

4 先進診断技術の開発と応用研究班

<研究成果概要>

4-1 歯科疾患の遺伝子診断の開発と応用研究グループ

歯周疾患の遺伝子診断としては、カスタムメイド DNA チップの応用がある。ゲノムプロジェクトの進歩に伴い、大量の遺伝子情報を一度に処理、解析する必要性が高まってきた。このようなニーズに答える1つの手法としてDNAマイクロアレイが開発され現在に至っている。Genbank および TIGR database から主な病原性遺伝子をそれぞれ選択し、PCR 法によって特異的領域を増幅した後、DNA スポッターにてカスタムメイドマイクロアレイを作成した。また、マイクロアレイ実験の条件を検討後、その実験条件の妥当性を RT-PCR にて確認した。

P. gingivalis においては外部環境に対応する本菌体の病原性遺伝子の発現解析を行うため、①細菌の各増殖期における RNA 抽出、②ヘミン制限下からの RNA 抽出、③酸化ストレス後の RNA 抽出を行い、本マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。*S. mutans* に関しては pH 変化後の RNA 抽出を行い、本マイクロアレイを用いて遺伝子発現解析を行った。その結果、*P. gingivalis* のマイクロアレイ解析において①細菌の各増殖期における遺伝子発現解析では、EL 期で増加している遺伝子の多くが酸化ストレス応答性であった。ML 期に対して LL 期では全体的に発現比が高まる傾向にあるものの、その大部分が2倍以内であった。また、ST 期ではおよそ 50%の遺伝子の発現量が大きく減少していた。②ヘミン制限下における遺伝子発現解析では、コントロール郡に比べてヘミン制限下郡で発現量が高くなったのは HGP15, Rgp1, DPS, GroEL, Kgp などであり、また逆に低くなったのは Ferritin, SOD, Ef-g, HmuR, FtsA などであった。3) 酸化ストレスにおける遺伝子発現解析では、酸化ストレス応答性遺伝子群はストレス直後に遺伝子発現レベルが上昇した。他の病原性遺伝子群の発現レベルは上昇することなく、時間と共に減少した。また *S. mutans* のマイクロアレイ解析においては *ahpC* 等が酸性環境下で遺伝子発現が低下し、*dnaK*, *dnaJ*, *lacA*, *lacD*, *lacG*, *lacF* 等のストレスタンパク質やラクトース代謝系が大きな変動を見せた。これらの結果から、これら菌体は各環境に応じて生存・増殖・代謝するために必要なタンパク質の発現量を遺伝子発現レベルで機敏に調節しているものと考えられた。

う蝕感受性決定遺伝子診断では、多因子疾患であるう蝕症について、発症要因のうちの1つである宿主の感受性に関して遺伝的背景から解析を行い、結果を応用することでう蝕の発生予防を行おうとするものである。う蝕感受性の異なる3つのマウス系統(C3H, C57BL/6, MSM)を用い遺伝的交配から得られたマウスのう蝕スコアの算定と、遺伝子型タイピングを行うことで量的遺伝形質(QTL)解析を行った。これらのマウスの組み合わせのうち、C57BL/6 と C3H の交配から得られたマウスを用いて、う蝕感受性に関与する染色体領域の検出をところ第1番染色体 32.8cM, 第2番染色体の 27.38cM~52.3cM, 第7番染色体 43.7cM と第8番染色体の 50.3cM~74.3cM にう蝕感受性決定遺伝子が存在することが判明した。また C57BL/6 と MSM との交配では第12番染色体 32.8cM と第13番染色体の 39.3cM 付近に有意な QTL が得られた。特に第2番染色体に存在する QTL は効果が強いことが予想されたため、う蝕感受性に関与する染色体の効果を *in vivo* で解析するためにコンソミックマウスの作成に着手した。今回作成しているコンソミックマウスはう蝕感受性である C57BL/6 の染色体を基本にして、第2番染色体のみ、う蝕抵抗性マウスである C3H の染色体に置き換えたものである。

また、GeneChip マイクロアレイシステムを用いて、う蝕感受性の異なるマウスの顎下腺組

織での mRNA 発現量を解析し、唾液分泌と免疫系を制御する候補遺伝子を探索した。違いの認められた遺伝子のうち C3H における発現量が高いものに特徴が見られた。免疫グロブリン (κ 鎖可変領域)IgE 結合因子、免疫グロブリン(IgA 重鎖)など、免疫系に関与する遺伝子が多数確認できた。また C57BL/6 で発現量が高いものには growth arrest specific 5, グルタチオン S 転移酵素等が確認できた。また機能未知の EST も多数確認でき、これら遺伝子の違いがう蝕感受性に関与している可能性が示唆された。今回、多くの候補遺伝子が挙げられたが当初予定していた原因遺伝子の特定までは研究費採択期間中にはいたらなかった。口腔奇形・異常に関与する遺伝子診断では、近交系マウスを用いてコルチゾン投与により発症する唇顎口蓋裂の原因遺伝子を特定すること、さらに顎骨や歯の大きさ、歯の先天欠如を決定している遺伝子を特定することであり、最終的にはヒト唇顎口蓋裂および不正咬合の発症リスクの診断に応用することが目的であった。

唇顎口蓋裂の研究では、唇顎口蓋裂を有する A 系マウスと正常の C3H マウスの交配を行い、唇顎口蓋裂が常染色体劣性遺伝性であり、複数の遺伝子が関与していることがわかった。また戻し交配世代(N2)の DNA を用いた PCR 遺伝子型判定により、唇顎口蓋裂発症に関わる遺伝子が染色体 11 番の 98.3Mbp と 110.3Mbp の間および染色体 14 番の 60.5Mbp と 115.8Mbp の間に存在することが明らかとなった。顎骨や歯の大きさに関しては、SMXA リコンビナント近交系マウス 23 系統の上顎骨および下顎骨の長径、第一臼歯の歯冠幅径を計測し、これらの大きさが遺伝的に支配されていること、また顎骨と歯の大きさには相関がないことを明らかにした。また連鎖解析により、上下顎骨の長径に関与する遺伝子は染色体 10, 11 番に存在し、歯の大きさに関与する遺伝子は染色体 3, 7, 8, 13, 15, 17 番に存在することを明らかにした。歯の先天欠如の遺伝子診断では、第三臼歯の先天欠如を有する EL マウスと正常マウスである MSM マウスの交配と連鎖解析により、その原因遺伝子が染色体 3 番にあることを明らかにした。また、コンジェニックマウスの作成により、原因遺伝子が存在する領域を絞り込み、Egf と Lef1 を候補遺伝子として特定することができた。

4-2 生体機能からみた顎口腔機能の診断と応用研究グループ

小児顎運動診断法の開発の研究目的は、多方面からみた顎運動の総合評価が可能となるデータベースの構築を行い、このデータをもとに疫学調査を行い、小児の顎運動を詳細に分析し、顎運動の成長発達と顎運動異常の原因を探ることである。このデータベースが治療の方針決定の指標になる事を期待するものである。具体的な方法としては、顎運動データの標準化ができる指標の決定を行う。つまり 3 次元運動をもれなく再現するために必要な最低限のデータを用い、顎運動を再構築する。しかし、これらのデータは数字の羅列でしかなく、実際の術者ならびに患者に対し理解を求めるのが難しいのが現実である。そのためこれらのデータをアニメーション化して患者に解りやすく説明する必要がある。このアニメーション化と顎運動のデータを用い 3 次元運動の構築を行う。また、患者を取り巻く環境を調査し、顎関節に何らかの影響を与えると予想される事項に関してアンケート調査を行う。最終的にこれらの全てのデータを容易に検索できるデータベースを構築する。それらを基に疫学調査を実施し総合的評価を下すことが当初の計画である。現在までに達せられた研究状態は健常患児ならびに顎関節症患児、交叉咬合、外傷により下顎骨折を伴う患児の顎運動の計測を行ってきた。解析に関しては、取得した特許による方法より顎運動を運動の中心から評価する事

が可能になり微細なクリック等の運動変位を捉えることが可能となった。また、アニメーション化に関しては試作運用のテストが終了し、実施に運用できるレベルに達した。本研究プロジェクトによって、得られた顎運動から、細分化してしまうと症例数が少なくなってしまうが、顎関節症患児のなかでも片側性円板転位の患児の健常側は、健常児の顎運動とは異なる運動が観察され、顎関節症とは関係のない半対側にも何らかの影響が考えられた。同様に、外傷により片側の下顎頭骨折を経験した患児の健常側も運動抑制を受け、回復に伴い運動抑制が回復していく様子が観察された。

振動工学的見地から顎口腔系に発生する振動には、下顎頭の移動に伴う顎関節雑音、歯の衝撃による歯周組織の応答である打診音、動的咬合による咬合音などがある。この振動を診断に応用するために、広周波数帯域の生体振動解析システムを構築することにより、生体振動による新しい顎口腔機能診断法を開発することを目的の一つとして、咬合音による歯周組織の臨床的機能状態および動的咬合状態について検討を行った。咬合音の高周波成分を用いて炎症の改善に伴う歯と歯周組織の変化を、機能的側面より客観的に評価できれば診断上意義があると考え、軽度歯周病罹患者の初期治療前後における検討を行った。歯と歯周組織を系とした共振周波数および高周波成分の持続時間を検討することにより歯周炎の改善状態を明らかにすることができ、咬合音によって初期治療前後の歯周組織について口腔を単位として機能的側面より客観的に評価できることが示唆された。このことから、歯周組織の変化により、咬合音の持続時間、周波数帯域に変化が見られることがわかった。また関節円板前方転位などが生じると、関節窩と顎頭の位置関係の変化や開閉口運動時の関節頭の運動制限などにより、神経筋機構に影響を及ぼし、咬合接触状態に変化をきたし、早期接触や咬頭滑走などの変化を生じさせることが考えられる。

咬合音の高周波成分を用いて、関節円板前方転位が顎運動時における動的な咬合状態に及ぼす影響を明らかにすることを目的で検討を行った。関節円板前方転位が顎運動時における動的な咬合状態に及ぼす影響を生体振動の咬合音により、復位性関節円板前方転位症例の動的な咬合状態は、咬頭滑走や早期接触などの変化を生じさせ、咬合接触の規則性の乱れや再現性の低下により健常群に比べ不安定であることを認めた。

咀嚼と脳の認知機能診断に関しては、近年、咀嚼が脳機能に及ぼす影響が注目され、咀嚼機能の改善が単に身体的な影響を与えるばかりでなく、精神的なQOLにまで影響を与えている可能性が示唆されているが、それらを説明する客観的なデータは少なく、ほとんどが年代別グループによる比較にとどまり、同一被験者による検討はほとんどされていないのが現状である。歯科治療における咀嚼機能の改善により単に摂食機能の改善だけでなく精神活動における改善にまで影響を与える可能性は以前より経験するものの、身体、精神的活動がどのように改善されているかなどについては不明な点が多い。そこで本研究では、同年代の患者において、認知情報処理過程の客観的な評価を行い、治療前後において比較することによって歯科治療効果の影響を検討し、咀嚼能力と脳機能との関係を検討した。本研究の成果として、平成13年度においては、購入した多用途脳波計を実験システム上に組み込み、これまで用いた脳波測定解析システムを新たに再構築した。そして、解析システムの特性検討を行った。本来の目的であるヒトの認知思考機能の一つである意欲の精神的变化について事象関連電位を測定した結果、意欲の変化により違いが認められた。ヒトの認知思考機能の一つである意欲の精神的变化をターゲットとして、咀嚼機能や性格特性を指標とし平成14年度では若

年者のグループ、平成15年度では高齢者のグループにおいて「高咬合圧群—低咬合圧群」、
「内向性群—外向性群」に分類し、それぞれについて事象関連電位を測定し出現傾向の違い
が認められた。平成16,17年度では咀嚼機能の低下した高齢者において「治療前と治療後」
に分類し、事象関連電位を測定し、出現傾向の違いが認められた。これらのことから、脳の
事象関連電位を用いて歯科治療後の精神的変化に対する客観的なデータが得られることが
明らかになった。

インプラント治療を希望する患者は年々増加しているが、骨量不足のために不適応となる
症例が少なくない。このような症例に対してインプラント治療を行う場合、骨移植は欠くこ
とができない処置である。上顎臼歯部の骨量不足の場合には、上顎洞サイナスリフトを施術
し骨量を補うことが多い。上顎洞形態に関する研究はこれまでも歯科、耳鼻科領域で研究
の対象とされてきたが、上顎洞サイナスリフトの術式を意識した上顎洞の形態研究は少ない。
本研究は上顎洞サイナスリフトの術式を考慮した上で、CT画像から上顎洞全体の一般形態な
らびに洞底部の形態計測を行った。資料は東京大学総合研究博物館所蔵の現代日本人女性乾
燥頭蓋骨42体84側(平均年齢38.9歳)を用いた。得られたCT画像を画像解析ソフトCT-Rugle
(Medic Engineering, Inc.), Real-time Imaging Viewer Pegasus Viewer (Zio software, Inc.) により、
上顎洞の前後径、幅、高さ、体積の計測を行った。既に報告されている同資料男性の
結果との比較を行った。上顎洞の前後径および高径、体積は男性に比べて女性の方が有意に
小さかった。洞底部の形態は加齢変化として男性はタイプIが多くなるのに対して女性はタ
イプFが多くなる傾向がみられた。また男性は加齢変化として上顎洞の体積が増加する傾向
があったが、女性は小さくなる傾向があった。この2つの加齢変化の違いが体積に影響した
のかもしれない。

体幹四肢の筋力発揮時における下顎動態と咀嚼筋活動様相に関して、全身機能と顎口腔機
能とはこれまで密接に関係があるといわれながらそのメカニズムは明らかになっていなかっ
た。本プロジェクトの開始は、全身運動機能として汎用の背筋力計を用いて顎頭位変化につ
いて三次元6自由度下顎運動測定装置(CONDYLOCOMP LR 3)と接触滑走自発後方運動時の
顎頭位変位により測定した。検討の結果、背筋力発揮時における顎頭位変位は咬頭嵌合位の
顎頭位からほぼ全員後下方へ変位し、接触滑走自発後方運動では顎頭位は後上方へ変位した
結果を得た。汎用背筋力について検討した後、純粋な背筋力を発揮させるために多用途筋訓
練評価装置(BIODEX System 3)を用いて咀嚼筋の筋電活動様相の測定を行った。背筋力発揮時
およびピーナッツ咀嚼時における側頭筋、咬筋、および顎二腹筋の筋活動様相を計測した。
また、最大随意噛みしめ時の側頭筋および咬筋の筋活動量と最大随意開口抵抗時の顎二腹筋
の筋活動量を計測し、最大随意筋活動量を得た。得られた筋活動量より、各咀嚼筋の最大随
意筋活動量に対する相対比率を求め、背筋力発揮時、ピーナッツ咀嚼時、および最大筋活動
量の筋活動量を比較した。背筋力発揮時における側頭筋、咬筋、および顎二腹筋の筋活動は
それぞれ最大随意筋活動量に対して32.1%、26.4%、97.4%であった。また、ピーナッツ咀嚼
時における側頭筋、咬筋、および顎二腹筋の筋活動はそれぞれ最大随意筋活動量に対して
40.7%、36.0%、17.3%であった。背筋力を発揮する場面においては、側頭筋および咬筋で30%、
顎二腹筋で100%近い筋活動がみられた。咀嚼筋群は開閉口筋ともに活動するが、その様相か
ら特に顎二腹筋が下顎の固定筋として強く関与することが示唆された。顎頭位の結果とまと
めて考えると、体幹の筋力を発揮する際にヒトの顎は強く噛みしめていないことが示唆され、

いままでにない新しい知見と考えられる。

歯科遠隔医療システムの開発では、歯科遠隔医療のための基礎的検討として、ネットワークを利用した文字情報、視覚情報、マルチメディア情報などの歯科医療情報伝達時の問題点を明らかにするための検討を行った。文字情報については、情報伝達をするための基盤となることから、日常臨床で頻用されている歯科臨床病名を対象に国際疾病分類(ICD)によるコード化を試行し、医科標準病名とも対比した検討を行った。その結果、日常使われる歯科臨床病名のうち約3割は国際疾病分類によるコードの確定が困難であること、歯性という概念が医科病名にみられない場合があること、歯科では病名と同一に扱われている補綴物や修復物の破損などの状態表現に該当する詳細なコードが国際疾病分類のコード体系には存在しないことなどわかった。デジタルカメラの普及で頻用される視覚情報の伝達については、被写体に色調補正のための色票を写し込み、術者自身が色調再現した後に非可逆圧縮で伝送することが望まれたが、色調補正のためのプログラム配布が検討課題であった。マルチメディア情報の伝達については、ベストエフォート型ブロードバンドの通信速度の様相をADSL、CATVおよびFTTHの回線について検討したところ、変動がみられる場合や理論的最大速度と実効速度が大きく異なる場合がみられるなどの問題点が明らかとなり、病診連携などでの利用にあたっては事前に通信速度の実測、確認が必要と考えられた。一般的なインターネット利用では受信速度が重視されるが、医療用としては送受信とも高速であることが重要であり、収容局までの線路距離長に影響されず速度変動も少ないFTTHの利用が望まれた。また、セキュリティ確保のためVPNを利用する場合においても伝送速度の低下への配慮が重要であることが示された。

4-3 初期う蝕検出装置による診断法の開発研究グループ

現在行われているう蝕診断法は視診・触診法が主流である。しかし、触診ではシャープな歯科用探針を用いるため歯質破壊を生じさせてしまうことが指摘されている。臼歯小窩裂溝部では視診が困難であり、前臨床(初期)う蝕の段階はX-ray診断でも困難である。また、視診・触診法は診査者の主観に基づく方法であるため診断の再現性が劣っている。よって以上の問題を改善するために、非破壊的方法による前臨床(初期)う蝕の診断法を確立することが本研究の目的である。①歯科医師の診査者間におけるう蝕診断の差異を評価した結果、診査者間において視診によるう蝕検出には大きなバラツキがあることが確認された。歯科用探針を用いない方法を前提にした場合、今後、精度の高い、しかも学校健診など実際の口腔内で簡便に用いられるう蝕診断法の開発が急務であることが示された。②sticky感の有無はシーラントなど積極的予防処置適応歯の条件として有用とされてきたが、この判定に歯科用探針を用いることに問題があった。そこでsticky感の有無とDIAGNOdent™測定値の関係について臨床評価や使用基準を評価する目的で臨床疫学的な検討を行った。その結果、sticky(+), sticky(-)のスクリーニングに活用するためには、DIAGNOdent™値におけるcut-off-pointを20にすることが適当であると考えられた。DIAGNOdent™値が19以下だとシーラント対象外の歯をスクリーニングすることが有用であると認められた(シーラント処置の対象歯から除く)。3. ヒト抜去歯の隣接平滑面う蝕を対象として、マイクロCTでの診査を行い、組織切片と診断基準を比較検討した。その結果マイクロCTは300μm以上の精度でう蝕を診断できることが認められた。4. カリオロジーに立脚したう蝕診断法の確立を目的として、カリエスリ

スクテストによって得られた値と DIAGNOdent™ 値の測定値を重ね合わせることによってカリエスリスクとその対応のガイドラインの基準づくりを検討した。そのための基礎データを得るためにカリエスリスク者の選定基準の理論的根拠を明確化するために唾液流量、緩衝能およびう蝕細菌数とう蝕との関連性を検討した。その結果唾液流量測定のための改良フッ化物イオン希釈法と唾液緩衝能測定法及びブラッシング歯垢を用いてう蝕細菌数を評価することは、う蝕活動性試験として実践的で有用性があるものと考えられた。これら測定方法の活用により、包括的なリスク因子の情報収集が可能となり、より確かなう蝕リスク判定を行うことができると考えられた。

乳歯ならびに幼若永久歯は、その特徴として解剖学的にも構造学的にもう蝕に罹患しやすく、う蝕が発症すると短時間で象牙質さらには歯髄へと感染し歯周組織にまで炎症が波及する。一方、う蝕には罹患し易いが歯質が未熟であるからこそ再石灰化ならびにフッ化物を取り込みフロルアパタイトとなつてう蝕に抵抗することが知られている。そのためには、初期う蝕の診断が極めて大切である。そこでレントゲン写真では診断できないような CO(要観察歯)においてもレーザー光で認知できるかを検討した。種々のレーザー光を試みたところ、初期う蝕の検出にはレーザー光を用いた DIAGNOdent™ が有効であることが、細菌学的検討、特に総レンサ球菌に対する *S.mutans* の占める割合を知ることによってよりの確に診断できることが明らかとなった。すなわち、従来の視診、触診に加え、ミューカント^R、さらに可能であれば総レンサ球菌に対する *S.mutans* の占める割合を知り、DIAGNOdent™ 値からう蝕活性が高い初期う蝕であるか、う蝕進行が停止して再石灰化に向かう可能性が高い初期う蝕であるとの診断ができることが強く示唆された。臨床において初期う蝕と診断した場合、どのような対応が必要かという課題についても検討した。ヒトを研究対象とすることは倫理面からも不可能であり、たとえ抜去歯を用いたとしても口腔内によってう蝕進行と再石灰化による治癒は生体内で観察されるべきと考え、高う蝕感受性マウスに *S.mutans* 感染後、わずか10日間の経過で初期う蝕が発症することを明らかにした。*In vivo* での初期う蝕の成立の成功は、その後における治療法、予防法を含め大きく研究が進むことが予想でき研究の成果は大きかった。

<優れた効果があがった点>

4-1 歯科疾患の遺伝子診断の開発と応用研究グループ

カスタムメイド DNA チップを応用した歯科診断では、口腔内に生息する菌体の歯周ポケットや歯垢内など変化の著しい外部環境に対応する病原性遺伝子の発現変化があきらかとなったことで将来、患者個人の有する本菌体の悪性を診断する指標ができた。また、これらの診断を実際に臨床サンプルで行なうためには極微量の RNA を増幅する必要が生じる。臨床分離試料を培養・増殖してしまうと、本来の遺伝子の mRNA 発現が大きく変動することが予想されるため、生体内に生息する細菌のありのままの病原性を掌握するには、培養等の過程を経ないで、いかに効率良く RNA を採取し、リニア増幅させるかが菌体病原性のトランスクリプトーム解析の臨床応用を睨んだ場合に重要な鍵となる。そこで我々は原核生物 RNA 増幅用のプライマーを考案した。このプライマーは現存するあらゆる種類の真核生物用 RNA 増幅キットに適応可能であり、実際にナノグラムオーダーの RNA を増幅する事でマイクロアレイ解析をするのに十分な量に増幅可能であった。

う蝕感受性決定遺伝子の構造解析では、量的形質遺伝解析の結果、19 対あるマウス常染色体のうち第 2 番染色体に特に強い効果を持つ遺伝子の存在が明らかとなった。C3H, C57BL/6, MSM の 3 つの系統の組み合わせにより、C3H, C57BL/6 の組み合わせで検出できたこの QTL が C57BL/6, MSM の組み合わせでは検出できなかったことにより、C3H 系統に強いう蝕抑制遺伝子が存在することが示唆された。同様に GeneChip マイクロアレイシステムを用いた解析でも C3H マウスにおいて特徴的な結果を得た。免疫グロブリン(κ 鎖可変領域; 7.9 倍)IgE 結合因子(3 倍), 免疫グロブリン(IgA 重鎖; C57BL/6 で発現なし)など免疫系に関与する遺伝子が C57BL/6 系統よりも多く発現しており、う蝕感受性をコントロールする遺伝子のうち、う蝕を抑制する作用を解析するのに C3H 系統を用いているのが最も効果的であることが判明した。

口腔奇形・異常に関与する遺伝子の特定における、マウス唇顎口蓋裂発症の原因究明の研究では、マウス染色体 11 番に位置づけられた遺伝子は口唇裂に関与し、染色体 14 番上の遺伝子は口蓋裂の発症に関与していることがわかった。顎骨と歯の大きさに関しては、上下顎骨の長径には高い相関があり、関与している遺伝子座も同じであることがわかった。また、上下の第一臼歯の歯冠幅径にも高い相関があり、関与している遺伝子座も一部一致していることが明らかとなった。また顎骨と歯の大きさを決定する遺伝子座は共通しておらず、顎骨の大きさと歯の大きさは遺伝的に関連性が低いことが明らかとなった。マウス第三臼歯の先天欠如の原因究明の研究では、第三臼歯の先天欠如の原因遺伝子が存在するマウス染色体 3 番の領域を 3Mbp という狭い範囲まで絞り込むことができ、候補遺伝子を特定することができた。

4-2 生体機能からみた顎口腔機能の診断と応用研究グループ

小児顎運動診断法の開発研究によって、剛体運動測定法、剛体運動測定装置、剛体運動測定プログラム、顎運動測定方法、顎運動測定装置および顎運動測定プログラム(出願番号・出願日: 2001-145232, 2001.5.15)の特許を申請し、取得した。この特許により、顎の微細な運動変化を捉えることが可能となった。また、なかでも片側性円板転移の患児の健常側は健常児の顎運動とは異なる運動が観察され、顎関節症とは関係のない半対側にも何らかの影響が

考えられた。同様に、外傷により片側の下顎頭骨折を経験した患児の健常側も運動抑制を受け、回復に伴い運動抑制が回復していく様子が観察された。さらに顎運動をアニメーション化することで、複雑な運動をアニメーションによって理解が容易になったことが優れた点である。

生体振動を利用した顎口腔機能診断に関して、軽度歯周病罹患患者に初期治療前と初期治療後の咬合音を採取し、咬合音の高周波成分持続時間は、初期治療後は治療前と比較して短縮傾向が認められた。周波数成分では、初期治療後は治療前と比較して高周波成分帯域が変化した。歯周組織の臨床症状の評価(PD, CAL, GI, PII)においても治療前と比較してPD, GI, PIIにおいて有意差が認められた。これらのことから、生体振動を利用した顎口腔機能診断な有効な方法であることが示唆された。また、関節円板転位が動的な咬合状態に及ぼす影響を明らかにすることを目的として、正常者と復位性関節円板前方転位症例患者との違いを検討した結果、復位性関節円板前方転位症例では、咬合音の持続時間は長く、咬合音の持続時間の変動係数および咬合音波形の多峰性の出現頻度が高い傾向を認め、今回用いた咬合音に関する検討項目いずれにおいても、正常者より高い値を示した。これらのことから咬合音の持続時間、変動係数、多峰性の出現頻度の検討は、復位性関節円板前方転位の診断への応用の可能性が示唆された。

咀嚼と脳の認知機能診断に関して、従来からの脳波解析では α , β 波などの定常脳波が主流であり、事象関連電位などの誘発電位を用いた認知機能についての検討は歯科医療分野においてはほとんどされていなかった。しかし事象関連電位を用いることで、今まで歯科治療後における具体的な脳の変化について、客観的なデータとしてとらえることができた。歯科治療前後において、パターン認知に関与するMMNの面積が治療前に比べ治療後は有意に増加することが認められたことは処理資源論から解釈すると、装着前に比べて課題処理が容易に行われたことが考えられ、歯科治療がパターン認知などに関与する課題処理に対し影響がある可能性が認められた。今回の研究を通して事象関連電位を用いることにより、歯科治療前後における変化を捉えることが出来たことが成果である。ひいては歯科治療の脳科学的な治療効果について、さらに具体的な検討ができる可能性が明らかになった。

上顎洞サイナスリフトの解剖学的基礎的研究では、CTによる撮影を行うことで3次元的な形態計測を行うことができた。これにより頭部X線規格写真やパノラマ写真に比べて膨大な量と質の情報が得られた。また、CTによるデータとしてこれだけ資料数を集めた報告はない。東京大学総合研究博物館の管理にはなるものの上顎洞に関する研究を行うデータベースとして多くの研究者に公開され、活用される事が期待できる。

体幹四肢の筋力発揮時における下顎動態と咀嚼筋活動様相に関しては、これまで筋力発揮時の咀嚼筋の筋活動様相と顎頭位の変化を提示した報告は少なかった。今回、特に咀嚼筋の筋活動計測には無線送信により被験者がより自然な状態で、計測することが可能になった。筋電信号を無線送信することにより、電極の振れによる影響を排除することにより信用度が高いデータ収集が行えた点が挙げられる。また、これまでに咀嚼筋の測定対象は咬筋などの閉口筋が主であったが、本研究では開口筋である顎二腹筋に注目し、開閉口筋の筋活動様相を同時に計測することによって、より下顎の動態が詳細に推察することが可能となったと考える。本研究の結果から、咀嚼筋群は開閉口筋ともに活動を示し、ヒトが強い筋力を発揮する際、強く噛みしめていないことが示唆され、下顎の固定がおこなわれるメカニズムの一部

が明らかになったことは背筋力発揮以外の運動の際の実験方法の参考になると思われる。

歯科遠隔医療システムの開発において、インターネットで普及しているベストエフォート型ブロードバンドは変動がみられる場合や理論的最大速度と実効速度が異なる場合があることを明らかにし、特に ADSL では収容局までの距離による伝送損失の差が大きな問題となること、CATV では変動が大きいという問題があることを明らかにできた。さらに、セキュリティ確保のために VPN を利用する場合、通常よりも伝送速度が低下することから、マルチメディア情報の円滑な送受信には事前の実効速度の検証が重要であることを示すことができた。

4-3 初期う蝕検出装置による診断法の開発研究グループ

sticky 感の有無と DIAGNOdentTM 測定値の関係について臨床評価や使用基準を評価する目的で小学校児童を対象に臨床疫学的な検討を行った結果、DIAGNOdentTM 値が 19 以下だとシーラント対象外の歯をスクリーニングすることが有用であると認められた（シーラント処置の対象歯から除く）。そして、ヒト抜去歯の隣接平滑面う蝕を対象として、マイクロ CT での診査を行い、組織切片と診断基準を比較検討した。その結果マイクロ CT は 300 μ m 以上の精度でう蝕を診断できることが認められた。また、唾液流量測定のための改良フッ化物イオン希釈法と唾液緩衝能測定法及びブラッシング歯垢を用いてう蝕細菌数を評価することは、う蝕リスク診断法として実践的で有用性があるものと考えられた。レーザー光を用いた DIAGNOdentTM は初期う蝕によってエナメル質の少量の崩壊を検出できることが判明した。崩壊が進んだう蝕部では総レンサ球菌に対する *S.mutans* の割合は大きく、崩壊が少ないう蝕部位では総レンサ球菌に対する *S.mutans* の割合は小さかった。以上のことから、エナメル質の崩壊の大きさは *S.mutans* 量の多寡と関係があることが明らかになった。しかし、DIAGNOdentTM 値が近似であっても総レンサ球菌に対する *S.mutans* の割合は近似でない症例もあった。検討したところ総レンサ球菌に対する *S.mutans* の割合はう蝕活動性を意味していることが示唆された。そこで初期う蝕には DIAGNOdentTM とともに細菌学的検討を加えることによって初期う蝕部のう蝕活動性を論じることが可能となることから、その両者を臨床に応用することによって初期う蝕の診断から対応へと進むことができることを示唆した。また、初期う蝕病変をマウスに再現することができた初期う蝕モデル動物を得たことは今後の初期う蝕の成り立ちや治療法の確立を明らかにする道を拓いた。

<問題点>

4-1 歯科疾患の遺伝子診断の開発と応用研究グループ

カスタムメイド DNA チップを応用した歯科診断におけるアレイの主流は、現在、オリゴヌクレオチドプローブをスポットすることであるが、この方法であると同一菌種であっても株の違いによりプローブと相補性をとらない場合が多い。オリゴヌクレオチドプローブは短い分だけ結合する相手とのマッチングが必要になってしまう。その点、PCR プローブは長い分多少のミスマッチが存在しても結合できるが、コストと時間がかかりすぎる点が問題である。また病態と遺伝子発現との相関性を客観的に判定するには臨床試料の数が問題となりまだ不十分と言わざるをえない。

う蝕感受性決定遺伝子および口腔奇形・異常に関与する遺伝子の構造解析研究における、遺伝子の特定の方法論として連鎖解析を用いたが、この方法は使用するマウスの数が多く、また PCR 遺伝子型判定に使う DNA マーカーも全染色体に数多く配置するため、研究に膨大な時間と労力がかかる。しかし、疾患原因遺伝子のマッピングのためには連鎖解析に変わる手段もない。このような問題点のため各テーマとも多くの候補遺伝子が同定できたが原因遺伝子の特定までにはいたらなかった。

4-2 生体機能からみた顎口腔機能の診断と応用研究グループ

小児顎運動診断法の開発では、顎運動計測するとき、計測器に認識させるマーカーが髪の毛等により一部分に陰影となり、形状が変形することによる精度の低下、唾液により接着剤が剥がれてクラッチ(認識するマーカーを固定する金具)の脱落が認められた。マーカーの陰影に関してはヘアープインの使用により改善が可能であった。

生体振動を利用した顎口腔機能診断においては、振動解析装置(LOVAS-12)の大きさが大きく、付属機械の重量もあるため、一般臨床に使用するには広い空間が必要となるために、利用上の制限がある。そのために解析システムの小型軽量化の必要性がある。また咬合音採取用ヘッドギアには、加圧量の自動設定が不可能であるため振動解析システムへの記録にやや煩雑さがある。これらの問題点を解決することができると利便性が向上する。

咀嚼と脳の認知機能診断では、歯科治療前後の変化をみるために患者を被験者として扱うため、歯科治療前後を通して研究に協力してもらえる患者数が限られている。また、被験者の口腔内の状態をなるべく統一しなければいけないため、被験者数が集まりづらいことが一番の問題である。付属病院より患者を抽出しているため被験者の偏りもやや問題があると考えられる。

上顎洞サイナスリフトの解剖学的基礎的研究において、男性と女性で異なる結果が得られた。大きさの違いは顔面計測との関連である程度の傾向は得られると思われるが、加齢的な大きさの変化に関してはさらなる詳細な分析が必要であると思われる。年齢と歯の喪失状況を加味してグループ分けをするための試料数はまだ十分ではない。この問題がクリアできれば新たな展開が期待できると思われる。

体幹四肢の筋力発揮時における下顎動態と咀嚼筋活動様相の研究で、筋電図は筋の活動により体表面に現れた電位を電極が信号に置き換えることにより記録される。電極表面の酸化や劣化または強烈な電磁波が存在する環境では純粋な筋電波形が記録されない場合がある。今回のデータ収集の際に電極の表面の通電性能低下が原因と思われる現象が筋電波形にみら

れた。この問題の解決策として筋電図データ収集の電極はこまめに交換する必要がある。また、顎二腹筋に電極を貼付した場合、頸部の動きが激しい時に電極がはがれてしまう状況が起こったので固定方法を考慮する必要がある。

歯科遠隔医療システムの開発では、色票による色調補正の自動化が不十分で情報交換する画像数が多い場合は対応できないため、色票エリア指定後は自動的に補正完了できるようなプログラム開発が必要と考えられた。また、DICOM3 仕様の医用画像設備が未導入のため、実機による検討が行えなかった。

4-3 初期う蝕検出装置による診断法の開発研究グループ

臨床診断における DIAGNOdent™ の有用性の検討のために今後、対象数を多くしてさらなるゴールドスタンダードを踏まえた臨床報告が必要であると思われる。レーザー光を用いた DIAGNOdent™ は初期う蝕によってエナメル質の少量の崩壊を検出できることが判明したが、その初期う蝕が治癒の方向に向かっているのか、あるいはう蝕が進行している方向に向かっているのかが明らかにできない。また、初期う蝕モデルマウスにおいて *S.mutans* 感染後、10 日後に初期う蝕が発症するが、そのなかには C0 である表層下脱灰の歯もあれば表層まで脱灰が進んだ C1 もあることから更なる研究が必要である。

<研究期間終了後の展望>

カスタムメイド DNA チップを応用した歯科診断では、アレイ上にのせる遺伝子の数を増加することでより多くの診断の候補を見いだす可能性を有している。そして、臨床試料の数を格段に上げる事でより客観性の高い診断用アレイの開発が可能と考えられる。本研究で用いられるような PCR 産物をスポットしたアレイは企業ベースで販売しておらず、これからもコスト面で期待されないのが意義の有る事と思われる。

う蝕感受性決定遺伝子の構造解析では、多くの候補遺伝子が発見できたが、原因遺伝子の特定までは至っておらず、最終的な目的であるう蝕予防への応用まで至っていない。この目的に到達するため今後の研究方針として、現在進行中であるコンソミックマウスの作成を継続し、第2番染色体のう蝕抑制効果を *in vivo* で解析するとともに、作成したコンソミックマウスを用いて染色体候補領域を狭めることが可能になる。また、原因遺伝子が特定された後に、このマウスを用いることで短期間にコンジェニックマウスの作成が可能になり、得られた原因遺伝子の *in vivo* での機能解析が数多く行える。そして、GeneChip による解析から、顎下腺で発現する遺伝子の発現データが多数得られており、これらを応用することで遺伝子の相互作用の解析が容易に行えると考えられる。マウスとヒトの遺伝子の相補性は高いため、マウスで原因遺伝子を特定できれば、ヒトにおける発症リスク診断に応用できると考えられる。

口腔奇形・異常に関与する遺伝子の特定の研究では、原因遺伝子の特定までは至っておらず、最終的な目的であるヒト唇顎口蓋裂および不正咬合の発症リスクの診断への応用までいたっていない。この目的に到達するため今後の研究方針として、唇顎口蓋裂と歯の先天欠如に関しては、マウス数と DNA マーカーを増やすことにより、原因遺伝子が存在する領域を限定することが可能である。その領域から候補遺伝子を抽出し、シーケンシング法による遺伝子変異解析、並行してリアルタイム RT-PCR や *in situ* hybridization 法を用いた遺伝子発現解析を行い、原因遺伝子を特定する。マウスとヒトの遺伝子の相補性は高いため、マウスで原因遺伝子を特定できれば、ヒトにおける発症リスク診断に応用できると考えられる。不正咬合に関しては、顎骨と歯の大きさの研究で求めた候補遺伝子の検索を行うと同時に、顎骨に対する歯の萌出位置および咬合位についても同一のマウスシステムを用いて遺伝的解析を行い、今後、不正咬合の発症リスクの診断に追加していく計画である。小児顎運動診断法の開発は、技術的な面で大きく時間が取られてしまい若干の遅れが認められている。

技術的な目途がついたことから、十分な被験者数の計測ができれば、ケース毎のデータベースが作製でき、疫学的な検討が可能であると考えられる。これにより、歯科臨床で顎関節症等の疾患に対し、早期発見、早期治療ならびに予防が可能になると考えられる。さらに、本プロジェクトを進展させ、現在、患者説明用にアニメーション化を、アニメーションの各ポイントにどのくらいの方向に力が加わっているかをモデリングし、剛体運動として考えた場合の矛盾点から下顎にどのような無理な力が加わっているか検討し、その力が顎関節にどのような影響を及ぼしているか解明していきたいと考えている。

生体振動を利用した顎口腔機能診断の今後の研究方針として、この振動解析装置を、診療室での利用価値が認められるように、装置の小型軽量化を検討する予定である。生体振動を利用した顎口腔機能の診断法の確立について、具体的には補綴物の機能的診断、歯周病の治療中、治療後のメンテナンス時などの予後評価への応用、インプラント処置後のリコール

時評価への応用、矯正治療中、矯正治療後の評価への応用などを計画している。

咀嚼と脳の認知機能診断では、被験者が集まりにくいことがあり、今後の研究方針としては、被験者数を増やし、より確実性の高いデータとすることを第一目標とする。次に現在は歯科治療直後における検討を行っているが、義歯など使用期間が長期間の場合についての検討を行うことや、歯科治療の処理の違いによりどのように精神的な変化が違ってくるかについても検討を行う予定であり、歯科治療が生体にどのような影響を与えるかについてさらに具体的に検討を進める。

上顎洞サイナスリフトの解剖学的基礎的研究に関しては、ヒト上顎洞形態の解明の一環として縄文人、弥生人、室町時代人、江戸時代人など日本人の各時代による変化を追跡していく予定である。

体幹四肢の筋力発揮時における下顎動態と咀嚼筋活動様相の研究では、全身機能と口腔機能との関わり合いを解明するために、今回、体幹の背筋力発揮時における咀嚼筋の筋活動様相についてまとめることができた。肘や膝なども全身にとってそのメカニズムを解明することは非常に重要であり、今後は膝関節および肘関節などの四肢の伸展・屈曲運動時の咀嚼筋筋活動様相を明らかにする予定である。また、ゴルフおよび重量挙げ以外のスポーツ競技種目以外についてもまとめる計画である。しかし、本研究はテレメータシステムを使用して背筋力発揮時の咀嚼筋の筋活動様相を報告している。今後の研究は先の報告をさらに展開し、口腔内の装置(マウスガード)が咀嚼筋の筋活動様相とパフォーマンスに影響するか明らかにし、マウスガードの普及を目指している。

歯科遠隔医療システムの開発の研究は、次年度より本学附属歯科病院において病院情報システムが稼働予定であることから、研究を継続し、色調補正方法、画像伝送方法など近隣歯科医療機関と病診連携等する際の歯科医療情報交換基準の策定等を検討する予定である。

改良フッ化物イオン希釈法と唾液緩衝能測定法及び歯垢によるう蝕細菌数計測によってDIAGNOdent™の測定値をカリオロジー的に示唆することができ、初期う蝕の診断が歯質侵襲の危惧される探針を用いることなく、DIAGNOdent™のCut-off-pointを20に設定することで精度良く客観的に判断できることを明らかにできたことから、今後は臨床応用することで症例数を増やし、また本研究で調査した集団の視診・触診・レーザーう蝕診断の追跡調査とその結果の分析を行い、より精度の高いう蝕診断法を確立するとともに一般歯科臨床への普及を模索する予定である。また、総レンサ球菌に対する*S.mutans*の割合がう蝕活動性の指標になること、動物実験による初期う蝕発生のシュミレーションに成功したことから、う蝕活性の高低をも診断が可能となり、再石灰化方向であれば的確なフッ化物処置を施すことにより硬組織再生が期待できる。今後DIAGNOdent™測定と併用して診断に応用し、症例を分析することで極めて精度の高いう蝕診断法を確立し、初期う蝕治療を的確に進めることで小児歯科診療に貢献できる本研究を継続する予定である。

<研究成果の副次的効果>

カスタムメイド DNA チップを応用した歯科診断で得られた研究成果を基にして特許申請を行った。

う蝕感受性決定遺伝子の構造解析において、う蝕感受性に関わる遺伝子を特定することができれば、マウスとヒトの遺伝子の高い相補性から、ヒトにおける発症リスク診断に応用できると考えられる。う蝕発症に対する宿主の遺伝要因と細菌学的要因などの環境要因との相互関係が明らかになることで、効率的なう蝕予防プログラムの立案が可能になることが予想できる。唇顎口蓋裂、先天欠如歯および不正咬合の発症に関わる遺伝子を特定することができれば、マウスとヒトの遺伝子の高い相補性から、ヒトにおける発症リスク診断に応用できると考えられる。先天欠如歯や不正咬合の発症を予知できれば、早期から必要な咬合誘導治療を行うことが可能である。

小児顎運動診断法の開発研究において、剛体運動測定法、剛体運動測定装置、剛体運動測定プログラム、顎運動測定方法、顎運動測定装置および顎運動測定プログラムに関する特許申請を行った。今後は、計測器購入先である(株)ディテックと購入した計測器の改良ならびに、取得した特許を組み込んだ計測器の開発が期待される。生体振動を利用した顎口腔機能診断に用いた振動解析装置(LOVAS-12)は、低周波から高周波成分までの振動を解析することができる装置である。外からの刺激に対する振動により引き起こされて生じる生体振動をこの装置を利用して解析することができる。生体振動自身の振動解析もできることから、この振動解析装置を利用して顎口腔機能の診断の可能性を有していると考えられる。

咀嚼と脳の認知機能診断では、現在の研究成果について、より客観的なデータとして確立することが出来れば、咀嚼機能の重要性についてのデータとして使用することができ、ひいてはQOLとの関連性について説明することが可能である。これらの成果を得ることによって、歯科治療における重要性に認識の普及、向上について活用していきたいと考えている。

上顎洞サイナスリフトの解剖学的基礎的研究で得られた結果は今後計測する他集団との比較材料となる。また、東京大学総合研究博物館の管理により上顎洞周辺に関する研究を行うデータベースとして一般研究者に公開され、活用される予定である。体幹四肢の筋力発揮時における下顎動態と咀嚼筋活動様相の研究では、全身運動機能と顎口腔系との関わり合いの一部を明らかにすることができた。本研究成果の活用として今後、噛みしめ、くいしばりという状況変化や、下顎位がスポーツパフォーマンスに及ぼす影響について検討可能なスポーツ競技について範囲を広くしていきたい。また、MORAやプレートなど咬合位の改善あるいは挙上によって身体運動機能が向上するとされている。このことより、マウスガードがスポーツパフォーマンスと顎の固定にどのように影響を及ぼすかを咀嚼筋の筋活動様相と含めて検討していく。

歯科遠隔医療システムの開発における色票写し込みによる色調補正は、遠隔診断において利用するだけでなく、通常の治療経過の中での色調診断においても有用であり、院内症例画像データベースでの必須撮影要件として活用する予定である。

初期う蝕検出装置による診断法の開発研究により、初期う蝕の内容を含めて的確な診断が、比較的容易に行える実用化の目処がついた。的確な診断によってフッ化物処置で再石灰化を期待するか、シーラント塗布か、修復治療を施した方が良いか選択ができることの臨床効果は計りしれず、早期の実用化を目指す予定である。