmのナノノジュラー構造体を付与したもの（以下、ナノノジュラーサーフェイス-100, 300, 500）は、ナノ構造体を付与していない酸処理チタン表面（以下、マイクロラフサーフェイス）に対して骨芽細胞の初期細胞接着ならびに細胞伸展が有意に増加していた。また、ラット大腿骨に埋入したシリンダー形状のインプラントに対して、術後2週にバイオメカニカル試験（Push in試験）（Ogawa et al., 2000）を行い、オッセオインテグレーション能を調べたところ、すべてのナノノジュラーサーフェイスがマイクロラフサーフェイスの約3倍の骨-インプラント結合強度を示した（Kubo et al., 2009）。さらに、骨芽細胞親和性ならびにオッセオインテグレーション能に関して、300nmのナノノジュラーエ構造体を付与したナノノジュラーサーフェイス-300が最

も高い値を示したことより、300nmの付近の大きさのナノ構造体がインプラント表面での骨芽細胞による骨新生にとって最適であることが明らかになった。また、このナノ表面制御技術は、酸処理チタン表面以外にもサンドブラスト処理されたチタン表面にも応用可能である。さらにはチタン以外にも、1) チタン合金やコバルトクロム合金などの他の金属材料、2) シリカなどのセラミックス、3) シリコンなどの半導体、4) ポリスチレン、コラーゲン膜、生体吸収性ポリマー（PLGA: Poly Lactic-co-Glycolic Acid）などの有機材料にもナノ構造体を付与することが可能である。このナノ表面制御技術はその汎用性の高さが注目され、インプラント表面改質以外にも広く再生医療への応用、さらには電池技術やクリーンテクノロジーへの応用が期待されている。

結論

本レビューにより、以下の結論を得た。

1. ナノテクノロジーはインプラント歯科学分野の多岐にわたる応用の可能性を秘めていることが示された。
2. これまでに、ナノスケールの表面性状を有する新規サーフェイスとして実際に製品化されたインプラント表面は、いずれもナノ構造の解析ならびに最適化が不十分であり、生物学的効果が発現するメカニズムも不明である。
3. われわれは物理蒸着の技術をインプラントの表面改質に応用して、マイクローナノスケール階層化生体模倣表面（Biomimetic micro-to-nanoscale hierarchical structured surface）を開発した。ナノノジュラーエ構造体を付与することで骨芽細胞親和性ならびにオッセオインテグレーション能が大きく向上することが示された。さらにインプラント表面に付与するナノ構造体の大きさは300nmの付近が最適であることが確認された。

文献

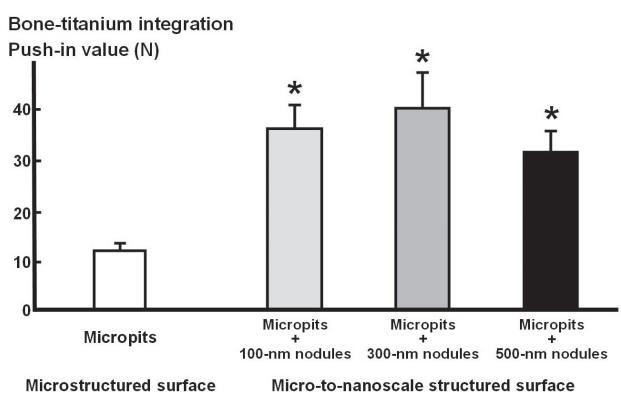


図2 マイクローナノスケール階層化生体模倣表面の骨-インプラント結合強度

Adamopoulos O and Papadopoulos T. Nanostructured biomaterials for maxillofacial applications. J Mater Sci Mater

- Med 18 : 1587–1597, 2007.
- Advincula MC, Rahemtulla FG, Advincula RC, Ada ET, Lemons JE and Bellis SL. Osteoblast adhesion and matrix mineralization on sol–gel–derived titanium oxide. *Biomaterials* 27 : 2201–2212, 2006.
- Advincula MC, Petersen D, Rahemtulla F, Advincula R and Lemons JE. Surface analysis and biocorrosion properties of nanostructured surface sol–gel coatings on Ti6 Al4V titanium alloy implants. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 80 : 107–120, 2007.
- Albrektsson T and Wennerberg A. Oral implant surfaces : Part 1—review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo responses to them. *Int J Prosthodont* 17 : 536–543, 2004a.
- Albrektsson T and Wennerberg A. Oral implant surfaces : Part 2—review focusing on clinical knowledge of different surfaces. *Int J Prosthodont* 17 : 544–564, 2004b.
- Balasundaram G and Webster TJ. Nanotechnology and biomaterials for orthopedic medical applications. *Nanomed* 1 : 169–176, 2006.
- Berglundh T, Abrahamsson I, Albouy JP and Lindhe J. Bone healing at implants with a fluoride-modified surface : an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 18 : 147–152, 2007.
- Bränemark PI, Adell R, Breine U, Hansson BO, Lindstrom J and Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* 3 : 81–100, 1969.
- Briggs EP, Walpole AR, Wilshaw PR, Karlsson M and Palsgård E. Formation of highly adherent nano-porous alumina on Ti-based substrates : a novel bone implant coating. *J Mater Sci Mater Med* 15 : 1021–1029, 2004.
- Buser D, Schenk RK, Steinemann S, Fiorellini JP, Fox CH and Stich H. Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25 : 889–902, 1991.
- Butz F, Aita H, Wang CJ and Ogawa T. Harder and stiffer bone osseointegrated to roughened titanium. *J Dent Res* 85 : 560–565, 2006.
- Chen X and Mao SS. Synthesis of titanium dioxide (TiO₂) nanomaterials. *J Nanosci Nanotechnol* 6 : 906–925, 2006.
- Coelho PG and Suzuki M. Evaluation of an IBAD thin-film process as an alternative method for surface incorporation of bioceramics on dental implants : a study in dogs. *J Appl Oral Sci* 13 : 87–92, 2005.
- Cooper LF, Zhou Y, Takebe J, Guo J, Abron A, Holmen A and Ellingsen JE. Fluoride modification effects on osteoblast behavior and bone formation at TiO₂ grit–blasted c.p. titanium endosseous implants. *Biomaterials* 27 : 926–936, 2006.
- De Maeztu MA, Braceras I, Alava JI and Gay-Escoda C. Improvement of osseointegration of titanium dental implant surfaces modified with CO ions : a comparative histomorphometric study in beagle dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg* 37 : 441–447, 2008.
- Dunn CA, Jin Q, Taba M Jr, Franceschi RT, Bruce Rutherford R and Giannobile WV. BMP gene delivery for alveolar bone engineering at dental implant defects. *Mol Ther* 11 : 294–299, 2005.
- Ellingsen JE, Thomsen P and Lyngstadaas SP. Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontol 2000* 41 : 136–156, 2006.
- Elmengaard B, Bechtold JE and Soballe K. In vivo study of the effect of RGD treatment on bone ongrowth on press-fit titanium alloy implants. *Biomaterials* 26 : 3521–3526, 2005.
- Goene RJ, Testori T and Trisi P. Influence of a nanometer –scale surface enhancement on de novo bone formation on titanium implants : a histomorphometric study in human maxillae. *Int J Periodontics Restorative Dent* 27 : 211–219, 2007.
- Guo J, Padilla RJ, Ambrose W, De Kok IJ and Cooper LF. The effect of hydrofluoric acid treatment of TiO₂ grit blasted titanium implants on adherent osteoblast gene expression in vitro and in vivo. *Biomaterials* 28 : 5418–5425, 2007.
- Howlett CR, Zreiqat H, Wu Y, McFall DW and McKenzie DR. Effect of ion modification of commonly used orthopedic materials on the attachment of human bone-derived cells. *J Biomed Mater Res* 45 : 345–354, 1999.
- Huang H, Zhao Y, Liu Z, Zhang Y, Zhang H, Fu T and Ma X. Enhanced osteoblast functions on RGD immobilized surface. *J Oral Implantol* 29 : 73–79, 2003.
- Itoh S, Kikuchi M, Koyama Y, Matumoto HN, Takakuda K, Shinomiya K, et al.. Development of a novel biomaterial, hydroxyapatite/collagen (HAp/Col) composite for medical use. *Biomed Mater Eng* 15 : 29–41, 2005.
- Jeong SH, Park YJ, Kim BS and Song HJ. Effects of oxygen content on bioactivity of titanium oxide films fabricated on titanium by electron beam evaporation. *J Nanosci Nanotechnol* 7 : 3815–3818, 2007.
- Jeong YH, Kim WG and Choe HC. Electrochemical behavior of nano and femtosecond laser textured titanium alloy for implant surface modification. *J Nanosci Nanotechnol* 11 : 1581–1584, 2011.
- Jokstad A, Braegger U, Brunski JB, Carr AB, Naert I and Wennerberg A. Quality of dental implants. *Int Dent J* 53 : 409–443, 2003.
- Kommireddy DS, Patel AA, Shutava TG, Mills DK and Lvov YM. Layer–by–Layer assembly of TiO₂ nanoparticles for stable hydrophilic biocompatible coatings. *J Nanosci Nanotechnol* 5 : 1081–1087, 2005.
- Kubo K, Tsukimura N, Iwasa F, Ueno T, Saruwatari L, Aita H, Chiou WA and Ogawa T. Cellular behavior on TiO₂ nanonodular structures in a micro–to–nanoscale hierarchy model. *Biomaterials* 30 : 5319–5329, 2009.
- Lin A, Wang CJ, Kelly J, Gubbi P and Nishimura I. The role of titanium implant surface modification with hydroxyapatite nanoparticles in progressive early bone–implant fixation in vivo. *Int J Oral Maxillofac Implants* 24 : 808–816, 2009.
- Lyuksyutov SF, Vaia RA, Paramonov PB, Juhl S, Waterhouse L, Ralich RM, Sigalov G and Sancaktar E. Elec-

- trostatic nanolithography in polymers using atomic force microscopy. *Nat Mater* 2 : 468–472, 2003.
- Mendes VC, Moineddin R and Davies JE. The effect of discrete calcium phosphate nanocrystals on bone–bonding to titanium surfaces. *Biomaterials* 28 : 4748–4755, 2007.
- Nishimura I, Huang Y, Butz F, Ogawa T, Lin A and Wang CJ. Discrete deposition of hydroxyapatite nanoparticles on a titanium implant with predisposing substrate microtopography accelerated osseointegration. *Nanotechnology* 18 : 245101–245109, 2007.
- Ogawa T, Ozawa S, Shih JH, Ryu KH, Sukotjo C, Yang JM and Nishimura I. Biomechanical evaluation of osseous implants having different surface topographies in rats. *J Dent Res* 79 : 1857–1863, 2000.
- Ogawa T and Nishimura I. Different bone integration profiles of turned and acid–etched implants associated with modulated expression of extracellular matrix genes. *Int J Oral Maxillofac Implants* 18 : 200–210, 2003.
- Ogawa T, Saruwatari L, Takeuchi K, Aita H and Ohno N. Ti nano–nodular structuring for bone integration and regeneration. *J Dent Res* 87 : 751–756, 2008.
- Oh SH, Finones RR, Daraio C, Chen LH and Jin S. Growth of nano–scale hydroxyapatite using chemically treated titanium oxide nanotubes. *Biomaterials* 26 : 4938–4943, 2005.
- Orsini G, Piattelli M, Scarano A, Petrone G, Kenealy J, Piattelli A and Caputi S. Randomized, controlled histologic and histomorphometric evaluation of implants with nanometer–scale calcium phosphate added to the dual acid–etched surface in the human posterior maxilla. *J Periodontol* 78 : 209–218, 2007.
- Papageorgiou I, Brown C, Schins R, Singh S, Newson R, Davis S, et al.. The effect of nano– and micron–sized particles of cobalt–chromium alloy on human fibroblasts in vitro. *Biomaterials* 28 : 2946–58, 2007.
- Park DJ, Choi JH, Leong KW, Kwon JW and Eun HS. Tissue–engineered bone formation with gene transfer and mesenchymal stem cells in a minimally invasive technique. *Laryngoscope* 117 : 1267–1271, 2007a.
- Price RL, Gutwein LG, Kaledin L, Tepper F and Webster TJ. Osteoblast function on nanophase alumina materials : Influence of chemistry, phase, and topography. *J Biomed Mater Res A* 67 : 1284–1293, 2003a.
- Price RL, Haberstroh KM, Webster TJ. Enhanced functions of osteoblasts on nanostructured surfaces of carbon and alumina. *Med Biol Eng Comput* 41 : 372–375, 2003b.
- Putnam D. Polymers for gene delivery across length scales. *Nat Mater* 5 : 439–451, 2006.
- Pye AD, Lockhart DE, Dawson MP, Murray CA and Smith AJ. A review of dental implants and infection. *J Hosp Infect* 72 : 104–110, 2009.
- Rammelt S, Illert T, Bierbaum S, Scharnweber D, Zwipp H and Schneiders W. Coating of titanium implants with collagen, RGD peptide and chondroitin sulfate. *Biomaterials* 27 : 5561–5571, 2006.
- Sargeant TD, Guler MO, Oppenheimer SM, Mata A, Satcher RL, Dunand DC, et al.. Hybrid bone implants : self–assembly of peptide amphiphile nanofibers within porous titanium. *Biomaterials* 29 : 161–171, 2008.
- Schaffner P, Meyer J, Dard M, Wenz R, Nies B, Verrier S, Kessler H and Kantlehner M. Induced tissue integration of bone implants by coating with bone selective RGD–peptides in vitro and in vivo studies. *J Mater Sci Mater Med* 10 : 837–839, 1999.
- Scharnweber D, Flossel M, Born R and Worch H. Adjusting the chlorhexidine content of calcium phosphate coatings by electrochemically assisted co–deposition from aqueous solutions. *J Mater Sci Mater Med* 18 : 391–397, 2007.
- Schuler M, Owen GR, Hamilton DW, de Wild M, Textor M, Brunette DM and Tosatti SG. Biomimetic modification of titanium dental implant model surfaces using the RGDS–peptide sequence : a cell morphology study. *Biomaterials* 27 : 4003–4015, 2006.
- Senyah N, Hildebrand G and Liefelth K. Comparison between RGD–peptide–modified titanium and borosilicate surfaces. *Anal Bioanal Chem* 383 : 758–762, 2005.
- Smith LJ, Swaim JS, Yao C, Haberstroh KM, Nauman EA and Webster TJ. Increased osteoblast cell density on nanostructured PLGA–coated nanostructured titanium for orthopedic applications. *Int J Nanomedicine* 2 : 493–9, 2007.
- Teng SH, Lee EJ, Park CS, Choi WY, Shin DS and Kim HE. Bioactive nanocomposite coatings of collagen/hydroxyapatite on titanium substrates. *J Mater Sci Mater Med* 19 : 2453–2461, 2008.
- Thian ES, Huang J, Best SM, Barber ZH and Bonfield W. Magnetron co–sputtered silicon–containing hydroxyapatite thin films—an in vitro study. *Biomaterials* 26 : 2947–2956, 2005.
- Wang H, Eliaz N, Xiang Z, Hsu HP, Spector M and Hobbs LW. Early bone apposition in vivo on plasma–sprayed and electrochemically deposited hydroxyapatite coatings on titanium alloy. *Biomaterials* 27 : 4192–4203, 2006.
- Webster TJ and Ejiofor JU. Increased osteoblast adhesion on nanophase metals : Ti, Ti6 Al4 V, and CoCrMo. *Biomaterials* 25 : 4731–4739, 2004.
- Webster TJ, Waid MC, McKenzie JL, Price RL and Price JU. Nano–biotechnology : carbon nanofibres as improved neural and orthopaedic implants. *Nanotechnology* 15 : 48–54, 2004a.
- Weinlaender M, Kenney EB, Lekovic V, Beumer J3rd, Moy PK and Lewis S. Histomorphometry of bone apposition around three types of endosseous dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 7 : 491–496, 1992.
- Yao C and Webster TJ. Anodization : a promising nano–modification technique of titanium implants for orthopedic applications. *J Nanosci Nanotechnol* 6 : 2682–2692, 2006.
- Zhang Y, Song J, Shi B, Wang Y, Chen X, Huang C, et al.. Combination of scaffold and adenovirus vectors expressing bone morphogenetic protein–7 for alveolar bone regeneration at dental implant defects. *Biomaterials* 28 : 4635–42, 2007.

Zhao M, Zhao Z, Koh JT, Jin T and Franceschi RT. Combinatorial gene therapy for bone regeneration : cooperative interactions between adenovirus vectors expressing bone morphogenetic proteins 2, 4, and 7. *J Cell Biochem* 95 : 1–16, 2005.

〔総説〕

レーザースペックル血流計による血流動態のイメージング解析

新岡 丈治¹, 石井 久淑², 和泉 博之²¹北海道医療大学 薬学部 人間基礎科学講座²北海道医療大学 歯学部 口腔生物学系 生理学分野

Imaging analysis of blood flow distribution with laser speckle flowmeter

Takeharu NIIOKA¹, Hisayoshi ISHII² and Hiroshi IZUMI²¹Department of Integrated Human Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Health Sciences University of Hokkaido, Japan²Division of Physiology, Department of Oral Biology, Health Sciences University of Hokkaido, Japan**Abstract**

Monitoring of the blood flow has been used in basic and clinical research to elucidate details of the physiological and pathophysiological conditions of tissue. The blood flow measurement in biological tissue has employed drop counters, microspheres, hydrogen clearance, laser-Doppler flowmeters, and others. However, none of the devices are clearly superior or simply provide all the data necessary. For example, blood flow measurement by the microsphere method can determine the absolute value of the blood flow rate, but involves the use of radioisotopes. Blood flow measurement by the laser-Doppler flowmeter method can measure the blood flow non-invasively, but determines only relative values and observes only small areas. Thus, it is necessary to select the method of blood flow measurements considering the measurement site, measurement area, object of study, sampling interval, and other parameters. Advantages of non-invasive measurements, include ease of application, abundant information obtained from high-resolution sampling, and imaging analysis makes it possible to consider introduction of blood flow measurements in basic and clinical research. One such application is the laser speckle flowmeter which is increasing in use in basic and clinical investigations, since this instrument can non-invasively measure blood flow changes in broad areas as two-dimensional images with high-resolution sampling. This review focuses on i) the principles of blood flow measurements with the laser speckle flowmeter, ii) a comparison of the characteristics of laser speckle flowmeter and laser-Doppler flowmeter on the blood flow measurements, iii) the previous basic research with laser speckle flowmeter that has been reported by us, and iv) the application of laser speckle flowmeter in basic and clinical investigations.

Key words : Laser speckle flowmeter, Blood flow measurement, Imaging analysis, Hemodynamics

第一章 緒言

我々の体内を隈無く流れる血液は、ホルモン、血液ガス、栄養素、老廃物ならびに体熱を運搬することにより、全身の細胞のホメオスタシスに重要な役割を果たしている。したがって、血液循環系の異常は、組織障害やそれに伴う種々の疾患の要因となる。

そのため臨床の場では、血流あるいは血液をモニタリングすることによって、組織の健康状態や障害を確認するための検査が広く行われている。また一方で基礎研究の場でも、血流調節機序の解明や組織機能の解明に血流の測定が行われている。

血流の測定には、古くから様々な方法が開発され、臨床・基礎研究の場で用いられてきた。最も古い血流測定

受付：平成23年3月30日

は、1700年代に行われた方法で、馬の頸動脈に挿管し、流れ込んだ血液の高さから血圧や心拍出量を測定したものだと言われている。この様に体外に血液を漏出させてから血流を測定する方法が最初に開発され、後にdrop counter法へと改良され基礎研究に広く用いられた (Hilton & Lywood, 1954)。その後に、体内の血流量を定量的に解析する手法として、microsphere法 (Hoffbrand & Forsyth, 1969 ; Levine et al., 1984)、アイソトープクリアランス法 (Love, 1964 ; Young & Hopewell, 1980)、水素クリアランス法 (Haining et al., 1968 ; Kobrine et al., 1974) などが開発されてきたが、これらの手法はいずれも測定対象に対して侵襲的な手法であるため、その使用が実験動物を対象とした基礎研究に偏っている。一方非侵襲性で臨床でも広く用いられているのが、超音波 (Reid & Spencer, 1972 ; Sequeira et al., 1976 ; Wells et al., 1977) やレーザー (Riva et al., 1972 ; Holloway & Watkins, 1977 ; Stern et al., 1977) のドップラーシフトを応用した血流計である。我々は、これらの血流計のうちレーザーのドップラーシフトを応用した血流計（レーザー血流計）を用いて、自律神経性血流調節に関する検討を行ってきた (Izumi & Ito, 1998a ; Izumi, 1999a ; Izumi et al., 2004 ; Mizuta et al., 2006, 2007b ; Koeda et al., 2009 ; Ishii et al., 2010, 2011)。

レーザー血流計は、レーザードップラー法、レーザードップラーアイメージング法、並びにレーザースペックルイメージング法の三種類が主に使用されている。レーザードップラー法はこの中で最も早く開発された血流計であり、現在でも広く用いられている。測定対象にレーザーを照射し、測定対象からの散乱光のドップラーシフトを血流値に換算するという特徴を有し、血流変化を0.1秒間隔の高時間分解能でモニタリングすることが可能である。しかし、測定プローブの血流観測部位の大きさが約1mm四方であるため、測定範囲が局所の一点に限られてしまう（図1）。そこで、この欠点を補うために開発されたのが、レーザードップラーアイメージング法である。レーザードップラーアイメージング法の基本原理はレーザードップラー法と同様であるが、測定プローブを縦および横方向に走査することで、比較的広範囲の二次元の血流マップを得ることができる。これによりレーザードップラー法の「測定範囲の局在化」という欠点を補うことに成功したが、測定プローブを走査させるため、血流マップを得るまでにある程度の時間が必要であり、「高時間分解能」という利点を生かし切れなくなってしまった。近年開発されたレーザースペックルイメージング法は、レーザードップラー法やレーザードップ

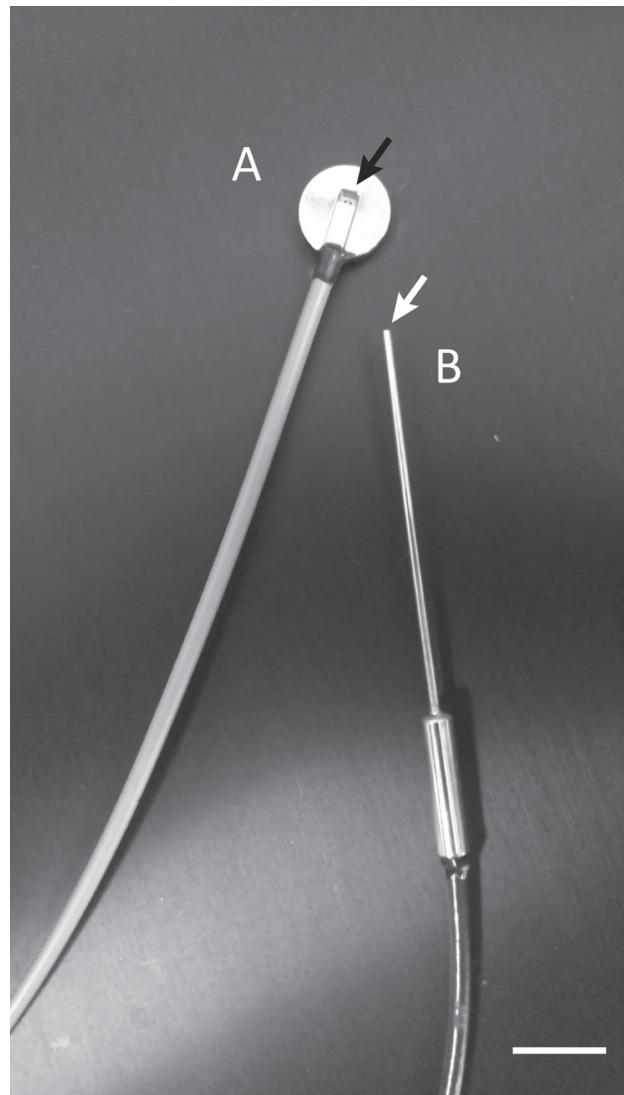


図1 レーザードップラー血流計の測定プローブ

(A) DS型（ディスクタイプ）測定プローブ。(B) NS型（ニードルタイプ）測定プローブ。黒矢印および白矢印部分は、それぞれの血流測定部位（レーザー照射および散乱波受光部位）を示す。測定プローブは、どちらもOMEGAWAVE Inc. から購入した。スケールバーは、10 mmを表す。

ライメージング法の欠点を改良し、一定範囲の血流動態を高時間分解能で測定できるという特徴を有している。

本稿では、我々がレーザースペックルイメージング血流計（Omegazone OZ-01, OMEGAWAVE, 東京）を用いて行った基礎研究の結果を中心に、レーザースペックルイメージング法とレーザードップラー法との性能比較、そしてレーザースペックルイメージング法の原理からその臨床応用までの概要を紹介する。

第二章 レーザースペックルイメージング法の概要

我々が使用しているレーザースペックルイメージング血流計（Omegazone OZ-01）では、測定サンプルから

およそ20–30 cm離れた光源から拡散させたレーザー光線（波長780 nm）を照射する。レーザー光線がサンプル表面に照射されると、そこに存在する多数の粒子にぶつかられて散乱し、観察面で散乱波同士が干渉する。その散乱波をCCDカメラの様な複数の受光素子で収集すると、ランダムな斑点模様（スペックル）が検出される。サンプル表面に存在する粒子（主に赤血球）に動きが生じると、スペックルの発生パターン（検出強度や発生頻度）にも変化が生じる。このスペックル発生パターンの変化（ぶれ率）をForrester et al. (2002, 2004) のアルゴリズムに従いコンピューターで演算し、その結果を8

bitスケールの2次元画像（639×480）として出力させたものがスペックル画像となる（図2）。サンプルの測定範囲は、CCDカメラのズーム性能に依存するが、およそ0.01 mm四方の局所から150 mm四方の広範囲にいたる、任意の範囲の血流値を測定することができる。同時にサンプリング周波数も任意に設定することができる、最短ではビデオレート（30フレーム／秒）でサンプリングすることができるので、ヒトの心周期に同期した血流変化等もモニタリングすることができる。またスペックル画像と同一視野のモノクロ画像も同様の条件でサンプリングしている。OZ-01を含めたレーザー

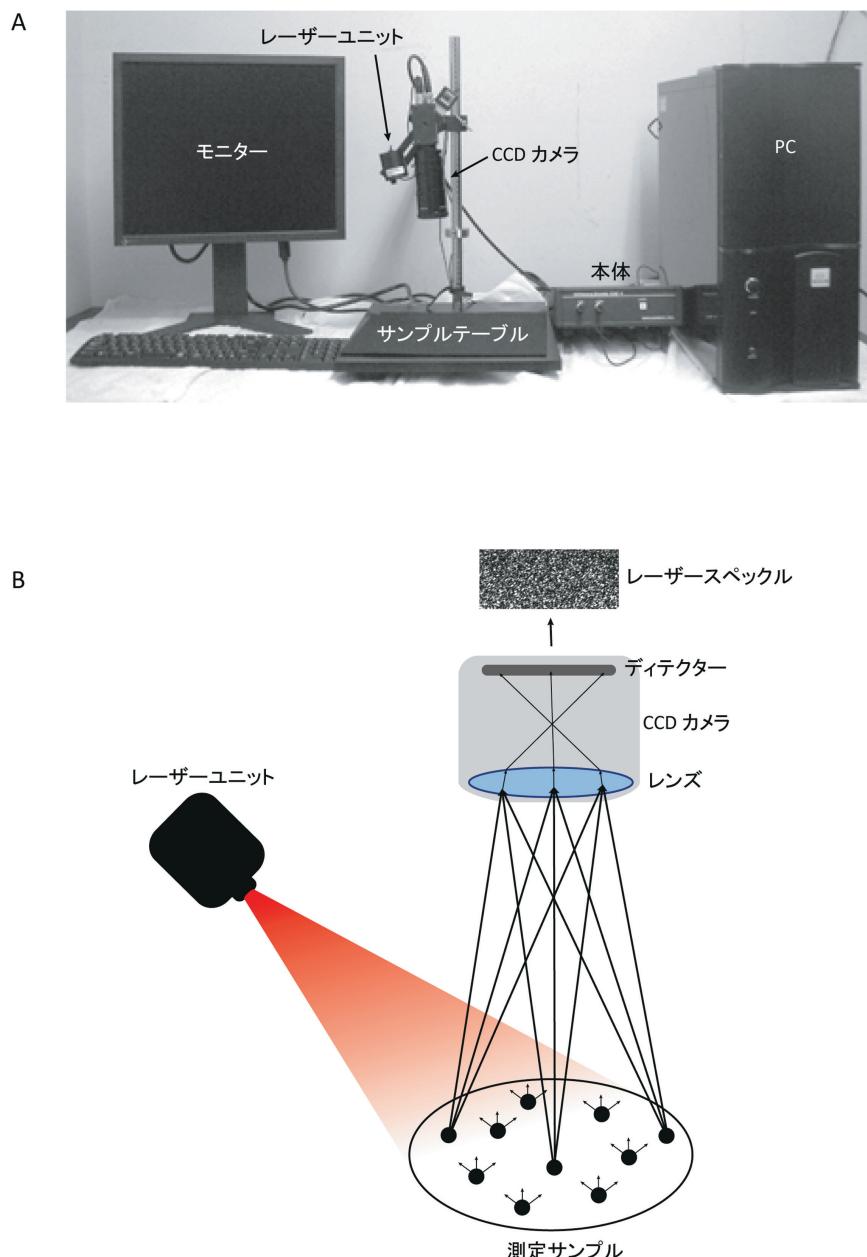


図2 レーザースペックル血流計（レーザースペックルイメージング法）の全体像とその原理
(A) Omegazone OZ-01の外観。本体では、レーザー光の出力およびCCDカメラで受信した信号の受容とPCへの出力を行う。PCでは、レーザースペックル変動の演算を行い、その結果をスペックル画像としてモニターに出力する。(B) OZ-01の測定原理。OZ-01では、測定サンプルからおよそ20–30 cm離れた光源から拡散させたレーザー光線（波長780 nm）を照射する。レーザー光線がサンプル表面に照射されると、そこに存在する多数の粒子にぶつかられて散乱し、観察面で散乱波同士が干渉する。その状態をCCDカメラで撮影すると、ランダムな斑点模様（スペックル）が検出される。

スペックル血流計では、モニター上にスペックル画像を疑似カラー化して表示させるので血流変化がより直感的に伝わる。OZ-01には、付属の解析ソフトウェアもあるが、画像データが連続した複数枚のTIFF形式ファイルとして保存されているため、Image J (version 1.4, NIH, Maryland, MD, USA) 等の他のソフトウェアで 8 bitスケールのモノクロ画像として閲覧、解析することも可能である。モノクロのスペックル画像中では、血流量あるいは血流変化の大きな部位が高輝度で表現される（図 3）。

以上の様に、レーザースペックル現象を応用した血流測定機器の最大の特徴・利点は、広範囲の血流動態を無侵襲・高時間分解能で連続的な画像データとして測定できるという点である。その一方で、サンプル表層の情報しか得ることができない、血流速度の絶対値を得ることができない、サンプルの動きが測定結果に影響してしまう等の欠点もあり、個々の特徴では他の測定機器の方が勝る場合もある。しかし、これまでに開発してきた血流測定法の中では、レーザースペックルイメージング血流計は、最もバランスの取れた機器の一つであり、臨床・基礎研究の様々な分野に新しい情報をより多く提供してくれることが期待される。

第三章 レーザースペックルイメージング法とレーザードップラー法の比較

我々は、レーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法を用いて（当研究室では、レーザードップラーイメージング法は導入していない），両者の特性

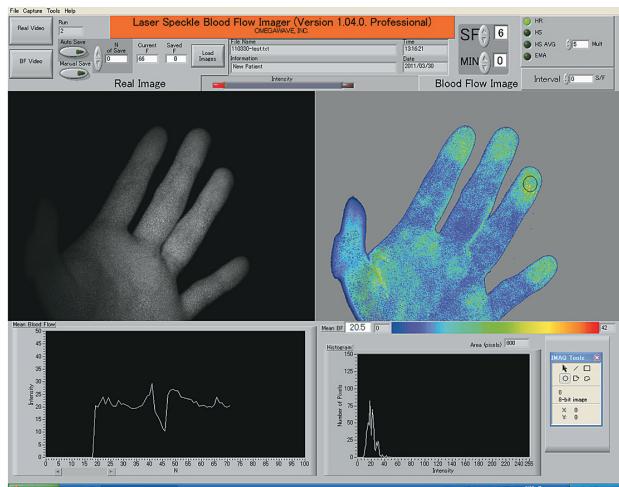


図 3 Omegazone OZ-01の測定画面
OZ-01では、画面上部のコントロールパネルで収集条件を設定する。モニターには、グレースケールの実像（左側）と疑似カラー化したスペックル画像（右側）が任意のタイムスケールで連続表示される。また、画面下側には、任意に選択した部位の血流値とそのヒストグラムも連続して表示される。

の比較を行った（渡邊ら, 2006）。実験は、三叉神経-副交感神経反射で誘発されるラット下口唇の血流増加反応（図 4 A）およびヒトの寒冷試験に伴う血流減少反応（図 4 B）を観察した。三叉神経-副交感神経反射は、三叉神経刺激によって脳幹を介して頭部・顔面領域の副交感神経性血管拡張線維を反射性に活性化させる方法であり、和泉、刈田が開発した方法である（Izumi & Karita, 1992a）。副交感神経性血管拡張線維は、頭部・顔面領域を走行する血管周辺には広く分布しているが、体幹・四肢の皮膚や筋血管周辺には分布していない。三叉神経-副交感神経反射の詳細については、総説（Izumi, 1995；和泉, 1995, 1999b, 2004a, b, 2005；Izumi et al., 2006；Ishii et al., 2007a；石井, 和泉, 2010）やネコ（Izumi & Karita, 1992b, 1993, 1994a, b；Karita & Izumi, 1992, 1993；Izumi et al., 1997；Izumi & Ito, 1998b），モルモット（Watanabe et al., 2008b），ウサギ（Yasuda & Izumi, 2003），ラット（Mizuta et al., 2000；Ishii et al., 2005, 2007b, 2009b；Niioka et al., 2009a；Sudo et al., 2009）を用いた原著論文を参照していただきたい。寒冷試験は、自律神経機能の検査に用いられている。手指を冷水に入れると、冷刺激が視床下部の体温調節中枢へと伝わり、熱放散抑制機序が働き、対側手指で交感神経性の血管収縮反応が認められる。この時の血流減少反応を観察する方法が寒冷試験である（Lewis, 1930；Samueloff et al., 1981；Shepherd et al., 1983）。

前述したとおり、レーザードップラー血流計の測定プローブは、測定可能範囲が約 1 mm四方の局所に限られる（図 1）。そのため、レーザースペックルイメージング法との血流値の比較を行う際は、スペックル画像の画像解析で、レーザードップラー血流計のプローブの測定可能範囲と同一部位を指定して血流値を求めた。その結果、血流増加反応（図 3 Ac & Ad），血流減少反応（図 3 Bc & Bd）のいずれにおいても、レーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法は、ほぼ同様なパターンの血流変化を記録した。しかし、レーザースペックルイメージング法と比較してレーザードップラー法で検出した血流変化量の方が有意に大きな値を示した（図 4 Ae & Be）。レーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法は、測定部位や範囲を同一に設定している事から、これらの結果の違いは、測定範囲や部位が影響しているのではなく、散乱波のトップラー変化を演算するレーザードップラー法に対して、スペックルの発生パターンを演算するレーザースペックルイメージング法の演算方法の違いに起因して生じているのではな

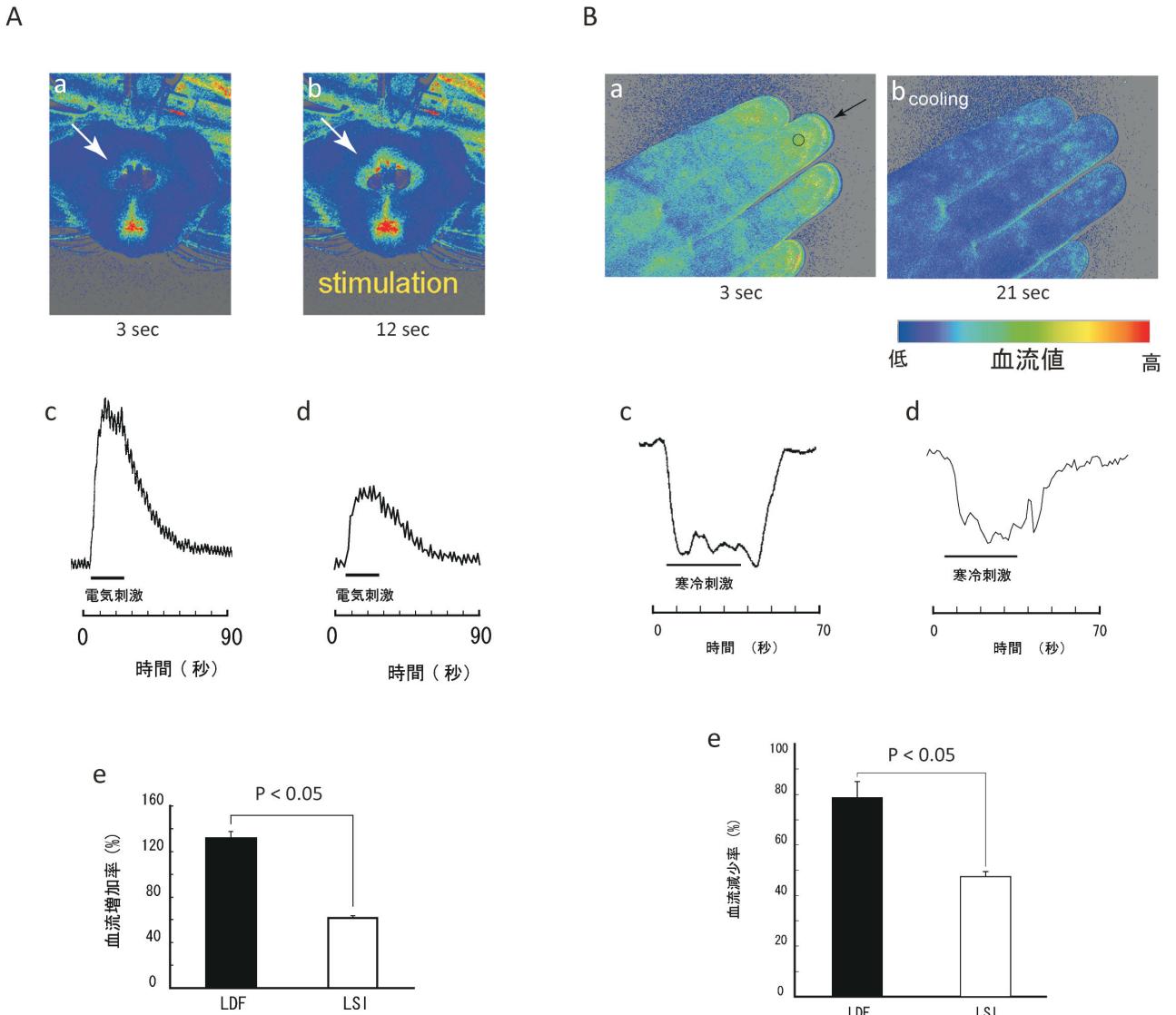


図4 レーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法で測定した血流値の比較

(A) ラット下口唇の副交感神経性血管拡張反応に伴う血流増加反応をレーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法の両者で測定し、その血流値を比較した。(Aa) 無刺激時および(Ab)三叉神経(舌神経)刺激時のスペックル画像。(Ac) レーザードップラー法を用いて測定した時の血流変化。(Ad) レーザースペックルイメージング法を用いて収集した画像データからレーザードップラー法と同一部位を解析したときの血流変化。(Ae) レーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法で測定した血流値(ピーク時の血流増加率)の比較。n=4。(B)ヒトの寒冷試験に伴う血流減少反応をレーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法の両者で測定し、その血流値を比較した。(Ba) 無刺激時および(Bb)片側手指寒冷中のスペックル画像。(Bc) レーザードップラー法を用いて測定した時の血流変化。(Bd) レーザースペックルイメージング法を用いて収集した画像データからレーザードップラー法と同一部位を解析したときの血流変化。(Be) レーザードップラー法とレーザースペックルイメージング法で測定した血流値(ピーク時の血流減少率)の比較。n=5。矢印は、レーザードップラー法のプローブ設置部位をレーザースペックルイメージング法の画像中に示した。LDF; レーザードップラー法, LSI; レーザースペックルイメージング法。

いかと考察した。

また寒冷試験を行った際に、レーザースペックルイメージング法で得た画像データから、中指の末節骨部と中節骨部で血流変化を解析し、それらの血流値を比較した。その結果、末節骨部と中節骨部では、その血流値の変動および血流変化の最大値が有意に異なっていた(図5)。この結果は、手指の中でも末節部の掌側が他の部位と比較して血管が豊富に分布しており、動静脈吻合が多数存在するという解剖学的な知見(高木、永坂、1967)と一致する。この様にレーザースペックルイメー

ジング法では、全く同一条件下で、広範囲の血流を測定しているため、部位間での比較を容易に行うことができる。また一度画像データを取得すると、画像解析時に測定部位や範囲を任意に変更して血流値の再測定を行うことが可能である点もレーザースペックルイメージング法の利点の一つであるといえる。

第四章 レーザースペックルイメージング法の基礎研究への導入

本章では、我々の報告を中心として、基礎研究の場で

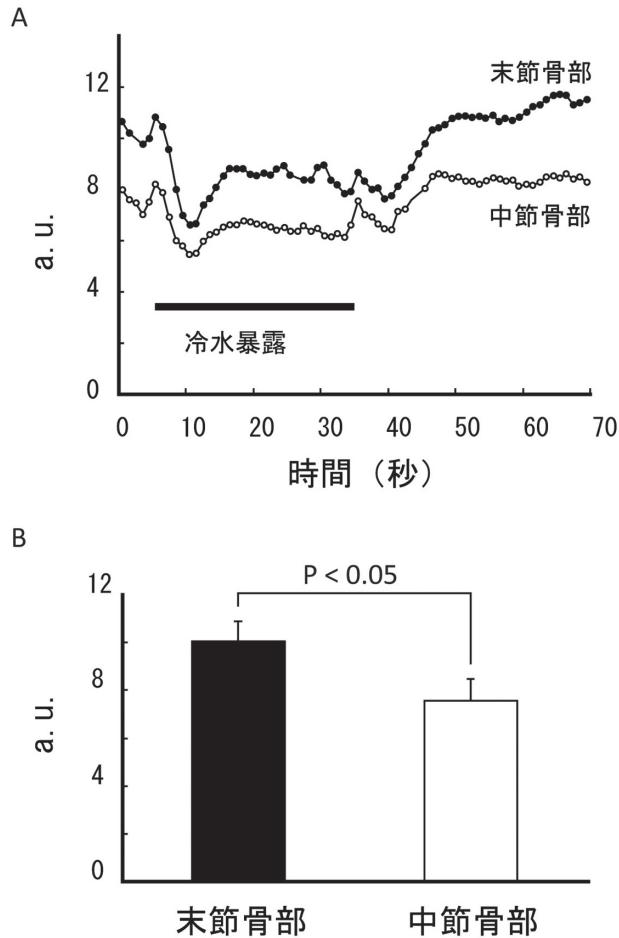


図5 寒冷試験に伴う血流減少反応の、同一手指中の部位差
(A) 図4Bに示したレーザースペックルイメージング法で取得したスペックル画像を用いて、中指の末節骨部と中節骨部の血流値を解析した時の血流変化。(B) 末節骨部および中節骨部における、無刺激時の血流値のまとめ。n=12. a.u., arbitrary units.

レーザースペックル血流計を用いて明らかにされた結果を紹介する。

我々は、頭部・顔面領域に分布する血管の自律神経性血流調節に関して、副交感神経性血管拡張線維の選択的な活性化 (Izumi & Karita, 1992a,b), 皮膚 (Izumi & Karita, 1993), 舌 (Izumi & Karita, 1994b), 骨格筋 (Ishii et al., 2005, 2009a,b, 2010, 2011; Niioka et al., 2009 a) および唾液腺血管 (Izumi & Karita, 1994a; Izumi et al., 1995) の副交感神経性血管拡張反応、副交感神経性血管拡張線維に対する交感神経活動の影響 (Izumi & Ito, 1998b; Izumi, 1999a; Ishii et al., 2007b), 副交感神経性血管拡張線維の作用に対する麻酔薬の影響 (Izumi et al., 1997) など、様々な報告を行ってきた。これらの報告の大部分は、レーザードップラー血流計を用いて、粘膜、皮膚、あるいは骨格筋の血流を測定したものであるが、レーザードップラー血流計は、先にも述べた通り、その血流測定範囲が局所に限られてしまうため、広範囲の血流測定や血流変化の部位間での比較には不向きであ

る。従って近年では、咬筋全体の血流動態を把握し、その部位間での比較を行うために、レーザースペックルイメージング法を導入した研究も並行して行っている。

咬筋では、筋電図活動や筋ファイバーの組成などが部位毎に異なる事が報告されている (Eriksson & Thornell, 1983; Blanksma et al., 1992; Van Eijden & Raadsheer, 1992)。これらの報告は、咬筋では、複雑な顎運動を可能にするために、筋線維が部位毎に独立して活動を行っていることを示唆している。筋細胞の恒常性や生理性な筋活動を維持するためには、筋組織内を流れる血流が酸素や栄養素の供給や筋代謝に重要な役割を演じている。しかしながら、筋活動の部位差に対応する血流動態の部位差に関する報告は殆ど無い。そこで我々は、ラット浅部咬筋表層全体の血流変化をレーザースペックルイメージング法で観察し、無刺激時、交感神経活動時ならびに副交感神経活動時の血流動態を観察し、さらにそれぞれの血流変化に浅部咬筋内での部位差が有るかどうかを検討した (Niioka et al., 2009b)。

ウレタン麻酔・パンクロニウムプロマイドによる非動化処理を施したラットを人工呼吸下で維持し、皮膚切開により露出させた浅部咬筋表層の血流変化をレーザースペックルイメージング法で観察した。交感神経性血管収縮反応は、頸部交感神経幹を末梢性に電気刺激することにより誘発し、副交感神経性血管拡張反応は、三叉神経の枝である舌神経を中枢性に電気刺激することにより、反射性に誘発 (三叉神経-副交感神経反射) させた。

レーザースペックルイメージング法では、咬筋表層の実像と同一視野のスペックル画像が得られるが、実像では、咬筋表層を走行する顔面神経幹が高輝度で検出されているのに対して (図6 A & B), スペックル画像では、咬筋に下側から血液を供給する顔面動脈の咬筋枝および上側から血液を供給する外頸動脈の咬筋枝、ならびに顔面神経幹に伴行する神経栄養血管が複雑に分岐する様子が高輝度で鮮明に検出された (図6 C)。この様にレーザースペックルイメージング法を用いることにより、カラーあるいはモノクロの映像では検出しにくい血管網の様子を鮮明に観察することができるため、血管網の発達を観察するような解剖学領域でも活躍することが期待される。

ラット浅部咬筋中を流れる血液は、無刺激状態でもその量や分布が異なり、浅部咬筋の筋腹上側や下側では中央部や吻側・尾側部に比べて高い血流値を示した (図7)。舌神経を電気刺激して、反射性に副交感神経性血管拡張線維を活性化させた際には、浅部咬筋表面の広い範囲で血流が有意に増加したが、その大きさには部位差

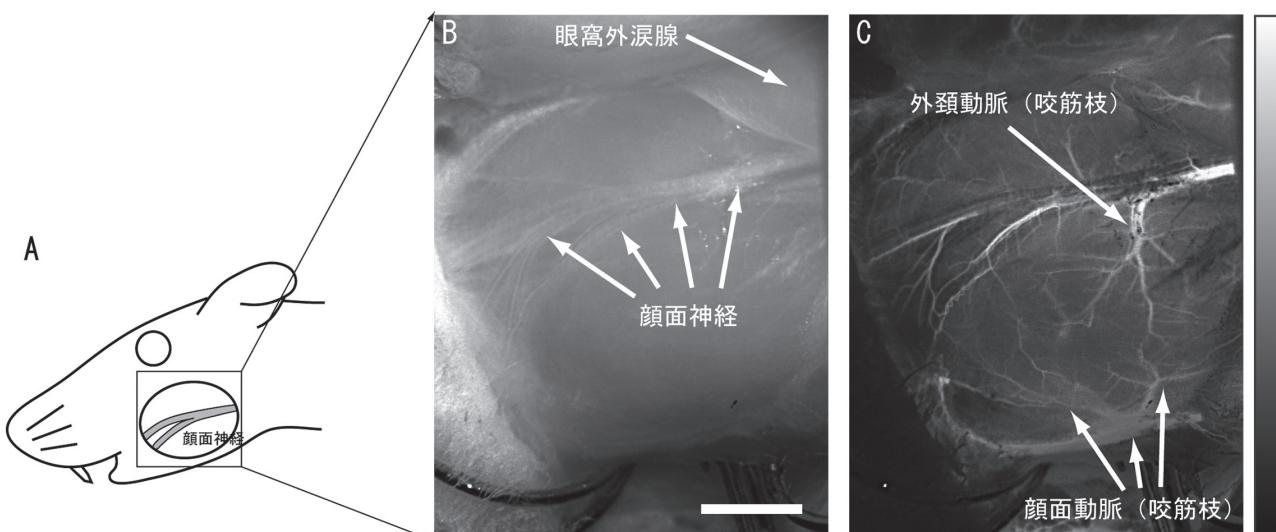


図6 ラット咬筋とその周辺組織の実像とスペックル画像

(A) ラット頭部の模式図。(B) レーザースペックルイメージング血流計を用いて取得したラット咬筋表面の実像。(C) Bと同一部位のスペックル画像。スペックル画像では、血流量もしくは血流変化が大きい部位が高輝度で表される。スケールバーは、5 mmを示す。

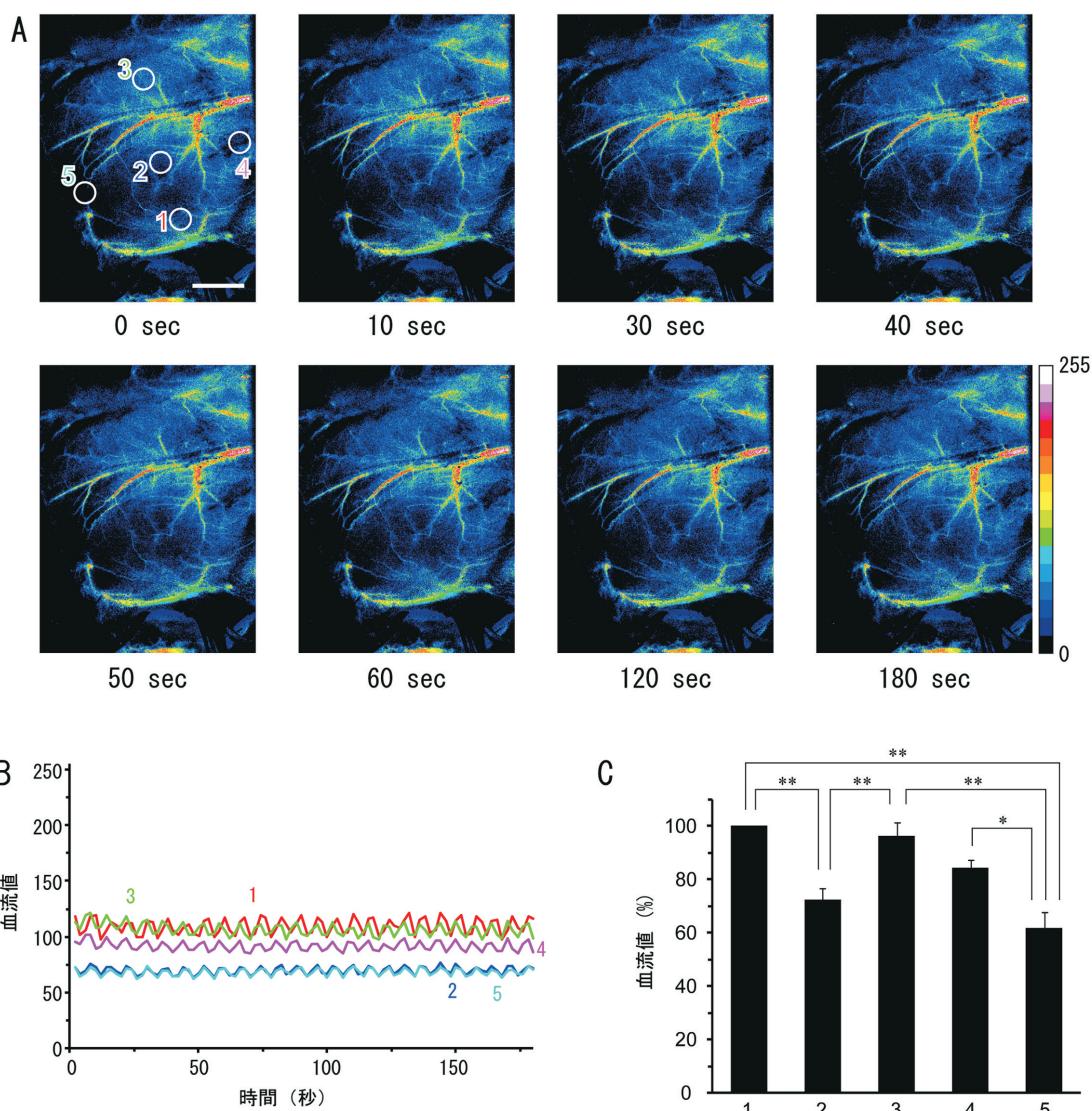


図7 ラット咬筋の無刺激時の血流値

(A) スペックル画像の経時変化 (8 bit階調で疑似カラー表示)。スケールバーは、5 mmを示す。(B) ラット咬筋筋腹 (下側①, 中央②, 上側③, 尾側④, 吻側部⑤) の血流値の経時変化。(C) 各部位の血流値 (10~50秒までの血流値の平均) のまとめ。n=11. *P<0.01, **P<0.001.

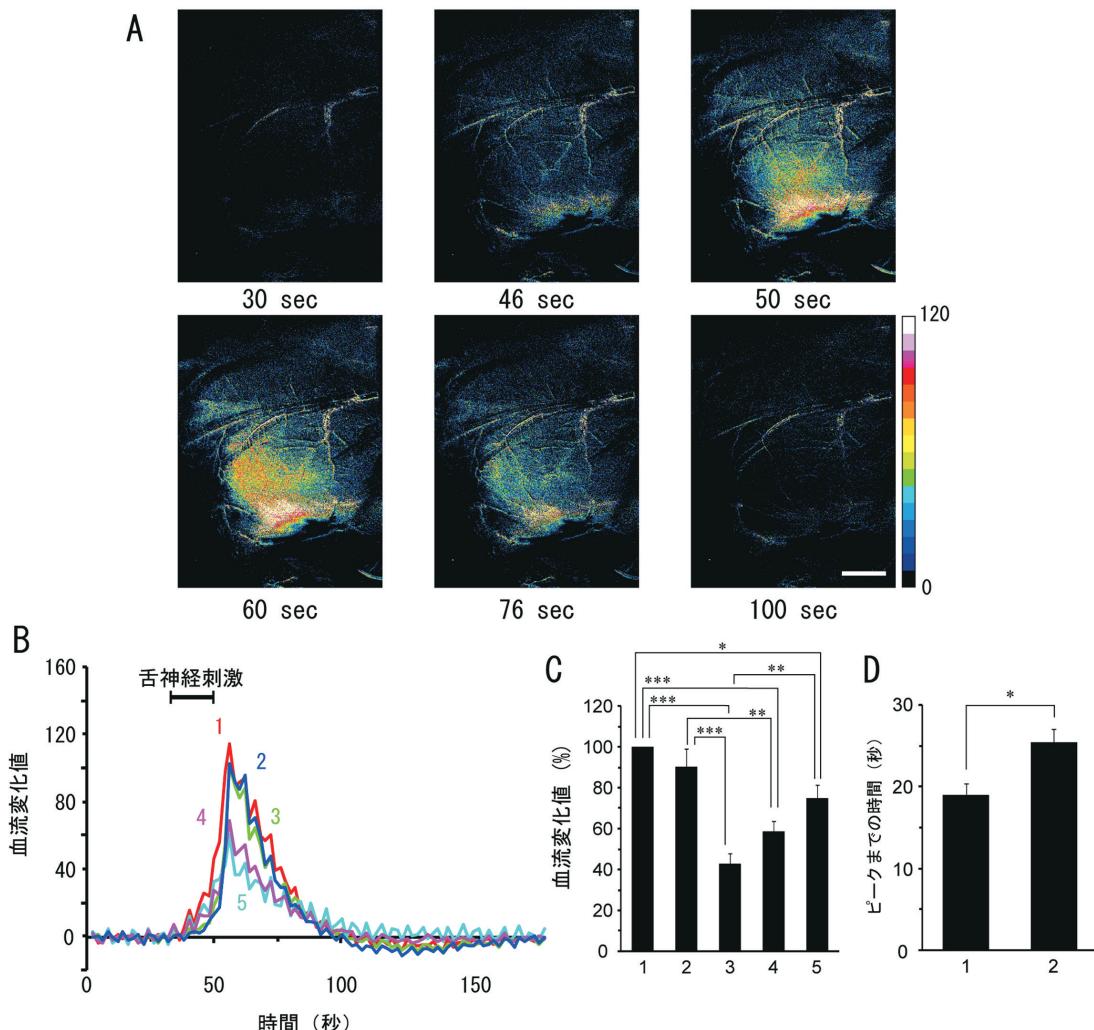


図8 ラット咬筋の副交感神経性血管拡張反応

(A) スペックル画像(各々のピクセルから刺激前の血流値を差し引いた物)の経時変化(8 bit階調で疑似カラー表示)。スケールバーは,5 mmを示す。(B) ラット咬筋筋腹(下側①, 中央②, 上側③, 尾側部④, 吻側部⑤)の血流変化値の経時変化。(C) 各部位の血流変化値(ピーク値)のまとめ。(D) 下側①と中央部②における刺激開始時間からのピーク到達時間のまとめ。n = 7. *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

が認められた(図8).特に、浅部咬筋下側を走行する顔面動脈の咬筋枝から筋腹下側、さらに中央部へと血流が拡散する様子が観察された(図8 A).この結果は、浅部咬筋に対する血液の大部分が顔面動脈の咬筋枝から供給される事を示すものであり、外頸動脈の咬筋枝は深部に分布し、顔面動脈の咬筋枝が浅部に分布するという解剖学的な知見(Suzuki, 1989)と一致する。同様に交感神経性血管収縮反応時に認められる血流減少反応にも部位差が認められた(図9)。無刺激時の血流値が高値を示す部位(筋腹上側や下側)では、その他の部位と比較してより大きな血流減少反応が認められ(図7 C & 9 C),一方で、無刺激時の血流値が低値を示す部位(中央部や吻側部)では、大きな血流増加反応が認められた(図7 C & 8 C)。これらの結果は、血流変動の大きさには、静止時の血流量が影響することを示唆している。骨格筋の筋線維は、酵素組織化学的方法によりI線維、IIA線維およびIIB線維に分類されており(Brooke & Kaiser,

1970), それぞれの線維間で、その酸素要求性や張力発生の持久力などが異なる。これらの筋線維は、ラット咬筋中にもその存在が確認されており(Kiliaridis et al., 1988), 浅部咬筋では、酸素要求性が高いIIA線維の割合が尾側部と比較して吻側部で多いと報告されている(Sano et al., 2007)。我々の血流動態観察の結果では、吻側部では、尾側部と比較してより大きな血流増加反応が認められたため、この結果から、筋線維タイプの分布の違い、特にその酸素要求性と血流増加反応との関連が示唆された。

今回の実験から、レーザースペックルイメージング法を用いることによって、ラット浅部咬筋では、無刺激時、血管拡張反応時ならびに血管収縮反応時の何れにおいても血流動態に部位差が有ることが判明した。これまでに松尾ら(1995)は、レーザードップラー血流計と2本の測定プローブを用いて、ラット浅部咬筋の吻側部と尾側部の血流動態に差が有ることを報告しているが、筋

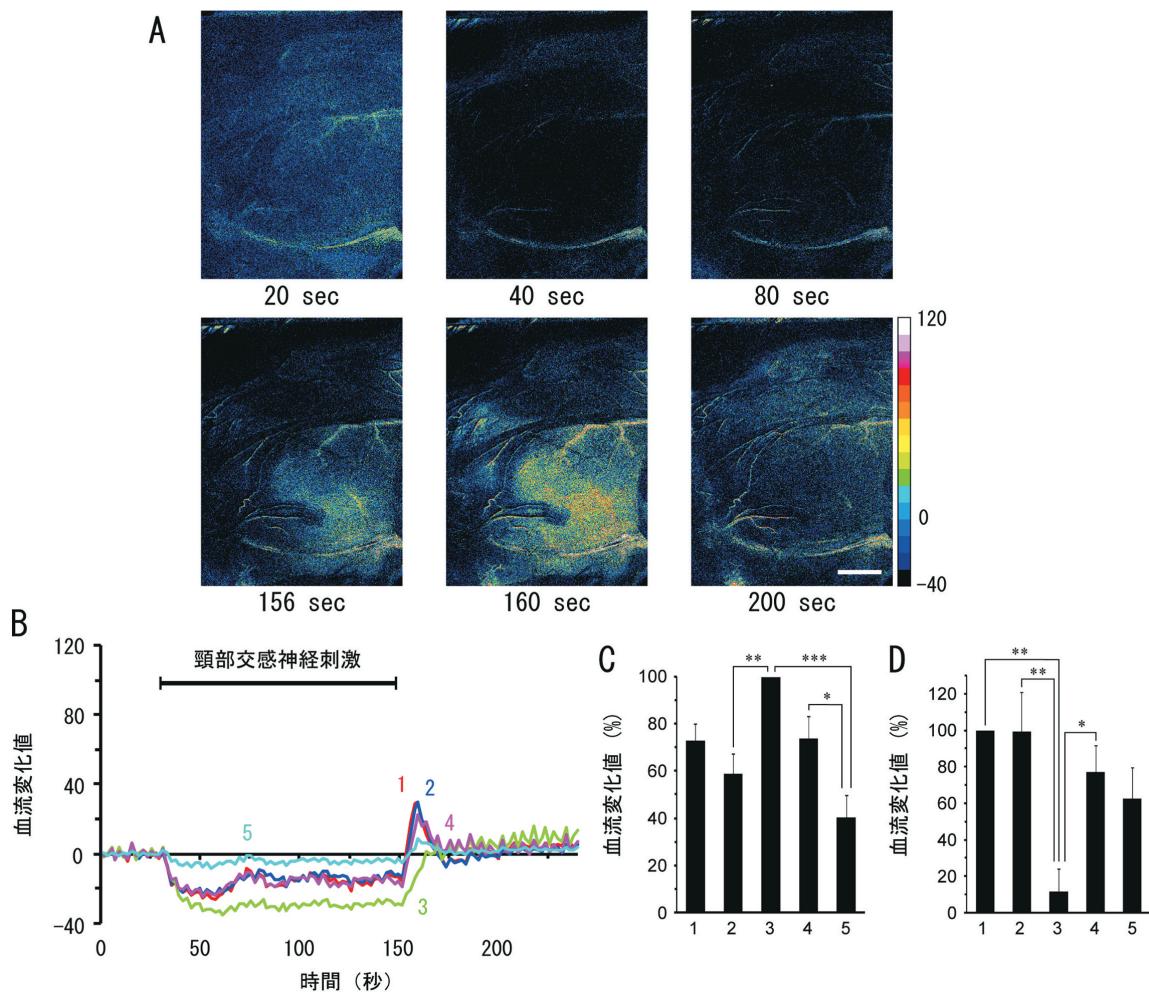


図9 ラット咬筋の交感神経性血管収縮反応

(A) スペックル画像 (各々のピクセルから刺激前の血流値を差し引いた物) の経時変化 (8 bit階調で疑似カラー表示). スケールバーは、5 mmを示す. (B) ラット咬筋筋腹 (下側①, 中央②, 上側③, 尾側部④, 吻側部⑤) の血流変化値の経時変化. (C) 各部位の血流変化値 (ピーク値) のまとめ. (D) 血流回復層 (152–180秒) における各部位の血流変化値 (ピーク値) のまとめ. $n = 5$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

腹全体の血流動態の部位差ならびに血管拡張反応時に血液が供給されていく過程を観察したのは我々の報告 (Niioka et al., 2009b) が初めてであり、レーザースペックルイメージング法の利点・特徴を十分に生かして得られた結果である。

また我々は近年、顔面神経幹に伴行する神経栄養血管の血流動態および血流調節機序の解明を目的として、同様にレーザースペックルイメージング法を用いた血流動態の観察を行った。顔面神経栄養血管は、太い部分でもその直径が約100 μm であり走行途中で複雑に分岐を繰り返す (図10)。この様な血管の血流動態を分岐間で比較するといった様な詳細な解析も、レーザースペックルイメージング法を用いることで容易に行うことができると考えられる。

またレーザースペックルイメージング法は、眼底血管 (Fujii, 1994; Shimazawa et al., 1999; Tomita et al., 1999; Hirose et al., 2008; Watanabe et al., 2008a), 脳血管 (Sakata et al., 2009; Tsukuda et al., 2009; Guo et al.,

2010; Iwanami et al., 2010; Nishio et al., 2010), 皮膚血流 (Yamamoto et al., 1993, 1995; Tawa et al., 2010), 腎単一ネフロンの血流測定 (Holstein-Rathlou et al., 2011) 等、様々な領域における基礎研究での血流測定にも導入されている。

さらに近年では、レーザースペックル現象を顕微鏡下で高倍率の対物レンズを使用して観察することによって、植物あるいは動物の単一細胞における細胞質の流動を観察する試みがなされている (平川, 2007)。現在単一細胞の細胞動態の観察には、レーザー走査型蛍光顕微鏡が広く用いられている。これは、細胞に蛍光指示薬あるいは、遺伝子操作によって蛍光タンパク質を導入し、特定波長のレーザー光により励起された蛍光を観察する手法であり、特定分子群 (時には単一分子) の挙動を高時間分解能で画像データとして検出することが可能な手法である (顕微鏡コースブック, 2007)。蛍光タンパク質 (Green fluorescence protein, GFP) の発見は、2008年に日本人 (下村脩) を含む研究グループがノーベル化学賞

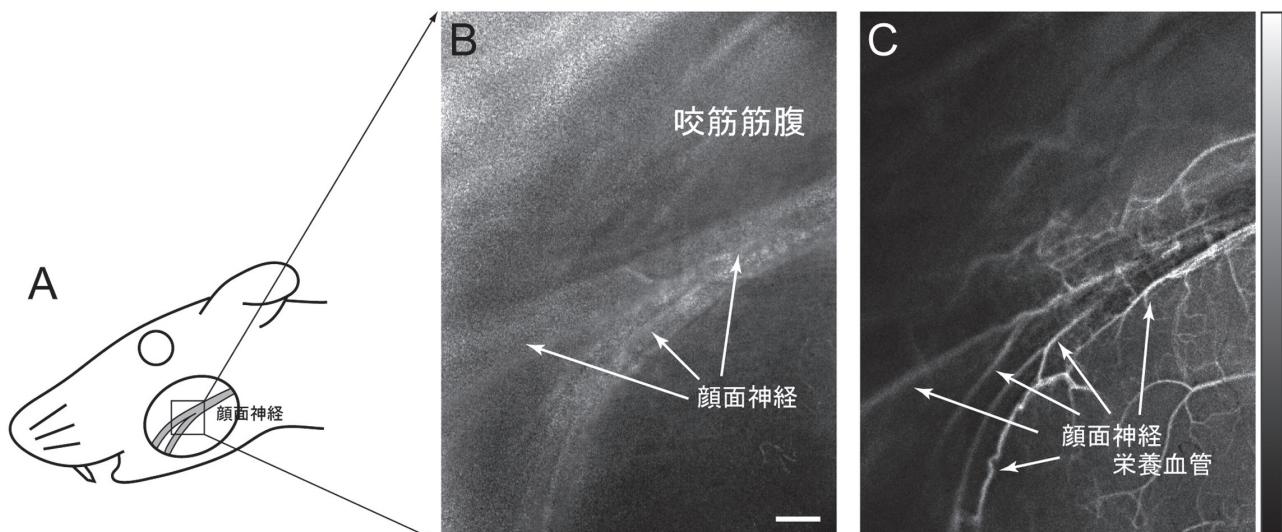


図10 ラット左側顔面神経とその栄養血管の実像とスペックル画像

(A) ラット頭部の模式図。(B) レーザースペックルイメージング血流計を用いて取得した顔面神経とその周囲の実像。(C) Bと同一部位のスペックル画像。スペックル画像では、血流量もしくは血流変化が大きい部位が高輝度で表される。スケールバーは、1 mmを示す。

を受賞したというニュースが記憶に新しく、世界中に多大な貢献をした。しかしその一方で、蛍光タンパク質や蛍光指示薬は比較的分子量が大きいため、蛍光物質で標識することができない。現状では、単一細胞から検出されるレーザースペックルの変動が、どの分子に由来する物なのかを特定するには至っていないが、蛍光を検出する単一細胞の観察と比較して、細胞に対する処理を一切必要としない点が大きな利点であると言える。この例は、細胞質の流動を観察したものであったが、レーザースペックルイメージング法は対物レンズと組み合わせることも可能である。極端に高倍率にしてしまうと「広範囲の血流を観察できる」という利点を縮小してしまうが、適切な観察部位と倍率を選択することによって、血流測定の範囲が広がることになるのではなかろうか。

第五章 レーザースペックルイメージング法の臨床応用

レーザースペックルイメージング法では、レーザー光を線状あるいは放射状に拡散させて組織に照射するため、レーザー光が網膜などの細胞に与える傷害性を無視できるレベルまで軽減することが可能である。加えて先に述べた広範囲の血流動態を高時間分解能で観察できるといった利点から、レーザースペックルイメージング法が最も臨床の場に導入されているのは、眼科領域である(鳥井ら, 1992; 前田ら, 2006; 廣石ら, 2008)。眼組織のうち、眼底に位置する脈絡膜、視神経乳頭ならびに網膜は、どれも眼球の光受容に重要な組織であり、その血流循環は、眼の生理的・病態生理的機能を考える上で非

常に重要である。臨床においては、血流測定方法が非侵襲的ということが最も重要な条件の一つであり、またある程度の範囲の血流を測定する必要もあるため、レーザースペックル原理の応用がいち早く進められ、国内でも眼底血管測定専用のレーザースペックル血流計が医療機器として認証を受けている(Softcare., Ltd; LSFG-NAVI)。臨床領域での眼科用レーザースペックルイメージング法の導入により、緑内障治療薬として用いられている交感神経遮断薬や脳血流の改善などに用いられているカルシウム拮抗薬が網膜、脈絡膜および視神経乳頭末梢循環に及ぼす影響などが報告され(Tamaki et al., 1996a,b; 1997)，眼科臨床に興味深い情報を提供している。

また眼科領域以外では、もやもや病の患者や脳血管に動脈瘤を有する患者にバイパス手術を行う際に、術中の一時的な虚血や術後の血流回復を、簡便に、迅速に、そして非侵襲性に確認できるメリットからレーザースペックルイメージング法が使用されている(Hecht et al., 2009)。

第六章 レーザースペックルイメージング法の歯科領域への導入

歯科補綴領域では、義歯床下粘膜の血流動態の解明とこれを指標とした義歯の治療評価法の確立を目指して、レーザースペックルイメージング法を改良して歯科領域に適用し、予備実験として局所麻酔前後の口蓋粘膜の血流動態を測定した例が報告されている(大久保ら, 1998)。その結果、局所麻酔薬に含まれるエピネフリンの作用により、局所麻酔薬投与後の口蓋粘膜の血流が投与前と比較して有意に減少する様子を観察するのに成功

した。大久保らは、この口腔領域用に改良したレーザースペックルイメージング法が、義歯床下の広範囲にわたる口蓋粘膜の血流を二次元の画像データから視覚的に測定する事ができ、しかも部位間で血流値を比較しての評価ができる事から、床下粘膜さらには義歯の評価に臨床応用することが可能であると考えている。

第七章 おわりに

本稿では、近年開発されたレーザースペックル血流計に関して、その原理の概要と基礎研究ならびに臨床の場での応用を紹介してきた。レーザースペックル血流計の最大の特徴・利点は、広範囲の血流動態を無侵襲・高時間分解能で連続的な画像データとして測定できるという点であり、様々な基礎研究の場や臨床の場（特に眼科領域）で用いられている。その一方で、サンプル表層の情報しか得ることができない、血流速度の絶対値を得ることができない、サンプルの動きが測定結果に影響してしまう等の欠点もあり、個々の特徴的には他の血流測定機器の方が勝る部分もある。そのため、必要に応じて最適な血流測定機器を選択することが最も重要であるが、これまでに開発してきた血流測定法の中では、レーザースペックルイメージング血流計は、最もバランスの取れた機器の一つであり、今後も基礎研究および臨床、特に歯科領域にも新たな興味深いデータを提供することが予想される。

参考文献

- Blanksma NG, Van Eijden TM & Weijs WA. Electromyographic heterogeneity in the human masseter muscle. *J Dent Res* 71: 47–52, 1992.
- Brooke MH & Kaiser KK. Muscle fiber types : how many and what kind? *Arch Neurol* 23: 369–379, 1970.
- Eriksson PO & Thornell LE. Histochemical and morphological muscle-fibre characteristics of the human masseter, the medial pterygoid and the temporal muscles. *Arch Oral Biol* 28: 781–795, 1983.
- Forrester KR, Stewart C, Tulip J, Leonard C & Bray RC. Comparison of laser speckle and laser Doppler perfusion imaging : measurement in human skin and rabbit articular tissue. *Med Biol Eng Comput* 40: 687–697, 2002.
- Forrester KR, Tulip J, Leonard C, Stewart C & Bray RC. A laser speckle imaging technique for measuring tissue perfusion. *IEEE Trans Biomed Eng* 51: 2074–2084, 2004.
- Fujii H. Visualisation of retinal blood flow by laser speckle flow-raphy. *Med Biol Eng Comput* 32: 302–304, 1994.
- Guo Q, Wang G & Namura S. Fenofibrate improves cerebral blood flow after middle cerebral artery occlusion in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 30: 70–78, 2010.
- Haining JL, Turner MD & Pantall RM. Measurement of local cerebral blood flow in the unanesthetized rat using a hydrogen clearance method. *Circ Res* 23: 313–324, 1968.
- Hecht N, Woitzik J, Dreier JP & Vajkoczy P. Intraoperative monitoring of cerebral blood flow by laser speckle contrast analysis. *Neuro-surg Focus* 27: E11, 2009.
- 平川靖之. レーザースペックル顕微鏡による生体細胞・組織活動のイメージング. *日本レーザー医学会誌* 28: 129–135, 2007.
- Hilton SM & Lywood DW. A photoelectric drop-counter. *J Physiol* 123: 64–66, 1954.
- 廣石悟朗, 廣石雄二郎, 長谷川裕平, 藤居 仁, 石橋達朗. 炭酸脱水酵素阻害点眼薬による視神経乳頭循環への影響. *臨床眼科* 62: 733–737, 2008.
- Hirose S, Saito W, Yoshida K, Saito M, Dong Z, Namba K, et al. Elevated choroidal blood flow velocity during systemic corticosteroid therapy in Vogt–Koyanagi–Harada disease. *Acta Ophthalmol* 86: 902–907, 2008.
- Hoffbrand BI & Forsyth RP. Validity studies of the radioactive microsphere method for the study of the distribution of cardiac output, orn blood flow, and resistance in the conscious rhesus monkey. *Cardiovasc Res* 3: 426–432, 1969.
- Holloway GA, Jr. & Watkins DW. Laser Doppler measurement of cutaneous blood flow. *J Invest Dermatol* 69: 306–309, 1977.
- Holstein–Rathlou NH, Sosnovtseva OV, Pavlov AN, Cupples WA, Sorensen CM & Marsh DJ. Nephron blood flow dynamics measured by laser speckle contrast imaging. *Am J Physiol Renal Physiol* 300: F319–F329, 2011.
- Ishii H, Niioka T & Izumi H. Parasympathetic Vasodilator Fibers in Masseter Muscle. *Journal of Oral Biosciences* 49: 163–172, 2007a.
- Ishii H, Niioka T, Watanabe H & Izumi H. Inhibitory effects of excess sympathetic activity on parasympathetic vasodilation in the rat masseter muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R729–R736, 2007b.
- Ishii H, Niioka T & Izumi H. Circulating adrenaline released by sympathetic activation elicits acute vasodilatation in the rat masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 486–494, 2009a.
- Ishii H, Niioka T & Izumi H. Difference between male and female rats in cholinergic activity of parasympathetic vasodilatation in the masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 533–542, 2009b.
- Ishii H, Niioka T & Izumi H. Vagal visceral inputs to the nucleus of the solitary tract : involvement in a parasympathetic reflex vasodilator pathway in the rat masseter muscle. *Brain Res* 1312: 41–53, 2010.
- 石井久淑, 和泉博之. 咀嚼筋の自律神経系を介する血管拡張反応 骨格筋における新たな血流増加機構. *北海道医療大学歯学雑誌* 29: 1–22, 2010.
- Ishii H, Niioka T & Izumi H. Parasympathetic reflex vasodilatation in the masseter muscle compensates for carotid hypoperfusion during the vagus-mediated depressor response. *Brain Res* 1370: 145–153, 2011.
- Ishii H, Niioka T, Sudo E & Izumi H. Evidence for parasympathetic vasodilator fibres in the rat masseter muscle. *J Physiol* 569: 617–629, 2005.
- Iwanami J, Mogi M, Tsukuda K, Min LJ, Sakata A, Jing F, et al. Low dose of telmisartan prevents ischemic brain damage with peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation in diabetic mice. *J Hypertens* 28: 1730–1737, 2010.
- Izumi H & Karita K. Selective excitation of parasympathetic nerve fibers to elicit the vasodilatation in cat lip. *J Auton Nerv Syst* 37: 99–107, 1992a.

- Izumi H & Karita K. Somatosensory stimulation causes autonomic vasodilatation in cat lip. *J Physiol* 450: 191–202, 1992b.
- Izumi H & Karita K. Innervation of the cat lip by two groups of parasympathetic vasodilator fibres. *J Physiol* 465: 501–512, 1993.
- Izumi H & Karita K. Parasympathetic-mediated reflex salivation and vasodilatation in the cat submandibular gland. *Am J Physiol* 267: R747–R753, 1994a.
- Izumi H & Karita K. The parasympathetic vasodilator fibers in the trigeminal portion of the distal lingual nerve in the cat tongue. *Am J Physiol* 266: R1517–R1522, 1994b.
- Izumi H. Reflex parasympathetic vasodilatation in facial skin. *Gen Pharmacol* 26: 237–244, 1995.
- Izumi H, Nakamura I & Karita K. Effects of clonidine and yohimbine on parasympathetic reflex salivation and vasodilatation in cat SMG. *Am J Physiol* 268: R1196–R1202, 1995.
- 和泉博之. 顔面領域での反射性副交感神経を介した血管拡張反応について. *循環制御* 16: 322–330, 1995.
- Izumi H, Ito Y, Sato M, Karita K & Iwatsuki N. Effects of inhalation anesthetics on parasympathetic reflex vasodilation in the lower lip and palate of the cat. *Am J Physiol* 273: R168–R174, 1997.
- Izumi H & Ito Y. Sympathetic attenuation of parasympathetic vasodilatation in oro-facial areas in the cat. *J Physiol* 510: 915–921, 1998a.
- Izumi H & Ito Y. Sympathetic attenuation of parasympathetic vasodilatation in oro-facial areas in the cat. *J Physiol* 510: 915–921, 1998b.
- Izumi H. Functional roles played by the sympathetic supply to lip blood vessels in the cat. *Am J Physiol* 277: R682–R689, 1999a.
- Izumi H. Nervous control of blood flow in the orofacial region. *Pharmacol Ther* 81: 141–161, 1999b.
- Izumi H, Nakamura I & Ishii H. Suppression of inferior alveolar nerve-induced vasoconstrictor response by ongoing cervical sympathetic nerve activity in cat. *Arch Oral Biol* 49: 1035–1041, 2004.
- 和泉博之. 顔面口腔領域での血管運動神経. 東日本歯学雑誌 23: 153–174, 2004a.
- 和泉博之. 顔面口腔領域での副交感性血管拡張反応について. 東北大学歯学雑誌 23: 11–25, 2004b.
- 和泉博之. 【三叉神経と顔面神経 update】機能解剖学 三叉神経-自律神経反射. *Clinical Neuroscience* 23: 988–989, 2005.
- Izumi H, Ishii H & Niioka T. Parasympathetic Vasodilator Fibers in the Orofacial Region. *Journal of Oral Biosciences* 48: 30–41, 2006.
- Karita K & Izumi H. Somatosensory afferents in the parasympathetic vasodilator reflex in cat lip. *J Auton Nerv Syst* 39: 229–234, 1992.
- Karita K & Izumi H. Dual afferent pathways of vasodilator reflex induced by lingual stimulation in the cat. *J Auton Nerv Syst* 45: 235–240, 1993.
- 顕微鏡コースブック阪北. 講義と実習 生細胞蛍光イメージング, 原口徳子, 木村 宏, 平岡 泰, 編: 共立出版株式会社, 2007.
- Kiliaridis S, Engstrom C & Thilander B. Histochemical analysis of masticatory muscle in the growing rat after prolonged alteration in the consistency of the diet. *Arch Oral Biol* 33: 187–193, 1988.
- Kobrine AI, Doyle TF & Martins AN. Spinal cord blood flow in the rhesus monkey by the hydrogen clearance method. *Surg Neurol* 2: 197–200, 1974.
- Koeda S, Ishii H, Kuchiiwa S & Izumi H. Role of the spinal trigeminal nucleus in the rat autonomic reflex. *Arch Oral Biol* 54: 1136–1142, 2009.
- Levine BA, Sirinek KR & Gaskill HV, 3rd. The radiolabeled microsphere technique in gut blood flow measurement—current practice. *J Surg Res* 37: 241–255, 1984.
- Lewis T. Observations upon the reactions of the vessels of the human skin to cold. *Heart* 15: 177–208, 1930.
- Love WD. Isotope Clearance and Myocardial Blood Flow. *Am Heart J* 67: 579–582, 1964.
- 前田祥恵, 今野伸介, 松本奈緒美, 大塚賢二. CCDカメラを用いた新しいレーザースペックルフローラフィーによる健常人における視神経乳頭および網脈絡膜組織血流測定. *眼科* 48: 129–133, 2006.
- Matsuo R, Ikebara A, Nokubi T & Morimoto T. Inhibitory effect of sympathetic stimulation on activities of masseter muscle spindles and the jaw jerk reflex in rats. *J Physiol* 483: 239–250, 1995.
- Mizuta K, Karita K & Izumi H. Parasympathetic reflex vasodilatation in rat submandibular gland. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R677–R683, 2000.
- Mizuta K, Mizuta F, Takahashi M, Ishii H, Niioka T & Izumi H. Effects of isoflurane on parasympathetic vasodilatation in the rat submandibular gland. *J Dent Res* 85: 379–383, 2006.
- Niioka T, Ishii H & Izumi H. Involvement of vasoactive intestinal polypeptide in the parasympathetic vasodilatation of the rat masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 909–916, 2009a.
- Niioka T, Ishii H & Izumi H. Regional differences in blood flow variation in rat masseter muscle. *Arch Oral Biol* 54: 1022–1028, 2009b.
- Nishio K, Ihara M, Yamasaki N, Kalaria RN, Maki T, Fujita Y, et al. A mouse model characterizing features of vascular dementia with hippocampal atrophy. *Stroke* 41: 1278–1284, 2010.
- 大久保昌和, 松本敏彦, 成田紀之, 飯島守雄, 小林久純, 伊藤誠康, 中庭敏博, 藤井居. 歯科用血流画像化装置の開発. 日本補綴歯科学会雑誌 42: 754–759, 1998.
- Reid JM & Spencer MP. Ultrasonic Doppler technique for imaging blood vessels. *Science* 176: 1235–1236, 1972.
- Riva C, Ross B & Benedek GB. Laser Doppler measurements of blood flow in capillary tubes and retinal arteries. *Invest Ophthalmol* 11: 936–944, 1972.
- Sakata A, Mogi M, Iwanami J, Tsukuda K, Min LJ, Fujita T, et al. Sex-different effect of angiotensin II type 2 receptor on ischemic brain injury and cognitive function. *Brain Res* 1300: 14–23, 2009.
- Samueloff S, Miday R, Wasserman D, Behrens V, Hornung R, Asbury W, et al. A peripheral vascular insufficiency test using photocell plethysmography. *J Occup Med* 23: 643–646, 1981.
- Sano R, Tanaka E, Korfage JA, Langenbach GE, Kawai N, van Eijden TM, et al. Heterogeneity of fiber characteristics in the rat masseter and digastric muscles. *J Anat* 211: 464–470, 2007.
- Sequeira RF, Light LH, Cross G & Raftery EB. Transcutaneous aortography. A quantitative evaluation. *Br Heart J* 38: 443–450, 1976.
- Shepherd JT, Rusch NJ & Vanhoutte PM. Effect of cold on the blood vessel wall. *Gen Pharmacol* 14: 61–64, 1983.
- Shimazawa M, Sugiyama T, Azuma I, Araie M, Iwakura Y, Watari M, et al. Effect of lomerizine, a new Ca^{2+} channel blocker, on the microcirculation in the optic nerve head in conscious rabbits: a study using a laser speckle technique. *Exp Eye Res* 69: 185–193, 1999.
- Stern MD, Lappe DL, Bowen PD, Chimosky JE, Holloway GA, Jr., Keiser HR, et al. Continuous measurement of tissue blood flow by laser-Doppler spectroscopy. *Am J Physiol* 232: H441–H448, 1977.

- Sudo E, Ishii H, Niioka T, Hirai T & Izumi H. Parasympathetic vasodilator fibers in rat digastric muscle. *Brain Res* 1302: 125–131, 2009.
- Suzuki T. Arterial supply to the masseter muscle in the rat. *Kaibogaku Zasshi* 64: 8–17, 1989.
- 高木健太郎, 永坂鉄夫. 末梢循環とその病態生理, 末梢循環研究会, 編VII 皮膚: 東京大学出版会, 1967, 241–257.
- Tamaki Y, Araie M, Tomita K & Tomidokoro A. Time-course of changes in nicardipine effects on microcirculation in retina and optic nerve head in living rabbit eyes. *Jpn J Ophthalmol* 40: 202–211, 1996a.
- Tamaki Y, Araie M, Tomita K & Tomidokoro A. Time change of nicardipine effect on choroidal circulation in rabbit eyes. *Curr Eye Res* 15: 543–548, 1996b.
- Tamaki Y, Araie M, Tomita K, Tomidokoro A & Nagahara M. Effects of topical adrenergic agents on tissue circulation in rabbit and human optic nerve head evaluated with laser speckle tissue circulation analyzer. *Surv Ophthalmol* 42: S52–S63, 1997.
- Tawa H, Rikitake Y, Takahashi M, Amano H, Miyata M, Satomi-Kobayashi S, et al. Role of afadin in vascular endothelial growth factor- and sphingosine1-phosphate-induced angiogenesis. *Circ Res* 106: 1731–1742, 2010.
- Tomita K, Araie M, Tamaki Y, Nagahara M & Sugiyama T. Effects of nilvadipine, a calcium antagonist, on rabbit ocular circulation and optic nerve head circulation in NTG subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40: 1144–1151, 1999.
- 鳥井秀雄, 中村隆平, 藤居 仁, 他. 網膜剥離眼におけるレーザースペックル法による眼底血流画像化. *眼科臨床医報* 86: 1957–1962, 1992.
- Tsukuda K, Mogi M, Iwanami J, Min LJ, Sakata A, Jing F, et al. Cognitive deficit in amyloid-beta-injected mice was improved by pretreatment with a low dose of telmisartan partly because of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Hypertension* 54: 782–787, 2009.
- Van Eijden TM & Raadsheer MC. Heterogeneity of fiber and sarcomere length in the human masseter muscle. *Anat Rec* 232: 78–84, 1992.
- Watanabe G, Fujii H & Kishi S. Imaging of choroidal hemodynamics in eyes with polypoidal choroidal vasculopathy using laser speckle phenomenon. *Jpn J Ophthalmol* 52: 175–181, 2008a.
- 渡邊秀和, 新岡丈治, 石井久淑, 和泉博之. 二次元レーザー血流計を用いた血流測定の特徴. *北海道医療大学歯学雑誌* 25: 109–117, 2006.
- Watanabe H, Ishii H, Niioka T, Yamamoto M & Izumi H. Occurrence of parasympathetic vasodilator fibers in the lower lip of the guinea-pig. *J Comp Physiol B* 178: 297–305, 2008b.
- Wells PT, Halliwell M, Skidmore R, Webb AJ & Woodcock JP. Tumour detection by ultrasonic Doppler blood-flow signals. *Ultrasonics* 15: 231–232, 1977.
- Yamamoto Y, Ohura T, Nohira K, Sugihara T & Fujii H. Two-dimensional analysis of hemodynamic changes in axial and random pattern flaps. *J Reconstr Microsurg* 11: 333–337; discussion 338, 1995.
- Yamamoto Y, Ohura T, Nohira K, Sugihara T, Minakawa H, Igawa H, et al. Laserflowgraphy: a new visual blood flow meter utilizing a dynamic laser speckle effect. *Plast Reconstr Surg* 91: 884–894, 1993.
- Yasuda M & Izumi H. Trigeminal nerve-mediated reflex arterial blood pressure decrease and vasodilatation in lower lip of the rabbit. *Brain Res* 987: 59–66, 2003.
- Young CM & Hopewell JW. The evaluation of an isotope clearance technique in the dermis of pig skin: a correlation of functional and morphological parameters. *Microvasc Res* 20: 182–194, 1980.

新岡 丈治
北海道医療大学 薬学部 人間基礎科学講座 (生物学)

略歴

- 平成12年3月 昭和大学 薬学部 卒業
平成12年4月 昭和大学大学院 薬学研究科 薬理学専攻 博士前期課程入学
平成14年3月 同 修了
平成14年3月 学位取得 (薬学修士 昭和大学第566号)
平成14年4月 昭和大学大学院 薬学研究科 薬理学専攻 博士後期課程入学
平成16年4月 北海道医療大学 歯学部 口腔生理学講座 助手
平成17年3月 昭和大学大学院 薬学研究科 薬理学専攻 博士後期課程修了
平成17年3月 学位取得 (薬学博士 昭和大学第1898号)
平成19年4月 北海道医療大学 歯学部 口腔生物学系 生理学分野 助教(名称変更)
平成23年4月 北海道医療大学 薬学部 人間基礎科学講座 (生物学) 講師
現在に至る



[Review]

A Short Review of Bangladesh Dentistry

Mohammad Ali Akbor Polan and Takashi Saito

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Kanazawa 1757, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061–0293 Japan.

Abstract

The story of Bangladesh dentistry begins after the establishment of Dhaka Dental College as a unit of Dhaka Medical College in 1961. By around 1980, the concept of dentistry finally entered the public's consciousness by the continuous efforts of many young dentists at that time. Still, the number of dentists and educational facilities was limited due to lack of financial and institutional support from public sector. However, in 1994, the government opened the door for the private sector to become involved in training young dentists. After that, a remarkable number of private dental colleges started their activities under Dhaka University. Now, public hospitals are providing out-patient clinics to make up for their lack of facilities. The private sector is also extending efforts to provide treatment by out-patient department services. However, interdisciplinary treatment facilities are only available in a few hospitals. Presently, in Bangladesh, a large number of initiatives are underway to increase the number of qualified dentists. Skilled technicians, adequate dental laboratories, equipment and training are necessary to upgrade dental practices. Improving mass awareness of people for oral health care is also very important. Print, electronic media, various social and professional bodies can play important roles in this effort. Recently Bangladesh has had remarkable success in achieving the target of Millennium Development Goals. Therefore, by the combined effort of the public and private sectors, it should be possible to improve the status of Bangladeshi dentistry in the near future.

Key words : Bangladesh Dentistry, Dental facilities, Dental training

1. Historical Background

Before 1971 Bangladesh was a part of Pakistan known as East Pakistan. On 16th December 1971 Bangladesh won its independence after a war of liberation (Hannan, 2001). Before liberation, patients were generally treated by non-qualified dentists and charlatans, or "quacks", who performed only extraction of teeth and the making of different types of dentures. Besides these quacks, there were also many Kobi-raji (persons using herbs, spells and other supernatural "treatment" methods) at that time. Kobi-raji visited door to door, offering various treatments for all kinds of illness in exchange for money. Peoples' general concept regarding dental treatment was very poor in this era. Dental care was neglected; tooth pain simply meant that the tooth must be extracted. In this situation Dhaka Dental College was established as a unit of Dhaka Medical College in 1961. M.M

Haque was the 1st principal and administrator of Dhaka Dental College at that time. At the beginning, there were only five students and no teacher. After 3 months Dr. A.H. S. Rahman from the Punjab region of India joined the college. In 1965 the five students obtained BDS (Bachelor of Dental Surgery) degrees from Dhaka University.

2. The Emergence of Dentistry in Bangladesh

Between the establishment of Dhaka Dental College in 1961 and 1980 there was no remarkable development of dentistry in Bangladesh. There were a few modern facilities and technologies for dentistry. However, in early 1980 there was a remarkable improvement in the field of dental education, research and treatment due to foreign scholarships offered by the Japanese government and supported by other organizations of Japan. After 1980 many dentists took the

Ph.D. and other post-graduated degree from Japan and other countries. Thus, a new era of Bangladesh dentistry was started at that time. The latest technologies, instruments and materials became available inside the country in a limited way. However, the number of qualified dental surgeon was still limited. The quack practitioners remained in business.

3. Present situation

1) Public Sector

As we know, Bangladesh is a developing country in south Asia with a population of 155 million. There is an alarmingly inadequate number of dentists, with the lowest dentist-to-patient ratio in the world. The scarcity of funds and skilled manpower is an ongoing problem for the development of the health sector. Due to various realities in the public sector, dentistry has not developed much yet. There are now only three dental institutes in Bangladesh. Among them, Dhaka Dental College is the only full-fledged dental college under Dhaka University (Fig.1). The other two are attached to the Chittagong and Rajshahi Medical Colleges, and don't have sufficient infrastructure or facilities³⁾. Dhaka Dental College has both an outpatient department (OPD) and inpatient department (IPD) facilities. Now every year only 210 students can be admitted in the public sector for a BDS degree (Government of the People's Republic of Bangladesh, Directorate General of Health Services, 2010). However, only a few years before, this facility was limited to 100 students. Besides these, three medical colleges and institutions in the country have inpatient facilities for maxillofacial surgery. The Bangladesh Sheikh Mujib (BSM) Medical University of Dhaka has been providing OPD, IPD and also specialty services in the field of dentistry. Dental treatment

service is also available in every 250-bed general hospital at the district level. This service is also available in some 100-bed district hospitals. There are around 70 such hospitals. In Bangladesh, there are OPD facilities at the grass-roots level. About 467 health complexes have OPD facilities at the grass-roots level. In addition, every medical college in the public sector has an OPD facility. Though this infrastructure exists, the numbers of dentists, technicians, instruments, necessary materials, lab facilities and skilled manpower are not sufficient. This is why the state of dental education and the availability of treatment facilities, though much improved, are still not very good in Bangladesh.

2) Private Sectors

Due to the scarcity of funds in the public sector, it is necessary for the private sector to initiate the development of the health sector of Bangladesh. It has been proven over the years that it is almost impossible for the government alone to implement a well-structured policy for its huge population. In this context, it becomes imperative for the government to consider the magnitude of the problem. Since 1994, the government has been encouraging the private sector to share the burden and help improve the health services in the country. Responding to changes in government policy, many non-government medical colleges and hospitals have been established in the past decades and are in the process of being set up. However, the expansion in the area of dentistry is still far below the desired level. In this context, on 20th April of 1995, Pioneer Dental College (*) obtained permission from the government and affiliated with Dhaka University. Within a couple of years, other private dental colleges started their activities. Among them, City Dental College



Fig.1 Dhaka Dental College, the only public dental college in Bangladesh.



Fig.2 City Dental College, one of the private dental colleges in Bangladesh.

(Fig.2), Sapporo Dental College (**), Pioneer Dental College and Bangladesh Dental College (****) are performing very active roles in the development of dentistry in Bangladesh. At present, there are about eight private dental colleges (Bangladesh Medical and Dental Council, 2006). One private dental college for women named Saphena Women's Dental College (****) also started activity recently. Due to the limited infrastructure and facilities, the performance of the private dental colleges is not uniformly good. Most of them don't have their own campus and hospital facilities. Some of them have their own campus, but the areas are very limited. These private dental colleges are also providing OPD service. On the other hand, the lack of skilled teaching staff and also other skilled manpower like technicians and lab worker is a burning issue. Recently, the situation has been changing day by day. Besides this, many dentists are running their private clinics for low-cost dental care of the masses. However, most private dental treatments in private clinics are expensive, so it is very difficult for the general populace to get treatment from a private clinic. At the present time, a few corporate hospitals such as Square, Lab aid and Apollo are providing dental treatment. However, their treatment fee is very high. Most of the people cannot afford to go there. Only some rich persons get services from this type of hospital. The Bangladesh Institute of Research and Rehabilitation for Diabetes, Endocrine and Metabolic Disorder (BIRDEM) is providing specialized OPD service for diabetic dental patients. But private dental treatment facilities are still limited only to city areas, mostly in Dhaka city and some other big cities. Thus, rural people must still travel far to visit dental treatment facilities.

3) Under-Graduate Education

The candidate must pass Secondary School Certificate (S.S.C.) and Higher Secondary Certificate (H.S.C.) Examinations from any one of the Secondary and Higher Secondary Education Boards of Bangladesh. The H.S.C. examination must be in Premedical Group, i.e. Science with Physics, Chemistry and Biology. The students must obtain at least 60% marks in the combined S.S.C and H.S.C. Examinations or equivalent qualifications. Detailed criteria for selection of candidates are determined from year to year by the Director General of Health Services in Medical Education & Health Manpower Development. A candidate selected for admission in the Dental College is obliged to follow the curriculum,

rules and regulations approved by the Bangladesh Medical and Dental Council and the respective University. The curriculum, rules and regulations are subject to changes from time to time (Ahsanullah, 2006).

The B.D.S course comprises eight terms in four years of studies, followed by a year of compulsory professional practice in the form of rotational internship. The medium of instruction and assessment is English.

A term having 20 weeks for teaching has at least 100 full working days and therefore approximately 600 hours of teaching time. On this basis each year has approximately 1200 hours of teaching time and the whole course has total 208 weeks academic time.

Subjects to be taught in each year are as follows :

1st year – Anatomy, Histology, Physiology, Biochemistry and Science of Dental Materials

2nd year – General & Dental Pharmacology, Pathology, Microbiology, Oral Anatomy, Physiology, Prosthetic Technique and Dental Public Health

3rd year – General Medicine, General Surgery, Oral Pathology, Periodontology, Prosthodontics, Conservative Dentistry & Endodontics, Oral & Maxillofacial Surgery, Orthodontics and Pediatric Dentistry

4th year – Oral & Maxillofacial Surgery, Conservative Dentistry & Endodontics, Prosthodontics, Orthodontics and Pediatric Dentistry

The seminar or integrated teaching system is introduced from the beginning of the 1st year and it is organized periodically, at the end of each system or topics. Each subject must introduce card and its satisfactory completion by the students should be obligatory before being sent up for the University Examination. At the end of each year, there is a University Examinations named as 1st Professional B.D.S, 2nd Professional B.D.S, 3rd Professional B.D.S and Final Professional B.D.S. Examinations. After passing all professional examinations successfully, every student has to complete a-year internship training. Then they can get the registration number from BMDC for practice.

4) Post-Graduate Education

In the past decades of Bangladeshi dentistry, there was no opportunity to have post-graduate education. Only a select few dentists went abroad to have post-graduate education. Japan, USA and UK were the main destinations of dentists

in Bangladesh for short- and long-term training courses, diplomas, MS degrees also Ph.Ds. Among them, Japan made a remarkable contribution to post-graduate dentistry education in Bangladesh. However, now, Bangladeshi dentists have some limited facilities for post-graduate studies. Dentists can take a diploma and MS degree from BSM Medical University in different disciplines. Dhaka Dental College also offers an MS degree under Dhaka University. Besides these, dentists can take a Fellow of College of Physicians and Surgeons (FCPS) degree from Bangladesh College of Physicians and Surgeons (BCPS). Everywhere dentists are facing tight competition for chances at this sort of post-graduate study because seats are very limited. Some professional bodies are also organizing seminars, symposiums and hands-on programs to improve the quality of dentistry. Furthermore, new-generation dental graduates are also interested in preventive dentistry and public health. They are taking MPH degrees from Dhaka University.

4. Treatment Facilities of Dentistry in Different Disciplines

1) Conservative Dentistry

Conservative dentistry is basically concerned with the conservation of teeth in the oral cavity. Dentists in Bangladesh deal with the diagnosis, treatment and consequences of dental caries by various types of restoration to maintain full function and aesthetic appearance. In endodontics, the basic treatments are various types of fillings, root canal treatment, surgical endodontics, endodontic implants, and different types of whitening and management of traumatized teeth (Ahsanullah, 2006). Presently, a good number of endodontists are practicing in Bangladesh but the level of sophistication is still very low. Use of a gyromatic handpiece and operating microscope should be started. Also, now a few private clinicians have started the use of lasers in their practice, mainly Low Level Laser Therapy (LLLT) and carbon dioxide laser. However, they are very expensive. Now Bangladesh has many more dentists who have a post-graduate degree in conservative dentistry and endodontics.

2) Oral & Maxillofacial Surgery

In case of maxillofacial surgery, various types of treatment facilities are provided for patients. These treat, for example, maxillofacial trauma, malignant diseases of the oral cavity, benign tumors, odontogenic cysts, non-odontogenic



Fig.3 Outpatient treatment at Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University.

cysts, maxillofacial deformity, congenital cleft of the lip and palate, odontogenic space infections, pericorneal infections, TM joint problems, maxillary antral pathology, impaction and many other diseases (Ahsanullah, 2006). Dhaka Dental College and BSM Medical University (Fig.3) have indoor facilities for maxillofacial surgery. In addition, three medical colleges and one institute have inpatient facilities for maxillofacial surgery. In the private sector, many hospitals are providing maxillofacial treatment. In private dental offices, dentists are also performing minor type surgical interventions. In facial deformity cases orthognathic surgery and distraction osteogenesis is an integral part of treatment. However, again, inadequate equipment and training are the problem. Microvascular reconstruction and TMJ surgery also require an expensive operating microscope and arthroscope. Presently, Bangladesh has a remarkable number of dentists who have a specialty in maxillofacial surgery. They are also taking different short- and long-term courses at home and abroad.

3) Orthodontics

Due to the socio-economical condition of the country, orthodontic treatment has not been that popular in the country. Recently, orthodontics has gradually become more popular. There are very many dentists with a specialty in orthodontics. They deal with mal-aligned teeth, mild skeletal deformity, and many other orthodontic problems (Ahsanullah, 2006). Due to the high cost of treatment facilities in the public sector are very limited. Treatment is available in the private sector, however, the number of specialist orthodontists are limited.

4) Prosthodontics

In the field of prosthodontics, Bangladeshi dentists pri-

marily deal with missing teeth, partial dentures, complete dentures, removable prostheses, fixed prostheses (crown and bridge), and maxillofacial prostheses (Ahsanullah, 2006). There is a critical lack of trained dental technicians and good lab facilities in Bangladesh. This is why the quality of the different prostheses is not up to the standard. However, recently, Bangladesh has developed a lot in this field. Especially, Bangladeshi dentists have started dental implant work in a limited way. Thus, good behind-the-scenes lab and technician support should be enhanced. Many younger-generation dentists are taking post-graduate study in prosthodontics. Thus, the future of prosthodontics is hopeful.

5) Children, Community and Preventive Dentistry

Presently in Bangladesh, this is a burning issue. Many foreign organizations like JICA, WHO and many other country-based NGOs are working in this field to increase mass awareness. Students of dentistry are getting education in this area in their final-year course. Newer-generation dentists are also taking post-graduate education in public health.

5. Future Prospects of Bangladesh Dentistry

For taking care of the oral health of a huge population, it is essential to increase the number of qualified dentists. Presently, in both the public and private sectors, a host of initiatives are underway to increase the number of qualified dentists. Also, skilled technicians, adequate dental laboratory, equipment and training opportunities are necessary to upgrade dentistry practices and standards (Fig.4). Mass awareness of the people for oral health care is also very important. Print, electronic media, and various social and pro-

fessional bodies can play important roles in this area. Recently Bangladesh has had remarkable success in achieving the target of Millennium Development Goals (MDG)(Rahman, 2005). Therefore, by the combined efforts of the public and private sectors, it may be possible to improve the status of Bangladeshi dentistry in the near future.

References

- Ahsanullah ABM. Dental Curriculum. Bangladesh Medical and Dental Council ; 2006.
- Bangladesh Medical and Dental Council. List of Recognized Government/Non-Government Medical Colleges. Bangladesh Medical and Dental Council ; 2006.
- Government of the People's Republic of Bangladesh, Directorate General of Health Services. Human Resource Situation of Health Sector –Health Situation of Bangladesh-. Government of the People's Republic of Bangladesh ; 2010.
- Hannan M. Political History of Bangladesh.Dhaka : Ananya ; 2001.
- Rahman S. Millennium Development Goals –Bangladesh Progress Report-. Dhaka : the Government of Bangladesh and the United Nations Country Team in Bangladesh ; 2005.

(*) <http://www.pioneerdentalcollegeandhospital.com/>

(**) <http://www.sapporodentalcollege.com.bd/index.html>

(***) <http://bdc-edu.com/>

(****) <http://www.saphenawdc.net/>



Fig.4 Hands-on training organized by Bangladesh Academy of Dentistry International in Dhaka in Jan.2011.



Mohammad Ali Akbor Polan

Education

- 1999 BDS from Dhaka Dental College, Under Dhaka University
2009 MPH from National Institute of Preventive and Social Medicine (NIPSOM), under Dhaka University

Professional Experiences

- 2001–2002 Honorary Dental Surgeon, Department of Oral Surgery, Dhaka Dental College and Hospital
2003–2009 Dental Surgeon, Upazilla Health Complexes and District Hospitals, Under Ministry of Health and Family Welfare of Bangladesh
2010–present PhD student, Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, Health Sciences University of Hokkaido

Membership in Professional Organization

Bangladesh Dental Society

〔原著〕

胎生期および生後マウス下顎頭軟骨における tenascin-C, fibronectinの免疫組織化学的研究

柴田 俊一¹⁾, 佐藤 麗²⁾, 田巻 玉器¹⁾, 小原 伸子¹⁾, 鈴木 裕子¹⁾

1) 北海道医療大学歯学部・口腔構造機能発育学系・組織学分野

2) 日本大学松戸歯学部矯正学講座

An immunohistochemical study of tenascin-C and fibronectin in mandibular condylar cartilage of fetal and postnatal mice

Shunichi SHIBATA¹⁾, Rei SATO²⁾, Tamaki YOKOHAMA-TAMAKI¹⁾, Nobuko OBARA¹⁾, Yuko SUZUKI¹⁾

1) Division of Histology, Department of Oral Growth and Development, Health Sciences University of Hokkaido

2) Department of Orthodontics, Dental school of University at Matsudo

Abstract

To investigate the functions of tenascin-C and fibronectin in mandibular condylar cartilage, immunohistochemical analyzes were performed in developing mouse mandibular condylar cartilage and cartilaginous anlagen of the tibia (tibial cartilage) as well as postnatal mandibular condylar cartilage. Fibronectin immunostaining was continuously detected within the cartilage matrix both in tibial and mandibular condylar cartilage, indicating the presence of fibronectin in the general cartilage matrix involved in the proliferation/maintenance of chondrocytes. Meanwhile tenascin-C immunostaining in the tibial cartilage was detected in the newly formed cartilage matrix but became limited to localized areas at the epiphyseal end with advancing age. In the mandibular condylar cartilage, however, tenascin-C immunostaining was mainly detected in the periosteum of mandibular bone, anlagen of condylar cartilage, and in the perichondrium and upper layer of the condylar cartilage during the fetal period. These tenascin-C positive areas showed weak fibronectin immunostaining, indicating that two molecules are present in a mutually exclusive pattern. Tenascin-C immunostaining was continuously detected in postnatal condylar cartilage in the fibrous cell zone, indicating this continuous immunostaining reflects structural features of condylar cartilage in terms of secondary cartilage and articular cartilage. Additionally, the mutual exclusive immunostaining pattern of both molecules implies the existence of competitive interactions in cartilage.

抄 錄

胎生期のマウス下顎頭軟骨と脛骨原基軟骨および生後の下顎頭軟骨におけるtenascin-Cとfibronectinの機能を検索する目的でこれらの分子の発現を免疫組織学的に検索した。Fibronectinの免疫染色は下顎頭軟骨、脛骨原基軟骨とも形成された軟骨基質全体に認められた事から、fibronectinは軟骨の一般的な細胞外基質成分として存在し、軟骨細胞の増殖や維持に関連していると推察された。一方、tenascin-Cの免疫染色は胎生期の脛骨原基軟骨において、日齢が進むにつれ次第に骨端部に限局する

ようになった。胎生期および生後の下顎頭軟骨形成・成長過程においては、tenascin-C mRNAの発現および免疫染色が主に軟骨形成前の間葉凝集、軟骨膜、線維層から多形細胞層までの層に認められた。この染色結果は下顎頭軟骨の二次軟骨としての、また関節軟骨としての機能を反映するものと考えられた。またtenascin-Cとfibronectinは相互排除的な染色パターンを示したことから、軟骨組織において両分子間の何らかの競合作用が推測された。

受付：平成23年3月30日

緒 言

下顎頭軟骨は側頭骨の下顎窩と下顎骨の下顎頭の間に形成される顎関節 (Temporo-Mandibular Joint : TMJ) の構成要素の一つであり、関節軟骨として咬合力を緩衝する働きがあると同時に顎顔面の1つの成長中心となっており、成長軟骨としても機能している。したがって顎関節症や顎顔面の発育異常にも関連が深く、口腔外科、矯正、小児歯科などの臨床的見地からも下顎頭軟骨の構造上の特徴を研究することは非常に重要であると考えられる。

発生学的に下顎頭軟骨は代表的な「二次軟骨」に分類されている。「二次軟骨」は正式な解剖学用語としては認められていないが、この軟骨の特徴をよく表しており、解剖学のみならず臨床でも広く用いられている。二次軟骨の正確な定義は確立していないが、1) 時期的に一次軟骨より、遅れて発生する。2) 二次軟骨の軟骨細胞は未分化間葉細胞から直接分化するのではなく、既存骨の骨膜に由来すること、が示されている (Beresford, 1981 ; Hall, 2005)。

筆者らは下顎骨関節突起の長軸に平行な断面、いわゆる冠状断切片を作成して検索した結果、胎齢14日にアルカリフォスファターゼ (ALP) 陽性の下顎頭軟骨の原基が間葉細胞凝集として、既に形成されている下顎骨の遠心に接する位置に認められ (Shibata et al., 1997)，胎齢14.5–15.0日に初めて軟骨組織がその間葉細胞凝集の中から生ずることを示した (Shibata et al., 1996 ; 1997 ; Fukada et al., 1999)。また筆者らは免疫組織化学およびin situ hybridizationの結果から、原基の間葉細胞が軟骨細胞に分化するやいなや直ちに (あるいは直接) 肥大軟骨細胞に分化すること (Shibata et al., 1997 ; Fukada et al., 1999)，骨形成に必須な転写因子であるRunx 2の遺伝子ノックアウトマウスにおいて、下顎骨のみならず下顎頭軟骨も欠損していること (Shibata et al., 2004)，下顎頭軟骨形成過程には軟骨形成に必須なSox 9とSox 5の発現とともに骨形成に必須な転写因子であるRunx 2, Osterixの発現低下が重要な要因であることなど (Shibata et al., 2006 ; Shibata & Yokohama-Tamaki, 2008)，下顎頭軟骨形成過程の構造上の特徴を明らかにしてきた。

Tenascin-Cは大型の糖タンパク質でtenascin familyの中で最初に発見された分子で単にtenascinといえばこの分子を指す。Tenascin-CはN末側にheptat構造、EGF様反復構造、fibronectin III型反復構造を持ち、C末側にはフィブリノーゲン様ドメインを持つ。Tenascin-Cはheptat構造で三量体となり、central domain構造でさらに六量体

となる (Erickson, 1993 ; 吉田&坂倉, 1997)。fibronectin III型反復構造に選択的スプライシング部位がありマウスでは7種、ヒトでは9種の変異種が知られている (Erickson, 1993 ; Sahlberg et al. 2001)。またこの部位にはヒトではRGD配列、マウスではRVD配列が認められる。この構造によりtenascin-Cはintegrinファミリーと結合でき、後述のfibronectinと同様な細胞接着分子と考えられていたが、現在ではEGF様反復構造、fibronectin III型反復構造の働きによる抗接着分子としての機能が注目されている。またフィブリノーゲン様ドメインはヘパリンと親和性を持つため、ヘパリン結合性成長因子との関連も推測され、細胞増殖、分化、遊走に関する機能も示唆されているが、細胞の種類、部位、状態によって起こる反応は多様性を示している (吉田&坂倉, 1997)。

In vivoにおいて、胎生初期ではtenascin-Cは原腸形成や神経堤細胞の移動時に発現し、その後歯を含む様々な器官の間葉凝集に発現する。軟骨組織に関しては四肢の長骨や肋骨原基の軟骨では多くの報告が認められ、胎生期の形成過程の軟骨膜、比較的分化度の低い軟骨細胞、あるいは気管軟骨のような永久軟骨の軟骨細胞に発現が認められ、分化(成熟)した軟骨細胞や生後の軟骨組織では発現が低下することから軟骨細胞の初期分化に関連すると推測されている (Mackie and Tucker, 1992 ; Tucker et al., 1993 ; Pacifici et al., 1993 ; Glumoff et al., 1994)。しかしながら下顎頭軟骨に関してはVäkeväら (1990) が生後5日および20日のラット下顎頭軟骨の増殖軟骨細胞層に免疫染色が認められるという報告が一例あるのみで、下顎頭軟骨の発生過程と胎生期の成長過程および生後の成長過程における経時変化に関する報告は認められない。したがって本研究の主な目的はこれらの過程でのtenascin-Cの発現を免疫組織化学的に検索し、長骨における所見と比較しつつ、胎生期および生後発育におけるこの分子の働きを明確にすることである。

一方、fibronectinは血漿タンパクとして存在すると同時に主要な細胞外基質成分としても存在し、現在までに最もよく研究されている細胞接着分子の一つである。その細かい構造に関しては成書に譲ることにするが (磯合&熊谷, 1996) 重要なのはRGD配列をもちintegrin ($\alpha 5 \beta 1$, $\alpha v \beta 1$ 等) と結合し、integrinを介するシグナル伝達系を介して細胞の様々な機能の活性化に関連することである (磯合&熊谷, 1996)。軟骨組織においても、fibronectinが軟骨組織の代謝、維持、修復に関係することや (Martin & Buckwalter, 1998) fibronectinそのものの合成や会合が生化学的あるいは機械的な刺激によって制御されていることが知られている (Burton-Wurster et al.,

1997; Mao & Schwarzbauer, 2005). 下顎頭軟骨においては、生後ラットを用いた実験で、機能的矯正装置がfibronectin-Integrinの系を介して軟骨細胞の増殖を促進し、下顎頭軟骨の成長に関連することが知られている (Marques et al., 2008). しかしながらtenascin-C同様、その発現を胎生期、生後発育を通して経時的に検索した研究は見られない。またtenascin-Cは直接的な細胞接着阻害機能の他、fibronectinの細胞接着機能を阻害することによる間接的な抗細胞接着機能もあるとされ (吉田&坂倉, 1997), この両分子が相互に排除しあうような (mutual exclusive) 染色パターン示すことが創傷治癒過程などで知られている (Nakasone et al., 2007). したがってfibronectinの発現をtenascin-Cのそれと比較しつつ検索することが本研究のもう一つの目的である。

材料と方法

本実験は北海道医療大学実験動物委員会での審査の後、学長の承諾を得て行われた。胎齢12.0, 13.0, 14.0, 15.0, 16.0, 18.0日および生後7日, 14日, 21日のICRマウスを三協ラボラトリーズから入手して実験に用いた。各日齢のマウスをエーテル麻酔のもとで頸骨脱臼を行い、胎仔に関しては摘出後さらに頸骨脱臼を施し屠殺した。その後、頭部あるいは脛骨を摘出し4%パラホルムアルデヒドで1日浸漬固定を行い、さらに10%EDTAにて5日～2週間、4℃で脱灰したのち、通法に従ってパラフィン包埋を行った。その後脛骨は縦断切片、下顎頭軟骨は矢状面に垂直で、関節突起に平行な断面いわゆる冠状断切片を作成した。切片はキシロールで脱パラフィンを行った後、エチルアルコールを介して、PBSに浸漬した。切片は精巣ヒアルロニダーゼ (シグマ社, 25mg/ml) で37℃3時間処理しその後免疫染色を行った。用いた抗体はウサギ抗tenascin-Cポリクロナール抗体 (Chemicon社, 1:500) とウサギ抗fibronectinポリクロナール抗体 (LSL社, 1:1000) で、ニチレイのHISTOFINE SABキットによるSABC法を用いた。反応時間は一次抗体が1時間、ビオチン標識二次抗体が20分、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンが15分、いずれも室温で反応させた。反応産物はニチレイのAEC (3-amino-9-ethylcarbazole) 発色キットを用いた。コントロールには一次抗体のかわりに通常のウサギIgGを反応させた。

胎生期下顎頭軟骨においてはin situ hybridization法によるtenascin-C mRNAの発現も検索した。プローブ作成にはマウス胎仔脇軟骨由来のTotal RNAから逆転写によって作成したcDNAを鋳型にし、forward 5' (4972)–

GCTCTGGATGGTCCATCTGGTCTTC-3' (4996), reverse 5' (5540) – TTGCTGAGTAGTGGGTGGATGGGCT 3-3' (5416)というプライマーセットを用いたPCR法にてtenascin-Cの遺伝子を増幅させた。さらに得られたPCR産物をロッシュ社のDIG-RNAラベリングキットにてdigoxigenin標識のアンチセンス鎖およびセンス鎖を合成し、さらにin situ hybridizationはロッシュ社のDIG-RNAディテクションキットを用いて行った。詳細は過去の論文に記載したとおりである (Fukada et al., 1999; Shibata et al., 2006)。コントロールにはセンス鎖を反応させた。なおこのプローブはtenascin-Cのすべてのタイプのスプライシング産物を認識するものである。

結果

1. 胎生期下顎頭軟骨におけるtenascin-C mRNAの発現 胎齢14.0日では過去の文献で示されたように (Shibata et al., 1996; 1997; 2006; Fukada et al., 1999), 下顎頭軟骨の原基が間葉凝集として、それ以前に形成されていた下顎骨の遠心部分に密着して形成されており、それは骨膜と連続していた。Tenascin-C mRNAは下顎骨の骨膜 (図1aの矢頭) と間葉凝集 (図1aの矢印) に発現が認められた。

胎齢15.0日では最初の下顎頭軟骨形成が認められた (図1bのCC)。この時点では間葉凝集の周辺の組織は骨膜と連続した軟骨膜となっていた。Tenascin-C mRNAは下顎骨の骨膜および軟骨膜 (図1bの矢頭) とそれに連続する線維層 (軟骨の遠心部分に見られる) (図1bの矢印) に発現が認められたが、新生軟骨組織内には認めら

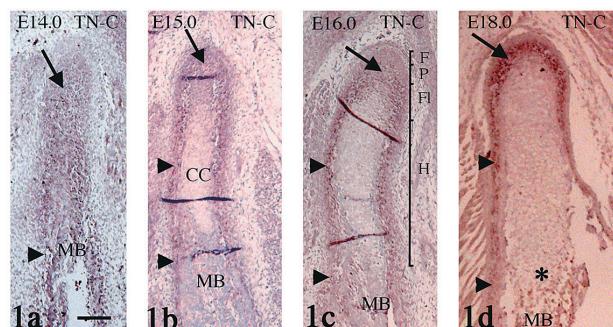


図1 In situ hybridization法によるtenascin-C (TN-C) mRNAの発現。胎齢14.0日 (a), 15.0日 (b), 16.0日 (c), 18.0日 (d) のマウス下顎骨関節突起の冠状断切片。

(a) Tenascin-C mRNAは下顎骨 (MB) の骨膜 (矢頭) と下顎骨の遠心に密着する間葉凝集 (矢印) に発現が認められる。(b) 最初の下顎頭軟骨形成が認められる (CC)。Tenascin-C mRNAは骨膜および軟骨膜 (矢頭) とそれに連続する線維層 (矢印) に発現が認められる。(c) 下顎頭軟骨は線維層 (F), 多形細胞層 (P), 扁平細胞層 (Fl), 肥大細胞層 (H) に区分される。Tenascin-C mRNAは骨膜、軟骨膜 (矢頭) のほか、線維層、多形細胞層、そして扁平細胞層の上部までの領域に発現が認められる (矢印)。(d) 下顎頭軟骨の下方に軟骨内骨化が認められる (*). Tenascin-C mRNAは引き続き骨膜、軟骨膜 (矢頭) のほか線維層、多形細胞層に発現が認められる (矢印)。Bar=100μm.

れなかった。

胎齢16.0日では軟骨組織が伸張し生後の下顎頭軟骨に認められる層区分が明瞭になっていた(図1c)。ここではLuderら(1997)の分類に従って線維層、多形細胞層、扁平細胞層、肥大細胞層に区分した。Tenascin-C mRNAは骨膜、軟骨膜のほか、線維層、多形細胞層、そして扁平細胞層の上部までの領域で発現が認められた(図1cの矢印)。

胎齢18.0日では下顎頭軟骨に軟骨内骨化が認められた(図1dの*)。Tenascin-C mRNAは引き続き、骨膜、軟骨膜(図1dの矢頭)のほか、線維層、多形細胞層に発現が認められた(図1dの矢印)。

2. 胎生期下顎頭軟骨におけるtenascin-Cおよびfibronectinの免疫染色

Tenascin-Cの免疫染色は胎齢14.0日の間葉凝集、その他の日齢の骨膜、軟骨膜に関してはmRNAとほぼ同様な領域に発現が認められた(図2a-d)。その他、胎齢16.0日、18.0日では扁平細胞層の全層に反応が認められ(図2c, dの矢印)、胎齢18.0日では肥大細胞層の上部にも弱い反応が認められた(図2dの*)。

Fibronectinの免疫染色は胎齢14.0日では下顎頭軟骨原基の外の間葉凝集(図2eの*)と形成されている下顎骨基質(図2eのMB)に反応が認められ、骨膜および間葉凝集では発現が弱かった。軟骨組織が形成された後は形成された軟骨基質の内部に強い反応が認められた。すなわち胎齢15.0日ではあらたに形成された軟骨全体に(図2fの矢印)、16.0日、18.0日では扁平細胞層から肥大細胞層までの範囲で反応が認められた(図2g, hの矢印)。一方、胎齢15.0日の骨膜および軟骨膜とそれに連続する線維層(図2fの矢頭)、胎齢16.0日、18.0日の軟骨膜、線維層、多形細胞層では反応が弱かった(図2g, hの矢頭)。

3. 胎生期脛骨原基におけるtenascin-Cおよびfibronectinの免疫染色

胎齢12.0日の脛骨原基は間葉凝集の中に最初の軟骨形成が認められたが、tenascin-Cの免疫染色は認められなかつた(図3aの矢印)。胎齢13.0日では軟骨組織の伸張が見られ、tenascin-Cの免疫染色も中央の骨幹部分に認められた(図3bの矢印)。胎齢14.0日では骨幹部分に肥大細胞層の形成が認められたが、tenascin-Cの免疫染色は辺縁の骨端部分にのみ認められた(図3cの矢印)。胎齢15.0日では骨幹部で軟骨内骨化が開始していた。Tenascin-Cの免疫染色は骨端部分の末端に近い領域に認められた(図3dの矢印)。胎齢18.0日では関節軟骨と成長板軟骨が区別されるようになつたが、tenascin-Cの免疫染色は関節軟骨の最表層に限局して認められ(図3eの矢印)、成長板軟骨には全く認められなかつた。Fibronectinの免疫染色はこの期間に形成された軟骨基質全体に免疫染色が認められ(図3f-jの矢印)、特に肥大細胞層では強い反応が観察された。胎齢18.0日でtenascin-Cの免疫染色が認められる関節軟骨最表層ではfibronectinの免疫染色は弱くなつていた(図3jの矢頭)。

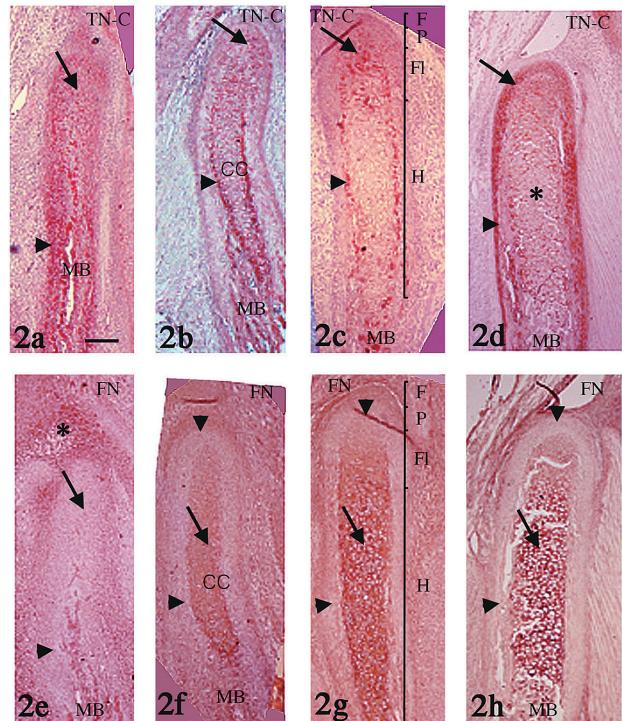


図2 胎生期下顎頭軟骨におけるtenascin-C (TN-C) (a-d) およびfibronectin (FN) (e-h) の免疫染色。胎齢14.0日 (a, e), 15.0日 (b, f), 16.0日 (c, g), 18.0日 (d, h) のマウス下顎骨関節突起の冠状断切片。(a) Tenascin-Cの免疫染色は間葉凝集(矢印)、下顎骨(MB)の骨膜(矢頭)に認められる。(b) Tenascin-Cの免疫染色は軟骨膜(矢頭)とそれに連続する線維層(矢印)に認められるが、形成された下顎頭軟骨(CC)内では弱い。(c) Tenascin-Cの免疫染色は軟骨膜(矢頭)および線維層から扁平細胞層の全層に認められる(矢印)。(d) Tenascin-Cの免疫染色は軟骨膜(矢頭)、線維層から扁平細胞層まで(矢印)の他、では肥大細胞層の上部にも弱い反応が認められる(*)。(e) Fibronectinの免疫染色は下顎頭軟骨原基外の間葉組織(*), 下顎骨基質(MB)に反応が認められ、骨膜(矢頭)および間葉凝集(矢印)では反応が弱い。(f) Fibronectinの免疫染色は新たに形成された軟骨全体に認められるが(矢印)、骨膜および軟骨膜では反応が弱い(矢頭)。(g) Fibronectinの免疫染色は扁平細胞層から肥大細胞層までの軟骨基質に認められるが(矢印)、線維層、多形細胞層では反応が弱い(矢頭)。(h) 胎齢16.0日と同様、免疫染色は扁平細胞層から肥大細胞層までの軟骨基質に認められるが(矢印)、線維層、多形細胞層では反応が弱い(矢頭)。Bar=100μm。

められた(Fig. 3dの矢印)。胎齢18.0日では関節軟骨と成長板軟骨が区別されるようになつたが、tenascin-Cの免疫染色は関節軟骨の最表層に限局して認められ(図3eの矢印)、成長板軟骨には全く認められなかつた。Fibronectinの免疫染色はこの期間に形成された軟骨基質全体に免疫染色が認められ(図3f-jの矢印)、特に肥大細胞層では強い反応が観察された。胎齢18.0日でtenascin-Cの免疫染色が認められる関節軟骨最表層ではfibronectinの免疫染色は弱くなつていた(図3jの矢頭)。

4. 生後の下顎頭軟骨におけるtenascin-Cおよびfibronectinの免疫染色

生後の下顎頭軟骨を冠状断切片で観察すると、軟骨は週齢を経るとともに内外的な幅が増加するが、軟骨内骨

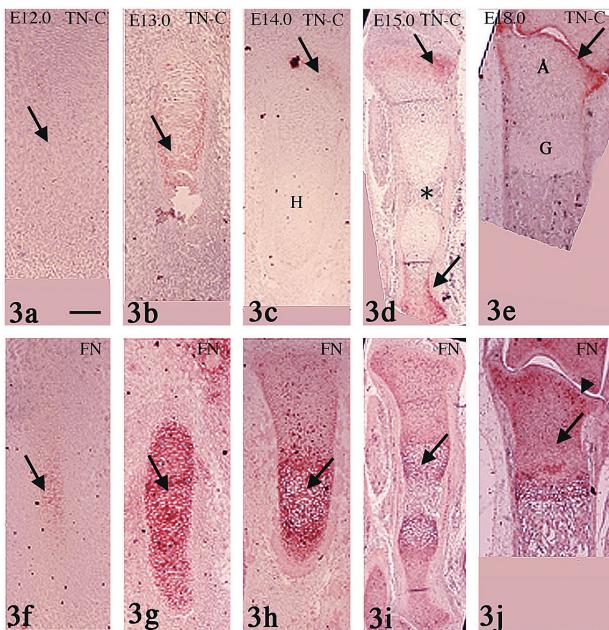


図3 胎生期脛骨原基におけるtenascin-C (TN-C) (a-e) およびfibronectin (FN) (f-j) の免疫染色. 胎齢12.0日 (a, f), 13.0日 (b, g), 14.0日 (c, h), 15.0日 (d, i), 18.0日 (e, j) の縦断切片. (a) 最初の軟骨形成は認められるが, tenascin-Cの免疫染色は認められない (矢印). (b) 軟骨組織が伸張し, tenascin-Cの免疫染色が中央の骨幹部分に認められる (矢印). (c) 骨幹部に肥大細胞層が出現している (H). Tenascin-Cの免疫染色は骨端部分にのみ認められる (矢印). (d) 骨幹部で軟骨内骨化が開始している (*). Tenascin-Cの免疫染色は骨端部分の末端に近い領域に認められる (矢印). (e) 関節軟骨 (A) と成長板軟骨 (G) が区別される. Tenascin-Cの免疫染色は関節軟骨の表層に限局して認められ (矢印), 成長板軟骨には全く認められない. (f) Fibronectinの免疫染色は中央の骨幹部に認められる (矢印). (g) Fibronectinの免疫染色は骨幹部の広い範囲に認められる (矢印). (h) Fibronectinの免疫染色は軟骨基質全体に認められ, 特に肥大細胞層では強く染色されている (矢印). (i) Fibronectinの免疫染色は前段階と同様軟骨基質全体に認められ, 特に肥大細胞層では強く染色されている (矢印). (j) Fibronectinの免疫染色は関節軟骨, 成長板軟骨の全体に認められるが (矢印), 関節軟骨の最表層では反応が弱くなっている (矢頭). Bar=100μm.

化の進行とともに上下的厚みは減少していた. Tenascin-Cの免疫染色は各週齢とも主として線維層に強い免疫染色が認められ (図4 a-cの矢印), 多形細胞層以下肥大細胞層までの軟骨基質にも弱い免疫染色が残存していた (図4 a-cの*). 一方, fibronectinの免疫染色は多形細胞層以下の軟骨基質に強い反応が認められ (図4 d-fの矢印), 線維層での反応は弱かった (図4 d-fの矢頭). 従って両分子の免疫染色は多形細胞層以下の軟骨基質に弱いtenascin-Cの反応が残存しているものの, ほぼ相互排除的な染色様式を示していることが判明した.

考 察

本研究において, 胎生マウスにおけるtenascin-Cの免疫染色は, 下顎骨の骨膜に認められるほか, 下顎頭軟骨形成前の間葉凝集, 軟骨形成後の軟骨膜, 下顎頭軟骨の線維層～多形細胞層に強い免疫染色が認められた (図2 a-d). In situ hybridization法でmRNAの発現を調べたと

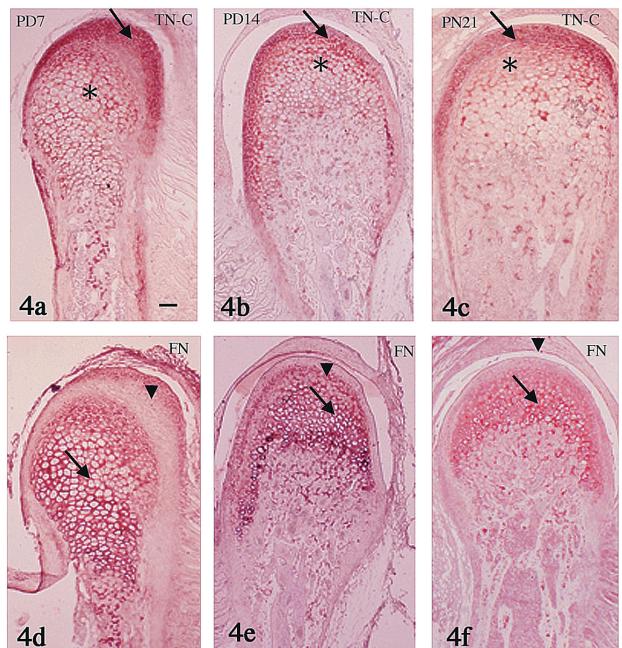


図4 生後の下顎頭軟骨におけるtenascin-C (TN-C) (a-c) およびfibronectin (FN) (d-f) の免疫染色. 生後7日 (a, d), 14日, (b, e), 21日 (c, f) の冠状断切片. (a-c) 各日齢ともtenascin-Cの免疫染色は主として線維層に強い免疫染色が認められ (矢印), 多形細胞層以下肥大細胞層までの軟骨基質にも弱い免疫染色が残存している (*). (d-f) 各日齢ともfibronectinの免疫染色は多形細胞層以下の軟骨基質に強い免疫染色が認められ (矢印), 線維層での反応は弱い (矢頭). Bar=50μm.

ころほぼ同様な領域に発現が認められたことから (図1 a-d), これらの領域に存在する骨芽細胞, 軟骨細胞あるいは線維芽細胞がtenascin-Cを合成, 分泌していることが判明した. 胎齢18.0日や生後の下顎頭軟骨ではより深層の領域にもtenascin-Cの免疫染色が認められたが (図4 a-c), これは分泌されたtenascin-Cが完全に分解されずに残存したものであると考えられる.

胎生期の脛骨原基の軟骨においては形成のごく初期には中央の骨幹部分にも反応が認められたが, すぐに骨端部分のみに認められるようになり, 関節軟骨と成長板軟骨の分化が明瞭となった胎齢18.0日では関節軟骨の最表層に限局して認められるようになった (図3 a-d). この脛骨原基の軟骨における結果は過去に報告されているニワトリ, ラット, マウスの長骨におけるものと一致している (Mackie & Tucker, 1992; Tucker et al., 1993; Pacifci et al., 1993; Glumoff et al., 1994). これらの結果からtenascin-Cはintegrin等との相互作用等を介して軟骨細胞の初期分化に関連するとされてきたが, 今回の脛骨原基の所見はそれを支持するものである. しかしながら, 下顎頭軟骨形成過程における染色結果は, 原則的には「比較的未成熟な軟骨細胞に発現が認められる」という点では長骨の場合と同様であるが, 異なる点も認められる. まず脛骨原基では軟骨組織が形成されたのちに免疫染色が認められたのに対し, 下顎頭軟骨では軟骨形成前の間

葉凝集にすでに免疫染色およびmRNAの発現が認められた点があげられ（図1aおよび図2a），このことは一次軟骨と二次軟骨の発生由来の違いを反映しているものと考えられる。すなわち，「オリジナルの間葉組織に由来するのではなくすでに形成されている骨膜に由来する」というのが二次軟骨の最も認められている定義であり，我々はマウスの下頸頭軟骨でその定義が正しいことを明らかにしてきた（Shibata et al., 1996; 1997; 2006; 2008; Fukada et al., 1999）。本研究でもtenascin-Cが下頸頭軟骨形成以前の骨膜に強く発現していることから，それに由来する下頸頭軟骨原基の間葉凝集に発現が認められるのも理にかなったことで，逆にこのtenascin-Cの発現が骨膜に由来するという下頸頭軟骨の特徴をさらに裏付けるものであると考えられた。

下頸頭軟骨は関節軟骨と成長軟骨両方の性質を持つとされているが（Ten Cate, 2003），胎生期では線維層～多形細胞層に発現が継続して認められたことは関節軟骨としての性質を裏付けるものである。線維層の存在というものは下頸頭軟骨にみられる重要な特徴の一つであるので，tenascin-Cは四肢の軟骨よりも下頸頭軟骨の分化，維持により密接に関連していると言える。この構造上の特徴は生後の下頸頭軟骨においても引き続き線維層～多形細胞層にtenascin-Cの免疫染色が継続して認められたことで裏付けられる。生後組織における下頸頭軟骨線維層の生理学的意義は咬合力を緩衝することであると考えられているが，その考えに基づくとtenascin-Cは咬合という現象にも密接に関連した重要な分子であると言及でき，頸関節症やリウマチ性の頸関節の変形など臨床との関連も注目されるところである。さらにtenascin-Cの発現は脳など一部の組織を除いて，生後は発現が弱まるとされているが（吉田＆坂倉, 1997），この領域に生後も継続してtenascin-Cの発現が認められたことは下頸頭軟骨の機能の特殊性を示唆するものであると考えられる。

Fibronectinに関しては脛骨，下頸頭軟骨とも形成された軟骨基質に広く免疫染色が認められた（図2e-h, 図3f-j）。この分布様式はアグリカンやII型コラーゲンの免疫染色とほぼ同様である（Shibata et al., 1997; 2002）。従ってfibronectinは軟骨組織の細胞外基質成分として一般的に存在するものであると考えられ，integrinを介した細胞接着分子として軟骨細胞の維持や分化に関連しているものと推測される。過去の文献では軟骨基質全体ではなく，部分的に認められるとする報告も見られるが（Martin & Buckwalter, 1998; Livne et al., 1990; Marques et al., 2008），これらの所見の中にはヒアルロニダーゼによる前処置を施していないものがあり，アグリ

カンなどのプロテオグリカンのグリコサミノグリカン鎖による免疫染色のブロッキングが関与している可能性がある。本研究ではヒアルロニダーゼによる前処置を十分に施しており，fibronectinの正確な軟骨内分布を表わしていると考えられる。

注目されるのはtenascin-Cの免疫染色部位との関係である。Tenascin-Cが分解されずに残っていると考えられる生後下頸頭軟骨の深層では両分子の共存も認められるが，tenascin-Cの免疫染色が強く認められる下頸頭軟骨原基や，形成された下頸頭軟骨の線維層～多形細胞層，あるいは脛骨原基の関節軟骨最表層ではfibronectinの免疫染色が非常に弱くなっている，基本的には相互排除的（mutual exclusive）な染色様式，言葉を変えれば「ネガーポジ」の関係となっている。このような両分子の存在様式は創傷治癒などの病的な状態ではしばしば認められる現象である（Nakasone et al., 2007）。機能的にtenascin-Cはfibronectinの細胞接着機能を阻害することによる間接的な抗細胞接着機能もあるとされている。本研究でも見られた両分子の特徴的な染色様式がこの機能を直接反映していることかどうかは不明であるが，何らかの競合作用を示唆していることは確実で，今後正常，異常を問わず様々な状況での両分子の局在ということに注目する必要があるであろう。

なお本研究では両分子ともすべてのスプライシング産物すべてを認識する抗体，プローブを用いて，その分布様式を検索したが，両分子とも様々なスプライシング産物があり，時期，空間的な分布の違いも報告されている（吉田＆板倉1997；磯合＆熊谷，1999；Sahlberg et al., 2001）。したがって下頸頭軟骨における経時的なスプライシングの多様性も今後必須の研究事項であると考えられる。

結論

1. 胎生期および生後の下頸頭軟骨形成・成長過程においてtenascin-C mRNAの発現および免疫染色は主に軟骨形成前の間葉凝集，軟骨膜，線維層から多形細胞層までに認められた。
2. 胎生期の頸骨原基の軟骨においては日齢が進むにつれ，tenascin-Cの免疫染色は次第に骨端部に限局するようになった。
3. この両軟骨の染色性の違いは一次軟骨と二次軟骨の発生由来の違いと，咬合力を緩衝するという下頸頭軟骨特有の機能に関係していると推測された。
4. Fibronectinはいずれの標本においても形成された軟骨基質に免疫染色が認められることから，軟骨の一

般的な細胞外基質成分として機能していると考えられた。

5. Tenascin-C と fibronectin は基本的には相互排除的な染色パターンを示したことから両分子間の競合作用が推測された。

謝 辞

本研究は 1) 平成22年度の日本学術振興会科学研究費助成金(基盤研究C課題番号22592044), 2) 文部科学省私立大学ハイテクリサーチプロジェクト助成金(2008-2012), 3) 文部科学省日大松戸歯学部学術フロンティア助成金(2007-2011)の援助を受けて行われた。

文 献

- Beresford WA. Chondroid bone, secondary cartilage and metaplasia. Baltimore : Urban & Schwarzenberg, 1981, p3-65.
- Burton-Wurster N, Lust G & Macleod JN. Cartilage fibronectin isoforms : in search of functions for a special population of matrix glycosaminoglycans. *Matrix Biol* 15 : 441-454, 1997.
- Erickson HP. tenascin-C, tenascin-R, and tenascin-X : a family of talented proteins in search of functions. *Curr Opin Cell Biol* 5 : 869-876, 1993.
- Fukada K, Shibata S, Suzuki S, Ohya K & Kuroda T. In situ hybridisation study of Type I, II, X collagens and aggrecan mRNAs in the developing condylar cartilage of fetal mouse mandible. *J Anat* 195 : 321-329, 1999.
- Glumoff V, Savontaus M, Vehanen J & Vuorio E. Analysis of aggrecan and tenascin gene expression in mouse skeletal tissue by northern and in situ hybridization using species specific cDNA probes. *Biochim Biophys Acta* 1219 : 613-622, 1994.
- Hall BK. Bones and cartilage, Developmental and evolutionary skeletal biology. San Diego : Elsevier Academic Press, 2005, p149-165.
- 磯合 敦, 熊谷博道: フィプロネクチン. In竹内雅俊, 宮坂昌之編 細胞接着分子—その生体機能の全貌—東京: 東京化学同人, 1996, p201-207.
- Livne E, Lewinson D, Dickman G & Silbermann M. Histochemical study of metrical components in the mandibular condyle of neonatal mice. *Acta Anat* 138 : 32-41, 1990.
- Luder HU, Leblond CP & von der Mark K. Cellular stages in cartilage formation as revealed by morphometry, radioautography and Type II collagen immunostaining of the mandibular condyle from weanling rats. *Am J Anat* 182 : 197-214, 1988.
- Mackie EJ & Tucker RP. Tenascin in bone morphogenesis : expression by osteoblasts and cell type-specific expression of splice variants. *J Cell Sci* 103 : 765-771, 1992.
- Mao Y & Schwarzbauer JE. Fibronectin fibrillogenesis, a cell-mediated matrix assembly process. *Matrix Biol* 24 : 389-399, 2005.
- Marques MR, Hajjar D, Franchini KG, Moriscot AS & Santos MF. Mandibular appliance modulates condylar growth through integrins. *J Dent Res* 87 : 153-158, 2008.
- Martin JA & Buckwalter. Effects of fibronectin on articular cartilage chondrocyte proteoglycan synthesis and response to insulin-like growth factor-I. *J Orthop Res* 6 : 752-757, 1998.

- Nakasone A, Shibata S, Suzuki S, Yamashita Y & Ohya K. Laser burn wound healing in naso-labial region of fetal mice. *Oral Diseases* 13, 45-50, 2007.
- Pacifici M, Iwamoto M, Golden EB, Leatherman JL, Lee Y-S & Chuong C-M. Tenascin is associated with articular cartilage development. *Dev Dyn* 198 : 123-134, 1993.
- Sahlberg C, Aukhil I & Thesleff I. Tenascin-C in developing mouse teeth : expression of splice variants and stimulation by TGF β and FGF. *Eur J Oral Sci* 109 : 114-124, 2001.
- Shibata S, Fukada K, Suzuki S & Yamashita Y. Immunohistochemistry of collagen types II and X, and enzyme-histochemistry of alkaline phosphatase in the developing condylar cartilage of the fetal mouse mandible. *J. Anat* 191 : 561-570, 1997.
- Shibata S, Suda N, Suzuki S, Fukuoka H & Yamashita Y. An in situ hybridization study of Runx2, Osterix, and Sox9 at the onset of condylar cartilage formation in fetal mouse mandible. *J Anat* 208 : 169-177, 2006.
- Shibata S, Suda N, Yoda S, Fukuoka H, Ohya K, Yamashita Y & Komori T. Runx2-deficient mice lack mandibular condylar cartilage and have deformed Meckel's cartilage. *Anat Embryol (Berl)* 208 : 273-280, 2004.
- Shibata S, Suzuki S, Tengan T, Ishii M & Kuroda T. A histological study of the developing condylar cartilage of the fetal mouse mandible using coronal sections. *Arch Oral Biol* 41 : 47-54, 1996.
- Shibata S & Yokohama-Tamaki T. An in situ hybridization study of Runx2, Osterix, and Sox9 in the anlagen of mouse mandibular condylar cartilage in the early stages of embryogenesis. *J Anat* 208 : 274-283, 2008.
- Ten Cate AR. Temporomandibular joint. In Nanci N editor, *Ten Cate's Oral Histology : Development, structure, and Function*. St. Louis : Mosby, 2003, p376-396.
- Tucker RP, Hammarback JA, Jerath DA, Mackie EJ & Xu Y. Tenascin expression in the mouse : in situ localization and induction in vitro by FGF. *J Cell Sci* 104 : 69-76, 1993.
- Väkevä L, Machie E, Kantomaa T & Thesleff I. Comparison of the distribution patterns of tenascin and alkaline phosphatase in developing teeth, cartilage, and bone of rats and mice. *Anat Rec* 228 : 69-76, 1990.
- 吉田利通, 坂倉照代. テネイシンファミリーの構造と機能. 生体の科学 48 : 273-279, 1997.



柴田 俊一

昭和57年3月 東京医科歯科大学歯学部卒
昭和61年3月 東京医科歯科大学大学院歯学研究科修了
昭和61年4月 東京医科歯科大学助手
平成9年4月 同上講師
平成16年4月 同上助教授
平成18年11月 北海道医療大学教授 現在に至る

〔原著〕

3次元有限要素法によるインプラント傾斜埋入下顎骨モデルの応力解析

仲井 太心¹⁾, 遠藤 一彦²⁾, 中山 英二³⁾, 広瀬由紀人¹⁾, 越智 守生¹⁾

- 1) 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野
 2) 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系生体材料工学分野
 3) 北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系歯科放射線学分野

Analysis of FE mandible model with some tilted-implants by 3D-FEM

Taishin NAKAI¹⁾, Kazuhiko ENDO²⁾, Eiji NAKAYAMA³⁾, Yukito HIROSE¹⁾, Morio OCHI¹⁾

- 1) Division of Fixed Prosthodontics and Oral Implantology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
 2) Division of Biomaterials and Bioengineering, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
 3) Division of Human Biology and Pathophysiology, Department of Oral and Maxillofacial Radiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

The All-on-4 concept for complete rehabilitation of the edentulous mandible with placing four implants including two tilted implants in distal sites is frequently employed for patients without sufficient bone height. However, distal implants of the All-on-4 concept that support large stresses result in the surrounding tissue to be subject to unsustainable conditions. In this study, a mandibular FE model with bone density distribution similar to the human mandible was developed from CT data and the mandibular stress distribution of All-on-4 concept implants was evaluated using a three dimensional finite element method. It was confirmed that the stress induced in the bone around the tilted implant decreased as the implant length became longer. Further, the value of the maximum compressive stress induced in the bone around the vertical implant neck was not significantly influenced by the implant length. The use of vertical implants rather than tilted implants was desirable for implants having a cantilever superstructure. Especially, with the TRONT model that has five straight implants between mental foramen, the stress induced in the cortical bone around the distal implant dispersed most effectively.

Key words : 3D-FEM, Tilted implant, Mandibular model, All-on-4 concept

要 約

All-on-4 コンセプトは、片顎無歯顎に対して遠心に傾斜した2本のインプラントを含む4本のインプラントを埋入する手法であり、骨高径が低い患者に対して多く適用されている。しかし、All-on-4 コンセプトにおける傾斜した遠心インプラントには高い応力が付与されるため、その周囲骨には力学的に過酷な状況を強いていると考えられる。そこで本研究では、CTデータを基にヒトの骨密度分布を再現した下顎骨モデルを構築し、三次元有限要素法を用いて傾斜埋入インプラントおよび垂直

埋入インプラントの周囲骨に発生する応力を解析した。その結果、長いインプラント体の使用は、All-on-4 コンセプトにおける遠心インプラントの周囲骨に発生する応力の軽減に有効であることが分かった。一方、垂直埋入モデルであるTRONT, STモデルにおいて、インプラント周囲に発生する最大圧縮応力は、インプラントの長径に大きく影響されないことが明らかとなった。上部構造にカンチレバーを付与する場合には、傾斜埋入法よりも垂直埋入法のほうが適していることが分かった。特に、オトガイ孔間に5本埋入するTRONTモデルでは、右側遠心インプラント体頸部の皮質骨に発生する応力が

受付：平成23年3月30日

最も有効に分散されることが明らかとなった。

緒 言

All-on-4 コンセプトは, Maló et al. (2003) によって提唱された無歯顎患者に対するインプラント治療の概念である。片顎無歯顎に対して、遠心に傾斜した2本のインプラントを含む4本のインプラントを埋入し、片顎歯列を回復する手法である。All-on-4 コンセプトは、少ないインプラント本数で治療が行えるため、低侵襲でコストも抑えることができると報告されている。さらに、Maló et al. (2003, 2005, 2006) は、このインプラント群に少なくとも大臼歯一本分のカンチレバーを付与できると報告している。また、1~3年の臨床報告においても良好な結果が得られている。しかし、カンチレバーを付与したインプラント補綴の10年生存率は61%と低いとの報告もある (Anderson et al., 2005)。

現在、歯科インプラントに関する力学的解析において、有限要素解析が多く用いられている。ブロック状の骨モデルは2次元または3次元有限要素モデルで作成され、その材料特性は皮質骨と海面骨の2つに限られている (Sertgöz et al., 1996; Wang et al., 2002; Zampelis et al., 2007; Bergqvist et al., 2008)。All-on-4 の応力解析は、Takahashi et al. (2010) によって報告されている。しかしそれらモデルは、単純二層の骨質を有したモデルである。Akagawa et al. (2003) は、骨密度を再現した骨モデルと単純2層の骨モデルの応力分布を比較した場合、結果が明らかに異なることを報告しており、骨密度を考慮した3次元有限要素解析はAll-on-4 コンセプトの臨床的な危険性の把握に有効な手法と考えられる。

そこで本研究では、現実に近い状態で解析を行うためにヒトの下顎骨骨体標本をCTで撮像し、得られたDICOMデータを用いて、ヒトの骨密度分布を再現した下顎骨モデルを作成した。さらにインプラント体に関するも、マイクロCTで撮像したデータに基づいて、スレッド構造を再現した有限要素モデルを作成した。また、今回用いた解析ソフトは開発時点において、有限要素モデルを用いて計算された応力と実際の骨に発生した応力の実測値の間に高い相関性を有していることが確認されている (松下ら, 2000)。これらの精密なモデルと解析ソフトを使用することによって、All-on-4 コンセプトを用いたインプラント周囲骨における応力分布を明らかにした。

材料と方法

1. All-on-4 コンセプト有限要素モデルの作成

本研究では、下顎骨モデルとしてMishの分類でD 2~3 (Mish, 2007), 400~800 H.Uを持つ下顎無歯顎の標準的な骨質を有するヒト乾燥下顎骨骨体標本を使用した。実際の骨密度分布を再現した下顎骨モデルを作成するため、48時間浸水脱気したヒト乾燥下顎骨骨体標本をヘリカルCT (PROSPEED F II, GE) で撮像し、DICOMデータを得た。撮像条件は、Field of view 180 mm, 管電圧 120 kV, 管電流 130 mA, 一回転 1000 ms, 0.6 mmスライスとした。インプラント体のモデルは、6種類の長径のインプラント体 (Nobel biocare社製 Bränemark Mk III : 7.0, 8.5, 10, 11.5, 13.0, 15.0 mm) をマイクロCT (MCT-12505MF (H), 日立メディコ) で0.1mmスライスで撮影したデータを用いて作成した。また、CADを用いて30度角度付きと垂直の2種類のアバットメントモデルを作成した。アバットメントの直径は4.0 mmとした。上部構造は、顎堤弓の弯曲に沿って幅5.0 mm厚さ3.0 mmの形状にモデル化した。All-on-4 コンセプトモデル (以後TILTモデル) の応力解析は、計算力学研究センター製Mechanical Finder Version6.0 (Tawada et al., 2010) で行った。遠心2本のインプラント体は、Nobel Biocare社から供給されている30度角度付きアバットメントを考慮し、遠心に30度傾斜させてオトガイ孔前方に設置した。水平的埋入方向は、歯槽頂線に沿わすものとした。前方2本のインプラントは、Z軸に平行に2番相当部に設置した。傾斜埋入したインプラント体と垂直埋入したインプラント体の埋入深度は、それぞれインプラント体頸部近心とインプラント体頸部が骨に完全埋入する状態とした。各インプラント体には、専用のアバットメントを装着し、その上に上部構造モデルを設置した (図1)。右側遠心インプラントにおいて、アバットメントと骨が接触しないように骨を除去した。また、比較対照モデルとして、オトガイ孔間に4本のインプラントを垂直埋入したSTモデル (図2), 5本埋入したTRONTモデルを用いた (図3)。カンチレバーの長さは、TILTモデルでは15 mm, STおよびTRONTモデルでは19 mmとし、長径の異なる6種類のインプラント体モデルそれぞれ3通りの埋入方法を適用し、合計18種類の応力解析モデルを構築した。

2. 要素分割

要素分割はANSYS ICEM CFD Version11.0 (アンシス・ジャパン) で行った (図4)。分割条件は骨が0.3~1.2 mm, インプラント体, アバットメントおよび上部構造は0.3~0.9 mmとした。要素形状は四面体とした。

3. 材料特性

骨における各分割要素の材料特性は以下のように決定した。すなわち、ソフトの規定に従って各要素のCT値(Hounsfield Unit)から骨密度に変換し、さらにKeyak et al. (1998)の公式を用いてヤング率を求めた。なお、ポアソン比は0.4とした。インプラント体、アバットメントおよび上部構造には、純チタンの材料特性値(ヤング率108 GPa、ポアソン比0.19)を与えた。

4. 解析条件

境界条件は、下顎骨基底面を完全拘束とした。荷重点は、右側カンチレバー最遠心部頬舌的中点とした。荷重の方向と大きさは、最大咬合力を考慮して咬合平面に垂直に250 Nとした(Asundi et al., 2000)。

5. データ採取

咬合時にインプラント周囲骨が負担する応力を観察するために、右側遠心インプラントの長軸に従って断面を作成し、圧縮応力の分布を評価した。データ採得は、荷重点に最も近く、最も高い応力が発生する右側遠心インプラント体の周囲骨を対象に行った。すなわち、インプラント体頸部に球状の領域を定義し、相当応力の平均値を算出することによって、インプラント体周囲骨に発生する応力の増減傾向を評価した。また、骨吸収や骨折に影響する最大圧縮応力を評価するために、最小主応力の最小値(以後最大圧縮応力)を求めた。

結 果

1. 右側遠心インプラント体周囲骨における応力分布

図5に右側遠心インプラント体断面における圧縮応力の分布を示す。傾斜埋入インプラントにおける応力は、インプラント遠心頸部に集中していた。垂直埋入モデル(STモデルおよびTRONTモデル)においては、高い圧縮応力を示す赤い領域がインプラント頸部皮質骨に広く分散していた。また、垂直埋入インプラント体の近心面に応力負担領域が存在したが、傾斜埋入インプラント体近心面には応力負担領域は確認されなかった。

2. 右側遠心インプラント頸部周囲骨における平均相当応力

図6に右側遠心インプラント体頸部周囲骨の平均相当応力を示す。インプラント長径が長くなるにしたがって、インプラント頸部における応力は減少した。平均相当応力は、TILTが最も高く、TRONTが最も小さかった。

3. 右側遠心インプラント頸部周囲骨における最大圧縮応力

図7に右側遠心インプラントの周囲骨に発生した最大

圧縮応力を示す。TILTモデルでは、インプラント長径が長くなるにしたがって、最大圧縮応力は減少することが分かった。長径7.0～11.5 mmのインプラント体を有するTILTモデルでは、200 MPa以上の高い応力を示した。インプラント長径が7～13 mmの範囲では、図8中の回帰直線で示されているように、長径の増大とともに応力は単調に減少した(相関係数: -0.949, P値: 0.014)。しかし、長径が15 mmのインプラント体では、回帰直線から予想されるよりも著しく高い応力を示した。一方、垂直埋入モデルでは、インプラント体頸部周囲骨に発生する平均相当応力はインプラント体の長径に影響を受けないことが分かった。

考 察

1. 傾斜埋入インプラントおよび垂直埋入インプラントの周囲骨に発生する応力

負荷される荷重の90%は、荷重点に最も近いインプラント体に集中することが既に報告されている(保母, 2006)。そこで本研究では、荷重点に最も近い右側遠心インプラント体の周囲骨に発生する応力とその分布を詳細に調べた。TILTモデルおよび垂直モデル(ST, TRONTモデル)において、応力はインプラント体の頸部周囲皮質骨に集中することが分かった(図5)。垂直埋入モデルでは、インプラントの長軸方向で荷重を受けることができるため、発生する応力は皮質骨に広く分散する傾向が認められた。特に、TRONTモデルは右側遠心インプラントとその隣のインプラント間距離が近く、上部構造間距離が短くなるために撓みにくいため、インプラント体に対して荷重がより垂直に付与される。その結果、インプラント体周囲皮質骨の遠心部と近心部に応力が比較的均一に分散されるものと考えられる。それに対して、傾斜埋入インプラントでは、遠心面が選択的に被圧されるために、インプラント遠心頸部の皮質骨に応力が集中することが確かめられた。

図6に示されているように、インプラント頸部周囲骨に発生する平均相当応力は、TILTモデルで最も高く、TRONTモデルで最も小さくなる傾向が認められたが、それらの値の差はモデル間で小さかった。これは、インプラント頸部の全周にデータのサンプリング領域を設定して相当応力の平均値を算出したためと考えられる。一方、インプラント体頸部皮質骨に発生する最大圧縮応力は、遠心部に応力が集中するTILTモデルで極めて高く、応力が分散される傾向にあったSTモデルとTRONTモデルでは小さいことが分かった(図7)。これらの結果から、カンチレバーを付与する場合には、傾斜埋入イ

ンプラントよりも垂直埋入インプラントのほうが適していることが分かった。

2. インプラント長径と周囲骨に発生する応力との関係

一般的にインプラント体の長径が長いほど周囲骨に発生する応力は小さくなることが報告されている (Li et al., 2011). Himmlová et al. (2004) は、一本埋入におけるインプラント体において、長径が長くなるほど応力は減少することを示した。本研究においても、TILTモデルでは、インプラント長径が長くなるにしたがって、最大圧縮応力は著しく減少することが分かった。インプラント体の長径が11.5 mm以下の場合は、発生する最大圧縮応力は、脛骨で骨折が起こる応力の目安とされている 200 MPaを超えていた (Burstein et al., 1976)。この結果から、TILTモデルでカンチレバーが存在する場合には、インプラント体頸部皮質骨の遠心部に骨折や骨吸収が生じる可能性があることが分かった。しかし、インプラント体の長径が13 mmでは最大圧縮応力が200 MPa以下となることから、All-on-4 コンセプトなどの傾斜埋入法において上部構造体にカンチレバーを付与する場合には、13 mm以上の長いインプラント体を使用すべきであることが示唆された。

今回の有限要素法を用いた応力解析の結果では、7～13 mmのインプラント長径と発生する圧縮応力の相関係数は -0.949, P 値は 0.014 と非常に高かった。しかし、15 mmのインプラント長径を有するTILTモデルのインプラント頸部周囲骨には、回帰直線から予想されるよりも著しく高い圧縮応力が発生していた (図 7)。インプラント体の周囲骨を精査した結果、図 8 の矢印に示すように、インプラント体先端部に存在する骨のヤング率が特異的に高いことが分かった。すなわち、傾斜埋入インプラントに付与された荷重によって発生した回転モーメントが硬い骨質に受け止められ反応が生じたために、インプラント体頸部の応力が増加したものと考えられる。したがって、長径15 mmのインプラント体の周囲骨に発生した最大圧縮応力が著しく高くなる現象は、本研究で用いた下顎骨に特有な現象であり、一般的に発生する最大応力はインプラント長径の増大とともに単調に減少するものと考えられる。

垂直埋入モデルであるSTモデルとTRONTモデルでは、周囲骨に発生する最大圧縮強さは、インプラント長径の影響をほとんど受けないことが分かった (図 7)。Sertgöz et al. (2004) も、6 本の垂直埋入したモデルのインプラント周囲骨応力に関して、インプラント長径は周囲骨に発生応力にほとんど影響を与えないと報告している。したがって、垂直埋入法の場合は、骨穿孔や神経

の損傷等のリスクが高いケースでは、必要以上に長いインプラント体を埋入する必要がないことが示唆された。

本研究では、All-on-4 コンセプトにおける荷重点に最も近い傾斜埋入インプラントの頸部周囲骨は、インプラントの脱落につながる高い応力が発生することを示した。この結果から、下顎においてカンチレバーを付与しなければならない症例に対しては、垂直埋入インプラントを用いた方が長期間にわたって良好に機能することが示唆された。

しかし本研究で行った有限要素法を用いた応力解析では、下顎基底面を固定した拘束条件を設定したことに加えて、荷重は咬合面に直接付与している。これらの条件は、実際の咬合状態を完全には反映できていない。今後、より現実に近い咬合状態を再現した解析結果を得るために、荷重条件や拘束条件の更なる検討が必要と考えられる。

結論

CTデータを基にヒトの骨密度分布を再現した下顎骨モデルを構築し、三次元有限要素法を用いてインプラント周囲骨に発生する応力を解析した。傾斜埋入法と垂直埋入法におけるインプラント体の長径とインプラント体の周囲骨に発生する応力との関係を詳細に検討した結果、以下に示す知見が得られた。

- 長いインプラント体の使用は、All-on-4 コンセプト (傾斜埋入インプラント) の周囲骨に発生する応力の軽減に有効である。
- 上部構造体にカンチレバーを付与する場合には、傾斜埋入法よりも垂直埋入法のほうが適している。特に、オトガイ孔間に 5 本埋入するTRONTモデルでは、荷重点に最も近い右側遠心インプラント体頸部の皮質骨に発生する応力が最も有効に分散される。
- 垂直埋入モデルであるTRONT, ST モデルにおいて、インプラント周囲に発生する最大圧縮応力は、インプラント長径に影響されない。

文献

- Akagawa Y, Sato Y, Teixeira ER, Shindoi N & Wadamoto M. A mimic osseointegrated implant model for three-dimensional finite element analysis. *J Oral Rehabil* 30 : 41-45, 2003.
 Anderson JD. Ten-year survival rate for cantilevered fixed partial dentures. *Evid Based Dent* 6 : 96-97, 2005.
 Asundi A & Kishen A. A strain gauge and photoelastic analysis of in vivo strain and in vitro stress distribution

- in human dental supporting structures. *Arch Oral Biol* 45 : 543–550, 2000.
- Bergkvist G, Simonsson K, Rydberg K, Johansson F & Dérand T.A Finite Element Analysis of Stress Distribution in Bone Tissue Surrounding Uncoupled or Splinted Dental Implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 10 : 40–46, 2008.
- Burstein AH, Reilly DT & Martens M. Aging of bone tissue : mechanical properties. *J Bone Joint Surg Am* 58 : 82–86, 1976.
- Himmlová L, Dostálková T, Kácovský A & Konvicková S. Influence of implant length and diameter on stress distribution : a finite element analysis. *J Prosthet Dent* 91 : 20–25, 2004.
- 保母須弥也 : All-on-4 ハンドブック, クインテッセンス出版株式会社, 2006.
- Li t, Hu K, Cheng L, Ding Y, Ding Y, Shao J, Kong L. Optimum selection of the dental implant diameter and length in the posterior mandible with poor bone quality – A3D finite element analysis. *Appl Math Model* 35 : 446–456, 2011.
- Keyak JH, Rossi SA, Jones KA & Skinner HB. Prediction of femoral fracture load using automated finite element modeling. *J Biomech* 31, 125–33, 1998.
- Maló P, Rangert B & Nobre M. “All-on-Four” immediate –function concept with Bränemark System implants for completely edentulous mandibles : a retrospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 5 : 2–9. 2003.
- Maló P, Rangert B & Nobre M. All-on-4 immediate–function concept with Bränemark System implants for completely edentulous maxillae : a 1-year retrospective clinical study. *Clin Implant Dent Relat Res* 7 : 88–94, 2005.
- Maló P, Nobre Mde A, Petersson U & Wigren S. A pilot study of complete edentulous rehabilitation with immediate function using a new implant design : case series. *Clin Implant Dent Relat Res* 8 : 223–232, 2006.
- 松下亮二, 大田豊承, 山本逸雄, 森田陸司, 田中智佳, 小南尚登. 有限要素法を用いた骨強度評価システムの開発. *滋賀医大誌*, 15 : 7–13, 2000.
- Mish CE (前田芳信, 懸田利孝, 櫻井薰&宮崎隆) : インプラント補綴 (Dental Implant prosthetics). 永末書店 : 2007, 60–64.
- Sertgöz A & Güvener S. Finite element analysis of the effect of cantilever and implant length on stress distribution in an implant-supported fixed prosthesis. *J Prosthet Dent* 76 : 165–9, 1996.
- Takahashi T, Shimamura I & Sakurai K. Influence of number and inclination angle of implants on stress distribution in mandibular cortical bone with All-on-4 Concept. *J Prosthodont Res* 54 : 179–184, 2010.
- Tawara D, Sakamoto J, Murakami H, Kawahara N, Oda J & Tomita K. Mechanical evaluation by patient-specific finite element analyses demonstrates therapeutic effects for osteoporotic vertebrae. *J Mech Behav Biomed Mater* 3 : 31–40, 2010.
- Zampelis A, Rangert B & Heijl L. Tilting of splinted implants for improved prosthodontic support : a two-dimensional finite element analysis. *J Prosthet Dent* 97 : 35–43, 2007.
- Wang TM, Leu LJ, Wang J & Lin LD. Effects of prosthesis materials and prosthesis splinting on peri-implant bone stress around implants in poor-quality bone : a numeric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 17 : 231–237, 2002.

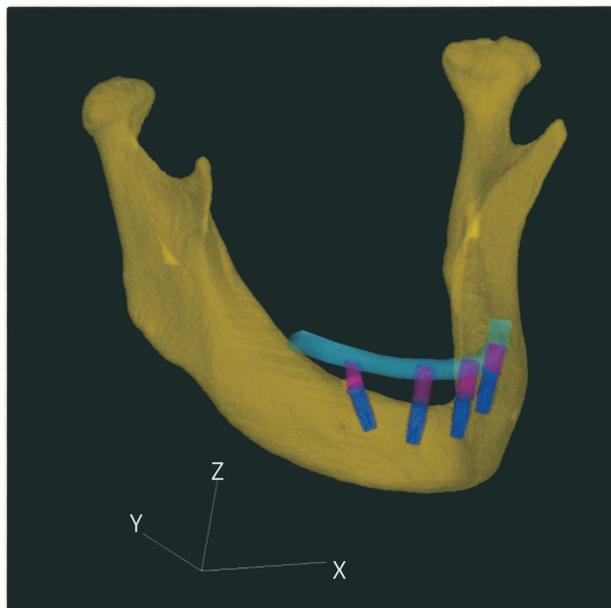


図1 : TILTモデル
All-on-4 コンセプトを用いた傾斜埋入モデル

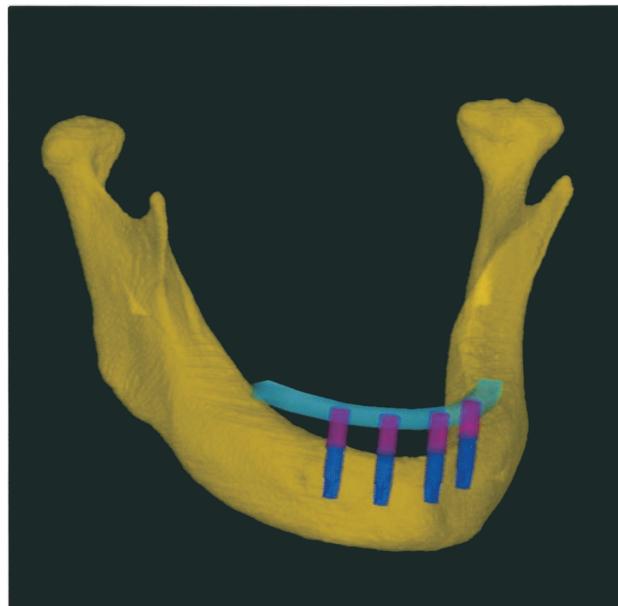


図2 : STモデル
オトガイ孔間に垂直に4本インプラント体を埋入したモデル

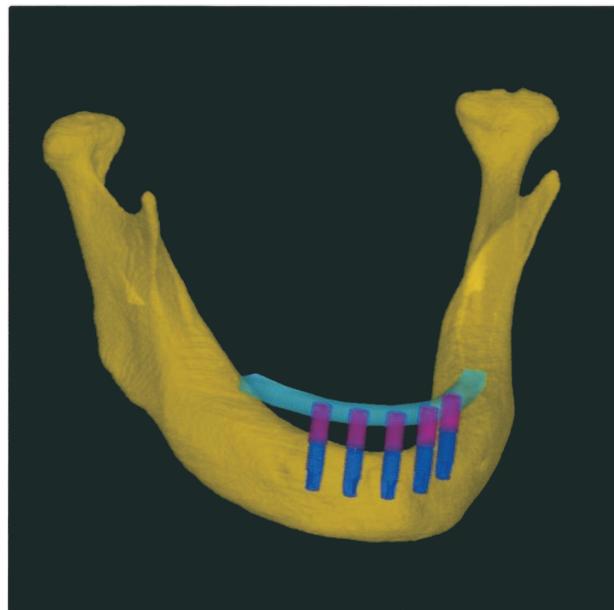


図3：TRONTモデル
オトガイ孔間に垂直に5本インプラント体を埋入したモデル

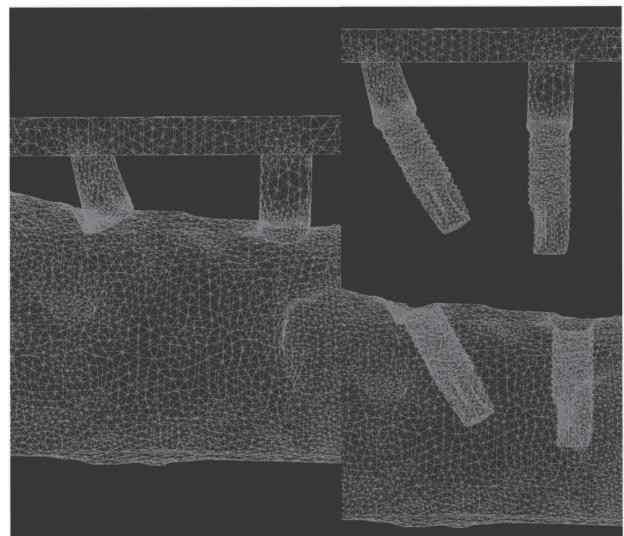


図4：要素分割
要素分割されたTILTモデル右側遠心インプラント周囲拡大図

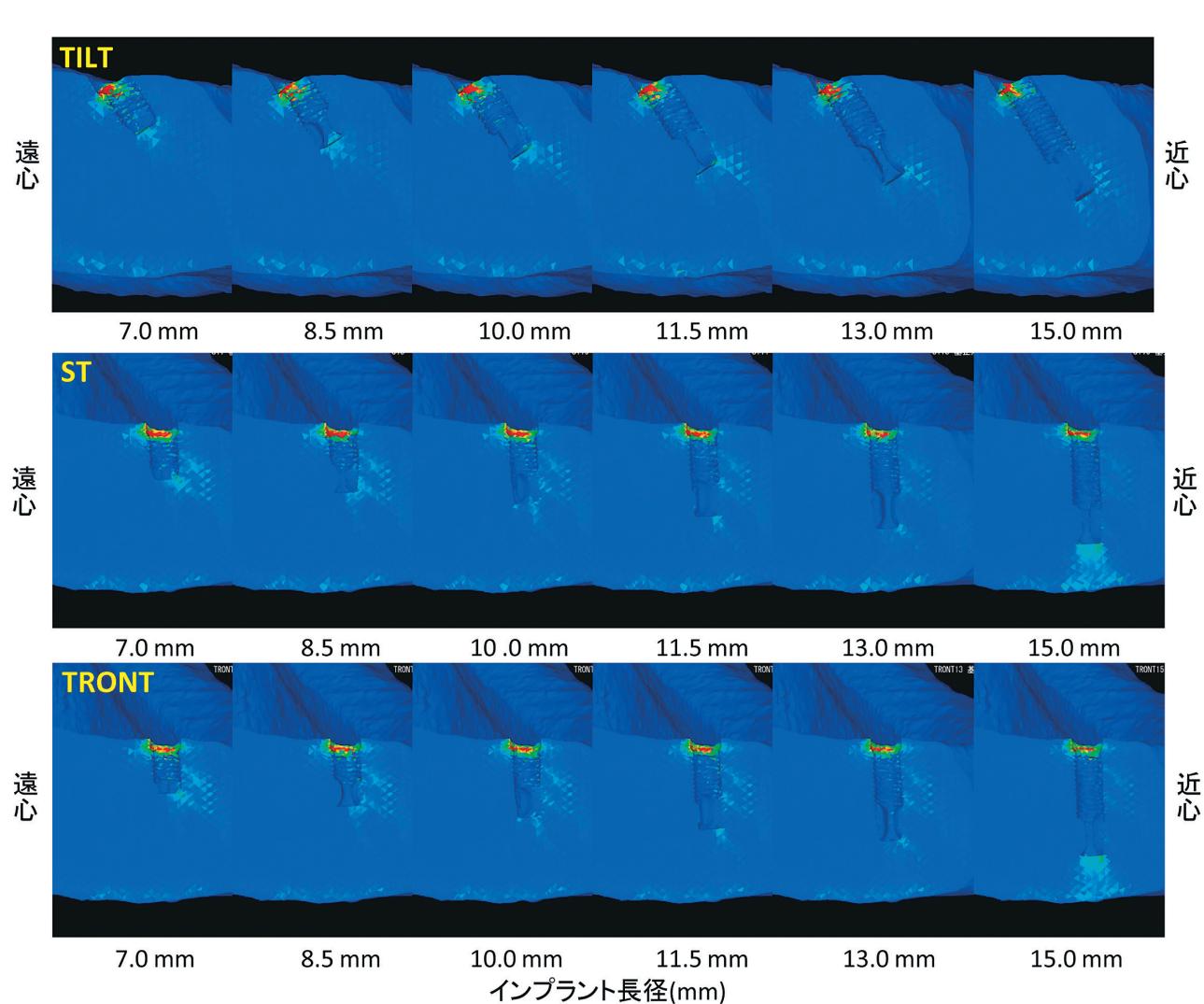


図5：右側遠心インプラント体周囲骨における圧縮応力分布
TILTモデルにおいてインプラント頸部遠心に高い応力集中を認めた。垂直埋入インプラント頸部においては近心側まで広く応力が分布しており、周囲骨に効率よく応力を分散している。しかし、赤線に示すように、垂直埋入インプラントの応力は長いインプラントにおいて深部まで応力が伝達されないことが分かった。

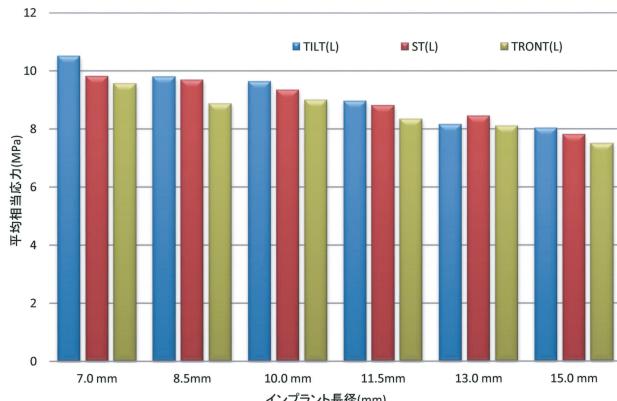


図6：右側遠心インプラント体頸部周囲骨に発生した平均相当応力
各拘束モデルにおける右側遠心インプラント体頸部周囲骨平均相当応力を計算した。TILTモデルにおいて高い応力を示した。TRONTモデルが最も低い応力を示した。インプラント長径が長くなるにつれて応力の減少傾向を示した。

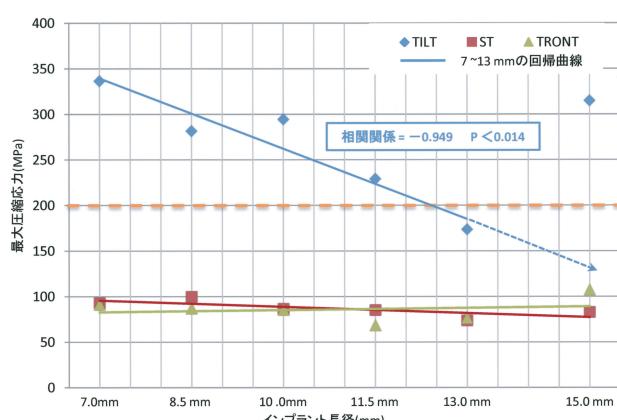


図7：右側遠心インプラント頸部周囲骨に発生した最大圧縮応力
各モデルの右側遠心インプラント頸部最大圧縮応力と最小二乗法により求めた回帰直線を示す。TILTモデルにおいて最も高い圧縮応力を示した。その応力は、垂直埋入モデルと比べて2~3倍となった。垂直埋入モデルにおいてインプラント長径の影響はほとんど見られなかった。TILTモデルにおいて、7~13 mmのインプラント長径が長くなるにつれて応力の減少を認めた（相関係数：-0.949, P値：0.014）。しかし、15 mmのTILTモデルにおいて、回帰直線から予想される（青破線）よりも高い最大圧縮応力を認めた。

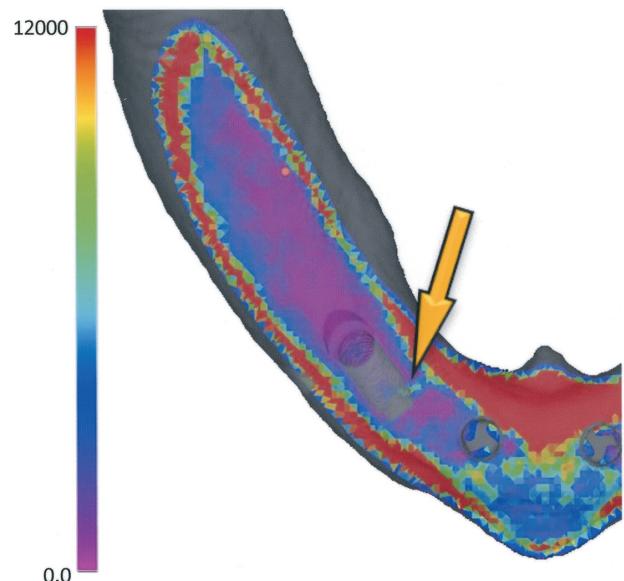


図8：TILTモデル15 mmインプラント体先端部における骨のヤング率分布

15 mm傾斜埋入インプラント体先端部における骨のヤング率を示す。インプラント体先端部において、高いヤング率を有する骨領域を確認した（橙色矢印）。カンチレバーに与えられた応力は、矢印に示す硬い骨質に受け止められ反応が生じたために、インプラント体頸部に高い圧縮応力が発生したと考えられる。



仲井 太心

昭和56年8月生まれ、東京都中野区出身
平成12年3月 東京都立富士高等学校 卒業
平成18年3月 日本歯科大学新潟歯学部 卒業
平成23年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程 修了
平成23年4月 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野 任期制助手

〔原著〕

国家試験合格サポートプログラムの開発と検証

角館 直樹¹⁾, 千葉 逸朗²⁾1) 京都大学大学院医学研究科社会健康医学系専攻医療疫学分野
2) 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野

Naoki KAKUDATE, Itsuo CHIBA

Abstract

In recent years, students have found it increasingly difficult to pass the National Dentistry Examination. Not only do dental school students have to spend much time in preparation, but schools also have to take measures such as providing learning support for the examination. In the 2009 school year, we developed and implemented the “Support Program for Success in the National Dentistry Examination” for sixth-year students in the faculty of dentistry of Health Sciences University of Hokkaido based on behavioral science, which was applied in the general education. To assess the degree of satisfaction with the program, the authors developed an anonymous survey questionnaire and analyzed possible factors that may be associated with longer study hours. The students were surveyed at the time of graduation. Descriptive statistics were compiled based on the data obtained with the questionnaire, and a multiple logistic regression analysis was performed to explore possible factors that may be associated with longer study hours. The questionnaire results no students were “dissatisfied” or “very dissatisfied” with the overall program. The multiple logistic regression analysis showed that longer study hours was significantly related to the degree of satisfaction with the “overall program” ($\beta=0.42$, $p=0.009$) and “recording the daily study hours in diary column of the brochure” ($\beta=0.33$, $p=0.034$). This study showed that the “Support Program for Success in the National Examination” was evaluated as satisfactory by the sixth-year students in the faculty of dentistry in our college to some degree. In addition, the results suggest that dental school students study longer when implementing this program effectively.

Key words :歯科医師国家試験, 自己効力感, 歯科医学教育

抄 錄

近年, 歯科医師国家試験は難易度を増している。歯学部学生が国家試験対策に多くの時間を割くだけではなく、大学側としても国家試験勉強に関する学習支援などの対策を講じることが余儀なくされている。筆者らは、平成21年度に歯学教育学分野でも応用可能な、行動科学に基づいた「国家試験合格サポートプログラム」を開発し、北海道医療大学第6学年学生に対して実施した。本プログラムに対する学生の満足度を評価するために筆者らは無記名自記式の質問紙調査を行い、長時間の勉強と関連する要因を分析した。調査は学生の卒業時に行つた。

記述統計を算出した後、多重ロジスティック回帰分析

受付：平成23年3月30日

を用いて、長時間の勉強と関連する要因について検討した。調査の結果、プログラム全体に対して、「不満足」もしくは「とても不満足」と回答した学生は0%であった。多重ロジスティック回帰分析の結果、長時間の勉強と統計学的に有意に関連していたのは、「プログラム全体」($\beta=0.42$, $p=0.009$), 「毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記録すること」($\beta=0.33$, $p=0.034$)に対する満足度であった。本研究の結果から、本学歯学部第6学年の学生に対して「国家試験合格サポートプログラム」は一定の学生の満足度を得た。さらに、本プログラムを効果的に実施することで歯学部学生の長時間の勉強を促す可能性が示唆された。

緒 言

近年、歯科医師国家試験は難易度を増している。歯学部学生が国家試験対策に多くの時間を割くだけではなく、大学側としても国家試験勉強に関する学習支援などの対策を講じることが余儀なくされている。しかしながら、歯学部学生の国家試験勉強において有効な学習支援方法の開発に関する報告はほとんどみられない。一方で、医学、歯学、心理学などの臨床領域で、行動科学に基づいた保健指導を実施することは、慢性疾患患者の行動変容に対して有効であることが実証されている (Farquhar, 1987 ; Albright & Farquhar, 1992 ; Smarr et al., 1997 ; 坂野、前田, 2002 ; Wattana et al., 2007 ; Kakudate et al., 2010a)。筆者らはこれまでに、自己効力理論 (Bandura, 1977, 1978) に基づいて歯周病患者のセルフケアの行動変容を促すための 6 ステップメソッドを開発し、その有効性を報告している (Farquhar, 1987 ; Albright & Farquhar, 1992 ; Kakudate et al., 2009 ; Kakudate et al., 2010a)。

そこで今回筆者らは、平成21年度に北海道医療大学歯学部第6年次学生に対して、行動科学理論にもとづいた「国家試験合格サポートプログラム」と称するプログラムを開発した。学生の国家試験対策勉強を、心理面も含め教員が全面的にバックアップしていくこうという全国でも初めての試みである。本研究では、「国家試験合格サポートプログラム」に対する学生の満足度評価および長時間の勉強を促す要因について分析することとした。

方 法

1. 対象

調査対象は、平成21年度に「国家試験合格サポートプログラム」を受けた北海道医療大学歯学部第6学年の学生62名である。調査開始前に調査の主旨を十分に説明し、調査協力はあくまでも自由意思であること、調査協力に同意しなくても不利な扱いを受けないこと、知りえた情報を調査研究以外の目的で使用しないことなどを説明して、同意を得た後に、無記名式の自記式質問紙調査を行った。

2. 国家試験合格サポートプログラムについて

本プログラムは、行動科学理論の一つである自己効力理論 (Bandura, 1977 ; 坂野、東條, 1986) に基づいた「6ステップメソッド」(Farquhar, 1987) という方法に準拠している。「6ステップメソッド」は、慢性疾患患者の行動変容に効果があるとされ (Farquhar, 1987 ; Albright

& Farquhar, 1992 ; Kakudate et al., 2010a), わが国では、歯周病患者のセルフケアに対する行動変容を促進することを筆者らが報告した (Kakudate et al., 2009 ; Kakudate et al., 2010a)。そこで本研究では、6ステップメソッドを改変し、歯学部学生の学習支援に役立つように筆者らが本プログラムを考案した。本プログラムは下記の 6 つのステップから構成される。

ステップ1) 問題の確認

ステップ2) 自信とやる気を築く

ステップ3) 行動に対する気づきを高める

ステップ4) 行動計画の立案と実行

ステップ5) 行動計画の評価

ステップ6) 新しい行動の維持

本プログラムでは、上記のステップを実現させるため、複数のサポートを行った。第一に自己効力理論に基づき個々の学生が自分自身で達成可能な目標設定を行うためのサポートツール（冊子）を用いた。第二に個々の学生に対し担当教員を決め、学生の計画作成や目標達成のサポートを実施した。

下記に各ステップの詳細な内容をサポートツールの説明と共に述べる。

ステップ1) 問題の確認

プログラム開始時点で、個々の学生の勉強時間、勉強方法、勉強上での悩み等について、30分程度のカウンセリングを担当教員が行った。

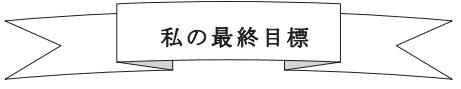
ステップ2) 自信とやる気を築く

学生が、国家試験勉強に関して間違った思い込みがあれば、担当教員はそれを解消するべく、カウンセリングを行った。必要に応じて、悩みを持つ学生と似たような境遇の、代理的経験（モデリング）を果たしそうな話を紹介した。最終目標を学生と担当教員とで決定し、宣誓書に署名した（図1）。

ステップ3) 行動に対する気づきを高める

筆者らが開発したサポートツール冊子を使用し、学生自身に原則として毎日、勉強時間・勉強を行った科目を記載してもらい、過去の勉強内容の全容を概観できるようにした。また、毎日の勉強に対する感想欄にも、日々勉強する上で思ったことや感じたことを率直に書いてもらった。これにより、学生自身あるいは担当教員が学生の心理状況を詳細に把握することができになり、次回のカウンセリング時に間違った思い込みがあれば修正を行い、不安や悩みがあればそれを解消できるようカウンセリングを実施した。カウンセリングは原則として 1 ~ 2 週間に 1 回実施された。

ステップ4) 行動計画の立案と実行



私は第 103 回 **歯科医師国家試験**に合格します。

確認をお願いします。

平成 年 月 日

学籍番号 _____ 氏名 _____

担当教員
所属 _____ 氏名 _____

図 1：最終目標チェックシート

中期目標チェックシート

全 4 回の卒業試験で、平均 _____ 割の得点をとります。

確認をお願いします。

平成 年 月 日

学籍番号 _____ 氏名 _____

担当教員
所属 _____ 氏名 _____

図 3：中期目標チェックシート

短期目標チェックシート

次の（卒業試験・模擬試験）での目標

私は次の試験で、下記の点数を取りたいと思います。確認をお願いします。

必修問題	一般問題	臨床実地問題
/50	/210	/105

※この表には、試験で何点とるかを記入してください
全科目達成したときのご褒美： _____

勉強について

1) 次の試験日まで勉強は毎日何時間しますか？ (時間)
2) 勉強に集中するにあって妨げとなること、気になっていることがありますか？ありましたら、可能な範囲で教えてください。

平成 年 月 日

学籍番号 _____ 氏名 _____

担当教員
所属 _____ 氏名 _____

図 2：短期目標チェックシート

筆者らの開発した目標チェックシートを用いて、短期的（図 2：次の卒業試験での得点の目標）、中期的（図 3：全 4 回の卒業試験での得点の目標）、および長期的目標（図 1：国家試験合格）に分けてそれぞれ行動計画を立案した。図 4 に示す行動計画チェックシートを用い

行動計画チェックシート

平成 年 月 日

今週 1 週間の目標： _____

学籍番号 _____ 氏名 _____

担当教員所属 _____ 氏名 _____

月 日 メモ： _____	0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
月 日 メモ： _____	0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
月 日 メモ： _____	0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
月 日 メモ： _____	0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
月 日 メモ： _____	0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
月 日 メモ： _____	0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24

図 4：行動計画チェックシート

て、1 週間ごとの達成可能な行動計画ならびに勉強の実施状況を記入してもらった。

ステップ 5) 行動計画の評価

行動計画の評価のためにカウンセリングを行い、行動計画が実際に達成できているかを確認した。達成できていなかった場合には学生を責めず、目標設定が悪かったとして、再度、達成可能な目標を設定した。なお、本研

究では、6ステップメソッドにおけるステップ5までを実施した。

今回は、本プログラムの他にも、その他のサポートとして、学年主任が、励ましのコメントカード、合格祈願の鉛筆の配布、学年主任への目安箱（主任直行便）の設置を実施した。

3. 評価項目

プログラムの各項目に対して、自記式の質問紙を用いてプログラムの満足度調査および勉強時間について調査を実施した。調査は、平成21年度第103回歯科医師国家試験合格発表後の北海道医療大学歯学部第6学年卒業式の当日に実施した。

調査項目は、I：プログラム全体の満足度評価（Q1「国家試験合格サポートプログラム全体について」）、II：プログラムの各要素について（Q2「毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記録することについて」、Q3「毎週の短期目標を冊子に書くことについて」、Q4「毎回の卒試の得点の目標を冊子に書くことについて」、Q5「目標を達成できたときのご褒美を冊子に書くことについて」、Q6「国試に合格します宣言」を冊子に書くことについて、Q7「グループ分けについて」、Q8「担任制について」、Q9「担当教員の対応について」、Q10「担当教員と面談することについて」）、その他（III：Q11「励ましのコメントカードについて」、IV：Q12「合格祈願の鉛筆の配布について」、V：Q13「学年主任への目安箱（主任直行便）について」）、Q14「国家試験合格サポートプログラムの冊子を使いましたか」、Q15「担任制はあった方がよいと思いますか？」、Q16「あなたはこの1年間で1日平均何時間くらい勉強しましたか？（平日および休日）」の16項目とした。

満足度の評価については、「とても満足」から「とても不満足」までの5段階のLikert方式で評定した。

4. 統計解析

調査した各項目の記述統計量を算出し、さらに「1週間あたりの勉強時間」を従属変数とし、プログラム全体、毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記録すること、励ましのコメントカード、合格祈願の鉛筆の配布、学年主任への目安箱（主任直行便）に対する満足度を説明変数とした、重回帰分析を行った。なお、1週間あたりの勉強時間は、平日の平均勉強時間×5+休日の平均勉強時間×2で算出した。説明変数は、I：プログラム全体（Q1）、II：プログラムの各要素について（Q2-10）、III：励ましのコメントカード（Q11）、IV：合格祈願の

鉛筆の配布（Q12）、V：学年主任への目安箱（主任直行便）（Q13）の各カテゴリーから1項目ずつ抽出した。データ解析にはSPSS for Windows11.0Jを用いた。

結果

1. 満足度の評価について

本プログラムに対する満足度調査の結果を図5に示す。質問紙は62名に配布され、回収率は100%であった。

プログラムの全体評価については、50.8%が「とても満足」もしくは「満足」と回答し、49.2%が「どちらともいえない」と回答した。なお、「不満足」もしくは「とても不満足」と回答したのは、0%であった。

プログラムの各要素については、Q2「毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記録することについて」は53.2%、Q3「毎週の短期目標を冊子に書くことについて」は40.8%、Q4「毎回の卒試の得点の目標を冊子に書くことについて」は65.3%、Q5「目標を達成できたときのご褒美を冊子に書くことについて」は45.8%、Q6「国試に合格します宣言」を冊子に書くことについて」は70.2%が「とても満足」もしくは「満足」と回答した。また、Q7「グループ分けについて」は44.3%、Q8「担任制について」は72.6%、Q9「担当教員の対応について」は78.7%、Q10「担当教員と面談することについて」は71.0%、Q11「励ましのコメントカードについて」は74.2%であった。Q12「合格祈願の鉛筆の配布について」は83.9%、Q13「学年主任への目安箱（主任直行便）について」は54.1%が「とても満足」もしくは「満足」と回答した。

Q14「国家試験合格サポートプログラムの冊子を使いましたか」は42%が毎日使ったあるいは時々使ったと回答した（図6）。

Q15「担任制はあった方がよいと思いますか」に対して「あった方がよい」と回答したのは92%であった（図7）。

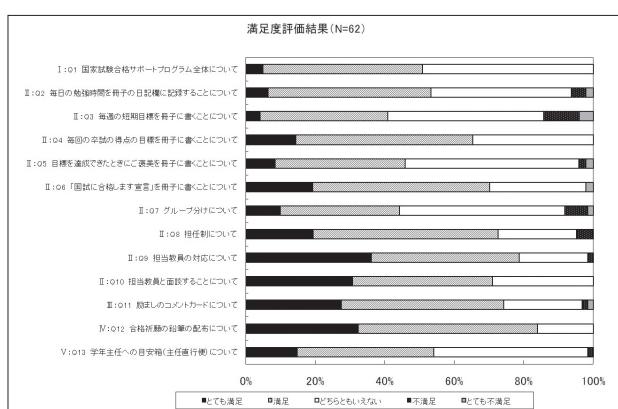


図5：満足度評価結果

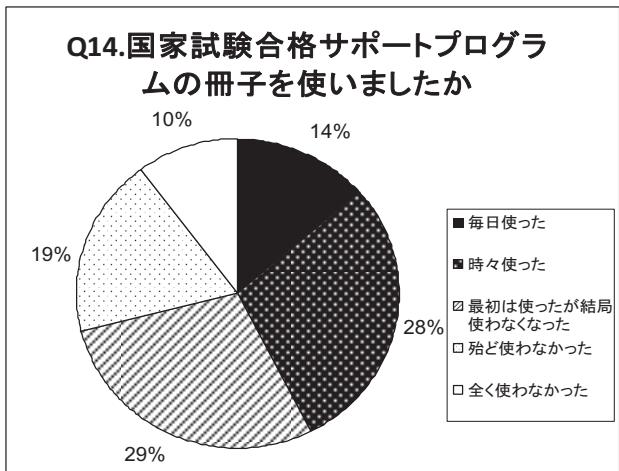


図6：国家試験合格サポートプログラムの冊子について

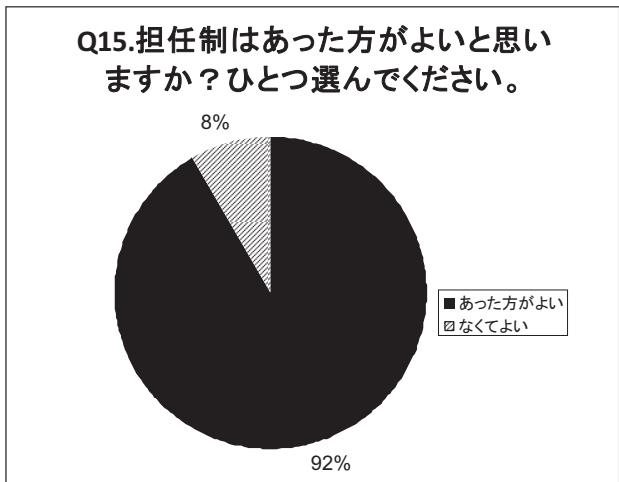


図7：担任制について

Q16「あなたはこの1年間で1日平均何時間くらい勉強しましたか？」に対しては、平日は平均4.2時間であり、休日は平均6.5時間であった。

2. 1週間あたりの勉強時間に関連する要因について
重回帰分析の結果、1週間あたりの勉強時間（単位：時間）に統計学的に有意な関連があったのは、「国家試験合格サポートプログラム全体の満足度」および「毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記録することの満足度」であった（表1）。

考 察

本研究では、国家試験合格に対する学生のやる気、自信、ならびにモチベーションを上げて勉強の量と質を高め、本学の国家試験合格率を向上させるために独自の「国家試験合格サポートプログラム」を開発し、実施した。さらに本プログラムに対する満足度評価ならびに1週間あたりの長時間の勉強に関連する要因を検討した。教員のサポート体制が学生の学習意欲に大きく影響し、結果として長時間の勉強に繋がるとの仮説のもと、重回帰分析の変数設定を行った。本研究の結果から、本学歯学部第6学年の学生に対して実施した「国家試験合格サポートプログラム」は一定の学生の満足度を得たと考えられる。さらに、本プログラムを効果的に実施し、学生の満足度を高めることで長時間の勉強を促す可能性が示唆された。

本プログラムの各要素における満足度に関しては、特に、「担当教員の対応について」および「担任制について」の点において学生の満足度が高いことが示された。また、「担任制はあった方がよいと思いますか？」に対して「あった方がよい」と回答した者は92.0%と高かったことから、本プログラムにおける担任制は、歯学部学生の国家試験対策におけるサポートを行う上で有用であることが示唆された。

また、長時間の勉強に関連する要因について、重回帰分析にて検討した結果、1週間あたりの勉強時間に統計学的に有意な関連がみられたのは「プログラム全体」および「毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記録すること」についての満足度であった。このことから、プログラム全体の満足度が高く、また、毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記載するものほど長時間勉強していることが示された。

しかしながら、冊子の使用状況については、毎日使った学生から、全く使わなかった学生までばらつきがみられ、今後冊子を改良する上では、毎日の勉強時間を記載しやすくなるように工夫し、継続可能性および満足度を高めるように作成する必要があると考えられた。

本プログラムの開発にあたっては、自己効力理論を応

表1：1週間あたりの勉強時間と関連する要因

変数名	標準化係数 (β)	有意確率
国家試験合格サポートプログラム全体	0.42	0.009
毎日の勉強時間を冊子の日記欄に記録すること	0.33	0.034
励ましのコメントカード	-0.20	0.361
合格祈願の鉛筆の配布	-0.26	0.279
学年主任への目安箱（主任直行便）	-0.02	0.902

(N=45)

用した。自己効力感とは、「ある結果を生み出すために必要な行動をどの程度上手く行うことができるか」のことであり、自己効力感を高めることで、行動が変容することが、医学、歯学、看護、教育、心理学領域で実証されている (Farquhar, 1987; Albright & Farquhar, 1992; Smarr et al., 1997; 坂野, 前田, 2002; Wattana et al., 2007; 角館ら, 2007; Kakudate et al., 2010a, b, c)。自己効力感を高めるためには、①成功体験、②代理的経験、③言語的説得、④生理的情動的状態の4つの情報源に対する介入が有効であることが証明されている (Bandura, 1977; Kakudate et al., 2010a, b, c)。中でも①の成功体験が自己効力感を高める上で最も重要であり (Bandura, 1977, 1997)，そのためには、スマールステップの目標を学生自身に設定してもらい、クリアしていくことが重要であるとされている (Farquhar, 1987; Albright & Farquhar, 1992)。本研究においては、各ステップを通して、4つの情報源に対して効果的に介入できるようにプログラムを構成した。さらに、本プログラムでは、自己効力感を高めるための様々なサポートツール (スマールステップの目標を設定し、セルフモニタリングを行う冊子、励ましのコメントカード、合格祈願の鉛筆の配布、学生主任への目安箱) を用いてカウンセリングを行った。このような行動科学にもとづいたカウンセリングが、プログラムの全体満足度を高めることに貢献し、さらに長時間の勉強を促す可能性が考えられる。

本研究は、これまでに多くの学問領域において有効性が証明されている自己効力理論が、歯学部学生の教育においても有用であることを示唆しており、今後の歯学教育プログラムの開発のための有用な知見の一つになるであろう。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、本プログラムの実施に多大なるご協力をいただきました担当教員の先生方ならびに支援してくださいました先生方に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究は平成22年度北海道医療大学歯学会奨励研究の助成を受けて実施いたしました。

文 獻

- Albright CL, Farquhar JW. Principles of Behavioral Change. In : Greene HM, editor. Introduction to Clinical Medicine. Philadelphia : BC Decker, 1996, p762-767.
- Bandura A. Self-efficacy : toward a unifying theory of behavioral change. *Psychol Rev* 84 : 191-215, 1977.
- Bandura A. Reflections on self-efficacy. *Adv Behav Res Ther* 1 : 237-269, 1978.

- Bandura A. *Self-efficacy : the exercise of control*. New York City : W. H. Freeman and Company ; 1997.
- Farquhar JW. The American way of life need not be hazardous to your health. New York City : Da Capo Press ; 1987.
- 角館直樹、森田学、藤澤雅子、永山正人、川浪雅光. 歯周病患者のセルフケアに対する自己効力感測定尺度の開発－信頼性と妥当性の検討－. 日本歯周病学会会誌 49 : 285-295, 2007.
- Kakudate N, Morita M & Kawanami M. Oral health care-specific self-efficacy assessment predicts patient completion of periodontal treatment : a pilot cohort study. *J Periodontol* 79 : 1041-1047, 2008.
- Kakudate N, Morita M, Sugai M & Kawanami M. Systematic cognitive behavioral approach for oral hygiene instruction : a short-term study. *Patient Educ Couns* 74 : 191-196, 2009.
- Kakudate N, Morita M, Fukuhsra S, Sugai M, Nagayama M, Kawanami M & Chiba I. Application of self-efficacy theory in dental clinical practice. *Oral Dis* 16 : 747-752, 2010a.
- Kakudate N, Morita M, Yamazaki S, Fukuhsra S, Sugai M, Nagayama M, Kawanami M & Chiba I. Association between self-efficacy and loss to follow-up in long-term periodontal treatment. *J Clin Periodontol* 37 : 276-282, 2010b.
- Kakudate N, Morita M, Sugai M, Nagayama M, Kawanami M, Sakano Y & Chiba I. Development of the self-efficacy scale for maternal oral care. *Pediatr Dent* 32 : 310-315, 2010c.
- 坂野雄二、東條光彦. 一般性セルフ・エフィカシー尺度作成の試み. 行動療法研究 12 : 73-82, 1986.
- 坂野雄二、前田基成. セルフ・エフィカシーの臨床心理学. 京都 : 北大路書房 ; 2002.
- Smarr KL, Parker JC, Wright GE, Stucky-Ropp RC, Buckelew SP, Hoffman RW, O'sullivan FX & Hewett JE. The importance of enhancing self-efficacy in rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res* 10 : 18-26, 1997.
- Wattana C, Srisuphan W, Pothiban L & Upchurch SL. Effects of a diabetes self-management program on glycemic control, coronary heart disease risk, and quality of life among Thai patients with type 2 diabetes. *Nurs Health Sci* 9 : 135-141, 2007.

〔症例報告〕

骨移植後の顎裂部に歯の移植を行った長期観察2症例

村井 茂¹⁾, 松沢 史宏²⁾, 飯嶋 雅弘²⁾, 石野 善男³⁾, 村井かおる¹⁾,
甲田 尚央²⁾, 伊藤 麻衣²⁾, 上地 潤²⁾, 六車 武史²⁾, 林 一夫²⁾, 中垣 晋²⁾,
溝口 到²⁾

1) みはら歯科矯正クリニック

2) 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

3) 二子玉川ガーデン矯正歯科

Two cases with long-term observation of tooth transplantation
into the bone-grafted alveolar cleft.

Sigeru MURAI¹⁾, Fumihiro MATSUZAWA²⁾, Masahiro IIJIMA²⁾, Yoshio ISHINO³⁾, Kaoru MURAI¹⁾,
Naohisa KOHDA²⁾, Mai ITO²⁾, Jun UECHI²⁾, Takeshi MUGURUMA²⁾, Kazuo HAYASHI²⁾, Susumu NAKAGAKI²⁾,
Itaru MIZOGUCHI²⁾

1) Mihara Orthodontic Office

2) Division of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Department of Oral Growth and Development,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido.

3) Futakotamagawa Garden Orthodontic Office

Abstract

This article describes the use of tooth autotransplantation during orthodontic treatment in 2 patients with cleft lip and palate. The two cleft lip and palate patients with congenitally missing teeth were treated successfully by tooth transplantation followed by the orthodontic treatment. In both cases, the autologous bone from the iliac crest into the alveolar cleft were grafted before the tooth transplantation. The lower lateral incisor was transplanted into the reconstructed alveolar process at 11 years of age for one case and at 14 years of age for the other. Minimum root resorption and periodontal attachment loss have been observed during long term observations. We concluded that autotransplantation should be a valuable alternative to other treatments, such as using dental implants or fixed partial dentures, for patients with cleft lip and palate accompanied by congenitally missing teeth, if a suitable donor is available.

Key words : Bone graft, Tooth transplantation, Autotransplantation, Cleft lip and/or plate

緒 言

近年, 唇顎口蓋裂の治療では, 顎裂部への自家腸骨移植が一般的に行われるようになった (Boyne and Sands, 1972; 村井ら, 1996; 幸地ら, 1999)。顎裂部に対する骨移植により歯槽骨の連続性を獲得できることから, その部位における永久歯の自然萌出 (關山ら, 2010), 開窓による萌出誘導 (松井ら, 2007) および開窓牽引による萌出誘導 (當麻ら, 2008) 等が可能となった。唇顎口蓋裂患者では, 上顎側切歯の先天性欠損がしばしば見ら

れ (大矢ら, 1995), その欠損部位は架橋義歯により治療されることが多い。骨欠損部への骨移植により骨の連続性 (骨架橋形成) が得られるが, 歯根による支持のない移植骨は, 時間の経過とともにしばしば吸収される傾向がある。骨移植により形成される骨架橋の良好な予後を達成するために, 同部における歯の萌出誘導が望まれる。しかしながら, 歯の先天性欠損を有する症例においては, 架橋義歯や歯科インプラントを用いた治療法を選択しなければならない場合もある。このような症例で叢生や転位歯等がある場合には, これらをドナーとした歯

受付: 平成23年3月30日

の自家移植という選択肢も考えられ、近年ではこのような治療報告も散見されるようになった（簡野ら、2007；Tanimoto et al., 2010）。今回は、唇顎口蓋裂患者に対して、顎裂部への自家腸骨移植後にその部位に下顎前歯を自家移植し、移植歯の状態を長期に観察できた症例を経験したので報告する。

症 例

症例1：初診時年齢3歳（1984年12月9日生まれ）の女児、両側唇顎裂

既往歴および家族歴：特記事項なし。

現病歴：生後4か月時（1985年）に口唇形成術が施行され、その後問題なく経過していたが、両側の顎裂部を主訴に1987年12月に当院を受診となる。

現症：3歳時（1987年）の口腔内所見では、両側上顎側切歯の先天性欠損が認められたが、下顎歯列には欠損歯は見られなかった（図1）。上顎前歯部の歯槽骨は遊離しており、左側では軟組織の連続性が認められなかった。上顎両側乳中切歯と左側乳側切歯は上顎前歯部の歯槽骨に萌出しており、前歯部は反対咬合を呈していた。上顎歯列弓の狭窄が認められた。

処置および経過：5歳時（1989年）において上顎前歯部の歯槽骨の可動性が認められたので、早期に反対咬合を改善することを目的に、上顎前歯部の歯槽骨全体の前方移動を上顎前歯前方拡大装置により行った。6歳5か月（1991年）より、リンガルアーチを用いて引き続き被蓋の改善を試み、同時に下顎骨の成長を抑制するためにチンキヤップを9歳（1993年）まで使用した。骨の連続性を改善することを目的に、10歳10か月時（1995年）に腸骨から採取した海綿骨を両側の顎裂部に自家移植した。このとき上顎犬歯は両側とも半萌出であった。術後6か月には骨移植部位に犬歯が萌出開始し、12歳時（1997年）には骨移植部位に犬歯が完全に萌出した。13



図1 初診時の口腔内写真。

歳時点（1998年）で、口腔内の乳歯は永久歯へほぼ交換し、前歯部は切端咬合を呈しており、マルチブラケット装置を用いた2期治療の開始が可能なものと考えられた。上顎両側側切歯が先天欠損しており、この時点におけるセファロ分析より軽度の骨格性下顎前突と診断した。下顎左側側切歯を上顎左側側切歯欠損部へ移植するセットアップ模型を作成し、良好な咬合が確立できることが確認できたので、下顎左側側切歯を抜去し、上顎左側側切歯部へ移植を行った（図2a, b）。13歳11か月時よりマルチブラケット装置による2期治療を開始し（図3），16歳10か月時（2001年）にマルチブラケット装置による動的治療を終了した（図4）。移植した下顎左側側切歯に動搖は認められず、歯周ポケットの深さは2～4mmと良好であった。動的治療終了時（移植後約3年）のデンタルエックス線写真所見では（図5），下顎左側側切歯の歯根周囲の歯槽硬線が全周に認められ、歯根吸収や骨性癒着を起こしているような所見は見られず、歯根膜の再生が生じているものと考えられた。歯根周囲の歯槽骨の高さは、歯根長に対して3/4程度存在

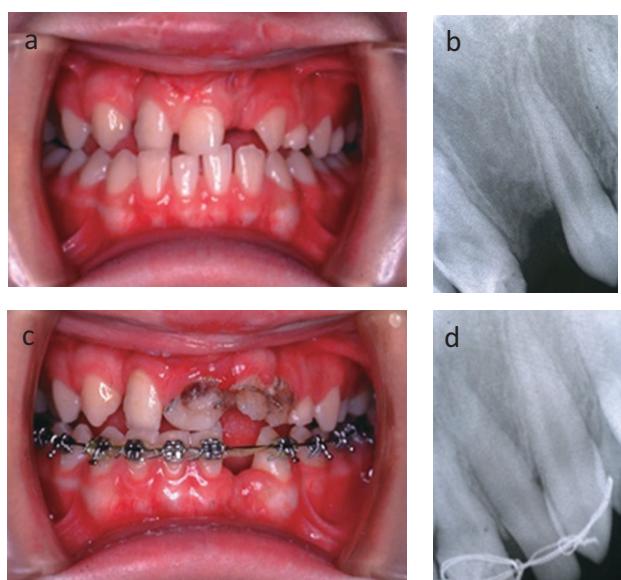


図2 a, 術前口腔内写真；b, 術前のデンタルエックス線写真；c, 術後の口腔内写真；d, 術後のデンタルエックス線写真。



図3 マルチブラケット装置による動的治療開始時の口腔内。



図4 動的治療終了時の口腔内写真。



図5 動的治療終了時のデンタル写真。



図6 初診時口腔内写真。

し良好であった。

症例2：初診時年齢6歳2か月（1984年5月16日生まれ）の男児、左側唇顎口蓋裂

既往歴および家族歴：特記事項なし。

現病歴：生後4か月時（1984年）に口唇形成術が施行され、その後問題なく経過していたが、左側の顎裂部を主訴に1990年7月に当院を受診となる。

現症：上顎左側側切歯が先天性欠損し、前歯部反対咬合



図7 犬歯の誘導が終了した状態の口腔内写真。

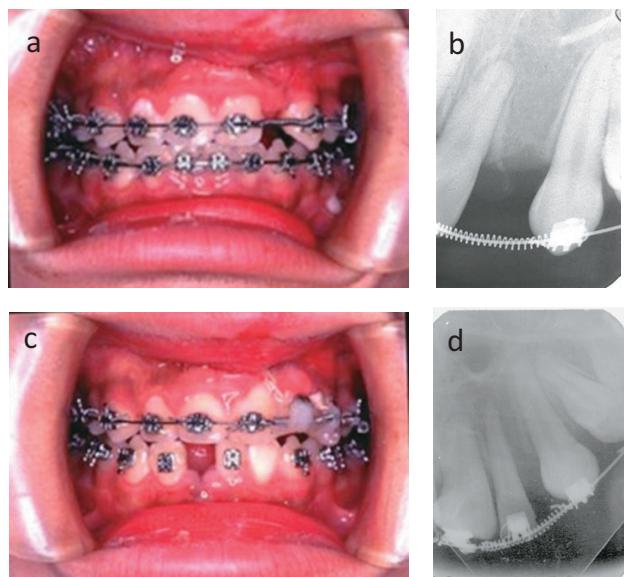


図8 a, 術前口腔内写真；b, 術前のデンタルエックス線写真；c, 術後の口腔内写真；d, 術後のデンタルエックス線写真。

であった（図6）。

処置および経過：8歳4か月（1986年）に舌側弧線装置を装着し、矯正治療を開始した。11歳6か月時（1989年）に骨の連続性を改善するために、腸骨から採取した海綿骨を顎裂部に自家移植した。11歳10か月時（1989年）に顎裂部辺縁に埋伏していた左側上顎犬歯の萌出が開始したため、パーシャルブラケット装置を装着し、犬歯の萌出誘導と歯列の配列を行った（図7）。上顎左側側切歯と上顎右側第二小臼歯の先天欠損が認められ、12歳5か月時（1990年）のセファロ分析値より軽度の骨格性下顎前突症と診断した。セットアップ模型分析から2期治療の方針として、下顎three-incisorで上下歯列を配列することとした。また、治療上抜去される下顎右側側切歯を、腸骨が移植された顎裂部に移植することとした。マルチブラケットを上下の歯に装着後、上顎左側側切歯の移植部位の空隙を確保するためにオープンコイルスプリングを使用した（図8a, b）。その後、14歳10か



図9 マルチブラケット装置による動的治療終了時の口腔内写真.

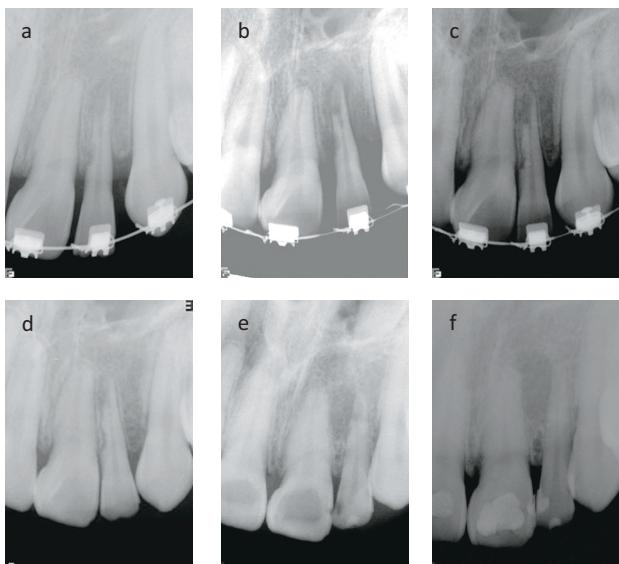


図10 経時のエックス線写真.

a, 自家歯牙移植2か月後; b, 自家歯牙移植7か月後; c, 自家歯牙移植9か月後; d, 自家歯牙移植24か月後; e, 自家歯牙移植5年後; f, 自家歯牙移植10年後.

月時（1992年）に下顎右側側切歯を抜歯し直ちに上顎左側側切歯部へ自家歯牙移植を行った（図8c, d）。移植歯にはブラケットを装着し、結紮したワイヤーを含め即時重合レジンを用いて固定した。移植後1.5か月で固定を除去し、レスポンドワイヤーを用いて歯の移動を開始した。移植後9か月時点では、下顎のスペースは閉鎖され、移植歯の骨植は良好であった。16歳11か月時（1994年）にマルチブラケット装置による動的処置を終了した（図9）。移植した歯に動搖は認められず、歯周ポケットの深さは、2～4 mmであった。歯根周囲の歯槽骨の量は、歯根長に対して3/4程度と良好であった。移植後2か月のデンタルエックス線写真所見では、根尖と歯根近心面に若干の歯根吸収像が認められたが（図10a）、移植後24か月後において歯根吸収の進行は認められなかった（図10d）。さらに、5年後と10年後のデンタルエックス線写真所見では、移植直後に見られた根尖と歯根近心面の吸収像に対し、セメント質の添加によるものと思われる治癒像が認められた（図10e, f）。

考 察

1. 頸裂部自家骨移植について

1969年にSkoogは、口唇裂に対する初回手術時に骨の移植を行う頸裂部1次骨移植について報告した。しかし

ながら本法では、移植骨が上顎骨の側方成長を妨げることが懸念され、Cooperら（1979）は、矯正治療により上顎骨の側方拡大を行った後の12歳以降に骨移植を実施する2次的頸裂部骨移植を推奨した。頸裂部に骨移植を行う利点として、①犬歯の自然萌出が期待できる、②歯列弓の連続性が得られることにより保定が容易となる、③鼻翼基部の対称性が得やすい、④周囲に存在する乳歯や永久歯の頸裂部への移動が可能となる、⑤自家歯牙移植やインプラントの埋入が可能となる、⑥頸裂辺縁部における埋伏歯の成長の可能性が高まる等が考えられる（村井ら：1999）。骨移植時期についてはさまざまな報告があり、以前は犬歯の萌出する時期に多くの施設が骨移植を行っていたが、近年においては中切歯萌出前に骨移植を行うという報告も散見される（Miller et al., 2010）。

2. 自家歯牙移植について

歯の移植を行う際には、移植前に抜歯処置を行うか、あるいは移植後に抜歯処置を行うのが一般的である（中村、1997）。今回の症例においては、移植歯の定着後に根管治療を行う予定であった。両症例ともに定着後、電気歯髄診断を行ったところ反応はなかったが、著しい動搖や打診痛はなく、およびデンタルエックス線写真による根尖病巣が認められず、状態が良好であるものと判断し、根管治療を行わずに経過観察を継続することとした。現在まで、根尖病巣を認められないと根管治療を行っていない。また、動的治療終了時において移植歯の色調の変化は認められなかった。両症例ともに現在までのデンタルエックス線写真において、根周囲に異常な透過像は認めなかった。

従来、唇顎口蓋裂患者に骨移植を行わなかった場合、その周囲の歯は形成不全歯として埋伏、あるいは萌出しても抜歯の対象となることが多かった。そしてこの欠損部位は架橋義歯やデンタルインプラントにより治療されることが多かった（谷口ら、2007）。このような症例に対し矯正治療が予定されている場合、叢生の改善や前歯の舌側移動のため治療上抜去される歯をドナーとした歯の自家移植を選択した場合、架橋義歯やデンタルインプラントによる治療を回避でき、この場合に患者にもたらされる利益は非常に大きいものと考えられる。

3. 移植対象歯について

今回の2症例においては、下顎前歯をドナーとして上顎側切歯部に自家移植を行った。他の報告では、上顎側切歯部の移植に、下顎第2小白歯を移植した報告（Muynck et al., 2004）があり、当院でも下顎第1小白歯

を上顎前歯部へ移植した症例も経験している。骨移植を行った上顎側切歯部は、頬舌径が狭く、通常歯槽骨の高さが低いので、下顎小白歯のような根の太い歯よりも下顎前歯が形態的にドナーに適していると考えられる。また、歯冠部の形態についても小白歯よりも適しているものと考えられる。

結 語

唇顎口蓋裂患者の、歯科矯正治療においては、治療上抜去する歯を欠損部位に移植することは、機能的な咬合を確立するための治療の選択肢として有効なものと考えられる。

参考文献

- Boyne PJ, Sands NR. Secondary bone grafting of residual alveolar and palatal clefts. *J Oral Surg* 30 : 87-92, 1972.
- Cooper HK, Harding RL, Krogman WM, Mazaheri M, Millard RT : CLEFT PALATE AND CLEFT LIP : A Team Approach to Clinical Management and Rehabilitation of the Patient. Philadelphia : Saunders. 183-186, 1979.
- 簡野瑞誠, 小海 晓, 佐藤 豊, 相馬邦道. 骨移植後の顎裂部に小白歯の自家移植を行った2症例. *日口蓋誌* 32 : 266, 2007.
- 幸地省子, 猪狩俊郎, 飯野光喜. 上顎中切歯萌出前の顎列への骨移植 右側不完全唇顎口蓋裂1女子症例. *日口蓋誌* 24 : 313-321, 1999.
- 松井桂子：顎裂部への早期新鮮自家腸骨海綿骨細片移植術後の上顎骨の成長について. *東北大歯誌* 19 : 37-50, 2000.
- 松井桂子, 越後成志, 君塚 哲, 千葉雅俊. 顎裂部への骨移植後に永久犬歯を開窓し萌出誘導した一例. *日口蓋誌* 32 : 326-334, 2007.
- Miller LL, Kauffmann D, John DS, Wang D, Grant III JH, Waite PD : Retrospective Review of 99 Patients With Secondary Alveolar Cleft Repair. *J Oral Maxillofac Surg*. 68 : 1283-1289, 2010.
- 村井 茂, 木村 中, 早坂登喜子, 畠 真也, 南本俊之. 顎裂部骨移植部への自家歯牙移植の可能性：矯正歯科学的利点について. *日本口蓋裂学会誌* 24 : 161, 1999.
- 村井 茂, 松原 晓, 金山精一, 富田達洋. 口蓋裂児の総合的治療における矯正治療の役割と治療過程—パラタルリフト(発音補助装置)と矯正歯科治療を併用した症例について—.

ペッグ矯正歯科ジャーナル 7 : 51-57, 1996.

Muynck SD, Verdonck A, Schoenaers J, Carels C : Combined surgical /orthodontic treatment and autotransplantation of a premolar in a patient with unilateral cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofac J* 41 : 447-455, 2004.

中村 義：根完成歯における自家歯牙移植の臨床. *歯界展望* 82 : 811-830, 1997.

大矢卓志, 富井恭子, 山田尋士, 松本尚之, 川本達雄, 木下善之介. 口唇裂口蓋裂を有する矯正患者の歯の異常—大阪歯科大学付属病院における5年間の統計的観察—第1報 顎裂部位と歯数異常の発現頻度. *日口蓋誌* 20 : 220-234, 1995.

關山浩子, 山内香子, 若林香枝, 金野吉晃, 本多孝之, 本庄省五, 小林誠一郎, 三浦廣行. 自然萌出が困難と思われた永久歯が顎裂部骨移植後に萌出誘導された3症例. *日口蓋誌* 35 : 82-88, 2010.

Skoog T : Repair of unilateral cleft lip deformity : maxilla, nose and lip. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.* 3 : 109-133, 1969.

谷口 尚, 隅田由香, 飯田敏朗, 乙丸貴史, 星合泰治：口唇裂口蓋裂症例の補綴治療. *日本口蓋裂学会雑誌* 32 : 10-16, 2007.

Tanimoto K, Yanagida T, Tanne K. Orthodontic treatment with tooth transplantation for patients with cleft lip and palate. *Cleft Palate Craniofacial J* 47 : 499-506, 2010.

當麻倫衣子, 神谷貴志, 西 美香, 田井雅子, 山本淨子, 河田俊嗣, 加來真人, 丹根一夫. 顎裂骨移植部に永久犬歯を開窓牽引した口唇裂・口蓋裂の二症例. *日口蓋誌* 33 : 221, 2008.



村井 茂

みはら歯科矯正クリニック

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野 非常勤講師

- 昭和50年3月 岩手医科大学歯学部卒業
昭和50年4月 札幌医科大学口腔外科入局
昭和51年4月 札幌医科大学口腔外科助手
昭和54年2月 北海道医療大学歯学部矯正歯科学講座助手
昭和57年4月 北海道医療大学歯学部矯正歯科学講座講師
昭和58年 痢館市立病院歯科口腔外科科長
昭和61年 みはら歯科矯正クリニック開設

〔学位論文〕

口腔扁平上皮癌細胞に対するmTOR阻害剤の抗腫瘍効果に関する研究

植村 太輔

北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野

A study on the anti-tumor effects of mTOR inhibitor
in oral squamous cell carcinoma cells

Taisuke UEMURA

Division of Clinical Oral Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

Oral cancer accounts for approximately 2–3% of all cancers, and 31.8% of head and neck cancers. More than 90% of malignant neoplasms of the oral cavity are squamous cell carcinomas of the lining mucosae. Despite extensive researches, the five-year survival rate of oral squamous cell carcinoma (OSCC) patients has not been improved. Rapamycin, which targets mTOR (mammalian target of rapamycin), has currently drawn attention as an anti-cancer therapeutic strategy for various malignant tumors. Therefore, we investigated the anti-cancer effects of rapamycin in human OSCC cell lines. Anti-cancer effects of mTOR inhibitor, rapamycin, were evaluated in a panel of four OSCC cell lines (SAS, SAS-H1, SAS-L1, HSC4). Cells were exposed to rapamycin for 48 hours. Anti-proliferative effects were studied using CyQUANT Cell Proliferation Assay Kit. After treatment of rapamycin, the expressions of p21, p27, Bax and Bcl-2 were examined on quantitative RT-PCR. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression was analysed using ELISA. We found that rapamycin exerts growth suppression and downregulates the expression of VEGF in OSCC cells *in vitro*. We also showed that rapamycin promoted apoptosis by up-regulating the proapoptotic molecules Bax and down-regulating Bcl-2. In addition, the expression of p21 and p27, which are associated with cell cycle arrest, is up-regulated by rapamycin treatment. Our findings demonstrate that rapamycin exerts anti-cancer effects on OSCC cells *in vitro* through multiple actions, including inhibition of proliferation, induction of apoptosis, cell cycle arrest and suppression of VEGF, suggesting that rapamycin might be worthy of clinical evaluation as an anti-cancer agent on OSCC.

Key words : Oral squamous cell carcinoma, mTOR, Rapamycin, VEGF, Apoptosis

抄 錄

口腔癌は全癌の約2–3%，頭頸部癌の31.8%を占める。口腔に発生する悪性腫瘍の90%以上は口腔粘膜に由来する扁平上皮癌である。広範な研究がなされているが、口腔癌患者の5年生存率は改善されていない。mTORを標的とするラパマイシンは現在、種々の悪性腫

瘍に対する抗癌治療戦略として関心を集めており、そのため、ヒト口腔扁平上皮癌細胞におけるラパマイシンの抗癌作用を検討した。mTOR阻害剤であるラパマイシンの抗癌作用は口腔扁平上皮癌細胞株であるSAS, SAS-H1, SAS-L1, HSC-4の4種を使用し、細胞に対するラパマイシン処理を48時間行った。ラパマイシン処理後の細胞増殖抑制作用の評価は、CyQUANT Cell Prolifera

受付：平成23年3月30日

tion Assay Kitを使用し、癌細胞におけるp21, p27, Bax, Bcl-2の発現は定量的RT-PCRにて、VEGF発現はELISAを使用した。癌細胞に対するラパマイシンの使用は、細胞増殖抑制とVEGF発現の低下を引き起こすことが示され、また、Baxの発現上昇とBcl-2の発現低下を来すことから、癌細胞のアポトーシス促進を誘導する可能性が示唆された。さらに、CDKインヒビターであるp21, p27の発現上昇も観察され、これにより細胞周期の停止が引き起こされていると推察された。これらの結果から、口腔扁平上皮癌細胞に対するラパマイシン処理は、増殖抑制やアポトーシスの促進、細胞周期停止、VEGF発現低下などの抗癌作用を引き起こすと考えられ、口腔癌に対する抗癌剤としての可能性を有していると考えた。

緒 言

口腔癌は全癌の2-3%で、頭頸部癌の中では発生頻度が高く31.8%を占め、その組織型の約90%以上は扁平上皮癌である。近年、種々の悪性腫瘍において、分子標的治療薬の基礎研究、臨床導入により、治療効果の増強と予後の改善が認められている。mTOR (mammalian target of rapamycin) は分子標的治療薬のターゲットとして注目されている分子の一つで、細胞増殖や抗アポトーシス、血管新生などに関連している。PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted from chromosome 10) は癌抑制遺伝子であり、PI 3 K活性に抑制的に働き、PI 3 K-Akt-mTOR経路における活性調節の役割を担っている。そのため、PTEN遺伝子の変異や欠失による不活性化は、PI 3 K-Akt-mTOR経路の活性化を引き起こすとされている。口腔扁平上皮癌におけるmTOR阻害による抗腫瘍効果や、PTEN発現状態との関連性を示す報告は少ないため、本研究では、口腔扁平上皮癌細胞株と、mTOR阻害剤としてラパマイシンを使用して、1. 癌細胞におけるPTEN発現とmTOR活性、2. ラパマイシン添加によるmTORの活性変化、3. mTOR活性とPTEN発現の関連性、4. ラパマイシン添加による増殖抑制効果とmTOR活性程度の関連性、5. ラパマイシン添加による細胞周期、アポトーシス、腫瘍血管新生の関連因子への影響を検討することを目的として実験を行った。

材料および方法

用いた細胞は、口腔扁平上皮癌細胞株 (SAS, SAS-H 1, SAS-L 1, HSC-4) と正常ヒトケラチノサイト (NHK)、およびヒトケラチノサイト (HaCaT) であり、37°C、5%CO₂の環境下で培養した。試薬はmTOR

阻害剤としてラパマイシンを用い、細胞に0, 10, 100, 1000nMの濃度で添加し48時間培養した。細胞増殖アッセイは、CyQUANT Cell Proliferation Assay Kitを用い、Microplate-readerにて測定した。各細胞株におけるvascular endothelial growth factor (VEGF), cyclin D 1, cyclin D 3, cyclin E, CDK 2, CDK 4の発現はRT-PCRで、PTEN, p21, p27, Bax, Bcl-2, HIF-1 α (hypoxia-inducible factor) の発現は定量的RT-PCRで評価した。mTORおよびリン酸化mTOR蛋白の発現はウエスタンプロット法にて評価した。各細胞株にラパマイシンを添加した時の培養上清におけるVEGF蛋白の変化はELISAにて測定した。統計分析は、Tukey's testを伴うANOVA検定を用いた。検定において、p値が0.05以下のとき、統計学的有意差ありと定義した。

結果および考察

1. 口腔扁平上皮癌細胞におけるPTEN発現とmTOR活性

いずれの口腔扁平上皮癌細胞においてもNHKに比べてPTEN mRNAの発現低下と、リン酸化mTOR蛋白の発現亢進がみられた。口腔扁平上皮癌細胞においてもPTENの不活性化に伴いmTOR上流のAktや、その下流分子S 6 Kなどのリン酸化を含めたAkt-mTOR経路が活性化している可能性が示唆された。

2. 口腔扁平上皮癌細胞に対するラパマイシンによるmTORの活性変化

いずれの細胞株においても、ラパマイシン10nMの濃度より、濃度依存的にリン酸化mTOR蛋白の発現低下が認められた。

3. 口腔扁平上皮癌細胞におけるmTOR活性とPTEN mRNA発現の関連性

リン酸化mTOR蛋白の発現が高い細胞では、PTEN mRNAの発現がより低下しているかを検討したところ、リン酸化mTOR蛋白はSASとSAS-H 1に比較して、SAS-L 1とHSC-4では発現が高かったが、リン酸化mTOR高発現細胞 (SAS-L 1, HSC-4) と低発現細胞 (SAS, SAS-L 1) とでPTEN mRNAの発現量を比較すると、リン酸化mTOR高発現細胞は低発現細胞に比べて、PTEN mRNAの発現量は高かった。

4. 口腔扁平上皮癌細胞に対するラパマイシンによる増殖抑制効果とmTOR活性程度の関連性

SAS-L 1とHSC-4はラパマイシン10nMより、SASとSAS-H 1は1000nMで増殖抑制効果が認められ、リン酸化mTOR低発現細胞 (SAS, SAS-H 1) に対して、高発現細胞 (SAS-L 1, HSC-4) は、10nMと100nMに

おいても増殖抑制を示した。そのため、Akt-mTOR経路の活性度が高い細胞ほど、低濃度での増殖抑制効果が期待でき、ラバマイシンにより高感受性であることが推察される。

5. 口腔扁平上皮癌細胞に対するラバマイシンによる細胞周期、アポトーシス、血管新生の関連因子の発現変化
1) 細胞周期関連因子

cyclin D1, cyclin D3, CDK 4, cyclin Eは、いずれの細胞株においても明らかな発現の変化はみられなかつたが、CDK 2は発現の低下が、p21とp27は発現の上昇が観察された。ラバマイシンの添加は、CDKインヒビターであるp21とp27によるCDK 2の発現減少を介して、細胞周期のS期移行停止に関与する可能性が考えられた。

2) アポトーシス関連因子

ミトコンドリアの膜透過性亢進に直接関わりアポトーシス促進にはたらくBaxの発現上昇と、アポトーシス抑制にはたらくBcl-2の発現低下が観察された。

そのため、ラバマイシンは癌細胞のアポトーシス誘導を促進する可能性が示唆された。

3) 血管新生関連因子

ラバマイシン添加により、腫瘍細胞が産生し血管新生の中心的役割を担うVEGFおよび、その発現調節に関連するHIF-1 α の発現低下が認められた。したがって、ラバマイシンはVEGF発現低下を介して血管新生抑制に関与する可能性が示唆された。

癌細胞の増殖抑制を引き起こすことが示唆された。しかし、SAS-H 1とSAS-L 1では、アポトーシス関連因子の発現変化が認められなかつたことから、それらの増殖抑制には、アポトーシス誘導作用よりもG 1-S期移行停止作用の方がより強く関連していると考えられる。今回、mTOR活性の程度とPTEN発現量の間に関連性はみられなかつたが、mTORの活性度の高い癌細胞ほど、薬剤に関して高感受性であった。また、mTOR活性の阻害により、HIF-1 α の発現低下を介したVEGFの産生低下が認められ、腫瘍内血管密度の減少や転移の抑制を引き起こす可能性が示唆された。

結 論

以上の結果から、口腔扁平上皮癌細胞でもPTEN遺伝子の発現抑制と、それに伴うAkt-mTOR経路の活性化の惹起が考えられる。ラバマイシンによるmTOR活性の阻害は、p21およびp27の発現上昇とCDK 2の発現低下による細胞周期S期移行の抑制と、Baxの発現上昇とBcl-2の発現低下によるアポトーシス誘導の促進を介して、



植村 太輔

平成17年 北海道医療大学歯学部卒業
札幌医科大学口腔外科研修医
平成18年 北海道医療大学臨床口腔病理学分野研究生
平成19年 北海道医療大学大学院入学

〔学位論文〕

三次元Procrustes法に基づく日本人歯列弓の平均的三次元形態と主成分分析

齋藤 貞政

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

Three-dimensional average shapes and principal component analysis about Japanese dental arches based on the three-dimensional Procrustes method

Sadamasu SAITO

Division of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido, 1757 kanazawa, Ishikari Tobetsu, Hokkaido

緒 言

歯科治療において歯列弓の形態を把握することは、欠損部の回復や矯正治療を行なう上で不可欠な要素である。そのため天然に生じた個性正常咬合をもたらす天然歯列弓の研究が行われ、理想の歯列弓形態の定義付けを試みているが、その最適な大きさと形状に関する同意は未だ得られていない。歯列弓に関する研究は、大きさに関しては人種差や性差などが明らかにされており、形態に関しては、肉眼的観察による類型分類や計測学的な報告がなされている。その計測学的研究には、一次的な距離の組み合わせから得られる指数や、歯に定めた計測点の座標値を用いて定量的な表現を行なったものなどが挙げられる。代数学もしくは幾何学的公式で歯列弓を数学的に解析しようとする研究では、歯列弓は橍円、懸垂曲線さらには円錐曲線といった関数で表現できるとしているが、これらの研究は単一の関数への適合性を強調したものが多く、形の個体変異や歯列弓形態に影響を与える各種要因との関連性を検討したものは少ない。また、スプライン関数や高次多項式などは歯列弓の形を精度よく再現するが、関数のパラメータ数が多くなるために、形の特徴を把握し相互の比較を行なうには適していないとされる。また、これらの分析に先立って行なわれる歯列弓の計測には、精密さと再現性が求められるが、ノギスや専用の工具を使用して歯列模型を直接計測する方法や、咬合面などを基準面とした歯列模型の写真撮影や二次元スキャンによって、歯列弓を二次元的に再現したも

のをノギス等で計測する方法が行なわれてきた。しかし、歯列模型計測においては、近年の著しいコンピュータ技術の進歩により、仮想歯列モデルを用いた三次元的計測が可能となっている。これにより計測の自由度やデータの再現性が向上し、従来のノギス等を使用する計測の限界を補うことや、仮想的に設定した基準を利用した計測が可能となり、口腔内形態診査において非常に有効な手段となっている。また、歯列の三次元仮想モデルを用いて、矯正治療のシミュレーションが可能なコンピュータ支援システムも実用化されつつある。より高精度の術後予測モデルをもとにした矯正治療は、より良い治療結果をもたらし、矯正治療の治療期間短縮にもつながる。よって、咬頭や切縁の三次元情報から平均的な三次元歯列弓形態を算出し、矯正治療のゴールとしての理想的な歯列弓形態を提案できれば、矯正治療の発展に大きく貢献できると考えられる。

本研究では、矯正歯科治療の一助となりうる日本人歯列弓の平均的三次元形態と歯列弓形態を特徴づける成分を明らかにすることを目的とし、歯列石膏模型の三次元情報を用いて三次元Procrustes法、主成分分析および薄板スプライン解析による定量的な解析を試みた。

研究方法

本研究では、北海道医療大学歯科内科クリニック矯正歯科に保存されている初診時上下顎歯列石膏模型約2,000症例の上下顎歯列模型、およびかさい矯正歯科（旭川）に保存されている初診時上下顎歯列石膏模型の

中から、極端な叢生や狭窄歯列のない正常歯列として選定した男性上顎25、下顎24、女性上顎32、下顎29の合計110症例を解析対象とした。対象となる歯列石膏模型を非接触三次元形状計測器（vivid 910, KONICA MINOLTA）で計測し、得られた三次元表面形状データを基にソフトウェア（rapidform 2006, INUS）を用いて仮想歯列サーフェイスモデルを構築した。このモデル上の咬頭頂、切縁隅角などのランドマークを標識点として選択し、これらの三次元座標値を各歯列の点群データとして抽出した。

Procrustes法は相同的な標識点が構成する2つ以上の図形を、大きさなどの要素を除外した後、最小二乗法によって重ね合わせを行う方法である。本研究では、得られた点群データについて三次元Procrustes法を適用し、上下顎・男女別および上下顎別による重ね合わせを行なった。重ね合わせによって得られた各点群データをもとに、歯列弓形態の三次元的な平均形態を算出した。

主成分分析とは解析しようとする多次元のデータを、そこに含まれる情報の損失を可能な限り減らして数個のデータに縮約する方法である。本研究では、各群の歯列弓形態に影響を及ぼす形態因子について主成分分析を用いた形態計測学的解析を行なった。さらに、性別による歯列弓の形態差を視覚的に捉えること目的として、男女上顎歯列弓の主成分分析で有意差のあった主成分に関して、最大と最小の主成分スコアを持つ各2症例に対して薄板スプライン解析を行なった。

結果および考察

大きさや位置の要素を除外した三次元Procrustes法により、日本人の男女を含めた平均的な三次元歯列弓形態および性別ごとの平均的歯列弓形態を算出することができた。

主成分分析においては、上顎における第1主成分の寄与率は32.6%、第2主成分の寄与率は11.1%であった。累積寄与率は、第10主成分までで79.7%であった。第1

主成分は、歯列弓全体の幅径と長径の比率を表しているが、男女間では有意な差は認められなかった。第2主成分は、歯列弓臼歯部の開大と中切歯の位置の影響によるV字形性を表し、男女間で有意な差が認められた（ $p < 0.001$ ）。また、第4主成分は、犬歯の頬舌的な位置の影響による歯列弓の方形性を表し、男女間で有意な差が認められた（ $p < 0.05$ ）。第7主成分はSpeeの彎曲の程度を表し、男女間で有意な差が認められた（ $p < 0.05$ ）。この形態的特徴は、薄板スプライン分析でも同様に確認された。下顎における第1主成分の寄与率は37.9%、第2主成分の寄与率は13.5%であった。累積寄与率は、第7主成分までで80.2%であった。第1主成分は上顎と同様に歯列弓全体の幅径と長径の比率を表しているが、男女間では有意な差は認められなかった。第4主成分は犬歯の頬舌的な位置の影響による歯列弓の方形性を表し、男女間で有意な差が認められた（ $p < 0.05$ ）。

物質の形態に関する主成分分析からは、得られる主成分スコアのうち2つを直交座標系の軸とすることで、形態の傾向と連動したスコア分布図を得ることができる。本研究では三次元座標値をもとにした分析であるため、Speeの彎曲を特徴づける因子を解析することも可能となった。

特徴点の座標値を用いた形態解析の場合、主成分分析を行なうと80%程度の情報を説明するために10数個から20個程度の主成分が必要となることが多い。本研究においても、累積寄与率は第10主成分までで79.7%という値を示しており、比較的多くの主成分が必要となった。

各群の歯列弓重心サイズと第1、2主成分の間に相関関係は認められなかった。

結論

歯列模型由来の三次元情報を用いて、歯科矯正治療の一助となりうる日本人歯列弓の平均的三次元形態と、歯列弓形態を特徴づける因子を明らかにすることができた。

齋藤 貞政

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

平成10年3月 日本大学理工学部航空宇宙工学科卒業

平成18年3月 北海道医療大学歯学部卒業

平成18年4月 北海道医療大学病院臨床研修医

平成19年4月 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野入局

平成23年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程修了



〔学位論文〕

口腔領域由来上皮細胞におけるDrosomycin-like Defensinの発現解析

佐藤 悩

北海道医療大学大学院歯学研究科
生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野

Differential expression of Drosomycin-like Defensin in Human Oral Cells

Jun SATO

Division of Clinical Oral Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

緒 言

Drosomycin-like Defensin (以下DLD) は、ショウジョウバエの抗菌ペプチドであるDrosomycinと高い相同性をもつ抗菌ペプチドとして、近年ヒトでの発現が確認された。

DLDは、真菌に対して強い抗菌効果をもつと言われているが、口腔領域での発現については不明である。本研究では、表皮角化細胞および口腔領域由来細胞におけるDLD発現の有無とその調節機構、エピジェネティックな修飾による発現変化の有無について検討した。

材料および方法

DLDの発現の有無については、RT-PCR法により検討した。細胞は、正常口腔粘膜上皮由来細胞 (NOK)，正常ヒト表皮角化細胞，ヒト表皮角化細胞株，口腔扁平上皮癌由来細胞株 (Ca 9-22, SAS, BSC-OF, SCC 9, OSC-19, HSC-2, -3, -4, KB)，ヒト耳下腺導管由来細胞株 (HSY) 及び正常ヒト歯肉線維芽細胞を用いた。NOKについては智歯の抜歯時においてFlap部より口腔粘膜上皮を採取し、outgrowth法により得た。各細胞の培養後RNAを採取し、定量的RT-PCRにてDLD mRNAの発現量を観察した。

またIn situハイブリダイゼーションによるDLD mRNAの局在についての検討も行った。DLDの目的遺伝子にジゴキシゲニンラベリングしたプローブを作成し、智歯抜歯時に得られた口腔粘膜組織切片上にてDLD mRNA

とハイブリダイズさせ、DLDの局在を観察した。

DLDの発現調節機構の検討については、細菌および真菌感染のモデルとしてTLR-2, -4, のアゴニスト (HKML, LPS) 及びDectin-1のアゴニスト (β -glucan)，また炎症モデルとして炎症性サイトカインであるIL-8, IL-1 β , TNF- α をそれぞれ細胞培養液に添加し、DLDの発現変化をRT-PCR法にて検討した。

一部の口腔がん細胞においてDLDの発現低下がみられたことから、DNA高メチレーションおよびヒストン脱アセチル化などのエピジェネティックな修飾によるDLD発現変化の可能性を検討した。DNAメチル化阻害剤である5-aza-2'-deoxycytidine, およびヒストン脱アセチル化酵素阻害剤であるTrichostatin Aを細胞培養液へ添加し、DLDの発現変化をRT-PCR法にて検討した。

結果および考察

1. 本研究で用いたすべての細胞でDLD mRNAの発現が確認された。NOKと比較したDLDのmRNA発現レベルは、Ca 9-22およびHSYでは有意に発現レベルが高く、BSC-OFおよびOSC-19では有意に発現レベルが低くなっていた。その他の細胞においては有意差はみられなかった。またIn situハイブリダイゼーションによる検討では、DLD mRNAの発現が、口腔粘膜上皮全層にわたって確認された。これらの結果より正常な口腔粘膜では、皮膚と同等のDLDによる感染防御機構がはたらいていることが示唆された。

2. 受容体アゴニストおよび炎症性サイトカインの添

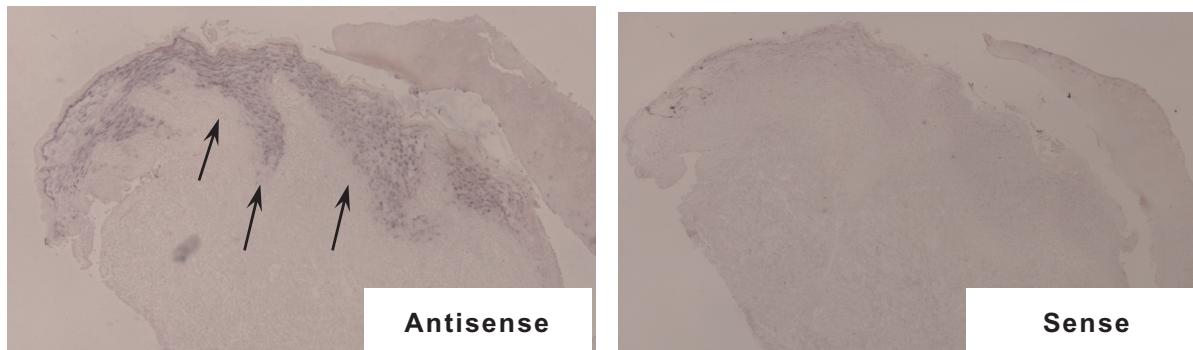


図 1

In Situハイブリダイゼーションによる口腔粘膜におけるDLD局在の観察
Antisenseにおいて、口腔粘膜組織の上皮全層にわたってDLDの発現が認められた（矢印）
コントロールであるSenseでは検出されなかった

加では、どの細胞においても有意なDLD mRNAの発現変化はみられなかった。この結果より、DLDは感染や炎症によって発現が変化せず、恒常に発現していることが示唆された。

3. 脱メチレーションおよびヒストン脱アセチル化阻害では、どちらにおいても口腔がん細胞のDLD mRNAの発現変化はみられなかった。この結果より、口腔がん細胞におけるDLDの発現変化は、エピジェネティックな修飾によるものでないことが示唆された。

結 論

以上のことから、DLDは抗菌ペプチドとして皮膚と同様に口腔上皮細胞に広く恒常に発現しており、口腔内の自然免疫機構において重要な役割を担っていることが明らかとなった。

佐藤 悠

北海道医療大学大学院歯学研究科 生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野

略歴

平成18年3月 北海道医療大学歯学部卒業
平成19年4月 北海道医療大学大学院歯学研究科入学
平成23年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程修了・学位取得

〔学位論文〕

ラットにおける咀嚼動態の変化に伴う酸化ストレス誘導に関する研究

鈴木 裕仁

北海道医療大学歯学部口腔機能修復再建学系咬合再建補綴学分野

Research for Derivation of Oxidative Stress with Changes of Mastication Dynamic Stage in Rats

Hirohito SUZUKI

Division of Occlusion and Removable Prosthodontics, Department of Oral Rehabilitation,
Health Sciences University of Hokkaido School of Dentistry

緒 言

咬合・咀嚼は健康の維持に不可欠な因子の一つで、生体情報伝達系である神経系-内分泌系-免疫系の相互作用に深く関与している (Hori, 2004)。咬合・咀嚼が正常に営まれなくなるとストレッサーとなり、生体に様々な影響を及ぼす可能性が示唆されている (Yoshikawa, 2000)。一方、生体がストレスを受けると、抗酸化能が低下するという報告が多くなされている。それに伴い、活性酸素の产生系と消去系の均衡関係が崩壊し、酸化ストレスが誘導され、生体に障害が生じる (Cernak et al., 2000)。

本研究では、ラットの飼育飼料形態を固形から液体へ変化させること、すなわち咀嚼の在り方が、酸化ストレスを誘導するのか否かを、活性酸素の产生系として好中球のスーパーオキシド生成と、消去系としてスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 様活性の両面から検討した。

方 法

実験動物には9週齢のWistar系雄性ラットを124匹用いた。飼育環境は1ケージ2匹で飼育し、飼料と水は自由摂取とした。すべてのラットは、通常の固形飼料で飼育を開始し、10週齢になった時点で、ヒト経腸栄養剤エンシュアリキッドで飼育する液体飼料飼育群と、液体飼料と同一成分の固形飼料で飼育する固形飼料飼育群の2群を設定し、以下の測定を行った。

1) 飼育飼料変更後、1週間隔で84日目まで体重の経時的变化を調べた。

2) 飼育飼料変更後、1週間隔で28日目まで、ラット尾部から採血し血漿を回収し、ストレスマーカーである血中カテコールアミン (アドレナリン、ノルアドレナリン、ドーパミン) 濃度を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法にて測定した。

3) 好中球のスーパーオキシド生成能は、飼育飼料変更後、1週間隔で28日目まで5%カゼイン溶液を腹腔内投与し、16時間後に腹腔内より好中球を含む滲出液を回収した。好中球を 1×10^7 cells/mlに調整し、ホルボール12-ミリスチン酸13-酢酸塩 (PMA) にて刺激し、二波長分光光度計を用いてシトクロムc還元法により測定した (Hattori et al., 2005)。

4) 血清SOD様活性は、飼育飼料変更後、1週間隔で28日目まで、それ以降は2週間隔で84日目まで、ラット尾部より採血し血清を回収し、電子スピン共鳴 (electron spin resonance; ESR) 法にて解析した。ESRは、一定の磁場をかけた状態に電磁波を照射し、フリーラジカルの不対電子が共鳴する信号をスペクトラムとして記録する装置である。

スーパーオキシドを安定した状態で捉える捕捉剤にはCYPMPO (5-2, 2-dimethyl-1, 3-propoxycyclophosphoryl-5-methyl-1-pyrroline-N-oxide) を用いた。測定はhypoxanthine/xanthine oxidase系で人工的にスーパーオキシドを発生させ、血清による消去能を求めた後、ウマ赤血球由来のSODを用いた検量線により、血清SOD様活性を

解析した (Hujii et al., 2006; Kohno, 2010).

5) 好中球のスーパーオキシド生成を担う酵素系であるNADPHオキシダーゼの構成タンパクp47phoxの発現量を、ウエスタンブロッティング法により解析した。

6) 液体飼料飼育を28日間行ない、通常の固体飼料飼育に戻すことで、血清SOD様活性に影響があるか検討した。

結 果

1) 飼料変更後の体重については、固体飼料飼育群、液体飼料飼育群ともにその増加傾向を示し、両群間に差異は認めなかった。

2) 血中アドレナリン、ノルアドレナリン濃度については、飼料変更後7日目から28日目まで、固体飼料飼育群に比べて液体飼料飼育群で、有意に増加していた ($p < 0.05$)。一方、血中ドーパミン濃度においては、両群とも低濃度で検出することが出来なかった。

3) 好中球のスーパーオキシド生成能は、飼料変更後7日目、14日目、21日目で、固体飼料飼育群に比べて液体飼料飼育群で、有意な増加傾向が認められた ($p < 0.05$)。

4) 血清SOD様活性は、飼料変更後、7日目、14日目は両群間で変化は認められなかったが、21日目以降84日目まで、液体飼料飼育群は固体飼料飼育群と比べて、有意に低下していた ($p < 0.05$)。

5) 固体飼料飼育群と比較して液体飼料飼育群において、好中球細胞膜のp47phoxタンパク発現量は増加していた ($p < 0.05$)。

6) 液体飼料飼育から再び固体飼料飼育へと戻すと、血清SOD様活性は固体飼料で飼育し続けた群と同程度まで回復し、両群間に差は認められなくなった。

考 察

血中アドレナリン、ノルアドレナリン濃度の増加によ

り、噛むことが習性であるラットの飼育飼料形態の変化がストレッサーとなっていることが窺えた。好中球のスーパーオキシド産生は、液体飼料飼育に変更後7日目に増加したが、血清SOD様活性においては、飼育飼料変更後21日目に低下傾向を認めた。つまり、咀嚼動態は、先に活性酸素の产生系、その後に消去系に影響を及ぼし、酸化ストレスを誘導することを明らかにした。また、長期間の液体飼料飼育という咀嚼動態の変化が起こると、生体は順応することなく、持続的に酸化ストレスを受け続けることが示唆され、液体飼料から再び固体飼料へと戻すことにより、生体は素早く酸化ストレスから解放され、正常な状態まで抗酸化能を回復させた。これらの結果から、生体の健康を維持・増進するためには適正な咬合・咀嚼機能の保持が不可欠であり、咬合・咀嚼機能障害を持つ患者においても、早期治療が生体の健康の維持・増進に寄与すると考えられる。

参考文献

- Cernak I, Savic V & Kotur J. Alterations in magnesium and oxidative status during chronic emotional stress. *Manage Res* 13 : 29-36, 2000.
- Hattori H, Imai H, Hanamoto A, Furuhami K & Nakagawa Y. Up-regulation of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in rat casein-induced polymorphonuclear neutrophils. *J Biol Chem* 389 : 279-287, 2005.
- Hori N. Biting suppresses stress-induced expression of corticotropin-releasing factor (CRF) in the rat hypothalamus. *J Dent Res* 83 : 124-128, 2004.
- Hujii H, Aoki M, Haishi T, Itoh K & Sakata M. Development of an ESR/MR dual-imaging system as a tool to detect bioradicals. *Magnetic Res Med Sci* 5 : 17-23, 2006.
- Kohno M. Application of electron spin resonance spectrometry for reactive oxygen species and reactive nitrogen species research. *J Clin Biochem Nutr* 47 : 1-11, 2010.
- Yoshikawa H. Effects of experimental occlusal interference on dopamine release in rat prefrontal cortex. *J Dent Res* 44 : 284-291, 2000.



鈴木 裕仁

昭和56年1月生まれ、北海道函館市出身

平成11年3月 函館中部高等学校卒業

平成18年3月 北海道医療大学歯学部歯学科卒業

平成23年3月 北海道医療大学歯学研究科博士課程修了

〔学位論文〕

歯科インプラント治療における顎骨の変化に関するX線学的検討

高橋 耕一^{1,2}¹ 北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野² つがやす歯科医院

現在広く行われている歯科インプラント治療はオッセオインテグレーションの獲得によりインプラント体を安定させるものであるが、その詳細については不明な点が多い。そこで本研究では、二回法インプラントにおいて、インプラントがオッセオインテグレーションを獲得し、二次手術に至るまでのインプラント体周囲骨やインプラント隣在歯周囲骨の変化、さらにインプラント補綴後のインプラント対合歯周囲の骨量の変化の解析を行うことを目的とした。骨量の変化をX線写真上の面積として規格化した画像で観察するために、画像解析ソフトウェアEmagoを用いてサブトラクション像を構築した。その後、骨量の変化をNIH Image Jを用いて測定した。また、インプラント対合歯周囲骨の変化は、パノラマX線による観察を行ったため、パノラマX線を用いたデジタルサブトラクション法の信頼性についても検証した。

インプラント体周囲骨の変化を観察するために、44人{男性18人(平均年齢59±10.6歳)、女性26人(平均年齢54±8歳)}に対して埋入された71本のインプラント(Spline Cylinder MP-1:7本, Spline Twist MP-1:64本, Zimmer dental)を対象とした。71本のうち上顎に16本、下顎に55本埋入した。インプラント体周囲骨量の変化は、インプラント埋入時と二次手術時のデジタルX線写真を用いて、インプラント体の直径別、形状別、男女別、上下顎別および近遠心別に比較した。インプラント隣在歯周囲骨の変化を観察するために40人{男性22人(平均年齢52.3±11.5歳)、女性18人(平均年齢48.2±12.7歳)}に対して埋入された41本のインプラント(Spline Cylinder MP-1:8本, Spline Twist MP-1:33本, Zimmer dental)を対象とした。41本のうち上顎に17本、下顎に24本埋入した。インプラント隣在歯周囲骨の変化は、1歯中間欠損部位に対してインプラントが埋入された直後と、二次手術時のデジタルX線写真を用いて、インプラント体の直径別および近遠心隣在歯別に比較した。インプラント対合歯の骨変化を観察するためには、パノラマX線写真を用いたが、これまで、デジタルサブトラクション法でパノラマX線写真は用いられてこなかったことから、まず、その信頼性について簡単な予備実験を行った。すなわち、乾燥頭蓋骨にパラフィンワ

ックスで疑似軟組織を付着し、ラウンドバーで骨を削り人工的に骨吸収を付与したものと、X線不透過性のラジオペークを骨に添加し、人工的に骨添加させたものとを用いた。人工的に骨吸収、骨添加させた前後でパノラマX線撮影と口内法デンタルX線撮影を行い、それぞれをデジタルサブトラクションし、NIH Image Jを用いて分析した。インプラント対合歯周囲骨の変化を観察するために66人(男性22人、女性44人)に対して埋入された106本のインプラント(Spline Cylinder MP-1:4本, Spline Twist MP-1:43本, Zimmer dental, ジェネシオフィックスチャー:59本、ジーシー)を対象とした。106本のうち上顎に44本、下顎に62本埋入した。インプラント対合歯周囲骨の変化は、インプラント対合歯の反対側同名歯を対象群とし、インプラント埋入時と上部構造装着後6ヶ月以上経過したものを比較した。インプラント対合歯周囲骨の変化は、上下顎別に対象群と比較を行った。デジタルサブトラクションにあたっては、Takahshimaら(2003)と木村ら(2002)の方法に準じて行った。データはF検定により等分散性を確認した上で、等分散性があるものにはStudentのt検定を、等分散性がないものにはWelchのt検定を適用した。

その結果、インプラント体周囲骨の変化をインプラント体の直径別で比較したところ、直径が5mmのタイプに比べて、3.75mmのタイプのほうがインプラント体周囲骨の骨吸収面積は有意に大きくなっていた($p=0.001$)。次に、インプラント体の形状別で比較したところ、シリンドータイプに比べて、スクリュータイプのほうが有意にインプラント体周囲骨の骨吸収面積は大きくなっていた($p=0.001$)。さらに、インプラント体周囲骨の変化を男女別で比較したところ、男性に比べて、女性のほうが有意に骨吸収面積は大きくなっていた($p=0.007$)。さらに、インプラント体周囲骨の変化を上下顎別で比較した結果、上顎に比べて、下顎のほうが有意に骨吸収面積は大きい結果となっていた($p=0.042$)。インプラント体の近遠心別で比較した結果、両者の間に有意差はみられなかった。また、男女別で有意差がみられたことにより、すべての項目について男女別に検討したところ、女性でのインプラント体の直径による比較と、

女性でのインプラント体の形状別の比較において有意差がみられた。すなわち、男性はインプラント体の直径が3.75mmのタイプと5mmのタイプは有意差はみられなかつたが、女性は直径が5mmのタイプに比べて3.75mmのタイプの方がインプラント体周囲骨の骨吸収面積は有意に大きくなっていた ($p=0.000$)。インプラント体の形状別では、男性はシリンダータイプとスクリュータイプで有意差はみられなかつたが、女性はシリンダータイプに比べて、スクリュータイプのほうが有意にインプラント体周囲骨吸収面積は大きくなっていた ($p=0.001$)。上下顎別、近遠心別では男女間で有意差はみられなかつた。これら一次手術から二次手術までのインプラント体周囲骨の変化の結果から、二次手術前に骨吸収が起こっていることを認識し、吸収が起こりやすい状態やその因子を充分に考慮しながら、一次手術および二次手術を行うことが大切であるものと考えられた。今後はインプラント体の近遠心のみならず頬舌的な骨変化についても検討が必要であると思われた。

次に、インプラント近遠心隣在歯の骨の変化を比較した結果、近心隣在歯と遠心隣在歯の間で有意差はみられなかつた。次に近心隣在歯と遠心隣在歯それぞれのインプラント体の直径による骨変化の違いについて検討を行つたところ、両者の間に有意差はみられなかつた。またインプラント体の形状別で比較したところ、両者の間に有意差はみられなかつた。さらに男女別で比較したところ、両者の間に有意差は認められなかつた。インプラントが隣在歯の周囲骨に及ぼす影響を観察した報告は僅かである (Krennmaier et al., 2003)。Krennmaierら (2003)は、前歯部においてインプラント体と隣在歯の距離が短いと隣在歯周囲の骨の吸収がみられやすいとの報告をしている。本研究では、隣在歯との距離は考慮しておらず、他の因子は隣在歯の骨吸収に影響を及ぼさないとの結果となつた。隣在歯との距離も本データに加えたさらなる検討が必要であると思われた。

次に、インプラント対合歯周囲骨の変化を反対側同名歯の対象群と比較した。インプラント対合歯周囲の骨変化を検討するにあたり今回はパノラマX線画像を用いたため、解析に先立ち、パノラマX線画像による信頼性の

検証を行つた。乾燥頭蓋骨モデルを用いて人工的に骨吸収と骨添加を施した前後で、パノラマX線撮影と口内法デンタルX線撮影を行つて比較した結果、同様のデジタルサブトラクション像が得られ、パノラマX線画像を用いた本方法は口内法のデジタルサブトラクション法と同等の結果が得られることが確認された。そこで、パノラマX線画像を用いてインプラント対合歯周囲骨の変化を解析した結果、インプラント対合歯周囲骨と対象群の間で有意差はみられなかつた。次に上下顎を分けてそれぞれを対象群と比較したところ、有意差はみられなかつた。インプラントが咬合する対合天然歯の状態について検討した報告では、インプラントは対合天然歯の状態に影響を与えないとする報告 (Hoshino et al., 2004) と影響を与えるとする報告がある (武田ら, 2006)。本研究の結果は、インプラントは直接的に対合天然歯に悪影響は及ぼさないとする前者の報告を支持する結果となつた。また、この結果は上下顎による違いでも有意差はみられなかつたため、インプラント治療は対合天然歯に著明な影響をおよぼさないことが示唆された。しかしながら、本研究の対合天然歯の観察期間は、上部構造装着後1年未満と短く、さらなる検討が必要であると思われた。

参考文献

- Hoshino K, Miura H, Morikawa O, Kato H, Okada D & Shinki T. Influence of occlusal height for an implant prosthesis on the periodontal tissues of the antagonist. *J Med Dent Sci* 51 : 187-196, 2004.
- 木村浩幸、田中武昌＆神田重信. 口内法X線写真サブトラクション法によるインプラント埋入部歯槽骨変化の定量的解析 歯科放射線 42 : 274-281, 2002.
- Krennmaier G, Piehslinger E & Wagner H. Status of teeth adjacent to single-tooth implants. *Int J Prosthodont* 16 : 524-528, 2003.
- Takashima A, Yoshiura K, Tokumori K, Kawazu T & Kanda S. Quantitative analysis of radiological changes in alveolar bone around connected osseointegrated dental implants and natural abutment teeth. *Oral Radiol* 19 : 28-37, 2003.
- 武田孝之＆椎貝達夫. 長期症例から考える上部構造への配慮. 補綴臨床 39 : 528-535, 2006.

高橋 耕一



平成15年3月 北海道医療大学歯学部卒業

平成15年4月 北海道帯広市つがやす歯科医院勤務

平成23年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程修了

〔学位論文〕

ストレス関連内分泌介在物質が β ディフェンシン 発現変化に及ぼす影響に関する研究

高藤美帆子

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

Effect of corticosteroid and noradrenaline on beta-defensins expression stimulated with Toll-like receptors agonists

Mihoko TAKAFUJI

Division of Pediatric Dentistry, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

緒 言

歯科治療をストレスと感じる患者は多い。特に、心身が未熟で様々な経験が少ない小児や拒否反応の強い障害者（児）は、成人と比べストレスの対処法が少なく、むしろ成人よりもストレスの耐性は低い。情動ストレスにより、免疫機能の低下することは広く知られ、その機序についての研究も行われてきているが、病原微生物に曝される口腔粘膜の免疫システム、特に自然免疫への影響については不明である。

本研究では、ストレス関連内分泌介在物質であるデキサメタゾン（以下、Dex）およびノルアドレナリンが口腔粘膜上皮の自然免疫機構、特に微生物認識機構及び抗菌ペプチドであるヒト β ディフェンシン（以下、hBD）の発現に与える影響とそのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

対象および方法

1. hBDの発現変化の解析

ケラチノサイトであるNeo-Human-Epidermal-keratinocyte（以下、NHEK）を使用し、培養液は全てhydrocortisone無添加の1.8mM Ca²⁺含有KGMに血清代用のUltra-serum Gを添加したものを用い、CO₂5%，37.0°Cで培養した。ストレス関連内分泌介在物質として、0.1, 1, 10μMのDexおよび10μMのノルアドレナリンを用いて、1.8mM Ca²⁺含有KBMに添加し、培養時間は全て24時間で行った。TLR agonistには、TLR 2 agonist (HKLM) 10⁸cells/mlおよびTLR 4 agonist (LPS) 100ng/mlを使用し

た。1.8mM Ca²⁺含有KGMに各TLR agonistを添加し4, 8, 12, 24および48時間培養した。各濃度のDexおよびノルアドレナリンを添加した1.8mM Ca²⁺含有KGMに、TLR agonistをさらに添加して24時間培養した。対象には、1.8mM Ca²⁺含有KGMのみで24時間培養したものを用いた。

ケラチノサイトからtotal RNAを抽出し、RT-PCR法とTaqManプローブを用いたReal-time RT-PCR法によりhBD-1, -2および-3 mRNA発現を観察した。さらに、抽出タンパク質にてELISA法を行った。

2. 細胞内情報伝達経路の解析

細胞内情報伝達経路を明らかにするために、ERKインヒビター (PD098059) およびPKAインヒビター (P9115) をそれぞれNHEKに添加し1時間後、Dexおよびノルアドレナリンの存在下および非存在下で、24時間培養した。コントロールには試薬無添加のNHEKを用いた。mRNAの発現変化の解析と同様の方法によって、hBD-1, -2および-3 mRNA発現を観察した。

結果および考察

TLR 2 およびTLR 4 による刺激で、ケラチノサイトのhBD-1とhBD-2のmRNA発現上昇が確認され、ペプチドレベルではhBD-2の発現上昇が確認されたが、hBD-1では変化がみられず、hBD-3はmRNA、ペプチドレベルいずれにおいても発現に変化はみられなかった。上皮性抗菌ペプチドのひとつであるhBDの発現の特徴は、一般的に、hBD-1は恒常的に発現するが、hBD-2とhBD-3は炎症性サイトカインや細菌、ウイルスなどに

受付：平成23年3月30日

よって発現が誘導されると言わわれている。TLRsは微生物の認識機構の一つであり、特にTLR 2 やTLR 4 は細菌感染により活性化され、これを介してhBD- 2 とhBD- 3 の発現上昇のあることも報告されている。hBD- 1 はmRNAレベルでは上昇がみられたものの、ペプチドレベルでは上昇が確認されなかった。このことからhBD- 1 も様々な刺激によって発現が上昇するもののその量はペプチドとして同定しえる程度ではないものと考えられた。また、hBD- 3 がこれまでの報告のような発現の上昇がみられなかったことは、これまでの報告とは異なり表皮由来のケラチノサイトを用いており、培養細胞の違いが異なった結果となった一つの理由と考えられた。

DexによりhBD- 2 の発現上昇がみられた。また、MAPK/ERK インヒビターによりDex添加時にhBD- 1, - 2 および- 3 の全てにおいて発現抑制が認められ、MAPK/ERKの経路に関与していることが示唆された。

TLR 2 agonist およびTLR 4 agonist によってNHEKのhBD- 1 とhBD- 2 の発現が上昇したので、この実験系にさらにDexを添加した際の、hBD- 1, hBD- 2 およびhBD- 3 のmRNA発現変化について観察した。hBD- 1 とhBD- 2 ではTLR 4 による発現上昇がDexによりいずれも抑制されていた。hBD- 3 ではTLR 2 刺激でDexにより抑制傾向が示された。TLR 2 およびTLR 4 のagonistは主に細菌感染を想定したagonistであるため、細菌感染により発現の上昇したhBDがDexにより発現が抑制されると考えられた。hBDは抗菌ペプチドとして自然免疫に関与するのみならず、獲得免疫機構の作動にも関与することが明らかとなっている。副腎皮質ホルモンによる上皮、粘膜の炎症の抑制の少なくとも一部にhBDを介した抑制経路の存在することが示唆された。

ノルアドレナリンの添加によりhBD- 1 のmRNA発現増加が確認され、hBD- 2 およびhBD- 3 のmRNA発現では減少がみとめられた。ヒトケラチノサイトはそれ自身がカテコールアミンを合成する能力があり、特に基底細胞層に多く含まれていると言われている。ノルアドレナリンはケラチノサイトの β 2 アドレナリン受容体を刺激すると細胞内のカルシウム濃度が上昇し、ケラチノサイト

は分化することがわかっている。hBDの発現調節機構の一つにケラチノサイトの分化があるが、hBD- 1 については少なくともノルアドレナリンによるケラチノサイトの分化の影響があるものと思われた。最近、精神的ストレスが皮膚から産生される上皮性抗菌ペプチドの産生を抑制するとの報告がなされた。ノルアドレナリンはストレス状態で血中濃度が上昇することから、本研究でのhBD- 2 およびhBD- 3 の発現抑制は、ストレス反応によるhBD抑制の結果と一致しているものと思われた。ノルアドレナリン添加時のhBD- 1, hBD- 2 ではPKAインヒビターにより発現が抑制されたが、hBD- 3 の反応は不規則であり、これを明らかにするためにはさらなる研究が必要であるものと思われた。

hBD- 2 ではTLR 2 およびTLR 4 agonistによる発現上昇がノルアドレナリンによりいずれも抑制されており、hBD- 3 ではTLR 4 でノルアドレナリンにより発現抑制が示された。細菌感染により発現の上昇したhBDがノルアドレナリンにより発現が抑制され、TLR 2 およびTLR 4 agonistとの共添加時でもノルアドレナリンによる発現変化の傾向が強く現れたと考えられた。ストレス関連介在内分泌介在物質であるノルアドレナリンによる、上皮や粘膜の炎症の抑制の少なくとも一部にhBDを介した抑制経路の存在することが示唆された。

結論

合成副腎皮質ホルモンであるDexにより、TLR 2 agonistの刺激下でhBD- 3 mRNAの発現抑制がみられた。TLR 4 agonistで刺激されたhBD- 1 mRNAおよびhBD- 2 mRNAはDexの添加により発現抑制傾向が認められた。また、ストレス関連内分泌介在物質であるノルアドレナリンとTLR 2 agonistの共添加ではhBD- 2 のmRNA発現の減少がみられ、ノルアドレナリンとTLR 4 agonistの共添加でhBD- 2 およびhBD- 3 のmRNA発現の減少がみられた。以上より、Dexおよびノルアドレナリンは病原微生物による刺激がある際に、自然免疫を担うhBDの発現を抑制する傾向にあることが示唆された。



高藤美帆子

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

平成15年3月 北海道医療大学歯学部卒業
 平成15年4月 北海道医療大学病院臨床助手
 平成20年4月 北海道医療大学大学院歯学研究科入学
 平成23年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程修了

〔学位論文〕

フィチン酸含有仮着・合着用セメントの開発

館山 元一

北海道医療大学歯学部大学院歯学研究科 口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

Development of temporary and luting cements containing phytic acid

Genichi TATEYAMA

Division of Fixed Prosthodontics and Oral Implantology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido**Key words** : phytic acid, temporary cement, implant

緒 言

現在の補綴臨床において、補綴装置を装着する際にさまざまな仮着・合着用セメントが使用されている。補綴装置の口腔内への装着は厳密な咬合調整後に行なわれるが、補綴装置を仮着した状態で一定の期間にわたって患者固有の咬合や形態を確認することは、一般的な歯科臨床において非常に重要である。また近年、増加傾向にある口腔インプラント治療においても、審美性に優れ、装着後の違和感が少なく、さらに技工と臨床における術式が簡便であるなどの理由から、セメント固定法を用いる頻度が増加しつつある。特にインプラント上部構造体の装着に用いる場合には、セメント自体に抗菌性やブラークの付着を抑制することが望まれる。

そこで本研究は、ブラークの付着を抑制する効果を有するフィチン酸（イノシトール六リン酸、IP6）を液に用いて、仮着・合着用セメントを開発することを目的とした。フィチン酸を液に用いたセメントは、フルオロアルミノシリケートガラス粉末との反応性が高いため硬化時間が2.7～3.8分と短く、操作性に問題を残している（Prosser et al ; J Dent Res, 62, 598, 1983）。そこでフルオロアルミノシリケートガラス粉末に熱処理を施し、結晶性を向上させることによってフィチン酸との反応性を低下させ、硬化時間を調整することを試みた。さらに、試作したセメントの稠度、硬化時間、圧縮強さ、崩壊率、被膜厚さ、インプラントのアバットメントと上部構造と

の保持力ならびに口腔内に存在する細菌に対する抗菌性について評価した。

材料および方法

試作セメントの粉末には、市販の合着用グラスアイオノマーセメント（HY-BOND GLASIONOMER CX（松風）、以下GICX）のフルオロアルミノシリケートガラスを電気炉内で熱処理（600℃、2時間）したもの用い、液にはフィチン酸の50%水溶液を用いた（以下 試作セメント）。コントロールとして、グラスアイオノマーセメントならびに2種類の仮着用ポリカルボキシレートセメント（HY-BOND TEMPORARY CEMENTS SOFTおよびHARD（松風）、以下SOFT, HARD）を用いた。

熱処理後の粉末の形態と結晶性は、走査電子顕微鏡（SEM）とX線回折装置（XRD）を用いて調べた。試作セメントの稠度、硬化時間および諸特性はJISに規定されている試験法を用いて評価した。

また、試作したセメントを用いて口腔インプラントのアバットメントに上部構造体を仮着し、引張り試験を行って保持力を求めた。コーピングには、Nobel Biocare社製のセラミックコーピングを用い、アバットメントには、同社製のイージーアバットメント（RP）を用いた。イージーアバットメントはインプラントレプリカにスクリューを使用して35Ncmで固定し、シリンダーとセラミックコーピングは接着性レジンで固定した。また、

受付：平成23年3月30日

試作セメントの諸性質び及ぼす粉液比の影響を調べるとともに、コントロールとして用いたグラスアイオノマーおよびポリカルボキシレートセメントの物性と比較した。Scheffeの検定により、有意差検定を有意水準5%の条件下で行った。なお、試料数は各5個とし、平均値と標準偏差を求めた。

さらに抗菌試験には、北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野より分与された、グラム陽性菌の *Actinomyces viscosus* ATCC 19246, *Fusobacterium nucleatum* JCM 6328 および *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277の3種類を用いて、セメントディスクに対する生菌付着数の計測を行った。CFU (Colony forming unit) は、調整した10mlの菌液内に作製したセメントディスクを浸漬し、温度37℃の嫌気ボックス (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂) で24時間培養した。菌の付着したセメントディスクを10mlのBHI液体培地に移し、ボルテックスミキサーで1分間震盪させ、菌を剥離した。その液をエッペンチューブを用いて10⁸倍まで希釈し、血液寒天培地 (3.7% brain heart, 1.5% agar, infusion, 5% defibrinated sheep blood, 0.1% hemin, 0.1% menadione) に100 μl のガラスビーズを用いて播種し、嫌気ボックス内で、グラム陽性菌は2日間、グラム陰性菌は3日間培養し、CFUを計測した。

結果および考察

1) セメントの稠度と硬化時間に及ぼす粉末の熱処理の影響

SEMにより熱処理後の粉末の観察した結果、未処理のフルオロアルミノシリケートガラス粉末と比較すると、600℃と700℃で熱処理した粉末は一部が凝集・焼結し、粒径が大きくなることが分かった。また、800℃以上で加熱すると粉末全体が凝集し、ひと固まりの焼結体となった。XRDを用いたセメント粉末の分析では、熱処理を施さない粉末ではピークが見られず、粉末はアモルファス状態すなわちガラス状であることが分かった。また、700℃以上に加熱すると明瞭なピークが認められ、粉末の一部に結晶相が生成していることがわかった。回折ピークの位置から、生成した結晶相はCaSi₄O₈あるいは、CaAl₄O₈であることがわかった。600℃で加熱した粉末では、結晶相に由来するピークが痕跡程度に認められた。粉液比を2.2g/mlとして練和したセメントの硬化時間は、未処理で60秒、600℃で熱処理したセメントで7分、700℃で熱処理したセメントで29分となった。なお、800℃で熱処理した粉末を用いた場合は、1時間経過しても硬化せず、熱処理温度の上昇とともにセ

メントの硬化時間は長くなることが明らかとなった。

稠度は粉液比の影響を受け、粉液比が大きくなるほど、すなわち粉末の割合が高くなるほど稠度は小さくなり、セメント泥の流動性が低下することが分かった。本研究で600℃で熱処理を施したフルオロアルミノシリケートガラスの粉末と50%フィチン酸水溶液を用いて試作したセメントの標準粉液比は2.2g/mlであった。そこで、粉液比を2.0~2.6g/mlの範囲で変えて硬化時間を測定したところ、5分30秒~8分であった。合着用セメントの硬化時間は、余裕のある操作性を確保し、かつ必要以上にチエータタイムを長くしないとの条件から、JISではリン酸亜鉛セメントに関して4~8分と規定されている。したがって操作性の観点から、粉液比2.0~2.6g/mlで練和した試作セメントは、臨床で使用できる条件を満たしていることが分かった。600℃で2時間の熱処理によって、アモルファス状態であるガラス粉末の一部が結晶化するとともに欠陥密度が減少し、ガラスの構造が化学的に安定となったためにフィチン酸との反応性が低下し、硬化時間が長くなったものと考えられる。

2) 圧縮強さ

標準粉液比での試作セメントの圧縮強さは195MPaであり、GICXの172.8MPaよりも高い値を示し (P<0.05), JISで規定されている強度 (70MPa以上) を十分に満たしていることが分かった。また、粉液比を2.0~2.6g/mlの範囲で変化させた場合の圧縮強さは128.8MPa~243.5MPaとなり、粉液比の増大とともに大きくなることが明らかとなった。

3) 崩壊率

崩壊率はJIS規格でグラスアイオノマーセメント1.0%以下と定められているが、試作セメントの崩壊率は0.1~0.3%以内と低い値、GICXで得られた値である0.1%と同等の値を示した。また、仮着用セメントであるSOFTおよびHARDの崩壊率2.1%, 1.5%と比較すると小さい値を示した (P<0.05)。

4) 被膜厚さ

現在の歯科精密鋳造技術の発達やCAD/CAMの使用により、修復物の適合性度は5~30μmになるといわれている。被膜厚さに関するJIS規格では、グラスアイオノマーセメントおよびポリカルボキシレートセメントで25μm以下と規定されているのに対し、試作セメントにおける標準粉液比での被膜厚さは15μmであった。この値は、合着用グラスアイオノマーセメントGICX (15

μm) と同じ値であり、仮着用セメントSOFT (34 μm) およびHARD (36 μm) と比較すると小さかった ($P < 0.05$)。さらに試作セメントの粉液比を2.0~2.6g/mlの範囲で変えても、被膜厚さは15~20 μm とほとんど変化しないことが明らかとなった。

5) 保持力

セラミックコーピングとチタンアバットメントを使用し、引張り試験を行った結果、標準粉液比での保持力は117.7 Nであった。これはSOFT 55.1 N, HARD 155.0 Nのほぼ中間値を示した。また、セメントの操作が可能な範囲で粉液比を2.0g/mlから2.6g/mlまで変化させると、試作セメントの保持力を83~247.9 Nの範囲で調整できることがわかった。

6) CFU

CFUを測定した結果では、*Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*で、試作セメントはグラスアイオノマーセメントと比較して生菌数が減少した。これは、セメント硬化体に残留する未反応のフィチン酸が菌体表面に対して作用し、セメント表面への付着を阻害したためと考えられる。

結論

本研究の結果、試作したフィチン酸を液に用いたセメントは仮着・合着用セメントとして適した操作性と物性を有していることが分かった。また本試作セメントには細菌の付着を抑制する効果が認められた。これらの結果から、本試作セメントは補綴装置やインプラント上部構造体装着用セメントとして有望であることが示唆された。



館山 元一

平成12年3月 駒澤大学付属岩見沢高等学校 卒業
 平成13年4月 岩手医科大学歯学部 入学
 平成18年3月 岩手医科大学歯学部 卒業
 平成18年4月 北海道医療大学歯学部臨床研修課 入学
 平成19年3月 北海道医療大学歯学部臨床研修課 終了

〔学位論文〕

インプラント周囲炎インプラントと健康なインプラント周囲における 細菌叢の比較と検討

田村 直

北海道医療大学歯学部大学院歯学研究科 口腔機能修復・再建学系
クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

Comparison of Bacterial Flora in Peri-implantitis and Healthy implant sulcus

Naoki TAMURA

Division of Fixed Prosthodontics and Oral Implantology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

Key words : peri-implantitis, bacterial flora, obligate anaerobic condition, 16S rDNA

緒 言

現在口腔インプラント治療は、歯科補綴治療における主要な選択肢の一つとなり、極めて高い成功率が示されている一方で、インプラントの失敗の報告も増加傾向にある。インプラント周囲炎は、オッセオインテグレーションを獲得し、機能しているインプラント周囲組織に影響を及ぼし、結果として支持骨を吸収させる炎症として定義されている (Albrektsson & Isidor, 1994)。しかしながら、インプラント周囲炎に関する詳細は、あまり良く知られていないため、原因や治療法は未解決のままである。インプラント周囲炎の発症には、偏性嫌気性グラム陰性桿菌種（以下OGNRs）、特に黑色色素産生細菌や運動性桿菌やグラム陰性偏性嫌気性球菌が重要な役割を果たしていると考えられている。しかしながら近年、口腔内には1万種を超える多種多様な微生物種が存在する可能性が報告されており (Keijser et al., 2008), VNC (viable but non-cultivable) な細菌を含む、未同定細菌種が多く存在することが示唆されている。その中でも糖非分解性偏性嫌気性グラム陽性桿菌種（以下AAGPRs）が、しばしば歯周炎部位から検出されることから、慢性歯周炎の病原菌であると指摘する報告もある (Uematsu & Hoshino, 1992)。

本研究の目的は、酸化還元電位が-400mV以下の厳密な偏性嫌気性状態における培養法で、生育した全ての

細菌株について16S rDNA gene-based PCRにより16S全塩基配列得ることで、そこから全ての菌種を同定し、インプラント周囲炎の細菌叢と健康なインプラント周囲溝の細菌叢と比較検討することである。

材料および方法

本研究は、北海道医療大学歯学部大学院歯学研究科倫理委員会承認（承認番号41）に基づき、全ての患者に対する説明と同意を得て実施された。対象は上部構造装着後6ヶ月以上経過したインプラント埋入患者とし、インプラント周囲炎の臨床症状のある患者、もしくは臨床症状のない患者を選択した。対象はそれぞれ、プロービング深さ（以下、PD）、プロービング時の出血、排膿、X線写真での骨吸収、動搖を検査し、Peri-implantitis, Healthy implantの2群に分けた。全身疾患のある患者と、6週間以内に抗菌薬の投薬を受けている患者、さらに洗口剤を使用している患者は除外した。試料はインプラント周囲溝内渗出液とし、無菌のペーパーポイント（ISO#50）を使用して採取した。試料の希釀・塗抹・分離培養の全ての行程は、嫌気グローブボックス内（80%N₂, 10%H₂ and 10% CO₂）で行った。試料は滅菌PBS（phosphate-buffered saline）に懸濁後、粉碎した試料を連続10倍希釀により10⁻⁶まで希釀した後、ガラスピーズ法でBHI血液寒天培地（3.7% brain heart infusion, 1.5% agar, 5% defibrinated sheep blood, 0.1%

受付：平成23年3月30日

hemin, 0.1%menadione) 上に塗抹し, 嫌気グローブボックス内で37°C, 7日間培養した。血液寒天培地上における検出数の平均をcolony forming units (CFUs/ml) で定量した。同定には16S rDNA特異的なユニバーサルプライマーを使用し, コロニーダイレクト法によりPCRを行った。PCR産物は, Takara Bio Inc. (Shiga, Japan) にて塩基配列の解析を行った。得られた菌株の16S rDNA塩基配列は, DDBJ (DNA Data Bank of Japan) のBlast search programを利用して, GenBankのデータベースと比較し, 98%以上の相同性を持つ細菌種を検索した。Peri-implantitisとHealthy implantの総菌数の平均, およびAAGPRsとOGNRsがPeri-implantitisとHealthy implantの細菌叢に占める割合について, 統計解析ソフトStat View 5.0を使用して, Mann-Whitney U-testにより統計処理を行なった。

結 果

本実験には, 北海道医療大学歯科内科クリニックに来院した, 30人の部分無歯顎患者が対象となった。Peri-implantitisは15人 (女性8人, 男性7人), Healthy implantが15人 (女性4人, 男性11人) であった。平均年齢は, Peri-implantitisで56.9歳, Healthy implantで63.4歳であった。平均PDは, Peri-implantitisで6.8mm, Healthy implantが1.3mmであった。総菌数の平均 (logarithm CFUs / ml) は, Peri-implantitisで 6.34 ± 0.52 , Healthy implantで 5.16 ± 0.86 であり Peri-implantitisとHealthy implantの総菌数に統計的な有意差が認められた ($p < 0.01$)。Peri-implantitisでは, グラム陽性球菌 (43%) が最も多く, 次いでグラム陽性桿菌 (35%), グラム陰性桿菌 (20%) で, グラム陰性球菌 (2%) が最も少なかった。優勢細菌属は, *Streptococcus* (34%), *Eubacterium* (13%), *Prevotella* (10%), *Actinomyces* (6%), *Fusobacterium* (4%)。Healthy implantでは, グラム陽性球菌 (50%) が最も多く, 次いでグラム陽性桿菌 (27%), グラム陰性球菌 (16%) で, グラム陰性桿菌 (7%) が最も少なかった。優勢細菌属は, *Streptococcus* (45%), *Actinomyces* (14%), *Veillonella* (14%), *Propionibacterium* (8%) であった。両者ともに*Streptococcus*が最も優勢であるが, その割合はHealthy implantで多かった。またPeri-implantitisでは, Healthy implantと比べ, AAGPRsとOGNRsの割合が明らかに多く, Peri-implantitisでAAGPRs (18%), OGNRs (20%), Healthy implantでAAGPRs (3%), OGNRs (6%) であった。AAGPRsとOGNRsが, Peri-implantitisとHealthy implantの細菌叢に占める割合には, 統計的な有意差が認められた

($p < 0.05$)。Peri-implantitisでは, *Streptococcus*に次ぐ優勢細菌属が, AAGPRsの*Eubacterium*と, OGNRs種の*Prevotella*であった。Peri-implantitisでは69菌種が検出され, Healthy implantでは53菌種が検出された。Peri-implantitisとHealthy implantの間で観察された構成細菌種には明らかな違いが認められた。Peri-implantitisにおける優勢な偏性嫌気性菌は, *E. nodatum* (7%), *P. intermedia* (5%), *F. nucleatum* (3%), *Filifactor alocis* (3%), *E. brachy* (3%), *Parascardovia denticolens* (3%), *Parvimonas micra* (3%) であった。対してHealthy implantでは, *Veillonella* spp. (14%), *Propionibacterium acnes* (5%), *Pseudoramibacter alactolyticus* (3%), *Parvimonas micra* (2%) であった。

考 察

本研究は, 進行したインプラント周囲炎の周囲組織における優勢な細菌種を同定し, その細菌叢を明らかにすることを目的とした。Peri-implantitisにおけるCFUは有意にHealthy implantよりも高かった。本研究では, グラム陽性球菌がPeri-implantitis, Healthy implant共に多く検出されたが, その構成細菌種は大きく異なっていた。また, Peri-implantitisでは, グラム陰性球菌は最も少ない検出割合であったが, Healthy implantでは, 偏性嫌気性グラム陰性球菌である*Veillonella* spp. が最も優位な細菌であった。この知見は, Fürstら (2007) の報告と一致する。さらに, Peri-implantitisにおいて Socransky & Haffajee (2002) が報告しているレッド, オレンジコンプレックスに属するOGNRsである*P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *Parvimonas micra*や, 他の主要な慢性歯周炎に特徴的な細菌種を検出した。歯周病原性偏性嫌気性グラム陰性桿菌種は, 2つのグループ共に検出された。グラム陽性桿菌の細菌叢に占める割合は, Peri-implantitisでは35%, Healthy implantでは27%であり, 共にグラム陽性球菌に次ぐ割合を占めている。一方, Peri-implantitisでは, 多くのAAGPRs (18%) が検出されているが, Healthy implant (3%) ではほとんど検出されておらず, 構成細菌種は大きく異なっていた。本研究より, インプラント周囲炎部において, 従来報告されている歯周病関連細菌種は高頻度で検出されており, それらの細菌種がインプラント周囲炎に関与していることが示唆された。一方で, これらの特定細菌の他, インプラント周囲炎部周囲溝深部では, AAGPRsもまた優勢細菌種であることが明らかになった。以上の結果は, AAGPRsの存在が, 協調してインプラント周囲組織破壊に誘導し, 口腔細菌叢の変化による複合感染により細菌

学的なリスクを増加する等、AAGPRsがインプラント周囲炎において重要な役割を担っている可能性が示唆された。また、本研究のPeri-implantitisにおいて、糖非分解性細菌はAAGPRs (13%), *Prevotella* (10%), *Fusobacterium* (4 %), *P. micra* (3 %), *P. gingivalis* (1 %) が検出された。Uematsu & Hoshino (1992) は、AAGPRsはしばしば歯周炎部の優勢細菌であると報告している。加えて、本研究で検出された*E. nodatum*, *E. saphenum*, *E. minutum*, *Filifactor alocis*は、酪酸を産生することが知られている。*Fusobacterium* spp.や*Prevotella* spp.などのOGNRsもまた、酪酸を産生することが報告されている。実際、本実験において様々なAAGPRsが存在していることからも、歯周炎部と同様に、進行したインプラント周囲炎の周囲組織底部では、酪酸を含む種々の短鎖脂肪酸がAAGPRsの代謝産物として産生されていることが示唆される。従って、AAGPRsが産生した酪酸が、インプラント周囲炎の一つの病原因子として一定の役割を担っている可能性が高い。しかしながら、AAGPRsの多くはその培養の困難さや、小さいコロニー、通常の生化学的試験への反応の低さのため、詳細な研究が遅れている。

結論

本研究では、厳密に管理された嫌気的条件下で試料の処理と培養を行い、生育した全菌株について16S rDNA全塩基配列による菌種の同定をすることによって、インプラント周囲炎の細菌叢を明らかにした。本研究により、インプラント周囲炎に罹患したインプラント周囲溝底部は高度な偏性嫌気状態にあり、AAGPRsや糖非分解性偏性嫌気性グラム陰性桿菌が最も優勢に生息していることが明らかとなった。このことにより、従来の歯周病関連細菌のみがインプラント周囲炎の発生と進行に関与する特定の細菌群ではなく、AAGPRsなどの、偏性嫌気性かつ糖非分解性細菌もまたインプラント周囲組織を破

壊に導く危険性の高い細菌であり、インプラント周囲炎を引き起こすとともに、インプラント周囲炎の細菌叢のなかで、重要な役割を担っている可能性が示唆された。

参考文献

- Albrektsson T & Isidor E. Consensus report of session IV. In : Lang NP, Karring T, editors. Proceedings of the First European Workshop on Periodontology. London : Quintessence, 365-369, 1994.
- Fürst MM, Salvi GE, Lang NP & Persson GR. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res* 18 : 501-508, 2007.
- Keijser BJ, Zaura E, Huse SM, vander Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC, ten Cate JM & Crielaard W. Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. *J Dent Res* 87 : 1016-1020, 2008.
- Socransky SS & Haffajee AD. Dental biofilms : difficult therapeutic targets. *Periodontol2000* 28 : 12-55, 2002.
- Uematsu H & Hoshino E. Predominant obligate anaerobes in human periodontal pockets. *J Periodont Res* 27 : 15-19, 1992.

田村 直

北海道医療大学口腔機能修復・再建学系 クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

平成8年3月 私立函館ラ・サール高等学校 卒業
 平成12年4月 北海道医療大学歯学部 入学
 平成18年3月 北海道医療大学歯学部 卒業
 平成18年4月 北海道医療大学臨床研修医
 平成19年4月 北海道医療大学歯学部大学院歯学研究科 入学
 平成23年3月 北海道医療大学歯学部大学院歯学研究科 修了

〔学位論文〕

3次元有限要素法によるインプラント傾斜埋入モデルの下顎骨の構築と応力解析

仲井 太心

北海道医療大学歯学部歯学研究科・口腔機能修復再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

Analysis of FEA mandible model with some tilted-implants by 3D-FEM

Taishin NAKAI

Division of Fixed Prosthodontics and Oral Implantology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

緒 言

近年、無歯顎患者に対して、インプラント体をオトガイ孔、または上顎洞を避けて遠心傾斜埋入することで骨増生による長期治癒期間を回避でき、さらに4本のインプラント埋入でカンチレバーも付与できるAll-on-4コンセプトによる治療法が多く用いられている。しかし、一般的にカンチレバーは、歯やインプラント体および周囲骨に対して過酷な条件と考えられており、カンチレバー付きインプラント補綴における10年生存率は61%と低いという報告もある。All-on-4コンセプトの症例が増え、年数が経過するに従ってインプラント体の破折や骨吸収によるインプラント体の脱落報告なども増加する可能性も考えられる。しかしAll-on-4コンセプトは臨床先行型であり、十分な解析が行われていない。そこで本研究では、ヒト乾燥骨骨体標本のCTデータとマイクロCTから採得したインプラントデータをもとに現実に近い有限要素モデルを構築した。また、閉口筋の付着部位に荷重を付与し、さらに下顎骨のたわみやねじれを阻害しない最適な拘束条件を検討したうえで、過去の検討よりも詳細なAll-on-4コンセプトの有限要素解析を行った。

材 料 と 方 法

下顎骨モデルは、標準的な骨質を有するヒト乾燥下顎骨骨体標本を水中に浸漬しヘリカルCT (PROSPEED F II, GE) で0.6 mmスライスの条件下で撮像して構築した。インプラント体は、Nobel Biocare社製Bränemark Mk III (直径4.0 mm, 長さ7.0 ~ 15.0 mm) をマイクロCT (MCT-12505MF(H), 日立メディコ) を用いて撮像して

モデル化した。アバットメントは、30度の角度付きと垂直のものを直径4 mmの円錐台形態としてCADでモデル化した。上部構造は、頸堤弓に沿った高さ3 mm、幅5 mmのプレートとしてCADでモデル化した。

All-on-4コンセプト有限要素モデル（以後TILTモデル）は、有限要素解析ソフト (Mechanical Finder Version 6.0, 計算力学研究センター) を用いて構築した。遠心インプラント体2本を遠心に30度傾斜させ、頬舌的角度は頸堤弓に添わせた。埋入深度は、インプラント体頸部近心を完全埋入した。前方インプラント体は、垂直に2本のインプラントを頸部まで埋入するように構築した。アバットメントを装着し、その上に上部構造を設置した。TILTモデルにおける右側遠心アバットメント遠心面が下顎骨と接触しないように、アバットメント周囲骨を除去した。カンチレバーの長さは14 mmとした。

比較対照として、オトガイ孔間に垂直に4本インプラントを埋入したSTモデルと垂直に5本埋入したTRONTモデルを用いた。両モデルにおいて、カンチレバーの長さは19 mm、インプラント長径は7 ~ 15 mmとした。

要素分割は、ANSYS ICEM CFD Version 11.0で行った。メッシュサイズは、下顎骨を0.3 ~ 1.2 mm、インプラント体、アバットメントおよび上部構造は、0.3 mm (倍率: 3倍) とした。

骨における各要素のヤング率は、ソフトの規定に従い、CT値から骨密度を求め、さらにKeyak et al.の公式を用いて導出した。ポアソン比は0.4とした。インプラント体、アバットメントおよび上部構造は純チタンのデータを用いた (ヤング率108 GPa, ポアソン比0.19)。

荷重条件は、閉口筋である咬筋、側頭筋および内側翼

突筋を想定して、各筋付着部位に荷重点を付与した。荷重の大きさは、右側カンチレバー最遠心部に反力として250 N発生するように設定した。

拘束条件は、最も現実の咬合咀嚼状態に近似した条件とした。すなわち、左右下顎頭一点ずつを頭尾方向（Z軸）および前後方向（Y軸）に拘束、右側カンチレバー最遠心部頬舌的中点一点をZ軸方向のみ拘束し、回転を非拘束とした部分的拘束条件とした。

データの採取は、インプラント体頸部周囲骨を覆う大きさの球状領域を定義し、インプラント体頸部平均相当応力及び最小主応力を評価した。

結 果

インプラント体頸部に発生した平均相当応力は、TILTモデルにおける右側遠心インプラント体頸部周囲骨が最も高い値を示した。また、どの埋入形態においても、インプラント長径が長くなるほど右側遠心インプラント体頸部の応力は、減少する傾向を示した。

TILTモデルにおいては、インプラント頸部周囲骨に発生する最小主応力はインプラント長径が長くなるほど減少する傾向が認められた。埋入形態の影響を見てみると、TILTモデルにおける最小主応力は他のモデルと比較して2～4倍高く、右側遠心インプラント周囲骨においては200 MPaを超過することが分かった。

考 察

本研究では、All-on-4コンセプトの詳細な有限要素解析を行い、インプラントの周囲骨に発生する応力を評価した。その結果、インプラント長径が長くなるにつれて、荷重点に最も近いインプラント頸部周囲骨応力は減少したことから、長径を長くすることによって応力を軽減できることが分かった。

しかし、TILTモデルは垂直埋入モデルと比較して、最小主応力が2倍から4倍に増大することが示され、いずれのインプラント長径においても200 MPaを超えていることから、下顎骨に骨折を及ぼす可能性のある過大な応力が生じていることが示唆された。それに対してST

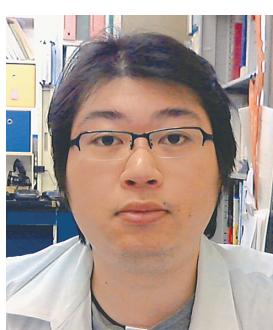
モデルとTRONTモデルにおける応力は、TILTモデルと比較し明らかに低い値を示した。したがって、TRONTモデルおよびSTモデルは、カンチレバーを有する上部構造体を装着する場合には、TILTモデルよりも適した方法であることが確かめられた。

過去の研究では、皮質骨と海綿骨から成る単純2層のモデルが用いられ、実際の咬合状態を反映していない。下顎骨基底面を完全に拘束した条件下で応力解析が行われてきた。それに対して本研究では、有限要素モデルを実際の下顎骨とインプラント体のCT画像から構築しており、有限要素解析ソフトも開発時点において実際の大軸骨とモデル化した大軸骨の応力を比較検証し、高い相関性が得られているシステムを使用した。また拘束条件も詳細に検討し、実際の咬合状態に近い条件を再現し、骨に発生する応力の絶対値をより適切に評価しているため、従来の有限要素解析よりも信頼性の高い知見が得られたものと考えられる。

結 論

- すべてのモデルにおいて、右側遠心インプラント体頸部の周囲骨に発生する平均相当応力は、インプラント長径が長くなるにつれて減少した。
- TILTモデルの右側遠心インプラント頸部周囲骨の最小主応力は、STおよびTRONTモデルよりも大きく、すべてのインプラント長で脛骨骨折の危険性のある200 MPaを超過した。
- 4本垂直埋入モデルと5本垂直埋入モデルの最小主応力は、All-on-4コンセプトモデルよりも明らかに小さく、下顎骨におけるカンチレバーを有したインプラント治療には垂直埋入が適している。

以上の結果から、下顎におけるAll-on-4コンセプトでは、荷重点に最も近い傾斜埋入インプラント体の周囲骨に高い応力が集中することが分かった。したがって傾斜埋入インプラントよりも垂直埋入インプラントのほうが優れていることが明らかとなった。



仲井 太心

平成12年3月 東京都立富士高等学校 卒業
 平成18年3月 日本歯科大学新潟歯学部 卒業
 平成23年3月 北海道医療大学歯学部大学院歯学研究科博士課程 修了

〔学位論文〕

糖尿病関連分子によるヒト β ディフェンシン発現の変化について

畠山 翔太

北海道医療大学歯学部口腔病理学分野

Shota HATAKEYAMA

緒 言

糖尿病患者は、歯科領域では歯周病が高率に発症すると言われている。しかしながら、糖尿病関連分子が局所にどのように作用して易感染状態になるかについては未だ不明な点が多い。口腔粘膜の感染防御機構に抗菌ペプチドであるヒト β ディフェンシン（hBD）がある。本研究では、グルコース、インスリン、アディポネクチンが口腔粘膜上皮におけるhBDの発現に及ぼす影響についてヒト重層扁平上皮由来角化細胞株を用いてhBD-1, hBD-2 およびhBD-3 の発現変化を検証し、hBDの発現変化における細胞内情報伝達経路についても検証した。

材料および方法

ヒト重層扁平上皮角化細胞株HaCaTを10%FBS, 2 %ペニシリントレプトマイシンを含んだDMEMにてグルコース、インスリン、アディポネクチンの添加後、37°C, 5 %CO₂で24時間培養を行なった。グルコース濃度は10, 15, 50mMに、インスリン濃度は、100, 150, 200nMに、アディポネクチン濃度は、3, 10, 30 μ g/mlになるように調整した。DMEM（5.5mMグルコース含有）で無添加の条件をコントロールとした。また、hBD-1, hBD-2 およびhBD-3 mRNA発現が有意に上昇した条件下で、分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ（MAPK）インヒビター、細胞外シグナル調節キナーゼ（ERK 1/2）インヒビター、NF-κBインヒビターを添加した群と、インヒビターを添加しない群をコントロール群として、比較検討した。これらの実験系によるhBD-1, hBD-2, hBD-3 mRNAの発現変化を、RT-PCR法と定量的リアルタイムRT-PCR法にて発現量を測定した。本研究では、すべてにおいて5回ずつ実験を行い、マンホイットニーのU検定を用いて、有意水準を

0.05未満として検定した。

結 果

インスリン添加時、hBD-1 はいずれの濃度でも有意な発現変化は認められなかった。インスリン濃度150, 200nM時にhBD-2 の発現が有意に上昇し、150nMの条件下時にhBD-3 の有意な発現上昇が認められた（p<0.05）。グルコース添加時のhBDmRNA発現は、いずれの濃度でも有意な発現変化はみられなかった。アディポネクチン添加時、アディポネクチン 3 μ g/ml添加で、hBD-1 およびhBD-2 mRNAの有意な発現上昇が認められた（p<0.05）。hBDmRNA発現上昇条件下でのインヒビター添加による細胞内伝達経路については、インスリンによるhBD-2 の発現上昇は、NF-κBインヒビターの添加によって抑制された。インスリン150nM添加によるhBD-3 の発現上昇は、ERKインヒビターによって抑制された。アディポネクチン添加によるhBD-1 発現上昇はいずれのインヒビターによっても抑制されなかった。hBD-2 の発現上昇は、NF-κBインヒビターにより抑制された。インスリン、グルコースおよびアディポネクチンの同時添加によるhBDmRNA発現については、hBD-1 はどの条件下でも有意な発現変化はみられなかった。hBD-2 は、グルコース濃度10mMで、インスリン濃度に関わらず、アディポネクチン 3, 10 μ g/ml添加条件で有意な発現上昇がみられ、グルコース濃度15mMであってもアディポネクチン 3 μ g/mlでは有意な発現上昇が認められた（p<0.05）。hBD-3 の発現は、グルコース濃度10mMでインスリン100, 150nMとアディポネクチン 3 μ g/ml添加した条件で有意な発現上昇がみられた。

考 察

インスリン添加によるhBDmRNA発現は、これまでの

報告でヒト腎細胞でのhBD-1の濃度依存的な上昇がみとめられた¹⁾が、本研究では、hBD-1 mRNA発現変化ではなく、hBD-2, hBD-3 mRNA発現の上昇が見られた。これは、ケラチンの分子量の違いで扁平上皮の方の分化傾向が高いことや細胞の分化傾向の違いも関与しているものと思われた。グルコース添加群でのhBDmRNA発現は、有意な発現変化はないが、ヒト腎細胞を、グルコース濃度25mMで4日間培養すると、hBD-1発現が有意に上昇した報告²⁾があった。その違いは、添加培養期間の違いと細胞が異なっていたことが考えられた。アディポネクチン添加群でのhBDmRNA発現について、これまでの報告では、アディポネクチンによるhBD発現誘導に関する報告はみられないが、内臓脂肪細胞から分泌されるレプチンに関しては、角化上皮細胞でhBD-2発現が増強されるとの報告³⁾がある。本研究でのアディポネクチンによるhBD-2の発現上昇は、この報告と矛盾しないと考えられた。アディポネクチンによるhBDの発現上昇が、濃度が3μg/mlではみられが、10, 30μg/mlでは認められなかった理由として、アディポネクチン濃度10μg/mlを越えると細胞の分化抑制に働くとの報告⁴⁾や、角化上皮細胞の分化にともなってhBDの発現が上昇する⁵⁾ことから、高濃度では分化抑制によるhBDの発現抑制があったものと考えられた。インヒビター添加によるhBDmRNA発現変化の細胞内伝達経路については、通常の細菌感染でみられるLPSによるhBD-2の経路と同様であるものと思われた。また、アディポネクチンによるhBD-3発現上昇は、ERKインヒビターでのみ抑制効果がみられたためERK伝達経路を介した発現であると思われた。hBD-3の発現上昇に関する報告には、多様な経路を介した発現上昇が報告されており、どの経路においてもERKが介在しているため、これまでの報告と同様にERKを介したものと思われた。インスリンとグルコース、アディポネクチンの同時添加によるhBDmRNA発現は、グルコース濃度が10mMと15mMでは、インスリンとアディポネクチンの同時添加の一部で、hBD-2が、また、hBD-3では、グルコース濃度が10mMの条件で同時添加による発現上昇が認められた一方で、50mMとグルコース濃度が高い条件では、hBD-2, hBD-3共に発現上昇はみられなかったことから、血糖値の高い状態にある糖尿病では、インスリン、アディポネクチンによるhBDの発現誘導されないことが示唆された。

結 論

本研究では、糖尿病関連分子でも、hBD-2とhBD-3の発現上昇について、初めて明らかにすることができます

た。いずれもある特定濃度のみでの発現上昇がみられたことにより、生体内でのhBD-2とhBD-3の発現にはインスリン、グルコース、アディポネクチンの至適濃度が関与しているものと思われた

文 献

- 1) Barnea M, Madar Z & Oren F. Glucose and insulin are needed for optimal defensin expression in human cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 367 : 452-456, 2008.
- 2) Malik AN & Al-Kafaji G. Glucose regulation of beta-defensin-1 mRNA in human renal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 353 : 318-323, 2007.
- 3) Kanda N & Watabane S. Leptin enhances human beta-defensin-2 production in human keratinocytes. *Endocrinology* 149 : 5189-5198, 2008.
- 4) Kawai K, Kageyama A, Tsumano T, Nishimoto S, Fukuda K, Yokoyama S, Oguma T, Fujita K, Yoshimoto S & Yanai A. Effects of adiponectin on growth and differentiation of human keratinocytes-implication of impaired wound healing in diabetes. *Biochem biophys Res Commun* 374 : 269-273, 2008.
- 5) Abiko Y, Nishimura M & Kaku T. Defensins in saliva and the salivary glands. *Med Electron Microsc* 36 : 247-252, 2003.

〔学位論文〕

FGF-2 が歯根膜細胞群中STRO-1⁺/CD146⁺細胞の増殖と分化能に与える影響

日高 竜宏

北海道医療大学大学院歯学研究科

目的

歯周病は歯周病原菌を原因とする慢性炎症により歯周組織が破壊され、成人が歯を喪失する主な原因となる疾患である。近年、広範に失われた様々な組織を再生することが可能な治療として幹細胞の応用が試みられている。歯周組織ではヒト歯根膜由来間葉系幹細胞としてSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の存在が確認されている。しかし、歯根膜由来間葉系幹細胞の供給源は限られており、歯周組織再生療法へ応用するのに十分な量を得るのは困難である。そのため、歯根膜由来間葉系幹細胞を細胞培養にて増殖させ、組織再生療法に必要な細胞数を確保することが重要となる。塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2)は骨髓間葉系幹細胞に対して多分化能を保持した状態で細胞増殖を促進する活性を有することが報告されている。しかし、FGF-2 が歯根膜由来間葉系幹細胞の増殖と分化能に与える影響は明らかではない。本研究では効果的に歯根膜由来間葉系幹細胞を増殖させることを目的として、ヒト抜去歯の歯根膜細胞群中に占める歯根膜由来間葉系幹細胞の割合を測定し、FGF-2 が歯根膜由来間葉系幹細胞の増殖と分化能に与える影響を検討した。

材料と方法

1. ヒト歯根膜細胞群(HPDL細胞群)の採取

HPDL細胞群は15本のヒト抜去歯歯根膜組織をoutgrowth法にて増殖させ15細胞群を得た。その後、growth medium (10%ウシ胎児血清、2 mM L-グルタミン、200μg/ml カナマイシン含有DMEM培地; Sigma-Aldrich社)を用いて37℃、5%CO₂の条件下で継代培養後実験に使用した。

2. FGF-2 添加培養

15のHPDL細胞群をそれぞれ播種し、growth medium にて24時間培養した。各細胞群を20ng/mlのFGF-2 添

加群と非添加群に分け10日間培養した。培養後、フローサイトメトリー解析を実施し、STRO-1⁺/CD146⁺細胞を分取した。

3. フローサイトメトリー解析と歯根膜由来STRO-1⁺/CD146⁺細胞の分取

FGF-2 添加・非添加培養したHPDL細胞群を、0.05% (w/v) Trypsin-EDTAで回収し、PBSにて懸濁・洗浄後、プロッキング処理を行った。その後、抗STRO-1抗体 (R&D Systems社)と抗CD146抗体 (AbD Serotec社)を反応させ蛍光染色した。フローサイトメトリー解析はFACSAriaTM (Becton Dickinson社)を用いてSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の割合を測定した。HPDL 2 のFGF-2 添加群から分取したSTRO-1⁺/CD146⁺細胞をHPDLSC 2 f, FGF-2 非添加群から分取したSTRO-1⁺/CD146⁺細胞をHPDLSC 2 とした。HPDLSC 2 とHPDLSC 2 fの特異的マーカー発現と多分化能に対する対照細胞としてヒト骨髓由来間葉系幹細胞 (BMMSC; Lonza社)を用い、以下の実験を行なった。

4. 免疫組織化学的観察

8穴チャンバースライドグラスにHPDL 2, HPDLSC 2, HPDLSC 2 f, BMMSCを播種し3日間培養した。4% パラホルムアルデヒドで固定し、プロッキング処理をした後、抗STRO-1抗体と抗CD146抗体で蛍光免疫染色を施した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。

5. RT-PCR法による特異的マーカー発現の検討

培養したHPDL 2, HPDLSC 2, HPDLSC 2 f, BMMSCからISOGEN (日本ジーン社)を用いて全RNAを抽出した。その後、逆転写酵素を用いてcDNAを作製し、歯根膜特異的マーカー (PLAP-1: periodontal ligament-associated protein, periostin, S100A4, scleraxis), 脂肪細胞分化マーカー (PPAR γ : peroxisome proliferator-activated receptor γ , LPL: lipoprotein lipase), 骨関連マーカー

ー (Runx2 : runt-related gene2, Col I : type I collagen, OCN : osteocalcin) などに対応したプライマーを用いてPCRを行った。アガロース電気泳動を行いエチジウムプロマイドで可視化した。

6. 脂肪細胞と骨芽細胞への分化誘導

HPDLSC 2 と HPDLSC 2 f の多分化能を検討するためには、以下の細胞分化誘導培養条件下で20日間培養した。

1) 脂肪細胞への分化誘導：コンフルエント到達後、0.5 mM イソブチルメチルキサンチン、0.5mM ハイドロコルチゾン、60μM インドメタシン含有growth medium を用いて20日間培養した。培養後、RT-PCR法を用いPPAR γ 、LPLのmRNA発現を確認した。また、オイルレッドO染色を用い脂肪染色し、位相差顕微鏡で観察した。

2) 骨芽細胞への分化誘導：コンフルエント到達後、50 μg/ml L-アスコルビン酸、10mM β -グリセロホスフェート、5 μM デキサメタゾン含有growth medium を用いて培養した。培養後、RT-PCR法を用いRunx 2, Col I, OCN のmRNA発現を確認した。また、アリザリンレッド染色を用い石灰化結節を染色し、位相差顕微鏡で観察した。

7. 統計学的解析

Tukey's testによる補正を伴うANOVA解析を行い有意検定 (p<0.05) を実施した。

結果

15のHPDL細胞群のフローサイトメトリー解析の結果、FGF-2 添加培養10日後におけるHPDL細胞群中に占めるSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の割合は平均で0.43 ± 0.64%であり、FGF-2 非添加培養群 (0 %) に比較して有意に増加した。

次に、HPDL細胞群の中でもSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の割合が高かったHPDL 2 からSTRO-1⁺/CD146⁺細胞のみを分取した。分取したHPDLSC 2, HPDLSC 2 f 両細胞群の位相差顕微鏡像では、いずれに

おいてもコロニー形成がみられ、その形態は紡錘形を呈した。対照細胞となるBMMSCの形態は多角形を示した。

また、免疫組織化学で得られたSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の共焦点レーザー顕微鏡像から任意の5視野を用いてSTRO-1⁺/CD146⁺細胞数と核数を計測し、視野内全細胞数に対するSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の割合を算出したところ、HPDL 2 においては19.66 ± 9.70% であったのに対して、HPDLSC 2 で72.82 ± 12.23%, HPDLSC 2 f で85.00 ± 13.69%, BMMSC で78.10 ± 23.53% であり、いずれの細胞群においても有意に高い値を示した。

さらに、HPDLSC 2 と HPDLSC 2 f における歯根膜特異的マーカーの発現を検討したところ、PLAP-1, periostin, S100A4, scleraxis のmRNA発現がみられた。一方で、BMMSCにおいてはPLAP-1 のmRNA発現を認めなかった。

最後に、HPDLSC 2 と HPDLSC 2 f を脂肪細胞に分化させるため培養したところ、脂肪細胞分化マーカーであるPPAR γ 及びLPLのmRNAを発現しており、オイルレッドO染色で脂肪の蓄積が観察された。さらに、骨芽細胞に分化させるために培養したところ、骨関連マーカーであるRunx 2, Col I, OCN のmRNAを発現しており、アリザリンレッド染色陽性の石灰化塊の形成が観察された。

考察

歯根膜細胞群のFGF-2 添加培養は、歯根膜細胞群中のSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の割合を増加させた。さらに、FGF-2 添加培養群から分取したSTRO-1⁺/CD146⁺細胞は脂肪細胞分化能、骨芽細胞分化能を有していた。これらのことからFGF-2 添加培養は歯根膜由来間葉系幹細胞であるSTRO-1⁺/CD146⁺細胞の分化能を維持させたまま、その割合を増加させることができた。歯根膜由来間葉系幹細胞の歯周組織再生療法への応用には、FGF-2 添加培養が有用である可能性が示唆された。



日高 竜宏

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系歯周歯内治療学分野

平成18年3月 北海道医療大学歯学部卒業

平成18年4月 北海道医療大学歯科内科クリニック臨床研修医

平成18年3月 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系歯周歯内治療学分野入局

[最近のトピックス] 歯槽骨改造と骨細管ネットワーク

骨細管ネットワーク断裂後の骨細胞の生存について

坂倉 康則, 高橋 昌己, 渋井 徹

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系解剖学分野

骨は生きた組織で、骨の中に埋め込まれた細胞（骨細胞）は骨代謝に関わる。骨の表面で活発に骨を造っている骨芽細胞は自ら埋まり骨細胞となる。しかしながら、骨細胞は石灰化基質で取り囲まれ、栄養と酸素に乏しい環境に置かれる。

24週齢の成獣マウスの第1臼歯舌側歯槽骨では、骨表面に沿って結合組織中に毛細血管が観察され、骨改造の痕跡を境に浅層と深層の骨層板構造が異なっていた（図1）。この浅層の骨細胞は表層の毛細血管から栄養と酸素の供給を受けるが、深層に位置する骨細胞では骨細管ネットワークの断裂により環境が変化し、骨細胞の代謝も変わるものと思われる。そこで、酸素濃度に応答する因子（HIF-1 α , HIF-2 α とORP150）とグルコースの細胞内への取り込みに関与するグルコース輸送担体

（GLUT 1, GLUT 3とGLUT 5）の発現を免疫組織化学的に調べた。

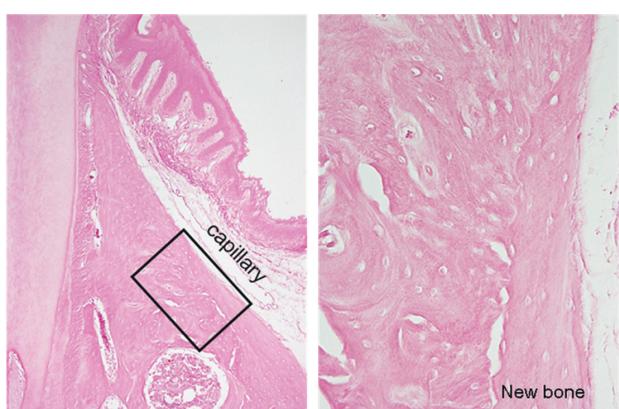
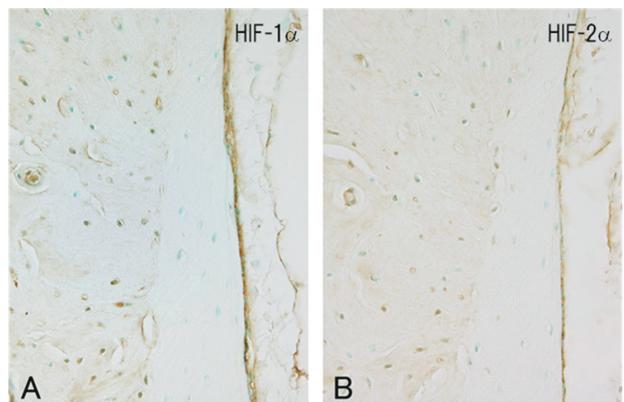


図1 第1臼歯舌側の歯槽骨

HIF-1 α , HIF-2 α およびORP150は浅層歯槽骨の骨細胞ではまったく認められず、深層の骨細胞ではHIF-1 α が強く、HIF-2 α が弱く観察された（図2）。ORP150はいずれの細胞にもほとんど認められなかった。これらは、個々の骨細胞の酸素濃度環境を反映しており、下顎骨表層に近い骨細胞は骨膜側から骨細管ネットワークを介して十分な酸素供給を受けていることを示している。

図2 HIF-1 α とHIF-2 α の染色結果

一方、GLUTsは新たに付加された骨（new bone）でみられず、より深層の骨細胞でGLUT 3の強い反応を示した（図3）。

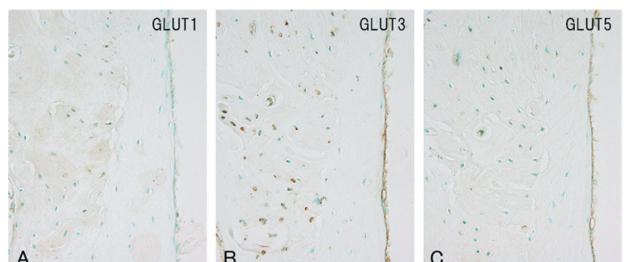


図3 GLUT1, GLUT3とGLUT5の染色結果

骨細胞への栄養と酸素が骨細管ネットワークを介して供給されていることを考えると、歯槽骨で骨改造の痕跡線を境に劇的に染色性が異なったことは、骨細管ネットワークが断裂したことに起因するものと考えられる。また、成獣マウス歯槽骨では、深層の骨細胞は骨改造により骨細管ネットワークが断裂し、低酸素低栄養の苛酷な環境に陥ったことを示唆しており、骨細胞は環境の変化に対応している。

[最近のトピックス]

マウスMeckel軟骨、下顎頭軟骨形成におけるCTRP 3 / cartducinの機能解析

柴田 俊一, 田巻 玉器

北海道医療大学歯学部口腔構造機能発育学系組織学分野

CTRP 3 / cartducinは軟骨前駆細胞と軟骨細胞によって產生されるC1qTNFファミリー分泌タンパクで、長骨原基の軟骨においては軟骨細胞の増殖に関連している事が示されている（文献1）。この物質のMeckel軟骨および下顎頭軟骨形成における機能を検討するために、器官培養にantisense oligonucleotide（AS-oligo）を添加する実験系を用いて解析した。マウス下顎頭軟骨は胎生14日頃より下顎頭軟骨形成部位に間葉細胞が凝集し形成が開始される。RT-PCR法では胎生14.5日の下顎頭軟骨原基においてCTRP 3 / cartducin mRNAの発現を認めだが、*in situ hybridization*法では軟骨形成が確認される胎生15日にシグナルが明瞭となり、胎生16日にかけて軟骨膜直下の軟骨前駆細胞から肥大軟骨細胞層に広く発現が認められた。次に胎生14.5日の下顎頭軟骨原基およびMeckel軟骨にCTRP 3 / cartducinのAS-oligoを加えて3日間器官培養を行った後、パラフィン切片による形態観察とreal-time PCR法による軟骨組織特異的な遺伝子の発現量について検討した。Meckel軟骨にAS-oligoを添加した実験群では軟骨全体がS字に屈曲するという形態異常が観察された。組織切片で観察すると軟骨膜が消失し、その部分に代償的に新生軟骨組織の添加が観察された。また細胞基質成分の密度の低下、細胞の変性も観察された。また下顎頭軟骨においては全体の軟骨細胞の減少と基質合成の著しい阻害が見られ、特に線維層及びそれに連続する軟骨膜の萎縮が顕著であった。さらにreal-time PCRの結果からAS-oligo添加群におけるCTRP 3 / cartducin mRNAの発現抑制とaggrecan, type I collagen, type X collagen mRNAの発現の減少が認められた。またAS-oligo添加群にCTRP 3 / cartducinのリコンビナントタンパクを加えたところMeckel軟骨の屈曲度が減少する傾向が認められた。以上よりマウスの胎生期におけるMeckel軟骨や下顎頭軟骨形成において、CTRP 3 / cartducinは軟骨細胞の増殖と基質合成のみならず、軟骨膜や線維層の維持という点で重要な機能を持つことが判明した（文献2）。

参考文献

1. Maeda T et al. Cartducin, a paralog of Acrp30/adiponectin, is induced during chondrogenic differentiation and promotes proliferation of chondrogenic precursors and chondrocytes. *J Cell Physiol* 206: 537–544, 2006.
2. Yokohama-Tamaki T et al. Functional analysis of CTRP3/cartducin in Meckel's cartilage and developing condylar cartilage in the fetal mouse mandible. *J Anat* 218: 517–533, 2011.

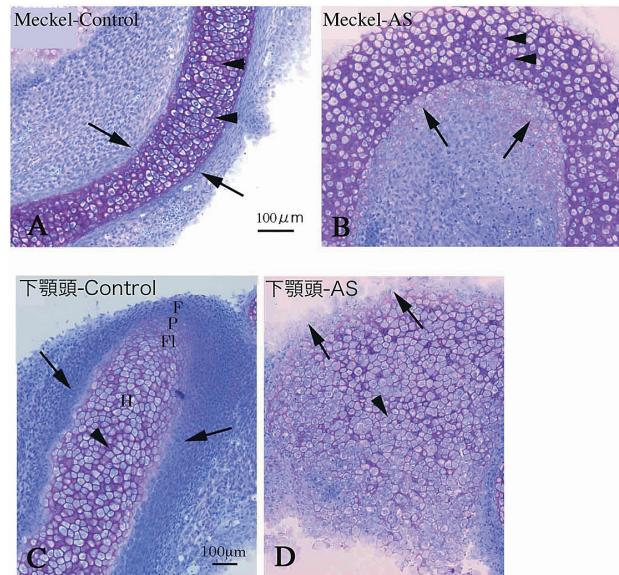


図1 コントロール群のMeckel軟骨では軟骨膜の形成が認められるが（Aの矢印）、実験群では軟骨が屈曲し、軟骨膜の消失と新生軟骨の添加が認められる（Bの矢印）。コントロール群の下顎頭軟骨では線維層を含めた層区分が明瞭で、軟骨膜（Cの矢印）も形成されているが、実験群では線維層、軟骨膜は消失している（Dの矢印）。

[最近のトピックス]

ゴルジ体のリボン構造形成におけるVAMP 4 の役割

設楽 彰子

北海道医療大学 歯学部 口腔生物学系 生化学分野

「タンパク質に糖鎖を付加する細胞内小器官はどれか.」という問題が、101回の歯科医師国家試験に出題された。必修問題で問われるくらい、ゴルジ体はよく知られた細胞内小器官である。我々は唾液分泌の仕組みを明らかにするため、分泌関連タンパク質（SNAREタンパク質）について研究を行ってきた。その研究の中でゴルジ体の形態維持に重要な役割を果たすSNAREタンパク質を見いだしたので報告する。

SNAREタンパク質は、SNAREモチーフと呼ばれる特殊な構造を持つタンパク質の総称であり、輸送小胞と標的膜の膜融合や小胞輸送を制御する働きを持つ。その一種であるVAMP 4は、特徴的なゴルジ体局在モチーフを持ちトランスゴルジネットワークに局在する。我々はsiRNAを用いてHeLa細胞の内在性のVAMP 4をノックダウンした後、免疫染色を行いゴルジ体の形態を観察した。その結果、コントロールでは核周辺にリボン状の構造として観察されるゴルジ体が（図1A）、VAMP 4のノックダウンにより連続性を失って断片化し、核周辺に顆粒状となって局在することが明らかになった（図1B）。電子顕微鏡を用いて詳細に形態を観察した結果、断片化したゴルジ体は層板構造を保持していることがわかった（図2）。さらにVAMP 4と結合しSNARE複合体を作るSyntaxin 6, Syntaxin16, Vti1aをノックダウンし、免疫組織化学または電子顕微鏡によりゴルジ体の形態を観察したところ、同様のゴルジ体の断片化が観察された。

ゴルジ体は国試に出題されたような糖鎖付加の機能だけでなく、小胞輸送の中心となって働く、いわゆる“細胞内の中央集配センター”の様な役割をもつ細胞内小器官である。そのため、ゴルジ体は非常に動的な器官となり、膜の部分はたえず融合と分散をしていると言われている。VAMP 4, Syntaxin 6, Syntaxin16, Vti1aをノックダウンした細胞のゴルジ体は断片化するが、層板構造は保持されるという結果から、これらのSNAREはゴルジ膜同士の側方融合を促進することにより、リボン状の

構造の維持に重要な役割を果たすことが示唆された。今後、VAMP 4 ノックダウンがゴルジ体の機能に与える影響について更なる研究が必要と考えられる。

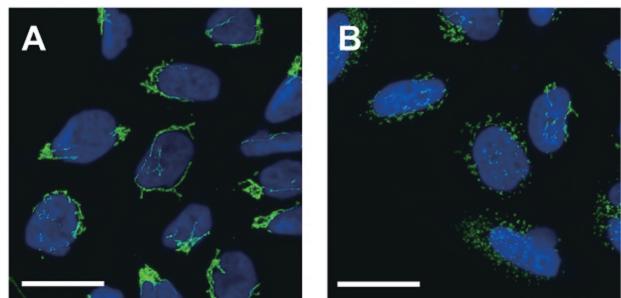


図1 VAMP 4をノックダウンした細胞をゴルジ体のマーカータンパク質（GM130）（緑）に対する抗体で免疫染色し、ゴルジ体の形態を観察した。核：Hoechst33342（青）。Control siRNA導入細胞（A）、VAMP 4 siRNA導入細胞（B）。スケール：30μm。

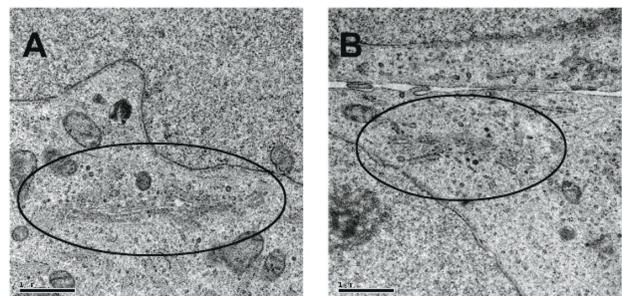


図2 VAMP 4をノックダウンした細胞のゴルジ体の形態を電子顕微鏡で観察した。黒丸はゴルジ体の場所を示す。Control siRNA導入細胞（A）、VAMP 4 siRNA導入細胞（B）。スケール：1 μm。

[最近のトピックス]

アデノウイルスを用いた外来タンパク質の唾液腺へのin vivo発現とその機能解析

森田 貴雄

北海道医療大学歯学部 口腔生物学系 薬理学分野

Takao Morita

Department of Pharmacology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

ウイルスを唾液腺開口部から逆行性に注入し、生きた動物の唾液腺組織に外来遺伝子を発現させる手法は、NIDCRのBaumらにより1990年代から行われている (Baum et al., 2002)。現在この方法により、障害を受けた唾液腺組織に対する遺伝子治療の臨床応用が試みられている。遺伝子導入によく用いられているアデノウイルスは、高い効率で外来遺伝子を発現させることができる反面、特に腺房細胞に重篤な炎症とそれに伴う腺房細胞の減少を招くという問題があった。今回我々は彼らの方法を使い、炎症を起こさずに顎下腺腺房細胞に機能的分子を発現させることに成功したので紹介する (Morita et al., 2011)。

mKO1 蛍光タンパク質を融合させたStim1 (Stim1-mKO1) を発現するアデノウイルスを作製し、これをラットの顎下腺開口部から逆行性に注入した。我々の方法では、ウイルス注入量を1/10量に減らすと共にチューブの遠位端を塞ぎ、注入ウイルスがすぐに漏出しないように工夫した。Stim1-mKO1を発現させた顎下腺を観察すると、その蛍光は顎下腺組織全体に見られ、舌下腺には発現が見られなかった (図1A)。さらにこの組織切片において、アデノウイルス導入による炎症の兆候は認められず、Stim1-mKO1の発現は主に腺房細胞で見られた (図1B)。また、ウイルスの発現が標的組織にのみ限定されたことから、将来的な遺伝子治療への応用も可能になる。

次に腺房細胞を単離し、Stim1-mKO1の局在と機能を解析した。Stim1はCa²⁺ストアの枯渀により細胞膜近傍に移行し、容量性Ca²⁺流入を引き起こすことが知られている (Putney, 2007)。小胞体Ca²⁺ポンプ阻害剤のThapsigargin (ThG) でCa²⁺ストアを枯済させると、Stim1-mKO1の細胞膜近傍への移行が観察された。またStim1-mKO1発現細胞では、ThGおよびムスカリリン受容体アゴニストのカルバコール (CCh) 刺激により誘導される容量性Ca²⁺流入は、発現していない細胞に比べて増大していた (図2)。これらの結果から、本方法は機能的タンパク質を唾液腺腺房細胞に発現させ、腺房細胞からの唾液分泌の分子メカニズムを研究する上で有用な方法であると考えられる。

参考文献

Baum BJ, Wellner RB, & Zheng C. Gene transfer to salivary glands. *Int Rev Cytol* 213 : 93-146, 2002.

Morita T, Tanimura A, Shitara A, Suzuki Y, Nezu A, Takuma T & Tojyo Y. Expression of functional Stim1-mKO1 in rat submandibular acinar cells by retrograde ductal injection of an adenoviral vector. *Arch Oral Biol* (in press), 2011.

Putney JW, Jr. New molecular players in capacitative Ca²⁺ entry. *J Cell Sci* 120 : 1959-1965, 2007.

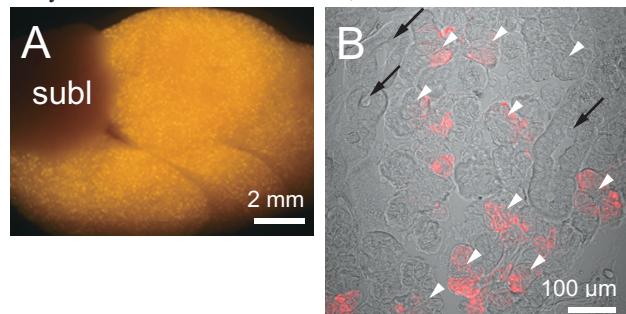


図1 顎下腺組織におけるStim1-mKO1の発現

A : Stim1-mKO1を発現させた顎下腺

Stim1-mKO1は顎下腺全体に発現し、舌下腺 (subl) には発現しなかった。

B : Stim1-mKO1を発現させた顎下腺の組織切片

Stim1-mKO1は主に腺房 (白矢頭) で発現し、導管 (黒矢印) にはほとんど発現しなかった。

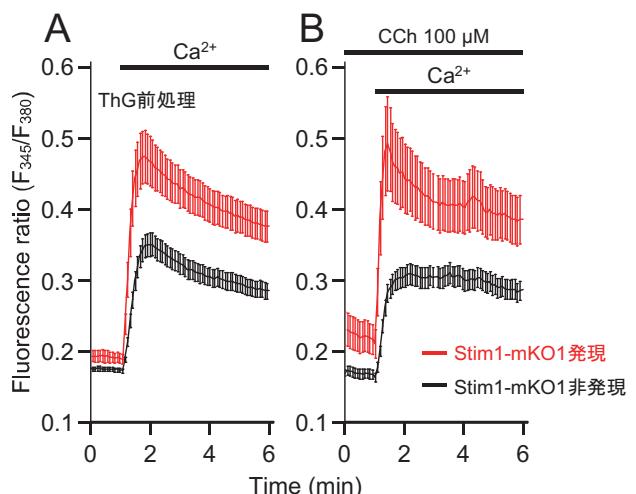


図2 Stim1-mKO1発現細胞における容量性Ca²⁺流入の増強

ThG (A) およびCCh (B) 刺激により引き起こされた容量性Ca²⁺流入はStim1-mKO1発現細胞で増強していた。

赤 ; Stim1-mKO1発現細胞、黒 ; 非発現細胞

[最近のトピックス]

神経幹細胞移植と抗てんかん薬投与による神経再生
脊髄損傷による下半身麻痺のマウスが立ち上がれた

和泉 博之

北海道医療大学歯学部口腔生物学系生理学分野

中枢神経損傷により運動機能が麻痺した患者にとって、運動機能回復は大きな夢である。臨床的には、軽度の患者に外科的再生術が行われている例があるが重度の患者では難しいのが現状である。実験的には、近年神経幹細胞移植によるニューロン再生が試みられてきているが効果は小さくメカニズムも明らかでない。

今回、脊髄損傷 (SCI) マウスに神経幹細胞 (NSC) を移植し、同時に長い間ヒトに使われている抗てんかん薬のバルプロ酸 (VPA) を投与することで劇的に運動機能が回復し、下半身麻痺のマウスが立ち上がることができるようになった結果とそのメカニズムについての報告 (Abematsu et al., 2010) を紹介する。

脊髄損傷 7 日後のマウスに、(1) 損傷部位に幹細胞を移植しVPAの腹腔内投与 7 日間、(2) 幹細胞を移植し生理食塩水投与 7 日間、(3) 幹細胞を移植せずVPA投与 7 日間、(4) コントロールとして、幹細胞を移植せず生理食塩水投与 7 日間、を行った (Fig. 1 A)。機能回復の程度をBasso, Beattie and Bresnahan (BBB) スコア (実験動物の後肢の運動機能を目視により 0 ~ 21 で評価する方法) で比較した。その結果、幹細胞移植 & VPA投与で大きな機能回復がみられたが他ではみられず、VPAが幹細胞のニューロン再生に作用していることがわかった (Fig. 1 B)。

さらにメカニズムを解明するために次の実験を行った。【a】(1) のマウスのニューロンを電子顕微鏡でみると損傷部位から尾側に軸索は存在しないが、移植細胞から分化したニューロンでは頭側と尾側の両方に伸びていることがわかった。これは (2) ~ (4) ではみられない。【b】in vitro で、histone deacetylase阻害作用のあるVPAを投与した場合と、類似薬物でhistone deacetylase阻害作用のないvalproamide (VPM) を投与した場合を比較し、幹細胞に対する効果をみた。前者では細胞分化がみられ、後者ではみられない。幹細胞の分化にはhistone のアセチル化が重要な働きをしていることがわかる。

【c】どのように神経回路が再生されるかをみるために、

神経伝導路トレーサーのwheat germ agglutinin (WGA) を快復後12週のマウス脳運動皮質に投与した。損傷していないマウスではニューロン全体にWGAがみられ、無処置マウスでは損傷部位より尾側ではWGAは全くみられない。しかし幹細胞移植 & VPA投与マウスでは皮質脊髄路がみられないのにもかかわらず尾側にWGAが確認できた。【d】機能快復後のマウスにTreck法 (ジフテリアトキシン投与) で移植細胞除去を行うと、BBBスコアが急激に低下し無処置マウスと同等になった。

以上のことから、VPAが移植細胞のニューロンへの分化を促進し、リレーのように神経伝達が行われていることがわかる。

これらの研究が今後さらに進み、臨床的に安全に有効に行われるようになれば、脊髄損傷患者の運動機能回復に有用であるだけでなく、無痛無汗症などの先天性の神経機能欠損患者の機能改善や、多汗症治療のために交感神経遮断術を施した患者の神経復元希望にも応えられるであろう。

Abematsu M, Tsujimura K, Yamano M, Saito M, Kohno K, Kohyama J, Namihira M, Komiya S & Nakashima K. Neurons derived from transplanted neural stem cells restore disrupted neuronal circuitry in a mouse model of spinal cord injury. *J Clin Invest* 120 : 3255-3266, 2010

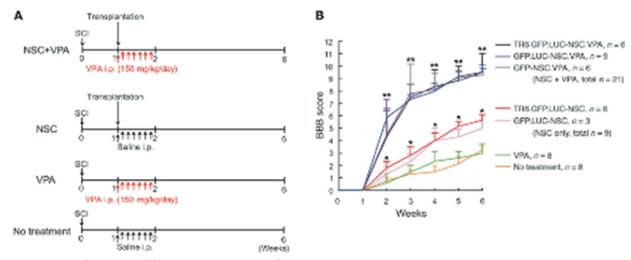


Figure 1
A combination of NSC transplantation and VPA administration improves functional recovery of hind limbs without CST axon reconnection. (A) Schematic of the NSC transplantation and VPA injection protocol. (B) Time course of functional recovery of hind limbs after SCI. GFP-NSCs, GFP-LUC-NSCs, and TR6-GFP-LUC-NSCs were transplanted into the SCI epicenter 7 days after injury as indicated. Combined treatment with NSC transplantation and VPA administration resulted in the greatest functional recovery. Data represent mean \pm SEM. * P < 0.001 compared with SCI models with no treatment; ** P < 0.01 compared with SCI models with no treatment (repeated measures ANOVA). NSC+VPA, total n = 21.

[最近のトピックス]

口腔*Veillonella*属の重要性

眞島いづみ, 中澤 太

北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野

*Veillonella*属は糖非分解性の偏性嫌気性グラム陰性球菌であり、鞭毛、芽胞、莢膜を作らない。直径が平均0.3~0.5μm程度の球菌である。培養中に双球菌様、集塊状、あるいは短い連鎖状になることもある。

本菌はヘキソキナーゼ、グルコキナーゼ、フルクトキナーゼ等を欠くため、炭水化物を利用できないが、他の解糖系の酵素を持っており、発育のためにある種の中間代謝物、例えば乳酸塩、ビルビン酸塩、マロン酸塩、フマール酸塩およびオキザロ酢酸塩などが必要である。乳酸塩が利用されると、プロピオン酸塩、酢酸、CO₂及びH₂などが産生される。

*Veillonella*属はヒトの口腔内や種々の動物の呼吸気道、及び腸管などに常在する。ヒトの口腔内では、歯垢、舌苔及び唾液などが主な常在場所であるが、とくに唾液においては通性嫌気性連鎖球菌と同数か、あるいはそれ以上検出される。現在*Veillonella*属は11菌種が分離同定されているが、ヒトの口腔から分離されるのは、*V. parvula*, *V. atypica*, *V. disper*, *V. denticariosi*, *V. rogo-sae*の5菌種である。*Veillonella*属はシステインなどの含硫黄化合物を還元して硫化水素を産生することから口臭の原因菌とされ、日和見感染などにも深く関わっているとの報告も多数ある。

我々の最も身近な歯科における二大感染症である齲歯と歯周病はいずれもバイオフィルム形成が原因となって発症、進行する。このデンタルプラーク=バイオフィルムという観点から見てみると、口腔細菌はバイオフィルムの形成機序順により分類される場合もある。initial colonizerの*Streptococcus*属、early colonizerの口腔*Veillonella*属、middle colonizerであり歯周炎の原因菌とされる*Porphyromonas gingivalis*や*Fusobacterium nucleatum*、さらにlate colonizerで侵襲性歯周炎の原因菌とされる*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*があげられる。すなわち、バイオフィルムの形成は*Veillonella*属によって開始されると考えられている。

口腔内の細菌はそれぞれ単独でのバイオフィルム形成量は著しく低い。しかし、口腔*Veillonella*属とそれぞれ

の菌種を同時に共培養すると、多くの組み合わせで形成されるバイオフィルム量は劇的に増加する。この増加量は口腔*Veillonella*属を除くそれぞれの菌種同士で共培養したときよりも、口腔*Veillonella*属と同時に共培養したときの方が、バイオフィルム形成量は非常に多い。また、*Streptococcus*属と*F. nucleatum*, *P. gingivalis*と*A. actinomycetemcomitans*の組み合わせで共培養している中に、口腔*Veillonella*属を追加して培養するとそのバイオフィルム形成量は二菌種での共培養よりもさらに増加することが近年報告されている。このように口腔*Veillonella*属はそのバイオフィルム形成量において中心的な役割をはたしていると考えられている。

しかし口腔*Veillonella*各菌種の分布や分類、さらにそれらの病原性などは未だに不明な点が多い。実際我々はヒトの舌苔から*Veillonella*属特異的PCRプライマーに反応し、従来の口腔*Veillonella* spp.特異的PCRプライマーで反応しない12株を分離している。この中にはこれまでに報告されていない口腔*Veillonella*属の新菌種が存在すると考え、現在その各種遺伝子の全塩基配列を解析中である。

[参考文献]

- 1) Periasamy S. & Kolenbrander P. E. *Aggregatibacter actinomycetemcomitance* Builds Mutualistic Biofilm Communities with *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella*. *Infect. Immun.* 77 : 3542–3551, 2009
- 2) Periasamy S. & Kolenbrander P. E. Mutualistic Biofilm Communities Develop with *Porphyromonas gingivalis* and Initial, Early, and Late Colonizers of Enamel. *J. Bacteriol.* 191 : 6804–6811, 2009.
- 3) Periasamy S. & Kolenbrander P. E. Central Role of the Early Colonizer *Veillonella* sp. in Establishing Multispecies Biofilm Communities with Initial, Middle, and Late Colonizers of Enamel. *J. Bacteriol.* 192 : 2965–2972, 2010

[最近のトピックス]

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*の病原性と伝播

長澤 敏行, 古市 保志

歯周歯内治療学分野

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (*Aa*) 菌はグラム陰性桿菌であり、侵襲性歯周炎の原因菌として注目されてきた。侵襲性歯周炎とはこれまで若年性歯周炎、あるいは早期発症型歯周炎と呼ばれてきた若年期に発症する重度歯周炎であり、*Aa*菌だけでなく宿主の免疫機能の欠陥が発症と進行に深く関わっていることが報告されている。

*Aa*菌の主要な病原因子としてロイコトキシン (Leukotoxin) が存在する。ロイコトキシンはその名の通り選択的にヒト白血球 (Leukocyte) に傷害を与える毒素 (Toxin) である。*Aa*菌のロイコトキシン産生能は菌の株によって異なり、侵襲性歯周炎患者から分離されたJP 2 株はロイコトキシンのプロモーター領域に欠失があることによってロイコトキシンを多量に産生する株として知られている(図1)。Haubekらは歯周組織が健常な若年者の縦断研究を行い、このJP 2 株が検出された被験者では検出されなかった被験者よりも歯周炎を発症するリスクが10倍以上高いことを報告した¹⁾。このことから*Aa*菌のなかでもJP 2 株がとりわけ病原性が高いことが示唆される。

このJP 2 株がどこで発生し、どのように伝播したかということについてHaubekらは世界中から集めた*Aa*菌のhemoglobin-binding proteinの変異を解析した結果に基づいて仮説を提唱している²⁾。それによると*Aa*菌のJP 2 株は北アフリカで発生し、ヒトの移動とともにヨーロッパに拡散したと考えられている。また、アフリカ系アメリカ人には侵襲性歯周炎が多いことが知られているが、Haubekらは奴隸貿易によってJP 2 株が伝播していったためアフリカ系アメリカ人でJP 2 株の保有率が高いことも、その一因であるとしている。しかし同時に彼らは現在のグローバルな国際交流の中でもなお特定の人種でJP 2 株の保有率が高いことから、宿主によってJP 2 株に感染する感受性が異なる可能性も指摘している。このことは侵襲性歯周炎における*Aa*菌と宿主の免疫機能の関わりについて解明する鍵となる可能性がある。

我々は北海道医療大学歯科内科クリニックで分離され

た*Aa*菌がJP 2 株と同様の変異をロイコトキシンプロモーターに有することを見いだした。ヨーロッパやアメリカとは異なり、日本、中国、韓国など東アジアではこれまでJP 2 株の報告はない。この株がアフリカから伝播したのか、あるいは独自に変異をとげた株であるのか、またこの*Aa*菌の感染は特定の宿主に限られているのか、などについて現在検討を進めている。

文献

- 1) Haubek D, Ennibi OK, Poulsen M, Vaeth M, Poulsen S & Kilian M. Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of JP2 clone of *Aggregatibacter* (A) *actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *Lancet* 371: 234-242, 2008
- 2) Haubek D, Poulsen K, Kilian M. Microevolution and patterns of dissemination of the JP2 clone of *Aggregatibacter* (A) *actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 75: 3080-3088, 2007

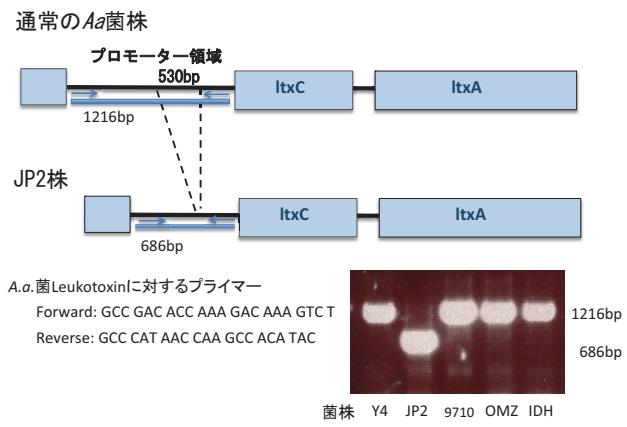


図1 *Aa*菌JP 2 株のロイコトキシンプロモーターの特徴
JP 2 株はロイコトキシンのプロモーター領域に530bpの欠失があるため、欠失部位の外側を挟むプライマーを用いてPCR法で増幅すると他の*Aa*菌株 (Y4, 9710, OM, IDHなど) よりも530bp短い増幅産物が得られる。

[最近のトピックス]

SurgiGuide® (サージガイド) を応用したインプラント埋入手術

油井 知雄, 仲西 康裕, 松原 秀樹, 田村 直, 越智 守生

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

昨今、歯科医療の発展とともにインプラント治療が広く普及し、多様なニーズ、またそれに対応する高い技術力が求められてきている。しかしインプラント手術に関するトラブル（医療事故）も増加を辿っている。これを回避すべく、近年ではCAD/CAMシステムの応用によりインプラント治療を安全かつ正確な位置に埋入するための手術支援システムが開発されてきている。

本講座ではCT撮像より得られたデータを画像診断ソフト「Simplant®」（マテリアライズ社製）でインプラントの埋入位置、方向、および深度を設計し、それにより製作された外科用ステント（SurgiGuide®, マテリアライズ社製）を手術に応用している。本システムのメリットは従来のインプラント手術と比較するとCTによる治療計画データを反映した外科用ステントが製作可能ため、ドリリング・インプラント埋入の深度、無歯顎・有歯顎に問わず、幅広い症例を手術ができる点と多数のインプラントメーカーにも対応している点である。SurgiGuide®の製作の概要としてはソフトで埋入計画をしたデータと石膏模型をマテリアライズ社に送り、それにより外科用ステントが製作され、各診療所に届けられる。手術の際はSurgiGuide®を装着し、マテリアライズ社から予め指定されたドリルを専用のドリルキーを用いてドリリングする（図1）。最終径の形成は使用するインプラントメーカーのドリルにて最終形成し、インプラントを埋入する（図2）。この一連の過程で術前計画を反映した手術を実現できる。

すでに本講座では4症例を経験し、良好な結果を得ている。今後、さらなる利便性を持つ手術支援システムが登場すると考えられ、術者はこれらを適切に利用することにより、安全かつ正確なインプラント手術が可能となる。しかしながら、インプラント治療に必要である基礎的な知識や技術の習得を忘れてはならない。

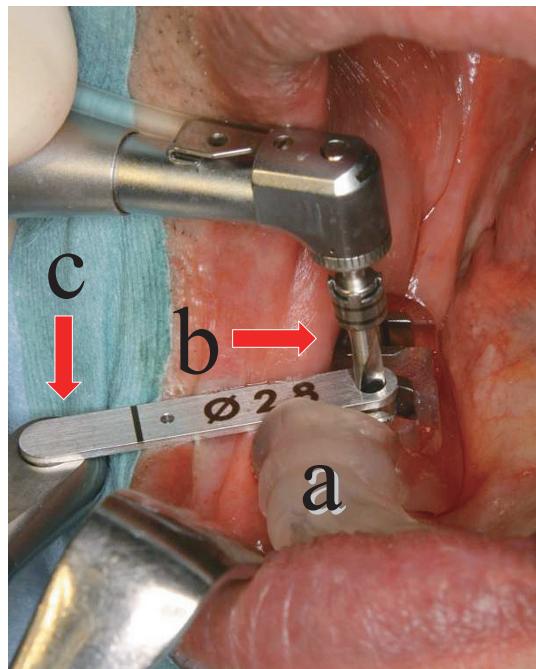


図1 右下67欠損の症例
SurgiGuide® (a) を装着し、ドリル (b) およびドリルキー (c) を適合させてドリリング



図2 IATインプラント埋入直後のパノラマX線像
2本ともに25N cm以上であり、十分な初期固定と適切な位置に埋入した

[最近のトピックス]

エナメル質にやさしい「PRGバリアコート[®]」の紹介

山崎 敦永, 溝口 到

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

矯正治療は矯正装置装着後、矯正装置の形態あるいは口腔衛生の難しさにより常にう蝕や歯肉炎を引き起こす可能性が高い。さらに矯正用ブラケットの接着に用いられるダイレクトボンディング法はリン酸による歯面の脱灰を必要とする。エナメル質をリン酸でエッティングすることで接着阻害因子を除去し、5から50マイクロメートルの多孔質層を作る。カリエスリスクを軽減するという観点から考えると、エナメル質の脱灰は回避したい処置である。

エナメル質の脱灰を避けるために様々なエッティング法が考案されている。そこで今回は、セルフエッティング剤に口腔内組織を健全化できるバイオアクティブな予防効果を併せもつ歯面コーティング材、「PRGバリアコート」を紹介する(図1)。

プライマーにはホスホン酸系接着モノマーが配合され(図1a)、リン酸エッティングのようなエナメル質への極度な脱灰(凹凸面の形成)を伴わず、エナメル質中のカルシウム(Ca)とキレート結合するホスホン酸基、光照射によりペーストと重合する重合基を有し、接着性を実現する。

ベースには(図1b)、S-PRGフィラー(多機能性ガラス)が配合されグラスアイオノマーセメントと同様の「フッ素リリース&リチャージ能」を有している。これらの機能は口腔内のフッ素濃度に応じて可逆的に起こり、いわゆるフッ素蓄電池様の働きをする。S-PRGフィラーは、フッ化物を含む6種類のイオンをリリースし、その効果についても報告がされている^{1~2)}(図2)。

「PRGバリアコート」は、う蝕リスクが高くなる矯正治療中の患者さんに対し口腔内環境の健全化に寄与できる材料と考えられた。しかしながらセルフエッティングという点から接着強さに関してはブラケット脱落と相関があり今後さらなる改良が望まれる。

文献

- 1) Fujimoto Y, et al. Detection of ions rerelease from S-PRG fillers and their modulation effect. Dent Mater J 39: 72-79, 2011.

2) Saku S, et al. Antibacterial activity of composite resin with glass-ionomer filler particles. Dent Mater J 29: 193-198, 2010.

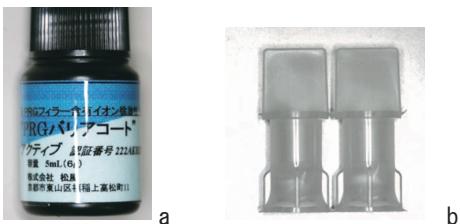


図1 PRGバリアコート[®]
a:モノマー b:ベース



図2 PRGバリアコート[®]の適用例

[最近のトピックス]

スガマデックス-新しい非脱分極性筋弛緩薬の拮抗薬

國分 正廣

北海道医療大学 歯学部生体機能・病態学系講座 歯科麻酔科学分野

全身麻酔は催眠と鎮痛および筋弛緩をバランスよく配分して行います。気管挿管が必要な場合には筋弛緩薬を用います。筋弛緩薬には脱分極性の塩化スキサメトニウムと非脱分極性のロクロニウム、ベクロニウムやパンクロニウムがあります。以前は塩化スキサメトニウムがよく使われたのですが、筋肉痛、徐脈や心停止、悪性高熱などの重篤な副作用から、最近ではほとんど使われなくなりました。現在では非脱分極性の筋弛緩薬、なかでもロクロニウムが主流です。

非脱分極性の筋弛緩薬は神経筋接合部でアセチルコリンレセプターにアセチルコリンと競合的に結合して筋弛緩作用を発現します。非脱分極性の筋弛緩薬の作用持続時間は50分程度ですが、個人差があり120分も持続する場合もあります。麻酔医が筋弛緩薬の作用から回復したと判断してもその作用が遷延している場合もあり、術後の誤嚥性肺炎や無気肺などの呼吸器系合併症を生じることもあります。

そこで、非脱分極性の筋弛緩薬に対する拮抗薬が必要になるのですが、これまでには抗コリンエステラーゼしかありませんでした。しかし、抗コリンエステラーゼにはアセチルコリンの副作用が付きまといます。すなわち、ムスカリン様作用です。迷走神経刺激作用で徐脈、血圧低下や気管支痙攣を引き起こす可能性があります。そこで、副交感神経遮断薬である硫酸アトロピンを抗コリンエステラーゼとともに投与するのですが、今度は頻脈や術後妄想という副作用がでます。副作用と副作用との狭間で麻酔医は戦ってきました。また、抗コリンエステラーゼによる筋弛緩作用の拮抗は深い筋弛緩時には無効で、自発呼吸が出ている状態でしか使えませんでした。

2008年7月欧州で、スガマデックスという全く新しい概念で作られた筋弛緩薬の拮抗薬が発売され、新薬の認可が遅い日本でもアメリカより早く、2010年4月に認可されました。

スガマデックスは8つのグルコースが環状に結合したオリゴ糖の γ -シクロデキストリン誘導体で、中心部が空洞を形成しています。この空洞部分に血中のfreeのロクロニウムやベクロニウムのステロイド核を1:1で包接（ホストゲスト複合体）して除去します（図1）。本剤は体内ではほとんど代謝されず、非脱分極性筋弛緩薬を包接後、尿中に排泄されます。血中のfreeの非脱分極性筋弛緩薬の濃度が減少すると、神経筋接合部と血中の間に非脱分極性筋弛緩薬の濃度勾配が生じ、非脱分極性筋弛緩薬は血中に急速に拡散して、筋弛緩効果が消失するのです。

スガマデックスの非脱分極性筋弛緩薬との結合率はロクロニウムを100とするとベクロニウム32、パンクロニウム14であります。つまり、スガマデックスの拮抗作用の強さはロクロニウム>ベクロニウム>パンクロニウムの順であります。理論的には筋弛緩薬投与直後でも大量投与すれば、筋弛緩薬に拮抗可能であります。また、スガマデックスにはムスカリン様作用がないので、硫酸アトロピンを併用する必要はありません。

逆に、スガマデックスの欠点としては①スガマデックスが90%以上尿中に排泄されるのに24時間あける必要があり、すぐに再挿管することが出来ない。②筋弛緩薬の効果を判断しながら麻酔を行う必要がないため、麻酔がヘタになる。③原則としては筋弛緩モニター使用の義務づけられること。筋弛緩モニターがなければ、自発呼吸を確認してから投与します。④スガマデックスは薬価が高い。200mg 1Vで¥9,947、500mg 1Vで¥23,652もします。通常4mg/kgで投与するので非常に高い。などです。

しかし最近、衝撃的な緊急医薬品情報が出されました。日本でのスガマデックスの使用で13例（60万本使用）のアナフィラキシーショックが報告され、症状の重症度が高く（血圧低下、心停止、喉頭浮腫、腎不全など）、回復までに数日を要したとされます。

抗コリンエステラーゼにしてもスガマデックスにしろ、麻酔医の苦悩は続きそうです。

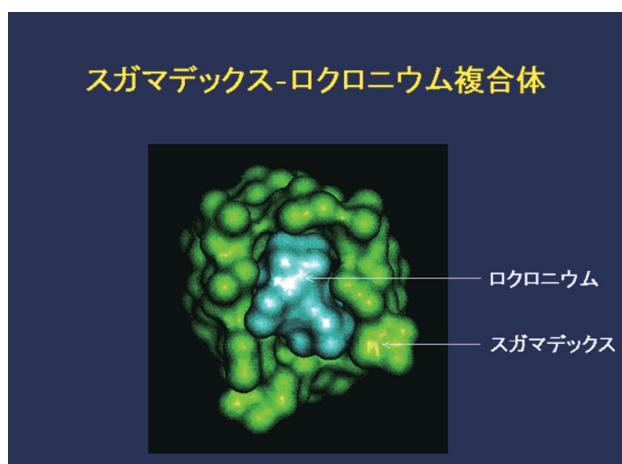


図1 スガマデックスは中心部が空洞を形成している。この空洞部分に血中のfreeのロクロニウムやベクロニウムのステロイド核を1:1で包接（ホストゲスト複合体）して除去する。写真株式会社スズケン

[最近のトピックス]

インクレチニン関連薬

高橋 伸彦^{1), 2)}, 家子 正裕¹⁾1) 北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系内科学分野
2) 旭川医科大学医学部消化管再生修復医学講座

2型糖尿病の治療において、基本となる食事療法と運動療法によっても良好な血糖コントロールが得られない場合、薬物療法を行うことになる。最近新たな作用機序をもつ糖尿病治療薬としてインクレチニン関連薬が使えるようになり、糖尿病薬物治療の現状が変わろうとしている。

インクレチニン (incretin) とは食事摂取に伴い腸管より分泌され、膵 β 細胞に作用してインスリン分泌を促進する生理活性物質の総称である。この概念はブドウ糖経口負荷時のインスリン分泌量は経静脈負荷時に比べ勝っているという観察に基づいている。近年、インクレチニン作用を担う物質2種類が同定された。一つは下部小腸の粘膜内に存在するL細胞より分泌されるglucagon-like peptide-1 (GLP-1) で、もう一つは上部小腸のK細胞より分泌されるgastric inhibitory peptide/glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) である。これらの物質は膵 β 細胞上の特異的受容体に結合し、アデニルシクラーゼの活性化による細胞内cyclic AMPの増加を介してインスリン分泌を促進する。さらに、詳細なメカニズムは明らかではないが、GLP-1は血糖上昇を促す膵 α 細胞のグルカゴン分泌を抑制する。すなわち、GLP-1やGIPは高血糖を是正する働きをもつ物質であり、その機能を高めることが糖尿病治療に役立つといえる。しかしながら生体において、両者とも分泌後にdipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) という酵素の働きにより分単位で活性を失っていくことから、GLP-1やGIPそのものは治療薬物として適当ではない。GLP-1やGIPは血糖降下作用以外にも様々な生理作用をもつことが明らかにされつつあり、特にGLP-1の多面的作用は糖尿病の病態改善に望ましいものが多い。詳細は省くが、GLP-1は中枢性の食欲抑制作用、胃排出抑制作用、心保護作用をもつこと、一方のGIPは脂肪細胞の脂肪蓄積促進作用、骨カルシウム蓄積作用をもつことなどが報告されている (reviewed in Baggio LL & Drucker DL, *Gastroenterology* 132: 2131-2157, 2007).

新しい糖尿病治療薬は特にGLP-1のインスリン分泌促進とグルカゴン分泌抑制を介する血糖降下作用に着目した薬剤であり、経口薬のDPP-4阻害剤と注射薬の

GLP-1受容体作動薬の2種類がある。DPP-4阻害剤はその名のとおり、DPP-4の活性を阻害し内因性のインクレチニンの分解を抑制することで、その働きを増強する薬剤である。一方GLP-1受容体作動薬は既存のインスリン製剤と同様のデバイスを用いた剤形をとり、GLP-1アナログ製剤のリラグルチドとトカゲの唾液腺より発見されたエキセナチドがある。本稿では最近臨床で使用が急増しているDPP-4阻害剤についてふれたい。DPP-4阻害剤により高められたインクレチニンの作用であるが、高血糖状態ではGIPの作用が減弱しているため、実際にはGLP-1が血糖降下作用の中心を担うと考えられている。現在使用可能なものはシタグリップチン、ビルダグリップチン、アログリップチンの三種類であり、常用量ではHbA1cを約1.0%前後低下させる作用をもつ。また、本薬剤の使用によりしばしば劇的に血糖コントロールの改善が得られる症例もみられ、最近2型糖尿病患者への本薬剤の投与が急増している。インクレチニンは高血糖状態において作用を発揮するが、血糖が低下し正常化するに従い作用は減弱・消失し、その効果は血糖依存的である。したがって、DPP-4阻害剤は単独投与では過剰な血糖低下を起さず低血糖を誘発しにくいという利点をもつ。しかし、単独投与でも腎機能障害をもつ高齢患者に投与された場合、あるいは他の糖尿病治療薬との併用、特にスルフォニルウレア薬を併用した場合には、低血糖を認めることがあるため注意すべきである。

DPP-4阻害剤は現在までに多くの糖尿病患者に投与されているが、どのような背景をもつ患者に有効で、どのような患者に効果がないのか明確ではない。また動物実験において、DPP-4阻害剤は質的・量的に膵 β 細胞の機能を高めることができているが (Mu J et al., *Eur J Pharmacol* 623: 148-154, 2009; Duttaroy A et al., *Eur J Pharmacol* 650: 703-707, 2011), ヒトにおいても同様であるのかは実証されていない。2型糖尿病は最近、経年的に膵 β 細胞の機能が低下する進行性の病気であると認識されており、このようなインクレチニン関連薬が糖尿病の進行を抑えるあるいは緩解させる薬剤になるのか興味がもたれる。

[学会記録]

北海道医療大学歯学会第29回学術大会 特別講演

「治癒の病理—臨床から研究へ、研究から臨床へ—」

東京歯科大学病理学講座
下野正基

「治癒の病理（医歯薬出版、1988年）」の出版を契機に、「臨床家の疑問に基礎が答える」という出版や講演の企画が多く組まれるようになった。そのおかげで、優れた多くの臨床家と討論や情報交換をすることができ、彼らのさまざまな疑問は興味深い我々の研究テーマとなった。ヒトの口の中で起こっている病態を解明するため、動物または培養細胞に実験系を移し、最新の研究手段を用いて解析する。その結果を臨床家へフィードバックする。そこから次の疑問が出てくる、を繰り返す展開が私の40年間の研究生活であったと思う。

臨床家からの最初の大きな疑問は、歯周治療後の歯肉プローブは入らないが、もっと細いシルバーポイントが入るスペースがある。このスペースの中どうなっているのか？長い付着上皮が形成されているのか？これが長い

付着上皮による上皮性付着の研究のはじまりであった。そのほか、臨床家との議論の中で生まれた疑問は、なぜ上皮のダウングロースはおきるか？歯周組織破壊の原因是力か炎症か？罹患歯の固定の是非？ジグリングフォースと移植の予後、4-METAレジンの歯髄への影響、など枚挙にいとまがない。このうち、いくつかの興味深いテーマについて解説する。我々の解答は臨床現場の治療において有用であつただけでなく、新たな臨床の疑問につながつたもの信じている。

エビデンスに基づくこれからの歯科医療のために、臨床がわかる基礎研究者と基礎科学に興味をもつ臨床家とが常にコミュニケーションをとりつつ日常の臨床の疑問を解決していくことの重要性を強調したい。

北海道医療大学歯学会第29回学術大会 一般講演抄録

ヘリカルCT装置を用いたインプラント臨床診断における基礎的研究

○高野勝光*、坂倉康則**、入江一元**、飯島雅弘***、
中山英二****、越智守生*

*北海道医療大学歯学部クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野、
同解剖学分野、*同歯科矯正学分野、****同歯科放射線学分野

【目的】 今日のインプラント臨床診断には、CT装置による診断が必要不可欠なものとなりつつある。しかし、CT値に基づく骨質の適合性判断は時に予想と異なる骨質の感覚を経験させ、特に脆弱な骨質の場合血管神経の損傷を来す危険性がある。本研究では、ヒト下顎骨を用い、CT値と骨質及び骨梁構造との関係をX線学的、形態計測学的並びに物性学的に明らかにする。

【方法】 平成21年度北海道医療大学歯学部解剖学実習で使用したご遺体のうち、下顎第一大臼歯欠損の下顎骨片側を用いた。医科用ヘリカルCT装置にて撮像後、SimplantPro[®]で下顎第一大臼歯相当部（ $\phi 4\text{ mm} \times 10\text{ mm}$ ）の平均CT値を算出した。次にMischの分類でD2とD3に適合した8骨を選び、DXAで骨密度を測定し、CT値と比較、CT<DXA群（H群）、CT=DXA群（N群）、CT>DXA群（L群）の3群に分けた。μX線CT装置で骨梁を

形態計測した。ナノインデンテーション試験により骨梁の硬さと弾性係数を算出した。

【結果及び考察】 CT値より骨密度が低いL群では細い骨梁が数多く存在し、骨密度の高いH群では太い骨梁が数少なく、それぞれ特徴的な骨梁形態が確認された。また、ナノインデンテーション試験では骨梁の硬さと弾性係数には有意な差は認められなかった。Mischの分類でインプラント治療に適すると診断された場合においても、細い骨梁が数多い骨質は骨密度が低く、必ずしもCT値に反映されず、骨削の手指感覚に影響を及ぼすものと思われる。

【結論】 CT値による骨質評価は骨梁構造の特徴により誤差が生じると考えられ、治療時の手指感覚にも骨梁構造が影響を及ぼす可能性が示唆された。

Bio-functionalization of titanium implants by simple chemical and physical surface treatments

○Yuki ICHIOKA*, Takashi KADO**, Yusuke IDA**

*3rd year student, School of dentistry, Health Sciences University of Hokkaido,

**Graduate student, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

【Introduction】 The surface of machined and sandblasted titanium implants is hydrophobic due to the absorption of organic impurities (hydrocarbons) that is unfavorable for cell adhesion and growth. In the present study, we investigated the simple chemical and physical treatments to decompose the absorbed hydrocarbons and improve water wettability and cytocompatibility of titanium implant surface.

【Materials and Methods】 Titanium disks were polished to a mirror finish using colloidal silica suspension. The surface treatments employed are ; (1) immersion in distilled water for 1 day, (2) immersion in 5% NaOCl solution for 1 day, (3) immersion in chromic acid mixture ($K_2CrO_7 + H_2SO_4$) for 1 day, (4) heating at 500°C for 5min, (5) irradiation of UV for 3 days. Each surface treatment can be done in dental clinic as chairside practice without using special devices. The wettability of the titanium surfaces was examined by

measuring the contact angle of 10 μ l H₂O droplet on the titanium disks. Cell attachment on each titanium disk was evaluated by counting the number of attached cells.

【Results and Discussion】 The contact angle of an H₂O droplet on the polished titanium disk was 71.4°, indicating that the polished surface was hydrophobic (>50°). The contact angle on the treated titanium surface substantially decreased to 13.4°–3.3° (hydrophilic (<50°) or superhydrophilic (<5°)). The number of attached cells to the titanium disks with the surface treatments except the UV-irradiation was 50%–100% greater than that attached to the polished titanium disk.

【Conclusion】 Bio-functionalization of the titanium implant can be achieved by the simple chairside treatments in dental clinic.

ラット上顎第一臼歯の実験的歯の移動方法

○松沢史宏, 鳥谷奈保子, 溝口 到

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

【目的】 本研究では、矯正学的歯の移動に伴う歯根吸收のメカニズムを解明することを目的として、研究に最適な歯の移動方法について検討した。

【方法】 8週齢のWistar系雄性ラットを用いた。まず、上顎前歯遠心面の歯頸部をダイヤモンドポイントにて削り、溝を作りエッチング処理を行った後、Ni-Ti Wireをコンポジットレジンで固定した。つぎに、Ni-Ti Wireを用いて初期荷重約10gと20gの矯正力が負荷されるように調整し、2日、4日および7日間、上顎右側第一臼歯を頬側に移動を行った。実験終了後ラットは環流固定を行い、上顎骨を採取し、ギ酸クエン酸ナトリム脱灰液で1週間の脱灰後、パラフィンに包埋した。厚さ7 μ mのパ

ラフィン切片を作製し、H-E染色を行い光学顕微鏡を用いて組織の観察を行った。

【経過および考察】 歯の移動を行っていない対象群の歯根膜は全周にわたってほぼ均一な幅を示していた。実験群の右側臼歯では圧迫側の根尖に硝子様変性がみられ、また歯根吸收像もみられた。このことより、今回使用した装置で片側臼歯に十分な矯正力を付与することができ反対側を対象群として使用できることが明らかとなつた。

【結論】 今回の設計および作製した装置により、ラット上顎の片側第一臼歯の移動を行えることが示された。

市販ノンクラスプデンチャー材料の曲げ特性

○廣瀬知二
(医) 康和会 アイ歯科医院

【目的】 ノンクラスプデンチャー材料は、ポリアミド系、ポリカーボネート系、ポリエスチル系、アクリル系の4種類が、現在薬事認可されおり普及しつつある。しかしながら、各種材料の理工学的性質については不明な点も少なくない。今回、機械的性質を評価する一法として曲げ試験を行い、加熱重合型アクリル樹脂と比較検討した結果、いくつかの知見を得たので報告する。

【方法】 ノンクラスプデンチャー材料として、ポリアミド系；ルシートーンFRS（Dentsply）、ポリカーボネート系；レイニング樹脂（東伸洋行）、ポリエスチル系；エスティショット（アイキャスト）、アクリル系；アクリトーン（ハイデンタルジャパン）、加熱重合型アクリル樹脂としてアクロン（ジーシー）を対象とした。試験は、各々の材料について成形したままの状態（乾燥）と、37℃の水中に30日間浸漬した状態（浸漬）との2条件について行い、他の条件はISO20795-1に準じた。

インストロン社製万能材料試験機5582型を用い、応力一ひずみ曲線を作成して、曲げ強さと曲げ弾性率を算出した。

【結果および考察】 ノンクラスプデンチャー材料はいずれも韌性材料、アクロンは脆性材料の特徴を示す応力一ひずみ曲線が得られた。アクロンの曲げ強さは91.2Mpa（浸漬）、曲げ弾性率は2838.0Mpa（浸漬）であるのに対して、ノンクラスプ義歯用材料は曲げ強さ51.0～89.6Mpa（浸漬）、曲げ弾性率1493.4～2284.6Mpa（浸漬）であった。水中浸漬によりアクリトーンの曲げ強さは低下したが、他は乾燥の結果との有意差が見られなかった。アクリトーンとアクロンの曲げ弾性率は水中浸漬により低下した。

【結論】 ノンクラスプデンチャー材料は、韌性材料の特徴を有し、曲げ強さ、曲げ弾性率は製品間で差異が大きいことが明らかとなった。

新規接着性モノマー配合コート材の象牙質接着性

○甕富美子、伊藤修一、塚本尚弘、斎藤隆史
北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野

【目的】 象牙質知覚過敏症の治療には象牙細管を封鎖することが有効である。新規接着性モノマーである4MET-Ca（CMET）をハイブリッドコートに配合したシーリング・コート材を試作し、CMETが接着にどのような影響を与えるかを検討した。

【方法】 ハイブリットコート（サンメディカル、以下HC）に新規に開発した象牙質再石灰化誘導活性を有する接着性モノマーCMET（calcium 4-methacryloxyethyl trimellitate）を5%配合したものを試作し、実験に用いた（CMET群）。コントロールとして、HCを用いた（HC群）。試料として大臼歯16本を用いて、24時間後及び3ヶ月後の、微小引張接着強さの測定を行い、Mann-Whitney検定で有意水準5%にて統計処理を行った。またSEMによる象牙質処理面、引張試験後の破断面の観察を行った。

【結果及び考察】 24時間後の微小引張接着強さはCMET 41.8±4.0MPa、HC30.9±8.7MPaであり、有意差が認められた。

3ヵ月後はCMET34.0±7.8MPa、HC28.7±7.9MPaであり、これらについても有意差が認められた。HCにおいて24時間後と3ヵ月後の測定値の間に有意差は認められなかったが、CMETでは有意差が認められた。微小引張試験後の破壊様式は24時間後、3ヵ月後共にHCは混合破壊が多く認められたが、CMETは混合破壊と共にコンポジットレジン内での凝集破壊も多く認められた。歯面処理後の象牙質表面のSEM観察では、CMET、HC共に全体的にスムーズで均一な表面性状であった。CMETを配合することにより接着性が向上したことから、重合率の向上、化学的結合力の向上、再石灰化等の可能性が考えられ、今後これらについて検討する必要がある。

【結論】 CMET配合コート材は象牙質接着界面の耐久性に優れ、象牙質知覚過敏治療において有効であることが示唆された。

軟骨細胞の生存におけるHIFs, GLUTsとMCTsの役割

○高橋昌己, 濵井 徹, 入江一元, 坂倉康則
北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系解剖学分野

【目的】軟骨組織は無血管組織で実質的に低酸素状態であり、苛酷な環境下で軟骨細胞はいかに生存を維持するのかは不明である。一般に、酸素濃度の低下で低酸素応答因子（HIFs）は安定化する。エネルギー源である単糖を取り込むグルコース輸送担体（GLUTs）と乳酸・ピルビン酸を輸送するモノカルボン酸輸送担体（MCTs）が知られている。本研究では、軟骨細胞のHIFs, GLUTsとMCTsの発現を調べ、生存のためにどのように利用されているかを検討した。

【方法】1, 4と8週齢マウスを灌流固定し、脛骨のパラフィン連続切片を作製した。脛骨の近心骨端に抗HIF-1 α , -2 α 抗体、抗GLUT 1, 3, 5, 9抗体、抗MCT 1, 2, 4抗体を反応させ、免疫組織化学的に可視化した。

【結果および考察】HIF-1 α は肥大前軟骨細胞と肥大軟骨細胞にみられたのに対して、HIF-2 α は肥大前軟骨細胞のみにみられた。軟骨細胞の最終分化段階では

HIF-2 α よりもHIF-1 α が主導的作用を担うと思われる。GLUTsでは、GLUT 3とGLUT 9が肥大前軟骨細胞と肥大軟骨細胞でみられた。その特性から、GLUT 3は周囲の石灰化環境における単糖の枯渇に対して高親和性にグルコースのみを選択的に輸送し、GLUT 9も高親和性にグルコースやフルクトースを取り込み、エネルギー源として利用していると考えられる。MCTsでは、MCT 2のみがみられ、高親和性にモノカルボン酸を輸送する性質をもつことから、低酸素環境下ではモノカルボン酸をエネルギー源とするよりも嫌気的解糖産物である乳酸やピルビン酸を細胞外に排出することに利用すると考えられる。

【結論】軟骨細胞は肥大化と周囲基質の石灰化に伴ってHIF-1 α を強く発現し、主にGLUT 3を通して単糖を積極的に取り込み、さらにMCT 2で乳酸やピルビン酸を排出し、周囲環境の酸性化に寄与することで細胞外基質の改変に関与する。

Prevotella oris溶血毒素の精製

○佐藤寿哉, 鎌口有秀, 藤田真理, 宮川博史, 中澤 太
北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野

【目的】*P. oris*は慢性歯周炎や全身の化膿性炎に伴う膿瘍から高い頻度で分離される偏性嫌気性グラム陰性桿菌である。本菌種は血液寒天培地上で β 溶血を示すことが既に知られているが溶血毒素の性状に関する報告はない。本菌種が産生する重要な病原因子のひとつである溶血毒素の性状を明らかにするために、毒素の精製を試みた。

【方法】*P. oris*をTYHM培地にて嫌気培養し、遠心処理により培養上清を得た。培養上清中の溶血毒素は限外濾過の後、Sphadex G-100, DEAE-, CM-, Sephadex G-75 (Superfine) の順にカラムクロマトグラフィーにて精製した。溶血活性は赤血球と毒素を反応させた際に反応液中に遊離したヘモグロビン量を分光光度計で測定し

評価した。

【結果と考察】DEAEカラムに供した粗精製毒素は0.6M ~1.0MのNaCl濃度の範囲で溶出され、CMカラムでは通過画分に活性を認めた。比活性は5000倍に濃縮され、回収率は14.5%であった。次にSephadex G-75カラムでゲル濾過したところ複数の活性のピークが得られた。

本研究によって*P. oris*は分子量の異なる数種類の溶血毒素を産生（あるいは多量体を形成）している可能性が示唆された。同様な例は近縁種である*Prevotella inermedia*の溶血毒素においても報告されている。今後は各分子量の溶血毒素の単離し、詳細な分子構造と性状を解明する。

LL-37は血管形成制御を担う抗菌ペプチドである

○奥村一彦*, 平 博彦**, 小林美智代***

*北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系組織再建口腔外科学分野, **同顎口腔外科学分野,
***口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野

【目的】 抗菌蛋白質Chathelicidin familyで唯一ヒトに発現しているhCAP18/LL-37は、プロテアーゼによって活性ペプチドとなり、抗菌および抗癌をはじめとする多様な生物学的効果を示すことが知られている。そこで、我々はヒト正常皮膚微小血管内皮細胞HMVECを用いて、LL-37の血管形成制御について検討した。

【方法】 LL-37合成ペプチドは、C-末端のアミノ酸37残基 (LLGDFRK SKEKIGKEFK RIVQRIKDFL RNLVPRTES) により作製した。細胞は、正常皮膚微小血管内皮細胞HMVEC細胞 (CC-2543) を用いた。血管形成能は、Matrigel tube formation assayを用いて評価した。細胞増殖は、MTT assayを用いて計測した。細胞遊走能は、ibidi Culture-Insertによるwound healing assayで計

測した。

【結果】 血管形成能は、マトリゲル内に侵入したHMVEC細胞から形成される管腔の増減により評価する。通常のマトリゲルを用いた系では、LL-37ペプチドで管腔形成能の抑制が観察された。一方、成長因子低減マトリゲルを用いた系では、LL-37ペプチドにより管腔形成能の促進がみられた。いずれも一定のLL-37ペプチド濃度 (5–10 μg/ml) により、管腔形成の制御が観察された。また、管腔形成能と平行して細胞遊走能が変化したが、細胞増殖性については両者の系で影響がみられなかった。

【結論】 抗菌ペプチドLL-37は、血管形成抑制と血管新生の両者の働きを有することが示唆された。

北海道医療大学歯科内科クリニックで分離された*A.actinomycetemcomitans* 菌におけるleukotoxin遺伝子の特長

○長澤敏行, 清水伸太郎, 門 貴司, 加藤幸紀, 森 真理, 古市保志
北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系歯周病学分野

【目的】 *A.actinomycetemcomitans* (*A.a.*) 菌は侵襲性歯周炎 (若年性歯周炎) の病巣から比較的高頻度に検出される歯周病原細菌であり、主要な病原因子としてleukotoxinが知られている。leukotoxin遺伝子のプロモーター領域に530bpの欠失があるJP 2株はleukotoxinを多量に产生し、病原性が高い事が報告されている。JP 2株はアフリカからヨーロッパ、南北アメリカで分布が報告されているものの、アジアではこれまで存在が確認されていない。本研究では北海道における*A.a.* 菌の特長を検討することを目的として、北海道医療大学歯科内科クリニックで分離された臨床分離株のleukotoxin遺伝子を検討した。

【方法】 1. 北海道医療大学歯科内科クリニックに来院した22人の歯周炎患者、12人の軽度歯肉炎・健常者を対象とし、プロービング深さ、BOPなどの臨床パラメーターを測定した。

2. サンプリング：被験者から混合唾液を採取した。ま

た歯肉溝あるいは歯周ポケット4箇所から、ペーパーポイント法にて歯肉縁下プラーカーを採取した。唾液及び歯肉縁下プラーカーサンプル中の*A.a.* 菌の有無をPCR法で検討した。

3. PCR法で*A.a.* 菌が認められた被験者の歯周ポケット2箇所から*A.a.* 菌を培養した。各部位からそれぞれ2コロニーを分離・培養し、得られた臨床分離株からDNAを分離してleukotoxin遺伝子プロモーター領域の変異を検討した。

【結果および考察】 PCR法により22人の歯周炎患者のうち7名から*A.a.* 菌が検出され、健常者12人からは検出されなかった。7名の*A.a.* 菌陽性患者の歯周ポケットより28株の臨床分離株を得た。28株の臨床分離株のすべてにおいてJP 2と同様なleukotoxin遺伝子プロモーターの欠失が認められた。これらのことから北海道においてはこれまで日本及び東アジアで報告されている*A.a.* 菌とは異なるJP 2様の*A.a.* 菌が分布していることが示唆された。

大豆イソフラボンによるラット歯髄細胞の分化誘導について

○林 敬次郎, 半田慶介, 小池俊之, 斎藤隆史
北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系
う蝕制御治療学分野

【目的】 天然成分である大豆イソフラボンは、エストロゲン様作用を有し、骨組織に発現するエストロゲンレセプター β (ER β) と高い親和性をもつことで、骨粗鬆症の予防や改善に有効であるといわれている。

今回、我々は大豆イソフラボンの骨芽細胞分化促進作用に着目し、大豆イソフラボンのひとつであるゲニステインが、ラット歯髄細胞の分化誘導に関係するかについて検討した。

【方法】 実験には、ラット歯髄細胞 (Rat Dental Pulp Cells, 以下、RDP) を使用した。実験方法として、各種濃度のゲニステイン (Wako) をRDPに添加した後、光学顕微鏡にて形態観察および比色測定法により細胞増殖能を測定した。また、RT-PCR法を用いて象牙質形成関

連遺伝子群およびER β の発現の検討、分化誘導の指標としてALPase染色を行った。

【結果および考察】 各種濃度のゲニステイン添加を行ったところ、ゲニステイン100 μ M添加群ではRDPの細胞増殖能が有意に抑制されたが、他の濃度では細胞増殖能に変化は観察されなかった。1 μ Mおよび10 μ Mゲニステイン添加後におけるRDPは、17日目において強いALPase活性が観察された。また、象牙質形成関連遺伝子群およびER β の遺伝子発現の上昇がゲニステイン 1 μ M添加群で認められた。

【結論】 ゲニステイン添加が、ラット歯髄細胞の分化を誘導する可能性が示唆された。

訪問歯科診療における介護者へのアプローチ

—臨床研修歯科医の立場から—

○渡邊真央*, 本多真由美*, 仲井太心**, 五十嵐博恵*

*Uクリニック五十嵐歯科, **北海道医療大学クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

【目的】 Uクリニック五十嵐歯科複合型臨床研修プログラムにおける地域医療連携において研修医は、6ヶ月間週1回の間隔で訪問歯科診療に参加した。患者の口腔内環境改善のため、立場の異なる介護者に口腔ケア教育を実施した。その教育効果を比較検討したので報告する。

【方法】 訪問患者9名（施設入居者7名、在宅者2名）と、同年代の当院外来患者3名の診療介入前後の口腔内写真を撮影し、口腔状態を比較、検討した。

【結果及び考察】 介護者に同様の口腔ケア教育を行った

結果、家族と比較し看護師の方が改善程度は高かった。介護者によって医療知識や介護教育の差があるため、各介護者に合った口腔ケア教育を選択する必要性があると考えられた。臨床研修歯科医が訪問診療に参加し、要介護者に行える歯科診療は限られている。しかし、介護者教育においては十分に介入できる余地があると考えられた。

【結論】 口腔ケアを行う介護者の介護知識や介護教育の有無により、患者の口腔状態に差が生じた。

巡回歯科診療車による障害者入所施設での歯科診療について

○関口五郎
東京都立心身障害者口腔保健センター

【目的】当センターでは平成8年度から緊急災害時の歯科医療対策として巡回歯科診療車（以下、診療車）を導入し、平時の有効活用として東京都多摩地区にある知的障害者入所更生施設での歯科診療を行ってきた。今回は平成21年度までの診療車での診療状況と、地域歯科医師会との医療連携について報告する。

【方法】当センターの診療録と患者集計資料を基に、平成9年から21年までに診療車で診療を行った患者数、疾患・障害、年齢、診療内容、訪問終了後の対応について調査・集計を行った。

【経過および考察】受診患者数は461名、延べ6,440名であった。主な疾患・障害では知的障害が全体の半数以上を占め、次いで自閉症、Down症、脳性麻痺、その他（視覚障害など）の順であり、これは当センター外来受診の者と同様な傾向であった。年齢別では30歳代が最も多かったが、近年60歳以上の者の増加がみられ、施設入所者の高齢化が進んでいることがうかがえた。診療内容

は保存処置が最も多かったが、歯科衛生士による予防指導・予防処置を積極的に行い、さらに診療場面を職員に見ていただくことで、入所者に対する日常の口腔ケアについて職員の意識の向上を図った。要処置歯数が多く、診療車での対応が困難な者については、検討の上、当センター外来において集中歯科治療を行ったケースもあった。一方歯科医療連携の面から、健診・診療の場面に地域歯科医師会の参加協力を求め、診療対象者の振り分け、診療車の訪問期間終了後の対応などについても協議を行った。1施設あたりの訪問期間が限られていることから、こうした医療連携は非常に重要であると考えた。

【結論】施設入所者の場合、地域歯科診療所への通院が難しく、歯科治療が十分行われていない例も少なくない。当センターでは、これまで13年間にわたる運用の取り組みを踏まえ、今後も地域歯科医師会との医療連携をすすめながら、診療車による診療を行ってゆくことにしている。

当別町保育園児におけるう蝕罹患状況 —2007～2010年の推移—

○大岡 令¹⁾、広瀬弥奈¹⁾、近藤有紀¹⁾、首藤かい¹⁾、福田敦史¹⁾、村田幸枝¹⁾、村井雄司¹⁾、八幡祥子¹⁾、竹嶋麻衣子¹⁾、倉重圭史¹⁾、田代真康³⁾、石川真由子³⁾、福原千香子³⁾、長尾くみこ³⁾、外間宏行³⁾、五十嵐清治¹⁾、千葉逸朗²⁾

¹⁾北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

²⁾北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野

³⁾北海道医療大学歯学部学生 5年、6年

【目的】我々は、当別町保育所における小児の歯科健康診査を1983年から年1回行っている。今回、2007～2010年の健診結果について集計し、過去の結果（1983、1988年）および2005年の歯科疾患実態調査値と比較検討したので報告する。

【方法】調査対象は、当別の保育所に入所している小児で、2007年；3歳児18名、4歳児38名、5歳児44名、2008年；3歳児36名、4歳児42名、5歳児54名、2009年；3歳児36名、4歳児41名、5歳児51名、2010年；3歳児37名、4歳児46名、5歳児41名の合計484名である。健診方法は、診査者が自然光下で歯科用ミラーを用いて行った。各年度ごとに、df者率、df歯率、一人平均df歯数について年齢別に集計し、1983

年、1988年の結果および2005年の歯科疾患実態調査値と比較した。

【結果および考察】2010年のう蝕有病者率は、3歳児27.0%、4歳児30.4%、5歳児73.2%であり、1983年の結果と比較すると、4歳児で67.3ポイント、5歳児で22.1ポイントとかなり減少していた。しかし、2005年の歯科疾患実態調査値（3歳児24.4%、4歳児44.2%、5歳児60.5%）と比較すると、5歳児において12.6ポイント高かった。また、3歳児2007年～2010年の推移を見ると、う蝕有病者率は3歳児、4歳児においては経年的に減少傾向にあったが、5歳児においてはほぼ横ばい状態であった。したがって、今後さらにう蝕の発生を積極的に減らしていく必要性が示唆された。

フィリピン共和国における歯科ボランティア活動に参加して

○建部廣明*, 小林加奈*, 越智守生*, 川守田暢**

*北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

**北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野

【目的】 フィリピン共和国では、経済的理由で歯科を受診できない子どもが数多く生活している。神奈川海外ボランティア歯科医療団（以下KADVO）や北海道海外ボランティア歯科医療団（以下HADVO）は、フィリピン共和国において、現地歯科医師協力の下、歯科ボランティア活動をしている。活動内容は、歯科治療、予防処置、予防教育、歯ブラシ寄贈である。今回、2008年、2010年の活動に参加した内容について報告する。

【方法】 対象施設は、フィリピン共和国内の学校とした。HADVOでの対象者は4歳から20歳までの250名とした。約40人のボランティアスタッフで、充填、抜歯、フィッシャーシーラントを施した。フッ素塗布、予防教育、歯ブラシの寄贈に関しては、全受診者を対象におこ

なった。KADVOでは対象者は、小学校に集まつた受診希望者1494名である。約70名のボランティアスタッフで、充填、抜歯、スケーリング、補綴処置をおこなった。

【結果及び考察】 2010年のHADVOの活動では、充填158歯、抜歯39歯、フィッシャーシーラント30歯であった。

2008年のKADVOの活動では、充填374名、抜歯815名、スケーリング305名、補綴5名であった。歯科治療が必要な患者は多いと思われた。

【結論】 フィリピン共和国における、本活動は有意義であると思われた。

抜髓中に遭遇した上顎左側第一大臼歯の4根4根管について

○行正卓磨*, 藤井茂仁**, 木葉圭佑**,
山村慶一**, 細川洋一郎***, 坂倉康則****

*北海道医療大学歯科内科クリニック研修科,

医療法人ルミエール歯科, *弘前大学大学院保健学研究科,

****北海道医療大学歯学部解剖学分野

【目的】 上顎第一大臼歯の3根4根管は多く報告されているが、調べた限り4根4根管についてはわずかな記載しかない。加えて、第一大臼歯は萌出時期も早く、処置頻度の高い歯である。今回、上顎第一大臼歯の抜髓症例で4根4根管に遭遇したので紹介する。

【症例】 82歳、男性、左上の歯が虫歯で痛いとの主訴で来院した。来院初日に局所麻酔下にて上顎左側第一大臼歯の齶歯治療のため抜髓を行った。正方射投影にて撮影されたX線写真に従い処置したが、3根のリーマートライにて撮影したところ、もう一根確認され、いずれかがパーフォレーションをしたかと疑われた。しかし、抜髓根管であること、手指感覚に覚えがないこと、パノラマX線にて反対側も同様の歯根形態であること、そして3根ともリーマーが挿入されていたことから否定されたも

の、4根目の根管口は見出せなかった。後日3根のみ根充を行った後、4根目の根を再度探すこととした。ラウンドバーにて削合し根管口を探したところ、口蓋根と近心頬側根の根管口の間で2mmほどの深部に4根目を発見した。拡大形成と根充を行い、4根全ての根充を終えた。

【経過および考察】 経過は根充後良好である。歯根は歯の一部として顎骨と歯冠を連結する重要なものであるにもかかわらず、歯の形態は歯冠のみをさすことが多い。以前には抜歯しなければ歯根の形態が見えなかつたからであることが原因であろうと思われる。今後、CT装置の発達と普及により上顎第一大臼歯の4根4根管が多く報告されるものと期待させる。

**「患者を診る」ための全部床義歯補綴学基礎実習の試み
—実施 6 年経過後のアンケート調査結果から—**

○額 諭史, 豊下祥史, 會田英紀, 越野 寿, 平井敏博
北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系咬合再建補綴学分野

【目的】 本学歯学部では、平成18年度に、従来の技工操作を中心とした基礎実習の内容を見直し、診療術式を中心とした「患者を診るための実習」へとその内容を変更し、実施している。本研究では、この実習内容の変更が学生の知識、技能の修得にいかなる変化をもたらしたかを調査することを目的として、平成17年度から22年度までの6年間に渡り、アンケートにより追跡調査を行った。

【方法】 従来の基礎実習を終了した本学歯学部の平成17年度4年生と、新たな基礎実習を終了した18年度から22年度までの4年生を対象に、アンケート調査を行った。その内容は、無歯学患者に対する補綴歯科診療における概形印象、最終印象採得、咬合採得、GoA描記、ろう義歯試適、義歯の口腔内装着の6項目であり、それぞれに対する以下の質問を設定した。すなわち、「質問1」として「臨床実習における患者に対して、当該処置を実施

できるとおもいますか」、「質問2」として「基礎実習が当該講義で得られた知識の再確認、あるいは整理に役立ちましたか」である。

【経過と考察】 6年間に渡る調査の結果、「質問1」に対して、全項目において「ほとんど、または一部を、指導者のもとで可能である」と回答した者は経年的に増加し、22年度4年生で「できない」と回答した者は14.5%に留まった。また「質問2」に対して、「非常に役立った」「役立った」と回答した者も経年的に増加し、22年度4年生では「全く役立たなかった」と回答した者は2.9%であった。

【結論】 本調査の結果から、診療術式を中心とした「患者を診るための実習」への基礎実習の内容の変更は、学生の診療態度と基礎的臨床技能の修得だけではなく、講義の補完に役立つことが示された。

歯学部4年生の保育所実習に対する保育士による評価

○福田敦史, 広瀬弥奈, 村田幸枝, 八幡祥子, 竹嶋麻衣子, 倉重圭史,
大岡 令, 首藤かい, 近藤有紀, 村井雄司, 五十嵐清治
北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

【目的】 小児歯科学分野では、平成17年度から第4学年後期の小児歯科学学外実習において、歯学部生の小児との交流、小児に対する齲歯予防活動の知識と技能を習得する目的で、学生による保育園児を対象とした口腔衛生指導とブラッシング指導を行なっている。今回は歯学部4年生が行なった保育所実習への取り組みや指導方法に関して、アンケートを用いて保育士に評価してもらい、その結果を集計したので報告する。

【方法】 対象は保育所実習の見学が可能であった保育士12名である。当別町内の保育所・保育園にて、本学歯学部4年生が3～5歳児を対象に紙芝居等を媒体とした齲歯予防指導とブラッシング指導を実施した。保育士に対するアンケート調査は多肢選択式7項目、自由記載式4項目の計11項目である。アンケート調査紙は保育所実習当日に保育士へ配布し、1週間後に回収した。

【結果および考察】 アンケート結果から、「多くの学生が実習に対して積極的に参加している」と保育士に評価されていることが明らかとなった。また、紙芝居による口腔衛生指導は、幼児が興味や関心を引く工夫がされていると高く評価されていた。一方で、ブラッシング指導では幼児一人一人に対してもっと積極的に指導して欲しかったとの回答がみられた。また歯ブラシの持ち方の説明では、子供達に左右がわかるような配慮をしてほしかったとの回答もみられた。

【結論】 学生は本実習には積極的に参加していたものの、小児にも理解できる説明の仕方や小児への接し方には再考の必要性があったことが示唆された。

今後、これらの意見を我々の指導方法に取り入れていきたい。

2種類のビデオ喉頭鏡を用いた歯学生のマネキン気管挿管実習の有用性

○倉茂秀平, 金澤 香, 小関裕代*, 大桶華子, 工藤 勝,
國分正廣, 三浦美英

北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系講座歯科麻酔科学分野,

*北海道医療大学個体差医療科学センター

【目的】 本学歯学部5年生を対象に、従来のマッキントッシュ型喉頭鏡による気管挿管とファイバーテック社製外部モニター付きビデオ喉頭鏡（FVL[®]）ならびにPENTAX社製ビデオ喉頭鏡（Airway Scope[®]）による気管挿管実習の有用性を検討する。

【方法】 事前に講義形式で、気管挿管困難分類である Cormack & Lehane分類（CL分類：Grade I～IV, Iが良好）と気管挿管方法を指導する。その後、実習用マネキンを用いて以下のSessionを学生が行う。

①マッキントッシュ型喉頭鏡を用いて喉頭展開し、その際のCL分類を述べ、気管挿管を行う。気管挿管の可否は教官が判定する。

②外部モニター画像を見ないで、FVLを用いて喉頭展開し、その際のCL分類を述べ、気管挿管を行う。この際外部モニターは教官サイドに向け、教官は画像からCL分類を行い、気管挿管の可否を判定する。

③外部モニターの画像を見ながら、FVLを用いて喉頭展開し、その際のCL分類を述べ、気管挿管を行う。同時

に教官も画像からCL分類を行い、気管挿管の可否を判定する。

④Airway Scopeを用いて喉頭展開し、その際のCL分類を述べ、気管挿管を行う。同時に教官も画像からCL分類を行い、気管挿管の可否を判定する。

次に、各Sessionにおける学生と教官の判定したCL分類の相違、ならびに気管挿管成功率について検討する。

【結果および考察】 マッキントッシュ型喉頭鏡と比較して、FVL（外部モニターの画像あり）とAirway Scopeは、学生が判定したCL分類はGrade Iに近づき、気管挿管の成績が上昇していた。FVLおよびAirway Scopeは、マッキントッシュ型喉頭鏡における喉頭展開よりも、視点がより声門に近いために視野が確保され、気管挿管の成功率上昇に繋がったと考えられる。

【結論】 ビデオ喉頭鏡を用いた気管挿管は、実際の臨床の場ではもとより、学生の気管挿管実習における成功率も上げ、実習の有用性を高めると考えられる。

金属アレルギー発症患者の口腔内金属分析法

○長野二三, 井田有亮, 橋本正則, 大野弘機, 遠藤一彦
北海道医療大学歯学部生体材料工学分野

【目的】 口腔内の金属製修復物・補綴装置が原因と疑われる金属アレルギー患者の診断・治療に際しては、パッチテストとともに修復物・補綴装置の成分を分析することが必要である。演者らは、レジン研磨用のディスクを用いて口腔内の修復物・補綴装置から微量の試料をサンプリングし、X線光電子分析装置を用いて定性・定量分析してきた。しかし、(1)ディスクでは内側性の修復物などからのサンプリングが難しい、(2)分析に時間を要し多数の試料の分析には適さないなどの問題があった。そこで本研究では、ディスクでは適切にサンプリングできない修復物・補綴装置からのサンプリング法を工夫するとともに、蛍光X線分析装置を用いた分析法を検討した。

【方法】 金属サンプリング用の工具として、レジン研磨用のディスクに加えてミニポイントを用いた。歯科鋳造用金銀パラジウム合金のインゴット、ならびにインゴットをディスクおよびミニポイント（スーパースナップ、

松風）にて軽く研磨し、付着した金属粉を蛍光X線装置（JSX-32002S, JOEL）にて分析した。

【結果および考察】 分析結果を表1に示す。ディスクおよびミニポイントでサンプリングした試料の分析値は、金の含有量は低く、銀の含有量は高くなる傾向を示したが、金銀パラジウム合金と判定するには十分な精度で定量分析することができた。また、1試料の分析に要する時間は約5分と短かった。

【結論】 口腔内に装着されている金属製修復物・補綴装置の成分組成を適切かつ迅速に分析する手法を確立することができた。

表1. 蛍光X線分析装置を用いて分析された各試料の組成(mass%)

試料	Au	Ag	Pd	Cu	Zn
インゴット	12.9	46	21.7	18.3	1
ディスク	7.3	56	24.6	10.9	1.1
ミニポイント	7.4	54.9	25.9	10.6	1.2

クロチアゼパムにより症状の消退をみた非定型性歯痛の2例

畠山翔太*, 吉田光希*, 中北芳伸***, 阿部能久****, 佐藤 淳*,
齋藤正人**, 松岡紘史*****¹⁾, 千葉逸朗*****²⁾, 安彦善裕*³⁾**⁴⁾

*北海道医療大学大学院歯学研究科臨床口腔病理学分野

**北海道医療大学個体差医療科学センター

***なかきた歯科クリニック

****阿部歯科医院

*****北海道医療大学歯学部保健衛生学分野

【緒言】 非定型性歯痛は、客観的に明らかな歯痛の原因がないにも関わらず、歯痛を訴えるものであり、診断と治療に苦慮する疾患である。患者の訴えから長期にわたる根管治療や、抜歯の行われることもある。今回われわれは、非定型性歯痛患者に、抗不安薬であるクロチアゼパムが奏効し症状が消退した2症例を経験したので報告する。

【症例】 症例1：患者は64歳女性で、約3年前に某歯科医院にて左上6に根尖病巣のため根管処置が開始され、予後不良にてヘミセクションが行なわれた。その後、隣在歯にも自発痛が出現し抜歯処置が行なわれたが、両歯の自発痛は消失せず、約2年にわたり根管治療が行われていた。しかしながら、症状の改善はみられず、本院口腔内科相談外来を紹介され受診した。詳細な診査と検査の結果、非定型性歯痛と診断し、痛みのモニタリングとクロチアゼパム2mg×2/日の処方を行った。2週間後の来院時には症状はかなり消退したことであったので、クロチアゼパムを継続処方し、経過観察を行った。約1か月後には症状が完全に消退したことで処

方を中止し、その後約1か月半の症状の再燃のないことを確認の後、歯冠鋳造冠を装着した。現在、約10ヶ月を経過しているが症状の再燃は認められず、経過は良好である。

症例2：患者は68歳女性で、約4年前に右上6,7部の疼痛を訴え、歯周処置および根管治療を行った後に歯冠鋳造冠を装着した。その後、痛みが出現したため除冠し、再度処置を継続したが痛みは消退せず、頭痛までするとのことで、本院口腔内科相談外来を紹介され受診した。詳細な診査と検査の結果、非定型性歯痛と診断し、クロチアゼパム2mg×2/日を処方した。2週間後の来院時には、症状は完全に消退し、2ヶ月後には歯冠鋳造冠を装着した。現在、約6ヶ月を経過しているが症状の再燃は認められず、経過は良好である。

【考察】 非定型性歯痛の薬物療法では、抗うつ剤の使われることが多い。クロチアゼパムは力価が比較的弱く副作用も少ない抗不安薬であることから、一般に抗うつ剤よりも用い安い。クロチアゼパムが、非定型性歯痛の治療薬の選択肢となることが示唆された。

ドライマウス患者のストレッサーに対する認知的評価の検討

○松岡紘史¹⁾²⁾, 齋藤正人³⁾, 安彦善裕³⁾, 坂野雄二⁴⁾, 斎藤一郎⁵⁾, 千葉逸朗¹⁾

¹⁾北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育系保健衛生学分野

²⁾北海道医療大学病院医療心理室

³⁾北海道医療大学個体差医療科学センター

⁴⁾北海道医療大学心理科学部

⁵⁾鶴見大学歯学部、ドライマウス研究会

【問題と目的】 口腔内の乾燥した感覚を訴えるドライマウス患者の口腔関連QOLは一般健常者と比べ低下しており (Ikebe et al., 2007; Thomson et al., 2006), 口腔乾燥感だけでなく口腔関連QOLの改善も重要なものとなる。ドライマウスはストレスとの関連が指摘されており、ストレスで重要であるとされる認知的評価がドライマウス患者の口腔関連QOLに影響を及ぼしている可能性が考えられる。

【方法】 口腔乾燥感を訴え医療機関を受診した患者61名 (男性12名、女性39名、平均年齢58.88±15.77歳) を対象に調査研究を行った。対象者が口腔乾燥感を経験している期間は、平均49.32週間であった。測定指標は、(1) 口腔乾燥感の程度：0-10の11件法、(2) 口腔関

連QOL：OHIP-14、(3) ストレッサーに対する認知的評価：CARSを用いた。なお、本研究は北海道医療大学病院倫理委員会の承認のもと実施された。

【結果および考察】 相関分析の結果、OHIP-14はCARSの影響性の評価、脅威性の評価、コミットメントと有意な正の相関関係がみとめられた。これらの相関関係は口腔乾燥感の影響を統制した上でも同様の傾向がみとめられ、影響性、脅威性の評価、コミットメントが、口腔関連QOLに影響を及ぼしている可能性が示唆された。

【結論】 本研究の結果、ドライマウス患者のストレッサーに対する認知的評価と口腔関連QOLには関連があることが明らかになり、認知的評価に介入することによって、QOLの改善が期待できる可能性が示唆された。

口腔乾燥をシェーグレン症候群の1症候ととらえると治療方法が見えてくる

○五十嵐隆***** 山田芳広***** 郷家久道*****

*五十嵐小児科・U歯科 **鹿島デンタルオフィス ***仙台徳洲会病院

****シェーグレン症候群ドライマウス仙台フォーラム

【目的】日本でのシェーグレン症候群（以下SS）の患者は、2003年厚労省の発表から78,000人。潜在患者は30万人といわれる。鶴見大学の斎藤らによると800万人のドライアイ（乾燥性角結膜炎）の患者は口腔乾燥（以下DM）を併発していると考えられ、欧米の報告では人口割25%がDMに罹患。我国に換算すると3千万人と報告されている¹⁾。SSによる唾液腺の破壊後に治療法はなく、進行性病変である自己免疫疾患の進行を遅らせる方法はなかった。口腔乾燥改善薬（以下薬）の投与は唾液腺等にあるM3受容体を刺激し腺分泌量の増加に繋がる。これは腺自体の退行性病変を抑制することに寄与する。SSの1症候のDMをガムテストで明らかにし、薬の投与が可能となるSSの診断を導く方法を理解し実践する。

【方法】乾燥感、舌痛、味覚異常、義歯不適合や口臭を訴えてきた患者、度重なるう蝕がある患者を対象にガムテストを行い、唾液量がSSの判断基準である10分間10mlに満たない場合、他科と連携しSSとしての診断が可

能ならば、投薬を行い、唾液量を計測し、変化をみた。

【結果および考察】薬により唾液分泌量は増加した。これは、度重なるう蝕や改善しない歯周病の進行を緩やかにすると考えられる。唾液腺のダメージの少ないうちに分泌という負荷をかけると、委縮に歯止めをかけ完全破壊から腺組織を守り口腔内を健全にし、QOLの改善に寄与することが考えられる。投薬により唾液腺の破壊が起きず、分泌量の低下が少なくなることで口腔内環境の改善が起こせられると考えられた。

SSの診断を早期に行い薬の投与で唾液の分泌を促進させる。薬はSSと診断のつかない患者にも有効と考えられる。薬のDMへの適用拡大が待たれ、唾液腺破壊を予防することにより医療費の削減に寄与するであろう。

我々は宮城県内でシェーグレン症候群ドライマウス仙台フォーラム（研究グループ）を立ち上げ、市中の中核病院歯科口腔外科医らを中心に眼科医・内科医との連携を行い、投薬を行えるように働きかけている。

歯学教育モデル・コア・カリキュラム改訂について

モデル・コア・カリキュラム改訂に関する調査研究チーム（歯学）

文部科学省の先導的大学改革推進委託事業といたしまして、歯学教育モデル・コア・カリキュラムの改訂作業を委託され、平成23年6月より作業を行って参りました。

今回の改訂の基本方針は以下の通りです。

1. 歯科医師として必要な臨床能力の確保
2. 優れた歯科医師を養成する体系的な歯学教育の実施
3. 未来の歯科医療を拓く研究者の養成
4. 様々な社会的ニーズへの対応

5. モデル・コア・カリキュラムの利便性向上等に係る対応

今般改訂の最終報告案ができましたので、その改訂内容につきまして作業内容などとあわせて説明させて頂きます。

また、改訂後の臨床実習の充実を含んだ臨床教育のあり方につきまして、一緒に考えていきたいと思っています。

会 務 報 告

第29回北海道医療大学歯学会総会記録

1) 庶務報告

(1) 会員数 (2) 役員

正会員	1,040名	常任理事	8名
準会員	11名	理 事	24名
賛助会員	14名	監 事	2名
臨時会員	9名	評 議 員	79名
名譽会員	12名		
合 計	1,086名		

(3) 会務報告

平成22年

第1回理事・監事会 平成22年1月13日(水)

特別講演①②が承認された。

第2回理事・監事会 平成22年2月10日(水)

報告事項 庶務報告 編集報告 企画報告について

審議事項 平成21年決算報告と平成22年予算(案)について

その他 第29回学術大会担当講座

口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野 千葉逸朗

第3回理事・監事会 平成22年2月24日(水)

審議事項 北海道医療大学歯学会会長の推薦及び専務理事の推薦

報告事項 常務理事の推薦

特別講演③が承認された。

第4回理事・監事会 平成22年8月25日(水)

特別講演④が承認された。

第5回理事・監事会 平成22年9月8日(水)

特別講演⑤⑥が承認された。

第6回理事・監事会 平成22年9月22日(水)

特別講演⑦が承認された。

第7回理事・監事会 平成22年11月24日(水)

特別講演⑧が承認された。

2) 編集報告

北海道医療大学歯学雑誌 (29巻1号)

総説4編 原著2編 調査1編 学位論文4編 最近のトピックス12編

学会記録 (本文148頁)

北海道医療大学歯学雑誌 (29巻2号)

総説1編 原著3編 最近のトピックス16編 (本文76頁)

3) 企画報告

第28回学術大会

日 時：平成22年3月6日（土曜日）

場 所：北海道医療大学サテライトキャンパス

担当講座：生体機能・病態学系 歯科放射線学分野

定例講演会

平成22年第28回学術大会と併催

演題名：ビスホスホネート製剤の薬理作用と顎骨壊死の発症メカニズム

講師：東北大大学院歯学研究科歯科医薬品創世学寄付講座

篠田 壽先生

特別講演

①平成22年1月22日（金曜日） 担当講座 歯周歯内治療学分野

演題名：ILIB Gene Expression Control and IL-I Signaling : A Molecular Overview and Mapping of Novel Modes of Protein-Protein Interaction

演者：Nawarat Wara-Aswapati先生

②平成22年2月9日（火曜日） 担当講座 生体材料工学分野

演題名：Bacterial biomineralisation by a species of *Serratia*—Potential use for biomaterial applications?—

演者：School of Dentistry and Metallurgy, University of Birmingham, UK Dr.Rachel Sammons

③平成22年4月5日（月曜日） 担当講座 歯科矯正学分野

演題名：Redefining Orthodontics with Image guided and Robotic-assisted Targeted Therapeutics.

演者：Dr. Rohit Sachdeva (chief clinical officer, OraMetrix Inc.)

④平成22年9月17日（金曜日） 担当講座 咬合再建補綴学講座

演題名：磁性アタッチメントの基礎と臨床

演者：中村好徳 准教授 愛知学院大学歯学部

⑤平成22年9月24日（金曜日） 担当講座 う蝕制御治療学分野

演題名：再石灰化治療の理論と実践

演者：飯島洋一 先生

長崎大学大学院社会医療科学講座 口腔保健学 准教授

⑥平成22年9月24日（金曜日） 担当講座 う蝕制御治療学分野

演題名：これからのう蝕予防・治療法：Super toothの創出

演者：田上順次 先生

東京医科歯科大学歯学部長 東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野教授

⑦平成22年10月5日（火曜日） 担当講座 う蝕制御治療学分野

演題名：Past, Present and Future of Dentistry in Bangladesh

演者：Dr. Chowdhury Moin Jan

Associate Professor & Head, Department of Conservative Dentistry

& Dental Radiology, City Dental College & Hospital

⑧平成22年12月5日（日曜日） 担当講座 クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

演題名：The role of the short implant in the avoidance of major

graftingprocedures in the atrophic posterior maxilla.

演者：Shadi Daher, DMD, FICD, FAAOMS, FIAOMS.

Assistant Clinical Professor, Oral and Maxillofacial Surgery,

Boston University, Henry M. Goldman School of Dental Medicine.

研究奨励金

新岡丈治 口腔生物学系 生理学分野

研究課題：ラット咬筋の拡張性基礎血流調節に関わるサブスタンスPの役割の解明

福田敦史 口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

研究課題：小児における唾液因子の経年的変化の検討

会計報告

北海道医療大学歯学会 平成22年 決算書 (平成22年1月1日～平成22年12月31日)

収入の部			
科 目	本年予算額	本年決算額	執行率
①会費等収入	4,686,000	4,488,000	95
正会員			
本年納入分	3,150,000 (630名×5,000円)	3,010,000 (602名×5,000円)	95
滞納分	650,000 (130名×5,000円)	605,000 (121名×5,000円)	93
前々年前受金 (2008年)	125,000 (25名×5,000円)	125,000 (25名×5,000円)	100
前年前受金 (2009年)	170,000 (34名×5,000円)	170,000 (34名×5,000円)	100
準会員			
本年納入分	36,000 (12名×3,000円)	18,000 (6名×3,000円)	50
滞納分	0 (0名×3,000円)	18,000 (6名×3,000円)	0
賛助会員	420,000 (14名×30,000円)	390,000 (13名×30,000円)	92
新規会員			
新卒	135,000 (27名×5,000円)	90,000 (18名×5,000円)	66
その他	0 (0名×5,000円)	20,000 (4名×5,000円)	0
臨時	0 (0名×)	27,000 (9名×3,000円)	0
入会金	0 (0名×3,000円)	15,000 (5名×3,000円)	0
②事業収入	300,000	377,388	125
広告料	300,000	337,500	112
別刷料	0	23,888	0
掲載料	0	16,000	0
③雑収入	15,000	32,006	213
利息	10,000	21,356	213
その他	5,000	10,650	213
当期収入(A)	5,001,000	4,897,394	97
前期繰越金(B)	17,947,962	17,947,962	
次期繰越金(C)	425,000	330,000	77
前年前受金 (2011年)	155,000 (31名×5,000円×1年)	155,000 (31名×5,000円×1年)	100
本年前受金 (2011年)	135,000 (27名×5,000円×1年)	90,000 (18名×5,000円×1年)	66
本年前受金 (2012年)	135,000 (27名×5,000円×1年)	85,000 (17名×5,000円×1年)	62
収入合計(D) (= A + B + C)	23,373,962	23,175,356	99

支出の部			
科 目	本年予算額	本年決算額	執行率
①学術大会及び定例講演会	700,000	600,625	85
開催費等	400,000	363,675	90
印刷費	100,000	99,750	99
宿泊費	20,000	16,000	80
旅費	80,000	21,200	26
謝礼	100,000	100,000	100
②特別講演会補助	300,000	240,000	80
③雑誌発行費	3,000,000	2,220,306	74
印刷費	2,600,000	2,031,750	78
発送費	300,000	164,556	54
査読費	100,000	24,000	24
④事務費	1,700,000	1,449,021	85
事務委託費	1,080,000	1,050,000	97
事務印刷費	20,000	1,792	8
事務通信費	300,000	261,073	87
事務用品費	300,000	136,156	45
⑤研究奨励金	500,000	500,000	100
⑥デンタルトピックス補助	300,000	300,000	100
⑦会議費	10,000	4,788	47
⑧予備費	250,000	17,000	6
⑨諸雑費	50,000	63,050	126
⑩日本歯学系学会年会費	50,000	50,000	100
当期支出合計(E)	6,860,000	5,444,790	79
当期支出差額(F)			
(A - E)	-1,859,000	-547,396	
次期繰越金(G)			
(B + F)	16,088,962	17,400,566	
次期繰越前受金(C)	425,000	330,000	77
前年前受金 (2011年分)	155,000 (31名×5,000円×1年)	155,000 (31名×5,000円×1年)	100
本年前受金 (2011年分)	135,000 (27名×5,000円×1年)	90,000 (18名×5,000円×1年)	66
本年前受金 (2012年分)	135,000 (27名×5,000円×1年)	85,000 (17名×5,000円×1年)	62
収支差引残額(H)			
(D - E)	16,513,962	17,730,566	107
総支出(E + H)	23,373,962	23,175,356	

本年度の帳簿等関連諸表を調査の結果、決算報告に誤りのないことをみとめます。

平成23年2月3日

会計監事 東城庸介

会計監事 橋本昇

資産の部

現金	158,655円
北海道銀行当別支店	普通預金 3,892,118円
北海道銀行当別支店	定期預金 5,500,000円
北洋銀行当別支店	定期預金 8,041,993円
郵便局	137,800円

合計

17,730,566円

北海道医療大学歯学会 平成23年予算書（案）（平成23年1月1日～平23年12月31日）

収入の部			
科目	前年予算額	本年予算額	
①会費等収入	4,686,000	4,395,000	
正会員			
本年納入分	3,150,000 (630名×5,000円)	3,000,000 (600名×5,000円)	
滞納分	650,000 (130名×5,000円)	600,000 (120名×5,000円)	
前々年前受金 (2009年)	125,000 (25名×5,000円)	155,000 (31名×5,000円)	
前年前受金 (2010年)	170,000 (34名×5,000円)	90,000 (18名×5,000円)	
準会員			
本年納入分	36,000 (12名×3,000円)	30,000 (10名×3,000円)	
賛助会員			
本年納入分	420,000 (14名×30,000円)	420,000 (14名×30,000円)	
新規会員			
新卒	135,000 (27名×5,000円)	100,000 (20名×5,000円)	
新規会員			
その他	0 (0名×5,000円)	0 (0名×5,000円)	
新規会員			
臨時	0 (0名×0円)	0 (0名×0円)	
入会金			
	0 (0名×3,000円)	0 (0名×3,000円)	
②事業収入	300,000	300,000	
広告料	300,000	300,000	
別刷料	0	0	
掲載料	0	0	
③雑収入	15,000	15,000	
利息	10,000	10,000	
その他	5,000	5,000	
当期収入(A)	5,001,000	4,710,000	
前期繰越金(B)	17,947,962	17,400,566	
次期繰越前受金(C)	425,000	285,000	
前年前受金 (2012年)	155,000 (31名×5,000円×1年)	85,000 (17名×5,000円×1年)	
本年前受金 (2012年)	135,000 (27名×5,000円×1年)	100,000 (20名×5,000円×1年)	
本年前受金 (2013年)	135,000 (27名×5,000円×1年)	100,000 (20名×5,000円×1年)	
収入合計(D) (=A+B+C)	23,373,962	22,395,566	

支出の部				
科目	前年予算額	本年予算額		
①学術大会及び定例講演会	700,000	700,000		
開催費等	400,000	400,000		
印刷費	100,000	100,000		
宿泊費	20,000	20,000		
旅費	80,000	80,000		
謝礼	100,000	100,000		
②特別講演会補助	300,000	300,000		
③雑誌発行費	3,000,000	2,530,000		
印刷費	2,600,000	2,200,000		
発送費	300,000	200,000		
査読費	100,000	100,000		
英文添削費	0	30,000		
④事務費	1,700,000	1,700,000		
事務委託費	1,080,000	1,080,000		
事務印刷費	20,000	20,000		
事務通信費	300,000	300,000		
事務用品費	300,000	300,000		
⑤研究奨励金	500,000	500,000		
⑥デンタルトピックス補助	300,000	300,000		
⑦会議費	10,000	10,000		
⑧予備費	250,000	300,000		
⑨諸雑費	50,000	50,000		
⑩日本歯学系学会年会費	50,000	50,000		
当期支出合計(E)	6,860,000	6,440,000		
当期支出差額(F)				
	(A-E)	-1,859,000	-1,730,000	
次期繰越金(G)				
	(B+F)	16,088,962	15,670,566	
次期繰越前受金(C)		425,000	285,000	
前年前受金 (2012年分)		155,000 (31名×5,000円×1年)	85,000 (17名×5,000円×1年)	
本年前受金 (2012年分)		135,000 (27名×5,000円×1年)	100,000 (20名×5,000円×1年)	
本年前受金 (2013年分)		135,000 (27名×5,000円×1年)	100,000 (20名×5,000円×1年)	
収支差引残額(H)		(D-E)	16,513,962	15,955,566
総支出(E+H)		23,373,962	22,395,566	

北海道医療大学歯学会会則（2006年12月15日現在）

第1章 総 則

（名称）

第1条 本会は北海道医療大学歯学会（The Dental Society of Health Sciences University of Hokkaido）と称する。

（目的）

第2条 本会は北海道医療大学歯学部（以下本学部と略す）を中心に、会員相互の緊密な協力により、学術研究の推進・専門技術の鍛磨を計り、歯学の進歩・発展に寄与するとともに、会員の親睦を図ることを目的とする。

第2章 会 員

（会員）

第3条 本会は以下の会員よりなる。

1. 正会員

歯学の研究に従事し、本会の目的に賛同する者、本学部教職員・大学院生・研究生・臨床研究生・歯科臨床研修医・卒業生および本学部元教育関係者で理事会の承認を得た者。

2. 名誉会員

本会の設立または発展に、特に功労のあった者で、常任理事会が推挙し、理事会、評議員会の議を経た者。なお、名誉会員には名誉会員証を贈るほか会員の権利を保有し、年会費一切の費用を徴収しない。

3. 準会員

歯学教育・診療関係者で理事会の承認を得た者。

4. 学生会員

本学部専門課程の学生で理事会の承認を得た者。ただし、学生会員は卒業後正会員に移行するものとする。

5. 賛助会員

本会の目的および事業に賛同し、協力・支援する個人・団体等で、理事会の承認を得た者。

（入会）

第4条 本会に入会を希望する者は、所定の申し込み書に必要事項を記入の上本会事務局に申し込むものとする。

（退会）

第5条 会員で退会を希望する者は、速やかにその旨を本会事務局に通知すること。ただし、納入済み会費の返還はこれを行わない。

（会員資格喪失）

第6条 会員は以下の事由によりその資格を喪失する。

1. 2年以上会費の未納、所在不明または連絡のつかない者。

2. 本会の名誉に反する言動のあった者については、会長は理事会、評議員会の議を経て退会を勧告または除名することがある。

（再入会）

第7条 会費未納により会員資格を喪失した者が再入会を希望する場合は、2年分の未納会費を納入後入会手続きをとるものとする。

第3章 役員および運営

（役員）

第8条 本会に以下の役員をおく。

会長1名、専務理事1名、常任理事若干名、理事若干名、監事2名、評議員若干名、および常任委員若干名

1. 会長は本学部教授の中より、理事会が推薦し、評議員会の議を経てこれを決める。会長は本会を代表し、会務を統括する。

2. 専務理事は理事会の議を経て会長が委嘱する。専務理事は会務の運営処理を推進する。

3. 常務理事は理事の中より選出し、会長が委嘱する。常任理事は常任理事会を組織し、会務を分担し、執行する。分担する会務は、庶務、会計、編集、企画、その他とする。

4. 理事は本学部教授、ならびに3名以上の理事の推薦を受け理事会の承認を得た者とする。理事は、理事会を組織し、役員の推薦など会務に関する重要事項を審議する。

5. 監事は理事会の議を経て会長がこれを委嘱する。監事は会計およびその他の会務を監査する。また必要に

応じ、理事会に出席する。

6. 評議員は本学部教授、助教授、専任講師で構成するほか、会長の推薦により理事会の承認を得た者とする。評議員は評議員会を組織し、会長の諮問に応じて必要事項を審議する。
7. 常任委員は理事会の議を経て、会長がこれを委嘱する。常任委員は常任理事を補佐し、会務の分掌処理にあたる。

(会議の成立条件)

第9条 理事会、評議員会は構成員の2分の1以上の出席（委任状を含む）をもって成立し、議事は出席者の過半数によりこれを決する。

(任期)

第10条 各役員の任期は2年を原則とする。ただし、再任を妨げない。

第4章 事業

第11条 本会は第2条の目的を達成するために以下の事業を行う。

1. 総会

総会は会長の召集により年1回学術大会を開催し、会務等について報告する。また、必要に応じ会長は臨時総会を開催することがある。

2. 学術大会

学術大会は年1回以上開催し、会員の研究発表、その他学術発展に関する行事を行う。

3. 学術講演会、研修会

4. 会誌

本会は機関誌“北海道医療大学歯学雑誌（The Dental Journal of Health Sciences University of Hokkaido）”を年2回発行し、会員に配布する。会誌は逐次増刊することができる。北海道医療大学歯学雑誌の投稿規定ならびに論文査読規定については別に定める。

5. その他

本会の目的達成に必要と認めた事業。

第5章 会計

(運営経費、会計)

第12条 本会の運営経費は会員の納入する会費、寄付金、その他の収入をもってこれにあてる。

2 各会員の会費は以下の通りとする。

イ 正会員 入会金 3,000円 年会費 5,000円

ロ 準会員、学生会員 年会費 3,000円

ハ 賛助会員 入会金 10,000円 年会費 30,000円

ただし新入会員（正会員、賛助会員）で、会費3年以上を前納した者に対しては入会金を免除する。

なお事業の目的に応じ、臨時会費を徴収することがある。

3 本会の会計年度は1月1日より12月31日とする。

(会計報告)

第13条 本会の収支決算については、理事会、評議員会の承認を得て、総会において会員に報告しなければならない。

第6章 雜則

(事務局)

第14条 本会の事務局は本学部内におく。

(会則の改廃)

第15条 この会則に定めるもののほか、本会則の実施に必要な内規は理事会の議を経て別に定めるものとする。

第16条 本会則の改廃は理事会、評議員会の承認を得て、会長は会員に報告しなければならない。

附 則

1. 本会則は昭和61年8月1日より施行する。
2. 本会則は平成7年3月1日より施行する。
3. 本会則は平成8年4月1日より施行する。
4. 本会則は平成17年4月1日より施行する。

「北海道医療大学歯学会雑誌」投稿規程（2009年9月25日現在）

1. 投稿資格

著者は、原則として共著者を含め、本会会員に限る。ただし、非会員が共著者となる場合には、1年分の会費を徴収する。

2. 生命倫理への配慮

- 1) 臨床研究は、ヘルシンキ宣言の主旨にそったもので、「北海道医療大学倫理委員会」の承認を得たものとする。
- 2) 人の遺伝子解析を含む場合は、本学の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究の計画および実施に関する倫理規程」に基づき、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会」の審査をへて学長の許可を得たものとする。
- 3) 動物実験は、「北海道医療大学動物実験の指針」に基づき、「動物実験センター管理運営委員会」の承認を得たものとする。

なお、本学以外の研究機関等で行われた研究については、当該研究機関等の倫理委員会等で承認を得たものとする。

3. 論文の種類及び内容

- 1) 論文の種類は、原著論文（Original），症例報告（Clinical report），総説（Review），解説（Comment），システムティックレビュー（Systematic review），臨床統計（Clinical statistical survey）とする。
- 2) 論文の内容は、他の刊行物に未発表のものに限る。
- 3) 本誌はその他に、最近のトピックス、歯学情報、本学会講演抄録、学会関係記事、学位論文などを掲載する。

4. 査読および採否

- 1) 投稿論文は、編集委員会および編集委員会の依頼する専門家により査読される。
- 2) 採否については、査読の結果に基づき編集委員会が決定する。

5. 投稿論文の作成

- 1) 投稿論文は、投稿規程ならびに別に定める「投稿の手引き」に準拠して作成すること。
- 2) 投稿論文は、表紙、チェックリストシート、英文抄録（300語以内）、本文、表、図および図表説明文の順番にまとめる。
- 3) 投稿原稿は、2部（正1部、コピー1部）とする。最終的に論文掲載を認められた際には投稿原稿とともにフラッシュメモリーまたはCD-R/RW（フラッシュメモリーが望ましい、印刷終了後にお返しします）を提出すること。なおデスクには、使用したOS、ワードプロセッサーのソフト名とファイル名を記載する。さらに論文投稿者は論文投稿時にメールにて表紙（タイトル名、投稿者名、所属が記載されている箇所）と要約（abstract）を編集委員会まで送信すること。

メールアドレス；dentalj@hoku-iryo-u.ac.jp

件名；北海道医療大学歯学雑誌

- 4) 和文論文の本文については、原則として、緒論（緒言）、方法（材料および方法）、結果、考察、結論（結語）、謝辞（必要な場合のみ）、文献の順に記載するものとする。
- 5) 英文論文の本文については、原則として、Abstract（300語以内）、Introduction、Materials and Methods、Results、Discussion、Conclusion、Acknowledgment（必要な場合のみ）、Referencesの順に記載するものとする。
- 6) 投稿論文のヘッダーに右詰めで、名前、所属さらに初稿なのか修正論文なのかがわかるように記載する。
- 7) 投稿時、著者全員が編集委員会（dentalj@hoku-iryo-u.ac.jp）に当該論文の共著者である旨の承諾許可をメールで送信するものとする。

6. 最近のトピックスの作成

- 1) 最近のトピックスは、投稿規程ならびに別に定める「投稿の手引き」に準拠して作成すること。
- 2) 最近のトピックスは、作成した文書ファイル（Microsoft Word 2003以前の形式が望ましい）をe-mailの添付文書として編集委員会まで送信すること。e-mailの本文には、文書作成の際に使用したOS、ワードプロセッサーのソフト名の情報を記載すること。e-mailでの送信が不可能な場合は、作成した文書ファイルをフラッシュメモリーまたはCD-R/RW（フラッシュメモリーが望ましい）に保存して提出すること（フラッシュメモリーは、歯学会で貸与します）。提出の際には、使用したOS、ワードプロセッサーのソフト名とファイル名の情報を添えて提出すること。

メールアドレス；dentalj@hoku-iryo-u.ac.jp

件名；北海道医療大学歯学雑誌、最近のトピックス

ファイル名；最近のトピックス、講座名、著者名

- 3) 最近のトピックスは、原則1トピックスにつき1ページでの掲載とする。
- 4) 最近のトピックスは、全角文字で1800字程度にまとめる（参考文献リストを含む）。原稿に図・表を添える際は、以下の例に従って、片段サイズの図・表1つにつき本文の文字数を500文字程度削減すること。

例：本文のみ1800字程度

（第28巻／第1号 35頁 参照）

本文1300字程度+片段サイズの図・表1つ+図・表の説明文

（第27巻／第1号 37頁 参照）

本文800字程度+片段サイズの図・表2つ+それぞれの図・表の説明文

（第27巻／第2号 109頁 参照）

本文800字程度+両段サイズの図・表1つ+図・表の説明文

7. 投稿論文の校正

- 1) 投稿論文に対する著者校正は2回までとする。
- 2) 修正論文は、特別な事情がない以外は一週間以内、校正は48時間以内に返却するものとする（返却、連絡が無

い場合は、投稿を取り下げたものと判断する).

8. 証明書等の発行

- 1) 投稿原稿の受付日は、編集委員会に到着した日付とする.
- 2) 受理証明が必要な場合には、掲載が決定した後に受理証明書を発行する.

9. 掲載料および別刷料

- 1) 掲載料は、刷り上がり10頁まで無料とする。これを超過した場合には、編集委員会が依頼したものを除き、1頁1万円の著者負担とする。
- 2) カラー頁については、著者の実費負担とする。
- 3) 別刷料については、50部まで無料とし、これを超過する場合（50部単位）には著者の実費負担とする。

10. 著作権の帰属

本誌に掲載された著作物の著作権は東日本歯学会に帰属する。本会はこれら著作物の全部または一部を、ネットワーク媒体を含む媒体に掲載・出版することが出来る。ただし、論文の内容については、著者が全ての責任を負う。

11. 著者のプロフィール

巻末に著者のプロフィールを記すので、著者のスナップ写真と経歴を提出すること。

12. 原稿の送付および本誌に関する問い合わせ

住所：〒061-0293 北海道石狩郡当別町字金沢1757番地
北海道医療大学歯学部・口腔生物学系・生理学分野

北海道医療大学歯学雑誌編集委員会（和泉 博之）

Tel；0133-23-1239

e-mail；dentalj@hoku-iryo-u.ac.jp

「北海道医療大学歯学雑誌」投稿の手引き（2011年7月1日現在）

本学会誌の体裁を統一するために、「投稿の手引き」に準拠して、ご執筆下さいますようお願い致します。

原稿はすべてA4版とし、下記の項目1)～7)のすべてを、2部提出して下さい。査読後、論文掲載が認められた際には、和文抄録、英文抄録、本文について、フラッシュメモリーまたはCD-R/RW（フラッシュメモリーが望ましい、印刷終了後にお返しします）を投稿原稿とともに提出して下さい。なおディスクには、使用したOS、ワープロのソフト名とファイル名を記載して下さい。

- | | |
|---------------------------------|----------|
| 1) 投稿原稿表紙 | 5) 図表説明文 |
| 2) チェックリストシート（著者全員分のサインと連絡先を記載） | 6) 表 |
| 3) 英文抄録（ABSTRACT、英文表題を含む） | 7) 図 |
| 4) 本文 | |

1. 投稿原稿表紙

表紙には以下の事項を和文および英文で記入する。

- | | |
|----------------|-------------------------------|
| 1) 原稿の種類 | 5) 著者の所属および所在地 |
| 2) 表題 | 6) 別刷数（50部単位） |
| 3) 著者名 | 7) 連絡先（郵便番号、住所、電話、Fax、e-mail） |
| 4) キーワード（5語以内） | |

1) 表題

- (1) 一般固有名詞として通用していない商品名は用いない。
- (2) 和文表題には、原則として略号以外の英文字を用いない。スペースも含めて35字以内のランニングタイトルを付ける。
- (3) 英文表題は和文表題の内容と一致させる。文頭のみ大文字とし、他は小文字とする。また、スペースも含めて45字以内のランニングタイトルを付ける。
- (4) 副題はできる限り用いない。ただし、必要な場合は次の例に準拠する。続報、第2報などの表記は認めない。

和文・英文：-□□□□□□□□-

2) キーワード

5語以内のキーワードを付ける。英文の場合は、キーワードの先頭のみを大文字とし、他は小文字とする（例：Impression materials, Bone morphogenetic proteins）。

3) 氏名および所属

- (1) 英文氏名（和文）は、姓は大文字、名は先頭のみを大文字とする（例：Akira YAMADA（山田 昭）and Taro HOKKAI（北海太郎））。
- (2) 著者の所属が2ヶ所以上の場合には、所属の著者に^{1), 2), 3)}を付ける。

2. チェックリストシート

チェックリストの指示に従い、投稿原稿を確認する。

著者全員分のサインを取り、連絡先を記載する。

3. 抄録

300語以内の英文抄録を付ける。本文が和文の場合には、抄録の和訳も記載する。

4. 本文

- 1) 原稿はA4判用紙（縦）にワードプロセッサなどによる横書きとする。書式は以下に従うこと。

・Windows Microsoft Word

余白は上下3cm、左右2.5cm

文字は12ポイント

1頁35文字×26行

行間を1.5行

句読点は「.」と「,」（全角）を用いる。英文の場合は、半角文字を使用する。

・Mackintosh Microsoft Word

余白は上下3cm, 左右2.5cm

文字は12ポイント

1頁30-35文字×22-25行

行間を1.5行

句読点は「.」と「,」(全角)を用いる。英文の場合は、半角文字を使用する。

※Microsoft Word以外のワードプロセッサを使用する場合は、上記の書式に合う様、個々に書式設定を行うこと。

- (1) 提出メディアに、使用機種名、OS名、ソフト名、所属、著者名を明記する。
- (2) 著者がテキストファイルへ変換できる場合は、変換したファイルを提出する。
- 2) 原稿の下段中央にページ番号を記す。
- 3) 論文の原則的な構成は、緒論(緒言)、方法(材料および方法)、結果、考察(結果および考察)、結論(結語)、謝辞、文献、図の説明、図表とする。
- 4) 見出しを用いるときは次の順に項目をたてる。
3 → 3) → (3) → a → a) → (a)
- 5) 文章は、専門用語を除いて、常用漢字、新かなづかい、ひらがなは口語体とする。
- 6) 数字はアラビア数字とし、単位の記号はJIS・Z8202およびZ8203に準じ、国際単位系(SI)を使用するよう努める。
また単位にピリオドをつけない。(例: GHz, MPa, kW, cm, mV, μm, nA, pF, mL, mmol, N (kgf), K, °C, min)
- 7) 学術用語は、原則として「文部省学術用語集」に準拠する。
- 8) 商品名、器機名などは、可能な限り一般化されている「カタカナ書き」とする。英文字で表す場合は、かしら文字のみ大文字にする。
- 9) 外国の人名などの固有名詞は原則として原綴とする。
- 10) 連続した数値は「,」でつなぎ、最後に単位をつける。(例: 10, 20, 30°C)
- 11) 製造社の表記法は()内に会社名のみを記し、社製および製作所、工業社製、株式会社などを入れない。
例: (型式名、製造会社名), (略号、製造会社名)
(X-3010, 日立) (EPMA, 日本電子)
- 12) 図表の挿入場所を本文右欄外に朱書きする。

5. 文献

- 1) 文献リストは、アルファベット順(A, B…Z順)で作成する。また本文中の引用箇所に以下の体裁に従い、文献内容を記載する。

例: 単著者 (Izumi, 1999) (和泉, 1999), 2名 (Izumi & Ito, 1998) (和泉, 伊藤, 1998), 3名以上 (Izumi et al., 1970) (和泉ら, 1970), 2編以上 (Sato et al., 1988; Izumi, 1999) (佐藤ら, 1988; 和泉, 1999) (Izumi, 1999a, b)

※「,」や「;」の様な記号は、日本文の場合全角を、英文の場合は半角を使用する。

- 2) 文献として不適当なもの、例えば未公表のデータや私信などは文献として引用しない。
- 3) 文献の著者または編集者が複数の場合にはet al., 他などとせず、その全部を記載する。
- 4) 著者名が欧字綴の場合は姓の後に名前の頭文字をつけ、また著者が複数の場合は最後の著者の前に&を入れる。
※著者間の「and」は記号「&」を使用すること。
- 5) 文献の記載方法の基本は次のとおりとする。

(1) 雑誌の場合

著者名(複数の場合、氏名を「,」で区切る.)、表題—サブタイトル、雑誌名、巻:引用ページの始めと終わり、発行年。

例: Izumi H. Functional roles played by the sympathetic supply to lip blood vessels in the cat. Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol 277: R682-R689, 1999.

Izumi H & Ito Y. Sympathetic attenuation of parasympathetic vasodilatation in oro-facial areas in the cat. *J Physiol (Lond)* 510: 915–921, 1998.

Izumi H, Ito Y, Sato M, Karita K & Iwatsuki N. The effects of inhalation anesthetics on the parasympathetic reflex vasodilatation in the lower lip and palate of the cat. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 273: R168–R174, 1997.

(2) 単行本の場合

i) 章を参考にしたとき

例：Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms.

In : Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974, p457–472.

ii) 個人または複数の著者の場合

例：Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*. 2nd ed. London: S. Paul; 1986.

iii) 編集者、監修者が著者の場合

例：Diener HC, Wilkinson M, editors. *Drug-induced headache*. New York: Springer-Verlag; 1988.

iv) 団体、組織が著者で、かつ出版社の場合

例：Virginia Law Foundation. *The medical and legal implications of AIDS*. Charlottesville: The Foundation; 1987.

v) 会議録全体を参考にした場合

例：Vivian VL, editor. *Child abuse and neglect: a medical community response*. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30–31; Chicago. Chicago: American Medical Association; 1985.

(3) 分担執筆の場合

分担執筆者名：分担執筆の表題、書名、巻など、発行所名：発行年、引用ページの始めと終わり。

例：山田早苗：橋義歯の力学－傾斜歯ブリッジの形成と設計について－. 新臨床歯科学講座3, 医歯薬出版：1978, 157–165.

(4) 翻訳書の場合

著者（翻訳者）：書名（原著書名）、発行所名：発行年、引用ページの始めと終わり。

例：Davidge RW（鈴木弘茂、井関孝善）：セラミックスの強度と破壊（*Mechanical behavior of ceramics*）。共立出版：1982, 34–55.

6. 図

- 用紙はA4版（縦）とし、1枚ずつ別葉にする。
- 各葉杖に、図の番号、著者名、片段あるいは両段の指定、カラー印刷の有無を明記する。
- 図の大きさは、片段か両段一杯になることがのぞましい。刷り上がりを想定して、図の大きさが片段で横幅45–68 mm、両段で100–150 mmになるように縮小コピーし、文字、記号の大きさ、線の太さなどをチェックする、棒グラフなどのハッチングは識別可能なものにする。
- 図中の文字は、刷り上がりで本文とほぼ同じ10–13級（7–9ポイント）、線の太さは0.15–0.3 mmになるよう原図を作成する。
- 図や表はA4縦で作成する。一ページに一つの図あるいは表とする。図のタイトルや表の説明（Figure legends）は図の印刷を希望する位置に記載する。図と表の挿入箇所は投稿論文中の右余白に示すこと。
- 組図の原稿は、貼込み間隔や角度を正確にする。
- 写真は、A4判の用紙に貼り、必要な文字、記号などを記入する。写真の拡大率は、単位長さのバーで表す。
- 患者の顔や特徴ある身体の一部の写真を使用する場合は、目隠し等により個人が特定できないように配慮するとともに、患者本人あるいは後見人から文書により許可を得ること。
- 記号は中心の明確な○●□■◇◆などを使用する。
- 記号を使用する場合の凡例は、脚注に置かずに図中に入れる。

7. 表

- 1) 罫線はできる限り入れない。
 - 2) 標準偏差は、()もしくは±とし、信頼区間との混同を避けるために説明を入れる。
 - 3) 表題が英文字の場合は書き出しのみを大文字にし、それ以後は小文字とする。しかし略号はこの限りではない。
 - 4) 単位などの表記は同一言語に統一する。単位 (unit), 平均 (mean), 標準偏差 (SD)
- (例：)

Table1 Mechanical properties of specimen

specimen	Tensile strength Mpa	Elongation %
A	500 (20)	10.2 (3.3)
B	300 (15)	5.4 (2.3)
() : SD		

表1 試料の力学的性質

試料	引張強さ Mpa	伸び %
A	500±20	10.2±3.3
B	300±15	5.4±2.3
平均±標準偏差		

8. その他

本規定ならびに「投稿の手引き」に規定されていない事項については、編集委員会にお尋ね下さい。

投稿の手引き、投稿規定、チェックリストのファイルは、ホームページ (<http://www.hoku-iryo-u.ac.jp/~dental-society/>) からダウンロード出来ます。

北海道医療大学歯学会抄録原稿作成要領

B5版の用紙を用い、タテ19cm・ヨコ13cmに納まるようにパソコンを使って作成して下さい。文字は明朝体で12ポイントを使用して下さい。

なお、抄録は以下の例に従って記載して下さい。

1. 演題名
2. 発表者氏名：演者の前に○印をつけて下さい。
3. 所属：発表者の所属が2つ以上の場合、アスタリスク（*）で所属を区別して下さい。
4. 本文：一般発表の場合は【目的】、【方法】、【結果および考察】、【結論】の順で、症例発表の場合は【目的】、【症例】、【結果および考察】あるいは【経過および考察】の順で記載して下さい。

フッ素徐放性PRG含有テンポラリーセメントの物性

○館山元一*、柳 智哉*、遠藤一彦**、大野弘機**、越智守生*

*北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野、**北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系生体材料工学分野

【目的】口腔インプラントの上部構造の.....

【方法】実験には(株)松風より供給を受けた.....

【結果および考察】試作セメントの標準粉液比は、.....

【結論】フッ素徐放性PRG含有テンポラリーセメントは、.....

編集後記

忘れもしない、2011年3月11日午後2時46分、日本は大地震（東日本大震災）に見舞われました。この日は北海道医療大学の卒業式の日でした。無事卒業式も終わり、各研究室で実験などをしていたときでした。当別でもたまはあるやや強めの地震でした。揺れが大きくて廊下にでると隣の研究室の人達も出てきて、ちょっと大きいですね、などと言ってまた仕事に戻ったのを記憶しています。その後関東、東北方面の震度が大きく、停電になったニュースが流れてきましたが、まさか大津波が三陸沿岸の町を押し流し、福島原発を破壊していることなど夢にも思いませんでした。その日の夜は恒例の歯学部の謝恩会でした。その席で、塩竈出身の卒業生から家が流された、町全体が破壊されたなど大変な話が沢山でてきました。帰宅後テレビをみて、予想を超える悲惨な事態になってしまったことを知ったのです。私の人生で最も甚大な災害です。その後時間がたつにつれ、災害に遭われた方々の大変さに心を痛め、我慢強さ、国民の誠実さなど、あらためて日本の国民性もみることができました。これに対し、政治家の対応の不誠実さは残念です。被災者の方々の早い復興を願う次第です。

この度の震災とは比べべくもありませんが、人生には自分に関係なく重大な事柄に對峙させられることがあります。私は今から45年近く前に大学生活を過ごし、当時激しかった大学紛争が自分の人生の中で大きな意味を持つ出来事だったように思われます。学長や学部長も大学立法に反対してデモをする時代でした。一般的な学生もデモや大学封鎖・授業ボイコットなどにより、講義をまとまにやっている状況ではありませんでした。それも一週間、一ヶ月で終わるようなことではなく、一年さらには数年かかるかもしれないような問題であり、一体大学はどのような道を進んでいくのだろうか、自分はどのような人生を歩めばよいのだろうか、と真剣に考えたものです。この時の、思想・意見を異にする人達との議論は、私の人生観を形成したといつても過言ではありません。人生とは、生きるとは、大学とは、諸々のそれまで漫然と考えていたものを反芻しながら自分で答を出さなければなりませんでした。私が研究者になりたいと思ったのも、この時代でした。研究者であれば、志を高く、孤独に堪え、人に依存することなく、自分の研究分野で何かを残すことができるのではないかと考えて、その後の人生をマイペースで自分を信じて体力の限り研究に没頭してきました。別の人生を歩むことはできないので、これが最善かはわかりませんが、私自身としては最高の研究生活をさせていただいたと思っています。

45年近くの研究生活での私の研究を中心に、専門外の話題も紹介しながら私なりに感じたことをまとめて“生理学からみたヒト”を次号の北海道医療大学歯学雑誌の総説に寄稿したいと思って現在執筆中です。これには地球誕生から生物誕生や人類出現までの経過などについても記載していますが、人類誕生はごくごく最近のことです。例えば1億年を1mで換算すると地球の誕生が46m（46億年前）、類人猿出現が5cm（500年前）、現代人（クロマニヨン）の出現が1mm（10万年前）です。この10万年の間にも大地震などの多くの災害を幾度も経て我々の祖先は生き抜いてきました。かなり長い間、自然は我々人類の手に負えるものではありませんでした。近年の急速な科学技術の進歩により、地球のみでなく宇宙のこと、ヒトの身体や病気のことなどが、かなり理解されるようになってきました。それもここ100年にはすぎません。反面、科学技術の進歩により、この100年で地球の資源を食いつぶし、環境を汚染するようになってしまいました。これからの人類は、智恵を結集し、自然と共に存し、地球を守っていかなければなりません。

私の好きな言葉に“廉恥心”と“懶惰心”があります。いわゆるサラリーマンでなかった私がモットーとしてきた言葉です。この2つがなければ研究者として長くは続かなかつた気がします。他人に迷惑をかけず、己に厳しくかつ己に余裕をもつ。これからも、この2つの心を大事にしていきたいと思っています。左記の写真は帯広の六花の森にある“考える人（ロダンから）”です。この彫刻のようにのんびりと心安らかな生活ができるように心がけたいものです。

医療大歯学会雑誌の総説論文を会田先生（再建学系咬合再建補綴学分野）、新岡先生（薬学部人間基礎科学講座）にお願いし寄稿していただきました。Polan先生（う蝕制御治療学分野）にはバングラディッシュの歯科事情を英文で寄稿していただきました。その他にも原著論文が3編、トピックスが10編と充実した紙面となりました。御協力いただいた諸先生に御礼申し上げます。

平成23年6月30日
編集長 和泉 博之



次号（第30巻、第2号）の発行は平成23年12月31日です。

会員各位の投稿原稿募集の締め切りは平成23年9月30日必着と致します。期日厳守の上、ご投稿をお願いします。本誌投稿規定（2011年第30巻、第1号の巻末あるいは歯学部生理学教室のホームページ；<http://www.hoku-iryo-u.ac.jp/~physiol/>）をご参照の上、投稿してください。

ビクトリーワンで 自由診療率をアップ！

自由診療へのスイッチングを強力にサポートします。

1. 学ぶ



【スキルアップビデオ】
提案型カウンセリングを
学習します

2. 使う



【説明用模型】
治療方法を
比較説明します



【治療提案書作成ソフト】
作成した資料で
治療方法などを説明します

3. 結果が出る

自由診療率の向上

- 患者さんのデンタルIO向上
- クリニックへの信頼感醸成
- リコール患者数増大



学ぶ、使う、結果が出る

提案型カウンセリングのノウハウを習得し、
すぐに実践できるシステムです。

■標準価格 ￥299,000



まずは
資料の
ご請求を

Victory 検索

www.victoryclub.jp

イベント/セミナー情報も
チェック!!



西日本営業所／〒601-8469 京都市南区唐橋平垣町8 TEL075-681-5719
東日本営業所／〒110-0016 東京都台東区台東4-14-8 TEL03-3836-3691

●仕様および外観は、製品改良のため、予告なく変更することがありますので、予めご了承ください。
●価格は、2008年5月1日現在のものです。消費税は含まれておりません。

歯科充填用アクリル系レジン
ボンドフィルSB

BOND FILL SB

歯科充填用アクリル系レジン ボンドフィルSB

歯にやさしい
しなやか系接着充填材
「ボンドフィルSB」は「スーパー・ボンド」の
接着機構を応用した接着充填材です。
適度な柔軟性と耐摩耗性を有しており、
光重合型コンポジットレジンでは修復の
難しい症例に適しています。

 SUN MEDICAL



歯科充填用アクリル系レジン
ボンドフィルSB(管理医療機器)
標準価格 ￥22,000

医療機器認証番号 222AFBZX00133000

●ご使用に際しては、必ず製品添付の「添付文書」をお読みの上、正しくお使いください。
●掲載商品の標準価格は、2011年2月21日現在のものです。標準価格には消費税等は含まれておりません。

ご使用に際しては、必ず各製品ごとの「添付文書」をお読みの上、正しくお使いください。

■資料請求・お問い合わせ先



〒524-0044 滋賀県守山市古高町571-2 ☎077(582)9980

フリーダイヤル 0120-418-303 (FAX共通) 電話受付時間 月～金(祝日を除く) 午前9:00～午後5:30 ホームページ <http://www.sunmedical.co.jp>

PROVINCE FAST



短期間の笑顔も大切に。

暫間インレー、クラウン、ブリッジ等の作製、義歯床の修理等

プロビナイス ファスト

歯科汎用アクリル系レジン

管理医療機器

医療機器認証番号 219AIBZX00084000

【色調】歯冠色4種(A1、A2、A3、Inc)、歯肉色2種(U3、8S)

【包装・価格】

粉 50g (粉量計付) ¥2,800

粉250g (粉量計付) ¥9,000

液 100mL (液用ワンタッチキャップ、スポット付) ¥2,800

液250mL (液用ワンタッチキャップ、スポット付) ¥6,000



液瓶は新規
ワンタッチキャップ
採用

2009年4月現在の標準医院価格(消費税抜き)です。



世界の歯科医療に貢献する

株式会社 松風

本社:〒605-0983京都市東山区福福上高松町11・TEL(075)561-1112(代)

支社:東京(03)3832-4366・営業所:札幌(011)232-1114/仙台(022)713-9301/名古屋(052)709-7688/大阪(06)6252-8141/福岡(092)472-7595

<http://www.shofu.co.jp>



since1896



山藤三陽印刷株式会社

〒063-0051 札幌市西区宮の沢1条4丁目16-1

[営業部] TEL.代表(011)661-7163

東京支店/TEL.(03)3518-4631

苫小牧営業所/TEL.(0144)84-5930

,'GC,' + FAMILY

業界初[※]マッサージ機能付き

リラクゼーションデンタルユニット

※日本国内において初めてマッサージ機能付き歯科用ユニットとして
薬事承認を取得(2011年4月当社調べ)

患者さんのリラクゼーションに特化したフェリーチェ。
今までにないおもてなしを届けるために、
マッサージ機能を搭載しました。



Felice

New Style in Relaxation 【フェリーチェ】



発売元 株式会社ジーシー / 製造販売元 株式会社ジーシー
東京都文京区本郷3-2-14 東京都板橋区蓮沼町76-1

フェリーチェ 歯科用ユニット
管理医療機器 特定保守管理医療機器 設置管理医療機器 22300BZX00175000

DIC(デンタルインフォメーションセンター) お客様窓口 ☎ 0120-416480 受付時間 9:00a.m.~5:00p.m. (土曜日、日曜日、祭日を除く)
東京都文京区本郷3-2-14 〒113-0033 ※アフターサービスについては、最寄りの営業所へお願いします。 www.gcdental.co.jp/
支店 ● 東京 (03)3813-5751 ● 大阪 (06)4790-7333 営業所 ● 北海道 (011)729-2130 ● 東北 (022)283-1751 ● 名古屋 (052)757-5722 ● 九州 (092)441-1286

※掲載内容は、2011年5月現在のものです。※製品の仕様および外観は、改良のため予告なく変更することがありますのでご了承ください。※掲載の画像はイメージです。

Nobel
Biocare™

ノーベルアクティブ インプラント治療の新しい流れ

© Nobel Biocare AG 2010. All rights reserved. ノーベルバイオケアのロゴ、ノーベルアクティブのロゴ、ノーベルバイオケアの商標です。

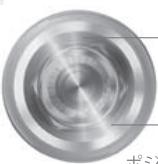
2種類の補綴連結様式をもつデュアル
ファンクション・コネクション

テーパー形状のボディと独自の
スレッドがタイプIVの軟らかい
骨質でも良好な初期固定を実現

ノーベルアクティブ インターナル
(医療機器承認番号: 22200BZX00844000)



優れた審美性を実現する
プラットフォーム・
シフティング



アバットメントの確実な
ポジショニングを可能にする
インターナル・コニカル・
コネクション

頸部の独自なデザインにより
頸骨を十分に確保

タイユナイト表面を
用いた10年の実績
データが長期的な安定性を
裏付けています。

歯周炎治療に

抗生素に加え、

テトラサイクリン

抗炎症剤を配合しています。

プレステロン

[適応症]

歯周組織炎

抜歯創・口腔手術創の二次感染

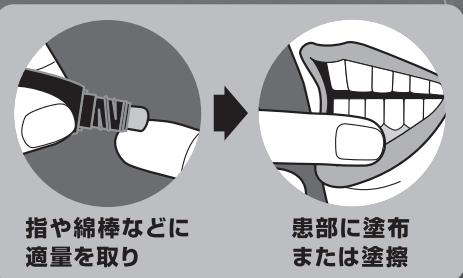
感染性口内炎

流れ落ちにくい 粘稠性ペースト

チューブ

◆院内処置用の
カートリッジ型もあります。

[使用方法]



外用薬として投薬可能です

請求薬剤料

薬価	1g : 226.80円
薬剤料	113点 (5g×1本)

平成22年4月1日現在

歯科用抗生物質製剤 医薬品 薬価基準収載

テトラサイクリン・プレステロン

TCPSパスタはレセプト記載上の略称です。歯科用軟膏

● 包装…5g×10本入(チューブ) ● 貯法…冷所(1~15°C)・遮光保存



● 用法・用量・禁忌・使用上の注意については添付文書を参照してください。

 **日本歯科薬品株式会社**

本社 山口県下関市西入江町2-5 〒750-0015 TEL083-222-2221(代) FAX 083-222-2220
大阪営業所 大阪市中央区瓦町4-8-4 〒541-0048 TEL06-6222-4090(代) FAX 06-6222-3950
東京営業所 東京都台東区柳橋1-23-4 〒111-0052 TEL03-5822-5350(代) FAX 03-5822-5351
お問い合わせ・資料請求 お客様窓口 ☎ 0120-8020-96 [ホームページ] http://www.nishika.co.jp/

kuraray

待っていました!

オートミックスだから採取・練和がスピーディー。
シラン処理を施すことで歯科用陶材にも対応可能に!



管理医療機器 歯科接着用レジンセメント
クリアフィル® SA セメントオートミックス®

医療機器認証番号:222ABBZX00173000
○ご使用に際しましては、製品の添付文書を必ずお読みください。
○仕様及び外観は、製品改良のため予告なく変更することがありますので、予めご了承ください。



製品・各種技術に関するお問い合わせ

▶お問い合わせ専用フリーダイヤル
月曜～金曜 10:00～17:00 ☎ 0120-330922
URL > <http://www.kuraray-dental.com/>

製造販売元 **クラレメディカル株式会社**
〒100-0004 東京都千代田区大手町1-1-3(大手センタービル)
連絡先 **クラレメディカル株式会社**
〒100-0004 東京都千代田区大手町1-1-3(大手センタービル)
〒530-0017 大阪府大阪市北区角田町8-1(梅田阪急ビルオフィスマーク)
フリーダイヤル: 0120-330922

販売元 **株式会社モリタ**
〒564-8650 大阪府吹田市垂水町3-33-18
TEL: (06) 6380-2525
〒110-8513 東京都台東区上野2-11-15
TEL: (03) 3834-6161
www.dental-plaza.com

「クリアフィル®」と「オートミックス®」は株式会社クラレの登録商標です。

‘09.11.24 発売!!

Curettes K.K.type

Collaboration of Dr.Kawasaki & Dr.Kato

きつい湾曲が多い

欧米人より小さい

『日本人の歯』『日本人の手』に適した設計



ポケットへの挿入も無理なくでき、操作時の根面への適合も良い!



きちんとハンドルを握って操作が可能!

4本組 (#1～#4各1本入)

コードNo.101763 標準価格 ¥14,400 (4色〔P・W・R・Y〕カラーリング入)

単品 スタンダード/コードNo.101764 標準価格 各 ¥3,600
ミニ/コードNo.101765 標準価格 各 ¥3,600



医療機器届出番号 11B1X1000662D107

製造販売元 **株式会社YDM**

〒355-0042 埼玉県東松山市今泉28

問合先 本社 営業部 〒114-0014 東京都北区田端6-5-20 TEL03-3828-3161 FAX03-3827-8991
<http://www.ydm.co.jp/> E-mail ydm@ydm.co.jp

発売 株式会社モリタ

大阪 〒564-8650 吹田市垂水町3丁目33番18号 TEL06-6380-2525

東京 〒110-8513 台東区上野2丁目11番15号 TEL03-3834-6161

<http://www.dental-plaza.com/>



Thinking ahead. Focused on life.

Soaric

人を大切にしたデザインとテクノロジーから生まれました

The New PdW Style

直感的で自然な動作での診療を可能にする、先進のトレーシステム。ユニットへの組み込みが可能な、マイクロスコープと根管長測定機器。小型ボディに根管治療機能が搭載された、新開発マイクロモーター。そのディテールに至るまで一貫して表現された、洗練のデザイン。

Debut

発売

株式会社 モリタ

大阪本社 大阪府吹田市垂水町3-33-18

〒564-0650 TEL 06-6360-2525

東京本社 東京都台東区上野2-11-15

〒110-8513 TEL 03-3834-6161

製造販売・製造

株式会社 モリタ製作所

本社工場 京都府京都市伏見区東浜南町680

〒612-8533 TEL 075-611-2141

久御山工場 京都府久世郡久御山町大字市田小字新珠城190

〒613-0022 TEL 0774-43-7594

販売名: ソアリック

一般的名称: 歯科用ユニット

機器の分類: 管理医療機器(クラスII)

特定保守管理医療機器

医療機器認証番号: 222ACBZX00016000

www.dental-plaza.com

編集委員会

委員長 和泉博之

越智守生・斎藤隆史・柴田考典・田隈泰信
東城庸介・溝口到

(アイウエオ順)

北海道医療大学歯学雑誌 第30巻 第1号

平成23年6月30日

発行者 和泉博之

編集 北海道医療大学歯学会

〒061-0293 北海道石狩郡当別町金沢1757番地

北海道医療大学内

電話 0133-23-1211(内線2563)

電話/FAX 0133-23-1345(直通)

メールアドレス: iryo-ds@hoku-iryo-u.ac.jp

印刷 山藤三陽印刷株式会社

札幌市西区宮の沢1条4丁目16番1号

電話 011(661)7163(代)

Dent J Health Sci Univ Hokkaido

REVIEW

- 1 Nanoscale surface modification of titanium implants
Hideki AITA, Mai KONO, Yoshifumi TOYOSHITA, Takahiro OGAWA and Hisashi KOSHINO (1)
- 9 Imaging analysis of blood flow distribution with laser speckle flowmeter
Takeharu NIOKA, Hisayoshi ISHII and Hiroshi IZUMI (9)
- 23 A Short Review of Bangladesh Dentistry
Mohammad Ali Akbor Polan and Takashi Saito (23)

ORIGINAL

- 29 An immunohistochemical study of tenascin-C and fibronectin in mandibular condylar cartilage of fetal and postnatal mice
Shunichi SHIBATA, Rei SATO, Tamaki YOKOHAMA-TAMAKI, Nobuko OBARA, Yuko SUZUKI (29)
- 37 Analysis of FE mandible model with some tilted-implants by 3D-FEM
Taishin NAKAI, Kazuhiko ENDO, Eiji NAKAYAMA, Yukito HIROSE, Morio OCHI (37)
- 45 Support Program for National Dentistry Examination
Naoki KAKUDATE, Itsuo CHIBA (45)

CLINICAL REPORT

- 51 Two cases with long-term observation of tooth transplantation into the bone-grafted alveolar cleft.
Sigeru MURAI, Fumihiro MATSUZAWA, Masahiro IJIMA, Yoshiro ISHINO, Kaoru MURAI,
Naohisa KOHDA, Mai ITO, Jun UECHI, Takeshi MUGURUMA, Kazuo HAYASHI, Susumu NAKAGAKI,
Itaru MIZOGUCHI (51)

ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION

- 57 A study on the anti-tumor effects of mTOR inhibitor in oral squamous cell carcinoma cells
Taisuke UEMURA (57)
- 60 Three-dimensional average shapes and principal component analysis about Japanese dental arches based on the three-dimensional Procrustes method
Sadamasa SAITO (60)
- 62 Differential expression of Drosomycin-like Defensin in Human Oral Cells
Jun SATO (62)
- 64 Research for Derivation of Oxidative Stress with Changes of Mastication Dynamic Stage in Rats
Hirohito SUZUKI (64)
- 66 Radiographic Analyses of Alteration of Bone Levels in Implant Procedures
Koichi TAKAHASHI (66)
- 68 Effect of corticosteroid and noradrenaline on beta-defensins expression stimulated with Toll-like receptors agonists
Mihoko TAKAFUJI (68)
- 70 Development of temporary and luting cements containing phytic acid
Genichi TATEYAMA (70)
- 73 Comparison of Bacterial Flora in Peri-implantitis and Healthy implant sulcus
Naoki TAMURA (73)
- 76 Analysis of FE mandible model with some tilted-implants by 3D-FEM
Taishin NAKAI (76)
- 78 Effect of diabetes-related molecules on expression of beta-defensins
Shota HATAKEYAMA (78)
- 80 The effect of FGF-2 on proliferation and differentiation potentials of STRO-1⁺/CD146⁺ cells in human periodontal ligament
Tatsuhiro HIDAKA (80)

DENTAL INFORMATION

- 82 Recent topics (82)