

第35卷／第1号

平成28年 6月  
ISSN 1880-5892

# 北海道医療大学歯学雑誌

The Dental Journal of Health Sciences University of Hokkaido

北 医 療 大 歯 誌  
第35卷 第1号 平成28年 6月



北医療大歯誌

第35卷／第1号  
pp. 1-67

平成28年 6月



北海道医療大学歯学会

The Dental Society of Health Sciences University of Hokkaido

# 北海道医療大学歯学会役員

会 長 中 澤 太  
専 務 理 事 越 智 守 生  
常 任 理 事 中 山 英 二・疋 田 一 洋 (庶務担当)  
千 葉 逸 朗・入 江 一 元 (会計担当)  
石 井 久 淑・越 野 寿 (編集担当)  
永 易 裕 樹・舞 田 健 夫 (企画担当)  
監 事 坂 倉 康 則・遠 藤 一 彦

## The Dental Society of Health Sciences University of Hokkaido

President : Futoshi NAKAZAWA

Vice President : Morio OCHI

Directors : Eiji NAKAYAMA, Kazuhiro HIKITA,

Itsuo CHIBA, Kazuharu IRIE,

Hisayoshi ISHII, Hisashi KOSHINO,

Hiroki NAGAYASU, Takeo MAITA

Auditors : Yasunori SAKAKURA, Kazuhiko ENDO

## Editorial Board

Editor-in-Chief : Hisayoshi ISHII

Members : Morio OCHI, Takashi SAITOU, Takanori SHIBATA,

Itaru MIZOGUCHI

## Address of Editorial Board

Hisayoshi ISHII

Division of Physiology, Department of Oral Biology, School of Dentistry,

Health Sciences University of Hokkaido,

Ishikari-Tobetsu, Hokkaido 061-0293, Japan

E-mail: hisayosh@hoku-iryu-u. ac. jp

Phone/Fax: +81 133-23-1239

北海道医療大学歯学雑誌  
第35巻 第1号 平成28年6月  
目次

〔総説〕

- 1 SNAREへの道  
田隈 泰信……………(1)

〔原著〕

- 17 Evaluation of the bio-physiological efficacy of tooth storage media based on normal physiological parameters  
Md Riasat HASAN, Hisayoshi ISHII, Kazuharu IRIE, Takashi SAITO ……(17)
- 21 光重合型硬質レジン製フレームワークを用いた新しい全部床義歯の製作方法の検討  
井田 有亮, 遠藤 一彦, 柿崎 税……………(21)
- 33 Possible Association between Cigarette Smoking Habit with Periodontal Disease in Diabetic patients in Nepal  
Bhoj Raj ADHIKARI, Hirofumi MATSUOKA, Mamata SHAKYA, Osamu UEHARA,  
Tetsuro MORIKAWA, Fumiya HARADA, Akashlynn Badruddoza DITHI, Md. Riasat HASAN,  
Takashi SAITO, Hiroki NAGAYASU, Itsuo CHIBA, Yoshihiro ABIKO ……(33)

〔症例報告〕

- 43 施設間連携により専門的口腔ケアを実施した外胚葉異形成症の1例  
廣瀬 知二, 須田裕里佳……………(43)

〔REVIEW〕

- 49 General Introduction of Dental Education in Universitas Indonesia  
Citra Fragrantia THEODOREA, Izumi MASHIMA, Futoshi NAKAZAWA ……(49)
- 55 Oral Health and Dental Education in Nepal  
Mamata SHAKYA, Bhoj Raj ADHIKARI, Masaru MURATA, Hiroki NAGAYASU ……(55)

〔学位論文〕

- 61 メカニカルストレスがラット関節円板培養細胞の細胞外基質のmRNA発現に及ぼす影響  
檜尾 治奈……………(61)
- 63 顔面非対称と下顎頭形態の左右差との関連性—三次元分析による形態評価—  
笹本さえら……………(63)

〔歯学情報〕

- 67 最近のトピックス……………(67)
- 73 北海道医療大学歯学会第34回学術大会 定例講演会・一般講演抄録……………(73)
- 85 会務報告……………(85)
- 89 北海道医療大学歯学会会則……………(89)
- 91 北海道医療大学歯学雑誌 投稿規程……………(91)
- 96 編集後記……………(96)

The Dental Journal of Health Sciences University of Hokkaido  
VOL. 35, NO. 1, JUNE, 2016  
CONTENTS

REVIEW

- 1 **A passage to SNAREs**  
Taishin TAKUMA ..... (1)

ORIGINAL

- 17 **Evaluation of the bio-physiological efficacy of tooth storage media based on normal physiological parameters**  
Md Riasat HASAN, Hisayoshi ISHII, Kazuharu IRIE, Takashi SAITO ..... (17)
- 21 **Development of the fabrication method for a novel complete denture with a framework made of light-cured prosthetic hard resin**  
Yusuke IDA, Kazuhiko ENDO, Mitsugi KAKIZAKI ..... (21)
- 33 **Possible Association between Cigarette Smoking Habit with Periodontal Disease in Diabetic patients in Nepal**  
Bhoj Raj ADHIKARI, Hirofumi MATSUOKA, Mamata SHAKYA, Osamu UEHARA,  
Tetsuro MORIKAWA, Fumiya HARADA, Akashlynn Badruddoza DITHI, Md. Riasat HASAN,  
Takashi SAITO, Hiroki NAGAYASU, Itsuo CHIBA, Yoshihiro ABIKO ..... (33)

CLINICAL REPORT

- 43 **A interfacility collaboration case study of professional oral health care in ectodermal dysplasia**  
Tomoji HIROSE, Yurika SUDA ..... (43)

REVIEW

- 49 **General Introduction of Dental Education in Universitas Indonesia**  
Citra Fragrantia THEODOREA, Izumi MASHIMA, Futoshi NAKAZAWA ..... (49)
- 55 **Oral Health and Dental Education in Nepal**  
Mamata SHAKYA, Bhoj Raj ADHIKARI, Masaru MURATA, Hiroki NAGAYASU ..... (55)

ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION

- 61 **Effects of mechanical stress on expression of extracellular matrix in rat TMJ disc cells**  
Haruna KASHIO ..... (61)
- 63 **Relationship between facial asymmetry and bilateral differences of condylar morphology  
-Three-dimensional (3D) morphological assessment-**  
Saera SASAMOTO ..... (63)

DENTAL INFORMATION

- 67 **Recent topics** ..... (67)

[総説]

## SNAREへの道

田隈 泰信

北海道医療大学歯学部生化学分野

### A passage to SNAREs

Taishin TAKUMA

Department of Biochemistry, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

#### Abstract

Although the “SNARE hypothesis” finally produced 3 Nobel laureates in 2013, the role of SNAREs in constitutive exocytosis, the main secretory route of most cells, has remained obscure. Here I describe a short history of a small biochemical laboratory where the role of SNAREs in this pathway has been the main focus of

investigation. The record looks at SNAREs from two angles : 1) a passage to the visualization of SNAREs and constitutive exocytosis, and 2) a passage to the gene knockout of the SNAP23 that had been seen as the most plausible SNARE for constitutive exocytosis.

#### はじめに：SNAREとの出会い

開口分泌の膜融合機構として「SNARE仮説」が世に出たのは1993年のことである（図1）(Sollner et al.,

1993). Nature誌に掲載されたRothmanらの“総説”のような論文を読んだ時、私は晴天の霹靂に撃たれ、荒野に延びるロング・アンド・ワインディングロードに一人置き去りになったような気がしたものである。1983年の米

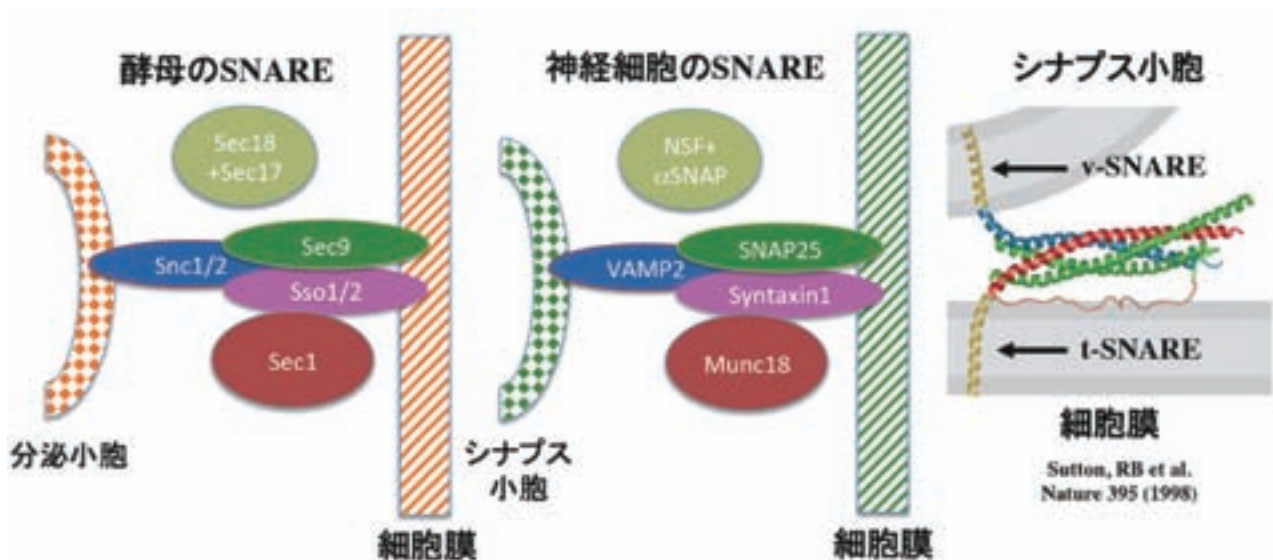


図1 酵母と神経細胞のSNARE. SNARE仮説が提唱されるはるか以前から、酵母の温度感受性変異株で同定された分泌関連遺伝子と相同の遺伝子産物（色と位置を一致させてある）が、神経細胞でも検出されていた。右端は、シナプス小胞のv-SNAREであるVAMP2（青）とシナプス前膜のt-SNAREであるSyntaxin1（赤）、SNAP25（緑）の各SNAREモチーフ同士が、しめ縄のようにコイルドコイル結合を形成しているところ。



国NIH留学以来、私は曲がりなりにも分泌機構を研究しているつもりでいた。にもかかわらず、“総説”に引用されている文献を、自分の研究に関連しているとは、それまで一度も考えたことがなかったからである。Rothmanの「SNARE仮説」では、分泌タンパク質の合成される粗面小胞体から、ゴルジ装置を経て分泌小胞となり、細胞膜と融合して細胞外に放出されるまで、分泌ルートで起こる全ての膜融合反応は、SNAREと呼ばれる1群のタンパク質によってコントロールされている。そして、この膜融合機構は、酵母から哺乳類の脳に至るまで、全ての細胞に共通する一般原理として提示された。

“総説”を読んだ時、“分泌の研究は終わった”と私は思った。残された仕事は、様々な細胞の分泌経路に、約40種類のSNAREを割り振るだけである。あれから丁度20年後の2013年、ついにRothmanを含む3人の分泌学者がノーベル医学・生理学賞を獲得した。「SNARE仮説」は、分泌機構の一般原理として確立したのであるか？

ノーベル賞は出たものの、開口分泌の大部分を占める構成的分泌に関わるSNAREの役割は、いまだほとんど手付かず状態にある。本総説では、SNARE仮説の誕生に続き、構成的分泌におけるSNAREの役割解明に挑んだ、1小研究室の苦闘の軌跡を、可視化への道、ノックアウト (KO) への道、という2つの視点から、記録にとどめたいと思う。

## 1. SNARE仮説の誕生 調節的, 構成的, 自発的分泌

生体には、ホルモンを分泌する内分泌細胞や消化酵素を分泌する外分泌細胞、抗体を分泌する免疫系細胞など、分泌に特化した細胞が無数に存在する。一見、分泌とは無縁と思われる骨や結合組織に存在する細胞も、コラーゲンやプロテオグリカンなど、細胞外マトリックス成分を盛んに分泌している。奇妙に聞こえるかも知れないが、分泌機構が関わるのは分泌だけではない。細胞膜上に存在するホルモン受容体やイオンチャネルのような膜タンパク質も、合成の場である粗面小胞体から細胞膜への輸送に、分泌メカニズムが利用されている。さらに、分裂・増殖する細胞が小さくならず、本来のサイズを維持するには細胞膜の供給が不可欠であるが、この膜供給にも分泌機構が関与しており、出芽酵母ではこの過程が盛んに研究された (Novick et al., 1981)。このように分泌機構は、あらゆる細胞の増殖と分化に必須の役割を果たしている。

一般に、分泌は“調節的分泌”と“構成的 (非調節的?) 分泌”の2種類に分類される。耳下腺細胞のアミ

ラーゼ分泌のような“調節的分泌”では、分泌されるアミラーゼは前もって合成され、分泌顆粒の中に貯えられている。アミラーゼの分泌量は、分泌刺激の強さに応じて起こる、分泌顆粒膜と細胞膜の膜融合の頻度によって“調節”される。他方、抗体分泌のような“構成的分泌”では、抗体の種類と量の調節は、抗体産生細胞の分化誘導や遺伝子発現などの上流部で終了し、抗体の合成から放出までの過程はノンストップで (構成的に) 進行する。

しかし、全ての分泌はこの範疇にピタリとおさまるものであろうか。ある時、私は気道粘膜上皮細胞のムチン分泌に関する論文を読みながら、奇妙な感覚を覚えた (Adler et al., 2013)。正常な気道粘膜を染色しても、ムチンを含む分泌顆粒はほとんど認められない。気道を潤す必要十分な量のムチンは、ほとんど構成的に分泌されており、分泌されたムチンは水に溶けて気道内に薄く広がる。他方、喫煙や細菌感染により炎症を起こした粘膜を染色すると、ムチンを含む分泌顆粒が細胞質をビッシリと埋め尽くしている。炎症時のムチン分泌は明らかに調節的で、炎症性因子の刺激によって増強される。分泌されるムチンは、量が多過ぎて気道内の水を吸収しても薄く広がることができず、ムチン塊となって気道の違和感をさらに増強する。

気道粘膜のムチン分泌は、炎症時に、構成的分泌から調節的分泌へと転換するのであろうか。実は、構成的に見える正常粘膜の分泌も、プリン受容体にATPが結合することによって起こる調節的分泌に、一応は分類されている。プリン受容体を介した同様のメカニズムは唾液腺導管でも確認されており (Shitara et al., 2009)、かなり広範に分布しているものと想像される。プリン受容体を介したこの種の分泌は、穏やかな安定した環境では、細胞や組織に固有の一定したリズムで起こる“自発的分泌”であり、調節的な意味はほとんどないと思われる。“自発的分泌” = “平穏な分泌”あるいは“幸福な分泌”という奇妙な観念が芽生えたのかもしれない。

### ノーベル賞から漏れた研究者

今や分泌機構の主役となったSNARE仮説は、3つの領域の研究成果が合体することで形成された。3領域とは、1) 酵母の細胞内小胞輸送の研究、2) ゴルジ装置における小胞輸送の研究、そして、3) 神経シナプスにおける神経伝達物質の放出機構の研究である。ノーベル賞を受賞したSchekmanは、1979年以降、酵母の温度感受性変異株を利用して細胞内小胞輸送に関わる多数の遺伝子を同定し、機能を明らかにしてきた (Novick et al.,

1981) (Kaiser & Schekman, 1990). SNARE仮説を提唱したRothmanは、1980年、細胞からゴルジ装置を取り出し、無細胞の小胞輸送系を再構築し、1988年に仮説の基礎となったNSFとSNAPを発見した (Rothman, 2014). “SNARE”とは、この“SNAP”の“Receptor”を意味する。受賞者の中で一番若いSüdhofは、神経伝達物質の放出機構を研究する多数の研究者と協力・競合しながら、1990年、シナプス小胞でカルシウム・センサーの役割を果たすシナプトタグミンを発見した (Perin et al., 1990).

ゴルジ装置や神経細胞に、酵母の小胞輸送に関与する遺伝子群と相同性を有するタンパク質が数多く存在することは、SNARE仮説の提唱されるはるか以前から知られていた (図1)。しかし、それらの知見がSNARE仮説を生むことはなかった。3分野の知見が統合されSNARE仮説が生まれるきっかけは何だったのか？SNARE仮説の誕生には、ノーベル賞から漏れた一人の研究者の重要な貢献があった。その論文はSNARE仮説が提唱される前年、Montecuccoというイタリア人研究者によってNature誌に発表された (Schiavo et al., 1992).

Montecuccoは、破傷風毒素やボツリヌス毒素が神経伝達物質の放出を止め、神経麻痺を引き起こすメカニズムを研究していた。活性化された神経毒素は、大小2つのサブユニットからなり、分子量の大きい重鎖は神経細胞に取り付き、分子量の小さい軽鎖を神経細胞に注入する役割をもつ。Montecuccoらは、アミノ酸配列のホモロジー検索から、軽鎖の配列中に、亜鉛を活性中心にもつ

金属プロテアーゼのコンセンサス配列を発見した (図2)。そこで、精製した神経細胞の抽出液に軽鎖を作用させ、何が分解されるかを調べた。その結果、破傷風毒素とボツリヌス毒素Bの軽鎖は、ともにシナプトブレビン (別名VAMP2) だけを、特異的に分解することが明らかとなった。この画期的な研究によって、神経毒素の作用機構が解明されると同時に、シナプス小胞に発現する機能不明のタンパク質、VAMP2の役割が美事に解き明かされたのである (Schiavo et al., 1992).

VAMP2の相同遺伝子は、酵母から哺乳類の脳まで、広範に保存されている。VAMP2以外にも、酵母の小胞輸送に関わる相同遺伝子産物が、ゴルジ装置や神経細胞に数多く存在することは既に述べた。それらが、分泌経路の中で、酵母の小胞輸送と同様の機能を果たすと考えるのはごく自然なことである。酵母の遺伝学的研究を母として、膜融合機構の一般原理が誕生する、まさにその時は満ちた。そして、Rothmanの「SNARE仮説」が、世に出た (図1) (Sollner et al., 1993). 「SNARE仮説」の初版は、現在のものとはかなり異なり、大きな間違いも含まれている。しかし、その慧眼と有無を言わせぬ説得力には敬服せざるを得ない。不勉強の言い訳に過ぎないが、Rothmanの「SNARE仮説」が出るまで、膜融合の一般原理は、凡夫の想像力をはるかに超えていた。

## SNAREとは

SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) とは、細胞内の小胞輸送にお

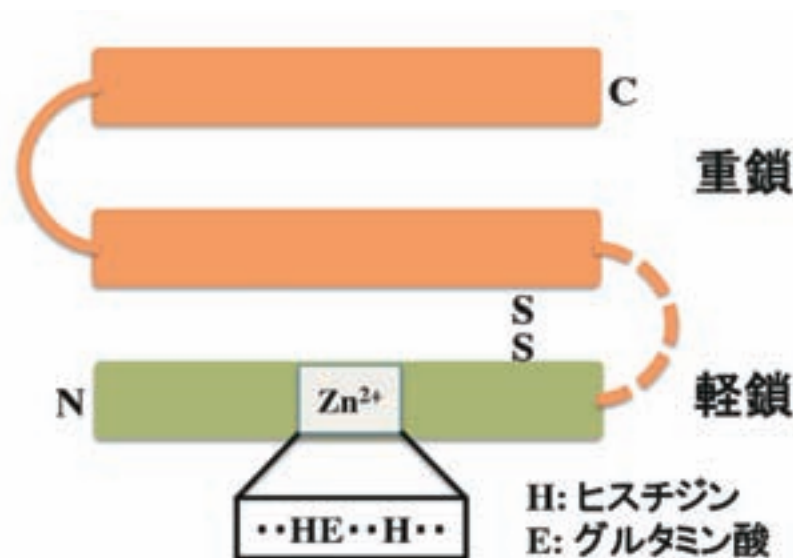


図2 破傷風毒素とボツリヌス毒素に共通する構造。重鎖と軽鎖の間が切断され、SS結合で両者が結合状態にあるとき、神経毒の活性を示す。軽鎖の中央部に金属 (亜鉛) プロテアーゼの短いコンセンサス配列 (--HE--H--) が発見されたことで、メカニズムの解明につながった。

いて、小胞とその輸送先の標的膜を融合させるために働く1群の膜タンパク質をさす (Hong, 2005). 輸送小胞膜のv-SNARE (vesicle-SNARE) と、標的膜のt-SNARE (target-SNARE) には、SNAREモチーフと呼ばれる約70アミノ酸からなる $\alpha$ ヘリックス構造が存在する. 適当な組合せのv-SNAREとt-SNAREは、SNAREモチーフ同士、横並びに結合し、しめ縄が巻き付くようにコイルドコイル構造を形成する (図1の右端). このSNARE複合体が形成されることで、小胞膜と標的膜は、接近・接触し、融合すると考えられている.

生体における分泌ルートは、合成の場から細胞膜の特定領域での放出まで、分泌物によって厳密に決まっており、ルートの逸脱は生死に関わる重大な結果をまねく. 他方、細胞には分泌ルートとは逆に、細胞内に物質を取り込み、利用または分解するエンドソーム・リソソーム系の小胞輸送ルートが存在する. ほぼ逆向きの2つの輸送ルートには、現在、かなり広い交差領域があると考えられている. このように複雑に入り組んだ細胞内“物流”において、SNAREには“お届け先”と“配達時刻”を厳密に規定する役割が想定されている (Jahn & Scheller, 2006).

## 2. 可視化への道：GFP融合タンパク質

2008年にノーベル化学賞を受賞した下村脩先生が、オワンクラゲから発見した緑色蛍光タンパク質GFP (Green Fluorescence Protein) は、1990年代の半ばからタンパク質を可視化する用途に広く利用されるようになった. 緑の蛍光を発するGFP融合タンパク質は、固定や免疫染色をしなくても、生きた細胞内でタンパク質の動態を観察できる、極めて有益な研究ツールである. しかし、我々がSNAREタンパク質の可視化に挑戦した20世紀末、培養細胞に発現ベクターを導入し、SNAREのGFP融合タンパク質を可視化した論文はまだ発表されていない.

すべては試行錯誤だった. GFPをSNAREタンパク質のN端に融合するかC端に融合すべきか、という基本的な選択から、SNAREタンパク質の膜への取り込みや複合体の形成にGFPが影響するかどうかなど、検討すべき項目は実験のたびに増加した. 「地方の大学で研究をして一番困るのは、失敗談を聞けないことだ. 成功談はどこにいても聞ける. じきに論文となって出てくるから」. 誰の言葉だったろう. 研究を効率的に進めるには、試行錯誤の共有が極めて重要という意味である. 共焦点レーザー顕微鏡を通して見ているGFP-SNAREが正常な像なのか、それとも強力なプロモーターで強制発現

しているため、異常な事態に陥っているのか、試行錯誤に終わりは見えなかった. 荒川俊哉博士は、明海大学歯学部から着任早々、際限なく増え続ける各種のSNARE発現ベクターを次々と作製し、分子生物学的研究を力強く牽引してくれた.

苦勞して書いた論文を読み直すと、実験をしていた当時の、海図も羅針盤もなく海を漂っているような不安な感覚がよみがえるのを覚える (Takuma et al., 2002). v-SNAREとして分泌小胞に存在すると思われたVAMP2は、大部分ゴルジ領域に発現し、細胞膜がわずかに光る程度で、肝心の細胞質にはGFPに光る小胞はほとんど見られなかった (図3). t-SNAREとして細胞膜に発現すると予想していたGFP-SNAP23は、核を除く細胞質全体に存在した. 薬理学分野の森田貴雄先生からのアドバイスだったと思うが、サポニンを用いて細胞膜に穴をあけ、細胞質のGFP-SNAP23を除いたとき、細胞膜がGFPで光るのを初めて確認することができた.

最も当惑したのは、t-SNAREとして細胞膜に発現すると思われたSyntaxin4が、細胞膜ではなく、未同定の巨大な膜構造に存在したことであった (図3). その膜構造は、GFPと融合していないSyntaxin4を発現した場合にも観察された. Syntaxin4とGFP-VAMP2を共発現すると、両者は複合体を形成し、巨大な膜構造はGFP-VAMP2の強い蛍光を放った. ただし、Syntaxin4とVAMP2の複合体が形成されるのは、両方とも膜貫通ドメインをもつ場合に限られ、どちらかの膜貫通ドメインを除くと複合体は形成されなかった.

Syntaxin4が細胞膜まで輸送されるのを初めて確認できたのは、Syntaxin4と細胞内で複合体を形成することが知られているMunc18cを共発現したときだった (図3). Munc18cはSyntaxin4と1:1で結合し、Syntaxin4同士が結合して集合体を形成するのを妨げ、巨大な膜構造が作られるのをブロックしたと思われる. 同時に、Munc18cはSyntaxin4とVAMP2が合成過程で早熟な結合をするのを妨げ、それらが細胞膜と分泌小胞まで輸送され、t-SNARE、v-SNAREとして本来の機能を発揮するのを助ける. シャペロンの役割を果たしていると考えられた (図4) (Takuma et al., 2002).

作製したSNARE発現ベクターの一部は、唾液腺における機能解析のため (Takuma et al., 1997; Takuma et al., 2000; Takuma et al., 2013)、アデノウイルス・ベクターに移し換えられ、マウス顎下腺の腺体に注入された後、発現をチェックする段階まで進んだ. しかし、GFP-SNAREの*in vivo*実験は、諸般の事情で、残念ながら未完成に終わった.



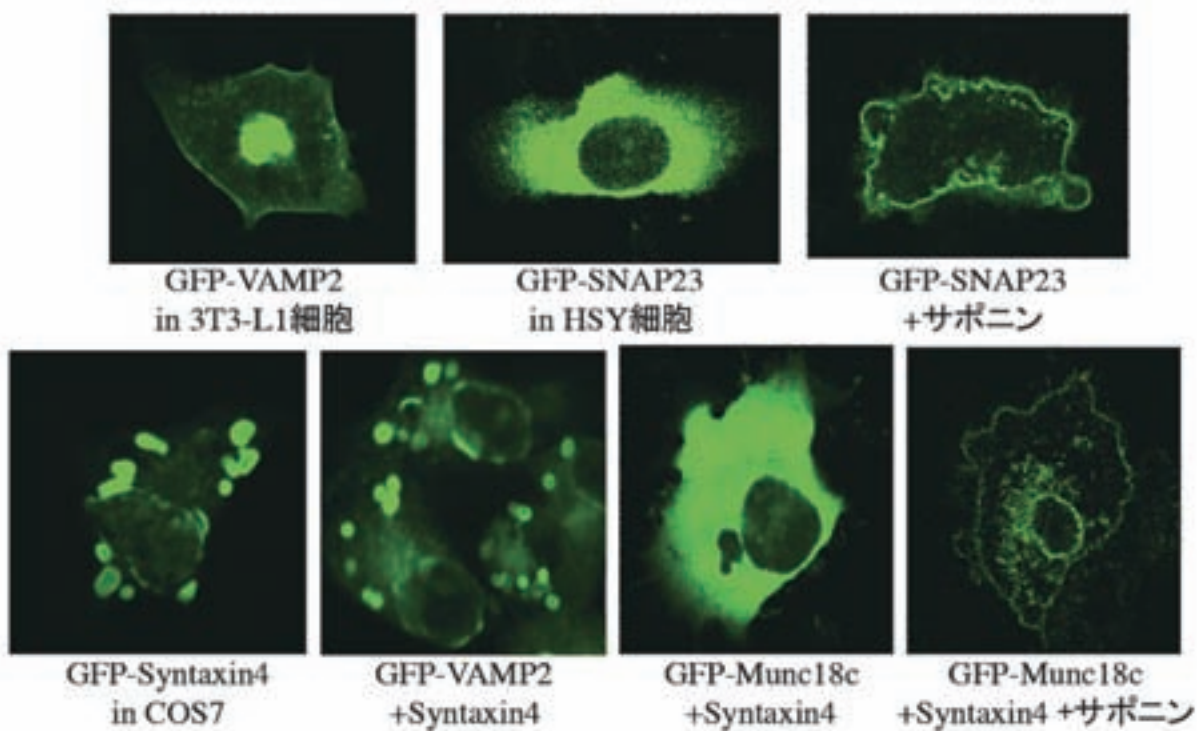


図3 培養細胞に発現させたGFP-SNARE. GFP-VAMP2はゴルジ領域と細胞膜に、GFP-SNAP23は核を除く細胞質全体に、また、GFP-Syntaxin4は未同定の膜構造に発現した。GFP-VAMP2とSyntaxin4を共発現すると、GFP-VAMP2はSyntaxin4と同じ膜構造に移行した（下の左から2番目）。サポニン処理とMunc18cの共発現により、SNAP23とSyntaxin4の細胞膜局在を初めて確認できた。

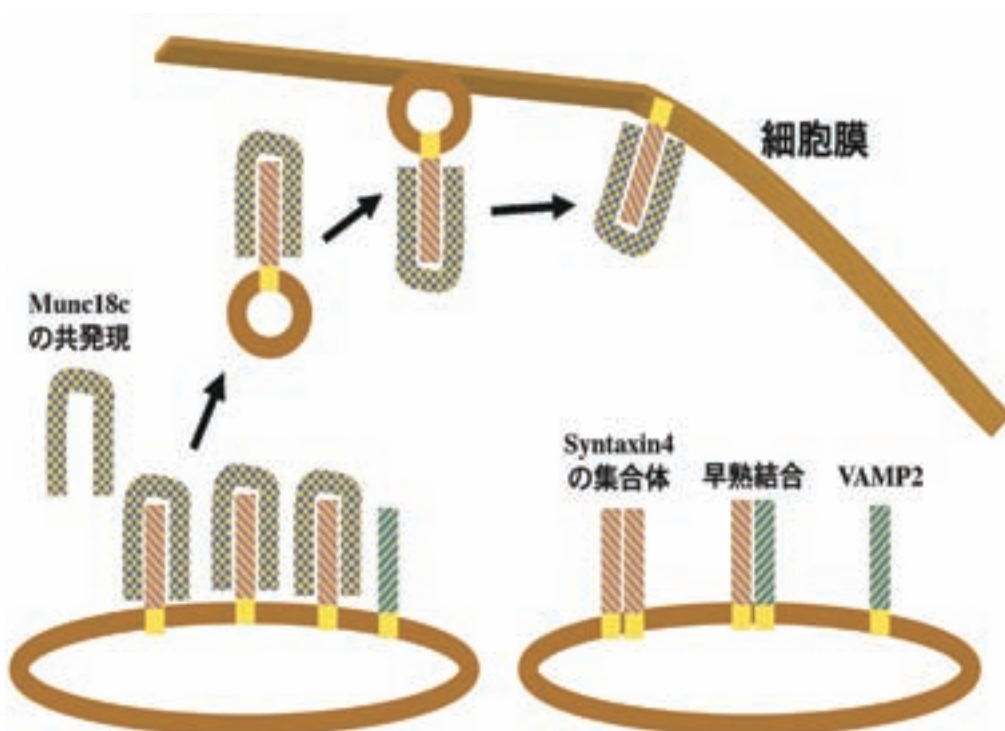


図4 Munc18cのシャペロンとしての役割. Munc18cはSyntaxin4と1:1で結合し、Syntaxin4同士の集合体形成、および、VAMP2との合成途上での早熟な結合を妨げ、Syntaxin4とVAMP2が本来の機能を発揮するのを助けていると考えられる。

## 分泌の可視化へ

SNAREの可視化が一段落した後、測定しやすい分泌物をもたない培養細胞の構成的分泌を定量するため、私は北里大学医学部の高橋正身教授から、ヒト成長ホルモン (hGH) のプラスミドを分けて頂いた。これをPC12細胞とヒト唾液腺由来のHSY細胞に導入し、培養液に放出されるhGHをELISA法で測定した。予想通り、神経・内分泌細胞のモデル細胞であるPC12細胞では、 $\text{Ca}^{2+}$ 依存性の調節的分泌が、HSY細胞では、構成的分泌が確認された (Oishi et al., 2006)。さらに分泌過程を可視化するため、プラスミドからhGHのcDNAを切り出し、GFPと融合してhGH-GFP発現ベクターを作製した。これをPC12細胞とHSY細胞に発現させ、共焦点レーザー顕微鏡で分泌小胞 (分泌顆粒) の動態を観察したが、分泌像そのものを観察することはできなかった (Oishi et al., 2006)。

そこで次に、分泌小胞にどのようなv-SNAREが発現しているかを同定するため、GFPと融合したVAMP2, VAMP7, VAMP8などのv-SNAREと、ヒト成長ホルモンの免疫染色による染め分けに挑戦した。その結果、GFP-VAMP2, およびGFP-VAMP7の一部が、ヒト成長ホルモンを含む分泌小胞の免疫学的局在と一致して観察された (Oishi et al., 2006)。これらの研究には、矯正学分野の大学院生、大石洋平君が参加し、困難な実験に果敢に挑み、辛抱強く実験してくれた。

## 全反射蛍光顕微鏡による観察

分泌像を一般の共焦点レーザー顕微鏡で観察するのは極めて困難と悟った私は、全反射蛍光 (TIRF: Total In-

ternal Reflection Fluorescence) 顕微鏡の導入を決意した。全反射蛍光顕微鏡は、使い方を工夫すると1分子のイメージングも可能となる、画期的な顕微鏡技術である。原理を図5に示す。光が屈折率の大きい透明物体から屈折率の小さい物質に入射するとき、入射角がある角度以上になると光が全反射することは理科の時間に学習した。全反射というと100%反射するように想像するが、実は極めて微弱な光 (エヴァネッセント光) が境界面からトンネル効果で反対側にもしみ出している。エヴァネッセント光は、距離に比例して指数関数的に減弱するため、蛍光物質を励起しうる範囲は境界面からせいぜい100 nm前後に限られる。このため、細胞全体にGFP融合タンパク質を発現させた場合でも、観察可能な蛍光タンパク質はカバーガラスに接した細胞膜近傍に限られる。TIRFのこのような性質は、分泌小胞と細胞膜の融合過程や分泌物の放出など、開口分泌を観察するのに極めて都合がよい (図5)。TIRFの動画では、開口分泌は暗黒の夜空に広がる花火のように見える。TIRF顕微鏡の導入を決意してから、実際に分泌像を観察するまで1年近くかかったが、この間、機器のセットアップから観察技術まで、薬理学分野の谷村明彦先生には、レーザー顕微鏡に引き続き、数多くの貴重なアドバイスを頂いた。

期待に反し、最初に観察したhGH-GFPの分泌像は、夜空に広がる美しい花火とは似ても似つかぬものであった。hGH-GFPを含む小胞は、まるでハエの幼虫のように、HeLa細胞の辺縁部までクネクネと移動し、そこで突然プツンと消えた (Okayama et al., 2009)。「えっ？これが分泌？嘘だろう？」と疑った程である。図6に示す、花火のようにはじける分泌像も確かに見られた

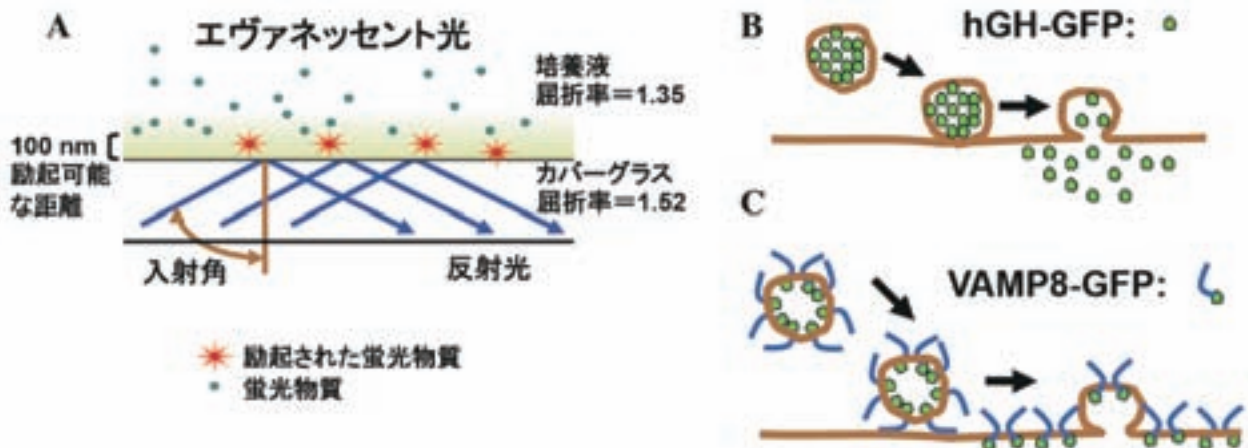


図5 全反射蛍光顕微鏡の原理。(A) カバーガラスの反対側にしみ出す微弱なエヴァネッセント光は、表面からせいぜい100 nm以内にある蛍光物質だけを励起するため、(B) hGH-GFPの放出や (C) VAMP8-GFPの細胞膜への移動を観察するのに極めて都合がよい。

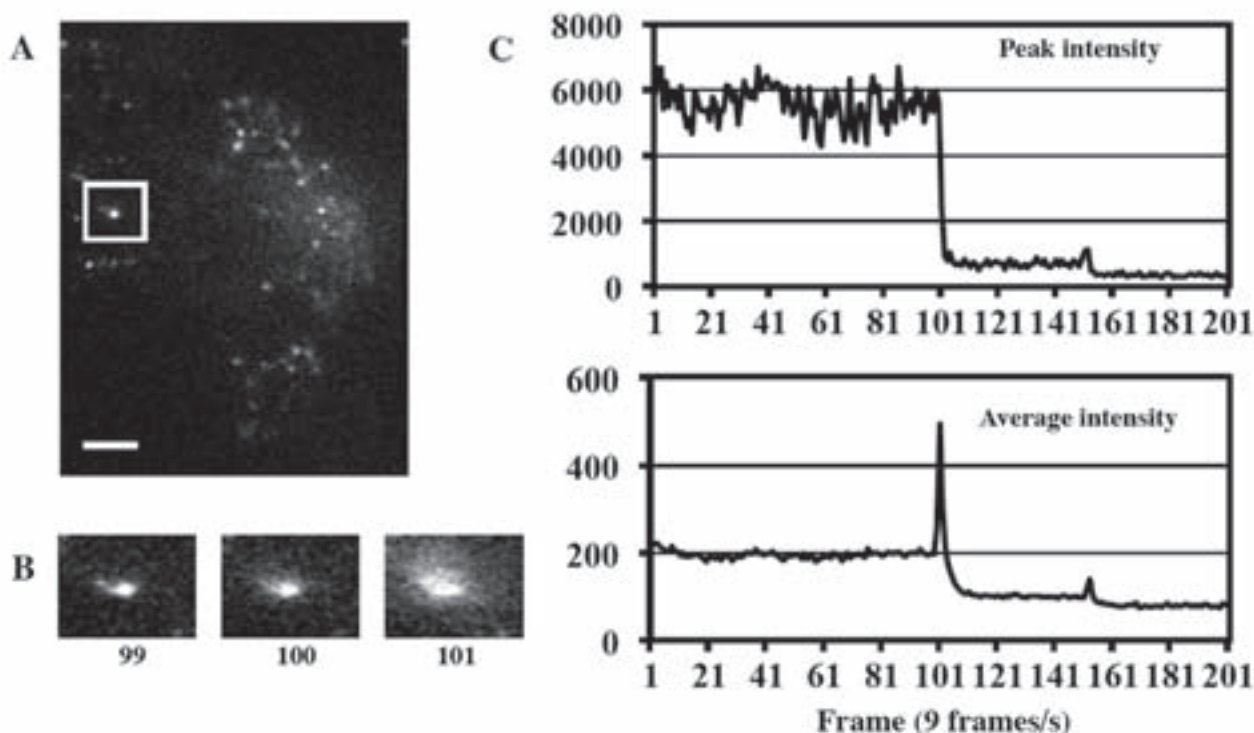


図6 ヒト成長ホルモン (hGH-GFP) のTIRF分泌像. hGH-GFPが暗黒の夜空に花火のように広がる像は滅多に見えず, ハエの幼虫がクネクネと細胞の辺縁部まで移動し, 突然消えるパターンが大部分だった. 雑誌のwebsiteではsupplementデータとして動画を見ることができる.

が, 10回の実験で1回あるかどうかの頻度であった (雑誌のwebsiteでは, いくつかの動画を見ることができます).

VAMP8-GFPの膜融合像にも全く異なる2つのタイプが観察された (Okayama et al., 2009). 1つはバースト型と名付けた一般的なもので, VAMP8-GFPを発現した小胞は細胞膜と完全に融合し, VAMP8のGFP蛍光は細胞膜上に拡散した (図7). もう1つのタイプは“kiss-and-run”という変わった名前をもつ分泌様式と似ていた. VAMP8-GFPを発現したチューブ状の小胞は, 細胞膜と接触するが, 細胞膜と一体化することなく, 内容物を放出した後, 細胞膜から離れ, 細胞内部へと引き返すように見えた. 他のv-SNARE候補についても同様の実験をおこなったが, 膜融合像を観察することはできなかった. 2004年以降, 大石洋平君の後を受け, 矯正学分野の岡山三紀助教が, 持ち前の器用さを発揮し, 辛抱強く実験を続けてくれた.

TIRF顕微鏡は, 現在, 赤い蛍光を発するRFP融合タンパク質と緑色の蛍光を発するGFP融合タンパク質を同時に観察できる2色TIRFシステムへとバージョンアップし, 分泌成分とSNARE, あるいはv-SNAREとt-SNAREなど, 2成分を同時に観察可能な状況にある. hGH-GFPとv-SNAREが二色刷りの花火となって, 大川端の夜

空に美しく広がるのを, いつか見てみたいものである. 構成的分泌の主要なv-SNAREは何か, 複数のVAMPファミリー・メンバーが関わっているとしたらどのような割合か, 今後の研究で解明されることを期待したい.

### 3. ノックアウト (KO) への道: siRNAとゲノム編集

#### siRNA

構成的分泌に関わるSNAREの役割を確立するには, 各SNARE遺伝子をノックアウトし, 分泌への影響を確認する以外にない. しかし, 遺伝子ノックアウト・マウスを必要に応じて作製できるのは, つい最近まで, 毎年数千万円の科学研究費を運用できる一握りの研究室に限られていた. 世紀が変わろうとしていたまさにそのとき, 目的とする遺伝子の発現を, 弱小研究室でも手軽に制御できる夢の核酸試薬, siRNAが登場した. なんとよい時代に生まれ合わせたものか, 私は己の幸運を感謝したものである.

siRNAは全長20~25塩基の短い2本鎖RNAで, 3'側に2塩基のオーバーハングをもつ (図8). 1998年, 線虫で遺伝子発現を効果的に阻害することが発見され, その後2001年にヒトの細胞でも有効性が証明された. 発見



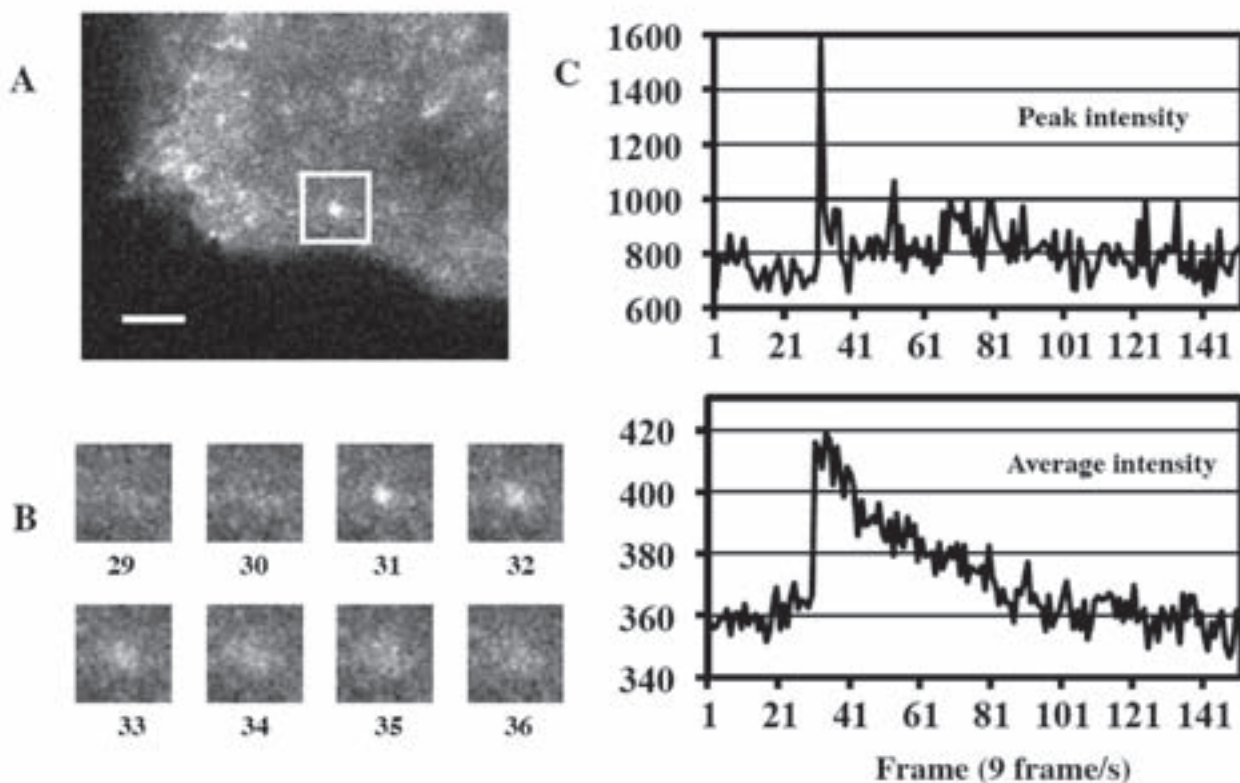


図7 VAMP8-GFPを発現する小胞が細胞膜と融合するTIRF像. ここでは小胞と細胞膜の一体化が見られるが, “kiss-and-run” と呼ばれる一過性の融合像も認められた.

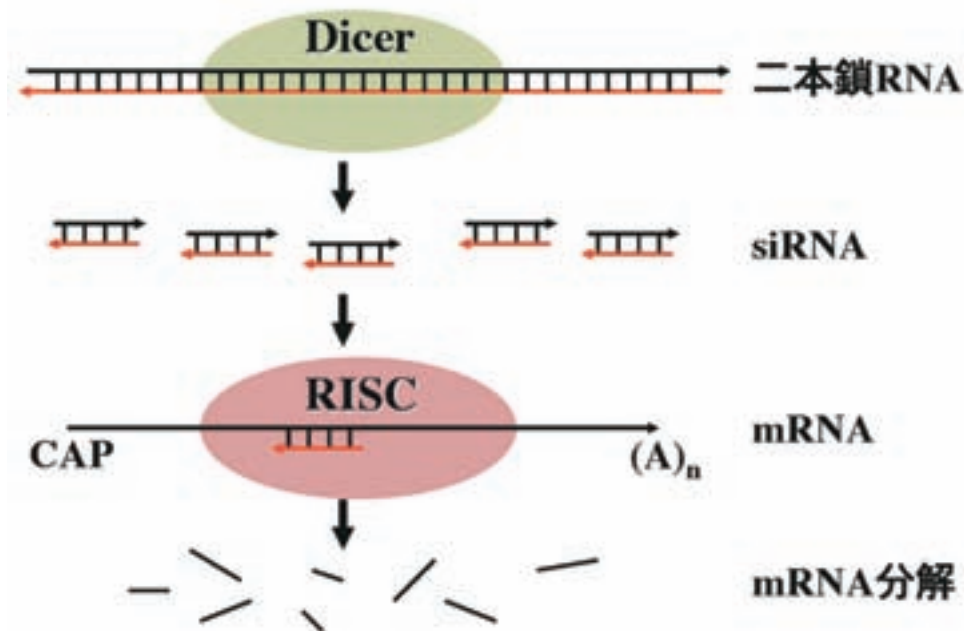


図8 siRNAによるmRNAの分解. siRNAは全長20~25塩基の短い2本鎖RNAで, 3'側に2塩基の出っ張りをもつ. Dicerと呼ばれる酵素により, 細胞内で2本鎖RNAが加水分解されることで生成する. 作られたsiRNA, および細胞外から導入されたsiRNAは, RISCと呼ばれる酵素複合体により1本鎖となり, 標的のmRNAと結合してこれを分解する.

者であるFireとMelloは, 2006年にノーベル医学・生理学賞を受賞している. ウイルス感染等に対する防御システムとして, また, miRNAのように, 発生段階の遺伝子

発現を制御するシステムとして進化したと考えられている. 細胞内で二本鎖RNAを分解し, siRNAまたはmiRNAを作り出す酵素はDicer, 作られたsiRNAまたは



miRNAを1本鎖にし、これと協働して標的となるmRNAを分解する酵素複合体はRISCと呼ばれる(図8)。siRNAは標的mRNAを分解し、タンパク合成を最大で90%程度まで阻害するが、この阻害は数日で回復するためノックダウン(KD)と呼ばれ、遺伝子の塩基配列を変異させ、発現を100%止めるノックアウト(KO)とは、ボクシング用語で分かりやすく区別されている。我々は、当初siRNAの発現ベクターを導入し、SNARE遺伝子の発現抑制を試みたが、明らかな阻害効果を確認するには到らなかった。その後、siRNAを設計・供給する試薬メーカーが多数現れ、siRNA技術は急速に普及した。2005年以降、我々はsiRNAの発現ベクターをやめ、SNAP23はじめSyntaxin類、VAMP類のsiRNAを多数設計・購入し、ノックダウン効率の高いsiRNAを選択・導入する方針を取った。

### SNAP23のノックダウン

神経細胞や内分泌細胞に限定的に発現するSNAP25とは対照的に、SNAP23は、ほとんど全ての細胞に発現するため、SNAP25の普遍型相同体(ユビキタス・ホモロ

グ)と考えられている。神経細胞におけるSNAP25の重要性は、ノックアウト・マウスの研究で確立しており(Washbourne et al., 2002)、一般細胞ではSNAP23がSNAP25の役割を担うものと想像されていた。一方、SNAP25の遺伝子ファミリーには、他にSNAP29とSNAP47(Holt et al., 2006)が知られていたものの、構造的な類縁性は低く、SNAP23をノックダウンしたとき、他のSNAPが代わりを務める可能性は極めて低いと想像された。以上の理由で、私は、ノックダウン実験の最初の標的として、SNAP23が最も確実性が高いと判断した。おそらくSNAP23は細胞の生存に必須であり、ノックダウンのレベルが高過ぎると細胞は死滅するとさえ予想していた。

ところが予想は美事に外れ、SNAP23の発現をタンパク質レベルで90%抑制したにもかかわらず、HeLa細胞の増殖には何の影響もなく、構成的分泌も全く低下しなかった(図9)(Okayama et al., 2007)。念のため、HeLa細胞にSNAP25が発現しているかどうか確認したが、発現はなく、また、SNAP29の代償的な増加も認められなかった。おまけに、SNAP23と同時にSyntaxin4をダブ

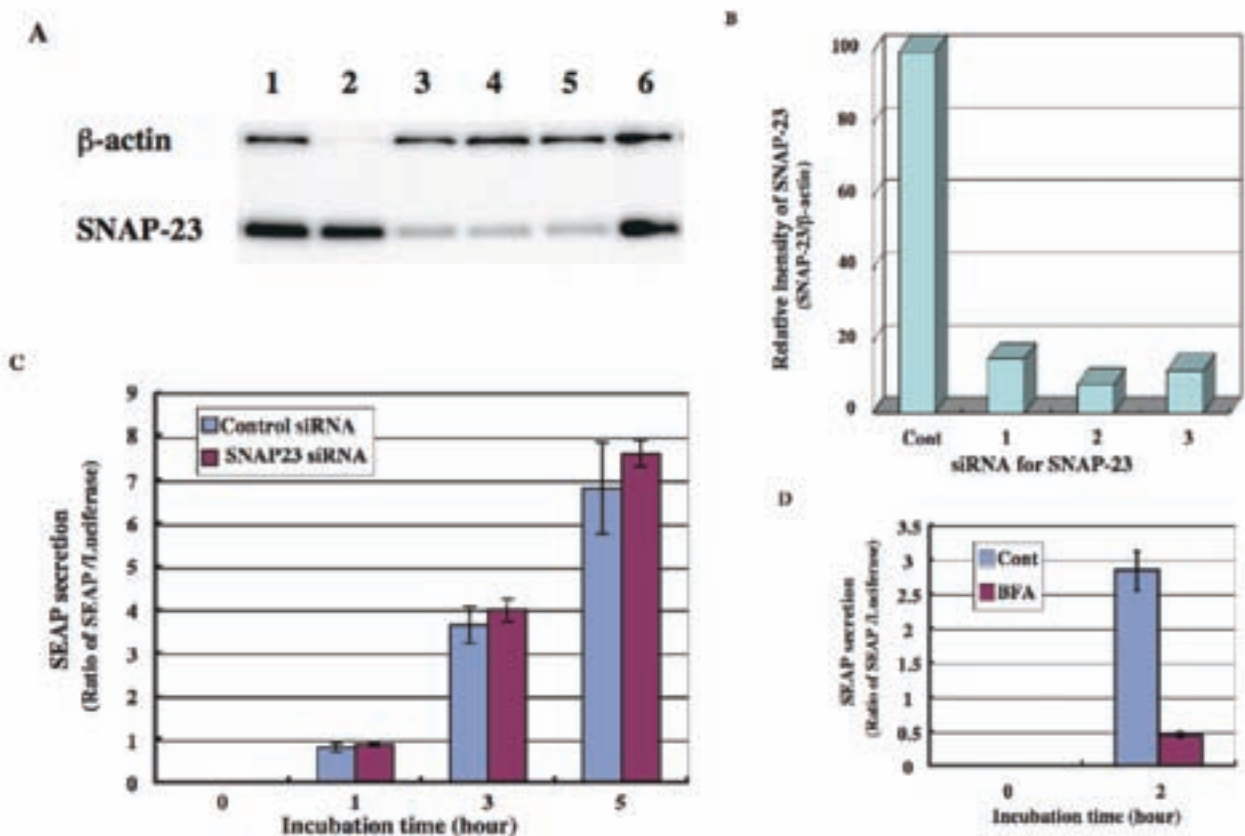


図9 SNAP23のノックダウン実験。(A) SNAP23にたいする3種類のsiRNA(3, 4, 5レーン)と $\beta$ アクチンに対するsiRNA(2レーン: ポジティブ・コントロール)によるノックダウンとその定量 (B)。SNAP23の発現はほぼ90%抑制されたが、ヒト胎盤の分泌型アルカリホスファターゼ(SEAP)の構成的分泌は正常であった (C)。他方、分泌阻害剤のプレフェルディンA(BFA)は、SEAP分泌を強く阻害した (D)。

ル・ノックダウンしても、構成的分泌に異常は認められなかった(図10)(Okayama et al., 2007).

C端の8アミノ酸を欠いたSNAP23を脂肪細胞に過剰発現すると、もともと存在する正常なSNAP23の働きが妨げられ、インスリン刺激によるGLUT4(ブドウ糖輸送体)の細胞膜へのリクルートが阻害される(Kawanishi et al., 2000). このドミナント・ネガティブ効果が、構成的分泌でも確認できるかどうか、8アミノ酸を欠いたSNAP23の発現ベクターをHeLa細胞に導入し、過剰発現の影響を調べた。しかし、SNAP23とSyntaxin4のSNARE複合体形成ではドミナント・ネガティブ効果が確認されたものの、構成的分泌は全く正常であった(Okayama et al., 2007). 以上の結果から、我々は、構成的分泌にSNAP23が必須ではないという結論に到達した。

この結論は、我々のその後の研究で繰り返し確認された(Okayama et al., 2009; Okayama et al., 2012). ノックダウンの標的として、私はSNAP23が最も確実性が高いと考えたが、案の定、VAMPファミリーやSyntaxinファミリーでも、構成的分泌に必須のSNAREは、これまでのところ確認されていない(Gordon et al., 2010). また、全遺伝子を対象とした大規模・網羅的研究においても、主要なSNAREのノックダウンは、構成的分泌に深刻な影響を与えなかった(Bard et al., 2006). それでは、構成的分泌にSNAREは必要ないのであろうか。

siRNAによるノックダウンでは、少なくとも標的タン

パク質の10%程度は残存する。正常細胞内にSNAREが過剰に存在することを想定し、ノックダウン後に残る10%程度のSNAREでも、構成的分泌やエンドサイトーシスが十分にまかなえるとする議論が行われた(Bethani et al., 2009). しかし、我々の実験では、膜融合過程で形成されるトランス型SNARE複合体の量も、各SNAREのノックダウンと平行して、著しく減少することから、SNAREが過剰に存在するという見方は否定された(図11)(Okayama et al., 2012). しかし、構成的分泌におけるSNAREの役割について、遺伝子発現を完全には抑制できないノックダウン実験の結果から、最終的な結論を導くことには無理があった。

### ノックアウト・マウス

2011年、SNAP23の遺伝子KOマウスの作製が試みられた(Suh et al., 2011). しかし、SNAP23KOマウスは、胎生3.5日目の桑実胚という極めて早い時点で死滅することが明らかとなり、KOマウスは得られなかった。胎生致死をうけて、コンディショナルKOマウスの作製も試みられたが、成功しなかった。これらの研究から、SNAP23が初期発生に極めて重要な役割を果たしていることは明らかとなったが、胎生致死の原因は不明のまま残された。発生停止の原因として、1) SNAP23がKOされた結果、細胞の分裂・増殖に必須の構成的分泌がストップしたため、2) SNAP23は発生初期の細胞分化に必須であり、次の発生ステージに進めなかったため、と

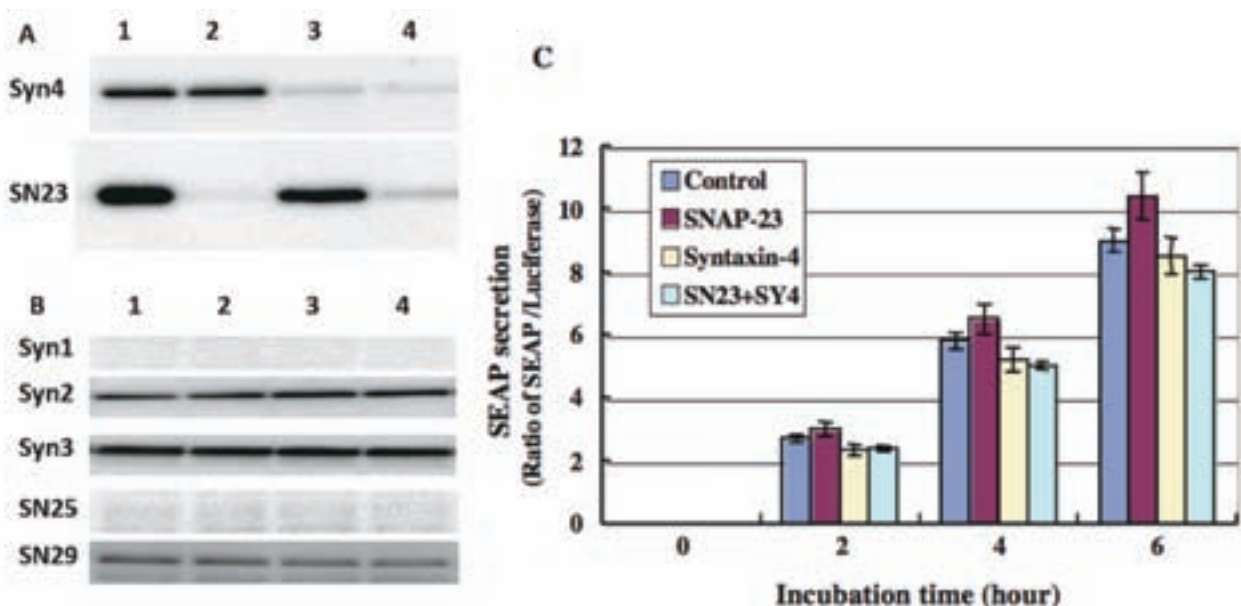


図10 Syntaxin4とSNAP23のダブル・ノックダウン。(A, B) 1, コントロールのスクランブルsiRNA, 2, SNAP23のsiRNA, 3, Syntaxin4のsiRNA, 4, SNAP23とSyntaxin4のsiRNAのミックスによる発現抑制効果。HeLa細胞にはSyntaxin1とSNAP25の発現はなく、他のSyntaxinやSNAP類が代償的に増加することもなかった。(C) Syntaxin4とSNAP23のダブル・ノックダウンはSEAPの構成的分泌に影響しなかった。

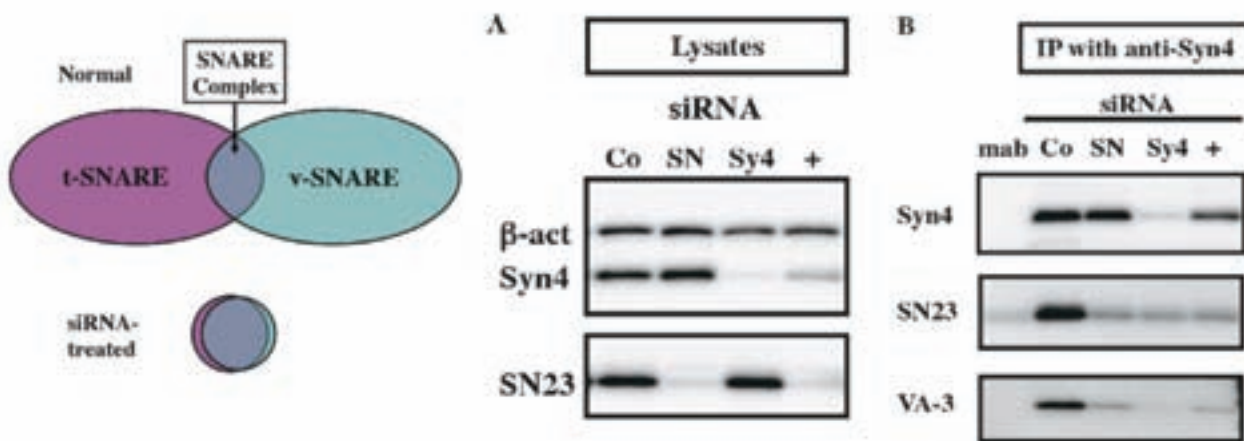


図11 SNAREは過剰に存在するか？SNAREが過剰に存在する場合，siRNAによってノックダウンしても，形成されるSNARE複合体の量は減少しないはずである（左図）．しかし，Syntaxin4とSNAP23をノックダウンすると，細胞内に残存するSNARE量（A）とSNARE複合体の量（B）は，平行して減少し，過剰量存在する可能性は否定された．Co，コントロールsiRNA；SN，SNAP23；Sy4，Syntaxin4；+，SNAP23とSyntaxin4のsiRNAのミックス；mab，コントロール・マウス抗体； $\beta$ -act， $\beta$ アクチン．

いう2つ可能性が考えられた．しかし，SNAP23はSNAREであり，前者の可能性が圧倒的に高いことは，誰もが予想していた．

### ゲノム編集

日本生化学会で「ゲノム編集」が取り上げられたのは，企業のランチョンセミナーを除くと，2014年に企画された「次世代ゲノム編集技術の展望」というフォーラムが最初である．演題登録の期限を過ぎ，Late breaking abstractという形にはなったが，我々が生化学会で初め

てTALENによるSNAP23のゲノム編集について発表した2013年秋，ゲノム編集に関わる発表は，他に1演題もなかった．

2013年の早春，Nature誌にTALENを使った遺伝子ノックアウトの論文（Kim et al., 2013）を見つけたとき，“ついにその時が来た”と私は直感した．SNAP23がKOできる．私はこの論文を2013年6月，「ねらった遺伝子をKOする人工ヌクレアーゼTALENの有望なタレント」と題して，本誌の最近のトピックス欄に紹介した．

TALENの構造と働きを図12に示す．2匹の芋虫のよ

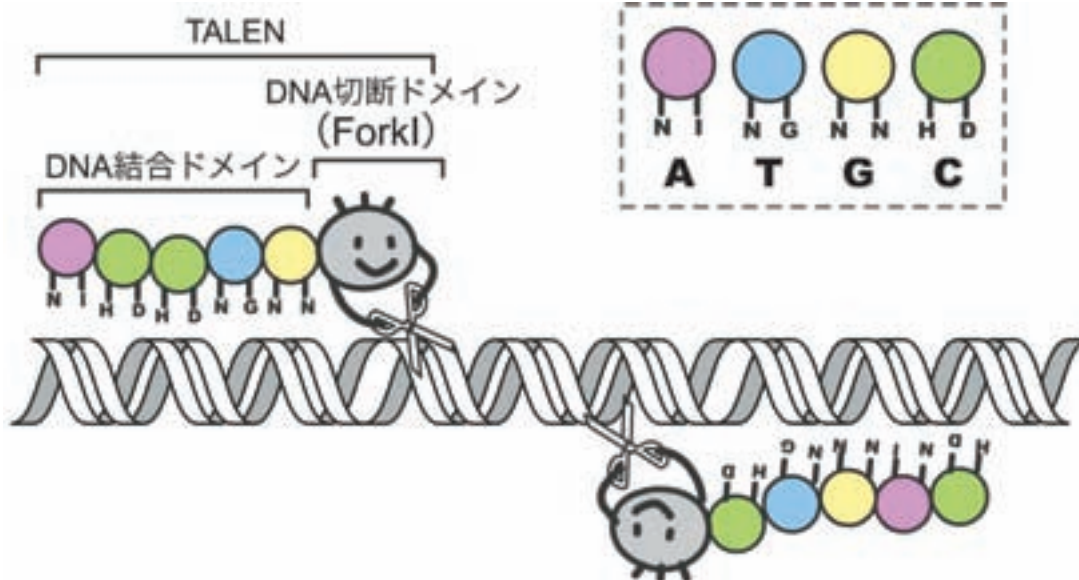


図12 TALENによるゲノム編集．TALENはDNA結合ドメインと制限酵素ForkIがキメラ融合したタンパク質である．2本のTALENが，標的配列をはさんで向かい合うように，ワンセット2組の発現ベクターを複製し，細胞に導入する．



うなTALENタンパク質が、標的配列をはさんで向かい合うように、ワンセット2本のTALEN発現ベクターを設計する。TALENは、芋虫の体節に似たDNA結合ドメインで塩基配列を認識し、標的遺伝子に結合すると、頭部にキメラ融合された制限酵素Fork1のハサミを使ってDNAを切断する。切断されたDNAは、あわてて修復に努めるが、鋳型が存在しないため正しい修復はほぼ不可能であり、欠失や誤った配列の挿入により高い確率でフレーム・シフト変異を起こす。

しかし、実験は、またしても“パイオニア研究”の困難に直面した。困難の第1は、近隣の某国から順調に供給されるはずのTALENベクターの入荷に半年以上もかかり、実験の予定が立たなかったことである。歴史問題がサイエンスの世界にも影響するのだろうかと心配になったこともある。

第2の困難は、純粋にサイエンス上の問題で、遺伝子ノックアウト細胞が取れなかったことである。SNAP23遺伝子から2カ所の標的配列を選び、2セット4本のTALENベクターを設計した。それらをHeLa細胞に導入し、変異の入った細胞を濃縮・選択後、細胞をクローニングする。得られた細胞の標的配列を大腸菌に移し、シークエンスして変異を調べる。上記の実験には膨大な労力を要するが、その重荷は1人、荒川准教授の肩に掛かった。

遺伝子KO実験では、2本の相同染色体上にある同一遺伝子を同時に切断し、両方にフレーム・シフト変異を起こさせる必要がある。片方の染色体の遺伝子が切断されずに残れば、表現型はほぼ正常となる。また、DNAが切断され、欠失が起こったとしても、3塩基または3の倍数の塩基が欠失した場合（イン・フレーム変異）、合成されるタンパク質は、1ないし数アミノ酸が欠失するだけで、ほぼ正常に機能する可能性がある。さらに、HeLa細胞は1951年に樹立され、60年以上も培養されてきた癌細胞であり、染色体数は2組とは限らず、染色体の種類によっては、2nを大幅に超えることも考慮しなければならない。

我々は、SNAP23遺伝子の完全KO細胞が得られない原因について、ポジティブな（都合のいい）解釈を取った。すなわち、遺伝子KOマウスの結果から見て、SNAP23は細胞の生存と増殖に必須であり、そのため完全なKO細胞は死滅し、不完全な変異細胞だけが生き残ったと解釈したのである。しかし、この解釈の可否を検証するには、Cre/loxPシステムによるコンディショナルKO細胞を作成する必要がある。

## CRISPR/Cas9

そのころ、入荷がいつになるか先の読めない外部依存のTALEN実験を中止し、研究室で作製可能なCRISPR/Cas9ベクターに乗り換える検討を始めた。CRISPR/Cas9は、細菌に感染するバクテリオファージやプラスミドに対し、細菌側がもつ獲得免疫系のような高度な防衛システムである。細菌は、侵入してきたウイルスを断片化し、その配列をCRISPRのRNA配列中に“ガイド配列”として記憶する。次に同じウイルスが侵入すると、記憶している“ガイド配列”を使ってCRISPRがウイルスに結合し、CRISPRと行動をともにするDNA分解酵素複合体Cas（CRISPR associated）が、これを分解・退治するという仕組みである。これを高等生物のゲノム編集に最適化したものが、CRISPR/Cas9である。生物界には、強力な“矛”のあるところ、それを防御する賢明な“盾”が“必ず”存在し、勝負が一方向的にならないように、見えざる手によってバランスが保たれている、という説がある。出典は不明だが、この哲学的洞察の正しさは、ここでもまた証明されたようである。

2014年12月、CRISPR/Cas9についてネット検索していた私の視線が、“ハプロイド培養細胞（HAP1細胞）の遺伝子ノックアウト”というフレーズの上に、ピタリと止まった。

## HAP1細胞

HAP1細胞は、ヒトの骨髄性白血病細胞に由来し、生殖細胞のように、大部分の染色体を1セットしか持たない、ほぼハプロイドの培養細胞である（図13）。HAP1細胞を用いることによって、染色体が何本あるか分からず、不完全なKO細胞しか取れないという、HeLa細胞で味わった、強いフラストレーションから解放される。さらに有り難いことに、当時ウイーンに本社を置いていたHaplogen（現Horizon）社は、遺伝子を選び注文すると、ノックアウトされたクローン細胞を送り届けてくれる。その天国のようなサービス内容を知ったとき、私はとても信じられなかった。注文直後に起こった企業の買収騒ぎで、一時は地獄に落ちるか心配したが、予定より1か月遅れの2015年3月、細胞は届いた。CRISPR/Cas9法によって、SNAP23遺伝子にフレーム・シフト変異をもつ細胞が2株クローン化され、そのうちの1クローンが届いたのである（我々がオーダーし、作製されたこれらの細胞は、既に市販されている）。念のためシークエンスしたところ、標的配列中の2塩基が欠失しており、間違いなくフレーム・シフト変異が起こってい





(Horizon Genomics)

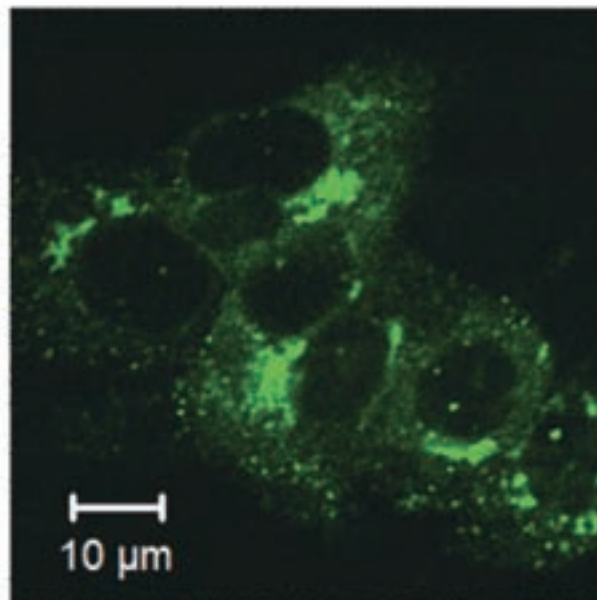


図13 HAP1細胞と染色体. いくつかの染色体に転座等が見られるが、ほぼ1倍体であり、標的遺伝子をノックアウトするには、1箇所フレーム・シフト変異を入れるだけでよい. 右図は、CRISPR/Cas 9を用いSNAP23遺伝子をノックアウトしたHAP1細胞に、hGH-GFPを発現させたもの. 細胞増殖と構成的分泌に異常は見られなかったが、発生・分化に関わる可能性のある遺伝子に発現低下が認められた.

た. SNAP23KO細胞は、正常HAP1細胞と比べ、増殖速度はやや低下するものの正常に分裂増殖し、CLucとhGH-GFPの構成的分泌には全く差が認められなかった(図13). これはどんでん返しであろうか. ノックアウト・マウスの実験結果に基づく大方の予想に反し、SNAP23は、細胞増殖と構成的分泌に必須ではなかった. 我々がノックダウン実験から導き出した結論は、正しかったのである.

正常細胞とKO細胞の遺伝子発現を、DNAマイクロアレイにより比較したところ、SNAP23以外のSNARE遺伝子の発現には全く異常が見られなかったものの、発生と分化に関わる可能性のある多数の遺伝子に著しい発現低下が認められた(投稿準備中). 全エクソンの塩基配列を網羅的に調べる、エクソーム解析のデータからは、CRISPR/Cas9が標的以外の遺伝子を攻撃する、オフターゲットの兆候は認められなかった. SNARE遺伝子であるSNAP23のKOが、どうして発生や分化に関わる遺伝子の発現に影響を及ぼすのか. これまでに蓄積された膨大な研究データに基づくパスウェイ解析では、全く説明がつかない.

大変興味深い問題が提起されたところで、私の持ち時間は尽きた.

### 終わりに：SNAREに囚われて

SNAREへの道は、敬愛するデビッド・リー監督の最後の映画「インドへの道」のパクリである. 私にとっ

てSNAREは、いまだに謎めいて捉え難い、偉大な存在である. SNAREとの衝撃的な出会いから20余年、何とか一歩でもそこに近づきたいと、細々とした歩みを続けてきた. 分岐点は随所にあり、全く別のテーマに移る機会さえあったと思う.

あるとき私はSNAREという単語を辞書で調べてみた. 驚いたことに、SNAREは単に頭文字をくっつけて発音しやすく並べたものではなく、意味をもつ単語であった. SNAREは、ワイヤーで作られた輪形のワナを意味した. 実物を見たこともないのに、私は、子供の頃から、この恐ろしいワナの存在を知っていた. 野ウサギは、いつもの通り道に仕掛けられた針金の輪を見つけると、どうしてもその輪をくぐり抜けてみたくなり、魅せられたように、ピョンと飛び込んでしまうというのだ. 子供の私にはとても信じられない話だったが、ピーターラビットの著者が描いたとしか思えない、美事なSNAREのスケッチ画を見たとき、私はゾツとした. あの時、私は荒野の道で、SNAREに囚われていたようだ.

### 謝 辞

二度目の総説執筆を快く許可して下さった石井久淑編集長に感謝申し上げます. 総説の中にお名前を記させて頂いた諸先生には、研究を進める上で大変お世話になりました. 心から感謝申し上げます. また、研究についてディスカッションし、アドバイスを頂いた唾液腺ゼミの

諸先生，中でもこれまで長い間お付き合い下さった倉橋昌司先生，東城庸介先生，谷村明彦先生，石井久淑先生，小原伸子先生，根津顕弘先生，森田貴雄先生のご親切に深く感謝申し上げます。さらに，小生の頼りない研究活動を温かく支えて下さった歯科矯正学分野の溝口到教授と臨床口腔病理学分野の安彦善裕教授には感謝の言葉もありません。本当にお世話になりました。最後に，長い間辛抱強く実験をサポートしてくれた生化学分野の荒川俊哉准教授，歯科矯正学分野の岡山三紀助教に心から感謝申し上げます。尚，ゲノム編集以降の研究費の一部は，2014～2015年度北海道医療大学個性差健康科学研究所の補助金によって賄われたことを付記し，ここに感謝の意を表します。

## 文 献

- Adler KB, Tuvim MJ & Dickey BF. Regulated mucin secretion from airway epithelial cells. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 4 : 1–9, 2013.
- Bard F, Casano L, Mallabiarrena A, Wallace E, Saito K, Kitayama H, Guizzunti G, Hu Y, Wendler F, Dasgupta R, Perrimon N & Malhotra V. Functional genomics reveals genes involved in protein secretion and Golgi organization. *Nature* 439 : 604–607, 2006.
- Bethani I, Werner A, Kadian C, Geumann U, Jahn R & Rizzoli SO. Endosomal fusion upon SNARE knockdown is maintained by residual SNARE activity and enhanced docking. *Traffic* 10 : 1543–1559, 2009.
- Gordon DE, Bond LM, Sahlender DA & Peden AA. A targeted siRNA screen to identify SNAREs required for constitutive secretion in mammalian cells. *Traffic* 11 : 1191–1204, 2010.
- Holt M, Varoqueaux F, Wiederhold K, Takamori S, Urlaub H, Fasshauer D & Jahn R. Identification of SNAP–47, a novel Qbc–SNARE with ubiquitous expression. *J. Biol. Chem.* 281 : 17076–17083, 2006.
- Hong W. Snares and traffic. *Biochim. Biophys. Acta.* 1744 : 120–144 2005.
- Jahn R & Scheller RH. SNAREs—Engines for membrane fusion. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7 : 631–643, 2006.
- Kaiser CA & Schekman R. Distinct sets of sec genes govern transport vesicle formation and fusion early in the secretory pathway. *Cell* 61 : 723–733, 1990.
- Kawanishi M, Tamori Y, Okazawa H, Araki S, Shinoda H & Kasuga M. Role of SNAP23 in insulin-induced translocation of GLUT4 in 3T3–L1 adipocytes. Mediation of complex formation between Syntaxin4 and VAMP2. *J. Biol. Chem.* 275 : 8240–8247, 2000.
- Kim Y, Kweon J, Kim A, Chon JK, Yoo JY, Kim HJ, Kim S, Lee C, Jeong E, Chung E, Kim D, Lee MS, Go EM, Song HJ, Kim H, Cho N, Bang D, Kim S & Kim JS. A library of TAL effector nucleases spanning the human genome. *Nat. Biotechnol.* 31 : 251–258, 2013.
- Novick P, Ferro S & Schekman R. Order of events in the yeast secretory pathway. *Cell* 25 : 461–469, 1981.
- Oishi Y, Arakawa T, Tanimura A, Itakura M, Takahashi M, Tajima Y, Mizoguchi I & Takuma T. Role of VAMP–2, VAMP–7, and VAMP–8 in constitutive exocytosis from hsy cells. *Histochem. Cell Biol.* 125 : 273–281, 2006.
- Okayama M, Arakawa T, Mizoguchi I, Tajima Y & Takuma T. SNAP–23 is not essential for constitutive exocytosis in HeLa cells. *FEBS Lett.* 581 : 4583–4588, 2007.
- Okayama M, Arakawa T, Tanimura A, Mizoguchi I, Tajima Y & Takuma T. Role of VAMP8/endobrevin in constitutive exocytotic pathway in HeLa cells. *Cell Struct. Funct.* 34 : 115–125, 2009.
- Okayama M, Shitara A, Arakawa T, Tajima Y, Mizoguchi I & Takuma T. SNARE proteins are not excessive for the formation of post–Golgi SNARE complexes in HeLa cells. *Mol. Cell Biochem.* 366 : 159–168, 2012.
- Perin MS, Fried VA, Mignery GA, Jahn R & Sudhof TC. Phospholipid binding by a synaptic vesicle protein homologous to the regulatory region of protein kinase C. *Nature* 345 : 260–263, 1990.
- Rothman JE. The principle of membrane fusion in the cell (nobel lecture). *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 53 : 12676–12694, 2014.
- Schiavo G, Benfenati F, Poulain B, Rossetto O, Polverino de Laureto P, DasGupta BR & Montecucco C. Tetanus and botulinum–b neurotoxins block neurotransmitter release by proteolytic cleavage of synaptobrevin. *Nature* 359 : 832–835, 1992.
- Shitara A, Tanimura A, Sato A & Tojyo Y. Spontaneous oscillations in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration via purinergic receptors elicit transient cell swelling in rat parotid ducts. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 297 : G1198–1205, 2009.
- Sollner T, Whiteheart SW, Brunner M, Erdjument–Bromage H, Geromanos S, Tempst P & Rothman JE. SNAP receptors implicated in vesicle targeting and fusion.

Nature 362 : 318–324, 1993.

Suh YH, Yoshimoto–Furusawa A, Weih KA, Tessarollo L, Roche KW, Mackem S & Roche PA. Deletion of SNAP–23 results in pre–implantation embryonic lethality in mice. PLoS One 6 : e18444, 2011.

Takuma T, Arakawa T, Okayama M, Mizoguchi I, Tanimura A & Tajima Y. Trafficking of green fluorescent protein–tagged SNARE proteins in HSY cells. J. Biochem. 132 : 729–735, 2002.

Takuma T, Arakawa T & Tajima Y. Interaction of SNARE proteins in rat parotid acinar cells. Arch. Oral Biol. 45 : 369–375, 2000.

Takuma T, Shitara A, Arakawa T, Okayama M, Mizoguchi I & Tajima Y. Isoproterenol stimulates transient SNAP23–VAMP2 interaction in rat parotid glands. FEBS Lett. 587 : 583–589, 2013.

Takuma T, Tagaya M & Ichida T. Evidence for the putative docking/fusion complex of exocytosis in parotid acinar cells. FEBS lett. 404 : 34–36, 1997.

Washbourne P, Thompson PM, Carta M, Costa ET, Mathews JR, Lopez–Bendito G, Molnar Z, Becher MW, Valenzuela CF, Partridge LD & Wilson MC. Genetic ablation of the t–SNARE SNAP–25 distinguishes mechanisms of neuroexocytosis. Nat. Neurosci. 5 : 19–26, 2002.



田隈 泰信

昭和49年 3月 北海道大学理学部生物学科 卒業

昭和49年 4月 城西歯科大学口腔解剖学第1講座 (久米川正好教授) 助手

昭和55年12月 北海道大学 理学博士

昭和56年 4月 東日本学園大学歯学部口腔生化学講座 (市田篤郎教授) 講師

昭和58年 3月 米国NIH (Dr. Bruce Baum) 留学 (昭和59年 9月まで)

平成10年 6月 北海道医療大医学歯学部生化学分野 教授





[Original]

## Evaluation of the bio-physiological efficacy of tooth storage media based on normal physiological parameters

Md Riasat HASAN<sup>1</sup>, Hisayoshi ISHII<sup>2</sup>, Kazuharu IRIE<sup>3</sup>, Takashi SAITO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, Health Sciences University of Hokkaido, Japan

<sup>2</sup>Division of Physiology, Department of Oral Biology, Health Sciences University of Hokkaido, Japan

<sup>3</sup>Division of Histology, Department of Oral Growth and Development, Health Sciences University of Hokkaido, Japan

**Key words** : Avulsed tooth, Osmolality, Periodontal ligament, Viability, Egg white.

### Abstract

An easily available tooth storage medium with correct bio-physiological properties is required to preserve the vitality of periodontal ligament (PDL) cells after avulsion. The aim of this study was to evaluate the bio-physiological efficacy of Hank's Balanced Salt Solution (HBSS), milk, and egg white as three storage media by comparing the osmolality, Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations, and pH of these candidate media with physiological values. The result of this study indicated that the osmolality of egg white is better than that of HBSS and

milk for supporting optimal growth rate. The Na<sup>+</sup> concentration is very low in milk and egg white and the K<sup>+</sup> concentration is very high. Milk is slightly acidic and egg white is slightly alkaline. HBSS is used as a buffer in cell culture media and helps maintain optimum physiological properties for cell growth, but it is not available everywhere. As an easily available tooth storage medium, egg white has better physiological properties than milk for the preservation of PDL cells.

### INTRODUCTION

Dental avulsion is one of the most serious traumatic tooth injuries and is characterized by complete displacement of the tooth from its alveolar socket, causing severe damage to the supporting tissues and vascular and nerve structures (Gopikrishna et al., 2008). The ideal treatment is immediate re-implantation, but this is not always possible. The primary goal in cases of tooth avulsion is to preserve the vitality of the periodontal ligament (PDL) cells attached to the root surface until re-implantation can be performed (Gopikrishna et al., 2008). Consequently, an easily available tooth storage medium is required to preserve the vitality of PDL cells and prevent ankylosis and replacement resorption after avulsion (Gopikrishna et al., 2008).

Recent research has led to the development of storage media that closely mimic the conditions of the original socket environment, including adequate osmolality (cell pressure), pH, and nutritional metabolites (Marino et al., 2000; Melo et al., 2003). The Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations are related to

osmolality and are important bio-physiological parameters of tooth storage media by helping maintain intracellular and extracellular activities (Hall et al., 2006).

The American Association of Endodontics has recommended milk as a tooth storage medium to preserve the viability of PDL cells (Krasner et al., 1992). Commercially available Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) has been used as a tooth storage medium (Krasner et al., 1992), and Khademi et al. suggested that egg white is comparable to milk as a storage medium for avulsed teeth (Khademi et al., 2008).

The purpose of this study was to evaluate the bio-physiological efficacy of HBSS, egg white, and milk as storage media and their utility for reproducing normal physiological parameters.

### MATERIALS AND METHODS

HBSS, milk, and egg white were used as tooth storage media. The egg white was separated from egg yolk for experimental purpose. Normal physiological conditions were

obtained from the Textbook of Medical Physiology (Guyton et al., 2006). The measurements for each sample were done six times for every experiment.

### Osmolality measurements

The osmolality levels were measured using an osmometer (Osmo Station, OM-6060, ARKRAY Inc., Kyoto, Japan). The osmometer consists of an evaporation control cover A and an evaporation control cover B. A sample (tooth storage media) was placed in cup and set in the sample rack, the rack was placed in the instrument, then evaporation control cover B was closed. Evaporation control cover A was closed after the sample rack was set into the instrument.

### Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> measurements

Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> meters (LAQUAtwin's, HORIBA, Ltd. Kyoto, Japan) were used to measure the Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations. Each was calibrated by immersing the tip in a standard solution and pressing the calibration button. Once the calibration was complete, the standard solution was washed off with distilled water, the meter was dried with a clean, soft tissue, and then the same volume of experimental storage media measured.

### pH measurements

pH indicator strips (MColorpHast, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) were used to determine the alkalinity or acidity of the HBSS, milk, and egg white storage media.

## RESULTS

### The osmolality of different storage media compared to normal physiological osmolality. (Table-1)

Normal cellular physiological osmolality is in the range 230–320 mOsm/kg, and the osmolality of HBSS, milk, and egg white are within this range.

### The Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentrations of different storage media compared to the normal physiological concentrations. (Table-2)

The concentration of Na<sup>+</sup> in HBSS is 160 mM, similar to the physiological concentration of 150 mM, whereas it is very low in milk (17 mM) and low in egg white (78 mM).

The HBSS and physiological concentrations of K<sup>+</sup> are both 5 mM, whereas the concentration in milk and egg white is high (38 mM and 30 mM, respectively).

### pH of the storage media compared to normal physiologi-

**Table-1** The osmolality of different media compared to the normal physiological range.

Medium	Osmolality (mOsm/kg)
Normal physiological range	230–320
HBSS	275–280
Milk	285–290
Egg White	295–300

**Table-2** Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> concentration of different media compared to the normal physiological limit.

Medium	Na <sup>+</sup> (mM)	K <sup>+</sup> (mM)
Normal physiological concentration	150	5
HBSS	160	5
Milk	17	38
Egg White	78	30

**Table-3** pH of different media compared to the normal physiological range.

Medium	pH
Normal physiological range	7.35–7.45
HBSS	7.30–7.40
Milk	6.60–6.70
Egg White	7.15–7.65

### cal pH. (Table-3)

Normal physiological pH is in the range 7.35–7.45. The pH of HBSS is within this range (7.30–7.45). However, milk is slightly acidic (pH 6.60–6.70) and egg white is slightly alkaline (pH 7.15–7.65).

## DISCUSSION

Tooth storage medium must have specific physiological properties to support periodontal cell survival. The commercial tooth storage medium, HBSS, is used as a buffer with cell culture media and to help maintain physiological properties optimal for cell growth (Hanks et al., 1949). However, HBSS is not available everywhere.

The osmolality of a solution is determined by the concentration of the solute molecules and different types of ions. Osmolality increases as the concentration of water decreases (Remington et al., 2000) and decreases as the concentration of water increases (Blomlöf et al., 1981). The permeability of water is very high in cellular systems and thus cells act as “osmometers”, increasing their volume in a hypotonic medium and reducing their volume in a hypertonic environment

due to the osmotic movement of water. Both the increase and decrease in the concentration of water are critical for cells. Even short exposure to an external osmolality above 450 mOsm/kg results in cell death (Andreasen et al., 1981). The storage of cells in hypotonic solutions may cause irreversible damage to the cell membrane, depending on the length of exposure of the cells (Lindskog et al., 1981).

Waymouth measured the osmolality of different culture media and studied the growth of transformed mouse cells in these media. He suggested that these cells can grow in an osmolality range of 230–400 mOsm/kg and that the growth rate was optimal between 290–330 mOsm/kg (Waymouth, 1970).

Blomlöf et al. evaluated the osmolality of HBSS and milk and reported values of 275 mOsm/kg for HBSS and 250–270 mOsm/kg for milk (Blomlöf et al., 1981), broadly similar to our findings.

The osmolality of HBSS, milk, and egg white were 275–280 mOsm/kg, 250–270 mOsm/kg, and 295–300 mOsm/kg, respectively; all are within the normal physiological range, although that of egg white may be slightly high for supporting an optimal growth rate.

Earlier studies with other storage media found negative effects of hypotonic media or low osmolality. Tap water causes rapid cell lysis in the PDL because it is hypotonic (Ashkenazi et al., 2000; Ashkenazi et al., 1999; Blomlöf et al., 1983; Marino et al., 2000; Pearson et al., 2003). Saliva has much lower osmolality (60–70 mOsm/kg) and therefore boosts the harmful effects of bacterial contaminants (Blomlöf et al., 1981; Blomlöf et al., 1983; Blomlöf et al., 1980; Marino et al., 2000; Sonoda et al., 2008). Storage in saliva causes swelling of PDL cells (Blomlöf et al., 1980), indicating the importance of osmolality for maintaining PDL cell viability.

$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase helps maintain the resting potential, affects transport, and regulates cell volume, and failure of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pump can result in swelling of the cell. A cell's osmolality is the sum of the concentrations of the various ionic species, proteins, and other organic compounds inside the cell. When this concentration is higher than the osmolality outside the cell, water flows into the cell through osmosis, potentially resulting in the cell swelling up and lysing. The  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pump helps maintain the right concentrations of ions (Hall et al., 2006).

$\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  are very important for extracellular and intra-

cellular activity. The  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  concentrations are well balanced in HBSS because it is an established cell and tissue culture medium. Milk and egg white have lower  $\text{Na}^+$  and higher  $\text{K}^+$  concentrations.

Although the  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  concentrations of milk and egg white are outside the physiological ranges, their osmolalities are within range, indicating that other ions are responsible for bringing the osmolality within range. The satisfactory osmolality may make milk and egg white acceptable for short term tooth storage despite their low  $\text{Na}^+$  and high  $\text{K}^+$  concentrations.

The pH of HBSS was 7.30–7.40 and within the normal physiological range, whereas milk is slightly acidic (pH 6.60–6.70) and egg white is slightly alkaline (pH 7.15–7.65). Optimal cell growth occurs between pH 7.2–7.4, but cells can survive for a long period at pH 6.6–7.8 (Paul et al., 1970; Marino et al., 2000; Melo et al., 2003); therefore, short term storage in slightly acidic milk and slightly alkaline egg white tooth storage media may have little effect.

## CONCLUSION

The bio-physiological properties of egg white, makes it a suitable short term tooth storage media for avulsed teeth.

## REFERENCE

- Andreasen JO. Effect of extra alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Int J Oral Surg* 10 : 43–53, 1981.
- Ashkenazi M, Marouni M & Sarnat H. In vitro viability, mitogenicity and clonogenic capacity of periodontal ligament cells after storage in four media a room temperature. *Dent Traumatol* 16 : 63–70, 2000.
- Ashkenazi M, Sarnat H & Keila S. In vitro viability, mitogenicity and clonogenic capacity of periodontal ligament cells after storage in six different media. *Dent Traumatol* 15 : 149–56, 1999.
- Blomlöf L, Lindskog S, Andersson L, Hedström K-G & Hammarström L. Storage of experimentally avulsed teeth in milk prior to replantation. *J Dent Res* 62 : 912–16, 1983.
- Blomlöf L, Otteskog P & Hammarström L. Effect of storage in media with different ion strengths and osmolalities on human periodontal ligament cells. *Scand J Dent Res* 89 : 180–7, 1981.

- Blomlöf L & Otteskog P. Viability of human periodontal ligament cells after storage in milk or saliva. *Scand J Dent Res* 88 : 436–440, 1980.
- Gopikrishna V, Thomas T, Kandaswamy D. A quantitative analysis of coconut water : a new storage media for avulsed teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 105 : 61–65, 2008.
- Gopikrishna V, Baweja PS, Venkateshbabu N, Thomas T, Kandaswamy D. Comparison of coconut water, propolis, HBSS, and milk on PDL cell survival. *J Endod* 34 : 587–9, 2008.
- Hanks J H & Wallace R E. Relation of oxygen and temperature in the preservation of tissues by refrigeration. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 71 : 196–200, 1949.
- Guyton CA, Hall EJ. *Textbook of medical physiology*. 11<sup>th</sup> ed, ISBN 0–7216–0240–1, 2006.
- Khademi AA, Atbae A, Razavi SM, Shabani M. Periodontal healing of replanted dog teeth stored in milk and egg albumen. *Dent Traumatol* 24 : 510–514, 2008.
- Krasner P. Management of tooth avulsion in the school setting. *J Sch Nurs.* 8 : 20–6, 1992.
- Krasner P, Person P. Preserving avulsed teeth for replantation. *J Am Dent Assoc* 23 : 80–8, 1992.
- Lindskog S & Blomlöf L. Influence of osmolality and composition of some storage media on human periodontal ligament cells. *Acta Odontol Scand* 40 : 435–41, 1982.
- Marino TG, West LA, Liewehr FR, Mailhot JM, Buxton TB, Runner RR. Determination of periodontal ligament cell viability in long shelf-life milk *J Endod*, 26 : 699–702, 2000.
- Melo DF, Sell AM, Lopes CM & Hidalgo MM. Viabilidade das células mononucleares de sangue periférico humano em diferentes meios de estocagem de dentes avulsionados. *Acta Scientiarum Health Sci* 25 : 69–74, 2003.
- Paul J. The cell and its environment. Media for culturing cell and tissue. I Natural media. II Defined media. In ‘Cell and tissue culture’ 4<sup>th</sup> ed. E & S Livingstone Edinburgh and London 52–119, 1970.
- Pearson RM, Liewehr FR, West L, Patton WR, McPherson J & Runner RR. Human periodontal ligament cell viability in milk and milk substitutes. *J Endod*, 29 : 184–6, 2003.
- Remington JP & Gennaro AR. *Remington : the science and practice of pharmacy*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. 2077 p, 2000.
- Sonoda CK, Poi WR, Panzarini SR, Sottovia AD & Okamoto T. Tooth replantation after keeping the avulsed tooth in oral environment : case report of a 3-year follow-up. *Dent Traumatol* 24 : 373–6, 2008.
- Waymouth C. Osmolality of mammalian blood and media for culture of mammalian cells. *In Vitro* 6.109–127, 1970.



Md Riasat Hasan

**Education**

2009 Bachelor of Dental Surgery (BDS) from City Dental College, under Dhaka University  
2012 Masters in Public Health (MPH) from American International University–Bangladesh

**Professional Experiences**

2011–2013 Lecturer, Department of Dental Pharmacology, City Dental College, Dhaka, Bangladesh  
2013–Present Doctoral Fellow, Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Japan

**Fellowship**

Fellow member of The Royal Society for Public Health (UK), Membership number 0109130



〔原著〕

## 光重合型硬質レジン製フレームワークを用いた新しい全部床義歯の製作方法の検討

井田 有亮<sup>1,2)</sup>, 遠藤 一彦<sup>2)</sup>, 柿崎 税<sup>3)</sup>

1) 東京大学・医学部附属病院・企画情報運営部

2) 北海道医療大学・歯学部・生体材料工学分野

3) 北海道医療大学・歯科クリニック・技工部

## Development of the fabrication method for a novel complete denture with a framework made of light-cured prosthetic hard resin

<sup>1)</sup>Yusuke IDA, <sup>2)</sup>Kazuhiko ENDO, <sup>3)</sup>Mitsugi KAKIZAKI

1) Department of Healthcare Information Management, The University of Tokyo Hospital, The University of Tokyo

2) Division of Biomaterials and Bioengineering, Department of oral rehabilitation, School of Dentistry,

Health Sciences University of Hokkaido

3) Dental Laboratory, Dental Clinic, Health Sciences University of Hokkaido

**Key words** : Resin base, Prosthetic hard resin, Acrylic Resin, Complete denture, Adhesion**Abstract**

We developed a method to fabricate a novel complete denture with a framework made of prosthetic hard resin (composite resin) and evaluated its physical properties and dimensional accuracy. The fabrication process specific to this denture involved constructing a custom mold with transparent resin. Two sheets of the thermoplastic resin (ethylene-vinyl acetate ; EVA) were placed on the working cast and pressed by heating to construct the mold. An inner plate (0.8 mm thick) served as a spacer, and the thickness of the composite resin framework was designed according to the spacer thickness. Prosthetic hard resin paste was placed manually on the working cast and pressed using the mold to build a uniformly thick framework. The framework thus formed was cured by visible light through the transparent mold. After constructing the framework, a denture was made by a conventional technique, using artificial teeth and a chemically activated acrylic resin.

The bending strength of the specimen made of acrylic resin, reinforced with the hard resin plate of 1

mm in thickness (CR-specimen), was 189.8 MPa, which was approximately double that made of acrylic resin (A-specimen). The amount of water absorption of the CR-specimen was 9.31  $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ , which was approximately half that of the A-specimen. Fit accuracy measurement using the metal master model, which was four times as large as that used for measuring the dimensional accuracy of crowns, showed that the gap between the basal plane of the metal model and the bottom of the specimen for the CR-specimen was approximately half that for the A-specimen.

These results demonstrated that the prosthetic hard-resin framework can be constructed via a simple fabrication method using a custom mold made of the thermoplastic resin (EVA). It was also observed that a denture reinforced with the prosthetic hard resin framework had superior mechanical properties, lower water absorption, and better dimensional accuracy than a conventional acrylic resin denture.

## 抄 録

本研究では、硬質レジン製フレームワーク用いた全部床義歯の製作方法を開発し、その理工学的な性質と適合性について検討した。硬質レジン製フレームワークの製作に際して工夫した点は、透明なレジンシートを用いてカスタムモールドを準備して、フレームワークの製作に利用した点である。2枚の熱可塑性レジン板を作業用模型に載せて加熱・加圧下で成形した。内側のシート（厚さ1.0 mm）はスペーサーとして使用することによって、一定の厚さの硬質レジン製フレームワークの製作が可能となった。シート状に成形した硬質レジンペーストを作業用模型上にて手で圧接して成形した後、カスタムモールドで加圧することによって、均一な厚さのフレームワークに成形した。その後、透明なカスタムモールドを装着したまま光照射して重合させた。完成させたフレームワーク、人工歯ならびに常温重合アクリルレジンを用いて、従来から用いられてきた義歯製作法を適用して全部床義歯を完成させた。

硬質レジン（厚さ1.0 mm）とアクリルレジンとを接合させた試験片（CR-specimen）の曲げ強さは189.8 MPaであり、アクリルレジンだけで製作した試験片（A-specimen）のおよそ2倍であった。CR-specimenの吸水量は9.31  $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ であり、A-specimenの約1/2であった。さらに、クラウンの適合性試験に用いる金型を4倍大に拡大したステンレス鋼製の金型を使用して行った適合性試験の結果、CR-specimenの浮き上がり量は、A-specimenの約1/2であることが分かった。以上の結果から、カスタムモールドを用いることによって、硬質レジン製フレームワークを簡便に製作できることが分かった。また、本硬質レジン製フレームワークを使用することによって、アクリルレジン床義歯と比較して、高い機械的強度と低い吸水性を有し、かつ優れた適合性を有する全部床義歯の製作が可能であることが明らかとなった。

## 緒 言

全部床義歯の製作には、Poly (methyl methacrylate) (PMMA) を主成分とする床用アクリルレジンが最も多く使用されている。(医療経済研究機構 1997; 飛田 2012)。床用アクリルレジンを用いる利点は、歯科技工に特化して開発された粉液重合法を採用することによって、特殊で高価な装置を必要とすることなく簡便な操作で義歯を製作できることである。床用アクリルレジン は1970年代に開発されてから、材料や技工法が改良されな

がら40年以上にわたって臨床応用され、多くの臨床的知見が蓄積されて今日に至っている (Sato et al. 1999; Kawawa et al. 2004)。しかしながら、床用アクリルレジン は吸水性を有するため、口腔内の食物残渣や細菌などが表面に滞留しやすいという欠点がある。臭気の原因となる成分の吸着による口臭や (McCabe 1998)、色素の吸着による変色した義歯の症例などが報告されている (Ueda et al. 1985)。また、床用アクリルレジン の強度は十分とは言えず、義歯の使用時や義歯洗浄中の落下時に、義歯に破損が生じるケースもある (松田ら、1990)。

アクリルレジン床義歯以外にも、金合金、コバルトクロム合金およびチタン合金などを義歯床に応用した金属床義歯や熱可塑性樹脂を射出して製作する熱可塑性レジン床義歯などが臨床で使用されている。金属床義歯は、アクリルレジン床義歯と比較して強度が高いことから、床を薄く設計・製作することができる。また、材料に吸水性がないため、アクリルレジン床の欠点で述べた衛生的な課題に対して有利である。さらに、金属床は熱伝導性が高く、飲食物の温度を口腔粘膜に伝えやすいという利点を有する。しかしながら、材料費に関しては、特に金合金などの貴金属合金で非常に高額となる問題がある。また、金属と樹脂との接着は困難であるため、使用中の金属床義歯に対してリベースやリラインを行って床の適合性を改善することは難しく、長期間にわたる使用には問題を残している (Rosangela et al. 2006)。さらに、金属床義歯の製作には、アクリルレジン床義歯に比べて、複雑で高度な技工操作が要求される (小室 1978)。

ポリカーボネート樹脂やポリスルホン樹脂を用いた射出成形レジン床義歯は、アクリルレジン床義歯と比較して、強度が高く吸水性も低い。しかし、金属床と同様にリベース材やリライン材との接着が困難であるために、義歯と口腔粘膜との適合が悪化した場合、その改善が難しい (増原 1959; Sakuma 1983)。また、成形には特殊な装置を必要とする。義歯を製作する歯科技工所は、必ずしも大規模な設備・技工室を有するとは限らず、歯科技工士が1名だけの小規模な技工所も多いため、大きな設備投資をとまなう技工物の製作プロセスを導入することは困難である場合も多い (厚生労働省 2015)。

一方で、レジン前装製造冠やレジンジャケット冠などの歯冠用に使用されるレジン系材料は、強度や色調安定性の要求が高いことから、1960年代以降ガラス質フィラーを配合した複合材料が主流となった (Peyton 1975; Wilson and Gelbier 2014)。現在、歯冠修復に使用されて

いる材料のほとんどは、硬質レジン（コンポジットレジン）である。硬質レジンは、ベースレジン（多官能性ジメタクリレートモノマー）にガラス質フィラーを配合して製作されている。フィラーの配合によって、（1）吸水率の低下、（2）弾性係数の増大、（3）重合収縮の低減、（4）熱伝導率の向上などを実現している。開発当初はガラス質のマクロフィラーを配合しており、フィラー配合量も少なかった。しかし近年では、有機質複合フィラーを配合することによって、高いフィラー含有量とそれともなう理工学的性質の飛躍的な向上を達成している（宮崎ら、2006；Anusavice et al. 2014）。

そこで、本研究では床用アクリルレジンの簡便な操作性を維持しながら、理工学的性質に優れた全部床義歯を製作することを目的として、歯冠用硬質レジンを全部床義歯のフレームワークに応用することを試みた。本稿では、硬質レジン製フレームワークを有する全部床義歯の製作方法を検討するとともに、その理工学的性質について調べた結果を報告する。

## 材料および方法

### 1) 材 料

本研究に使用した材料を表1に示す。本邦で現在市販されている床用アクリルレジンは、PMMAとmethyl methacrylateモノマーを主成分とし、粉液重合法を用いて成形する製品が最も一般的である。実験には、常温で化学重合を行うシステムであるポアーレジンP（松風）を使用した。硬質レジンには、可視光で重合する光重合型硬質レジンで、有機質複合フィラーが高密度に充填されたグラディアE3（ジーシー）を使用した。人工歯としてエンデュラ前歯および臼歯（松風）を使用した。この人工歯は歯冠部が硬質レジン製、基底面がPMMA製である。義歯の製作に当たって、フレームワークは硬質レジンを用いて製作した。また、義歯の歯肉色の再現およびフレームワークと人工歯の接合とを目的として、歯肉は床用アクリルレジンで製作することとした。

### 2) 硬質レジン製のフレームワークを有する全部床義歯の試作

義歯の試作には実習用無歯顎模型（ニッシン）をシリコンゴム印象材（デュプリコーン、松風）を用いて印

象採得して製作した超硬質石膏（フジロック、ジーシー）製の原型を使用した。

個人トレーとシリコンゴム印象材（JMシリコンレギュラータイプ、モリタ）を用いて原型の精密印象採得を行い、超硬質石膏で作業用模型を製作した（図1 (a)）。続いて硬質レジン製のフレームワークを成形するカスタムモールドを作業用模型上で製作した。カスタムモールドには、ナイトガードや可撤式スプリントなどのアプライアンスを製作するための素材であるエチル酢酸ポリビニル（Ethylene-vinyl acetate：EVA）製のシート（エルコデュール 1.5 mm、エルコデント）を使用した。カスタムモールドと作業用模型の間に一定の厚さの空隙を設けるために、同じ素材の1.0 mm厚のシートを内側に使用した。2枚のシートを重ねて加熱軟化した後、真空加圧成形装置（エルコプレス、エルコデント）内で作業用模型に圧接した（図1 (b)）。冷却後、2枚のシートを一体として模型から分離し、内側のシートを硬質レジン製フレームワークの外形に切り出して除去した（図1 (c)）。外側のカスタムモールドの外形を作業が容易になるように整えた（図1 (d)）。フレームとなる硬質レジンは、ポリエチレンシート上に必要量採取し、トレーレジン用モールドを改造したモールドに圧接してシート状に成形した。作業用模型にレジン分離剤（アクロセップ、松風）を塗布し、シート状の硬質レジンをカスタムモールドを用いて粘膜面に適合する様に圧接した（図2 (a), (b)）。均一にレジンを圧接した後、余剰部分を除去してからカスタムモールドごと可視光線照射器（アルファライト、モリタ）のステージに積載し、300秒光照射してフレームワークを重合させた（図2 (c)）。作業用模型からフレームワークを取り外してカスタムモールドを除去した後、その形態を修正した。このフレームワーク上にパラフィンワックスを用いてろう提を形成した（図3 (a)）。臨床的には患者の口腔内でのフレームワークの試適や咬合採得などの操作が必要であるが、今回の実験では製作過程の検討を目的としたため、仮想的な咬合平面を設定してろう堤形成、硬質レジン人工歯の排列および歯肉形成を行った（図3 (b)）。完成したろう義歯のシリコンコアを技工用シリコンゴム印象材（ラボシリコーン、松風）で採得（図3 (c)）し、その後、温湯中で流ろうした。ろう義歯の

表1 義歯および試験片の製作に使用した材料

材 料	商品名	製造者
常温重合型床用アクリルレジン	ポアーレジンP	松風
歯冠用硬質レジン	グラディアE3	GC

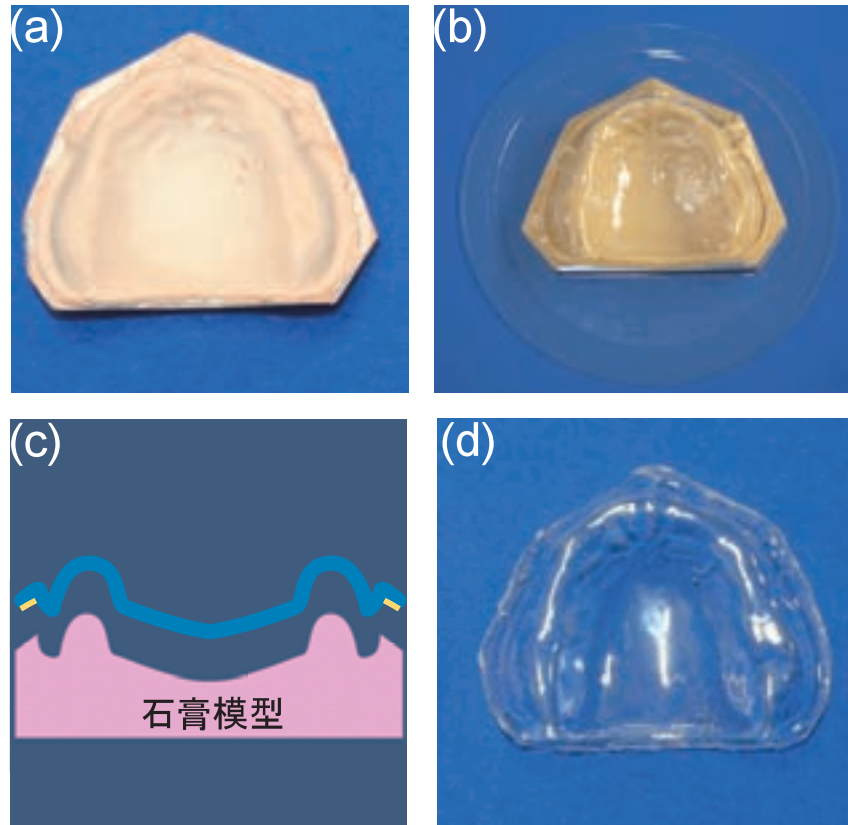


図1 (a) 実習用模型を原型とした超硬質石膏製の作業用模型  
 (b) 真空加圧成形器を用いてスペーサーおよびカスタムモールドとなるEVAシートを模型に圧接した状態  
 (c) カスタムモールドの断面模式図  
 外側シートが硬質レジン製フレームワークを成形するカスタムモールドとなり、内側シートの一部が石膏模型と外側シートの間隙の大きさを決定するストッパーとなる（黄色で示した部分）。  
 (d) EVAシートを加熱・加圧成形後、不要な部分を除去して完成させた硬質レジン成形用のカスタムモールド。

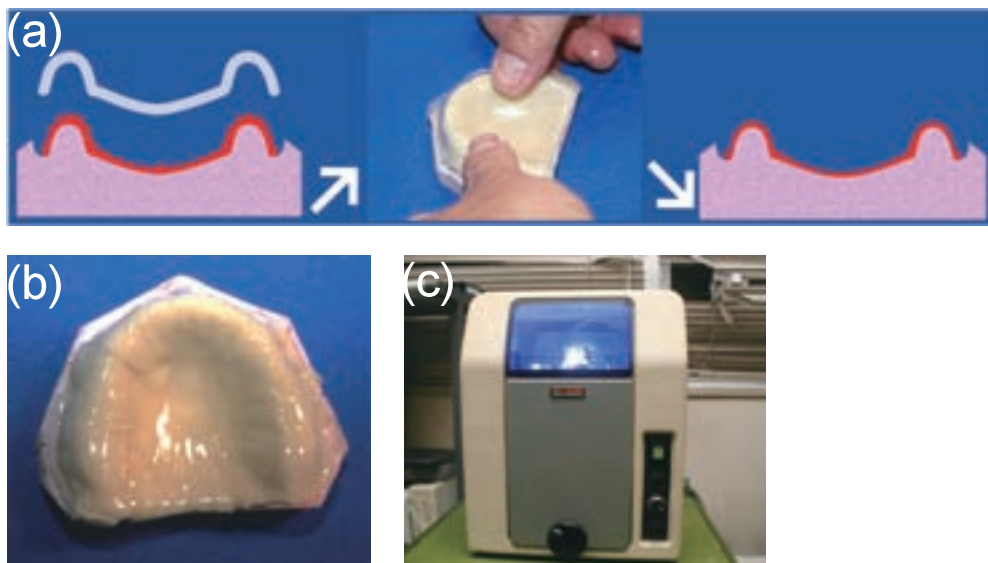


図2 (a) 作業用模型上に硬質レジンシートを載せ手指で形態を整え、さらにカスタムモールドを圧接してフレームワークを成形する操作。  
 カスタムモールドで加圧することで、硬質レジンは一様な厚みで滑らかな表面となる。  
 (b) 作業用模型上で成形した硬質レジン製フレームワーク  
 (c) 成形した硬質レジン製フレームワークの光重合  
 カスタムモールドの素材は透明であるため、コンポジットレジンの成形後、除去することなく光重合することが可能である。



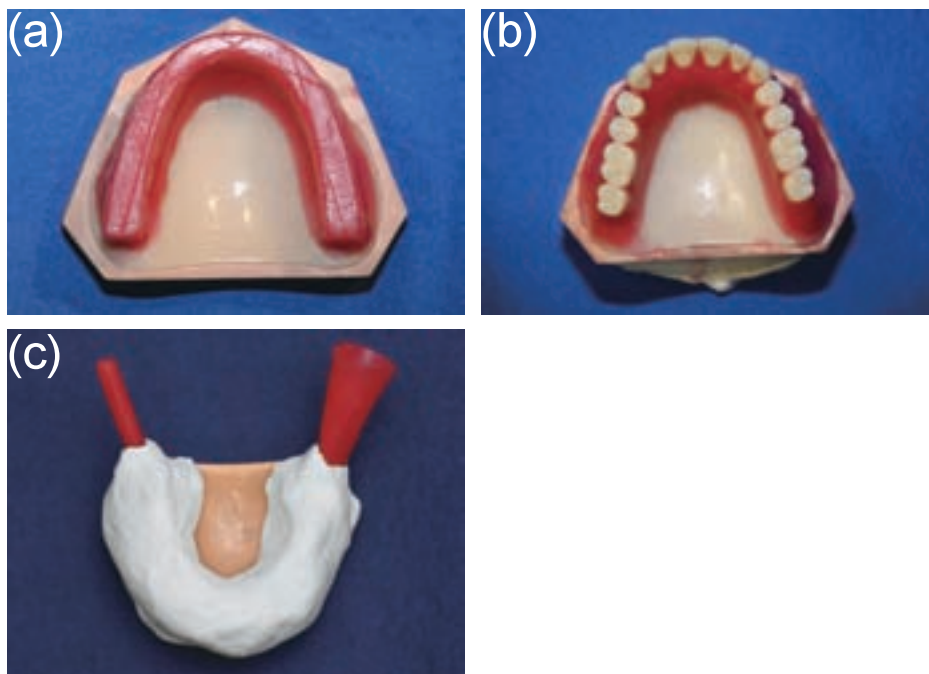


図3 (a) 重合した硬質レジン製フレームワークに形成したろう提。  
 (b) フレームワーク付き咬合床  
 仮想咬合平面を設定して、人工歯の排列と歯肉形成を行った。  
 (c) シリコンコア法で埋没したろう義歯  
 埋没の完了後、流ろうして常温重合アクリルレジンを義歯の歯肉相当部に流し込む。  
 アクリルレジンは、歯肉の審美性の確保と人工歯の維持の役割を果たす。

基礎床となっていた硬質レジンフレームは、スチームを用いて清掃し、圧搾空気で十分に乾燥させた後、その顎堤部分にコンポジットレジン用プライマー（コンポジットプライマー、ジーシー）を塗布した。作業用模型にアクリルレジンの分離剤（ポアバーニッシュ、松風）を塗布し、フレームワークを粘膜面に戻し、レジン注入孔を穿ったシリコンコアで模型を覆った。メーカーの指示（Shofu 2013）に従って常温重合床用アクリルレジンを混和後に注型し、加圧釜中で0.4 MPaの圧力下で重合させた。重合完了後、義歯を模型から取り外し、形態修正および研磨を施して義歯を完成させた。

### 3) 硬質レジン製のフレームワークを有する義歯床の物性と義歯の適合性評価

#### (1) 曲げ強さの測定

硬質レジン製フレームワークと常温重合アクリルレジンを接合させ、硬質レジン製フレームワーク付き常温重合アクリルレジン製試験片（試験片CR-bendとする）の3点曲げ試験（JIS 2011）を行い、曲げ強さおよび弾性係数を測定した。コントロールとして、同寸法で製作した常温重合アクリルレジンのみで製作した試験片（試験片A-bendとする）を用いた。

試験片CR-Bendは、まず硬質レジンをポリエチレンシート上に採取し、清浄なガラス板で挟んで荷重を付与し、1.0 mmの厚さに調整した。その後、剃刀刃を用いて50.0 mm × 27.0 mm程度の大きさに成形し光照射した。光重合した試料の上下面を#320と#600の耐水研磨紙で研磨した。製作した硬質レジ試験片の周囲をビニールテープを用いてボクシングを施した。硬質レジ表面にコンポジットプライマーを塗布した後、常温重合アクリルレジンをメーカーの指示通りに混和し、ボクシングを施した硬質レジ上に均一に注入して重合させた。重合後に技工用ダイヤモンドディスクで4.0 mm × 27.0 mm程度に切断し、#320と#600の耐水研磨紙で形態の修正と表面の研磨を行い、4.0 mm（硬質レジ層が1.0 mm、アクリルレジ層が3.0 mm）× 3.0 mm × 25.0 mmの大きさにした。試験片A-bendは、常温重合アクリルレジンの粉液混和物をシリコンゴム製のモールドに注型後に重合して製作した。試験片の切断と研磨は、試験片CR-bendと同様に行った。各試験片を各々20個製作し、37℃のイオン交換水に24時間浸漬した。その後、万能試験機（AG-20KIS、島津）を用いて3点曲げ試験を行った（図4）。クロスヘッドスピードは1.0 mm/secとした。得られた曲げ強さおよび弾性係数は、

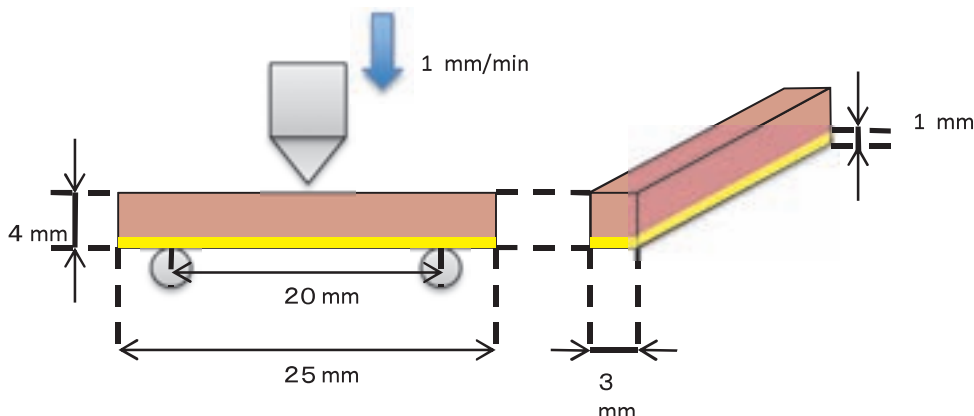


図4 3点曲げ試験に使用したCR-bend試験片と測定条件  
硬質レジンに引張り応力が加わるように荷重を付与した。

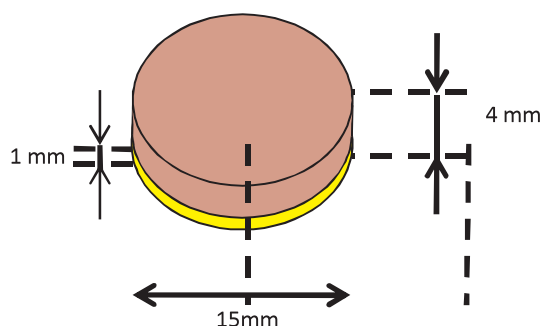


図5 (a) 吸水率の測定に使用した試験片

図に示す大きさで試験片を製作し、吸水率の測定に供した。本実験では、試料の上下面が容器の壁に密着すると吸水を妨げる可能性があるため、矯正用結紮線でガラス試料瓶中に懸垂するようにして、イオン交換水中に浸漬した。

統計ソフトウェア (R 2.09, R Development Core Team) を使用して平均の差の比較をStudent's  $t$ 検定により行った。有意水準は0.05とした。また、3点曲げ試験後の試験片の破断面を実体顕微鏡で観察した。

## (2) 吸水量の測定

曲げ試験片と同様に硬質レジンフレーム付き常温重合アクリル樹脂製試験片 (CR-absorb) と常温重合アクリル樹脂のみの試験片 (A-absorb) を製作した。試験片の大きさは、硬質レジンのJIS規格にしたがって、直径15.0 mm、厚さ5.0 mmとした (図5)。ステンレス鋼製金型を用いて2種類の試験片を製作し、#1000の耐水研磨紙を用いて試料の表面を研磨した。ガラス容器中で37°Cのイオン交換水に7日間浸漬した。浸漬後の試料表面の水滴を圧搾空気除去し、分析用電子天秤 (MS 100, メトラートレド) を用いて0.1 mgの精度で秤量し、飽和吸水重量 ( $W_a$ ) を求めた。デシケーター内で恒量となるまで乾燥し、再び秤量して乾燥重量 ( $W_d$ )

を求めた。 $W_a$ から $W_d$ を引いた値を試験片の体積で除して、吸水量 ( $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ ) を算出した。CR-absorbとA-absorbの試料数は、各々10個とした。得られた吸水量の平均の差の比較をStudent's  $t$ 検定により行った。有意水準は0.05とした。

## (3) 適合性試験

適合性試験は、クラウンの適合性試験に用いる金型を4倍大に拡大したステンレス鋼製の金型を使用して行った。

ステンレス鋼製金型の印象は、シリコーンゴム印象材を用いて採得し、超硬質石膏で作業用模型を製作した。

義歯の試作と同様の手順で、硬質レジン製フレームワーク付き常温重合アクリル樹脂製試験片 (CR-fit) とアクリル樹脂製試験片 (A-fit) を製作した (図6)。硬質レジン層の厚みは1.0 mmとした。試験片は、金型の軸面から垂直に4.0 mmの厚さとした。CR-fit試験片は1.0 mm厚の試験片の完成後、ステンレス鋼製の金型に可能な限り無圧で適合させて、10倍の対物レンズを装着した万能投影機上で基底面の浮き上がり量を測定した (図7)。試験片は各々3個とし、任意の1点とその点を基準に等間隔に4点の測定部位を決定し、合計5箇所について浮き上がり量を測定した。浮き上がり量の平均値および標準偏差を求めた。統計ソフトウェア (R 2.09, R Development Core Team) を使用して平均の差の比較をStudent's  $t$ 検定により行った。有意水準は0.05とした。

## 結 果

### 1) 硬質レジン製のフレームワークを有する全部床義歯の試作

完成した義歯の写真を図8に示す。硬質レジンは、後述するように強度が高いため、口蓋部を覆う床を光が透

ステンレス金型

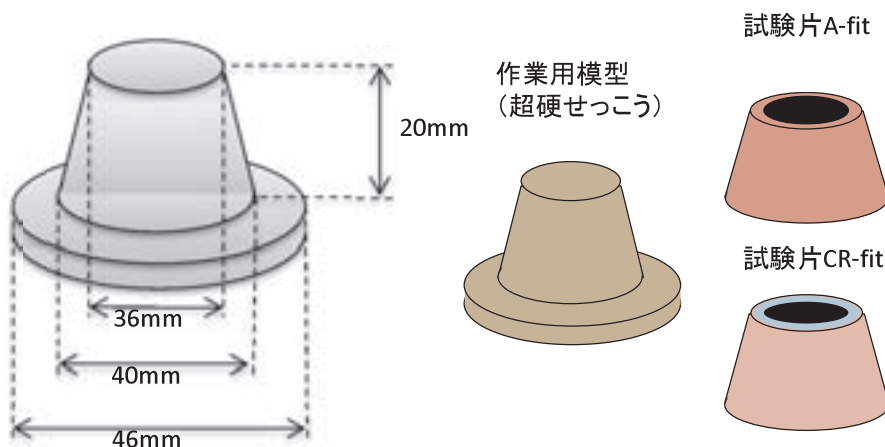


図6 適合性試験に使用したステンレス鋼製の金型，作業用模型および試験片の模式図に示す金型を精密に複製した超硬質石膏製の模型を作業用模型として，試験片を製作した。

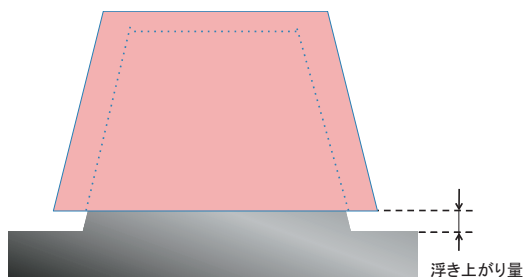


図7 適合性試験における浮き上がり量測定の様式図  
テーパの付いた金型を原型としたので，重合収縮を生じると試験片は底面から浮き上がる。可及的に無圧で金型に試験片を適合させた時に観察された試験片の浮き上がり量を万能投影機で拡大して測定した。

過するほどに薄く設計・製作することが可能である。本実験では，後述する曲げ試験の結果を参考に，硬質レジンを製フレームワークの厚さを1.0 mmとして試作した。歯肉相当部分は常温重合アクリル樹脂で形成されており，審美的な外観とすることができた（図8）。硬質樹脂人工歯と歯肉との接合部および硬質樹脂製フレームワークと歯肉との接合部に隙間はみられず，滑らかに移行していた。特殊な技工設備を必要とせず，一般に普及している既存の技法の組み合わせによって，新しい義歯の製作が可能であることが明らかとなった。

2) 硬質樹脂製のフレームワークを有する義歯床の物性と義歯の適合性評価

(1) 曲げ強さの測定

CR-bend試験片の曲げ強さは $189.0 \pm 2.2$  MPaであり，コントロールとして用いたA-bend試験片の曲げ強さ（ $98.0 \pm 16.2$  MPa）と比較して有意に大きな値を示した（図9）。また，弾性係数の値も，A-bend試験片で



図8 完成した硬質樹脂製フレームを有する全部床義歯口蓋部分のフレームは薄いため（1mm），光透過性を有していることが分かる。

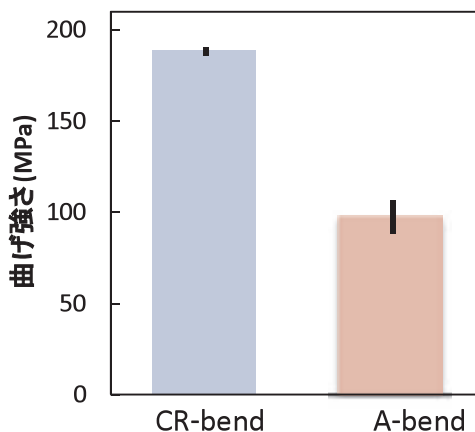


図9 硬質樹脂で補強した試験片とアクリル樹脂製試験片の曲げ強さ  
硬質樹脂製フレームワークを有する試験片の曲げ強さは $189.0 \pm 2.2$  MPaであり，アクリル樹脂製試験片の $98.0 \pm 16.2$  MPaと比べて，約2倍と有意に高い値を示した。（縦線は標準偏差，有意水準0.05）

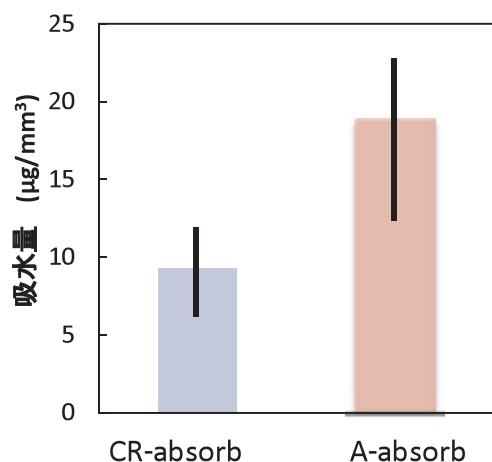


図10 硬質レジンで補強した試験片とアクリルレジン製試験片の吸水量

硬質レジン製フレームワークを有する試験片の吸水量は  $9.31 \pm 4.05 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  であり、アクリルレジン製試験片の  $18.89 \pm 6.52 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  と比べて、有意に小さな値を示した。(縦線は標準偏差, 有意水準0.05)

は  $4.5 \pm 1.1 \text{ GPa}$  であったのに対して、CR-bend試験片では  $7.0 \pm 0.3 \text{ GPa}$  と、CR-bendのほうが有意に大きな値を示した。また、曲げ強さと弾性係数の標準偏差はCR-bendの方が小さな値を示し、硬質レジンで補強した試験片の方が力学的な物性のばらつきが小さいことが分かった。3点曲げ試験で破断した試験片の破断面を観察したところ、硬質レジン層とアクリルレジン層との間に剥離やクラックは観察されず、2種類の材料は強固に接合されていることが分かった。

#### (2) 吸水量の測定

CR-absorb試験片の吸水量は、 $9.31 \pm 4.05 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  であったのに対して、A-absorb試験片では  $18.89 \pm 6.52 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  であった。CR-bend試験片の吸水量は、コントロールと比較して有意に小さいことが分かった(図10)。

#### (3) 適合性試験

金型からの浮き上がり量は、CR-fit試験片で  $0.57 \pm 0.17 \text{ mm}$  であったのに対し、A-fit試験片では  $1.28 \pm 0.14 \text{ mm}$  であった(図11)。CR-fit試験片の浮き上がり量は、コントロールの1/2以下で有意に小さかった、硬質レジン製フレームワークを利用することによって、義歯の適合性を大幅に改善できる可能性があることが分かった。

## 考 察

### 1) 硬質レジン製フレームワークを利用した新しい全部床義歯製作法の特徴

図1～3に示す硬質レジン製フレームワークを用いた新しい全部床義歯の製作工程から、常温重合アクリルレ

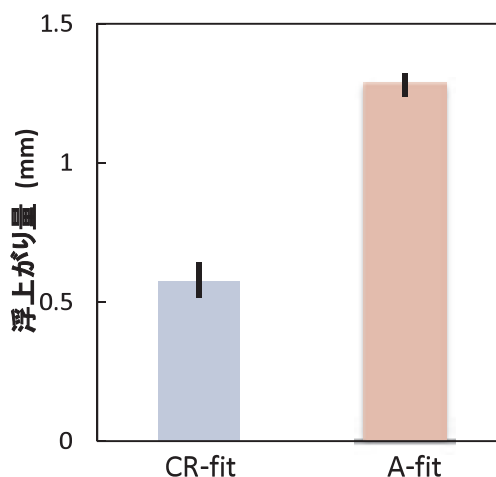


図11 硬質レジン製フレームワークを有する試験片とアクリルレジン製試験片の適合性試験で観察された浮き上がり量

金型からの浮き上がり量は、硬質レジン製フレームワークを有する試験片で  $0.57 \pm 0.17 \text{ mm}$  であり、アクリルレジン製試験片の  $1.28 \pm 0.14 \text{ mm}$  と比べて有意に小さかった。(縦線は標準偏差, 有意水準0.05)

ジンのみで全部床義歯を製作する従来法と比較して、操作ステップ数が少し増え、かつ技工操作に要する時間も長いことが分かる。しかしながら、金属床義歯を製作する技工法と比較すると作業に要する時間が短く、かつ高度な製作技術を要しないなどの利点がある。

硬質レジンを用いてフレームワークを成形する際に最も重要となる点は、フレームワーク全体にわたって、その厚さを均一にすることである。厚さの均一性を実現するために、まずカスタムモールドとスペーサーの簡便な製作方法を検討した。その結果、EVA製のシートを真空加圧成形装置内で作業用模型に圧接することによって、精度よくカスタムモールドを製作できることが分かった。この際、カスタムモールドとなるシートの下にスペーサーとなるEVA製のシートを重ねて加圧し、成形後にスペーサーを除去することによって、作業用模型とカスタムモールドとの間に一定の厚さの空隙を設けることが可能となった。硬質レジン製フレームワークの厚さは、スペーサーの厚さを変えることによって、簡単に調整することが可能である。

今回の実験では、まず歯冠修復用として市販されている硬質レジンのペーストを既製のモールドを用いてシート状に成形し、これをカスタムモールドを用いて作業用模型の粘膜面に圧接した後、可視光線を照射してフレームワークの形態に重合した。この際、義歯のフレームワーク製作には多量の硬質レジンペーストを必要とするが、一度に多量の使用を想定していない硬質レジンの容器から、必要量のペーストを採取することは容易ではなかった。また、専用のシリンジから円柱状に採取された



硬質レジンシートに成形する作業は非常に難しいことが分かった。本全部床義歯の実用化に際しては、義歯のフレームワーク用に適した硬質レジンの開発とシート状に成形されたペーストの供給方法などに関して、今後検討する必要がある。さらに、硬質レジン製フレームワークと常温重合アクリルレジン製歯肉の形状は、症例による制約が大きいことが考えられる。特に硬質レジン製フレームワークの形状を変化させることで、義歯の耐久性や吸水量などの性質に変化をもたらす可能性がある。臨床応用に当たっては、フレームワークの形態を変化させた実験や数値計算によるシミュレーションなどを用いた検討が必要であると考えられる。

## 2) 硬質レジン/アクリルレジン接合体の機械的性質と吸水性

3点曲げ試験の結果、CR-bendの曲げ強さは189.0 MPaであり、A-bendの曲げ強さ(98.0 MPa)と比較して、約2倍になることが分かった。硬質レジンによる補強によって、義歯の破折頻度は減少する可能性が高い。また、弾性係数の値もA-bendでは4.5 MPaであったのに対して、CR-bendでは7.0 MPaに増大しており、口腔内での機能時における義歯のたわみ(弾性変形量)を小さくする効果が期待できる。さらに、曲げ強さと弾性係数の標準偏差の値は、常温重合アクリルレジン単体で製作した試験片と比べて、硬質レジンフレームワーク付きの試験片の方が小さかった。補強材として使用した硬質レジンには、アクリルレジンと比較して製作時における気泡の混入が少なかったためと考えられる。この結果は、硬質レジン製フレームワーク付きの試験片の方が試料間における物性の差が小さく、より均質な義歯の製作に適していることを示唆している。

3点曲げ試験により破断した試験片の断面を観察した結果、硬質レジン層とアクリルレジン層との間には剥離やクラックはみられず、硬質レジンとアクリルレジンとは強固に接合していることが分かった。本実験では、光重合させた硬質レジン試験片の表面にコンポジットプライマーを塗布した後、アクリルレジンの粉液混和物を流し込んで重合している。硬質レジン重合体のマトリックスは架橋ポリマーで構成されているため、コンポジットプライマーに含まれるモノマーの硬質レジン重合体中への拡散は起こりにくいものと推測される。しかし実際には、硬質レジン試験片の表面は酸素によってジメタクリレートモノマーの重合が阻害されているため、そのマトリックスは強固な三次元網目状構造とはなっていないものと考えられる。硬質レジン重合体はこのような表面構

造を有しているため、コンポジットプライマーに含まれるモノマーの拡散が起こりやすかったものと推測される。したがって、型に流し込まれたアクリルレジンの粉液混和物の重合と同時に硬質レジン重合体の表面に形成された拡散層に存在するモノマーも重合したため、硬質レジンとアクリルレジンとの接合が強固になった可能性が高い。

イオン交換水中に7日間浸漬したA-absorbの吸水量は $19.0\mu\text{g}/\text{mm}^3$ であったのに対して、CR-absorbの吸水量は $9.3\mu\text{g}/\text{mm}^3$ と約1/2であった。本研究で製作した新しい全部床義歯の粘膜面は硬質レジン製のフレームワークで覆われており、吸水量が大幅に低下することが予想される。吸水量の低下に伴って、着色や臭気の原因となる物質およびバクテリアなどの滞留や付着が生じにくくなる効果が期待できる。したがって、硬質レジン製フレームワークを用いた義歯は、従来のアクリルレジン床義歯と比較して、より衛生的に使用できるものと考えられる。

## 3) 硬質レジン製フレームワークを利用した新しい全部床義歯の適合性

本研究で実施した適合性試験では、ステンレス鋼製の金型を原型として複製した超硬質石膏製の作業用模型を用いた。まず、試料の適合性試験に先立って、超硬質石膏製の複製精度をステンレス鋼製金型に付属する標準試料(ステンレス鋼製)を用いて検証した。ステンレス鋼製金型と超硬質石膏型に標準試料を可及的に無圧で適合させたところ、万能投影機を用いて拡大して観察しても、双方の型に対して標準試料の浮き上がりは全く認められなかった。したがって、超硬質石膏製の作業用模型は極めて高精度にステンレス鋼製金型を複製していたことが確認された。作業用模型上で製作したCR-fitとA-fitの浮き上がり量を測定した結果、それぞれ0.57 mm、1.28 mmとなった。CR-fitの浮き上がり量は有意に小さく、適合性に優れていることが明らかとなった。CR-fit試験片では、作業用模型に対する接触面は重合収縮率の小さい硬質レジンで製作されているため、適合性が向上したものと考えられる。硬質レジン製フレームワークを用いた全部床義歯においても、粘膜適合面は重合収縮率の小さい硬質レジンで製作されるため、その適合性は高いものと考えられる。

常温重合アクリルレジンの重合収縮に起因して、硬質レジン製フレームワークとの接合界面に内部応力が発生する。硬質レジン製フレームワークの厚さが十分ではなく、かつ大きな内部応力が発生するなどの条件が重なっ

た場合には、作業用模型から取り外した後に義歯のフレームワークに変形が生じる可能性がある。大きな内部応力の発生による義歯の変形が懸念される場合には、製作した義歯を作業用模型から取り外す前に100℃前後で加熱し、残留している内部応力を十分に緩和させる操作が必要となるであろう。今後、この点に関して詳細に検討する必要がある。

## 結 論

硬質レジン製のフレームワークを利用した全部床義歯の製作手法を提案した。特殊な設備や装置を必要としない簡単な技工操作によって、従来のアクリルレジン床義歯と比べて、(1) 高い曲げ強さと弾性係数、(2) 低い吸水量、(3) 優れた適合性を有する全部床義歯を製作できることが明らかとなった。

本手法を用いた硬質レジン製フレームワークを利用した義歯の実用化には、操作性と物性に優れた専用の硬質レジンの開発と、硬質レジンに最適化されたフレームの設計を検討する必要がある。

## 謝 辞

本研究は、北海道医療大学歯学会研究奨励金により遂行された。本論文の公表に当たって、開示すべき利益相反はない。

## 文 献

- Anusavice KJ, Shen C & Rawls HR. *Phillips' Science of Dental Materials*. Missouri: Elsevier; 2000.
- 林都志夫. 全部床義歯補綴学. 東京: 医歯薬出版; 1982.
- 医療経済研究機構. 有床義歯・橋義歯の需給予測に関する研究報告書. 東京: 医療経済研究機構, 1997.
- Kawawa A, Sato T, Okada D, Aizawa S, Akimoto Y, Soejima T, Kobayashi K, Mayanagi A & Miura H. Statistical Analysis of the Fabrication of Fixed and Removable Partial Dentures (in 2002). *J Stomatol Soc* 71(3): 146-150, 2004.
- 小室史郎. 金属床義歯設計の勘どころ, DE別冊最新の歯科技術: 209-224, 1978.
- 厚生労働省. 歯科技工調査. 厚生労働省 2012.
- 増原英一. 射出成型法による義歯製作の研究-1. 歯科材料研究所報告 2 (1): 105-112, 1959.
- 松田 一, 野村 淳, 本間 久夫. 義歯レジンの破壊に関する研究- (1) アクリルレジン内に埋入した補強線の破壊に及ぼす影響-. 歯材器 9 (16): 172

-173, 1990.

- 宮崎隆, 中畠裕, 河合達志. 臨床歯科理工学. 東京: 医歯薬出版; 2006.
- 日本工業規格調査会. JIS T 6517. 日本工業規格調査会; 2011.
- Peyton FA. History of resins in dentistry. *Dent Clin North Am*. 19(2): 211-22, 1975.
- Seo RS, Murata H, Hong G, Vergani CE & Hamada T. Influence of thermal and mechanical stresses on the strength of intact and relined denture bases. *J Prosth Dent* 96(1): 59-67, 2006.
- Sakuma T. Postoperative conditions of poly-sulfone dentures. *Nihon Hotetsu Shika Gakkai Zasshi*. 27(5): 957-964, 1983.
- Sato T, Ohno S, Okada D, Kawawa A, Akiba H, Watanabe Y, Endo K, Mayanagi A, Miura H & Hasegawa S. Statistical Analysis of Fabrication of Fixed and Removable Partial Dentures. *J Stomatol Soc Jpn*. 66(3): 277-282, 1999.
- 松風. フィットレジン添付文書. 松風, 2008
- 飛田茂, 大沼誉英, 河野正司. 各種歯科技工装置の製作状況に関する実態調査-平成20年度から平成22年度までの統計調査-. 明倫紀要 15 (1): 65-69, 2012.
- Ueda K, Takeda T, Ichiwata T, Kobayashi I, Nakamura T, Morita E, Gotoh H, Umi T, Satoh Y & Ohki K. Studies on the coloration of denture base. *J Prosthodont Dent* 29(1): 85-93, 1985.
- Wilson N, Gelbier S. The History and Impact of Development In Dental Biomaterials Over the Last 60 Years - The John Mclean Archive a Living History of Dentistry Witness Seminar. 2012 June; London. Raleigh: Lulu Press; 2000.



井田 有亮

東京大学 助教 (医学部附属病院 企画情報運営部/大学院医学系研究科 医療情報システム学分野)

平成21年3月 北海道医療大学歯学部 修了, 学士 (歯学)・歯科医師

平成26年3月 北海道医療大学大学院歯学研究科博士課程 修了, 博士 (歯学)

平成27年3月 東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻 修了, 公衆衛生学修士 (専門職)

平成27年4月 現 職





[Original]

## Possible Association between Cigarette Smoking Habit with Periodontal Disease in Diabetic patients in Nepal

Bhoj Raj ADHIKARI<sup>1</sup>, Hirofumi MATSUOKA<sup>2</sup>, Mamata SHAKYA<sup>3</sup>, Osamu UEHARA<sup>2</sup>, Tetsuro MORIKAWA<sup>1</sup>, Fumiya HARADA<sup>1</sup>, Akashlynn Badruddoza DITHI<sup>4</sup>, Md. Riasat HASAN<sup>5</sup>, Takashi SAITO<sup>5</sup>, Hiroki NAGAYASU<sup>3</sup>, Itsuo CHIBA<sup>2</sup>, Yoshihiro ABIKO<sup>1</sup>

1. Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido 061-0293, Japan.
2. Division of Disease Control and Molecular Epidemiology, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido 061-0293, Japan.
3. Division of Oral Maxillofacial Surgery, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido 061-0293, Japan
4. Division of Biomaterials and Bioengineering, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido 061-0293, Japan
5. Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido 061-0293, Japan

**Key words** : Cigarette smoking, diabetes mellitus, periodontitis

### Abstract

**Introduction** : Diabetes mellitus is a chronic metabolic disorder that affects humans over a wide range of age. A significant number of diabetic patients with a concurrent history of cigarette smoking visit the dentist for dental treatment. The relationship between periodontal diseases and cigarette smoking in diabetic patients has not yet been documented in the Nepalese population. In this cross sectional study, we evaluated the periodontal status of diabetic patients attending a private hospital in Kathmandu.

**Materials and Method** : A semi-structured questionnaire was used to record patient history, and clinical examinations were performed to assess the oral health status of the patients. The relationship between cigarette smoking and periodontal health in diabetic patients was statistically evaluated by calculating the odds ratios. Logistic regression analysis was done to examine the effect of cigarette smoking on periodontitis in diabetic patients and non-diabetic controls with controlling the demographic and oral variables.

**Result** : An odds ratio of 37.27 (95% confidence interval, 34.90-39.64) demonstrated a strong relationship between cigarette smoking and poor periodontal status in the diabetic patients. A significantly higher number of diabetic patients suffered from xerostomia (20% vs 4.76% ; p value < 0.001) and oral candidiasis (34.28% vs 14.70% ; p value < 0.001) when compared with the non-diabetic controls. The logistic regression analysis shows significant relationship between periodontal disease and xerostomia ; however, xerostomia decreased the periodontitis in diabetic group in contrary to increase the later in non-diabetic group. Smoking was strongly associated with periodontitis in diabetic group. Age and calculus were associated with periodontal disease in non-diabetic group.

**Conclusion** : The findings from the present study show that the habit of smoking poses a much higher risk for periodontal disease in diabetic patients than in healthy individuals among the Nepalese population.

### Introduction

Diabetes mellitus is one of the commonest medical disorders encountered by dentists worldwide, and has been re-

cently declared as a pandemic by the World Health Organization (WHO, 2009). The main causes of death in diabetic patients are the microvascular and macrovascular complications associated with the condition (Moore et al., 2003 ;

Jain & Saraf, 2010). In addition diabetic patients often suffer from oral and dental problems, including xerostomia, burning mouth syndrome, taste dysfunction, dental caries, periodontal diseases and oral infectious diseases, which are mainly caused due to oral dryness and increased susceptibility to microbial infections (Kakoei et al., 2015). Periodontal diseases are the most common and crucial problems seen in patients with diabetes, and an association between periodontal disease and diabetes has been widely accepted (Demmer et al., 2012 ; Abrar et al., 2015). Recent evidence shows that periodontal treatment decreases the level of blood glucose and/or HbA1c in patients with periodontitis (Faggion et al., 2016). In addition to diabetes, which is a systemic factor, local factors such as microbes, tobacco smoke and alcohol are crucial for the development of periodontal diseases (Genco & Borgnakke, 2013). Although diabetes and smoking are two, well–documented risk factors for periodontal disease (Bergstrom J., 1989 ; Loe H., 1993), their interactions with the diseases still remain unclear. In Nepal, 18.5% of the population (aged between 15–69 years) smoke cigarettes, with 85 % of them being daily smokers (MoHP, Nepal, 2014) ; this ratio is almost similar to the international ratio (Giovino et al., 2012). Similarly, the prevalence rate of diabetes mellitus among the Nepalese population is almost similar to the international prevalence rates 3.6%, (Wild et al., 2004). However, to the best of our knowledge, there is no statistical data on smoking as a risk factor for periodontal diseases in diabetic patients in Nepal so far. The present study assessed the periodontal status in smokers and non–smokers with and without diabetes mellitus in a representative population of Kathmandu.

## Materials and methods

### *Case selection and criteria*

A cross sectional study was conducted among patients attending the Kastamandap Polyclinic, and Department of Oral Diagnosis at Dental Care Hospital, Kathmandu during a period of 12 months from January to December in the year 2014. A total of 210 diabetic patients were included in the study. The diagnostic criterion for diabetes was taken as  $\geq 6.5\%$  HbA1c and  $\geq 126$  mg/dl fasting plasma glucose (American Diabetes Association, January 2013). The medical conditions of the patients were previously examined by the attending physician. The inclusion criteria of the patients in this study were subjects older than 18 years of age who

were diagnosed with diabetic mellitus and had a minimum of 20 teeth. The exclusion criteria included patients with the following : 1) orthodontic devices ; 2) extended fixed prosthodontic devices (replacement of more than two missing teeth), removable partial dentures, or overhanging restorations ; 3) systemic diseases or other conditions that could influence the periodontal status (other than diabetes within the diabetes group) ; 4) pregnancy or breastfeeding ; and 5) antibiotic prophylaxis for any medical condition within the last 5 years. In addition, 210 non–diabetic individuals who presented at the dental hospital during the study period were assigned as a control group. Informed written consent, as per the institutional review committee guidelines, was taken from each participant for clinical examination and publication of data.

### *Questionnaire and data collection*

A structured questionnaire and a data recording format was prepared for data collection (Table 1 & 2). The questionnaire included demographic details (name, age, gender, address, medical and dental treatment history, and present cigarette smoking habit) and dental care awareness (number of visits to the dentist, treatments previously received including oral prophylaxis and periodontal treatment, knowledge regarding the influence of systemic disease on oral health) of the participants. The recording data sheet contained general oral examination (of the hard and soft tissues in the oral cavity including signs of xerostomia, candidiasis and dental caries), and specific examinations for periodontal diseases (including calculus, stains, bleeding on probing (BOP), gingival recession, periodontal pocket and clinical attachment loss). The data collection and clinical examination team consisted of two principal investigators (BRA and MS), one trained data–recording clerk and two qualified dental assistants. Subsequent to the examination of every 15 patients, a patient was interchanged between the clinical examiners to confirm the reliability, consistency and uniformity of the clinical parameters.

### *Clinical examination*

Gingival recession, defined as the distance between the free gingival margin (FGM) and the cemento–enamel junction (CEJ), pocket depth (PD ; defined as the distance from FGM to the bottom of the sulcus or periodontal pocket, clinical attachment loss (CAL ; defined as the distance from

**Table 1 :** Questionnaire

Questionnaire No : .....
<p>Name :</p> <p>Age/Gender :</p> <p>Address :</p> <p>Chief complaint :</p> <p>Past and Present Medical History :</p> <p>Past Dental Treatment History :</p> <p>1. Have you ever visited a dentist?</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Yes, I visit dentist regularly</p> <p style="margin-left: 20px;">b. Yes, I visit dentist when I have pain in teeth</p> <p style="margin-left: 20px;">c. No, this is my first visit</p> <p>2. For what reason did you visit a dentist previously? (Please mention all that is applicable)</p> <p>3. Do you smoke cigarette?</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Yes</p> <p style="margin-left: 20px;">b. No</p> <p>4. Do you have diabetes?</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Yes</p> <p style="margin-left: 20px;">b. No</p> <p>5. Do you feel dryness in your mouth?</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Yes</p> <p style="margin-left: 20px;">b. No</p> <p>6. Do you feel burning sensation and/or swallowing problem in your mouth?</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Yes</p> <p style="margin-left: 20px;">b. No</p> <p>7. Do you know that the signs of medical diseases can be seen in the mouth as well?</p> <p style="margin-left: 20px;">a. Yes</p> <p style="margin-left: 20px;">b. No</p>

the CEJ to the base of the pocket), and BOP were measured at six sites (mesio-, mid-, and disto-buccal ; mesio-, mid-, and disto-lingual) per tooth in all teeth, excluding the third molars. For measurements, a periodontal probe (Hu-Friedy PCP 2™, Chicago, IL, USA) with 2, 4, 6, 8, 10, and 12 mm graduations was positioned parallel to the long axis at each of the six sites of the tooth. Calculus, gingivitis and periodontitis were graded as per the criteria mentioned in

Table 3. Supra-gingival debridement was performed in patients with high amount of calculus prior to the gingival recession, PD and CAL measurement. Restorations on the proximal, facial and lingual / palatal surfaces were examined using dental explorer, dental floss and intraoral periapical / bitewing radiograph where applicable. Oral candidiasis was examined based on the clinical criteria and confirmed with laboratory examination whenever necessary (Laura and Yo-

**Table 2 :** Data collection and examination sheet

Data collection and clinical examination sheet No : .....
Name :
Age/Gender :
Address :
Chief complaint :
General Physical Examination :
Past and Present Medical History :
Past Surgical History :
Past Dental Treatment History :
Oral Hygiene measures :
Brushing.....times a day
Flossing
Professional Dental care
Extra-oral Examination :
Intra-oral Examination :
Examination of Soft tissue :
Buccal Mucosa :
Labial Mucosa :
Floor of the mouth :
Hard/Soft Palate :
Others :
Examination of Gingiva :
Color :
Consistency :
Contour :
Stippling :
Calculus :
Stain :
Bleeding on Probing :
Recession :
Periodontal Pocket :
Clinical Attachment Loss :
Examination of Hard Tissue :
Teeth present :
Teeth Missing :
Loose teeth :
Dental caries :
Restoration :
Prosthesis :
Others :
Investigation :
Diagnosis :
Treatment Plan :



**Table 3** : The grading of calculus and diagnosis of gingivitis and periodontitis

Calculus index		
Grade 0		No observable calculus
Grade 1		Scattered calculus covering less than one-third of the buccal surface of the tooth
Grade 2		Calculus covering between one- and two-thirds of the buccal surface with minimal subgingival deposition
Grade 3		Calculus covering greater than two-thirds of the buccal surface and extending sub-gingivally
Gingival index		
Grade 0	Normal gingiva	No inflammation, healthy gingiva with sharp, non-inflamed margins
Grade 1	Mild gingivitis	Mild inflammation, slight change in color, slight edema, no bleeding on probing
Grade 2	Moderate gingivitis	Moderate inflammation, moderate glazing, redness, bleeding on probing
Grade 3	Severe gingivitis	spontaneous bleeding
Periodontal Index		
Grade 0	Normal periodontium	With or without gingivitis but showing features less severe than that of grade 1 periodontitis
Grade 1	Mild periodontitis	≥ Two interproximal sites with ≥ 3 mm AL and ≥ Two interproximal sites with ≥ 4 mm PD or one site with ≥ 5 mm
Grade 2	Moderate periodontitis	Two or more interproximal sites with ≥ 4 mm CAL or two or more interproximal sites with PD ≥ 5 mm
Grade 3	Severe periodontitis	Presence of two or more interproximal sites with ≥ 6 mm AL and one or more interproximal site(s) with ≥ 5 mm PD
	Total periodontitis	Patient having any level of severity of periodontitis

CAL= clinical attachment loss ; PD= pocket depth

**Table 4** : Number and percentage of subjects (diabetic and non-diabetic) with oral candidiasis, xerostomia, and dental caries)

	Diabetic patient	Non-diabetic control
Oral Candidiasis	72 (34.28 %)	7 (14.7 %)
Xerostomia	42 (20 %)	10 (4.76 %)
Dental caries	164 (78.1 %)	147 (70 %)

landa, 2013). Xerostomia was diagnosed based upon the subjective symptoms of dry mouth as per the participant's complaint (Hopcraft and Tan, 2010); Typical complaints of dry mouth and difficulty swallowing and / or speaking were the main criteria considered. Detection of dental caries was done under dental operatory light using a mouth mirror, dental probe and explorer, and was based on the criteria described previously (Ekstrand, 2004).

#### Statistical evaluation

Data were collected, coded, categorized, analyzed and evaluated statistically. An odd ratio (OR) with 95% confidence interval (CI) was calculated to measure the association between cigarette smoking as exposure and periodontitis as the outcome in diabetic and non-diabetic individuals. Logistic regression analysis was conducted for the demographic and oral variables in order to examine the effect of smoking on periodontitis in diabetic and non-diabetic individuals. Statistical significant was set at  $p < 0.05$ .

## Results

The occurrence of oral candidiasis, xerostomia, dental caries and periodontal diseases was examined in order to assess

the oral health status of the patients. Oral candidiasis was seen in 34.28% of diabetic patients, which was higher than that in the individuals belonging to the control group. Xerostomia and dental caries were present in 20% and 78.1% of the diabetic patients, respectively. The number of diabetic patients suffering from xerostomia and oral candidiasis was significantly higher than that of the non-diabetic controls (4.76% and 14.70%, respectively;  $p < 0.001$ ). The diabetic group showed higher prevalence of dental caries when compared with the control group (78.1% vs 70%); however, the difference was not statistically significant (Table 4).

In total, 55.23% of the patients participating in this study revealed that this was their first dental visit, 17.63% had visited the dentist previously for one or more dental treatments, and 27.14% visited the dentist regularly. Table 5 shows the distribution of patients with calculus, gingivitis and periodontitis in the present study. Further evaluation revealed that 10.95% of diabetic patients and 52.86% of the controls had calculus-free teeth, with 28.10%, 53.81% and 7.14% of the diabetic patients presenting with grade 1, 2 and 3 calculus, respectively. Alternatively, 10%, 28.10% and 9.04% of the non-diabetic control had grade 1, 2 and 3 calculus, respectively. Gingival tissue was normal in 21.91% of the dia-

**Table 5 :** Clinical evaluation and comparison of different oral health indices in diabetic patients and non-diabetic control group individuals

	Diabetic group – frequency (%)	Non-diabetic Control group – frequency (%)
Calculus		
Grade 0	23 (10.95 %)	111 (52.86 %)
Grade 1	59 (28.10 %)	21 (10 %)
Grade 2	113 (53.81 %)	59 (28.10 %)
Grade 3	15 (7.14 %)	19 (9.04%)
Gingivitis		
Normal	46 (21.91 %)	99 (47.14 %)
Mild	101 (48.10 %)	65 (30.95 %)
Moderate	46 (21.90 %)	38 (18.10 %)
Severe	17 (8.09 %)	8 (3.81%)
Periodontitis		
Normal	52 (24.76 %)	107 (50.95 %)
Mild	107 (50.95 %)	63 (30.00 %)
Moderate	40 (19.05 %)	36 (17.14 %)
Severe	11 (5.24 %)	4 (1.91%)

**Table 6 :** Comparison of periodontitis between habitually smoking and non-smoking diabetic patients and non-diabetic controls

		Patient with Periodontitis	Patient without Periodontitis
Diabetic Patients	+ve cigarette smoking habit	142	10
	-ve cigarette smoking habit	16	42
Non-diabetic control group	+ve cigarette smoking habit	53	60
	-ve cigarette smoking habit	50	47

betic patients and 47.14% of the controls. Mild, moderate and severe gingivitis was found in 48.10%, 21.90% and 8.09% of the diabetic patients, and 30.95%, 18.10% and 3.81% of the non-diabetic control, respectively. There were no signs of periodontitis in 24.76% and 50.95% of the diabetic patients and non-diabetic control respectively; whereas 50.95%, 19.05% and 5.24% of the diabetic patients, and 30%, 17.14% and 1.91% of the controls showed signs of grade 1, 2 and 3 periodontitis, respectively.

Table 6 illustrates the number of patients with positive and negative findings of all the three parameters: diabetes, smoking and periodontitis. The total number of patients with any form of periodontitis was found to be 158 among the diabetic group and 103 among the controls. One hundred and forty two (89.87%) diabetic patients and 53 (51.45%) non-diabetic controls with a history of cigarette smoking were found to be affected by periodontal disease. The OR of periodontal problems was 37.27 with 95% CI (34.90 to 39.64) in cigarette smokers when compared with non-smokers among the diabetic patients. In comparison, the OR

value was close to 1 (OR = 0.83; 95% CI, -0.89 to +2.55) in the non-diabetic control group indicating the strong association between cigarette smoking and periodontal problem in diabetic patients.

Furthermore, logistic regression analysis was conducted with controlling the demographic and oral variables. Significant effects of smoking were observed on periodontitis in the diabetic group, thereby strongly suggesting the association between cigarette smoking and periodontal disease in the diabetic group; however, no statistically significant association were found between the two in the non-diabetic control group (Table 7).

Result of the logistic regression analysis revealed associations between age and periodontal disease in the non-diabetic group. Furthermore, xerostomia was found to be associated with periodontal disease in both diabetic and non-diabetic groups; however, contrary to that seen in the control group, xerostomia appeared to decrease in periodontitis in the diabetic patients. Calculus was found to negatively affect the periodontal tissue in the non-diabetic individuals. No

**Table 7 :** Logistic regression analysis for demographic and oral variables.

	Diabetic patients		Non Diabetic control	
	OR	95% CI	OR	95% CI
Age	1.00	0.96–1.03	0.97*	0.95–0.99
Female	0.80	0.25–2.54	0.64	0.34–1.21
Calculus	3.58	0.85–15.05	2.32*	1.28–4.22
Candidosis	0.59	0.20–1.72	1.38	0.6–3.18
Xerostomia	0.16*	0.05–0.58	6.92*	1.3–36.93
Dentalcaries	0.50	0.14–1.81	0.92	0.49–1.73
Smoking	87.89*	26.00–297.03	0.674	0.37–1.22

OR=odd ratio ; CI=confidence interval ; \* = $p<0.05$

statistically significant associations were observed between gender, dental caries and candidiasis and periodontal disease in both the groups.

## Discussion

The results of the present study demonstrated that the habit of smoking poses a much higher risk for periodontal disease in diabetic patients than in healthy individuals. An OR value of 37.27 (95% CI, 34.90 to 39.64) in the diabetic group indicates that cigarette smoking was strongly associated with periodontal diseases in the diabetic group. On the other hand, the OR value in the non-diabetic control group (OR = 0.83 ; 95% CI, -0.89 to +2.55) indicated that the habit of smoking did not pose as a significantly high risk for the individuals in this group. In the present study, 89.87% of the diabetic patients diagnosed with periodontal diseases had a history of cigarette smoking when compared with their counterparts in the non-diabetic group (51.45%). After controlling for demographic and oral variables, the result of the logistic regression analysis demonstrated statistical significance between cigarette smoking and periodontal disease in the diabetic patients, thus suggesting that cigarette smoking is one of the most important contributing factors in periodontal disease.

Habitual smoking and diabetes are local and general risk factors, respectively, for periodontal disease (Hugoson et al., 1989 ; Al-Maskari et al., 2011). Smoking has been shown to be a risk indicator for periodontal diseases (Grossi et al., 1995). Nevertheless, the interaction between these two risk factors and periodontal disease is not fully understood. There are conflicting data regarding periodontal disease and smoking in patients with type 1 diabetes. Although cigarette smoking was a major risk factor for periodontal problems, there was no significant difference in the risk between type 1 diabetes patients and healthy individuals in a population-

based study conducted in the USA (Haber et al., 1993). In contrast, another study conducted in the same country reported cigarette smoking as a major risk factor in type 1 diabetes patients when compared to healthy individuals (Moore et al., 1999). A recent study in Saudi Arabia demonstrated that periodontal severities were higher in type 2 diabetic patients with smoking habits when compared with healthy individuals who smoked (Javed et al., 2015). In the present study, we evaluated the periodontal status of habitually smoking diabetic patients in a Nepalese population and confirmed that the cigarette smoking posed a much higher risk in these patients when compared with healthy individuals within the same population. However, we did not distinguish between the type 1 and 2 diabetic patients in this study. Further investigations are needed to assess and compare the effects of smoking between the different types of diabetic patients.

Cigarette smoking is one of the several factors that govern the periodontal status. Both cigarette smoking and alcohol consumption are known to adversely affect the oral microflora. Tobacco chewing is one of the established risk factors for the development of periodontal disease in healthy as well as health compromised individuals (Parmar et al., 2008). In addition, a majority of the Nepalese people do not visit the dentist regularly (Wagle et al., 2014). In the present study, xerostomia, oral candidiasis and dental caries were commonly observed in a higher proportion of the diabetic patients when compared with the healthy individuals, and were in accordance with the findings of earlier investigations regarding xerostomia in diabetic patients (Sreebny et al., 1992 ; Ben-Aryeh et al., 1993). Furthermore, statistical evaluation demonstrated inverse correlations between xerostomia and periodontitis in the diabetic patients in the present study. Hyposalivation is one of the risk factors for periodontitis (Al-Maskari et al., 2011) and is known to cause xeros-

tomia ; yet, xerostomia is only a subjective symptom in these patients regardless of reduced salivary flow (Hopcraft and Tan, 2010). It has been shown that patients with diabetic neuropathy may present with increased or decreased salivary flow rate (Lamey et al., 1984 ; Sreebny et al., 1989), which may be attributed to normal variations in salivary function, duration of illness in the individual studied, and limited sample size (Lamey et al., 1984). The decrease in periodontitis in diabetic patients with increased xerostomia may be due to variation in salivary flow rate among the individuals in the present study. Besides cigarette smoking several other factors such as heredity, stress, socio-economic factors, decreased immunity, poor nutrition, hormonal changes govern periodontal status of an individual (Genco & Borgnakke 2013). These cofounding factors always play an important and contributory role in the disease process. However, further studies are required to clearly understand the mechanisms by which these factors affect the periodontal status.

In conclusion, the present study shows that smoking poses a much higher risk for periodontal disease in diabetic patients than in healthy individuals among the Nepalese population. Besides cigarette smoking, many other risk factors associated with diabetes may be involved in the occurrence and progression of periodontal problems. However, the mechanisms involved in the associations between these factors and smoking remain unclear, thus meriting further investigations.

### Acknowledgement

We acknowledge the contribution of physician Dr. R. Pradhananga (MBBS, MD, Kastamandap Polyclinic) for his valuable effort and sending his diabetic patient for dental examination and data collection.

**Competing interests :** The authors declare that they have no competing interests.

**Author's contribution :** BRA, MS and YA conceived the idea and wrote the manuscript, BRA and MS did the clinical examination and data collection, HM, OU, IC did the statistical analysis, TM, FH, ABD, MRH, TS, HN and YA contributed for the literature review. All authors read and approved the final draft of the manuscript.

### References

1. Abrar A, Chowdhury KN, Rahman MH, Rauf BM, Asad AKM, Zahura MFKT, Islam MS. Management of dental health problem of diabetic patients attending in selected private dental clinic in Dhaka city. *Bangladesh Journal of Dental Research and Education* : 05(2), July 2015.
2. Al-Maskari AY, Al-Maskari MY, Al-Sudairy S. Oral Manifestations and Complications of Diabetes Mellitus A review. *Squ Med J* 11(2) : 179-86, May 2011.
3. Ben-Aryeh H, Serouya R, Kanter Y, Szargel R, Laufer D. Oral health and salivary composition in diabetic patients. *J Diabetes Complications* 7(1) : 57-62, 1993.
4. Bergstrom J. Cigarette smoking as a risk factor in chronic periodontal disease. *Community Dent Oral Epidemiol* ; 17 : 245-247, 1989.
5. Demmer RT, Holtfreter B, Desvarieux M, Jacobs Jr DR, Kerner W, Nauck M, Volzke H, Kocher T. The Influence of Type 1 and Type 2 Diabetes on Periodontal Disease Progression Prospective results from the Study of Health in Pomerania. *Diabetes Care* 35 : 2036-2042, 2012.
6. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. American Diabetes Association. *Diabetes Care*, Vol 36, supplement 1, January 2013.
7. Ekstrand KR, Improving clinical visual detection – potential for caries clinical trials. *J Dent Res* 83 (Spec Iss) : c67-c71, 2004.
8. Faggion CM Jr, Cullinan MP, Atieh M . An overview of systematic reviews on the effectiveness of periodontal treatment to improve glycaemic control. *J Periodontal Res.* doi : 10.1111/jre.12358, 2016 Feb 23.
9. Genco RJ & Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontology* 2000 ; 62 : 59-94, 2013.
10. Giovino GA, Mirza SA, Samet JM, Gupta PC, Jarvis MJ, Bhala N, Peto R, Zatonski W, Hsia J, Morton J, Palipudi KM, Asma S. Tobacco use in 3 billion individuals from 16 countries : an analysis of nationally representative cross-sectional household surveys. *The Lancet* 380 : 668-679, August 18, 2012.
11. Grossi SG, Genco RJ, Machtet EE, Ho AW, Koch G, Dunford R, Zambón JJ and Hausmann E. Assessment of Risk for Periodontal Disease. II. Risk Indicators for Alveolar Bone Loss. *J Periodontal* 66(11) : 1995.
12. Haber J, Wattles J, Crowley M, Mandell R, Joshipura K, Kent RL. Evidence for cigarette smoking as a major



- risk factor for periodontitis. *J Periodontol* 61(1) : 16–23, January 1993.
13. Hopcraft MS, Tan C. Xerostomia : an update for clinicians. *Aust Dent Journal* ; 55(3) : 238–244 ; quiz 353, 2010.
  14. Hugoson A, Thorstensson H, Falk H and Kuylenstierna J. Periodontal conditions in insulin–dependent diabetics. *Journal of Clinical Periodontology* 16(4) : 215–223, 1989.
  15. Jain S and Saraf S. Type 2 diabetes mellitus – Its global prevalence and therapeutic strategies. *Diabetes Metab Syndr* 4 : 48–56, 2010.
  16. Javed F, Al–Kheraif AA, Salazar–Lazo K, Yanez–Fontenla V, Aldosary KM, Alshehri M, Malmstrom H and Romanos GE. Periodontal inflammatory conditions with and without type 2 diabetes mellitus. *J Periodontol* 86(7) : 839–849, July 2015.
  17. Kakoei S, Hosseini B, Haghdoost AA, Sanjari M, Gholamhosseinian A, Afshar VFN. Evaluation of Salivary Secretory Immunoglobulin A Levels in Diabetic Patients and Association with Oral and Dental Manifestations. *Sultan Qaboos University Med J* 15(4) : e507–511, November 2015.
  18. Lamey PJ, Fisher BM, Frier BM. The effects of diabetes and autonomic neuropathy on parotid salivary flow in man. *Diabet Med* 3 : 537–40, 1984.
  19. Laura Coronado–Castellote, Yolanda Jimenez–Soriano. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. *Journal of clinical experimental Dentistry* ; 5(5) : e279–86, 2013.
  20. Loe H. Periodontal disease : The sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care* ; 16 : 329–34, 1993.
  21. Ministry of Health and Population [Nepal], Non communicable diseases risk factors, STEPS survey Nepal 2013. Kathmandu : Ministry of Health and Population ; 2014.
  22. Moore PA, Weyant RJ, Mongelluzzo MB, Myers DE, Rossie K, Guggenheimer J, Block HM, Huber H, Orchard T. Type 1 diabetes mellitus and oral health : Assessment of periodontal disease. *J Periodontol* 70(4) : 409–417, 1999.
  23. Moore PA, Zgibor JC, Dasanayake AP. Diabetes : A growing epidemic of all ages. *J Am Dent Assoc* 134 : 11–15, 2003.
  24. Parmar G, Sangwan P, Vashi P, Kulkarni P, Kumar S. Effect of chewing a mixture of areca nut and tobacco on periodontal tissues and oral hygiene status. *J Oral Sci* 50 : 57–62, 2008.
  25. Sreebny LM, Valdini A, Yu A. Xerostomia. Part II : Relationship to nonoral symptoms, drugs, and diseases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 68 : 419–27, 1989.
  26. Sreebny LM, Yu A, Green A, Valdini A. Xerostomia in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 15(7) : 900–904, 1992.
  27. Wagle M, Trovik TA, Basnet P and Acharya G. Do dentists have better oral health compared to general population : a study on oral health status and oral health behavior in Kathmandu, Nepal. *BMC Oral Health* 14 (23), 2014.
  28. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global Prevalence of Diabetes Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care* 27(5) : 1047–1053, May 2004.
  29. World Health Organization. Global Prevalence of Diabetes : Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030. Geneva : World Health Organization, 2009.



Bhoj Raj Adhikari

1981 : Birth, Jhapa, Nepal  
 2007 : Graduated from Tribhuvan University (Bachelor of Dental Surgery)  
 2011 : Dental Surgeon, School of Dentistry, Kathmandu University, Nepal  
 2015 : Graduate Student, Division of Oral Medicine and Pathology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Japan



## 〔症例報告〕

## 施設間連携により専門的口腔ケアを実施した外胚葉異形成症の1例

廣瀬 知二<sup>1)</sup>, 須田 裕里佳<sup>2)</sup>

1) 医療法人伊東会 伊東歯科口腔病院

2) 医療法人博愛会 額田病院

## A interfacility collaboration case study of professional oral health care in ectodermal dysplasia

Tomoji HIROSE, Yurika SUDA

1) Itoh Dento-Maxillofacial Hospital

2) Kaita Hospital

Key words : Interfacility collaboration, Ectodermal dysplasia, Metal allergy

## Abstract

Disciplined oral care for a female patient (age in the fifties) suffering from ectodermal dysplasia involving metallic allergies and chronic eczema, undertaken with a combination of treatment at a hospital and a dental care facility led to early improvements of the oral environment.

In facilities/hospitals outside the dental department, cases where dental hygienists are specifically assigned are becoming increasingly more common. It is shown that it is desirable to coordinate more closely with dental care facilities.

## 緒 言

外胚葉異形成症は汗腺の欠如ないし低形成、歯の先天欠損や形成不全、乏毛を主症状とし、乾燥してなめらかで軟らかい皮膚と鞍鼻、アトピー性皮膚炎を伴う遺伝性疾患である。今回、金属アレルギーを有し慢性湿疹を伴う外胚葉異形成症患者に対して、施設間連携により口腔衛生管理を行った結果、口腔環境が改善した症例を経験したので、文献的考察を加えて報告する。

## 症 例

患者：50歳代女性

歯科初診：201X年10月

主訴：口腔内の精査

家族歴：聴取した範囲内では両親に血族結婚はなく、血族者の先天性異常は確認できなかった。

現病歴：出生時より発汗がなく、湿疹がでやすかった。また、詳細は不明であるが歯科疾患のため通院を繰り返していた。幼少期より両眼の視力が徐々に低下して

右眼の視力を失った。成人後関節リウマチと変形性膝関節症を併発し、しだいに歩行困難となり在宅での療養を続けていた。その間、某大学病院で無汗型外胚葉異形成症、シェーグレン症候群との診断を受けた。膝の痛みが強くなったため、201X年8月下旬A病院に入院。同年9月上旬にB病院に転院して左膝関節置換術施行。術前のパッチテストの結果、金属アレルギー（亜鉛、ニッケル、水銀、スズ、イリジウム）と診断された。そのため、関節置換術には該当金属を含有しないチタン合金製の人工関節が用いられた。術後経過良好であったため同年9月下旬、リハビリ目的で額田病院に転院となった。額田病院には歯科がないため同年10月、歯科修復物と金属アレルギーとの関連について精査を求めて（医）康和会アイ歯科医院の歯科訪問診療を受診した。

## 現 症

口腔外所見：皮膚は乾燥しており乏毛、鞍鼻（図1）、手掌部の幅が小さく、母指と小指は先端が肥大した特徴的な手指の形態を呈し（図2）、指紋の欠如が認められ

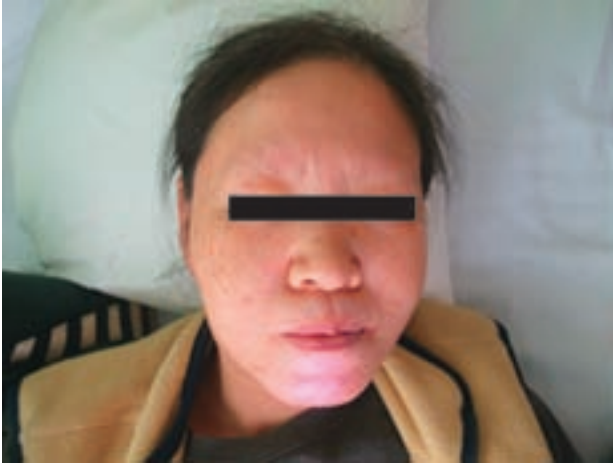
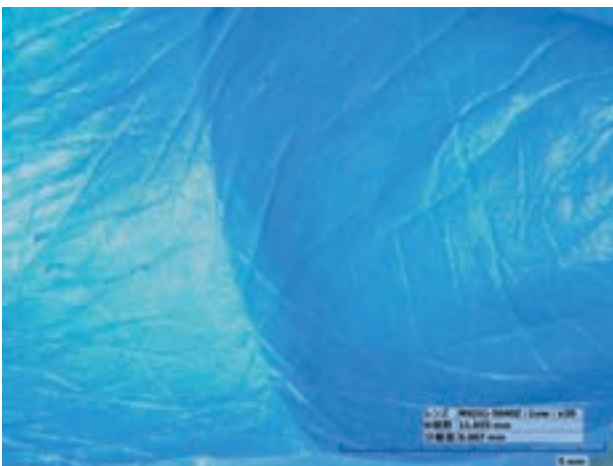


図1. 顔貌正面像  
皮膚はなめらか, 乏毛, 鞍鼻を認める.



図2. 左手背像  
特徴的な手指の形態を呈している

た(図3). 右眼は視力を失っており, 左目は弱視であった. 臀部, 足底, 肘に湿疹が見られた(図4). 食



(a)

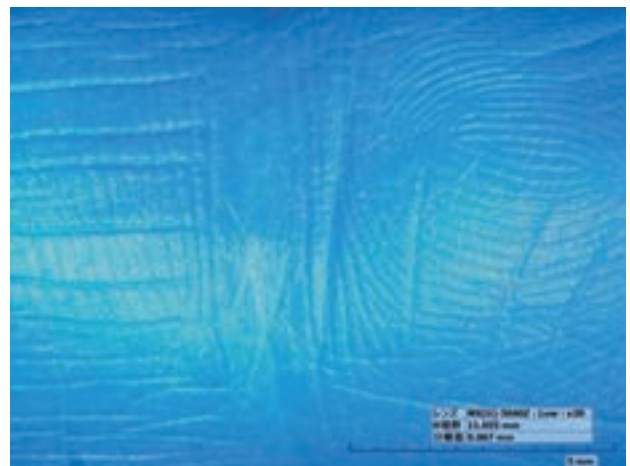
図3. 右示指印象面の実体顕微鏡像  
(a) 患者: 指紋の欠落を認める,  
(b) 同年齢健常女性.



図4. 初診時臀部: 紅斑, 一部湿潤を呈した湿疹がみられる.

事は普通食の自力摂取が可能であった.

局所所見: 口唇部の乾燥は認められたが, 口唇周囲などに炎症所見は認められなかった. 口腔内も乾燥傾向にあったが, 金属アレルギーとの関連を疑う口腔扁平苔癬や粘膜の糜爛は認められず, 口腔内違和感の訴えもなかった. 上顎には<sup>64145</sup>にマグネットアタッチメントを使用したオーバーデンチャータイプの総義歯が装着されていた. 下顎は<sup>7654321</sup>と<sup>8567</sup>に金銀パラジウム合金と見られる銀白色の金属ブリッジによる欠損補綴がなされていた. 口腔内のセルフケアは十分に行われておらず, 残存歯, ブリッジのポンティック, 義歯ともにブラック沈着が認められ辺縁歯肉の発赤腫脹と義歯床下粘



(b)





図5. 初診時 (a) 口腔内.

(b) 上顎義歯粘膜面：プラークコントロールは不十分で、辺縁歯肉の発赤腫脹と義歯床下粘膜の発赤を認める。

膜の発赤を認めた (図5)。また10歯にわたり根管治療が施されていることがエックス線写真により確認された (図6)。

臨床診断： $\frac{6}{8} \frac{4}{5} \frac{1}{2} \frac{4}{5} \frac{7}{7}$  慢性辺縁性歯周炎，義歯性口内炎  
経過：慢性湿疹に対しては，皮膚科医により臀部には炎症性皮膚疾患治療剤アズノール軟膏<sup>®</sup>，足底にはアズノール軟膏を主体として糜爛部にのみプロスタグランジンE<sub>1</sub>製剤プロスタンディン軟膏<sup>®</sup>，肘には副腎皮質ホルモン剤アンテベート軟膏<sup>®</sup>を用いた治療が行われた。また，入院当初より2週間，アレルギー用薬アレジオン<sup>®</sup> (20mg) 1錠/日 (就寝前) が内服処方された。歯科介入は，入院期間中週1回歯科医師が訪問診療を行い，残存歯のスクリーニングを実施した。また歯科医師の指示に基づき病院所属歯科衛生士が週4回の専門的口腔ケアを実施した。その手順は，まず毎食後患者自身がブラッシ

ング，義歯清掃を行い，歯科衛生士は患者自身が昼食後ケアを行った後に介入，歯ブラシの当て方等適宜指導した。その後，歯科衛生士がワンタフトブラシ，歯間ブラシで仕上げ磨きを行い，義歯に汚れが残っている場合は義歯清掃も行った。介入後，口腔衛生状態は改善して歯肉の症状は緩解した (図7，表1)。また，リハビリテーションも順調に経過し湿疹も改善傾向が見られたため (図8)，同年12月下旬に退院した。

## 考 察

外胚葉異形成症 (Ectodermal dysplasia) は，無汗症，乏毛，歯の先天欠如に加え，全身の外胚葉系組織障害を呈する疾患として1838年にWidderbrumにより報告された (藤田ら，1991)。その後，Weechは外胚葉系組織障害を有すること，また遺伝的傾向があることから遺伝性

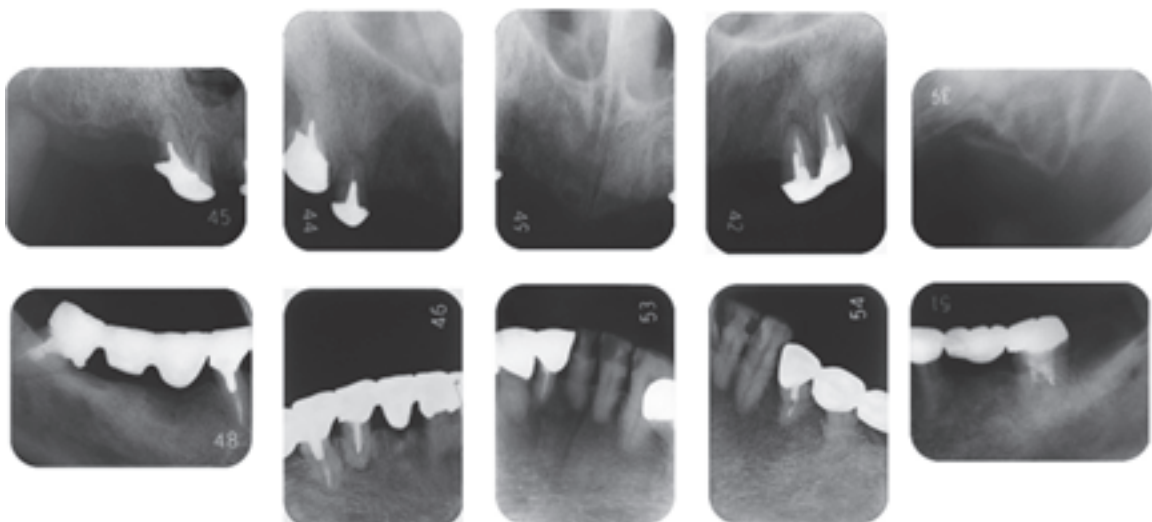


図6. 初診時のデンタルエックス線写真



図7. 専門的口腔ケア開始2週間後の口腔内

表1. 歯周検査表：歯周組織検査表：専門的口腔ケアの介入後に歯周ポケットの改善を認める。

初診時

上顎	動揺度			0	0								1	1				
	ポケットの深さ			4	4								4	4				
	BOP			-	-								-	-				
		8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8	
下顎	ポケットの深さ	5			3	3			3	3	3	3	3	3			5	
	動揺度	0			0	0			0	0	0	0	0	0			0	
	BOP	-			-	-			-	-	-	-	-	-			-	

専門的口腔ケア開始 2週間後

上顎	動揺度			0	0								0	0				
	ポケットの深さ			3	3								3	3				
	BOP			-	-								-	-				
		8	7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8	
下顎	ポケットの深さ	4			3	2			2	2	2	2	3	3			4	
	動揺度	0			0	0			0	0	0	0	0	0			0	
	BOP	-			-	-			-	-	-	-	-	-			-	



図8. 専門的口腔ケア開始2週間後の唇部：紅斑，湿潤の改善がみられる。

外胚葉異形成症 (Hereditary ectodermal dysplasia) と命名した (Weech, 1929). 遺伝様式や形質から, 便宜的に外胚葉異形成症は無汗型, 減汗型, 有汗型の3つに分類されており, それぞれの原因遺伝子が異なることが明らかにされている (田畑, 2004). いずれも歯の欠損や形態異常が生じるため歯科領域での報告が多くみられる (渡辺ら, 1976; 野中ら, 1996; 大澤ら, 1998). その中で無汗型外胚葉異形成症 (Ectodermal dysplasia anhidrotic: EDA) は, 外胚葉異形成症のなかで最も症例の多い疾患である. 歯の欠如は, 数歯より全歯まで程度に差があり, 歯があっても形やサイズの異常を伴うことが多い. 自験例は患者が50歳代であることから, 歯の欠損が先天的なものであるか, 後天的であるのかは明らかにできなかったが, 幼児期より頻回に歯科疾患のため通院していたことから何らかの先天的異常があったことが推測できる. 歯周組織の衛生状態が不良であったことは, 直接外胚葉異形成症に起因するものではない. 歯の先天的異常の結果として施された補綴物周囲のセルフケアが, 視力障害もあって困難なため口腔清掃状態の不良につながったものと考えられる.

また, 本疾患はX連鎖性劣性遺伝を示し (野中ら, 1996; 大澤ら, 1998), 原因遺伝子がXq12.2-q13.1であることが明らかにされている (Thomas et al., 1993). X染色体の異常により発症することから男性に比べ, 女性の発症率は極めて低いはずであるが, 過去の報告例では発生の男女比が27:10 (渡辺ら, 1976), 3:1 (大澤ら, 1998) のように, 圧倒的少数ではない. この理由として, 無汗型と減汗型を区別せずに論じているケースが多いことが挙げられる. また女性の保因者がヘテロ個体でも汗腺の低形成部と正常部がモザイク状にあらわれるキメラ現象により部分症状を呈することがあり (田畑, 2004), そのケースを含む場合や, 無汗型に似た症状を呈する常染色体優性遺伝の症例が含まれている可能性がある. 本症例の場合は血縁者に同様の症状を有する者はなく, 遺伝形成については明らかではなかった.

外胚葉異形成症患者の金属アレルギー発症については, 合併の頻度, 病態等の調査報告は, 著者らが蒐集した文献には見あたらなかった. その一方, アトピー性皮膚炎, 鼻炎, 喘息, 食物アレルギーについては, 経験的及びアンケート調査により合併しやすいことが知られており (加藤ら, 2014), とくにアトピー性皮膚炎については必発と言われている (今山ら, 1994). その理由として, 汗腺, 脂腺, 表皮の形成不全によるバリアー機能の低下, IgA機能の分泌低下が考えられている (加藤ら, 2014). IgAのなかでs-IgAはプラズマ細胞 (形質細

胞) から分泌される免疫グロブリンで、粘膜免疫の主役であり、消化管や呼吸器における免疫機構の最前線として機能している。アトピー性皮膚炎患者では健康人に比較してs-IgAの分泌が著明に低下していることが報告されている(今山ら, 1994)。また、Veienらは(Veien et al., 1983)、「金属アレルギーの一部の患者では口腔粘膜や消化管から体内に吸収される微量歯科金属により、さまざまな発疹が惹起される」と報告している。以上のことより、歯科用金属が、粘液中のs-IgAの分泌が低下した口腔粘膜や消化管粘膜から吸収され、血行性に全身に運ばれ、到達した部位で皮膚炎を惹起するものと考えられる(高, 2011)。

健康保険適応の金銀パラジウム合金は、ほとんどの製品が12Au-20Pd-10~20Cu-45~55Ag (mass%) 他であり、銀を主成分として、パラジウム、銅、金を含み、鑄造時の脱酸材として亜鉛、結晶粒微細化を目的にイリジウムが添加された合金である(小田, 2002)。歯科金属アレルギーは口腔内の金属が原因であるにもかかわらず、症状は口腔内にほとんど発症せず、口腔内から遠隔の皮膚に発症することがきわめて多いと報告されている(高, 2011)。本症例においても口腔内に金属アレルギーの関与を示す症状はみられないものの、金銀パラジウム合金にアレルゲンである亜鉛、イリジウムが含まれることから湿疹の原因としての関与が疑われた。また根管充填に使用される薬剤は亜鉛を含むものが多いため、その関与も疑われた(野村ら, 2004)。しかしながら、これらの歯科材料を全て取り除くには大きな時間的、経済的負担となること、除去後に症状が悪化するフレアアップが予想されることから、保存的治療を行った。金属アレルギーはイオン化した金属がハプテンとなり、蛋白と結合して完全抗原となる。その結果、体内で抗原・抗体反応が起こり、抗体を獲得すると再度、抗原と接触することにより、アレルギー症状を現すことになると考えられている(服部, 2015)。本症例では、湿疹に対して皮膚科医師による治療が奏功した。それに加えて、当初金属とプラークが接触していたため、pHが低い環境下で金属のイオン化が進行して抗原が生産されやすい状態であったが、口腔衛生管理によりイオン化する金属量が減少した結果、抗原量も減少してアレルギー症状の改善につながった可能性も考えられる。

今回、歯科がない病院に入院中の患者に対して、歯科医療機関と病院所属の歯科衛生士との連携により、病院と歯科医療機関との連携により専門的口腔ケアを実施した。2014年の統計によれば、国内の一般病院総数は7426、うち1106の病院が歯科を標榜している。その割合

は近年、横ばい傾向にある(厚生労働省, 2015a)。歯科がない病院や老人保健施設には近隣の歯科医療機関から、歯科医師や歯科衛生士が訪問により口腔機能管理を担っているケースが多い(岡江, 2014; 廣瀬, 2014)。一方、病院に勤務する衛生士は増加傾向にあり(厚生労働省, 2015b)、歯科がない病院に歯科衛生士が配置されるケースが増加していることがうかがえる。歯科がない病院での歯科衛生士は、訪問診療のために来院した歯科医師が院内で活動しやすいように連携窓口となり、医科歯科連携の体制を整備すること、また、医科の情報を歯科医師に、歯科の情報を院内に伝えるといった橋渡しの役割を担うことになる(赤坂ら, 2015)。一方、現行法体系下において、日常的な口腔ケアについての保健指導ではなく、歯科医療として歯科衛生士が行う口腔ケアは歯科診療の補助業務に相当するため歯科医師の指示が必要となる。また、歯科衛生士の業務は「診療の補助」ではなく、「歯科診療の補助」に限定されているため(厚生労働省, 2011)、医師の診療の補助は業務外となる。今後、歯科医療機関との連携をさらに密にすることにより、より患者の状況の応じた口腔衛生管理の提供が、歯科がない病院に勤務する歯科衛生士に求められると考える。

## 結 語

歯科がない病院に入院した、金属アレルギーの関与が疑われる湿疹を伴う外胚葉異形成症患者に対して、歯科医療機関所属の歯科医師と病院所属の歯科衛生士が施設間連携により専門的口腔ケアを実施した。その結果、金属アレルギーの関与は明らかでなかったが、患者の口腔環境が早期に改善した。歯科がない病院や介護施設に歯科衛生士が配属されるケースが増えつつあり、今後歯科医療機関とのより密接な連携が望まれる。

## 謝 辞

(医) 康和会在職中ご指導を賜りました柴田康会長に心から感謝申し上げます。

## 文 献

- 赤坂幾子, 畠山良彦, 高橋良明, 曾根克明, 星野彰, 北村道彦, 遠藤秀彦. 医科歯科連携・チームで取り組む口腔ケア推進活動. 日クリニカルパス会誌 17: 334-337, 2015.
- 藤田幸雄, 横田光正: 外胚葉異形成症. 顎口腔外科診断治療体系, 講談社: 1991, 500-501.
- 服部正巳. 口腔内金属アレルギー研究. Dental Maga-



- zine 107:56-63, 2015.
- 廣瀬知二. 介護老人保健施設での歯科と多職種連携. 歯科医療 28(2):19-25, 2014.
- 今山修平, 行徳隆裕. 無汗性外胚葉形成不全症とアトピー性皮膚炎. 皮膚病診療 16:691-694, 1994.
- 加藤恒平, 西澤綾, 佐藤貴浩, 横関博雄. 無汗性外胚葉形成不全症患者に対するアンケート調査-アトピー性皮膚炎の合併との関連について-. 発汗学 21:23-27, 2014.
- 高永利. 歯科金属アレルギー治療を考える. Quintessence 30:2531-2543, 2011.
- 厚生労働省. チーム医療推進のための基本的な考え方と実践的事例集. 2011.
- 厚生労働省. 平成26年医療施設(静態・動態)調査・病院報告の結果. 2015a.
- 厚生労働省. 平成26年衛生行政報告例(就業医療関係者)の結果. 2015b.
- 野村修一, 橋本明彦. 歯科用金属アレルギーの臨床. Niigata Dent. J 4:1-10, 2004.
- 野中和明, 西嶋憲博, 石井光治, 山崎要一, 佐々木康成, 中田稔. 無汗型外胚葉異形成症の患児の歯科治療と咀嚼運動検査. 小児歯誌 34:698-706, 1996.
- 小田豊. 代用合金開発の可能性. 補綴誌 46:639-643, 2002.
- 岡江晃児. がん患者における医科歯科連携-医療ソーシャルワーカーの立場から-. 歯科医療 28(2):12-18, 2014.
- 大澤雅輝, 野村城二, 松村佳彦, 中川俊幸, 乾真登可, 田川俊郎. 低汗型外胚葉異形成症の一例および本邦での20年間における文献的考察. 日口診誌 11:92-97, 1998.
- 田畑純. 外胚葉異形成症の原因遺伝子群-歯の発生におけるその役割と最近のトピックス-. 鹿児島大学歯学部紀要 24:53-61, 2004.
- Thomas NS, Chelly J, Zonana J, Davies KJ, Morgan S, Gault J, Rack KA, Buckle VJ, Brockdorff N, Clarke A & Monaco A. Characterisation of molecular DNA rearrangements within the Xq12-q13.1 region, in three patients with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia (EDA). Hum Mol Genet 2:1679-1685, 1993.
- Weien NK, Hattle T, Justesen O & Nørholm A. Oral challenge with metal Salts(I) Vesicular patch-test-negative hand eczema. Contact Dermatitis 9:402-406, 1983.
- 渡辺義男, 西嶋克巳, 植田寛治, 池田剛, 大橋茂, 横山里江. 永久歯の全部性無歯症を伴った無汗型外胚葉異形成の1例. 口科誌 15:33-45, 1976.
- Weech AA. Hereditary ectodermal dysplasia (congenital ectodermal defect). Am J Dis Child 37:766-790, 1929.



廣瀬 知二  
伊東歯科口腔病院

1960年生まれ, 大分県出身  
1985年 東日本学園大学歯学部卒業  
1989年 広島大学大学院歯学研究科  
(歯科理工学専攻) 修了  
1994年~2015年3月(医) 康和会勤務  
2015年4月~ 伊東歯科口腔病院訪問診療部長  
現在に至る



## [REVIEW]

## General Introduction of Dental Education in Universitas Indonesia

Citra Fragrantia THEODOREA<sup>1,2</sup>, Izumi MASHIMA<sup>1,3</sup>, Futoshi NAKAZAWA<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido,<sup>2</sup>Department of Oral Biology, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia,<sup>3</sup>Postdoctoral Fellow of Japan Society for the Promotion of Science**Key words** : Indonesia, Dental education, Curriculum, Universitas Indonesia**Abstract**

As the world's fourth most populous country, Indonesia has a major concern with improving the quality of life. According to the Human Development Index, the quality of life index of Indonesians changed from a value of 0665 in 2010 to a value of 0684 in 2014. As compared to other countries, Indonesia was still in the intermediate category, which indicates that Indonesians' quality of life did not improve from year to year. The low quality of life can be seen in the low income and poor health problems of many Indonesians. One of the health problems that frequently occur in Indonesia is

the poor oral health status. Indonesia has diverse, numerous islands and a pluralistic culture, resulting in dental care disparities between geographic areas. Therefore, professional and skilled dentists are required in Indonesia. However, to yield the quantity and quality of dentists required by the condition of Indonesian society, the dental education system should be comprehensive and integrated. This paper shares some basic information about dental education in Universitas Indonesia, including academic courses, admission requirements, curriculum, and tuition fees.

**1. Indonesia**

Indonesia is the world's largest archipelagic state. It consists of approximately 17,508 islands and is divided into 34 provinces. The population in Indonesia was 237.6 million according to 2010 census data. This makes Indonesia the fourth most populous country in the world after China, India, and the United States of America. Indonesia lies along the equator ; therefore, it has a tropical climate. Furthermore, Indonesia has significant diversity of culture due to differing geographical regions, histories, and ethnic groups. This causes all sorts of problems, such as problems in transport and communications. These problems can increase the lack of oral health care awareness among the public.

**2. Oral Health Problem in Indonesia**

According to the 2013 national report on basic health research (Riset Kesehatan Dasar/RISKESDAS), 53.2% of the population—93,998,727 individuals—have active caries. In addition, dental caries tends to be more prevalent and tooth de-

cay tends to exist to a higher degree among older individuals. The data showed that 17.6% of Indonesians aged 65 or older had lost all their teeth. This percentage is far from the WHO target of less than 5% edentulous for 2010 and indicates that oral health care awareness among the public is lacking.

**3. Dentist Distribution in Indonesia**

Disparities in the geographical distribution of dentists remain a major concern and especially affect low-income populations in rural areas. Hence, this is a significant issue affecting quality of life in Indonesia. According to the Indonesian Medical Council, there are 17,252 registered dentists in the country. In other words, only 2.4 dentists were available for every 30,000 individuals, which is far less than number that Indonesian community health centers need to provide. Therefore, to get sufficient professional and skilled dentists, the education system in dental schools needs to be reformed.

In 2003, education systems in Indonesia were changing

because of globalization. Therefore, the government released a new system of national education (based on Undang-Undang No. 20 tahun 2003). This required national standards for the educational system throughout Indonesia. It also stated (article 35) that national education standards should cover content standards, processes, competence of graduates, staff, facilities and infrastructure, management, financing, and assessment of education, which must be improved in a planned and periodic manner. These standards are used as a reference in the development of curriculum, staff, facilities and infrastructure, management, and financing.

The Faculty of Dentistry in Universitas Indonesia was the first dental school in Indonesia that was very responsive to these new criteria. In 2003, the faculty established the competence-based curriculum, based upon problem-based learning (PBL) and a multidisciplinary integrated approach. There are few published papers on the dental education system in Universitas Indonesia. Here, we attempt to remedy this with a general review of the current dental education system in Universitas Indonesia, hoping to provide some basic information for readers.

#### 4. Universitas Indonesia

Universitas Indonesia is internationally recognized as one of Asia's top universities. It ranks 1<sup>st</sup> in Indonesia, 79<sup>th</sup> in Asia, and 358<sup>th</sup> among world universities (QS World University Rankings 2015/16). Founded in 1849, UI is one of the oldest universities in Asia, and it is steadily growing into a modern center for a sophisticated multi-cultural community. Currently, a number of disciplines are covered in three clusters: The Technology Sciences cluster (Faculty of Mathematics and Natural Sciences), Social sciences and humanities cluster (Faculty of Economics, Law, Social Sciences, Political Sciences, Psychology and Humanities) and Health Sciences (Faculty of Medicine, Faculty of Dentistry, Faculty of Nursing, School of Public Health and Faculty of Pharmacy).

### 5. Faculty of dentistry in Universitas Indonesia

#### 5.1. The History of Dental Education

The faculty of dentistry in Universitas Indonesia was the fourth dental school in Indonesia. It was established in Jakarta in 1960 by the Minister of Education and Culture's Decree No. 108049, dated December 21, 1960. Today there are at least 30 dental schools in Indonesia. The faculty of dentistry has been accredited at level A by the Indonesian

board of national accreditation (Badan Akreditasi Nasional / BAN) because of its history, facilities, educational quality, and research achievement.

The faculty of dentistry has 11 departments: Public Health and Preventive Dentistry, Dental Material, Oral Biology, Radiology Dentistry, Oral and Maxillofacial Surgery, Conservation Dentistry, Oral Medicine, Orthodontics, Pediatric Dentistry, Periodontology, and Prosthetic Dentistry.

#### 5.2. Degree Program

Five types of degree are currently offered in the dental school Bachelor of Dentistry (SKG) degree, Dentist Profession (drg), Master of Science (M.Si) degree, Doctor of Philosophy (Dr.) degree, and Specialist degree.

##### 5.2.1. Bachelor of Dentistry degree

The program comprises two stages; there is an academic program with bachelor of dentistry degree and a graduate degree program with the dentist profession. The dentist profession program is a terminal one; therefore, all graduates are expected to become dentist. The five-year bachelor of dentistry degree is similar to the six-year Doctor of Dental Surgery (DDS) degree in Japan.

The bachelor of dentistry program has academic courses and clinical-skills laboratory sessions, which take place over ten semesters. This program is divided into two stages. The first stage includes both the academic course and clinical skill laboratory. It continues until the end of the first semester of the fourth academic year. This period consists of seven semesters. There are two blocks in each semester with three to five modules in each block (Table 1), with each block lasting for three months.

The second stage is clinical practice, which consists of three semesters. It runs from the second semester of the fourth academic year until the end of year five. In this period, students are involved in an integrated clinical practice where they work in a team under the supervision of clinical tutors.

The academic program integrated curriculum is described in Table 1.

In the first year, the module is called Basic Program of Higher Education. In the next module, given in block two, students are introduced to health sciences, ethics, and law. In the second semester, the students learn about basic medical and dental sciences.

**Table 1 :** The Integrated Curriculum of the Faculty of Dentistry in Universitas Indonesia

<b>The Integrated Curriculum Of the Faculty of Dentistry in Universitas Indonesia</b>				
Academic Year	Odd Semester		Even Semester	
1	Block 1	Block 2	Block 3	Block 4
	Basic Program of Higher Education	Introduction to Health Sciences, Ethics and Law	Basic Medical Sciences	Basic Dental Sciences
	University	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Community Dental Health and Preventive Sciences</li> <li>- Ethics and Law Sciences</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Oral Biology</li> <li>- Basic Medical Radiology</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Oral Biology</li> <li>- Basic Medical Sciences</li> <li>- Dental Materials</li> <li>- Dental Radiology</li> </ul>
2	Block 5	Block 6	Block 7	Block 8
	Clinical Dental Sciences 1	Clinical Dental Sciences 2	Clinical Dental Sciences 3	Clinical Dental Sciences 4
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Basic Medical Sciences</li> <li>- Community Dental Health and Preventive Sciences</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Oral Biology</li> <li>- Dental Material Sciences</li> <li>- Clinical Medical Sciences</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Clinical Medical Sciences</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Community Dental Health and Preventive Sciences</li> </ul>
3	Block 9	Block 10	Block 11	Block 12
	Clinical Dental Sciences 5	Clinical Dental Sciences 6	Clinical Dental Sciences 7	Clinical Dental Sciences 8
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Oral Biology</li> <li>- Dental</li> <li>- Material Sciences</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Oral Biology</li> <li>- Dental</li> <li>- Material Sciences</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Oral Biology</li> <li>- Dental Material Sciences</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clinical Dental Sciences</li> <li>- Oral Biology</li> <li>- Dental</li> <li>- Material Sciences</li> </ul>
4	Block 13	Block 14	8 <sup>th</sup> Semester	
	Community Dental Health Program, Statistic 2	Scientific Report and elective Program	Clinical Case Seminars	
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Community Dental Health and Preventive Sciences</li> <li>- Clinical Dental Sciences</li> </ul>	All Faculty member	Integrated Clinical Practice	
5	9 <sup>th</sup> Semester		10 <sup>th</sup> Semester	
	Clinical Case Seminars		Clinical Case Seminars	
	Integrated Clinical Practice		Integrated Clinical Practice	

In the second and third years, the students learn about clinical dental sciences. The students learn about biomedical and dental sciences in integrated modules, including diagnosis, etiology, and treatment of oral health problems. This allows them to understand about treatment and prevention.

In seventh semester in the fourth year, students complete the community and dental health module, which is based on epidemiological data. Meanwhile, they undertake research activity, which is presented in a final report, either individually or in groups. This final report must be completed in order to continue to the next stage, which is clinical practice.

### 5.2.2. Dentist Profession

Upon completion of the bachelor of dentistry academic program, dental education proceeds to the stage of integrated clinical professional practice, for a total of 26 credits. In the professional program, students are trained to be comprehensive in their treatment plans, according to the standards of competence required by the Indonesian Medical Council (Konsil Kedokteran Indonesia / KKI). This ensures that, in the future, students will perform tasks in society while meeting professional standards. Evaluations are conducted regu-

larly in the dental education programs—for both the academic stage and the integrated clinical professional stage. At the clinical professional stage, the evaluation is based not only on the skills acquired, but also professional behavior, such as legal and professional ethics.

### 5.2.3. Master of Science (M. Si) degree

The program was established on November 19, 1998. The program aims to produce graduates of international quality and high integrity in science, able to develop knowledge through research to support the development of dental and oral health services in the community and able to apply this knowledge in solving problems of oral health in Indonesian society. The master's degree can be completed in four semesters. The master's program has two courses. These are (1) Science Program Dentistry Basic with specialization in Oral Biology (40 academic credits), Dental Material (41 academic credits), or Forensic Dentistry (42 academic credits). (2) Science Program Dentistry Community (40 academic credits). Learning strategies in the master's program include lectures, discussions, active learning, and research. Since its establishment, Faculty of Dentistry Universitas Indonesia has

graduated more than 37 master's degree students.

#### 5.2.4. Doctor of Philosophy (Dr.) degree

The program was formally established in 1993 by decree of the director general of higher Education (Keputusan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi), Department of Education, Republic of Indonesia (Number : 577 / DIKTI / 1993, on the Ratification Implementation Master and Doctoral Studies Program at the University of Indonesia). However, the first class had started two years before, in 1990 to 1991. Guidelines for education, too, had been drawn up in 1992. The doctoral program aims to produce qualified graduates who have high integrity, openness, and responsiveness to the development of dentistry science and technology and changes in society. Graduates should be capable of organizing and carrying out research, developing themselves as scientists, and be active in science and technology internationally, as well as being broad-minded and have deep powers of reasoning. The learning strategies includes public lectures on a range of health science topics, as well as more specialized studies which may include lectures, individual independent tasks, discussions, seminars, and research. The program can be completed in three years (6 semesters) with a study load of 48 credits. FKG UI has graduated more than 60 doctoral students.

#### 5.2.5. Specialist degree

The specialist degree program started in 1948. The purpose of the program is to produce dentists who are professionals with both general and specialized knowledge and high ethical standards. The dental specialists' education program has seven courses that (confirmed by director general

of higher education, Department of Education, decree No. 141 / Dikti / Kep / 1984). These are (1) Oral Surgery (10 semesters with 120 academic credits) (2) Pediatric Dentistry (5 semesters, with 55 academic credits) (3). Conservative Dentistry (5 semesters with 56 academic credits) (4) Oral Medicine (5 semesters with 56 academic credits) (5) Orthodontics (5 semesters with 55 academic credits) (6) Periodontology (5 semesters with 57 academic credits) (7) Prosthodonty (5 semesters with 57 academic credits). The specialist dental education system uses learning strategies in the form of lectures, individual assignments, discussions, practical work, presentations of case reports, surgical journals, and research at the end of the degree. This program can be completed within 2.5 years, except for the Oral Surgery courses, which take 5 years. Faculty of dentistry in Universitas Indonesia has graduated more than 500 specialist. A summary of the dental program in faculty of dentistry is shown in Table 2.

#### 5.3. Admission requirement

Those who want to enter the university dental school SKG program are selected in two ways, the state university entry selection (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri / SBMPTN) organized by the national committee or the entry selection UI (Seleksi Masuk Universitas Indonesia / SIMAK UI) organized by Universitas Indonesia. Students who do not pass through the SBMPTN have an opportunity to be accepted through SIMAK UI. Similarly, in the master's, doctoral, and specialist program can be entered through SIMAK UI.

**Table 2 :** Academic programs and Degrees

Programs	Degrees				
	Bachelor	Master	Doctoral	Specialist	Professional
Dentistry	◆				◆
Community Dental Science		◆			
Conservative Dentistry				◆	
Dental Science			◆		
Basic Dental Science		◆			
Oral and Maxillofacial Surgery				◆	
Oral Medicine				◆	
Orthodontics				◆	
Pediatric Dentistry				◆	
Periodontology				◆	
Prosthetic Dentistry				◆	



#### 5.4. Tuition Fees

In general, dentistry tuition fees at the Universitas Indonesia for the undergraduate program to the doctoral program are around 120,000 JPY per year (by the current exchange rate), compared to 500,000–600,000 JPY for the National Dental School in Japan. As in Japan, students in Indonesia are required to purchase pre-clinical training instruments themselves.

#### 5.5. Dental Education System

Previously, the faculty of dentistry in Universitas Indonesia used traditional teacher-centered learning strategies. However, there are some disadvantages to this system; for example, student difficulty in integrating theoretical knowledge and practical skills. Due to the rapid development of science and technology in the present time, it is not possible for all the material to be taught. Consequently, the faculty of dentistry felt that this curriculum was no longer adequate.

Since 2003, academic education has been organized by way of active learning using problem-based learning (PBL), which emphasizes a student-centered approach. Before starting the PBL program, all lectures include a discussion on modules, PBL cases, teaching goals, related resources, curricular timetable, etc.

In 2006, the KKI established a nationally accepted competency-based curriculum, to be implemented by dental educational institutions beginning in the 2007/2008 academic year. Faculty of dentistry in Universitas Indonesia has organized its curriculum so that graduates can meet the competencies required by the KKI.

Here is the brief information about PBL system and impact of the PBL system in the faculty of dentistry in Universitas Indonesia.

##### 5.5.1. Problem-based learning (PBL) is an alternative pedagogical model.

It was first introduced to medical education in 1969 at the McMaster University School of Medicine in Ontario, Canada. PBL has now become an integral part of curricula and teaching strategies around the world. Although the precise format of PBL implementation varies, in general it consists of an emphasis on learner-centered exploration of case-based patient problems and the utilization of patient case histories. This system was established to help the students conduct the identification, diagnosis, and treatment plan as

needed to solve the problem.

##### 5.5.2. The advantages and disadvantages of the PBL system

There are a number of advantages to this system: (1) Self direction of the student will increase, because students will be more active and will enjoy the learning process. Student will select resources as needed from the journal, textbook, discussion etc.; (2) Both individual and interpersonal skills will be developed, because PBL provides applicability and relevancy to classroom materials, also it promotes student interaction and teamwork, thereby enhancing students' interpersonal skills; (3) It develops a self-motivated attitude because this system can provide a more challenging, motivating and enjoyable approach to education; and (4) level of learning will be enhanced because the student will learn context, definitions, information, theories, correlations, and principles in a context where they are explored and integrated with one another.

However, there are some disadvantages to this system: (1) Academic achievement can suffer. Sometimes, student find difficulty building up layers over layers of knowledge from simple to sophisticated as is the case in traditional instruction; (2) Time demands can be high. Students find it difficult to prepare the materials or to complete the task on time due to the inefficiency of problem-based learning. (3) Operational costs are very high. The typical ratio of lecturers to students in PBL is 1 : 10. Lecturers are required to modify their teaching techniques and skills to make them more integrated and comprehensive.

##### 5.5.3. The impact of PBL system in the faculty of dentistry in Universitas Indonesia

PBL system develops several abilities in the students, such as active and significant learning, collecting data, autoanalysis and synthesis, integration of knowledge, mind's logic for the detection and solution of problems, written and oral communication skills, teamwork skills and ethical behaviour. It influenced in a positive way of the students' perception to solve problems and their motivation to achieve a good academic performance. Through this system, students were scheduled and prepared with certain discussion topics that they difficult to understand. This system provides benefits to the faculty and students. Students might propose the discussion topics they need to know, specifically. Meanwhile

lecturers could teach their students either individual or small groups more effective. One of the impact of PBL system is the number of academic graduation in the national level examination (Uji Kompetensi Mahasiswa Program Profesi Dokter Gigi/ UKMP2DG). It showed that the percentage of academic graduation in UKMP2DG was very high, ie 100%, in this year (2016).

## 6. Conclusion

The educational system cannot remain stagnant, and it is necessary to evolve in order to meet changing societal needs. Additionally, examining core educational values is the first and most important step during the process of modernizing existing dental education in order to incorporate new methods of teaching and learning. With respect to the profession which the students are being prepared that procedural knowledge such as self-directing learning, teamwork skills, problem-solving skills, ethical behavior, concern for the warfare of community and environment, are vital to the students' responsibility in the future. Therefore, additional research is now necessary to monitor and evaluate the outcomes of these new innovations in the dental education system in Universitas Indonesia. These evaluations are needed to determine the ideal dental curriculum so that an optimal learning environment is provided for students and so that the best learning outcomes are achieved in the future.

## Acknowledgement :

The author gratefully appreciate Dr. Ferry Pergamus Gul-tom drg, M.Biomed., as Head of Undergraduate Academic Program in faculty of dentistry – Universitas Indonesia, for the information to completing this manuscript.

## References :

- Maharani DA. Inequity in Dental Care Utilization in the Indonesian Population with a self-Assessed Need for Dental Treatment. *Tohoku J Exp Med* 2009 ; 218 : 220–239
- Maharani DA. Do the Indonesians Receive the Dental Care Treatment They Need? A Secondary Analysis on Self-Perceived Dental Care Need. *ISRN Dent* 2012 ; 2012 : 769809
- Pratiwi NL. The Trend Analysis of the Availability of Dental Caries and Dental Health Personnel in Indonesia. *Den* 2016 ; 6 : 360
- Soendoro T. report on Result of national basic health research (RISKESDAS) 2013 : Dental Health. 1st ed. Jakarta : The National Institute of Health Research and Development Ministry of Health Republic of Indonesia ; 2013 : 110–9
- Tanzil A, Hoesin S, Suharsini M, Siagian M, Soeria Santoso DI. Implementation of The Integrated Curriculum of Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia. *Ind J Den* 2009 ; 16(2) : 94–98
- [http://www.ui.ac.id/wp-content/uploads/dlm\\_uploads/2015/05/PERATURAN-REKTOR-UI-NO-003-Tentang-Biaya-Pendidikan-TA-2015-2016-S1-Reguler.pdf](http://www.ui.ac.id/wp-content/uploads/dlm_uploads/2015/05/PERATURAN-REKTOR-UI-NO-003-Tentang-Biaya-Pendidikan-TA-2015-2016-S1-Reguler.pdf)
- <http://www.ui.ac.id/download/biaya-pondidikan/2015/Profesi.pdf>
- <http://www.ui.ac.id/download/biaya-pondidikan/2015/Magister.pdf>
- <http://www.ui.ac.id/download/biaya-pondidikan/2015/Doktoral.pdf>
- <http://www.ui.ac.id/download/biaya-pondidikan/2015/Spesialis.pdf>



Citra Fragrantia Theodorea

### Education :

2003 Dentist from Trisakti University, Jakarta, Indonesia  
 2012 M.Si from Oral Biology, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia  
 2015–Present Ph. D Student, Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

### Experience :

2009–2012 As dentist in Southwest Maluku, Maluku, Indonesia

### Membership

Indonesian Dental Association

## [REVIEW]

## Oral Health and Dental Education in Nepal

Mamata SHAKYA<sup>1</sup>, Bhoj Raj ADHIKARI<sup>2</sup>, Masaru MURATA<sup>1</sup>, Hiroki NAGAYASU<sup>1</sup><sup>1</sup>Division of Oral Maxillofacial Surgery, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido, Japan<sup>2</sup>Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido, Japan**Key words** : Nepal, Dental problems, Dental education, Curriculum, Medical council license**Abstract**

Nepal is a developing country in South Asia with a population of about 31 million in an area of 147,181 km<sup>2</sup> in 2014. Oral diseases are a major health problem in Nepal, and a detailed understanding of current oral health status and the dental education system in Nepal is of interest. The history of medical education in Nepal is 80 years old, but dental education is still in the preliminary phase. Nepal has a very high incidence of den-

tal caries and periodontal diseases ; and the ratio of population to dentists is (about 20,000 to one). The national need for the training of dental specialists is a major concern. In Nepal, the dental education system was established in 1997 when the Tribhuvan University started a Bachelor of Dental Surgery program. In this review, we will share basic information of oral health and of the dental education system in Nepal.

**1 : Introduction to basic dental care—need assessment****1.1 : Current oral health status of Nepal**

Nepal is a developing country with a population of 31 million an area of 147,181 km<sup>2</sup> (Nepal Demographics Profile, 2014), very similar to the geography of Nagano prefecture in the central part of Japan. Fifteen percent of the land area is comprised by the Himalayan region with snow capped mountains in the northern part. Seventeen percent is the flat terai region with the highest population density, stretching along the southern border of Nepal. The remaining sixty-eight percent are hills and mountains in the central part of Nepal. Due to this wide range of geographical features, the country is not able to provide medical care facilities and education equally to all parts of the country.

The World Health Organization reports that 60–90% of schoolchildren worldwide have experienced caries, with the disease being most prevalent in Asian and Latin American countries (Peterson et al., 2005 ; Wagle et al., 2014). Nearly 41 percent of the total population in Nepal is under the age of 16 years, and of the total number of school age children

87 percent are enrolled in schools. The 2004 National Pathfinder Survey reports that 58% of 5–6year old schoolchildren suffer from dental caries (Yeet et al., 2006). Nepal ranks among the top 15 percent of countries worldwide where periodontal disease of 35–44 year olds is most prevalent (van Palenstein et al., 1998). Oral health problems are often neglected and only treated if pain or other complications arise. According to the World Oral Health report 2003 “oral diseases are subject to common risk factors similar to the four leading chronic diseases cardiovascular disease, cancer, chronic respiratory disease and diabetics. Unhealthy diets, smoking of tobacco, drinking of alcohol, and poor oral health are additional risk factors for oral diseases. Among oral health complaints, dental caries is the most common in several Asian and Latin American countries” (Peterson et al., 2005).

The majority of Nepalese neglect oral health and do not consider it a major issue. They seek dental treatment only when they are in pain. Nepal has a 20,000 people/dentist ratio with just over a total number of 1,400 dentists, including about 166 dental specialists. Most dentists practice in the major cities (Wagle et al., 2014), and the Nepal dental

health service is still in its infancy. According to a recent study, 58% of 5–6 year old school children suffer from dental caries and a significant number of children miss classes because of dental pain (Yee et al., 2006). The government is not able to extend oral health services even at the district level, and as private dental hospitals and clinics are only based in some major cities, people must travel hours for simple dental treatment. However, a number of non-governmental organizations are actively involved in different remote areas of the nation to provide basic dental health care services. A good example was set during the Nepal earthquake of 2015, where more than 8,700 people lost their lives and 12,000 were injured (Adhikari et al., 2015), here field based emergency oral–dental treatments were provided by a number of institutions like the “Dhulikhel Hospital”, “Smiles across Nepal”, and “Teeth and Toilets”, in addition to many others.

The second long-term health plan for Nepal (1997–2017 Nepal) has included oral health among the essential health care services and for the first time oral health was added to the primary health care approach (NHSP, MoH, Nepal). The Government of Nepal has allocated 5–6% of the annual budget to health sector and a small portion of this is allocated to oral health in Nepal (NHSP, MoH, Nepal). Most Nepalese are deprived of oro–dental care because of constraints like financial causes, lack of perceived need, anxiety or fear, and lack of education and awareness. Annually among all cases visiting OPD, 3% of cases are due to oral health problems. Major dental problems in Nepal are dental caries/toothache, periodontal problems, oral ulcers and mucosal diseases, oral and maxillofacial diseases, and oro–facial clefts. The incidence of each of these is briefly summarized in table 1.

## 2 : History of dentistry in Nepal

Kathmandu, one of the historical and traditional cities of

Nepal, holds numerous temples and deities in every part of the city. One very interesting historical and religious belief related to tooth ache is commonly believed. Among historical sites in Kathmandu, Bangemudha is one such location where “washya dyo or danteshwori devi shrine” (meaning “the goddess alleviating toothache” according to the regional language) is found. This goddess resides in a chunk of wood, a wooden block mounted on the floor of a traditional temple (Fig.1). To alleviate toothache, the people here worship the toothache goddess by nailing a coin to the wooden log. There is no scientific evidence to support the power of alleviation of tooth ache in this manner, but the long standing belief has turned into a custom. “Washya dyo” is still preserved as a goddess by the local inhabitants and by the dental care fraternity as a historical monument of the history of dentistry of Nepal (Mainali K et al, 2008).

## 3 : Numbers of Dental practitioners in Nepal

Before the starting of dental schools in Nepal, a few dental surgeons were practicing in Nepal. They had received basic dental school education in other countries like in India,



**Figure 1 :** Danteshwori Devi shrine, known as Washya Dyo in Kathmandu, Nepal. People who suffer from toothache visit this Tooth Fairy Shrine, nail a coin to the wood and believe that toothache will be cured by god.

**Table 1 :** Incidence of major Oral complaints in Nepal in the recent 5 years

Cases	Dental caries and tooth ache	Periodontal diseases	Oral ulcers and other disease of the mucosa	Other
Year				
2009–2010	392,831	73,309	113,819	62,747
2010–2011	402,142	75,099	116,174	57,348
2011–2012	421,033	77,360	124,328	65,246
2012–2013	433,282	76,547	124,368	62,545
2013–2014	444,088	94,130	113,819	73,224



Pakistan, or Russia. Only after the start of the first Nepalese dental school in 1997, have dental school graduates been matriculated from within the country. The current number of dental practitioners registered in the respective health councils of Nepal are shown in table 2.

#### 4 : Dental Education in Nepal

##### 4.1 : History of Dental Education in Nepal

Medical education in Nepal started in 1933 with the commencement of enrolling students of the Nepal Rajakiya Ayurved Vidyalaya, a school for educating the Nepalese in traditional medical treatments. However, allopathic medical education started only in 1972 with the opening of the Institute of Medicine(IOM) of Tribhuvan University. The history

**Table 2 :** List of dental health care personnel registered in Nepal

Category	Number	Year
Dental specialists	166	2013
General dentists	1,440	2013
Dental hygienists	1,000	2012
Chair side assistants	356	2011

Data from the Nepal health professional council records

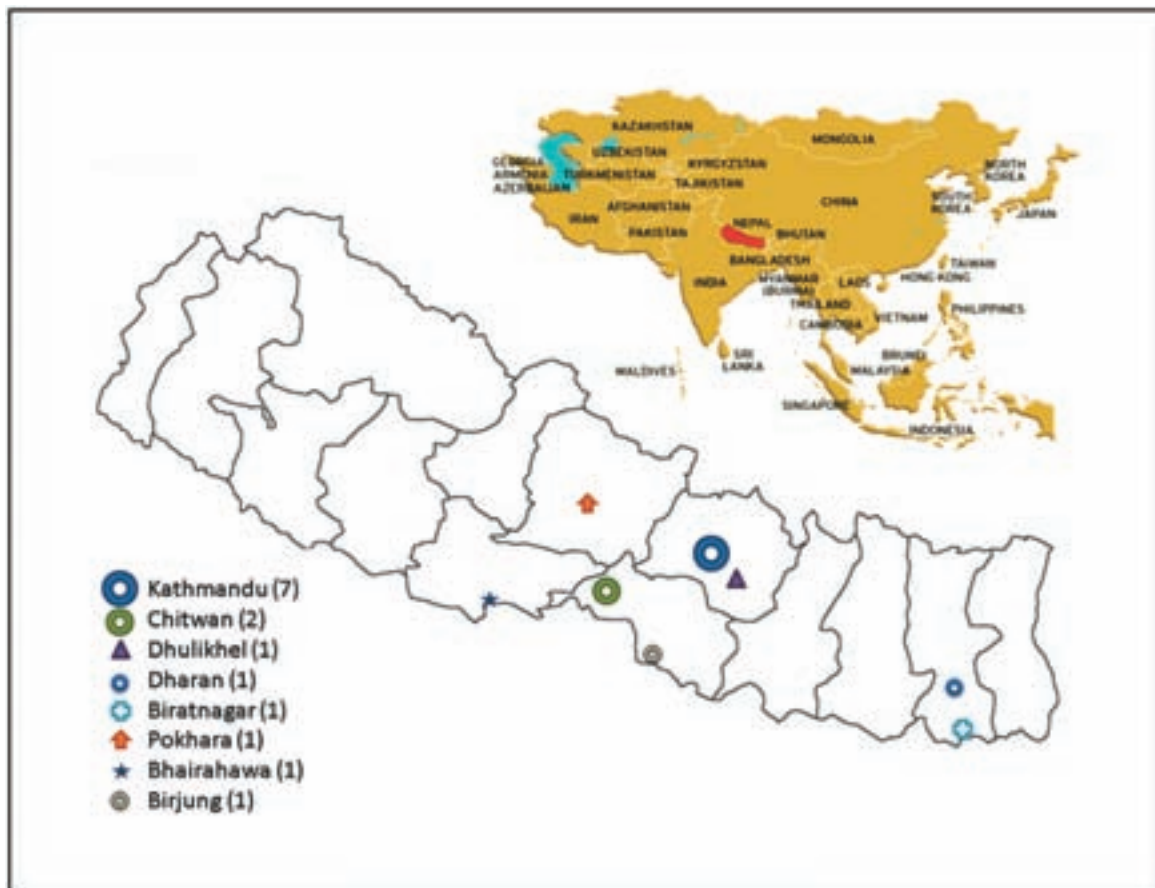
of dental schools is a mere 20 years, with the first dental college starting in the year 1997. However, Nepal is still behind other developed Asian countries. A comparison between Nepal and Japan on various parameters related to the education system and dental practitioner numbers is shown in table 5.

##### 4.2 : Dental schools in Nepal

There are 4 universities offering a dental education program in Nepal. In addition, there are 12 dental schools affiliated to these universities. The geographical distribution of these schools is shown in Fig.2. Among these, 3 universities offer dental programs at the Bachelor of Dental Surgery (BDS) and Master of Dental Surgery (MDS) levels, while NAMS offers only an MDS program. The name of the university and their affiliated colleges are listed in Table 3.

##### 4.3 : Degrees offered

The BDS is an undergraduate course of 5 years and 6 months in the dental schools of Nepal. Irrespective of the university, the undergraduate dental courses are divided into



**Figure 2 :** The geographical distribution of the dental schools in Nepal. The numbers in the legend shows the number of dental schools in the different administrative divisions of Nepal. The top map shows the location of Nepal in Asia.

**Table 3 :** List of dental schools in Nepal

University	Affiliated colleges
<b>1. Tribhuvan University</b> (government university)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Institute of Medicine, Maharajjung campus</li> <li>• Peoples's dental college.</li> <li>• Universal college of medical sciences.</li> <li>• KIST medical college.</li> <li>• MB kedia dental college.</li> <li>• Chitwan medical college.</li> <li>• Gandaki medical college (proposed).</li> </ul>
<b>2. Kathmandu University</b> (public university)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kathmandu University Medical School</li> <li>• Nepal medical college.</li> <li>• Kathmandu medical college.</li> <li>• Kantipur dental college.</li> <li>• Nobel medical college.</li> <li>• College of medical sciences.</li> </ul>
<b>3. BP Koirala Institute of Health Sciences (BPKIHS)</b> (ranked as a university)	
<b>4. National Academy of Medical Sciences (NAMS)</b> (ranked as a university)	

**Table 4 :** Details of undergraduate courses at the two major universities of Nepal

Year	Tribhuvan University	Kathmandu University
<b>1<sup>st</sup> grade</b>	Basic subjects : Anatomy, Physiology, Biochemistry, Microbiology, Pathology, Pharmacology. Dental subject : Dental materials science	Basic subjects : as at T.U. Dental subject : Oral Biology
<b>2<sup>nd</sup> grade</b>	Basic subjects : same as in first year. Oral anatomy	Basic subjects : same as in first year. Dental material science
<b>3<sup>rd</sup> grade</b>	General medicine General surgery and anesthesiology Oral pathology Forensic dentistry	General medicine General surgery Oral pathology, Microbiology and Forensic dentistry Community dentistry including community medicine
<b>4<sup>th</sup> grade</b>	Oral medicine and radiology Orthodontology Pedodontology Community dentistry	Oral medicine, diagnosis and radiology Periodontology Pedodontology Orthodontology
<b>5<sup>th</sup> grade (6 months)</b>	OMFS Conservative dentistry and endodontology Prosthodontology Periodontology	OMFS Conservative dentistry and endodontology Prosthodontics, crown and bridge
<b>1-year compulsory rotating residential internship.</b>		

**Table 5 :** Statistics for Nepal and Japan

	Nepal	Japan
Area (km <sup>2</sup> )	147,181	377,944
Population (million)	30.98	127.3
Number of Schools of dentistry	15	29
Number of dentists	1606	99426
Population per dentists	20,000	1434
Dental degrees awarded	BDS, MDS	DDS, PhD
Undergraduate course duration (years)	5.5	6
Graduate course duration (years)	3	4

3 phases. The 1<sup>st</sup> phase is a preclinical phase which is completed in the first and second years. Students gain knowledge of basic medical sciences, oral biology and dental materials. The 2<sup>nd</sup> phase is a clinical phase, which lasts two and

half years. Here, the students learn general clinical subjects and dental subjects. It is a student centered, problem based, community oriented, integrated, and systematic course. After successful completion of both these phases, students have to undergo 1 year of a compulsory rotating residential internship. A brief summary of the subjects at the undergraduate level offered by the 2 major universities in Nepal are given in table 4.

The MDS is a 3 year specialization course after the BDS. It is a clinical based and patient oriented course. The graduate students learn the clinical skills of the related specialty they are enrolled in.

#### 4.4 : Admission requirement

##### 4.4.1 : For the undergraduate level

The universities regulate admission to the dental school. Students have to appear for the entrance examination, and those who qualify at this examination are eligible to enroll in the undergraduate course of the university and its affiliated colleges. There are more than 2000 applicants annually, and about 250 students are admitted. The number of students who are admitted varies every year depending upon the number of opening provided by the school. Students having a higher secondary level education majoring in science are eligible to take the entrance examination.

##### 4.4.2 : For the graduate level

The number of graduate students admitted into the MDS level is very much smaller. It depends upon many factors like availability of professors in the respective fields, the number of patients of the training Centre (school) ; and other basic infrastructure of the dental school. This number is regulated and controlled every year by the NMC, MOE, and university involved. The aspirants have to pass an entrance examination. Two years of working experience may be required depending upon the norms of the university.

#### 4.5 : Scholarships

The Ministry of education (MoE) provides a limited number of scholarships to meritorious students at both the undergraduate and graduate levels ; in addition, some universities also provide a specific number of scholarships. A few scholarships are available to Nepalese students from governments of other countries and universities namely : from Bangladesh, China, India and Japan.

#### 4.6 : National examination for the dental license

The Nepal medical council (NMC) regulates the code of ethics practiced by general medical and dental practitioners in Nepal. The NMC conducts the Nepal Medical Council License Examination (NMCLE) for medical and dental graduates. License examinations are held every three months for undergraduates and every six months for graduates and specialized dental surgeons. Dental doctors are allowed to practice legally only after passing this examination.

### 5 : Associations related to dental practice :

#### 5.1 : the Nepal Medical Council (NMC)

The NMC is a non – governmental autonomous body

which regulates the code of ethical practices adhered to by general medical and dental practitioners in Nepal. It was established through the NMA act in 1964 (ii). The main functions of the NMC are :

- To determine the qualification of doctors, to provide registration certificates by undertaking license examinations for new doctors.
- To give recognition to medical institution for providing formal studies in medical sciences.
- To formulate policies related to curriculum, admission and examination arrangements of teaching institutes of medical education.
- To formulate necessary policies and create a code of conduct to ensure that the medical profession is governed equitably.
- To participate in making national health policy.

#### 5.2 : The Nepal Medical Association (NMA)

The NMA is a non – governmental professional organization which looks after all medical and dental practitioners in Nepal. It was established on March 4, 1951 (iii). It is to contribute towards the overall improvement of the health situation in the country. To help in raising the level of clinical knowledge of doctors through regular scientific sessions and publication of medical journals. It is a member of World Medical Association (WMA) and Confederation of Medical Associations in Asia Oceania (CMAAO).

#### 5.3 : The Nepal Dental Association (NDA)

The NDA is the mother organization for the welfare of dental surgeons of Nepal. It was established in 1990 and contributes towards continuing dental education through annual dental conferences and trade exhibitions, short and medium term hands on diploma courses and skill building clinical courses (iv). It also organizes different oral health awareness programs, community oriented dental camps, and conducts other activities.

#### 5.4 : Other associations

There are other associations specialized for dentists who work for the betterment of practicing specialized dentist as follows :

- a) The Nepalese association of oral and maxillofacial surgeons (NAOMS).
- b) The Nepalese society of periodontology and oral im-

plantology (NSPOI).

- c) The Nepalese prosthodontic society (NPS).
- d) The Orthodontics and dentofacial orthopedic association of Nepal (ODOAN).
- e) The Conservative dentistry and endodontics association of Nepal (CDEAN).

## 6: Conclusions

The number of dental schools and dental specialists in Nepal has increased in the recent few years. However, the dental schools are mainly focused on instilling clinical knowledge, and there is a lack of research based education in Nepal. To improve the standards and the level of the education, there is need for timely updating of the curriculum to introduce treatments of newly occurring diseases, and advanced technologies including research. Nepal is a developing country with a wide variety of geography where residents of the major cities are able to access good health facilities, while in the high hilly regions and in the Himalayan region there is still a lack of proper oral health facilities and education. This makes it important that efforts are made to establish a good oral health education system and oral health facilities in these regions.

## References

- Adhikari LB, Gautam UP, Koirala BP et. al. The after-shock sequence of the 2015 April 25 Gorkha–Nepal earthquake. *Geophys. J. Int.* 203(3) : 2119–2124, 2015
- Madhu Wagle, Tordis A Trovik, Purusotam Basnet and Ganesh Acharya. Do dentists have better oral health compared to general population : a study on oral health status and oral health behavior in Kathmandu, Nepal. *BMC Oral Health* 14 : 23, 2014.
- Nepal Demographics Profile 2014. IndexMundi. CIA

World Factbook

- Nepal Health Sector Programme Implementation Plan 2004–2009, Ministry of Health, Nepal October 2004.
- Okawa Y, Hirata S, Okada M, Ishii T. Geographic distribution of dentists in Japan : 1998–2000. *J Public Health Dent* 3 : 236–40, 2011.
- Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan–Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ* 83 : 661–69, 2005.
- van Palenstein Helderman W, Groeneveld A, Jan Turin G, Kumar Shrestha B, Bajracharya M, Stringer R. Analysis of epidemiological data on oral diseases in Nepal and the need for a national oral health survey. *Int Dent J* 48(1) : 56–61, 1998.
- Yee R, Mishra P : Nepal oral National Pathfinder Survey 2004. *Int Dent J* 2006, 56 : 196–02.
- i. [www.ctevt.org.np](http://www.ctevt.org.np)
  - ii. [www.nmc.org.np](http://www.nmc.org.np)
  - iii. [www.nma.org.np](http://www.nma.org.np)
  - iv. [www.nda.org.np](http://www.nda.org.np)
  - v. [www.tu.edu.np](http://www.tu.edu.np)
  - vi. [www.ku.edu.np](http://www.ku.edu.np)
  - vii. [www.ifdh.org/wk\\_abroad/japan.html](http://www.ifdh.org/wk_abroad/japan.html)



Mamata SHAKYA

1986 : Birth, Kathmandu, Nepal  
 2011 : Graduated from Tribhuvan University (Bachelor of Dental Surgery)  
 2014 : Dental Surgeon, School of Dentistry, Kathmandu University, Nepal  
 2015 : Graduate Student, Division of Oral Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Japan

〔学位論文〕

## メカニカルストレスがラット関節円板培養細胞の細胞外基質の mRNA 発現に及ぼす影響

檜尾 治奈

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

## Effects of mechanical stress on expression of extracellular matrix in rat TMJ disc cells

Haruna KASHIO

Division of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Key words : TMJ disc tensile strain collagen proteoglycan tropoelastin

### 緒 論

顎関節症の病態の主要な要因は関節円板障害である。関節円板の機能や形態の維持のためには細胞外基質の組成・構成が重要であり、円板組織に存在する細胞は組織に負荷されるメカニカルストレスに対する適応反応として細胞外基質の発現を変化させる。

関節円板に関連する細胞における伸展負荷に対する反応および細胞外基質の mRNA 発現やタンパク質発現への影響を検討した研究はほとんどなく、いまだ不明な点が多い。本研究では、関節円板を構成する細胞の伸展刺激に対する反応性を明らかにすることを目的として、ラット関節円板から採取した培養細胞（以下、関節円板培養細胞と略す）を用いて、伸展負荷が関節円板培養細胞の collagen, proteoglycan および tropoelastin の mRNA 発現の変化を検討した。

### 材料及び方法

#### 1. 関節円板培養細胞の培養系

生後 4 週齢の Wistar 系雄性ラットから関節円板を採取し、10% NCS (newborn calf serum) を添加した最小必須培養液 (MEM) 中で 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 環境下にて培養し、関節円板培養細胞として単離した。

#### 2. 伸展負荷

Fibronectin で処理したシリコンチャンバー上に関節円板培養細胞を播種し、3 日間培養後、サブコンフルエン

ト状態を確認し、伸展率 10%、頻度 1 分間 / 1 往復で、4 時間および 12 時間伸展負荷を与えた。

#### 3. マイクロアレイによる網羅的解析

4 時間と 12 時間の伸展群と対照群の試料に対してアジレント社マイクロアレイにて解析した。細胞外基質に変化があるものに関して I 型 collagen, versican, aggrecan, tropoelastin, fibromodulin, lumican, decorin の mRNA 発現の再現性確認のため real-time PCR 法にて詳細な発現変化の定量を行った。

#### 4. siRNA による fibromodulin 抑制実験

Fibromodulin の siRNA を用いて fibromodulin 抑制後に伸展負荷し、fibromodulin と lumican の mRNA 発現の変化を検討した。

#### 5. 統計学的処理

統計分析には、ノンパラメトリック検定の Mann-Whitney U test を用いた。

### 結 果

#### 1. マイクロアレイによる細胞外基質の mRNA 発現の網羅的解析

関節円板培養細胞に 4 時間と 12 時間の 10% 伸展負荷を行い、対照群と伸展群の試料に対しマイクロアレイ解析を行った。その結果、versican, aggrecan, fibromodulin の mRNA 発現は 4 時間と 12 時間で増加した。I 型 collagen の mRNA 発現は 4 時間で増加した。Lumican, decorin, asporin, tropoelastin, III 型 collagen の mRNA 発現は 12 時間



で減少した。KeratocanのmRNA発現は4時間で増加し、12時間で減少した。

## 2. Real-time PCR法による細胞外基質のmRNA発現の定量

VersicanのmRNA発現は、伸展負荷により4時間と12時間でそれぞれ1.7, 1.3倍に増加した。AggrecanのmRNA発現は12時間では1.5倍に増加した。FibromodulinとI型collagenのmRNA発現はそれぞれ4時間では3.4, 1.5倍に増加し、12時間では対照群と同レベルとなった。LumicanのmRNA発現は12時間で0.3倍に減少した。DecorinのmRNA発現は4時間と12時間でそれぞれ0.4, 0.3倍に減少した。TropoelastinのmRNA発現は、12時間で0.6倍に減少した。

## 3. siRNAによるfibromodulin抑制実験

siRNAによるfibromodulin抑制状態では対照群と12時間の伸展群において、fibromodulinのmRNA発現は抑制されそれぞれ0.1倍と0.4倍に減少した。一方、lumicanのmRNA発現は対照群では変化がみられなかったのに対し、12時間の伸展群はsiRNAによるfibromodulinのmRNA発現抑制により1.7倍まで回復した。

## 考 察

4時間の伸展負荷によって、I型collagenのmRNA発現は増加した。メカニカルストレスによりcollagen原線維の数の増加と太さが増大し、抵抗性が増したという報告がある。したがって、本研究におけるI型collagenの増加も伸展負荷に対する抵抗性の増強に関与していると考えられた。

また、versicanのmRNA発現は4, 12時間の伸展負荷により増加し、aggrecanのmRNA発現は12時間で増加した。Versicanとaggrecanは構造が類似しており、ヒアルロン酸と高い結合能をもっている。Versicanとaggrecanの結合によりヒアルロン酸の保水力を高め、細胞間の隙間を補い、力学的強度を生み出しているという報告があ

る。本研究における伸展負荷によるversicanとaggrecanの増加は、伸展負荷による細胞間隙を補い、力学的強度の増強に関与していると考えられた。

FibromodulinのmRNA発現は4時間をピークに増加し、12時間で変化は認められなかったのに対し、lumicanのmRNA発現は4時間で変化は認められなかったが、12時間で減少したことから、lumicanのmRNA発現にフィードバック調節機構が働き12時間のlumicanのmRNA発現が減少したという仮説を立てた。この仮説を検証するために、siRNAによるfibromodulinのmRNA発現の抑制実験を行った。その結果、siRNAによるfibromodulinのmRNA発現の抑制下ではlumicanのmRNA発現は対照群では変化がみられなかったのに対し、12時間の伸展群はsiRNAによるfibromodulinのmRNA発現抑制により1.7倍まで回復した。本研究ではfibromodulinとlumicanのタンパク質の定量は行っていないが、この解析によって、伸展負荷によるfibromodulinのmRNA発現の増加がlumicanのmRNA発現を減少させるという興味深い結果が得られた。

## 結 論

ラット関節円板培養細胞は伸展刺激に対してcollagen, proteoglycanおよびtropoelastinのmRNA発現に変化を示すことが明らかになった。これらの細胞外基質の発現変化は、関節円板の機械的強度に影響を及ぼすことが示唆された。



檜尾 治奈

平成17年4月 北海道医療大学歯学部 入学

平成23年3月 北海道医療大学歯学部 卒業

平成28年3月 北海道医療大学歯学部歯学研究科博士課程 修了

平成28年4月 北海道医療大学 特別研究員

〔学位論文〕

## 顔面非対称と下顎頭形態の左右差との関連性—三次元分析による形態評価—

笹本 さ え ら

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

## Relationship between facial asymmetry and bilateral differences of condylar morphology –Three–dimensional (3D) morphological assessment–

Saera SASAMOTO

Division of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Department of Oral Growth and Development,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

Key words : condylar long axis, facial asymmetry, three–dimensional morphological analysis

## 緒 言

顔面非対称は、先天性異常や咬合・顎関節の機能障害、外傷などの様々な原因により、顎顔面骨格の形態形成に左右差が生じて発現する。下顎骨は顎顔面形態に多様性をもたらす主要な立体構造物の一つであり、解剖学的にみると1) 下歯槽神経を包む中心部2) 関節機能を営む関節突起部3) 機能性突起である歯槽突起部、および筋付着突起部に分けられる。なかでも下顎頭には下顎頭軟骨が存在し下顎骨において最も顕著な成長を示す growth site であり、その後上方への軟骨内骨化により下顎骨は、前下方へと displacement する。したがって、その成長様相は顎顔面骨格の形態や咬合様式に大きな影響を及ぼす。そのため顔面に非対称が存在する場合には、左右両側に存在する下顎頭の成長様相に差異が生じ、下顎骨体の位置や姿勢に関連していると推察出来る。顔面非対称と下顎頭形態の関連について知ることは矯正歯科臨床において重要な課題の一つであり、これまで多くの研究が行われてきた。しかし、それらの分析手法のほとんどは、脳頭蓋上顎複合体に存在する左右の外耳道および眼窩下縁を基準としており、下顎骨基準で三次元的に行われたものではなかった。本研究の目的は、顔面非対称を伴う不正咬合患者の仮想化したモデル（VRモデル）の偏位側と非偏位側における下顎頭形態の差異と下顎骨の位置・姿勢との関連性について、三次元で明らかにすることである。

## 資料と方法

研究対象には、北海道医療大学歯科クリニック顎変形症外来で顎変形症と診断され、正面頭部X線規格写真分析においてオトガイ正中最下点（Me）が正中基準線に対して3.0mm以上の側方偏位を認めた患者30名の初診時DICOMデータと歯列模型を対象とした。

## 1. 基準座標系の設定

X線CTとサーフェススキャナの三次元データからVRモデルを生成し、各モデルの脳頭蓋上顎複合体、下顎骨に対し基準座標系を設定した。

## 2. 脳頭蓋上顎複合体に対する下顎骨の相対位置・姿勢の定量

脳頭蓋上顎複合体座標系の前頭面と体軸面に下顎骨座標系の座標軸を各々投影し、下顎骨の前頭面での傾斜度（以下rolling）、体軸面での傾斜度（以下yawing）、側方への偏位量（以下swaying）を計測した。

## 3. 下顎頭長軸の設定と下顎頭長軸長、下顎頭長軸角の定量

下顎骨座標系において、下顎頭の外側と内側の表面を任意に選択して近似球を算出し、得られた2つの球の中心を通る直線Lを求めた。また、下顎頭の三次元形状を構成する点群の中から直線Lに沿って最も内側、外側に位置する点を内側極、外側極とし、これらを結んだ線分を下顎頭長軸、偏位側と非偏位側の長さの差を下顎頭長軸長差とした。この下顎頭長軸を下顎骨座標系の体軸面と前頭面に投影し、得られた角度の偏位側と非偏位側の

差を体軸面における下顎頭長軸角差，前頭面における下顎頭長軸角差とした。また，本法の精度を検証するため，距離および角度計測値についてDahlbergの式を用い計測誤差の検定を行なった。

#### 4. 下顎頭の位置の定量

下顎頭長軸の中心点 (Cd) を偏位側と非偏位側で算出した。下顎骨座標系におけるCdから正中矢状平面までの水平的距離の差を $\Delta Cd-trans$ ，前頭面までの前後の距離の差を $\Delta Cd-ap$ ，体軸面までの垂直的距離の差を $\Delta Cd-ver$ とした。

#### 5. 解析方法および統計処理

下顎頭長軸長，下顎頭長軸角，下顎骨の位置の偏位側と非偏位側を比較した (paired t-test)。下顎頭長軸長差，体軸面における下顎頭長軸角差，前頭面における下顎頭長軸角差， $\Delta Cd-trans$ ， $\Delta Cd-ap$ ， $\Delta Cd-ver$ 各々とrolling，yawing，swaying各々の間で相関分析を行った (Spearmanの順位相関係数)。

## 結 果

#### 1. 偏位側と非偏位側における下顎頭形態の差異

偏位側が非偏位側に比べ下顎頭長軸長は有意に小さかった ( $p=0.003$ )。体軸面における下顎頭長軸角は有意に大きかった ( $p<0.001$ )。Cd-apとCd-verは有意に小さかった ( $p<0.001$ )。しかし，その他の項目では2群間に有意差は認められなかった。

#### 2. 顎間関係の不調和と下顎頭形態の差異との関係

下顎頭長軸長差とswayingの間に有意な負の相関を認めた ( $r=-0.44$ )。体軸面における下顎頭長軸角差とyawingの間に有意な正の相関を認めた ( $r=0.41$ )。 $\Delta Cd-trans$ とrollingの間に有意な正の相関を認めた ( $r=0.61$ )。 $\Delta Cd-ap$ とyawingの間に有意な負の相関を認めた ( $-0.74$ )。 $\Delta Cd-ap$ とswayingの間に有意な負の相関を認めた ( $r=-0.49$ )。 $\Delta Cd-ver$ とrollingの間に有意な負の相関を認めた ( $r=0.79$ )。 $\Delta Cd-ver$ とyawingの間に有意な正の相関を認めた ( $r=0.38$ )。しかし，その他の項目では2群間に有意差は認められなかった。

#### 3. 精度の検証

計測誤差は，距離計測の平均が0.08mm，角度計測の平均が0.27°であり，小さかった。

## 考 察

#### 1. 方法について

本研究では，下顎頭形態の偏位側と非偏位側における差異を三次元で正確に評価するにあたり，下顎骨に空間的基準座標系を設定した。顎顔面形態は，複雑さに富ん

だ立体構造物であるため，特定領域の形態分析を行ううえで三次元情報は不可欠である。下顎頭長軸を設定する際に重要な内側極と外側極は，三次元空間上で視点により変化しランドマークの同定が困難である。そのため，下顎頭長軸の設定方法については，明確な定義を記述しているものが少ない。今回我々は，視点に固定されることなく下顎頭長軸を設定するため，点の集合体である下顎頭の立体形状をそのまま基準に利用し，再現性の高い方法を考案した。

#### 2. 結果について

下顎頭長軸長は，偏位側が非偏位側に比べ有意に小さく，下顎骨の水平方向への偏位量との間に有意な相関がみられた。また，体軸面における下顎頭長軸角は，偏位側が非偏位側に比べ有意に大きく，体軸面における下顎骨の傾斜度との間に有意な相関がみられた。下顎頭における成長は，下顎頭に加わる負荷の大きさに影響を受ける。下顎頭形態は，咀嚼筋の不均衡など左右で異なる刺激が軟骨成長に影響を及ぼすことによって，患側の下顎頭に成長抑制が起こり，差異がもたらされたと推察した。さらに，その傾向に伴い，脳頭蓋上顎複合体に対する下顎骨の不調和が増加したと示唆された。下顎頭は偏位側で，前方および下方に位置しており，下顎頭の前後的な位置は，下顎骨の側方への偏位量との間に有意な相関がみられた。下顎骨は様々な方向に成長するが，特に後上方への成長が大きい。患側の下顎頭における成長抑制により，下顎頭の位置に差異が生じ，その傾向に伴い下顎骨側方偏位量が増加したと示唆された。

## 結 論

顔面非対称を伴う不正咬合患者では，偏位側と非偏位側における下顎頭の三次元形態に差異が存在すること，およびその差異は下顎骨の位置・姿勢と関連性を有することが明らかとなった。



菅本さえら

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野 任期制助手

平成17年3月 北海道札幌旭丘高等学校 卒業

平成17年4月 北海道医療大学歯学部 入学

平成23年3月 北海道医療大学歯学部 卒業

平成28年3月 北海道医療大学歯学部歯学研究科博士課程 修了

平成28年4月 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野 任期制  
助手





## [最近のトピックス]

## 服薬補助ゼリーの嚥下障害患者への適応

廣瀬 知二

伊東歯科口腔病院

超高齢者社会となったわが国では、脳血管疾患や認知症等を原因とする嚥下障害患者が増加している。嚥下障害患者は摂食の他、薬剤の内服にも苦慮することが多く、服薬に際し、介護、介助を必要とする場合も少なくない。歯科臨床においては口腔内に薬剤が残留している症例も散見され（図1）、残留した散剤が義歯床と床下粘膜の間隙に入り込み、疼痛を生じることがある。

内服薬の服用には一般に水や白湯が奨励されるが、嚥下障害患者では、流動性の高い液体はムセを起し、誤嚥性肺炎を発症させる原因にもなりかねない。薬剤が飲みにくいために、粉碎して食事と一緒に摂取しているケースもみうけられるが、錠剤の粉碎には、成分の変質や苦みの露出、調剤者の健康被害などの問題が潜んでいる。一方、ゼリー、くず湯など適度に粘性がある食品は、嚥下が比較的容易であることが知られており、嚥下障害患者の食事や服薬の補助に利用されている（森田，2003）。しかし、離水率が高いゼリーは離水した水が原因でムセを起し、誤嚥性肺炎を発症させるリスクがある。

嚥下時に口内・咽喉内で残留やひっかかりの少ないように設計されたゼリーが開発されて、介護現場で普及しつつある（盛本ら，2015）。このゼリーは離水を抑える構造を持っているために、最小限の水分量で服薬が可能であり、水分摂取制限患者へも適応できる。また、製品はトロミ剤のような濃度調整が不要で、使い切りタイプとなっていることから、災害時の服薬支援への応用も注目されている（図2）。

## 参考文献

盛本修司，野崎雅男，川崎浩延，敖剛花：嚥下困難者向け服用支援ゼリーの開発。Bio Clin 30（12）：1194－1198。2015。

森田俊博：嚥下補助ゼリーの開発。YAKUGAKU ZASSHI 123（8）：665－671。2003。



図1：嚥下できずに義歯に付着した錠剤。この状態のまま装着されていた。

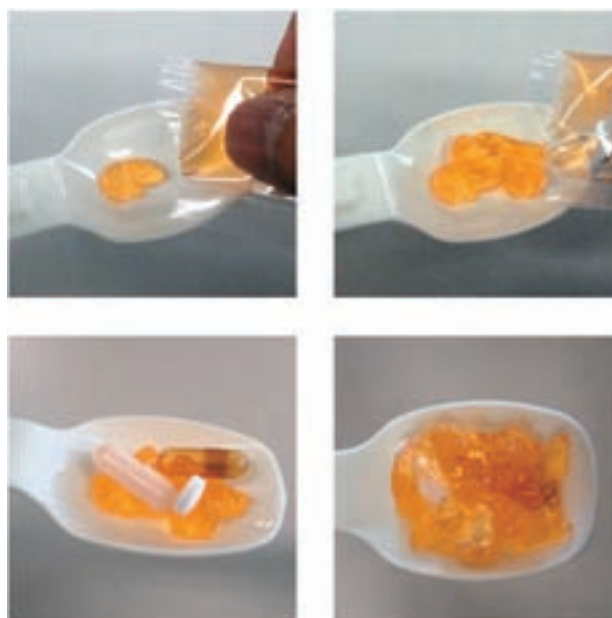


図2：服薬補助ゼリー。錠剤やカプセル、散剤をゼリーに包み込んで内服できる（eジュレオレンジ，モリモト医薬）。

## [最近のトピックス]

## 医療従事者向け最新版「JRC蘇生ガイドライン2015」の概要

大桶 華子

生体機能・病態学系 歯科麻酔科学分野

蘇生科学をエビデンスに基づき国際標準化する目的で、国際蘇生連絡委員会（ILCOR）が設立された。これにより2000年から国際的な蘇生のガイドラインが発表され、世界共通の蘇生ガイドラインとして普及した。このガイドラインは最新のエビデンスに基づき5年に一度の改訂が行われており、この度2016年2月に我が国における最新版「JRC蘇生ガイドライン2015」が正式発表された。

本稿では、「JRC蘇生ガイドライン2015」のうち、医療従事者向けの一次救命処置（BLS）の内容について、2010年版からの主な変更点や今回強調されている点を紹介する。

まず、医療従事者によるBLSアルゴリズム2015を図1に示すので、確認して頂きたい。

## &lt;主な変更点&gt;

## 1. 心停止の判断：「呼吸の確認に迷ったら、すぐに胸骨圧迫を開始」

下記の場合は心停止と判断し、ただちに胸骨圧迫から心肺蘇生法（CPR）を開始する。

- ・変更前(2010)：傷病者に反応がなく、呼吸がないか異常な呼吸（死戦期呼吸）が認められる場合
- ・変更後(2015)：傷病者に反応がなく、呼吸がないか異常な呼吸（死戦期呼吸）が認められる場合、あるいはその判断に自信が持てない場合

最新版では、心停止でなかった場合の危害を恐れず、ただちに胸骨圧迫を開始することが重要視された。

## 2. 質の高い胸骨圧迫：「強く・速くの基準」より質の高い胸骨圧迫が重要視されている。

## 1) 圧迫部位

- ・変更前(2010)：胸骨の下半分とし、胸の真ん中を目安とする
- ・変更後(2015)：胸骨の下半分（「胸の真ん中」は削除）

## 2) 深さ

- ・変更前(2010)：成人では胸が少なくとも5cm沈む

ように

- ・変更後(2015)：成人では胸が約5cm沈む程度で、6cmを超えないように

## 3) テンポ

- ・変更前(2010)：1分間あたり少なくとも100回
- ・変更後(2015)：1分間あたり100～120回

## &lt;強調された点&gt;

手技などに変更はないが、強調された点を挙げる。

1. 胸骨圧迫解除時の除圧を毎回確実に行う  
圧迫解除時には力がかからないよう、胸を完全に元の位置に戻す。
2. 中断時間を最小限（10秒未満）にする  
CPR中の人工呼吸は10秒以内で行い、胸骨圧迫比（実際に胸骨圧迫を行っている時間の比率）を出来るだけ大きく（最低でも60%に）する。
3. 訓練を受けていないものは胸骨圧迫のみのCPRを行う（人工呼吸は訓練された者がその技術と意思があれば行う）。

なお、一般市民向けのガイドラインでは、訓練を受けていない救助者の場合、119番通報をして通信指令員の指示を仰ぐことが強調されている。119番通報し通話を切らずにいると、心停止の際には胸骨圧迫のみのCPRを実施するなど、適切なアドバイスが受けられるようになっている。

以上、救急蘇生に関する最新版ガイドラインについて紹介した。今後も5年に一度はガイドラインが見直しになるため、常に最新版での対応が出来るようにして頂きたい。最後に、ガイドライン原文は書籍化（参考文献参照）されており購入可能であるが、日本蘇生協議会のHP（下記URL）から閲覧することも可能であり、参考にして頂きたい。

<http://www.japanresuscitationcouncil.org/> 「jrc蘇生ガイド

ライン2015」オンライン版の2016年最終版／

【参考文献】

1) 日本蘇生協議会監修：JRC蘇生ガイドライン2015. 医学書院, 2016.

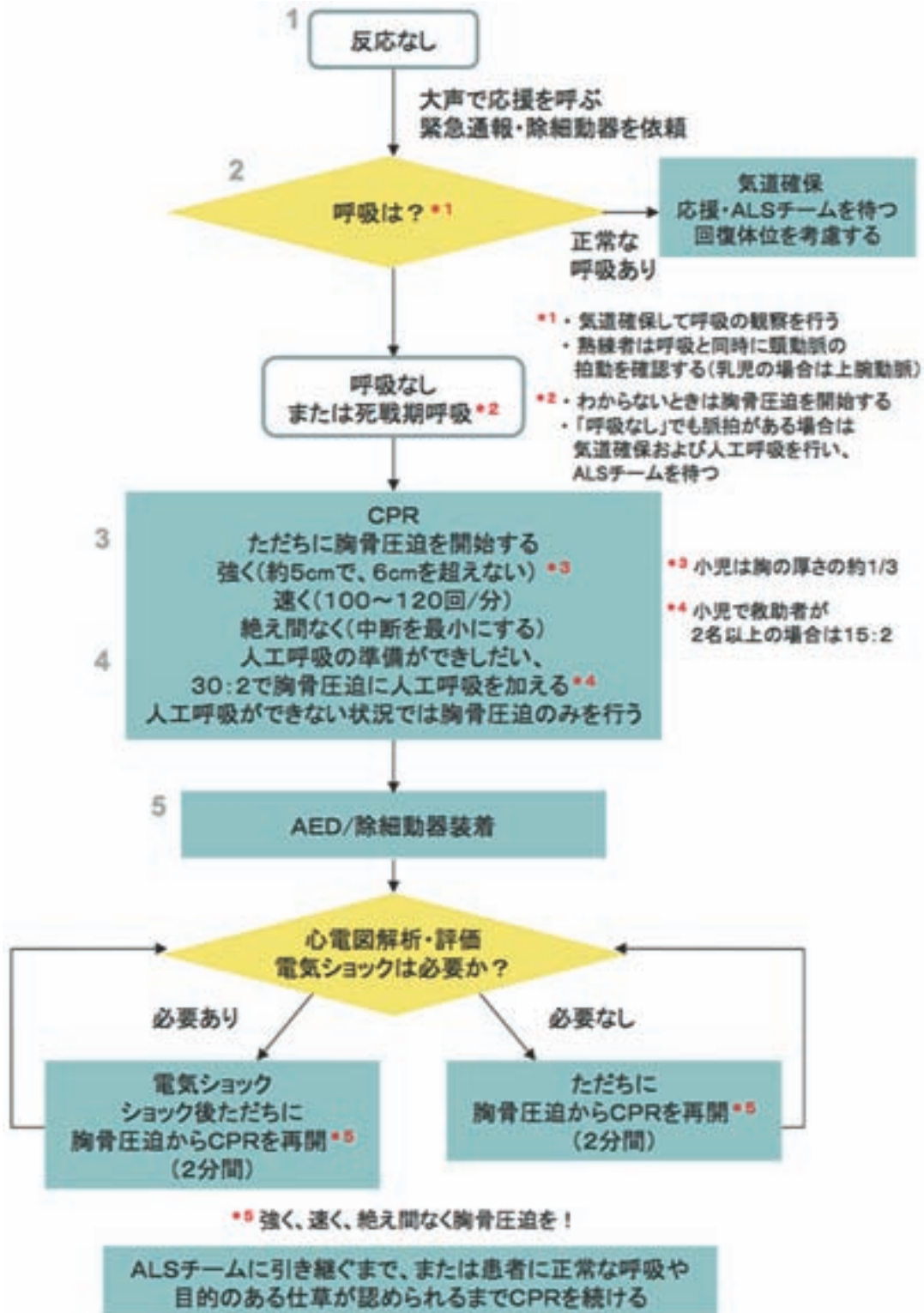


図. 医療BLSアルゴリズム (JRCガイドライン2015より引用)



## [最近のトピックス]

## 保存修復学臨床教育におけるEr:YAGレーザーの導入

泉川 昌宣

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野

保存修復学基礎講義・実習ではMinimal Intervention (MI: 最小限の侵襲によるう蝕治療) の概念に立脚した基本的技能や知識を理解し習得することを目標としている。2008年の診療報酬改定により「う蝕無痛窩洞形成加算」の算定が可能となり、レーザーが日常臨床で使用される機会がますます増加しているが、レーザーに関する教育は充分になされていないのが現状であった。そこで、歯科用レーザーに関する知識および操作法を習得させることを目的としてEr:YAGレーザーを用いた実習を第5学年臨床実習において導入した。

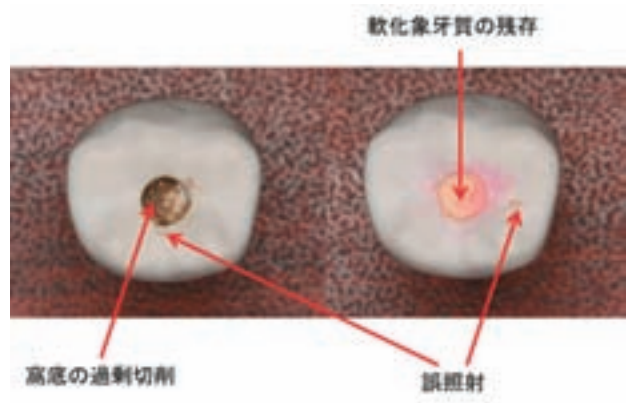
実習内容はMIの概念に立脚したう蝕検知液可染性う蝕付ホーニング歯(ニッシン)を用いてEr:YAGレーザー(アーウィンアドベールEvo; モリタ製作所)によるう蝕除去実習を行っている。平成25年度歯学部臨床実習生66名を対象とした調査ではEr:YAGレーザーでのう蝕除去に要した時間は平均16分であり、回転切削器具のう蝕除去実習時の12分と比較して増加していた。う蝕検知液の染色回数は5.7回であり回転切削器具による実習時の4.6より増加していた。

また、アンケート結果では90%以上の学生が有意義であると回答しレーザーを用いたう蝕除去以外のレーザーの用途についても興味を持てた反面、う蝕除去に要する時間が長く切削効率に劣るなどのデメリットも感じている様であった。

模型実習ではあるが学生にレーザーに経験させることができ、レーザーを用いたう蝕除去の効率的な技能習熟が可能となったことによりレーザーによる切削原理や機器特性の理解、安全性への考慮を体験し、知識と経験の統合が行えると期待される。



レーザー実習の様子



切削した歯牙模型(一例)

## 参考文献

平成20年厚生労働省 告示第59号.

菊井 徹哉ら, 歯学部4学年学生に対する炭酸ガスレーザー実習の教育効果について, 日本レーザー歯学会誌, 16(2): 93-97, 2005.

安田 善之, 斎藤 隆史, レーザー照射実習の有効性の検討, 日本歯科医学教育学会雑誌, 24(1): 3-8, 2008.

## [最近のトピックス]

## アメロジェニンと細胞接着・細胞伸展能

高橋 亜友美<sup>1)</sup>, 村田 佳織<sup>1)</sup>, 谷村 明彦<sup>2)</sup>, 齊藤 正人<sup>1)</sup>

1) 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

2) 北海道医療大学歯学部口腔生物学系薬理学分野

細胞接着は、細胞遊走や組織の発生そしてシグナル伝達などの生理的現象をコントロールする重要な機能である。細胞接着に関係する分子ファミリー全般を細胞接着分子 (CAM) といい、細胞外マトリックスとの接着を基質接着分子 (SAM), そして、ギャップジャンクションによる接着分子 (CJM) がある。その他にセレクチン, タイトジャンクション, デスモゾームなどが存在し, それぞれ分類されている。

1976年にYamada KMがフィブロネクチンをコートした培養皿では, 細胞の強固な接着および伸展という細胞接着活性を発見し, 1985年にフィブロネクチンのレセプターとしてインテグリンが発見された。現在では細胞接着に関連する研究でフィブロネクチンなど細胞外マトリックスが多用されている。

アメロジェニンはエナメルマトリックスの主成分であり, 主な作用はエナメル質の形成と考えられている。近年, 歯周治療に用いられるエムドゲインはブタの歯胚から抽出・精製され, その成分の90%がアメロジェニンといわれており, 細胞の増殖や分化のシグナル分子としての作用を有することが報告されている。Hoangらは, アメロジェニンとエムドゲインに同等の細胞接着と細胞伸展の機能があることを明らかにした<sup>1)</sup>。彼らは, 精製したりコンビナントアメロジェニン, エムドゲイン, そしてcontrolとして0.1%BSAをそれぞれコートした培養皿でMG63 (ヒト骨芽細胞株) を培養したところ, アメロジェニンとエムドゲインをコートした群では細胞接着能が高く, またcontrolと比較して細胞がよく伸展するのが観察された。

多くの細胞外マトリックスは, 細胞表面のインテグリンをレセプターとして利用する。しかし, アメロジェニンにはRGD配列やインテグリンと接着するようなシーケンスは含まれてないため, RGD配列を介さないメカニズムで細胞接着能を促進させていることになる<sup>2)</sup>。Hoangらは, アメロジェニンには細胞接着分子SAMsがあり, これらが細胞接着に関与すると考察している。アメロジェニンはハイドロキシアパタイト結晶面と結合す

るが, そのためにはC末端側が重要であると谷本らは報告している。C末端側ドメインのアスパラギン酸とグルタミン酸の連続した酸性アミノ酸がカルシウムイオンと結合しやすいため, 結晶面と結合すると考えられる<sup>3)</sup>。また, Hoangらはアメロジェニンと比較してエムドゲイン接着の活性が高かったことから, ブタから精製されたアメロジェニンの分解産物により高い接着活性があると考えているが詳細はいまのところ不明である。今後アメロジェニンやエムドゲインの細胞接着力を含む生理的な機能の解明が期待される。

## 参考文献

- 1) A.M.Hoang, R.J.Klebe, B.Steffensen, O.H.Ryu, J.P.Simer, and D.L.Cochran: Amelogenin is a Cell Adhesion Protein. *J Dent Res* 81: 497-500, 2002
- 2) Yamada KM: Adhesive recognition sequences. *J Biol Chem* 266: 12809-12812, 1991
- 3) 谷本幸太郎, 国松亮, 丹根一夫 矯正歯科治療における初期齲蝕への先進的対応 広島大学雑誌 44: 112-122, 2012

## [最近のトピックス]

## Tooth storage media for avulsed teeth

Md Riasat HASAN<sup>1</sup>, Nazmus SHALEHIN<sup>2</sup>, Kazuharu IRIE<sup>2</sup>, Takashi SAITO<sup>1</sup><sup>1</sup>Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, Health Sciences University of Hokkaido<sup>2</sup>Division of Histology, Department of Oral Growth and Development, Health Sciences University of Hokkaido

Dental avulsion is the severe type of traumatic tooth injuries. After avulsion it causes damage to several structures of tooth. Immediate replantation is the ideal treatment for avulsed tooth. However, replantation is not always possible. The vitality of the periodontal ligament cells that remain on root surface is the key to success of replantation. To maintain periodontal ligament cell viability, an ideal tooth storage media is required. Ideal tooth storage medium may contribute to minimize the occurrence of root resorption or ankyloses. Recent research has led to the development of storage media that produce conditions that closely resemble the original socket environment, with adequate osmolality (cell pressure), pH, nutritional metabolites and glucose, and thus create the best possible conditions for storage. Currently highly recommended tooth storage medium is Hank's Balanced Salt Solution (HBSS), which is a standard saline solution that is widely used in biomedical research to support the growth of cell.

In some country tooth storage media is commercially available at the pharmacy, like "Save A Tooth" or "Teeth Keeper". They actually contain HBSS. But these are not available everywhere.

An easily available tooth storage media are water, saliva and milk. But none of them are ideal tooth storage medium for avulsed tooth.

Tap water is one of the media with least desirable results. It protects the tooth from dehydration for being a hypotonic medium. But it causes rapid cell lysis of the periodontal ligament. Saliva can be used as a storing medium for a short period of time. However it can damage the cells of the periodontal ligament if used for longer than an hour. Its osmolality (60–70 mOsm/kg), is much lower than the normal physiologic condition, thus, it boosts the harming effects of bacterium contamination. Easily availability is its only advantage. The American Association of Endodontics recommended milk as a solution for avulsed teeth, for keeping the

viability of the human cellular periodontal ligament. Some report says milk showed higher ankylosis.

Khademi et al. suggested that egg white is comparable to milk as a storage medium for avulsed teeth.

Recently we studied on egg white as tooth storage media, and found some bio-physiological result. The result suggested that bio-physiological properties of egg white, makes a compatible result with HBSS as short term tooth storage media, for avulsed teeth. We need further study to find out a proper tooth storage media, which will be easily available at any accidental site.

However, there is not yet a single solution that fulfills all the requirements to be considered as an ideal medium for temporary storage of avulsed teeth, and research on this topic should be carried on.

## Reference

- Ashkenazi M et al. *Dent Traumatol* 16 : 63–70, 2000.  
 Bloml'of L et al. *Swed Dent J* 8 : 1–26, 1981.  
 Gopikrishna V et al. *J Endod* 34 : 587–9, 2008.  
 Manuella V P R et al. *J Endod* 40–5 : 665–669, 2014.  
 Khademi AA et al. *Dent Traumatol* 24 : 510–514, 2008.  
 Krasner P et al. *J Sch Nurs* 8 : 20–6, 1992.  
 Krasner P et al. *J Am Dent Assoc* 23 : 80–8, 1992

## [学会記録]

## 北海道医療大学歯学会第34回学術大会 定例講演会

歯と口腔の時代の到来！！  
—口腔のケアそして人間復活へ—米山歯科クリニック  
米山武義

私事で恐縮ですが、縁があって以前NHKラジオ深夜便「心の時代」に声の出演をさせていただきました。「口は長寿（長生き）の門」というテーマでしたが在宅診療にかかわって、要介護者とその家族が必死で生きている姿を歯科医師の目線で伝えました。つたない話でしたが、これまで経験してきたことをできるだけ患者さんの立場に立って話しました。しかし放送後、すごい反響を頂きました。内容は次のようなものです。「脳血管障害をわずらい、口から食べられない夫に何とか一口でも食べられるようにさせてあげたい。」「肺炎で生死をさまよったことがあります、どうか効果的な口腔ケアを教えてください。」「主人の涎が止まりません。どこか相談にのっていただける医療機関はないでしょうか。」など等。口腔のことで多くの国民が深刻な悩みを抱えていることを知り、襟を正して、国民の健康と福祉に邁進すべきであることを教えられた次第です。

看護教育の指導者であるヴァージニア・ヘンダーソン

(Virginia Henderson)が、1960年、著書『看護の基本となるもの』のなかで「歯を磨くこともごく簡単なことであると多くの人は思っているが、意識を失っている人の口腔を清潔に保つのは非常にむずかしくまた危険な仕事であり、よほど熟練した看護婦でないと有効にしかも安全に実施できない。実際、患者の口腔内の状態は看護ケアの質を最もよく表すもののひとつである」と記し、口腔という敏感で人間の尊厳に深くかかわる器官のケアの難しさと重要性を述べています。

近年、口腔保健管理（口腔ケア）は、歯科疾患の予防を目的としたものから、口腔のもつあらゆるはたらき（摂食、咀嚼、嚥下、構音など）を健全に維持し、全身健康に寄与するものとして理解され、実践されています。本講演では地域包括ケアの時代を迎えて、多職種と連携する歯科衛生士と歯科医師に求められていることは何かについて、これまでの経験をもとに北海道医療大学の皆様とじっくりお話したいと思います。



## 北海道医療大学歯学会第34回学術大会 一般講演抄録

### 1. Development of Mugineic Acid Extract-containing KOMPEITO for Elderly Persons to Prevent Periodontal Disease

○Misaki Nakajima<sup>1</sup>, Hiroshi Miyakawa<sup>2</sup>, Futoshi Nakazawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

<sup>2</sup>Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

**Introduction :** Periodontal disease is a national disease and more than half of the elderly Japanese are affected with this disease. Loss of teeth due to periodontal disease lead to degradation of chewing function, and results in a deterioration in QOL (quality of life). For prevention of periodontal disease, the available method is maintenance of good oral hygiene (brushing and flossing). But, brushing regularly and correctly is difficult for the elderly, especially those requiring long-term care or assistance with daily activities.

Mugineic acid, an iron-chelating phytosiderophore, is produced by some graminaceous plants. Iron is an essential nutrient for all living organisms including periodontal pathogenic bacteria. Therefore, it was suggested that mugineic acid could regulate the growth of periodontal pathogenic bacteria in human oral cavity.

In the present study, the mugineic acid extract (MAE)-containing KONPEITO was produced experimentally for the elderly or those requiring long-term care. And, the effect of the KOMPEITO on maintenance of good oral hygiene was examined for the prevention of periodontal disease.

**Materials and Methods :** Barley roots were soaked with ethanol and centrifuged. After the supernatants were evaporated, the MAE was solubilized with saline. The amount of mugineic acid was determined with iron gel dissolution activity. The MIC and MBC were estimated for periodontal pathogenic bacteria. The effect of MAE on the activities of gingipains, Rgp, and Kgp, which induce local periodontal tissue destruction, were assayed using spectrophotometer.

The human gingival fibroblast (HGF) and KB cell lines were treated with MAE. Then, cell viability was determined by WST-1 method. The effect of MAE on IL-6 production in KB cells was examined by ELISA, after stimulation with *P. gingivalis*. KOMPEITO with and without MAE were produced experimentally. The changes in the oral bacterial flora in saliva were compared before and after KOMPEITO consumption.

**Results :** The MAE inhibited the growth of gram-negative bacteria, such as *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, and *A. actinomycetemcomitans*, significantly. MIC and MBC ranged from 3 to 6 µg/ml. Activity of Rgp and Kgp produced by *P. gingivalis* was significantly inhibited by the MAE. The MAE exhibited lower cytotoxicity towards human oral-derived cells, HGF and KB, than that of chlorhexidine gluconate. The MAE significantly inhibited the production of IL-6 in KB cells, after stimulation with *P. gingivalis*. The MAE-containing KOMPEITO reduced the total viable count of bacteria and ratio of gram-negative bacteria in saliva.

**Conclusion :** It was demonstrated in the present study that the MAE derived from graminaceous plants appeared to have potential for preventing periodontal disease without the risk of cytotoxicity. In addition, the MAE-containing KOMPEITO can be used as a novel simplified approach to periodontal disease prevention for the elderly persons. Therefore, potential application of MAE is expected in the future.

## 2. Distribution and Frequency of Oral *Veillonella* species in Saliva among 8 to 15-Year-old Children in Thailand

○Citra Fragrantia Theodorea<sup>1</sup>, Izumi Mashima<sup>1,2</sup>, Futoshi Nakazawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Oral Microbiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

<sup>2</sup>Postdoctoral Fellow of Japan Society for the Promotion of Science

**Purpose** : Dental caries is caused by oral biofilms. Oral *Veillonella* spp. contribute to the biofilm formation at early stages. Six species of oral *Veillonella*, *V. atypica*, *V. dentocariosi*, *V. dispar*, *V. parvula*, *V. rogosae*, and *V. tobetsuensis*, have been suggested to facilitate succession of species in developing oral biofilms *in vivo*. However, the specific roles of oral *Veillonella* spp. in biofilm formation of the children in Thailand have not been clarified. The purpose of this study was to evaluate the distribution and frequency of oral *Veillonella* spp. in saliva from 8–15 year-old children in Thailand.

**Methods** : 28 subjects (10 males and 18 females) were divided into three groups based on clinical indexes of Decayed, Missed, and Filled Teeth (DMFT). The baseline of DMFT indexes was low (DMFT : 0–2.6), moderate (DMFT : >2.6–<4.5), high (DMFT : ≥4.5). Bacterial strains in the saliva were inoculated under anaerobic condition after homogenization and dilution. After cultivation for 5 days, CFUs were counted and stainability were confirmed by gram staining. Afterward, Genomic DNA was extracted by using the Instagene® Matrix kit (Bio-Rad) from each isolate for polymerase chain reaction (PCR) analysis. At the genus level, oral *Veillonella* were identified by using a genus-specific primer set. At the species level, oral *Veillonella* were identi-

fied by using six species-specific reverse primers and one forward primer. These primers were designed by using *rpoB* gene.

**Results and Discussion** : In this study, our findings showed that 433 total strains isolates were identified as member of genus *Veillonella* by using the genus-specific primer set. Meanwhile, 288 strains were identified as the established oral *Veillonella* spp. and 145 strains were confirmed as unknown species of genus *Veillonella*. In addition, the present study showed that *V. rogosae* was detected as predominant species in all DMFT groups, and *V. atypica* was detected from all subjects in High DMFT group. However, the strains of *V. tobetsuensis* were isolated in Moderate and High DMFT groups.

**Conclusion** : To the best our knowledge, this is the first report demonstrating the distribution and frequency of oral *Veillonella* spp. in saliva from 8–15 year-old children in Thailand. Based on the results at the present time, it was suggested that *V. atypica* might have related to high risk of dental caries with the children in Thailand. This study also suggested that unknown species isolated from saliva may be novel *Veillonella* species. Therefore, further validation with more samples is required in the future experiments.

### 3. 東京医科歯科大学D5ポリクリ期間における人体解剖実習について

○柴田俊一

東京医科歯科大学大学院顎顔面解剖学分野

【目的】東京医歯大では2011年入学の学生から教養課程を1年間に短縮し、医学歯学融合教育をスタートさせる等の新カリキュラムを走らせている。その新カリの一環として対象学生がD5になった2015年のポリクリの期間内に彼らにとって2回目となる人体解剖実習が行われた。演者は2011年10月に東京医歯大に赴任したが、すでにその方針が定められており必然的に取り組まざるを得なかった。なんとか初年度の実習を終えたので、その結果報告と高学年時における人体解剖実習の意義について考察する。

【方法】実習は頭頸部のみ、すべての臨床講義が終了した後に確認のために行うというのが大義であったが、次のような問題点が存在した。1) 期間は1日通しを5日間に限られる。2) 献体数に限りがあり、7-8人に1体(頭)がやっつとで、直接作業に当たれない学生が出現する。3) 2度目であっても学生に任せれば十分な割出が期待できずせつかくの献体を無駄にする恐れがある。4) 近年東京医歯大の国家試験の成績が振るわないこともあってこの時期に解剖実習に時間をかける意義が本当にあるか。等である。これらの問題を解決するために次のような計画を立てた。1) テーマを絞りそれに添

わない箇所(今年は眼窩、内耳等)は思い切って割愛する。2) 実習開始は午後からとし、午前中は各テーマに関する講義を臨床講座にさせていただき、それに関連する解剖学の講義を解剖学講座(医学部の協力も得た)からおこなう。3) 実習は頭を折半し、半側は解剖学講座の教官が事前に必要な構造物を割出してデモ標本とし、学生はその続きを解剖するとともに未処置の半側をデモを見ながら割出する。4) 解剖を行わない学生にPBL課題を与え、レポートを提出させるとともに国試の過去問を中心とした確認テスト問題を与えて実習時間内に回答してもらおう。実習の評価方法として、割出所見のスケッチ、PBL課題レポート、確認テスト解答を採点することにより形成的評価を行った。

【結果と考察】高学年での解剖実習は私が知る限り、愛知学院でD6時に行っているが、D5ポリクリ時の実習は他に例がないと思われる。初年度という事もあってか、個人差はあるものの学生はおおむね真剣に取り組んでくれたと判断した。東京医歯大は授業アンケートを行って学生が5点満点で評価するが、総合評価は4.70ということで、学生にもとりあえずは満足していただけたものと考えた。

### 4. Adenomatoid ductal hyperplasia proliferation: Report of a case

○Bhoj Raj Adhikari<sup>1</sup>, Michiko Nishimura<sup>1</sup>, Fumiya Harada<sup>1</sup>, Tetsuro Morikawa<sup>1</sup>, Takatoshi Chujo<sup>1</sup>, Masafumi Utsunomiya<sup>1</sup>, June Obara-Itoh<sup>1</sup>, Rie Takai<sup>1</sup>, Koki Yoshida<sup>1</sup>, Jun Sato<sup>1</sup>, Kosuke Takimoto<sup>2</sup>, Hiroki Nagayasu<sup>2</sup>, Yoshihiro Abiko<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

<sup>2</sup>Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

**Introduction:** Adenomatoid ductal hyperplasia proliferation is a very rare, benign lesion in the salivary gland. It appears as a proliferation of ductal components partially with acinus cell complex. Although the cause of this lesion is still uncertain, it has been suggested that the hyperplasia occurs as a result of regenerative changes under pathological conditions such as inflammation, irradiation and occlusion of the ducts. It is of significant importance because of its clinical resemblance to salivary gland tumors. We present a case of adenomatoid ductal proliferation hyperplasia of the parotid gland.

**Case report:** A 60-year-old woman was referred to the oral surgery outpatient department with chief complaint of swelling on the left side of parotid region. Clinical examination revealed the presence of well-circumscribed swelling in the lower pole of parotid gland. The clinical diagnosis was benign parotid tumor. The tumorectomy was performed un-

der general anesthesia. The elastic hard tumor was 7mm X 4mm X 7mm in size. Histopathologically, the tumor consists of the proliferation of ductal cells that show intercalated duct-like structures partially with acinar-like structures. The sequence between normal parotid ducts and the duct like structures could be observed. Immunohistochemical staining showed positive for S100, CK7, CK4 and Ki-67, and negative for GFAP. The ductal cells have a considerably lower score of Ki-67 than common tumors. From these results, a final diagnosis of adenomatoid ductal hyperplasia proliferation was made.

**Conclusion:** We present a case of adenomatoid ductal hyperplasia proliferation of the parotid gland. In a pathological diagnosis, this lesion should not be confused with neoplastic lesion.

## 5. The effect of tooth storage media on the periodontal tissue in transplanted tooth.

○Md Riasat Hasan<sup>1</sup>, Hiroaki Takebe<sup>2</sup>, Nobuko Obara<sup>2</sup>, Kazuharu Irie<sup>2</sup>, Takashi Saito<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido.

<sup>2</sup>Division of Histology, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido.

**Purpose :** Dental avulsion is a type of traumatic injury characterized by the complete displacement of the tooth from its socket. In case, immediate re-implantation is not possible, an easily available tooth storage media is required to preserve the tooth after avulsion. Milk and Hank's balanced salt solution (HBSS) is recommended as tooth storage media. Egg white has also reported to be comparable with milk as a storage media for avulsed teeth. However, there are few histological evidences on periodontal ligament (PDL) preservation and regeneration, of avulsed teeth after stored in storage media. The present study was aimed to histologically evaluate the effect of tooth storage media on the periodontal tissue.

**Materials and Methods :** Six week SD male rats' maxillary first molar teeth were extracted under general anesthesia. In the experiment HBSS, milk and egg white were used as tooth storage media. Extracted teeth were immersed in three different tooth storage media for one hour and then one group was fixed immediately and other group transplanted in a receiving pocket within the abdominal wall. In control group, extracted teeth were fixed or transplanted immediately after extraction. One week and two week after

transplantation, rats were fixed and the teeth were carefully excised with the surrounding tissue. Soft x-ray was taken and then examined histologically & immunohistochemically.

**Results and Discussion :** PDL in tooth after one hour immersed into the HBSS, milk and egg white, less number of cell and cell layer were observed in milk group. After one week- in egg, milk and HBSS group ; epithelial cell rests of Malassez (ERM) increases the number of cell and make cluster compared to the control group. After two week in HBSS group ERM cell numbers were reduced and similar to the control group and about milk and egg group ERM cell number were reduced but still large. Formation of alveolar bone was observed, after two weeks of transplanted tooth and among all of them only milk showed ankyloses. Many cathepsin K positive cells were observed in two week milk group around the alveolar bone and ankylose area.

**Conclusion :** As a tooth storage media, HBSS and egg white were compatible compared to the control group. In this study, after one hour immersion in milk, less PDL cell number and cell layer found ; as a result after two week ankyloses might occur.

## 6. ピロカルピンの前投与による唾液分泌亢進

○岩井美恵<sup>1</sup>, 森田貴雄<sup>2</sup>, 谷村明彦<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部5年生

<sup>2</sup>北海道医療大学歯学部口腔生物学系薬理学分野

**【目的】**ピロカルピン (Pilo) による唾液分泌は、ムスカリン受容体刺激によるホスホリパーゼC (PLC) 系を介して起こるとされている。一方臨床的には、投薬を継続的に行うと緩徐に唾液分泌量が増加すると言われている。これは、Piloによる唾液分泌亢進にPLC系以外のしくみが関与する可能性を示唆している。そこで、Piloの前投与によるラットの唾液分泌能の亢進と、それに伴う遺伝子発現の変化を検討した。

**【方法】**麻酔下のラットにPiloを腹腔内投与し、30分間に分泌された唾液を口腔内に挿入した綿球によって採取し、重量から唾液分泌量を算定した。採取した唾液のSDSゲル電気泳動と銀染色によりタンパク質を分析し、Bernfeldの方法によりアミラーゼ活性を測定した。さらに、ラットの顎下腺組織から抽出したトータルRNAを用いたRT-PCRで唾液腺の遺伝子発現変化を解析した。

**【結果および考察】**Pilo (1 mg/kg) 投与によって30分間に分泌された唾液量は、コントロールで1014.8 ± 105.4 μLであった。それに対して、一週間前にPilo (1 mg/kg) を前投与したラットでは、2回目のPilo投与による唾液分泌量が各々1292.6 ± 127.2 μLであった。唾液

分泌量を同一個体で比較すると、Pilo前投与によって188 ± 29.5%の増加が認められた。ベタネコール (Bet, 1 mg/kg) の前投与でもPiloによる唾液分泌が1648 ± 280.6 μLに増加した。Piloによって分泌されるアミラーゼ量は分泌量と比例して増加し、唾液1 mL当たりの活性はPilo前投与でも変化しなかった。これらの事から、Pilo前投与はムスカリン受容体の感受性を増加させた可能性が示唆された。Pilo前投与による顎下腺の遺伝子発現の変化を明らかにするために、次世代シーケンシングによるmRNAの網羅的解析を行ったところ、検出された10668遺伝子中、67遺伝子に2倍以上の増加、55遺伝子に1/2以下への減少が示された。そのなかのRNAの合成・分解に関与するいくつかの遺伝子では、RT-PCRによって網羅的解析と同様の結果が得られている。

**【結論】**PiloやBetの前投与によって唾液分泌が亢進した。この作用はムスカリン受容体の感受性の増加による可能性が考えられた。また、この分泌亢進に伴って顎下腺の遺伝子発現が変化することが明らかになった。今後は分泌亢進の分子メカニズムを解明していく予定である。



## 7. パラトルモン間欠投与による骨形成促進効果に機械的刺激が及ぼす影響

○建部廣明, 入江一元

北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系組織学分野

**【目的】** 骨粗鬆症の治療に用いられるパラトルモン (PTH) の間欠投与は歯槽骨の骨量も増加させることが示されている。一方、咬合や咀嚼によって歯槽骨に加わる機械的刺激も歯槽骨のリモデリングに影響することが知られている。そこで本研究は、歯槽骨においてPTH間欠投与による骨量増加に機械的刺激がどのように影響するか検討することを目的とした。

**【方法】** 6週齢雄性ラットの上顎左側第一臼歯を抜去後、PTH (テリパラチド酢酸塩, 旭化成ファーマ株式会社, 東京) 80 $\mu$ g/kgを2日に1回腹腔内投与した。投与開始後、4, 7, 28日後に動物を屠殺、下顎骨を摘出後、軟エックス線撮影を行った。試料を脱灰後、パラフィン切片を作製し、下顎第一臼歯根間中隔の骨量を組織学的に検出した。また、カテプシンK (CathK) およびアルカリフォスファターゼ (ALP) の局在を免疫組織化学的に検出し、骨吸収および骨形成の活性を検討した。

**【結果および考察】** 下顎第一臼歯根間中隔の骨量は、28日でPTH投与群 (投与群) が非投与群と比較して多く、

非抜歯側が抜歯側に比べ多かった。この結果から、PTH間欠投与による骨形成促進効果は、機械的刺激のある方で増強されることが示唆された。破骨細胞数は、4日で投与群が非投与群に比較して多く観察されたが、抜歯側と非抜歯側間に差はみられなかった。また、28日では投与群、非投与群間に差がみられなかった。この結果から、PTH間欠投与の初期には破骨細胞が誘導されるが、その効果は持続的ではないことが示唆された。一方、ALPの局在は、4日で投与群と非投与群間に差がみられなかったが、7, 28日では投与群の方が非投与群に比べ広範囲で認められた。さらに28日の投与群で、非抜歯側が抜歯側に比べ骨表面に厚いALPの局在を示しており、機械的刺激がPTH間欠投与による骨形成を促進する可能性が示唆された。

**【結論】** 歯槽骨において咬合や咀嚼による機械的刺激はPTH間欠投与による骨形成促進効果を増強する可能性がある。

## 8. 310nm紫外線LEDの口腔内細菌への殺菌作用の検討

○高田鮎子, 古市保志

北海道医療大学口腔機能修復・再建系歯周歯内治療学分野

**【目的】** ナローバンド (310nm) 紫外線LED試作照射器の口腔内細菌に対する殺菌作用を調べ、同機器の口腔内での活用法を検討する。また、その安全性について評価する。

**【方法】** *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Streptococcus sanguinis* ATCC 10556, および *Streptococcus mutans* ATCC 25175の計4種の口腔内細菌をPBSに懸濁した後、310nm紫外線LEDを0~120秒間それぞれに照射した。その後、同懸濁液を寒天培地へ塗布し、形成されたコロニーを数えた。非照射群を100%とした時の各照射群の細菌生存率によって殺菌作用を評価した。また、陽性対照として265nm紫外線LEDを用いた。歯肉扁平上皮細胞株Ca9-22の培養系に310nm紫外線LEDを照射し、同細胞への障害性の有無を乳酸脱水素酵素 (LDH) 法によって検討した。Ca9-22を培養し、310nm紫外線LEDを60秒間照射し、24時間後にDAF-2DAにてNOの産生を調べた。Ca9-22を培養し、310nm紫外線LEDを60秒間照射後、iNOS (誘導型一酸化炭素合成酵素) の免疫染色を行い、蛍光反応を観察した。各菌をOD<sub>600</sub>=0.4に調整後、各菌液を96ウェルプレートに添加後、各濃度 (1 $\mu$ M, 10 $\mu$ M, 100 $\mu$ M) のDEA-NONOateを添加し、1時間後、液体培地で希釈、寒天培地に塗抹し、形成されたコロニー数を計測しNOによる殺菌作用を調べた。同様の方法でH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 $\mu$ M, 10 $\mu$ M, 100 $\mu$ M, 1mM, 10

mM) による殺菌作用も調べた。

**【結果および考察】** *P. gingivalis* においては60秒間以上の310nm紫外線LED照射で生存率が60~30%に、*F. nucleatum* においては30秒以上の照射で70~50%になった。また *S. sanguinis* は10秒以上の照射で生存率は40%まで低下し、*S. mutans* では60秒以上の照射で生存率が60~50%まで低下した。310nm紫外線LEDは60秒以内の照射ではCa9-22細胞を障害しなかったが、265nm紫外線LEDは10秒以上の照射で有意に高い障害性を示した。265nmには劣るが310nm紫外線LEDにも殺菌作用があることが明らかになった。一方、310nm紫外線LEDには265nmと比較して細胞障害性が少ないことも明らかになった。310nm紫外線照射によって歯肉細胞にiNOSが形成され、NOが産生される事が解った。また菌種によってNOやH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による殺菌作用に差があることも明らかとなった。これらより310nm紫外線LEDには265nm紫外線LEDの強い殺菌作用とは違う機序の殺菌作用や活用法が期待できる。

**【結論】** 310nm紫外線LEDは、265nmには劣るが口腔細菌に対し殺菌作用がある。

※謝辞 この研究にあたって以下の方々にご協力頂きました。松下健二・萩原真 (国立長寿医療研究センター口腔疾患研究部) 堀岡悟 (日機装技研株式会社) 角保徳 (国立長寿医療研究センター歯科口腔先進医療開発センター)

## 9. エピジェネティクス修飾変化によるマラッセ上皮様細胞の脱分化

○森川哲郎<sup>1</sup>, 吉田光希<sup>1</sup>, Bhoj Raj Adhikari<sup>1</sup>, 小原-伊藤 純<sup>1</sup>, 原田文也<sup>1</sup>, 宇津宮雅史<sup>1</sup>, 中條貴俊<sup>1</sup>, 高井理衣<sup>1</sup>, 植原 治<sup>2</sup>, 佐藤 惇<sup>1</sup>, 倉重圭史<sup>3</sup>, 西村学子<sup>1</sup>, 齊藤正人<sup>3</sup>, 千葉逸朗<sup>2</sup>, 安彦善裕<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野  
<sup>2</sup>北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野  
<sup>3</sup>北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

**【目的】** エピジェネティクスは、塩基配列の変化を伴わずに遺伝子の表現型に変化を引き起こす修飾であり、様々な生命現象や疾患の発症に関わっている。細胞の分化制御への関与も明らかになってきており、エピジェネティクス修飾をターゲットとした薬剤、脱メチル化剤(5-Aza)により線維芽細胞が幹細胞化することが報告されている(Nature, 2008)。歯根膜に存在するマラッセ上皮細胞(Epithelial cell rests of Malassez: ERM)では幹細胞マーカーであるSox 2の発現が確認されている(Eur J Oral Sci, 2013)。そこで本研究では、ERMにエピジェネティクス修飾をターゲットとして薬剤を作用させ、幹細胞マーカーの発現変化について検討した。

**【方法】** ERMを、各薬剤添加条件下にてDMEMおよびES細胞用培地にて1週間培養した。添加条件: コントロール群(無添加), 5-Aza単独添加群, パルプロ酸(ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤)単独添加群, 5-Azaとパルプロ酸共添加群。その後薬剤を無添加と

し、培地のみでさらに1週間培養した。1, 2週間培養後に定量的RT-PCR法を用いて幹細胞マーカーのNanog, Oct 3/4, Sox 2, Klf 4および各分化マーカーについてmRNA発現を比較検討した。また、2週間培養後にAlkaline Phosphatase染色, Nanog, Oct 3/4の免疫組織化学染色を行った。

**【結果】** 定量的RT-PCR法の結果、ES細胞用培地では、コントロール群に比べ5-Aza単独添加群や5-Azaとパルプロ酸共添加群で幹細胞マーカーの発現が有意に上昇し、2週間培養時にその傾向は顕著であった。また、Alkaline Phosphatase染色ならびに、Nanog, Oct 3/4の免疫組織化学染色ではコントロール群に比べ5-Aza単独添加群や5-Azaとパルプロ酸共添加群で明らかな陽性反応を示した。

**【結論】** 5-Azaおよびパルプロ酸によるエピジェネティクス修飾は、ERMを脱分化させる可能性のあることが示唆された。

## 10. 実践的義歯ケア実習への応用を目指した人工デンチャープラークの評価

○川西克弥<sup>1</sup>, 岡橋智恵<sup>2</sup>, 會田英紀<sup>1</sup>, 菅 悠希<sup>1</sup>, 山崎真郎<sup>1</sup>, 植木沢美<sup>2</sup>, 大山静江<sup>2</sup>, 杉原佳奈<sup>2</sup>, 千葉利代<sup>2</sup>, 河野 舞<sup>1</sup>, 佐々木みづほ<sup>1</sup>, 中村健二郎<sup>1</sup>, 松原国男<sup>3</sup>, 豊下祥史<sup>1</sup>, 坂倉康則<sup>2</sup>, 越野 寿<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部 <sup>2</sup>咬合再建補綴学分野, <sup>3</sup>附属歯科衛生士専門学校,  
<sup>3</sup>歯科クリニック地域医療支援科訪問歯科診療

**【目的】** 平成25年人口動態統計結果の概況において、日本人の主な死因別にみた死亡率で肺炎が第3位になったことを受け、誤嚥性肺炎の予防を目的とした口腔ケアが改めて重要視されるようになった。一方、介護医療現場で目にする義歯には依然としてデンチャープラーク(Denture Plaque: DP)が付着していることも多く、歯科医療従事者のみならず看護・介護関係者等への教育指導の徹底が望まれる。ところが、教育現場において義歯ケア実習のための有効な教育手法が確立されておらず、学生は訪問歯科診療や介護医療現場などの臨床実習や施設実習を通して、初めてDPの実物に触れることから、義歯ケア実習と現場とでの相違が教育上の重要な課題となっている。そこで我々は、義歯ケア実習のための教育ツールとして人工デンチャープラーク(Artificial Denture Plaque: A-DP)を考案した。今回、A-DPを実習に導入するにあたり、その有用性について歯科医療従事者を対象にアンケート調査を実施したので報告する。

**【方法】** 本学歯科クリニックに勤務する歯科衛生士、訪問歯科診療担当歯科医師ならびに歯学部咬合再建補綴学分野の医局員、附属歯科衛生士専門学校教員25名(歯科医師10名、歯科衛生士15名)を対象として、A-DPが付着した義歯を触知させ、その質感や歯垢染色液による染

め出しの再現性、臨床で遭遇するDPとの近似性、実習導入への有用性などに関するアンケート調査を実施した。なお、アンケートはすべて無記名とした。統計学的検討には $\chi^2$ 検定を用い、有意水準は0.05とした。

**【結果および考察】** アンケートの有効回答率は100%であり、対象者の平均年齢は39.4±8.8歳、勤務平均年数は16.4±9.7年であった。対象者全員が歯科医院または訪問歯科診療のいずれかで義歯ケアに携わった経験があり、「DPを実際に見たことがある」と回答していることから、今回考案したA-DPの評価者として適切であることが確認できた。また、A-DPの再現性において、「よく再現されている」と回答した者の多くが、「臨床で遭遇するDPと近似している」と回答していることが認められた( $\chi^2=10.795$ ,  $p<0.01$ )。さらに対象者全員より「A-DPは義歯ケア実習の導入に有効である」との回答が得られたが、色調、硬さ、高頻度付着部位、付着強さの改良点について、臨床経験者ならではの貴重な意見も得ることができた。今後は、A-DPの更なる改良とともに、今回のアンケート結果から得られた実習指導方法のアイデアも多く取り入れ、より実践的な義歯ケア実習の導入による教育効果について検討していく予定である。

## 11. 東苗穂にじいろ歯科の特別養護老人ホームにおける取り組み — Oral Assessment Guide (OAG) と口腔内状況の変化 —

○赤沼正康<sup>1</sup>, 松原秀樹<sup>2</sup>, 松原光代<sup>3</sup>, 仲西康裕<sup>4</sup>, 越智守生<sup>4</sup>

<sup>1</sup>医療法人社団 豊生会 東苗穂にじいろ歯科クリニック

<sup>2</sup>南麻生にじいろ歯科クリニック

<sup>3</sup>医療法人社団 豊生会 東苗穂病院 歯科

<sup>4</sup>北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系クラウンブリッジ・インプラント補綴学分野

**【目的】** 高齢者における日常看護および介護でよくみられる唾液分泌低下は、口腔内乾燥がおこり感染症をしばしば誘発する。口腔ケアにより口腔内清掃状態、嚥下反射、唾液分泌などといった口腔機能の回復が促進されることから、高齢者の肺炎対策としての効果が明らかになってきている。しかしながら、看護・介護の現場の中では、統一したプロトコルがなく口腔ケアが十分に行き届いていないのが現状である。そこで当医院では、特別養護老人ホームにおける歯科介入によるOral Assessment Guide (OAG) と口腔内状況の変化を検討した。

**【方法】** 特別養護老人ホームAの入居者80名に調査協力を依頼し、平成26年2月28～3月25日に介入前の口腔内検査を実施した。その後、歯科医師および歯科衛生士による入居者への口腔内清掃および看護師・介護士への口腔内清掃方法指導を行った。介入後の口腔内検査を平成27年1月15日～27日に実施し、56名(70.0%)の協力を得た。OAGはEilresが開発した口腔内評価法を使用した。8項目(声、嚥下、口唇、舌、唾液、粘膜、歯周、

歯および義歯の接触部の汚れ)について、健康であればスコアが1、中間を2、不健康は3と点数化される。OAGの合計点数と口腔内総菌数、菌数レベルの介入前後の変化について調べた。分析方法:基本統計量, Wilcoxonの符号付順位検定を行った。有意水準を5%とした(IBM SPSS Statistics22)。本研究は倫理審査会の承認を得て実施した。

**【結果および考察】** 対象者の背景は、男性11名、女性45名であった。介入前後でのOAGを比較した結果、4項目(舌、唾液、歯周、汚れ)において介入後にスコアが有意に減少し、それに伴いOAG合計点数も減少した。口腔内総菌数および菌レベルを比較した結果、介入後では有意に総菌数および菌レベルが減少した。

入居者の舌、唾液、歯周、汚れの状態が改善されたことから、看護師および介護士による口腔清掃への意識や技術が向上したものと考えられた。

今後は、口腔清掃による肺炎発症や熱発の変化、全身状態との関係について検討していきたい。

## 12. 歯学部生からみた地域医療と生活様式の関連性 ～地域医療合同セミナー 地域医療基礎実習に参加して～

○廣島有里<sup>1</sup>, 入江一元<sup>2</sup>, 池森康裕<sup>3</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部2年

<sup>2</sup>北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系組織学分野

<sup>3</sup>北海道医療大学看護福祉学部臨床福祉学科介護福祉学講座

**【目的】** 札幌医科大学と行っている地域医療合同セミナーは、地域医療を展開する上で重要な、地域で暮らす人々の生活様式と健康の関連性を理解することや、患者や医療関係者との良好な人間関係を育成するためのコミュニケーション能力について、講義や体験実習を通して理解するものである。

私は北海道の地域医療にはどのような特徴があるか、また、歯科医師の地域医療への関わり方について興味があり、この合同セミナーに参加したので紹介する。

**【内容】** 平成27年7月14日と7月21日の2度、札幌医科大学で留萌の地域性についてと他者とかかわる技法についての講義を受けた。次いで8月5日～8月7日の3日間に渡って、るもい健康の駅の利用者1名、農業を営む1家族、老人ホームで暮らす高齢者へのインタビューを実施するとともに、留萌市立病院の見学と病院の運営サポートや患者サポートのボランティア活動に参加した。

**【結果】** 事前の講義で、留萌市は全国の市町村の中でも特に塩分の摂取量が多い地域で、脳血管疾患の患者が多

いことを学んだ。また、インタビュー調査により、農家は農繁期や公共交通機関が無い地域は通院できない環境にあり、身体の痛みを我慢して症状を悪化させていた。このような方の中には、咬合状態が変化し睡眠障害を併発することもあった。留萌市立病院では、診療科不足により、旭川市や札幌市の病院を受診しなければならない患者もあったが、一方で住民ボランティアが病院の運営を支えるだけでなく、患者の精神的支援や治療生活のサポートを行っていた。

**【考察とまとめ】** 地域の特性により、医療従事者は診療所で患者を待つだけではなく、進んで地域に出て行き、住民とともに生活様式を変えていく必要があると感じた。また、留萌市立病院で行われているように住民(ボランティア)と連携し、地域の医療や健康教育を進めることの有効性を感じた。さらに、患者と信頼関係を築くためには、相手の気持ちを汲み取る謙虚な姿勢と、患者の生活様式を学ぶことが必要であることを学んだ。



### 13. 上唇に発生した悪性黒色腫の一例

○瀬川憂樹<sup>1</sup>, 石川昌洋<sup>2</sup>, 瀧本紘佑<sup>2</sup>, 宮本一央<sup>2</sup>, 南田康人<sup>3</sup>, 前壮功仁<sup>3</sup>, 淀川慎太郎<sup>3</sup>, 佐野聖子<sup>3</sup>, 北所弘行<sup>2</sup>, 原田文也<sup>2,4</sup>, 西村学子<sup>4</sup>, 安彦善裕<sup>4</sup>, 永易裕樹<sup>2</sup>, 柴田考典<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学病院臨床研修科

<sup>2</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系顎顔面口腔外科学講座

<sup>3</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系組織再建口腔外科学講座

<sup>4</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学講座

**【目的】**悪性黒色腫はメラノサイトに由来する腫瘍性病変で、顎顔面領域では硬口蓋、上顎歯肉、上唇に稀に発生する。今回、上唇に発生した悪性黒色腫の一例を経験したので報告する。

**【症例】**年齢72歳、男性。主訴：左側上唇の黒色病変。既往歴：特記事項無し。現病歴：2014年6月頃より左側上唇の違和感と黒色病変を自覚するも放置していたが、同部病変の増大傾向を認めたため2014年7月に当科初診となった。

**【現症】**左側口角付近上唇にΦ31mm×28mmの不正形に隆起した潰瘍を伴う黒色病変を認めた。生検により悪性黒色腫の病理組織学的診断を得た。両側頸部に腫大したリンパ節は認めず、CT、MRI、FDG-PETにおいても転移を疑う所見はなかった。臨床診断：悪性黒色腫T3bN0M0 Stage II B。

**【処置および経過】**左側上唇部分切除術+左側肩甲骨骨筋上頸部郭清術+遊離前腕皮弁を用いた再建術を施行し

た。術中、左側顎下リンパ節領域に転移を疑う黒色の腫大したリンパ節を認めたため、術式を根治的頸部郭清術に変えた。切除標本においても悪性黒色腫の病理組織学的診断、左側顎下リンパ節領域に1個の転移を認めた。術後にダカルバジン100mgによる補助的化学療法を5サイクル施行した。術後12ヶ月経過した現在、経過観察を行い局所再発、遠隔転移無く良好に経過している。

**【考察】**悪性黒色腫は極めて稀な悪性腫瘍で早期にリンパ行性転移や血行性転移を生じる。本症例も早期にリンパ行性転移を認めたが、比較的早期に治療が開始できたこと、頸部郭清範囲を拡大し転移が予想されるリンパ節を郭清し、十分な外科的安全域を設定し切除了ことから、良好に局所制御し得たと考えられた。また、5年生存率が20%以下と極めて予後不良であるため、引き続き厳重な経過観察を行う必要があると考えられた。

### 14. 扁平上皮癌から紡錘細胞癌に組織変化をした上顎歯肉癌の1例

○瀧本紘佑<sup>1</sup>, 宮本一央<sup>1</sup>, 原田文也<sup>1,3</sup>, 前壮功仁<sup>2</sup>, 石川昌洋<sup>1</sup>, 南田康人<sup>2</sup>, 淀川慎太郎<sup>2</sup>, 佐野聖子<sup>2</sup>, 草野 薫<sup>1</sup>, 北所弘行<sup>1</sup>, 植原 治<sup>4</sup>, 西村学子<sup>3</sup>, 安彦善裕<sup>3</sup>, 柴田考典<sup>2</sup>, 永易裕樹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系顎顔面口腔外科学講座

<sup>2</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系組織再建口腔外科学講座

<sup>3</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学講座

<sup>4</sup>北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発達学系保健衛生学分野

**【目的】**紡錘細胞癌は肉腫様に紡錘細胞が充実性に増殖する扁平上皮癌の一亜型とされている。頭頸部領域での発生頻度は極めて低いが、口腔では口唇、舌、歯肉に発生するとされている。今回、左側上顎歯肉扁平上皮癌の治療後に紡錘細胞癌が発生した一例を経験したので報告する。

**【症例】**年齢72歳、女性。主訴：左側上顎歯肉の疼痛と腫瘍。既往歴：高血圧症。近医内科にて加療中であった。現病歴：2010年2月頃より左側上顎歯肉の疼痛を自覚し、近医歯科受診したところ、左側上顎大白歯部の腫瘍の精査・加療目的に同年4月に当科初診となった。

**【現症】**左側上顎大白歯部を中心に表面細顆粒状の26mm×23mmの周囲に硬結を伴う潰瘍を認めた。両側頸部リンパ節に転移を疑うリンパ節は認めず、生検により扁平上皮癌の病理組織学的診断を得た。臨床診断：左側上顎歯肉癌T2N0M0 Stage II

**【処置および経過】**2010年4月に上顎部分切除術+全層植皮術を施行した。2015年3月に左側上顎56相当部頰側

に潰瘍を伴う白色病変の出現を認め生検にて、上皮内癌の病理組織学的診断を得たため、再度、左側上顎部分切除術を行った。

同年8月に左側上顎4相当部頰側に再度、腫瘍の出現を認めたため、生検を行ったところ、紡錘細胞癌の病理組織学的診断を得た。再度、左側上顎部分切除術を施行したが、同年11月に左右顎下リンパ節領域、左右上内深頸リンパ節領域、左側ルビエールリンパ節転移が顕在化しrT0N2cM0 Stage IVAと診断した。現在はCDDP+5-FU+CEXを用いた化学療法を行っている。

**【考察】**紡錘細胞癌は紡錘細胞を主体の多様な細胞の肉腫様の増殖を示す悪性腫瘍で、Radiation related cancerと紡錘細胞由来のものがあるとされている。本症例はVimentin, keratin陽性で上皮より組織変化をきたしたと示唆される。本症例は初回治療より長期経過において扁平上皮癌が紡錘細胞または多形細胞に移行し肉腫瘍増殖を示すbiphasic typeと考えられた。



## 15. 長期にわたり経過観察しえた良性対称性脂肪腫症 (Benign symmetrical lipomatosis) の1例

○淀川慎太郎<sup>1</sup>, 松沢史宏<sup>1</sup>, 北所弘行<sup>2</sup>, 永易裕樹<sup>2</sup>, 柴田考典<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部生体機能病態学系組織再建口腔外科分野  
<sup>2</sup>北海道医療大学歯学部生体機能病態学系顎顔面口腔外科分野

**【目的】** 良性対称性脂肪腫症 (Benign symmetrical lipomatosis以下BSL) は頸部を中心として対称性, 多発性に脂肪沈着がみられる疾患で, 家族例ばかりでなく孤発例も報告され, その原因は不名である. これまで地中海地方を中心に200例あまりの家族例が報告されているが, 本邦での報告は少ない. さらに口腔外科領域での報告は少なく, 渉猟し得た限り4例のみであった. 今回われわれは, BSLの1例を長期にわたり経過観察しえたしたので, その概要を報告する.

**【症例】** 患者: 79歳男性. 主訴: 頸部腫瘍. 現病歴: 33年前に頸部の腫瘍を自覚し某大学病院内科を受診した. 脂肪沈着の診断で経過観察となったが自己判断で通院を中断した. その後も経時的に腫瘍が増大するも自覚症状がないため放置していた. なお, 家族歴聴取にて実母にも同様の頸部腫瘍が認められたとのことであった. 2008年, 歯科治療を機に精査を勧められ当科を受診した. 既往: 40年前アルコール性肝炎. 33年前, 事故による大腿骨骨折. 26年前胃癌により2/3切除. 3年前, 前立腺癌. 放射線治療後, 現在化学療法中. 現症: 身長165cm, 体重51kg, BMI18.7. 前頸部から後頸部に対称性

で弾性軟で無痛性の腫瘍を認めた. 腫瘍はCT値-100, MRI T1強調像で周囲の脂肪組織と同等の均一な高信号を示した. 画像所見と頸部を中心に対称性で瀰漫性に脂肪組織の沈着を認めることからBSLと臨床診断した. BSLの発症にはアルコール多飲や代謝異常が関与すると報告がある. 一方, 近年ミトコンドリアDNA変異(8344変異/A→G)の関連を示唆する報告が散見されたため, ミトコンドリアDNA検査を施行したが変異は認められなかった.

**【経過および考察】** 自験例はミトコンドリアDNA変異を有さないBSLであった. 本例では長期間にわたる経過観察中に, 脂肪沈着の増大により閉塞性睡眠時無呼吸症を発症し, 併せて高血圧症も発現していた. 治療法としては被膜を有さないことから, 完全摘出は不可能であり, 治療後, 早期に再発をきたす報告が多いことを踏まえ, 反回神経, 上大静脈症候群や呼吸困難などの臨床症状が増悪した場合は, 外科的減量切除もしくは脂肪吸引減量術適応となる. 引き続き長期にわたる経過観察を行っていく予定である.

## 16. 北海道医療大学病院口腔インプラント科の現状報告

○杉村佳洋, 北所弘行, 今枝明子, 上田修平, 富野貴志  
 工藤 勝, 大桶華子, 舞田健夫, 越智守生  
 北海道医療大学病院口腔インプラント科

**【目的】** 我々は, 2006年から2015年の10年間において, 北海道医療大学病院口腔インプラント科を受診した患者の現状把握を目的として, 統計調査を行ったので報告する.

**【方法】** 北海道医療大学病院口腔インプラント科において, 2006年1月から2015年12月までの10年間にインプラント関連治療を受けた患者527症例, 1353本を対象に分析し検討した. 検討項目は来院患者内訳, インプラントの埋入本数, インプラントシステム, サイズ, 埋入部位, 手術管理とした.

**【結果】** インプラント関連治療を受けた患者は527症例(男性192症例, 女性335症例)で, 平均年齢は55.5歳(男性59.2歳, 女性53.2歳), 最小年齢16歳, 最高年齢84歳であった. インプラント埋入本数は1353本であり, 累積残存率は97.9%であった. インプラントシステムはNobelBiocare社製が1173本(86.6%), インプラント直径は4.0~4.4mmが704本(52.0%), 長径は10.0~12.0mmが

578本(42.7%), インプラント埋入部位は下顎臼歯部が603本(44.6%)とそれぞれ最多であった. また, 局所麻酔と笑気吸入鎮静法+静脈内鎮静法併用での手術が469症例(89.0%)であった.

**【結論】** 当病院口腔インプラント科の現状を調査したところ, インプラント手術件数に変化はなかったが, 手術患者の年齢が上昇してきている. また, 近年の歯科医療に対する報道により, 患者自身が関心を持ち医療に対する専門性を求め, 大学病院への受診が増加傾向にある. インプラント治療の普及と認知が広がることで, 様々な要望で受診される患者が増加してくると考えられる. 今後も安定した受診率を維持する中で, 超高齢化社会へのインプラント対応と継続的なメンテナンスへ通院される患者への対応を考え, これからの10年も安心・安全な医療を提供し続けるためにも, 診療体制の整備ならびにスタッフの教育と確保が必要である.

## 17. S-PRGフィラー含有コーティング材のエナメル質脱灰抑制効果

○戸島洋和, 村井雄司, 榊原さや夏, 齊藤正人  
北海道医療大学歯学部学口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野

**【目的】** カリエスリスクの高い患者に対し, エナメル質の脱灰抑制や再石灰化を期待して歯面コーティング材の応用が注目されている。今回我々はS-PRGフィラー(松風)を含有するコーティング材の, エナメル質脱灰抑制効果について検討した。

**【方法】** 1. エナメル質切片的の作製

抜去した歯のエナメル質を低速精密切断機で1mmの厚さに切り出し, 表面を耐水ペーパーで研磨した後に, 2×2×1mmの直方体形状に切り出した。

2. 試料作製

歯面コーティング材としてPRGバリアコート(松風)を用いた。直径10mm, 厚さ1mmのアクリルレジンの円盤に, PRGバリアコート1ボトル分を付属のブラシで塗布し光硬化させた。

3. pHとイオン濃度の測定およびSEM観察

実験グループを以下の3グループに分け, 実験を行った。

- ① エナメル質切片のみ
- ② エナメル質とPRGバリアコートの共存
- ③ PRGバリアコートのみ

pH4.0の乳酸溶液5mlに各試料を入れ, 37℃で24時間保管しながら, 1時間毎にpHを測定した。共存群では

エナメル質切片と, コートしたレジン円盤を接触しないように浸漬させた。さらに, 同じ試料を24時間毎に新たなpH4.0の乳酸溶液5mlに浸漬した後に, 溶液のpH測定を行い, 同様に6日後まで継続した。また, 24時間後と6日後の溶液中のF, Al, B, Ca, Na, P, Si, Srの各イオン濃度を測定した。6日後にエナメル質切片を取り出し, SEMにて表面の脱灰様相を観察した。

**【結果】** エナメル質切片のみ浸漬した場合, 溶液のpHが緩徐に上昇し, 24時間後でpH5.2となり, カルシウムイオンは約10ppm溶出した。一方, 歯とPRGバリアコートを共に浸漬した場合とPRGバリアコートのみ浸漬した場合, 6時間でpH5.2に上昇し, 24時間後まで維持された。共存群からはカルシウムイオンが約1ppm溶出したが, PRGバリアコートからは溶出しなかった。24時間毎のpH測定ではどの群もpH5.5前後に上昇した。SEM像において, エナメル切片のみでは6日間の浸漬で顕著な脱灰が生じて小柱構造が露出していた。しかし, PRGバリアコートと共存した場合はエナメル質の研磨面が維持されていた。

**【結論】** PRGバリアコートは被コート歯面だけでなく, 周囲の歯質にも脱灰抑制効果を及ぼすことが示唆された。

## 18. 新規透明化試薬LUCIDによる蛍光イメージング観察

○谷村明彦, 森田貴雄, 根津顕弘  
北海道医療大学歯学部口腔生物学系薬理学分野

**【目的】** 共焦点レーザー顕微鏡によって生体組織の立体構造を容易に解析することが可能になった。さらに多光子顕微鏡によって組織深部の観察が可能になり, 組織あるいは個体レベルでの立体構造解析が可能になりつつある。組織の光透過性を高める臓器透明化技術は, この組織・個体レベルのイメージングの実現に必要な技術として注目されている。今回は, 新規透明化試薬LUCIDを用いたイメージングについて紹介する。

**【方法】** GFPマウスから摘出した臓器(顎下腺, 腎臓, 大腿骨)をホルマリン固定して実験に用いた。組織を蒸留水に一晩浸漬してホルマリンを除去した後, LUCID 1に24時間浸漬した。次にLUCID 2に浸漬し, 翌日液交換をしてそのまま室温で保存した。これらの組織片を用い, 多光子レーザー顕微鏡システムRadiance2100MP(Carl Zeiss)を使って488nmのアルゴンレーザーによる共焦点レーザー顕微鏡観察およびフェムトセコンドパルスレーザーを用いた多光子顕微鏡観察を行った。

**【結果】** LUCID処理した組織は, 肉眼的に透明度の高いやや白色(顎下腺と大腿骨)あるいは茶褐色(腎臓)の組織として観察された。組織の大きさや硬さは, 処理前と大きな違いは認められなかった。腎臓の多光子レーザー顕微鏡解析では, 特に強い蛍光を示す糸球体構造と

比較的弱い蛍光の尿細管が明瞭に観察された。組織の表面付近ではこれらの構造や蛍光強度に大きな違いは認められなかった。LUCID処理した腎臓では, 表面から200 $\mu$ mの深部で蛍光強度が約50%に減弱したが, 強い励起光を使うことで観察が可能であった。一方, LUCID未処理の腎臓では, 表面から約20 $\mu$ mで蛍光が著しく減弱し, 50 $\mu$ m付近で観察が不可能となった。大腿骨は腎臓に比べて蛍光は非常に弱く, 観察には強い励起光を必要としたが, 表面から約20 $\mu$ mまでの深度で骨細胞の微細なネットワーク構造が観察された。

**【考察】** 透明化試薬は2011年に発表されたScaleやその改良法であるCUBICが知られている。LUCIDは, 従来法で問題となっていた組織の膨潤も無く, 環流固定の必要もない。さらに, 従来の方法では透明化できなかった骨の透明化が可能であり, 本研究ではホルマリン固定した未脱灰の大腿骨中の骨細胞のネットワークを明瞭に観察することができた。この方法は, GFPマウス以外の様々な動物の組織の立体構造解析に利用できる事が示された。

**【結論】** LUCIDによって骨を含む組織のホルマリン固定サンプルを透明化し, 多光子レーザー顕微鏡観察を行った。

## 19. 三叉神経下顎枝の神経障害の関与が考えられる咀嚼筋萎縮の2症例

○田代真康, 中山英二, 大西 隆, 佐野友昭, 杉浦一考  
北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系歯科放射線学分野

**【目的】**咀嚼筋の萎縮を認めた2症例の画像検査を把握し、その原因となる神経の障害を考察し、本症例と類似した症例報告との比較検討を行う。

**【症例1】**77歳男性。下顎歯肉痛に対するCT検査により、両側の咀嚼筋の萎縮・脂肪変性、左側顎二腹筋前後腹、顎舌骨筋、胸鎖乳突筋の萎縮が認められた。2歳時に中耳炎に対する手術後に開口障害、顔面神経麻痺が見られ、現在まで後遺している。この時の神経障害が筋萎縮の原因と考えられた。顎機能については詳細には診査されなかったが、開口度は23-25mmである。

**【症例2】**65歳男性。57歳での脳梗塞後に感音性難聴と視力低下、複視、内斜視、左側眼球運動制限を生じた。脳CT検査で、左側小脳半球、橋被蓋左側に陳旧性梗塞所見と、左側咀嚼筋の萎縮・脂肪変性が認められた。このことから橋被蓋部での三叉神経障害が示唆された。顎機能については診査されていない。

**【結果および考察】**2例ともに系統的咀嚼筋萎縮が見ら

れ、その筋萎縮の原因は、三叉神経下顎枝の運動神経の中枢側での神経障害であると考えられた。一方で、既存の報告では筋萎縮の根幹には廃用性萎縮の関与を強く示唆するものがあり、その程度は運動量と密接な関係があると考えられていたが、本症例は、その推測を支持する結果であるとは言い難いものとなった。しかし、食事時に不具合等を訴えていなかったということが、運動量が十分であることと同意であるとは言えず、加えて、本症例では主訴に関連した病変に対する検査で付随的に咀嚼筋萎縮が発見されたために筋萎縮に対する検査は十分になされておらず、その詳細が不明であることから、証拠不十分と言わざるを得ない。ゆえに本症例の様な、三叉神経下顎枝の運動神経に関連する部位に神経障害の既往がある患者においては、咀嚼筋萎縮の可能性を考慮し、咀嚼筋に関して十分に注意を払った上で画像診断を行うとともに、必要に応じて顎運動機能の診査も行うべきであると考えられた。

## 20. 舌痛症を併発した口腔乾燥症が低用量のセルトラミンで症状が改善した1例

○宇津宮雅史<sup>1,2</sup>, 吉田光希<sup>1,2</sup>, 原田文也<sup>1</sup>, 中條貴俊<sup>1</sup>, 高井理衣<sup>1</sup>,  
佐藤 惇<sup>1,2</sup>, 松岡紘史<sup>3,4</sup>, 西村学子<sup>1</sup>, 千葉逸朗<sup>3</sup>, 安彦善裕<sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野  
<sup>2</sup>北海道医療大学病院口腔内科相談外来  
<sup>3</sup>北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野  
<sup>4</sup>北海道医療大学病院医療心理室

**【目的】**口腔乾燥症は、心因的背景が症状に影響を及ぼしていることが多く、特に舌痛症とのcomorbidityがある場合には、心因的要素が強いと考えられている。口腔乾燥症の原因の一つに薬剤の副作用があり、向精神薬の多くはそれに該当するものと言われている。今回我々は、舌痛症を伴った口腔乾燥症に抗うつ薬の選択的セロトニン再取り込み阻害剤（SSRI）であるセルトラミンを低用量用い、症状が寛解した症例を経験したので報告する。

**【症例】**患者：69歳女性。主訴：口が乾いて舌がヒリヒリ痛い。現病歴：X-1年9月頃より唾液量の減少を自覚し舌痛を感じ、その後症状が悪化したため、近医の内科、皮膚科、耳鼻科、歯科をドクターショッピングしたが改善しなかった。X年1月紹介により北海道医療大学病院口腔内科相談外来を受診した。既往歴：皮膚の乾燥症。家族歴：夫と7年前に死別。現症：舌全体に軽度の発赤を認めるが、その他舌に明らかな器質的異常所見は認めなかった。また、問診により軽度の気分障害と不安

傾向が認められた。安静時唾液流出量は0.1ml/10分以下であった。臨床診断：#1口腔乾燥症、#2舌痛症（心因性）

**【経過】**初診時に、安静時唾液量の低下がみられたことから、シェーグレン症候群を疑い血液検査を行ったが異常所見はみられなかった。症状の改善を期待し、抗不安薬のロフラゼパ酸エチルを処方した。再診時のX年2月、症状はやや寛解傾向にあったものの、僅かであったため、SSRIのセルトラミンを処方した。X年3月にはVisual Analog Scale（VAS）50まで改善した。X年10月にはVAS10以下となり、安静時唾液量も2.4ml/10分まで回復した。患者は遠方のH市に在住のため、近医内科に処方の継続をお願いし、経過良好である。

**【考察】**セルトラミンは舌痛症を伴った口腔乾燥症の症状緩和の為の選択肢の一つとなることが示唆された。また、向精神薬は口腔乾燥症の原因として捉えるのではなく、治療薬としての効果も考慮する必要があることが示唆された。



# 会 務 報 告

## 第34回北海道医療大学歯学会総会記念

### 1) 庶務報告

#### (1) 会員数

正会員	802名
準会員	7名
賛助会員	13名
臨時会員	1名
名誉会員	17名
<hr/>	
	840名

#### (2) 役員

常任理事	8名
理事	25名
監事	1名
評議員	71名

### (3) 会務報告

#### 平成27年

- 第1回理事会 平成27年2月10日(火)特別講演①が承認された。  
 報告事項 庶務報告 編集報告 企画報告 その他(研究奨励金)について  
 審議事項 平成26年決算報告と平成27年予算(案)について  
 その他 第34回学術大会担当講座  
 機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野(古市 保志教授)
- 第2回理事会 平成27年3月25日(水)特別講演②③が承認された。  
 第3回理事会 平成27年6月24日(水)特別講演④が承認された。  
 第4回理事会 平成27年7月22日(水)特別講演⑤が承認された。  
 第5回理事会 平成27年8月26日(水)特別講演⑥が承認された。  
 第6回理事会 平成27年11月18日(水)特別講演⑦が承認された。

### 2) 編集報告

#### 北海道医療大学歯学雑誌(34巻1号)

原著2編 ミニレビュー1編 症例報告1編 学位論文3編  
 最近のトピックス7編 学会記録(本文71頁)

#### 北海道医療大学歯学雑誌(34巻2号)

総説1編 原著4編 症例報告1編 ミニレビュー1編  
 最近のトピックス4編(本文150頁)

### 3) 企画報告

#### 第33回学術大会

日 時:平成27年3月7日(土)  
 場 所:北海道医療大学札幌サテライトキャンパス  
 担当講座:口腔構造・機能発育学系解剖学分野

#### 定例講演会

平成27年第33回学術大会と併催  
 演題名:「台北医科大学における歯学部と口腔衛生学部の教育システム」  
 講 師:Hsin-Chung Cheng(鄭 信忠) 台北医科大学教授  
 Hung-Huey Tsai(蔡 恒恵) 台北医科大学教授



<特別講演>

- ①平成27年2月19日(木) 担当講座 臨床口腔病理学分野  
 演題名：脳機能研究におけるカオスフラクタル解析の有効性  
 演者：澤村 大輔 先生 (リハビリテーション科学部講師) (17:15~18:30)
- ②平成27年3月31日(火) 担当講座 生体材料工学分野  
 演題名：Development of screening tool for early detection of periodontal disease in community  
 演者：Li-Sheng Chen (Taipei Medical University) (17:30~18:15)
- ③平成27年3月31日(火) 担当講座 生体材料工学分野  
 演題名：Recent advances in biomaterials research in Taipei Medical University  
 演者：Keng-Liang Ou (Taipei Medical University) (18:15~19:00)
- ④平成27年7月22日(水) 担当講座 微生物学分野 (18:00~19:00)  
 演題名：Effect of periodontal treatment on cell free DNA in crevicular fluid of chronic periodontitis sites  
 演者：Dr. Boonyanit Thaweboon (インドネシア大学歯学部微生物学 准教授)
- ⑤平成27年9月2日(水) 担当講座 歯科矯正学分野 (15:45~17:00)  
 演題名：エッジワイズ法の基本原理  
 演者：三谷 英夫 先生 東北大学名誉教授
- ⑥平成27年10月5日(月) 担当講座 臨床口腔病理学分野 (18:00~19:00)  
 演題名：Current Opinion in Tooth Development and Regeneration  
 演者：Prof. Han-Sung Jung Dept of Oral Biology, Yonsei University College of Dentistry
- ⑦平成27年12月15日(火) 担当講座 臨床口腔病理学分野 (17:15~18:30)  
 演題名：口腔がんの増殖・浸潤のメカニズムに迫る！  
 演者：工藤 保誠 先生 徳島大学大学院医歯学研究部口腔科学部門 口腔分子病態学分野 准教授

4) その他

<研究奨励金>

- ・生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野 吉田 光希  
 研究テーマ：エピジェネティクス修飾により樹立したマラッセ上皮由来歯原性幹細胞の歯周組織への分化誘導方法の検討
- ・口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野 村田 佳織  
 研究テーマ：歯原性上皮細胞と歯髄幹細胞の上皮-間葉相互作用による細胞分化と遊走におけるCa<sup>2+</sup>応答の解析

<論文賞>

\*最優秀論文賞 (1編)

- ・Light forceによる矯正学的歯の移動の三次元非線形有限要素法解析  
 岡 由紀恵 口腔構造・機能発育学系歯科矯正学分野

\*優秀論文賞 (2編)

- ・歯学部臨床実習における老人福祉施設実習の意識調査  
 白井 要 口腔機能修復・再建学系歯周歯内治療学分野
- ・A combination of oral care and 23-valent-pneumococcal vaccination is able to reduce pneumonia incidence in nursing homes  
 八田 政浩 医療法人財団夕張希望の杜 夕張市立診療所

## 会計報告

## 北海道医療大学歯学会 平成27年(2015年)決算(平成27年1月1日~平成27年12月31日)

収入の部			
科 目	本年予算額	本年決算額	執行率
①会費等収入	3,780,000	3,902,000	103
正会員			
本年納入分	2,750,000 (550名×5,000円)	2,940,000 (588名×5,000円)	107
滞納分	500,000 (100件×5,000円)	400,000 (80件×5,000円)	80
準会員			
本年納入分	9,000 (3名×3,000円)	12,000 (4名×3,000円)	133
滞納分		6,000 (2件×3,000)	
賛助会員			
本年納入分	390,000 (13名×30,000円)	390,000 (13名×30,000円)	100
滞納分			
新規会員			
新卒	50,000 (10名×5,000円)	45,000 (9名×5,000円)	90
その他	25,000 (5名×5,000円)	85,000 (17名×5,000円)	340
臨時	50,000 (10名×5,000円)	0 (0名×5,000円)	0
入会金	6,000 (2名×3,000円)	24,000 (8名×3,000円)	400
②事業収入	300,000	386,040	129
広告	300,000	345,000	115
別刷り料	0	41,040	
掲載料	0		
③雑収入	12,500	12,656	101
利息	2,500	2,774	111
その他	10,000	9,882	99
当期収入(A)	4,092,500	4,300,696	105
前期繰越金(B)	13,870,349	13,870,349	
収入合計 (C) = (A + B)	17,962,849	18,171,045	101

支出の部			
科 目	本年予算額	本年決算額	執行率
①学術大会及び定例講演会	610,000	576,022	94
開催費等	300,000	272,342	91
印刷費	110,000	103,680	94
宿泊費	20,000	20,000	100
旅費	80,000	80,000	100
謝礼	100,000	100,000	100
②特別講演会補助	300,000	210,000	70
③雑誌発行費	2,810,000	2,308,402	82
印刷費	2,300,000	1,946,160	85
発送費	180,000	133,142	74
査読費	100,000	24,000	24
英文添削費	30,000	5,100	17
論文賞費(最優秀・優秀)	200,000	200,000	100
④事務費	1,610,000	1,241,079	77
事務委託費	1,080,000	927,500	86
事務印刷費	10,000	18,496	185
事務通信費	260,000	187,098	72
事務用品費	260,000	107,985	42
⑤備品費	0	0	
⑥研究奨励金	500,000	500,000	100
⑦デンタルトビックス補助	300,000	300,000	100
⑧会議費	15,000	12,000	80
⑨予備費	250,000	214,000	86
⑩諸雑費	30,000	93,640	312
⑪日本歯学系学会年会費	50,000	50,000	100
当期支出合計(D)	6,475,000	5,505,143	85
当期支出差額(E)			
(A - D)	-2,382,500	-1,204,447	
次期繰越金(H)			
(B + E)	11,487,849	12,665,902	110
総支出 (H + D)	17,962,849	18,171,045	

本年度の帳簿等関連諸表調査の結果、決算報告に誤りのないことを認めます。

平成28年2月4日

会計監事 中澤 大 監

## 北海道医療大学歯学会 平成27年(2015年)預かり金会計 決算(平成27年1月1日~平成27年12月31日)

収入の部		
科 目	本年予算額	本年決算額
①新規預かり金	100,000	180,000
新入会員		
2016年会費	50,000 (10名×5,000円)	90,000 (18名×5,000円)
2017年会費	50,000 (10名×5,000円)	90,000 (18名×5,000円)
②前年度繰越預かり金	335,000	335,000
2015年会費	90,000	90,000
18名×5,000円		18名×5,000円
(2013年預かり金)		(2013年預かり金)
110,000		110,000
22名×5,000円		22名×5,000円
(2014年預かり金)		(2014年預かり金)
5,000		5,000
1名×5,000円		1名×5,000円
(2013年預かり金)		(2013年預かり金)
100,000		100,000
20名×5,000円		20名×5,000円
(2014年預かり金)		(2014年預かり金)
30,000		30,000
その他3年以上預かり金		
2015年~2020年会費	6年×1名×5,000円	6年×1名×5,000円
(2011年預かり金)		(2011年預かり金)
③収入合計 = ① + ②	435,000	515,000

支出の部		
科 目	本年予算額	本年決算額
2015年会費	205,000	205,000
90,000		90,000
18名×5,000円		18名×5,000円
(2013年預かり金)		(2013年預かり金)
110,000		110,000
22名×5,000円		22名×5,000円
(2014年預かり金)		(2014年預かり金)
5,000		5,000
1名×5,000円		1名×5,000円
(2011年その他預かり金)		(2011年その他預かり金)
④支出小計	205,000	205,000
次期繰り越金		
⑤ = ③ - ④	230,000	310,000
支出合計 ④ + ⑤	435,000	515,000

## 次期繰越金

一般会計繰越金(H) + 預かり金⑤  
12,665,902円 + 310,000円 = 12,975,902円

## 資産目録

現金	117,772円
北海道銀行(普通預金)	2,771,463円
北海道銀行(定期預金)	5,500,000円
北洋銀行(定期預金)	4,532,477円
郵貯振替口座残金	54,190円
合計	12,975,902円

## 北海道医療大学歯学会 平成28年(2016年)予算(案)(平成28年1月1日～平成28年12月31日)

収入の部		
科目	前年予算額	本年予算額
①会費等収入	3,780,000	3,683,000
正会員		
本年納入分	2,750,000 (550名×5,000円)	2,750,000 (550名×5,000円)
滞納分	500,000 (100件×5,000円)	400,000 (80件×5,000円)
準会員		
本年納入分	9,000 (3名×3,000円)	12,000 (4名×3,000円)
滞納分		
賛助会員		
本年納入分	390,000 (13名×30,000円)	390,000 (13名×30,000円)
滞納分		
新規会員		
新卒	50,000 (10名×5,000円)	50,000 (10名×5,000円)
新規会員		
その他	25,000 (5名×5,000円)	75,000 (15名×5,000円)
新規会員		
臨時	50,000 (10名×5,000円)	0 (0名×5,000円)
入会金	6,000 (2名×3,000円)	6,000 (2名×3,000円)
②事業収入	300,000	300,000
広告	300,000	300,000
別刷り料	0	0
掲載料	0	0
③雑収入	12,500	12,500
利息	2,500	2,500
その他	10,000	10,000
当期収入(A)	4,092,500	3,995,500
前期繰越金(B)	13,870,349	12,665,902
収入合計 (C) = (A + B)	17,962,849	16,661,402

支出の部		
科目	前年予算額	本年予算額
①学術大会及び定例講演会	610,000	610,000
開催費等	300,000	300,000
印刷費	110,000	110,000
宿泊費	20,000	20,000
旅費	80,000	80,000
謝礼	100,000	100,000
②特別講演会補助	300,000	300,000
③雑誌発行費	2,810,000	2,810,000
印刷費	2,300,000	2,300,000
発送費	180,000	180,000
査読費	100,000	100,000
英文添削費	30,000	30,000
論文賞費(最優秀・優秀)	200,000	200,000
④事務費	1,610,000	1,530,000
事務委託費	1,080,000	1,000,000
事務印刷費	10,000	10,000
事務通信費	260,000	260,000
事務用品費	260,000	260,000
⑤備品費	0	0
⑥研究奨励金	500,000	500,000
⑦デンタルトビックス補助	300,000	300,000
⑧会議費	15,000	15,000
⑨予備費	250,000	600,000
⑩諸雑費	30,000	30,000
⑪日本歯学系学会年会費	50,000	50,000
当期支出合計(D)	6,475,000	6,745,000
当期支出差額(E) (A - D)	-2,382,500	-2,749,500
次期繰越金(H) (B + E)	12,302,236	9,916,402
総支出 (H + D)	18,427,236	16,661,402

## 北海道医療大学歯学会 平成28年(2016年)預かり金会計 予算(案)(平成28年1月1日～平成28年12月31日)

収入の部		
科目	前年予算額	本年予算額
①新規預かり金	100,000	100,000
新入会員		
2017年会費	50,000 (10名×5,000円)	50,000 (10名×5,000円)
2018年会費	50,000 (10名×5,000円)	50,000 (10名×5,000円)
②前年度繰越預かり金	335,000	310,000
2016年会費	90,000	5,000
18名×5,000円		1名×5,000円
(2013年預かり金)		(2013年預かり金)
110,000		100,000
22名×5,000円		20名×5,000円
(2014年預かり金)		(2014年預かり金)
2017年会費	90,000	90,000
18名×5,000円		(2015年預かり金)
5,000		
1名×5,000円		18名×5,000円
(2013年預かり金)		(2015年預かり金)
100,000		
20名×5,000円		
(2014年預かり金)		
その他3年以上預かり金	30,000	25,000
2016年～2020年会費	6年×1名×5,000円	5年×1名×5,000円
(2011年預かり金)		(2011年預かり金)
③収入合計=①+②	435,000	410,000

支出の部		
科目	前年予算額	本年予算額
2016年会費	205,000	200,000
90,000		5,000
18名×5,000円		1名×5,000円
(2013年預かり金)		(2013年預かり金)
110,000		100,000
22名×5,000円		20名×5,000円
(2014年預かり金)		(2014年預かり金)
5,000		90,000
1名×5,000円		18名×5,000円
(2011年その他預かり金)		(2015年預かり金)
5,000		
1名×5,000円		
(2011年その他預かり金)		
④支出合計	205,000	200,000
次期繰り越金		
⑤ = ③ - ④	230,000	210,000
支出合計 ④ + ⑤	435,000	410,000

## 北海道医療大学歯学会会則（2015年3月7日現在）

### 第1章 総 則

（名 称）

第1条 本会は北海道医療大学歯学会（The Dental Society of Health Sciences University of Hokkaido）と称する。

（目 的）

第2条 本会は北海道医療大学歯学部（以下本学部と略す）を中心に、会員相互の緊密な協力により、学術研究の推進・専門技術の錬磨を計り、歯学の進歩・発展に寄与するとともに、会員の親睦を図ることを目的とする。

### 第2章 会 員

（会 員）

第3条 本会は以下の会員よりなる。

1. 正会員

歯学の研究に従事し、本会の目的に賛同する者、本学部教職員・大学院生・研究生・臨床研究生・歯科臨床研修医・卒業生および本学部元教育関係者で理事会の承認を得た者。

2. 名誉会員

本会の設立または発展に、特に功労のあった者で、常任理事会が推挙し、理事会、評議員会の議を経た者。なお、名誉会員には名誉会員証を送るほか会員の権利を保有し、年会費一切の費用を徴収しない。

3. 準会員

歯学教育・診療関係者で理事会の承認を得た者。

4. 学生会員

本学部専門課程の学生で理事会の承認を得た者。但し、学生会員は卒業後正会員に移行するものとする。

5. 賛助会員

本会の目的および事業に賛同し、協力・支持する個人・団体等で、理事会の承認を得た者。

（入 会）

第4条 本会に入会を希望する者は、所定の申し込み書に必要事項を記入の上本会事務局に申し込むものとする。

（退 会）

第5条 会員で退会を希望する者は、速やかにその旨を本会事務局に通知すること。ただし、納入済みの会費の返還は行わない。

（会員資格喪失）

第6条 会員は以下の事由により資格を喪失する。

1. 2年以上会費の未納。所在不明または連絡のつかない者。

2. 本会の名誉に反する言動のあった者については、会長は理事会、評議員会の議を経て退会を勧告または除名することがある。

（再入会）

第7条 会費未納により会員資格を喪失したものが再入会を希望する場合、2年分の未納会費を納入後入会手続きを取るものとする。

### 第3章 役員および運営

（役 員）

第8条 本会に以下の役員をおく。

会長1名、専務理事1名、常任理事 若干名、理事 若干名、監事2名、評議員 若干名及び常任委員 若干名

1. 会長は本学部教授の中より、理事会が推薦し、評議員会の議を経てこれを決める。会長は本会を代表し、会務を総括する。
2. 専務理事は理事会の議を経て会長が委嘱する。専務理事は会務の運営処理を推進する。
3. 常任理事は理事の中より選出し、会長が委嘱する。常任理事は常任理事会を組織し、会務を分担し、執行する。分担する会務は、庶務、会計、編集、企画、その他とする。
4. 理事は本学部教授ならびに3名以上の理事の推薦を受け理事会の承認を得た者とする。理事は理事会を組織し役員推薦など会務に関する重要事項を審議する。
5. 監事は理事会の議を経て会長がこれを委嘱する。監事は会計およびその他の会務を監査する。また必要に応じ、理事会に出席する。
6. 評議員は本学部教授、准教授、専任講師で構成するほか、会長の推薦により理事会の承認を得た者とする。評議員は評議員会を組織し、会長の諮問に応じて必要事項を審議する。
7. 常任委員は理事会の議を経て、会長がこれを委嘱する。常任委員は常任理事を補佐し、会務の分掌処理にあたる。

（会議の成立条件）

第9条 理事会、評議員会は構成員の2分1以上の出席（委任状を含む）をもって成立し、議事は出席者の過半数によりこれを決する。

（任 期）

第10条 各役員任期は2年を原則とする。ただし、再任を妨げない。

### 第4章 事 業

第11条 本会は第2条の目的を達成するために以下の事



業を行う。

1. 総会

総会は会長の招集により年1回学術大会を開催し、会務等について報告する。また、必要に応じ会長は臨時総会を開催することがある。

2. 学術大会

学術大会は年1回以上開催し、会員の研究発表、その他学術発展に関する行事も行う。

3. 学術講演会、研修会

4. 会誌

本会は機関誌“北海道医療大学歯学雑誌 (The Dental Journal of Health Sciences University of Hokkaido)”を年2回発行し、会員に配布する。会誌は逐次増刊することが出来る。北海道医療大学歯学雑誌の投稿規定ならびに論文査読規定については別に定める。

5. 研究活動の奨励

詳細は内規に定める。

6. その他

本会の目的達成に必要と認めた事業。

## 第5章 会 計

(運営経費、会計)

第12条 本会の運営経費は会員の納入する会費、寄付金、その他の収入を持ってこれにあてる。

1 各会員の会費は以下の通りとする。

イ 正会員

入会金 3,000円 年会費 5,000円

ロ 準会員

年会費 3,000円

ハ 賛助会員

入会金 10,000円 年会費 30,000円

ただし新入会員（正会員、賛助会員）で、会費3年以上を前納した者に対しては入会金を免除する。

なお、事業の目的に応じ、臨時会費を徴収することがある。

2 本会の会計年度は1月1日より12月31日とする。

(会計報告)

第13条 本会の収支決算については、理事会、評議員会の承認を得て、総会において会員に報告しなければならない。

## 第6章 雑 則

(事務局)

第14条 本会の事務局は本学部内におく。

(会則の改廃)

第15条 この会則に定めるもののほか、本会則の実地に必要な内規は理事会の議を経て別に定めるものとする。

第16条 本会則の改廃は理事会、評議員会の承認を得て、会長は会員に報告しなければならない。

## 附 則

1. 本会則は昭和61年8月1日より施行する。
2. 本会則は平成7年3月1日より施行する。
3. 本会則は平成8年4月1日より施行する。
4. 本会則は平成17年4月1日より施行する。
5. 本会則は平成27年4月1日より施行する。

## 「北海道医療大学歯学雑誌」投稿規程（2015年3月7日現在）

### 1. 投稿資格

著者は、原則として共著者を含め、本会会員に限る。  
（臨時会員は除く）

### 2. 生命倫理への配慮

- 1) 臨床研究は、ヘルシンキ宣言の主旨にそったもので北海道医療大学の各学部・大学院研究科倫理委員会の承諾を得たものとする。
- 2) 人の遺伝子解析を含む場合は、本学の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究の計画および実地に関する倫理規程」に基づき、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会」の審査をへて学長の許可を得たものとする。
- 3) 動物実験は、「北海道医療大学動物実験規程（Regulations for the Care and Use of Laboratory Animals in Health Sciences University of Hokkaido）」に基づき、「北海道医療大学動物実験委員会（Animal Ethics and Research Committee）」の審査を経て、北海道医療大学長の承認を得たものとする。

なお、本学以外の研究機関で行われた研究については、該研究機関等の倫理委員会等で承認を得たものとする。

### 3. 論文の種類及び内容

- 1) 論文の種類は、原著論文（Original）、症例報告（Clinical report）、総説（Review）、解説（Comment）、システマティックレビュー（Systematic review）、臨床統計（Clinical statistical survey）とする。
- 2) 論文の内容は、他の刊行物に未発表のものに限る。
- 3) 本誌はその他に、ミニレビュー、最近のトピックス、歯学情報、本学会講演抄録、学会関係記事、学位論文などを掲載する。

### 4. 査読および採否

- 1) 投稿論文は、編集委員会および編集委員会の依頼する専門家により査読される。
- 2) 採否については、査読の結果に基づき編集委員会が決定する。

### 5. 投稿論文の作成

- 1) 投稿論文は、投稿規程ならびに別に定める「投稿の手引き」に準拠して作成すること。
- 2) 投稿論文は、表紙、チェックリストシート、英文抄録（300語以内）、本文、表、図および図表説明文の順番にまとめる。
- 3) 投稿原稿は、2部（正1部、コピー1部）とする。最終的に論文掲載を認められた際には投稿原稿とともにUSBメモリー（USBメモリーは印刷終了後にお返しします）を提出すること。
- 4) 和文論文の本文については、原則として、緒論（緒語）、方法（材料および方法）、結果、考察、結論（結語）、謝辞（必要な場合のみ）、文献の順に記載するものとする。
- 5) 英文論文の本文については、原則として、Abstract（300語以内）、Introduction, Materials and

Methods, Result, Discussion, Conclusion, Acknowledgment（必要な場合のみ）、Referencesの順に記載するものとする。

- 6) 投稿論文のヘッダーに右詰めで、名前、所属、さらに初稿なのか修正論文なのかがわかるように記載する。
- 7) 投稿時、著者全員が編集委員会に当該論文の共著者である旨の承諾許可をメールで送信するものとする。

### 6. 最近のトピックスの作成

- 1) 最近のトピックスは、投稿規程ならびに別に定める「投稿の手引き」に準拠して作成すること。
- 2) 最近のトピックスは、作成した文書ファイル（Microsoft Word）をe-mailでの添付文書として編集委員会まで送付すること。e-mailでの送付が不可能な場合は、作成した文書ファイルをUSBメモリーに保存して提出すること。  
メールアドレス：委員長宛  
件名：歯学雑誌、最近のトピックス  
ファイル名：最近のトピックス、講座名、著者名

- 3) 最近のトピックスは、原則1トピックスにつき1頁での掲載とする。
- 4) 最近のトピックスは、全角文字1800字程度にまとめること。（参照文献リストを含む）。原稿に図・表を添える際は、以下の例に従って、片段サイズの図・表1つにつき本文の文字数を500文字程度に削減すること。

例：本文のみ1800字程度

（第28巻／第1号 35頁 参照）

本文1300字程度+片段サイズの図・表1つ+図・表の説明文

（第27巻／第1号 37頁 参照）

本文800字程度+片段サイズの図・表2つ+それぞれの図・表の説明文

（第27巻／第2号 109頁 参照）

本文800字程度+両段サイズの図・表1つ+図・表の説明文

### 7. 投稿論文の校正

- 1) 投稿論文に対する著者校正は原則として1回とする。
- 2) 校正論文は、特別な事情がない限り一週間以内、校正時間は48時間以内に返却するものとする。（返却、連絡がない場合は、投稿を取り下げたものと判断する）。

### 8. 証明書等の発行

- 1) 投稿原稿の受付日は、編集委員会に到着した日付とする。
- 2) 受理証明が必要な場合には、掲載が決定した後に受理証明を発行する。

### 9. 掲載料および別刷料

- 1) 掲載料は、刷り上り10頁まで無料とする。これを超過した場合には、編集委員会が依頼したものを除き、1頁1万円の著者負担とする。

- 2) カラー頁は、無料とする。
- 3) 別刷料については、50部まで無料とし、これを超過する場合（50部単位）には著者の実費負担とする。

10. 優秀論文賞

その年の本誌に掲載された原著論文の中から「最優秀論文賞」(1編)、「優秀論文賞」(2編)を選び表彰する。

選考は編集委員会が行う。

11. 著作権の帰属

本誌に掲載された著作物の著作権は北海道医療大学歯学会に帰属する。本会はいずれも著作物の全部また

は一部を、ネットワーク媒体を含む媒体に掲載・出版することが出来る。ただし、論文の内容については、著者がすべての責任を負う。

12. 著者のプロフィール

巻末に著者のプロフィールを記すので、著者のスナップ写真と経歴を提出すること。

13. 原稿の送付および本誌に関する問い合わせ

住所：〒061-0293 北海道石狩郡当別町金沢1757番地  
 北海道医療大学歯学部・口腔生物学系・生理学分野  
 北海道医療大学歯学雑誌編集委員会(委員長 石井久淑)  
 Tel：0133-23-1239  
 e-mail：hisayosh@hoku-iryo-u.ac.jp

患者のプライバシー保護ならびに研究倫理に関する指針（2014年2月26日）

北海道医療大学歯学雑誌に掲載される症例報告等を含む臨床研究論文では、患者のプライバシーを保護するため、以下の指針を遵守しなければならない。また、臨床研究等においては、患者ならびに被験者の尊厳と人権に配慮し、世界医師会によるヘルシンキ宣言と我が国が定めた下記の指針ならびに法的規範を遵守しなければならない。

1. 患者のプライバシー保護に関する指針

- 1) 氏名、カルテ番号、入院番号、イニシャル等、患者個人の特定が可能となる情報は記載しない。
- 2) 患者の住所は記載しない。ただし、疾患の発生場所が病態等に影響する場合は、区域（県、市など）までに限定して記載する。
- 3) 診療日等の記載は、年月までとする。
- 4) 診療科名と他の情報を照合することで患者が特定され得る場合、診療科名は記載しない。
- 5) 他施設でも診断・治療を受けている場合、その施設名と所在地は記載しない。ただし、救急医療などで搬送元の記載が不可欠の場合は、この限りではない。
- 6) 顔写真には目隠しをする。
- 7) 生検、剖検、画像情報などに含まれる番号等、症例を特定できる情報は削除する。
- 8) 以上の配慮をしても個人が特定される可能性のある場合は、発表に関する同意を患者本人（または遺族もしくは代理人、未成年者では保護者）から得る。
- 9) 前項の手続きが困難な場合は、筆頭著者または責任著者（corresponding author）の所属する施設の倫理委員会の承認を受ける。

2. 遵守すべき倫理指針等\*

- 1) 「臨床研究に関する倫理指針」(厚生労働省)(平成20年7月31日改正)
- 2) 「疫学研究に関する倫理指針」(文部科学省・厚生労働省)(平成25年4月1日改正)
- 3) 「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(文部科学省・厚生労働省・経済産業省)(平成25年2月8日改正)

- 4) 「遺伝子治療臨床研究に関する指針」(文部科学省・厚生労働省)(平成20年12月1日改正)
- 5) 「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」(厚生労働省)(平成25年10月1日改正)
- 6) 「厚生労働科学研究における利益相反（Conflict of Interest：COI）の管理に関する指針」(平成20年3月31日厚生科学課長決定)

\*なお、上記の指針等は、管轄官庁のHPに掲載されている最新版を参照すること。

チェックリスト 北海道医療大学歯学会雑誌

論文名

投稿原稿が「北海道医療大学歯学会雑誌投稿規程」および「投稿の手引き」に沿ったものであるか、もう一度チェックしてください。

著者チェック	チェック項目	編集委員会チェック
<input type="checkbox"/>	患者のプライバシー保護に関する指針に沿っていますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	関連する倫理指針等を遵守していますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	文献の記載方法は「投稿の手引き」に沿っていますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	原稿は2部(正1部、コピー1部)所定の封筒に入れましたか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	原稿の第一枚目には必要項目が記載されていますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	和文論文には英文抄録(本文300語以内)とこれに対応する和訳が添付されていますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	英文論文には英文および和文抄録が添付されていますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	本文中の図や引用文献の番号とその内容は、図のファイルや文献欄と合致していますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	図、表、写真の大きさは、指示してありますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	図、表、写真の表題および説明がありますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	図、表、写真の挿入場所を本文原稿の右欄外に朱書きされてありますか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	著者および共著者は全員本学会会員ですか？	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	著者の写真と経歴は添付されていますか？	<input type="checkbox"/>

Signature	Print Name	Tel	e-mail	Date
NO1				
NO2				
NO3				
NO4				
NO5				
NO6				
NO7				

## 「北海道医療大学歯学雑誌」投稿の手引き（2012年6月30日現在）

本誌の体裁を統一するために、「投稿の手引き」に準拠して、ご執筆下さいませようお願い致します。

原稿はすべてA4版とし、下記の項目1)~7)のすべてを、2部提出して下さい。査読後、論文掲載が認められた際には、論文原稿を収めたUSBメモリー（USBメモリーは、印刷終了後にお返しします）をプリントした最終原稿1部とともに提出して下さい。

- 1) 投稿原稿表紙
- 2) チェックリストシート
- 3) 英文抄録
- 4) 本文
- 5) 文献
- 6) 図、表
- 7) 図表説明文

### 1. 投稿原稿表紙

表紙には以下の事項を和文および英文で記入する。

- 1) 原稿の種類
- 2) 表題
- 3) 著者名および所属
- 4) キーワード（5語以内）
- 5) 別刷数（50部単位）
- 6) 連絡先（郵便番号、住所、電話、e-mail）

#### 1) 表題

- (1) 一般固有名詞として通用していない商品名は用いない。
- (2) 和文表題には、原則として略号以外の英文字を用いない。別にスペースも含めて35字以内のランニングタイトルを付ける。
- (3) 英文表題は和文表題の内容と一致させる。文頭のみ大文字とし、他は小文字とする。また、別にスペースも含めて45字以内の英文ランニングタイトルを付ける。
- (4) 副題はできる限り用いない。ただし、必要な場合は次の例に準拠する。続報、第2報などの表記は認めない。

和文・英文：-□□□□□□□□-

#### 2) 著者名および所属

- (1) 氏名の英文表記では、姓は大文字、名は先頭のみを大文字とする（例：Akira YAMADA（山田 昭））。
- (2) 著者の所属が2ヶ所以上の場合には、所属の著者に<sup>1)</sup>、<sup>2)</sup>、<sup>3)</sup>を付ける。

#### 3) キーワード

5語以内のキーワードを付ける。英文の場合は、キーワードの先頭のみを大文字とし、他は小文字とする（例：Impression materials, Bone morphogenetic proteins）。

### 2. チェックリストシート

チェックリストの指示に従い、投稿原稿を確認する。著者全員のサインを取り、連絡先を記載する。

### 3. 英文抄録

300語以内の英文抄録を付ける。

### 4. 本文

- 1) 原稿はA4判用紙（縦）にワードプロセッサなどによる横書きとする。書式は以下に従うこと。

#### ・ Windows Microsoft Word

余白は上下3cm、左右2.5cm

文字は12ポイント

1頁35文字×26行

行間を1.5行

句読点は「.」と「,」（全角）を用いる。英文の場合は、半角文字を使用する。

#### ・ Macintosh Microsoft Word

余白は上下3cm、左右2.5cm

文字は12ポイント

1頁30-35文字×22-25行

行間を1.5行

句読点は「.」と「,」（全角）を用いる。英文の場合は、半角文字を使用する。

- 2) 原稿の下段中央にページ番号を記す。
- 3) 論文の原則的な構成は、緒論（緒言）、方法（材料および方法）、結果、考察（結果および考察）、結論（結語）、謝辞、文献、図の説明、図表とする。
- 4) 見出しを用いるときは次の順に項目をたてる。  
3 → 3) → (3) → a → a) → (a)
- 5) 文章は、専門用語を除いて、常用漢字、新かなづかい、ひらがなは口語体とする。
- 6) 数字はアラビア数字とし、単位の記号はJIS・Z8202およびZ8203に準じ、国際単位系(SI)を使用するよう努める。また単位にピリオドをつけない。  
(例：GHz, MPa, kW, cm, mV, μm, nA, pF, mL, mmol, N (kgf), K, °C, min)
- 7) 学術用語は、原則として「文部省学術用語集」に準拠する。
- 8) 商品名、器械名などは、可能な限り一般化されている「カタカナ書き」とする。英文字で表す場合は、かしら文字のみ大文字にする。
- 9) 外国の人名などの固有名詞は原則として原綴とする。
- 10) 連続した数値は「,」でつなぎ、最後に単位をつける。(例：10, 20, 30°C)
- 11) 製造社の表記法は（ ）内に会社名のみを記し、社製および製作所、工業社製、株式会社などを入れない。  
例：（型式名、製造会社名）、（略号、製造会社名）  
（X-3010、日立）（EPMA、日本電子）
- 12) 図表の挿入場所を本文右欄外に朱書きする。

### 5. 文献

- 1) 文献リストは、アルファベット順（A, B…Z順）で作成する。また本文中の引用箇所以下に以下の体裁に従い、文献内容を記載する。

例：単著者（Izumi, 1999）（和泉, 1999）、2名（Izumi & Ito, 1998）（和泉, 伊藤, 1998）、3名以上（Izumi et al., 1970）（和泉ら, 1970）、2編以上（Sato et al., 1988; Izumi,



1999)(佐藤ら, 1988; 和泉, 1999)(Izumi, 1999a, b)

※「,」や「;」の様な記号は, 日本文の場合は全角, 英文の場合は半角を使用する。

- 2) 文献として不適当なもの, 例えば未公表のデータや私信などは文献として引用しない。
- 3) 文献の著者または編集者が複数の場合にはet al., 他などとせず, その全部を記載する。
- 4) 著者名が欧字綴の場合は姓の後に名前の頭文字をつけ, また著者が複数の場合は最後の著者の前に&を入れる。  
※ 著者間の「and」は記号「&」を使用すること。
- 5) 文献の記載方法の基本は次のとおりとする。

(1) 雑誌の場合

著者名(複数の場合, 氏名を「,」で区切る。). 表題-サブタイトル-. 雑誌名 巻: 引用ページの始めと終わり, 発行年。

例: Izumi H, Ito Y, Sato M, Karita K & Iwatsuki N. The effects of inhalation anesthetics on the parasympathetic reflex vasodilatation in the lower lip and palate of the cat. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 273: R 168-R174, 1997.

(2) 単行本の場合

i) 章を参考にしたとき

例: Weinstein L, Swartz MN. Pathologic properties of invading microorganisms.

In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, editors. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974, p457-472.

ii) 個人または複数の著者の場合

例: Colson JH, Armour WJ. *Sports injuries and their treatment*. 2nd ed. London: S. Paul; 1986.

iii) 編集者, 監修者が著者の場合

例: Diener HC, Wilkinson M, editors. *Drug-induced headache*. New York: Springer-Verlag; 1988.

iv) 団体, 組織が著者で, かつ出版社の場合

例: Virginia Law Foundation. *The medical and legal implications of AIDS*. Charlottesville: The Foundation; 1987.

v) 会議録全体を参考にした場合

例: Vivian VL, editor. *Child abuse and neglect: a medical community response*. Proceedings of the First AMA National Conference on Child Abuse and Neglect; 1984 Mar 30-31; Chicago. Chicago: American Medical Association; 1985.

(3) 分担執筆の場合

分担執筆者名: 分担執筆の表題, 書名 巻など, 発行所名: 発行年, 引用ページの始めと終わり。

例: 山田早苗: 橋義歯の力学-傾斜歯ブリッジの形成と設計について-. *新臨床歯科学講座* 3, 医歯薬出版: 1978, 157-165.

(4) 翻訳書の場合

著者(翻訳者): 書名(原著書名). 発行所名: 発行年, 引用ページの始めと終わり。

例: Davidge RW (鈴木弘茂, 井関孝善): *セラミックスの強度と破壊 (Mechanical behavior of ceramics)*. 共立出版: 1982, 34-55.

## 6. 図

- 1) 用紙はA 4版(縦)とし, 1枚ずつ別葉にする。
- 2) 各葉杖に, 図の番号, 著者名, 片段あるいは両段の指定, カラー印刷の有無を明記する。
- 3) 図の大きさは, 片段か両段一杯になることがのぞましい。刷り上がりを想定して, 図の大きさが片段で横幅45-68 mm, 両段で100-150 mmになるように縮小コピーし, 文字, 記号の大きさ, 線の太さなどをチェックする, 棒グラフなどのハッチングは識別可能なものにする。
- 4) 図中の文字は, 刷り上がりで本文とほぼ同じ10-13級(7-9ポイント), 線の太さは0.15-0.3 mmになるよう原図を作成する。
- 5) 図や表はA 4縦で作成する。一ページに一つの図あるいは表とする。図のタイトルや表の説明(Figure legends)は図の印刷を希望する位置に記載する。図と表の挿入箇所は投稿論文中の右余白に示すこと。
- 6) 組図の原稿は, 貼込み間隔や角度を正確にする。
- 7) 写真は, A 4判の用紙に貼り, 必要な文字, 記号などを記入する。写真の拡大率は, 単位長さのバーで表す。
- 8) 患者の顔や特徴ある身体の一部の写真を使用する場合は, 目隠し等により個人が特定できないように配慮するとともに, 患者本人あるいは後見人から文書により許可を得ること。
- 9) 記号は中心の明確な○●□■◇◆などを使用する。
- 10) 記号を使用する場合の凡例は, 脚注に置かず図中に入れる。

## 7. 表

- 1) 罫線はできる限り入れない。
- 2) 標準偏差は, ( ) もしくは±とし, 信頼区間との混同を避けるために説明を入れる。
- 3) 表題が英文字の場合は書き出しのみを大文字にし, それ以後は小文字とする。しかし略号はこの限りではない。
- 4) 単位などの表記は同一言語に統一する。単位(unit), 平均(mean), 標準偏差(SD)

(例：)

**Table1** Mechanical properties of specimen

Specimen	Tensile strength Mpa	Elongation %
A	500 (20)	10.2 (3.3)
B	300 (15)	5.4 (2.3)

( ) : SD

**表1** 試料の力学的性質

試料	引張強さ Mpa	伸び %
A	500±20	10.2±3.3
B	300±15	5.4±2.3

平均±標準偏差

**8. その他**

本規定ならびに「投稿の手引き」に規定されていない事項については、編集委員会にお尋ね下さい。  
 投稿の手引き、投稿規定、チェックリストのファイルは、ホームページ (<http://www.hoku-iryu-u.ac.jp/~dental-society/>) からダウンロード出来ます。

## 編 集 後 記

平成28年度も前半を終え、皆様の教育・研究活動もますますの躍進を遂げて、多忙な日々をお過ごしのこととお察しいたします。本年度も、北海道医療大学歯学雑誌に論文等の投稿並びにお忙しい中、論文の査読をお引き受けいただきました先生方のご支援ご協力を深く感謝申し上げます。

2016年は穏やかな幕開けとなり、3月には北海道新幹線の開業を迎え、北海道の新たな時代への明るい展望をもたらしました。一方で、4月以降に相次いで発生している熊本県熊本地方の地震は未だ余震への注意に予断が許されない状況が続いております。地震により罹災された皆様には心からお見舞い申し上げますとともに、一日も早い復興をお祈りいたします。

さて、本号では前号に引き続いて、生化学分野の田隈泰信先生に唾液分泌を含めた生体分子の分泌機構（SNARE仮説）について最新の所見を盛り込んだ続編の総説を投稿していただきました。編集長の特権で皆様より一足早く読ませていただきましたが、先生の魅力的で臨場感のある文章に引き寄せられて、再び研究・科学の楽しさとおもしろさに誘っていただいたような気がしました。また、本号では外国人留学生の皆様からも多数のレビュー並びに原著論文を投稿していただきました。今後も国内外での共同研究の輪がさらに大きく広がっていくとともに、学生間にとどまらず、学部間での研究・教育体制の強い結びつきが生まれてくることが期待されます。さらに、本号には学外で活躍されている本学卒業生の井田有亮先生の原著論文の投稿もいただきました。次号以降も学内、国内にとどまらず世界に向けて幅広く、先生方の素晴らしい研究成果を発表していくことが出来る歯学雑誌を目指し、本誌のさらなる充実に努めていきたいと思っておりますので、今後ともご支援ご協力を賜りますようどうかよろしくお願いいたします。(石井 記)

次号（第35巻、第2号）の発行は平成28年12月31日です。

投稿原稿募集の締め切りは平成28年9月30日必着と致します。期日厳守の上、ご投稿をお願いします。本誌投稿規定は、2016年第35巻、第1号の巻末をご参照ください。

編集委員会

委員長 石井久淑

越智守生・斎藤隆史・柴田考典  
溝口 到

(アイウエオ順)

北海道医療大学歯学雑誌 第35巻 第1号

平成28年6月30日

発行者 中 澤 太

編 集 北海道医療大学歯学会

〒061-0293 北海道石狩郡当別町金沢1757番地  
北海道医療大学内

電 話 0133-23-1211(内線2563)

電話/FAX 0133-23-1345(直通)

メールアドレス：iryodsh@hoku-iryodsh-u.ac.jp

印刷 山藤三陽印刷株式会社

札幌市西区宮の沢1条4丁目16番1号

電話 011(661)7163(代)



# Dent J Health Sci Univ Hokkaido

## MINI REVIEW

- 1 **A passage to SNAREs**  
Taishin TAKUMA ..... (1)

## ORIGINAL

- 17 **Evaluation of the bio-physiological efficacy of tooth storage media based on normal physiological parameters**  
Md Riasat HASAN, Hisayoshi ISHII, Kazuharu IRIE, Takashi SAITO ..... (17)
- 21 **Development of the fabrication method for a novel complete denture with a framework made of light-cured prosthetic hard resin**  
Yusuke IDA, Kazuhiko ENDO, Mitsugi KAKIZAKI ..... (21)
- 33 **Possible Association between Cigarette Smoking Habit with Periodontal Disease in Diabetic patients in Nepal**  
Bhoj Raj ADHIKARI, Hirofumi MATSUOKA, Mamata SHAKYA, Osamu UEHARA,  
Tetsuro MORIKAWA, Fumiya HARADA, Akashlynn Badruddoza DITHI, Md. Riasat HASAN,  
Takashi SAITO, Hiroki NAGAYASU, Itsuo CHIBA, Yoshihiro ABIKO ..... (33)

## CLINICAL REPORT

- 43 **A interfacility collaboration case study of professional oral health care in ectodermal dysplasia**  
Tomoji HIROSE, Yurika SUDA ..... (43)

## REVIEW

- 49 **General Introduction of Dental Education in Universitas Indonesia**  
Citra Fragrantia THEODOREA, Izumi MASHIMA, Futoshi NAKAZAWA ..... (49)
- 55 **Oral Health and Dental Education in Nepal**  
Mamata SHAKYA, Bhoj Raj ADHIKARI, Masaru MURATA, Hiroki NAGAYASU ..... (55)

## ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION

- 61 **Effects of mechanical stress on expression of extracellular matrix in rat TMJ disc cells**  
Haruna KASHIO ..... (61)
- 63 **Relationship between facial asymmetry and bilateral differences of condylar morphology -Three-dimensional (3D) morphological assessment-**  
Saera SASAMOTO ..... (63)

## DENTAL INFORMATION

- 67 **Recent topics** ..... (67)