

-大学院歯学独立研究科-

第 83 回 大 学 院 研 究 科 発 表 会 プ ロ グ ラ ム  
第 100 回 中 間 発 表 会 プ ロ グ ラ ム

大学院学生等が、これまでの研究成果を発表します。  
どなたでも聴講できますので、多数の参加をお待ちしております (聴講申込不要)

場 所：実習館 2 階 総合歯科医学研究所セミナー室

日 時：2019 年 2 月 27 日 (水) 17 時 25 分 開会

—2019 年 2 月 27 日 (水) —

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:25	開会挨拶 山田研究科長	
1	[中間発表] 17:30~18:00 司会:芳澤 教授	「骨再生治療を併用した歯の移植に関する基礎的研究」 内川恵里 2 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:中村教授 副査:吉成教授 :長谷川教授
2	[中間発表] 18:00~18:30 司会:各務 教授	「口腔粘膜由来細胞から形成された自発的スフェロイドの特性評価と皮膚由来細胞によるスフェロイドとの性質の違い」 李 妮 2 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:平賀教授 副査:川原教授 :小出講師
3	[中間発表] 18:30~19:00 司会:各務 教授	Spontaneously formed spheroids from mouse compact bone-derived cells retain highly potent stem cells with enhanced differentiation capability (マウス緻密骨由来細胞から形成された自発的スフェロイドは高い幹細胞性と分化能力を持つ) 陳 凱 2 年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:小林教授 副査:正村准教授 :上原講師
4	[中間発表] 19:00~19:30 司会:富田 教授	「第 3 次産業勤労者の口腔保健行動」 志倉興紀 3 年 健康増進口腔科学講座 口腔健康政策学	主査:羽鳥教授 副査:山下准教授 :荒 講師
5	[中間発表] 19:30~20:00 司会:山田 教授	「偏位を伴う骨格性下顎前突者の主機能部位」 深沢香菜子 3 年 硬組織疾患制御再建学講座 臨床病態評価学	主査:芳澤教授 副査:倉澤教授 :北川教授
6	[大学院発表] 20:00~20:30 司会:岡藤 教授	「吸収性縫合糸 Vicryl®と Vicryl rapide®に対するラット皮下組織反応の比較」 中安喜一 4 年 硬組織疾患制御再建学講座 臨床病態評価学	主査:平賀教授 副査:各務教授 :吉成教授

**発表内容の要旨(課程博士)**  
**Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)**

学 籍 番 号 Student ID No.	ID # G 1702	入 学 年 Entrance Year	2017 年 Year
(ふりがな)	うちかわ	えり	
氏 名 Name in Full	内 川 恵 里		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	芳澤 享子		
発 表 会 区 分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
骨再生治療を併用した歯の移植に関する基礎的研究			
発表要旨 / Abstract			
<p><b>【緒言】</b>          歯の移植は、適切に対象症例を選択すれば優れた成績が得られる治療法である。しかしながら、移植床の骨幅が少ない場合には適応とならないという問題があった。そこで本研究では、歯の移植に合わせて不足する歯槽骨を再生させる事で、歯の移植治療の適応拡大を目指すことを目的として基礎的研究を行った。</p> <p><b>【材料と方法】</b>          移植歯と細胞のドナーとして、3 週齢雄性 C57BL/6J マウスを用いた。上顎第一臼歯、上顎第二臼歯の抜歯を行い、同系マウス大腿骨・脛骨の骨髓から、密度勾配遠心法にて単核球(MNC)の分離を行った。実験は MNC 群、<math>\beta</math>-TCP 群、コントロール群の 3 群とし、MNC 群では <math>\beta</math>-TCP 担体+MNC+歯、<math>\beta</math>-TCP 群では <math>\beta</math>-TCP 担体+歯、コントロール群では歯のみを 6 週齢雄性同系マウスの大腿筋内に移植した。移植 4 週間後に移植物を摘出し、動物用マイクロ CT にて評価を行った。標本は脱灰、パラフィン包埋の後薄切し、HE 染色およびマッソントリクローム染色を行った。再生組織の形態計測分析には TRI/3D-BON(ラトック社)を用いた。</p> <p><b>【結果】</b>          3 群とも歯根周囲に骨再生を伴う歯周組織の再生が認められた。MNC 群と <math>\beta</math>-TCP 群では、コントロール群と比較して、新生骨の骨組織体積(TV)、骨体積(BV)、骨表面積(BS)、ダイレクト計測骨梁幅(Tb. Th)とフラクタル次元が有意に大きかった(P&lt;0.05)。また、MNC 群と <math>\beta</math>-TCP 群では歯根の外側にも新生骨が認められたが、コントロール群では主な新生骨は歯根間にみられ、外側での骨形成はわずかであった。MNC 群と <math>\beta</math>-TCP 群では歯根と新生骨間に歯面に垂直に走行する膠原線維が認められ、コントロール群では、歯根と平行に走行している膠原線維も認められた。また全群で歯髄腔内に骨様構造の形成を認め、その出現率は MNC 群では 88%、<math>\beta</math> TCP 群では 87%、コントロール群では 60%であった。</p> <p><b>【考察】</b>  <math>\beta</math> TCP を用いた MNC 群と <math>\beta</math>-TCP 群ではコントロール群と比較して骨形成が促進されたが、その理由として担体が骨と歯周組織再生のためのスペースを維持した事、<math>\beta</math>-TCP に骨伝導能がある事、そして <math>\beta</math>-TCP が分解される際にカルシウムを放出し、これが骨再生を促進したことなどが考えられた。歯髄内の骨様構造の形成はこれまでも再植後の歯で観察されており、象牙芽細胞の骨化を抑制するメカニズムが損傷されたためと考えられている。今回担体とともに移植したことで、歯髄組織への血流障害が起りやすくなっていることが影響しているものと推測された。今後歯根膜組織の再生に担体や細胞が与える影響について、さらに検討を行っていく予定である。</p>			

**発表内容の要旨(課程博士)**  
**Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)**

学 籍 番 号 Student ID No.	ID# G1711	入 学 年 Entrance Year	2 年 Year
氏 名 Name in Full	李 妮		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	各務 秀明		
発 表 会 区 分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
口腔粘膜由来細胞から形成された自発的スフェロイドの特性評価と皮膚由来細胞によるスフェロイドとの性質の違い/Characterization of spontaneous spheroids from oral mucosa-derived cells and their difference between spheroids from skin-derived cells			
発表要旨 / Abstract			
<p>Our group have developed a novel protocol, which enables constant formation of spontaneous spheroids from various cell sources using a specific low adherent culture plate. In this study, this method was applied for oral mucosa-derived cells. First, the feasibility of spontaneous spheroid formation was tested. Next, the roles of FGF, EGF and B27 supplement, which are reported as essential factors for neurosphere formation, on the spontaneous spheroid formation and their maintenance were investigated. Finally, the character of spontaneous spheroids from oral mucosa- and skin-derived cells were compared with special reference to their stemness and neuronal differentiation capabilities. Oral mucosal cells were obtained from the palate and the buccal mucosa of C57BL/6J mice using a conventional explant culture technique. Skin cells were obtained from the back of same strain mice. P2-P3 cells were inoculated into a specific low adherent culture plate to form spontaneous spheroids. The effect of bFGF, EGF and B27 supplement was tested for the spheroid formation and maintenance. Immunofluorescence and quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction were performed to investigate the expressions of pluripotency makers and neurogenic differentiation markers. Using this specific culture plate, spontaneous spheroid formation was feasible. Interestingly, no spheroid formation was observed under the conditions without serum. Although the spontaneous spheroid formation was feasible without bFGF, EGF and B27 supplement, they improved the efficiency of spheroid formation and more importantly, were essential for the spheroid maintenance. Spontaneously formed spheroids from oral mucosal cells expressed embryonic stem cell markers such as Sox2, SSEA1, Oct4 and Nanog and neural stem cell markers such as Nestin. The expressions of sox2, FUT4 and nestin were relatively higher under the presence of those additives. On the other hand, the expression of oct 4 was not affect by the presence of those additives. The expression of sox2 in the spheroids from oral mucosal cells were higher than those in spheroids from skin-derived cells, which was not affected by the presence of those additives. The level of nestin in spheroids from oral mucosal cells were higher when the spheroids were cultured without the additives, while the expression were almost identical when the cells were cultured with the additives. Both spheroid-forming cells from oral mucosal cells and skin-derived cells have the capability to differentiate into neural and Schwann cells after induction. The results from direct comparison showed significantly higher gene expression of MAP2 and MBP in the spheroids from oral mucosal cells than those from skin-derived cells. The results from this study showed that the spontaneous spheroid formation was feasible with oral mucosa-derived cells using our method. Spontaneously formed spheroids from oral mucosal cells contain highly potent stem cells, which might be a reasonable candidate for the regeneration therapy in particular for neuronal disorders.</p>			

**発表内容の要旨(課程博士)**  
**Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)**

学 籍 番 号 Student ID No.	ID # G 1710	入 学 年 Entrance Year	2017 年 Year
氏 名 Name in Full	陳凱		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織発生・再生工学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	各務 秀明		
発 表 会 区 分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
Spontaneously formed spheroids from mouse compact bone-derived cells retain highly potent stem cells with enhanced differentiation capability / マウス緻密骨由来細胞から形成された自発的スフェロイドは高い幹細胞性と分化能力を持つ			
発表要旨 / Abstract			
<p>The results from our recent study showed the presence of two distinct spheroid-forming mechanisms, i.e. spontaneous and mechanical. We have developed a novel protocol to obtain spontaneously formed spheroids from various types of tissue-derived cells using a specific culture plate with specific water contact angle. In this study, we focused on the spontaneously formed spheroids with our protocol and the character of spheroids from mouse compact bone-derived cells (CBDCs) were explored. Cells from (C57BL/6J) mouse leg bones were isolated and CBDCs were cultured after enzymatic digestion. Spontaneous spheroid formation was achieved on the specific culture plate as reported previously. The expression levels of embryonic stem cell markers were analyzed using immunofluorescence and quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Then, the cells from spheroids were induced into osteogenic and neurogenic lineages. The spontaneously formed spheroids from CBDCs were immune-positive for embryonic stem cell markers such as SSEA-1, Sox2, Oct4 and Nanog. The results from qRT-PCR showed the significantly higher expression of sox2 and sca-1 in spheroids than those in monolayer cultured cells. Compared with the monolayer cultured cells, the expression of embryonic stem cell marker genes such as fucosyltransferase 4 (FUT4) and sox2 was significantly higher in the spheroids. In terms of the mesenchymal stem cell markers, there was no significant difference in the expression of CD105 and KLF4, while the expression of sca-1 was significantly higher in the spheroids. Spheroid-derived cells showed significantly higher osteogenic and neurogenic marker expression than those in monolayer cultured cells after induction. After osteogenic induction, ALP activity was significantly higher in the induced groups than that in the non-induced group for both monolayer and spheroid-derived cells. The ALP activity of induced spheroid-derived cells was significantly higher than that of induced monolayer cultured cells. The relative expression level of osterix in spheroid-forming cells was 5.65-fold higher than that in monolayer cultured cells. Similarly, the expression levels of BSP and DMP-1 were higher than those in monolayer cultured cells. The qRT-PCR results showed that spheroid-derived cells had significantly higher nestin expression (2.35-fold) after 2 weeks of neurogenic induction. The expression of MAP2 and NGRF in induced spheroid-derived cells was 2.62- and 2.38-fold higher than that in induced monolayer cells, respectively. Furthermore, immunocytochemical analysis was performed to examine the distribution of neural cell markers in induced spheroid-derived cells and monolayer cultured cells. Immunofluorescent images showed that the expression of nestin and <math>\beta</math> III-tubulin was observed with neuronal-like morphology only in spheroid-derived cells. In contrast, monolayer cultured cells showed no positive staining for neither nestin nor <math>\beta</math> III-tubulin. The spheroid-forming cells from CBDCs showed higher gene expression of stem cell markers and enhanced osteogenic and neurogenic differentiation capability than the cells from conventional monolayer culture. Our data support the enhanced stemness of spontaneously formed spheroids, thus indicate the usefulness for future clinical applications such as the bone regeneration therapy and the treatment of neurodegenerative disorders.</p>			

**発表内容の要旨(課程博士)**  
**Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)**

学 籍 番 号 Student ID No.	ID # G 1603	入 学 年 Entrance Year	2016 年 3 Year
氏 名 Name in Full	志 倉 興 紀		
専 攻 分 野 Major Field	健康増進口腔科学 口腔健康政策学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	富田 美穂子		
発 表 会 区 分 Type of Meeting	<div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">中間発表会</div> ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 <small>Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society</small>		
演題名 / Title of Presentation			
第 3 次産業勤労者の口腔保健行動			
発表要旨 / Abstract			
<p><b>【目的】</b></p> <p>近年、口腔保健行動の重要性が謳われており、2016 年に日本歯科医師会が実施した歯科医療に関する一般生活者意識調査から、「定期的なチェック」のために歯科医院を受診する人が増加傾向にあることがわかった。しかし、依然として「自覚症状がある」から歯科医院を受診すると回答する人も多い。そこで、第 3 次産業勤労者に対して予防関連の意識調査と口腔保健行動の実態をアンケート調査し、さらに訪問による TBI 介入の効果を調べ、今後の定期健診受診率を向上させるための啓蒙活動の方針と予防方法を確立することを目的とした。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>第 3 次産業の勤労者 365 名（年齢：18－84 歳）を対象に直説法と郵送法を用いてアンケート調査（定期健診の有無と理由、ブラッシング行動、補助具の使用、口腔内への関心）を行った。アンケート結果より定期健診をしている群(A 群)としていない群(B 群)に分け、A 群/B 群を従属変数としたロジスティック回帰分析を用いて定期健診との関連項目を検討した。また B 群から無作為に 12 名を抽出し、検者が会社に出向いて口腔内診査(DMF 歯数・PD・BOP・動揺度・プラークコントロールレコード (PCR))を実施した。そのうち 6 名には TBI の指導をし(C 群)、残り 6 名は指導を実施せず (D 群)、6 ヶ月後の口腔内診査の結果を Wilcoxon の符号付き順位和検定を用いた 2 群間の比較から TBI の効果を検討した。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>アンケート結果より A 群は 102 名、B 群は 261 名であり、定期健診をしない理由として「時間がない」が多かった。ロジスティック回帰分析では、男性(オッズ比 0.528)、ブラッシング方法の知識 (オッズ比 2.878)、歯間ブラシの使用 (オッズ比 2.622)、フロスの使用 (オッズ比 2.010) であり、これらは定期健診をしていることと有意な関連が認められた。業種・年齢・歯ブラシの回数・時間・8020 を目指している、との間には有意な関連は認められなかった。C・D 群の比較では、C 群は D 群に比較して PCR 値が有意 (p&lt;0.01) に低下した。</p> <p><b>【考察】</b></p> <p>アンケートの結果から、定期健診の有無は、業種や年齢に関わらず、口腔保健に関する個人の知識が強く関与していることが示唆された。しかし、これらの人は 8020 を目指しているわけではなく、生活の一部として口腔内のケアをしていると考えられた。また、歯科医師が会社に出向いて TBI を実施する事でも PCR の効果があることから、今後時間がなくて定期健診を受けられない人に対しては、訪問指導をする等のアプローチも重要だと示唆された。</p>			

**発表内容の要旨(課程博士)**  
**Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)**

学 籍 番 号 Student ID No.	ID # G 1605	入 学 年 Entrance Year	2016 年 Year
(ふりがな)	ふかさわ かなこ		
氏 名 Name in Full	深沢 香菜子		
専 攻 分 野 Major Field	硬組織疾患制御再建学講座 臨床病態評価学		
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	山田一尋		
発 表 会 区 分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society		
演題名 / Title of Presentation			
偏位を伴う骨格性下顎前突者の主機能部位			
発表要旨 / Abstract			
<p>食物の粉碎は機能咬頭間の限局された部位で行われ,主機能部位とよばれている. 骨格性下顎前突者の主機能部位は,正常咬合に比べ下顎歯列の後方で見られることが示されている. しかし,下顎骨の水平方向の偏位による主機能部位の検討は行われていない. そこで,本研究では偏位を伴う骨格性下顎前突者の主機能部位について検討した.</p> <p>松本歯科大学病院育成期口腔診療部門に来院した下顎骨メントン偏位量 4.0mm 以上の偏位を伴う骨格性下顎前突者 10 名(平均年齢:22.0±3.5 歳)名を対象とし,テンポラリーストッピングを用いて主機能部位を決定した. また,10 回の施行のうち,先に5回に達した方を習慣性咀嚼側とした.これら 10 名を習慣性咀嚼側と下顎骨の偏位側が一致した5名(一致群)と, 習慣性咀嚼側と下顎骨の偏位側が一致しなかった5名(不一致群)の2群に分類した.主機能部位の座標の決定は,ストッピングを位置づけした歯列模型を,赤色半導体レーザー3D 入出力装置で3次元化し,3D モデリングソフトウェアを用いて3次元解析を行い, 模型上の主機能部位の座標を算出した. 一致群と不一致群の咬合状態と主機能部位の座標解析の結果を比較した.</p> <p>一致群では下顎骨偏位側の側方歯は,連続した交叉咬合が4名と非偏位側で連続した鉗状咬合が1名みられた.一方不一致群の側方歯では,両側性交叉咬合 2 名,正常被蓋が 3 名であった.</p> <p>一致群の主機能部位は,上顎の偏位側(習慣性咀嚼側)では第一大臼歯に多くみられ, 非偏位側でも第一大臼歯に多くみられた.下顎の偏位側では第一大臼歯に多くみられ,非偏位側では第一大臼歯と第二大臼歯間に多くみられた.一方,不一致群では,上顎の偏位側では第二小臼歯と第一大臼歯間に多くみられ,非偏位側(習慣性咀嚼側)では第二小臼歯と第一大臼歯間に多くみられた.下顎の偏位側では第一大臼歯に多くみられ,非偏位側でも第一大臼歯に多くみられた.主機能部位の座標解析では,一致群では,上顎水平方向では偏位側が非偏位側に比べ有意に頬側に位置し,下顎では偏位側が非偏位側に比べ有意に舌側に位置した. 一方,不一致群では,上下顎骨の偏位側と非偏位側の比較で前後および水平方向ともに有意差はなかった.</p> <p>すなわち,偏位を伴う下顎前突では,習慣性咀嚼側は側方歯の咬合状態に関連していた.また,習慣性咀嚼側と下顎骨の偏位側が一致する群の上下顎歯列の主機能部位の座標は,水平方向で偏位側と非偏位側の間に有意差を示した.</p>			

**発表内容の要旨(課程博士)**  
**Abstract of Presented Research (For the Doctoral Course)**

学 籍 番 号 Student ID No.	ID # G	1509	入 学 年 Entrance Year	2015 年 Year
(ふりがな)	なかやす		よしかず	
氏 名 Name in Full	中安		喜一	
専 攻 分 野 Major Field	硬組織疾患制御再建学 臨床病態評価学			
主 指 導 教 員 Chief Academic Advisor	岡藤		範正	
発 表 会 区 分 Type of Meeting	中間発表会 ・ 大学院研究科発表会 ・ 松本歯科大学学会 Midterm Meeting / Graduate school research meeting presentation / The Matsumoto Dental University Society			
演題名 / Title of Presentation				
吸収性縫合糸 Vicryl® と Vicryl rapide® に対するラット皮下組織反応の比較				
発表要旨 / Abstract				
<p>【目的】 歯科口腔領域においても時に外科処置時に吸収性縫合糸が用いられる。それは Vicryl® と Vicryl rapide® である。これら縫合糸が消失する過程のデータは公表されておらず、また両者の組織反応を比較検討したものは報告されていない。そこで今回は GFP 骨髄移植ラットの実験系を用いて、吸収速度の異なる 2 種縫合糸に対して出現する異物肉芽腫の経時的な組織変化を明らかにすると共に、増殖した細胞が骨髄から供給されていることを確認するために本実験を行った。</p> <p>【実験材料および方法】 実験には GFP 骨髄移植ラットを用い、全身麻酔下にて背部皮下組織内に縫合糸を埋入した。以後、2 週から 6 か月後に埋入部組織を一塊として摘出・固定後、パラフィン包埋切片とし、病理組織学的に検討した。さらに標本については GFP に関して免疫組織化学的染色 (IHC と記す) も行った。</p> <p>【結果】 Vicryl® は病理組織学的に埋入 2 週例で、縫合糸は空隙として観察され、周囲にマクロファージ (Mφ と記す) と異物巨細胞 (FBGC と記す) が増殖していた。その最外層には薄い線維性組織が形成された。縫合糸周囲に増殖した Mφ と FBGC の集塊の間には線維性の結合組織が若干介在していた。1 か月後は、縫合糸の空隙は小さくなり Mφ が埋めていた。3 か月から 6 か月でも、縫合糸に対して増殖した細胞と考えられる塊が残っていた。GFP の IHC で Mφ と FBGC はすべて陽性であった。</p> <p>Vicryl rapide® では、2 週間後では縫合糸の形状の空隙があり、中には糸の残留物があるものもあった。その周囲には Mφ が増殖していた。そして FBGC と線維芽細胞は疎らに認められた。1 か月では Mφ が泡沫状を呈していた。3 か月では多少縫合糸に対して増殖した細胞の残渣と考えられる塊が存在していたが 6 か月では明確でなかった。GFP の IHC について、縫合糸の空隙周囲にある Mφ と FBGC はすべて陽性を呈した。</p> <p>【考察】 埋入した縫合糸に対し異物肉芽の増殖があった。反応は Vicryl® において強く現れ、Vicryl rapide® では極めて弱かった。これは Vicryl® が生体内で徐々に分解される時に時間が掛かり、少なくとも一部で貪食によって処理される為であることが推察された。一方、Vicryl rapide® は主として貪食ではなく、加水分解によって低分子化され生体内で溶解し、吸収されるからであろう。これは両者の滅菌過程が異なっているためだと考えられる。Vicryl® はガス滅菌であるのに対して Vicryl rapide® は放射線滅菌が施されている。放射線照射により縫合糸の分解速度が速まり、早く吸収されたものと推測される。</p> <p>今回の実験において、IHC について検討した結果、縫合糸を埋入した部位に増殖した異物肉芽の細胞はほぼすべて GFP 陽性であった。このことはこれらの細胞は主として骨髄から供給されている事を示すものであろう。</p>				