

北海道大学歯学部 6 年生

4 8 期生 (2018／2019 年度)

研究実習報告集

[第 20 号]

Research Training Reports

Hokkaido University School of Dental Medicine

北海道大学歯学部48期生研究実習の概要

研究実習実施期間

2018年8月～2019年7月（5年次2学期～6年次1学期）

研究実習発表会

2019年6月14日（金）

実 施 組 織

歯学部長 八若 保孝（小児・障害者歯科学教室）

研究実習連絡会委員長 田村 正人（口腔分子生化学教室）

研究実習連絡会委員

高橋 茂 （口腔機能解剖学教室）

長谷川 智香 （硬組織発生生物学教室）

平井 喜幸 （口腔生理学教室）

佐藤 真理 （口腔分子生化学教室）

赤坂 司 （生体材料工学教室）

東野 史裕 （血管生物分子病理学教室）

安田 元昭 （口腔分子微生物学教室）

吉村 善隆 （薬理学教室）

【口腔機能解剖学教室】

茎突舌骨筋の停止部形態に関する形態学的研究

02140546 中川 悠 (指導教員：土門 卓文)

顔面動脈の屈曲と走行に関する形態学的研究

02144011 熱田 遼 (指導教員：土門 卓文)

大口蓋神経の走行に関する解剖学的研究

02144012 岡崎 史佳 (指導教員：土門 卓文)

ホルマリンへ試料を浸漬するまでの放置時間が組織標本に与える影響

02144018 呉 恵子 (指導教員：高橋 茂)

アルコール浸漬固定における固定時間が組織標本に与える影響について

02144030 松田 捺美 (指導教員：高橋 茂)

舌神経に関する形態学的研究

02144032 渡邊 えりか (指導教員：土門 卓文)

アルコール浸漬固定における固定液濃度が組織標本に与える影響について

02144040 堀 邦嵩 (指導教員：高橋 茂)

【口腔生理学教室】

筋力トレーニングが血圧と心拍数変動に及ぼす影響

02130367 坂下 大知 (指導教員：船橋 誠)

味覚が嚥下量に及ぼす影響

02130992 伊藤 玲衣 (指導教員：船橋 誠)

咀嚼時間が短期記憶能力に及ぼす効果

02134001 青木 俊太 (指導教員：船橋 誠)

加熱式タバコの味覚閾値への影響について

02134005 大竹 俊輝 (指導教員：船橋 誠)

噛みしめが身体の平衡感覚に与える影響

02134006 大塚 友亮 (指導教員：船橋 誠)

小児急性脳疾患の嚥下機能に関する予後予測

02134031 矢後 亮太郎 (指導教員：船橋 誠)

ヒト嚥下量の個人差を生じる生理的機序の考察

02144010 内本 有香 (指導教員：船橋 誠, 平井 喜幸, 久留 和成)

情報の制限による最大筋力の変化について

02144023 小澤 健人 (指導教員：船橋 誠)

条件付け味覚嫌悪により生じるラット結合腕傍核ニューロンの活動変化の再現性

02144034 槌谷 賢太 (指導教員：船橋 誠, 平井 喜幸, 久留 和成)

【硬組織発生生物学教室】

下顎前歯の根尖分岐出現頻度について

02140521 夏山 昌大 (指導教員：山本 恒之)

肥満Ⅱ型糖尿病モデルSDT fattyラットの脛骨及び下顎骨の組織学的検索

02144003 吉田 泰士 (指導教員：網塚 憲生、長谷川 智香)

下顎第一および第二小臼歯の根管形態について

02144020 小西 里奈 (指導教員：山本 恒之)

乳がんの骨転移巣における骨芽細胞・破骨細胞の組織学的検索

02144021 湖口 大地 (指導教員：網塚 憲生、長谷川 智香)

下顎中切歯と側切歯の根管形態について

02144027 小山 拳人 (指導教員：山本 恒之)

乳がんの骨転移巣における骨特異的血管の局在

02144039 藤井 誠 (指導教員：網塚 憲生、長谷川 智香)

上顎小臼歯の根管形態について

02144041 松村 章弘 (指導教員：山本 恒之)

【口腔分子生化学教室】

高負荷のトレーニングによる筋障害と腎障害について

02114021 齊藤 武典 (指導教員：佐藤 真理)

歯周組織再生におけるリグロスの効果に関する臨床研究

02124007 北 昭平 (指導教員：田村 正人)

非外科的歯周治療によるHbA1cの変化

02140417 石井 彩華 (指導教員：田村 正人)

運動方法とプロテイン摂取が骨格筋衛星細胞および筋繊維の成長に及ぼす影響

02140847 信濃 龍二 (指導教員：佐藤 真理)

ゼブラフィッシュの尾ヒレの再生における超音波刺激の影響

02144013 板垣 竜樹 (指導教員：田村-辻 潔美、佐藤 真理)

美白化粧品に含まれる成分とその有効性

02144022 新藤 美郷 (指導教員：田村 正人)

ビタミンB12欠乏症

02144024 西浦 まい (指導教員：田村-辻 潔美)

【生体材料工学教室】

う蝕リスクの軽減を目指したアイスクリーム作成における代替甘味料使用による評価への影響

02140830 増田 愛子 (指導教員：阿部 薫明)

マイクロナノパターン上での破骨細胞分化誘導について

02144001 山下 駿生 (指導教員: 赤坂 司)

各種根管洗浄法の洗浄効果と水酸化カルシウム製剤による水酸化物イオン拡散

02144002 山原 大吾 (指導教員: 八若 保孝、吉田 靖弘)

アパタイトコーティングパターン上における細胞付着について

02144016 菊谷 友希乃 (指導教員: 赤坂 司)

う蝕リスクの軽減を目指した、美味しい牛乳ゼリー作成法の検討

02144026 橋本 結花 (指導教員: 阿部 薫明)

う蝕リスクの軽減を目指した、美味しいプリン作成法の検討

02144028 畑原 理子 (指導教員: 阿部 薫明)

マイクロナノパターン上での破骨細胞の接着について

02144036 富塚 賢弥 (指導教員: 赤坂 司)

【血管生物分子病理学教室】

破骨細胞分化に対する RNA 結合タンパク HuR の役割

02140007 小川 尚博 (指導教員: 東野史裕、松田彩)

腫瘍溶解ウイルスの効果を増強する因子の検討

02144008 岩井 七海 (指導教員: 東野史裕)

マウス皮膚におけるバイグリカンの役割

02144025 小西 大輔 (指導教員: 間石 奈湖、樋田 京子)

【口腔分子微生物学教室】

ヒトケラチン14プロモーターに作用する転写因子の特定

02120134 中村 勇登 (指導教員: 安田 元昭)

持続的な *Candida albicans* 摂取が腸内細菌叢に及ぼす影響～マウスモデルの作成～

02130188 木下 裕里加 (指導教員: 長谷部 晃)

マイコプラズマ由来リポペプチドFSL-1により誘導されるマクロファージからの細胞死によらないIL-1 β 細胞外分泌

02134020 稲田 英里子 (指導教員: 佐伯 歩)

マイコプラズマ由来リポペプチドFSL-1により誘導されるマクロファージからのIL-1 β 細胞外分泌機構

02140109 田渕 絢子 (指導教員: 佐伯 歩)

カンジダの定着による腸内の短鎖脂肪酸産生について

02144007 池田 安沙美 (指導教員: 長谷部 晃)

*Candida albicans*の持続的な摂取が腸管IgAに及ぼす影響について

02144009 浮田 奈穂 (指導教員: 長谷部 晃)

Two Hybrid法によるE1B19KとBNIP3の解析

02144014 岡庭 楓 (指導教員：安田 元昭)

【薬理学教室】

エナジードリンクの暗算作業効率に及ぼす影響

02130939 桜井 優弥 (指導教員：吉村 善隆)

チタン, ジルコニア製インプラントへの細菌付着と抗菌機能付加に関する検討

02140425 小石 桃子 (指導教員：南川 元)

お茶の暗算作業効率に及ぼす影響

02144006 池内 恵里奈 (指導教員：吉村 善隆)

歯根完成永久歯に対する Pulp Revascularization の評価

02144031 高杉 太人 (指導教員：南川 元)

カフェインの暗算作業効率に及ぼす影響

02144037 南保 隼人 (指導教員：吉村 善隆)

茎突舌骨筋の停止部形態に関する形態学的研究

02140546 中川 悠

指導教員：土門卓文（口腔機能解剖学教室）

キーワード：茎突舌骨筋、顎二腹筋

1. 緒 言

茎突舌骨筋の停止部の形態について、河西¹⁾はその部位と位置についてA~Dの4型（A型：茎突舌骨筋の停止部が顎二腹筋中間腱の内側を通る、B型：茎突舌骨筋の停止部が顎舌骨筋の中間腱を挟む、C型：茎突舌骨筋の停止部が顎舌骨筋中間腱の外側を通る、D型：茎突舌骨筋がないもの）に分類し、A型59%、B型39%、C型1%、D型1%であったと報告している。しかしながら、茎突舌骨筋の停止部形態については様々な報告^{2) 3)}があり、その詳細に関してはよくわかっていない。

高橋⁴⁾は解剖体5体を用いて茎突舌骨筋の停止部形態について観察しているが、その症例数は少ない。今回、著者は解剖体7体の左・右側14例を河西¹⁾の報告を参考にして茎突舌骨筋の停止部について調査し、河西の報告と比較し検討を行った。

2. 方 法

北海道大学大学院歯学研究院口腔機能解剖学教室に保管されていた解剖体7体（女性：69、79、83、85、86、88、男性：87歳）のそれぞれ左・右側の頭頸部において茎突舌骨筋を剖出し、合計14例とした。茎突舌骨筋の停止部を目視下で観察し、河西の分類に従って4型分類した。

3. 結 果

A型10例、B型2例、C型2例が観察された。

4. 考 察

今回の結果、解剖体7体（14例）ではA型10例、B型2例、C型2例が観察され、河西の報告と類似していた。森ら²⁾はA型58~89%、B型5~40%、稀にC型があると報告している。上條³⁾はA型87%、B型9%、C型4%、D型0%と報告している。今回の結果は森ら²⁾、上條³⁾の報告とも類似していた。しかしながら、今回の検索は14例のみの結果であったので、茎突舌骨筋の停止部が顎二腹

筋中間腱の内側を通る型の出現頻度に関してはさらなる調査が必要であると思われた。

5. 参考文献

- 1) 河西達夫. 解剖学実習アトラス. 南江堂. 1993
- 2) 森 於菟ら. 分担解剖学1. 金原出版. 1981
- 3) 上條 雍彦. 口腔解剖学 2 筋学. アナトーム社. 1984
- 4) 高橋奏多. 茎突舌骨筋の停止部形態に関する形態学的研究、45期研究実習報告書, p. 4, 2016.

顔面動脈の屈曲と走行に関する形態学的研究

02144011 熱田 遼

指導教員:土門 卓文 (口腔機能解剖学教室)

キーワード:顔面動脈、屈曲、走行

1. 緒言

顔面動脈の屈曲と走行は様々である。山本¹⁾は顔面動脈の屈曲形態について4つに分類し、加齢とともに屈型・強屈型が多く見られるようになると報告している。小林ら²⁾は顔面動脈の走行に関して4つに分類し、眼角部に達していないものが多いと報告している。これら顔面動脈の屈曲や走行について高際³⁾は13体を用いて観察しているが、その症例数は少なく不明な点が多く残っている。今回、著者は解剖体15体の左・右側30例を用いて顔面動脈の屈曲と走行の形態について観察し、山本¹⁾と小林ら²⁾の報告と比較し検討を行った。

2. 方法

北海道大学大学院歯学研究院口腔機能解剖学教室に保管されていた解剖体15体(男性73、82、86、86歳、女性69、77、79、79、83、84、85、87、88、93、95歳)の左・右側の頭頸部30例を観察した。

顔面動脈剖出後、各解剖体において顔面動脈の屈曲と走行の形態を目視下で観察した。顔面動脈の分類は山本¹⁾に、走行は小林ら²⁾の分類に従った。屈曲は、直型(顔面部全長が真っ直ぐ)、軽屈型(顔面部全長がわずかに弯曲)、屈型(顔面部全長が強く屈している)、強屈型(顔面部全長の変化が更に強度なもの)に分類した。

走行は、1型(眼角部に達しないもの)、2型(眼角部に達するもの)、3型(上下唇動脈まで達するもの)、4型(下唇動脈まで達するもの)に分類した。得られた結果は、屈曲と走行の2つに分け、左・右側30面におけるそれらの頻度について検索した。

3. 結果

屈曲型では直型は1例、軽屈型は3例、屈型は5例、強屈型は21例観察された。走行型では1型は9例、2型は16例、3型は4例、4型が1例観察された。

4. 考察

69歳以上の解剖体を用いた本研究において、顔面動脈の屈曲型については、強屈型が30例中21例と、高頻度で観察された。この結果は高際³⁾による加齢に伴い屈型～強屈型が多く見られるという報告と同様である。このことは、加齢に伴い(特に70歳以上)顔面動脈は屈曲した形態になることを示唆している。

顔面動脈の走行型について小林ら²⁾は1型が65%と半数以上の頻度で見られると報告している。本研究では1型が9例、2型が16例、3型は4例、4型が1例観察され、高際³⁾による報告と類似していたが、小林ら²⁾の報告とは異なった結果が得られた。この要因の一つとして観察数が30例と少ないことが考えられる。今後、症例数を増やして1型の出現頻度について更なる調査が必要と思われる。

5. 参考文献

- 1) 山本 章. 顔面動脈浅側頭動脈の解剖学的研究. 第2編 年齢学的形態変化並びに弾性変化に就て, 歯科学報 57:1~23, 1957.
- 2) 小林 茂夫、池野谷達雄、北川 正、太田義邦. 歯学生のための解剖学実習, 南光堂, 1990.
- 3) 高際友里. 顔面動脈の屈曲と走行に関する形態学的研究, 北海道大学歯学 47期生(平成29年度)研究実習論文報告集 14:2, 2018.

大口蓋神経の走行に関する解剖学的研究

02144012 岡崎史佳

指導教員:土門卓文 (口腔機能解剖学教室)

キーワード:大口蓋神経、口蓋棘

1. 諸 言

口蓋領域は歯科臨床において義歯作成・調整等で日常診療の対象となる部位であり、口蓋神経、特に硬口蓋の知覚を支配する大口蓋神経の走行に関しては正確な解剖学的知識が求められる部位である。

国島¹⁾は大口蓋神経の走行を4つに分類し、それらの出現頻度について報告している。この報告例をもとに奈邊²⁾は解剖体 12 体を用いて大口蓋神経の走行について剖出・観察を行っている。しかしながら、これら観察数は決して十分なものではない。今回、著者は解剖体 14 体の左・右側 28 例を用いて口蓋領域を詳細に剖出し、大口蓋神経の走行について肉眼的に観察し、過去の報告と比較・検討を行った。

2. 方 法

北海道大学大学院歯学研究院口腔機能解剖学教室に保管されていた解剖体 14 体(男性 73 歳、82 歳、86 歳、86 歳、女性 69 歳、77 歳、79 歳、84 歳、85 歳、88 歳、93 歳、83 歳、87 歳、95 歳)を用いて、大口蓋神経の走行について観察した。

大口蓋神経は大口蓋孔を出た後、硬口蓋を前走する際に、大口蓋孔の前方にある口蓋棘(骨の隆起部分)によって2分されることが多い。今回、国島¹⁾の分類に従い、大口蓋神経の走行を1～4型に分類した。

3. 結 果

大口蓋神経の走行に関して 1 型は 6 例、2 型は 4 例、3 型は 8 例、4 型は 10 例を示した。

4. 考 察

大口蓋神経の走行について、国島¹⁾は男性・女性ともに左・右側において4型はほとんど観察されないと報告している。今回の結果では、4型に関しては 28 症例中 10 症例が観察された。またその他は1型から4型まで様々であった。この結果は男性・女性ともに国島¹⁾の報告とは異なる結果を示している。この要因の1つとして観察数が 28 例と非常に少ないことが考えられる。今後、症例数を

増やして 4 型の出現頻度について調査すべきと思われる。

本研究で観察した口蓋棘については記載している書籍は少なく、本邦では脇田・山下³⁾の「口腔解剖学」において記載されている。しかしながら、その中でも存在意義について記載はなく、口蓋棘に関しては不明な点が多い。口蓋棘は大口蓋神経が通る骨口蓋の口蓋溝に連続して上顎骨表面で棘状または稜状に隆起した形態を呈し、この溝の間を大口蓋神経が走行している。この形態は神経の両側を骨壁で保護する形になっている。これは上顎骨の眼窩下管、下顎骨の下顎管に類似する形態であることから、口蓋棘が咀嚼による外力から大口蓋神経を保護し、神経への障害を防ぐ役割をもつものと推測される。今後、口蓋棘の形態に関する詳細な報告も必要であろうと考えられる。将来の研究実習に期待したい。

5. 参考文献

- 1) 国島義郎. 口蓋神経の解剖学的研究. 歯科学報 58:1-13, 1958.
- 2) 奈邊祐加. 大口蓋神経の走行に関する解剖学的研究. 北海道大学歯学部6年生 47 期生(平成 28/29 年度)研究実習論文報告集 17:1, 2018.
- 3) 脇田稔、山下靖雄 監修. 口腔解剖学, 医歯薬出版、2009.

ホルマリンへ試料を浸漬するまでの放置時間が組織標本に与える影響

02144018 呉 恵子

指導教員：高橋 茂（口腔機能解剖学教室）

キーワード：肝、顎下腺、放置時間

緒言

固定は組織や細胞の自家融解による腐敗をおさえて、生きていた状態の組織や細胞の種々の構造をとらえるために行われるものである¹⁾。本研究では、固定をするまでの放置時間が組織標本に与える影響を明らかにすることを目的とした。

方法

ジエチルエーテル吸入により、8週齢のWistar系雄性ラット(体重約200g)3匹を安楽死させ、肝と顎下腺を摘出し、各0h、1h、3h、6hあるいは24h蒸留水中に放置した。各時間が経過した後、サンプルを10%中性緩衝ホルマリンに3日間浸漬した。固定終了後、水洗して切り出し、脱水、アルコール除去後、パラフィンに包埋し、薄切した切片にHE染色を行い、顕微鏡で観察した。

結果

採取後放置せず、直ちに固定した肝(0h)では、組織がほぼ一様に染色されており、標本全体にわたり形態良好であった。放置時間が1hから24hになるにつれて、全体的に染色性が低下し、特に標本外側部では著しく低下した。中心静脈付近では、肝細胞の細胞質の染色が不均一になり、境界が不明瞭であった。また、6h及び24hでは、血管内の赤血球は崩壊していた。肝小葉辺縁部では、放置時間が長いほど、肝細胞の染色性は低下し、核質が消失し、細胞が不明瞭になった。また、標本の内側部と外側部では組織像が異なり、外側部の方で肝細胞の崩壊が著しく、細胞間の空隙が大きくなっていた。

放置時間0hの顎下腺では、各種導管や終末部が明瞭に観察できた。線条部細胞の基底線条や導出管周囲にみられる血管や神経の形態も良好であった。顆粒管細胞の顆粒も観察できた。1hでは、0hほど染色性は良好ではないが概ね同様に明瞭に観察できた。放置時間が3h以上になると

導管や終末部周囲に空隙が多くみられるようになった。また標本の内側部と外側部では組織像に違いがみられ、腺房間の空隙は外側部の方が多く観察された。導出管や小葉間導管を構成する細胞は、放置時間が長いほど、境界が不明瞭であり、細胞の配列が乱れていた。線条部の細胞は収縮し、基底線条は不明瞭になっていた。また、介在部の外形は保たれていたが、変形、収縮がみられた。顆粒管は3hで導管細胞の顆粒が消失し、細胞内部が空洞になっていたもののその外形は保存されていた。しかし、24hでは顆粒管の存在が確認できなかった。腺房細胞は、6h以降で分泌顆粒は観察できなくなり、空胞がみられるものが多かった。

表1は、肝と顎下腺の標本の状態を評価したものである。

表1：肝と顎下腺の標本の状態の評価

	肝	顎下腺	
0h	◎	◎	◎：良好
1h	○	○	○：概ね良好
3h	○	△	△：やや不良
6h	△	△	×
24h	×	×	×

考察

本研究の実験結果より、ホルマリンへ試料を浸漬するまでの時間が長ければ長いほど形態不良な標本となることが明らかとなった。生体から切り離された組織は、直ちに変化を示し、自家融解をおこすといわれている²⁾。したがって、放置時間が長いほど組織や細胞の崩壊が進行すると考えられる。本研究で観察された不明瞭な構造、組織の収縮、染色性の低下はこのようなことに起因するのであろう。

参考文献

- 1) 春日 孟,松原 修.新編 臨床検査講座 20 病理学・病理組織細胞学. 医歯薬出版株式会社.P.233,1987
- 2) 佐野 豊.組織学研究法.株式会社 南山堂.P.55,1985

アルコール浸漬固定における固定時間が組織標本に与える影響について

02144030 松田捺美

指導教員：高橋茂（口腔機能解剖学教室）

キーワード：組織標本 固定時間 アルコール

1. 緒言

固定は組織や細胞の自家融解による腐敗をおさえて、生きていた状態になるべく近い状態の組織や細胞の構造をとらえるために行われる¹⁾。本研究は、アルコール浸漬固定における固定時間が組織標本に与える影響を明らかにするために行った。

2. 方法

ジエチルエーテルの吸入により Wistar 系雄性ラット 8 週齢 2 匹を安楽死させ、肝と顎下腺を摘出した。ただちに 50%あるいは 100%のエタノールへ浸漬した。固定時間は 1、2、6、24 時間とした。固定終了後、水洗、切り出しを行い、通法に従って作製したパラフィン切片に HE 染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

3. 結果

肝臓は 50%、100%ともに 1~2 時間固定では、標本の外側部と内側部で像が大きく異なっていた。外側部では肝細胞の存在する密度が低く、広い間隙が生じていた。肝細胞の核、細胞質の染色性は低下していた。内側部では肝細胞の索状配列が比較的明瞭で、核、細胞質ともによく染まっていた。三つ組周囲に空隙が生じ、血管壁が崩壊し管腔内の赤血球の構造が不明瞭になっているものが多かった。6 時間固定では、標本は全体的に亀裂が入っていた。肝細胞の核は染色が薄く不均一であるが、三つ組を構成する細胞の核は濃く均一に染まっていた。24 時間固定では全体として空隙が少なく肝細胞の索状構造は明瞭であった。しかし三つ組みでは細胞の収縮や変形がみられた。

顎下腺は 50%、100%ともにすべての標本において、介在部導管、線条部導管、顆粒性導管は収縮により周囲に空隙が生じていた。また、介在部導管の細胞は変形し核は紡錘形になっていた。線条部導管、顆粒性導管はそれを構成する細胞が著しく変形し、消失しているものも少なくなかった。血管の外形は保たれており、神経細胞は比較的密に

存在していた。また 50%の 1 時間、2 時間固定、100%の 1 時間、6 時間固定では、腺房の収縮により周囲に大きな空隙が生じていたことに加え、腺房が崩壊しているものも多かった。それ以外の固定条件では、腺房は収縮し、その周囲に空隙が生じていたが、細胞の核や顆粒が明瞭に観察された。

作製した標本の状態を 4 段階で評価し、まとめたものが表 1 である。

表 1：各固定時間における組織標本の評価

	肝 50%	肝 100%	顎下腺 50%	顎下腺 100%
1 時間	△	△	×	×
2 時間	△	△	×	△
6 時間	△	△	△	×
24 時間	○	○	△	△

◎：良好 ○：やや良好 △：やや不良 ×：不良

4. 考察

本研究では、固定時間が長くなると標本の質が上がるということが明らかになった。これは長期間固定によりエタノールの組織内への浸透が一樣になった¹⁾ことが理由として考えられる。

また、エタノール固定によって良好な組織標本を得られなかった。これは固定液としてのアルコールは、その強い脱水作用と脂質の溶解によって、特に細胞形質に強い収縮を起こさせた¹⁾ためと考えられる。

5. 参考文献

- 1)佐野 豊. 組織学研究法. 南山堂. 64-65 頁,1985 年

舌神経に関する形態学的研究

02144032 渡邊えりか

指導教員：土門卓文（口腔機能解剖学教室）

キーワード：舌神経、鼓索神経

1. 緒言

下顎神経の枝である舌神経に関して、矢木ら¹⁾はその起始、舌神経と鼓索神経の吻合位置について詳細に報告している。石坂²⁾は12体用いて舌神経の起始、舌神経と鼓索神経の吻合位置を観察し、矢木ら¹⁾の報告と比較し検討を行っているが、その観察数は十分なものではない。今回、著者は解剖体14体を用いてそれらの検討を行った。

2. 方法

北海道大学大学院歯学研究院口腔機能解剖学教室に保管されていた解剖体14体（男性73、82、86、86歳、女性69、77、79、83、84、85、87、88、93、79歳、左・右側、計28例）を用いた。解剖体の観察は舌神経の起始、舌神経と鼓索神経の吻合位置について行った。

舌神経の起始は矢木ら¹⁾の分類型に従い、下顎神経から下歯槽神経と舌神経が分かれる起始を上方型（耳神経節付近）、中間型（耳神経節と下顎孔間の上1/3）、下方型（耳神経節と下顎孔間の中1/3）の3型に分類した。

舌神経と鼓索神経の吻合位置は矢木ら¹⁾の分類型に従い、上1/3型（耳神経節と下顎孔の間の上1/3）、中1/3型（耳神経節と下顎孔の間の中1/3）、下1/3型（耳神経節と下顎孔の間の下1/3）の3型に分類した。

3. 結果

舌神経の起始に関しては25例が上方型を示し、7中間型は2例、下方型は1例であった。

舌神経と鼓索神経の吻合位置については21例が上1/3型を示し、6例が中1/3型を示し、1例が下1/3型を示した。

4. 考察

本研究では舌神経の起始については上方型が28例中25例に観察された。舌神経の起始について、矢木ら¹⁾は上方型と中間型が同程度に、約半数程度の頻度で観察される

と報告している。本研究の結果では上方型のみが多く観察され中間型が2例のみしか観察されなかったことから矢木ら¹⁾の報告とは異なる結果となった。

本研究における舌神経と鼓索神経の吻合位置は上1/3型が28例中21例に観察され、中1/3型が6例観察され、下1/3型は1例であった。矢木ら¹⁾は、上1/3型が55.7%、中1/3型が39.4%で観察されると報告しており、本研究の結果は上1/3型のみが多く観察され、矢木ら¹⁾の報告とは異なる結果となった。

以上の本研究における結果は、矢木ら¹⁾の結果とは大きく異なっている。その原因の一つとして解剖体の被検体数が28例と少なかったことが挙げられる。今後、被検体数を増やしてデーターを正確にしていくことを今後の検討課題としたい。

5. 参考文献

1. 矢木 庄司、渡辺 裕、柳 義文、風馬 照太郎. 日本人下歯槽神経・舌神経の解剖学的研究、口腔解剖研究19, 1961.
2. 石坂 文. 舌神経に関する形態学的研究、北海道大学歯学部6年生46期生（平成27/28年度）研究実習論文報告集 17:2, 2018.

アルコール浸漬固定における固定液濃度が組織標本に与える影響について

02144040 堀 邦嵩

指導教員：高橋 茂（口腔機能解剖学教室）

キーワード：アルコール浸漬固定，濃度，肝，顎下腺

1. 緒言

本研究は、アルコール浸漬固定における固定濃度が組織標本に与える影響を明らかにすることを目的として行った。

2. 方法

8週齢 Wistar 系雄性ラット 2 匹をジエチルエーテル吸入により安楽死させ、肝と顎下腺を摘出し、直ちにエタノールに浸漬し、浸透器にかけた。固定液濃度は 1%, 10%, 50%, 100%、固定時間は 2 時間または 24 時間とし、室温にて固定した。固定終了後、水洗して切り出し、通法に従ってパラフィン包埋した。各ブロックを薄切し、HE 染色を行い光学顕微鏡で各切片を観察した。

3. 結果

肝 2 時間の条件ではいずれの濃度においても組織に大きな間隙が見られた。また、類洞の拡張が認められ、三つ組（小葉間動脈・小葉間静脈・小葉間胆管）および中心静脈にも壁の崩壊や細胞の崩壊が見られた。ただし、濃度が高くなるにつれそれらの傾向は軽減していた。また、1%, 10%の条件においては目立たなかったが、50%, 100%の条件では、組織標本の辺縁部と中央部を比較すると明らかに辺縁部の方が染色は濃く、細胞同士が密であった。逆に中央部は染色が薄く、細胞同士が疎であった。

肝 24 時間では、いずれの濃度でも三つ組および中心静脈の壁を構成する細胞は崩壊していた。加えて 1%, 10%では、肝細胞の索状構造が壊れ、類洞の拡張が著しかった。一方、50%, 100%では、肝細胞索が保たれている部分が見られたり、類洞の拡張が軽度であった。

顎下腺 2 時間の各濃度条件において、小葉間に大きな間隙が認められた。各構造体（終末部・介在部・線条部・小葉間導管など）は収縮し、その周囲に空隙を生じていた。1%, 10%の条件では、線条部の外形は保たれておらず、導管細胞は消失し、痕跡的になっていた。しかし、50%以

上では外形を保つ線条部も少なからず観察された。

顎下腺 24 時間のいずれの濃度条件でも 2 時間の条件と同様に、大きな間隙が見られた。1%, 10%では線条部や終末部で強い収縮が認められ、導管細胞は消失し、痕跡的になっていた。しかし、50%, 100%の条件では腺腔の壁が概ね外形を保っており、染色も良く、分泌顆粒も残存していた。概ね形態良好であった。

標本の状態を 4 段階に分け、表 1 にまとめた。

表 1：各固定液濃度、浸漬時間における組織別標本の評価

	肝		顎下腺	
	2h	24h	2h	24h
1%	×	×	×	×
10%	×	×	×	×
50%	×	△	△	○
100%	×	△	△	○

◎：良好，○：概ね良好，△やや不良，×不良

4. 考察

本研究では、アルコール浸漬固定においては固定液濃度が高いほど良好な標本が得られることが明らかとなった。生体の細胞組織の蛋白質は巨大な蛋白質分子が水と帯電によって流動性のゾルの状態にあるが、固定液によって蛋白分子の周囲にある水分の除去と帯電性の変化のためにゲルの状態に変わる¹⁾。これが固定の原理であるため、濃度が高いほどエタノール分子が組織の蛋白分子に接しやすくなり、良好な結果が得られたのであろうと考えられる。また、2 時間と 24 時間の条件では、24 時間固定のほうが良好な標本が得られた。これは固定液が組織に浸透しやすくなったためであらうと考えられる。

5. 参考文献

1) 春日 孟，松原 修． 新版 臨床検査講座 20 病理学・病理組織細胞学． 医歯薬出版株式会社． 233，1987

筋力トレーニングが血圧と心拍数変動に及ぼす影響

02130367 坂下大知

指導教員：船橋 誠（口腔生理学教室）

キーワード：血圧、心拍数、運動負荷

1. 諸言

日本人のうち約 4000 万人が高血圧症に該当するとされている。これは人口の約 1/3 にも及ぶ。これに関連し、有酸素運動が血圧を下げる効果があるという報告が数多くされているが、それに比べ、筋力トレーニングが血圧に及ぼす影響の報告は少ない。また、過度な荷重でのトレーニングは血圧の上昇を招くので避けた方が良く、との見解もある。そこで本研究では、負荷の異なるトレーニングが、トレーニング直後の血圧と脈拍数に及ぼす影響について追及することとした。

2. 方法

健康成人 5 人（男性 4 名、女性 1 名、23～25 歳）を被験者とした。まず、荷重トレーニング前の被験者の血圧と脈拍を 3 回測定し、その平均値を荷重トレーニング前の血圧と脈拍とした。次に、被験者 5 人のベンチプレスにおける最大挙上重量を測定した。測定した個々の最大挙上重量に応じ、負荷重量と回数を変えてトレーニング直後の血圧と脈拍数の変動を記録した。血圧計にはオムロンデジタル血圧計を用いた。

①（最大挙上重量）× 1 回

②（最大挙上重量の 90%の重量）× 3 回

③（最大挙上重量の 80%の重量）× 10 回

有意水準 $p < 0.016$ とし、Bonferroni 法にて多重比較を行った。

3. 結果

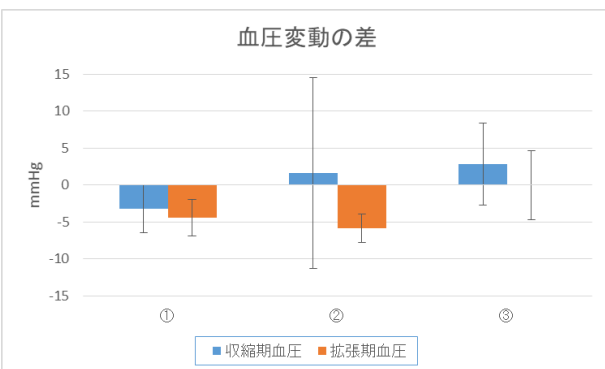


図 1. トレーニング前後の血圧の変動の差(平均値)

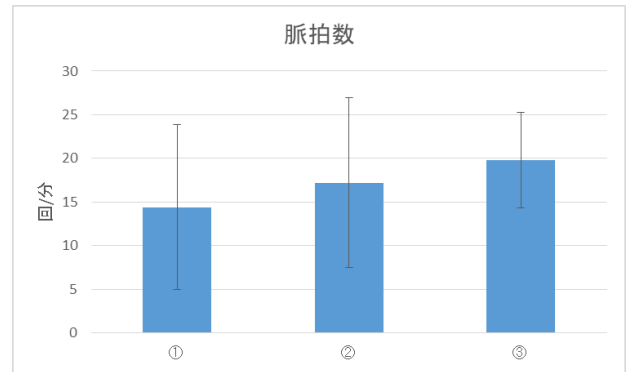


図 2. 脈拍数の変化量(回/分)

Bonferroni法	① vs ②	① vs ③	② vs ③
収縮期血圧	1	0.073131	1
拡張期血圧	1	0.214333	0.282348
脈拍数	0.550701	0.257243	1

表 1. 有意水準は $p < 0.016$ とし、Bonferroni 法を用いて多重比較を行った結果。

今回の実験においては有意差は認められなかったが、収縮期血圧に着目した場合、①と③の条件では、①と比較し③が高くなる傾向がみられた。また、①、②の条件では拡張期血圧が減少する傾向がみられた。脈拍数はどの条件においても上昇がみられ、①<②<③という傾向がみられた。

4. 考察

血圧の調整には大きく二つに分けて、ホルモンによる調節と、神経性調節に分けられる。今回の実験は運動負荷直後の血圧の変動を測定しているため、神経性の調整が大きく関わっていると考えられる。どの条件においても脈拍数が顕著に上昇していることから、交感神経の作動によって、アドレナリン受容体の $\beta 1$ 作用による心機能亢進が起こったと考えられるが、血圧の顕著な上昇はみられなかった。①に比べ③での収縮期血圧の上昇がみられたのは、①より③の方が運動時間が長く、酸素需要量が大きかったことが原因と考えられる。今後は、被験者数を増やし、負荷運動後の経時的な血圧の変化にも注目し実験を重ねたい。

5. 参考文献

標準生理学第 6 版、本郷利憲ほか監修、598 頁、2006 年、医学書院

味覚が嚥下量に及ぼす影響

02130992 伊藤玲衣

指導教員：船橋誠（口腔生理学教室）

キーワード：味覚，嚥下

1. 諸言

炭酸水により咽頭にある感覚受容器が刺激され嚥下量が増加することを報告した先行研究があるが、他の味覚刺激でも嚥下量が変化するか同意かについては不明な点が残されており、これを明らかにすることを目的に本研究を行った。

2. 方法

北海道大学歯学部 of 健康な学生 18 名（女性 13 名、男性 5 名、年齢 20～27 歳）を被験者とした。

まず、座位で正面を向いた姿勢をとらせ、計量した水を一度に嚥下させる方法で、水の量を徐々に増やして、被験者が一度の嚥下で水を嚥下できなくなるまで計測を続け、一回の嚥下で飲める水の最大嚥下量を測定した。

次にスクロース水溶液（8mM）を用いて同様の実験を行い、スクロース水溶液での最大嚥下量を測定した。嚥下量の増減が好みにも関係していることも考慮し、スクロース水溶液の好みも調査した。

水最大嚥下量とスクロース最大嚥下量の差を算出し、被験者の好みとの関係について考察した。統計学的手法としてカイ二乗検定を用い、 $p<0.05$ を有意差ありと判定した。

3. 結果

スクロース溶液の最大嚥下量が水の最大嚥下量よりも増加した人が 12 名（平均増加量 4.08ml）、減少した人が 6 名（平均減少量 6.4ml）であった。各郡のスクロースの味に対する嗜好性の違いを表 1 に示す。

スクロース溶液に変えた場合の最大嚥下量の平均増減量は統計学的に有意差があるとは言えなかった。

次に、被験者の味の好みと最大嚥下量の関係については、スクロースが好きで最大嚥下量が増加した人が 9 名（平均増加量 6.1ml）、減少した人が 3 名（平均減少量 2.0ml）、スクロースが嫌い最大嚥下量が増加した人が 3 名（平均増加量 3.3ml）、減量した人が 3 名（平均減少量 6.1ml）であった。

スクロース最大嚥下量の増減とスクロース溶液の好みについてカイ二乗検定を行ったところ、 $p=0.072$ で、統計学的に有意差を認めた。

表1. スクロース嚥下量の増減と好み(人)			
	好き	嫌い	合計
増加	9	3	12
減少	3	3	6
合計	12	6	18

4. 考察

甘味は最大嚥下量を増加させる要因にはならないが、被験者の味の好みは最大嚥下量を増加させるひとつの要因になると考えられた。

また、今回は甘味のみに焦点を当てて実験を行ったが、今後他の基本味（塩味、苦味、酸味、うま味）でも同様の実験を行い、最大嚥下量の変化を調べたい。

5. 参考文献

吉原翠，竹内千華子，他 5 名「口腔への温度刺激がもたらす嚥下機能への影響」日本顎口腔機能学会雑誌，24 巻 1 号 40-41 項，2017 年 9 月

咀嚼時間が短期記憶能力に及ぼす効果

02134001 青木 俊太

指導教員：船橋 誠（口腔生理学教室）

キーワード：咀嚼，短期記憶

1.緒言

日本では全人口に占める高齢者人口の割合が年々増加し、社会問題となっている。その中で認知症予防に対し様々な方法が示されているが、その一つとして咀嚼運動が認知症予防に対し有効であるという報告が多くされている。咀嚼運動により短期記憶能力が向上することは既に報告されているが、咀嚼運動を行う時間が長いほど、短期記憶能力の向上も大きくなり、認知症予防に対してより有効なのではないかという仮説を立てて、これを検証することを目的として実験を行った。

2.方法

健康成人 10 名（男性 7 名、女性 3 名、年齢 23 歳～28 歳）を被検者とし、被験者をそれぞれ 5 名ずつ無作為に A 群、B 群に分けた。記憶能力の判定は有関係対語、すなわち意味的に関連の深い名詞 10 対をゆっくりとしたペースで読み上げて聴覚的に提示し記憶をさせ、2 分間の休憩の後、先程読み上げた語を再度読み上げ、その語と対をなしていたもう一方の語を想起させ答えさせ、その正答数をスコアとして記録し判定した。ロッチ キシリトールガム ライムミント 1 粒を A 群、B 群にそれぞれ 10 分間、5 分間咀嚼させ、その前後でのスコアの変化について記録をした。スケジュールを以下の図に示す。

A 群：

説明	→	記憶	→	想起	→	咀嚼(10分間)	→	記憶	→	想起
			2分		1分			1分		2分

B 群：

説明	→	記憶	→	想起	→	咀嚼(5分間)	→	記憶	→	想起
			2分		6分			1分		2分

3.結果

A 群	スコア(咀嚼前)	スコア(咀嚼後)	スコア(咀嚼後)-スコア(咀嚼前)
被験者A	10	8	-2
被験者B	7	9	2
被験者C	4	4	0
被験者D	7	9	2
被験者E	8	9	1

B 群	スコア(咀嚼前)	スコア(咀嚼後)	スコア(咀嚼後)-スコア(咀嚼前)
被験者a	5	5	0
被験者b	9	9	0
被験者c	7	9	2
被験者d	9	9	0
被験者e	7	7	0

A 群においては被検者 5 名中 3 名にスコアの上昇がみられ、B 群においては被検者 5 名中 1 名にスコアの上昇がみられた。統計的に有意かを確かめるために、有意水準 5%で両側検定の t 検定を行ったところ、 $t(8)=0.23, p=0.82$ であり、有意差はみられなかった。

4.考察

咀嚼運動により短期記憶能力が向上する傾向がみられ、B 群に比べ、A 群の方がスコアの上昇した被検者が多く、咀嚼運動を行う時間が長い程、短期記憶能力が上昇するという傾向がみられた。

5.参考文献

- 1) 富田美穂子、中村浩二、他 1 名、咀嚼が短期記憶能力に及ぼす効果、口科誌、J.Jpn.Stomatol.Soc.56(4):350~355、September.2007
- 2) 佐藤智子、木浪麻里、他 5 名、咀嚼が一般高齢者の短期記憶に長期的に与える影響、日本ヘルスサポート学会年報、2015 年 2 巻 p11-20

加熱式タバコの味覚閾値への影響について

02134005 大竹 俊輝

指導教員：船橋 誠（口腔生理学教室）

キーワード：喫煙、味覚

1. 諸言

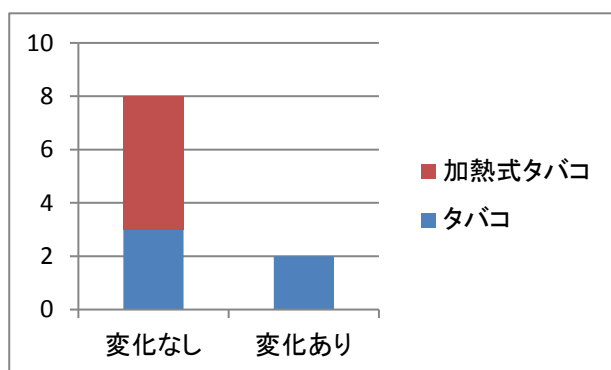
タバコの、喫煙により味覚閾値が高くなる傾向にあること、さらには喫煙直後の呈味過敏性が甘味に影響を与えることが既に報告されている。しかし近年増加している加熱式タバコに関しては、有害物質が従来のタバコよりも少ないとされているが、実際に人体に与える影響については不明である。そのため本研究において、加熱式タバコが味覚閾値に与える影響について明らかにすることを目的として行った。

2. 方法

健常成人 5 人（男性 4 人、女性 1 人、年齢 23～28 歳）を被験者として実験を行った。使用したスクロース溶液（32mM を原液として段階的に蒸留水で希釈する）を用いて喫煙の前と直後における味覚閾値を全口腔法により計測した。各被験者に対して、同じ銘柄の紙タバコと加熱式タバコを吸わせた直後の味覚閾値を計測した。

3. 結果

全被験者において、紙タバコと加熱式タバコを吸った直後に認知閾値の変化は認められなかった。全被験者において、加熱式タバコを吸った直後は検知閾値、認知閾値の両者に変化は見られなかった。しかしながら 2 名の被験者において紙タバコの吸った直後に検知閾値が見られなくなった。検知閾値に関して χ^2 乗検定を行ったところ、 $p=0.1138$ であり有意差があるとは言えなかった。



4. 考察

喫煙習慣による味覚閾値の低下は先行研究で示されていたが、本研究では喫煙直後に計測しており、味覚閾値に変動を及ぼす結果は得られなかった。また検知閾値の変化に関しても有意差が認められなかった。タバコを 1 本吸うだけでは、味覚閾値の変化を与えるほどの影響力がなかった可能性が考えられる。今後は長期的な紙タバコと加熱式タバコの喫煙による味覚閾値の変化を検討する必要があると感じた。

参考文献

1) 蓑原美奈恵 伊藤宜則 その他 3 名 健常成人の味覚識別能に関する研究 喫煙との関連性について 1988 年 43 巻 2 号 p 607-615

噛みしめが身体の平衡感覚に与える影響

02134006 大塚 友亮

指導教員：船橋 誠（口腔生理学教室）

キーワード：咬合、噛みしめ、平衡感覚

1. 緒言

噛みしめによる骨格筋の等尺性運動の増強作用については 1990 年代から研究がなされており、姿勢の安定化作用についても展開されはじめた。¹⁾²⁾ そこで本研究では、噛みしめ時と咬合接触が無い状態及び、前・臼歯の咬合接触関係によって身体の平衡感覚にどのような影響があるかを明らかにすることを目的とした。

2. 方法

健康成人 5 名（男性 3 人、女性 2 人、24~28 歳）を被験者とした。厚さ 4.2mm の割りばしを噛みしめさせることによって咬合挙上を行った。割りばしの本数と位置は、前歯部 1 本、左右側いずれかの犬歯 1 本、両側犬歯 1 本ずつの 4 種類とした。また、上下の歯列が接触していない状態を咬合接触なしの状態とした。各咬合挙上の条件下において、目を閉じた状態での片足立ちの時間を測定した。なお、接地した足がずれる、または浮かせた足が軸足に接した場合はそれまでの時間を計測した。

統計学的解析については、Tukey 法を用いて多重比較を行った。有意水準は $p < 0.05$ とした。

3. 結果

各咬合挙上の条件下における片足立ちの計測時間を示す（図 1）。

咬合状態が無い条件下の片足立ち時間は咬合接触のある条件下よりも長いことが示されたが、統計学的な有意差があるとは言えなかった。

また、咬合接触状態の左右差がある条件下では、左右差のない条件よりも片足立ち時間が短かったが、こちらも統計学的な有意差があるとは言えなかった。

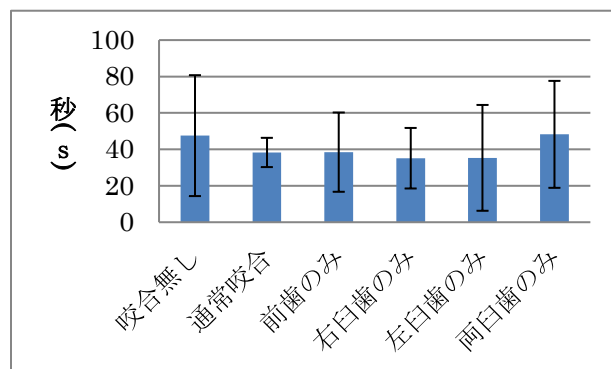


図 1. 各被験者の片足立ちの平均時間
(N=5、エラーバーは標準偏差)

4. 考察

全身運動時においてクレンチングが発揮筋力の向上に寄与している可能性は否定できず、意識的な噛みしめが身体運動能力の向上につながるわけではないという先行文献³⁾の結果が、今回行った姿勢の安定化作用と噛みしめの関係性にも適応できる可能性が出てくる結果となった。

顎位の安定性を発揮することが運動能力に寄与するという先行文献の結果とは異なり、咬合接触のない条件での片足立ちでも有意差が認められなかったが、開口筋及び閉口筋の働きにより下顎位は片足立ちの間、一定に保たれていたのではないかと考えられる。本研究では、厳密に顎位を不安定な状態にすることは難しかったため、今後の課題としたい。

また、今回の研究では咬合挙上を行い、姿勢保持能力について調べたが、一概にある条件が優れているという結果は得られず、被検者間での計測結果の差異が大きかった。これは、個々人において最適な顎位があるためであると考えられた。

5. 参考文献

- 1) Fujino, S., Takahashi, T. and Ueno, T. : Influence of voluntary teeth clenching on the stabilization of postural stance disturbed by electrical stimulation of unilateral lower limb, *Gait Posture*, 31 : 122-125, 2010.
- 2) Ringhof, S., Leibold, T. and Hellmann, D. : Postural stability and the influence of concurrent muscle activation : Beneficial effects of jaw and fist clenching, *Gait posture*, 42 : 598-600, 2015.
- 3) 横山雄一：身体運動時のクレンチングに関する研究, *補綴誌*, 42 : 90-101, 1998.

小児急性脳疾患の嚥下機能に関する予後予測
02134031 矢後 亮太郎
指導教員：船橋 誠（口腔生理学教室）
キーワード：脳血管疾患、摂食嚥下、予後予測

1. 緒言

急性脳疾患では脳の損傷に伴う嚥下障害が生じる。ゆえに急性期の治療が終わっても嚥下障害によって経口摂取が困難な場合があり、嚥下障害へのリハビリテーションの継続が必要とされる。よって早期に嚥下障害へのリハビリテーションの継続が必要となるのかどうか予測できることが望ましい。成人の嚥下障害患者を対象とした予後予測の報告がなされている¹⁾のに対して、小児の嚥下障害についての報告は少なく、小児の嚥下障害の予後を予測した報告は更に少ない。ゆえに今回は小児急性脳疾患の嚥下機能に関する予後予測について調べた。

2. 本論

黒木らは2009年4月から2014年3月までの急性脳疾患による15歳以下の入院患者42名を対象とし、主治医の指示のもと言語聴覚士が意識レベルや口腔器官の運動機能を評価したうえで、RSST、改訂水飲みテスト、水飲みテスト、フードテストといった評価項目から生活年齢および発達年齢を考慮し施行した。すべての対象に元来嚥下障害がなかったことから、生活年齢相応の嚥下機能まで改善していると判断された対象を嚥下リハ終了群、嚥下障害が残存しており嚥下リハビリテーションの継続が必要と判断された対象を嚥下リハ継続群とした。

結果は1つ目「急性期の治療が終了した時点での嚥下リハビリテーションの継続と検討項目の関連」は嚥下リハ終了群と嚥下リハ継続群を比較すると、「GCS 中等症・重症、呼吸器疾患 合併あり、発症前の精神発達遅滞・発達障害あり、湿性 咳嗽・むせありは嚥下リハ終了群に比べ嚥下リハ継続群において該当する対象が多く、有意差が認められた。」とある。2つ目「急性期治療終了時の嚥下機能の予後予測」については「GCS 中等症・重症、呼吸器疾患合併、発症前精神発達遅滞・発達障害、湿性咳嗽・むせの4項目において有意 差が認められた。」とある。最後に「当院退院 1 年後の嚥下機能の追跡調査」では「嚥下リハ継続群の16名のうち12名(75.0%)において米飯・常菜食での経口摂取が可能になり、嚥下障害が軽快していた。退院 1 年後も嚥下障害が残存していた 4 名は、すべての対象が楽しみ程度の経口摂取さえ困難な状態であった。そのうち3名は当院入院中に気管切開を行い、退院から1年経過した時点でも気管切開孔を閉鎖できていなかった。」とある。

3. 考察

小児においてはGCSが重症であるほど嚥下訓練がより必要となる傾向にあるといえる。著者らは「意識障害が中等症・重症の患者では、軽症患者に比べ直接訓練の開始時期が遅れ、嚥下機能回復にも時間がかかるため、嚥下リハビリテーションを継続して行うことが必要であると考え。」と考察している。次に急性脳疾患に呼吸器疾患を合併した場合も同じく嚥下訓練が必要となる可能性が高い。発症前精神発達遅滞については個人的には嚥下訓練を行うこと自体が困難であるために予後が不良となる

傾向にあるのではないかと考えた。湿性咳嗽・むせは嚥下障害をもつ患者で頻繁に確認される所見であり、嚥下の5段階のうち口腔期、咽頭期、食道期いずれかあるいは複数に支障をきたしている徴候ととれる。以上のことよりGCS 中等症・重症、呼吸器疾患合併、発症前精神発達遅滞・発達障害、湿性咳嗽・むせの4項目が急性脳疾患の小児における嚥下機能の予後予測の因子として有用であると考えられる。小児においてはBIなどはそもそも用いること自体が困難であるという現実的な事情も垣間見えた。発達障害などの要因が予後に大きく関わってくることが興味深いと思った。

4. 参考文献

- 1) 池寄寛人，原修一，清永紗知，黒木はるか，立野伸一，急性期脳梗塞および脳出血における嚥下障害の予後予測，日摂食嚥下リハ会誌 18 (3)：229-238, 2014
- 2) 黒木はるか，池寄寛人，清永紗知，大道奈央，蓑田健太，立野伸一，急性脳疾患の小児における嚥下機能の予後予測，日本口腔リハビリテーション学会雑誌 20 卷 3 号 124

ヒト嚥下量の個人差を生じる生理的機序の考察

02144010 内本有香

指導教員：船橋誠，平井喜幸，久留和成（口腔生理学教室）

キーワード：通常嚥下量，最大嚥下量，舌圧，口腔容量

1. 緒言

ヒトの通常嚥下量について、年齢、最大舌圧などとの関連性が指摘されている。しかし、強制嚥下による一回最大量（以下最大嚥下量とする）については報告されておらず、本研究ではまずこれらの測定を行った。そのデータから最大嚥下量と通常嚥下量には著しい個人差が認められたため、各人におけるこれらの量を決定する生理的機序について明らかにするために実験を行った。

2. 方法

被験者は北海道大学歯学部健康な学生 31 名（男性 13 名、女性 18 名、年齢 21～31 才）とした。各被験者にコップを用いて任意の量の水を座位で正面を向かせた状態で一度に嚥下させ、嚥下可能な最大量（最大嚥下量）を測定した。また、上述と同じ姿勢で自由に 1 回嚥下させた場合の飲水量を通常嚥下量として測定した。口に含むことのできる最大量を計測し、口腔容量とした。自作の圧力計を用い、チューブで作成した舌圧端子を舌と口蓋の間に挟ませた状態で、空嚥下時舌圧、最大舌圧、水嚥下時舌圧を計測した。測定は全て同日または異なる日に三回行い、データを集計して各計測項目の中央値を求めた。統計学的手法として t 検定およびピアソンの相関係数を用いた。

3. 結果

図 1 に示すように、通常嚥下量、最大嚥下量、口腔容量において男女の間には有意な差を認めた。

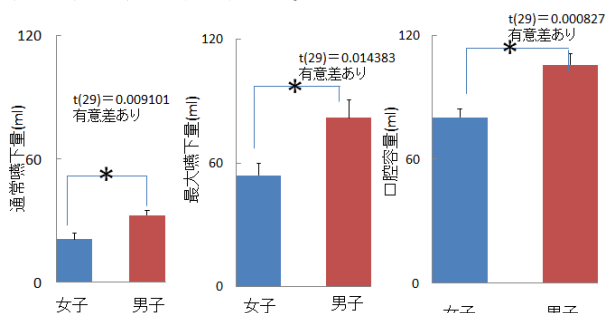


図 1 通常嚥下量・最大嚥下量・口腔容量の男女差

最大嚥下量と口腔容量の間には有意な相関を認めた（図 2A）。最大嚥下量と舌圧の間には相関がみられなかった。（図 2B）。

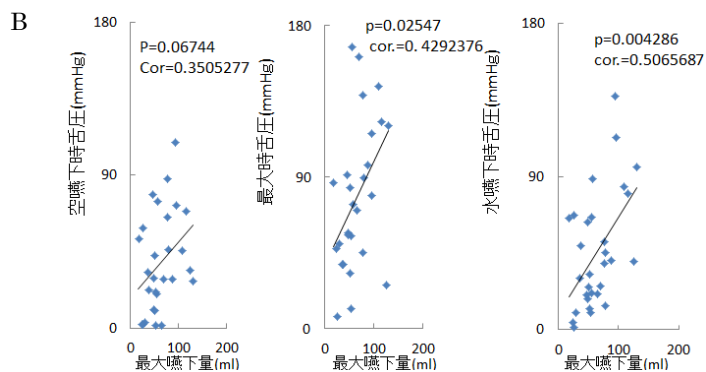
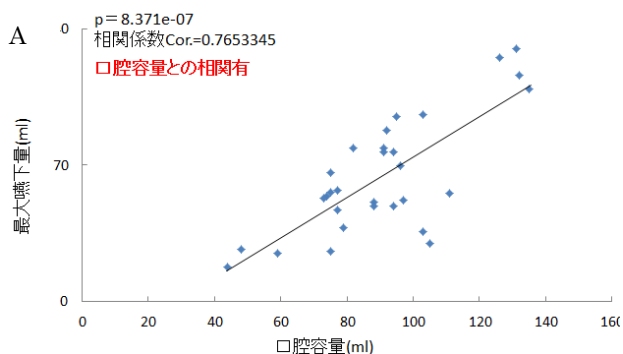


図 2 最大嚥下量と口腔容量および舌圧との関係

A, 最大嚥下量と口腔容量との相関図, B, 最大嚥下量と口腔容量との相関図

通常嚥下量と口腔容量の間には有意な差が認められた（図 3A）。

通常嚥下量と水嚥下時舌圧の間には有意な相関が認められたが、その他の舌圧との関係には有意な相関は無かった（図 3B）。

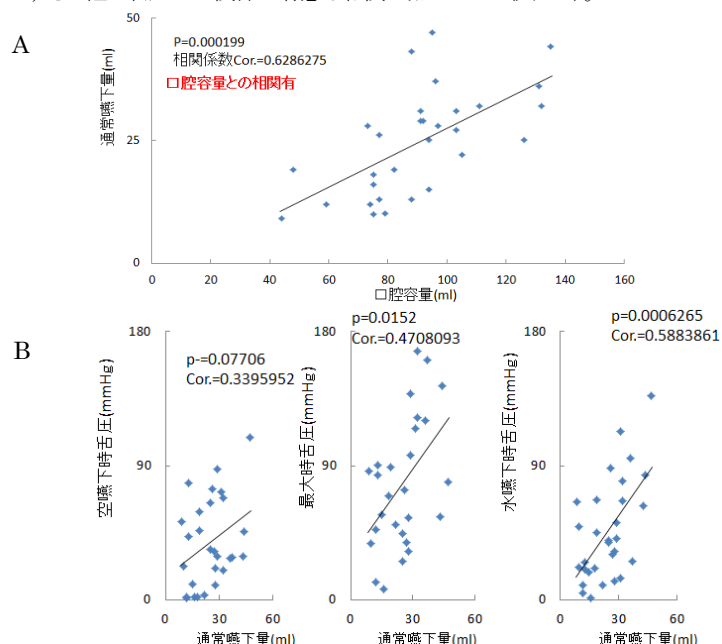


図 3 通常嚥下量と口腔容量および舌圧との関係

A, 通常嚥下量と口腔容量との相関図, B, 通常嚥下量と口腔容量との相関図

4. 考察

先行研究で口腔容量と通常嚥下量には男女差があることが示されており、本研究により最大嚥下量にも男女差があることが示された。本研究においては先行研究と異なり、最大舌圧と通常嚥下量との間に相関有意な相関を認めず、また最大舌圧については先行研究と比較して小さい値となった。この原因として、本研究では自作の圧力計を用いたため、測定部位が咽頭に近い部分であったことが考えられる。今後、嚥下研究においては、舌圧の測定部位について検討する必要があると感じた。

口腔容量と最大嚥下量、通常嚥下量との間に有意な相関が認められたことから、口腔容量の大きい被験者は嚥下時の口腔容量の変化量が多い可能性や、口腔容量と相関して解剖学的に他の部位の大きさが大きく、その為に嚥下量が多い可能性も考えられた。今後の課題として、口腔容量の変化量を測定するなどして、より嚥下量調節のメカニズムを明らかにしていきたい。

情報の制限による最大筋力の変化について

02144023 小澤 健人

指導教員：船橋 誠（口腔生理学教室）

キーワード：生理的限界、心理的限界、最大筋

1.緒言

猪飼氏らによると、人の最大筋力を決定するものは筋の横断面積という構造的要素と筋を支配する運動単位の興奮状態という機能的要素とがあるとしている。そして、構造的要素によって決まる筋力の上限を生理的限界、機能的要素によるものを心理的限界と名付けた。心理的限界は生理学的限界の 70%程度と考えられており、その時に発揮される最大筋力はその時の心理的限界を決定する条件によって変化するとされる。本研究ではベンチプレス挙上時に発揮される最大筋力に着目して被験者が挙上する重量の情報を制限されることが、心理的限界に影響を与えるか否か明らかにすることを目的とした。

2.方法

健康成人男子 6 名（年齢 23～25 歳）を被験者としてベンチプレス挙上最大重量の測定を行った。（表 1）その後被験者には挙上重量を知らせず、無作為の順番で最大重量、最大重量±2.5 k g の重量の三回挙上するように伝え、その挙上の可否を記録した。また今回の実験にあたって 2.5 k g の重量の増減が被験者に与える影響を同等にするため被験者は挙上最大重量 70 k g ±5 k g のものを選抜した。

3.結果

6 名中 3 名が最大重量+2.5 k g の重量を挙上することに成功した。また、最大重量、最大重量－2.5 k g の挙上には 6 名全員が成功した。（表 2）

4.考察

先行研究では自ら掛け声を発しつつ筋力を発揮したり、ピストル音を聞かされるなどすることで心理的限界が生理的限界に接近する例があったが、情報の制限が心理的限界に影響を与えるか否かについてはさらに比較検討が必要であった。

	60k g	62.5k g	65k g	67.5k g	70k g	72.5k g	75k g
a	○	○	○	×	×	×	×
b	○	○	○	○	○	×	×
c	○	○	○	○	○	×	×
d	○	○	○	○	○	×	×
e	○	○	○	○	○	○	×
f	○	○	○	○	○	○	×

（表 1）被験者（a～f）と最大挙上重量の測定結果

測定結果	最大挙上重量 -2.5 k g	最大挙上重量	最大挙上重量 +2.5 k g
65 k g	○	○	○
70 k g	○	○	×
70 k g	○	○	○
70 k g	○	○	○
72.5 k g	○	○	×
72.5 k g	○	○	×

（表 2）情報制限時における被験者の挙上最大重量及び最大重量±2.5 k g の重量の挙上結果

5.参考文献

1)猪飼道夫、石井喜八：筋力の生理的限界と心理的限界の筋電図学的研究 体育学的研究 5（4）、154・165 1961

条件付け味覚嫌悪により生じるラット結合腕傍核ニューロンの活動変化の再現性

02144034 樋谷賢太

指導教員:船橋誠、平井喜幸、久留和成（口腔生理学教室）

キーワード:味覚嫌悪学習(CTA)、結合腕傍核(PBN)、c-Fos タンパク、サッカリン、LiCl

1. 緒言

結合腕傍核(PBN)はラットをはじめとした齧歯類の味覚の第二次中継核である。ラットが条件付け味覚嫌悪(CTA)を獲得すると、PBN において味質応答性ニューロンの局在に変化が生じることが報告されている。本研究はこの現象の再現性を調べ、CTA 獲得に伴う PBN ニューロンの味質応答の変化について考察し、今後の研究に資することを目的とした。

2. 方法

Wister 系ラットに 1 日 20 時間の絶水を 7 日間毎日行い、飲水スケジュールを学習させた後、条件刺激として 0.1%サッカリン (20 分間呈示)、無条件刺激として内臓不快感を惹起する LiCl の腹腔内投与を行い、CTA を獲得させた。その二時間後に麻酔下で灌流固定を行い、凍結マイクロームにて薄切切片を作製し、免疫染色により c-Fos タンパク陽性細胞を同定して、局在部位を解析した。

3. 結果・考察

味覚条件付けなしのラットではサッカリン摂取後に PBN の背側外側亜核(dls)に多数の c-fos 陽性細胞が認められた(図 1)。一方、CTA 獲得ラットでは外部外側亜核(els)で c-fos 陽性細胞が多く認められた。

この結果からサッカリンに応答する一次ニューロ

ンの PBN における投射部位が、条件付けによって嗜好性味覚情報が投射する dls から、嫌悪性味覚情報が投射する els に局在が変化することの再現性を確認することができた(図 2)。今後は甘味以外の味覚刺激についても同様にこの現象が起こるのか調べたい。

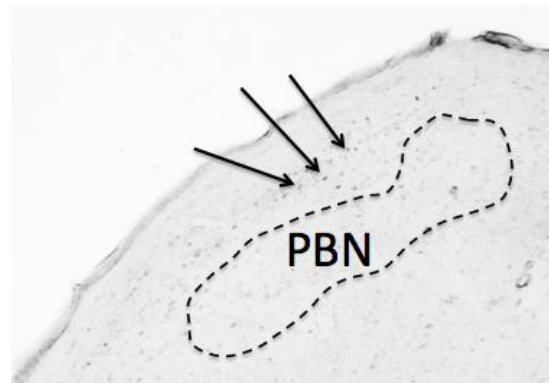


図 1:CTA を獲得しなかったラットにおけるサッカリン摂取時の c-fos の発現(矢印は dls に発現している c-fos 陽性細胞を示す)

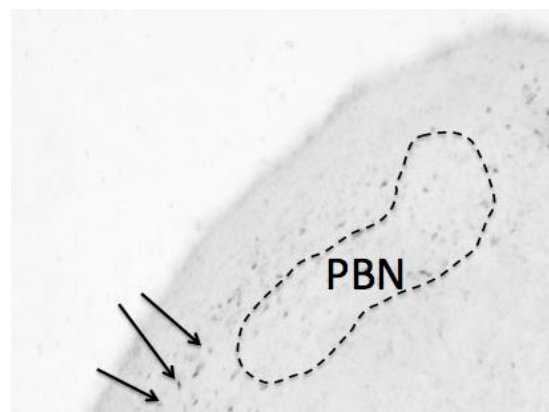


図 2:CTA を獲得したラットにおけるサッカリンを摂取時の c-fos の発現(矢印は els に発現している c-fos 陽性細胞を示す)

4. 参考文献

Yamamoto,T.,Shimura,T. et al. (1992)
c-fos expression in the rat brain after
intraperitoneal injection lithium
chloride.NeuroReport,3:1049-1052

下顎前歯の根尖分岐出現頻度について

02140521 夏山昌大

指導教員：山本恒之（硬組織発生生物学教室）

キーワード：透明標本、根管形態、根尖分岐

諸言

根管治療しようとする歯の根管形態を予め知ることができれば、よりの確な治療を行うことが可能である。残念ながら、実際は文献、書物、経験などから根管形態を推測して治療しているのが実情である。多数の透明標本を作製し根管形態を観察することで、多様な根管形態のなかにもある一定の規則性のようなものが発見できるかもしれない、そうすれば将来の根管治療に活かせるかもしれない、という思いから本研究を立案した。根管形態のうち下顎前歯（中切歯、側切歯、犬歯）の根尖分岐に着目した。

材料と方法

北海道大学歯学部硬組織発生生物学教室所有の 10%ホルマリン溶液中に保存してあった根面に齶蝕がない完成した下顎中切歯、下顎側切歯、下顎犬歯の右側・左側、それぞれ 25 本、計 150 本を材料とした。なお、提供者の年齢、性別等は不明であった。60°C、24%水酸化ナトリウム水溶液に 30 分浸漬し、歯牙表面の軟組織を除去した。5%ギ酸水溶液で 4-5 週間脱灰した。墨汁とともに歯牙をビーカーに入れて真空チャンバー内に置き、真空ポンプを用いて 30 分間陰圧にして根管内に墨汁を流入させた。70、80、90、100%、および無水アルコールの順に 1 日ずつ脱水した後、サリチル酸メチルに 4 日間浸漬し透明化した。次いで、スチレンモノマーに 4 日間、スチレンモノマーとポリエステルレジン（Rigolac-2004）の 1 : 1 混合液に 4 日間、ポリエステルレジンに 2 日間、0.3%ベンゾインを加えたポリエステルレジンに 2 日間浸漬した。重合前に筆で標本表面の余剰なレジンを拭き取り、紫外線重合器で 1 日間重合した。

結果

前歯の根尖セメント質の平均的な厚さが 1.0mm であることから、根尖から 1.0mm 以内で分岐する根管を根尖分岐と定義した¹⁾。以上の定義から、本研究においては下顎中切歯に 47 本中 10 本 (21.8%)、下顎側切歯に 48 本中 5 本 (10.4%)、下顎犬歯に 45 本中 8 本 (17.8%) の根尖分岐が出現した。なお、墨汁流入が不十分などの理由で根尖分岐を観察できなかった歯牙は対象から外した。

考察

参考文献より引用した下顎前歯の根尖分岐の出現頻度を以下の表に示す^{2,3,4,5)}。

表 1：本研究と過去の文献における根尖分岐の頻度

単位：%	下顎中切歯	下顎側切歯	下顎犬歯
本研究	21.8	10.4	17.8
赤井 ²⁾	20.2	12.9	18.1
岡崎 ³⁾	4.1	13.6	
砂田 ⁴⁾	23.1	15.5	21.5
月星 ⁵⁾	14.8	23.3	17.9

本研究では、歯牙別の出現頻度の順位は高い方から中切歯、犬歯、側切歯となり、赤井²⁾、および砂田⁴⁾のもと一致した。個々の歯牙の頻度は赤井²⁾のものと近似していたものの、その他には特筆するような一貫性、規則性のような点は認められなかった。各研究でばらつきが多かった理由として、1) 各文献で根尖分岐の定義が記載されておらず不明確である、2) 十分な信頼度が得られるような標本数ではない可能性がある、3) 観察方法が不明なものがある、4) すべての研究において歯牙提供者の年齢が不明であり、根尖分岐の出現に対する加齢変化の影響が無視できない⁴⁾、などが挙げられる。研究結果の信頼度を高めるには、上記の問題を改善する必要がある。

過去の研究との比較に關しての考察はできなかったものの、下顎前歯における根尖分岐は一定の高い割合 (10-20%) で出現することを実際に自分の目で確認することができた。また根尖分岐以外にも、単根でも複雑な根管形態が存在することを観察できた。歯科医師になり根管治療を行うときに、この研究実習を糧にして臨みたい。

参考文献

- 1) 前田良子：「上顎犬歯の根管形態について」41 期生（平成 23/24 年度）研究実習論文報告集 p.51-52、2013
- 2) 歯の解剖学入門 赤井三千男 p.163、1990 医歯薬出版、東京
- 3) 岡崎史枝：「下顎中切歯・側切歯の側枝と根尖分岐について」43 期生（平成 25/26 年度）研究実習論文報告集 p.24、2014
- 4) 月星光博：カラーアトラス 治療の歯内療法、p.54、2000 クインテッセンス、東京
- 5) 砂田今男、長田 保：最新歯内治療アトラス、p.114、1992 医歯薬出版、東京

肥満Ⅱ型糖尿病モデル SDT fatty ラットの脛骨及び下顎骨の組織学的検索

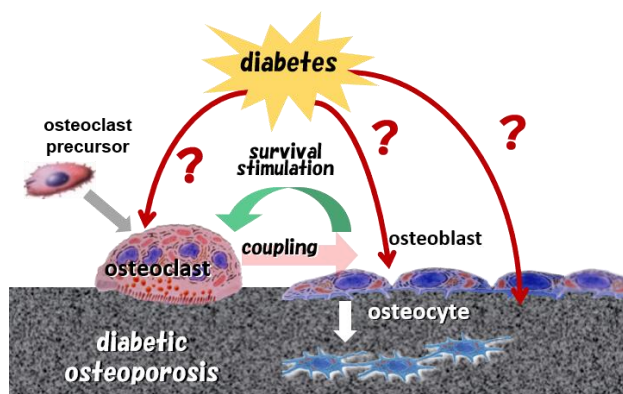
02144003 吉田泰士

指導教員：網塚憲生、長谷川智香（硬組織発生生物学教室）

キーワード：骨代謝、骨粗鬆症、歯周病、糖尿病

1. 緒言

我が国では、超高齢化社会に伴う生活習慣病、特に、糖尿病患者が増加している。糖尿病の合併症には、糖尿病性腎症、網膜症、神経障害のほか、糖尿病性骨粗鬆症、易感染性に伴う歯周病が挙げられ、患者の QOL や生命予後に大きく影響を及ぼすことが知られている。しかしながら、いまだ糖尿病性骨粗鬆症や糖尿病に付随する歯周炎の詳細な病理組織学については明らかにされていない。そこで、Ⅱ型糖尿病の合併症として生じる糖尿病性骨粗鬆症や歯周病の病理組織学的な解明の一助として、重篤なⅡ型糖尿病を発症する SDT fatty ラットと、コントロールの SD ラットを、非感染部位である脛骨、及び感染部位である歯周組織にわけて、組織化学的に検索した。



2. 方法

42 週齢の雄性 SDT fatty ラット、およびコントロール群として同週齢の SD ラットを採血後、4%PFA にて灌流固定し、脛骨と下顎骨を摘出した。その後、マイクロ CT 解析、HE 染色、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色、鍍銀染色、von Kossa 染色、およびアルカリホスファターゼ (ALP) オステオポンチン、DMP-1、コンドロイチン 4 硫酸、終末糖化産物 (AGE)、ED1、カテプシン K および MMP9 の免疫組織化学を行った。

3-1. 結果① 脛骨 (非感染部位)

HE 染色像では、SD ラットおよび SDT fatty ラットの脛骨骨幹端のいずれにおいても、多数の骨梁が認められたが、マイクロ CT 像では、SDT fatty ラットの骨幹端骨梁の数や幅が著明に減少していた。ALP 陽性骨芽細胞や TRAP 陽性破骨細胞の数および局在は、SD ラットと SDT fatty ラットで大きな違いを示さなかった。

しかし、SDT fatty ラットの骨基質には広範囲な未石灰化領域が形成されており、そこには多くの骨細胞が局在していた。また、骨細胞ネットワークである骨細胞・骨細管系は不連続を示し、骨細管や細胞突起の連結性低下が示唆された。さらに石灰化抑制に作用する DMP1 やインスリン分泌に関与するオステオカルシンが過剰に蓄積するコンドロイチン 4 硫酸の減少が観察された。

また、SDT fatty ラットでは、SD ラットと比較して、終末糖化産物 (AGE) が骨髄や骨外膜の細胞で強陽性を呈していた。

3-2. 結果② 歯周組織 (感染部位)

SDT fatty ラットの下顎骨は、SD ラットと比較して、長軸方向に短縮する傾向が認められ、臼歯咬合面には大きな窩が存在した。マイクロ CT 像から SDT fatty ラット第一臼歯歯根周囲の歯槽骨は著明に吸収していた。SD ラットにおける第一臼歯および周囲の歯周組織の HE 染色像を観察すると、歯根を取り囲むように歯槽骨が認められ、歯根と歯槽骨は歯根膜で連結していた。

ところが、SDT fatty ラットでは、根間中隔の領域で著しい歯槽骨の吸収が認められ、歯根膜がほとんど観察されなかった。また、上皮組織が根尖部深くまで侵入しており、歯髄やセメント質には多数の細菌塊が認められた。

免疫組織化学の結果、SDT fatty ラットでは、多数の TRAP/ED1 陽性破骨細胞が鋸歯状の歯槽骨表面に存在しており、基質分解酵素である MMP9 を強発現させていた。また、同部位には、多数の ED1 陽性マクロファージも観察された。さらに、このような骨表面には厚い ALP 強陽性骨芽細胞系細胞が観察された。

同部位の歯槽骨内部には、SD ラットと比較して、多数のオステオポンチン陽性セメントラインが観察された。オステオポンチンは、骨改造で形成されたセメントライン (新しい骨と古い骨との境界面) に多量に局在することから、SDT fatty ラットの歯槽骨は高骨代謝回転状態にあることが推測された。

4. 考察

非感染性部位である脛骨では、骨芽細胞や破骨細胞よりも、むしろ、骨細胞・骨細管系の機能破綻による「骨質」の低下をきたしている可能性が推測される。

歯周組織では、重度の細菌感染が生じるだけでなく、これに伴う破骨細胞の機能亢進が生じることで、著しい歯槽骨の吸収が進行すると推測される。

以上より、糖尿病では、骨質の低下を伴う骨の組織学的な異常が惹起され、これらの異常は細菌感染により増悪することが示唆された。

下顎第一および第二小臼歯の根管形態について

02144020 小西里奈

指導教員：山本恒之（硬組織発生生物学教室）

キーワード：下顎小臼歯、根管形態、透明標本

緒言

臨床歯科医学の基礎を成す根管治療を的確に行うためには根管形態についての知識は重要である。特定の歯種、たとえば上下顎大臼歯や上顎小臼歯の根管形態についての説明や解説はよく目にするものの、下顎小臼歯の根管形態については比較的少ない。そこで、本研究実習を機に、下顎第一、第二小臼歯の根管形態について透明標本法により観察し両者の根管形態の比較を試みた。

材料と方法

北海道大学歯学部硬組織発生生物学教室所有の 10%ホルマリン溶液中に保存されていた、根面に齶蝕のない下顎第一小臼歯（右 25 本、左 25 本）と下顎第二小臼歯（右 24 本、左 23 本）を使用した。60℃、24%NaOH 水溶液に 30 分浸漬し、歯ブラシで刷掃して軟組織を除去した。5%蟻酸水溶液で 5 週間脱灰した後、ピーカーに墨汁と標本を入れ、ガラスチャンバー内に置き、真空ポンプにて陰圧を利用して根管内に墨汁を浸透させた。歯ブラシで清掃後、70%、80%、90%、100%、無水アルコールで各 1 日ずつ脱水した。サリチル酸メチルに 4 日浸漬し標本を透明にした後、スチレンモノマーに 4 日間、スチレンモノマーとポリエステルレジンとの 1:1 混合液に 4 日間、ポリエステルレジンに 2 日間、0.3%ベンゾインを加えたポリエステルレジンに 2 日間浸漬し、標本にレジンを経浸透させた。筆で余剰なレジンをはき取り紫外線重合器で 1 日間重合した。

結果

根管形態を分岐状態から以下の 3 種類に分類した。

- 1、単純根管：1 本の根管が 1 つの根尖孔に開孔するもの
- 2、完全分岐根管：2 本の根管が 2 つ以上の根尖孔に開孔するもの
- 3、不完全分岐根管：2 本の根管が合流し 1 つの根尖孔に開孔するもの

各根管形態の出現本数と頻度を表 1、表 2 に示す。

表 1：下顎第一小臼歯

	右	左	計
単純根管	15 (60%)	16 (70%)	31 (65%)
完全分岐根管	8 (32%)	5 (22%)	13 (27%)
不完全分岐根管	2 (8%)	2 (9%)	4 (8%)

表 2：下顎第二小臼歯

	右	左	計
単純根管	23 (100%)	15 (71%)	38 (86%)
完全分岐根管	0 (0%)	4 (19%)	4 (9%)
不完全分岐根管	0 (0%)	2 (10%)	2 (5%)

考察

本研究や後述する過去の研究でも抜歯に至った経緯や提供者の年齢は不明である。加齢による二次象牙質の形成や局所的な修復象牙質の添加により、単純根管は近遠心的に圧平され不完全分岐根管に移行するとされる。したがって、単純根管と不完全分岐根管を比較しても無意味であるため、①単純根管+不完全分岐根管と②完全分岐根管の二つに分けて考察する。

本研究

下顎第一小臼歯：①73%、②27%

下顎第二小臼歯：①91%、②9%

歯の解剖学入門（赤井¹⁾）：

下顎第一小臼歯：①96.4%、②3.6%

下顎第二小臼歯：①99.1%、②0.9%

塩越²⁾：

下顎第一小臼歯：①90.5%、②9.5%（標本数 63 本）

下顎第二小臼歯：①100%、②0%（同 57 本）

生駒³⁾

下顎第一小臼歯：①88.4%、②11.6%（同 123 本）

他の研究と同様に、下顎第一小臼歯の方が下顎第二小臼歯よりも完全分岐根管の出現頻度が多かった。しかしながら、本研究では下顎第一小臼歯で①がかなり低く算出された。下顎第二小臼歯に関しては他の研究結果と近似しているので、標本数の少なさが理由とは考えにくい。この理由について考察することはできなかった。

下顎第一小臼歯においては、近心根面の溝や凹みと完全分岐根管との相関が認められるのが明らかにされている²⁾。機会があればその点にも注目して観察してみたい。

今回の研究実習において、下顎の第一、第二小臼歯に分岐根管が存在することを実際に自分自身の目で確認できた。今後の臨床に役立ててゆけると思う。

参考文献

- 1) 歯の解剖学入門 赤井三千男 p.163、1990 医歯薬出版 東京
- 2) 塩越久子「下顎第一および第二小臼歯の根管形態について」34 期生(平成 16/17 年度)研究実習論文報告集 P.61~65: 2005
- 3) 生駒朋子「下顎第一小臼歯の根管形態について」39 期生(平成 21/22 年度)研究実習論文報告集 P.39~40: 2010

乳がんの骨転移巣における骨芽細胞・破骨細胞の組織学的検索

02144021 湖口 大地

指導教員：網塚憲生、長谷川智香（硬組織発生物学教室）

キーワード：乳がん、骨転移、骨芽細胞、破骨細胞

1. 緒言

癌の骨転移は骨痛、骨折、麻痺・しびれ、高カルシウム血症などの有害事象が併発する。特に、乳がんは骨転移の頻度が最も高く、転移巣での骨吸収を誘導する。今回、乳がんの骨転移モデルを用いて、骨転移巣における骨芽細胞や破骨細胞の挙動を組織化学的に検索した。

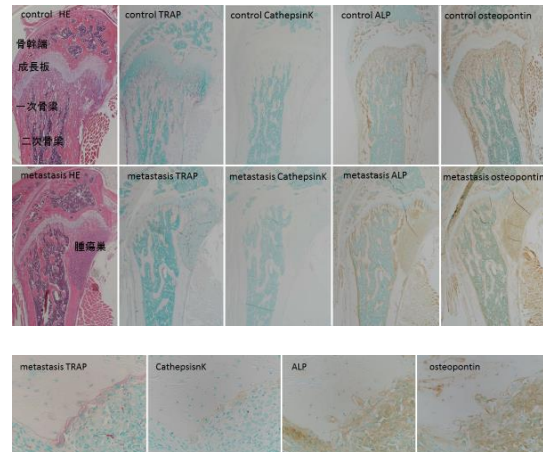
2. 方法

生後4週齢雌性 *nu/nu* マウスにMDA-MB-231 ヒト乳がん細胞を心臓注入し、乳がんの骨転移モデルを作製した。大腿骨への転移を軟エックス線で確認して、4%パラホルムアルデヒド溶液で還流固定後、通法にてEDTA脱灰し、パラフィン包埋および厚さ5 μ mのパラフィン切片を薄切した（ここまでの過程は、動物実験講習未受講のため、硬組織発生物学教室横山亜矢子先生の手技を見学させていただいた）。これらパラフィン切片を用いて、HE染色、酒石酸抵抗性酸性フォスファターゼ（TRAP）酵素組織化学、および、TNALP, Cathepsin K, osteopontinの免疫組織化学を行った。

3. 結果

低倍でHE染色像を観察すると、MDA-MB-231細胞を心臓注入したマウスの成長板直下に大きな腫瘍巣の形成を認めた。腫瘍巣周囲を高倍で観察すると赤色で染色されたTRAP陽性破骨細胞、ならびに、茶色のCathepsin K陽性破骨細胞を認めた。また、腫瘍と接する骨基質内部に、茶色で示される

osteopontin陽性セメントラインが認められた。また、腫瘍巣周囲の骨表面に存在する骨芽細胞は、腫瘍巣からやや離れた骨梁表面に存在する骨芽細胞に比較して、ALP陽性反応がやや減弱する傾向を示した。



図：コントロール群と骨転移群のHE染色像、TRAP酵素組織化学像およびOPN、ALP、CathepsinK免疫化学像

4. 考察・結語

乳がんが骨転移したマウスでは、多数のTRAP陽性/cathepsin K陽性破骨細胞ならびにオステオポンチン陽性セメントラインが認められ、骨梁が減少したことから、乳がんの転移に伴い、破骨細胞が誘導され、活発な骨吸収が生じるものと推測される。

5. 謝辞

今回の研究実習において、ご指導いただいた網塚憲生教授、長谷川智香助教、横山亜矢子先生（現・高齢者歯科学教室）をはじめ硬組織発生物学教室の皆様に感謝いたします。

下顎中切歯と側切歯の根管形態について

02144027 小山拳人

指導教員： 山本恒之（硬組織発生生物学教室）

キーワード：下顎中切歯、下顎側切歯、根管形態

緒言

根管治療を確実に行う上で根管形態を把握することは非常に重要である。下顎中・側切歯の根管形態は単純で比較的治療は容易とされているが、根管形態を正しく理解していなければ良質な治療、ひいては良好な治癒は望めないであろう。根管形態は大きく3種類、すなわち単純根管（1本の根管が1つの根尖孔に開孔する）、不完全分岐根管（2本の根管が1つの根尖孔に開孔する）、および完全分岐根管（2本の根管が2つ以上の根尖孔に開孔する）に分けられる（赤井¹）。そこで下顎中・側切歯において各々の形態がどの程度の頻度で出現するのか、を調べることを目的として本研究を立案した。観察法として根管形態の観察に最も信頼のおける透明標本を用いた。

材料と方法

北海道大学歯学部 硬組織発生生物学教室が所有し、10%ホルマリン溶液に保存されていた、根面に齶蝕がない下顎中切歯（右23本、左24本）、同側切歯（右23本、左20本）の計90本を材料とした。なお、提供者の年齢、性別は不明であった。60℃、24%水酸化ナトリウムに30分浸漬し、ついで歯ブラシで清掃し歯表面の軟組織を除去した。5%蟻酸に4-5週間浸漬して脱灰した後、ビーカーに墨汁と標本を入れ真空チャンパー内に置き、真空ポンプで30分空気を引いて陰圧により根管内に墨汁を流入させた。歯ブラシで清掃し、70、80、90、100%アルコール、無水アルコールで1日ずつ脱水した後、サリチル酸メチルに4日間浸漬し透明にした。ついでスチレンモノマーに4日間、スチレンモノマーとポリエステルレジン（Rigolac 2004）の1:1混合液に4日間、ポリエステルレジンに2日間、0.3%ベンゾインを加えたポリエステルレジンに2日間、標本を浸漬しレジンを通透させた。筆で標本表面のレジンにぬぐい紫外線重合器で1日間重合した。

表1：3種類の根管の出現歯数と頻度
（上段：中切歯、下段：側切歯）

	右	左	合計
単純根管	18 (78.3%) 17 (73.9%)	18 (75.0%) 16 (80.0%)	36 (76.6%) 33 (76.7%)
不完全分岐根管	5 (21.7%) 5 (21.7%)	5 (20.8%) 3 (15.0%)	10 (21.3%) 8 (18.6%)
完全分岐根管	0 (0%) 1 (4.3%)	1 (4.2%) 1 (5%)	1 (2.1%) 2 (4.7%)

結果

3種類の根管形態の出現頻度を表1に示した。

考察

過去の文献における3種の根管形態の出現頻度を表2に示した。

表2：過去の研究における3種類の根管の出現頻度
（上段：中切歯 下段：側切歯）

	歯の解剖学入門 ¹	グロスマンエンドドンティクス ²	柿崎 ³
単純根管	90.3% 74.3%	70%	86% 76.9%
不完全分岐根管	1.9% 21.8%	27%	14% 21.5%
完全分岐根管	7.7% 4.0%	3%	0% 1.6%

不完全分岐根管は単純根管の経年的狭窄によって生じるとされる一方、完全分岐根管は終生変化しないと考えられる。そこで年齢の影響を無くすために「不完全分岐根管と単純根管」と「完全分岐根管」とを比較した。本研究と過去の研究のすべてで下顎中・側切歯のいずれも9割以上が「不完全分岐根管と単純根管」であった。

この結果より「下顎中・側切歯の根管形態は総じて単純根管であることが多いものの、加齢とともに分岐根管の頻度が増していく」と結論づけられる。高齢の患者さんの同歯の歯内治療を行う際には、単純根管と決めつけず分岐根管の可能性も十分に考慮しつつ治療を進めてゆきたい。

本研究において私が最も興味深いと感じたのは完全分岐根管の存在である。いずれの研究でも出現率は低いもののほぼ確実に存在する。若年者の根管治療を行った際に臨床症状の消退がなかなか見られない場合は完全分岐根管を疑う余地があると思った。

今回の研究実習を通して、様々な根管形態が存在することを実際に目で見て学び理解することができた。将来私が歯科医師となり、歯科治療を行う上で大きな糧となる大変有意義な実習であった。

参考文献

1. 歯の解剖学入門 赤井三千男 編 p.163 1990 医歯薬出版 東京
2. グロスマンエンドドンティクス 鈴木賢策 訳 p.166-167 1989 医歯薬出版 東京
3. 柿崎周斗 「下顎中切歯と側切歯の根管形態について」 47 期生（平成29/30年度）研究実習論文報告集 p.14、2018

乳がんの骨転移巣における骨特異的血管の局在

02144039 藤井誠

指導教員：網塚憲生、長谷川智香（硬組織発生生物学教室）

キーワード：乳がん、骨転移、骨特異的血管

1. 緒言

骨に転移した癌は、転移巣での骨吸収を誘導し様々な有害事象を生じさせる。骨転移の頻度は、乳がん中で最も高いことが知られているが、乳がんが骨組織で生着および増殖するためには、血管の存在が必要不可欠であり、がんの治療薬として血管新生抑制剤が使用されていることは周知の事実である。

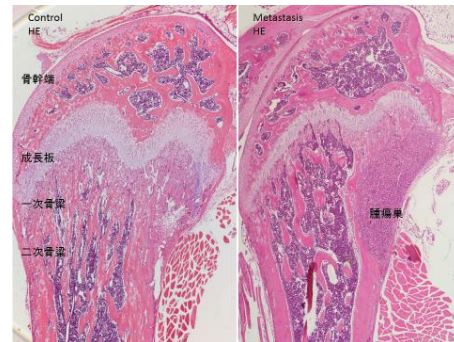
本研究では、乳がんの骨転移モデルマウスを用いて乳がん骨転移巣における血管の局在について組織化学的な検索を行った。

2. 方法

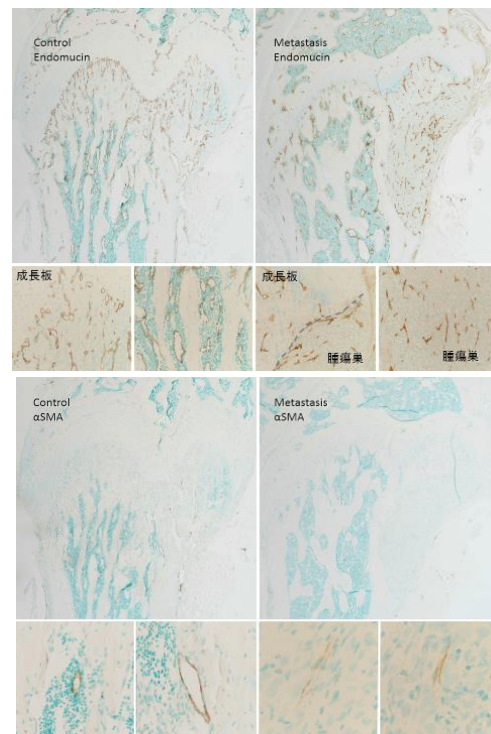
生後4週齢雌性 *nu/nu* マウスにMDA-MB-231 ヒト乳がん細胞を心臓注入し、乳がんの骨転移モデルを作製した。大腿骨への転移を軟エックス線で確認して、4%パラホルムアルデヒド溶液で還流固定後、通法にてEDTA脱灰し、パラフィン包埋および厚さ5 μm のパラフィン切片を薄切した（ここまでの過程は、動物実験講習未受講のため、硬組織発生生物学教室横山亜矢子先生の手技を見学させていただいた）。これらパラフィン切片を用いて、HE染色、endomucin（骨特異的血管、静脈系毛細血管内皮細胞）、 α -SMA（血管平滑筋細胞）の免疫組織化学を行った

3. 結果

HE染色像から、MDA-MB-231細胞を心臓注入したマウス大腿骨遠位骨幹端部の成長板直下に腫瘍巣が認められる（図1）。



コントロール群では、成長板直下の骨梁間に多数のendomucin陽性血管が存在している一方、骨転移群では腫瘍巣を取り囲むようにendomucin陽性血管が存在するとともに、腫瘍巣内部にも管腔径の小さな血管が散在していた（図2）。また、腫瘍巣内部には、わずかながら、 α -SMA陽性血管平滑筋細胞を伴う血管が観察された（図3）。



上：図2 下：図3

4. 考察・結語

乳がんの骨転移巣では、腫瘍巣内部やその周囲に多数のendomucin陽性血管が誘導され、骨組織におけるがん細胞の維持に寄与する可能性が推測される。

上顎小臼歯の根管形態について

02144041 松村章弘

指導教員：山本恒之（硬組織発生生物学教室）

キーワード：上顎小臼歯、根管形態、透明標本

緒言

歯科治療において根管治療を適切に行うためにはその根管形態を正しく把握することが必要不可欠である。根管形態は多様で、たとえ歯根形態が単純であっても根管は複雑に分岐・吻合したり、同一個人でも左右同名歯の根管形態は必ずしも一致しない。上顎小臼歯には単根管と2根管の両方が出現し、複雑な根管形態を示すことが知られている。研究実習を機に、このことを実際に自身の目で確かめたいと思い、透明標本により上顎小臼歯の根管形態を観察した。

材料と方法

硬組織発生生物学教室が所有し、10%ホルマリン溶液中に保存されていた、根面齲蝕がなく単根性の上顎第一小臼歯(右24本、左27本)、上顎第二小臼歯(右24本、左24本)を材料とした。いずれも提供者の年齢、性別等は不明であった。60℃、24%NaOHに30分間浸漬して歯根表面の軟組織を化学的に除去した後、歯ブラシで清掃した。5%蟻酸で4-5週間脱灰した後、墨汁と歯牙をピーカーに入れ真空チャンバー内に置き、真空ポンプで減圧して根管内に墨汁を浸透させた。70、80、90、100%及び無水アルコールで1日ずつ脱水した後、サリチル酸メチルに4日間浸漬し透明にした。スチレンモノマーに4日間、スチレンモノマーとポリエステルレジン(Rigolac-2004)の1:1混合液に4日間、レジンに2日間、0.3%ベンゾインを加えたレジンに2日間浸漬しレジンを浸透させた後、紫外線重合器で1日間重合した。

結果

根管形態を分岐状態から以下の3種類に分類した¹⁾。

単純根管：1本の根管が1つの根尖孔に開孔する。

完全分岐根管：2本の根管が2つ以上の根尖孔に開孔する。

不完全分岐根管：2本の根管が合流し1つの根尖孔に開孔する。

各根管形態の出現歯数(本)と頻度(%)を以下に記す。

上顎第一小臼歯：右24本、左27本、計51本

単純根管：右4本、左10本、計14本(27.5%)

完全分岐根管：右5本、左7本、計12本(23.5%)

不完全分岐根管：右15本、左10本、計25本(49.0%)

上顎第二小臼歯：右24本、左18本(6本は墨汁が上手く浸透しなかったため総数から除外)計42本

単純根管：右11本、左10本、計21本(50.0%)

完全分岐根管：右3本、左1本、計4本(9.5%)

不完全分岐根管：右10本、左7本、計17本(40.5%)

考察

一般に単純根管は、加齢による二次象牙質形成、齲蝕等による局所的な修復象牙質添加のため、経年的に狭窄し不完全分岐根管へと移行する。すなわち、この2つの根管形態の頻度は標本提供者の年齢に左右される。一方、完全分岐根管は歯根完成時にその根管形態が形づくられるため加齢による影響を受けにくい。提供者の年齢が不明であるため、単純根管と不完全分岐根管をまとめた“単純根管+不完全分岐根管”と“完全分岐根管”の頻度を比較

した。今回は単根性の標本しか観察していないが、2根性の上顎第一小臼歯は約50%に¹⁾、2根性の上顎第二小臼歯は約5%に出現する¹⁾とされる。そこで2根性のものは完全分岐根管とみなして本研究結果および過去の研究結果を再計算した。上顎第一小臼歯の各根管形態の出現頻度を表1に、上顎第二小臼歯のものを表2に示した。以下、①を単純根管+不完全分岐根管、②を完全分岐根管(単根性+2根性歯)とする。なお、過去の研究もすべて透明標本により行われた。

表1 上顎第一小臼歯の各根管形態の出現頻度

	小沢 ²⁾	岡田 ³⁾	竹中 ⁴⁾	本研究
①	33.8%	35.0%	34.2%	38.3%
②	66.2%	65.0%	65.8%	61.7%

表2 上顎第二小臼歯の各根管形態の出現頻度

	浜谷 ⁵⁾	斎藤 ⁶⁾	相良 ⁷⁾	土田 ⁸⁾	中野 ⁹⁾	本研究
①	88.2%	78.9%	77.7%	91.8%	85.5%	86.0%
②	11.2%	21.1%	22.3%	8.2%	14.5%	14.0%

上顎第一小臼歯では概ね過去の研究と同等の結果が得られたが、上顎第二小臼歯では若干の差が生じている。理由としては、前者の頻度は標本の結果に左右されない数字が50%反映されているのに対し、後者ではそれが5%ことどまり結果に影響したと考えられる。加えて、1)標本数が絶対的に不足している、2)研究者によって分類基準が異なる、などの理由もあげられる。機会があればこれらのことも考慮して再研究したい。

本研究において、単根性の上顎第一・二小臼歯の根管形態を実際に自身の目で観察でき、さらに根管形態の複雑さについても実感できた。根管治療というものがいかに困難で高い技術が要求される治療なのかということを再認識させられた。本研究で得た知識と感動を忘れずに今後の臨床実習に取り組んでいきたい。

5. 参考文献

- 1) 歯の解剖学 第22版 藤田恒太郎著 P.52, 55, 68-70; 1995 金原出版 東京
- 2) 小沢翠「単根の上顎第一小臼歯の根管形態について」レジン包埋した透明標本を用いて」31期生(平成13/14年度)研究実習論文報告書 P.49-50; 2002
- 3) 岡田壮平「単根の上顎第一小臼歯の根管形態について」39期生(平成21/22年度)研究実習論文報告書 P.41-42; 2010
- 4) 竹中裕喜「上顎第一小臼歯の根管形態について」46期生(平成28/29年度)研究実習論文報告書 P.15; 2017
- 5) 浜谷絵里「上顎第二小臼歯の根管形態について」43期生(平成25/26年度)研究実習論文報告書 P.28; 2014
- 6) 斎藤由里子「上顎第二小臼歯の根管形態について」41期生(平成23/24年度)研究実習論文報告書 P.47-48; 2012
- 7) 相良ふみ「上顎第二小臼歯の根管形態について」44期生(平成26/27年度)研究実習論文報告書 P.17; 2015
- 8) 土田知直「上顎第二小臼歯の根管形態について」33期生(平成15/16年度)研究実習論文報告書 P.45-46; 2004
- 9) 中野誠貴「上顎第二小臼歯の根管形態について」46期生(平成28/29年度)研究実習論文報告書 P.13; 2017

高負荷のトレーニングによる筋障害と腎障害について

02114021 齊藤武典

指導教員：佐藤真理（口腔生化学教室）

キーワード：筋肉トレーニング、 タンパク

1：緒言

近年ダイエットのために筋肉トレーニングが行われるようになってきているが長期間に及ぶものではなく短期間に高負荷の筋肉トレーニングが行われる傾向がある。短期間で高負荷の筋肉トレーニングが及ぼす影響について論文を読むことにした。

2. 方法

High intensity resistance training cause muscle damage and increase biomarkers of acute kidney injury in healthy individuals. の論文を読んだ。

3. 結果

短期間における高負荷のトレーニングは急性腎障害を引き起こす原因とはならない。詳細に以下に記す。

この研究では腎臓の機能と筋肉について調べるため、血液検査と尿検査を以下の三つの実験群において調べた。

1: 飲食は普段通りで、トレーニングは20秒間できるだけスクワットをして10秒休む事を1セットだけ行ってもらいそれ以外には運動をしない。

2: 20秒間で出来るだけスクワットをして10秒休みを8セット行う。検査は8セットを終えてから2時間後に行う

3: 上記のトレーニングを行ってもらいそれから24時間後に検査をおこなう。

血液検査は Scr (selective catalytic reduction) , CK (creatinase), myoglobin の値を比較して筋肉へのダメージを調べた。尿検査では、UNGAL (urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin) , IL-18、calbindin, Microalbuminuria, TFF3, β 2microglobulin の

値を調べ腎障害に影響を及ぼすかを調べた。

筋肉については、CK の値は運動後に平均値から3倍以上の値を計測しておりそれは24時間後でも保たれていた。Scr (selective catalytic reduction) 値については男女差が生じていたがどちらでも高値を示していた。とくに24時間後に測った値は最高値を示していた。Myoglobin については運動2時間後に最も高い値を示しそこから24時間は高い値を示したままだった。しかしこの結果では筋障害を起こすほど影響があるとは言えなかった。

腎臓の機能については、UNGAL (urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin)、IL-18、calbindin、Microalbuminuria、TFF3、 β 2microglobulin の値は運動後の2時間後までは大多数が通常時の値より高値を示していたが24時間後には通常値まで下がっていた。男女差については女性のほうがより顕著な数値として現れた。この数値により腎障害をきたす原因となりうることは極めて少ないということが分かったが、筋肉や腎臓に明らかに負荷が掛かっていた。つまり筋障害や腎障害に100%ならないとはいえないという結果になった。

今回行った短期間における運動は、筋障害や腎障害を引き起こしかねるとはあまり言えないようであった。

4. 考察

血液検査と尿検査から短期間の筋肉トレーニングでは筋障害や腎障害がおこる可能性が低いことが分かった。運動を短期間でも行うことで脂肪燃焼による肥満予防につながり、さらには糖尿病や高血圧や心筋梗塞などの重症疾患に罹患する予防につながるなどのメリットの大きさを考慮すると、短期間における高負荷の筋肉トレーニングは行うべきであると考えられた。

歯周組織再生におけるリグロスの効果に関する臨床研究

02124007 北 昭平

指導教員：田村 正人（口腔分子生化学教室）

キーワード：歯周組織再生療法、リグロス、GTR 法

1. 緒 言

遺伝子組換え型ヒト Fibroblast Growth Factor rh(FGF)-2 を有効成分とする歯周組織再生剤「リグロス」が 2016 年 9 月に日本で製造販売が承認された。「リグロス」は歯周疾患の外科的治療法である歯肉剥離掻爬手術時に歯槽骨欠損部に塗布することで、歯槽骨の増加など歯周組織の再生をもたらす。これまで、歯周治療において組織再生を誘導する方法として歯周組織再生誘導法（GTR 法）が行われ、GTR メンブレンが用いられている。

2. 方 法

FGF-2 の歯周組織再生における有効性を調べた臨床研究のいくつかの論文（参考文献 1-3）を読んで FGF-2 を歯周治療に応用する再生療法について考察した。

3. 結 果

北村ら（2008）¹⁾は、臨床治験初期第二相としてランダム化比較対照試験について報告した。80名の患者を4群に分けてフラップ手術を行い、搔把、スケーリング・ルートプレーニング後に対照群では担体であるヒドロキシプロピルセルロースのみ、実験群では低濃度 0.03%、中濃度 0.1%、高濃度 0.3%の rhFGF-2 を担体と混合して欠損部に投与した。36 週後、評価を行った。クリニカルアタッチメントゲインは対照群と実験群の間で統計学的に有意な差は認められなかったが、エックス線画像上で認められる歯槽骨の高さは対照群と高濃度 rhFGF-2 群で有意差が認められたと報告した。

2011 年北村らは、後期第二相としてさらに大規模なランダム化比較試験を報告した²⁾。2008 年の報告と同様に対照群では担体のみ、実験群では低濃度 0.2%、中濃度 0.3%、高濃度 0.4%rhFGF-2 を担体と混合して欠損部に投与して 72 週後に評価した。クリニカルアタッチメントゲインは差が認められなかった。エックス写真上で認められる歯槽骨の高さについては、対照群と 0.3%FGF-2 群で統計学的に有意な差が認められたと報告した。。

さらに全国 15 施設で rhFGF-2 とフラップ手術、EMD（エムドゲイン）との効果の比較を行うランダム化比較試験が行われ、その結果が 2016 年に報告された³⁾。263 名の被験者について 36 週後のクリニカルアタッチメントゲインに関して、rhFGF-2 群と EMD 群の群間差(95%信頼区間)は 0.4(0.03-0.78)であり、EMD 群と比較して rhFGF-2 群にお

いて統計学的に有意なクリニカルアタッチメントゲインが認められた。エックス線写真上で認められる歯槽骨の高さの比較では歯槽骨の増加率に関して、EMD 群と比較して rhFGF-2 群において統計学的に有意な歯槽骨の新生が認められた。

また rhFGF-2 と β -TCP と併用した効果についてランダム化比較試験で検討した米英国での臨床研究を Cochran らは報告した⁴⁾。エックス線写真上での骨充填率に関しては、 β -TCP と 0.3%の FGF-2 を併用した群と β -TCP 単独群との間で統計学的な有意差は認められない。一方、より再生が難しいとされる 1 壁性および 2 壁性の骨欠損形態においては FGF-2 を併用した群では、有意に高い骨充填率が認められたと報告している。

4. 考 察

歯周組織再生療法において、これまで様々な細胞成長因子の応用が検討されてきた。rhFGF-2 はいくつかの臨床研究でその有効性が示されているが、臨床研究の報告がまだ少なく、その有効性は EMD をはるかに凌駕する結果ではないと考えられた。しかし、細胞成長因子単独もしくはキャリアーとの併用による応用は、臨床において非常に容易ですみやかに導入できる術式であることから、将来さらに有効な歯周組織再生剤が開発されると期待される。

5. 参考文献

1. Kitamura M, Nakashima K, Murakami S. *et al.*, Periodontal tissue regeneration using fibroblast growth factor-2: randomized controlled phase II clinical trial. PLoS One. 3(7):e2611, 2008.
2. Kitamura M, Akamatsu M, Murakami S. *et al.*, FGF-2 stimulates periodontal regeneration: results of a multi-center randomized clinical trial. J Dent Res. 90(1):35-40, 2011.
3. Kitamura M, Akamatsu M, Murakami S. *et al.*, Randomized placebo-controlled and controlled non-inferiority phase III trials comparing trafermin, a recombinant human fibroblast growth factor 2, and enamel matrix derivative in periodontal regeneration in intrabony defects. J Bone Miner Res. 31(4):806-814, 2016.
4. Cochran DL, Takemura A. *et al.*, A Randomized clinical trial evaluating rh-FGF-2/ β -TCP in periodontal defects. J Dent Res. 95(5):523-530, 2016.

非外科的歯周治療による HbA1c の変化

02140417 石井 彩華

指導教員：田村 正人（口腔分子生化学教室）

キーワード：歯周病、非外科的歯周治療、糖尿病、HbA1c

1. 緒 言

近年、歯周病と 2 型糖尿病などの全身疾患との関係が世界中の研究者の注目を集めており、その関係を示唆する多くの研究成果が発表されている。糖尿病は、世界的に高い有病率であり、歯周病と糖尿病の関係を明らかにすることは歯周病のリスク軽減につながると考えられる。2010 年に、Cochrane database から歯周治療により HbA1c の 0.4% の減少を報告した¹⁾が、この研究ではエビデンスレベルが低いと指摘されており、以降多くの臨床研究が行われてきた。そこで、これまで報告されている非外科的歯周治療による HbA1c の変化に関する臨床研究の論文²⁾を読み、歯周病と糖尿病の関係について学んだ。

2. 方 法

非外科的歯周治療と歯周病との関係を調べた臨床研究についての論文 AKC Liew,N Punnanithont,Y-C Lee,J Yang. Effect of non-surgical periodontal treatment on HbA1c: a meta-analysis of randomized controlled trials.Australian Dental Journal 2013;58:350-357 を読み、考察した。

3. 結 果

3 つのデータベース Cochrane CENTRAL, MEDLINE (via PubMed) および EMBASE を調べた。以下の条件を満たす研究について解析した。

- (1) 研究デザイン：無作為化比較臨床試験（RCT）
- (2) 集団：歯周炎と診断された 16 歳以上の糖尿病患者（2 型糖尿病）
- (3) 介入：最低 3 ヶ月最大 6 ヶ月の追跡期間の中で、機械的歯面清掃、スケーリング、ルートプレーニング、キュレッタージ、デブリードマンなどの非外科的歯周治療を行った。
- (4) 比較者：歯周治療を受けていない、または治療が遅れているコントロール群
- (5) 判定：HbA1c レベルの平均値

- ① Kiran ら（トルコ）による研究（2005）（44 症例）では、HbA1c がコントロール群では 7.0%、介入群では 7.31%であった。
- ② Promsudthi ら（タイ）による研究（2005）（52 症例）では、コントロール群 9.17%、介入群 8.98%であった。
- ③ Jones ら（アメリカ）による研究（2007）（154 症例）では、コントロール群 10.22%、介入群 9.9%であっ

た。

- ④ Katagiri ら（日本）による研究（2009）（49 症例）では、コントロール群 6.9%、介入群 7.2%であった。
- ⑤ Chen ら（中国）による研究（2012）（134 症例）では、コントロール群 7.25%、介入群 7.31%であった。
- ⑥ Moeintaghavi ら（イラン）による研究（2012）（40 症例）では、コントロール群 8.72%、介入群 8.15%であった。

これらの 6 つの臨床研究の結果をプール分析（n=422）したところ、コントロール群と比較して非外科的歯周治療を行った介入群では HbA1c%の差が-0.41%（95%CI：-0.73%~-0.09%、p=0.013）であった。バイアスは Egger の検定（p=0.014）では有意であったが、Begg 検定（p=0.06）では有意とならなかった。

4. 考 察

全体としては、非外科的歯周治療によって HbA1c に対する効果（有意差）は認められたものの、個々の研究においては効果が得られないものも複数存在する結果となった。これは、コントロール群と介入群における平均年齢の差や、人数の差によって集団に偏りが生じたためと考えられた。また HbA1c 値に関しても、重度の糖尿病患者が多い集団と重度でない集団では HbA1c 値の変化しやすさなどが異なると考えられた。さらに個々の研究における母集団も 40 人程と比較的少ないとも考えられる。今後は上記の要因によるバイアスを除去することや、さらに大規模な集団を用いて臨床研究を行う必要があると考えられた。

5. 参考文献

1. Simpson TC, Needleman I, Wild SH, Moles DR, Mills EJ. Treatment of periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes. Cochrane Database Syst Rev. 12;(5):CD004714, 2010
2. Liew AK, Punnanithont N, Lee YC, Yang J. Effect of non-surgical periodontal treatment on HbA1c: a meta-analysis of randomized controlled trials. Aust Dent J. 2013 58:350-357, 2013.

運動方法とプロテイン摂取が骨格筋衛星細胞および筋繊維の成長に及ぼす影響

02140847 信濃 龍二

指導教員：佐藤真理（口腔分子生化学教室）

キーワード：運動、ホエイプロテイン、筋肉

1. 緒言

筋組織の衛星細胞（SC）は骨格筋のリモデリングおよび肥大過程に関与している。しかし、骨格筋の SC に影響を与える外的要因に関する報告はほとんどない。各種運動に応答した、SC の出現、筋肉の成長、および筋組織のリモデリングにおける筋繊維タイプの特異的関連性について調べた。

2. 方法

Farup J, Rahbek SK, Riis S, Vendelbo MH, de Paoli F, Vissing K による Influence of exercise contraction mode and protein supplementation on human skeletal muscle satellite cell and muscle fiber growth (J Appl Physiol (1985). 2014 Oct 15; 117(8): 898–909) を読み、考察した。

3. 結果

22 人の男性（身長:181.5±1.5 cm、体重:78.1±1.8 kg、年齢:23.9±0.8 歳、体脂肪率:16.0±0.9%）を対象として、ホエイプロテイン（Whey）またはプラセボ（Placebo）を摂取する 2 群に分けた。その後の運動方法として、片方の足では伸張性収縮トレーニング（Ecc）を行い、もう一方の足で短縮性収縮トレーニング（Conc）を行った。このように、Whey-Ecc、Placebo-Ecc、Whey-Conc、Placebo-Conc の 4 つの群に分け、プロテイン摂取と運動の筋組織への効果を比較した。被験者は 12 週間で 33 回の負荷トレーニングを行い、トレーニング前後にホエイプロテインまたはプラセボを摂取した。被験者の外側広筋を生検し、繊維型特異的 SC、筋核、繊維断面積（CSA）について解析し、以下の結果が得られた。

Conc 群は Ecc 群と比べて、SC はタイプ I およびタイプ II 繊維の両方で有意に増加した。タイプ I 繊維中の筋核含有量はすべての群で増加したが、タイプ II 繊維中では Whey-Conc 群および Placebo-Ecc 群でのみ筋核が増加した。また、タイプ I 繊維の CSA は運動収縮様式およびプロテイン

摂取の介入とは無関係に増加したが、タイプ II 繊維の CSA は Whey-Conc 群が特異的に増加していた。このタイプ II 繊維の肥大は、短縮性収縮トレーニング後の全ての筋の肥大と関連していた。

4. 考察

筋組織において、伸張性収縮トレーニングが短縮性収縮トレーニングよりも SC の増殖およびタイプ II 繊維肥大を誘導するという仮説に反し、短縮性収縮トレーニングは SC の含有量およびタイプ II 繊維 CSA を増加させなかった。短縮性収縮トレーニングを行った場合の SC 含有量の大幅な増加は、幾つかのメカニズムに準拠すると考えられた。一つは、短縮性収縮トレーニングは乳酸の蓄積を強くもたらし SC の増殖に影響を及ぼすことが細胞実験で示されている。さらに、SC の増殖に影響すると考えられる増殖因子が筋肉中で発現し得る可能性がある。

Placebo-Ecc 群で観察されたタイプ II 線維における筋核の増加は線維 CSA の増加を伴い、トレーニング初期段階の間に Ecc により SC が活性化され増殖したと考えられる。しかし、Whey-Ecc 群のタイプ II 線維における筋核および SC の含有量は変化していなかった。これは、タイプ II 線維の肥大に変化が見られないことと一致する。また、SC の含有量をタイプ II 線維の面積に正規化すると、すべての群が同様に相関性を持っていた。このことから、線維サイズが SC 含有量の決定因子であり得ることが示唆された。

最近のげっ歯類を用いた研究により、タンパク質合成が絶食に応答し、タイプ I 繊維よりもタイプ II 繊維でより減少することが報告されている。本研究結果との関連から、タイプ I 繊維はタイプ II 繊維にくらべて、負荷トレーニング後のアミノ酸の即時補給にはあまり依存しないと考えられた。

結論として、タイプ I 繊維の CSA および筋核細胞の含有量は運動収縮様式およびプロテイン摂取の介入とは無関係に増加したが、タイプ II 繊維の肥大はそれらの影響を受けると考えられた。

ゼブラフィッシュの尾ヒレの再生における超音波刺激の影響

02144013 板垣竜樹

指導教員： 田村 辻 潔美、佐藤 真理（口腔分子生化学教室）

キーワード： LIPUS, ultrasound, zebrafish, Fin regeneration,

Wound epidermis

1. 緒言

ヒトの骨折の治療に低出力超音波パルス（Low Intensity Pulsed Ultrasound、以下 LIPUS）が利用されるようになった。LIPUS は断続的（パルス状）超音波であり、その音圧による物理的刺激を骨折部位に与えることで骨癒合が促進される。

2015-2016 年の清水達哉の研究実習によりゼブラフィッシュでの骨折の治療促進が認められたため、今回は軟組織も含めてゼブラフィッシュの尾ヒレの再生に LIPUS がどのような影響を与えるかを検討した。

2. 方法

ゼブラフィッシュを水温 26℃、明期 14 時間、暗期 10 時間、自動給餌器にて 12 時間おきに給餌した。

ゼブラフィッシュをトリカイン（2mg/mL）にて麻酔し、実体顕微鏡 Nikon SMZ745 下で No.11 メスにて尾ヒレの腹側半分を 3.33mm 切除した。

コントロール群と LIPUS 群に 6 匹ずつまたは 9 匹ずつに分け、LIPUS 群に尾ヒレの切除直後と 1 日後に 30mW/cm² または 120mW/cm² で 20 分間 LIPUS を合計 2 回照射した（図 1）。

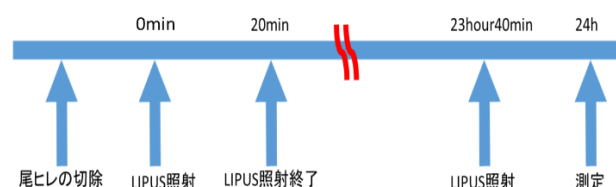


図 1. タイムスケジュール

尾ヒレの再生を実体顕微鏡 Nikon SMZ745 で観察し Cannon SH600EX で撮影した。シャーレ上でゼブラフィッシュの尾ヒレを割けない程度にできるだけ開き、実体顕微鏡 Nikon SMZ745 に付与されたメジャーを指標に尾ヒレの再生量を計測し、有意水準 5% で並べ替え検定を行った。平均値とその 95% 信頼区間を求め、LIPUS による再生上皮への効果を解析した。

3. 結果

実験 1、2 の平均値の差は標準誤差の約 2 倍、実験 3 の平均値の差は標準誤差に等しかった（表 1）。ゼブラフィッシュに 20 分間、出力 30 または 120mW/cm² で LIPUS を照射しても有意水準 5% で有意差はなかった（図 2）。

表 1. 実験結果

実験1	水準	平均値	標準偏差	標準誤差	95%下限	95%上限	個体数
実験1	Control	0.122222	0.027217	0.011111	0.097465	0.146979	6
	LIPUS	0.15	0.03496	0.014272	0.118199	0.181801	6
等分散を仮定する場合の標準誤差 = 0.013							
実験2	水準	平均値	標準偏差	標準誤差	95%下限	95%上限	個体数
実験2	Control	0.151429	0.027946	0.010562	0.12861	0.174247	7
	LIPUS	0.185	0.036645	0.012956	0.15701	0.21299	8
等分散を仮定する場合の標準誤差 = 0.012							
実験3	水準	平均値	標準偏差	標準誤差	95%下限	95%上限	個体数
実験3	Control	0.204444	0.074685	0.024895	0.15167	0.257219	9
	LIPUS	0.231111	0.103976	0.034659	0.157638	0.304585	9
等分散を仮定する場合の標準誤差 = 0.030							

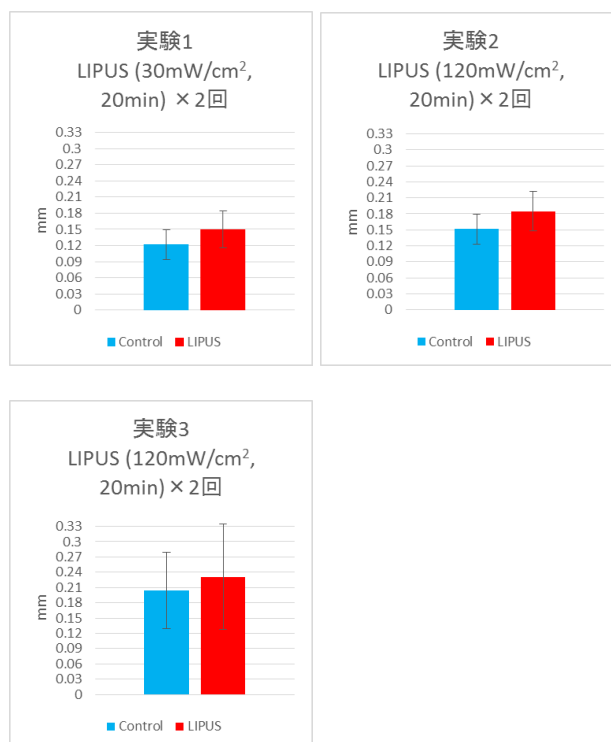


図 2. 尾ヒレの切除 1 日後の再生上皮の長さ。

error bar: ± 1S.D.

実験 1：サンプルサイズ：Control 6, LIPUS 6, サンプル調整：

尾ヒレを 3.33mm 切除, LIPUS: 出力 30mW/cm², 20min, Twice, $p=0.2576$

実験 2：サンプルサイズ：Control 7, LIPUS 8, サンプル調整：

尾ヒレを 3.33mm 切除, LIPUS: 出力 120mW/cm², 20min, Twice, $p=0.0671$

実験 3：サンプルサイズ：Control 9, LIPUS 9, サンプル調整：

尾ヒレを 3.33mm 切除, LIPUS: 出力 120mW/cm², 20min, Twice, $p=0.5524$

4. 考察

今回の実験の平均値の差はすべて誤差の範囲内と考えられるため、今回の実験条件では、尾ヒレの再生上皮における LIPUS の効果は認められなかった。

美白化粧品に含まれる成分とその有効性

02144022 新藤 美郷

指導教員 田村 正人（口腔分子生化学教室）

キーワード：メラニン形成、ビタミン C、ナイアシンアミド、紫外線

1. 緒言

メラニンは表皮の最下層である基底層に存在するメラノサイト（色素細胞）により作られ、皮膚の色素沈着となる。この色素沈着を抑制させる美白化粧品が現在販売されている。美白化粧品はどのような機序および有効性を持っているのだろうか。本研究では、日本発美白化粧品として確固たる人気を築いたSK-IIの成分分析を行い、含まれている成分とそれらの作用機序および有効性について発表された論文を読み、「美白化粧品によりメラニン形成は抑制できる」という仮説について考察を行った。

2. 方法

まず、メラノサイトとメラニン形成について学んだ。その後、SK-IIの成分について調べた。成分のうち3つについてメラニン形成抑制の機序と有効性に関する論文¹⁻³⁾を読み考察した。

3. 結果

メラノサイトは神経管（堤）由来の細胞である。神経管細胞が、神経管から背側および側方経路を移動しながらメラノサイトの前駆細胞であるメラノブラストとして皮膚へと移動し、皮膚または毛髪へメラニン色素を供給するようになる。メラノサイト内のメラニン産生『メラノジェネシス』はメラノソーム(MS)という特殊な細胞小器官で行われる。メラノジェネシスのステップは、メラノソームに取り込まれたチロシンにチロシナーゼが働くことから開始される。メラノジェネシスを終えたMSは、周囲の30~40個のケラチノサイトに受け渡される。ケラチノサイトのターンオーバーに従い表皮全体にメラニンが行き渡り、肉眼的に皮膚の色素沈着が確認できるようになる。

SK-IIの成分のうち多くは保湿成分や整肌成分であり、肌のキメを細かくするなどトーンアップを図って肌をより明るく見せる効果が期待されるものであった。それらを除き、直接的かつ積極的な美白効果が考えられる成分として、(1)ビタミンC (2)ナイアシンアミド (3)紫外線吸収剤の3成分が挙げられる。これらについてメラニン形成抑制の機序と有効性に関する論文を読んだ。

- (1) 銅を含む糖タンパク質であるチロシナーゼは、メラノソームにおけるメラニン形成にとって重要な律速酵素である。ビタミンCは、チロシナーゼ活性部位で銅イオンと相互作用し、酵素チロシナーゼの作用を阻害する^{1,2)}。
- (2) MSの表皮内への分散は、ケラチノサイトによるMSの貪食作用によって進行する。最近の研究により、色素班が視覚的に認識されるには、成熟したMSへの表皮への分散が必須であると考えられている。すなわち、

ケラチノサイトへのMSの輸送を停止させれば、視覚的には色素班としては認識されない。このMSからケラチノサイトへの移送を阻害する作用を有するのが、ナイアシンアミドである^{3,4)}。

- (3) 紫外線吸収剤は、取りこんだ紫外線のエネルギーを熱や赤外線に変換して放出したり、自分自身の分子構造を一時的に変えるために消費したりする。多くはUVAまたはUVB いずれかの波長領域のみに吸収効果をもつため、通常は紫外線散乱剤や波長領域の異なる紫外線吸収剤など多様な組み合わせで用いられている⁵⁾。

4. 考察

ビタミンC、ナイアシンアミド、紫外線吸収剤の3成分はメラニン生成抑制に対して有効性をもつと考えられた。特に、ナイアシンアミドに関しては、今までは以下のプロセスが考えられてきた。①樹状突起の先端へ成熟したMSが移動し、その先端とケラチノサイトの細胞膜が癒合しMSが移動する②樹状突起の先端へ移動した成熟MSを、ケラチノサイトがその先端ごと食いちぎる③ケラチノサイトがMSを分泌し、それをケラチノサイトが貪食する。しかしながら、近年では成熟MSが樹状突起の先端に集まり、その先端がくびれたMS複合小胞としてこれをメラノサイトから分離し、これをケラチノサイトが貪食すると提唱された。しかし、メラノサイトからケラチノサイトへの移送に関するメカニズムがすべて明らかになっているわけではない。このメカニズムの解明が進めば、また新しい機序を持った美白有効成分が開発されると考えられた。

5. 参考文献

- (1) Al-Niaimi F, Chiang NYZ. Topical Vitamin C and the Skin: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *J Clin Aesthet Dermatol*. 10(7):14-17, 2017.
- (2) Ando H, Kondoh H, Ichihashi M, Hearing VJ. Approaches to identify inhibitors of melanin biosynthesis via the quality control of tyrosinase. *J Invest Dermatol*. 127(4):751-761, 2007.
- (3) Navarrete-Solís J, Castanedo-Cázares JP, Torres-Álvarez B, et al., A Double-blind, randomized clinical trial of niacinamide 4% versus hydroquinone 4% in the treatment of melasma. *Dermatol Res Pract*. doi:10.1155/2011/379173, 2011.
- (4) Hakozaki T, Minwalla L, Zhuang J, et al., The effect of niacinamide on reducing cutaneous pigmentation and suppression of melanosome transfer. *Br J Dermatol*. 147(1):20-31 2002.
- (5) Pinto da Silva L, Ferreira PJ, Duarte DJ, et al., Structural, energetic, and UV-Vis spectral analysis of UVA filter 4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane. *J Phys Chem A*. 27;118(8):1511-8, 2014.

B₁₂欠乏症は主に造血機能に影響を及ぼすが、その影響は他の組織や器官、特に神経系に及ぶ。B₁₂欠乏症による臨床症状は多様であり、高い洞察力が求められる。診断は、まず疑いの高い指標に基づき、適切なテストを行うことで可能となる。臨床医療において、日々の診療の際に B₁₂欠乏症の疑いのある患者、全身疾患の一環として貧血を治療中の患者をいかに早く発見し適切な治療を提供するかが重要である。

う蝕リスクの軽減を目指したアイスクリーム作成 における代替甘味料使用による評価への影響

02140830 増田 愛子

指導教員：阿部 薫明（生体材料工学教室）

キーワード：代替甘味料、う蝕リスク軽減

1. 緒言

今日市販されているアイスクリームには多量のショ糖が含有されており、過剰な摂取は、う蝕を始めとする、様々な疾病の原因となる事が考えられる。そこで、う蝕のリスクを軽減しつつ、アイスクリームを楽しむことが出来ればと考え、う蝕リスク低減能が期待される人工甘味料を用いたアイスクリームを作製し、その効果的な使用方法を検討した。

2. 方法

(1)試料の作製

一般的な作製方法に従い、材料のショ糖を、代替甘味料として知られているキシリトール、及びフラクトオリゴ糖へと全量置換（**xyl**、及び **fruc**）しアイスクリームを作製、ショ糖を用いた試料（**suc**）、との比較を行った。

(2)試作品の評価

作製したアイスクリームをそれぞれ小匙 1 杯分ずつ被験者（ $n = 7$ ）に摂取してもらった。

用いた甘味料 3 種類を被験者には非公表として、それぞれについて、見た目、香り、食感、甘み、美味しさ、雑味の 6 項目を評価してもらった。評価はコントロールとの相対評価とした。見た目については、試食前の試料を用い評価してもらった。

(3) ミュータンス培養試験

代替甘味料によるう蝕リスク低減の効果を評価するため、TY 培地にショ糖、及びキシリトールを終濃度 2% で調整した溶液を各々、用意した。それらの溶液にミュータンス連鎖球菌を加え、37℃で培養し、24, 48, 72 時間後の溶液の濁度を吸光度計で測定した。

3. 結果

試食後のアンケート結果を図 1 に示す。キシリトール 100% で作製した試料（**xyl**）は、雑味を除く全ての項目において、ショ糖を用いた標準試料（**suc**）と比較しても有意差が見られない、という評価が得られた。また、フラクトオリゴ糖使用試料（**fruc**）においても、甘みと雑味を除く項目で、**suc** との有意差が見られない、という評価が得られた。

次に、次に、キシリトール使用によるう蝕リスク

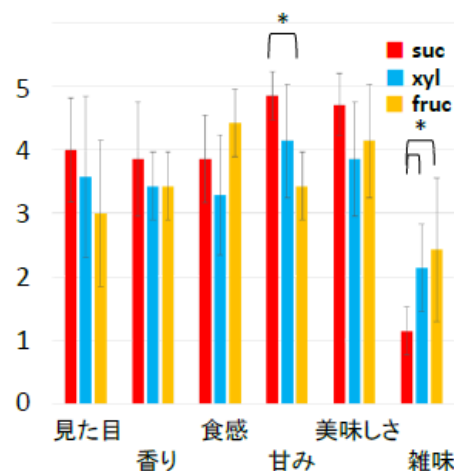


図 1 試作品へのアンケート結果（ $n = 7$ ）

軽減の効果を評価するために、ミュータンスレンサ球菌培養試験を行った。結果を図 2 に示す。キシリトールへと変換する事により、ショ糖含有培地と比較してミュータンスの増殖に由来する、溶液の濁度の増加の抑制が見られた。

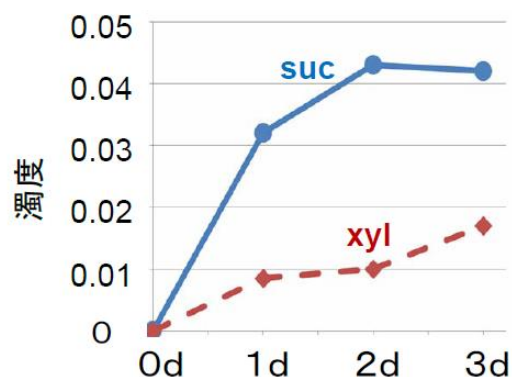


図 2 甘味料の違いによるミュータンス培養液の濁度の経時変化、

4. 考察

アンケート結果より、今回検討したアイスクリームの場合、ショ糖を代替甘味料へと置換しても、その評価に大きな差異は見られなかった。アイスクリームのような氷菓子の場合、甘みなどへの感受性が低下するため、より大量の甘味料が添加されている事が想定される。今回の結果は、ショ糖を代替甘味料へと置換しても、十分な評価が得られる試料作成の可能性を示唆しており、今後、更なる代替甘味料の使用法の検討により、美味しさを保ちつつ、う蝕リスクの軽減が期待されるアイスクリームの開発が可能であると推察される。

マイクロナノパターン上での破骨細胞分化誘導について

02144001 山下 駿生

指導教員：赤坂 司 (生体材料工学教室)

キーワード：マイクロナノパターン、破骨細胞、

G-PET フィルム

1. 諸言

マイクロナノパターンとは、光、熱などで微細構造を型(モールド)から材料に転写したものであり、細胞の接着性、接着形態に影響を与えることが知られている。本研究では、異なる種類のマイクロナノパターンを転写し、各々における破骨細胞の分化効率を検討した。マイクロナノパターンはグループ、ピラー、ホール の 3 種類を各パターン幅 2.0 μm 、1.0 μm 、0.5 μm (それぞれ高さ 500 nm) で製作したものと、ピラーのパターン幅 100 nm で高さ 200 nm の計 10 種類を使用した。グループ、ホール、ピラーのマイクロパターンの電子顕微鏡 (SEM) 像を図 1 に示す。

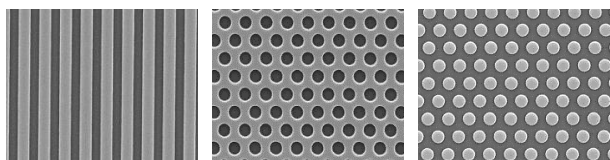


図 1 マイクロナノパターン (左から順にグループ、ホール、ピラー)

2. 方法

マイクロナノパターンの鋳型であるマイクロナノモールドを用いて、熱ナノインプリント法により G-PET フィルムに転写しパターンを作製した。RAW264.7 細胞 (マウスマクロファージ様細胞株) は 10%FBS 含有 DMEM 培地で培養し増殖させた。サブコンフルエントまで増殖した RAW264.7 細胞を作製パターンに分化誘導培地 (10%FBS 含有 $\alpha\text{MEM}+100\text{ }\mu\text{g sRANKL}$) を使用し、 $4\times 10^4\text{cells}/3.5\text{cm}$ の細胞密度で播種した。2 および 4 日目に培地交換および観察をおこない、6 日目に培養した細胞を、4%パラホルムアルデヒドを用いて固定した。固定したサンプルは TRAP 染色をおこない破骨細胞を可視化した後、光学顕微鏡で写真を撮影した。撮影した写真から分化した細胞数を計測し比較検討した。有意差検定は、Tukey's 多重検定を用い検定の有意水準は 5% としおこなった。

3. 結果

各パターンにおける TRAP 陽性の全細胞数を計測した結

果を図 2 に示す。各パターンにおいて、パターン幅が小さくなるにつれて TRAP 陽性の全細胞数が有意に多いことが確認された。また各パターンにおいて、パターン幅が 500 nm で制作されたものを比較したところ、グループ、ホールに対して、ピラーが TRAP 陽性の全細胞数が有意に多いことが確認された。

さらにマイクロナノパターンが平面 (Planar) のものと比較すると、ピラーのパターン幅 500 nm が平面に対して TRAP 陽性の全細胞数が有意に多いことが確認された。

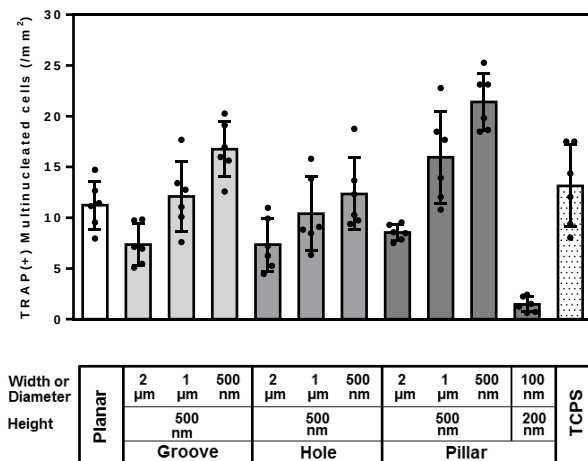


図 2 TRAP 陽性細胞全細胞数

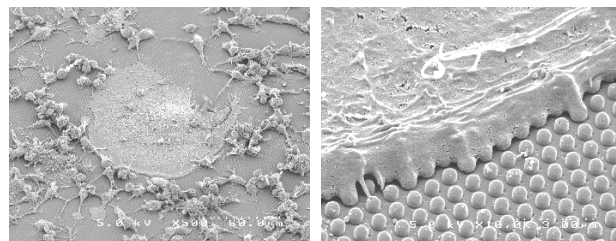


図 3 破骨細胞数が多いパターン (ピラー 500 nm/500 nm)

4. 考察

破骨細胞分化における細胞の足場にマイクロナノパターンを形成することで、分化誘導時の TRAP 陽性細胞数が変化することが示唆された。グループ、ホール、ピラーの各マイクロナノパターンにおいてパターン幅が小さくなるにつれて、破骨細胞の分化が有意に促進されることが分かった。さらに足場が平面よりもピラーのパターン幅 500 nm において破骨細胞の分化が優位に促進されることが分かった。

以上の結果より、破骨細胞への分化誘導時における細胞の足場にパターン幅の小さなマイクロナノパターン (500 nm) を形成することで、破骨細胞の分化が促進され、その中でもピラー構造ではより破骨細胞の分化が促進されることが分かった。

各種根管洗浄法の洗浄効果と
水酸化カルシウム製剤による水酸化物イオン拡散
02144002 山原大吾
指導教員：八若保孝（小児・障害者歯科学教室）
吉田靖弘（生体材料工学教室）
キーワード：根尖性歯周炎、根管洗浄、スメア層、超音波

1. 緒言

根管治療において、根管内の細菌や根管内容物を除去するために、リーマーやファイルなどによる機械的清掃と、薬剤による化学的清掃が行われている。しかし、機械的清掃により根管壁ではスミヤ層が形成され、象牙細管を閉塞し、その後の根管貼薬剤の浸透性を阻害、さらに根管治療の予後に影響を及ぼすこととなる。

本研究は機械的清掃後の根管壁を化学的に洗浄し、象牙細管を開口することのできる効率的な根管洗浄法を検討することである。

さらに、臨床でよく用いられる水酸化カルシウム製剤であるカルシペックスⅡ、ビタペックス、ウルトラカルの三種薬剤の根管内の浸透度合いの違いを観察した。

2. 方法

ヒト抜去永久歯（単根・単根管）20 本を試料として用いた。歯冠を切断後、K ファイルで#80 まで根管拡大・根管形成を行い、4 本ずつ 5 グループに分類し、以下の 5 通りの洗浄方法で根管洗浄を行った。

G1:交互洗浄（シリンジ,10%NaOCl,3%H₂O₂ 使用）

G2:水道水（超音波洗浄）

G3:10%NaOCl（超音波洗浄）

G4:14%EDTA（超音波洗浄）

G5:14%EDTA（超音波洗浄）→10%NaOCl（超音波洗浄）
試料を洗浄後、歯軸に沿って二分割し、走査型電子顕微鏡（SEM:日立 S-4800）にて根管壁を観察した。無作為に選択した根中央部の 12 箇所、根尖部の 6 箇所（1 本あたり 18 箇所観察）の SEM 写真を撮影し、開口率を数値化した。

次に 11 本の試料を新たに用意し、その内 2 歯に対して G1 にて洗浄後、カルシペックスⅡを根管充填、9 歯に対して G5 にて洗浄後、カルシペックスⅡ、ビタペックス、ウルトラカルを 3 歯ずつ根管充填した。その後根中央部に便宜的な吸収窩を作成し、1%フェノールフタレイン含有寒天培地に埋入し、pHによる色の変化を 4 週間観察した。

3. 結果

＜根中央部＞図 1 に示すように、SEM による観察から、G1、G2 では象牙細管の開口がわずかに観察されるのみであった。

一方、G4、G5 では象牙細管の開口が明瞭に観察できた。G3 でもある程度の開口は認められたが、G4、G5 には劣っていた。根中央部において、G1 に対して G3、G4、G5 の開口率、および G3 に対して G4、G5 の開口率は統計学的に有意差が認められた（ $p<0.05$ ）（図 3）。

＜根尖部＞図 2 に示すように、SEM による観察から、G1、G2、G3 ではほとんど象牙細管の開口が見られなかった。それに比較して G4 と G5 では、明瞭ではないものの、象牙細管の開口が認められた。根尖部において、G1 に対して G4、G5 の開口率は統計学的な有意差が認められた（ $p<0.05$ ）（図 3）。

すべての洗浄法において、根尖部より根中央部の方が象牙細管の開口がより明瞭であった。

＜フェノールフタレイン含有寒天培地の色の変化＞

3 種薬剤による培地の色の変化は写真では観察されなかった。しかし G5 で洗浄した群において、肉眼的に見て吸収窩表層が薄っすらと変色しているのが確認できた試料もあった。

4. 考察

EDTA を用いた超音波洗浄および EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄を行う方法が、根管壁のスミヤ層を効果的に除去することが示された。しかし、根中央部に比較して根尖部の開口率が低くなったことは、根尖部の形態

学的要因ならびに手技的要因から、超音波による洗浄効果が根尖まで行き届かない可能性が示唆された。

吸収窩の色の変化ははっきりとは観察されなかったが、わずかな色の変化があったことから EDTA と NaOCl を併用した超音波洗浄の有効性が示唆された。

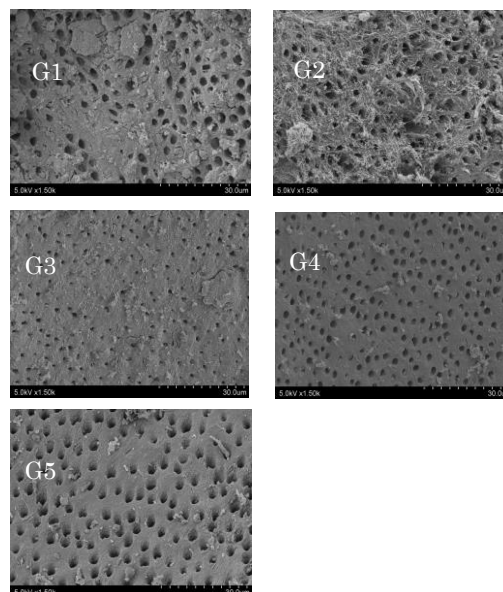


図 1 根中央部の各洗浄処理後の根管壁の SEM 観察

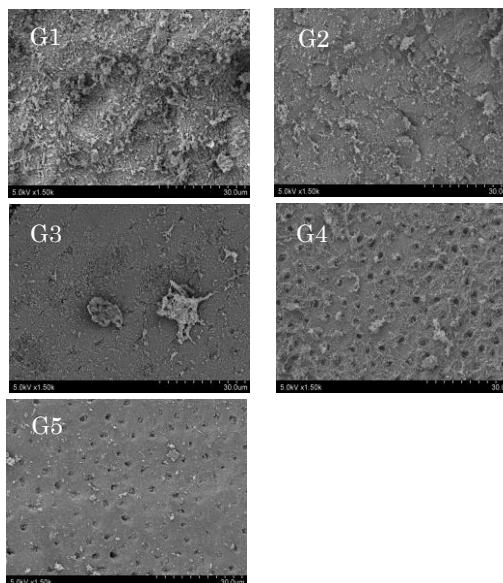


図 2 根尖部の各洗浄処理後の根管壁の SEM 観察

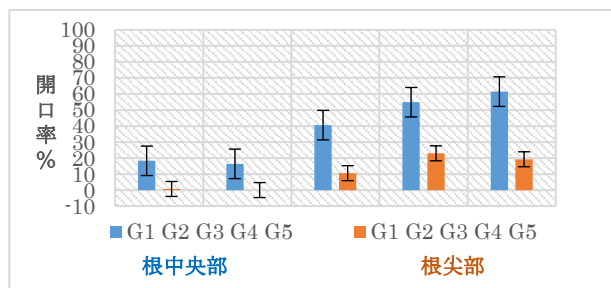


図 3 各種洗浄後の象牙細管開口率

5. 参考文献

NEW エンドドンティクス:根管洗浄の重要性,片岡博樹,p94-101, 1999, 医歯薬出版株式会社, 東京.

アパタイトコーティングパターン上における細胞付着について

02144016 菊谷友希乃

指導教員：赤坂司（生体材料工学教室）

キーワード：アパタイト、マイクロ・ナノパターン、細胞付着

1. 緒言

ハイドロキシアパタイトはエナメル質の主要な構成成分であり、人工歯根等に応用されている。アパタイトコーティングを施したインプラントはチタンインプラントに比較し、骨接触率や骨との結合能力が優れている等の利点を有する。一方で、マイクロ・ナノパターンは細胞の接着性や接着形態に影響を与えることが知られている。そこで本研究では、アパタイトコーティングを施したマイクロ・ナノパターンの作製、細胞接着性の評価、走査型電子顕微鏡（SEM）および光学顕微鏡での観察を行った。

2. 方法

groove (0.5 μm 、1 μm 、2 μm)、pillar (0.5 μm 、1 μm 、2 μm)、hole (0.5 μm 、1 μm 、2 μm) のシクロオレフィンポリマーマイクロ・ナノパターン表面を 180 秒間プラズマ処理し、ハanks緩衝液 5 ml に浸漬した。37°C の環境下で 2 日ごとにハanks緩衝液を交換した。6 日後にアパタイトコーティング処理を行い、走査型電子顕微鏡（SEM）にてアパタイト結晶の形態観察を行った。次に、同様の手順で作製したマイクロ・ナノパターンを 4 分間 UV 滅菌した後、細胞付着試験に使用した。ヒト骨芽細胞様細胞 Saos-2 をパターン表面に播種し、1 時間インキュベートした。その後、光学顕微鏡を用いて細胞の付着数、パターンごとの付着様式の違いを観察した。

3. 結果ならびに考察

アパタイトコーティングを施したパターンの SEM 像を図 1 に示す。形状表面に厚さ約 0.5 μm のアパタイトの層が見られた。コーティング層はマイクロ・ナノパターン上に均一に形成され、groove、pillar、hole いずれにおいてもパターンの幅が一定の間隔で狭窄している様子が観察された。アパタイト結晶粒の大きさは均一であり、平面上では表面は平らであった。この結果より、シクロオレフィンポリマーのマイクロ・ナノパターン上において、一定のスピードで偏りなく均一にアパタイト結晶が形成されたと考えられる。

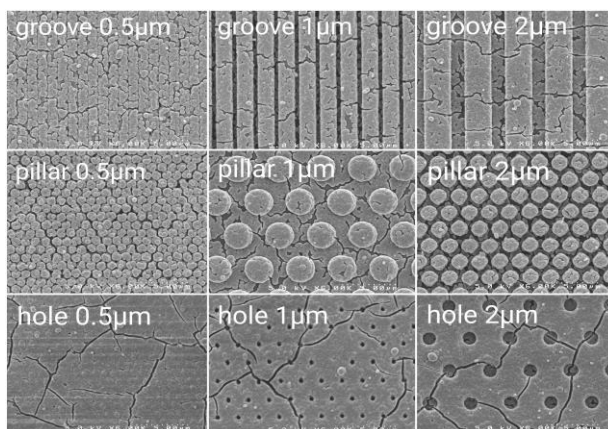


図 1. アパタイトコーティングを施したマイクロ・ナノパターンの SEM 像

次にパターン上に付着した細胞の光学顕微鏡写真を図 2 に示す。groove、pillar、hole それぞれのパターン形状による細胞付着数には有意な差は認められなかった。細胞の付着形態に関しては、pillar ではパターンに対応して足を伸ばしている形態の細胞が一部で観察された。また、groove ではパターンに沿った形態の細胞の配向が観察された。この傾向は groove の幅の狭いものほど強く観察された。

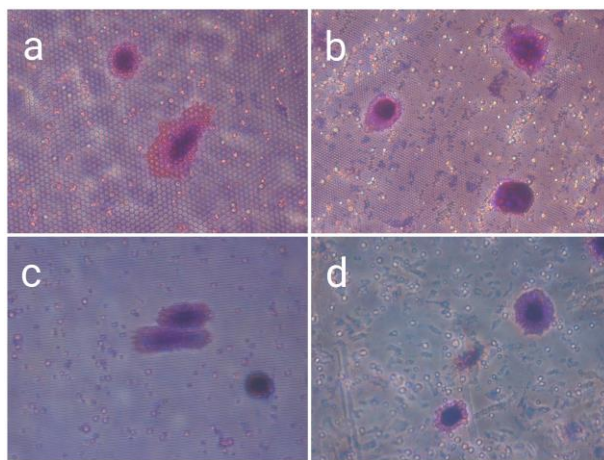


図 2. パターン上に付着した細胞の光学顕微鏡像
(a) hole, (b) pillar, (c) groove, (d) flat

パターン形態により細胞の付着形態の違いが認められたことから、マイクロ・ナノパターンの形態は細胞の付着形態に影響を与えると考えられる。コーティング処理を施さないものと、コーティング処理を施したものの細胞接着数や付着形態の違いについては、さらなる検討が必要である。

う蝕リスクの軽減を目指した、美味しい牛乳ゼリー 一作成法の検討

02144026 橋本結花

指導教員：阿部 薫明（生体材料工学教室）

キーワード：代替甘味料、う蝕リスク軽減

1. 緒言

市販されているケーキや焼き菓子などのお菓子には、う蝕の要因となるショ糖が豊富に含まれており、過剰な摂取によりう蝕リスクの増加が懸念される。そこでう蝕リスクの軽減が期待される代替甘味料を使用しても、ショ糖を利用時と同等の美味しさを実現出来れば、う蝕を心配することなくお菓子を楽しむことができると考え、その効果的な使用法を検討した。

2. 方法

1) 試料の作製

検討対象として、牛乳ゼリーを選択した。一般的な作成方法に従い、原料中のショ糖を代替甘味料であるエリスリトールへと置換 (eryth)、若しくはビートオリゴ糖に置換した試料 (beet) を作成し、ショ糖で作成した試料 (suc) との比較を行った。作成した試料を被験者に試食してもらい、見た目・香り・食感・甘み・雑味・美味しさの6項目について、3種類の試料を相対的に5段階（良い、やや良い、普通、やや悪い、悪い）で評価してもらいアンケートを実施した (n=7)。見た目については切り分けていない資料を見て評価してもらい、雑味については雑味がないと感じた場合を「良い」と評価してもらったことにした。

また、代替甘味料によるう蝕リスクの軽減効果を評価するため、TY培地にショ糖、エリスリトール、ビートオリゴ糖を終濃度2%で調整した溶液を各々、用意した。それらの溶液にミュータンス連鎖球菌を加え、37℃で培養し、24, 48, 72時間後の溶液の濁度を吸光光度計で測定した。

3. 結果

試食後のアンケート結果を図1に示す。エリスリトールで作成した試料 (eryth) では、見た目、香り、食感ではショ糖 (suc) の場合と有意差は見られない、という評価が得られた。甘さ、美味しさ、雑味について、suc よりも有意に低いという評価が示された。雑味について、suc よりも有意に低いという評価が示された。しかし eryth は、すべての項目で「普通」以上の評価が得られた。一方、ビートオリゴ糖を用いた場合 (beet)、全ての項目におい

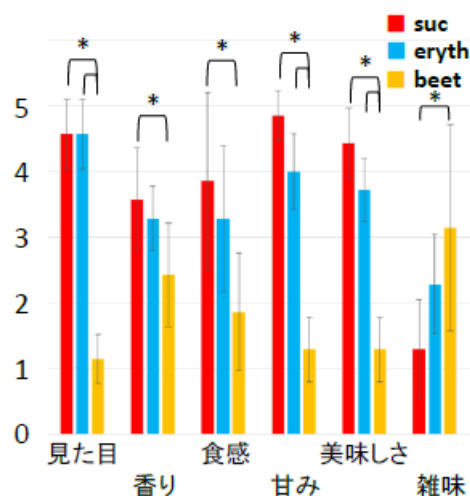


図1 試作品へのアンケート結果 (n = 7)

て (suc) よりも有意に劣ることが示された。

次に、エリスリトール使用によるう蝕リスク軽減の効果を評価するために、ミュータンス連鎖球菌培養試験を行った。結果を図2に示す。

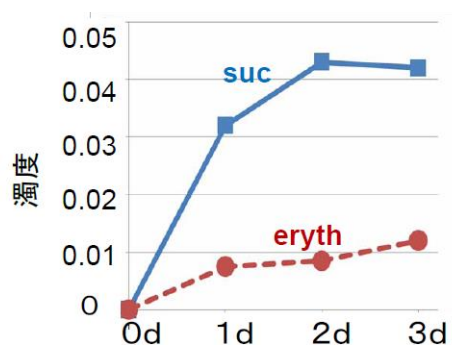


図2 甘味料の違いによるミュータンス培養液の濁度の経時変化、

ショ糖をエリスリトールへと置換する事により、ミュータンスの増殖に由来する濁度の増加が大きく抑制された。

4. 考察

アンケート結果から、ショ糖をエリスリトールへと置換することにより、甘み、美味しさが有意に低下することが示された。しかし、エリスリトールの使用により、ミュータンスの増殖抑制に大きな効果が期待されることから、例えば、ショ糖とエリスリトールとの調合により、ミュータンスの増殖抑制効果を保ちつつ、各項目の評価の増加を検討する事により、本研究の目的「う蝕リスクの軽減を目指した、美味しいお菓子」の達成は可能であると考えられる。

う蝕リスクの軽減を目指した、美味しいプリン 作成法の検討

02144028 畑原理子

指導教員：阿部 薫明（生体材料工学教室）

キーワード：代替甘味料、う蝕リスク軽減

1. 緒言

市販されている菓子類にはショ糖が豊富に含まれているため、う蝕リスクが高い。一方で、代替甘味料の一種であるキシリトールはう蝕リスクが低いことが知られている。

今回の研究では、ショ糖を代替甘味料に置換することで、う蝕リスクの低減を図りつつも、ショ糖と同等の美味しさを実現できるような効果的な使用法を検討した

2. 方法

1) 試料の作製

試料にはプリンを選択した。一般的な作製方法に従い、ショ糖を代替甘味料であるキシリトールに全量置換(xyl)、ショ糖と代替甘味料を半量ずつ使用した試料(1:1)を作製し、ショ糖使用試料(suc)との比較を行った。

2) 試料の評価

作製した3種類のプリンを被験者(n=7)に試食してもらい、見た目、香り、食感、甘み、おいしさ、雑味について、5段階の相対評価アンケートを実施した。小さじ1杯分を1人分として3試料を1つずつ試食し、評価してもらった。見た目については、切り分ける前の試料を用い評価してもらった。

3) ミュータンス培養試験

代替甘味料によるう蝕リスク低減の効果を評価するため、TY培地にショ糖、キシリトール、ショ糖：キシリトール(=1:1)を終濃度2%で調整した溶液を各々、用意した。それらの溶液にミュータンス連鎖球菌を加え、37℃で培養し、24, 48, 72時間後の溶液の濁度を吸光光度計で測定した。

3. 結果

試食後のアンケート結果を図1に示す。キシリトール100%で作製した試料(xyl)は、香りについてはショ糖(suc)、およびショ糖とキシリトールを半量ずつ使用した試料(1:1)との間で有意差は見られなかった。その他の項目についてはsucと有意に異なっていた。一方、1:1は食感を除き、sucとの間に有意な差は見られなかった。

次に、代替甘味料単独、およびショ糖との混合時のう蝕リスクを検討するため、ミュータンスレンサ

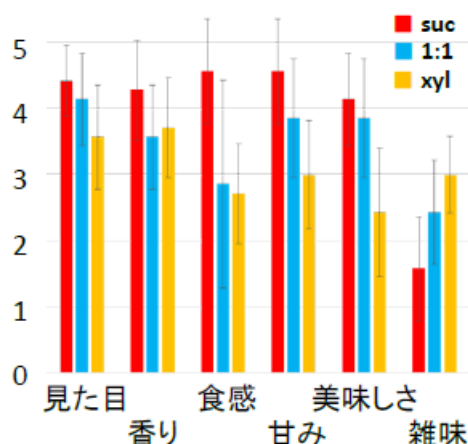


図1 試作品へのアンケート結果 (n = 7)

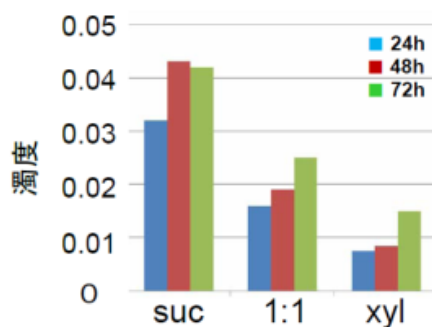


図2 甘味料の被害によるミュータンス培養液の濁度の経時変化、

球菌培養試験を行った。結果を図2に示す。ショ糖をキシリトールへと変換する事により、ミュータンスの増殖に由来する濁度の増加が抑制された。ショ糖とキシリトールとを混合した培地では、濁度の増加は見られたが、ショ糖添加培地と比較して、増殖の抑制が見られた。

4. 考察

アンケート結果より、ショ糖を全てキシリトールに置き換えた場合(xyl)、香り以外の項目で有意差がみられ、雑味が強くなることが示された。代替甘味料によってもう蝕リスクの軽減が叶ったとしても、その他の項目でsucと有意な差が出てしまうと、ショ糖と同等の美味しさ、という目標が達成できなくなる。しかし、ショ糖と代替甘味料との混合(1:1)において、食感を除くすべての項目で、sucと同等の評価を得ており、またミュータンス培養試験からも、一定のう蝕リスク低減効果が期待される。そのため、ショ糖と代替甘味料との混合比の更なる検討により、う蝕リスクを軽減した美味しいお菓子の実現が期待される。

マイクロナノパターン上での破骨細胞の接着について

02144036 富塚賢弥

指導教員：赤坂 司 (生体材料工学教室)

キーワード：マイクロナノパターン、破骨細胞、

G-PET フィルム

1. 諸言

マイクロナノパターンとは、光、熱などで微細構造を型(モールド)から材料に転写したものであり、細胞の接着性、接着形態に影響を与えることが知られている。本研究では、異なる種類のマイクロナノパターンを転写し、各々における破骨細胞の分化効率を検討した。マイクロナノパターンは高さ $2.0\mu\text{m}$ のピラー、高さ $10\mu\text{m}$ のピラーの各々で幅 $50\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m}$ 、 $5.0\mu\text{m}$ 、 $1.0\mu\text{m}$ のものを製作した計 8 種類を使用した。

2. 方法

マイクロナノパターンの鋳型であるマイクロナノモールドを用いて、熱ナノインプリント法により G-PET フィルムに転写しパターンを作製した。RAW264.7 細胞(マウスマクロファージ様細胞株)は 10%FBS 含有 DMEM 培地で培養し増殖させた。サブコンフルエントまで増殖した RAW264.7 細胞を準備したパターンに分化誘導培地(10% FBS 含有 $\alpha\text{MEM}+100\mu\text{g sRANKL}$)を使用し、 $4\times 10^4\text{cells}/3.5\text{cm}$ の細胞密度で播種した。2、4 日目に培地交換および観察をおこない、6 日目に培養した細胞を、4%パラフォルムアルデヒドを用いて固定した。固定したサンプルは TRAP 染色を行い破骨細胞を可視化した後、電子顕微鏡で写真を撮影した。撮影した写真から多核化した細胞数(全細胞数と 3 核以上の大きな細胞数)を計測し比較検討した。有意差検定は、Tukey's 多重検定を用い検定の有意水準は 5%としおこなった。

3. 結果

各パターンにおける TRAP 陽性細胞が接着した所見を図 1 に示す。ピラー $50\mu\text{m}/10\mu\text{m}$ では 1 個のピラーに対して 5 個以上の TRAP 陽性細胞が接着しているが、 $5\mu\text{m}/10\mu\text{m}$ やピラー $1\mu\text{m}/10\mu\text{m}$ では 1 個の TRAP 陽性細胞が複数のピラーを足掛かりに接着している所見が確認された。

各パターンにおける TRAP 陽性細胞の多核化数を計測し算出した結果を図 2 に示した。幅 $50\mu\text{m}$ のピラー、幅 $10\mu\text{m}$ のピラーではプラナーと比較して TRAP 陽性細胞の

多核化数が少なかった。幅 $5.0\mu\text{m}$ のピラーではプラナーと比較して多核化数が多く通常培養皿と比較して多核化数が少なかった。幅 $1.0\mu\text{m}$ のピラーではプラナーの 2 倍近い多核化した TRAP 陽性細胞が見られた。

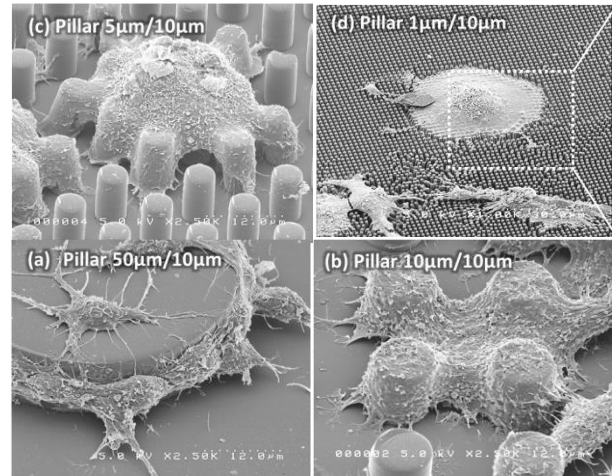


図 1 各パターンに接着した TRAP 陽性細胞

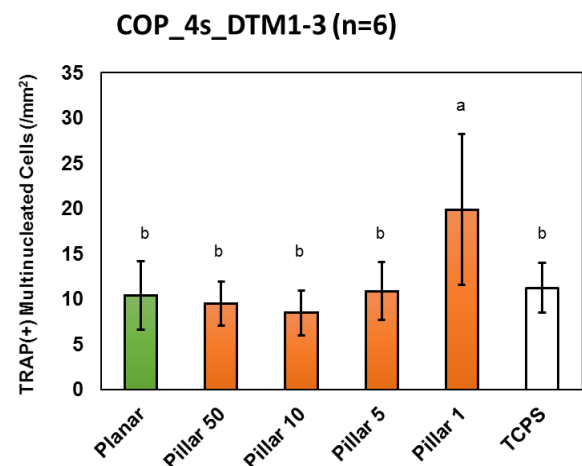


図 2 プラズマ照射 4 秒における各パターンの TRAP 陽性細胞数

4. 考察

破骨細胞分化における細胞の足場にマイクロナノパターンを形成することで、多核化した TRAP 陽性細胞数が増加することが示唆された。ピラー(幅 $50\mu\text{m}$ 、 $10\mu\text{m}$ 、 $5.0\mu\text{m}$)やプラナー、通常培養皿と比較してピラー $1.0\mu\text{m}$ において多核化が有意に促進されることが分かった。

以上の結果より、破骨細胞の接着において細胞の足場にマイクロナノパターンを形成することで、破骨細胞の分化が促進され、さらにピラー幅 $1.0\mu\text{m}$ ではより破骨細胞の成熟化が誘導可能であることが分かった。

破骨細胞分化に対する RNA 結合タンパク HuR の役割

02140007 小川尚博

指導教員：東野史裕、松田彩（血管生物分子病理学教室）

キーワード：ARE-mRNA, HuR, 破骨細胞, CMLD-2

1. 緒言

HuR タンパクは、mRNA 結合タンパクであり、ARE-mRNA の ARE 領域に結合し、ARE-mRNA の核外輸送、安定化に関与することが知られている。また、筋細胞の分化には HuR タンパクによる ARE-mRNA の核外輸送、安定化が関与していることも知られている。そこで我々は、破骨細胞（骨吸収を役割とする多核巨細胞）の分化にも HuR タンパクが関与しているのではないかと考えたのもと、破骨細胞の分化に関わる遺伝子に ARE-mRNA があることを見出した。したがって、本実験では、HuR タンパク機能阻害時の破骨細胞への分化を観察することで、破骨細胞の分化と HuR との関連を検討した。

2. 方法

RAW264.7（破骨細胞前駆細胞）に RANKL, CMLD-2⁽¹⁾（HuR 機能阻害剤）を添加し、TRAP 染色により、5 日目、7 日目における破骨細胞への分化を確認した。分化した破骨細胞の基準は、TRAP 染色に染まる 100 μ m 以上の多核細胞とした。

3. 結果

RAW 細胞を RANKL で処理し、CMLD-2 を添加すると、5 日目において CMLD-2 処理群では、ほとんど破骨細胞への分化が確認されなかった。（図 1）

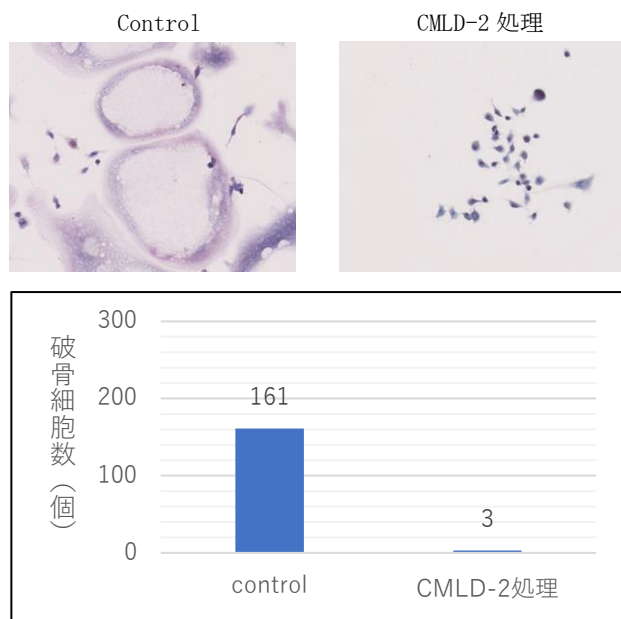


図 1 Control と CMLD-2 処理の TRAP 染色像と破骨細胞（5 日目）

また、7 日目においては、CMLD-2 処理群でも分化を確認したが、control より少数かつ異なる形態（核の細胞中心部局在）を呈した。（図 2）

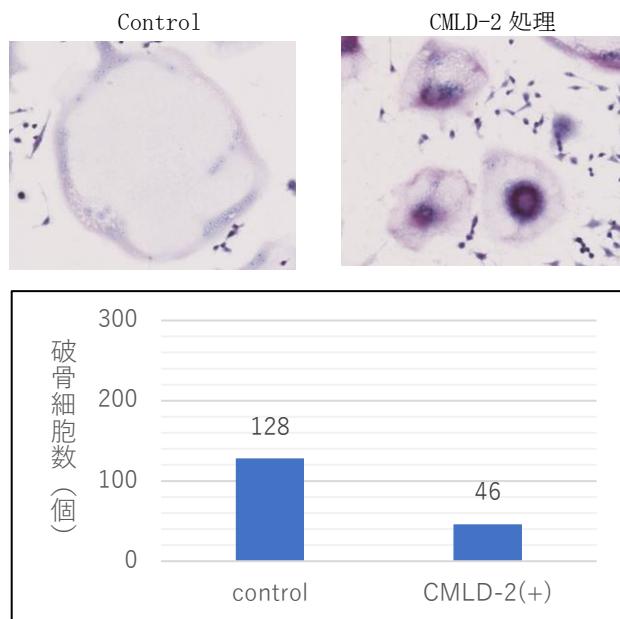


図 2 Control と CMLD-2 処理の TRAP 染色像と破骨細胞数（7 日目）

4. 考察

HuR タンパクの機能阻害により、破骨細胞への分化が阻害されることが明らかとなった。また、形態の異なる破骨細胞は、正常な Actin ring の形成がなされていない可能性が高く（図 3）、HuR タンパクの機能阻害により、破骨細胞の機能も阻害される可能性が示唆された。

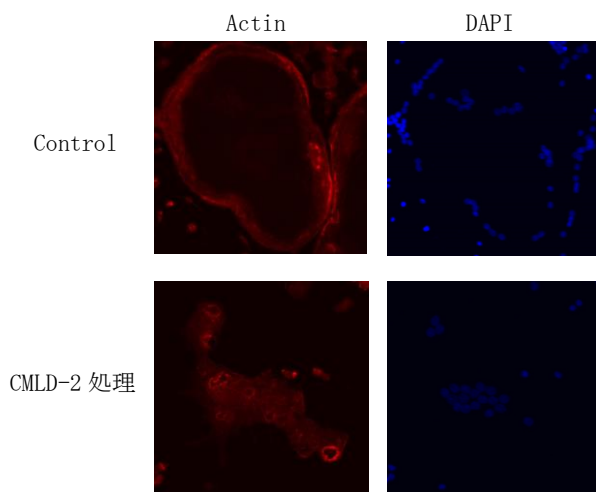


図 3 Control と CMLD-2 処理の免疫染色像

5. 参考文献

(1): Wu X, et al. Identification and validation of novel small molecule disruptors of HuR-mRNA interaction. ACS Chem Biol. 2015;10:1476-1484.

腫瘍溶解ウイルスの効果を増強する因子の検討

02144008 岩井七海

指導教員：東野史裕（血管生物分子病理学教室）

キーワード：腫瘍溶解ウイルス、ARE-mRNA、TNF α

1. 緒言

がん遺伝子などの増殖に関連する多くの遺伝子から転写される mRNA には AU-rich element (ARE) という領域が存在する（図 1）。ARE は mRNA の分解シグナルのひとつであり、ARE に HuR というたんぱく質が結合すると ARE-mRNA が核外輸送され、安定化する（図 2）。



図 1

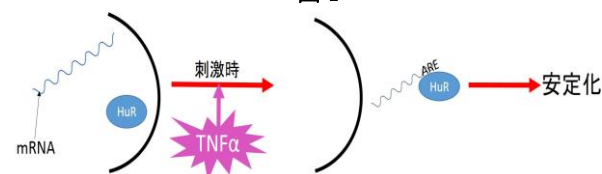


図 2

がん細胞では ARE に HuR が結合し、HuR が ARE-mRNA を核外輸送・安定化することが報告されている。我々はこの HuR による ARE-mRNA 安定化のメカニズムをがん治療に応用するため、アデノウイルスの増殖に必須の E1A 遺伝子の非翻訳領域に ARE を組み込み、がん細胞を特異的に破壊する腫瘍溶解ウイルスを開発した。

しかし、癌種によっては腫瘍溶解ウイルスが作用しにくい場合があり、治療効果が減少することが考えられる。そこで、ARE-mRNA を安定化させる条件を調べ、それを応用し腫瘍溶解ウイルスをより効率的にがん細胞に作用させようと考えた。本研究では細胞へのストレスとして TNF α を用い、HuR が核外輸送されるかを検討した。今回用いた TNF α は炎症性サイトカインのひとつで、炎症初期にマクロファージなどの単核食細胞によって分泌され、TNF 受容体と結合し、細胞のアポトーシスの誘導、食細胞の活性化、内皮細胞の接着分子の誘導などの作用を示すことが知られており、腫瘍溶解ウイルスと併用することにより腫瘍溶解ウイルスの作用を増強することが期待される。

2. 方法

がん細胞 HeLa（ヒト子宮頸がん）、A549（ヒト肺がん）を用いた。37°C、5%CO₂ にて HeLa および A549 を培養し、TNF α 100 μ g/ml にて HeLa は 30 分、1 時間、3 時間、A549 は 30 分、1 時間、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間刺激した。TNF α 刺激後タンパク質を細胞質分画、核分画に分け回収した。またコントロールとして HeLa および A549 とともに TNF α 処理を行っていないものを用い、TNF α 処理を行った

ものと同様にタンパク質を回収した。

その後 Western Blotting 法にて細胞質分画について HuR の検出を行った。なお、HuR の一次抗体として HuR antibody, 3A2 (Santa Cruz Biotechnology)、二次抗体として HRP-Conjugated Anti-mouse IgG (Bioscience)、 β -tubulin の一次抗体として anti- β -tubulin Antibody, clone AA2 (Merck Millipore)、二次抗体として HRP-Conjugated Anti-mouse IgG (Bioscience) を用いた。

3. 結果

HeLa の細胞質分画において TNF α 刺激後、30 分、1 時間でコントロールと比較し HuR の発現量が増加した（図 3）。

また、A549 の細胞質分画において TNF α 刺激後 1 時間以降 HuR の発現量が増加した（図 4）。

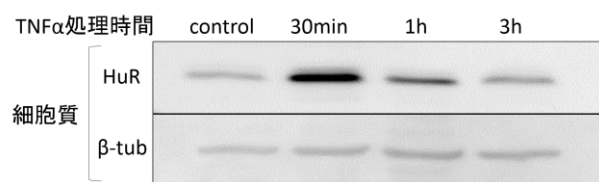


図 3

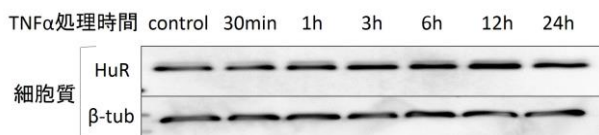


図 4

4. 考察

TNF α 刺激により細胞質での HuR の発現量が増加した。このことから、TNF α 刺激により HuR と結合している ARE-mRNA の核外輸送・安定化が促進されたと考えられる。ARE-mRNA の核外輸送・安定化が促進される環境でアデノウイルスの増殖が促進されることから、TNF α 刺激により ARE-mRNA の核外輸送・安定化が促進され、腫瘍溶解ウイルスの効果が増強される可能性が示唆される（図 5）。

今後の課題としては、免疫染色と In situ hybridization を同時に行い、HuR と ARE-mRNA の細胞内での局在を確認し、また TNF α 刺激を行ったがん細胞に実際に腫瘍溶解ウイルスを感染させ、効果の増強があるのかを検討する。

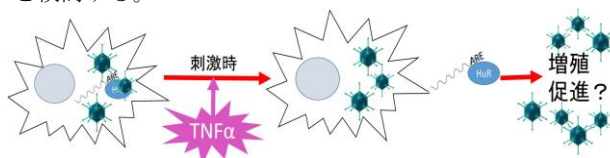


図 5

5. 謝辞

お忙しい中、本研究に数々のご指導ご鞭撻くださった北海道大学歯学研究科血管生物分子病理学教室員の皆様に厚く御礼申し上げます。

マウス皮膚におけるパイグリカンの役割

02144025 小西 大輔

指導教員： 間石 奈湖、樋田 京子（血管生物分子病理学教室）

キーワード：パイグリカン、皮膚、血管新生

1. 緒言

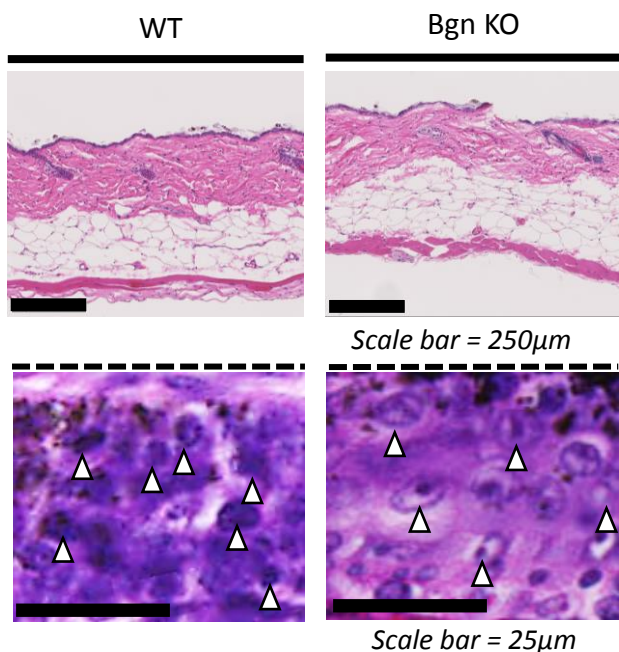
パイグリカン（Biglycan, Bgn）はプロテオグリカンの一種であり、正常組織では骨や真皮に発現することが知られている。また、皮膚における血管新生は毛髪の成長を促進し、毛包を大きくする¹ことが知られている。血管生物分子病理学教室で所有する Bgn ノックアウト (KO) マウスの中に毛が薄い個体があったため、皮膚や毛の形成に、Bgn が誘導する血管新生が関与するのではと考え、本研究では、Bgn 欠損が皮膚に与える影響を組織学的に解析した。

2. 方法

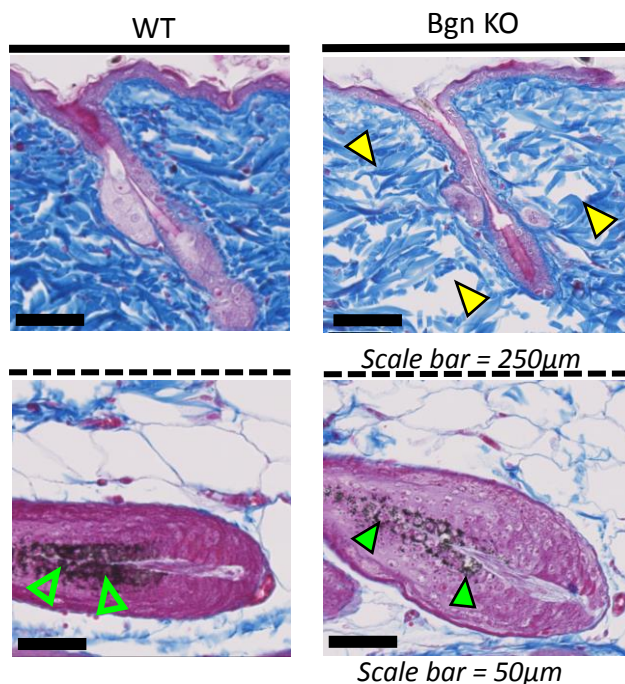
27 週齢 Bgn KO マウス 1 匹及び 22 週齢野生型 (WT) マウス 2 匹の背部皮膚から作製したパラフィン包埋組織を薄切し、H-E 染色、Azan 染色及び CD31 免疫染色を行った。

3. 結果

WT に比べて Bgn KO の真皮は薄く（図 1：上）、Azan 染色で染色される膠原線維が少なかった（図 2：上）。また毛包内の細胞の密度は小さく（図 1：下）、メラニン小胞の分布は疎だった（図 2：下）。CD31 染色で染色される血管の数に違いは見られなかった（表 1）。



(図 1) 皮膚の H-E 染色像 (上) 及び毛包の強拡大像 (下)



(図 2) 真皮の Azan 染色像 (上) 及び毛包の強拡大像 (下)

(表 1) マウス皮膚における血管数の比較

	WT1	WT2	Bgn KO
Total	253	214	258 / 48.6mm ²

4. 考察

Bgn は骨や皮膚（表皮、上皮、ケラチノサイト）に発現し²、また真皮におけるコラーゲン線維の形成に関与する³と報告されており、Bgn は皮膚の厚さやコラーゲン形成に関与することが示唆された。毛包の大きさは毛髪のサイズや厚みに影響を与えることが知られているが⁴、Bgn 発現が毛包内の細胞密度に関与することから、Bgn が毛の濃さに影響を与えることが示唆された。一方、本研究では Bgn 発現と血管数に関連は見られなかったが、成体マウスの皮膚における血管新生はそれほど活発ではないと思われる。今後、創傷治癒など血管新生が盛んな状態において、Bgn が皮膚の再生に関与するか検討したい。

5. 参考文献

1. K Yano, Brown LF et al, J Clin Invest. 107(4):409-17, 2001
2. A Corsi, T Xu et al, J bone and mineral research: volume 17, 2002
3. P Bianco, LW Fisher et al, J Histochem Cytochem 38(11):1549-63, 1990
4. K J McElwee, R Sinclair et al, Drug Discovery Today: Disease Mechanisms volume 5 issue 2 pages e163-e171, 2008

ヒトケラチン 14 プロモーターに作用する転写因子の特定 02120134 中村 勇登

指導教員：安田 元昭（口腔分子微生物学教室）

キーワード：ケラチン 14, プロモーター、RelA

1. 緒言

中間径フィラメント(intermediate filament)は、細胞骨格を構成するフィラメント成分の一つであり、アクチンフィラメントと微小管の中間の太さ(10nm)である。また、細胞骨格の 3 つのフィラメントの中で最も溶けにくい繊維である。核を囲む形で籠状の構造をとり、核を固定する働きをしている。中間径フィラメントには、ケラチンフィラメント、ニューロフィラメント、デスミン、ビメンチン、神経膠細胞線維性酸性蛋白質 (GFAP) などがあり、細胞特異的に発現することが知られている。また中間径フィラメントは以下のように分類されている。上皮性中間系フィラメントの 1 つであるケラチンフィラメントは複数の遺伝子座から 20 種類余りのタンパク質が転写・翻訳されるが、これらの内ケラチン 14(KRT-14)は歯原性上皮に特異的に発現することが知られている。今回、KRT14 のプロモーター領域の解析を行い、KRT14 転写を制御している転写因子の特定を試みた。

2. 方法

KRT14 プロモーター領域約 900 塩基対 (図 1) を PCR 法により増幅し、ルシフェラーゼリポータープラスミド pGL4.12(Promega, USA)にクローニングした。モチーフ解析の結果を参考にして、KRT14 を制御する可能性のある転写因子(RelA, HIF-1 α , Ets1, Ets2, E4F1, E2F1, E1AF, EHF, mTwist, c-jun, ATF2, c-jun, ATF3)、細胞のリプログラミング因子である Lin28A および Lin28B、そしてアデノウイルス初期遺伝子 E1A13S をルシフェラーゼリポーターと共に HeLa 細胞に導入しデュアルルシフェラーゼアッセイにて比活性を計測した。

hKRT14 promoter sequence:
GGCTAAGCCTGGGCTATAACAATGCCAACGAGGCTTCTTGCCATACTCGGTT
TACAAAACCCCTTTCACATACATTGTCGATTGGATTCTCAGAGCTGACTGCA
CTAAGCAGATAGATGGTATGACTCCACTTTGCAGATGAGAACACTGAGGC
TCAGAGAAGTGCCAGCCCTGGGTCCAGAGGCGTAAATGGCAGAGCCAGGA
CCCACCTGACTCCAGGCTGTTTCTGGCCTCCATGAGGCCACCTGCCCTATG
GTGTGGTGGATGTGAGATCCTCACCATAGGGAGGAGATTAGGGTCTGTGCTC
AGGGCTGGGGAGAGCTGCCTGGATTCTCTTTGATGGGGATGTTGGGGTGGG
AACCACGATACACCTGACTAGCTGGGTGTATTTTCAGGGATGGGACAGACTTC
TCAGCACAGCATGGGAGGTGAGGCTGGGAGGGCCCCCAGACCTCCTTGTC
TCTAATAGAGGGTCATGGTGAGGGAGGCTGTCTGTGCCCAAGGTGACCTTG
CCATGCCGGTGCTTTCAGCCGGGTATCCATCCCTGTCAGCAGCAGGCTTCC
TCTACGTGGATGTTAAAGGCCCATTCAGTTCATGGAGAGCTAGCAGGTAAC
AGGTTTAAAGTGACAGAGGCCCTGCTCTGTGACCCCTGGCTAAGCCAGTGC
GCGGGTTCCTGAGGGCTGGGACTCCAGGGTCCGATGGGAAAGTGTAGCCTG
CAGGCCACACCTCCCCCTGTGAATCAGCCTGGCGGGACAAGAAAGCCCAA
AACACTCCAACAATGAGTTTCCAGTAAATATGACAGACATGATGAGGCGG
ATGAGAGGAGGGACCTGGCTGGGAGTTGGCGCTAGCCTGTGGGTGATGAAAG
CCAAGGGGAATGGAAAGTGCCAGACCCCGCCCTACCCACGAGTATAAAGCA
CTCGCATCCCTTTCCAATTTACCCGAGCACCTTCTCTTCACTCAGCCAACTG
CTCGCTCGCTCACTCCCTCTCTGCACCATGACCACCTGCAGCCGCCAGTT
CACCTCCTCCAGCTCCAT

図 1 KRT14 のプロモーター配列

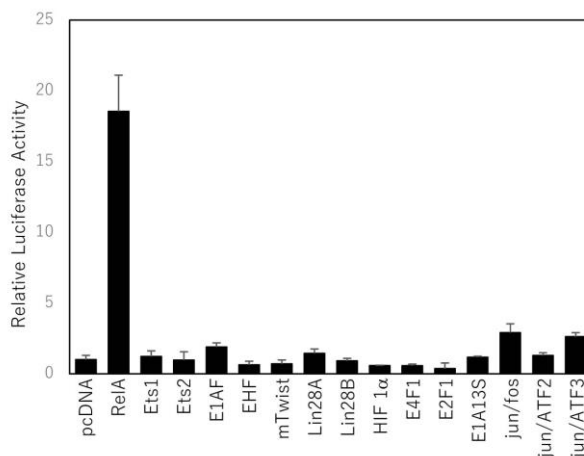


図 2 ルシフェラーゼアッセイ

グラフ下部に示した遺伝子と KRT14 リポーターを HeLa 細胞に共導入した。

3. 結果

図 2 にルシフェラーゼアッセイの結果を示した。15 の候補遺伝子中、RelA が最も顕著に KRT14 プロモーター活性を上昇させた。プロモーター配列には HIF-1 α の結合性が予測される配列がみられたが、遺伝子導入実験において HIF-1 α は KRT14 プロモーターを活性化することはできなかった。

4. 考察

RelA は、NF- κ B 転写因子ファミリーに属しており、免疫、炎症、細胞増殖、アポトーシス、腫瘍など様々な生理現象にかかわることが知られている。また、歯の先天性異常を引き起こす外胚葉異形成症の一部は、NF- κ B の活性化に関わる受容体の異常によって引き起こされることも報告されている (1、2)。今回の実験から NF- κ B の活性化を調節できれば、幹細胞を歯原性上皮細胞へと分化誘導することが可能であることが示唆された。

5. 参考文献

1. 田畑 純 外胚葉異形成症の原因遺伝子群：歯の発生におけるその役割と最近のトピック
鹿児島大学歯学部紀要 24 巻 (2004)
2. Lugassy J, McGrath JA, Itin P, Shemer R, Verbov J, Murphy HR, Ishida-Yamamoto A, Digiovanna JJ, Bercovich D, Karin N, Vitsenshtein A, Uitto J, Bergman R, Richard G, Sprecher E., KRT14 haploinsufficiency results in increased susceptibility of keratinocytes to TNF- α -induced apoptosis and causes Naegeli-Franceschetti-Jadassohn syndrome. J Invest Dermatol 128:1517-24 (2008)

持続的な *Candida albicans* 摂取が腸内細菌叢に及ぼす影響～マウスモデルの作成～

02130188 木下裕里加

指導教員：長谷部 晃（口腔分子微生物学教室）

キーワード：*Candida albicans*, マウスモデル

1. 緒言

腸内細菌叢と全身には関連性があり，腸内細菌叢のバランスを保つことは人間の健康において重要である．本実験では持続的な *Candida albicans* 摂取が腸内細菌叢に及ぼす影響について調べるためのマウスモデル作成を行い，マウスに *C. albicans* を定着させ，常時飲み込ませることを目的とした．

2. 方法

微生物は *C. albicans* を用い，マウスは C57BL/6 マウスの4週齢のメスを使用した．マウスには2週間栄養価がやや高い AIN-93G を飼料として与え，*C. albicans* をゾンデを用いて経口投与した．定着の確認にはカンジダの選択培地であるカンジダ GS 培地を用い，組織切片は，組織は HE 染色，カンジダ菌体の確認には PAS 染色を用いた．

マウスの *C. albicans* 摂取のスケジュールは図1の通りである．あらかじめすべてのマウスで *C. albicans* の口腔や腸管における有無を確認し，マウスを，*C. albicans* を飲ませるグループと飲ませないグループの2つに分けた．これらの両グループとも餌を AIN-93G とし，2週間摂食させたあとに16時間の絶食を行った．その後は2週間ごとに6週間までそれぞれマウスの糞便から *C. albicans* の定着の確認と，胃の摘出による組織像の観察を行った．

*C. albicans*の接種と胃摘出のスケジュール

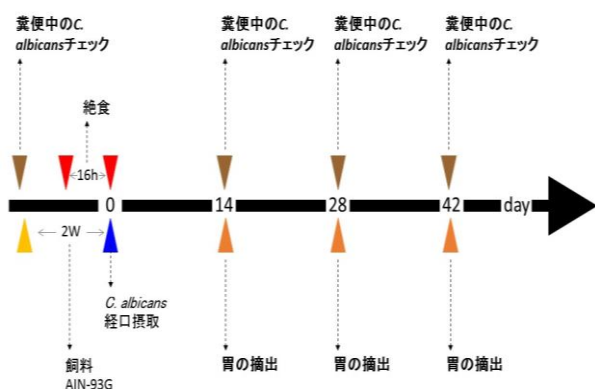


図1 摂取と胃摘出のスケジュール

3. 結果

マウス前胃において二週間後の組織像から *C. albicans* の定着が確認できた（図2）．4週間後ならびに6週間後の組織像ではカンジダ菌体を観察できなかったが，4週間後も

6週間後も糞便サンプルにおいて GS 培地から *C. albicans* が確認されたため，組織像では確認されないながらも *C. albicans* は定着していたことがわかった．

また *C. albicans* を定着させたグループでは定着させなかったグループに比べ，炎症性細胞の浸潤と重層扁平上皮の肥厚が確認できた（図3）．

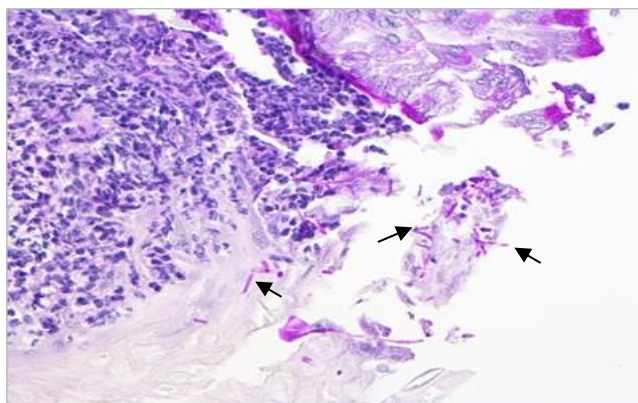


図2 二週間後のマウス前胃組織像（矢印は *C. albicans*）

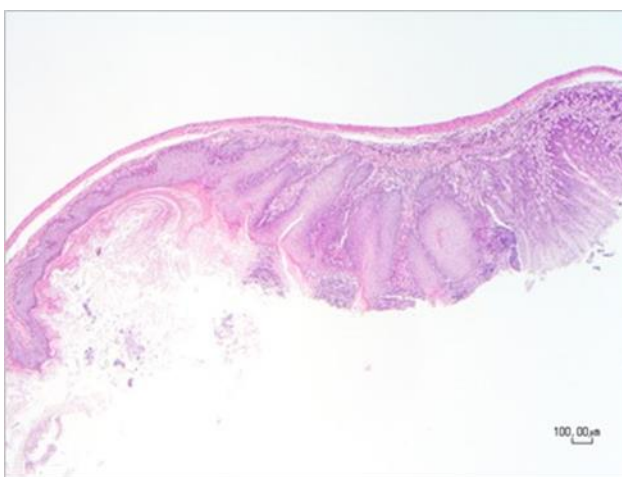


図3 二週間後のマウス胃粘膜

4. 考察

C. albicans の経口摂取によりマウス前胃の重層扁平上皮に *C. albicans* が定着していた．また，前胃における炎症性細胞の浸潤と重層扁平上皮の肥厚が確認された．口腔カンジダ症では口腔内の上皮が肥厚し，炎症が見られる場合があるが，今回の実験では口腔内で見られる組織変化が胃でも同じように観察された．

以上のことから口腔カンジダ症による腸内細菌叢への影響を調べるためのモデルとして作成したマウスは利用可能なのではないかと考えられる．

マイコプラズマ由来リポペプチド FSL-1 により誘導されるマクロファージからの細胞死によらない IL-1 β 細胞外分泌

02134020 稲田 英里子

指導教官：佐伯 歩（口腔微生物学教室）

キーワード：*M. salivarium*, FSL-1, NLRP3 インフラマソーム, IL-1 β , pyroptosis

緒言

Mycoplasma salivarium は、歯周疾患患者の歯周ポケットから高頻度で分離され、種々の口腔感染症において本マイコプラズマの抗体価が健常者に比べて有意に高いことから、歯周疾患に関与していると考えられている(1, 2, 3)。歯周炎において重要な病因的役割を果たしている炎症性サイトカイン IL-1 β は caspase-1、NLRP3 ならびに ASC の 3 分子複合体であるインフラマソームの活性化で誘導され、多くの場合インフラマソーム依存的なネクロシス様の細胞死である pyroptosis により細胞外に放出される(4, 5)。以前の研究実習では、*M. salivarium* の菌体が NLRP3 インフラマソームを活性化し IL-1 β の産生を誘導すること(6, 7)、さらに、マイコプラズマ細胞膜に存在するリポタンパク質・リポペプチドが活性物質の一つであり(8)、マクロファージの細胞質に局在して活性発現すること(9, 10)を報告した。本研究では、*M. salivarium* 由来リポペプチド FSL-1 により誘導される IL-1 β 分泌に pyroptosis が関与しているかどうかを明らかにすることを目的とした。

方法

標的細胞は C57BL/6 マウス骨髄由来マクロファージ (BMM)を用いた。BMM をリポ多糖で 4 時間刺激した後に、FSL-1 で 24 時間刺激し、上清に放出された IL-1 β 量を ELISA 法で、また乳酸脱水素酵素 (LDH) 量を測定することで細胞死を評価した。NLRP3 インフラマソームの代表的な活性化剤であり pyroptosis を誘導することが明らかにされている nigericin をポジティブコントロールとして用いた(11)。

結果ならびに考察

nigericin は BMM に IL-1 β ならびに LDH の放出を誘導した。一方で、FSL-1 は BMM に IL-1 β の放出を誘導したが、LDH の放出は誘導しなかった (図 1)。このことより、FSL-1 はマクロファージに pyroptosis を誘導することなく、IL-1 β を細胞外へ放出させることが示唆された。

参考文献

1. Engel LD, Kenny GE. *Mycoplasma salivarium* in

human gingival sulci. J Periodontal Res. 5(3), 163-71, 1970

2. Kumagai K, Iwabuchi T.他 3 名, Incidence, species, and significance of *Mycoplasma* species in the mouth. J Infect Dis. 123(1), 16-21, 1971
3. Watanabe T, Matsuura M. 他 1 名, Enumeration, isolation, and species identification of mycoplasmas in saliva sampled from the normal and pathological human oral cavity and antibody response to mycoplasma (*Mycoplasma salivarium*). J Clin Microbiol, 23(6), 1034-8, 1986
4. Graves DT, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. J Periodontol, 74(3), 391-401, 2003
5. von Moltke J, Ayres JS.他 3 名, Recognition of bacteria by inflammasomes. Annu Rev Immunol, 31, 73-106, 2013
6. 前川 翠, *Mycoplasma salivarium* によるインフラマソームの活性化, 研究実習報告集 第 15 号, 50-51, 2014
7. 杉本 明優, *Mycoplasma salivarium* によるインフラマソームの活性化, 研究実習報告集 第 16 号, 49, 2015
8. 木村 拓, マイコプラズマ由来リポタンパク質によるインフラマソームの活性化, 研究実習報告集 第 18 号, 46, 2017
9. 林 拓哉, *Mycoplasma salivarium* 由来リポペプチド FSL-1 はマウスマクロファージの細胞質へ局在し NLRP3 インフラマソームの活性化を誘導する, 研究実習報告集 第 19 号, 42, 2018
10. 福本 哲也, *Mycoplasma salivarium* 由来リポペプチド FSL-1 はマクロファージの細胞質へ局在し NLRP3/ASC speck の形成を誘導する, 研究実習報告集 第 19 号, 43, 2018
11. Evavold CL, Ruan J. 他 4 名 The Pore-Forming Protein GasderminD Regulates Interleukin-1 Secretion from Living Macrophages, Immunity 48:35-44, 2018

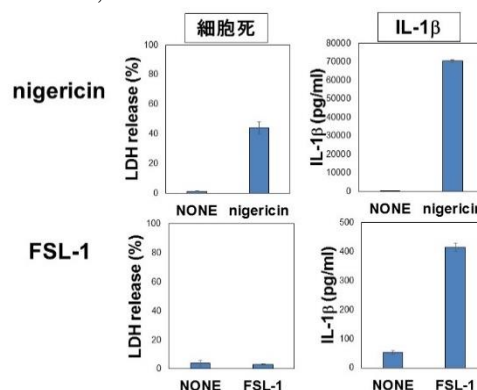


図1. 細胞死ならびにIL-1 β 細胞外分泌誘導活性

マイコプラズマ由来リポペプチド FSL-1 により誘導されるマクロファージからの IL-1 β 細胞外分泌機構

02140109 田渕 絢子

指導教員：佐伯 歩（口腔分子微生物学教室）

キーワード：FSL-1, IL-1 β , gasdermin D, 細胞膜透過性

緒言

共同研究者（稲田の研究実習報告書参照）が *M. salivarium* 由来リポペプチド FSL-1 はマクロファージに対して細胞死を誘導することなく IL-1 β を細胞外へ放出させることを明らかにした。そこで、FSL-1 がどのような機構で生きたマクロファージに IL-1 β 放出を誘導するのかを明らかにすることを目的とし、caspase-1により活性化された gasdermin D の N 末端領域により細胞膜に形成された小孔の関与(1)ならびに細胞膜透過性の関与(2)を検証した。

方法

標的細胞としては、C57BL/6 (B6)ならびに B6 から gasdermin D をノックアウトしたマウス (gasdermin D^{-/-})から分化誘導した骨髄由来マクロファージ(BMM)を用いた。これらの BMM をリポ多糖で 4 時間刺激した後に、FSL-1 で 24 時間刺激し、上清に放出された IL-1 β 量を ELISA 法で測定した。NLRP3 インフラマソームの代表的な活性化剤であり、gasdermin D 依存的に IL-1 β 放出を誘導することが明らかにされている nigericin をコントロールとして用いた(1)。

結果ならびに考察

nigericin の IL-1 β 放出誘導活性は gasdermin D のノックアウトにより阻害されたが、FSL-1 の本活性は gasdermin D のノックアウトで阻害されなかった (図 1)。また、nigericin ならびに FSL-1 の本活性は、細胞膜透過性の阻害剤である punicalagin により有意に阻害された (図 2)。以上のことより、nigericin の IL-1 β 放出誘導活性は gasdermin D 依存的で細胞膜透過性が関与しているのに対し、FSL-1 の本活性は gasdermin D 小孔によるものではなく、細胞膜透過性が関与していることが示唆された (図 3)。

参考文献

- Evavold CL, Ruan J. 他 4 名 The Pore-Forming Protein GasderminD Regulates Interleukin-1 Secretion from Living Macrophages, *Immunity* 48:35-44, 2018
- Martín-Sánchez F, Diamond C. 他 14 名, Inflammasome-dependent IL-1 release depends upon membrane permeabilisation, *Cell Death and Differentiation* 23:1219-31, 2016

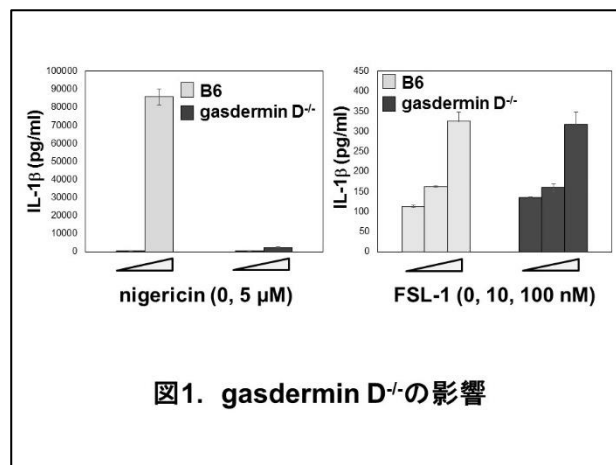


図1. gasdermin D^{-/-}の影響

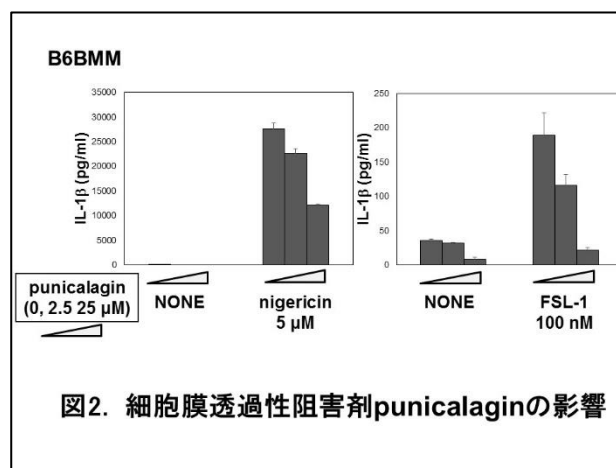


図2. 細胞膜透過性阻害剤punicalaginの影響

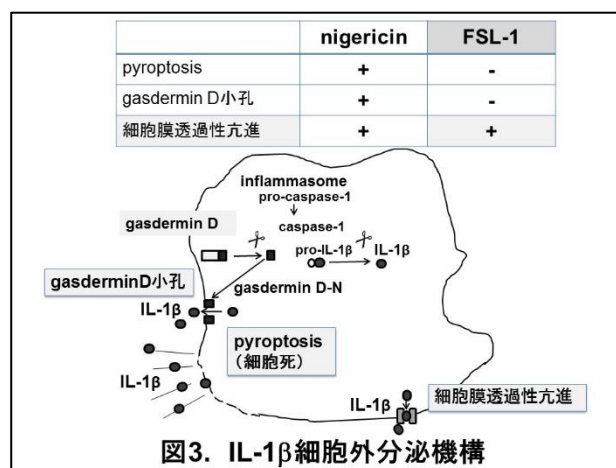


図3. IL-1 β 細胞外分泌機構

1. 緒言

以前までの研究により, *Candida albicans* の持続的な摂取によってマウスの腸内細菌叢に変化が生じることがわかった. この腸内細菌叢の変化が大腸炎に与える影響とその原因として制御性 T 細胞 (Treg) に着目して研究を行った.

2. 方法

用いた微生物は *C. albicans* であり, マウスは C57BL/6 マウスの 4 週齢のメスを使用した. 腸炎の誘導には 2% デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) を用いた. マウスのグループ分けは, *C. albicans* の有無と 2% デキストラン硫酸ナトリウムの飲水投与の有無で 4 組に分けた. DSS により腸炎が誘導された場合には, 下痢を起こすためにマウスの体重が減少するため, 腸炎の評価には体重の変動率を調べた. また, Treg の誘導の評価として短鎖脂肪酸の測定を行うため, 糞便由来サンプルを高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した.

C. albicans の経口摂取開始から 14 日目から DSS の飲水を開始したので, 体重の変化率は 14 日以降 39 日まで調べた. また, 糞便の採取も同様に *C. albicans* 接種から 14 日目から, 28 日目, 42 日目に行った.

3. 結果

図 1 は, 4 組に分けたマウスの体重変動率を示している. この結果から *C. albicans* を摂取していない場合は DSS が影響を与えないのに対し, *C. albicans* の摂取がある場合は DSS による体重減少に有意差があったことから, *C. albicans* は DSS 投与による大腸炎を悪化させることがわかった.

また, 短鎖脂肪酸の結果は図 2 のようになり, コハク酸に関しては *C. albicans* の有無によって有意差があると思われる結果が得られたが, 乳酸, 酢酸に関しては有意差がなかった. その他短鎖脂肪酸として, ギ酸, n-酪酸, iso-酪酸, iso-吉草酸, n-吉草酸も測定したが, これらは糞便中に検出されなかった.

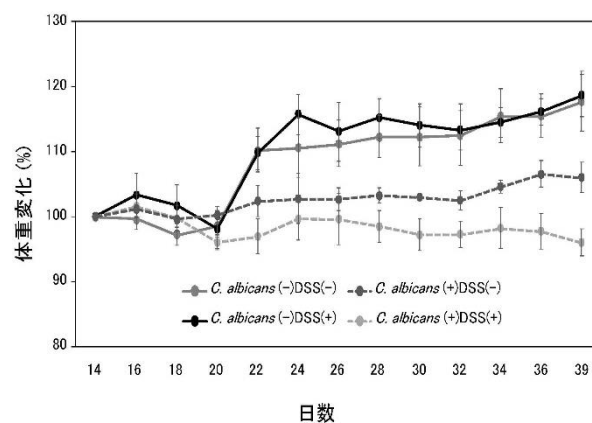


図 1 *C. albicans* と DSS の飲水投与で分けた 4 組の体重の変動率

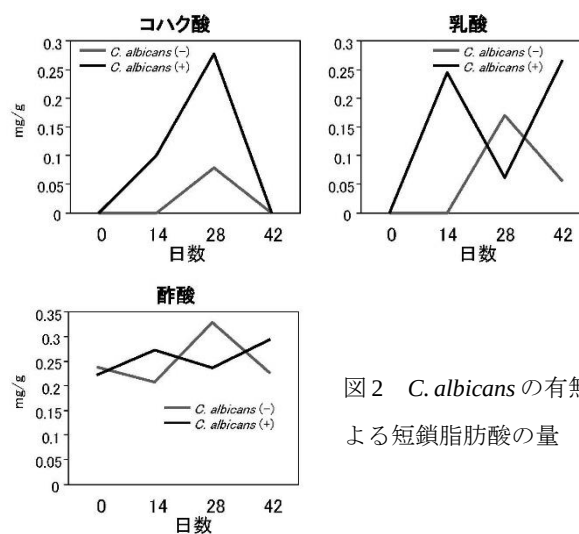


図 2 *C. albicans* の有無による短鎖脂肪酸の量

4. 結論

以上のことから本研究では, *C. albicans* の持続的な摂取は大腸炎に関与し, 症状を悪化させるが, 腸管内の短鎖脂肪酸を誘導しないことがわかった. そのため *C. albicans* は炎症の増悪に関与しているが, その増悪に Treg は関与していない可能性が高いことがわかった. *C. albicans* の投与による炎症増悪の原因が判明していないため, 今後も研究が必要である.

Candida albicans の持続的な摂取が腸管 IgA に及ぼす影響について

02144009 浮田奈穂

指導教員：長谷部 晃（口腔分子微生物学教室）

キーワード：*C. albicans*, 腸内細菌叢, IgA

1. 緒言

Candida albicans を持続的に摂取すると腸内細菌叢が変化する。IgA は腸管における重要な免疫グロブリンであることから、本研究では、*C. albicans* を持続的に摂取することで腸管 IgA の量にどのような変化が生じるのかを調べ、*C. albicans* 摂取による腸内細菌叢の変化の原因を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

微生物は *Candida albicans*, *Bacteroides fragilis*, *Lactobacillus gasei* を用い、マウスは、C57BL/6 マウス 4 週齢のメスを用いた。マウスは *C. albicans* を定着させなかったグループと定着させたグループを用意し、それぞれのグループのマウスの糞便中 IgA 量を ELISA 法で測定し、*C. albicans*, *B. fragilis*, *L. gasei* に対する特異的な IgA の量はフローサイトメトリーで測定した。ELISA 法では、まず、96 穴プレートのすべての底面に抗 IgA 抗体を結合させ、その穴にマウス糞便を潰して攪拌した上清を加えた。糞便中の IgA は、底面の抗 IgA 抗体に結合する。そこに、ビオチン標識した抗 IgA 抗体を加えると結合するので、さらにアビジン標識した酵素を加えると、結果として糞便中の IgA 抗体は、アビジン標識した酵素が結合しているという状況になる。そこで、この酵素に反応する基質を加え発色させ、吸光度を測定することで、糞便中の IgA 量を算出した。フローサイトメトリーでは、まず細菌に糞便中 IgA を結合させ、そこに蛍光標識した抗 IgA 抗体を結合させた。この細菌と抗体の複合体をサンプル中に分散させ、サンプルをフローサイトメーター内に流すと細菌中をレーザー光が通過するが、その際に生じる蛍光や散乱光を数値データ化し統計解析することで細菌に特異的な IgA 量を測定した。

3. 結果と考察

図 1 は、糞便 1 mg 中の IgA 量を示している。*C. albicans* が定着していないグループをコントロール (*C. albicans* -) とした。*C. albicans* が定着させ、常時摂取するようにしたグループ (*C. albicans* +) とコントロールグループと比較すると、*C. albicans* が定着しているグループの方が定着後 14 日でコントロールグループよりも糞便中 IgA 量が増加しており、それが 42 日後まで維持されていることが分かった。

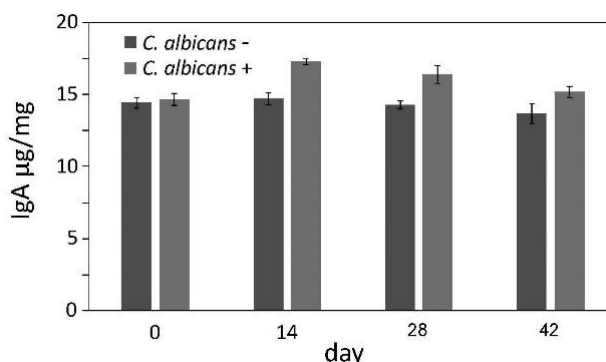


図 1. 糞便中 IgA 量の変化

図 2 は各細菌に対する特異的な IgA 量の変化を示している。*B. fragilis* は *C. albicans* 摂取により腸内細菌叢においてその割合が減少しているため、*B. fragilis* に対する IgA は増加していると予想されたが、IgA は増加していなかった。一方 *L. gasei* は *C. albicans* 摂取により腸内細菌叢においてその割合が増加しているため、*L. gasei* に対する IgA は減少していると予想されたが、IgA は有意差を持って減少しているとは言えなかった。*C. albicans* に対する IgA は *C. albicans* を摂取しているため増加していると予想されたが、IgA は増加しなかった。

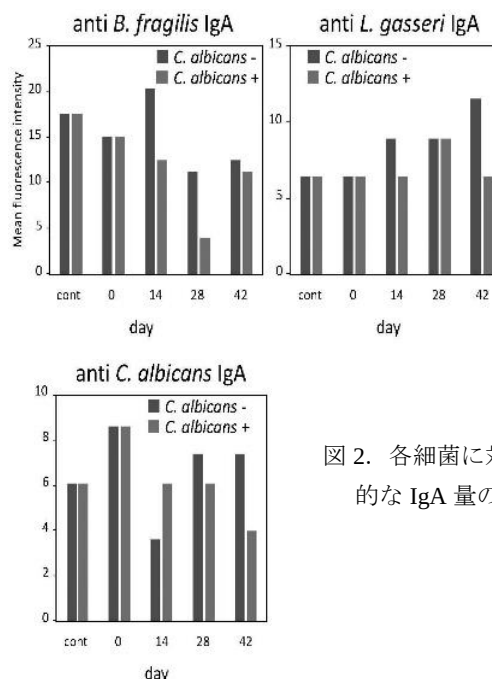


図 2. 各細菌に対する特異的な IgA 量の変化

したがって、*C. albicans* を与えることで腸管 IgA の量は増加するが、腸内細菌叢の変化の原因は細菌に特異的な IgA 量の変化によるものではないのかもしれないということがわかった。しかし *C. albicans* 定着により明らかに腸内細菌叢に変動があるため、今後は腸内細菌叢を構成する他の細菌に対する特異的な IgA 量の変化や、腸内の嫌気度の変化についての検討などが必要であると思われる。

Two Hybrid 法による E1B19K と BNIP3 の解析

02144014 岡庭 楓

指導教員：安田 元昭（口腔分子微生物学教室）

キーワード：Two Hybrid 法, E1B19K, BNIP3

1. 緒言

ヒトアデノウイルスは約 3 万 6 千塩基対のゲノムサイズを有する DNA ウィルスであり、げっ歯類初代培養細胞をがん化することができる。主要ながん遺伝子は E1 および E4 領域に存在する。このうち E1B19K は細胞のアポトーシス抑制因子 bcl2 のウィルスホモログタンパク質であり、E1B19K がアポトーシスを抑制することで E1A が主としてはたらく細胞の癌化作用に寄与すると考えられている。

一方、BNIP3 は宿主細胞のアポトーシス誘導タンパク質であり、bcl2、E1B19K などのアポトーシスを抑制タンパク質は BNIP3 に結合することによって細胞死を抑制することが知られている。しかしながらこれらの直接結合には不明な点も多く、BNIP3 のどのドメインが結合に必須であるかについては議論も多い (1-3)。今回の研究では Two Hybrid 法を用いて、BNIP3 の E1B19K への結合ドメインを明らかにすることを試みた。

2. 方法

Promega 社の CheckMate™ Mammalian の Two-Hybrid System の pACT および pBIND ベクターに BNIP3 と E1B19K をクローニングし、HeLa 細胞にリポフェクション法により導入し、同社の Dual Luciferase kit を用いてルシフェラーゼ由来の発光量を計測した。作成した BNIP3 の変異体を図 1 に示した。図 1 のごとく N 末端の 49 アミノ酸、中央部の 27 アミノ酸、および C 末端の膜貫通ドメインを削除したものをそれぞれ BNIP3 Δ49、BNIP3 Δ27、BNIP3 ΔTM とした。

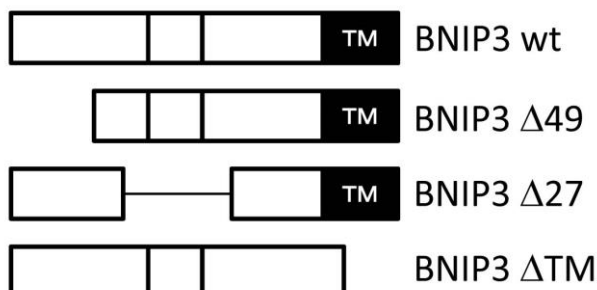


図 1 BNIP3 プラスミドマップ

3. 結果

結果を図 2 に示した。空ベクターに比べて野生型 BNIP3、BNIP3 Δ49、BNIP3 Δ27 は有意な結合性を示していた。

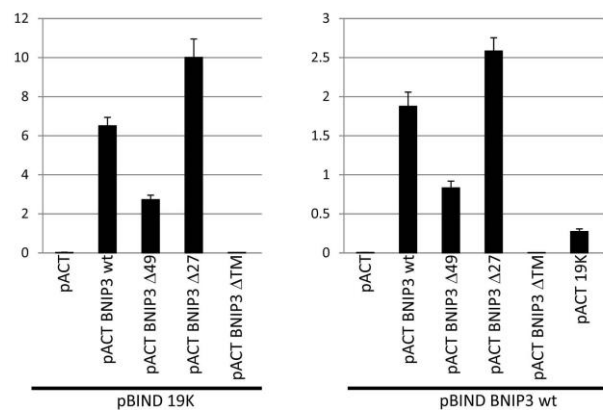


図 2 ルシフェラーゼアッセイの結果

縦軸はルシフェラーゼの比活性を示している。BNIP3 どちらの結合は BNIP3 と E1B19K 間の結合よりも強固である。

一方 BNIP3 ΔTM は空ベクターと同等の比活性を示すのみであった。また BNIP3 をクローニングした pACT および pBIND プラスミドを導入した細胞でも有意な発光量を計測することができ、BNIP3 どちらが多量体を形成することが示唆された。この反応系においても BNIP3 ΔTM では結合が確認されなかった。

4. 考察

以上の結果から BNIP3 は C 末端にある TM ドメインを介して、E1B19K と結合していること、ならびに BNIP3 の多量体の形成にも TM ドメインが必須であることが明らかとなった。また、少なくとも今回の実験条件下では、中央部の 27 アミノ酸配列は結合性を低下させる機能を持つことが示唆された。

5. 参考文献

- Boyd JM1, Malstrom S, Subramanian T, Venkatesh LK, Schaeper U, Elangovan B, D'Sa-Eipper C, Chinnadurai G. Adenovirus E1B 19 kDa and Bcl-2 proteins interact with a common set of cellular proteins. Cell. 1994 Oct 21;79(2):341-51.
- Yasuda M, Theodorakis P, Subramanian T, Chinnadurai G. Adenovirus E1B-19K/BCL-2 interacting protein BNIP3 contains a BH3 domain and a mitochondrial targeting sequence. J Biol Chem 273(20):12415-21, 1998
- Yasuda M, D'Sa-Eipper C, Gong XL, Chinnadurai G. Regulation of apoptosis by a Caenorhabditis elegans BNIP3 homolog. Oncogene 17(19):2525-30, 1998
- Yasuda M, Han JW, Dionne CA, Boyd JM, Chinnadurai G. BNIP3alpha: a human homolog of mitochondrial proapoptotic protein BNIP3. Cancer Res 59(3):533-537, 1999

エナジードリンクの暗算作業効率に及ぼす影響

02130939 桜井 優彰

指導教員：吉村 善隆（薬理学教室）

キーワード：内田クレペリン検査、暗算作業効率、エナジードリンク

1. 緒言

エナジードリンクは精神的、肉体的疲労回復を目的に販売されているが、その効果について知ることはほとんどない。そこで、今回、クレペリン検査を用いた暗算作業効率を指標として、エナジードリンクの暗算作業効率に及ぼす影響について検討した。

2. 材料と方法

健康な被験者A、BおよびC三名に、各種飲料の摂取前後に内田クレペリン検査（図1）を行った。内田クレペリン精神作業検査とは、クレペリンが実験心理学的研究のために考案したものを、内田勇三郎が翻案したパーソナリティー検査である。

検査は三人一組で一名が監督者、二名が受検者として交互に行い、前半受検者が開始してから7分30秒後に後半受検者が開始し、検査時間が重ならないようにした（図2）。作業慣れによる影響を排除するため、第2時点の中央値をパーセント回答数100%とし（縦軸）、第2時点（②）と第3時点（③）との間に各種飲料を摂取した。なお、コントロールは水を摂取した場合の結果を示している。それぞれ4回行い、この摂取前後の暗算作業効率の変化から各種飲料の効果を比較検討した。

コントロールとして水（166ml（天然水：西友）、エナジードリンクとして、清涼飲料水であるレッドブル（185ml（カフェイン80mg）：レッドブル）およびモンスターウルトラ（177.5ml（カフェイン71mg）：アサヒ飲料）、第3類医薬品であるリポビタンゴールドX（50ml（カフェイン50mg）：大正製薬）を用いた。

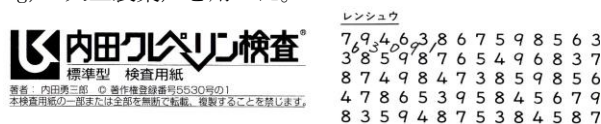


図1 内田クレペリン検査用紙

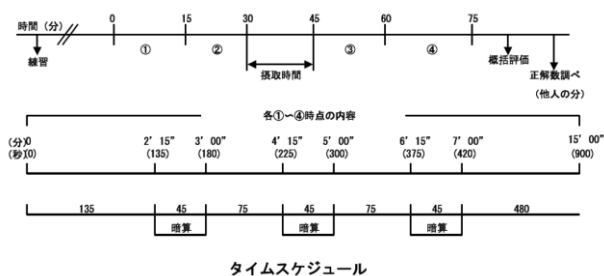


図2 測定の実験スケジュール

3. 結果

被験者A（図3）、B（図4）およびC（図5）において、レッドブルの被験者Aにおいてのみ作業効率の向上が認められたが、他のエナジードリンクのいずれも作業効率の向上が認められなかった。嗜好に関して調べたところ、被験者A、BおよびCともに、毎日、カフェイン含有飲料を摂取していた。また、今回使用したエナジードリンク全てが好みの味であった。

4. 考察

過去の研究実習によると、エナジードリンクに含まれる

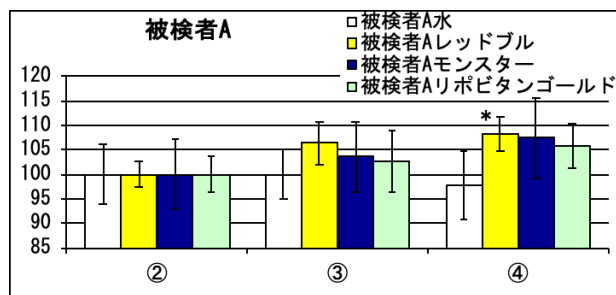


図3 被験者A

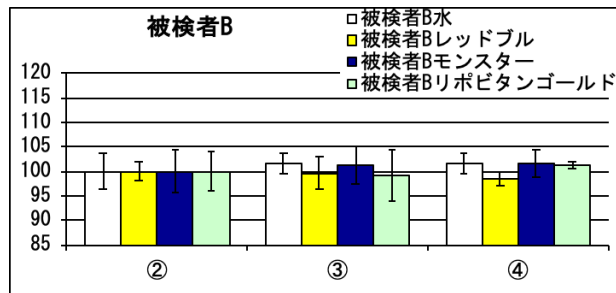


図4 被験者B

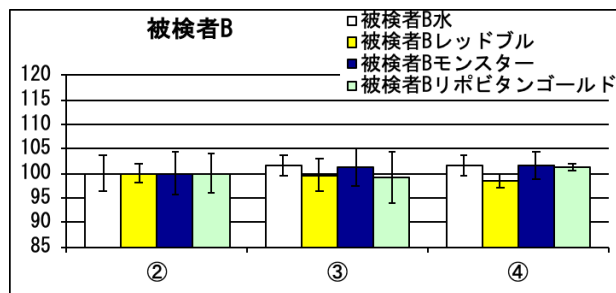


図5 被験者C

カフェインが中枢神経を刺激し、暗算作業効率を向上することを示唆しているが、今回は認めなかった。アメリカで販売されているモンスターウルトラおよびレッドブルにはタウリンが配合されているが、医薬品医療機器等法の規定により、日本で販売されている両者には配合されておらず、清涼飲料水である。タウリンが配合されるリポビタンゴールドは第3類医薬品である。疲労回復作用があると報告されているタウリンの効果も認めなかった。従って、レッドブルの被験者Aにおいてのみ作業効率の向上が認められたが、理由は不明である。

今回の結果は、プラセボを用いた二重盲検試験ではなく、また、被験者も三名であることから一般的な効果を示すことはできないが、カフェイン含有飲料を毎日摂取している場合、エナジードリンクにより作業効率の向上は期待できないことが示唆された。

参考文献

- 1) 田中千賀子、加藤隆一、成宮周 編集：NEW 薬理学改訂第7版. 南江堂，東京，2017.
- 2) 大谷啓一 監修：現代歯科薬理学 第6版. 医歯薬出版社，東京，2018.
- 3) 日本私立薬科大学協会薬理学関連教科検討委員会編：薬理学実習の実際とデータの見方. 南山堂，東京，1999.
- 4) リクルーティング・セミナー 編：内田クレペリン検査. 土屋書店，東京，2007.

チタン, ジルコニア製インプラントへの細菌付着と抗菌機能付加に関する検討

02140425 小石 桃子

指導教員：南川元（薬理学教室）

キーワード：Ti, Zr, 表面性状, インプラント周囲炎, 細菌付着

1. 緒言

インプラント周囲炎はインプラント表面への細菌の付着が原因となり、osseointegration の喪失や歯槽骨の吸収を引き起こす。インプラント表面を処理することで、様々な表面性状を付与できる。表面性状の違いは細菌の付着等に影響するため、インプラント周囲炎にも影響があると考えられている。そこで、インプラントとして使用されているチタン(Ti)とジルコニア(Zr)の細菌付着の違い、また、Ti, Zr に抗菌作用を付与した場合の細菌付着について比較し検討することを目的として研究実習を行った。

2. 方法

3本の論文を読みまとめた。

3. 結果

論文1の概要については次の通り。

Ti と Zr との細菌付着の違いについて検証した。Y-TZP, NanoZR, Ti ディスクに唾液存在下と非存在下で *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* を播種、培養し、細菌の初期付着と定着の評価をした。初期付着、定着ともに金属の種類別で有意差がなかった。初期付着では唾液存在下のほうが非存在下よりも付着量が少なかったが、定着では有意差はなかった。結果として、Ti と Zr では細菌付着・定着には違いがないことがわかった。

論文2の概要については次の通り。

細菌付着を抑制する手段としてオゾン処理があり、Ti と Zr で数種類の表面性状においてその効果を比較、検証した。サンドブラスト+酸処理 Ti ディスク (Ti-SLA)、機械研磨処理 Ti ディスク (Ti-P)、酸処理 Zr ディスク (Zr-A)、機械研磨 Zr ディスク (Zr-P) を使用した。それぞれのディスクに *Porphyromonas gingivalis*、*Streptococcus sanguinis* を播種し、接着した細菌数を評価した。さらに6秒間又は24秒間オゾン処理し、その抗菌効果についても評価した。細菌接着数はサンドブラスト+酸処理 Ti > 酸処理 Zr > 研磨 Ti > 研磨 Zr の順に少なくなった(図1)。表面粗さが大きい方が、細菌が接着しやすいことがわかった。オゾン処理は、*Porphyromonas gingivalis* に対して24秒間処理で全ての表面性状において約99%の殺菌効果が認められた。

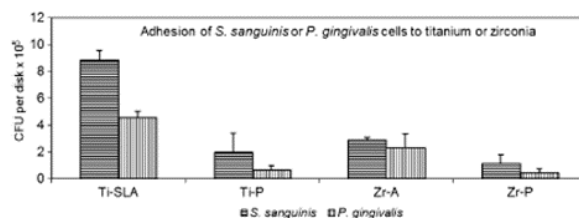


図1. Ti, Zr 各表面性状に対する細菌接着数(論文2より)

論文3の概要については次の通り。

インプラントへの抗菌機能の付与についての systematic review である。In vitro・In vivo において抗菌薬を付与した表面、銀を付与した表面、ポリマーコーティング表面、陽極酸化した表面、UV 活性化表面、ナノスケール表面、抗菌ペプチド表面、窒化した表面それぞれで抗菌作用を示した。抗菌作用は細菌の種類によってばらつきがあった。それぞれの抗菌機能では以下の利点、欠点を確認された。抗菌薬付与の表面は作用時間が短く、薬物耐性菌の出現の可能性、薬の代謝物のオッセオインテグレーションへの影響が不明なことが欠点である。銀を付与したインプラントの抗菌作用時間は長く、耐性菌の出現の傾向も低い、毒性がある可能性がある。ポリマーコーティングも作用時間は長い、機械的・化学的不活性に疑問が残る。UV 活性化表面は作用時間が短い。ナノスケール表面は毒性がある可能性がある。

4. 考察

Zr と Ti とは細菌初期付着と定着に有意差はなかったが、表面粗さが增大すると細菌接着数は増加した。そのため両者とも細菌付着を抑制する対策が必要であると考えられる。オゾン処理は表面を傷つけないで、抗菌作用を付与するが、安全な線量と時間を考慮した上での使用が望まれる。論文3では様々な抗菌機能を検証しているが、いずれの方法も利点・欠点がある。また今後、生体内での細菌減少、生体適合性を確認し、バイオフィルムの殺菌効果、インプラント周囲炎への効果が解明される必要があると考えられた。

5. 参考文献

1. Hauser-Gerspach et al. Influence of gaseous ozone in peri-implantitis : bactericidal efficacy and cellular response. An in vitro study using titanium and zirconia, Clin Oral Invest, 16, 1049-1059, 2012
2. Jasmin Grischke et al. Antimicrobial dental implant functionalization strategies - A systematic review, Dental Materials Journal, 35(4), 545-558, 2016
3. Masahiro Egawa et al. In vitro adherence of periodontopathic bacteria to zirconia and titanium surfaces, Dental Materials Journal, 32(1), 101-106, 2013

お茶の暗算作業効率に及ぼす影響

02144006 池内 恵里奈

指導教員：吉村 善隆（薬理学教室）

キーワード：内田クレペリン検査、暗算作業効率、紅茶、緑茶、ハーブティ

1. 緒言

「お茶」は我々の生活と密接な関係がある。単なる飲料ではなく、リラックス効果も考えられる。お茶にはカフェインを含んでいるものもあるが、含んでいないものもある。そこで、今回、クレペリン検査を用いた暗算作業効率を指標として、お茶の暗算作業効率に及ぼす影響について検討した。

2. 材料と方法

健康な被験者A、BおよびC三名に、各種飲料の摂取前後に内田クレペリン検査（図1）を行った。内田クレペリン精神作業検査とは、クレペリンが実験心理学的研究のために考案したものを、内田勇三郎が翻案したパーソナリティー検査である。

検査は三人一組で一名が監督者、二名が受検者として交互に行い、前半受検者が開始してから7分30秒後に後半受検者が開始し、検査時間が重ならないようにした（図2）。作業慣れによる影響を排除するため、第2時点の中央値をパーセント回答数100%とし（縦軸）、第2時点（②）と第3時点（③）との間に各種飲料を摂取した。なお、コントロールは水を摂取した場合の結果を示している。それぞれ4回行い、この摂取前後の暗算作業効率の変化から各種飲料の効果を比較検討した。

飲料として、水（166ml（天然水：西友）、および紅茶（140ml（カフェイン70mg）：アールグレイティーバッグ：トワイニング）、緑茶（140ml（カフェイン28mg）：香りの緑茶ティーバッグ：宇治園）、ハーブティ（140ml（カフェイン0mg）：カモミールティーバッグ：トワイニング）を用いた。

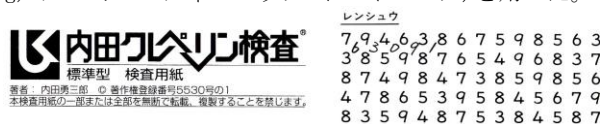


図1 内田クレペリン検査用紙

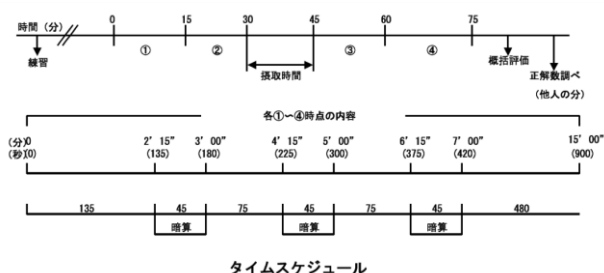


図2 測定タイムスケジュール

3. 結果

被験者A（図3）、B（図4）およびC（図5）において、カフェイン含有飲料である紅茶の被験者Aにおいてのみ作業効率の向上が認められたが、カフェイン含有量が少ない緑茶、カフェインを含有していないハーブティのいずれも作業効率の向上が認められなかった。嗜好に関して調べたところ、被験者A、BおよびCともに、毎日、カフェイン含有飲料を摂取していた。被験者Aにおいては今回使用した飲料全てが好みの味であったが、被験者BおよびCにおいては、ハーブティは好みの味ではなかった。

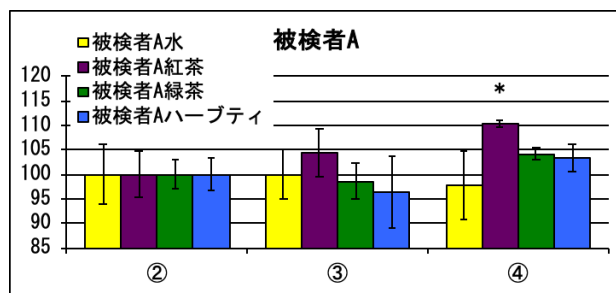


図3 被験者A

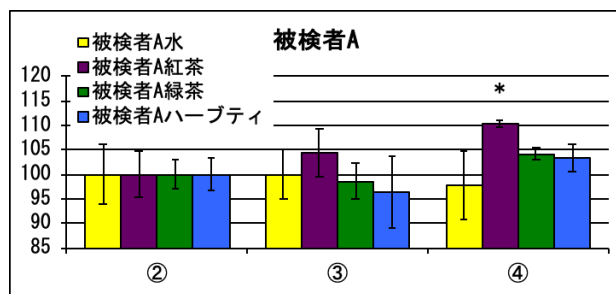


図4 被験者B

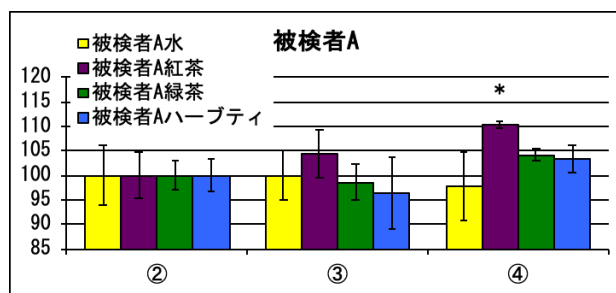


図5 被験者C

4. 考察

過去の研究実習によると、休憩によって生じる気分転換によるリフレッシュ効果、リラックス効果が暗算作業効率を向上すると報告しているが、今回は認められなかった。被験者Aの紅茶においてのみ、作業効率の向上が認められた。今回は示していないが、他のカフェイン含有飲料の結果において、作業効率の向上が認められなかったことから、カフェインによる影響はないことが考えられる。

今回の結果は、プラセボを用いた二重盲検試験ではなく、また、被験者も三名であることから一般的な効果を示すことはできないが、今回の被験者においては、お茶によるリフレッシュ効果、リラックス効果は短時間における暗算作業効率の向上を認めなかった。従って、カフェイン含有飲料を毎日摂取している場合、作業効率の上がる方法は無いことが示唆された。

参考文献

- 1) 田中千賀子、加藤隆一、成宮周 編集：NEW 薬理学改訂第7版. 南江堂，東京，2017.
- 2) 大谷啓一 監修：現代歯科薬理学 第6版. 医歯薬出版社，東京，2018.
- 3) 日本私立薬科大学協会薬理学関連教科検討委員会編：薬理学実習の実際とデータの見方. 南山堂，東京，1999.
- 4) リクルーティング・セミナー 編：内田クレペリン検査. 土屋書店，東京，2007.

歯根完成永久歯に対する Pulp Revascularization の評価
02144031 高杉 太人
指導教員：南川元（薬理学教室）
キーワード：Pulp Revascularization, mature tooth, regenerative endodontics

1. 緒言

従来、歯根未完成歯の壊死根管に対して水酸化カルシウムを用いたアペキシフィケーションが行われている。しかし、この従来のアペキシフィケーションには、硬組織の誘導までに1～2年の治療期間が必要という点、水酸化カルシウムが象牙質構造を脆弱化させることで歯根破折を起こす可能性がある点の二つの欠点がある。これらの欠点を補う方法として、内在性の細胞を根管系へ誘導して組織再生を起こさせる Pulp revascularization が考案された。Pulp Revascularization は歯髄壊死した歯根未完成歯だけでなく歯根完成永久歯にも応用されているが、歯根完成歯に対しては症例報告が多く、治療プロトコールも様々な方法が報告されているので、今回、4本の関連する論文をまとめて歯根完成歯に対する Pulp Revascularization の評価を行った。

2. 方法

“Pulp Revascularization”, “mature tooth” で電子検索を医中誌・PubMed・J-STAGE で行い、関連する4本の論文を読みまとめた。

3. 結果

論文1の概要については次の通り。
通常プロトコールでの Pulp Revascularization 症例報告である。対象年齢は8～23歳、人数は5人。検査項目は、X線撮影による読影・根尖長測定・電気診。全ての症例で、臨床徴候や症状の後退と根尖周囲 X 線透過性の大きさの減少が観察され、電気診による反応はなかった。

論文2の概要については次の通り。
PRP 使用 Pulp Revascularization の症例報告。対象年齢は40歳、人数は1人。検査項目は、X線撮影による読影・根尖長測定・電気診。経過観察は1年間。治療開始6ヵ月後、根尖の病状は減少し、根尖孔の狭窄が見られた。1年後には、根全体の周りの正常な骨が再確立され、根管の先端3分の1が狭くなった。

論文3の概要については次の通り。
PRF 使用 Pulp Revascularization の症例報告。対象年齢は18～40歳、人数は15人。検査項目は、X線撮影による読影・根尖長測定・電気診。経過観察期間は、1年間。全ての症例で根尖病変の徴候や症状の解決が見られた。経過観察終了時、歯の感度の実験前と有意差があり15人中9人に歯の感受性が戻った。治療成績を治療経過時間毎に調査すると、感度が回復した歯の割合は術後から徐々に増加し、12ヶ月で最高レベルに達したことがわかった。

論文4の概要については次の通り

コラーゲン膜使用 Pulp Revascularization とコラーゲン膜使用なしの Pulp Revascularization を比較した論文。対象年齢は8～12歳、人数は43人。検査項目は、X線撮影による読影・象牙質壁の厚さ計測・根尖長測定・電気診。経過観察期間は、6ヵ月。全ての症例で根尖病変の徴候や症状の解決が見られた。電気診ではコラーゲン膜使用なしとの有意差は見られなかった。X線写真上で象牙質壁を計測した結果、コラーゲン膜を使用した根中央三分の一の象牙質壁の厚みが顕著に厚くなりコラーゲン膜使用なし群の象牙質壁との差が認められた。

以上の結果を図1にまとめた。

	成長因子・足場の使用	根尖病巣消失	象牙質壁増加	根尖孔閉鎖	電気診
Ling He, et al 2017	不使用	○	—	○	×
Mobamed Nageb, et al 2018	PRP使用	○	—	○	—
Ganesh Ranganath Jabhav, et al. 2014	PRF使用	○	—	○	9/15
Xijun Jiang, et al 2017	コラーゲン膜使用	○	○	○	7/21

図1. Pulp Revascularization の種類と検査結果まとめ

4. 考察

図1の結果から、歯根完成歯では Pulp Revascularization によって根尖病巣の消失及び根尖孔閉鎖が全てのケースで確認されたことがわかる。このことから、Pulp Revascularization は歯根未完成歯だけでなく、歯根完成歯の感染根管の治療法としての可能性が示唆された。しかし、歯髄診による感受性回復に関しては、検査により確認が取れた症例でも6割ほどの治療成績に終わった。また、成長因子や足場の利用は成功率を上げる可能性が示唆された。以上から、完全な歯髄再生についてはまださらなる検討が必要であると思われるが、今後 Pulp Revascularization は歯根完成歯に対しても有効な方法になりうると考えられる。

5. 参考文献

1. Ling H, et al., Regenerative-Endodontics-for-Adult-Patients. J Endod., 43, 7-64, 2017
2. Ranganath J, et al., Platelet-rich plasma supplemented revascularization of an immature tooth associated with a periapical lesion in a 40-year-old man, Ganesh Case Rep Dent., 4, 2014
3. Mobamed N, et al., Assessment of regaining pulp sensibility in mature necrotic teeth using a modified revascularization technique with platelet-rich fibrin J Endod., 44, 1526-1533, 2018
4. Xijun J, et al., Clinical and radiographic assessment of the efficacy of a collagen membrane in regenerative endodontics J Endod., 43, 1465-1471, 2017

カフェインの暗算作業効率に及ぼす影響

02144037 南保 隼人

指導教員：吉村 善隆（薬理学教室）

キーワード：内田クレペリン検査、暗算作業効率、カフェイン

1. 緒言

カフェインは脳皮質に作用し、精神・運動・知覚機能が高めることが知られている劇薬、すなわち医薬品である。しかし、コーヒーや紅茶、清涼飲料水などカフェインを含有している飲料は多数存在している。クレペリン検査を用いた暗算作業効率を指標として、カフェイン含有飲料の暗算作業効率に及ぼす影響について検討した。

2. 材料と方法

健康な被験者A、BおよびC三名に、各種飲料の摂取前後に内田クレペリン検査（図1）を行った。内田クレペリン精神作業検査とは、クレペリンが実験心理学的研究のために考案したものを、内田勇三郎が翻案したパーソナリティー検査である。

検査は三人一組で一名が監督者、二名が受検者として交互に行い、前半受検者が開始してから7分30秒後に後半受検者が開始し、検査時間が重ならないようにした（図2）。作業慣れによる影響を排除するため、第2時点の中央値をパーセント回答数100%とし（縦軸）、第2時点（②）と第3時点（③）との間に各種飲料を摂取した。なお、コントロールは水を摂取した場合の結果を示している。それぞれ4回行い、この摂取前後の暗算作業効率の変化から各種飲料の効果を比較検討した。

コントロールとして水（166ml（天然水：西友）、カフェイン含有飲料として、コーヒー（140ml（カフェイン84mg）：ペーパーフィルター用イタリアンロースト：カルディ）、および紅茶（140ml（カフェイン70mg）：アールグレイティーバッグ：トワイニング）、コカコーラゼロ（166ml（カフェイン22mg））を用いた。

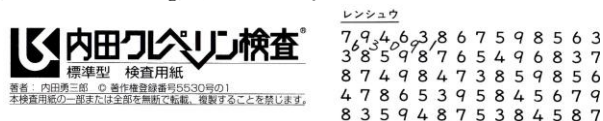


図1 内田クレペリン検査用紙

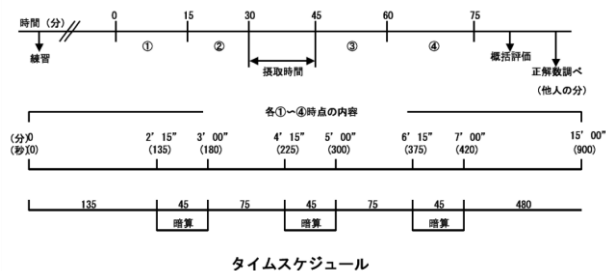


図2 測定タイムスケジュール

3. 結果

被験者A（図3）、B（図4）およびC（図5）において、紅茶の被験者Aにおいてのみ作業効率の向上が認められたが、他のいずれも作業効率の向上が認められなかった。嗜好に関して調べたところ、被験者A、BおよびCともに、毎日、カフェイン含有飲料を摂取していた。被験者Aにおいては、コカコーラゼロは好みの味ではなかったが、被験者BおよびCにおいては、今回使用した飲料全てが好みの味であった。

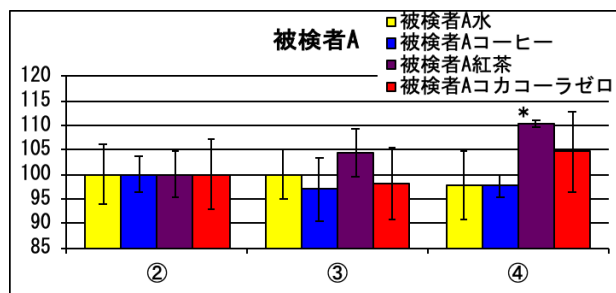


図3 被験者A

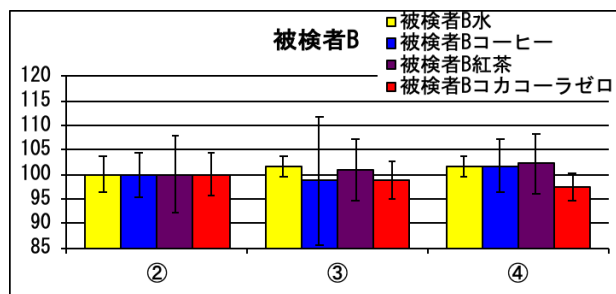


図4 被験者B

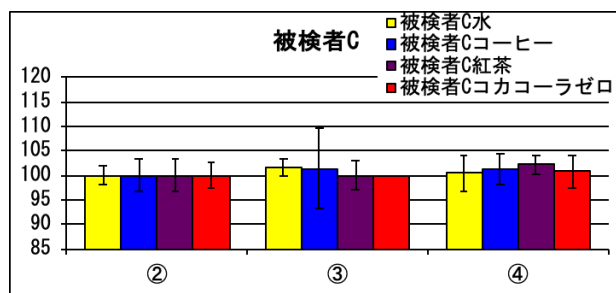


図5 被験者C

4. 考察

過去の研究実習によると、カフェインが中枢神経を刺激し、暗算作業効率を向上すると報告しているが、紅茶の被験者Aにおいてのみ認めたと、他では認めなかった。カフェインの作用発現開始時間15~30分と報告されているので、作用発現開始前に検査を行った可能性は低いと考えられる。被験者三名ともに、エナジードリンクなどカフェイン含有飲料を好み、普段より摂取していることが影響している可能性が示唆される。

今回の結果は、プラセボを用いた二重盲検試験ではなく、また、被験者も三名であることから一般的な効果を示すことはできないが、今回の被験者においては、通常量のカフェイン摂取によって暗算作業効率の向上は認められなかった。カフェイン含有飲料を毎日摂取している場合、作業効率の上がる方法は無いことが示唆された。

参考文献

- 1) 田中千賀子、加藤隆一、成宮周 編集：NEW 薬理学改訂第7版. 南江堂，東京，2017.
- 2) 大谷啓一 監修：現代歯科薬理学 第6版. 医歯薬出版社，東京，2018.
- 3) 日本私立薬科大学協会薬理学関連教科検討委員会編：薬理学実習の実際とデータの見方. 南山堂，東京，1999.
- 4) リクルーティング・セミナー 編：内田クレペリン検査. 土屋書店，東京，2007.