

北海道医療大学歯学会第33回学術大会 一般講演抄録

1. 低用量のアミトリプチリンが奏功した舌痛症の1例

○宇津宮雅史^{1,2}, 吉田光希^{1,2}, 原田文也¹, 中條貴俊¹, 高井理衣¹,
佐藤 惇^{1,2}, 松岡紘史^{3,4}, 西村学子¹, 千葉逸朗³, 安彦善裕^{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北海道医療大学病院口腔内科相談外来
³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
⁴北海道医療大学病院医療心理室

【目的】舌痛症は舌に器質的変化がみられないにもかかわらず痛みを訴える病態の総称である。舌痛症の発症契機は様々であり、多様な症状を呈することから、画一的な治療法をみつけることは難しい。今回我々は、舌痛症に三環系抗うつ薬であるアミトリプチリンを低用量用い、症状が消退した症例を経験したので報告する。

【症例】患者：52歳女性。主訴：舌がヒリヒリする。現病歴：X-1年12月食事中に舌に熱傷を負う。その後、経時的に舌全体へ痺れが広がり、味覚の減退、口腔乾燥感、口唇周囲の違和感も認めるようになった為、X年1月北海道医療大学病院口腔内科相談外来を受診した。既往歴：坐骨神経痛。家族歴：夫が大腸癌及び直腸癌でX-2年に手術後、X-1年より休職中。現症：両側舌縁に疼痛を感じるとのことで、視診及び触診を行った結果、両側舌縁粘膜に食いしばりによる歯の圧痕を認めるが、その他舌に明らかな器質的異常所見は認めなかった。痛みは夕方になるにつれ増大する傾向にあったが食事中には気にならないとのことであった。また、問診により明

らかな気分障害は認められないものの、舌の症状を過度に心配しており不安傾向にあった。臨床診断：舌痛症（心因性）

【経過】初診時に抗不安薬で低力価短期作用型のクロチアゼパムを処方した。痛みはやや軽減したものの効果作用時間が短いため、高力価長期作用型のロフラゼパ酸エチルを処方した。X年2月、症状の著変がみられない為、抗うつ薬のうち、選択的セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）のミルナシプランを併用し漸増量するも、X年3月にはVisual Analog Scale（VAS）50であった。その為、X年4月にミルナシプラから三環系抗うつ薬のアミトリプチリンへ変更し漸増量を行った。X年7月にVAS5となった為、漸減量を行いX年11月にアミトリプチン服用を終了し、X+1年1月にはロフラゼパ酸エチルを服用せずとも舌痛は寛解となった為、治療終了となった。

【考察】アミトリプチンは難治性舌痛症の症状緩和の為の選択肢の一つとなることが示唆された。

2. 再生不良性貧血患者に発症した含菌性嚢胞の1例

○宮本一央¹, 瀧本紘佑², 北所弘行³, 淀川慎太郎², 神野由貴³,
前壯功仁², 佐野聖子², 永易裕樹³, 柴田孝典², 家子正裕³
¹北海道医療大学病院臨床研修科
²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講座
³北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系 顎顔面口腔外科学講座
⁴北海道医療大学歯学部 生体機能・病態学系 内科学講座

【目的】再生不良性貧血は骨髄の低細胞性を伴う汎血球減少症を来す疾患である。その発症は先天性と後天性に、後者はさらに特発性と二次性に分けられ、そのうち特発性が大多数を占めている。今回われわれは、再生不良性貧血患者に発症した含菌性嚢胞の1例を経験したので報告する。

【症例】40歳、の男性。右側耳下腺咬筋部、および下顎臼歯部の腫脹を主訴に2014年6月初診となった。既往歴は再生不良性貧血にて他院血液内科にて加療中（G-CSF 3回/W）、また精神発達遅滞を認めた。

【現症】右側下顎臼歯部を中心にび慢性の発赤と自発痛を伴う腫脹を認めたが、開口障害はみられなかった。

【画像所見】パノラマX線写真で右側下顎智歯の水平埋伏歯と同歯冠周囲の境界明瞭な類円形の透過性病変を認めた。CTにて右側下顎臼歯部を中心に境界明瞭な類円形・多胞性の透過性病変を認めた。

【臨床診断】下顎嚢胞，下顎骨周囲炎。

【処置および経過】下顎骨周囲炎に対しCTRXにて消炎開始した。消炎後の血液検査にてWBC 5,400、好中球80.2%、Hb 8.8g/dL、PLT $1.1 \times 10^3/\mu\text{L}$ と低値を認めたため、当院血液内科と連携し術前に濃厚血小板液・濃厚赤血球液輸血、G-CSFを継続投与した。Hb 9.3g/dL、PLT $5.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ まで回復を認めたため、全身麻酔下にて嚢胞摘出術を施行した。病理組織学的検索にて口腔壁の大部分は菲薄な非角化性重層扁平上皮により裏装され、上皮下にはリンパ球、形質細胞が多数認められる慢性炎症性細胞を伴う含菌性嚢胞の診断を得た。術後10日で退院。現在当科外来にて経過観察中であり、再発なく良好に経過している。

【考察】再生不良性貧血は極めてまれな疾患で、白血球減少による易感染性や周術期の出血を引き起こす事がある。本症例も顆粒球減少を伴う菌性感染症を繰り返していたと示唆された。本症例において、周術期に十分な支持療法を行うことが重要であると考えられた。

3. 歯科麻酔領域における超音波ガイド下鎖骨下静脈穿刺の試み

○吉本裕代, 三浦美英
北海道医療大学歯学部歯科麻酔科

【目的】 口腔顎顔面悪性腫瘍手術において, 中心静脈カテーテル留置は術後の高カロリー輸液投与路となるほか, 周術期の中心静脈圧測定, 血管作動薬の確実な微量持続投与などの全身管理を可能とする有用な手技である。カテーテルを挿入するための静脈穿刺部位のうち, 鎖骨下静脈からのアプローチは感染合併症が少なく長期留置に適しているが, 従来の体表ランドマーク挿入法で行なうと気胸や動脈穿刺といった機械的合併症の発生頻度が高く, 歯科麻酔領域ではリスクの高い手技と認識されていた。近年, 超音波画像上に刺入部位を描出し, 周囲組織を確認しながら中心静脈穿刺を行なう超音波ガイド下法が盛んになり, 昨年より当科でも導入を開始した。当科で行った超音波ガイド下鎖骨下静脈穿刺症例について検証する。

【方法】 対象は平成26年に当院口腔外科で手術が予定された口腔顎顔面悪性腫瘍患者4例で, 手術前日に手術室にて鎖骨下アプローチによる中心静脈カテーテル留置を行なった。患者をTrendelenburg位とし, 穿刺側上肢は外

転位にした。超音波診断装置モニターを穿刺部位の反対側, 常に術者の視野に入る位置に配置した。リニアプローブを用い, 穿刺前評価として腋窩静脈短軸像を描出, 中枢側にプローブを移動させ, 鎖骨下静脈が明瞭な楕円形として走行を追跡できる部位を特定した。皮膚消毒, 局所麻酔を行ない, 再び鎖骨下静脈短軸像を描出し, 穿刺針を交差法で刺入した。超音波画像上静脈壁を貫通し, 血液の逆流を確認したら, プローブを外しガイドワイヤーを挿入した。抵抗なく挿入確認後, 通法にてカテーテルを挿入留置し, 胸部X線画像にてカテーテルの方向, 挿入長を確認した。

【結果および考察】 4例すべてにおいて機械的合併症なく静脈穿刺し得, 超音波ガイド下法は安全性の高い方法と考えられた。1例において, カテーテルが頭側方向へ迷入し, 再挿入しても修正できず, やむを得ずカテーテル先端位置を鎖骨下静脈内とした。放射線透視法の併用による改善の可能性が示唆された。

4. 妊娠女性における唾液のメタゲノム解析

○加藤幸紀¹, 長澤敏行², 古市保志¹

¹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

²北海道医療大学歯学部総合教育学系臨床教育管理運営部門

【目的】 歯周病原性細菌のなかで *Prevotella intermedia* はエストロゲンやプロゲステロンといった女性ホルモンを発育素として妊娠関連歯肉炎に関与することが報告されているが, 妊娠時の口腔内細菌叢の変化について明確には示されていない。本研究では, 20~30代の妊婦と妊娠していない女性を被験者として, 唾液中の微生物叢と女性ホルモンとの関連性について検討した。

【方法】 妊娠40週までの妊娠女性(3名)と規則正しい月経周期(25~38日周期)を有する女性(3名)を被験者とした。流涎法にて採取した唾液を検体として女性ホルモンであるエストロゲンとプロゲステロン量をELISA法で定量した。また採取した唾液から分離したDNAをテンプレートとして16SrRNAの全細菌に共通する配列に対するプライマーを用いてPCR法にて増幅後, 得られたPCR産物でメタゲノム解析を実施した。また唾液採取時に被験者の歯周組織検査を実施した。

【結果】 1. 妊娠女性の平均年齢は30.7±2.1歳で妊娠

14.7±2.5週であり, 非妊娠女性の平均年齢は28.3±1.5歳であり, 有意差は認めなかった。

2. 妊婦と非妊娠女性との間でポケット深さ, プロービング時の出血等の歯周組織状態に有意差はみられなかった。

3. メタゲノム解析の結果, 12門, 20綱, 32目, 59科, 94属, 127種の細菌種が検出された。

4. 妊娠女性では非妊娠女性に比べて唾液中のプロゲステロン量が有意に高かったが, エストロゲン量に有意差はみられなかった。

5. *Bifidobacteriaceae* 目の細菌は妊娠女性にのみ認められた。

【考察】 *Bifidobacteriaceae* 目の細菌は, 母乳育成の乳幼児糞便中に多くみられる。妊娠女性の口腔内に *Bifidobacteriaceae* 目の細菌がみられたことは, 母親の口腔常在菌が腸内細菌叢形成に影響する可能性を示す所見と思われた。

5. オゾンナノバブル水によるチタンの親水性維持

○堀川英洋¹, 赤沼康正¹, 廣瀬由紀人¹, 遠藤一彦², 越智守生¹

¹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口腔機能修復・再建学系生体材料工学分野

【目的】 チタンは生体親和性に優れているため、歯科用インプラントの原材料として広く用いられている。チタン表面の化学的特性の経時的な変化によって、インプラントの保存中に生体親和性が低下することが知られている。この生物学的老化現象の主な原因は空气中に存在する炭化水素などの汚染物質の付着によって、チタン表面が親水性から疎水性へと変化することである。そこで本研究では、オゾンの酸化作用による有機物の分解が長期間にわたって維持されるオゾンナノバブル水に着目し、この機能水を有効に利用して保存期間中におけるインプラントの生物学的老化の進行を遅らせることを目的とした。

【方法】 実験には、JIS 第2種の純チタン（直径13.0 mm, 圧さ3.0 mm）を用いた。試料の表面は、コロイダルシリカで鏡面に研磨後、アルゴン雰囲気下でグロー放電処理を施して親水化した。その後、試料を大気中、蒸留水中およびオゾンナノバブル水中で保存し、ぬれ性の経時的変化を14日間にわたって調べた。チタン表面のぬ

れ性は、滴下した蒸留水の接触角を測定することによって評価した。

【結果および考察】 アルゴン雰囲気下でグロー放電処理を施して親水化処理した接触角は、処理直後で4.1°であった。14日間保存後の接触角の値は、大気中で24.1°および蒸留水中で22.6°と大きくなったのに対して、オゾンナノバブル水中では4.9°と親水化処理直後の小さな値を維持していた。オゾンナノバブル水中では、炭化水素分子による表面の汚染が防止され、初期の高い親水性が維持されたものと推測される。今後、チタン表面に存在する汚染物質の量を、X線光電子分光法を用いて定量し、保存環境や保存時間と汚染物質の量ならびにぬれ性との関係を詳細に調べる予定である。

【結論】 チタンを大気中、蒸留水中およびオゾンナノバブル水中に保存し、接触角の経時的変化を測定した結果、オゾンナノバブル水中に保存したチタン表面は初期の高い親水性を維持していることが明らかとなった。

6. Effect of 4-META/MMA-TBB Resin containing CaCl₂ on dentin mineralization

○Nahid Al Nomann, Shuichi Ito, Takashi Saito.

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido.

【Purpose】 Recently, restorative materials with multifunctional properties have been incorporated into clinical adhesives. The antibacterial monomer MDPB (12-methacryloylox ydodecylpyridinium bromide) is good example for such a material. However, the long-term durability of resin-dentin bonds continues to require improvement to avoid occurrence of secondary caries. Incomplete resin impregnation into the collagen network leaves an exposed zone of demineralized dentin at the base of the hybrid layer. It has been known that the exposed collagen fibrils in this region are susceptible to degradation over time, leading to a reduction in bond strength. The purpose of this study was to determine whether ions released from 4-META/MMA-TBB resin containing CaCl₂ can accelerate apatite induction by a model demineralized dentin and increase durability of resin-dentin interface.

【Materials and Methods】 Phosvitin (PV) immobilized on agarose beads with divinyl sulfone was used as a model demineralized dentin. The PV-beads in mineralizing solution were incubated at 37°C, specimens were taken at several time points during the incubation. Then the PV-beads were analyzed for bound calcium by atomic absorption spectrometry. Additionally the specimens were observed using scanning electron microscope (SEM). Flat dentin surfaces in extracted non-carious human third molars were created and sample was prepared (Isomet, Buehler, Lake Bluf, IL, USA). The sample was divided into 4 groups; 4-META/MMA-TBB as a control group, 4-META/MMA-TBB with 5%,

10% and 30% CaCl₂ as experimental groups. Micro tensile bond strengths were measured with EZ Test (Shimadzu) and analyzed statistically after 24 hours, 3 and 6 months.

【Results and Discussion】 Mineral induction time was decreased with increasing concentration of CaCl₂. The 4-META/MMA-TBB with 30% CaCl₂ reduced induction time compared to other groups. Micro tensile bond strength of 4-META/MMA-TBB with 5% / 10% CaCl₂ stored for 6 months in distilled water showed no significant difference compared with control group. In case of 4-META/MMA-TBB resin with 30% CaCl₂ bond strength were decreased compare to control group. Ca²⁺ binds to phosphoprotein can mineralize the dentin so, in mineralizing experiment in case of 4-META/MMA-TBB resin with 30% CaCl₂ amount of Ca²⁺ was higher and mineral induction time was shorter than 5% and 10% CaCl₂ group. In micro tensile bond strength analysis in case of 30% CaCl₂ group the bond strength were significantly decreased than the others groups, but in case of 5% and 10% CaCl₂ group there is no significant difference than the control group. Further analysis of long term durability is important for identify the adequate percentage for dentin mineralization by maintaining the bond strength of the materials. These results suggest that 4-META/MMA-TBB resin containing CaCl₂ have a self-repairing potential with regard to interfacial leakage. In future, further analyses of long-term durability and self-repairing property are necessary to develop new adhesive materials.

7. MTAに含まれる酸化物粉末による細胞の酸化ストレス

○戸島洋和, 根津尚史, 遠藤一彦
北海道医療大学歯学部生体材料工学分野

【目的】 近年歯内療法に用いられているMineral Trioxide Aggregate (MTA) は、覆髄や根管充填などに適応があり、生体親和性に優れるとされている。しかし、硬化前の粉末について、生物学的性質を研究した過去の報告は少ない。そのため、今までの研究でMTAに含まれる酸化物粉末を用いて、その細胞毒性などを報告してきた。X線造影剤としてMTAに含まれる酸化ビスマスは、中性溶液では難溶性だが、酸性溶液では溶解することが知られている。今までの研究の結果からも、酸化ビスマス粉末は通常の細胞外環境では溶解しづらいが、細胞内に取り込まれることで溶解し、強く細胞毒性が発現する可能性が高いことが明らかとなった。そこで、本研究では酸化物粉末による細胞への影響についてより詳細に調べるため、細胞内に取り込まれた粉末の微小粒子の挙動を検討することを目的とした。

【方法】

1) 材料…細胞にはマクロファージ様細胞 (RAW 264.7, 理研) を用いた。酸化物粉末にはホワイトセメント (太平洋セメント), 酸化ビスマス (和光純薬) と酸化ジルコニウム (新日本電工株式会社) を用いた。

2) 細胞数と細胞活性の測定…96穴培養プレートに細胞を 2×10^4 個/well となるよう播種し、24時間培養後に各粉末を加えた。その後、細胞数と細胞活性 (Cell Counting Kit-8, 同仁化学) を測定した。

3) 細胞内に取り込まれた粒子の観察…細胞内の粒子をTEMにて観察した。

4) 活性酸素種 (ROS) の測定…細胞を播種し粉末を加えた後、細胞内のROSにより酸化されることで蛍光発色するCellROX@Green (Life Technologies) を加えた。蛍光強度はマイクロプレートリーダーを用いて測定した。さらに、測定された各群の蛍光強度を細胞数で除し、細胞数で規格化した蛍光強度を求めた。また、

【結果および考察】 RAW264.7と酸化ビスマス粉末を添加した群では、細胞内に粒子が取り込まれ、細胞数で規格化した蛍光強度は有意に上昇した。そのため、以下の式のように細胞内に取り込まれた酸化ビスマス粉末が溶解し ($\text{Bi}_2\text{O}_3 + 6\text{H}^+ \rightarrow \text{Bi}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O}$)、溶出したビスマスイオンからROSが発生している ($\text{Bi}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Bi}^{5+} + 2\text{OH}\cdot + 2\text{OH}^-$) と推測した。細胞内のCellROX@Greenの蛍光強度はROSの酸化力を表すため、酸化ビスマス粉末を取り込んだ細胞内ではROSによる様々な反応が強く生じていると思われる。さらに、細胞毒性の発現が軽微であったホワイトセメントや酸化ジルコニウムについても同様にROSの測定を行う予定である。

【結論】 細胞内に取り込まれた微小な酸化ビスマス粒子により、細胞内にROSが産生されることが明らかとなった。したがって、酸化ビスマス粉末による細胞傷害にはROSによる酸化ストレスが関与する可能性が高い。

8. 下顎歯槽骨欠損に対する診断能についてのコーンビームCTとマルチスライスCTの比較—管電圧による変動のROC解析

○中山英二, 南 誠二, 大西 隆, 佐野友昭, 杉浦一考
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

【目的】 下顎歯槽骨欠損の診断能について、歯科用コーンビームCT (CBCT) とマルチスライスCT (MDCT) の管電圧の変動に対する診断能の変化の違いのROC解析により明らかにする。

【方法】 CBCTはCB Mercuray (日立メディコテクノロジー), MDCTはAquilion 16-slice system (東芝メディカルシステムズ) を使用した。管電圧は80, 100, 120 kVに変化させた。CBCTではFOVを5, 10, 15 cmとし、MDCTでは、FOV 24cm, スライス厚0.5 mmの画像を取得後、FOVと再構成pitchを、5 cm/0.1 mm, 10 cm/0.2 mm, 15 cm/0.3 mmにした画像を作成した。管電流はCBCTでは10, 15 mA, MDCTでは100, 150 mA, 撮影時間はCBCT 9.6秒, MDCT 1秒で、両装置でmAs値を類似させた。FilterはCBCTが高分解能・高ノイズ (CBCT-H) と低分解能・低ノイズ (CBCT-S), MDCTは骨条件フィルターFC81を用いた。ヒト下顎骨の下顎左側6番遠心側の歯槽骨に未削合および4段階の骨欠損を作製し、計5段階の状態をCT撮影した。その後、画像処理ソフトOsiriXを用いて5人の歯科放射線科医が2回、骨欠損の有無を連続確信度法で判定した。その結果

からROC解析を行ない、骨欠損の診断能をROC曲線下面積 (Az値) として求めた。そのAz値の差をSteel-Dwass検定で有意差検定 (危険率5%) し、同じ管電圧内でのCBCT-H, CBCT-S, MDCT間の診断能、ならびに各CT像内における管電圧の違いによる診断能の変動を比較した。

【結果および考察】

1. 管電圧120kVと100kVでは三群間に有意差はなかった。80kVではCBCT-SはMDCTより有意 ($P=0.045$) に診断能が低下した。

2. MDCTでは、管電圧の変動による診断能の変化はなかった。

3. CBCTでは、CBCT-H, CBCT-S共に、80kV-120kV間において、それぞれ $P=0.003$, $P=0.02$ で80kVの診断能が低く、管電圧の変動による診断能の変化がみられた。

【結論】 CBCTでは、高い診断能を得るためには高い管電圧が必要である。MDCTでは、骨組織を観察する目的では一定の範囲内の変動は診断能に影響を与えないと考えられ、照射線量の低減が可能と考えられた。

9. 歯科医師としてのあるべき姿

○石崎晴彦
石崎歯科医院

【目的】 歯科医院を訪れる患者に対し、歯科医師は主訴である患歯を治療し歯の保存につとめることで患者の不満が解消されることも多い。しかしながらこれまで色々な講習会や勉強会に参加し数多くの症例を学びさまざまな患者と向き合っていく中で、咬合の状態と機能が顎顔面のみならず全身にも影響を及ぼしている事に気付いた。そこで口腔内だけでなく、顔貌や体との調和を図った包括的な歯科治療に取り組んできたところ、現在では良好な結果が安定して得られてきたので数症例をここに報告する。

【症例】 咬合崩壊を起こしている患者に対して一歯単位の治療を行うとともに、全身の所見を記録しながら口腔全体の咬合治療を開始した。診査の結果から、咬合平面および歯列弓、咬合高径の修正が必要と診断したため、テンポラリークラウン（TEK）を作製し咬合機能の回復を行った。咬合状態や顎顔面機能の回復および全身の状

況を確認しながら下顎位を模索するため、TEKは幾度も修正や再製作を繰り返し最終的な修復物へと移行した。

【経過および考察】 咬合崩壊を起こしている患者や生活習慣により歯列単位でのバランスを崩している患者、旧補綴物により干渉を起こしている患者などは、下顎位の変位を起こしていることが推測される。本症例では患者にTEKの状態の下顎位を模索し、全身症状や顔貌所見の改善が認められたポジションで下顎位や咬合高径を決定し最終補綴を行ったところ、頸部や顔面部の筋肉の不調和がなくなり顔貌所見の回復や全身症状としてみられた目眩や肩こりなどの改善に繋がったと考えられる。治療期間や患者の負担が増すため、患者のすべてが選択する治療法ではないが、今回報告する下顎位模索や生活習慣指導を行うことにより歯科医師が介入できる歯科治療の範囲は大きく広がると考えられる。

10. 東京医科歯科大学歯学部における学生教育の急転換について —見守る教育から寄り添う教育へ—

○柴田俊一
東京医科歯科大学大学院顎顔面解剖学分野

【目的】 東京医歯大歯学部の教育は建学以来の伝統として学生を大人扱いし、学生の自主性に任せることが主体となってきた。10年ほど前にはカリキュラムを変更し、学生の自主的な活動時間を増やす事も行った。しかしながら近年、入学学生の学力の低下が指摘されるようになり、それに伴って伝統の方法にも疑問が投げられてきたが、昨年度まで基本的にはそのまま従来の方式が継続されてきた。ところが昨年3月の国家試験結果の不成績を契機として、教育方法の見直しに着手せざるを得ない状況となった。その具体的な施策と背景について考察する。

【方法】 東京医歯大は「国際性と指導力を備えた人材を育成する。」ということを基本理念として挙げており、卒業前の学生を様々な形で外国へ派遣する制度を設けている。その場合は学生に通達して候補者を募り、成績、面接を経て派遣学生を決定している。このシステムに代表されるように学生に美味しいメニューを用意さえすれば、彼らが自らそれを咀嚼して栄養としてくれることによって、すなわち学生の自主性にまかせ見守る事でのよい人材の育成が可能であると判断してきた。しかし近年は

このようなシステムに全く関心を持たない学生も増加し、そのような不熱心な学生を無理に進級、卒業させる事が国試の結果にも反映されたのではないかと意見を言われた。そこで、1)各学年における複数担任制の導入 2)各学年の進級判定の厳格化と留年学生に対するサポート体制の構築 3)入学試験のあり方の検討 4)国家試験対策の導入等が提案され、もちろんまだ試行と言える段階ではあるが、本年度から具体的に実施される事となった。

【結果および考察】 上に挙げた項目は何の事は無い、北医療大を初め私立大学では当たり前に行われている事である。端的に言う「優秀な学生を基準として見守るだけでなく、手のかかる学生にも焦点を当てしっかり寄り添う教育を行う。」ということに他ならない。このような方法を導入せざるを得なくなったのは、入学学生の学力の低下が原因であるとされているが、私見では学力よりも歯科医学へのモチベーションの低下や学生のメンタルおよびフィジカルの弱体化も大きいのではないかと感じている。北医療大の現状等も教えていただき、参考とさせていただければ幸いです。

11. 局所麻酔薬のカルシウム応答抑制作用とその作用機序

○島谷真梨¹, ○岩田采奈¹, 根津顕弘², 谷村明彦²
¹北海道医療大学歯学部3年, ²北海道医療大学薬理学分野

【目的】 局所麻酔薬は血管拡張作用があることは知られているが, そのメカニズムは解明されていない。今回我々は, 血管拡張作用に関わる局所麻酔薬の働きを解明するために, 局所麻酔薬であるリドカイン, プロピトカイン, メピバカイン, プロカインの細胞内Ca²⁺濃度に対する作用を解析した。その結果, 局所麻酔薬や誘導体がカルバコール (CCh) による細胞内Ca²⁺濃度の上昇を抑制することを発見し, その作用機序を検討した。

【方法】 HSY細胞をHanks-HEPES液に浮遊させ, Fura-2を取り込ませた後, 局所麻酔薬やCChを作用させ, 蛍光光度計にて細胞内Ca²⁺濃度の変化を調べた。

【結果】 リドカイン (150μM; 約0.0035%) は, CCh (50μM) による細胞内Ca²⁺濃度の上昇を抑制した。また, プロピトカイン (50μM), メピバカイン (50μM), プロカイン (10μM) でも同様の抑制作用が見られ, プロカインが最も低い濃度で効果を示した。QX314 (QX) は, イオン型局所麻酔薬誘導体であり, 細胞膜を通過しないと考えられている。CChによる細胞内Ca²⁺濃度の上昇は, QXでも抑制作用されたことから, QXが細

胞膜の外側から作用していることが示唆された。タブシガーギン (ThG) は細胞内Ca²⁺ストアのCa²⁺ポンプを抑制し, ストアの枯渇によって細胞膜のCa²⁺チャネルを活性化する (ストア作動性Ca²⁺流入; SOCE)。局所麻酔薬やQXは, ThGによるSOCEは抑制しなかった。一方QXは, 細胞外にCa²⁺を存在させない条件でも, CChによる細胞内Ca²⁺濃度の上昇を抑制した。

【考察】 今回の実験では, 局所麻酔薬やQXが細胞内ストアからのCa²⁺放出を抑制することが示された。QXは細胞膜を透過しないことから, これらの薬物は細胞膜に存在するムスカリンM₃受容体を抑制する可能性が示めされた。しかし, 局所麻酔薬の作用がM₃受容体の特異な抑制かどうかは明らかではない。今後, これらの薬物が, αアドレナリン受容体等を介するCa²⁺応答や血管収縮反応を抑制する可能性を検討する必要がある。

【結論】 局所麻酔薬やQXがCChによる細胞内Ca²⁺濃度の上昇を抑制した。これらの作用は, 細胞膜に存在するムスカリンM₃受容体の抑制によると考えられた。

12. イネ科植物根由来ムギネ酸含有抽出液の歯科応用への可能性

○中島美咲¹, 宮川博史², 中澤 太²
¹北海道医療大学歯学部5年生
²北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野

【目的】 糖はプラーク内の微生物にとって栄養源となり, う蝕などの口腔感染症の原因となる。糖を摂取しても微生物の増殖を抑制することができれば, 口腔感染症を抑制できると考えられる。イネ科の植物は穂ができるまでの間, 炭水化物を根に蓄えるとともに, 培地中に鉄分が少ないと鉄キレート作用を持ったムギネ酸を産生・分泌することが知られている。そこで, イネ科植物根に含まれる炭水化物とムギネ酸を利用して歯科応用できないかと考えた。本研究では, イネ科の大麦とチガヤを用いて根から抽出したムギネ酸を定量し, その抗菌性と細胞増殖活性に与える影響について検討した。

【方法】 キットやバットを用いて大麦とチガヤを鉄欠乏培地で培養し, 凍結保存した。乾燥または生のまま根を加熱した80%エタノールで磨り潰し, 抽出物を回収した。回収後, エタノールを減圧除去したものをイネ科植物根抽出液とし, 鉄ゲル溶解活性法でムギネ酸を定量した。抗菌性は*Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivais*, *Candida albicans*を用いて最少発育阻止濃度

(MIC) と最少殺菌濃度 (MBC) を調べるとともに, 培地に数種の糖を1%加えた場合のMICやMBCに与える糖の影響についても検討した。また, 抽出液の培養細胞に対する細胞増殖活性をWST-1を用いた方法で測定した。

【結果および考察】 大麦根抽出液のムギネ酸量はキットで栽培した場合60~67μg/ml, バットの抽出液は12.8μg/ml, チガヤ抽出液は6μg/mlであった。ムギネ酸の抗菌性は全ての菌種でみられたが, *S. mutans*や*C. albicans*よりも*P. gingivais*でより強い抗菌性が認められた。糖を添加した場合には*S. mutans*や*C. albicans*では抗菌性は低下したが, *P. gingivais*ではほとんど変化しなかった。また, 細胞増殖活性に関しては高濃度のチガヤ抽出液では若干の細胞毒性を認めたが, それ以外では細胞増殖活性に変化は認められなかった。以上の結果, イネ科植物根抽出液中に含まれるムギネ酸は抗菌性を有し, 細胞増殖活性に影響を示さないことから, 歯科において有用であることが示唆された。

13. *Veillonella tobetsuensis* 由来Autoinducer- 1 の活性とその部分精製

○真島いづみ¹, 宮川博史², 鎌口有秀², 藤田真理², 中澤 太²

¹北海道医療大学大学院歯学研究科

²北海道医療大学歯学部口腔生物学系微生物学分野

【目的】 歯科の二大疾患であるう蝕と歯周病の原因は口腔バイオフィームであり, その形成開始菌として *Streptococcus* 属, 初期定着菌として *Veillonella* 属が知られている. これまでの研究過程で, 口腔 *Streptococcus* 4 菌種, 口腔 *Veillonella* 6 菌種の全24の組合せの中で, *S. gordonii* と *V. tobetsuensis* の組合せが, 共凝集を起さずに, 最も多くのバイオフィームを形成することを明らかにした. 本研究では, これら両菌種によるバイオフィーム形成が細菌間情報伝達機構により制御されていると考え, *V. tobetsuensis* が細菌間情報伝達物質である Autoinducer- 1 (以下AI- 1) を産生しているかを解析した.

【方法】 対数増殖期末期の *V. tobetsuensis* 培養上清を同量の酢酸エチルで2回抽出し, 濾過後, 濃縮乾固した. これにより得られた濃縮乾固物をエタノールに溶解させたものを培養上清抽出物とした. 培養上清抽出物を薄層クロマトグラフィー (以下TLC) (順相, アセトン:ヘキ

サン=55:45) で展開し, 展開後のTLCに紫外光 (254 nm) を照射して, 発光部分を1~7の画分に分けて割り取った. 得られた各画分を1 mLエタノールで抽出し, 減圧乾燥後, 45 μ Lエタノールに溶解した. 各抽出物に対して, *R. radiobacter* NTL 4 (pZLR 4) をレポーター株としたプレートアッセイを行い, AI- 1の活性の有無を確認した. また吸光度により, その活性を定量した.

【結果と考察】 プレートアッセイの結果, TLC画分4, 5にAI- 1活性が認められた. またそれらを定量し, AI- 1活性を測定した結果, 画分4に最も強いAI- 1活性が認められた. これらの結果から, 対数増殖期末期の *V. tobetsuensis* がAI- 1を産生することが明らかとなり, その部分精製の成功が確認された. 今後はGC-MSを用いて, その構造解析を行うと共に, バイオフィーム形成に対する影響の解析を行う予定である.

14. 飼料性状の違いによるGLP- 1分泌の比較

○菅 悠希, 豊下祥史, 佐々木みづほ, 川西克弥, 會田英紀, 越野 寿
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】 グルカゴンライクペプチド- 1 (GLP- 1) は食事摂取に伴い小腸の腸内分泌細胞であるL細胞から分泌されるホルモンであり, インスリン分泌を促進し, 上昇した血糖を抑制する作用もつ. その調節機構としては血糖値の上昇, 食物による腸管への機械的刺激など様々なものが報告されているが, その中の一つに迷走神経を介した分泌調節機構も報告されている. 今回我々は, 咀嚼が迷走神経を介し, GLP- 1の分泌を上昇させるという仮説の下, 固形飼育飼料または液体飼育飼料の摂取による咀嚼動態の違いが, 血糖値の調整に関与するGLP- 1の分泌へ与える影響について検討した.

【方法】 実験動物には4週齢Wistar系雄性ラット28匹を用いた. 経口・経管両用栄養剤 (エンシュアリキッド, 株式会社明治) を摂取する群 (非咀嚼群) と経口・経管両用栄養剤と同一の栄養成分からなる固形飼料を摂取する群 (咀嚼群) を設定した. 24時間絶食させた後, それぞれの飼料を10kcal/kg摂取させた. 飼料の摂取量が実験条件に満たなかったものは除外した. 飼料摂取開始前, 摂取開始15分後, 30分後, 60分後および90分後に, DPP- 4の阻害剤を添加した採血管を用いて尾静脈より静脈血の採取を行った. 血糖値を測定した後, 血清中の活性型GLP- 1濃度をEnzyme Immuno Kit (EIA) (株式会社免疫生物研究所) を用いてEnzyme-Linked Immuno Sorbent Assayにより測定した. 次に, 咀嚼群, 非咀嚼群の2群を24時間絶食させ, 摂取5分前にアトロピン硫酸塩「タ

ナベ」(田辺三菱製薬株式会社) 0.1g/kgを腹腔内投与し, 飼料摂取開始前, 摂食開始15分後, 30分後, 60分後および90分後にDPP- 4の阻害剤を添加した採血管を用いて尾静脈から静脈血の採血と血糖値の測定を行い, EIAを用いた同様の手法で血清における活性型GLP- 1濃度を測定した.

【結果および考察】 飼料の摂取後の血糖値は両群ともに上昇したが, 摂取前, 摂取後の各時点における血糖値に有意差は認められなかった. 活性型GLP- 1濃度は摂取開始前, 摂取開始15分および60分ではいずれも有意な差は認められなかったが, 摂取開始30分および90分の各時点で非咀嚼群に比較して咀嚼群は有意に高い値を示した. また, アトロピンを用いて迷走神経ブロックを行ったところ, 両群の各時点における血糖値, 活性型GLP- 1濃度に有意差は認められなかった. 上記で認められた有意差が迷走神経をブロックすることによって消失したことから, 咀嚼によるGLP- 1の分泌促進効果は自律神経系を介し, 発現されていると考えられる.

【結論】 本研究から飼料形状による咀嚼動態の違いがGLP- 1の分泌に及ぼす影響について検討を行ったところ, 以下の結論を得た.

1. 非咀嚼群よりも咀嚼群にGLP- 1の分泌濃度が有意に高く認められた.
2. 咀嚼によるGLP- 1分泌促進作用はアトロピンによって阻害された.

15. Effect of type I collagen on MDPC-23 :
an *in vitro* comparative study of collagen derived from porcine skin and tilapia fish scale

○Jia Tang, Takashi Saito

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido

【Purpose】 The purpose of the current study was to compare the effect of tilapia scale collagen and porcine skin collagen on MDPC-23 cell *in vitro*.

【Materials and Methods】 MDPC-23, a rat odontoblast-like cell line, was used. Type I collagen from tilapia scale (T-COL) (Taki chemical, Japan) and from porcine skin (P-COL) (Nitta gelatin, Japan) were used. Cells were inoculated on those collagen coated 35mm tissue culture polystyrene dish. Non-treated plates were taken to be control. Morphology of cell was observed under phase contrast microscopy (19 hours, 44 hours, 3d). Cell number was counted manually by hemocytometer (2d, 3d, 4d). Cell differentiation was evaluated in terms of alkaline phosphatase activity (6d, 8d, 10d) and real time RT-PCR (7d, 10d). Cell mineralization was observed by alizarin red staining (10d) and quantified by Cetylpyridinium Chloride (CPC) extraction. Tukey multiple comparison test was used for statistical analysis.

【Results and Discussion】 T-COL promoted the cell

proliferation on 2d and 3d ($p < 0.05$), while P-COL only promoted the cell proliferation on 2d ($p < 0.05$). ALPase activity was up-regulated on T-COL and P-COL for the three time points ($p < 0.05$). ALP and BSP mRNA expression was slightly enhanced by T-COL and P-COL at 7d without statistical significance. T-COL and P-COL accelerated the mineralization by two-fold to that of control ($p < 0.05$). No significant differences were detected between the two types of collagen in each experiment. Matsumoto (Matsumoto R et al., 2011) reported a five-fold higher ALPase activity of T-COL in comparison to P-COL on human mesenchymal stem cells. The potential reason for inconsistent result obtained in this work to theirs might due to different type of cells used.

【Conclusion】 This study demonstrated T-COL and P-COL both enhanced initial cell proliferation, promoted cell differentiation and mineralization, no significant difference was detected between these two types of type I collagen.

16. LPSで長期刺激されたヒト歯根膜線維芽細胞のtype I, IV, XII collagen Fibronectinのメチル化

○原田文也¹, 高井理衣¹, 宇津宮雅史¹, 中條貴俊¹, 植原 治²,
吉田光希¹, 佐藤 惇¹, 西村学子¹, 千葉逸朗², 安彦善裕¹
¹北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床病理学分野
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

【目的】 DNAメチル化はエピジェネティクスの代表的なものであり、DNAの塩基配列の変位を伴わずに遺伝子の発現が変化する現象である。歯根膜線維芽細胞でのメチル化の変化については不明な点が多い。本研究では *P. gingivalis* 由来LPSでヒト歯根膜線維芽細胞 (HPDLs) を長期に刺激した場合の歯根膜の構成成分である type I collagen (I-collagen), type IV collagen (IV-collagen), type XII collagen (XII-collagen), fibronectin (FN) の発現変化とこれらのプロモーター領域のDNAメチル化解析を行った。

【方法】 HPDLs (LONZA) は10% FBS含有DMEM培地に *P. gingivalis* 由来のLPS (WAKO, ATCC33277) 1 µg/ml を3日毎に添加・無添加を繰り返しながら培地を交換し1~4ヶ月間培養した。コントロールには滅菌水を

添加した。RNA発現解析は培養した細胞からmRNAを抽出し、定量的real-time RT-PCR法 (SYBR Green®) およびRT-PCR法 (KAPA®) により行った。DNAメチル化解析は採取したDNAをBisulfite処理後、定量的Methylation-Specific PCR (MSP) 法 (SYBR Green®) を用いて行った。得られた結果はMann-Whitney U検定にて比較・検討した。

【結果および考察】 LPSの長期刺激により I-collagen, IV-collagen, XII-collagen, FNの発現低下が見られた。これらの遺伝子のプロモーター領域CpG islandにDNA高メチル化が認められた。以上のことから、HPDLsは長期間 *P. gingivalis* 由来のLPS刺激に曝されることによりmRNAの発現低下を生ずるが、これらにはDNAの抗メチル化が関与していることが示唆された。

17. 関節荷重が成長期ラット顎関節に及ぼす影響に関する組織学的観察

○山口 優, 中尾友也, 鳥谷奈保子, 今野 萌, 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】我々は矯正臨床において、整形装置や機能的矯正装置などを用いて直接的、間接的に顎関節の生力学環境を改変することにより下顎骨の成長制御を行っている。したがって、顎関節の生力学的力に対する適応反応のメカニズムを知ることは、矯正臨床において極めて重要な課題である。本研究では、顎関節の反応性を明らかにすることを目的として、成長期ラットの切歯部咬合挙上モデルを用いて顎関節における形態変化について組織学的検討をおこなった。

【方法】(1)生後7週齢の雄性Wistar系ラット(21匹)を用い、顎関節部への関節荷重を増大させるため、上顎切歯部にレジン製咬合板を装着し咬合挙上を行った。実験期間は1, 2, 3週間とし、装置未装着同週齢ラットを対象群として用いた。(2)各実験期間終了後、顎関節を一塊で摘出し、厚さ7umのパラフィン切片を作製した。切片にはH-E染色とToluidine blue染色(pH 4.1)を施

し、組織学的に観察した。

【結果および考察】(1)各群における下顎頭軟骨は、表層から線維層、未分化間葉系細胞層および軟骨細胞層(軟骨細胞層、肥大軟骨細胞層)に区分でき、TB染色では軟骨層で強い染色がみられた。(2)咬合挙上群で線維層の肥厚、未分化間葉系細胞層における細胞密度の減少およびTB染色性の低下が認められた。(3)対照群では、関節円板後方肥厚部下層域に限局して赤紫のメタクロマジーを認めたが、挙上群では関節円板後方肥厚部全域に強いメタクロマジーを認めた。(4)挙上群の顎関節組織において滑膜細胞の増殖、滑膜組織の肥厚、炎症性単核細胞の浸潤は観察されなかった。以上の組織学的変化は、咬合挙上に伴う顎関節部への荷重負荷の亢進に対する顎関節の適応反応と考えられた。

【結論】成長期ラット顎関節組織は、咬合挙上に伴う関節荷重の増大によって変化することが明らかとなった。