

# 博士学位論文

論文内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

第5号（2009年度授与）

---

松本歯科大学大学院歯学独立研究科

---

## は し が き

学位規則第8条の規定による公表を目的として、2009年度に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を集録したものである。

# 目 次

◇大学院博士課程修了によるもの

学位記番号	氏 名	論 文 題 目	頁
第69号	蓮見 秀樹	抗菌性モノマー配合ボンディング材のフィッシャーシーラントへの応用	1
第70号	薄井 陽平	骨芽細胞に対するポリリン酸の作用	3
第74号	吾妻 昭夫	齶蝕関連遺伝子の母子伝播について - 齶蝕発症要因と <i>gtf</i> の関係 -	6
第76号	石原 章弘	破骨細胞の骨吸収活性における Wnt5a-Ror2 シグナルの役割	9
第77号	亀本 晃	ヒト歯肉線維芽細胞から産生される IL-8 量に対するマクロライド系抗菌薬アジスロマイシンの影響	12
第78号	河瀬 聡一郎	ユーカリ葉抽出物による日和見感染、歯周疾患、う蝕予防についての検討 - 重症心身障害児・者への口腔ケアのために -	14
第79号	河瀬 雄治	チタン材に接着した歯科用セメントの接着強さと熱膨張量の関係	16
第80号	鹿内 恒樹	レボプロピバカインのラット眼窩下孔への伝達麻酔効果	18
第81号	隅田 佐知	発達と特性からみた自閉症児者の歯科適応	20
第82号	時崎 匡史	下歯槽神経切断モデルラットにおける三叉神経節非損傷神経の遺伝子発現動態解析 - 感覚異常発生との関連 -	22
第83号	本庄 健一	歯肉線維芽細胞を用いた <i>in vitro</i> 実験系に対する黄連湯の抗炎症作用の検討	24
第84号	水谷 智宏	生体吸収性高分子材料を応用した乳歯用歯科根管ポスト成形品（乳歯用スクリューポスト）への基礎研究	27
第85号	脇本 仁奈	摂食・嚥下障害者のリハビリテーションにおける体位効果とそのメカニズム	28
第86号	萩原 貴寛	歯髄細胞を用いた硬組織再生の試み - マウス培養歯髄細胞の特性解析 -	30

◇論文提出によるもの

学位記番号	氏名	論文題目	頁
第71号	織田 秀樹	レボブピバカインのラット歯髄神経への局所麻酔効果－歯髄電気刺激に伴う体性感覚誘発電位による評価－	32
第72号	松永 省三	ニフェジピンによる歯肉増殖症に対する柴苓湯およびサイコの抑制効果の検討	35
第73号	吉田 敬子	抗真菌薬ミコナゾールの基材としてのコラーゲンの有用性の検討	37
第75号	山田 博仁	Ozony Tron <sup>®</sup> の歯内療法処置への応用－オゾンの感染根管治療に対する殺菌効果について－	39
第87号	小町谷 美帆	空気曝露による <i>P. gingivalis</i> SOD の発現量の変化：サンドイッチ型酵素免疫測定法（ELISA 法）の確立とその応用	41
第88号	中塚 佑介	Location of main occluding areas and masticatory ability in patients with reduced occlusal support (臼歯部咬合支持が減少した患者における主機能部位と咀嚼能力に関する研究)	44

氏名	蓮見 秀樹
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第69号
学位授与の日付	2009年4月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	抗菌性モノマー配合ボンディング材のフィッシャーシーラントへの応用
指導教員	(主) 教授 宮沢 裕夫 (副) 准教授 岩崎 浩 (副) 准教授 穂坂 一夫
論文審査委員	主査 教授 伊藤 充雄 副査 教授 藤村 節夫 副査 教授 山本 昭夫 副査 准教授 永澤 栄

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

フィッシャーシーラントの填塞後の耐ウ蝕性を向上させることを目的に研究を行った。その内容は広い抗菌スペクトルを有する 12-Methacryloyloxydodecylpyridinium bromide（以下 MDPB）をプライマーに配合したボンディング材に、光触媒反応による抗菌性がある酸化チタン(IV)を添加することにより、歯面処理時と填塞後の二段階に抗菌性を付与させ、材料学的検討と細菌学的検討を行った。

### 【材料と方法】

MDPB 配合ボンディング材（以下 PB）および市販シーラント材を対照群、PB に酸化チタン(IV)を加えたものを実験群とした。

材料学的解析は、実体顕微鏡と色彩情報分析システムによる色彩の検討、EPMA による面分析、サーマルサイクリング負荷前後のビッカース硬度と微細漏洩について、細菌学的解析は *Streptococcus mutans* に対する酸化チタンの光触媒作用の評価を行った。

### 【結果】

1. PB を酸化チタン(IV)により白色着色する場合、重量比0.001%配合が適切であった（以下 0.001%WPB）。
2. 0.001%WPB の白色は市販シーラント材 2 種の白色に比較して明るい白緑黄色であった。
3. 0.001%WPB の白色は EPMA により面分析をした結果、酸化チタンの粒子がほぼ均一に分析するのが認められた。
4. 0.001%WPB はサーマルサイクリング負荷後の填塞状態や微細漏洩は PB と同等で、シーラント材（以下 FS）に比較して良好であった。
5. 0.001%WPB のサーマルサイクリング負荷後の微小硬度は、PB よりも若干低値を示したが、FS よりも高値であった。

6. 光触媒作用による *Streptococcus mutans* に対する抗菌性の評価を行った結果、10分間の350nmの紫外線照射により生菌数の減少が認められた。

#### 【考察と結論】

0.001%WPB はMDPB と酸化チタン(IV) の光触媒作用による二段階に抗菌性を有していることが明らかとなった。また、白色着色されたことで菌面との識別が容易となり、物性も良好であったことから、シーラント材として填塞後の耐ウ蝕性を向上させることが可能であることが示唆された。

### 学位論文審査の結果の要旨

本研究論文では、MDPB 配合ボンディング材に、光触媒反応による抗菌性がある酸化チタン(IV) で白色に着色することで、重合後も抗菌性を持続させることを目的としたフィッシャーシーラント材(以下0.001%WPB)を試作し、臨床応用に有用であるかを明らかにするために、実体顕微鏡と色彩情報分析システムによる色彩の検討、EPMAによる面分析、サーマルサイクリング負荷前後のビッカース硬度と微細漏洩などの材料学的解析と、細菌学的手法による光触媒作用の解析を行ったものである。本研究により、0.001%WPB は市販フィッシャーシーラント材に比較して材料学的に優れており、光触媒作用による *Streptococcus mutans* に対する抗菌性を有することが明らかとなった。

本研究は多方面からの解析が加えられ、得られた結果も説得力がある。また、本論文は、目的、方法および結果も明瞭で、考察、結論も適切に導きだしており、小児歯科学および予防歯科学領域において今後の臨床上大いに意義をもつ論文であると評価する。

以上により、本論文は学位論文に値するものと判定した。

### 最終試験の結果の要旨

申請者の学位申請論文「抗菌性モノマー配合ボンディング材のフィッシャーシーラントへの応用」を中心に、本研究に関する基礎的知識、論文の内容に関する事項について口答による試験を行い、明確な回答が得られた。

質問事項は次のとおりである。

1. サーマルサイクリング負荷前後で0.001%WPBの硬さが変化しなかった意味について
2. フィラー含有による重合収縮の抑制と酸化チタンの関連性について
3. 口腔内で光触媒作用が可能となる作用時間について
4. 酸化チタンと基材に含まれる臭素との相乗効果について

以上の結果から、本審査会は申請者が博士(歯学)としての知識を有するものと認め、最終試験を合格と判定した。

氏名	薄井 陽平
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第70号
学位授与の日付	2009年 6 月26日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当（博士課程修了）
学位論文題目	骨芽細胞に対するポリリン酸の作用
指導教員	(主) 准教授 上松 隆司 (副) 教授 長谷川 博雅 (副) 教授 平岡 行博
論文審査委員	主査 教授 川上 敏行 副査 教授 音琴 淳一 副査 准教授 安田 浩一

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的・背景】

ポリリン酸〔Poly(P)〕は、リン酸が直鎖状に重合したリン酸ポリマーである。Poly(P)はCa<sup>+</sup>と効率よく結合すること、骨芽細胞や歯肉線維芽細胞などに高い濃度で存在していることが報告されているものの、生体における生理的役割は明らかにされていない。本研究ではマウス骨芽細胞前駆細胞ならびにビーグル犬歯槽骨欠損モデルを用いて Poly(P)の骨芽細胞への作用について検討した。

### 【実験方法】

本研究では、平均鎖長60の Poly(P)を用いた。培養細胞はマウス骨芽細胞前駆細胞である MC3T3-E1 細胞を用いた。成熟骨芽細胞への分化過程におけるアルカリホスファターゼ（ALP）活性は、細胞抽出液と基質溶液（*p*-nitrophenyl phosphate substrate, pH10.5）を反応させ、水酸化ナトリウム溶液で反応を停止させた後、吸光度で測定した。細胞のアポトーシスは、Fluoresceinisothiocyanate（FITC）標識 annexin V と propidium iodide(PI) を用いて flow cytometry (FCM) で検討した。骨関連遺伝子の発現は、total RNA を抽出して reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で検討し、石灰化はアリザリンレッド染色で同定した。Poly(P)分解酵素活性は、polyethyleneimine thin layer chromatography (PEI-TLC) plate で展開して同定した。成犬を用いた歯槽骨欠損モデル実験は、株式会社イナリサーチ（伊那市）の動物実験倫理委員会の承認を得て実施した。

### 【結果と考察】

1. MC3T3-E1 細胞の培養上清中に Poly(P) または Pi を添加して培養する条件は、細胞増殖能を指標とすると 1 mmol/L の濃度が至適濃度であることが明らかとなった。
2. MC3T3-E1 細胞に 1 mmol/L の Poly(P) を添加して培養すると、培養20日から ALP 活性が上昇した。
3. MC3T3-E1 細胞に 1 mmol/L の Poly(P) を72時間作用させて FCM を行ったところ、Poly(P) を添加

して培養した細胞では、PI 陰性、annexin V 陽性の早期アポトーシスを示す割合が増加した。

4. Poly (P) を添加して MC3T3-E1 を培養すると、培養10日から骨芽細胞形質を示す骨関連遺伝子が発現し、培養20日には osteocalcin を発現する成熟骨芽細胞様細胞に分化することが明らかとなった。
5. 増殖培地に  $\beta$ -グリセロリン酸または Poly (P) を添加して培養した MC3T3-E1 細胞抽出蛋白中の Poly (P) 分解活性を PEI-TLC プレートを用いて検討したところ、Poly (P) を添加して培養した細胞では、Poly (P) 分解活性が増加し、Pi、PPi、Pi3、Pi4 の生成が亢進していた。
6. 25日間培養した MC3T3-E1 細胞をアリザリンレッドで染色したところ、 $\beta$ -グリセロリン酸または Poly (P) を添加して培養した細胞で石灰化ノジュールの形成がみられた。
7. ビーグル犬の前臼歯分枝部に骨欠損を作製して骨形成を評価したところ、Poly (P) と Emdogain<sup>®</sup> を充填した骨欠損部では、組織学およびエックス線学的にコントロールに比べ有意 ( $p < 0.05$ ) に骨形成が亢進していた。

以上の結果から、Poly (P) によって骨芽細胞前駆細胞が成熟骨芽細胞の形質を獲得すること、さらに、骨芽細胞への分化によって Poly (P) 分解酵素活性が上昇することが明らかとなった。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は、Poly (P) の生物学的役割を明らかにすることを目的に行われ、以下の研究成果を得た。

1. Poly (P) は骨芽細胞前駆細胞を成熟骨芽細胞へと分化誘導することを明らかにした。
2. Poly (P) によって骨芽細胞形質を獲得した細胞では Poly (P) 分解酵素活性が上昇しており、Pi、PPi、Pi3 ならびに短鎖長 Poly (P) の生成を促進することを明らかにした。
3. *in vivo* 実験系で Poly (P) は骨形成促進作用を有することを明らかにした。

以上の研究成果は、Poly (P) の生物学的機能を明らかにした研究であり、とくに Poly (P) によるリン代謝関連遺伝子の発現と Poly (P) 分解酵素活性の上昇を初めて見出したのは学術的に意義深いものであると評価する。

また申請者は、研究を遂行するにあたり、分子生物学的実験方法および形態学的観察方法を駆使しており、博士課程修了者として十分な知識と技術を習得していると判断された。

以上のことより、本論文に学位論文としての価値を認める。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位論文「骨芽細胞に対するポリリン酸の作用」を中心に、本研究に関する基礎知識、論文内容、研究成果、今後の展開などについて、口頭による試験を行った。

質問事項（順不同）は次のとおりである。

1. MC3T3-E1 細胞の特徴について説明せよ。
2. アルギニン酸塩ゲルの性質と本実験に用いた理由を述べよ。
3. *in vivo* と *in vitro* において異なった動物種を用いた理由について述べよ。
4. 今後、本研究をどのように展開しようと考えているか。

以上の質問に対して、申請者は最新の文献的な知見も踏まえて適切に回答した。本審査会はこの研究を本学の学位論文として、基礎歯科医学およびその臨床応用に大いに貢献するものと評価した。また、本研究は、骨形成を制御する歯科矯正領域の研究にも大いに示唆を与えるものであると評価した。申請者は博士（歯学）としての十分な学力と見識を有しているものと認め、最終試験を合格と判断した。

氏 名	吾妻 昭夫
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第74号
学位授与の日付	2009年11月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	齲蝕関連遺伝子の母子伝播について－齲蝕発症要因と <i>gtf</i> の関係－
指導教員	(主) 教授 宮沢 裕夫 (副) 教授 伊藤 充雄 (副) 准教授 岩崎 浩
論文審査委員	主査 教授 王 宝禮 副査 教授 藤村 節夫 副査 教授 山本 昭夫

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

齲蝕発症抑制とその有効な予防法および歯科疾患予防の指標の確立を目的に、母子感染経路と重症齲蝕の発症に関する遺伝子レベルでの細菌学的関連について検討を行った。

### 【対象と方法】

松本歯科大学病院小児歯科に通院する3歳から6歳までの乳歯列期小児と養育者（保護者）である母親とした。視診型診査後、CSIおよびブラッシング歯垢を採取した。dft = 0、CSI = 0の8組の母子（無齲蝕群）とdft > 12、CSI > 15の7組の母子（重症齲蝕群）を対象として、母子伝播と重症齲蝕の発症に関する齲蝕関連細菌の遺伝子レベルでの細菌学的関連についてReal-time PCR法を用いて歯垢中の*S. mutans*と*S. sobrinus*から*gtf*遺伝子分析と環境要因との関連を検討した。

### 【結果】

*gtf* の発現と発現量

#### 1. *gtf* B

無齲蝕群では母親のみ50.0%に発現し、重症齲蝕群では重症齲蝕42.9%、母親85.7%で3組の母子に発現が認められた。また、発現量は重症齲蝕群と比較して無齲蝕群の母親の方が高い発現比率を示した。

#### 2. *gtf* C

無齲蝕群では母親のみ12.5%に発現し、重症齲蝕群では認められなかった。また、発現量0であった。

#### 3. *gtf* D

無齲蝕群では無齲蝕児75.0%、母親100.0%に発現し、重症齲蝕群では重症齲蝕児とその母親7組（100.0%）に発現が認められた。また、発現量は無齲蝕群に比較して、母子ともに重症齲蝕群

の方が高い比率を示した。さらに、母親の発現比率が高いサンプルでは、その子どもの発現比率も高い傾向を示した。

#### 4. *gtf* I

無齲蝕群では母子ともに認められなかった。一方、重症齲蝕群では母親のみ28.6%に発現が認められた。また、発現量は0であった。

#### 【考察】

遺伝子分析からは齲蝕の発症や重症度には *S. mutans* の *gtf* B と D の発現や発現量が主に関与し、小児期の口腔内では *gtf* B や D の発現量の多寡は口腔環境を反映すると考えられるが、*S. sobrinus* が検出されたとしても *S. mutans* に比べその発現菌数は少なく、*gtf* I 発現による口腔環境への影響は明確にはならなかった。

環境要因からは子どもへの伝播を抑制するには親の口腔環境を健全にすることが重要であり、アンケート結果から保護者自身の口腔への関心度が低い状況では、その子どもは重症齲蝕に罹患しやすい環境下にあることが推察された。

#### 【結論】

1. *gtf* 遺伝子分析から *S. mutans* の伝播が確認された。しかし、*S. sobrinus* の伝播は明確ではなかった。
2. *gtf* B は重症齲蝕群に伝播が認められ、齲蝕発症に関与することが示唆された。
3. *gtf* C の齲蝕発症要因の伝播は明確ではなかった。
4. *gtf* D は両群に伝播が認められ、母親の発現比率とその子どもの発現比率に相関が認められ、発現量が多いほど齲蝕の発症と重症度に関連する事が示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は「齲蝕発症抑制とその有効な予防法」および「歯科疾患予防の指標」の確立を目的に、 $dft = 0$ 、 $CSI = 0$  の 8 組の母子（無齲蝕群）と  $dft > 12$ 、 $CSI > 15$  の 7 組の母子（重症齲蝕群）を対象として、母子伝播と重症齲蝕の発症に関する齲蝕関連細菌の遺伝子レベルでの細菌学的関連について Real-time PCR 法を用いて歯垢中の *S. mutans* と *S. sobrinus* から *S. mutans* の伝播を明らかにした。また、*gtf* B は齲蝕発症に関係し、*gtf* D は母子間の発現比率に相関が認められ、発現量が多いほど齲蝕発症と重症度に関連する事を明らかにした。

多因子性疾患である齲蝕に対する予防法に新たな知見が得られ、今後の臨床における指導や治療への応用が期待できる有意義な研究である。

以上により、本論文は学位論文に値すると判定した。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位論文「齲蝕関連遺伝子の母子伝播について - 齲蝕発症要因と *gtf* の関係 -」を中心

に、本研究に関する基礎知識、内容に関する事項および研究成果の今後の展開などについて、口頭試問を行った。

質問事項は、

1. 齲蝕予防の指標になりうるか
2. 本研究の臨床応用の可能性

以上の質問や意見に対して申請者は文献的知見を踏まえて適切に回答した。本審査委員会は、この研究を本学の学位論文として歯科医学に多くの示唆を与える研究であると評価した。また、申請者は、博士（歯学）として十分な学力と知識を有するものと認め、最終試験を合格と判定した。

氏名	石原 章弘
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第76号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	破骨細胞の骨吸収活性における Wnt5a-Ror2 シグナルの役割
指導教員	(主) 教授 吉成 伸夫 (副) 教授 宇田川 信之 (副) 教授 中村 浩彰
論文審査委員	主査 教授 佐原 紀行 副査 教授 王 宝禮 副査 准教授 八上 公利

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

歯周病菌は、TNF $\alpha$  や IL-1 などの炎症性サイトカインの産生を誘導し、組織破壊と骨吸収を引き起こす。一方、サイトカインの一つである Wnt5a が破骨細胞の分化を調節する可能性が示唆されている。本研究では、破骨細胞の骨吸収活性における Wnt5a の役割を解析した。

### 【方法】

- ① 破骨細胞、破骨前駆細胞における Ror2 発現と、骨芽細胞、破骨細胞および破骨前駆細胞における Wnt5a 発現を RT-PCR 法で解析した。
- ② コラーゲンゲル上でマウス骨髄細胞と骨芽細胞を共存培養し、活性型ビタミン D<sub>3</sub> の添加により破骨細胞を形成した。次に、破骨細胞を象牙切片上で培養し、骨吸収活性を観察した。この培養系に作製した Wnt5a のデコイ受容体である GST-soluble Ror2 (GST-sRor2) または対象として GST を添加した。
- ③ Ror2 欠損マウスおよび Wnt5a 欠損マウスの胎生15.5日齢の肝臓を用い、肝マクロファージ (M $\phi$ ) を調整し、象牙切片上に播種した。M-CSF と RANKL の添加により破骨細胞に分化させ、骨吸収活性を検討した。骨吸収活性の評価は、酒石酸耐性酸性ホスファターゼ染色 (TRAP 染色) による破骨細胞数の定量、ローダミン結合ファロイジンによるアクチンリングの観察、HE 染色による骨吸収窩数の定量を行った。

### 【結果】

- ① Ror2 の発現は、破骨細胞、破骨前駆細胞で認められ、Wnt5a 発現は骨芽細胞と破骨細胞で高発現していた。
- ② 骨芽細胞と破骨細胞の共存培養を象牙切片上でを行い、吸収窩を形成させた。ここに、GST-sRor2

を添加すると、吸収窩形成は濃度依存的に抑制された。GST 添加では、吸収窩形成は抑制されなかった。この結果から、Wnt5a は破骨細胞による骨吸収を増強することが示唆された。

- ③ Ror2 欠損マウス由来 M $\phi$  および Wnt5a 欠損マウス由来 M $\phi$  は、M-CSF と RANKL の添加により野生型マウス由来 M $\phi$  と同様に破骨細胞に分化した。しかし、Wnt5a 欠損由来および Ror2 欠損由来破骨細胞によるアクチンリング形成および吸収窩形成は、野生型由来破骨細胞に比べ著明に低下した。また Wnt5a 欠損マウス由来破骨細胞に Wnt5a を添加すると骨吸収活性が回復した。

#### 【考察】

Wnt5a-Ror2 シグナルは破骨細胞の骨吸収活性をポジティブに調節することが明らかになった。Wnt5a が Ror2 を介して破骨細胞の明帯の形成を調節し、骨吸収活性を制御する可能性が示唆された。また GST-sRor2 は破骨細胞の分化のみならず、骨吸収機能を阻害することから、GST-sRor2 は骨吸収性疾患の治療に応用できる可能性が示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

Wnt は現在まで19種類が同定されている分子量約 4 万の分泌性糖タンパク質で、多様な生理活性を示すサイトカインである。その中で Wnt5a は共受容体である Ror2 を介する、いわゆる非古典経路で細胞内シグナルを活性化する。最近になり Wnt5a とその共受容体である Ror2 が共に骨芽細胞に発現していることが明らかになり、骨組織に及ぼす Wnt5a や Ror2 の作用について注目されている。しかし、破骨細胞に関してはほとんど研究されていない。

本研究では始めに、培養破骨細胞を用い RT-PCR を行い、破骨細胞も Wnt5a と Ror2 が高いレベルで発現していることを明らかにした。その後、Ror2 の細胞外領域と融合タンパク質を用い可溶性 Ror2 (GST-sRor2) を作製し、Wnt5a のデコイ受容体として用いた実験、Wnt5a あるいは Ror2 欠損マウスの肝マクロファージ由来の培養破骨細胞を用いた実験など、様々なユニークな手法で詳細な検討を行い、Wnt5a-Ror2 シグナルが破骨細胞形成と吸収窩形成をポジティブに調節していることを明らかにしている。

本論文は簡潔・明瞭で、得られた結果は新規の知見である。特に本研究で作製した可溶性 Ror2 は、炎症性骨吸収を伴う関節リウマチや歯周疾患などに対する治療薬として応用できる可能性を示唆する優れた論文である。

本審査会は全員一致してこの申請論文は学位論文に値すると判断した。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位申請論文「破骨細胞の骨吸収活性における Wnt5a-Ror2 シグナルの役割」を中心にこの研究に関する基礎知識、論文内容に関わる事項及び研究成果の今後の展開についてなど口頭による試験を行った。

主な質問事項は次の通りである。

- ① Wnt の種類による古典経路あるいは非古典経路の相違について説明しなさい。

- ② 骨芽細胞に発現している Wnt5a と Ror2 の破骨細胞に対する影響はどのようなものか。
- ③ 本研究で作製した可溶性 Ror2 が Wnt5a のデゴイ受容体として作用している根拠は。
- ④ 骨髄マクロファージあるいは肝マクロファージ由来の培養破骨細胞と、骨芽細胞と骨髄マクロファージの共存培養による破骨細胞との間で、得られた実験結果に差は認められなかったか。
- ⑤ Wnt5a-Ror2 シグナルが炎症性骨吸収に関与していると考えている根拠について説明しなさい。

これらのすべての質問項目に対して申請者からは明確かつ正確な回答が得られた。

また、申請者は本研究を遂行するために必要な実験操作に熟練し、実験より得られた結果に対して適切な考察が行える十分な専門的知識を有していた。

以上より、本審査会は申請者が博士（歯学）として十分な学力及び見識を有するものと認め、最終試験を合格と判断した。

氏名	亀本 晃
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第77号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	ヒト歯肉線維芽細胞から産生される IL-8 量に対するマクロライド系抗菌薬アジスロマイシンの影響
指導教員	(主) 教授 王 宝禮 (副) 教授 川上 敏行 (副) 教授 平岡 行博
論文審査委員	主査 教授 藤村 節夫 副査 准教授 上松 隆司 副査 准教授 平賀 徹

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

マクロライド系抗菌薬は細菌のリボソームを阻害し、タンパク質合成を阻害することによって作用を示す抗菌薬である。これまでに我々は、マクロライド系抗菌薬アジスロマイシン（AZM）が侵襲性歯周炎の治療期間を短縮すること、また、口腔内細菌からなる *in vitro* バイオフィルムモデルの形成抑制能・破壊能を有することを報告した。近年、AZM がマクロファージあるいは気管支上皮細胞から産生されるインターロイキン（IL）-8 量を増加させること、一方、嚢胞性線維症の気管支上皮細胞から産生される IL-8 および TNF- $\alpha$  量を抑制するなど、炎症性サイトカインの産生量を制御することが報告されている。

近年、難治性の歯周炎に対して AZM が使用されており、AZM が歯周組織の炎症反応に影響を与えている可能性が考えられる。そこで今回、歯周病に対するマクロライド系抗菌薬の影響をヒト歯肉線維芽細胞を用いた *in vitro* の実験系にて検討した。また、組織破壊に重要な役割を果たすマトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の産生量に対するマクロライド系抗菌薬の作用についても検討した。

### 【材料および方法】

マクロライド系抗菌薬としてエリスロマイシン（EM：14員環系）、アジスロマイシン（AZM：15員環系）、ジョサマイシン（JOM：16員環系）を使用した。培養ヒト歯肉線維芽細胞を *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS（10ng/ml）で24時間刺激し、培養上清中に産生された IL-6、IL-8、PGE<sub>2</sub>量を ELISA にて測定した。これらの実験系にマクロライド系抗菌薬（0, 0.1, 1, 10 $\mu$ g/ml）を同時に添加して IL-6、IL-8、PGE<sub>2</sub>量の変化を検討した。また、培地中に産生された MMP 量をゼラチンザイモグラフィで検討した。なお、本研究は本学研究等倫理審査委員会の承認を受けている（許可番号 第0063号）。

## 【結果】

AMZ は LPS 刺激による IL-8 産生量を濃度依存的に増加させた。一方、EM および JOM は LPS 刺激による IL-8 産生量に影響を与えなかった。いずれの抗菌薬も LPS 刺激による IL-6、PGE<sub>2</sub> 産生量、および MMP-2、MMP-9 の産生量に影響を与えなかった。

細胞内シグナル伝達系の阻害薬を用いて AZM が LPS 刺激による IL-8 産生量を増加させるメカニズムを検討したが、ERK、JNK、p38MAPK、PKA、PI3K、PLC $\gamma$  の関与は認められなかった。また、NF- $\kappa$ B 阻害薬により IL-8 産生量がすべて検出限界以下のため、NF- $\kappa$ B の関与については不明だった。

## 【考察】

歯周病においては歯肉線維芽細胞からのサイトカインおよび PGE<sub>2</sub> の産生が重要であると考えられている。本研究結果からは AZM が LPS 刺激による IL-8 産生量を増加させたメカニズムは明らかとならなかった。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は、歯肉線維芽細胞を用いた *in vitro* の実験系を用い、マクロライド系抗菌薬が PGE<sub>2</sub>、IL-6、IL-8 産生量に及ぼす影響を調べることによって、これらの抗菌薬が歯周病の症状に及ぼす影響を検討するものである。本研究の結果から、具体的なメカニズムは不明であるものの AZM が LPS 刺激による IL-8 産生量を増強させることが明らかになった。

本研究の所見は、AZM が本来の作用である抗菌作用に加え、IL-8 の産生量増加による好中球遊走を介した細菌貪食により歯周病の炎症症状を改善する可能性を示している。したがって、歯科臨床に意義のある研究であると考えられる。

以上により、本論文を学位論文に値するものと認める。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位論文「ヒト歯肉線維芽細胞から産生される IL-8 量に対するマクロライド系抗菌薬アジスロマイシンの影響」を中心に、本研究に関する基礎知識、論文の内容に関する事柄および研究成果の今後の展開などについて、口頭試問を行った。

質問事項は、

1. 歯肉線維芽細胞を採取した人数について
2. 細胞内情報伝達系の阻害剤を用いた実験系およびそれにより予想される結果について
3. 本研究で IL-6、IL-8、PGE<sub>2</sub> を選択した理由について

以上の質問や意見が出されたが、申請者は最新の文献的知見も踏まえて適切に回答した。本審査会は、この研究を本学の学位論文として、基礎歯科医学のみならず、臨床歯科医学に多くの示唆を与える内容を含んだ意義のある研究であると評価した。また、申請者は博士（歯学）として十分な学力および知識を有するものと認め、最終試験を合格と判定した。

氏名	河瀬 聡一郎
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	第78号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(博士課程修了)
学位論文題目	ユーカリ葉抽出物による日和見感染、歯周疾患、う蝕予防についての検討－重症心身障害児・者への口腔ケアのために－
指導教員	(主) 教授 宮沢 裕夫 (副) 教授 小笠原 正 (副) 准教授 岩崎 浩
論文審査委員	主査 教授 王 宝禮 副査 教授 小笠原 正 副査 准教授 柴田 幸永

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

唾液中の細菌数が多く、さらに介助磨き後では唾液中細菌数が増加する摂食・嚥下障害を有する重症心身障害児・者では、誤嚥性肺炎の危険性が高い。また、重症心身障害児・者では、開口困難、体動などにより介助磨きが困難であり、重度のう蝕、歯周疾患に罹患する事が多い。そこで、気道粘液改善の他、真菌に対する制菌作用を示す 1,8-cineol に注目した。介助磨きの難しい重症心身障害児・者に対し 1,8-cineol を含むハーブウォーターが真菌以外にも制菌作用を呈するのであれば、日和見感染、歯周疾患、う蝕の予防に効果があると考え、それを明らかにするために日和見感染菌、歯周病原性菌、重症う蝕原性菌の制菌作用を検討した。

### 【方法】

ユーカリ・グロブレスの葉を水蒸気蒸留により抽出し 1,8-cineol を 0.2mg/ml 含むハーブウォーターを用いて、日和見感染菌：*Candida albicans* JCM 1842、*Klebsiella pneumoniae* JCM 1662、歯周病原性菌：*Prevotella intermedia* ATCC 25611、*Prevotella nigrescens* ATCC 33563、*Actinobacillus actinomycetemcomitans* JCM 8577、*Porphyromonas gingivalis* ATCC 49417、う蝕原性菌：*Streptococcus mutans* Ingbritt、*Streptococcus sobrinus* 6715 に対し培地を作製した。その培地を好気培養あるいは嫌気培養し、比濁法により制菌効果を検討した。また、口腔内常在菌に及ぼす影響も明らかにするために *Streptococcus salivarius* JCM 5707 についても検討をおこなった。

### 【結果】

日和見感染菌、歯周病原性菌、重症う蝕原性菌に対して 1,8-cineol を含むハーブウォーターは制菌効果を認めた。1,8-cineol を含むハーブウォーターは口腔内常在菌である *Streptococcus salivarius* に対しては制菌効果を認めなかった。

## 【考察】

1.8-cineol を含むハーブウォーターは口腔内常在菌の細菌叢を壊す事無く、全身状態の安定しない摂食・嚥下障害を伴う重症心身障害児・者に対し日和見感染、歯周疾患予防に、介助磨きの難しい重症心身障害児・者に対し歯周疾患、う蝕予防に応用できる可能性が示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究はユーカリ・グロブレスの葉抽出物である 1.8-cineol を含むハーブウォーターが重症心身障害児・者の口腔細菌に及ぼす影響を細菌学実験によって検討し、抗う蝕作用、誤嚥性肺炎予防に繋がることを明らかにした。

本研究の所見はハーブウォーターが唾液中の口腔内細菌叢を改善する可能性を示しており、歯科臨床上に意義のある研究である。以上により、本論文を学位論文に値するものと認める。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位論文「ユーカリ葉抽出物による日和見感染、歯周疾患、う蝕予防についての検討－重症心身障害児・者への口腔ケアのために－」を中心に、本研究に関する基礎知識、論文の内容に関する事柄及び研究成果の今後の発展などについて、口頭試問をおこなった。

質問事項は、

1. 本実験に用いた歯周病原性菌から真菌に至るまで多種の菌を用いている全てを口腔内常在菌と定義している理由について。
2. 制菌作用の定義とは何か。
3. 1.8-cineol が細菌に及ぼす抗菌作用のメカニズムについて。

以上の質問、意見が出されたが、本申請者は最新の文献的知識も踏まえて適切に回答した。本審査会は、この研究を本学の学位論文として、基礎歯科医学のみならず、臨床歯科医学に多くの示唆を与える内容を含んだ意義のある研究であると評価した。また、本申請者は博士（歯学）として十分な学力及び知識を有する者と認め、最終試験を合格と判定した。

氏名	河瀬 雄治
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第79号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	チタン材に接着した歯科用セメントの接着強さと熱膨張量の関係
指導教員	(主) 教授 伊藤 充雄 (副) 教授 黒岩 昭弘 (副) 准教授 永澤 栄
論文審査委員	主査 教授 鷹股 哲也 副査 教授 山下 秀一郎 副査 准教授 岩崎 浩

## 学位論文の内容の要旨

本研究はチタン製インプラントに使用される歯科用セメント（従来型セメント・グラスアイオノマー系レジンセメント・接着性レジンセメント）の口腔内温度変化を想定したサーマルサイクル試験法にて、引張せん断強さと熱膨張量、剥離強度を測定し、各種セメントの接着強さを検討したものである。加えてアルミナサンドブラストの影響についても言及し、アルミナサンドブラスト処理の接着強さへの効果についてその有効性を実証し、従来型セメントよりもレジン系セメントの方がより接着力が増し、またその他の理工学的性質もチタン製インプラントにレジン系セメントを使用することの有用性を裏付ける結果について述べている。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は、欠損補綴の治療方法の一つである歯科用インプラントに使用される各種セメントの口腔内温度を考慮した理工学的性質について詳細に検討したもので、特に、アルミナサンドブラスト処理におけるチタン製インプラントと接着性レジンセメントの接着強度に言及し、インプラント治療への有用性を述べている。本研究結果はインプラント治療を臨床で行う際の効果的な歯科合着用セメントの選択に関して、貴重な結果を得ている。

よって本研究の目的と方法は的確でまた得られた結果は妥当かつ重要であると評価した。申請者は本研究結果を臨床に即すべく患者の口腔内温度を考慮した実験方法を使用した点においても評価大なるものがある。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位申請論文を中心に、基礎的ならびに臨床的内容について口答試験を行った。審査委員の質問に際し、申請者は的確な用語・言葉を用いて回答することができ、学位申請論文の論点、本研

究の今後の方向と発展、また臨床的意義を的確に説明することができた。

質問事項は次の通りである。

1. 本研究からはチタン材の接着にはスーパーボンドが最適であるという結果であったが、熱膨張量の値が上部構造物の脱落に影響を及ぼすことがあるかないか？
2. チタン材の接着に関する研究は少ないのか？
3. 実際の臨床ではインプラント上部構造は仮着が多いのではないか？
4. 実際の臨床ではインプラント上部構造の合着は閉鎖系で行われるが今回の結果はどのように反映されているか？
5. セメントの厚みを一律50 $\mu\text{m}$ で規定した理由は何か？
6. 統計学的な分析について詳しく説明して欲しい。
7. スーパーボンドの熱膨張が大きかったことをどのように解釈すればよいか？
8. 「剥離強度」、「接着強度」という用語の使い分けを明確にして欲しい。
9. 論文の体裁に関して、「考察」では「現状の問題点」、「実験方法について」、「結果について」などの項目に分けて論述された方が読者は理解し易いのでは？
10. 論文の表題に関して、必ずしも「セメントの接着強さと熱膨張量との関係」のみを研究対象としているわけではなく、一般的な理工学的性質の検討も行っているので表題を変えられたらどうか？

以上の質問に対して申請者は的確に回答した。

本審査委員会合議の結果、申請者は博士（歯学）として十分な学力および知識を有するものと認め、全員一致して最終試験を合格と判定した。

氏 名	鹿内 恒樹
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	第80号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(博士課程修了)
学位論文題目	レボブピバカインのラット眼窩下孔への伝達麻酔効果
指導教員	(主) 教授 澁谷 徹 (副) 教授 金銅 英二 (副) 准教授 安田 浩一
論文審査委員	主査 教授 古澤 清文 副査 教授 王 宝禮 副査 教授 金銅 英二

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

レボブピバカインは、長時間作用性局所麻酔薬のブピバカインに含有されている鏡像異性体の R (+)体と S (-)体のうち、S (-)体のみで構成されたものである。レボブピバカインは、ブピバカインと比べ中枢神経系や心臓循環器系に対する毒性は低い。

本研究ではレボブピバカインの口腔顔面領域における伝達麻酔への応用について検討するため、ラットの眼窩下孔に伝達麻酔を行い、上唇電気刺激に伴う体性感覚誘発電位(SEP)の変化を指標として、レボブピバカインの局所麻酔効果を、リドカイン、ブピバカイン、ロピバカインと比較した。

### 【方法】

週齢7~12週、体重170~250gのウィスター系雄性ラットを用い、ペントバルビタール腹腔内投与による浅麻酔自発呼吸下で実験を行った。

ラットの上口唇電気刺激により得られたSEPの第1次反応成分の最初の陽性波( $P_1$ )と、それに続く陰性波( $N_1$ )の頂点間振幅( $|P_1-N_1|$ )を測定した。ラットの眼窩下孔に局所麻酔薬50 $\mu$ lを注入後、 $|P_1-N_1|$ の変化を調べた。局所麻酔薬は、0.5%、0.75%レボブピバカイン、1/80,000アドレナリン添加2%リドカイン、0.5%ブピバカイン、0.5%、0.75%ロピバカインを用い、対照には乳酸リンゲル液を用いた。

### 【結果および考察】

局所麻酔効果発現時間は、0.5%レボブピバカインと0.75%ロピバカインが注射直後と最も早く、0.5%ロピバカインは注射10分後と最も遅かった。持続時間は0.5%レボブピバカインと0.75%ロピバカインが注射直後から180分以上持続し、0.5%ロピバカインは注射10分後から110分後までの100分間で最も短かった。 $|P_1-N_1|$ が消失するまで、または最大に抑制されるまでの時間が早かったのは、0.5%と0.75%のレボブピバカイン、0.75%ロピバカインでいずれも注射10分後で、遅かったのは

0.5%ブピバカインで注射25分後であった。SEP 振幅が消失していた時間が最も長かったのは、0.75%レボブピバカインと0.75%ロピバカインであった。レボブピバカインは今回使用した薬剤の中で局所麻酔効果が最も強かった。ラットを用いた実験においてレボブピバカインは0.5%の濃度で十分な局所麻酔効果が得られた。

以上の結果から、レボブピバカインを臨床の場で眼窩下孔への伝達麻酔で使用する場合、0.5%の濃度で十分な局所麻酔効果が得られると思われる。

## 学位論文審査の結果の要旨

局所麻酔薬レボブピバカインを口腔顎顔面領域の伝達麻酔薬として用いるための基礎的研究である。実験にはラットを用い、伝達麻酔部位として眼窩下孔を選択した。麻酔の奏功の判定には体性感覚誘発電位（SEP）を指標とした。研究デザインは堅実で、伝達麻酔におけるレボブピバカインの有効性を的確に証明している。これまでの伝達麻酔薬に比べて、レボブピバカインは効果が早期に発現し、作用時間も長時間にわたることが実証し、伝達麻酔薬としての適切な濃度を模索している。今後の臨床応用に際して、症候性三叉神経痛の対するブロック、長時間を要する複数本に及ぶデンタルインプラント埋入手術などへの適応が望める。本論文は、考察も文献的知識をもとに破綻なく構築されている。

以上より、本論文は学位論文に値するものと認める。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位申請論文「レボブピバカインのラット眼窩下孔への伝達麻酔効果」を中心に、この研究に関する基礎知識、論文の内容に関わる事柄、研究成果などについて、口頭試問を行い明確な回答が得られた。

質問事項は概ね以下の通りである。

1. 体性感覚誘発電位（SEP）を導出する適正な刺激強度とは？
2. 臨床応用のための道筋
3. アドレナリンの添加の必要性の有無
4. レボブピバカインの薬理作用と現在、臨床で使用されている各種の局所麻酔薬との相違点
5. 今後の研究の発展性について

以上より、本審査会は申請者が博士（歯学）として十分な学力および見識を有するものと認め、最終試験を合格と判定した。

氏名	隅田 佐知
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第81号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	発達と特性からみた自閉症児者の歯科適応
指導教員	(主) 教授 小笠原 正 (副) 教授 澁谷 徹 (副) 教授 宮沢 裕夫
論文審査委員	主査 准教授 岩崎 浩 副査 教授 澁谷 徹 副査 教授 柳沢 茂

## 学位論文の内容の要旨

自閉症児者は、社会的な相互交渉の質的な障害、コミュニケーション機能の質的な障害、活動と興味の範囲の著しい限局性といった特徴から歯科治療に対し、問題行動・拒否行動を起こしやすい。精神遅滞や発達障害において歯科治療への適応性には発達年齢が関与していることが明らかになっている。しかし、自閉症の特性も歯科治療の適応性に影響を与えらると思われが、明らかになっていない。自閉症児者の発達と特性が歯科治療へどのように影響しているかを検討した。

対象者は、歯科治療のため松本歯科大学病院特殊診療科を受診した自閉症児者78名であった。1年以上通院し、浸潤麻酔を必要とする歯科治療を受けた者で平均年齢 $17.6 \pm 9.6$ 歳、管理期間平均 $8.6 \pm 7.6$ 年であった。

調査方法は歯科治療を実施する歯科医師に対して、研究の主旨、内容を説明し、浸潤麻酔の手技の確認を行い、浸潤麻酔手技を統一して歯科診療を実施した。情報として発達年齢、自閉症の特性項目の行動障害の程度、常同行動の有無、奇声の有無、独語の有無などについて、日常生活の状態を把握している保護者あるいは施設職員から聞き取り調査を行った。行動障害の程度は、厚生省の強度行動障害判定基準表を用いて判定した。発達年齢は、遠城寺式乳幼児分析的発達検査を用いて算出した。診療記録から暦年齢、他院の受診経験の有無、管理期間、来院回数、治療回数を調査した。受診時の歯科治療の適応性は外来で観察調査した。

歯科治療への適応性は、拒否行動なく基本的行動調整（通法、笑気吸入鎮静法）で治療可能であった者を適応とし、拒否行動のため特殊な行動調整を用いた者を不適応と評価した。なお基本的行動調整の通法や笑気吸入鎮静法での治療中に拒否行動を認め、抑制を行った者は不適応と判定した。

分析Ⅰ．発達と特性からみた自閉症児者の歯科適応：歯科治療の適応性の予測に最も影響を与える要因を検索するため、27調査項目を説明変数とし、歯科治療の適応・不適応を目的変数として、赤池情報量規準（AIC）に基づき解析した。検定には $\chi^2$ 検定あるいはFisher's exact probability testを用いた。

分析Ⅱ．発達年齢の高い自閉症児者の不適応要因：調査対象者の中から遠城寺式乳幼児分析的発達

検査の基本的習慣の発達年齢が3歳10か月以上の37名を分析対象とした。

発達年齢が3歳10か月以上の者の歯科治療の不適応要因を検索するため、27項目と歯科治療の適応・不適応との関連性についてロジスティック回帰分析を行った。

それらの結果から以下の結論を得た。

1. 自閉症児者の歯科適応には、発達と特性の関連が認められた。さらに、特性より発達の関連が強かった。
2. 自閉症児者の歯科適応の感度は62.5%であった。つまり、発達年齢が高くても不適応を示す者もいた。
3. 基本的習慣の発達年齢が3歳10か月以上の自閉症児者では、奇声の有無が不適応要因であった。
4. 基本的習慣が3歳10か月以上でも「奇声：あり」の者は、特殊な行動調整を検討する必要がある、地域医療において高次医療機関との連携が重要であると考えられた。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は「発達と特性からみた自閉症児者の歯科適応」および「発達年齢の高い自閉症児者の不適応要因」を解明する目的から、「自閉症児者の歯科治療の適応性」に関わる要因として自閉症的特性、発達年齢、その他の項目から膨大なデータを抽出し、統計法を用いて種々分析し、「自閉症児者の発達や特性」が歯科治療上、どのように影響しているかを明らかにした。

自閉症児者の歯科適応には「発達」が関連していること、発達年齢が3歳10か月以上の自閉症児者では「奇声の有無」が不適応要因を示すと結論づけていた。申請者は今後もより詳細な分析を行う予定であり、自閉症児者への適切な歯科の対応法や歯科治療時に配慮すべき知見が得られる事が期待できる有意義な研究である。

以上により、本論文は学位論文に値すると判定した。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位論文「発達と特性からみた自閉症児者の歯科適応」について、本研究に関する基礎知識、内容に関する事項および研究成果の今後の展開などについて、口頭試問を行った結果、文献的知見を踏まえて適切に回答した。

本審査委員会は、本研究を歯科医学に多くの示唆を与える研究であると評価するとともに、申請者は博士（歯学）として十分な学力と専門的知識を有するものと認め、最終審査を合格と判定した。

氏名	時崎 匡史
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	第82号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(博士課程修了)
学位論文題目	下歯槽神経切断モデルラットにおける三叉神経節非損傷神経の遺伝子発現動態解析－感覚異常発生との関連－
指導教員	(主) 教授 金銅 英二 (副) 教授 古澤 清文 (副) 教授 増田 裕次
論文審査委員	主査 教授 浅沼 直和 副査 教授 増田 裕次 副査 准教授 安田 浩一

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

末梢神経の損傷により、非損傷神経支配領域にまでアロディニアが波及することがある。本研究は損傷神経細胞群と非損傷神経細胞群との分離が容易なラット三叉神経節を用いて、三叉神経第3枝の分枝である下歯槽神経を切断したときに、第1・2枝神経細胞体に現れると期待される遺伝子発現動態の変化を調べ、非損傷神経支配領域でのアロディニア発症に関係する遺伝子を探ろうとするものである。

### 【方法】

1. ラットの歯槽神経を切断し、三叉神経第1・2枝支配領域にアロディニアが発症することを、逃避行動実験で確認する。
2. cDNA マイクロアレイ解析により三叉神経節第1・2枝領域で発現変動を認めた41の遺伝子のうち、遺伝子名や機能が明らかになっている22の遺伝子について、神経組織特異的な発現かどうかを定量PCRにより、また神経細胞における発現局在性を in situ ハイブリダイゼーション (ISH) により未処置のラットを用いて調べる。
3. 下歯槽神経切断ラットの三叉神経第1・2枝神経細胞体における経時的な遺伝子発現動態を、切断しないで同様の手術を行った対照ラットと、real time PCR により比較する。

### 【結果】

1. 行動試験により、アロディニア発症が確認された。
2. 調べた22の遺伝子のうち、myelin basic protein (MBP) をコードする遺伝子のみ三叉神経第1・2枝の神経細胞体で有意に発現上昇がみられた。ただし、対照群と比べて有意差がみられたのは神経切断後3日目のみだった。5日後は切断群のMBP遺伝子発現レベル上昇は維持されていた。

ものの有意水準ではなかった。また ISH で、MBP 遺伝子は三叉神経節における全ての神経細胞に認められ、細胞のサイズによる発現量の違いは検出されなかった。

#### 【考察】

下歯槽神経切断ラットに現れる三叉神経第 1・2 枝支配領域でのアロディニア発症に、MBP 遺伝子が何らかの関与をしている可能性がある。しかし、発現上昇期間の短さなどから、この遺伝子のみの変動で直接アロディニアが発症するのではなく、上位中枢神経細胞の変化など他の要因と協調して発症を引き起こしている可能性がある。

### 学位論文審査の結果の要旨

神経を切断すると、非損傷神経支配領域にまでアロディニアが波及することがある。アロディニアの発症に関して、損傷神経細胞における遺伝子の発現上昇についてはこれまで報告がある。本研究は、非損傷神経細胞においても何らかの遺伝子の発現変動が関与しているのではないかと推測の下に、ラットの三叉神経第 3 枝の分枝である下歯槽神経を切断して、非損傷の第 1・2 枝神経細胞体における遺伝子発現動態の変化を調べた。実験では、第 1・2 枝神経支配領域にアロディニアが発症していることをラットの逃避行動で確認しておき、その上で real time PCR により第 1・2 枝神経細胞体に myelin basic protein (MBP) をコードする遺伝子の発現が上昇することを見出した。ただし、発現の上昇持続は短期間であり、これが長期間続くアロディニアにどのように関与するのかは不明である。このように、本研究は非損傷神経支配領域のアロディニアに関与する遺伝子を最終的に突き止めたとはいえない。しかし、非損傷神経細胞における遺伝子発現動態の変化を調べたのは新しい研究であり、また発現上昇が確認された遺伝子が神経の髄鞘形成に関与すると考えられるタンパク質をコードするものであることなどを考慮すると、本研究によって得られた成果は、アロディニア発症の解明に寄与するものであると評価し、本論文が学位論文に値すると認める。

### 最終試験の結果の要旨

学位申請論文を中心に、研究の背景や目的、結果とその解釈や問題点、用いた方法（定量 PCR、real time PCR、in situ ハイブリダイゼーション）の原理などについて口頭で質問した。

申請者は質問に対する確に回答したので、博士（歯学）として十分な学力と知識を有するものと審査員全員一致で認め、合格と判定した。

氏 名	本庄 健一
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第83号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	歯肉線維芽細胞を用いた <i>in vitro</i> 実験系に対する黄連湯の抗炎症作用の検討
指導教員	(主) 教授 王 宝禮 (副) 教授 川上 敏行 (副) 教授 平岡 行博
論文審査委員	主査 教授 音琴 淳一 副査 教授 長谷川 博雅 副査 准教授 平井 要

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

歯周炎は、歯周炎関連細菌の菌体成分に反応して歯肉線維芽細胞、単球、マクロファージなどの細胞がプロスタグランジン (PG)<sub>E2</sub>、炎症性サイトカイン (IL-6、IL-8 など) などを産生することにより発症することが知られている。歯周病の治療は原因となる歯石・プラークの除去が必要であるが、炎症症状が著しい場合には抗炎症薬を投与することがある。しかし、一般的に使用されている酸性非ステロイド性抗炎症薬は胃腸障害などの副作用を示すことが知られている。本研究では、急性胃炎・口内炎などの炎症性疾患に対して使用される漢方薬である黄連湯に着目し、黄連湯の抗炎症作用を歯肉線維芽細胞を用いた *in vitro* の実験系で検討した。

### 【材料および方法】

埋伏歯抜去時の遊離歯肉片からヒト歯肉線維芽細胞を培養した（松本歯科大学研究等倫理審査委員会の承認済：許可番号 第0063号）。歯肉線維芽細胞を *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS (10ng/ml) で24時間刺激した後に培養上清中に産生された PGE<sub>2</sub>、IL-6、IL-8 量を ELISA にて測定し、刺激終了時の生細胞数で補正した。あるいは、MEK 阻害剤を溶解した DMSO を含む培地で1時間前処理を行った。また、ヒト歯肉線維芽細胞を LPS で8時間刺激してシクロオキシゲナーゼ (COX)-2 の発現をウェスタンブロット法にて検討した。これらの実験系に黄連湯 (0.01-1 mg/ml) を同時に添加することにより黄連湯の作用を検討した。COX 活性は COX Inhibitor Screening Assay Kit、阻害能は COX Inhibitor Screening Assay Kit により測定した。ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) の活性化はウェスタンブロット法でバンドの移動が遅れることを利用して検討した。細胞内シグナル伝達物質 ERK のリン酸化はリン酸化 ERK に対する抗体を使用してウェスタンブロット法で検討した。統計学的処理は LPS と黄連湯の2要因による多群間の比較と黄連湯量と COX 活性の比較を R (<http://www.r-project.org/>) を用いて行った。

## 【結果】

黄連湯は LPS 刺激により歯肉線維芽細胞から産生される PGE<sub>2</sub>量を濃度依存的に減少させた。一方、黄連湯は LPS 刺激なしの場合に産生される PGE<sub>2</sub>量に影響を与えなかった。黄連湯は LPS 刺激による IL-6 および IL-8 産生量に明らかな影響を及ぼさなかった。

黄連湯は COX-1 および COX-2 活性に影響を与えなかったが、LPS 刺激による COX-2 の発現量を増加させた。また、0.01mg/ml の黄連湯は LPS 刺激による cPLA<sub>2</sub>および ERK のリン酸化を抑制したが濃度を増加させるとリン酸化を抑制しなかった。無刺激および黄連湯単独刺激の場合には cPLA<sub>2</sub>のリン酸化は見られなかった。一方では MEK 阻害剤は LPS 刺激による PGE<sub>2</sub>産生量を低下させたが、基底レベルの産生量に影響を与えなかった。また MEK 阻害剤は LPS 刺激による IL-6 ならびに IL-8 の産生量に影響を与えなかったが、基底レベルのこれらの産生量を増加させた。

## 【考察および結論】

歯肉線維芽細胞を用いた実験系において黄連湯は LPS 刺激による PGE<sub>2</sub>の産生を抑制することから歯周病に対する抗炎症作用をもつことが示唆された。また、黄連湯は LPS 刺激なしの場合の PGE<sub>2</sub>産生量に影響を及ぼさないことから胃腸障害が少ないことが示唆された。

黄連湯の作用機序として、細胞内シグナル伝達系である ERK 系の活性化を抑制することで ERK による cPLA<sub>2</sub>リン酸化（活性化）を抑制し、その結果として PGE<sub>2</sub>の産生量を低下させると考えられた。この作用機序は現在使用されている酸性非ステロイド性抗炎症薬およびステロイド性抗炎症薬は異なっており、新たな作用機序をもつ抗炎症薬として臨床応用の可能性が示唆できると考えられる。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は、LPS 刺激を行った歯肉線維芽細胞を用いた *in vitro* の実験系を用い、PGE<sub>2</sub>、IL-6、IL-8 の産生量の変化を指標として黄連湯の作用を検討し、黄連湯が細胞内情報伝達の一つである ERK 系の活性化を抑制することにより cPLA<sub>2</sub>の活性化を抑制し、PGE<sub>2</sub>の産生量を低下させることを明らかにした。

本研究の所見は、黄連湯が炎症症状を改善する可能性を示しており、将来性を感じさせる。

以上により、本論文を学位論文に値するものと認める。

## 最終試験の結果の要旨

申請者が「歯肉線維芽細胞を用いた *in vitro* 実験系に対する黄連湯の抗炎症作用の検討」に関する口頭発表をまず行った。引き続き、論文構成に大きな不備があったので修正点を各委員が指摘した。

これと並行して、本研究に関する基礎知識、論文の内容に関する事柄および研究成果の今後の展開などについて、口頭試問を行った。

質問事項は、

1. 口頭発表に示された内容について
2. 歯周病関連細菌由来の成分ならびに細胞内情報伝達について

3. 黄連湯の臨床効果について、および黄連湯が実際に歯周病に応用されているのか

4. 本研究の今後の研究計画について

を中心に行われ、申請者は文献的知見も踏まえて適切に回答した。

本審査委員会は、論文が適切に修正されることを前提として、本論文が本学の学位論文として、一定のレベルに達していると評価した。修正はその後2回行われ、各審査委員が適正に修正が行われていることを確認した。

よって申請者は博士（歯学）として十分な学力および知識を有するものと認め、最終試験を合格と判定した。

氏名	水谷 智宏
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第84号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	生体吸収性高分子材料を応用した乳歯用歯科根管用ポスト成形品（乳歯用スクリューポスト）への基礎研究
指導教員	（主）教授 宮沢 裕夫 （副）教授 王 宝禮 （副）准教授 岩崎 浩
論文審査委員	主査 教授 伊藤 充雄 副査 教授 佐原 紀行 副査 教授 山本 昭夫

## 学位論文の内容の要旨

生体吸収性材料のうち、ポリグリコール酸とポリ-L-乳酸を使用した乳歯用スクリューポストについて研究を行った。

これらの材料は、歯科用コンポジットレジンに近い理工学的性質と乳歯歯根の吸収速度に近い加水分解性を有しており、生体吸収性高分子材料を用いた乳歯用スクリューポストの臨床応用の可能性が示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

学位論文の目的、方法、結果及び結論について明確に説明することが出来、さらに当該研究についての発展性、将来性について優れた見識を有していた。

## 最終試験の結果の要旨

申請者は当該研究のすべての実験操作に精通しており、得られた実験結果についての考察力にも優れ、博士課程修了にふさわしい知識を有していた。

さらに、当該研究に関連した専門分野においても十分な知識を有していた。

よって、博士に値するものである。

氏名	脇本 仁奈
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第85号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当（博士課程修了）
学位論文題目	摂食・嚥下障害者のリハビリテーションにおける体位効果とそのメカニズム
指導教員	(主) 教授 小笠原 正 (副) 教授 増田 裕次 (副) 教授 宮沢 裕夫 (副) 准教授 松尾 浩一郎
論文審査委員	主査 教授 古澤 清文 副査 教授 浅沼 直和 副査 教授 鷹股 哲夫

## 学位論文の内容の要旨

頸部回旋角度の増加によりバリウム液は、頸部回旋30度から下咽頭での回旋側通過率が有意に減少することを明らかにした。また頸部回旋角度の増加により食塊通過路において舌後方部で一定の傾向を示さなかったが、喉頭蓋谷部では中央と回旋側を通過する傾向であった。喉頭蓋基部では、それまでとは反対に回旋側の反対側を通過することが明らかとなった。これは、喉頭蓋と咽頭側壁の接触により、食塊が反対側を通過する要因のひとつであることを指示するものであった。本申請論文は、頸部回旋による代償法の効果をVF、VE下にて判定する際には、30度程度の頸部回旋から試みる価値があり、QOLの向上に役立つ研究である。

## 学位論文審査の結果の要旨

摂食・嚥下リハビリテーションにおける頸部回旋法の有用性をビデオ嚥下造影（VE）と嚥下内視鏡検査（VF）を用いて明らかにした研究である。様々な頸部回旋角度による、バリウム液嚥下時の咽頭部の通過経路と、コンビーフとバリウム液を混和させた食塊を嚥下した際の、喉頭蓋と咽頭側壁との形態学的な関係および咽頭基部での食塊の通過経路をVEとVFを用いて詳細に検討している。研究手法は的確で、検討対象数（健常人）は少ないものの、論理展開は堅実で、統計処理したうえで客観的に記載されている。考察は、関連論文を適切に引用し、結果に対して、十分な考察がなされている。

以上より、本論文は学位論文に値するものと認める。

## 最終試験の結果の要旨

学位申請論文の研究に関する基礎知識、研究内容に関する事柄について口頭試問を行った。申請者

は、学位申請論文の研究目的、方法、結果、考察を適切に説明した。本研究結果の臨床応用方法、問題点、今後の方向性についても質問し、申請者は的確に説明できた。

質問事項の概略は以下の通りである。

1. Wallenberg 症候群とは。
2. VF 検査時の照射量について。
3. 頸部回旋法以外の摂食・嚥下代償法を挙げよ。

本審査会の合議した結果、申請者は博士（歯学）として十分な学力および知識を有する者と認め、全員一致で最終試験を合格と判定した。

氏名	萩原 貴寛
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	第86号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(博士課程修了)
学位論文題目	歯髄細胞を用いた硬組織再生の試み—マウス培養歯髄細胞の特性解析—
指導教員	(主) 教授 宇田川 信之 (副) 教授 小澤 英浩 (副) 教授 高橋 直之 (副) 教授 中村 浩彰 (副) 教授 平岡 行博 (副) 准教授 小林 泰浩
論文審査委員	主査 教授 川上 敏行 副査 教授 佐原 紀行 副査 教授 吉成 伸夫

## 学位論文の内容の要旨

歯髄細胞は多分化能を有し、さらに脱落乳歯や智歯などの抜去歯から採取可能であることから、再生医療において有望な材料であることが期待される。そこで、本研究において、歯髄細胞を用いた再生医療の実現を最終目標とし、マウスを実験材料に選択し、(1)歯髄細胞の培養条件の至適化、(2)培養歯髄細胞の特性の分子生物学的解析、及び(3)歯髄細胞の生体移植による硬組織再生能の検討を行った。その結果、マウス培養歯髄細胞は骨芽細胞と比較して高いアルカリホスファターゼ活性を示し、BMP非依存的に石灰化するなど高い石灰化能を有することが示された。また、培養歯髄細胞をマウス筋膜下に移植することにより、造血機能を伴った骨が形成された可能性が示された。

以上のマウスを用いた *in vitro* および *in vivo* の実験結果より、歯髄細胞は強い石灰化能を有する特徴的な細胞であり、硬組織再生療法に臨床応用できる可能性を秘めた将来有望な細胞群であることが示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は歯髄細胞の多分化能に着目し、培養歯髄細胞の特性について検討した。実験結果より、骨芽細胞との比較において培養歯髄細胞の高い石灰化能が示され、移植実験においても骨様の硬組織が形成された可能性が示された。

以上の内容について、本論文において目的、方法、結果及び結論について説明することができおり、本論文は学位論文に値すると判定した。

## 最終試験の結果の要旨

申請者の学位論文「歯髄細胞を用いた硬組織再生の試み－マウス培養歯髄細胞の特性解析－」を中心に、本研究に関する基礎知識、内容に関する事項及び研究成果の今後の展開などについて口頭試問を行った。この結果、申請者は当該研究の全ての実験操作に精通しており、得られた実験結果についての考察力にも優れ適切に回答した。本審査委員会は、この研究を多くの示唆を与える研究であると評価し、申請者は博士（歯学）として十分な学力と知識を有するものと認め、最終審査を合格と判定した。

氏名	織田 秀樹
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	第71号
学位授与の日付	2009年7月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(論文提出によるもの)
学位論文題目	レボブピバカインのラット歯髄神経への局所麻酔効果-歯髄電気刺激に伴う体性感覚誘発電位による評価-
指導教員	教授 澁谷 徹
論文審査委員	主査 教授 山岡 稔 副査 教授 金銅 英二 副査 准教授 富田 美穂子

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

レボブピバカインは、長時間作用性局所麻酔薬のブピバカインに含有されている鏡像異性体の R (+)体と S (-)体のうち、S (-)体のみで構成されたアミド型局所麻酔薬である。医科領域においては硬膜外麻酔などに使用されているが、歯科領域における局所麻酔効果については報告が少なく、詳細は明らかではない。本研究ではラットの口腔粘膜に浸潤麻酔を行い、歯髄電気刺激に伴う体性感覚誘発電位(SEP)の変化を指標にレボブピバカインの局所麻酔効果について検討し、現在歯科臨床で使用されている1/80,000アドレナリン添加2%リドカイン(2%リドカインA)、3%メピバカインと比較した。またレボブピバカインによる組織血流量の変化を、レーザードップラー血流計を用いて測定した。

### 【方法】

実験1：各濃度のレボブピバカインの浸潤麻酔効果

ラットの口蓋粘膜へ浸潤麻酔を行い、上顎切歯歯髄電気刺激に伴うSEP初期成分の振幅( $|P_1 - N_1|$ )の変化を測定した。局所麻酔薬は2%リドカインA、3%メピバカインおよび0.5%、0.75%、1.0%、1.5%のレボブピバカインを使用した。

実験2：アドレナリン添加レボブピバカインの浸潤麻酔効果

実験1と同じ方法で0.75%レボブピバカインに1/500,000と1/200,000のアドレナリンを添加したものを使用した。

実験3：レボブピバカイン投与後の組織血流量の変化

ラットの皮膚に局所麻酔薬を投与し、レーザードップラー血流計を使用して血流量の変化を観察した。局所麻酔薬は0.125%、0.25%、0.5%、0.75%、1.0%のレボブピバカインを使用した。またレボブピバカインと比較するため2%リドカイン、2%リドカインAによる血流量の変化も測定した。

## 【結果および考察】

実験1：局所麻酔薬の注射により $|P_1-N_1|$ は減少した。2%リドカインAは注射2.5分後から120分後まで、3%メピバカインは注射2.5分後から25分後まで $|P_1-N_1|$ は有意に減少した。0.5%レボブピバカインは注射2.5分後から20分後および30分後、50分後、70分後、80分後で $|P_1-N_1|$ は有意に減少し、0.75%レボブピバカインは注射2.5分後から100分後まで、1.0%レボブピバカインは注射直後から180分後まで、1.5%レボブピバカインは注射2.5分後から180分後まで $|P_1-N_1|$ は有意に減少した。レボブピバカインが高濃度になるほど $|P_1-N_1|$ の抑制は増強され長時間持続した。このうち2%リドカインAと同等の局所麻酔効果を示したのは0.75%レボブピバカインであった。

実験2：1/500,000および1/200,000のアドレナリン添加により0.75%レボブピバカインの $|P_1-N_1|$ の有意な減少が注射180分後まで延長した。特に1/200,000アドレナリンを添加した場合は180分経過しても $|P_1-N_1|$ の回復傾向はみられなかった。

実験3：0.125%、0.25%、0.5%レボブピバカインでは有意に皮膚の組織血流量が減少し、血管収縮作用を示した。その作用は低濃度になるほど強くなり、2%リドカインAとの比較で有意差がみられなかったのは0.125%レボブピバカインであった。これに対して0.75%、1.0%レボブピバカインでは血管拡張傾向を示したが有意な変化ではなく、2%リドカインの血管拡張作用ほど著明ではなかった。

以上の結果から、レボブピバカインを口腔粘膜の浸潤麻酔に使用する場合、0.75%の濃度で1/80,000アドレナリン添加2%リドカインと同等の麻酔効果を得られるものと思われる。また0.75%レボブピバカインは血管を拡張させる傾向がみられるが、その作用は弱く、アドレナリンを添加する場合、1/200,000以下の低濃度で十分と思われる。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究はレボブピバカインの歯科臨床への導入に先立ち局所麻酔効果とアドレナリン添加を検討し、その特性を臨床に生かすことを目的としている。従来、2%リドカインAが臨床で頻繁に使用されてきたが、レボブピバカインの口腔粘膜への局所麻酔効果については不明瞭であり、アドレナリン添加による効果も明らかにされていない。本研究はレボブピバカインの口腔粘膜における浸潤麻酔効果を解析し、アドレナリン添加の影響を追及したものであり、得られた結果は浸潤麻酔の選択の幅を広げ安全性の確保に寄与するため臨床的意義は極めて大きい。SEPを用いた研究方法も適切であり、上記の研究結果から0.75%レボブピバカインが2%リドカインAと同等に口腔粘膜の浸潤麻酔に有効であり、高齢者、循環器疾患患者に有用であることが強く示唆できると結論した。これは安全な浸潤麻酔と歯科治療につながる新たな方法として学位論文の独創的な価値が認められる。

## 学力の確認の結果の要旨

学位申請論文「レボブピバカインのラット歯髄神経への局所麻酔効果－歯髄電気刺激に伴う体性感覚誘発電位による評価－」について関連する基礎知識、論文内容、今後の研究展望、臨床適用などについて口答による試験を行った。

質問事項は以下のごとくである。

(学位論文に関する質問)

1. 実験1、2と実験3で使用したラットの週齢に違いがあるのはなぜか。
2. 実験3では2%リドカインA投与から10分後まで血流量が減少しているが、どれくらい持続するのか。
3. 0.5%レボブピバカインにアドレナリンを添加した場合、局所麻酔効果はどうなるのか。
4. 短時間の処置で、止血効果を十分にしたい場合、0.5%レボブピバカインにアドレナリンを添加した方が有効ではないか。
5. レボブピバカインの濃度により、血管収縮・拡張と作用が異なるのはなぜか。また投与部位により違いはあるのか。
6. ブピバカイン(マーカイン)との比較は行っているか。またその必要性はあるか。
7. レボブピバカインの濃度を、リドカインと同じ2%にすれば、より局所麻酔効果が強くなるがどうか。

(専門分野に関する質問)

1. アドレナリンに対する反応について、高齢者と若年者とで違いはあるか。
2. 0.75%レボブピバカインでは血管拡張傾向がみられるが、血管虚脱等による血圧低下の原因になりうるか。
3. 参考文献では、術後鎮痛における0.75%レボブピバカインと2%リドカインAとの比較を行っているが、0.75%レボブピバカイン群の方は女性が多い。性差による影響もあるのではないか。

以上の質問や意見に対して新旧の文献的考察を加え的確な回答がなされたとともに血管内皮細胞の反応など研究の将来展望も示された。

本審査委員会による検討の結果、本研究は学位論文として歯科臨床に直接貢献するものであり、申請者は博士(歯学)として十分な学識を有すると認め、全員一致で学力の確認を合格と判定した。

氏名	松永 省三
学位の種類	博士(歯学)
学位授与番号	第72号
学位授与の日付	2009年7月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(論文提出によるもの)
学位論文題目	ニフェジピンによる歯肉増殖症に対する柴苓湯およびサイコの抑制効果の検討
指導教員	教授 王 宝禮
論文審査委員	主査 教授 吉成 伸夫 副査 教授 長谷川 博雅 副査 教授 宮沢 裕夫

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

歯肉増殖症はカルシウム拮抗薬(ニフェジピンなど)、抗てんかん薬(フェニトインなど)、免疫抑制剤(シクロスポリンA)などの薬物の副作用として生じることが知られている。これらの薬物による歯肉増殖のメカニズムとしてこれまでに歯肉線維芽細胞の増殖能亢進、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇、I型コラーゲンおよび塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)の産生亢進、歯肉線維芽細胞によるコラーゲンの貪食能低下などいくつかのメカニズムが報告されている。しかし、その治療法は確立されておらず、歯肉切除およびプラークコントロールを行うのが一般的である。漢方薬の一つである柴苓湯は吐き気、食欲不振、のどのかわき、排尿が少ないとき、水瀉性下痢、急性胃腸炎、むくみなどの症状やリウマチ性関節炎、全身性エリテマトーデス、糸球体腎炎、腎炎症候群などの炎症性疾患に対して用いられる漢方薬である。また、柴苓湯はラットメザンギウム細胞の増殖を抑制、あるいは特発性後腹膜線維症における線維芽細胞の増殖を抑制することが報告されている。本研究ではこの細胞増殖抑制能に着目し、ニフェジピンによるヒト歯肉線維芽細胞の増殖、bFGFおよびI型コラーゲン産生に対する柴苓湯の作用を*in vitro*の実験系にて検討した。

### 【対象および方法】

柴苓湯およびサイコは株式会社ツムラより供与された。細胞は正常ヒト歯肉線維芽細胞(Gin-1)を使用した。細胞増殖能は水溶性テトラゾリウム-1(WST-1)を使用して生細胞数を測定することによって行った。Gin-1細胞を96穴プレートに10,000個/ウェルずつ播き、10μMのニフェジピンあるいは同量のDMSO、およびそれぞれに0.05%、0.1%、0.2%柴苓湯あるいはサイコを添加した培地で培養した。bFGFおよびI型コラーゲンの定量はELISAにより行った。Gin-1細胞を35mmディッシュに100,000個ずつ播き、ニフェジピンおよび柴苓湯あるいはサイコを含む培地で5日間培養し、培養上清およびディッシュ底面に付着しているコラーゲンをキットの説明書に従って回収した。培養上清中のbFGFおよびディッシュ底面から回収したI型コラーゲンを定量した。統計学的処理はStudentの*t*検定により行い、*p*<0.05を有意差ありと判定した。

### 【結果】

柴苓湯およびサイコはニフェジピンによる Gin-1 細胞の増殖を濃度依存的に抑制した。また、柴苓湯およびサイコはニフェジピンによって亢進した bFGF および I 型コラーゲンの産生を濃度依存的に抑制した。

### 【考察】

柴苓湯が *in vitro* の実験系において歯肉増殖症に関与する因子を抑制したことから、ニフェジピンによる増殖症の予防および治療に対して有効である可能性が示唆された。柴苓湯の主成分であるサイコでも同様の結果が得られたことから、サイコが主となって歯肉増殖症を抑制することが示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究は、ヒト正常歯肉線維芽細胞を用いたニフェジピン誘導性歯肉増殖症の *in vitro* モデルを使用して柴苓湯とサイコが歯肉増殖症を抑制する可能性を明らかにした。

本研究の所見は、薬物性歯肉増殖症の薬物療法という歯周病の臨床分野に対しても貢献する、非常に意義のある研究である。

以上により、本論文は学位論文に値するものと認める。

## 学力の確認の結果の要旨

申請者の学位論文「ニフェジピンによる歯肉線維芽細胞の増殖に対する柴苓湯およびサイコの抑制効果の検討」を中心に、本研究に関する基礎知識、論文の内容に関する事項および研究成果の今後の展開などについて、口頭試問を行った。

質問事項は、

1. カルシウム拮抗薬の歯肉増殖症のメカニズムについて
2. 実際の薬物と歯肉増殖症に対する漢方薬の影響について
3. Gin-1 細胞の細胞増殖能の実験方法に関する事項について

以上の質問や意見が出されたが、申請者は最新の文献的知見も踏まえて適切に回答した。本審査会は、この研究を本学の学位論文として、基礎歯科医学のみならず、臨床歯科医学に多くの示唆を与える内容を含んだ意義のある研究であると評価した。また、申請者は博士（歯学）として十分な学力および知識を有するものと認め、学力の確認を合格と判定した。

氏名	吉田 敬子
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第73号
学位授与の日付	2009年 8月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当（論文提出によるもの）
学位論文題目	抗真菌薬ミコナゾールの基材としてのコラーゲンの有用性の検討
指導教員	教授 王 宝禮
論文審査委員	主査 教授 藤村 節夫 副査 教授 山下 秀一郎 副査 准教授 安田 浩一

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

義歯性口内炎の治療薬として使用されるミコナゾールを低濃度で一定時間、義歯粘膜面に保持する基材として接着性タンパク質であるコラーゲンに着目し、その有効性を検討した。

### 【対象および方法】

被試験菌として *Candida albicans* (*C. albicans*) JCM1542、抗真菌薬として硝酸ミコナゾール（以下MCZ、和光純薬）およびフロリドゲル経口用<sup>®</sup>（持田製薬）、接着性タンパク質として魚の鱗から抽出したコラーゲンパウダー（以下コラーゲン）（メルシーコラーゲン、リアルフーズ株式会社）を使用した。

#### （実験1）

NCCLSの方法に準じた抗真菌剤感受性試験によりMCZの80%最小発育阻止濃度（MIC<sub>80</sub>）を測定した。MCZはRPMI1640培地あるいは33%コラーゲン溶液に溶解した。

#### （実験2）

0、0.01、0.1、1 μg/ml MCZを含む33%コラーゲン溶液20 μlをレジンプレート（加熱重合型アクリルレジン、GC株式会社、10mmφ×1mm）に塗布して乾燥させた。レジンプレートを生理食塩水中で30分間振盪（20stroke/分）した後10<sup>3</sup>CFU/mlの *C. albicans* 菌液20 μlを滴下し、さらに24時間培養した。レジンプレートをSCDLP培地で洗浄し、その培地中に含まれる *C. albicans* 数を測定した。

#### （実験3）

コラーゲンと従来製品の効果を比較するために、フロリドゲル経口用<sup>®</sup>をグリセリン-デンプン溶液で1 μg/mlに希釈して実験2と同様の実験を行った。生理食塩水中での振盪時間は15、30、60分間、MCZの作用時間は48時間とした。

### 【結果】

（実験1） MCZのMIC<sub>80</sub>は0.06-0.26 μg/ml（RPMI1640中）および0.06-0.5 μg/ml（コラーゲン溶液

中)であり、コラーゲンはMIC<sub>80</sub>に影響を及ぼさなかった。

(実験2) MCZの*C. albicans*致死率は0.01、0.1μg/mlで85%、1μg/mlでは100%だった。

(実験3) いずれの観察時間においても、グリセロールを基材とした場合には60-80%の致死率であったが、コラーゲンを基材とした場合にはほぼ100%の致死率であった。

#### 【考察】

コラーゲンをMCZの基材とすることにより従来の方法と比較してMCZを低用量で使用することが可能になると考えられる。この方法が義歯性口内炎を治療する新たな方法として有効であることが示唆された。

### 学位論文審査の結果の要旨

本研究は、抗真菌薬ミコナゾールを義歯粘膜面に塗布する際の基材としてサカナの鱗由来のコラーゲンを使用することにより、現在使用されているゲル製剤よりもミコナゾール使用量を減らすことができる可能性を明らかにした。

本研究の所見は、高齢者などミコナゾールの使用を控えたい患者に対しても使用可能となる可能性があり、臨床分野に対しても貢献する、非常に意義のある研究である。

以上により、本論文は学位論文に値するものと認める。

### 学力の確認の結果の要旨

申請者の学位論文「抗真菌薬ミコナゾールの基材としてのコラーゲンの有用性の検討」を中心に、本研究に関する基礎知識、論文の内容に関する事項および研究成果の今後の展開などについて、口頭試問を行った。

質問事項は、

1. 本実験の臨床応用の可能性について
2. 本実験に用いたコラーゲンの成分、機能について

以上の質問や意見が出されたが、申請者は最新の文献的知見も踏まえて適切に回答した。本審査会は、この研究を本学の学位論文として、基礎歯科医学のみならず、臨床歯科医学に多くの示唆を与える内容を含んだ意義のある研究であると評価した。また、申請者は博士(歯学)として十分な学力および知識を有するものと認め、学力の確認を合格と判定した。

氏名	山田 博仁
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第75号
学位授与の日付	2010年2月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当（論文提出によるもの）
学位論文題目	Ozony Tron <sup>®</sup> の歯内療法処置への応用－オゾンの感染根管治療に対する殺菌効果について－
指導教員	教授 宮沢 裕夫
論文審査委員	主査 准教授 岩崎 浩 副査 教授 小澤 英浩 副査 教授 吉成 伸夫

## 学位論文の内容の要旨

オゾンは殺菌作用に加えて、オゾンに付帯するとされる組織賦活作用などから、歯科医療においても、殺菌、消炎、止血への効果が着目され、オゾン水を用いた義歯の洗浄・消毒や歯周ポケット、根管治療時の洗浄液としての可能性などが検討されている。

近年、空気中の酸素からオゾンを発生するオゾン発生器、Ozony Tron<sup>®</sup>が開発された。本装置は、小型軽量の簡便性に加えて、発生したオゾンガスも空気中で酸素に分解され安全であることから、訪問診療の携行にも有用と思われる。

今回、Ozony Tron<sup>®</sup>を感染根管に臨床応用した際の有用性について検討した。

根管拡大に先がけての根管培養で陽性培養が得られた失活歯155歯、250根管のうち、拡大・形成後の根管培養でも陽性が確認された130根管を本実験の被検歯とした。被検歯を無作為選択で88根管にオゾンガスを応用し、残りの42根管には、ネオクリーナーと3%オキシドールによる交互洗浄を行って実験対照とした。それぞれ応用直後に根管培養試験を行い、さらに次回来院時にも処置に先がけて二度目の培養試験を行って成績を判定した。また、術前のエックス線写真から根尖病巣の有無による陰性培養獲得率との関係についても調査を行ったところ、以下の結果が得られた。

1. 250根管中、根管拡大のみで陰性培養が得られたのは120根管（48%）であった。
2. オゾンガス応用例は88根管中42根管、47.7%に無菌を示し、そのうち10根管、全例中の11.4%が次回培養まで陰性が持続した。
3. 交互洗浄例は、42根管中36根管、85.7%が無菌を示し、そのうち21根管、全例中の50%が次回培養まで陰性が持続した。
4. 根尖部エックス線透過像と陰性培養獲得率の関係は、オゾンガス応用例は根尖病巣の有無に関わらず、いずれも約50%の陰性培養率であった。交互洗浄例は、根尖病巣(-)が100%、(±)が91%、そして(+)が64%の陰性培養率であった。

## 学位論文審査の結果の要旨

本研究はオゾンの殺菌、消炎、止血および安全性に着目し、Ozony Tron®を感染根管に臨床応用した際の有用性について検討した。

被検歯は根管拡大前の根管培養で陽性であった失活歯155歯（250根管）のうち、根管拡大・形成後の根管培養で再び陽性であった130根管としている。被検歯を無作為選択で88根管にオゾンガスを応用し、残りの42根管には、交互洗浄（10%次亜塩素酸ナトリウムと3%オキシドール）を行って実験対照としている。それぞれ応用後に根管培養試験を行い、さらに次回来院時にも処置に先がけて培養試験を行い判定している。また、術前のエックス線写真から根尖病巣の有無による陰性培養獲得率との関係についても調査を行い、交互洗浄に比べれば必ずしも良好な結果ではなかったが、次亜塩素酸ナトリウムは使用しなくなりつつある現在では、その代替方法としてオゾンガスによる根管清掃は臨床応用することにより有効と考えられる研究である。

以上により、本論文は学位論文に値すると判定した。

## 学力の確認の結果の要旨

申請者の学位論文「Ozony Tron®の歯内療法処置への応用－オゾンの感染根管治療に対する殺菌効果について－」を中心に、本研究に関する基礎知識、内容に関する事項および研究成果の今後の展開などについて、以下の質問事項について口頭試問を行った。

1. 化学的根管清掃に替わる方法はあるか
2. オゾンガスを、より効果的に根管清掃法として用いるにはどうすればよいか
3. オゾンガスの為害性について
4. オゾンガスによる根管清掃後に有用な貼薬剤の有無について
5. 難治性症例の有効性について
6. 在宅診療時に用いる事が可能か
7. オゾンガス発生機器の価格について

以上の質問や意見に対して申請者は文献的知見を踏まえて適切に回答した。本審査委員会は、この研究を臨床歯科医学に多くの示唆を与える研究であると評価した。また、申請者は博士（歯学）として十分な学力と知識を有するものと認め、学力の確認を合格と判定した。

氏名	小町谷 美帆
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第87号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当（論文提出によるもの）
学位論文題目	空気曝露による <i>P. gingivalis</i> SOD の発現量の変化：サンドイッチ型酵素免疫測定法（ELISA 法）の確立とその応用
指導教員	教授 平岡 行博
論文審査委員	主査 教授 高橋 直之 副査 准教授 柴田 幸永 副査 准教授 深澤 加與子

## 学位論文の内容の要旨

### 【研究の背景と目的】

スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）は、酸化ストレスから生体を保護するために生物の生存にとって不可欠の酵素である。歯周ポケットのような高度に嫌気的な部位においても、炎症局所では食細胞が産生する活性酸素にさらされる危険性がある。そのため、歯周病原菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. g.*) の様な偏性嫌気性菌でさえも SOD を獲得している。

細菌の SOD は、その活性依存の金属によって鉄を含む酵素（Fe-SOD）とマンガンを含む酵素（Mn-SOD）に分けられるが、*P. g.* SOD は金属酵素としては例外的にいずれの金属でも活性を示す特徴を有する。Amano, A ら (*J Bacteriol* 172: 1457-63, 1990) は、嫌気下で対数増殖期まで培養した *P. gingivalis* は Fe-SOD を合成しているのに対し、これを通気下で増殖し続けると Mn-SOD に変換していることを見出した。この原因について、申請者は生育環境の酸化還元電位の変化に応じて *P. g.* SOD は利用する金属種を置換すると考えた。この仮説を立証するために、*P. g.* SOD の定量的酵素免疫測定法（ELISA 法）を開発した。この ELISA 法を用いて、空気曝露に対する SOD タンパク質の発現量の変動を経時的に定量した。SOD の酵素活性の変動も併せて測定した。

### 【方法】

- (1) 抗 SOD ウサギ抗体を作製し、microtiter plate を用いて一抗体固層法によるサンドイッチ型 ELISA 法を開発した。
- (2) *P. gingivalis* ATCC 33277 を通法に従って嫌気培養器で培養した。対数増殖期の菌体を嫌気培養器から取り出し、菌体を振とう器で空気に曝露させた。嫌気培養終了時を曝露 0 分の菌体とした。空気曝露 30、60、90、120、240、360 分後に菌体を取り出し、超音波処理後の遠心上澄を試料とした。
- (3) 試料中の SOD タンパク質量を開発した ELISA 法で定量した。併せて SOD 酵素活性の測定を行い比較した。

## 【結果と考察】

- (1) 1 pmol~0.5nmol の *P. g.* SOD の測定が可能である ELISA 法を確立した。
- (2) SOD の発現量は空気曝露直後から上昇し、空気曝露60分で曝露前の量（0分値）の5倍になった。また、空気曝露60分における SOD 量は全タンパク質の2.7%を占めていた。
- (3) 空気曝露90分後の SOD 量は、曝露前の量の60%にまで低下した。その後、SOD 量は漸次上昇し、空気曝露360分後（6時間後）には曝露前の量の1.5倍に増加した。
- (4) SOD の酵素活性の測定において、「見掛け上の高い活性」が観察され、確立した ELISA 法は菌体の粗抽出液中における SOD 量の測定に優れていることが示唆された。

## 学位論文審査の結果の要旨

申請者は、*P. g.* SOD が酸化還元電位の変化に応じて、利用する金属種を置換する可能性を確かめるために、定量的酵素免疫測定法（ELISA 法）の確立に取り組んだ。その結果、*P. g.* SOD 量を正確に測定できる ELISA 法の開発に成功した。この ELISA 法を用いて、空気曝露（酸化還元電位の変化）に対する *P. g.* SOD タンパク質の発現量の変動を経時的に定量し、興味ある知見を得た。本研究より得られた結果は以下のとおりである。

- (1) 1 pmol~0.5nmol の *P. g.* SOD の測定が可能である ELISA 法が確立された。
- (2) 本 ELISA 法を用いて、空気曝露により *P. gingivalis* の SOD 量は急激に上昇し、その後減少することが示された。空気曝露1時間で全タンパク質の2.7%を SOD が占めるという興味ある知見が示された。
- (3) SOD の活性測定との比較より、本 ELISA 法は SOD の定量に優れていることが示された。

*P. gingivalis* の抗酸化機構に関する従来の報告は、長時間空気に曝露した結果のみが示されているため、短時間の空気曝露における *P. g.* SOD の動態は不明であった。申請者は、ELISA 法を開発し、短時間の空気曝露に対する SOD 発現量変化を正確に観察した。その結果、*P. gingivalis* は短時間の空気曝露に対して、大量の SOD を発現することが示唆され、これは *P. gingivalis* の抗酸化機構を解明する上で重要な知見であると考えられる。当初の仮説は本研究では完全に証明できなかったが、本研究において、①*P. g.* SOD の ELISA 法が開発されたこと、②それを用いて空気曝露に対する SOD 量の興味深い変動が見出されたことを高く評価する。

以上のように、本研究の目的と方法は的確で、また得られた結果は妥当かつ重要であると評価した。また申請者は、設定した仮説を証明するために、次の研究計画を立案し、予備的実験も行っており、これらの努力は大いに評価できる。

申請者は本研究に用いた生化学、分子生物学上の知識と技術を習得しており、博士に値する博識と技能を得ていると判断した。以上より、本論文は学位論文に値するものと認める。

## 学力の確認の結果の要旨

申請者の学位申請論文を中心に、基礎知識、論文の内容に関わる事柄について、口頭質問による試験を行った。申請者は的確な言葉を用いて、学位申請論文の目的、方法、結果、考察を説明できた。

また、学位申請論文の問題点、本研究の今後の方向と発展、本研究と歯周病との関連についても的確に説明できた。

質問事項は、次のとおりである。

1. Cambialistic SOD は、菌に一般的にみられる酵素か。
2. 比活性とは何か。また、Fe と Mn で SOD の比活性に違いはあるか。
3. エピトープ、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体について説明せよ。
4. 歯周炎において、*P. g.* SOD の含有する金属はどちらと考えるか。
5. 酸素存在下で *P. gingivalis* は増殖できるか。
6. *P. gingivalis* における SOD 以外の抗酸化分子をあげよ。

以上の質問に対して、申請者は的確に回答した。

本審査会委員合議の結果、申請者は博士（歯学）として十分な学力および知識を有する者と認め、全員一致して学力の確認を合格と判定した。

氏名	中塚 佑介
学位の種類	博士（歯学）
学位授与番号	第88号
学位授与の日付	2010年3月12日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当（論文提出によるもの）
学位論文題目	Location of main occluding areas and masticatory ability in patients with reduced occlusal support (臼歯部咬合支持が減少した患者における主機能部位と咀嚼能力に関する研究)
指導教員	教授 山下 秀一郎
論文審査委員	主査 教授 黒岩 昭弘 副査 教授 倉澤 郁文 副査 教授 増田 裕次

## 学位論文の内容の要旨

### 【目的】

硬い食品の咀嚼時には、歯列上に存在する主機能部位と呼ばれる特定の歯が中心となって粉砕が行われ、この部位は、最も緊密な咬合関係を示し最大咬合力の発揮される第一大臼歯に一致していることが多いとされている。しかし、臼歯部の咬合が崩壊し咬合支持が減少した場合に、欠損部位をたとえ有床義歯を用いて補綴治療を行ったとしても、はたして新たな口腔内環境において主機能部位がどのように第一大臼歯部に位置するのか、あるいは残存歯に影響を受けることで、別の部位に位置するのかについては、いまだ不明な部分が多く残されている。そこで本研究では、咬合支持の減少を可撤性有床義歯で補綴処置した場合に、主機能部位がどこに位置するのかについて、さらに主機能部位と咀嚼能力との関係について明らかにすることを目的とした論文である。

### 【方法】

被験者は松本歯科大学補綴科に来院した患者の中から、Eichner 分類 A1 に属し欠損部位がない者、および Eichner 分類 B1～B4、C1～C3 に属する者の中で欠損部位が可撤性有床義歯により補綴されている者の計102名を選択した。

主機能部位の判定は加藤らの方法に準じて行った。長さ4mmのストッピング片を試験試料として被験者の舌上に乗せ、咀嚼時を想定させながら噛みやすい任意の部位で1回の噛みしめを行わせた後、歯列上におけるストッピングの位置をもって主機能部位と判定した。可撤性有床義歯を使用している被験者では義歯を装着した状態で試験を行った。また、主機能部位をもとに被験者を2群に分類した。主機能部位が小白歯部に位置しているものをPM群、大白歯部に位置しているものをM群とした。得られた結果より、Eichner 分類のコードと主機能部位との関連性について分析を行った。

また、各被験者に対して主観的評価に基づく咀嚼能力に関するアンケート調査を行い、主機能部位との関連性について分析を行った。このアンケートは、豆腐などの噛みやすいものからりんごの丸かじりなどの噛みにくいものまで20種類の食品について、咀嚼することが可能か否かを質問し、得られ

た回答を点数化したものである。

### 【結果と考察】

Eichner 分類 A1 では主機能部位の多くが第一大臼歯部に認められたが、Eichner 分類 B 群、C 群と咬合支持数が減少するのに伴い、主機能部位は前方歯である小臼歯群に位置する傾向が認められた。この傾向は Eichner 分類 C1 で特に顕著であった。Eichner 分類コードと主機能部位との間には統計学的に関連性が認められた (Chi square test;  $p < 0.05$ )。

咀嚼能力評価は Eichner A1 が B1 から C3 に比べて非常に高い値を示し、咀嚼能力評価と Eichner 分類の間には統計学的に関連性が認められた (one-factor ANOVA;  $p < 0.01$ )。また、主機能部位の違いによる咀嚼能力評価と比べると PM 群に位置している場合の方が、M 群の場合よりも低いスコアを示す傾向にあり、両群間に有意差が認められた (Student t-test;  $p < 0.05$ )。

以上より、主機能部位は残存歯の影響を受けることで位置が異なる可能性があること、さらに、主機能部位の位置と咀嚼能力評価のスコアとは密接に関連していることが判明した。

## 学位論文審査の結果の要旨

主咀嚼部位が欠損形態により大臼歯から小臼歯部になぜ移動するかについて、今後の検討課題であるが、今回分析した範囲では結論の整合性があると判断した。また、咀嚼機能が「主咀嚼部位」の視点から明らかにした事は、新知見である。統計的に少数例で解析に用いている条件や主咀嚼部位がないと判断し、データから除外した症例についても検討する事を期待する。

主機能部位の相違が咀嚼能力に影響を与えることを明らかにしている。歯を喪失した患者を対象に行った研究であり、今までにこのような患者の主機能部位に着目した研究は無い。患者から得られた結果を考察することにより、補綴歯科臨床に有用なものであり、今後、発展させることにより、歯科臨床に大きく寄与する可能性が感じられる。

主機能部位の違いが咀嚼能力に影響を与えることを Eichner 分類を用いて検討を行っている。欠損補綴に関して主機能部位に着目した点はユニークで有用なものである。今後は各欠損状態について更に深い検討を行うことにより更に有用な情報が得られる。

以上のことから本論文は学位論文に値すると判定した。

## 学力の確認の結果の要旨

学位論文の内容について、説明や審査委員との質疑応答から十分な知識を有していると判断した。また、研究の発展性について、歯科臨床との関係についても深い見識を有している。

よって、学力の確認を合格と判定した。