

## ラット頭部骨膜上における傾斜機能アパタイト／BMP-2を用いた硬組織誘導

○日野 純\*, 村田 勝\*, 赤澤敏之\*\*, 田崎純一\*, 有末 眞\*

\*北海道医療大学歯学部口腔外科学第二講座

\*\*北海道立工業試験場材料技術部材料化学科

**【目的】** ラット頭部骨膜上における傾斜機能アパタイト／BMP-2の硬組織誘導能とfg-HAp吸収性の評価および骨膜の組織学的観察。

**【方法】** 傾斜機能を付与した新規材料である吸収性ハイドロキシアパタイト（fg-HAp）ブロック（ $3 \times 3 \times 3$  mm）にrhBMP-2（5 µg）を添加したものを、全身麻酔下でWistar系ラット（雄性、4週齢）の頭部骨膜上（非切開群および線状切開群）に埋植した。1・2・4週後に屠殺し、頭頂骨ごと一塊として摘出し、硬組織誘導能とfg-HAp吸収性の評価および骨膜の組織学的観察を行った。

**【結果および考察】** fg-HAp単独群では、fg-HAp骨格内部へ体液が浸透し、崩壊と吸収により断片化して、全体的に膨隆度が低くなつ

ていた。また、硬組織の形成は認めなかった。fg-HAp/BMP-2群では、単独群と同様に骨格内部へ体液が浸透し、崩壊と吸収により断片化していたが、膨隆度は比較的維持されていた。また、埋植部周囲から骨・軟骨の形成が始まり、非切開群では既存骨との間には骨膜を含む軟組織が介在し、線状切開群では切開部を中心とした既存骨と新生骨との連続性がみられた。また、切開群の方がfg-HApの吸収が早く、硬組織形成も速やかに進行した。

**【結論】** 非切開群では硬組織形成が骨膜を貫通せずに起こり、切開群では切開部を中心とした骨の連続性を認めた。このことから、骨膜の硬組織形成における境界膜組織としての恒常性維持機構の関与が考えられた。

## ヒト好中球由来hCAP18／LL-37遺伝子導入による抗菌ペプチド産生と抗癌効果

○奥村一彦<sup>1</sup>, 平 博彦<sup>2</sup>, 村岡勝美<sup>2</sup>, 河東秀貴<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部口腔外科学第一講座, <sup>2</sup>口腔外科学第二講座

**【目的】** 自然免疫に関与する抗菌ペプチドによる感染症および癌治療の開発に向けて、すでに私たちは、ヒト好中球由来hCAP18合成ペプチドを用いて癌細胞のアポトーシス誘導による抗癌効果を報告してきた。そこで、ヒトhCAP18／LL-37をコードするCAMP遺伝子を癌細胞に導入し、hCAP18合成ペプチドの影響と細胞形質の変化について検討した。

**【方法】** 細胞：ヒト口腔扁平上皮癌細胞SAS-H 1とヒト二倍体上皮細胞HaCaTを用いた。遺伝子導入：HaCaTに活性型ビタミンD3処理を行い、hCAP18／LL-37をコードするCAMP mRNAを発現させ、本細胞からRT-PCR法を用いてCAMP cDNAを得た。得られたcDNAはGateway system (Invitrogen) によるpENTR11エントリーベクターへ挿入し、その後リコンビネーションによりpcDNA3.2／V 5-DESTへ移入し発現ベクターを作製した。本発現ベクターを電気穿孔法により、SAS-H 1へ導入し、その後G418で選択しCAMP遺伝子高発現安定株を樹立した。CAMP mRNA発現：CAMP高発現安定株におけるCAMP mRNA発現を、定量PCRにより検討した。hCAP18／LL-37蛋白質の発現：抗ウサギhCAP18／LL-37抗体によるウエスタンプロット法により、CAMP遺伝子高発現安定株での産生、および培養上清中のhCAP18／LL-37発現を検討した。抗菌

活性：CAMP遺伝子高発現安定株から得られた培養上清によるS. mutans BHT, S. mutans Ingbrattに対する抗菌活性を検討した。細胞増殖性：hCAP18合成ペプチド未処理、または処理細胞についてMTT法により細胞増殖性を検討した。

**【結果および考察】** 1. 電気穿孔によりCAMP遺伝子をSAS-H 1へ導入し、G418濃度350 µg/mlで4つの高発現安定株が得られた。2. CAMP遺伝子高発現安定株は、定量PCR解析により、CAMP mRNA発現量に比例してhCAP18／LL-37蛋白質の発現が亢進していた。3. 培養上清をアセトン濃縮して、特異抗体によるウエスタンプロットによりhCAP18／LL-37蛋白質を確認し、上清が抗菌活性を有することが示された。4. hCAP18合成ペプチドSAS-H 1に対して抗腫瘍効果を有しているが、CAMP遺伝子高発現安定株では、ペプチドによる抗腫瘍効果が低下していた。また、SAS-H 1とCAMP遺伝子高発現安定株の細胞増殖性を検討したところ、変化を認めなかった。以上の結果から、CAMP遺伝子導入細胞で産生分泌されるhCAP18蛋白質が抗菌活性を有しており、上皮細胞に遺伝子を発現させることによる感染防御機能の強化が示唆された。さらに、ペプチドによる抗腫瘍効果は、細胞のCAMP遺伝子発現の有無により制御されている可能性が示された。

## 耳下腺部多発性腫瘍の画像所見を呈した一例

○堅田 勉

北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座

**【目的】** 右側耳下腺部に発生した多発性の病変を経験したので画像所見について報告する。

**【症例】** 患者77歳 男性

主訴：右側耳前部の腫脹

現病歴：数日前から右側耳前部の腫瘍を自覚したため、近内科医受診し、某病院皮膚科への紹介を受ける。同皮膚科より口腔外科の受

診を進められ、紹介来院した。

既往歴：平成10年 左側下顎骨骨髓炎

家族歴：特記事項なし

現症：右側耳前部の腫脹を認めた。腫脹部は弾性硬で表面皮膚正常色。自発痛・圧痛は認めなかった。

**【結果および考察】**初診時CTにて右側下顎頭外側に1つ、右側耳下腺内に4つ、上内深頸部に1つの病変を認めた。耳下腺内病変はいずれも境界明瞭な類円形で、内部不均一な造影性を認めた。MRにて右側耳下腺内の複数の類円形病変はいずれもT1で筋よりもやや高いintermediateからhigh intensity、T2で脂肪と同程度のhigh intensityで境界明瞭だった。耳下腺内上方の病変は多房性で、内部にびまん性に造影される領域を認めた。その他の病変はやや不均一な造影性を認めた。また右側耳下腺上方の下顎頭外側に境界明瞭な類

円形病変を認め、耳下腺内病変と同様のintensityを呈した。さらに右側上内心頸部に直径10mmのやや弱く造影される病変を認めた。超音波検査では側頭部および右側耳下腺内病変はいずれも境界明瞭な類円形で内部均一、底面は明瞭、後方エコーの上昇として認めた。Gaシンチでは右側頭部から耳下腺部、頸下部にかけての範囲に鼻腔よりも弱く、健側耳下腺よりも強いGaの集積を認めた。SPECT画像からもCT、MRで認めた病変相当部での集積が確認された。唾液腺シンチでは病変相当部へのTcの強い集積や欠損像は認められなかった。また右側耳下腺の機能的な異常所見も認めなかつた。

これらの検査終了後に生検が行われた。本症例の画像的な特徴について文献的考察を加えて報告する。

### 鼻口蓋管囊胞の早期診断法の試み

○佐野友昭、田中力延、大西 隆、飯沼英人、藤原秀光  
細川洋一郎、矢嶋俊彦\*

北海道医療大学歯学部歯科放射線学講座

\*口腔解剖学第一講座

**【目的】**今回、我々は正常と考えられる切歯孔と大口蓋孔の大きさを比較することにより、鼻口蓋管（切歯管）囊胞の早期診断法として大口蓋孔の大きさが応用できないか検討した。

**【方法】**対象は北海道医療大学医科歯科クリニックを受診した110名（男性46／女性64）で、年齢は12歳から78歳（平均36.4歳）であった。CT撮像条件はガントリーを咬合平面と平行にし、断層厚は1mmとした。大きさの測定は撮像範囲の軸面像において最初に明らかな切歯孔ならびに大口蓋孔の外形を認めた位置で前後方向（長径）と左右方向（短径）の距離を測定した。

**【結果および考察】**切歯孔の大きさは、長径は平均3.5mm、短径は平均3.4mmであった。大口蓋孔は、右側は長径平均4.9mm、短径は平

均2.2mm、左側は長径平均4.9mm、短径平均2.0mmであった。左右の有意差は長径では認めなかったが短径で認めた。切歯孔ならびに大口蓋孔の長径において、両者の相関が最も高かった（R=0.41）。そこで、切歯孔長径の+1 SD群（4.5mm以上）と-1 SD群（2.4mm以下）の大口蓋孔長径の大きさを比較したところ、両群との間で有意差を認めた（p<0.01）。

**【まとめ】**切歯孔の大きさが大口蓋孔の大きさと相関し、日常の画像検査で大きな切歯孔に遭遇した場合に大口蓋孔の大きさから切歯孔の病態を推量する指標として使える可能性を有すると考えられた。

### 歯根破折における接着性根管充填シーラーの有効性

○阿部博明、湯本泰弘、伊藤修一\*、森 真理、斎藤隆史\*、古市保志

北海道医療大学歯学部歯科保存学第一講座

北海道医療大学歯学部歯科保存学第二講座\*

**【目的】**垂直破折した歯は、その部位の歯周組織の破壊を引き起こすため、抜歯となることが多い。垂直破折歯の保存的療法として意図的再植術を応用した接着性レジンセメント（スーパー・ボンドC&B<sup>(R)</sup>、サンメディカル）による破断面接着法があり、長期間保存可能な症例の報告がされてきた。

近年、樹脂含浸層や象牙細管内へのレジンタグの形成による辺縁封鎖性や接着性の向上を意図した各種接着性レジン系シーラーが開発されており、スーパー・ボンドシーラー（サンメディカル）もその一つである。その封鎖性は従来型の非接着性シーラーと比較して優れており、流動性が高いことが報告されている。それ故に、保存的療法を試みた縦破折歯の根管充填時において、特殊な外科処置を行うことなくその破断面の接着に応用できる可能性が示唆される。

本研究は、歯根縦破折における接着性根管充填シーラーの有効性について検討することを目的とした。

**【材料・方法】**当クリニックを来院し、歯根縦破折を認める患者さんに接着性シーラーを応用した保存的治療方法を説明した。同意を得られた3名に、GCガッタバーチャポイントとスーパー・ボンド根充シーラーを用いて根管充填し、経過観察を行った。また、in vitroで縦破折モデル（単根歯）を作成し、象牙質接着界面の性状を走査電子顕微鏡で評価し、微少引っ張り試験を行った。

**【結果・考察】**臨床症例では、根充後3～12ヶ月において歯周組織の状態は安定しており、良好に経過している。

接着界面のSEM観察では、スーパー・ボンドシーラーの接着システムにおいて健全象牙質で緻密な樹脂含浸層が観察され、強固に接着していることが確認された。微少引っ張り試験においても平均して約10MPaを認めた。

本研究結果より、歯根縦破折した歯への接着性根管充填シーラーを用いた根管充填の有効性が示唆された。