

-大学院歯学独立研究科-
第 12 回研究テーマ発表会・第 77 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： 2015 年 7 月 24 日（金） 17 時 30 分 開会（テーマ発表 1 名・中間発表 2 名）

2015 年 7 月 24 日（金） 17 時 30 分 開会

No.	発表区分・予定時間	演題名・発表者	審査委員
	17:30	開会挨拶 高橋研究科長	
1	[テーマ発表] 17:35～17:45 司会：音琴 教授	「歯肉の炎症に対するハーブ系薬物を用いた薬物療法の基礎的ならびに 臨床的検討」 加藤 直美 1年秋期 健康増進口腔科学講座 口腔健康分析学	
1	[中間発表] 17:45～18:15 司会：篠原 教授	「T2緩和差を利用したによる ³¹ P-NMR骨塩量・新生骨量測定法」 斎藤 安奈 3年 硬組織疾患制御再建学講座 臨床病態評価学	主査：宇田川 教授 副査：十川 教授 内田 准教授
2	[中間発表] 18:15～18:45 司会：永澤 教授	「シリコーンラバー応用スポーツマウスガードの基礎的研究 —マイクロ波重合条件と物理・機械的性質について—」 谷内 秀寿 本学講師 論文博士	主査：長谷川 教授 副査：音琴 教授 増田 教授

研究テーマ報告書
Research Theme Report

2015年 6月 30日

学籍番号 Student ID No.	G 1406		
所属講座 Department	健康増進口腔科学講座		
専攻分野 Major Field	口腔健康分析学		
ふりがな	かとう なおみ	印 Signature	
氏名 Name in Full	加藤 直美		
指導教員氏名 Academic advisors Names in Full	主任 Chief	音琴 淳一	印 Signature
	副 Vice	藤井 健男	
	副 Vice	大須賀 直人	
	副 Vice		
	副 Vice		
研究テーマ（簡潔に記入すること）Reserch Theme (Write in brief)			
歯肉の炎症に対するハーブ系薬物を用いた薬物療法の基礎的ならびに臨床的検討			
以下記入不要 For official use only			
発表会名称	第12回 研究テーマ発表会		
開催日	7/24		
備考			

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 1304	入学年 Entrance Year	3 年 Year
(ふりがな) 氏名 Name in Full	さいとう 齋藤	あんな 安奈	
専攻分野 Major Field	硬組織疾患制御再建学		
主指導教員 Chief Academic Advisor	篠原 淳		
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	T2 緩和差を利用した ^{31}P -NMR による骨塩量・新生骨量測定法の研究		
発表要旨 / Abstract	<p>骨関連疾患や骨再生医療の評価法として骨組成の定量が可能になれば、より詳細な診断や治療効果の判定が可能になる。しかし、現在の段階では非侵襲的かつ短時間に骨組成別の骨量や骨密度を測定する方法の報告はほとんどない。以前の研究では ^{31}P-NMR (Nuclear Magnetic Resonance) を用いて、骨リン酸カルシウムの T1 緩和差を利用した海綿骨部の新生骨量測定法を確立したが、成熟骨と新生骨の割合を得るには二重重エネルギーX線吸収測定(DXA)法などの骨塩量測定法を併用する欠点があった。また、^{31}P-NMR のみを用いて T1 緩和を利用した骨塩量測定を考えると、測定時間が長くなる可能性がある。そこで本研究では T2 緩和が T1 緩和よりも短いことに着目し、T2 緩和差を利用した、^{31}P-NMR のみでの新生骨信号量(新生骨量)、骨塩信号量(骨塩量)を測定する非侵襲的短時間 ^{31}P-NMR 二重測定法の確立を目的とした。</p> <p>方法：</p> <ul style="list-style-type: none"> (1) 基礎検討：11種類の合成リン酸カルシウムの T2 緩和動態の測定を核磁気共鳴(NMR)装置(JEOL; JNM-ECA600; 600MHz)を用いて対象核は ^{31}P に設定し、Carr Purcell Meiboom Gill 法(τ step, Calculation delay(CD), relaxation delay(RD)、積算回数を変数)により行った。 (2) 新生骨、骨塩量の測定候補の抽出：基礎検討から τ step は $182\mu\text{s}$ 秒、CD は 0.348m 秒に固定する必要があった。そこで、RD と積算回数を可変項目として基礎検討を行った結果、①RD=10秒、積算 60 回、測定時間 10 分 ②RD=30秒、積算 20 回、測定時間 10 分 ③RD=100秒、積算 4 回、測定時間 6.7 分。④RD=200秒、積算 3 回、測定時間 10 分 ⑤RD=600秒、積算 2 回、測定時間 20 分を新生骨、骨塩量の測定候補として抽出した。 (3) マウス脛骨での ^{31}P-NMR T2 信号の測定：次に 2, 4, 6, 9 ヶ月齢の雄マウスにテトラサイクリン(TC)、カルセイン(CL)による二重標識(01TC : -02-01CL-01)を行い、安樂死後に脛骨近位部を摘出して 70% エタノールに固定後、同部の ^{31}P-NMR 信号を設定した 5 つの条件で各 6 回ずつ測定した。 (4) マウス脛骨での ^{31}P-NMR T1 緩和利用海綿骨部新生骨信号量の測定：T1 single pulse 法：RD=0.5 秒、積算 480 回、測定時間 4 分で脛骨近位部を測定した。 (5) マウス脛骨骨塩量の測定：DXA (Hologic Discovery : 小動物モード) を用いて脛骨近位部の骨塩量の測定を行った。 (6) 骨 ^{31}P-NMR T2 信号と T1 緩和利用海綿骨部新生骨信号量測定法、および骨塩量との相関解析：得られたマウス脛骨での ^{31}P-NMR T2 信号量とすでに確立されている T1 緩和利用海綿骨部新生骨信号量測定法で得られた信号量、及び DXA で得られた骨塩量との相関を解析した。 (7) 脛骨近位端の非脱灰研磨切片の作成：脛骨は Villanueva bone stain に 5 日間浸漬し、エタノールで脱水した後に未脱灰で methyl-methacrylate に包埋後に $5\mu\text{m}$ 厚の前額断切片を作製した。 (8) 新生骨部の面積測定：T1 緩和利用海綿骨部新生骨信号量測定法との相関が得られる T2 緩和条件が確認出来た場合には、ラット脛骨近位端の非脱灰研磨切片を用いて海綿骨部における新生骨面積を測定した。方法は Image J を用いて皮質骨の領域を削除し、ショレュホールド、二値化処理により蛍光標識部を抽出後に骨形態計測の手法を用いて新生骨領域を設定し、新生骨面積を測定した。その後、得られた T2 緩和条件下での信号量と新生骨面積の相関を解析した。 <p>結果：</p> <ul style="list-style-type: none"> (1) 測定された T2 信号量と T1 緩和利用海綿骨部新生骨信号量との相関：Carr Purcell Meiboom Gill 法での測定条件である τ step=$182\mu\text{s}$ 秒、CD=0.348m 秒 RD=30 秒、積算 20 回、測定時間 10 分と T1 緩和利用新生骨信号量測定法である T1 single pulse 法の測定条件である RD=0.5 秒、積算 480 回、測定時間 4 分との相関が最も強く ($r=0.740$ $P<0.0001$)、この条件が海綿骨新生骨信号量の測定に適していると考えられた。さらに画像解析で得られた海綿骨の新生骨の面積と Carr Purcell Meiboom Gill 法での測定条件である τ step=$182\mu\text{s}$ 秒、CD=0.348m 秒 RD=30 秒、積算 20 回との相関を解析したところ $r=0.951$ と強い相関が得られた。 		

(2) 測定された T2 信号量と DXA (Hologic Discovery) で得られた骨塩量との相関: 抽出した測定条件で得られた T2 信号量は、いづれも骨塩量との相関は悪く ^{31}P -NMR を用いた Carr Purcell Meiboom Gill 法での骨塩量測定は困難であった。

結論:

Carr Purcell Meiboom Gill 法での測定条件のうち τ step=182 μ 秒, CD=0.348m 秒 RD=30 秒, 積算 20 回は海綿骨の新生骨の信号量を描出すると考えられた。一方、骨塩量と正相関する条件は得られなかつた。その理由としては ^{31}P -NMR では骨リン酸カルシウムのリンの信号を測定していることから、加齢によって骨リン酸カルシウムの組成の内、カルシウムなどの他のミネラル量の変化が原因ではと考えられた。すなわち ^{31}P -NMR による新生骨信号量（新生骨量）の測定は Carr Purcell Meiboom Gill 法でも可能であるが、 ^{31}P -NMR のみで新生骨信号量（新生骨量）と骨塩信号量（骨塩量）を測定する非侵襲的な短時間 ^{31}P -NMR 二重測定法は困難であると考える。

発表内容の要旨(論文博士)
Abstract of Presented Research (For Doctoral Thesis Evaluation)

(ふりがな) 氏名 Name in Full	たにうち 谷内	ひでとし 秀寿
現在の職業 Present Occupation	松本歯科大学歯学部 講師（入門歯科医学）	
指導教員又は 本研究紹介教員 Academic Advisor or Referee	大学院歯学独立研究科 硬組織疾患制御再建学講座 生体材料学 永澤 栄	
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 シリコーンラバー応用スポーツマウスガードの基礎的研究 —マイクロ波重合条件と物理・機械的性質について—		
発表要旨 / Abstract 【背景】：スポーツマウスガード（以下、MG）はスポーツ時の顎顔面口腔領域ならびに頭頸部の外傷予防を目的とし、その予防効果については材料学的、生体力学的観点から有用性が論じられている。そして、シリコーン製 MG は新しい活性方法がある中、応用するに際し室温重合、加熱重合そして低出力と高出力のマイクロ波重合など様々な活性化様式が用いられている。 【目的】：本研究はシリコーン製 MG の電子レンジを用いたマイクロ波重合の活性化方法によるシリコーン材の物理・機械的性質を評価することである。 【材料】：食品衛生法に適合した市販液状シリコーンラバーBase:X32-3155 (Lot 411014), Catalyst:CX32-3155 (Lot 408009) (信越化学工業社製)を使用した。 【方法】：マイクロ波重合で製作した試料は、1) 170Wで10分重合、2) 170Wで15分重合、3) 170Wで10分重合後、700Wで3分重合、4) 170Wで15分重合後、700Wで3分重合である。3) と 4) は「2段階重合法」と呼ぶ。室温重合試料と 500Wで15分重合した試料、エチレンビニールアセテート共重合体の CapS、ポリオレフィン系の MG21 は著者らの前回の研究結果を参考とした。引張強度、伸び、引張応力は JIS K6251 仕様に則った。引裂き強度は JIS K6252、硬さは JIS K6253 (Durometer A) を参考とした。衝撃吸収試験は自家製の鉄球落下試験機を使用した。気泡のカウントは光の反射を避けるためグレーの背景色カードを使用し、試料をその上に乗せ、観察者の目視によった。統計処理は得られた平均値と標準偏差から多重比較 (Tukey-Kramer 法, p < 0.05) を用いた。 【結果】：電子レンジによる 4通りの重合方法と 2つの参考データをみると引張強度は 170W15 分 + 700W3 分、500W15 分が 8.2 MPa, 7.8 MPa と大きな値を示した。伸びは 170W15 分 + 700W3 分、170W10 分 + 700W3 分が 392%, 346% の大きな値を示し、同様に引張り応力に 4.5 MPa, 4.3 MPa の大きな値を示した。引裂き強度は 500W15 分、170W15 分 + 700W3 分が 34.2 kg f / cm, 33.7 kg f / cm で大きな値となり、硬さは同様に 62.6, 62.1 の大きな値を示した。衝撃吸収は 170W15 分 + 700W3 分が最も小さい値であったが、各シリコーンが 0.58~0.6 の間にあり市販 MG 材の CapS より高い値を示した。気泡の観察では 500W15 分の試料は室温重合の 2.8 倍、2段階重合法の 2倍の数が認められた。 【結論】：今回の試みの結果、次の結論を得た。1. 引張強度、100%変形応力、硬さは室温重合よりもマイクロ波重合で増加したが、その値は市販 MG 材よりも低い値であった。2. 2段階重合法では総じて物性の向上が見られ、引裂き強度、硬さは高出力单一重合と同等の値が得られた。衝撃減衰量の値は逆に低下したが、EVA 系の CapS よりは大きかった。3. 気泡の発生は高出力单一重合の資料に多く、2段階重合法で作製した資料には少なかった。		