

1-2-1 毛包から分離した神経堤由来幹細胞の高純度培養方法の確立とその形質解析

○浦野-森澤 絵里**, 高見 正道***, 須澤 徹夫**, 上條 竜太郎**, 馬場 一美*

*昭和大学歯学部歯科補綴学講座, **口腔生化学講座, ***歯科薬理学講座

Development of a culture method for neural-crest-derived stem cells with high purity and analysis of their characteristics

Urano-Morisawa E**, Takami M***, Suzawa T**, Kamijo R**, Baba K*

*Departments of Prosthodontics, **Biochemistry, ***Pharmacology, School of Dentistry, Showa University

I. 目的

神経堤細胞は胎生初期の神経管癒合部に発生した後、胚内を広く遊走し、定着先の環境に応じて神経、骨、歯、胸腺、毛髪など多様な細胞に分化する。また、成体においても一部は幹細胞として存在することから、それらを高純度で培養し、目的の細胞に分化誘導できれば再生医療の新しい細胞ソースとして利用可能と考える。本研究では、他の組織に比べ採取に伴う侵襲性が低い毛包の神経堤由来細胞に着目し、まずそれらを効率的かつ高純度に増殖させる方法の確立を試みた。次に幹細胞マーカーの発現などを解析するとともに骨芽細胞や脂肪細胞への分化能の有無および破骨細胞分化支持能を検討した。一連の解析では、神経堤由来細胞がGFP(緑色蛍光タンパク質)を発現するダブルトランスジェニックマウスを用いることで、神経堤由来細胞とその他の細胞を識別した(図)。

II. 方法

(1) ダブルトランスジェニックマウス：神経堤細胞マーカーであるミエリンプロテインゼロ(P0)のプロモーターでCreリコンビナーゼを発現するP0-CreマウスとCAGプロモーターでGFPを発現するfloxマウスの交配により神経堤由来細胞がGFPで標識されるP0-Cre/CAG-CAT-GFPマウス(P0マウス)を作出した¹⁾。(2)毛包細胞の採取：P0マウスの頬髭毛包をコラゲナーゼとディスパーゼで処理し細胞を回収した。(3)幹細胞用培地：B-27, FGF, EGF含有DMEM/F12。(4)骨芽細胞分化誘導培地：骨形成誘導因子BMP-2含有 α MEM。(5)石灰化誘導培地： β -glycerophosphate, アスコルビン酸, デキサメタゾン含有 α MEM。(6)脂肪細胞分化誘導培地：インスリン, ヒドロコルチゾン, インドメタシン, IBMX含有 α MEM。(7)マーカーの解析：フローサイトメトリーとRT-PCR法を用いた。

III. 結果と考察

(1) 神経堤由来細胞の高純度培養方法の確立
毛包から採取した細胞のうち、GFP陽性細胞

(神経堤由来細胞)は約10%だった。その純度を向上させるため、幹細胞用培地で培養・継代したところ、GFP陽性細胞は陰性細胞に勝る高い増殖能を示し、4回の継代後には陽性細胞の純度が95%以上、細胞数は採取直後の250倍に達した。

(2) 幹細胞マーカーの発現とスフェア形成

GFP陽性細胞は神経堤幹細胞のマーカーであるp75とNestinだけでなく、間葉系幹細胞の表面マーカーであるPDGFR α とSca-1も発現していた。さらに浮遊状態でも増殖する幹細胞の性質を検討するため低接着性の細胞培養皿を用いたところ、幹細胞特有の細胞塊であるスフェアを形成した(図)。

(3) 細胞分化能

GFP陽性細胞は骨形成誘導因子BMP-2存在下で骨芽細胞関連遺伝子であるオステオカルシンやアルカリホスファターゼ、Osterixを発現し、石灰化物を形成した。また、脂肪細胞分化培地中では、脂肪滴の産生と脂肪細胞関連遺伝子リポプロテインリパーゼの発現上昇を認めた。

(4) 破骨細胞分化支持能

GFP陽性細胞は活性型ビタミンD刺激により、破骨細胞分化誘導因子であるRANKLを発現し、骨髄細胞から多核破骨細胞への分化誘導を支持した。

以上より、低侵襲で採取可能で短期間に純度を向上できる毛包の神経堤由来細胞は、骨芽細胞や脂肪細胞への多分化能をもつ間葉系幹細胞に類似した形質を有するため、補綴歯科領域における再生医療のための有用な細胞ソースとなりうることを示唆された。



図 毛包内の神経堤由来細胞と培養細胞

IV. 文献

1) Kanakubo S et al. Genes Cells. 2006; 11(8): 919-33.

1-2-2 骨髄穿孔と骨粗鬆症薬の応用が骨質の改善に及ぼす効果

○大多和昌人, 山下潤朗*

福岡歯科大学咬合修復学講座口腔インプラント科

*ミシガン大学歯学部生物材料科学講座補綴科

The Effect of Osteoporotic Medications on Trabecular Bone Formation in Bone Marrow Injury

Otawa M, Yamashita J*

Section of Oral Implantology, Department of Oral Rehabilitation, Fukuoka Dental College

* University of Michigan School of Dentistry

I. 目的

インプラント補綴治療において、機能的にも審美的にも満足な補綴物を装着するためには、補綴デザイン主導のもとにインプラントを埋入することが重要である。理想的なインプラント埋入部位に十分な量の骨が認められない場合、ブロック骨移植や骨誘導術を行い骨増生を達成する。しかし、インプラント埋入部位の骨密度が十分でない場合は、骨梁を増大させる方法がまだ確立されていないので、十分なインフォームドコンセントのうえでそのままインプラントを埋入しているのが現状である。理想的な骨梁は強固なインプラントの初期固定を達成し骨結合を向上させるので、骨梁を増大させる方法の確立はインプラント補綴治療において重要である。我々は、骨髄に外傷を与えると骨髄が骨形成的に反応することをラット骨粗鬆症モデルを使って報告した¹⁾。そこで本研究では、骨密度を増大させる方法の確立を念頭に、骨粗鬆症治療の短期投与が外傷を与えた骨髄の骨梁形成に与える影響を検討した。

II. 方法

7週齢雄性ラット(n=21)の左側脛骨骨幹部を麻酔下で露出、ラウンドバーで5ヶ所に骨髄穿孔を行い皮膚を縫合した。反対側脛骨が内部コントロールである。これらラットを無作為に均等分配し、第1群(ALN)にはAlendronate (0.8mg/kg/w)、第2群(PTH)には副甲状腺ホルモン (20 µg/kg/d)、第3群(コントロール)には生理食塩水を2週間皮下投与した。屠殺時に採血を行い、血清Ca、破骨細胞マーカーである血清TRAcP5b、炎症マーカーである血清CRP、骨形成マーカーである血清PINP、血清OCNを定量し比較した。脛骨骨髄内の新生骨梁、皮質骨穿孔部の治癒、皮質骨外側の新生骨はマイクロCTを用いて三次元的構造を解析し定量した。マイクロCT撮影後、脱灰研磨切片を作成し、HE染色とTRAP染色を行い組織学的骨形態計測法を用いて破骨細胞と骨の石灰化を定量した。さらに新生骨内の血管新生(Factor VIII)、細胞死(TUNEL)、細胞増殖(PCNA)を調べ組織学的に定量した。統計的分析には分散分析、チューキーの多重比較検定を行なった。

III. 結果と考察

ALN投与群ではTRAcP5b、血清Caは低下していた。これらのことはALNが破骨細胞の活動を抑制したことを示している。PTH投与群ではTRAcP5b、PINPともに上昇しておりPTHが骨の代謝を亢進したことを示している。マイクロCT解析から、ALN投与群ではコントロール群よりも有意に多い骨梁が穿孔部骨髄内に形成されたことがわかった。PTH投与群にも骨梁の形成は認められたがALN投与群ほど多くはなかった。興味深いことに、皮質骨外側に形成された新生骨は、ALN投与群やコントロール群よりもPTH投与群に有意に多く認められた。HE染色の骨形態計測でも同じ結果が確認できた。新生骨梁内の血管形成は、PTH投与群で有意に多かったが、ALN投与群とコントロール群では差は認められなかった。新生骨梁内の破骨細胞は、ALN投与群で有意に減少していたが、PTH投与群とコントロール群には差は認められなかった。これらの結果より、AlendronateやPTHの骨増生効果は生体の治癒が起こっている部位において大きく増幅されることがわかった。特にAlendronateは骨梁形成を刺激し、PTHは皮質骨外側への骨添加を刺激することがわかった。

本研究から、骨髄穿孔後にAlendronateを短期投与すると、骨梁形成を促し骨質を改善できることが示唆された。

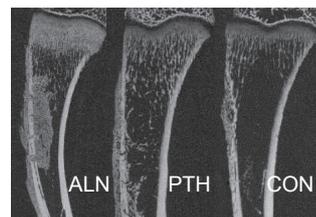


図. 骨髄穿孔部の骨梁形成

IV. 文献

- 1) Kuroshima S, Entezami P, McCauley LK, Yamashita J. Early effects of parathyroid hormone on bisphosphonate/steroid-associated compromised osseous wound healing. *Osteoporos Int* 2014; 25: 1141-1150.

1-2-3 歯原性上皮細胞株におけるThymosin β 4によるRunx2発現調節メカニズム

○染矢祐孝, 古谷野潔

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座インプラント・義歯補綴学分野

Thymosin β 4 is associated with RUNX2 expression via the Smad and Akt signaling pathways in mouse dental epithelial cells.

Someya H, Koyano K.

Section of Implant and Rehabilitative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University

I. 目的

臓器再生における三次元培養が発展するなか、Nakaoら¹⁾は器官原基法によって歯胚の上皮細胞と間葉細胞より歯の再生が可能であることを報告した。歯胚間葉細胞は歯髄内の幹細胞より分化誘導が可能である。しかし、歯胚上皮細胞は幹細胞を含め歯の萌出後消失するためにその調達は困難であると思われる。そこで、歯の発生において主に歯胚上皮に発現し、歯胚の形態形成に関与することを我々が見出したThymosin β 4 (T β 4)に着目し²⁾、非歯原性上皮細胞株へのT β 4遺伝子導入により歯原性関連因子の発現や石灰化様構造物を形成することを報告した³⁾。しかし、T β 4遺伝子導入による歯原性関連因子の発現や石灰化様構造物を形成する分子メカニズムは十分には解明されていない。そこで、本研究では将来的にヒトより採取した口腔粘膜上皮へのT β 4の応用を見据え、歯原性上皮細胞のより効率的な作製を目指し、そのメカニズムの検索を行った。

II. 方法

マウス歯原性上皮細胞株であるmDE6細胞のエナメル基質形成能や石灰化能の有無を確認するために石灰化誘導培養を21日間行い、石灰化様構造物の形成をAlizarin red染色とvon Kossa染色により確認した。石灰化誘導培養によるALP活性、歯原性関連因子のmRNA発現、歯原性関連因子の発現に関与しているRunx2とその上流にあるSmad, PI3K-Akt, MAPKおよびWnt/ β -catenin経路関連因子のタンパク発現を解析した。また、Runx2上流シグナル因子のリン酸化阻害剤を用いてRunx2のタンパク発現を解析した。そして、阻害剤添加による歯原性関連因子のmRNA発現と石灰化様構造物の形成変化を検索した。次に、siRNA法を用いてT β 4をノックダウンさせRunx2のmRNAとタンパク発現を解析した。さらに、T β 4機能抑制下に石灰化誘導培養を行い石灰化様構造物の形成やRunx2上流シグナル因子のタンパク発現を解析した。統計処理には一元配置分散分析を用いTukey-Kramer法にて多重比較を行った。

III. 結果と考察

mDE6細胞は、石灰化誘導培養によりAlizarin red染色やvon Kossa染色にて陽性像を示す石灰化様構造物を形成した。ALP活性と歯原性関連因子のmRNA発現は石灰化誘導開始時と非誘導21日目に比べて、誘導21日目において有意に発現が増加した。また、誘導21日目においてRunx2とその上流シグナル因子であるリン酸化Smad1/5とリン酸化Aktの発現が有意に増加した。そこで、Smad1/5/8とAktのリン酸化阻害剤を使用したところ、阻害剤未添加群に比べて各々の阻害剤添加群でRunx2の発現が有意に減少した。また、阻害剤添加条件下での石灰化誘導培養では歯原性関連因子のmRNA発現は減少し、石灰化も減弱した。これらの結果より、mDE6細胞におけるRunx2や歯原性関連因子の発現調節にはSmadとPI3K-Akt経路が関与している可能性が考えられた。さらに、siRNA法によるT β 4機能抑制によりRunx2の発現は有意に減少した。T β 4機能抑制下での石灰化誘導培養による石灰化も減弱し、Runx2上流シグナル因子であるリン酸化Smadやリン酸化Aktの発現も減少した。以上より、mDE6細胞においては、T β 4がSmadやPI3K-Akt経路を介してRunx2や歯原性関連因子の発現調節、さらには石灰化に関与している可能性が示唆された。

IV. 文献

- 1) Nakao K, Morita R, et al. The development of a bioengineered organ germ method. *Nat Methods* 2007; 4 (3): 227-230.
- 2) Ookuma YF, Kiyoshima T, et al. Multiple functional involvement of Thymosin beta-4 in tooth germ development. *Histochem Cell Biol* 2013; 139: 355-370
- 3) Kiyoshima T, Fujiwara H, et al. Induction of dental epithelial cell differentiation marker gene expression in non-odontogenic human keratinocytes by transfection with thymosin beta 4. *Stem Cell Research* 2014; 12: 309-322

1-2-4 grindingとclenchingに対するスプリント治療の効果は異なるのか?

○小野口康, 築山能大, 桑鶴利香, 松本浩志, 古谷野潔

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座インプラント・義歯補綴学分野

Is an effect of stabilization splints on grinding dissimilar from clenching in sleep bruxism?

Onoguchi Y, Tsukiyama Y, Kuwatsuru R, Matsumoto H, Koyano K

Section of Implant and Rehabilitative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science
Kyushu University

I. 目的

睡眠時ブラキシズム(以下SB)は顎口腔系にさまざまな悪影響を及ぼしていると考えられており, その治療には主にスタビライゼーションスプリント(以下SS)が広く用いられている. しかし, SS治療のSB減弱効果については未だ不明な点が多く, コンセンサスが得られていない¹⁾. そこで本研究では, ブラキサーにSSを長期間連続使用させ, SBを経時的に測定し, SS治療のSB減弱効果を詳細に調査することを目的とした. 本研究の特徴は, 咀嚼筋筋活動からSBを抽出し, grindingとclenchingとに分け, それぞれについて頻度・時間・強さを評価した点である.

II. 方法

被験者26名を対象に, 夜間睡眠時のみSSを30日間連続で使用させ, ベースライン, SS装着直後, 装着後1週(8日目)および4週(29日目)に, 携帯型筋電図測定装置を用いて咬筋筋活動を測定した. 10%MVC(maximum voluntary contraction)を超える筋電図波形からLavigne et al. (1996)のアルゴリズムを用いてepisodeを抽出し, その中から0.25~2.0秒続くburst(grinding burst), 2.0秒以上続くburst(clenching burst)を別々に抽出した. grinding burstとclenching burstそれぞれについて, 睡眠1時間あたりの発生頻度(time/h), 持続時間(s), 振幅(%MVC)および振幅分布を解析した.

III. 結果と考察

grinding burstの頻度は, ベースラインと比較してSS装着直後のみに有意な減少がみられたが(図1), その他のパラメーターには有意差は認められなかった. またgrinding burstの振幅分布は, ベースラインと比較してすべてのタイムポイントで有意な違いは認められなかった(図2). clenching burstの振幅は, ベースラインと比較してすべてのタイムポイントで有意な減少がみられたが(図1), その他のパラメーターには有意差が認められなかった. またclenching burstの振幅分布は, ベースラインと比

較してすべてのタイムポイントで有意に異なり, 低い%MVCの方にシフトしていた(図2). 本研究結果より, SS治療には, grindingに対して頻度の減少による短期的なSB減弱効果が, clenchingに対して振幅の減少による長期的なSB減弱効果があることが示唆された. これに対しては, grindingにはSS装着に対する生体の馴化が, clenchingには歯根膜による咀嚼筋への抑制性の反射が関与していると考察した.

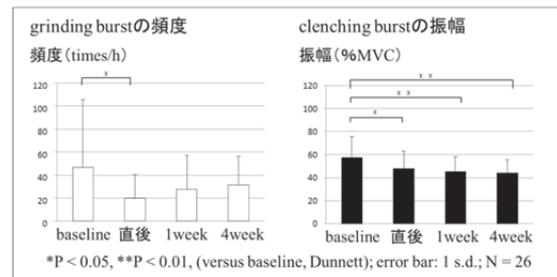


図1 スプリント治療によるgrinding burstの頻度とclenching burstの振幅の変化

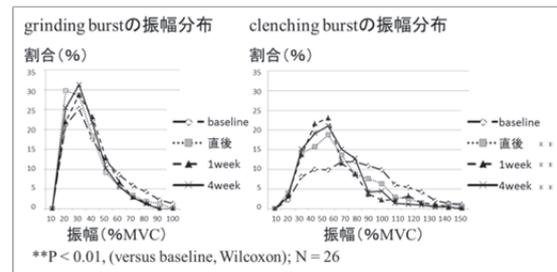


図2 スプリント治療によるgrinding burstとclenching burstの振幅分布の変化

IV. 文献

- 1) Lobbezoo F, van der Zaag J, van Selms MK, Hamburger HL, Naeije M. Principles for the management of bruxism. Journal of oral rehabilitation. 2008; 35: 509-523.

1-2-5 口腔機能における遺伝因子と環境因子：中高齢者の双子研究より

○久留島悠子, 池邊一典, 松田謙一, 榎木香織, 八田昂大, 山下元三*, 村上伸也*, 前田芳信

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 有床義歯補綴学・高齢者歯科学分野

*同研究科口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学分野

Genetic and environmental contribution to oral function explored by middle and old aged twins

Osaka University Graduate School of Dentistry

Department of Prosthodontics, Gerodontology, and Oral Rehabilitation

*Department of Periodontology

I. 目的

人間の心身の特徴や疾患は、遺伝因子と環境因子によって決定される。双子研究は、様々な表現型に対する遺伝因子と環境因子の寄与率を調べる方法として、北米や北欧では広く用いられている。

歯科の分野において、幼少期の双子を対象に、歯や歯列の形態を比較検討したものは過去に報告されている¹⁾。しかし、長期間にわたって環境因子の影響を受け、歯科疾患や口腔機能の変化を生じた高齢の双子を対象とした研究はみられない。

本研究は、歯周疾患や歯の喪失に加え、咀嚼能率や唾液分泌について、一卵性双子 (MZ) 間の類似度と二卵性双子 (DZ) 間の類似度とを比較することによって、遺伝因子ならびに環境因子による影響度を統計的に検討することを目的とした。

II. 方法

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理審査委員会の承認(H21-E2)を得て実施された。

研究参加者に対して、歯科補綴専門医が、検査用グミゼリーを用いた咀嚼能率、デンタルプレスケール (ジーシー社) を用いた最大咬合力、刺激時唾液分泌速度を測定した。また、歯周病専門医が、口腔内検診とレントゲン検査より、歯と歯周組織の評価を行った。

本研究の分析対象者は、同性の双子のうち50歳以上の者とした。双子研究では、一卵性は100%同一の遺伝子型を有し、二卵性は50%の遺伝子型を共有すると仮定する。まず、各検診項目において、双子間の級内相関係数の検定を行った。級内相関係数の大きさは、双子間の類似度を示し、MZからDZの値を減じた差が大きいほど遺伝の影響が大きいことを表す。さらに、共分散構造分析を用いた単変量遺伝解析を行い、遺伝・環境因子の割合を算出した。分析には、統計ソフトRを用い、有意水準は5%とした。

III. 結果と考察

対象とした双子は、132 (MZ,116; DZ,16) 組、264名であり、平均年齢は66.1 (標準偏差: 10.3)

歳であった。

身長、体重、最大咬合力、咀嚼能率、唾液分泌速度の級内相関係数(表)は、MZの方がDZに比べて大きく、いずれもAE (A: 相加的遺伝因子, E: 非共有環境因子) モデルが採択された。一方、残存歯数、歯槽骨吸収スコアは、いずれもCE (C: 共有環境要因) モデル、最大歯周ポケット深さは、Eモデルが採択された。

表 級内相関係数と遺伝(A)・環境(CE)因子の割合

| 項目 | 級内相関係数 | | 各因子の割合(%) | | |
|-----------|--------|------|-----------|------|------|
| | MZ | DZ | A | C | E |
| 残存歯数 | 0.64 | 0.77 | | 0.65 | 0.35 |
| 歯周ポケット深さ | 0.10 | 0.11 | | | 1.00 |
| 歯槽骨吸収スコア | 0.63 | 0.68 | | 0.63 | 0.37 |
| 最大咬合力 | 0.45 | 0.23 | 0.45 | | 0.55 |
| 咀嚼能率 | 0.54 | 0.27 | 0.63 | | 0.37 |
| 刺激時唾液分泌速度 | 0.49 | 0.24 | 0.51 | | 0.49 |
| 身長 | 0.90 | 0.51 | 0.89 | | 0.11 |
| 体重 | 0.76 | 0.49 | 0.76 | | 0.24 |

以上の結果より、成人期以降に生じる、歯周病や歯の喪失は、環境因子の影響が大きいことが確認された。それに対して、咬合力、咀嚼能率、唾液分泌などの口腔機能は、身長、体重と同様に遺伝因子の影響を受けることが示唆された。口腔機能は、後天的に生じる歯の欠損の関与が大きいと考えられるが、それでもなお遺伝因子、すなわち先天的要因が大きいことは注目すべきである。このことは、補綴治療の予後を考えるにあたり、個々による違いを認識することの必要性を示せた点で、重要な示唆を与える。

本研究より、咀嚼、唾液分泌などの口腔機能は、遺伝因子の影響を受けることが示唆された。

IV. 文献

- 1) Townsend G, Richards L, Hughes T. Molar intercuspal dimensions: Genetic input to phenotypic Variation. J Dent Res 2003; 82: 350-355.

1-2-6 前歯部CAD/CAMクラウンに適した支台歯形態の三次元的評価

○中川敬史, 若林一道, 中村隆志, 矢谷博文

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 クラウンブリッジ補綴学分野

Three dimensional evaluation of the abutment tooth form for anterior CAD/CAM crown

Nakagawa K, Wakabayashi K, Nakamura T, Yatani H

Department of Fixed Prosthodontics, Osaka University Graduate School of Dentistry

I. 目的

歯科用CAD/CAMシステムを用いた歯冠補綴治療において, 良好な適合を得るためには, 支台歯に鋭縁な箇所を作らず, 適切な湾曲を付与することが重要であるとされている¹⁾. しかし, CAD/CAMクラウンのための標準的な支台歯形態がエビデンスをもって示されている訳ではない.

そこで本研究では, 支台歯隅角部の湾曲の程度を変化させると支台歯形態がどのように変化するかをCADソフトウェアを用いシミュレーションするとともに, その形態的な差がCAD/CAMクラウンの適合性にどのような影響を与えるかを, 実際にCAD/CAMクラウンを作製して評価した.

II. 方法

上顎左側中切歯エポキシ模型を三次元スキャナー (ARCTICA, KaVo) で計測し, 得られた中切歯エポキシ模型の三次元構築モデルを参考に, 三次元CADソフトウェア (Rhinoceros 3D, McNeel North America)を用いてコントロール支台歯モデルを作成し, モデルの切縁, 近遠心隅角部および舌側面隅角部にミリングバーの直径を想定したフィレット処理を行った. フィレット処理とはCADソフトウェア上で隅角部に指定した直径の湾曲を正確に付与する機能である. 直径 0.4, 0.5, 0.8, 1.0 mm でフィレット処理を行い, 支台歯形態がどのように変化するかをシミュレーションした.

次に, コントロールモデルおよびシミュレーション後のモデル, 計 5 種類の支台歯形態に対し, 実際にCAD/CAMクラウンを作製し, 適合状態を評価した. まず, 作成した 5 種類の支台歯モデルについて, 金属製支台歯を作製した後, 本支台歯を印象し石膏製マスター支台歯を作製した. そして本石膏製マスター支台歯を 5 回印象し, 石膏製支台歯を 5 個ずつ作製後, 本支台歯を用いて実際にCAD/CAMクラウンを作製し, 適合試験材を用いて平均間隙量を算出した. 平均間隙量は, 介在する適合試験材の重量とメーカー指定の密度から体積を算出し, 表面積で割ることで算出した. 得られ

た 5 種類の支台歯モデルの間隙量について評価した. さらに, 適合試験材を介在させた石膏製支台歯とCAD/CAMクラウンを μ X線CTにて撮影し, 得られた画像データからボリュウムレンダリングソフトウェア (VGStudio Max 2.0, Volume Graphics) と肉厚解析モジュールを用いて間隙部を抽出し, カラーマッピング表示により三次元的適合状態を比較した.

III. 結果と考察

0.4, 0.5, 0.8, 1.0 mm と湾曲が大きくなるにつれて, 近遠心隅角部が下方へと移動し 1.0 mm の湾曲を付与したモデルでは Finger tip 様の形態となった (図1).

平均間隙量は, 直径 1.0 mm の湾曲を付与したモデルで最小となり, $78.2 \pm 2.2 \mu\text{m}$ であった. 間隙部の三次元表示では, 直径 1.0 mm の湾曲を有する支台歯モデルは, 他の支台歯モデルと比較し, 間隙部の形態が支台歯の形態と近似しており, より均一な間隙量を示した.

以上の結果より, 現在の歯科用CAD/CAMシステムを用いた前歯部歯冠補綴治療では, Finger tip 様の支台歯形態 (図1) をCAD/CAMクラウンの標準的支台歯形態とすることができるものと考えられた (図2).



図1 隅角部に 1.0mm の湾曲を付与した支台歯モデル



図2 1.0mm の湾曲を付与したモデルの間隙部の三次元表示

IV. 文献

- 1) Nakamura T, Wakabayashi K, Kinuta S, Tanaka H, Nishida H, Yatani H. Application of a Dental CAD/CAM System to the Production of All-ceramic Crowns. J Prosthet Dent 2004; 4: 92-97.

1-2-7 都市部一般住民におけるメタボリックシンドロームと咀嚼能力との関連性—吹田研究—

○菊井美希*, 小野高裕*. **, 來田百代*, 高阪貴之*, 野首孝祠***, 小久保喜弘****
前田芳信*

*大阪大学大学院歯学研究科有床義歯補綴学・高齢者歯科学分野, **新潟大学大学院医歯学総合研究科包括歯科補綴学分野, ***大阪大学, ****国立循環器病研究センター

Relationship between Metabolic Syndrome and Masticatory Performance in Urban Japanese Population -The Suita Study-

Kikui M*, Ono T*.**, Kida M*, Kosaka T*, Nokubi T***, Kokubo Y****, Maeda Y*

1) Department of Prosthodontics, Gerodontology and Oral Rehabilitation, Osaka University Graduate School of Dentistry, 2) Division of Comprehensive Prosthodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 3) Osaka University, 4) National Cerebral and Cardiovascular Center

I. 目的

メタボリックシンドローム (以下, Mets) は, 高血圧, 肥満, 高血糖および脂質異常などの代謝異常が複合した病態であり, わが国では平成20年4月から40~74歳の被保険者・被扶養者を対象に, Metsに着目した生活習慣病予防のための健康診査・保健指導が行われてきた。これまで歯周病とMetsの関連については報告がなされてきたりが, 咀嚼能力との関連についてはほとんど検討されていない。そこで本研究では, 都市部一般住民を対象とし, Metsと咀嚼能力との関連性について横断的な検討を行った。

II. 方法

平成20年6月から平成25年11月までの間に, 国立循環器病研究センター予防健診部の健康診査を受診した大阪府吹田市一般住民1780名 (50~79歳, 男性743名, 女性1037名, 平均年齢66.5±7.9歳) を対象に, 病歴・生活習慣問診, 身体測定, 血圧測定, 血液検査ならびに歯科検診を実施した。歯科検診では, 残存歯数, 歯周状態 (CPI), 咬合支持 (Eichner分類), 咀嚼能率 (グミゼリー30回咀嚼による咬断片表面積増加量) を検査した。なお, 本研究は, 同センターの倫理委員会の承認を得て実施した。

分析に先立ち, 対象者を咀嚼能率の四分位で4群に分類し, 上位よりそれぞれ1st, 2nd, 3rd, 4th quartile群とした。Metsは, 2009 Joint Interim Statement²⁾に準じ, Mets罹患あり/なし群の2群に分類した。目的変数にMets罹患の有無, 説明変数として咀嚼能率2nd~4th quartile群をダミー変数として投入し, 全体, 男女別ならびに年代別にロジスティック回帰分析を行い, 咀嚼能率1st quartile群に対する2nd~4th quartile群のMets罹患のオッズ比を求めた。調整変数として, 性, 年齢のみの場合, そこに歯周状態, 飲酒, 喫煙を含めた場合の2段階で分析を行った。分析ソフトウェアは, PASW Statistics 21を用い, 有意水準は, 危険率5%とした。

III. 結果と考察

全被験者を対象に, すべての調整変数を用いて解析した場合, 3rd quartileにおいてMets罹患のオッズ

比が有意に高い結果となった (odds ratio: 1.46, 95% C.I.: 1.07-1.99)。また, 年代別で解析を行った場合, 70歳代では, 2nd~4th quartile群すべてにおいて, オッズ比が有意に高い結果となった (表)。これらの結果より, 都市部一般住民では, 咀嚼能率の低下がMets罹患と関連する可能性があり, その傾向は特に70歳代において強いことが示された。したがって, Mets予防の観点から, 高齢者の咀嚼能力の低下に注意を払う必要性が示唆された。

(研究協力者; 国立循環器病研究センター予防健診部 宮本恵宏, 渡邊 至)

表. 70歳代における咀嚼能率各四分位群のMets罹患のリスク

| | Quartile of masticatory performance | | | |
|------------|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| | 1st | 2nd | 3rd | 4th |
| Mets, n | | | | |
| - | 117 | 124 | 118 | 169 |
| + | 28 | 54 | 57 | 71 |
| Odds ratio | 1 | 1.74 | 1.90 | 1.67 |
| (95% C.I.) | | (1.03-2.94) | (1.12-3.21) | (1.01-2.77) |

IV. 文献

- 1) Shimazaki Y, Saito T, Yonemoto K, Kiyohara Y, Iida M, Yamashita Y. Relationship of metabolic syndrome to periodontal disease in Japanese women: the Hisayama study. J Dent Res. Mar 2007; 86: 271-275.
- 2) Alberti K G, Eckel R H, Grundy S M, Zimmet P Z, Cleeman J I, Donato K A et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international federation task force on epidemiology and prevention; national heart, lung, and blood institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation. 2009; 120: 1640-45.

1-2-8 認知症高齢者の口腔機能を定量評価する舐摂機能検査の実用性の検討

○森隆浩, 平岡綾, 黒木亜津沙, 川野弘道, 丸山真理子, 高木幸子*, 吉川峰加, 津賀一弘

広島大学大学院医歯薬保健学研究科先端歯科補綴学研究室,

*微風会ビハーラ花の里病院

Feasibility of candy - sucking test for quantitative evaluation of oral function in dementia elderly

Mori T, Hiraoka A, Kuroki A, Kawano H, Maruyama M, Takagi S*, Yoshikawa M, Tsuga K

Department of Advanced Prosthodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University,

*Mifukai Vihara Hananosato Hospital

I. 目的

近年増加している認知症高齢者において、嚥下障害は高頻度に認められる合併症である。その特徴の一つは口腔機能の不全であるとされているが、認知症高齢者に適した口腔機能の定量評価方法は見当たらない。検査対象者が自ら飴を舐めた際の重量変化を計測する舐摂（しせつ）機能検査（CST）は、一部の認知症高齢者において実施可能であったと報告されているが¹⁾、その意義および実用性については十分に検討されていない。本研究では、認知症高齢者におけるCSTの実施可否、食事形態および嚥下動態との関連を明らかにすることを目的とし、CSTの実用性を検討した。

II. 方法

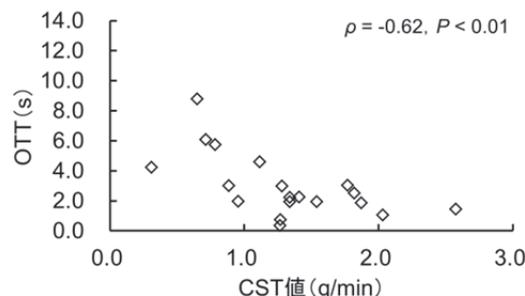
対象者は某特別養護老人ホームに入所する認知症高齢者24名（男性1名、女性23名、平均年齢89.2 ± 6.6歳）とした。認知機能はMini-Mental State Examination (MMSE) で評価した。口腔機能はCST, 最大舌圧検査 (TPT), オーラルディアドコキネシス (OD), 反復唾液嚥下テスト (RSST) による評価を試みるとともにその実施可否を記録した。また、当該施設の食事記録から日常の食事形態を調査した。CSTの試験食品にはチュッパチャプス™ (ChupaChups, Barcelona, Spain) を用いた。対象者のうち19名（女性、平均年齢90.1 ± 6.7歳）について、嚥下造影検査 (VF) を実施し、ヨーグルト3.0 g嚥下時の口腔通過時間 (OTT), 咽頭通過時間 (PTT), 全嚥下時間 (TST) を計測した。CSTと他の口腔機能検査の実施率の比較にはFisherの正確確立検定, 食事形態別のCST値の比較にはSteel-Dwass法を用い, CST値とMSEEおよびVF時の時間的パラメータとの相関はSpearmanの順位相関係数 (ρ) を用いて検討し, 有意水準は5%とした。

III. 結果と考察

CSTの実施可能者は23名 (95.8%) であり, ODの/pa/ (79.2%) とは有意差を認めなかったものの,

TPT, ODの/ta/および/ka/ (75.0%), RSST (70.8%) より有意に高い実施率となった ($P < 0.05$)。CSTの実施可能者のMMSEの中央値 (四分位範囲) は12 (4.5 - 14.5) 点, CST値は1.34 (0.92 - 1.71) g/minとなり, 両者の間に有意な相関は認めなかった ($\rho = 0.31, P = 0.14$)。普通食を摂取している対象者のCST値は1.84 (1.60 - 2.01) g/minとなり, ゼリー食摂取者の1.19 (0.81 - 1.33) g/minより有意に高かった ($P < 0.05$)。また, CST値はPTT ($\rho = 0.03, P = 0.91$) との間には有意な相関を認めなかったものの, OTT ($\rho = -0.62, P < 0.01$) (図) およびTST ($\rho = -0.55, P < 0.01$) との間には中等度の正の相関を認めた。

本研究の結果より, CSTは認知症高齢者において他の口腔機能検査よりも多くの対象者に実施可能で, 日常的に提供されている食事形態とも関係することが明らかとなった。さらに, CSTは半固形物の嚥下時における食塊の形成および輸送に関わる口腔機能と深く関係しており, 認知症高齢者に対する口腔機能検査法としての高い実用性が示された。



CST 値と OTT の相関関係

IV. 文献

- 1) 土岡寛和. 認知症高齢者のための舐摂機能検査法の開発. 広歯誌 2014; 46: 23-35.

1-2-9 生活機能が高く維持された高齢者における咬合力と認知機能との関連

○武下肇, 池邊一典, 猪俣千里, 魚田真弘, 三原佑介, 松田謙一, 小川泰治, 多田紗弥夏, 榎木香織, 八田昂大, 前田芳信

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座

有床義歯補綴学・高齢者歯科学分野

Association of oral function with cognitive impairment in elderly people

○Takeshita H, Ikebe K, Inomata C, Uota M, Mihara Y, Matsuda K, Ogawa T, Tada S, Enoki K, Hatta K, Maeda Y. Department of Prosthodontics, Gerodontology and Oral Rehabilitation, Osaka University Graduate School of Dentistry

I. 目的

認知機能の低下は、引き続いて生活機能の低下を招き、一般に口腔状態が悪化する。一方、口腔機能の低下が、認知機能を低下させることも動物実験等で示されている。しかし、実際に人間で、口腔の状態が認知機能に影響を及ぼすか否かについて、見解の一致は得られていない。

そこで我々は、「認知機能低下の初期段階においては、認知機能に口腔機能が関連する」との仮説を立て、生活機能が高く維持された地域高齢者のみを対象にすることによって、生活機能低下による口腔状態悪化への影響を排除し、口腔機能と認知機能との関連について検討した。

II. 方法

対象者は、70歳ならびに80歳の地域住民1205名とした。歯数、歯周ポケット、デンタルプレスケール(ジーシー社)を用いた最大咬合力(以下咬合力)、ならびに咀嚼による刺激時唾液分泌速度(以下唾液分泌)を測定した。義歯使用者は、義歯装着状態で測定を行った。認知機能の評価は、日本語版 Montreal Cognitive Assessment¹⁾(以下MoCA-J)を用いた。生活機能の評価として、老研式活動能力指標を用いた。また、認知機能低下との関連が報告されている、握力、経済状況、同居状況、教育年数、全身疾患既往歴、飲酒・喫煙習慣を調べた。まず、対象者から老研式活動能力指標の得点が満点の者を抽出し、分析対象とした。統計学的分析として、まず、MoCA-J得点と各評価項目との関連を、Spearmanの順位相関係数の検定を用いて検討した。次に、MoCA-J得点を目的変数とした重回帰分析を行った。説明変数は、すべての評価項目とした。各分析における有意水準は5%とした。

III. 結果と考察

全対象者のうち、生活機能維持群は、全体の51.5%にあたる620人であった。Spearmanの順位相関係数による検定の結果、男性では、MoCA-J得点と、歯数($rs=0.222$)、咬合力($rs=0.283$)、唾液分泌($rs=0.178$)、握力($rs=0.206$)、教育年数($rs=0.345$)、

女性では、歯数($rs=0.156$)、咬合力($rs=0.218$)、握力($rs=0.194$)、教育年数($rs=0.326$)との間に、有意な正の相関が認められた。

また、重回帰分析の結果(表)、年齢、性別、教育年数、握力、飲酒習慣、経済状況に加えて、咬合力が、有意な説明変数となった。すなわち、これまで認知機能に関連するとされてきた他の変数を調整したうえでも、咬合力の大きい者ほど、認知機能が高かった。一方で、歯数、歯周組織状態、唾液分泌は、有意な説明変数とはならなかった。

表: MoCA-J得点を目的変数とした重回帰分析

| 説明変数* | β | p値 |
|---------------------|---------|--------|
| 最大咬合力(N) | 0.101 | 0.040 |
| 年齢(70歳群=0, 80歳群=1) | -0.096 | 0.023 |
| 性別(男性=0, 女性=1) | 0.350 | <0.001 |
| 経済状況(ゆとりなし=0, あり=1) | 0.091 | 0.014 |
| 教育年数(年) | 0.272 | <0.001 |
| 握力(Kgf) | 0.194 | 0.001 |
| 飲酒習慣(なし=0, あり=1) | 0.104 | 0.018 |

調整済決定係数 $R^2=0.198$.

*: 有意な変数のみ表示, β : 標準化偏回帰係数

本研究では、対象者を限定し、生活機能低下による口腔状態悪化への影響を除外した上でも、咬合力が有意な説明変数となったことから、認知機能低下の初期段階においては、認知機能に口腔機能が関連していることが示唆された。また、全身の筋力の指標である握力を調整した上でも咬合力が有意であったことは、口腔の特異性を示唆しており興味深い。一方で、認知機能は歯数と有意な関連を示さず、欠損補綴部分も含めた咬合力が有意であったことから、適切な補綴治療によって咬合力を保つことの重要性が示唆されたとも言える。

IV. 文献

- 1) Fujiwara Y, Suzuki H, Yasunaga M et al. Brief screening tool for mild cognitive impairment in older Japanese: Validation of the Japanese version of the Montreal Cognitive Assessment. Geriatr Gerontol Int 2010; 10: 225-232.