

-大学院歯学独立研究科-

第 84 回 大学院 研究科 発表会 プログラム
第 101 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 4 月 24 日 (水) 17 時 25 分 開会

-2019 年 4 月 24 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	[大学院発表] 17:30~18:00 司会:富田 教授	「運動ストレスが脳内の β - エンドルフィンの発現に及ぼす影響」 藤井寿充 一年 健康増進口腔科学講座 口腔健康政策学	主査:北川教授 副査:倉澤教授 :山下准教授
2	[大学院発表] 18:00~18:30 司会:各務 教授	「修復象牙質の形成メカニズムの解析」 趙麗娟 4年 硬組織疾患制御再建学講座 硬組織発生・再生工学	主査:山本教授 副査:平岡教授 :田所准教授
3	[中間発表] 18:30~19:00 司会:吉成 教授	「慢性歯周炎に対して Er:YAG レーザーを用いた歯周組織再生療法の有効性」 宮國 茜 4年 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学	主査:山田教授 副査:吉田教授 :音琴教授
4	[中間発表] 19:00~19:30 司会:吉成 教授	「頸動脈石灰化と歯周病を含む合併症の関連性についての臨床的研究」 (Clinical survey on relationship between carotid artery calcification and its complications including periodontal disease.) 石岡康明 一年 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学	主査:芳澤教授 副査:澁谷教授 :小出講師

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 1306	入学年 Entrance Year	2013 年 Year
(ふりがな)	ふじいのぶみ		
氏名 Name in Full	藤井 寿充		
専攻分野 Major Field	健康増進口腔科学講座 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	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			
運動ストレスが脳内のβ-エンドルフィンの発現に及ぼす影響			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】 運動負荷を加えた時に血中の内因性オピオイド濃度が上昇する事は報告されているが、脳内のオピオイドの分泌に関しては報告が少ない。一方で情動に刺激を与えると中脳水道周囲灰白質(periaqueductal gray : PAG)で内因性オピオイドが発現することが分かっている。したがって運動負荷を加えると PAG にβ-エンドルフィンが発現する事が考えられる。そこで運動によるストレス程度と PAG の各部位でのβ-エンドルフィンの発現状態、および視床下部弓状核での発現状態を調べる事を目的とする。</p> <p>【方法】 雄の Wistar ラットを①コントロール群:ローターロッド装置に入れて放置、②高速運動群:11m/min、③低速運動群:6.6m/min の3群に分け、②③群はローターロッド装置内で1日2回(各30分)、7日間運動させた。各条件負荷後、血液を採取し、還流固定後脳を摘出した。採取した血漿は測定キット(ELISA)にて血中のコルチコステロン濃度を測定し、条件間で比較した。摘出した脳組織は20μmの凍結切片を作製し、PAG および視床下部弓状核のβ-エンドルフィンを免疫組織学的手法で染色した。その切片を撮影し、画像をモノクロ二階調化して100×100μmあたりの染色された面積を、PAGの4部位[背内側(dorsomedial:DM)、背外側(dorsolateral:DL)、外側(lateral:L)、腹外側(ventrolateral:VL)]と弓状核を各条件間で比較検討した。</p> <p>【結果】 血中のコルチコステロン濃度の中央値は、①群:294ng/ml、②群:349ng/ml、③群:345ng/mlであり、①群と比較し②③群で有意に上昇した(Bonferroni:p<0.005)。β-エンドルフィンの発現量は、PAG全体では、①群が23.74±18.47μm²、②群が33.43±39.93μm²、③群が23.11±25.78μm²で、②群は①③群に比べ有意に多かった(P<0.05)。各条件の部位別の比較では、①群ではVLは他の部位より、LはDM、DLに比べ多かった(P<0.05)。②群ではVLはDM、DLに比べ多く、③群ではVは他の部位よりも、LはDLよりも多かった(P<0.05)。各部位の条件別の比較では、DLでの発現は②群は③群より有意に多かった(P<0.01)。視床下部弓状核では、①群:89.84±35.61μm²、②群:117.92±77.39μm²、③群:83.97±50.99μm²であり、各条件間での有意差は認められなかった。</p> <p>【考察】 運動群において血中コルチコステロン濃度が有意に上昇したことから、速さに関係なく運動をするとストレスが加わると考えられた。PAGのβ-エンドルフィンの発現量は、高速運動群が他群と比較し高かったことから、高速運動は鎮痛作用を増強させると示唆された。VLでのβ-エンドルフィン発現量がすべての条件下において顕著であったため、PAGにおけるβ-エンドルフィンの発現には部位特異性があることが示された。弓状核での発現量には有意差が認められなかったため、条件に関わらず、ローターロッド装置に入れると視床下部弓状核でβ-エンドルフィンが随時生産されると考えられる。</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#G 1608	入学年 Entrance Year	2016 年 Year
(ふりがな)	ちょう れいけん		
氏名 Name in Full	趙 麗娟		
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			
修復象牙質の形成メカニズムの解析			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】 窩洞形成などの刺激により象牙質の石灰化が亢進する。この過程において、窩洞形成により象牙芽細胞の細胞死が誘導され、引き続き新生象牙芽細胞の出現が観察される。しかしながら、象牙芽細胞の細胞死と修復象牙質形成との関係は良く分っていない。今回我々は、遺伝子改変マウスを用いて、ジフテリア毒素(DT)投与により、象牙芽細胞を特異的に死滅させる実験系を構築した。この実験系を用いて、修復象牙質の形成と象牙芽細胞死との関係性を調べることを目的とした。</p> <p>【方法】</p> <p>(1) 象牙芽細胞の検出実験系の確立:I型コラーゲン(Col1)と Nestin 蛋白質をマーカーとして象牙芽細胞の検出を試みた。Col1 の発現は、Col1 のプロモーター[Col1(2.3)]の制御下で GFP を発現するマウス[Col1(2.3)-GFP マウス]を用いた。Nestin の検出には、抗 Nestin 抗体を用いた。</p> <p>(2) マウスの成長過程における象牙質形成の観察:マウスは出生後も象牙芽細胞による石灰化が亢進する。6、7、12、20 週齢の野生型マウスにカルセイン(0.48 mg/マウス)を4日の間隔をあけて2回投与した。2回目のカルセイン投与の1日後に上顎第一大臼歯を回収した。共焦点顕微鏡を用いてカルセインラベルを観察し、象牙芽細胞の石灰化の程度を解析した。</p> <p>(3) 象牙芽細胞の枯渇実験系の確立と新生象牙質形成の観察:Col1 のプロモーター[Col1(2.3)]の制御下で Cre を発現するマウスと Cre 依存的にジフテリア毒素受容体(DTR)を発現するマウスを交配させた(Col1(2.3)-Cre/flox-stop- flox-DTR マウス)。Col1(2.3)-Cre/DTR マウスにジフテリア毒素(DT)(250 ng)を6日間投与した。最後の DT 投与の1日後に象牙芽細胞を観察した。また、DT 投与の1週間後に修復象牙質の形成をカルセインラベルにより観察した。</p> <p>(4) 象牙芽細胞の枯渇後の新生象牙芽細胞の観察</p> <p>①:「遺伝子改変マウスを用いた新生象牙芽細胞の観察」:I型コラーゲンのプロモーター遺伝子[Col1(2.3)]の制御下で GFP を発現するマウス[Col1(2.3)-GFP]の歯髄内では、象牙芽細胞特異的に GFP が発現することを以前に確認した。象牙芽細胞を枯渇できる遺伝子改変マウス[Col1(2.3)-Cre/flox-stop-flox-ジフテリア毒素受容体(DTR)]マウスと Col1(2.3)-GFP マウスを交配した。以上のマウスに DT を1週間投与し、象牙芽細胞の再生を GFP により観察した。</p> <p>②:「in situ ハイブリダイゼーションを用いた新生象牙芽細胞の観察」:Col1(2.3)-Cre/DTR マウスを用いて象牙芽細胞を枯渇し、象牙質シアロ蛋白質(dentin sialophosphoprotein: DSPP)の in situ ハイブリダイゼーションにより新生象牙芽細胞を観察した。</p>			

(5) 新生象牙質のマイクロ CT 解析

Col1(2.3)-Cre/DTR マウスに DT を 1 週間投与した。DT 投与の 6 週間後に修復象牙質および歯髓をマイクロ CT により解析した。

【結果】

- (1) 象牙芽細胞の検出実験系の確立: Col1(2.3)-GFP マウスの第一大臼歯を回収し、凍結切片を共焦点顕微鏡で観察した。その結果、象牙芽細胞に特異的な GFP の発現が認められた。また、パラフィン切片における抗 Nestin 抗体染色により、象牙芽細胞を Nestin 陽性細胞として観察できた。
- (2) マウスの成長過程における象牙質形成の観察: 6 週齢では象牙質全体にカルセインの取り込みが認められた。一方、12 週齢以降ではカルセインでラベルされる象牙質は殆ど確認できなかった。以上より、マウスでは生後 12 週以降に象牙芽細胞の石灰化が低下することが明らかになった。
- (3) 象牙芽細胞の枯渇実験系: Col1(2.3)-Cre/DTR マウスに DT を投与することにより、象牙芽細胞の枯渇が観察された。また、DT による象牙芽細胞の枯渇後に、象牙質へのカルセインの取り込みが認められた。一方、コントロールマウス(DTR)では、DT 投与による象牙芽細胞への影響は認められず、象牙質へのカルセインの取り込みも確認されなかった。
- (4) Col1(2.3)-Cre/DTR/Col1(2.3)-GFP マウスでは、DT 投与直後に GFP 陽性の象牙芽細胞が著しく減少した。しかし、象牙芽細胞は時間依存的に再生することが明らかになった。再生した象牙芽細胞が DSPP 陽性であることが *in situ* ハイブリダイゼーションにより確認できた。
- (5) Col1(2.3)-Cre/DTR マウスでは、DT 投与後に象牙質体積が有意に増加することがマイクロ CT 解析により明らかになった。一方で、歯髓体積は減少した。また、歯の全体積に対する硬組織の相対比率は有意に上昇することが認められた。以上の結果より、象牙芽細胞の細胞死が新生象牙質形成を誘導することが示された。

【結論】

以上の結果より、象牙芽細胞の枯渇が再生象牙芽細胞の形成、ならびに新生象牙質を誘導することが明らかになった。すなわち象牙芽細胞死を引き金とした、新生象牙質の形成を調節する歯髓環境の存在が示唆された。

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 1606	入学年 Entrance Year	2016 年 Year
(ふりがな)	みやくに あかね		
氏名 Name in Full	宮國 茜		
専攻分野 Major Field	口腔健康分析学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	吉成 伸夫		
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			
慢性歯周炎に対して Er:YAG レーザーを用いた歯周組織再生療法の有効性			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】エルビウムヤグレーザー Er:YAG レーザーは、近赤外領域のハードレーザーで組織吸収性が高く、本邦では1995年に厚生省(当時)より「歯石除去」、2003年に厚生労働省より「歯周ポケット治療」「フラップ手術」についての応用が認可され、歯周治療における応用範囲を拡大している¹⁾。しかし、歯周組織再生療法に対して Er:YAG レーザーを応用した報告は未だに少ない。そこで、本研究では歯周組織再生療法に Er: YAG レーザーを併用し、徹底した肉芽組織の除去、および歯根面のデブライドメント処置を行い、歯周組織の治癒に及ぼす影響を検討した。</p> <p>【症例】患者は初診時 60 歳女性。下顎前歯部の動揺を主訴に来院した。初診時歯周ポケット検査では深い歯周ポケットは特に前歯部に多く、ほとんどすべての歯にプロービング時の出血を認めた。プロービングデプス(PD)平均値は 5.3mm、クリニカルアタッチメントレベル(CAL)平均値は 6.3mm、歯周ポケット 4mm 以上の部位は 71.6%、7mm 以上の部位は 28.3%、BOP 率は 71.6%であった。歯周基本治療終了時に PD 平均値は 2.8 mm、CAL 平均値は 5.3 mm、歯周ポケット 4mm 以上の部位は 17.5%、7mm 以上の部位は 2.5%、BOP 率は 5.8%となったが、下顎右側犬歯の遠心唇側面に 6mm の歯周ポケットが残存し CAL は 13mm であった。そこでエナメルマトリックススタンプ(エムドゲイン®)と Er:YAG レーザーを併用した歯周組織再生療法を計画し、施行した。使用レーザー装置は株式会社モリタ製作所製の erwin AdvErL、チップは先端径 600μm の C600F(フラットチップ)を用いた。レーザー照射条件は骨欠損部の肉芽組織の除去には 20pps, 40mJ/puls を注水下で行い、根面のデブライドメントには 10pps, 30mJ/puls を注水下として照射し、その後 EMD を塗布した。術後の臨床評価は歯周ポケット検査、エックス線写真を用いて評価した。術後 2 年における患歯遠心唇側面の PD は 3mm、CAL は 10mm となり、アタッチメントゲインが 3mm であった。術後デンタルエックス線写真でも、歯根遠心面の骨形成、歯槽硬線の明瞭化を認め良好な予後が示唆された。</p> <p>【まとめ】今回の症例では、歯周組織再生療法に Er:YAG レーザーを併用することで良好な予後を得る結果となった。今後は、引き続き Er:YAG レーザーを用いた同様な症例に対して詳細な検討を行い、Er:YAG レーザーを用いた歯周組織再生療法の臨床応用の有効性を明らかに示すべく検討を行っていきたい。</p> <p>【文献】 1) 水谷幸嗣, 青木 章, 石川 烈, 和泉雄一(2011)歯周治療への Er:YAG レーザーの応用, 日本レーザー医学会誌, 32 巻, 39-47.</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 1501	入学年 Entrance Year	2015 年 Year
(ふりがな)	いしおか やすあき		
氏名 Name in Full	石岡 康明		
専攻分野 Major Field	健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	吉成 伸夫		
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			
頸動脈石灰化と歯周病を含む合併症の関連性についての臨床的研究 Clinical survey on relationship between carotid artery calcification and its complications including periodontal disease.			
発表要旨 / Abstract			
<p>【目的】 歯周病が心筋梗塞や脳卒中の原因である動脈硬化症のリスク因子であることが多くの疫学研究より報告されている。しかし、脳血管障害の原因となる頸動脈石灰化と歯周病所見の関連性に関する報告は皆無である。そこで今回我々は、CT(Computed Tomography)画像から判定された頸動脈石灰化と年齢、全身疾患、現在歯数、歯槽骨吸収度の関連性についての後ろ向き横断研究を行った。</p> <p>【方法】 2014～2018年に松本歯科大学病院（以下本院）を受診し、腫瘍やインプラント埋入などの検査のためパノラマエックス線写真と単純CTを撮影し、研究協力の同意が得られた295名を、CT画像所見から頸動脈石灰化群(C群)と頸動脈非石灰化群(NC群)群に分類した。さらに、頸動脈石灰化の有無と年齢、全身疾患、現在歯数、歯槽骨吸収程度との関連性を検討した。すなわち、総頸動脈分岐部石灰化の有無を従属変数とし、動脈硬化に寄与する全身疾患、顎骨の破壊に關与する病変の存在、現在歯数および歯槽骨吸収度を独立変数として、多変量解析(変数増加法)を行い、頸動脈石灰化と歯槽骨吸収度の関係を分析した。さらに、ROC解析にて、頸動脈石灰化の存在を予測する因子を同定した。統計処理にはSPSS ver. 24(SPSS Inc., Chicago, IL)を使用して、両側検定にて$P<0.05$を有意水準として解析した。</p> <p>【結果】 被験者の内訳は、男性:167名、女性:128名で、年齢は30歳から95歳、平均年齢は64.6 ± 11.8歳であった。その中で、C群は121名(男性:68名、女性:53名)、平均年齢は72.0 ± 9.7歳であった。一方、NC群は、174名(男性:99名、女性:75名)、平均年齢は59.3 ± 10.3歳であった。全身疾患は、C群で高血圧、骨粗鬆症が多かった。また平均現在歯数の比較では、C群で17.1 ± 7.9歯、NC群の23.3 ± 4.8歯よりも少なく、全永久歯の近遠心側における歯槽骨吸収率は、C群では$32.7 \pm 9.7\%$、NC群は$17.2 \pm 7.0\%$であり、C群でより歯槽骨吸収が進行していた。</p> 従来報告されている加齢や高血圧の存在は頸動脈石灰化と関連を有していたが、歯槽骨吸収度は頸動脈の石灰化の存在と有意に関連を有していた(修正オッズ比:1.26、95%信頼区間[CI]:1.19-1.34)。ROC曲線下面積(AUROC)は、年齢、高血圧、歯数、歯槽骨吸収率において各々0.82、0.69、0.7、0.93であり、年齢および歯槽骨吸収率でAUROCは高かった。特に、歯槽骨吸収率のAUROCは0.93(95%CI、0.90-0.96)で年齢以上に有用であると考えられた。 <p>【結論】 歯周病による歯槽骨吸収の進行と総頸動脈の石灰化の存在は、関係することが示唆された。</p>			