

繰り返し構造を持つグリコサミノグリカン(GAG)が結合して構成される。歯肉組織のGAGにはヒアルロン酸(HA),コンドロイチン4硫酸(C4S),コンドロイチン6硫酸(C6S),デルマトン硫酸(DS),ヘパラン硫酸(HS),ケラタン硫酸(KS)の存在が報告されている。またこれらGAGは歯周炎の進展に伴い局在ならびに量的レベルが変動することが知られている。しかし創傷治癒時の歯周組織中のPGやGAGの変については十分に解明されていない。そこで本研究は、ラットの臼歯を実験的に抜去し、その治癒過程における歯肉、歯槽骨におけるHA, C4S, C6S, DS, HS, KS, パーシカンおよびI型コラーゲンの局在を免疫組織化学的に検討した。

#### <材料および方法>

実験動物には13週齢Wister系雄性ラット16匹を用いた。上顎第一臼歯を顕微鏡下で抜去した。抜歯は屠殺の28日, 14日, 7日, 1時間前に行った。屠殺以降の処理は染色強度を比較するため同一条件で行った。4%パラホルムアルデヒド溶液で固定後, EDTA溶液で脱灰し, 通法に従いパラフィン包埋を行った。包埋後, 厚さ5 $\mu$ mの近遠心的な薄切切片を作製した。抗体にはビオチン標識ヒアルロン酸結合タンパク(B-HABP), 2-B-6抗体, 3-B-3抗体, 抗HSPG抗体, 抗ケラタン硫酸抗体(生化学工業, 東京), 抗パーシカン抗体(American Research Products USA), 抗Type I collagen抗体(コスモ・バイオ)をそれぞれに用いた。なおC4S, C6S, DS, KSの染色は一次抗体反応前に, それぞれコンドロイチナーゼABC, コンドロイチナーゼACI, コンドロイチナーゼB(生化学工業, 東京)を切片上で反応させた。二次抗体からはヒストファインキット(ニチレイ)を用いてビオチン-ストレプトアビジン法により免疫組織染色を行った。ペルオキシダーゼを発色させる基質として3-3-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)を用い, ヘマトキシリンで核染色を行い, 光学顕微鏡にて観察した。また歯槽骨代謝を観察する為, TRAP染色も併せて行った。

#### <結果および考察>

7日目には抜歯窩は肉芽組織により閉鎖された。上皮結合組織では幼弱な線維組織が観察された。歯槽骨周囲では活発な骨吸収, 骨添加像が見られた。HA, パーシカン, DS, KSは抜歯窩の骨周囲で陽性像を示した。上皮基底膜下においてHA, DSが陽性像を示した。28日目には上皮および上皮結合組織において周囲歯周組織とほぼ同様な形態が観察された。DS, C4S, C6Sは結合組織において陽性像を示した。TRAP染色では7日目で歯槽周囲の多核の細胞に陽性像が観察された。14日目, 28日目と治癒の過程において陽性像は減少を示した。

#### <結論>

プロテオグリカンやグリコサミノグリカンは実験的

抜歯窩の治癒過程において局在性に変化が見られたことから, 歯肉や歯槽骨を構成する細胞の分化, 増殖に関与し歯周組織修復に関連する可能性が示唆された。

(学位請求論文)

## 6. リン酸カルシウム系セメントのアピカルバリアー材への応用

岡 泰弘(朝日大・歯・大学院・歯科保存)

### <緒言>

根管封鎖の新しい考え方として, 根尖部に添加させる硬組織で根管を封鎖する方法が報告されています。我々は, 新しく開発されたリン酸カルシウム系基材からなるセメント(以下CPセメント)に注目し, 根尖孔を硬組織で封鎖するために使用するバリアー材として, 操作性, 填塞方法, 封鎖性および, 根尖周囲組織の反応について検討した。

### <実験材料および方法>

実験1 レーザー変位計によるフロー測定: CPセメントを練和し, 120gの重りをのせ, レーザー変位計を用いて0.2秒おきにフローを測定した。

実験2 填塞方法の検討: 20wt%の割合でジルコニアを混入したCPセメントを, #70の根管充填用プラグー, CRシリンジ, 外形0.78のMessing root canal gun, #90の手用K-fileを単独で用いて搬入後, #70の根管充填用プラグーにて加圧充填を行いX線撮影を行った。

実験3 根尖部色素浸透試験: CPセメントを用い実験1同様の方法で填塞し, インディアインクによる色素浸透試験を行い透明標本を作製後, 抵抗形態から歯冠側に浸透した最大浸透距離を計測した。分析にはt検定を用いた。

実験2・3ではヒト抜去下顎側切歯を用い, 解剖学的根尖孔を#40まで拡大後, 3mm歯冠側に作業長を設定し, #80で抵抗形態を付与したモデルを作製し使用した。尚, 実験2および3では, ガッターパーチャポイント(以下GP)とチャンネルによる側方加圧充填法を施したものを対照とした。

実験4 根尖歯周組織の反応: 雑種成犬8頭の前臼歯64歯128根管を用いた。通法に従い抜歯後, 解剖学的根尖孔を#40まで拡大後, 3mm歯冠側に作業長を設定し#80で抵抗形態を付与した。CPセメントを#90の手用K-fileで根管内に搬入後, #70の根管充填用プラグーで圧接し, 抵抗形態上にアピカルバリアーを構築した。また, GPおよび $\alpha$ -TCPにて根管充填したのを対照とした。実験期間は1, 2, 4, 12週とした。標本作製は屠殺後通法に従いパラフィン包埋を行い, H-E染色を施し, 光学顕微鏡下で観察した。

### <結果>

1. CPセメントは, 練和開始から35秒で急激にフローが小さくなった。

2. 4種類の方法を用いてもCPセメントを抵抗形態上に緊密に充填でき、根尖孔外への溢出は認められなかった。
3. 色素浸透試験において、各填入方法の間には有意差は認められなかったが、対照との間にはすべて有意差が認められた。
4. 根尖歯周組織の反応においては、石灰化の開始がCPセメントでは2週例で、GPおよび $\alpha$ -TCPでは4週で修復が始まっていた。

#### <結論>

CPセメントの操作できる時間は、練和開始から35秒以内で、4種類の方法を用いても抵抗形態上に緊密に充填でき、根尖孔外への溢出をコントロールすることができた。また、イヌに適用した場合、2週間経過後には、石灰化が始まっている像が認められた。以上のことからアピカルバリアー材としての有用性が示唆された。  
(学位請求論文)

### 7. 口腔連鎖球菌と *Fusobacterium nucleatum* 間の共凝集反応の定量的評価

徳田 周子 (朝日大・歯・大学院・口腔病理)

#### <目的>

プラークの形成過程の初期において共凝集は重要である。とくに *Fusobacterium nucleatum* (*F. n*) は多くの菌種と共凝集能を示し、この点で重要な役割を演じていることはよく知られている。今回、プラーク形成の初期過程で予測される *F. n* と連鎖球菌種との共凝集の様相を種々の方法を駆使して定性的、定量的に検索した。

#### <方法>

1. 濁度測定法による共凝集反応の評価：*Streptococcus* (*S.*) *mutans*, *S. sobrinus*, *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. salivarius* と *F. n* 1株を供試し集菌後、*F. n* は  $10^9$ 、連鎖球菌は  $10^{10}$  cells/ml となるよう懸濁した。通法に従い両懸濁液を混合し経時的に660nmの波長で上清の濁度を計測した。
2. 濁度測定法による共凝集反応の性状の検索：*F. n* と連鎖球菌の加熱、トリプシン処理、ラクトースとEDTAdの添加および *F. n* 破碎菌体の上清添加の共凝集反応に及ぼす影響を検討した。
3. ハイドロオキシアパタイトディスク (HAPディスク) と標識菌体を用いた共凝集反応の定量的測定：HAPディスクは滅菌し、無菌唾液浸漬後、各連鎖菌種を接種した培地中で4-6日間培養した。表層が完全に菌で覆われたことを走査電顕で確認後、洗浄した。一方 *F. n* は  $^3\text{H}$ -uracil で標識し洗浄後、およそ  $10^9$  cells/ml となるように懸濁した。連鎖球菌被覆HAPディスクをこの懸濁液に30分浸漬し洗浄後、放射活性を測定した。
4. 共凝集反応に及ぼす耳下腺唾液、血清およびスク

ロースの影響の検討：*S. sanguis* をHAPディスクに被覆し、耳下腺唾液および血清に30分浸漬後、標識 *F. n* 懸濁液に再び浸漬した。以下同様にして放射活性を測定した。また *S. mutans* をスクロース添加および非添加培地中で培養し、同様にして付着する *F. n* 量を検討した。

5. 電顕的観察：急速凍結置換法により両菌種の結合状態を観察した。

#### <結果および考察>

濁度測定法により供試 *F. n* は全ての連鎖球菌と共凝集したが、強度には差違が認められた。反応は全て *F. n* 菌体の加熱により完全に阻害されたが連鎖球菌の加熱は影響を与えなかった。同様に *F. n* 菌体のトリプシン処理は反応を著しく抑制した。また電顕観察からも *F. n* 上の線毛様構造の関与が示唆された。一方、ラクトースとEDTAの添加は反応に影響を与えなかった。また、*F. n* 菌体破碎上清は連鎖球菌の凝集を惹起しなかったが、共凝集反応を著しく遅延、抑制した。これは濁度減少が、*F. n* 菌体との直接の共凝集反応によるものであることを示す。一方、標識菌体とHAPディスクを用いた方法では、得られた放射活性の強度は濁度測定法の結果をよく反映した。本法は反応を定量的にとらえうると同時に、濁度測定法の再現性の低さを補い、歯の同種菌体間凝集の影響を排除できるという利点を持つといえる。唾液、血清、スクロースの影響を検討した結果、耳下腺唾液では20.8%、血清では20.7%の減少を認めた。さらにスクロース培養菌体でも21.6%の減少が確認された。上述の物質は菌に強い自己凝集を惹起したり濁度測定を不可能にするもので従来法では検索が困難であるが、本法によりその影響を解析することができた。

#### <結論>

連鎖球菌と *F. n* の共凝集反応には *F. n* の線毛様構造と球菌上の耐熱性物質が関与していた。標識菌体とHAPディスクを用いた方法は、共凝集反応を正確に反映し定量的に優れていた。本法を用い、唾液、血清およびグルカンは反応を阻害する方向に働くことが示された。  
(学位請求論文)

### 8. 新しい膨張機構による歯科鑄造用埋没材の開発

行徳 智義 (朝日大・歯・歯科理工)

#### <目的>

歯科精密鑄造における鑄造収縮の補償には埋没材の硬化膨張、水和膨張、シリカの転移膨張が利用されてきた。しかし、硬化膨張、水和膨張の利用は鑄造リングによる膨張抑制作用によってワックスパターンの変形をもたらすことが知られており、加熱膨張のみによる鑄造収縮補償が望まれる。新規化合物である亜リン酸アルミニウム ( $\text{Al}_2(\text{PHO}_3)_3$ ) は400℃付近で分解し、