

前と比べ血流の増加がわずかに見られたが、磁性アタッチメント複合体では血流に変化は認められなかった。

以上の結果を要約して次の結論を得た。

1. 磁性アタッチメントの磁場によるヒト歯肉上皮細胞の増殖に及ぼす影響はないものと考えられた。
2. ヒト歯肉上皮細胞のIL-8産生についても、磁性アタッチメントによる影響はないと考えられた。
3. 非接触型レーザー血流計で組織の血流を測定できることがわかった。
4. 磁性アタッチメントの磁場による影響では血流が若干増加すると考えられた。
5. 磁性アタッチメント複合体の場合は血流に変化が認められなかった。
6. 以上の結果より、現在市販されている磁性アタッチメント程度の強さの磁場では、生体に影響はないものと考えられた。(学位請求論文)

4. ラットエナメル質形成におけるアポトーシスとその調節因子の局在性

近藤 俊 (朝日大・歯・大学院・小児歯科)

<目的>

アポトーシスは遺伝子により制御された細胞死であり、組織形成、生体の恒常性を維持するために重要な機能を果たしている。歯の形成過程におけるアポトーシスは、上皮肥厚部、歯堤、エナメル結節部、分泌期エナメル芽細胞から成熟期への移行期エナメル芽細胞と、成熟期エナメル芽細胞、さらに萌出中の縮合エナメル上皮に認められている。しかし、その調節機構については明らかではない。Bcl-2ファミリータンパクには、促進因子としてのBaxと制御因子としてのBcl-2があり、それらの量比がアポトーシス調節に関わることが報告されてきている。また、アポトーシス誘導シグナルとしてFasが注目され、他の細胞組織において多くの報告がある。Fasのアポトーシスシグナルは、Fasリガンド(L)がFasレセプター(R)に結合後、FADD(Fas death domain)が活性化され、Caspase-8を活性化する経路と、さらにBidを活性化する経路とがあり、それらがアポトーシスを誘導する。また、それらをBcl-2が制御すると報告されている。

そこで、本研究では、エナメル質形成におけるアポトーシスとその制御機構を知るため、各発育段階の中でも、エナメル芽細胞の未分化期・分化期・分泌期・移行期・成熟期に焦点を絞り、アポトーシスの検出と、BaxとBcl-2の局在性、Fasからのアポトーシスシグナルの局在性を免疫組織化学的に検討を行った。

<材料および方法>

実験には、生後5, 7, 10日齢のS.D.系ラットを使用した。アポトーシス検出には、頭部矢状断のパラフィン切片を作製し、プロテナーゼKにて処理後、TUNEL(TdT-mediated dUTP-biotin nick end label-

ing)法により3,3'-ジアミノベンチジン(DAB)染色とメチルグリーン染色を行い観察した。免疫組織化学法は、頭部矢状断の凍結切片(厚さ約18 μ m)を使用しABC法により行った。一次抗体にはBax, Bcl-2, Fas-L, Fas-R, FADD, Caspase-8, Bidの各ポリクロナール抗体を反応後、それぞれの二次抗体を反応させ、DAB染色を行い観察した。

<結果および考察>

TUNEL法によりアポトーシス検出は、7, 10日齢臼歯の分泌後期・移行期エナメル芽細胞と隣接する中間層細胞に見られ、成熟期エナメル芽細胞にも若干認められた。Baxは7, 10日齢臼歯の分泌後期・移行期エナメル芽細胞および隣接する中間層細胞に最も強い局在を示した。それに対しBcl-2は未分化期、分化期および成熟期初期エナメル芽細胞に強い局在を示し、7, 10日齢の移行期での局在は最も弱くダウンレギュレーションを示した。FasからのアポトーシスシグナルはCaspase-8までが、7日齢臼歯の分泌後期・移行期エナメル芽細胞近心端と隣接する中間層細胞に最も強い局在を示した。10日齢臼歯では、FADDの局在は弱く、Bidが移行期エナメル芽細胞に最も強い局在を認めた。エナメル芽細胞の増殖期(未分化期)、分化期、さらに成熟期ではBcl-2の発現が強く、アポトーシスの認められた分泌後期・移行期エナメル芽細胞ではBaxとBcl-2の発現の強さは逆転していたことから、これらのタンパクはアポトーシスの調節とエナメル質形成過程における重要な働きを持つことが示唆された。Fasのアポトーシスシグナルはcaspase-8までが7日齢臼歯の発育段階に著明に働くことが推察された。また、Bidは10日齢臼歯の移行期に最も強い局在を示したことから、この時期に著明に働くことが推察された。

<結論>

- 1) アポトーシスはエナメル質形成において重要な役割をすることが明らかとなった。
- 2) BaxとBcl-2それぞれの発現の変化が、エナメル芽細胞の増殖・分化期、機能を持つ時期、アポトーシスの起こる時期に関連して認められたことから、これらのタンパクはエナメル質形成において重要な役割を持つことが示唆された。
- 3) エナメル質形成におけるアポトーシスは、Fasを介するアポトーシス誘導シグナルに関わることが示唆された。(学位請求論文)

5. Polyacid Resin Composite(Compomer)の色彩安定性の検討

李 月 (朝日大・歯・大学院・歯科保存)

<目的>

注目を集めている新素材コンポマーはフッ素を徐放し、機械的強度、操作性、審美性等がガラスアイオノマーより優れており、コンポジットレジン同様、歯冠

色の修復を可能にし、患者に審美的満足を与えられる材料である。しかし、吸水による二次的硬化反応を起こすため、水が介在しやすい構造をとっており、吸水による物性の劣化、変色、着色が懸念される。また、加水、加温環境において、光硬化型の高分子材料に共通して認められる後重合という現象が考えられる。そこで、各種コンポマーの重合状態を照射時間により変化させ、60℃の温水に保管するAsmussenの変色加速方法を用いて変色の程度の測定を行った。また、同時に変色試験と同様条件における経時的な溶出モノマー量の測定、ESR法によるフリーラジカル量を測定し、変色と重合状態との関係について検討を行った。

<材料および方法>

実験には市販の1ペーストタイプ5種類と2ペーストタイプ1種類を用いた。シェードはすべてA3を使用し、直径5mm高さ1mmの試料を各20秒、40秒、120秒間照射し、重合硬化させ、作製した。

- 1) 色彩変化の測定 作製した試料は1時間以内にデンタルOFC(日本電色工業)を用いて測色し、25mlの60℃蒸留水の入った褐色バイアル瓶に密閉して、1, 2, 3, 7, 14, 21, 28日保管した後、再度測色し、色差値を求めた。
- 2) 高速液体クロマトグラム(HPLC)法による溶出モノマーの測定 色彩変化の測定と同様に、25mlの60℃蒸留水の入った褐色バイアル瓶に密閉して、1, 2, 3, 7, 14, 21, 28日後に新しい浸漬液に全置換し、各期間経過後の浸漬液中に溶出したモノマー成分を高速液体クロマトグラフィで分析し、累積溶出量を求めた。
- 3) 電子スピン共鳴法によるフリーラジカルの測定と重合状態の評価 色彩変化の測定と同様に、25mlの60℃蒸留水の入った褐色バイアル瓶に密閉して、1, 2, 3, 7, 14, 21, 28日間保管した後新しい浸漬液に全置換し、各期間経過後の試料をESR Spectrometer(JES-FE2XG, 日本電子)によりフリーラジカル量の測定に供した。さらに5分間照射した後、もう一度、ESR Spectrometerによるフリーラジカル量の測定を行った。ラジカル量は各試料から得られたスペクトル強度(ラジカル濃度 \propto ESR強度)から評価し、各種照射時間で重合硬化させた試料を直ちに測定して得られたスペクトル強度と測定後さらに5分間照射した試料のスペクトル強度の差を求め、残留する未反応二重結合量および未反応モノマー量とし、これを重合状態の指標とした。

<結果>

- 1) 色彩変化 60℃で蒸留水浸漬直後から3日後までの上昇傾向が大きく、それ以降は一ヶ月まで経時的に徐々に増加し、上昇は小さくなる傾向を示した。照射時間の影響は20秒群の色差値の変化が最も著しく、40秒、120秒と照射時間が長くなるにつれて色

差値の変化は小さくなり、照射時間による影響を受けていた。

- 2) 溶出モノマー量 溶出モノマーは各試料により異なっており、DyractはUDMAモノマーが同定され、CompoglassはUDMAとBis-GMAモノマー、Ionosit Fill1はBis-GMAとTEGDMA、F2000はTEGDMA、XenoはTEGDMAとHEMA、GeristoreはMMAとBis-GMAが同定できた。溶出は60℃蒸留水浸漬1日後、2日後に認められ、その後は認められなかった。
- 3) 残留未反応二重結合量および未反応モノマー量 コンポマーの残留未反応二重結合量および未反応モノマー量は浸漬時間と共に減少し、20秒、40秒、120秒と照射時間が増すことで、少なくなり、120秒は20秒の1/4~3/4程度となっていた。照射終了後もラジカルは残り、重合反応は継続していることが考えられた。

<結論>

溶出モノマーから変色を説明するのは難しく、各種材料の溶出モノマー量の差異を変色と直接比較することはできなかった。しかし、ESRによる評価からコンポマーは再照射後のラジカルの発生量が多いほどすなわち未反応二重結合量および未反応モノマー量が多いほど、変色を起こす機会が多くなることが考えられ、これが変色を起こす一要因であり、照射時間の不足により、修復物の審美性を低下させることが考えられた。(学位請求論文)

6. 鰭脚類類歯の小型化・同形歯化に関する進化的研究

伊藤 徹魯(朝日大・歯・口腔解剖)

<緒言>

鰭脚類のアシカ科とアザラシ科は魚食性で、永久歯は餌動物の捕捉と保持に使い、餌は丸呑みにし裁断や咀嚼は行わない(Riedman, 1990)。類歯(小・大白歯。以下P, M)は「小型化・単純化・同形歯化している」とされている(Owen, 1868; King, 1983)。しかし裏付けとなる実証的研究はない。「小型化・同形歯化」の2命題について、鰭脚類相互間、裂脚類と鰭脚類の間、初期の裂脚類(鰭脚類の祖先動物)と現生鰭脚類の間で比較し、その検証を試みた。

<材料と方法>

鰭脚類ではアシカ科のオットセイとトド、アザラシ科のゴマフアザラシとクラカケアザラシの4種、裂脚類ではイヌ科のホンダヌキ(以下タヌキ)とジャコウネコ科のハクビシンの2種を選び、その頭蓋骨(すべてメス、計169個体)と類歯を材料とした。タヌキ・ハクビシンは初期裂脚類の原型の特徴を保有し、特殊化の少ない動物(宮尾, 1982; 茂原, 1986)であり比較の対象とした。肉眼的に咬耗・磨耗のない歯を選びノギスで1/20~1/100mmまで歯冠近遠心径(以下MD)・頬舌