

ロータリーエンジンリーマーの切削能に対する評価

昭和大学歯科病院歯内療法科

宮崎聖子 山田嘉重 木下潤一朗 川中岳雄 大場崇史 仲田泰治

The evaluation of the effect for the root canal by stainless steel engine reamers.

Department of Endodontics Showa University Dental Hospital

Miyazaki Seiko, Yamada Yoshishige, Kinoshita Jun-Ichiro, Kawanaka Takao, Nakata Yasuharu

(緒言)

ロータリー切削器具とニッケルチタン製ファイルを併用した根管拡大法は、現在広く臨床に応用されている。本法はニッケルチタンが持つ性質により細く弯曲性を有する根管の拡大を効率よく行われる利点がある。その一方で、ニッケルチタン製ファイルは予兆がなく突然ファイルの破折を生じることがあることや、器具の単価が高価であるという問題点がある。ステンレス製のロータリーファイルとして RT ファイルの報告がこれまで幾つかなされているが、ステンレススチール製のエンジンリーマーに対する検討はほとんどなされていない。ステンレス製エンジンリーマーはニッケルチタンファイルに比べて、弯曲根管ではステップやジップ形成などの問題点が指摘されているが、安価であることや破折がおきにくいなどの利点がある。本研究の目的は、現在販売されている幾種類かのステンレススチール製エンジンリーマーを用いて弯曲根管の根管形成における有用性と問題点をニッケルチタン製ファイルと比較して検討することである。

(実験方法)

本研究では、中等度の弯曲根管を有する透明樹脂模型 30 個を使用し、使用したファイルの違いにより、3 グループに分類した。グループ 1 : ニッケルチタン製ファイル群、グループ 2 : カーボンコーティング処理ステンレススチール製リーマー群、グループ 3 : 未処理ステンレススチール製リーマー群とし、モリタ社製デンタポートを用いて低回転(250 rpm)で透明根管の根管形成を行った。またそれぞれの拡大器具を使用する際に、拡大中に浸漬する薬剤により 3%EDTA (スメアクリーナー)、15%EDTA ゲル (RC-prep) 使用の違いにより、さらに 2 種類のサブグループに分類した。(トータル 6 グループ)

全ての試料において根管形成作業に要した時間を計測し、拡大終了後実体顕微鏡を用いて根管形成時にステップ形成の有無、根管の偏位の程度等を観察した。全てのグループごとに平均化され、各グループ間に有意差が生じたかどうかを検討した。

(結果・考察)

根管形成時間は、グループ 1 が最も早く、グループ 2, 3 についてほとんど差は見られなかった。根管拡大については、根管幅は両エンジンリーマー群が大きくなる傾向にあった。また、ニッケルチタン製ファイルに比べ、ステンレススチール製エンジンリーマーは直線化する傾向が見られた。しかし、中等度の弯曲根管を用いた今回の実験では、全てのグループにおいてステップや根管の偏位等は見られなかった。このことより、根管の弯曲度の傾向を十分に留意することで、ステンレススチール製エンジンリーマーも根管拡大への応用が可能であることが示唆された。今後はエンジンリーマー使用における根管の弯曲度の限界能に対して検討を行っていく予定である。

屈曲させた NiTi 器具のサイクル疲労に対する化学的清掃剤の影響

- 1) 日本歯科大学 大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学 ○長谷川有紀¹⁾
2) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座 新井恭子²⁾、北島佳代子²⁾、五十嵐 勝²⁾
3) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科理工学講座 小倉英夫³⁾

Influence of chemical adjuncts on the cyclic fatigue of bended NiTi rotary instruments

- 1) Advanced Operative Dentistry・Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
2) Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
3) Department of Dental Materials Science, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
HASEGAWA Yuki¹⁾, ARAI Kyoko²⁾, KITAJIMA Kayoko²⁾, OGURA Hideo³⁾ and IGARASHI Masaru²⁾

【緒言】

根管拡大形成には機械的拡大形成と化学的拡大形成があり、両者は同時に行われる。機械的拡大形成中のリーマーやファイルには挿入時の圧縮力、曲げ応力、さらに切削時に加わる回転トルクなどの負荷が発生しており、使用時間の増加とともに器具破折が起こりやすくなる。今回われわれは、NiTi ファイルのサイクル疲労に対する化学的清掃剤の影響として有機質溶解剤と無機質溶解剤の EDTA 製剤3種について検討したので報告する。

【材料および方法】

NiTi ロータリーファイルとして 25 mm Flexmaster[®] (Zipperer) を用い、02 テーパー#20~#35 と 04 テーパー#20~#35 の計 8 種類を実験に供した。トルクコントロールエンジンとして E-Master[®] (Zipperer) を用い、オートリバースするトルクを 0.20 N cm に設定し、04 テーパー#35 のみ 1.20 N cm とした。湾曲根管モデルとして外径 6.0 mm、内径 1.5 mm の 1 級パイレックス製ガラス管を用い、管腔の仮想中心軸が 90 度となるように R 2.0 mm で屈曲し、ファイル挿入側が 10 mm、屈曲側が 2 mm になるように長さを調整した。ファイルは全て未使用のものを用い、薬剤を応用しないものをコントロール、化学的清掃剤に浸漬したものを実験群とした。薬剤は有機質溶解剤として 6% 次亜塩素酸ナトリウム (PURELOX[®]、オーヤラックス)、無機質溶解剤として市販 EDTA 製剤の File Care[®] (Zipperer)、Glyde[®] (DENSPLY)、RC-prep[®] (premier) を用い、刃部全体を薬剤に浸漬した状態で 1 時間作用させ、その後、水道水で流水洗い自然乾燥した。ファイルのガラス管への挿入は、荷重簡易試験スタンド (FGS-50X-L、日本電産シンポ) に装着して行い、ファイルの先端が外壁に接触して 90 度に屈曲するようにガラス管を取りつけた。ファイルの回転速度は 300rpm で、回転開始から破折発生までのファイルの累積回転数を自作の光センサー式自動計測装置で測定した。また、同時にデジタルフォースゲージ (FGC-1B、日本電産シンポ) でファイル長軸方向に加わる荷重を経時的に測定し、切削圧測定ソフト (NKS-162、日本海計測特機) で記録した。なおガラス管はファイルを 8 本使用ごとに交換した。

【結果および考察】

NiTi をガラス管内で 90 度屈曲させて回転すると、湾曲の中央部で破折が発生した。その破折までの累積回転数は 02 テーパーの方が 04 テーパーよりも大きかった。コントロールと全ての実験群において 02 テーパーでは #20 が特に累積回数が多く破折しにくく、一方 04 テーパーでは号数間で大きな違いはなかった。薬剤応用の有無や種類による破折の発生に対する影響には明らかな違いはみられなかったが、実際の臨床で行われる化学的洗浄剤浴下の作業に合わせて、今後は薬剤浸漬下での実験設定が必要である。

回転中に加わる荷重は 02 テーパーでは #20: 15~20g、#25: 25~60g、#30: 30~70g、#35: 30~125g、04 テーパーでは #20: 70~150g、#25: 150~200g、#30: 150~250g、#35: 200~250g と号数に伴い荷重が増加した。

NiTi ファイルの破断について報告した Dalton らの研究では、屈曲した金属管内で破折までの回転数を計測しており、管内でのファイルの屈曲状態を観察していない。本研究では透明ガラス管を用いたため、回転中の屈曲状態を観察することができた。そこでは、回転を開始する前に屈曲度を 90 度を設定したが、回転開始後にファイルが湾曲内湾壁に接触し直線化し 90 度を維持できないことやガラス管内壁の摩耗状態が観察された。今後は、臨床に則した湾曲角度、屈曲状態の維持方法、管の材質などの実験条件を再検討し、実験例数を増やして分析を行う予定である。

【結論】

NiTi ロータリーファイルを 90 度湾曲下で回転させるサイクル疲労は、化学的清掃剤を一時的に作用させた後、乾燥下で回転させた場合には破折の生じる累積回数に影響は少なかった。

GT Series X Rotary File の湾曲根管に対する切削特性 —ファイル使用順序の影響—

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野

○ 富田文仁、興地隆史

○ Shaping Ability of GT Series X Rotary Files in Simulated Curved Canals:

Comparison of Various Preparation Sequences

Division of Cariology, Operative Dentistry & Endodontics, Department of Oral Health Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○ TOMITA Fumihito and OKIJI Takashi

【目的】 GT Series X Rotary File (Dentsply Tulsa Dental; 以下、GT X)は、同社製 GT File の後継製品であり、M-Wire と称する NiTi 合金の使用による破折抵抗性の向上を特徴の一つとする¹⁾。同ファイルでは、#15 k-file で根尖を穿通後、#20/06 一本 (連続使用時間 10-12 秒、2 サイクル) で根管全長の形成がしばしば可能とされており¹⁾、これで作業長まで到達しない場合は#20/04 を到達させたのち再度 #20/06 で形成することが推奨されている¹⁾。そこで本研究では、GT X の湾曲根管切削特性、特にクラウンダウン法による歯冠側フレア形成を行わない上述の形成法の検証を目的として、S 型湾曲根管に対する形成時間ならびに形成前後の根管形態変化について、GT X もしくは K3 (SybronEndo)によるクラウンダウン法との比較を行った。

【材料および方法】 40 本のエポキシレジン製透明湾曲根管模型 (S 型: Dentsply Maillefer) を 5 群 (各群 $n = 8$) にわけ、#15 k-file で根尖まで穿通後、以下の手順で最終サイズが 20/06 となるように同一の術者が形成し、切削時間を計測した。

1 群: GT X 20/06 を 11 秒間使用後、再度 20/06 で根尖まで形成

2 群: GT X 20/06 を 11 秒間使用後、20/04、次いで 20/06 で根尖まで形成

3 群: GT X 40/06、次いで 30/06 で到達可能な位置まで形成後、20/06 で根尖まで形成

4 群: GT X 30/06、次いで 30/04 で到達可能な位置まで形成後、20/06 で根尖まで形成

5 群: K3 30/06、次いで 25/06 で到達可能な位置まで形成後、20/06 で根尖まで形成

次いで、形成前後のデジタル画像上で、根管形態変化を画像解析ソフトウェア (Adobe Photoshop CS) にて解析した。すなわち、S 型根管の歯冠側および根尖側の変曲点、および根管上部 (歯冠側変曲点より 5mm 上方) について、根管幅径増加量 (形成前の根管壁から形成後の根管壁までの距離) を外湾側、内湾側について計測した。一元配置分散分析および Bonferroni Dunn 検定にて危険率 5% で統計処理を行った。

【結果】 形成時間は、3 群が最短、以下 4 群、5 群、1 群、2 群の順であり、1 群は 3 群と比較して、また 2 群は 1 群以外の全群に対し有意に長時間を要した。

根管上部の根管幅径増加量は全群で外湾側>内湾側、かつ外湾側は全群ともほぼ同一であったが、内湾側では形成時間の長い群ほど小さい値を示した。一方、歯冠側変曲点部での根管幅径増加量は全群で内湾側>外湾側、かつ外湾側は全群ともほぼ同一であったが、内湾側では 5 群が 2、4 群に対し、また 3 群が 4 群に対して有意に大きかった。根尖側変曲点部においては根管幅径増加量は全群で内湾側>外湾側であったが、群間に有意差は認められなかった。

【結論】 GT X 20/06 のみを用いた形成法では、クラウンダウン法と比較して形成時間は延長傾向を示すものの、根管上部から歯冠側変曲点近傍までの切削量が低減されること、および根尖部では同等な根管形態が得られることが示唆された。

【文献】 1) Buchanan LS: The new GT Series X rotary shaping system: objectives and technique principles.: Dent Today 27, 70-74, 2008.

超音波装置による破折ファイル片の除去に関する基礎的研究

奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野

○梅里朋大, 田辺理彦, 東田大輔, 平山圭史, 木村裕一, 天野義和

Basic study on removal of fractured files by ultrasonic device

Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry
○ UMESATO Tomohiro, TANABE Michihiko, HIGASHIDA Daisuke, HIRAYAMA Keiji, KIMURA Yuichi, AMANO Yoshikazu

【研究目的】根管内における器具の破折は歯内治療において難しい症例の一つといえる。破折器具の除去には、従来からマセランキットなどの除去用のキットが販売されているが、歯質の切削量が多くて除去できない場合があるなどの理由から、あまり使用されなくなってきた。破折した器具の除去では、根管深部における作業が多いため、歯科用顕微鏡の使用が不可欠で、それに併用して超音波装置を用いた除去が最近、多く行われるようになった。破折器具の除去において重要な点は、破折断面の確認と超音波装置による破折器具周囲の歯質の切削、そして破折器具を振動させて根管壁から遊離させることにある。しかし、超音波装置による破折器具の除去方法に関しては、どの程度の強さで行うかなどに関して詳細には判明していない。そこで本研究では、破折した K ファイルを人工根管模型において再現し、除去に関して超音波装置の強さとの関係、破折片の長さとの関係、破折片の太さとの関係などを検討したので報告する。

【材料と方法】試料として人工透明根管模型 (S1-U1、ニッシン) を 45 本使用した。また、K ファイル (ジッペラー) の #20 を 5 本、#30 を 35 本、#40 を 5 本、計 45 本使用し、切断したファイル人工破折ファイル片として使用した。研究 1 では、15 本の根管模型を使用し、根管相当部の長さを 10 mm にするため模型を切断後、ピーソーリーマー (メルファーマー) #4 で根尖相当部から 1 mm 上方までバイパス形成を行い、根尖相当部から 1 mm は #15 の K ファイルで拡大した。次に #30 の K ファイルを先端から 3 mm のところで切断後、切断ファイルを 500 gW で根尖相当部まで押し込んだ。その模型を 5 本ずつ 3 群に分けて超音波装置 (バリオス 750、ナカニシ) とエンドチップ (E4, ナカニシ) を用い、周波数 28.8 kHz (以下強さ 1)、周波数 29.6 kHz (以下強さ 2)、周波数 30.4 kHz (以下強さ 3) で切断ファイルの除去に要した時間を測定した。研究 2 では、15 本の根管模型を使用し、根管相当部の長さを 15 mm にするため模型を切断後、ピーソーリーマー #4 で根尖相当部から 1 mm 上方までバイパス形成を行い、根尖相当部から 1 mm は #15 の K ファイルで拡大した。次に #30 の K ファイルを先端から 3 mm、5 mm、7 mm のところで切断し、切断ファイルを 500 gW で根尖相当部まで押し込んだ。その模型を長さごとに 5 本ずつ 3 群に分けて、超音波装置の強さ 1 で切断ファイルの除去に要した時間を測定した。研究 3 では、15 本の根管模型を使用し、根管相当部の長さを 15 mm にするため模型を切断後、ピーソーリーマー #3 で根尖相当部から 1 mm 上方までバイパス形成を行い、根尖相当部から 1 mm は #15 の K ファイルまで拡大した。次に #20、#30、#40 の K ファイルを先端から 3 mm でそれぞれ 5 本ずつ切断し、切断ファイルを 500 gW で根尖相当部まで押し込んだ。その模型を太さごとに 5 本ずつ 3 群に分けて、超音波装置の強さ 1 で切断ファイルの除去に要した時間を測定した。結果は平均±標準偏差として表し、3 群間の有意差については Kruskal Wallis 検定を用いて統計処理を行い、危険率 5% で判定した。

【結果】研究 1 (強さとの関係) ; 強さ 1 では平均 7.68 ± 2.77 秒、強さ 2 では平均 3.92 ± 1.08 秒、強さ 3 では平均 3.26 ± 2.61 秒で、3 群間で有意差が認められた。研究 2 (長さとの関係) ; 長さ 3 mm では平均 22.48 ± 5.38 秒、長さ 5 mm では平均 13.40 ± 3.45 秒、長さ 7 mm では平均 65.32 ± 8.64 秒で、3 群間で有意差が認められた。研究 3 (太さとの関係) ; #20 では平均 3.18 ± 0.69 秒、#30 では平均 9.92 ± 1.61 秒、#40 では平均 22.98 ± 8.15 秒で、3 群間で有意差が認められた。

【考察】超音波装置の強度に関しては強い方が破折片の除去に要した時間が短く、また破折片の太さに関しては大きくなるほど除去に要する時間が長くなる結果となった。しかし、破折片の長さに関しては規則性のある結果ではなく、共振などの要因が関係していたと考えられた。今後、原因究明についてさらなる研究が必要であることが示唆された。

根管拡大・形成による電氣的根管長測定値の変化

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 口腔機能再構築学系 摂食機能保存学講座歯髓生物学分野
○須藤 享、吉岡 隆知、小林 千尋、須田 英明

Change of electronic measurement values of root canal length following root canal preparation

Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences Graduate School,
Tokyo Medical and Dental University

SUDO Susumu, YOSHIOKA Takatomo, KOBAYASHI Chihiro, SUDA Hideaki

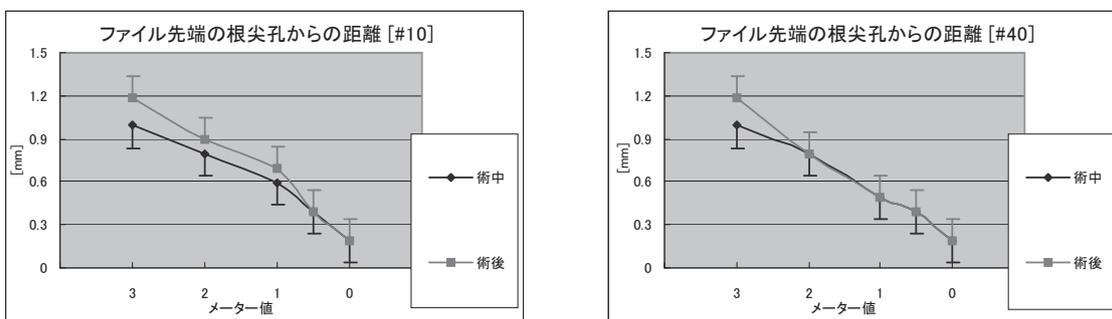
【研究の目的】

現在市販されている電氣的根管長測定器の多くは、根管拡大・形成しながら根管長測定することができる。Ebrahimら¹⁾は、Root ZX では根尖孔の直径と比較して小さいサイズのファイルを用いると、測定精度が下がることを報告している。根管拡大・形成により根管のサイズは変化するが、電氣的根管長測定に与える影響は明らかでない。本研究の目的は、根管拡大・形成による電氣的根管長測定値の変化を調べることである。

【材料および方法】

実験には、単根管性のヒト抜去下顎前歯 10 本を用いた。被験歯は、実験期間中、生理食塩液中に保存した。まず、根尖からの長さが 16 mm となるよう歯冠部を切断後、根管中央から根管上部までゲーツグリッデンドリルを用いて漏斗状形成した。次いで、デジタルマイクロスコープで根尖を 25 倍に拡大観察して、根尖孔を介して K ファイル (Zipperer) #10 先端が確認される位置で根管長を測定した。さらに、試料ビンの蓋中央に穴をあけ、被験歯を即時重合レジンで固定した。蓋には被験歯と接しない位置に穴をあけ、不閉電極として 18-8 ステンレスワイヤーを固定した。試料ビン内には、根尖より 8 mm の位置まで生理食塩液を満たした。根管拡大・形成は、根管内に生理食塩液を満たしながら行った。8kHz と 400Hz でのインピーダンスが表示されるように改造した Dentaport-ZX (モリタ) を常に接続した状態で、K ファイル#10 から#40 まで根管拡大・形成しつつ、メーター指示値 3/2/1/0.5/APEX の位置で、インピーダンスとファイル先端の根尖孔からの距離の測定を行った。根管拡大・形成終了後、再度、#10 から#40 まで同様の測定を行った。術中と術後における、8kHz でのインピーダンス (Z_h) および 400Hz でのインピーダンス (Z_l) より求めたインピーダンス比 (Z_h/Z_l)、ファイル先端の根尖孔からの距離について Tukey-Kramer 法で有意水準 5%にて解析した。

【結果】 ファイル先端の根尖孔からの距離の代表例を以下の図に示す。



インピーダンス比は、#25 でのメーター値 0.5 のみ術後が術中よりも有意に大きかった。ファイル先端の根尖孔からの距離は、メーター値 2 以下では術中と術後で差がなかった。

【考察および結論】

根尖付近では、根管拡大・形成中と根管拡大・形成後で Dentaport-ZX の測定精度は保たれているといえる。Ebrahimらの研究では、歯根周囲を生理食塩液含有寒天とし、根管内溶液は 6%NaClO であった。本実験では、根管内と歯根周囲の溶液をいずれも生理食塩液としたため、測定値が安定したと考えられた。Dentaport-ZX での根管長測定は、メーター値 2 以下であれば術中と術後で差がなかった。

【参考文献】 1) Ebrahim AK. et al.: The effects of file size, sodium hypochlorite and blood on the accuracy of Root ZX apex locator in enlarged root canals: an in vitro study. Aust Dent J 51,153-157,2006.

24%EDTA ジェル浴下で根管拡大を行った後の根管壁の走査電顕観察

岩手医科大学歯学部 歯科保存学第一講座¹⁾, 日本歯科薬品株式会社 研究所²⁾
○中島 薫¹⁾, 志賀 華絵¹⁾, 寺田林太郎¹⁾, 常川 勝由²⁾

Scanning electron microscopic observation of root canal wall after enlargement in the 24% EDTA gel

Department of Operative Dentistry and Endodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University¹⁾

Nippon Shika Yakuhin Co., Ltd. ²⁾

○NAKASHIMA Kaoru¹⁾, SHIGA Hanae¹⁾, TERATA Rintaro¹⁾, TSUNEKAWA Masayoshi²⁾

目的；

演者らは、静止状態では流動性が少なく、透明で薬剤を透して根管口を視認でき、臨床操作が容易な試作 24%EDTA ジェルを開発し、根管拡大の補助剤として用いることを試みた。そこで、本研究では試作 24%EDTA ジェルおよび従来から根管拡大の補助剤として用いられている市販 15%EDTA ペーストである Glyde と RC-Prep 浴下で通法により根管拡大を行い、拡大後の根管壁を走査電子顕微鏡により観察した。

材料および方法；

実験に使用した材料を表に示す。

製品名 (製造業者)	Lot.	EDTA 濃度	剤 形
24%EDTA ジェル (試作品)	W69	24%	ジェル
Glyde (メルファー)	080512	15%	ペースト
RC-Prep (プレミアム)	27449	15%	ペースト

実験 1；単根のヒト抜去歯を歯頸部で切断した後の歯根を用い、手用 H-ファイルにて試作 24%EDTA ジェル浴下で #60 まで円周ファイリング法により根管拡大を行った。その後歯根を長軸に沿って 2 分割した後白金蒸着を施し、走査電子顕微鏡 (S-2300, 日立製作所) にて倍率 800 倍で観察した。観察部位は根管上部、中央部および根尖部とした。なお、従来から根管拡大の補助剤として用いられている 15%EDTA ペーストである Glyde および RC-Prep 浴下にて拡大を行った根管についても同様に評価し、比較対照とした。

実験 2；試作 24%EDTA ジェル浴下で拡大後の根管を、1) 試作 24%EDTA ジェルで 1 分間洗浄する群、2) スメアクリン (日本歯科薬品, pH9.0 の 3%EDTA 水溶液) で 1 分間洗浄する群、および 3) スメアクリンで 2 分間洗浄する群の 3 群に分類し、各々の処理を行ったのち、実験 1 と同様に走査電顕観察を行った。

結 果

実験 1 では、試作 24%EDTA ジェル浴下での拡大においては、根尖部にスメア層の残留が認められるが、根管上部と中央部ではスメア層はほとんど認められなかったのに対し、15%EDTA ペースト浴下での拡大後の根管壁では、根管上部では象牙細管が一部確認されるものの、中央部および根尖部ではスメア層の残留が認められた。

実験 1 から、試作 24%EDTA ジェル浴下で拡大を行った根管の根尖部にはスメア層が残留することが明らかとなったため、その除去方法を模索した実験 2 では、試作 24%EDTA ジェルで洗浄したものは根尖の一部にスメア層の残留を認めたと、スメアクリンで洗浄したものは、1 分間洗浄群、2 分間洗浄群いずれにおいても根管上部から根尖に至るまでスメア層が除去されていたことを確認した。

考 察

本研究結果から、試作 24%EDTA ジェル浴下で拡大した後の根管では、15%EDTA ペースト浴下で拡大したものと比較して、残留するスメア層の量が少なかった。これは両者のキレート能力の違いに由来するものと考えられる。また、試作 24%EDTA ジェル浴下で拡大しても根尖部にはスメア層が残留するので、根管洗浄が必要であることが示唆された。スメアクリンで洗浄した根管は根管上部から根尖に至るまでスメア層が除去されていたが、液体であるスメアクリンは、硬さがあるジェルに比較すると狭小な根尖部根管にも到達しやすいことが原因として考えられた。

各種条件下における EDTA の根管壁洗浄効果について

昭和大学歯科病院歯内治療科
宮澤理紗 渡辺治爾 木下潤一郎

A comparative study of the root canal cleansing by EDTA solution

Department of Endodontics Showa University Dental Hospital
Risa Miyazawa, Haruji Watanabe, Jun-ichiro Kinoshita,

【研究目的】

機械的切削用器具による根管形成では根管壁に Smear layer が残存することが知られている。Smear layer は象牙質の切削片を主体とした有機物および無機質で構成されており、Smear layer 自体が細菌感染の原因となることや、内部に細菌が残存した状態で象牙細管を覆ってしまうことが明らかにされている。現在 Smear layer の除去を目的として EDTA 製剤が用いられている。さらに根管内の有機物及び消毒を目的として NaOCl が用いられている。

本研究では EDTA 製剤の Smear layer 除去効果について検討するために EDTA 及び NaOCl を併用した場合において、用いる EDTA 製剤の濃度、洗浄量及び洗浄時間の条件などを変更し各種条件下における EDTA の根管壁の Smear layer 除去効果について再評価を行った。

【実験方法】

被験歯にはヒト抜去歯を用いて各種条件ごとに以下の 6 つのグループにわけ Conventional method にて根管拡大を行った。使用する EDTA 製剤として 15%EDTA (歯科用モルホニン 昭和薬品化工) を原液、及び精製水にて 5% に希釈したものを用いた。

GroupA 5%EDTA を 0.5ml 用いて 60 秒間洗浄

GroupB 5%EDTA を 0.5ml 用いて 30 秒間洗浄

GroupC 5%EDTA を 1.0ml 用いて 30 秒間洗浄

GroupD 15%EDTA を 0.5ml 用いて 60 秒間洗浄

GroupE 15%EDTA を 0.5ml 用いて 30 秒間洗浄

GroupF 15%EDTA を 1.0ml 用いて 60 秒間洗浄

Smear layer 除去効果については SEM を用いて、Smear layer の量、象牙細管の状態から Gorman 等の方法に従い評価を行った。

【実験結果】

本実験では EDTA の根管壁洗浄効果において、各種条件による洗浄効果への影響が認められた。

【考察】

無機質溶解作用を利用した根管洗浄剤については EDTA 以外にも各種研究対象となっており、それぞれ脱灰の機序も異なるが、有効性を認める洗浄効果を発揮する最小限の薬剤濃度及び使用時間、使用量について今後さらなる比較検討が必要である。

抜去歯を用いたイオン導入法の抗菌効果の検討

鶴見大学歯学部 細菌学教室 第二歯科保存学教室*
○加藤 大輔、小山 隆夫、中野 雅子*、新井 高*、前田 伸子

In-vitro Evaluation for Microbicidal Effects of Iontophoresis on Human extracted tooth.

Department of Oral Bacteriology, Department of Periodontics and Endodontics*,
School of Dental Medicine, Tsurumi University
○D. Kato, T. Oyama, M. Nakano*, T. Arai*, N. Maeda

【目的】根尖性歯周炎における歯内療法処置の目標は、根管内および根尖に残存する微生物を根絶することである。機械的拡大や洗浄、あるいはCa(OH)₂に代表される種々の薬剤による貼薬処置は、この目的のために行われてきた。ところが、稀に微生物を完全に除去することがきわめて困難な場合が多い。難治性根尖性歯周炎の罹患歯においては、種々の処置後でさえも、*Enterococcus faecalis*、*Candida albicans*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Bacillus subtilis*などが検出されることが報告されている。特に *Enterococcus faecalis* (E.f) は象牙細管内に深く侵入し、機械的、化学的根管洗浄のみでは完全に除去しきれない場合も存在する。そこで今回我々は、*Enterococcus faecalis* を用いて、抜去歯におけるイオン導入法の抗菌効果について検討した。

【方法】根尖部病巣モデルは、すべて根尖の閉塞していない単根（管）歯を用い40号まで拡大した。また、抜去歯歯根部にシリコンチューブを装着し、根尖部病巣の実験モデルとして使用した。ついで、根尖部病巣に相当する腔に、被検微生物(10⁷cfu/ml)含有血液添加寒天50μl、Tryptic Soy 寒天50μlの順に重層し、実験的根尖部病巣とした。イオン導入にはカントップ・ジュニアを用いた。薬剤は38%フッ化ジアンミン銀溶液(DSF)、ヨード・ヨード亜鉛液(IZI)を用いて、それぞれ一定時間(25・50・75・100分)作用させた。イオン導入後チューブと抜去歯を分離して被検微生物を回収し、Tryptic Soy 寒天培地上のコロニー出現の有無で判定した。

【結果と考察】以前我々は、根管模型を用いてイオン導入法の抗菌効果を検討したが、どの微生物に対しても、DSFがもっとも効果的に抗菌性を発揮することを、これまでの日本歯科保存学会にて発表してきた。今回は、抜去歯を用いてイオン導入法の抗菌効果を検討した結果、やはりDSFがもっとも高い抗菌性を示し、IZIでは模型と同様に抗菌性が認められなかった。模型上では、DSFは25分の通電で検出限界以下にすることが可能であったが、抜去歯では抗菌性が認められるまでの通電時間が長くなり、25分間の通電ではE.fを検出限界以下にすることは出来なかった。また、50分の通電でもE.fは残存しており、検出限界以下にするには75分以上の通電が必要であった。これは、天然歯の場合、象牙歯質・象牙細管にも薬剤が拡散・侵入するため、殺菌に必要な十分量の薬剤の根尖部への到達に時間を要したと考えられ、恐らく臨床に近い結果と思われる。これらのことから、抜去歯におけるイオン導入法においては、模型使用時の結果に比べて時間は掛かるものの、やはりもっとも高い抗菌効果が認められるのは、DSFであることが示唆された。また、臨床でイオン導入法を用いる場合、当然の事ながら一回の治療で長時間通電することは事実上不可能であり、短期の間隔で複数回の通電が必要であることが示唆された。またその間も、残存微生物の発育を阻止するための根管消毒剤貼薬の併用も必要不可欠であると考えられる。

中性電解機能水パーフェクトペリオ®による根管洗浄および抗菌効果について

明海大学 機能保存回復学分野 歯内療法学講座
中村裕子, 久野木克典, 林田千代美, 谷崎暁子, 中村有良, 中村幸生
Root Canal Irrigation and Antibacterial Effects of Perfect Perio®
Antibacterial Effects and Effectiveness Root Canal Irrigation of Perfect Perio®
Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences,
Meikai University School of Dentistry
NAKAMURA Yuko, KUNOKI Katsunori, HAYASHIDA Chiyomi, SHIMETANI Akiko,
NAKAMURA Ariyoshi and NAKAMURA Yukio

【研究目的】

根管の化学的清掃は、複雑な根管に残存した有機物質や感染歯質、スミヤー層などを除去するための重要な処置である。しかし、化学的清掃剤として使用されている次亜塩素酸ナトリウムには、強い細胞傷害性が有り、漏洩などにより口腔粘膜や皮膚への損傷を生じ、医療事故を招くことが危惧されている。また、通常行われている次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水による交互洗浄では、根尖部付近の洗浄が不確実であること、スミヤー層の十分な除去効果が期待できないことなどがあげられており、より確実で安全性の高い根管洗浄法が求められている。パーフェクトペリオ® (以下 PPW) (野口歯科医学研究所株式会社製) は、中性 (pH7.1) で、高純度の塩素濃度 (600ppm) を長時間維持することのできる電解機能水である。その成分は、次亜塩素酸と重炭酸ナトリウムであり、抗菌効果及び洗浄効果を有する。我々は、これまで PPW のバイオフィーム形成菌に対する抗菌活性、宿主細胞に対する細胞傷害性について検討を行ってきた。その結果、パーフェクトペリオ®は、高いバイオフィーム除去効果、抗菌効果を有すること、また組織傷害性が低いことを報告してきた (第 127・129 回日本歯科保存学会)。

今回、PPW を根管洗浄に応用した場合における洗浄効果を検討するため、スミヤー層の除去効果および根管内微生物に対する抗菌効果について検討を行った。

【材料および方法】

〔スミヤー層の除去効果〕 実験にはヒト上顎前歯抜去歯を用いた。全ての試料は、作業長を 20mm なるように歯冠部を調整した。アピカルシートは、# 50 のサイズとし、K-ファイルを用いたステップバック法にて根管形成を行った。洗浄液として、①PPW ②5%NaClO ③EDTA ④EDTA+PPW ⑤EDTA+5%NaClO および⑥生理食塩水を用いた。形成終了後、各種洗浄剤 5ml を 1 分間かけて、根管洗浄した。その後、2.5%グルタルアルデヒドで前固定し、0.1M カコジル酸で洗浄し、歯根を縦方向に分割した。さらに金蒸着を行った後に走査型電子顕微鏡により観察した。

〔抗菌効果〕 ヒト抜去歯を根管拡大形成後、15%EDTA、NaClO により洗浄し、オートクレーブ滅菌したものを使用した。根管内に、*Enterococcus faecalis* および *Porphyromonas gingivalis* 菌液 (1.0×10^8 CFU/ml) 50 μ l を注入し、37°C 湿度 100%にて 48 時間培養し、感染根管のモデルとした。洗浄液として、①PPW ② 5%NaClO ③ 5%NaClO+H₂O₂ ④2%クロルヘキシジンおよび⑤生理食塩水を用いた。各種洗浄液 5ml で 1 分間、根管洗浄をおこなった後、根管内菌液を回収し CFU/ml を算出し、抗菌効果を比較検討した。

【結果】

生理食塩水および NaClO の洗浄では、スミヤー層の除去は認められなかった。PPW は、単独で用いた場合でも、多少の残存は認めるもののスミヤー層の除去が観察できた。EDTA との併用により、NaClO も PPW においてもスミヤー層の除去が認められた。抗菌効果を検討した結果、5%NaClO>PPW>2%クロルヘキシジン>5%NaClO+H₂O₂ という結果となった。

【考察・結論】

PPW は、バイオフィーム除去効果を有しながら、細胞傷害性の低い洗浄剤である。さらに、今回の検討結果から、根管内細菌に対する抗菌効果・スミヤー層に対する除去効果が認められたことにより、根管の洗浄への有用性が認められたものと考えられる。中性電解水や次亜塩素酸ナトリウムに、スミヤー層の除去効果を認めた報告は見当たらない。しかし、PPW によりスミヤー層の除去が観察されたことから、成分中に含まれる重炭酸ナトリウムの洗浄効果が関与した可能性が示唆された。さらには、これら洗浄効果の詳細な条件について検討を行っていく必要性が考えられる。

The Effect of Working Length and Root Canal Instrumentation Techniques on Crack Development in the Apical Root Canal Wall

Pulp Biology and Endodontics, Graduate School
Tokyo Medical and Dental University
ADORNO Carlos G, YOSHIOKA Takatomo, SUDA Hideaki

Introduction: The purpose of this study was to evaluate the effects of working length (WL) and root canal instrumentation techniques on crack development in the apical root canal.

Materials and Methods: Forty extracted mandibular pre-molars with straight roots were mounted in a resin block with simulated periodontal ligament. The teeth were divided into 4 groups; Group A: Step-back preparation with stainless steel files with the WL set at the major apical foramen and defined as root canal length (CL); Group B: Same as Group A except that the WL was CL -1 mm; Group C: Crown down preparation with Profile with CL as WL; Group D: Same as Group C except that the WL was CL -1 mm. Digital images of the apical root surface (AS) were recorded immediately after instrumentation and after removing the apical 1 mm (AS -1 mm) and 2 mm (AS -2mm) of the root end. The number of cracks was counted on the images and statistically analyzed at a 5% significance level.

Results: Logistic regression analysis showed a significant effect of working length on crack development at AS ($p < 0.05$). Instrumentation technique had a significant effect on crack development at AS -1 mm ($p < 0.05$). At AS -2 mm there was no significant difference between instrumentation technique and working length (Table 1).

Table 1. Total number of cracks at 3 apical levels

	Group A	Group B	Group C	Group D	Total
AS	6	2	5	1	14
AS -1mm	0	0	2	1	3
AS -2mm	2	2	2	2	8
Total	8	4	9	4	

Discussion: Any type of file inserted during root canal instrumentation might influence the development of cracks due to the wedging force of the file. The mass of dentin surrounding the file tip in the AS -1 mm group might explain the decrease in number of cracks compared to the AS group. The propagation of the cracks generated during root canal instrumentation could be caused by the release of internal stress accumulated during root canal treatment or due to occlusal forces once the tooth is restored, which might ultimately lead to vertical root fracture

Conclusion: The results of this study suggest that, besides crack development on the apical root surface, root canal instrumentation could also generate cracks on the apical root canal wall.

Er:YAG レーザーの根管内キャビテーション効果に関する研究

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯内疾患制御学研究分野
松本妃可、吉嶺嘉人、西垣奏一郎、後藤千里、牛島 寛、赤峰昭文

Cavitation effects of Er:YAG laser in the root canal model

Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University
Himeka Matsumoto, Yoshito Yoshimine, Soichiro Nishigaki,
Chisato Goto, Kan Ushijima, Akifumi Akamine

【研究目的】 今日、歯科用レーザー機器の発達は目覚ましく、歯内療法の分野においても断髄・覆髄法や根管治療における乾燥・殺菌などを目的とした応用の可能性が報告されている。

根管の化学的清掃は、リーマー・ファイルを用いた機械的拡大・形成の過程およびその終了時点で実施され、根管治療を成功に導くための重要な要素の一つである。化学的清掃剤は、一般的には専用シリンジを用いて根管内に応用されるが、その洗浄効果は、使用する洗浄針の形状、洗浄液の作用時間、量、温度、などによって大きく影響されると考えられる。超音波振動装置のキャビテーション効果を利用して根管内の洗浄を効率的に行なう方法が知られているが、レーザーによる洗浄作用の増強効果に関しては明らかにされていない。

本研究では、Er:YAG レーザーによる根管内でのキャビテーション効果ならびに圧力波の動態を明らかにする目的で、高速撮影用デジタルカメラを用いて形態学的観察を試みた。

【材料および方法】 実体顕微鏡に装着した高速度デジタルカメラの出力端子を PC に接続し、カメラのレンズから 10 cm の位置にガラス製セル (10×10×45mm) を設置した。Er:YAG レーザー (アーウィンアドベール: モリタ社製) に、根管内照射用円錐型チップ (R135T、内径 135 μm および R300T、内径 300 μm)、または、う蝕除去用の先端が平坦なチップ (C400F、内径 400 μm) を装着し、チップ先端がガラスセルの底部から 20mm の位置になるように固定した後、粒子の直径約 50 μm のガラスビーズを含む蒸留水をセル底部から 30mm の位置まで注入した。レーザー照射条件として、注水およびエア無しで、30mJ~150mJ の表示出力、10pps および 20pps の繰り返し速度で照射を行い、チップ先端周囲に生じる対流パターンを撮影記録した。

【成績】 照射エネルギーが高いほど広範囲に及ぶ対流現象が観察された。先端が平坦なチップでは、根尖方向への圧力波が強く起こる様子が観察された。一方、円錐型チップでは、側方への圧力波が根尖方向よりも強く生じていた。また、チップの種類に関係なく、チップ先端の位置よりも上方においても対流現象が認められた。今回の照射条件のうち最もエネルギー量の少ない 10pps、30mJ においてもチップ周囲の対流現象が確認された。

【考察】 キャビテーションは、液体の流れの中で圧力差によって短時間に泡の発生と消滅が起きる物理現象と定義され、キャビテーション作用で形成された気泡が圧力の上昇でつぶれる際には衝撃波が発生する。この原理は、超音波スケーラーによる歯周ポケット内の殺菌、専用ファイルを用いた根管内洗浄の補助、などに応用されている。一方、レーザーを用いた根管内でのキャビテーション作用に関しては、Levy らが水を満たした根管内での Nd:YAG レーザー照射によって圧力波が生まれることを圧電効果の原理を用いて報告している。

今回使用した円錐型チップは、先端角度 84 度に加工されており、照射エネルギーの約 8 割は側方の根管壁方向へ照射されるように工夫されており、洗浄液を根尖孔から押し出す危険性が軽減されると同時に、側面への圧力波によって根管壁を効率的に洗浄できると考えられる。また、超音波を併用した洗浄効果に関しては、シリンジによる方法よりも優れていることが報告されており、レーザーを用いた方法も超音波振動装置と同様に、補助的な洗浄方法の一つとして有効であると考えられる。今後更に、根管壁への洗浄液の衝突速度などに関する解析が必要であると思われる。

【結論】 根管モデル内における Er:YAG レーザーによるキャビテーション効果に関して検索した結果、チップ先端周囲を中心とした対流が発生することが分かり、この作用によって洗浄の増強効果を期待できる可能性が示唆された。

レーザーを用いた根管形成についての基礎的研究

昭和大学歯科病院歯内療法科

○大場 崇史、山田 嘉重、木下 潤一郎、増田 宜子、川中 岳雄、仲田 泰治

The basic study of the root canal formation with Laser irradiation

Department of Endodontics Showa University Dental Hospital

○Takashi Oba, Yoshishige Yamada, Jun-ichiro Kinoshita,

Yoshiko Masuda, Takao Kawanaka, Yasuharu Nakada

【目的】

根管拡大を確実に行うための方法がこれまで数多く報告されてきている。近年、根管内への挿入が可能なレーザー導光用ファイバーが開発されてきており、根管治療へのレーザー応用についての研究が幾つものなされている。近年の報告では、歯質切削能に優れている Er:YAG レーザーを用いた報告が主であり、根管拡大に Nd:YAG レーザー、KTP レーザーを応用した報告はこれまでほとんど見られていない。これらのレーザーはファイバーの根管内への挿入が容易で、根管内の殺菌・消毒能に優れており、学会発表もされている。本研究では、Nd:YAG レーザー、KTP レーザーを用いて根管拡大形成を行った根管に対して根管充填を行い、レーザーで形成された根管壁と根管充填材との適合性を検討することが目的である。

【材料および実験方法】

1. 試料として、ヒト抜去前歯（切歯、犬歯）を 30 本用い、根管長を 13mm に統一して、根管上部より 10mm を K ファイルにて #50 まで拡大した。
2. 各試料の根尖 2mm に以下の条件でレーザー照射を行った。
 - ・グループ 1 (10 本) Nd:YAG レーザー 2W 10pps
 - ・グループ 2 (10 本) KTP レーザー 2W 10pps
 - ・グループ 3 (10 本) コントロール（作業長 12mm で #60 まで拡大）
 - ・グループ 1 は、黒色溶液下にてレーザー照射を行った。
 - ・グループ 1, 2 とも、10 秒照射して、10 秒休み、10 秒照射した。そして両方とも蒸留水の注水下行った。
3. 形成終了した試料を、オブチュレーター B を用いて、垂直加圧根充を行った。
4. 根充した試料をマニキュアにて前処置を施した後に、ローダミン溶液に 48 時間浸した。
5. 浸漬後、よく水洗をした後、アイソメットにて縦断面を作成し、切断面を実態顕微鏡で観察した。
6. さらに、アルコール脱水を施し、SEM（走査型電子顕微鏡）にて観察した。

【結果および考察】

本結果において Er:YAG レーザーに比べて切削能力が低いと言われている Nd:YAG レーザー、KTP レーザー共に根管拡大、形成が行えることが確認できた。KTP レーザーを用いたグループ 2 において、形態、適合性共に最も良好な結果が得られた。一方、Nd:YAG レーザーを使用したグループ 1 においても形態、適合性とも悪くない結果が認められた。しかし、Nd:YAG レーザーの照射においては、黒色溶液を使用しているため、象牙質側壁や、象牙細管内に黒色溶液が残存している像が観察された。このような状態は根管の無菌化という観点から好ましくないとと言える。さらに、本結果では根管側壁の一部に炭化している像も若干確認された。従って、確実に蒸留水下で行わなければならないことが確認された。また、弯曲根管には、応用できにくい場合もあるので、根管用のファイバーの開発も視野に入れて検討していくことを今後の課題とする。

レーザー照射と次亜塩素酸ナトリウムの組み合わせによる塩素ガス発生を検討

昭和大学歯科病院歯内療法科
○川中岳雄、山田嘉重、木下潤一朗、大場崇史

Examination of generation of gaseous chlorine by combination of laser irradiation and sodium hypochlorite

Department of Endodontics Showa University Dental Hospital
○Takao Kawanaka, Yoshishige Yamada, Jun-ichiro Kinoshita, Takashi Oba

(緒言)

近年、さまざまなレーザーが歯科臨床に導入され広く普及されてきている。歯内療法の領域においてもレーザーを用いて根管内の殺菌消毒の効果を向上させる試みが始められている。根管治療において通常5～10%濃度の次亜塩素酸ナトリウム溶液が根管内の殺菌を目的とした洗浄剤として使用されており、これまでにいくつかの報告で同薬液とレーザーを併用することで、根管内の殺菌効率が向上することが期待できると報告されている。レーザー照射では根管内の温度が上昇することが推測されるが、次亜塩素酸ナトリウムは熱源を与えることで、塩素ガスを発生させる危険性が問題となる。これまでのさまざまな報告により、高濃度の塩素ガスは生体に悪影響を与え、重篤な場合は死を引き起こす危険性も危惧される。

これまで、レーザーと次亜塩素酸ナトリウムの併用による根管内に塩素ガス発生を誘起させる可能性についての詳細な報告はなされていない。今回、通常の根管治療に使用されると思われる濃度(5～10%)の次亜塩素酸ナトリウム溶液にレーザーを照射することで、人体に影響を与える程度の塩素ガスが発生するのかを検証する。

(材料および実験方法)

実験に先立ち、#40号まで拡大した5mm深さの人工根管を作成し、根管内に5%および10%次亜塩素酸ナトリウム溶液を浸漬し、Nd:YAGレーザーを照射し、塩素ガス測定器(ガステック)を用いて塩素ガスの濃度を測定した。今研究では出力、時間を変えた10のグループに分類、グループ1;60mj5秒、グループ2;60mj10秒、グループ3;60mj30秒、グループ4;100mj5秒、グループ5;100mj10秒、グループ6;100mj30秒、グループ7;100mj60秒、グループ8;120mj5秒、グループ9;120mj10秒、グループ10;120mj30秒とした。

(実験結果および考察)

今研究結果では10%次亜塩素酸ナトリウム溶液に120mj30秒のレーザー照射において8ppm以上の塩素ガスが発生されることが確認された。もっとも出力の弱い60mj5秒や60mj10秒においても2～3ppm以上の塩素ガスの発生が検出された。これまでに0.2～0.4ppmの濃度において異臭を感じ、900ppmの濃度で人体に悪影響を及ぼすことが報告されている。今研究結果より、これまで報告されているレーザーと次亜塩素酸ナトリウムの使用方法では人体に影響及ぼす濃度の塩素ガスは発生しないことが確認された。しかし、塩素ガスは根管内で停留し、蓄積しやすいことが考えられるため、レーザーと併用する場合は照射出力、使用時間に留意して使用する必要が示唆された。

ラット歯髄切断法における炭酸ガスレーザーと炭酸カルシウムの影響

日本大学松戸歯学部小児歯科学講座 1. 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座

2. 日本大学大学院松戸歯学研究科 歯内療法学

荒井清司、臼井 朗、松井 智 1、松根健介、高橋知多香 2、和田陽子 2、辻本恭久 1、松島 潔 1、前田隆秀

The effect of Calcium carbonate and CO₂ laser on pulpotomy

Nihon University School of Dentistry at Matsudo Department of Pediatric Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

Department of Endodontics, Nihon university Graduate school of Dentistry at matsudo

Kiyoshi Arai, Akira Usui, Satoshi Matsui, Kensuke Matsune, Chitaka Takahashi, Yoko Wada, Yasuhisa

Tsujimoto, Kiyoshi Matsushima, Takahide Maeda

【目的】

深部う蝕などにより露髄が生じた歯や患部歯髄に限局した歯髄炎に罹患した幼弱永久歯に対して、覆髄法や生活歯髄切断法が広く臨床で行われている。発表者らは炭酸カルシウムを生活歯髄切断に用いることで *in vivo*, *in vitro* 実験において象牙質様硬組織が形成されることを発表した。より成功率が高い生活歯髄切断法を行うためにラット歯髄における炭酸ガスレーザーを併用した場合の影響を検討した。

【試料および方法】

本実験は、日本大学松戸歯学部動物実験倫理委員会指針 (ECA-07-0004 号) に従って実施した。生後 5 週齢の Wistar 系ラット (雄, 約 100 g) を実験に供した。ラットにキシラジンとセラクターの混合麻酔を行い、局所麻酔を施した後臨床術式に準じて生活歯髄切断を行った。切断前に炭酸ガスレーザー (レザウイン CHS モリタ製作所) を 3.0 W 5 秒の条件で照射した。切断材料は炭酸カルシウム (和光純薬) とコントロールとして水酸化カルシウム製材 (カルピタール® ネオ製薬) を用いた。生活歯髄切断を行った後、ラットを 2 群にわけマイクロ CT 観察群 (n=8) と病理組織群 (n=16) とした。マイクロ CT 撮影群は、術直後、術後 7 日、術後 14 日、術後 28 日に撮影を行った。撮影は *in vivo* マイクロ CT (R_mCT® Rigaku) にて行った。撮影条件は管電圧 90 kV, 管電流 50 μA, 拡大率 6.7 倍, 撮影時間 17 秒で行った。マイクロ CT 再構成は、i-view R® (Rigaku) にて近心頰側根を基準として再構成を行った。病理組織群は、術後 7 日、術後 14 日、術後 28 日に腹腔内麻酔を行った後、灌流固定を行った。灌流固定後、マイクロ CT 撮影ならびに病理組織学的検討を行った。病理組織学的検討は、通法に従い、脱灰後パラフィン包埋した。H. E. 重染色を施し硬組織形成、壊死層の有無、歯髄の状態を評価した。

【結果および考察】

マイクロ CT

炭酸カルシウム群、コントロール群ともに、切断後 14 日ごろから low density area が切断面直下に確認された。また照射後 28 日で 14 日と比較すると切断面直下に象牙質と同程度の濃度を呈する High density area が確認された。両群とも切断面直下に石灰化が確認された。

病理組織像

切断後 7 日で、炭酸カルシウム群とコントロール群を比較すると炎症性細胞の浸潤はコントロール群が多くなっていた。切断後 14 日で炭酸カルシウム群は細管構造を有するデンティンブリッジの形成が確認された。コントロール群においては歯髄変性した壊死層とデンティンブリッジの形成が確認された。切断後 28 日で両群ともに切断面に硬組織形成が行われていた。炭酸カルシウムのみと炭酸カルシウムと炭酸ガスレーザー照射で比較すると切断後 7 日において炎症性細胞の浸潤に差が認められ、併用することで炎症反応を抑えられる可能性が示唆された。

炭酸カルシウム自身が石灰化に関与することはすでに報告しているが、炭酸ガスレーザーを併用することでより成功率の高い断髄が行えるものと考えられる。炭酸ガスレーザー照射により歯髄石灰化能が上がることは知られているが、炭酸カルシウムとの併用により歯髄に壊死層を形成することなく硬組織誘導が行えるものと考えられる。

ラット皮質骨における炭酸ガスレーザー照射の影響

日本大学松戸歯学部小児歯科学講座 1. 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座

2. 日本大学大学院松戸歯学研究科 歯内療法学

白井 朗、荒井清司、松井 智 1、松根健介、高橋知多香 2、和田陽子 2、辻本恭久 1、松島 潔 1、前田隆秀

The effect of CO2 laser on rat alveolar bone

Nihon university School of Dentistry at Matsudo Department of Pediatric Dentistry, Nihon university School of Dentistry at Matsudo Department of Endodontics, Nihon university Graduate School of Dentistry at matsudo

Akira Usui, Kiyoshi Arai, Satoshi Matsui, Kensuke Matsune, Chitaka Takahashi, Yoko Wada, Yasuhisa Tsujimoto, Kiyoshi Matsushima Takahide Maeda

【目的】

様々なレーザーが、歯科領域でも実用化されており中でもレーザー様々な生体活性を有することが報告されている。我々は、ラット皮質骨に炭酸ガスレーザー照射することで骨再生にどのような影響を及ぼすかをマイクロCTおよび病理組織学的検討を行い、その有用性を確認した。

【試料および方法】

本実験は、日本大学松戸歯学部動物実験倫理委員会指針 (ECA-07-0005号) に従って実施した。生後10週齢のWistar系ラット (雄, 約200 g) を実験に供した。ラットに塩酸ケタミンと塩酸キシラジンによる混合麻酔を行い、固定板に固定し、大腿骨関節頭を露出させ歯科用インプラントバー #3 (直径1.0 mm), #5 (直径2.0 mm) の順に挿入し、皮質骨の長軸に対し垂直に直径2.0 mm, 深さ2.0 mmの孔を形成した。滅菌生理食塩水にて洗浄後、炭酸ガスレーザー (レーザーウィンCHS モリタ製作所) を3.0 w 5秒の条件で、孔の底面に垂直となるように照射を行った。なお無照射群をコントロールとした。レーザー照射後ラットを2群にわけマイクロCT観察群 (n=20) と病理組織群 (n=20) とした。マイクロCT撮影群は、レーザー照射直後、照射後7日、照射後14日、照射後28日に撮影を行った。撮影は*in vivo* マイクロCT (R_mCT[®] Rigaku社製) にて行った。撮影条件は管電圧90 kV, 管電流50 μA, 拡大率6.7倍, 撮影時間17秒で行った。撮影時体動が影響を及ぼさないよう腹腔内麻酔を行い撮影した。マイクロCT再構成は、i-view R[®] (Rigaku社製) にて皮質骨長軸を基準として再構成を行った。病理組織群は、照射後7日、照射後14日、照射後28日に腹腔内麻酔を行った後、灌流固定を行った。灌流固定後、マイクロCT撮影ならびに脱灰標本を作製した。病理組織学的検討は、通法に従い、脱灰後パラフィン包埋した。H. E. 重染色を施し、骨様組織形成を評価した。

【結果および考察】

マイクロCT

レーザー照射群において、照射後14日後ごろから低濃度な石灰化物が確認された。また照射後28日で、14日と比較すると高濃度な石灰化物が確認された。無照射群では、14日後わずかに低濃度の石灰化物を認め、28日後においてもほとんど変化がなかった。28日後での骨組織の形成は照射群と比較して少なかった。

病理組織像

レーザー照射群において照射後28日で骨様硬組織の形成が認められた。無照射群はレーザー照射群と比較すると骨様硬組織の形成はわずかであった。照射群はレーザー照射があつた孔の底面から骨の再生が確認された。

Fukuhara¹⁾によると*in vitro*でのレーザー照射によりマウス骨髄系間葉細胞にレーザー照射をしたところ照射した部分のみ石灰化ならびに骨芽細胞への分化することを報告している。マイクロCTで経時的变化を観察していくと照射部分から徐々に骨が形成されていくことからレーザー照射した皮質骨において骨再生に関与していると考えられる。

【文献】 1)E.Fukuhara,T.Goto,T.Matayoshi,S.Kobayashi,T.Takahashi: Optimal low-energy laser irradiation causes temporal G2/M arrest on rat calvarial osteoblasts, Calcif Tissue Int,79:443-50,2006.

難治性根尖性歯周炎から分離した *Rothia mucilaginosa*
のバイオフィーム形成欠損株の樹立

大阪歯科大学・口腔治療学講座 大阪歯科大学・細菌学講座*

○藤平 智広、吉田 匡宏、山根 一芳*、福島 久典*、林 宏行

Establishment of biofilm-deficient mutant from a biofilm-forming *Rothia mucilaginosa*
isolated from an intractable periapical periodontitis case

Department of Endodontics, Osaka Dental University

Department of Bacteriology, Osaka Dental University*

○FUJIHIRA Tomohiro, YOSHIDA Masahiro, YAMANE Kazuyoshi*,
FUKUSHIMA Hisanori*, HAYASHI Hiroyuki

<研究目的>

感染した根管において細菌が残存することは、症状を長引かせ治療を困難にする要因の1つになる。我々は難治性根尖性歯周炎症例において、*Enterococcus faecalis*、*Pseudomonas aeruginosa* や *Candida albicans* 等の治療抵抗性を有する細菌や真菌が頻繁に残留することを明らかにしてきた。最近これらの細菌の他にも、バイオフィームを形成して周囲の環境から自身を保護し、病巣に残存する細菌が多く存在することが分かってきた。これらのバイオフィーム形成菌は根尖性歯周炎の難治化に深く関与しており、的確な治療のためには細菌のバイオフィーム形成機構を解明することが急務になっている。

第128回の本学会で難治性根尖性歯周炎からバイオフィームを形成する *Rothia mucilaginosa* が分離されたことを報告した。その後、難治性根尖性歯周炎2症例からもバイオフィームを形成する *Rothia mucilaginosa* が優勢に分離されたので、本研究では、病巣におけるバイオフィーム形成の遺伝的背景を明らかにするために、バイオフィームを形成する *Rothia mucilaginosa* にトランスポゾンミュータジェネシスを用いて、バイオフィーム形性能が欠損した変異株を作成することを試みた。

<方法>

難治性根尖性歯周炎から分離したバイオフィーム形成性の *Rothia mucilaginosa* strain DJ を通法に従いコンピテント化した。作成したコンピテント細胞に ECM 360™ (BTX) を用いて、Transposome EZ-Tn5™<KAN-2>Tnp (EPICENTRE) を、1000V、50Ω、50μF の条件下で、electroporation し、形質転換した。カナマイシン添加スクリーニング培地で 37℃、24 時間、好気条件下で培養し、スクリーニングした。発育したコロニーを採取し、得られた菌体をガラスろ紙表面に固定した後、グルタルアルデヒド・オスミウムにて固定し、上昇エタノール系と t-ブチルアルコールにて乾燥、金属コーティングした後、走査型電子顕微鏡を用いて観察し、スクリーニングした。

<結果>

カナマイシン添加スクリーニング培地でスクリーニングされた菌株は 78 菌株であった。78 株の形質転換した菌株を走査型電子顕微鏡観察した結果、親株に見られるバイオフィーム菌体周囲の網目状構造を欠失した 3 菌株が得られた。

<考察>

本研究でバイオフィームを形成する *Rothia mucilaginosa* から菌体周囲の網目状構造物を欠損した変異株を得ることができた。菌体周囲の網目状構造物はバイオフィーム形成菌に特徴的な構造であることから、この変化はバイオフィーム形成性の欠失を意味していると考えられる。今後、変異した遺伝子や発現タンパクを解析し、さらに詳しい遺伝的背景を明らかにしたいと考えている。

バイオフィルムを形成する *Rothia mucilaginosa* のゲノム解析

大阪歯科大学 細菌学講座¹
大阪歯科大学 口腔治療学講座²
○山根一芳¹, 藤平智広², 吉田匡宏², 林 宏行², 福島久典¹

Genomic analysis of biofilm-forming *Rothia mucilaginosa* isolated from periapical periodontitis lesion

Department of Bacteriology¹ and Department of Endodontics², Osaka Dental University
YAMANE Kazuyoshi¹, FUJIHIRA Tomohiro², YOSHIDA Masahiro², HAYASHI Hiroyuki², FUKUSHIMA Hisanori¹

【研究目的】

細菌はバイオフィルムを形成することで周囲の環境から自身を保護し、長期に生き残ることができる。バイオフィルムを形成する細菌による感染症はバイオフィルム感染症と呼ばれ、ヒト難治性細菌感染症の80%以上にバイオフィルム形成細菌が関与しているといわれている。歯科領域においても細菌感染症の慢性化、難治化がしばしば問題となっており、原因の1つとしてバイオフィルムの関与が示唆されている。我々はこれまでに、難治性の根尖性歯周炎病巣より分離した保存菌株の中に、著明なバイオフィルム構造を持つ菌株が存在し、これらの菌株のバイオフィルム形成性が病巣での細菌残存因子になっていることを報告してきた。本研究では口腔バイオフィルム形成細菌の形成機構を明らかにすることを目的に、難治性根尖性歯周炎から分離したバイオフィルム形成細菌を同定し、ゲノムシーケンシングしたので報告する。

【材料および方法】

1. 供試菌

腫脹を繰り返す上顎右側中切歯から「チェアーサイド嫌気培養システム」を用いて分離した菌株を供試した。

2. バイオフィルム形成性の観察

血液寒天培地上で37°C、24時間好気培養した供試菌をグルタルアルデヒドにて前固定後、通法に従って走査型電子顕微鏡 (SEM) 試料を作製し、SEM (S-4000型, 日立製作所) を用いて加速電圧3.0 kVで観察した。

3. 同定

MagExtractor (TOYOBO, 大阪) で供試菌のゲノムDNAを抽出、精製した。ユニバーサルプライマー (27f : 5' -AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3', 1525r : 5' -AAA GGA GGT GAT CCA GCC-3') を用いて、ゲノムDNAからpolymerase chain reaction法により16S ribosomal RNA 遺伝子を増幅した。増幅産物を精製し、Applied Biosystems 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems) でダイレクトシーケンシングした。得られた塩基配列はDNA Data Bank of Japan (静岡) のdatabase上でDDBJ, EMBL GenBankに登録されている遺伝子と相同性検索した。

4. ゲノム遺伝子解析

MagExtractor で精製した供試菌のゲノムDNAをGS FLX (Roche Diagnostics) を用いたパイロシーケンシング法で解析した。

【結果と考察】

供試菌をSEM観察すると、菌体周囲に、バイオフィルム形成細菌に特徴的な網目状構造物が観察できた。この菌株を16S rRNA 遺伝子のシーケンシングにより同定した結果、*Rothia mucilaginosa*であった。ゲノム遺伝子をパイロシーケンシング法で解析した結果、全コンティグの総塩基数は2,272,201ベースで、遺伝子予測の結果2,596のORFが確認できた。そこには49箇所のtRNA領域が含まれ、現在バイオフィルム形成に関与していると考えられている糖新生経路、分泌輸送経路の遺伝子、バイオフィルム形成調節に関与していると考えられているストレス応答系の遺伝子と相同性の高い領域が観察された。今後これらの遺伝子の機能をさらに詳しく解析していく予定である。

会員外共同研究者：山中武志、真下千穂、南部隆之、杉森千恵子 (大阪歯科大学細菌学講座)

Kai-Poon Leung (Microbiology Branch, U.S. Army Dental and Trauma Research Detachment,
Walter Reed Army Institute of Research)

バイオフィーム形成における
Porphyromonas gingivalis と *Fusobacterium nucleatum* の相互作用

東京歯科大学歯科保存学講座¹ 東京歯科大学微生物学講座²
山口透子¹ ○浅井知宏¹ 藤井理絵¹ 石原和幸² 中川寛一¹

Interaction between *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* in biofilm formation
Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College¹
Department of microbiology, Tokyo Dental College²

YAMAGUCHI Yukiko¹ ○ASAI Tomohiro¹ FUJI Rie¹ ISHIHARA Kazuyuki² NAKAGAWA Kan-Ichi¹

目的：細菌感染は根尖性歯周組織炎の主な原因である。根尖病巣からは *Peptostreptococcus Streptococcus* 等のグラム陽性菌群と共に *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium* 等の細菌の検出が報告されている。これら複数の細菌による polymicrobial infection は根尖性歯周組織炎の発症と進行に重要な役割を果たしている。*Fusobacterium nucleatum* はデンタルプラークバイオフィーム形成過程において *P. gingivalis* をはじめとする種々の細菌に付着し、バイオフィーム形成の中心的役割を果たすことが知られている。今回、われわれは、複数菌種による根尖部でのバイオフィーム形成のメカニズムを明らかにする目的で *F. nucleatum* と *P. gingivalis* によるバイオフィーム形成時の相互作用について解析を行った。

方法：*P. gingivalis* と *F. nucleatum* のバイオフィーム形成過程における相互作用は two-compartment system を用いて調べた。*P. gingivalis* ATCC33277 および *F. nucleatum* TDC100 および TDC845 を 5 μg/ml hemin、0.5 μg/ml menadione を含む TSB 培地に接種し 48 時間予備培養を起こした。500 μl の TSB 液体培地を Type I-coated flat-bottom microplates の well (outer well)に加え、これに予備培養した *F. nucleatum* TDC100 250 μl を接種した。Outer well に底部が 0.4 μm filter の well (inner well)を挿入した。Inner well に TSB 液体培地 500 μl を加え、さらに予備培養した 250 μl の *P. gingivalis* ATCC33277 を接種し、48 時間嫌気培養を行った。また、TSB 液体培地 750 μl を inner well に播種したものを control とした。48 時間後 outer well 底部に形成されたバイオフィームをクリスタルバイオレッドにて染色し、microplate reader (BIO-RAD, Hercules, CA)にて 595 nm の急高度によりバイオフィーム形成量を測定した。さらに、*F. nucleatum* のタンパクのプロファイルを 10-20%SDS-PAGE および Immunoblot によって解析した。*P. gingivalis* と *F. nucleatum* の共培養によって変化が認められたバンドに対しては、目的のバンドを PVDF 膜に転写しエドマン法により N 末端アミノ酸配列分析を行った。

結果：Two-compartment system により、*P. gingivalis* ATCC33277 と *F. nucleatum* を共培養した場合のバイオフィーム形成量は、*F. nucleatum* 単独の場合にくらべて有意に上昇していた(p<0.05)。この促進効果は、*F. nucleatum* TDC845 では 2.5 倍、*F. nucleatum* TDC100 では 4.5 倍になっていた。この相乗効果は inner well を *F. nucleatum*、outer well を *P. gingivalis* にしても認められた。*F. nucleatum* TDC 100 により形成されたバイオフィームのタンパクプロファイルを SDS-PAGE により解析すると、共培養のものでは、およそ 35kDa のタンパクバンドの発現が優位に上昇していた。エドマン法による N 末端アミノ酸配列分析の結果、変動のあった 35 kDa のタンパク質は *F. nucleatum* の outer membrane protein であることが明らかになった。

考察：*P. gingivalis* ATCC3277 との共培養により *F. nucleatum* TDC100 および TDC845 のバイオフィーム形成が促進されたことから、*P. gingivalis* ATCC3277 由来の成分が *F. nucleatum* のバイオフィーム形成促進を起こしていると考えられる。さらに、*P. gingivalis* ATCC3277 との共培養による *F.nucleatum* TDC100 の 35kDa outer membrane protein の発現の上昇は、*F.nucleatum* TDC100 と *P. gingivalis* ATCC3277 との間での、可溶性物質によるコミュニケーションによる遺伝子発現の変化を示唆している。

Porphyromonas gingivalis のグリコシルトランスフェラーゼのモチーフをもつ遺伝子、
PGN1251 はバイオフィーム形成に関与する

大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座

○山口幹代, 野村由一郎, 山本れいこ, 恵比須繁之

Porphyromonas gingivalis PGN1251, a gene with motif of glycosyltransferase is involved in biofilm formation

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○Mikiyo Yamaguchi, Yuichiro Noiri, Reiko Yamamoto, Shigeyuki Ebisu

[研究目的]

Porphyromonas gingivalis は、主要な歯周病関連細菌であり、根尖性歯周炎が難治化する原因の一つである根尖孔外バイオフィームからも高頻度に検出される。*P. gingivalis* のある種のグリコシルトランスフェラーゼは、本菌の主要な病原因子である莢膜の産生やジンジパインの活性化およびバイオフィーム形成等に関わっていることが報告されている。我々は、*P. gingivalis* ATCC 33277 株を用いて、グリコシルトランスフェラーゼのモチーフを持つ遺伝子である PGN1251 の変異株を作製し、PGN1251 が、Gingipain の活性化やリポ多糖(LPS)の O 抗原の産生ならびに菌体外膜タンパクの産生に関与していることを明らかにした。本研究では、PGN1251 のバイオフィーム形成における役割について検討した。

[材料および方法]

1.PGN1251 の変異が自己凝集能に及ぼす影響の検索

野生株、変異株および相補株を、液体培地を用いて、嫌気的条件下にて、37°Cで 24 時間培養後、目視下にて凝集の程度を観察した。さらに、野生株および変異株を固定後、水溶性メタクリレート樹脂にて包埋後、超薄切片を作製し、得られた切片を電子染色した後、透過型電子顕微鏡(TEM)下の観察に供した。

2.PGN1251 の変異がバイオフィーム形成能に及ぼす影響の検索

野生株、変異株および相補株を嫌気的条件下にて 14 日間灌流し、Modified Robbins device を用いてバイオフィームを形成した。バイオフィーム形成細菌の定量は、吸光度(OD₅₅₀)を測定することにより評価し、統計学的有意差の検討には Student *t*-test を用いた($p < 0.001$)。試料の一部は、共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)による 3 次元のおよび走査型電子顕微鏡(SEM)による微細形態学的検索に供した。

[成績]

1.PGN1251 変異株は自己凝集能が亢進していた。また、TEM 観察により、PGN1251 変異株では、野生株と比較し菌体細胞同士が密着しているのが観察された。

2.バイオフィームの定量的解析より、PGN1251 変異株の OD 値は、野生株と比較して有意に高かった。CLSM 観察において、PGN1251 変異株のバイオフィームの厚みは、野生株と比較すると約 2 倍であった。また、SEM 観察より、PGN1251 変異株のバイオフィームでは、野生株でみられない網目状の菌体外マトリックス様構造物が観察された。

[考察]

PGN1251 は、自己凝集能およびバイオフィームにおける菌体外マトリックスの産生に関与する遺伝子であり、PGN1251 変異株のバイオフィーム形成の亢進は、自己凝集能の亢進およびバイオフィームにおける菌体外マトリックスの構造の変化に起因する可能性が推察された。

[結論]

P. gingivalis のグリコシルトランスフェラーゼのモチーフを持つ遺伝子、PGN1251 は、バイオフィーム形成に抑制的に機能することが示唆された。

試作非接触型電磁式加振装置に関する基礎的研究 — 繊維添加模擬歯根膜が測定値に及ぼす影響 —

日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座¹, 日本大学歯学部物理学教室²,
日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門³, 日本大学歯学部総合歯学研究所歯学教育研究部門⁴
○小林千明¹, 柴崎郁恵¹, 清水康平¹, 山岡 大^{2,4}, 林 誠^{1,3}, 尾形英大¹, 小木曾文内^{1,3}

Fundamental study of measurement of electromagnetic vibration device — Effect of simulated periodontal ligament with fiber on measurement —

Departments of Endodontics¹ and Physics², Division of Advanced Dental Treatment³, Division of Dental Education⁴, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry
○Chiaki Kobayashi¹, Ikue Shibasaki, Kohei Shimizu, Masaru Yamaoka^{2,4}, Makoto Hayashi^{1,3}, Hidehiro Ogata¹, Bunnai Ogiso^{1,3}

【研究目的】

歯周組織の性状を客観的に知ることは、疾病の診断、治療および予後管理を進める上で重要である。歯の動揺を客観的に診査する方法としては、従来より槌打式加振装置である Periotest® (GULDEN) が広く知られているが、歯周組織の性状を詳細に分析することは困難である。そこで演者らの教室では歯の動揺を含めた歯周組織の客観的評価法を確立するため、試作非接触型電磁式加振装置を開発し、植立模型を利用して得られた周波数応答特性から力学的パラメーターについて解析し、その有効性について本学会で報告してきた。

今回演者らは、植立模型の模擬歯根膜の性状変化が力学的パラメーターに与える影響を調べるため、繊維（レーヨン）を粘膜調整材（ティッシュコンディショナーⅡ®；松風）に添加して共振周波数、弾性係数ならびに粘性係数を検討した。

【材料および方法】

実験に供した植立模型は模擬歯槽骨、模擬歯根膜および模擬歯により構成した。模擬歯槽骨としてウレタン（ニッシン）、模擬歯としてポリアセタール棒（直径 6.0mm、長さ 25.0mm）および模擬歯根膜として粘膜調整材であるティッシュコンディショナーⅡ®を使用した。

実験条件としては、粘膜調整材の粉末に対して繊維（レーヨン）を 0%、2.5%、5.0%および 10.0%（重量%）の割合で添加して行った。なお模擬歯根膜の底面および側面の厚さは 0.5mm、模擬歯の歯槽窩内への埋入長さは 10.0mm に統一した。植立模型は室温 23±1℃、湿度 55±5%に設定した恒温恒湿室内で作製し、模型作製 1 時間後に周波数応答特性を測定し、力学的パラメーター（共振周波数、弾性係数および粘性係数）を算出した。実験に供した植立模型数は各条件で 5 個とし、その平均値を測定値とした。

【成績および考察】

共振周波数ならびに弾性係数では、繊維添加による大きな変化は認められなかった。一方、粘性係数では、繊維の添加量が増加するに従って減少する傾向が認められた。これは繊維量が増加するにつれて模擬歯根膜材の性状が変化したためと推察されたが、この変化は粘性係数の変化として捉えられるものと考えられた。

【結論】

以上のことから、非接触型電磁式加振装置は模擬歯根膜の繊維添加量の変化を力学的パラメーター特に粘性係数の変化として捉えることが可能であると示唆された。

ユージノール濃度を低減させた酸化亜鉛ユージノールセメント
からのユージノール遊離動態

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座¹, 日本歯科大学生命歯学部共同利用研究センターRI 研究室²
○前田宗宏¹, 橋本修一², 石塚克巳¹, 勝海一郎¹

Release of eugenol from zinc oxide-eugenol cement containing low concentration eugenol
Department of Endodontics & Operative Dentistry¹
Section of Radioisotope Reserch, Reserch center for Odontology²
The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○Maeda M¹, Hashimoto S², Ishitsuka K¹, Katsuumi I¹

【はじめに】

第 129 回の本学会において、液剤中にオレイン酸、イソステアリン酸およびプロピレングリコールを加えることでユージノール濃度を低減させた試作酸化亜鉛ユージノールセメントは、ユージノール量を増減させることにより硬化時間および硬化度に差異が生じることを報告した。今回は、試作酸化亜鉛ユージノールセメントから遊離するユージノールの動態について検討を行った。

【材料および方法】

1. ユージノールの放射性標識化合物の調製

ユージノールの放射性標識化合物は、New England Nuclear 社においてユージノール (Aldrich, USA) を触媒交換法により³Hで標識し、精製したものを使用した。³H - ユージノールを 1.0mCi/ml で実験に使用した。

2. 試作酸化亜鉛ユージノールセメントの組成

粉 剤：酸化亜鉛 (和光純薬) 800mg、ロジン (和光純薬) 200mg、酢酸亜鉛 (和光純薬) 4mg

液 剤：オレイン酸 (和光純薬) 1 容、イソステアリン酸 (和光純薬) 1 容、プロピレングリコール (和光純薬) 2 容の比率で混和した溶液 (OSP) に対し、³H-ユージノール (1.0mCi/ml) を 5/15、3/17、1/19 の割合で加え液剤を調製した (OSP-ユージノール)。粉剤 1g に対して液剤 (OSP+³H -ユージノール) 150 μ l の割合で、金属スパチュラを用いてガラス練板上で 30 秒間練和した。

対照セメントには、キャナルス (昭和薬品化工) を使用し、粉剤 1g と³H - ユージノール (0.15mCi/ml) 300 μ l とを練和し、比較した。

3. セメントからのユージノール遊離実験

内径 8mm、深さ 4mm の円筒形プラスチック製容器に練和直後の各セメントを填塞し、50 ml の生理食塩液に浸漬した。室温下で外液を 90 rpm で攪拌し、外液を経時的に 0.1 ml ずつ採取した。採取した試料に 10ml の Aquasol-2 (Perkin-Elmer) を加え、液体シンチレーションカウンタ (LSC-6100, ALOKA) で放射能を測定した。

【結果とまとめ】

1. 各セメントからのユージノールの遊離は、浸漬直後から認められた。
2. 試作セメントからのユージノールの遊離量は、セメント中に含有するユージノール量により変化した。
3. 試作セメントからのユージノールの遊離量は、対照セメントと異なっていた。

今回の実験結果から、試作セメント中のユージノール量の多寡がセメントからのユージノールの遊離動態に影響を及ぼすことが明らかとなった。今後は試作セメントの歯髄刺激性などについて、さらに詳細な検討を進めていく予定である。

H₂O₂がMTAに作用した場合の化学反応とMTAの形態変化

日本大学松戸歯学部¹⁾歯内療法学講座,²⁾口腔科学研究所
○小塚昌宏^{1, 2)}, 一ツ子延大¹⁾, 三浦 浩^{1, 2)}, 川島 正^{1, 2)},
上田幾大¹⁾, 喜多詰規雄¹⁾, 辻本恭久^{1, 2)}, 松島 潔^{1, 2)}

Interaction between H₂O₂ and MTA, and from change of MTA

Department of ¹⁾Endodontics, ²⁾Research Institute of Oral Science
Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○ KOZUKA Masahiro^{1, 2)}, HITOTSUNE Nobuo¹⁾, MIURA Hiroshi^{1, 2)}, KAWASHIMA Tadashi^{1, 2)},
UEDA Ikuo¹⁾, KITAZUME Norio¹⁾, TSUJIMOTO Yasuhisa^{1, 2)}, MATSUSHIMA Kiyoshi^{1, 2)}

【目的】

Mineral Trioxide Aggregate (MTA)の閉鎖性は漂白における根管のバリアーに有効であると注目されている。しかし、演者らはこれまでに、MTAとH₂O₂を反応させると気体が発生し、その気体は線香を激しく燃焼させることから、酸素である可能性を示唆した。また、このことからwalking bleach法を行う際の根管のバリアーとして有効でないことを発表した。今回は、このとき発生する気体の同定を行うために溶存酸素計を用い検討を行った。また、この時のMTAの形態変化について走査型電子顕微鏡(SEM)を用い検討を行った。

【材料および方法】

MTAは、メーカーの指示通りに練和し、内径5mm、高さ5mmのビニル管に充填し、湿度100%の容器中に保管した。試料は、練和後4時間(初期硬化時間)または24時間経過したものを使用した。

MTAを浸漬する溶液は、超純水(PW)、3% H₂O₂、30% H₂O₂を使用した。各溶液3mlは、MTA浸漬前に溶存酸素計を用いて溶存酸素濃度を測定した。次に、各溶液3ml中にMTA試料を浸漬し、浸漬直後から90分間測定を行った。測定は、5分間隔で行った。また、この時の溶液中の変化を映像として保存した。

各溶液中に1週間浸漬したMTAは、溶液中から取り出し、PWで洗浄後、キムワイブで水分を除去し1週間室温乾燥した。その後、通法に従って試料を処理しSEMにて観察した。

【結果】

溶存酸素濃度

(練和後4時間)PW中にMTAを浸漬したものは、溶存酸素濃度に変化はなかった。また、肉眼的な観察でも、変化は認められなかった。3% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、投入直後から溶存酸素濃度が上がり始め5分後から90分後まで30ppm以上の数値を持続した。また、肉眼的な観察では、浸漬直後よりMTAから気泡が発生し能動的な発泡が持続された。MTAは5分後には、破壊されてしまった。30% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、投入直後から溶存酸素濃度が上がり90分後まで35ppmの数値を持続した。また、肉眼的な観察では、浸漬直後よりMTAから発泡がおこり50分前後をピークには激しく発泡した。MTAは、浸漬直後にほぼ粉砕状態となった。

(練和後24時間)PW中にMTAを浸漬したものは、溶存酸素濃度に変化はなかった。また、肉眼的な観察でも、変化は認められなかった。3% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、投入直後から溶存酸素濃度が上がり始め25分後から90分後まで30ppm以上の数値を持続した。また、肉眼的な観察では、浸漬直後よりMTAより気泡が発生し能動的な発泡が持続された。MTAの形態的变化は認められなかった。30% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、投入直後に溶存酸素濃度が使用前の溶液中の溶存酸素濃度より下がったが、5分後から溶存酸素濃度が上がり90分後まで30ppm以上の数値を持続した。また、肉眼的な観察では、浸漬直後よりMTAより発泡が起こり50分前後をピークには激しく発泡した。MTAの形態的变化は認められなかった。

SEM的観察

(練和後4時間)練和後4時間で乾燥したものは、多角形の結晶が密集しているのが観察された。PW中にMTAを浸漬したものは、多角形の結晶を中心に網状に枝が伸びているのが観察された。3% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、表面に針状結晶が無数に観察された。30% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、3% H₂O₂中にMTAを浸漬したものより細い針状結晶が無数に表面に観察された。

(練和後24時間)練和後24時間で乾燥したものは、練和後4時間で乾燥したものと同様に多角形の結晶が密集しているのが観察された。PW中にMTAを浸漬したものは、多角形の結晶をから網状に枝が伸びているのが観察された。3% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、立方体の結晶と矢じり状の形態をしたものが多数認められた。30% H₂O₂中にMTAを浸漬したものは、立方体の結晶と表面全体が網目状のもので覆われているのが観察された。

【考察】

溶存酸素濃度は、MTAをPW中に浸漬した時に溶存酸素濃度に変化はなかったが、MTAを3% H₂O₂、30% H₂O₂中に浸漬した時は溶存酸素濃度が上昇した。これは、MTAとH₂O₂の反応により酸素が発生しているためである。また、一定の酸素濃度以上にならないのは、溶液中の酸素が飽和状態になっているためだと推測される。また、飽和状態後、酸素は気体として空气中に放出されるためとも推測される。

MTAのSEM的観察では、MTA練和後経過時間およびH₂O₂の濃度の違いにより、表面の形態にも違いが観察された。これについては、今後、表面の分析を行い詳細について検討する予定である。

微粒子アパタイト-コラーゲン複合体の基礎的物性

朝日大学口腔機能修復学講座歯科保存学分野、歯科理工学分野*

○ 河野 哲、伊藤彰宏、竹中祥紘、服部真丈、土井 豊*、吉田隆一

Fundamental Properties of Fine Apatite-Collagen Composite

Department of Endodontics, Dental Materials Science,*

Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

○ *KAWANO Satoshi, ITO Akihiro, TAKENAKA Yoshihiro, HATTORI Masahiro,*

DOI Yutaka, YOSHIDA Takakazu*

【研究目的】

アパタイトは生体親和性が良く、優れた骨伝導能を有するため失われた骨組織の修復に有用であることが知られている。一方、アテロコラーゲンは抗原性が少なく生体内で徐々に吸収されるため、バイオマテリアルとして臨床の場で広く用いられている。37°Cにおいてアテロコラーゲンを再線維化し、アルカリフォスファターゼとフォスビチン溶液中で架橋後、6mM β -グリセロリン酸カルシウム(β -GP)溶液に浸漬すると、アパタイト-コラーゲン複合体(AP複合体)が作製できる。この複合体は、生体親和性が良く、適度な弾力性を持ち、骨伝導に優れている。以前我々は振盪条件下で、AP複合体を外科的歯内療法後の骨欠損部に応用し良好な結果を得た。またAP複合体の作製を攪拌下で行うことにより、細部に応用可能な性状を持つ複合体を作製した。今回我々は攪拌下で作製し凍結乾燥したAP複合体を骨欠損部に応用するために、加圧成形体を作製し、その組成、構造と機械的強さを評価した。

【実験方法】

複合体の作製:ブタ腱由来可溶性アテロコラーゲングル(Type I)5mlに200mMトリス緩衝溶液(PH 8)5mlを加え、コラーゲンを再線維化した(37°C, 24h)。その後、0.04%アルカリフォスファターゼ溶液 2.5ml、0.04%フォスビチン溶液 2.5ml、0.3%ジメチルスベロイミデート溶液を加え、架橋反応を行った(37°C, 6days)。架橋後のコラーゲンを0.04%アルカリフォスファターゼ溶液 2.5ml、0.04%フォスビチン溶液 2.5mlに3時間浸漬、その後6mM β -グリセロリン酸カルシウム(β -GP)溶液 10mlに20時間浸漬してコラーゲンの石灰化を行った。再線維化、架橋、石灰化の各反応は、攪拌下(700rpm、5秒毎反転)で行った。石灰化反応は1~10日間行い、反応後の複合体を蒸留水で攪拌洗浄後遠心分離の洗浄を2回行った後、沈渣として得られた複合体を凍結乾燥した。複合体の石灰化度(AP含有量)は、熱重量分析装置(TG)により複合体を1000°Cまで加熱して求めた。また、X線回折(XRD)、赤外線分光分析(FT-IR)を行い、析出物の結晶相を経時的に調べた。

成形体の作製と曲げ試験:凍結乾燥した石灰化度の異なるAP複合体(AP含有率45%、50%、60%、80%)を用いた。45%、50%、60%は10mg、80%は20mgを計量し、2×10mmの金型に充填し、予備成形として100MPaで2分間一軸加圧した。その後180MPaで20分間CIPすることにより、厚さ約0.5mmの加圧成形体を作製し3点曲げ試験用試料とした。3点曲げ試験(EZ graph)はクロスヘッドスピード0.5mm/min、スパン5mm、大気中で行った。複合体の曲げ挙動を荷重より算出した引張応力と変位で表し、3点曲げ強さを最大荷重から求めた。曲げ試験後の破折形状を光学顕微鏡およびSEMにより観察した。

【結果および考察】

作製したAP複合体のXRDとFT-IRから析出相はアパタイトであると確認できた。TGから析出するAPの量は経時的に増加し、10日例で約80%となることがわかった。3点曲げ試験において、45%、50%、60%のAP複合体は曲げ強さは小さいが最初の破壊が起こった後も成形体は応力に抵抗する力を保持しており、その靱性が大きいことを示していた。一方80%のAP複合体は曲げ強さは大きい脆性破壊に近く、その靱性は小さかった。また、破壊後の光学顕微鏡像では石灰化度の低いものほど成形体内に空隙が多く線維性に富んでいたが、石灰化度の高いものは密で線維性はほとんどなかった。SEMにおいてコラーゲン線維上にナノメーターサイズのアパタイトの析出が確認できた。石灰化度の低いものではコラーゲン線維上のアパタイトの析出はまばらであった。一方、石灰化度の高いものでは岩石状のアパタイトの析出もみられコラーゲン線維はAPで覆われていた。このように、石灰化度の低い成形体は適度な空隙を有し、かつ、ピンセット等で把持できる強さを有することがわかった。また靱性にも富むため骨内に埋入してもかかった応力に対して抵抗できる可能性が示唆された。今後は石灰化度の異なる複合体を成犬の下顎骨内に埋入し、骨欠損部に対する反応を観察する予定である。

急性歯髄炎患者における歯痛の日内変動 —歯痛発症時間と生活習慣との関係—

東北大学病院附属歯科医療センター 総合歯科診療部¹⁾

東北大学大学院歯学研究科 歯科薬品創生学²⁾

○遠藤 直樹¹⁾, 下西 充¹⁾, 斎藤 修¹⁾, 篠田 壽²⁾, 菊池 雅彦¹⁾

Circadian Rhythm of Toothache in Patients with Acute Pulpitis

—Association between Onset of Toothache and Lifestyle Factors—

¹⁾ Division of Comprehensive Dentistry, Tohoku University Dental Hospital

²⁾ Applied Pharmacology, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○Naoki ENDO, Mitsuru SHIMONISHI, Shu SAITOH, Hisashi SHINODA, Masahiko KIKUCHI

目的

医学領域の様々な疾患において、その症状（発熱、喘息発作、血圧の上昇など）の発現に日内変動が存在し、臨床検査値や薬物の効果に大きな影響を及ぼすことが知られるようになっている。歯科領域においても、唾液の分泌、骨形成や骨吸収、麻酔薬の効果等、日内変動を示すいくつかの生理現象や病的現象が知られている。

歯痛発症時間の日内変動については、第 128 回日本歯科保存学会において、急性歯髄炎における歯痛発症時間の日内変動の存在を報告した。本研究では、歯痛の発症時間と生活習慣との関係について明らかにすることを目的とし分析を行った。

方法

歯痛を主訴に来院した患者 120 名（13 歳から 72 歳、男性 65 人、女性 55 人）に対し、インフォームドコンセントを得た上で、痛みの症状、痛みの発症時刻、1 日の生活習慣（起床時間、食事時間、入浴時間、就寝時間）に関するアンケート調査を行った。原因歯および疾患名の確定は、問診、口腔内診査と X 線診査の結果を参考に行った。

統計分析には、カイ 2 乗検定と回帰分析を用いた。

結果および考察

疾患名は急性歯髄炎が 95 例、急性根尖性歯周炎が 25 例であった。急性歯髄炎における歯痛は、夕方から深夜の時間帯と朝の 7 時台に集中的に発症していた。急性根尖性歯周炎については、急性歯髄炎で見られるような特定の歯痛発症時間は見られなかった。

1 日を深夜から早朝、早朝から昼、昼から夕方、夕方から深夜の 6 時間ごとの時間帯に分割した場合、それぞれの時間帯に歯痛を発症する患者数は有意に異なっていた。一方、男女別、年代別、上下顎歯別によって歯痛の発症時間に相違は見られなかった。1 日の生活習慣である起床、食事、入浴、就寝について歯痛発症時間との相関関係を調べたところ、早朝から昼の時間帯に歯痛を訴えた患者において、起床時間と歯痛発症時間の間に相関関係が見られたが、それ以外の時間帯で歯痛を訴えた患者においては、1 日の生活習慣と歯痛発症時間の相関関係は見られなかった。

これらのことより、歯髄炎による歯痛発症時間には日内変動が存在すると考えられた。朝の 7 時台に歯痛を訴えた患者に関しては、睡眠状態から覚醒した時の急速な歯髄血流の増加により、歯痛発症が引き起こされたものと推察された。一方、夕方から深夜の時間帯に歯痛を訴えた患者に関しては、食事、入浴、就寝などの生活習慣によって歯痛が惹起されたのではなく、血圧や交感神経、または内因性オピオイドなどの日内変動が関連している可能性が考えられた。

弱酸性次亜塩素酸水溶液（カンファスイ）のバイタルブリーチングへの応用

神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野，保存修復学分野¹⁾
○西村 知子，青柳 佳伸，岡田 周策¹⁾，寺中 敏夫¹⁾，石井 信之

Application to the vital bleaching of HClO solution (Composy)

Division of Endodontics, Division of Restorative Dentistry¹⁾

Department of Oral Medicine, Kanagawa Dental College

○Nishimura Tomoko, Aoyagi Kashin, Okada Shusaku¹⁾, Teranaka Toshio¹⁾, Tani-Ishii Nobuyuki

【研究目的】

歯牙漂白治療の需要が増加するに従い高濃度の過酸化水素を用いるウォーキングブリーチや生活歯の Office Bleaching はエナメル質脱灰や歯周組織傷害性が問題視され，より安全性の高い漂白材が望まれている．演者らは日本歯科保存学会第 127 回学術大会において，中性で安定性が得られる弱酸性次亜塩素酸水溶液を歯牙漂白への応用を試み，カンファスイ（Campher；ハセツパー技研）を使用してエナメル質および象牙質に対して顕著な漂白効果が得られると共に，エナメル質の表面硬さに影響を与えないことを報告した．本研究は，カンファスイのバイタルブリーチングへの臨床応用を検討するためカンファスイに増粘材を加え，ヒト抜去切歯を用いて漂白を行い評価した．

【材料および方法】

<増粘化による残留塩素濃度の解析>

カンファスイ 100ml に対し増粘材であるトロミスマイル（ヘルシーフード株式会社）を 1.5, 2, 3, 4, 6 g 添加して粘性を持たせ，各実験群の 1 時間後および 1 日，2 日，3 日後の残留塩素濃度をパックテスト残留塩素（遊離）型式 WAK-CIO・DP（共立理化学研究所）を用いて DPD 比色法により測定し，十分な粘性を保ちつつ残留塩素濃度を維持可能な増粘材添加量の決定を行い，本実験の漂白材とした．

<漂白効果の測定>

紅茶（BROOKE BOND HOUSE, BROOKE BOND）10g を 1 時間煮出して抽出した紅茶液に 48 時間ヒト抜去上顎中切歯を浸漬させて着色歯を作製し，歯冠部切縁側 2/3 を 37℃の湿潤環境で 12 時間漂白処理を行った後，漂白効果を測定した．漂白効果の測定はシェードテイキング用デジタル測定器（クリスタルアイ；ペントロンジャパン）を使用して各試料の処理前後の色差を計測した．

【成績】

増粘化による残留塩素濃度の解析した結果，100ml のカンファスイに 4g 以上の増粘材を加えると 24 時間以内に残留塩素濃度が急激に低下することが明らかにされた．増粘材 3g 添加においては，添加後 24 時間においても 200ppm の有効塩素濃度が維持されることが示された．増粘材 3g 添加のカンファスイを漂白材として漂白効果を測定した結果，抜去歯への漂白効果は全ての実験対象歯において L 値（明度）の上昇が認められた．

【考察】

臨床応用に適した漂白材の粘性と，残留塩素濃度より 100ml のカンファスイに対して 3g の増粘材を添加するのが最も有効であり，明らかな漂白効果が認められた．増粘化カンファスイは経時的に残留塩素濃度が低下し，48 時間以上の有効塩素濃度は漂白効果が認められないことが示されたため，漂白施術直前にカンファスイに増粘材を添加する方法が有効と考えられた．残留塩素濃度低下はカンファスイと増粘材との化学反応によることが示唆されたため塩素と反応しない増粘材の応用によって簡便で長期保存可能な漂白材が使用可能になると考えられた．

DIAGNOdent による歯根破折の診断に関する基礎的研究 -界面活性剤が及ぼす影響-

奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野、*昭和大学歯科病院歯内治療科
○田辺理彦、木村裕一、梅里朋大、木下潤一朗*、天野義和

Basic study on diagnosis of root fracture by DIAGNOdent - Effects of detergents -

Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry,
*Department of Endodontics, Showa University Dental Hospital
○ TANABE Michihiko, KIMURA Yuichi, UMESATO Tomohiro, KINOSHITA Jun-Ichiro*, AMANO Yoshikazu

【研究目的】 DIAGNOdent は、齶蝕部を光学的に検知しようということから開発されたが、この装置の齶蝕診断以外についても、これまでに歯周病領域での歯肉縁下歯石の臨床的測定に応用した試みや、歯内療法領域での根管壁象牙質切削片を DIAGNOdent で測定した値（以下 D 値と略す）と簡易細菌培養試験との関連性についての報告や、根管貼薬に使用したペーパーポイントと D 値との関連性について報告がなされている。最近、我々は DIAGNOdent を歯根破折の診断に応用できるのではないかと考え、基礎的な研究報告を行った。DIAGNOdent で使用されているレーザーの波長(655 nm)を吸収するメチレンブルー（以下 MB と略す）溶液を使用することで、ある程度の感受性と特異性を高めることができた。しかし、分離幅が狭い亀裂のような場合では MB 溶液が浸透することは困難となるため、溶液にエタノールを含有させる工夫を行った。本研究では、DIAGNOdent による歯根破折の診断における MB 溶液の浸透性を高める目的で、各種の界面活性剤の D 値に及ぼす影響を調べた。

【材料と方法】 ヒト抜去歯を本研究の試料として使用した。選択の基準として、単根歯で歯根に齶蝕がなく、根管治療が行われてなくて歯根に湾曲と着色がほとんどない歯を用いた。歯冠部分はセメント-エナメル境においてアイソメットで切断し、歯根部分のみを以下の実験に使用した。歯根部分は超音波装置で清掃し、さらにハンドスケーラーを使用してルートプレーニングを行い、可及的に歯根膜とセメント質を除去した。実体顕微鏡（倍率 10 倍）で歯根部分に破折がないことを確認して D 値が 4 以下のものを試料として使用した。ハンドピースのチップを可能な限り照射面に対して垂直方向に約 0.5 mm まで接近させ瞬間的に右または左側に約 0.5 mm 動かして測定した。MB 溶液は 10⁻³% の濃度を作製し、1 分間浸漬した。染色後はスリーウェイシリンジで水とエアールを同じ圧で出して 20 秒間水洗し、次にエアールのみで乾燥してから D 値を測定した。垂直的に不完全破折を作製した後、破折線を実体顕微鏡で確認した。染色液に含まれる界面活性剤が及ぼす影響を調べるため、MB 濃度が 10⁻³% で界面活性剤の含有量が 0.1% と 1% の濃度を作製した。界面活性剤として、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレート（以下 Tween 20 と略す）、ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル（以下 Triton X-100 と略す）、そしてラウリル硫酸ナトリウム（以下 SDS と略す）の 3 種類を用いた。コントロールとして界面活性剤を含有していないものを使用した。さらに相乗効果に関して 20% エタノールとの併用も一部行った。2 群間の有意差については Mann-Whitney U による方法を用いて統計処理を行い、危険率 1% で判定した。

【結果】 今回、用いた 3 種類の界面活性剤はすべて、界面活性剤のみでは D 値に影響はなかった。Tween 20 では、濃度依存的に D 値が高くなる傾向であったが、0.1% と 1% の濃度では含有しない場合と比較して有意差は認められなかった。しかし、Triton X-100 では濃度が 0.1% と 1% の両方において含有しない場合と比較して有意に D 値が増加した。一方、SDS では、濃度依存的に D 値が低くなる傾向であったが、0.1% と 1% の濃度では含有しない場合と比較して有意差はなかった。Triton X-100 の濃度が 0.1% と 1% の両方に 20% エタノールを含有させると D 値は増加する傾向にあったが、有意差はなかった。

【結論】 10⁻³% MB 溶液に界面活性剤である Triton X-100 を 0.1% または 1% の濃度で含有させると D 値が有意に増加したことから DIAGNOdent による歯根破折の診断において特異性が高まることが示唆された。しかし、20% エタノールとの併用では相乗効果は認められなかった。

複根管を伴った下顎小白歯の根管治療

明海大学歯学部 機能保存回復学講座 歯内療法学分野

○久野木克典, 中村裕子, 杉山僚, 小此木雄, 林田千代美, 中村幸生

Root Canal Treatment of Multiple Root Canals in Mandibular Premolar

Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences,

Meikai University School of Dentistry

○KUNOKI Katsunori, NAKAMURA Yuko, SUGIYAMA Ryo, OKONOGI Yu, HAYASHIDA Chiyomi and
NAKAMURA Yukio

【緒言】下顎小白歯の多くは、単根管として根管治療が行われ、大きなトラブルもなく治癒にいたる。しかし、通常の根管治療を施しても疼痛などが残存し、治癒に移行せず難治性となる症例が存在する。このような症例では、下顎小白歯周囲骨におけるフェネストレーション等、解剖学的形態や複根管の存在が原因としてあげられている。特に、低位で分岐している複根管は、根管口の確認・根管形成・根管充填という一連の処置に際し、各根管へのアクセスの困難さが問題となってくる。今回、下顎小白歯の複根管に対し、感染根管治療を施すことにより良好な予後経過を示した3症例について報告する。

【症例1】

60歳男性が、下顎左側第二小白歯の根尖相当部歯肉における腫脹と疼痛を主訴に来院した。某歯科医院にて7年前に抜髄処置を施され、その後良好に経過していた。しかし、約3週間前に根尖相当部歯肉に腫脹が生じ、その後疼痛も認められるようになったため、本学を受診した。初診時、患歯の根尖部歯肉には瘻孔が認められ、X線写真検査では、歯頸部3mm付近からの破折を疑われる洋ナシ状の透過像を呈していた。しかし、明らかな破折線や深い歯周ポケットは認められなかった。手術用実体顕微鏡下でK-ファイルを用いて精査したところ、根管は根尖側1/3で頬舌側に分岐していることが疑われた。そのため、各根管にK-ファイルを挿入してX線写真撮影を行ったところ、2根管2根尖孔の形態が認められた。根管形成は、Yangの方法¹⁾にしたがって行われた。まず1根管をK-ファイルにより一時的に閉鎖した後、他方の根管形成を施した。さらに、1根管が形成終了後、今度は形成を終えた根管をK-ファイルにて閉鎖して、未形成の根管に対して根管形成を行った。根管形成終了後、術前に認められた疼痛・腫脹等の臨床症状および瘻孔は消失した。根管充填後に予後観察を行ったところ、根尖周囲の透過像が縮小され良好な経過を示していた。

【症例2】

67歳女性、下顎左側第二小白歯の疼痛を主訴に来院。約5年前に前装冠を装着され、その後無症状で経過していた。2週間程前より疼痛が出現し、近隣の歯科医院にて根管治療を行ったが、症状が改善されないため本学を受診した。初診時、下顎左側第二小白歯に著明な打診痛と根尖部の圧痛が認められた。また、根管口部には綿球のみが置かれた開放状態であった。X線写真検査では、患歯の根尖部に約4×3mmの透過像と根管内にファイル破折片が観察された。手術用実体顕微鏡下にて超音波振動装置を用いて破折ファイルを除去した。その後、十分に髄腔開拓を行い、探針とK-ファイルを用いて根管を探索したところ、舌側部に未処置の根管が認められた。すなわち、根管形態は2根管2根尖孔を呈していた。症例1と同様に感染根管治療を行ったところ、臨床症状は消失し、良好な治癒経過が得られた。

【症例3】

59歳女性、下顎右側第一小白歯の咬合痛を主訴に来院。10年前に抜髄処置を施され、その後良好に経過していた。しかし1週間程前に咬合痛を覚え、本学を受診した。初診時、著明な打診痛が認められ、X線写真検査では、患歯の根尖部に彌慢性透過像が観察された。精査したところ、頬側に未処置の根管が認められ、2根管2根尖孔の形態を呈していた。症例1と同様に感染根管処置を行い、臨床症状は消失した。その後根管充填を行い良好な結果が得られている。

【考察および結論】下顎小白歯は、X線撮影方向により根管が重なり、複根管を見落とされることがある。今回の症例において根管探索時に探針、K-ファイルを用いて根管壁に圧接しながら髄腔形態を探索することで複根管を明らかにすることができた。根管形成では、Yangの方法¹⁾を用いることで、根尖孔の破壊を防ぎ、感染物の根尖孔外への押し出しを防止することが可能であった。また、側方加圧根管充填においても本法を用いて行ったところ、確実かつ緊密な根管封鎖が行えたため、極めて有効であった。

【文献】1) Yang ZP: Multiple canals in a mandibular first premolar. Case report, Aust Dent J, 39:18-19, 1994.

歯内歯様形態を有する下顎中切歯に起因する外歯瘻に関する一症例

大阪歯科大学口腔治療学講座

○窪田 歩、西川 郁夫、畠 銀一郎、馬場 忠彦、林 宏行

External Dental Fistula Related to Mandibular Central Incisor with Dens Invaginatus: A Case Report Department of Endodontics, Osaka Dental University

○KUBOTA Ayumi, NISHIKAWA Ikuo, HATA Gin-ichiro, BABA Tadahiko and HAYASHI Hiroyuki

緒 言

歯内歯とは、歯冠部象牙質の一部が表層のエナメル質とともに歯髄腔内に深く陥入した形態異常歯である。上顎側切歯でもっとも多いとされ、下顎ではまれである。歯内歯の陥入部が齶蝕好発部位となり、歯髄疾患さらには根尖性歯周疾患を引き起こす。

根管系の形態が複雑なために、通常の根管治療では対応できない場合、逆根管充填などの外科的処置が必要となる。今回は、下顎中切歯に発生した歯内歯に起因する外歯瘻に関する症例について報告する。

症 例

患 者：15歳 男子

主 訴：オトガイ部腫脹

現病歴：平成19年11月にオトガイ部腫脹に気づき、平成20年3月に近医（一般医科）にて腫瘍除去のみを行った。平成20年7月に大阪中央病院皮膚・形成外科にて化膿性肉芽腫の疑いで手術を予定していたが、手術時に瘻孔を確認したところ、下顎骨からのドレナージと判明した。この結果、下顎骨骨髓炎が疑われ、平成20年8月5日大阪歯科大学附属病院口腔外科を紹介・受診された。口腔外科にてエックス線検査を行い、下顎左側中切歯に根尖部透過像が認められたために同日、同病院歯内治療科へ治療依頼となった。

既往歴：特記事項なし

現 症：自覚症状はなく、オトガイ部に外歯瘻が認められた。口腔内診査では下顎左側中切歯舌面に盲孔が認められ、同歯は歯髄電気診で反応を示さなかった。エックス線検査で根尖部に透過像が認められ、また、歯の形態異常から歯内歯であると判断した。

診 断：下顎左側中切歯 慢性化膿性根尖性歯周炎

治療経過：初診時に問診、口腔内診査、デンタルエックス線および歯科用小照射野エックス線CT（3DX）検査を行った（右図）。この結果、原因歯の形態が小野寺分類Ⅱ型の歯内歯であり、盲孔から歯髄腔へのアクセスが可能と判断し、通常の感染根管治療を開始した。

治療開始から約1か月後に外歯瘻の閉鎖が確認されたので、側方加圧法にて根管充填を行った。

根管充填から約4か月後に経過観察を行った結果、外歯瘻は癒痕化が進み、エックス線検査の結果、根尖部透過像の縮小が確認された。



まとめ

歯内歯の下顎での発生はまれである。今回は、外歯瘻の存在から下顎での歯内歯の発生が明らかとなった。小野寺の分類によると、本症例はⅡ型（陥入がセメントーエナメル境を越えた歯根の1/3にまで達していない）にあたると考えられ、盲孔となっている陥入部から切削して直接歯髄腔へとアプローチした後に通常の感染根管治療を行うことができた。その結果、本症例では良好な治癒が得られた。小野寺の分類のⅢ型あるいはⅣ型であれば、根管系がさらに複雑になることから、外科的アプローチを考慮する必要があったのではないかと思われる。今後は、さらに術後経過観察を継続し、治療過程を明らかにする予定である。

レーザーの髄床底穿孔部処置への応用

昭和大学歯科病院 歯内療法科
○木庭健次、竹内敏一、五十木輝雄、木下潤一郎

Laser application to the treatment of pulp chamber perforation
Department of Endodontics Showa University Dental Hospital
○Kenji Koba, Toshikazu Takeuchi, Teruo Ikarugi, Jun-ichirou Kinoshita

【目的】

本研究の目的は髄床底穿孔部の処置に、レーザーを応用した際の充填物の辺縁封鎖性について検討を行うことである。

【材料と方法】

被験歯としてヒト下顎大白歯36本を用いた。通法に従い、根管拡大・根管充填の後、咬合面を除く歯面をネイルポリッシュでコーティングを行い、その後、NO.2ラウンドバーを装着したマイクロエンジンで髄床底の穿孔を行った。穿孔部の充填には、Amalgam及び光重合型Resinを用いた。

実験群ではNd:YAG Laserで穿孔部象牙質の前処置を行ってから充填を行い、Resinの重合にはArgon Laserを用いた。対象群ではEDTAで穿孔部象牙質の前処置を行い、通常の照射機を用いて重合を行った。

穿孔部の充填後、充填部の辺縁封鎖性について検討するため1%ローダミン溶液に室温で48時間浸漬し、色素浸透の到達度について実体顕微鏡と走査型電子顕微鏡で観察し評価を行ったところ以下の結果を得た。

【結果と考察】

Amalgam充填を行ったグループでは、Nd:YAG Laserの照射の有無に関わらず、根分岐部から髄床底におよぶ色素の漏洩とそれとともなう象牙細管への広範囲の色素の浸透が認められた。

Resin充填を行ったグループは、いずれもAmalgam充填に比べ辺縁封鎖性は良好で若干の色素の漏洩が認められただけであった。また、Nd:YAG Laser, Argon Laserとも照射による歯質へのダメージが認められなかったことから、Laser照射による殺菌・消毒・止血や鎮痛、耐酸性を考慮した場合、Laserを応用した髄床底穿孔部のResin充填処置は有効であると結論を下すことができる。

【参考文献】

1. Post-operative symptoms and healing after endodontic treatment of infected teeth using pulsed Nd:YAG laser.
K. Koba Y. Kimura K. Matsumoto
Endod Dent Traumatol 1999;15:68-72
2. A histopathological study of the morphological changes at the apical seat and in the periapical region after irradiation with a pulsed Nd:YAG Laser.
K. Koba Y. Kimura K. Matsumoto International Endodontic Journal (1998)31, 415-420

根尖性歯周炎が易感染性患者の敗血症に関与することが示唆された一例

¹岡山大学医学部・歯学部附属病院歯周科, ²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野,
³国立療養所邑久光明園, ⁴広島大学大学院医歯薬学総合研究科健康増進歯学分野
○目黒道生¹, 曾我賢彦¹, 工藤直英子^{2,3}, 山本直史¹, 前田博史², 西村英紀⁴, 高柴正悟²

A case of periapical periodontitis implicated in sepsis in a compromised patient

¹Dept. of Pathophysiology - Periodontal Science, Okayama Univ. Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ²Dept. of Periodontics & Endodontics, Okayama Univ. Hospital of Medicine and Dentistry, ³National Sanatorium Oku Komyo-en, ⁴Dept. of Dental Science for Health Promotion, Hiroshima Univ. Graduate School of Biomedical Sciences
Michio MEGURO¹, Yoshihiko SOGA¹, Chieko KUDO^{2,3}, Tadashi YAMAMOTO¹, Hiroshi MAEDA², Fusanori NISHIMURA⁴, Shogo TAKASHIBA²

【はじめに】

易感染期における根尖性歯周炎は、重篤な敗血症の原因になり得る可能性がある。スティル病は若年性関節リウマチの成人型の病型である。この疾患の治療の第一選択は非ステロイド系抗炎症薬であるが、治療の応答性によってステロイド剤あるいは免疫抑制剤の投与が必要な場合がある。これらの薬剤を長期間投与されている患者では、易感染性状態となっていることがある。このたび、成人期スティル病の患者の敗血症に対して、リウマチ内科との連携のもとに歯科治療を行った症例を経験した。本症例では、敗血症時に血液培養によって検出した細菌と敗血症直前の根管内から採取した細菌を比較すると、菌種および薬剤耐性が類似していた。本症例を通して、根尖性歯周炎と敗血症の関連性について考察する。

【患者紹介】 33歳、女性。

主訴：内科医による口腔内感染巣の精査の依頼

現病歴：2004年に感覚性失語症を発症し、大学病院神経内科へ入院した。その際、成人期スティル病の再燃(活動期)と診断され、リウマチ内科にてステロイドパルス療法を開始した。入院から一週間後に敗血症を発症し、その時の血液検体から口腔内常在菌が検出されたため、口腔内の感染巣の精査を目的に、照会にて当科を受診した。

既往歴：15歳の時にスティル病を発症し、それ以降、高血圧症、不整脈、白内障、慢性腎炎、心外膜炎、盲腸炎、腎結石を罹患している。この5年間、スティル病のコントロールを目的に、メトトレキサート(MTX)およびステロイド剤を服用している。

【診査所見】

当科での検査の結果、口腔内感染巣として46, 45, 34および36に根尖性歯周炎があった。46根管内から採取した検体から *Enterococcus faecalis* および *Lactobacillus* 属を分離した。同時期の血液からもこれらの菌を分離し、両検体からの分離菌の薬剤感受性パターンが類似していた。口腔以外の器官あるいは臓器には感染巣はなかった。

【診断】 #1 敗血症, #2 慢性根尖性歯周炎, #3 スティル病(活動期)

活動期のスティル病であることから、免疫抑制の必要な状態にあり、MTXの長期服用により易感染性状態にあると推測できる。これまでの感染性疾患に対する治療の過程で獲得したと推測される薬剤耐性菌が存在し、その薬剤耐性菌に起因した敗血症を繰り返している状態にある。さらに、感染根管が敗血症の感染巣である可能性がある。

【治療方針】

両検体からの分離菌の薬剤感受性パターンの類似性から、根管内が敗血症の感染源となっている可能性が高いと考え、スティル病のコントロールに必要な最低限のステロイド剤投与下で感染根管治療を行い、その後に大量ステロイドパルス療法を行う方針を、リウマチ内科との連携によって立案した。

【治療計画】

1. ステロイドパルス療法を延期し、免疫機能に影響を及ぼさないがスティル病の病状を維持できる量のステロイド剤の投与
2. 根管内および血液から分離した菌の薬剤感受性検査の結果から選択した抗菌剤の投与
3. 感染巣に対する感染根管治療
4. 感染巣の除去後にスティル病に対するステロイドパルス療法の開始

【治療経過】

感染根管治療後、*E. faecalis*等の口腔と関連性のある菌を検出しなかった。

【考察とまとめ】

難治性根尖性歯周炎の半数以上から *E. faecalis* が検出され(Ferrari PH *et al.*), その多くの菌が多剤耐性を獲得していると報告されている(Reynaud Af Geijersstam AH *et al.*)。本患者の感染巣の原発は不明であるが、根管内の耐性獲得細菌が易感染状態であった患者の血液中で増殖したことによって、敗血症を繰り返した可能性がある。抗菌剤では敗血症を抑制できなかったが、根管内の感染巣を根管治療によって除去した後はこれらの菌による敗血症を発症しなくなった。

このことから、易感染性患者における根尖性歯周炎は敗血症の原因になり得ることが示唆された。すなわち、治療上、易感染状態に陥ることが推測できる医科治療前の患者に対し、敗血症の誘因となりうる口腔内感染巣を事前に除去しておく必要があると考えられた。

歯内療法領域の3D診断

富永歯科クリニック¹⁾, 神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野²⁾

○田中美香¹⁾, 木田芳宏¹⁾, 富永尚宏¹⁾, 石井信之²⁾

3 Dimensional(3D) diagnosis for advanced endodontic treatment

Tominaga Dental Clinic¹⁾, Department of Oral Medicine Division of Endodontics, Kanagawa Dental College²⁾

○Mika Tanaka¹⁾, Kida Yoshihiro¹⁾, Naohiro Tominaga¹⁾, Nobuyuki Ishii²⁾

【緒言】歯科用パノラマ X 線 CT 装置は高解像度の断層画像と3D立体画像が簡単に得られることから、歯科治療に有用な情報をもたらすとして近年急速に普及してきている。歯内療法領域においても、根管形態の把握や根管充填後の根尖部の正確な評価および根尖歯周組織の診断が可能であることから、歯内療法への応用が期待されている。

今回我々は歯科用CTの歯内治療における有効性について臨床的に検討したので報告する。

【材料および方法】歯内療法領域での歯科用CTの有用性を検討するために、根管の術前診断と根管充填後の評価および根尖歯周組織の硬組織診断について、当院臨床症例の歯科用デンタル2次元画像と歯科用CT画像診断の比較検討を歯種別に行った。また、歯内療法における利便性についても考察した。

【結果および考察】2次元画像では、複数の根管を有する歯における根管充填後の根尖部の正確な評価や、根管形態の詳細を知ることは不可能であった。同一歯牙における歯科用CTの3次元画像では、複数根管を有する歯でも根尖まであらゆる方向、角度からの詳細画像が得られ、2次元画像とは異なり根管ごとの形態や根尖部の評価が可能となった。術前に3次元画像情報を得ることで、メタルコアやポスト、根管充填材除去の際、根管壁の無駄な切削を防止するのに役立ち、さらにマイクロスコープを使用することで効率的な歯内療法が可能となった。また、根尖歯周組織の診断においても、あらゆる角度から根尖部透過像の広がりや上顎洞底、下顎管および隣在歯との関係を把握することができ、さらに透過像がどの根管由来であるかを特定することも可能であった。2次元画像では頬舌的な重なりにより見逃されていた根尖病変が、歯科用X線CT装置の断層画像により確認されるということも数多く経験した。

術前にCT撮影を行い、事前に根管長や歯根の湾曲等を把握することで、生理学的根尖孔の破壊や穿孔の予防につながり、大きなアドバンテージを得ることができると考えられる。さらに、歯科用マイクロスコープを併用することにより、予知性の高い治療へとつながる可能性が示唆された。また、歯科用CTは医科用CTに比べて低被曝であるとはいえ、被曝線量を考えると2次元デンタルX線画像の様に頻回の撮影を行うことはできない。そこでCT撮影の時期やインプラント治療の診断時に同部位も撮影視野に入るようにするなど効率の良い使用法を考慮する必要がある。

【結論】歯科用CT装置によりさらに詳細かつ正確な情報が得られることで、盲目的であった歯内療法領域を視覚的に訴えることが可能となり、術者自身の経験によってしか得られなかった根管形態の情報を3次元的画像で得られることで、患者、術者双方の治療へのストレスが軽減され、歯牙の保存という観点からも歯科用CT装置が有用であることが明らかとなった。

歯科用 CT 画像を用いた垂直性歯根破折の診断

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 摂食機能保存学講座 歯髄生物学分野
○吉岡俊彦, 萩谷洋子, 吉岡隆知, 須田英明

Diagnosis of Vertical Root Fracture Using Cone-beam CT

Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences, Graduate School,
Tokyo Medical and Dental University

○YOSHIOKA Toshihiko, HAGIYA Yoko, YOSHIOKA Takatomo, SUDA Hideaki

【研究目的】垂直性歯根破折 (VRF) と根尖性歯周炎 (per) は、臨床症状および根尖部 X 線透過像の形態が類似しているために、鑑別の困難な場合が多い。VRF における特徴的な所見として、限局した深いポケット形成および暈状の歯根周囲 X 線透過像が挙げられる。しかし、透過像の評価は主観的で、評価者によってその診断が大きく異なる。我々は、デンタル X 線写真¹⁾あるいは歯科用コーンビーム CT (CBCT) の近遠心断面画像 (以下 MD)²⁾を用い、骨吸収像の形態を数値化して評価を行うことで、VRF を診断する方法を開発した。本研究では、CBCT の MD に加えて頬舌断面画像 (以下 BL) の骨吸収像の形態を数値化して評価することで、さらに信頼度の高い VRF の診断が可能かどうかを検討した。

【材料および方法】東京医科歯科大学歯学部附属病院むし歯外来を受診し、歯科放射線外来にて CBCT (3DX MULTI-IMAGE MICRO CT®, モリタ製作所) 撮影を行った患者 26 名の 26 歯を調査対象とした。これらの症例は、抜歯あるいは根尖周囲外科手術によって破折の有無が明らかとなった。VRF 群は上顎前歯 1 症例、上顎小臼歯 10 症例および下顎小臼歯 2 症例の計 13 症例、per 群は上顎前歯 10 症例、上顎小臼歯 2 症例および下顎小臼歯 1 症例の計 13 症例であった。断面画像は、歯軸に平行で、根尖および病変像を含むものとした。MD は歯列に平行な断面、BL は歯列と直交した断面とした。患歯の診断名を知らされていない歯科医師 5 名が、画像処理ソフト (Photoshop®7.0, Adobe, USA) のマグネット選択ツールを用いて各症例の MD および BL 上で根尖部骨吸収像の輪郭を描出し、これを region of interest (ROI) とした。その後、ROI の形態を画像処理・解析ソフト (IPlab™3.0, Scanalytics Inc, USA) にて解析し、ROI の複雑度および RadialSD を計算した。複雑度は (周囲長)²/面積であり、閉曲線の複雑さを示す。一方、RadialSD は重心から周縁までの距離の標準偏差で、正円への近似度を示す。得られた複雑度および RadialSD の値を用い、対象歯が破折している確率 P(x) を示すロジスティック回帰式:

$$P(x) = 1 / (1 + e^{-x}) \quad x = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_4 X_4$$

$$b_0: \text{定数}, b_1, b_2, b_3, b_4: \text{係数}, X_1: \text{複雑度 (MD)}, X_2: \text{RadialSD (MD)}, X_3: \text{複雑度 (BL)}, X_4: \text{RadialSD (BL)}$$

を構築した。P(x) については、「VRF の診断」および「読影者」を要因とする二元配置分散分析を行った。有意水準は 5% とした。また、ロジスティック回帰分析により選択された因子の受診者動作特性曲線 (ROC 曲線) を作成し、最適なカットオフ値を求め、破折・非破折の判定を行い、その感度および特異度を算出した。

【結果】破折確率 P(x) の平均値は per 群で 0.22、VRF 群で 0.80 となった。二元配置分散分析の結果、VRF 群における P(x) は、per 群に比較して有意に高い値を示した。読影者間では、一組に有意差が認められた。カットオフ値を用いたときの感度および特異度は、それぞれ 0.94、0.91 であった。ROC 曲線下面積は 0.97 となった。

【考察および結論】CBCT の MD および BL の根尖部骨吸収像の形態を評価することで、これまでのデンタル X 線写真あるいは CBCT の MD のみを用いた場合の結果と比べ、より信頼度の高い VRF 診断を行うことができる可能性が示唆された。BL では金属アーチファクトのために病変の範囲が不明瞭な症例があり、これが読影者間の差に影響を与えたと考えられた。

【参考文献】1) Kawamura-Hagiya Y et al.: Logistic regression equation to screen for vertical root fractures using periapical radiographs; Dentomaxillofac Radiol 37, 28 - 33, 2008.

2) 萩谷洋子ほか: 歯科用 CT 画像を用いた歯根破折のスクリーニング; 日歯保存誌 51, 344-351, 2008.

歯内療法における歯科用 CT とマイクロスコープの有用性：症例報告

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座
○樋口直也、中田和彦、中村 洋

Effectiveness of Dental Computed Tomography and Microscope in Endodontics: A Case report
Department of Endodontics, School of Dentistry, University of Aichi Gakuin
○Higuchi Naoya, Nakata Kazuhiko, Nakamura Hiroshi

目的

近年、歯内療法領域において、歯科用 CT とマイクロスコープの有用性が多く報告されている。歯科用 CT は、各根管の根尖病変の広がり、歯根・根管の数や走行、解剖学的な三次元的位置関係、根尖病変との鑑別診断、歯根破折や穿孔部の位置、歯内-歯周病変や根分岐部病変の診断などに有効であり、一方マイクロスコープは、根管口の発見、根管拡大形成の確認、根管内破折器具の除去、穿孔部の封鎖、逆根管充填などに有効であると言われている。

今回、歯内療法を行うにあたり、これらが非常に有効であった 3 症例を経験したので、報告する。

症例 1: 患者は、44 歳、女性。2 年前に上顎左側第一大臼歯の自発痛のため、近在歯科医院にて感染根管治療と補綴処置を受けた。その後、歯肉の腫脹と消退を繰り返すもそのまま放置したが、2 ヶ月前に咬合痛の悪化を自覚したため、再度近在歯科医院を受診した。感染根管治療を受けるも、症状の改善が認められないため、当院に紹介された。初診時には、軽度の垂直打診痛を認めるほかは、特に症状は認められなかった。根充材除去後、作業長を確認するためにガッターチャポイントを試適したところ、近心頰側根管については作業長が短いようにみられた。歯科用 CT を撮影し、分析を行った結果、未処置の第 4 根管が存在し、根尖病変の原因である可能性が高いことが明らかになった。そこで、マイクロスコープで髓床底部を観察したところ、第 4 根管の根管口を発見することができた。通常どおり根管治療した結果、症状は改善された。

症例 2: 患者は、54 歳、女性。8 ヶ月前に下顎右側第一大臼歯部の違和感のため、近在歯科医院を受診した。下顎右側第一大臼歯の抜去、第二、第三大臼歯の感染根管治療を受けるも、違和感および第三大臼歯の打診痛が改善せず、当院に紹介された。初診時には、第三大臼歯に軽度の垂直および水平打診痛を認めたほかは、特に症状は認められなかった。術前の口内法エックス線写真にて根尖部に破折器具と思われる不透過像が認められた。歯科用 CT を撮影し、分析を行った結果、根管は 2 つあり、それぞれの根尖部に破折器具と思われる不透過像が認められ、その内 1 つは根尖孔外に突出した状態であることが分かった。また、両根尖孔は近接しており、根尖部に透過像が存在することが明らかになった。マイクロスコープで根管を観察したところ、亀裂線は認められず、明らかに破折器具が 2 本確認できた。多目的超音波治療器で慎重に破折器具の除去を行い、通常どおり根管治療した結果、症状は改善された。

症例 3: 患者は、36 歳、女性。1 ヶ月前に検診のため近在歯科医院を受診したところ、上顎左側側切歯のう蝕、根管破折器具および根尖部透過像を指摘された。感染根管治療を受けるも、破折器具が除去できないため、当院に紹介された。初診時には、違和感程度の垂直および水平打診痛を認めるほかは、特に症状は認められなかった。マイクロスコープで根管を観察したところ、唇側に穿孔がみられ、破折器具が確認できた。また、亀裂線は認められなかった。マイクロスコープ下で穿孔部を封鎖後、歯科用 CT を撮影し、分析を行った。その結果、穿孔部は歯槽骨頂よりも歯冠側であり、歯槽骨に吸収像など問題は認められなかった。また、根管壁は十分残存していることと、破折器具の上部は根管の近心壁に接触していることが確認された。さらに、根管下部では根管壁と破折器具の間に空隙はほとんどないことが分かった。マイクロスコープ下で慎重に除去し、通常どおり根管治療した結果、症状は改善された。

考察、結論

今回は、第 4 根管の発見、穿孔部の封鎖と根管破折器具の除去についての 3 症例を報告した。これらの症例においてもこれまでの報告と同様に、歯科用 CT とマイクロスコープは非常に有用であり、診査・診断や治療をより確実に行うことができると思われる。しかし、保険制度や機器価格など様々な諸問題のため、現在でも一般的に普及しているとは言えない。今後このような問題が解決され、より日常的に使用できるようになれば、歯内療法の予後成績はさらなる向上が想像される。

歯性上顎洞炎の診断に歯科用コーンビームCTを用いた1症例

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野
○堀 雅晴 関根 源太 森 春菜 山田 麻衣子 吉田 隆一

A case of odontogenic maxillary sinusitis diagnosed using corn-beam CT

Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University
School of Dentistry

Hori Masaharu, Sekine Genta, Mori Haruna, Yamada Maiko and Yoshida Takakazu

【はじめに】 歯性上顎洞炎は、主に上顎臼歯部に発症した根尖の病変などにより上顎洞底の骨壁が破壊・穿孔し、上顎洞粘膜に炎症が波及した場合に起こる歯原性の上顎洞炎である。上顎臼歯の根尖部は、頬骨弓や上顎洞底など複雑な周囲の解剖形態により従来のデンタル・パノラマX線診査では十分に状態が確認できない場合があり、診断が困難な症例に遭遇することがある。今回の症例では、耳鼻科にて医科用CT撮影により、13, 14, 15の根尖部に歯根嚢胞を疑う連続した大きな骨透過像が認められたため紹介来院したが、原因歯が同定されず、歯科用コーンビームCT撮影により原因を術前に確認し、患者への説明をすることができた。その後、治療の進行とともに、上顎洞粘膜の肥厚の軽減や上顎洞底の骨壁穿孔部の再生が確認でき、診査・診断・治療経過の確認に有用であった症例を経験したので報告する。

【症例】 患者：50歳、男性。主訴：耳鼻科より歯根嚢胞の疑いで紹介来院した。現病歴：5ヶ月前に、16部付近に痛みを訴え、近隣の歯科医院を受診したが、X線診査などによりカリエスが見当たらないため歯科治療は行わず症状の経過観察をしていた。X線診査ではその他に右側上顎洞の不透過が観察された為、耳鼻科を紹介された。紹介先医院での抗生剤と鎮痛剤の処方により痛みは治まった。違和感はその後数回あり、そのつど投薬により治まっていた。先月再び痛みがでてきたため、同耳鼻科を受診した。繰り返し症状が現われるため、医科用CT撮影により診査したところ、歯根嚢胞を疑う骨透過像が認められたため、朝日大学歯学部附属病院口腔外科に紹介来院された。

既往歴：特記事項なし。

【診査・診断】 診査では、持参された医科用CTと、撮影したデンタル・パノラマX線を確認したところ、13, 14, 15の根尖部に大きな嚢胞様の骨空洞と上顎洞粘膜の肥厚が確認された。歯髄電気診では、13, 14, 15は反応があり、16で反応が認められなかった。嚢胞様の骨空洞と歯牙との位置関係から原因歯が特定できないため保存科に精査を依頼された。

保存科依頼時の症状は、自発痛・冷温水痛は13から16のいずれもなく、咬合痛・打診痛・根尖部圧痛は16のみであった。臨床症状から16の歯髄壊死に起因する根尖性歯周炎が疑われ、治療の必要性が確認できた。しかし、撮影したデンタル・パノラマX線と持参された医科用CTからは13から16のいずれの歯牙も嚢胞様の骨空洞との関連は確認できなかった。患者に現状を説明し同意を得た後、歯科用コーンビームCT撮影を行った。それにより16の口蓋根の病変が上顎洞底の骨壁を穿孔し上顎洞と交通していることが確認できた。また、13から15に及ぶ嚢胞様の骨空洞は、不規則な上顎洞形態の一部であり、独立した嚢胞ではないことが確認できた。

【臨床経過】 16の感染根管処置を行った結果、臨床症状は改善し、歯科用コーンビームCT撮影では上顎洞粘膜の肥厚はほぼ治癒していることが確認できた。治療開始から約5ヵ月後の撮影では穿孔部の骨の再生も確認でき、症状も安定しているため、根管充填を行い予後良好である。

【考察】 今回の症例では、従来のデンタル・パノラマX線、医科用CTでは診断が困難であった上顎右側臼歯根尖部の骨空洞および上顎洞炎について、歯科用コーンビームCT撮影によりそれぞれの原因を術前に明らかにすることができた。それにより、術前の患者説明や処置後の上顎洞底の組織の回復状態が確認でき、最小限の侵襲で治療を行うことができた。近年、歯科用コーンビームCTは、ますます精度や使用方法が向上し急速に普及しつつあるため、術者側の使用基準やプロトコルを明確に確立することにより、さらに有意義に応用できることが期待される。

根完成歯の自家移植の予後に影響を及ぼす因子について

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座感染制御学講座 (歯科保存学教室)
○三宅直子、朝日陽子、松下健太、向井教子、藪根敏晃、木ノ本喜史、林美加子、恵比須繁之

A Retrospective Study of Factors Affecting the Prognosis of Autotransplantation of Matured Teeth
Dept. of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka Univ. Grad. School of Dentistry
○Naoko Miyake, Yoko Asahi, Kenta Matsushita, Noriko Mukai,
Toshiaki Yabune, Yoshifumi Kinomoto, Mikako Hayashi, Shigeyuki Ebisu

[目的]

近年、歯の自家移植は欠損歯を補う治療手段として一般に行われるようになってきたが、根完成歯の移植に関しては予後に関する報告が少ない。今回、本法の臨床有用性を検討するために、当教室において施術した根完成歯の自家移植の経過について後ろ向き臨床研究として評価を行い、特に予後に影響を及ぼす因子について詳細に検討した。

[材料及び方法]

対象症例：1995年6月から2008年7月に、大阪大学歯学部附属病院保存科において患者49名(男性17名、女性32名、年齢12～71歳、平均37.6歳)に施術した合計50例の根完成永久歯に対する自家移植症例。

標準的な術式：受容側に要抜去歯がある場合は、抜歯3～4週間後に移植術を計画した。移植歯は抜歯後、歯根の湾曲、歯根膜の付着状態などを確認し、抜歯窩または生理食塩水中に術中保管した。移植部は浸潤麻酔下で切開を施し、移植床の形成、移植歯の試適、咬合関係の診査後、歯肉弁の縫合、および移植歯の固定を行った。移植3～4週間後に固定を除去して根管治療を開始した。2～6か月の水酸化カルシウム製剤の貼薬の後、ガッタパーチャを用いて根管充填を行った。症例により、充填あるいは被覆冠による修復を選択した。

臨床評価：症例毎に移植カルテを作成して定期的な経過観察を行い、臨床診査(打診痛、打診音、動揺、歯周ポケット測定、咬合痛、不快症状)およびエックス線診査(根尖部透過像、歯根吸収、歯槽硬線、歯根膜腔の有無)による評価を行った。臨床症状が認められず、X線診査にて正常な症例を成功とした。4～6mmの歯周ポケットが残存している症例は機能歯とし、6mm以上の歯周ポケットおよび臨床症状を認める症例を失敗とした。

統計処理：移植歯の生存率をKaplan-Meier法により算出した。また、移植歯の種類や移植部位など術前の条件が生存率に及ぼす影響をLog rank法にて検定した。

[成績]

- 41症例の観察期間は1～137か月(平均36.7か月)であった。小白歯を移植歯とした症例が3症例、大白歯が38症例、そのうち智歯を移植歯とした症例が34症例あった。
- 7症例が、術後19～132か月で抜歯適応と診断された。7症例は移植歯として小白歯が1症例、大白歯が6症例、そのうち智歯が5症例であり、いずれも6mm以上の深い歯周ポケットを発現していた。また、受容部位は大白歯部6症例、小白歯部1症例であった。その他の症例はすべて、口腔内で機能していた。その結果、3年生存率は92.0%、5年生存率は72.4%と計算された。
移植に至った抜歯理由は齶蝕2症例、破折2症例、根尖性歯周炎2症例、そして歯周炎1症例であり、いずれも受容側に大きな骨欠損を認めた。
- 4～6mmの歯周ポケットが残存した機能歯は11症例で、智歯を移植歯としたものが9症例、小白歯を移植歯としたものが2症例であった。受容部位は、大白歯部が9症例、小白歯部が2症例であった。

[考察および結論]

本研究は2002年に行った移植歯の臨床評価に引き続き長期的な経過を評価したものであるが、根完成歯の自家移植は、受容側の骨の状態を的確に診断し適切な術式を施せば、良好な予後が期待できる治療術式であると考えられた。

矯正的挺出を利用した意図的再植の症例

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

今泉一郎 田中 毅 松井寛敬 辻 雅仁 中田和彦 中村 洋

A Case of Intentional Replantation using Orthodontic Extrusion
Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University
Ichiro Imaizumi, Tsuyoshi Tanaka, Hironori Matsui, Masahito Tsuji,
Kazuhiko Nakata, and Hiroshi Nakamura

【緒言】

意図的再植の成否は、再植歯根表面に付着している歯根膜組織の状態に大きく依存している。抜歯時の歯根膜への機械的損傷や口腔外での根尖切除、逆根管充填の過程で歯根膜が壊死し、再植後に歯根吸収やアンキローシスを生じて予後不良となることがある。従って、抜歯時の歯根膜への機械的損傷を最小限に抑えて再植処置を終えることができれば、その成功率を高めることができると考える。今回、我々は、矯正的挺出を行った後、意図的再植を行った結果、良好な予後経過を得た症例を報告する。

【症例】

患者は、64歳男性。数年前より下顎左側第二小臼歯の根尖部の腫脹を自覚していた。現在まで時々、腫脹と消退を繰り返し、愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科を受診した。患歯の根尖部には、フィステルが認められた。腫脹部には軽度の圧痛が認められたが、自発痛、打診痛は認められなかった。口内法エックス線撮影を行ったところ、根尖部には透過像が認められ、歯根を取り囲むように歯根膜腔の拡大が認められた。通法に従って根管治療を行い、歯根破折の有無を確認するためマイクロスコープで根管を精査したが、破折、亀裂は認められなかった。その後、根管治療を繰り返すもフィステルの消退が認められないため歯科用CTを撮影することとし、インフォームドコンセントを得た。精査の結果、破折、過剰根管などは認められなかった。通常の根管治療では今後も十分な治療効果は期待できないと判断し、外科的歯内療法を適応することとした。しかし、根尖切除術は、歯科用CT診査のオトガイ孔と歯根尖の位置関係より神経損傷のリスクが高いことから困難と判断した。歯根の形態が複雑でなく、矯正的挺出を利用すれば、歯根膜を損傷することなく抜歯できることから意図的再植を行うこととし、患者の同意を得た。通法に従い根管充填後、矯正装置を作成し、2週間程度、矯正的挺出を行った。その後、矯正装置を除去し、患歯の動揺を確認した後、可及的に歯根膜を損傷しないように鉗子のみを用いて抜歯した。次いでマイクロスコープ観察下にて歯根破折や側枝の確認を行った。さらにタービンにて根尖部を除去し、スーパーボンドにて逆根管充填を行った。また、抜歯窩は歯根膜を損傷しないように病変部を搔爬した。その後、抜歯窩に患歯を戻し、固定を行った。

【考察および結論】

通常の根管治療を行っても十分な治療効果が得られず治癒に導くことができない症例や長く長いポスト、根管の著しい彎曲、根尖部での穿孔などで根管治療が困難な症例がある。このような難治症例は、外科的歯内療法が適応され、多くは根尖切除術が行われる。しかし、下顎管や上顎洞が近接しているなどの解剖学的条件により処置が困難な場合や機械器具の到達できない部位には意図的再植が適応される。意図的再植の失敗の原因の一つには、歯根膜への機械的な損傷がある。従って、意図的再植を成功に導くためには、いかに歯根膜の損傷なく抜歯処置を行い、速やかに再植処置を終えることが重要である。今回は、歯科用CT診査の結果、患歯の根尖はオトガイ孔に近接しており神経損傷のリスクを考え、意図的再植を選択した。まず、意図的再植に先立って矯正的挺出を行った。僅かな挺出により患歯の歯根膜が伸展し、動揺が認められる為、抜歯操作が非常に容易であった。また、無理な力をかけることがないため歯の破折防止や歯根膜の損傷を最小限に抑えることができ、速やかに処置を終了することができた。従って、意図的再植を行う前処置としての矯正的挺出は、抜歯時の歯根膜組織の保存において非常に有効であると思われる。

上顎右側第一大臼歯口蓋根の上顎洞粘膜下の歯根嚢胞における意図的再植術の応用

日本大学松戸歯学部再生歯科治療学講座

○木村 功、牧村 英樹、菊地 信之、染井 千佳子、長濱 文雄、和田 守康

Application of intentional replantation with sinus submucosa radicular cyst on palatal root of maxillary first molar

Departments of Renascent Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○KIMURA Koh, MAKIMURA Hideki, KIKUCHI Nobuyuki, SOMEI Chikako, NAGAHAMA Fumio and WADA Moriyasu

[緒言]

歯根嚢胞の原因はその殆どが根尖部の解剖学的形態、細菌感染であるとされている。まれに上顎第一大臼歯および第二大臼歯の口蓋根は上顎洞に近接しており上顎洞内に歯根嚢胞を形成する。その場合、処置としては当該歯の抜歯と上顎洞前壁からのアプローチとともに歯根嚢胞の除去と場合によっては上顎洞根治術が必要とされる。

今回我々は上顎洞に近接した歯根嚢胞の症例に対して、歯の保存と歯根嚢胞除去を目的とし意図的再植術を適用し良好な結果を得たので報告する。

[症例]

初診時年齢 73 歳男性。右上奥歯の痛みを主訴に開業医から再生歯科診療科を紹介され来院。問診の結果患歯は平成 11 年に他医院にて抜髄処置後根充を行い補綴処置終了し治療を終了した。その後経過順調であったが平成 20 年 8 月頃より同部位に痛みを感じ歯科医院を受診したところ、歯根嚢胞と診断され右側左側第一大臼歯の感染根管治療を行うも、症状が改善されなかった。

随伴症状としては頭部から肩にかけて痛みが認められた。診断の結果、上顎右側第一大臼歯の慢性根尖性歯周炎および歯根嚢胞と診断し、直ちに同部位の感染根管治療を行った。2 ヶ月間根管治療を行ったが症状の改善が認められないため CT 撮影を行った結果、歯根嚢胞は口蓋根根尖部に位置し上顎洞粘膜に近接して認められた。また、同部位の歯根は頬舌的に開大が無く根尖部に彎曲が認められないことなどから手術後の経過も考慮し、歯根嚢胞の除去と歯の保存を目的に意図的再植術を行うこととした。術中において同部位の歯を傷つけないように慎重に抜歯し中隔部分の骨を慎重にトレフィンバーにて除去した。歯根嚢胞壁と上顎洞粘膜との癒着は認められず嚢胞は一塊にて除去した。その後歯根膜を傷つけないようにキャナルスとガッターパーチャポイントにて根管充填を行い再植しワイヤーにて固定を行い治療を終了した。術後 2 週間後徐々に痛みは軽減され現在、経過観察中である。

[考察]

根尖病変の中で歯根嚢胞を除く歯槽膿瘍、歯根肉芽腫においては徹底した根管の清掃拡大を施して根管内の起炎物質や細菌などを取り除き、根管の無毒化と無菌化を図って密な根管充填を施す保存的歯内治療によって根尖部の感染創傷治療を確実にすることができる。歯根嚢胞の場合重要となるのは嚢胞上皮組織と嚢胞腔の存在である。上顎洞粘膜に近接した歯根嚢胞の場合その殆どが原因歯の抜歯と嚢胞の摘出、もしくは上顎洞前壁からのアプローチが一般的である。特に上顎洞前壁からのアプローチを行った場合、完治するのに相当の日数を費やすことが懸念される。そのため原因歯の抜歯という手段を選ばざるを得ないわけである。そこで、今回の症例においては意図的再植法を用いて歯の保存を最大の目的に置いて歯根嚢胞の除去を行った。意図的再植法については古くから基礎的な観点で研究がされているが、術後の問題点として歯根吸収の発現が挙げられる。一般に、置換性吸収惹起させないためには歯根膜組織の温存、口腔外時間、根管内容物の消毒などが上げられる。すなわち健康な歯根膜組織が保たれたまま処置が可能ほど成功率は高く、歯根膜組織の再生も速やかに起こるとされている。本症例において用いた意図的再植法は、上顎洞に近接した特殊な部分においての嚢胞摘出には有用性があることが示唆された。

鶴見大学歯学部附属病院における紹介患者の実態調査

鶴見大学歯学部第二歯科保存学教室

○木村泰子、鰐原治子、細矢哲康、石尾登子、白川 哲、新井 高

A Field Survey of Patients Referred to Turumi University Dental Hospital

Department of Periodontics and Endodontics

Tsurumi University School of Dental Medicine

Kimura hiroko, Ebihara haruko, Hosoya noriyasu,

Ishio takako, Shirakawa satoshi and Arai takashi

【緒 言】

鶴見大学歯学部附属病院は、各種先進医療の実施可能機関であるとともに、横浜を中心とした地域医療機関との病診連携を進める開放型病院として、年間約 204,000 人 (約平均 850 人/日) にのぼる外来患者の診療に取り組んでいる。来院患者は初診時に紹介状等を持参することが多く、その紹介理由は多岐に渡り、大学病院ならではの紹介内容も多く見受けられる。本調査の目的は、紹介内容を分析することで、地域の歯科医療機関が抱える問題点を理解するとともに、大学病院としての紹介患者の受け入れ体制の充実化を図ることにある。

【対象と方法】

今回の調査は、2006 年 1 月から 2007 年 12 月までの 24 ヶ月間に、鶴見大学歯学部附属病院初診室に来院した診療情報提供書あるいは紹介状等を持参した患者 1,526 名のうち、初診室で直接対応した 776 名を対象とした。紹介状の記載内容から、年齢、性別、紹介理由等に関して集計した。集計結果から、大学病院に紹介される症例に関して検討を行い、特に歯内療法領域に関して詳細な考察を加えた。

【結 果】

対象患者の 64%が女性であった。年代で分類すると、20 代以下が 12.1%、30 代が 16.3%、40 代が 18.0%、50 代が 16.5%、60 代が 13.5%、70 代以上が 7.8%であった。紹介理由としては、「特殊機器の使用依頼」が 25.1%で最も多く、次いで「難治性疾患の治療依頼」が 22.8%、「疾病を確定できない症例の診査、診断依頼」が 18.8%、「全身管理下での治療依頼」が 11.0%、「領域外医療機関からの治療依頼」が 9.3%、「先進医療ならびに特殊技術による治療依頼」が 5.8%、「通院状況による依頼」が 3.5%、「医原性疾患への対処」が 1.0%であった。診療情報提供書あるいは紹介状に記載されている傷病名から領域別に分類すると、保存系が 69.9%であり、そのうち歯内療法が 69.8%、歯周病が 23.0%であった。さらに、歯内療法の紹介では根尖性歯周炎が 72.6%、歯髄炎 19.2%、歯根破折 4.5%であった。

【考 察】

歯科臨床においても、種々の医療用機器の開発がめざましく、個人医療機関では多くの機器の導入が困難であることから、大学病院への依頼理由のトップが「特殊機器の使用依頼」となったと考えられる。また、以前から多かった「難治性疾患の治療依頼」は歯科医療機関の増加に伴って、患者一人当たりの治療時間が増加したことで治療依頼が若干減少したとも考えられる。また、今後、多様化する歯科疾患から「疾病を確定できない症例の診査、診断依頼」や高齢化に伴う「全身管理下での治療依頼」は増加すると考えられる。さらに、「医原性疾患への対処」には特殊機器や技術が求められることが多いことから、今後増加傾向を示すと思われる。特に歯内療法に関する依頼が多い理由としては、一連の治療の中で歯内治療が滞ることによって、次の段階に進むことができないことや治療終了後に再発する可能性が大きいためと考えられる。

地域歯科医療の中核病院としての大学病院は、病院の設備環境やシステムを広く公開し、患者や地域医療機関に便宜を図ることで、より活発な病診連携を推し進める必要がある。また、依頼患者の診断ならびに処置に関して、原因に対する考察および経過を分析し、依頼元の医療機関へのフィードバックとともに地域医療機関へのより詳細な情報発信を推進する必要があると考えている。

Ni-Ti ロータリーファイルの歯内療法基礎実習における教育効果

神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野

○大浜美穂, 荻野志保, 上島茂明, 上田剛史, 榎本光夫, 徳永幸世, 平嶺倫子, 佐藤武則,
三壁信洋, 渡部弘隆, 武藤徳子, 西村知子, 千枝桂子, 三橋晃, 鈴木二郎, 永井旺介, 石井信之

Evaluation of Ni-Ti rotary file on the root canal preparation for undergraduate students

Division of Operative Dentistry and Endodontics, Kanagawa Dental College

○Ohama Miho, Ogino Shiho, Ueshima Sigeaki, Ueda Takeshi, Enomoto Mitsuo, Tokunaga Sachiyo,
Hiramine Michiko, Satoh Takenori, Mikabe Nobuhiro, Watabe Hiroataka, Mutoh Noriko, Nishimura Tomoko,
Chieda Keiko, Mitsuhashi Akira, Suzuki Jiro, Nagai Ohsuke and Tani-Ishii Nobuyuki

【研究目的】

彎曲根管の拡大形成にクラウンダウン法による Ni-Ti ロータリーファイルの有効性が認められ、種々の形態を有する Ni-Ti ロータリーシステムが開発され臨床で使用されている。神奈川歯科大学は登院前の学部学生教育において、ステップバック法と共にハンド・プロテーパーファイル(デンツプライ・サンキン)によるクラウンダウン法を導入し、正確で確実な彎曲根管形成が可能になることを報告した(日本歯科保存学会誌 49、297、2006)。2008 年度から Ni-Ti ロータリーファイル・プロテーパー・ユニバーサル(プロテーパー)を学部学生教育に導入し、根管形成が困難とされる銃剣状彎曲根管の拡大形成を開始した。本研究は学部学生教育を通じて Ni-Ti ロータリーファイル初心者の根管形成修得過程を把握することを目的として、根管形成終了後の根管壁変位量を解析し Ni-Ti ロータリーファイルの有用性を検討した。

【材料および方法】

被験者および根管形成法: 神奈川歯科大学 3 年生 102 名を被験者とした。被験者は、歯内療法学の講義と模型実習を併行して受講しており、模型実習直前に彎曲根管の形成法としてクラウンダウン法、ステップバック法、ステンレススチール製ファイル、Ni-Ti ファイルに関する特徴の講義をうけ、ステンレススチール製ファイルを用いて上顎中切歯根管模型(ニッシン)と天然抜去上顎前歯に対して根尖-歯冠側スタンダード法による根管形成を 1 回経験した後、ロータリーエンジン付のプロテーパーにより根管形成を行った。実習に使用した透明彎曲根管模型エンドトレーニングブロック J タイプ(デンツプライ三金)は、根尖開孔部直径 0.15mm、根管テーパー 7%、根管長 18mm に規格化されている。根管形成は、#15K ファイル、プロテーパー SX, S1, S2, F1 ファイルにてクラウンダウン法により根管形成を行った。

根管形成の評価: 根管壁変位量の解析: 術前根管模型と術後根管形成模型を、根尖側から 1mm 間隔で 5mm までの測定部位を設定し、術前根管模型との根管壁移動距離を測定して根管壁変位量とした。

教育効果の評価法: 被験者 102 名の最終根管形態と、臨床経験 10 年以上の医局員がプロテーパーファイルを用いて形成した最終根管形態(以下 標準根管形成模型、n=5)との根管壁切削量を根管壁移動距離として、根尖側 5mm の彎曲に 1mm の間隔に計測し、被験者の形成根管模型と比較した。さらに、偶発事故の発生頻度: レッジ、穿孔およびファイル破折の発生頻度を調べた。

【成績】

標準根管形成模型は、術前の根管形態を維持した滑らかな形態で形成された。標準根管形成模型の根管壁切削量を術前根管壁との根管壁移動量として計測した。最終根管形態の評価は、根尖から 1 ~ 5mm の根管壁移動距離が、標準根管形成模型の平均移動距離に形成された根管を良好とした。102 症例の最終根管形態の評価の結果、大多数の最終根管形態は標準根管形成模型の範囲に含まれ、内湾部および外湾部に極端に変移した形態は認められなかった。最終根管形態においてレッジ形成が 11%、ファイル破折が 0.02%認められたが、穿孔は認められなかった。

【考察および結論】

Ni-Ti ロータリーファイル・プロテーパーによる彎曲根管形成実習は、クラウンダウン法の理論を理解すると共に、従来までは困難と考えられていた根管形成が、臨床経験のない学部学生も臨床経験豊富な医局員と同様に行えることが明らかになった。

歯内療法の使用器具薬剤に関するアンケート結果
第1報：大学基礎実習

¹ 歯内療法教育勉強会,

² 鶴見大学歯学部第二歯科保存学教室, ³ 神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野, ⁴ 松本歯科大学歯科保存第二講座, ⁵ 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座, ⁶ 東京歯科大学歯科保存学講座, ⁷ 大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座(歯科保存学教室), ⁸ 株式会社ニッシン

小澤寿子^{1,2}, 石井信之^{1,3}, 笠原悦男^{1,4}, 辻本恭久^{1,5}, 中川寛一^{1,6}, 林 美加子^{1,7}, 山内由美^{1,8}

Questionnaire on endodontic instruments and medicine

Part1: Pre-clinical practices

¹The Society for Endodontic Education, ²Department of Periodontics and Endodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine, ³Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental College, ⁴Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University, ⁵Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, ⁶Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo dental college, ⁷Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University graduate School of Dentistry, ⁸Nissin Dental Products INC.

OZAWA Toshiko^{1,2}, TANI-ISHII Nobuyuki^{1,3}, KASAHARA Etsuo^{1,4}, TSUJIMOTO Yasuhisa^{1,5}, NAKAGAWA Kan-Ichi^{1,6}, HAYASHI Mikako^{1,7}, YAMAUCHI Yumi^{1,8}

【研究目的】

全国歯科大学、大学歯学部における臨床前の歯内療法実習において、教育に使用している器具器材、薬剤などについて、その内容や相違を把握するためにアンケート調査を行った。

【対象および方法】

2008年11月に29校の歯内療法教育担当者に協力依頼し、Eメール送受信によるアンケート調査を行った。臨床前の学生歯内療法実習において使用している器具器材、薬剤、根管模型など12項目について質問した。各項目に列記した回答例にチェックをいれる方式で行い、複数回答可とした。

【結果】

2009年1月末までに29校全てからアンケートの回答があり、100%の回収率であった。根管貼薬剤としてホルムクレゾール(FC)使用校は14校、水酸化カルシウム系薬剤は12校で使用していた。無貼薬と回答したのは3校であった。根管洗浄剤としてNaOCl、H₂O₂はそれぞれ27校で使用されていたが、そのうち両方を使用しているのは25校であった。EDTAは10校で使用していた。根管拡大形成用器具としてはKファイルが最多27校で使用されていた。NiTiファイルについては7校で教育していた。根管長測定には、電気的根管長測定器使用が24校、エックス線写真使用が20校であった。また、全校で根管充填にスプレッダーを使用していた。仮封材は酸化亜鉛ユージノールセメントの使用が多く(23校)、また透明ブロックタイプの模型は22校で使用されていた。

【考察および結論】

歯内療法以外の一般臨床でも使用されている基本的な器具は、歯内療法実習においても共通に使用されていたが、担当指導者の経験や考えに基づいて決定される歯内療法特有の器具や薬剤には相違があることがわかった。これらの相違については、近年行われている客観的臨床能力試験OSCEの外部評価者による評価現場でも明らかになってきていることであるが、他校の現状を相互に把握することは各大学の教育内容を改善するためにも重要である。今後、臨床での実態についての調査もまとめ、比較する予定である。

謝辞：アンケートにご協力いただきました各校担当の先生方に心より感謝申し上げます。

造影剤を併用したデジタルX線撮影の根管拡大形成実習への応用

1) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座

2) 日本歯科大学新潟病院 総合診療科

新井 恭子¹⁾、北島 佳代子¹⁾、貝津 徹²⁾、佐藤 友則²⁾、横須賀 孝史²⁾、五十嵐 勝¹⁾

The application of digital radiography using with contrast medium for practice of root canal preparation

1) Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University

2) Niigata Hospital, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University

○ARAI Kyoko¹⁾, KITAJIMA Kayoko¹⁾, KAIDU Toru²⁾, SATO Tomonori²⁾,

YOKOSUKA Takashi²⁾ and IGARASHI Masaru¹⁾

【目的】

近年、歯科医療機器のデジタル化が進み、カルテの電子化やデジタルX線写真の導入が進んでいる。本学では平成19年度に臨床基礎実習室の改修を行い、歯内治療学実習でのX線撮影をデジタル化した。デジタルX線撮影法は、従来のフィルムによる撮影と比べて被曝線量の低減、簡便な画像処理、作業時間の短縮、ランニングコストの減少、省スペース化、環境保護などが利点として挙げられ、臨床応用が広く普及しつつある。それらの現況に伴い、教育の場ではデジタルX線に関する教育も進み、デジタル化された臨床基礎実習の活用が望まれている。現在、本学の歯内治療学実習では、EMR時のリーマーポジションの確認と根管充填後の評価で使用しているが、今回われわれは、透明根管模型の拡大形成前後に造影剤を根管内に注入しデジタルX線撮影を行い、拡大形成の評価への応用とその効果について検証を行ったので報告する。

【材料および方法】

実習で使用したデジタルX線撮影装置は、デントナビハンズ((株)エム・ディ・インストゥルメント)で、撮影条件を管電圧70kV、管電流7mA、撮影時間0.08秒とした。センサーには、コンピュレイアルティメットセンサーノーマルサイズ(トロフィー・ラジオロジー・ジャパン(株))を用いた。術者は、臨床実習開始後10か月を経過した第5学年生84名のうち、ニッケルチタン製ファイル実習を希望し、同器具を初めて使用する14名からなる。拡大形成に使用したNiTiファイルはK3(SybronEndo, USA)で、NiTi用エンジンとして専用8:1減速ハンドピースを装着したTCMエンドモーター(Nouvag, Swiss)を使用した。拡大形成には30度の湾曲根管を有する樹脂製透明根管模型(PART NO.815-9021, SybronEndo, USA)を使用し、10号のKファイルで根尖孔まで予め穿通してから拡大形成を開始した。作業長は各自で設定し、各ファイルの使用手順に従い、最終拡大時に根尖孔が20号となるまでひとり1ブロックを手持ちで拡大した。術前と術後に根管へ蒸留水で2倍に希釈した非イオン性造影剤(オムニパーク300シリンジ、第一三共)を注入してデジタルX線撮影を行い、画像処理ソフトのTorophy Windows Ver.6(トロフィー・ラジオロジー・ジャパン(株))で拡大前後の形を比較した。なお、手用ファイルを用いてレジン歯植立顎模型上の下顎左側第1小臼歯に対し、抜髄から側方加圧根管充填まで行った実習成績と評価法を比較し考察した。

【結果および考察】

根管模型に造影剤を注入してデジタルX線撮影を行うことにより、根管の輪郭は明確な像を示した。撮影操作は従来のフィルムによる操作に比べて短時間で画像を確認でき、その画像が鮮明なことから、実習時間を短縮することができた。また、同一画面上で術前と術後のX線データを同時に確認することができるため、実習時間内のフィードバックに有用であると考えられる。また、従来では根管充填後の模型を使つてのみ実習成績を評価していたが、造影剤を用いることにより拡大形成前後の形態でも評価をすることができ、学生はより多くの場面で実習を振り返ることが可能となり技術の向上に結び付くと考えられる。

今後は規格写真の撮影方法の構築や造影剤の改良を行うことで、更にデジタルX線撮影法の活用が期待できると考えられる。また、術前、術後の写真を重ね合わせることで、実習評価がより客観性を得られると考えられ、ソフトの改良が必要と思われた。

【結論】

歯内治療学実習におけるデジタルX線撮影は、単に歯科用X線写真を撮影するだけでなく、得られた画像で実習を評価する際にも短時間で簡便に用いることができ、有用性が高いことが示唆された。

歯根膜由来細胞における歯周病原菌刺激に対する β -cryptoxanthin の効果

京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学¹⁾

京都府立医科大学大学院医学研究科免疫・微生物学²⁾

○ 赤松佑紀^{1, 2)}, 山本健太^{1, 2)}, 大迫文重^{1, 2)}, 山本俊郎^{1, 2)},
喜多正和²⁾, 金村成智¹⁾

The effect of β -cryptoxanthin for periodontal ligament cells stimulated with
periodontal bacteria

Department of Dental Medicine¹⁾ and Microbiology²⁾,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

○ Yuki Akamatsu^{1, 2)}, Kenta Yamamoto^{1, 2)}, Fumishige Oseko^{1, 2)},
Toshiro Yamamoto^{1, 2)}, Masakazu Kita²⁾, Narisato Kanamura¹⁾

【研究目的】

近年、 β -cryptoxanthin (β -cry)の抗癌作用・骨代謝調節作用を有するとの報告が散見される。歯科の分野において、歯槽骨に対して骨吸収抑制作用の報告はあるが、その他の歯周組織に対する報告はない。これまでに我々は、ヒト歯根膜由来細胞(hPDL細胞)を用いて、歯根膜の局所炎症には病原因子である歯周病原菌の影響が強くメカニカルストレスはこれを助長する因子であることを第129回本学会にて報告した。そこで今回我々は、hPDL細胞への *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*)刺激に対する β -cryの抗炎症効果を免疫学的に検討したので報告する。

【材料および方法】

hPDL細胞は便宜的に抜歯された炎症所見の認めない健全な第3大臼歯を用いた。患者より同意を得た上で、抜去歯牙より歯根膜の組織片を採取し、10%FBS、50 μ g/mlカナマイシン含有D-MEM培養液中で37°C、5%CO₂条件下に初代培養を行った。3~4代の継代培養後、1 \times 10⁵CFU/mlで播種、コンフルエントに達したのち、 β -cry添加(以下、 β -cry群)、*P. gingivalis* (1 \times 10⁷CFU/ml)細菌刺激(以下、*P. gingivalis*刺激群)、 β -cry添加および*P. gingivalis*細菌刺激(以下、共刺激群)し24時間培養した。

そして炎症性サイトカインであるIL(インターロイキン)-1 β 、IL-6、IL-8、TNF(腫瘍壊死因子)- α に関して、細胞からRNAを抽出しRT-PCR法を用いた定性分析、培養上清を回収しELISA法を用いた定量分析を行った。また、刺激前後の細胞形態を倒立位相差顕微鏡にて検鏡を行った。

なおhPDL細胞の使用に関しては、当大学における人間を対象とする医学研究診査委員会より承認済みである。

【結果】

定性分析では、*P. gingivalis*刺激群、共刺激群共に全ての炎症性サイトカインmRNAが発現した。そして共刺激群のIL-6、TNF- α 産生量は、*P. gingivalis*刺激群と比べ有意な減少を認めた。また共刺激群のIL-8産生量は、*P. gingivalis*刺激群と比べ減少傾向を認めた。なお、両群ともにhPDL細胞の形態学的な変化はほとんど認めなかった。

【考察および結論】

本研究から、*P. gingivalis*刺激されたhPDL細胞の炎症性サイトカイン産生は、 β -cryの影響を受けることが判明した。このことから、 β -cryが歯根膜の局所炎症に対し抗炎症効果を有する可能性が示唆された。

伸展力が負荷されたヒト歯根膜細胞のシグナル伝達には Angiotensin II が関与している

1) 九州大学大学院歯学研究院歯内疾患制御学研究分野、2) 九州大学病院歯内治療科
○門野内聡¹⁾、前田英史²⁾、藤井慎介²⁾、友清淳²⁾、堀清美¹⁾、赤峰昭文¹⁾²⁾

Angiotensin II is involved in the signal transduction in human PDL cells exposed to the stretch loading.

¹⁾ Kyushu University Faculty of Dental Science, Division of Oral Rehabilitation,

²⁾ Kyushu University Hospital, Department of Endodontology

Satoshi Monnouchi, Hidefumi Maeda, Shinsuke Fujii, Atsushi Tomokiyo, Kiyomi Hori, and Akifumi Akamine

【研究目的】 歯根膜ならびにその周囲の骨の状態を正常に維持するには、適切な咬合力が必要であることは周知の事実である。すなわち適切な咬合力の負荷が、これらの組織の恒常性の維持、さらには再生に対しても重要なファクターの1つとして働いていることが推察される。そこで本研究では、歯根膜に咬合力が加えられたことで生じる事象について解析するため、ヒト歯根膜細胞 (HPLF) にメカニカルストレスを付与し実験を行った。メカニカルストレスとしては、今回伸展力に着目し、細胞を伸展することによって発現するタンパクやその影響について解析した。

【材料および方法】 矯正治療を目的として本院を受診した患者より抜去された歯牙より歯根膜を採取し、5-6継代培養した細胞を HPLF として本研究に供した。細胞は、10%Fetal Bovine Serum 含有の α -MEM(10%FBS/ α MEM)にて培養を行った。collagen type 1 でコーティングしたシリコンチャンバーに細胞を播種し、10%FBS/ α MEM 中で培養後、CO₂ インキュベーター内で STREX 社製の細胞伸展器を用いて伸展した。伸展した HPLF、または recombinant Angiotensin II (ANG II) を添加した HPLF の total RNA を回収し、定量的または半定量的 RT-PCR 法にて遺伝子発現について検討した。また5週齢ラットの下顎骨の切片または培養した HPLF を用いて、ANG II 抗体による免疫組織化学的染色によって ANG II の発現について解析した。さらに培養した HPLF の上清中に含まれる ANG II を ELISA 法により測定した。なお本研究は九州大学大学院歯学研究院倫理委員会の認可を得て、患者の同意の上で行われた。

【結果】 4%、8%、または12%の伸展率で HPLF を1時間刺激し、HPLF が発現する RANKL および OPG の mRNA 発現に着目し実験を行った。その結果、12%では control と比較して、RANKL の発現が上昇し、OPG の発現が減少していたのに対し、8%では RANKL の発現が減少し、OPG の発現の増加が認められた。4%では無刺激の control とほとんど発現の差を認めなかった。次に HPLF を伸展率 8%で1時間刺激した結果、TGF β 、ALP そして Angiotensinogen (AGT) の mRNA 発現が上昇した。そこで ANG II 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行ったところ、歯根膜組織の細胞質および細胞外基質中、そして HPLF の細胞質内に陽性反応が認められた。ELISA 法を用いて HPLF 培養上清中の ANG II 量を測定した結果、約 170pg/ml であった。さらに recombinant ANG II を HPLF に添加し、TGF β 、ALP の mRNA 発現について解析した結果、伸展した HPLF と同様にそれらの発現が促進した。HPLF を ANG II のレセプターである AT₂ の blocker にて前処理した後、伸展力を負荷し、伸展直後に total RNA を回収し、TGF β および ALP mRNA の発現について検討したところ、これらの遺伝子発現が抑制された。

【考察】 今回の結果から、伸展力が負荷された HPLF では ANG II の発現が上昇し、さらに autocrine または paracrine に AT₂ を介してシグナルが伝達し、TGF β および ALP の mRNA 発現が誘導されることが示唆された。TGF β は、これまでの報告によりコラーゲンの合成を促進し、その変性を抑制することが報告されていることから、適当な伸展力の負荷は歯根膜の恒常性の維持の一助となっていることが推察される。ALP は、歯根膜細胞の骨芽細胞様分化の初期段階において発現されると報告されているが、伸展力が負荷された歯根膜細胞における働きについては、今後さらなる研究が必要であると思われる。

【結論】 伸展力が負荷されたヒト歯根膜細胞では angiotensin II を介したシグナル経路が存在する。

TGF- β 1 がヒト歯根膜細胞および前駆細胞の増殖および分化に及ぼす影響

¹⁾九州大学病院歯内治療科、²⁾九州大学大学院歯内疾患制御学研究分野、
³⁾University of Adelaide, Colgate Australian Clinical Dental Research Centre
藤井慎介¹⁾、前田英史¹⁾、友清淳¹⁾、橋口勇¹⁾、門野内聡²⁾、堀清美²⁾、和田尚久³⁾、赤峰昭文^{1) 2)}

The effects of TGF- β 1 on proliferation and differentiation of
human PDL fibroblasts and a human PDL stem/progenitor cell line
Kyushu University Hospital, Kyushu University Faculty of Dental Science, University of Adelaide
Shinsuke Fujii, Hidefumi Maeda, Atsushi Tomokiyo, Isamu Hashiguti, Satoshi Monnouchi,
Kiyomi Hori, Naohisa Wada, and Akifumi Akamine

研究目的: Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)は骨基質中に豊富に存在し、細胞増殖、分化および細胞外基質産生に重要な役割を果たすサイトカインとして知られている。これまでに TGF- β 1 は歯根膜組織再生促進因子の1つとして報告されているが、TGF- β 1 のヒト歯根膜線維芽細胞(HPLF)に及ぼす影響に関する詳細な報告はなされていない。そこで本研究では、歯根膜組織における TGF- β 1 発現、HPLF における内因性 TGF- β 1 の影響、IL-1 β 刺激した HPLF における TGF- β 1 発現、および外因性 TGF- β 1 がヒト歯根膜前駆細胞株に及ぼす影響について検討することを目的とした。

材料および方法:

(1)歯根膜組織における TGF- β 1 発現:免疫組織化学的手法を用いて7週齢SD rat 下顎臼歯歯根膜組織における TGF- β 1 発現について検討した。

(2)内因性 TGF- β 1 が HPLF の遺伝子発現に及ぼす影響:抜歯を目的として九州大学病院を受診した患者のうち同意の得られた2名(39歳女性および14歳男性)から得られた健康な小白歯由来の歯根膜組織を回収し、3-6継代後の細胞を HPLF として本研究に用いた。TGF- β 1 type I receptor 拮抗剤(SB431542)を作用させた HPLF における遺伝子発現について解析を行った。

(3)IL-1 β が HPLF の TGF- β 1 発現に及ぼす影響:IL-1 β 刺激後の HPLF における遺伝子発現および ELISA 法を用いて培養液中の TGF- β 1 タンパク量を定量した。

(4)外因性 TGF- β 1 がヒト歯根膜前駆細胞に及ぼす影響:私達が樹立したヒト歯根膜前駆細胞株(1-11細胞株;第122回保存学会にて発表)を TGF- β 1 にて刺激し、1-11細胞株の増殖および遺伝子発現について解析した。

結果と考察:7週齢SD rat 下顎臼歯歯根膜組織切片において、歯根膜に存在する多数の細胞および基質に TGF- β 1 発現を認めた。2種の HPLF は TGF- β 1、TGF- β 1 type I receptor および TGF- β 1 type II receptor mRNA を発現していた。これらのことから歯根膜細胞は TGF- β 1 を発現し、その TGF- β 1 は autocrine または paracrine 的に作用していると考えられた。SB431542 は HPLF における α -SMA および COL I mRNA 発現を減少させたが TGF- β 1 および BSP mRNA 発現には影響がなかったことから、内因性 TGF- β 1 によるシグナリングは α -SMA および COL I 遺伝子発現に重要であることが示唆された。HPLF における TGF- β 1 mRNA 発現およびタンパク発現は24時間を超える IL-1 β 刺激によって減少したことから、炎症下では HPLF における TGF- β 1 発現は減少している可能性が示唆された。外因性の TGF- β 1 刺激は1-11細胞株の増殖を抑制したが、1-11細胞株における α -SMA、COL I および FBN1 mRNA 発現は促進し、TGF- β 1 type I receptor、TGF- β 1 type II receptor、ALP、OPN、および OCN mRNA 発現には影響が認められなかった。以上より外因性 TGF- β 1 はヒト歯根膜前駆細胞株の増殖を抑制し分化を促進することが示唆された。

結論:生理的な条件下において、歯根膜組織は TGF- β 1 を恒常的に発現している。また、TGF- β 1 シグナリングは HPLF の α -SMA および COL I 遺伝子発現において重要な働きを担っている。

Rho kinases による歯根膜細胞の分化制御

¹⁾岡山大学 医学部・歯学部附属病院 歯周科

²⁾岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 病態機構学講座 歯周病態学分野

○山本直史¹⁾, 鶴川祐樹²⁾, 妹尾京子¹⁾, 峯柴淳二²⁾, 前田博史²⁾, 高柴正悟²⁾

Osteogenic differentiation regulated by Rho kinases in human periodontal ligament cells

¹⁾Department of Periodontics & Endodontics, Okayama University Hospital of Medicine and Dentistry

²⁾Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○Tadashi YAMAMOTO¹⁾, Yuki UGAWA²⁾, Kyoko SENOO¹⁾, Junji MINESHIBA²⁾, Hiroshi MAEDA²⁾, Shogo TAKASHIBA²⁾

【緒言】

歯根膜細胞は、未分化な間葉系幹細胞を含むヘテロな細胞集団であり、歯周組織の創傷治癒や再生に必須の細胞である。近年、歯根膜組織から分離・培養した歯根膜幹細胞が、骨やセメント質様の硬組織を形成することが報告され、これを応用した歯周組織再生療法が期待されている。しかし、歯根膜細胞が硬組織を形成するメカニズムは未だ不明な点が多く、その分化制御機構に関するシグナル分子の解明が必要である。最近、我々は歯根膜細胞の機械的ストレスに対する遺伝子発現が、Rho kinases (ROCK) に依存的であることを明らかにした (Yamashiro *et al*, *Int J Biochem Cell Biol* 2007)。ROCK はアクチン線維の重合促進、ミオシン軽鎖の活性化、そしてアクチン-ミオシンからなる収縮性のストレスファイバーを形成することによって、細胞の遊走・接着・分裂など多様な生物学的機能を制御する。さらに近年、ROCK 阻害剤がヒト胚性幹細胞の分離培養時の生存率を著しく向上させることが報告されたことから、ROCK が幹細胞の分化制御にも関与すると考えられている。そこで、本研究では ROCK による歯根膜細胞の分化制御機構を調べることを目的に、ROCK 阻害剤が歯根膜細胞に及ぼす作用を、細胞骨格蛋白の産生とアルカリフォスファターゼ活性の変化から検討した。

【材料および方法】

1. 歯根膜細胞の分離・培養：健康な歯周組織を有するドナーの智歯を抜去し、その歯根膜組織を採取した。歯根膜細胞は Seo らの方法 (*Lancet* 2004) に従い、3 mg/mL collagenase type I および 4 mg/mL dispase で分離した single-cell suspension (1×10^4 細胞) を 10cm 培養皿に播種し、ウシ胎児血清を 20% の割合に含む α -MEM (Invitrogen) を用いて、37°C、5% CO₂ 存在下で培養した。ROCK 特異的阻害剤は、Y-27632 (Calbiochem) を用いた。
2. 硬組織形成細胞への分化誘導：上記の single-cell suspension が形成したコロニーを継代して得た歯根膜細胞に 50 μ M ascorbic acid-2-phosphate, 100 nM dexamethasone および 10 mM β -glycerophosphate を添加し、それらを 14 日間培養した。
3. 免疫蛍光染色法：歯根膜細胞をチャンバースライド上で培養し、細胞を固定した。その後、アクチン線維は AlexaFluor[®]594-phalloidin (Invitrogen) を用いて、リン酸化 2 型ミオシン軽鎖は抗 phospho-myosin light chain 2 抗体 (Cell Signaling) および AlexaFluor[®]488 (Invitrogen) を用いて処理し、蛍光顕微鏡下で検出した。
4. アルカリフォスファターゼ (ALP) 染色：Leukocyte Alkaline Phosphatase Kit (Sigma) を用いて、naphthol phosphate とジアゾニウム塩の存在下で染色した。

【結果】

1. 歯根膜細胞は、硬組織形成細胞へ分化するのに伴って、アクチン線維の重合およびリン酸化ミオシン軽鎖の産生を促進した。
2. ROCK 阻害剤である Y-27632 は、歯根膜細胞の硬組織形成細胞への分化過程において、アクチン線維の重合およびミオシン軽鎖の活性化を抑制すると共に、歯根膜細胞の ALP 活性を抑制した。

【考察および結論】

歯根膜細胞の分化は、種々の増殖因子や細胞外基質が及ぼす細胞内シグナルに加えて、細胞骨格の性状によっても制御を受けると考えられる。本研究では、硬組織形成細胞へ分化誘導した歯根膜細胞において、アクチン重合およびミオシン軽鎖のリン酸化が亢進することが明らかになった。アクチン-ミオシン相互作用によるストレスファイバーの形成は細胞の張力を発生することから、歯根膜細胞の細胞骨格の変化は、硬組織形成細胞への分化に関与すると考えられる。さらに、ROCK 特異的阻害剤 Y-27632 は、硬組織形成細胞への初期分化マーカーである ALP 活性を抑制したことから、ROCK は歯根膜細胞の細胞骨格分子の調節を介して硬組織形成細胞への分化を促進することが示唆された。

歯の凍結保存が歯根膜細胞活性に与える影響 —保存液としてのトレハロースの効果—

日本大学松戸歯学部再生歯科治療学講座¹ 日本大学松戸歯学部歯科矯正学講座²

○染井 千佳子¹, 平手 友里恵² 高野 真知², 西谷 知子¹ 牧村 英樹¹, 菊地 信之¹, 木村 功¹, 山口 大²
 長濱 文雄¹, 葛西 一貴², 和田 守康¹

Effect of the tooth cryopreservation for the cell activity of periodontal membrane
 —Using trehalose as cryopreservation—

Departments of ¹Renascent Dentistry, ²Orthodontics Nihon University School of Dentistry at Matsudo
 ○SOMEI Chikako¹, HIRATE Yurie², TAKANO Machi², NISHITANI Chikako¹, MAKIMURA Hideki¹, KIKUCHI Nobuyuki¹,
 KIMURA Koh¹, YAMAGUCHI Masaru², NAGAHAMA Fumio¹, KASAI Kazutaka², WADA Moriyasu¹

【研究目的】

歯の凍結保存液が、次第に普及してきた。我々はその際、凍結保存液として患者の血清に凍害防止剤としてCP-1を混合したものを使用している。しかし、一般開業医においては、患者の血清を調整することは困難であり、それに代わる新たな保存液を検索する必要がある。

そこで、本研究では、現在凍結乾燥による細胞保護作用があるとされている trehalose を含有させた保存液について検討した。

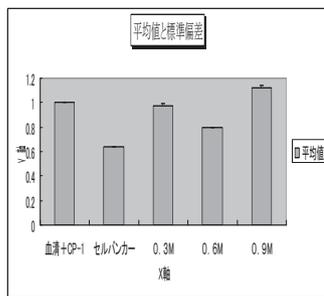
【材料及び方法】

- 1、実験方法：ヒト歯根膜細胞は、研究のインホームドコンセントを十分に行って同意を得られた患者の、矯生的理由によって抜去された健康な歯牙から歯根膜組織を無菌的に取り出し、FBS10%含有α-MEM 培地を用いて37℃、5%CO₂の条件で培養を行い、継代した3～5回継代の細胞を用いた。保存液は、血清とCP-1を混合したもの、セルバンカー及び、セルバンカーとトレハロースを0.3M、0.6M、0.9M濃度で混合したものとし、これを細胞凍結保存液とした。保存は、プログラムフリーザで-40℃まで緩速凍結を行い、更に-80℃で24時間凍結保存を行い、更に-150℃で2週間凍結保存を行った。
- 2、歯根膜培養細胞における活性化因子の遺伝子発現：解凍した歯から、歯根膜組織を採取し、RNAの抽出を行い、使用したRNA量をβ-actinの発現量に対する比で評価した。プライマーはβ-actin, collagen Type I, osteocalcin, osteonectin 使用した。
- 3、ヒト歯根膜細胞増殖能の検討：保存終了後、それぞれの細胞を37℃の恒温槽に入れ解凍し、細胞増殖ELISA試験を行い代謝活性細胞の数を測定した。また、位相差顕微鏡にて形態学的観察を行った。

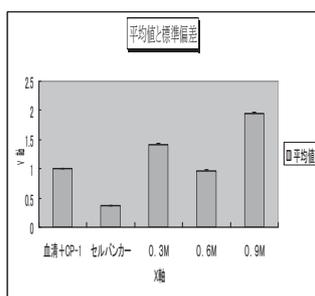
【結果および考察】

今回使用したコラーゲン、オステオネクチン、オステオカルシンについて、ヒト歯根膜細胞内における遺伝子発現を検討した結果トレハロースの3種類の濃度の中で0.9Mが最も優位な発現誘導を認めた。また、セルバンカーのみでは血清+CP-1より遺伝子発現誘導が認められなかった。

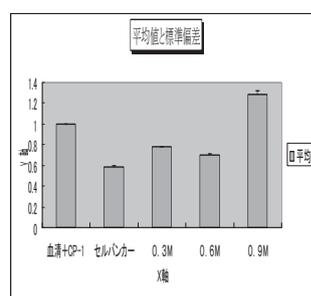
以上のことにより、セルバンカーにトレハロースを添加すれば血清+CP-1の代用として使用可能であり歯の凍結保存液に有効であることが示唆された。



collagen / β-actin



osteocalcin / β-actin



osteonectin / β-actin

骨芽細胞におけるエムドゲインが MMPs 産生に及ぼす影響

大阪歯科大学 生化学講座¹⁾, 歯科保存学講座²⁾.

合田 征司¹⁾, 竹内 摂²⁾, 吉川 一志²⁾, 保尾 謙三²⁾, 山本 一世²⁾, 池尾 隆¹⁾.

Effect of the production of MMPs in Emdogain stimulated osteoblasts cells

Dept. of Biochemistry¹⁾, Operative dentistry²⁾, Osaka Denta University.

GODA Seiji¹⁾, TAKEUCHI Osamu²⁾, YOSHIKAWA Kazushi²⁾, YASUO Kenzo²⁾, YAMAMOTO KAZUYO²⁾, IKEO Takashi¹⁾

成人の骨は、骨吸収と骨形成の均衡を保ちながら再構築を繰り返している（骨のリモデリング）。現在の歯周再生治療は、骨の再生のみに注目した研究が進められている。しかし、骨形成と吸収は互いに密に関連しているため、骨の再生を考える際にも“骨吸収”を無視することは出来ない。エムドゲインは歯周組織再生治療に用いられ、セメント質だけでなく歯槽骨の再生を認める症例も数多く報告されている。In vivo の研究においてもエムドゲインは骨芽細胞を活性化し、骨形成の指標であるアルカリフォスファターゼ、オステオカルシン、I 型コラーゲンなどの発現を増加させ、骨の再生を促進することが報告されている。しかしながら、エムドゲインによる骨再生誘導は十分ではない。そこで我々は骨の再生ではなく、骨の吸収に対するエムドゲインの作用を検討するために、骨基質成分である I 型コラーゲンの分解と MMP-1 にエムドゲインが骨芽細胞に及ぼす影響を検討した。

結果

エムドゲインにより骨芽細胞の I 型コラーゲン分解能が増加した。

エムドゲインにより I 型コラーゲナーゼ MMP-1 の産生および酵素活性が上昇した。

エムドゲインにより MMP-1 を活性化する MMP-3 の産生も増加した。

以上よりエムドゲインは、骨芽細胞を活性化させて MMP-1 と MMP-3 の産生を増加させ、骨吸収に重要な酵素である MMP-1 を活性化する結果、I 型コラーゲンの分解を促進することが明らかになった。

考察

今回の結果からエムドゲインが、骨の再生を促進しているだけでなく、骨基質成分である I コラーゲンを分解することから骨のリモデリングにエムドゲインは影響を与えるか可能性が示唆された。

NOD1 アゴニストがヒト歯肉線維芽細胞のサイトカインおよび接着分子の発現を誘導する

¹⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部発達予防医歯学部門 健康長寿歯科学講座 歯科保存学分野

²⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 保健科学部門 口腔保健学講座 口腔保健支援学分野

○細川育子¹⁾、細川義隆¹⁾、尾崎和美²⁾、湯本浩通¹⁾、中江英明¹⁾、松尾敬志¹⁾

NOD1 agonists induce expressions of cytokines and adhesion molecules by human gingival fibroblasts

¹⁾Department of Conservative Dentistry, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School,

²⁾Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School

○Ikuko Hosokawa¹⁾, Yoshitaka Hosokawa¹⁾, Kazumi Ozaki²⁾, Hiromichi Yumoto¹⁾, Hideaki Nakae¹⁾ and Takashi Matsuo¹⁾

【研究目的】

歯周炎をはじめとする炎症性疾患において、菌体を認識する自然免疫系は炎症を誘導する機構として重要である。近年、細胞質に存在している NOD ファミリーと呼ばれるヌクレオチド結合性多量体ドメイン(NOD)をもつタンパク質群も、細菌の細胞壁成分を認識して自然免疫を誘導することが明らかとなっており、このうち NOD1 は細菌細胞壁ペプチドグリカン(PGN)の部分構造である γ -D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (iE-DAP)を認識し、NF- κ Bの活性化を誘導することが報告されている。しかしながら、歯周炎においては NOD1 がどのように免疫応答に関わっているか不明な点も多い。そこで、本研究では歯周組織における NOD1 の発現を解析し、さらに歯周組織に主な構成細胞の一つであるヒト歯肉線維芽細胞(HGFs)に着目し、NOD1 アゴニストである iE-DAP が HGFs からのサイトカインおよび接着分子の発現に与える影響について検討を行った。

【材料および方法】

健康人あるいは歯周病患者の歯肉組織を採取し、ヒト歯肉組織における NOD1 の発現を RT-PCR 法、免疫組織化学的解析にて検討した。HGFs は智歯抜歯時に正常歯肉組織より out growth 法により分離し、10%FBS を含む DMEM 培地にて培養し実験に用いた。また、NOD1 の HGFs における mRNA およびタンパクレベルでの発現を RT-PCR 法およびフローサイトメトリーにて解析した。さらに、HGFs を iE-DAP にて刺激し、上清中のサイトカイン(IL-6、IL-8)濃度を ELISA 法にて、接着分子である ICAM-1 の発現をフローサイトメトリーにて解析を行った。

【成績】

NOD1 の発現が炎症歯肉組織および臨床的正常歯肉の双方において認められた。また、NOD1 の mRNA およびタンパクレベルにおける発現が、ヒト歯肉線維芽細胞で認められた。さらに、iE-DAP 刺激により、HGFs からサイトカインである IL-6 および IL-8 産生、接着分子である ICAM-1 の発現が誘導された。

【考察および結論】

今回の結果より、自然免疫誘導因子である NOD1 が歯周組織および HGFs に発現していることが明らかとなった。また、NOD1 アゴニストにより炎症性サイトカインおよび接着分子の発現を誘導することからも、NOD1 は歯周炎における自然免疫機構においても関与している可能性が示唆された。

Effects of Kaempferol on Bone Sialoprotein Gene Transcription

Departments of Periodontology¹ and Research Institute of Oral Science²

Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Japan

Tianjin Stomatology Hospital, Tianjin, China³

Li Yang³, Hideki Takai^{1,2}, Shouta Araki¹, Masaru Mezawa¹, Yoko Sasaki¹ and Yorimasa Ogata^{1,2}

Keywords: BSP, Transcription, Kaempferol, Osteoblast

Introduction: Bone sialoprotein (BSP) is a major noncollagenous protein in the mineralized connective tissues that has been implicated in the nucleation of hydroxyapatite. Regulation of the BSP gene is important in the differentiation of osteoblasts, in bone matrix mineralization and in tumor metastasis. Kaempferol is a typical flavonol-type flavonoid and is present in a variety of vegetables, and its antioxidant effect implies its possible role in the prevention of oxidative stress related chronic diseases. We have previously reported that isoflavone induced BSP gene transcription via inverted CCAAT box in the rat BSP gene promoter.

Materials and Methods: To determine the molecular basis of the transcriptional regulation of BSP gene by kaempferol, we conducted Northern hybridization, real-time PCR, transient transfection analyses with chimeric constructs of the rat BSP gene promoter linked to a luciferase reporter gene and gel shift assays in rat osteoblast-like UMR106 cells..

Results: Using osteoblast-like UMR106 cells, we revealed that BSP mRNA levels increased by 5 μ M kaempferol at 12 h, and Runx2 and Osterix mRNA expressions at 6 h. In transient transfection analyses, kaempferol (5 μ M , 12 h) increased luciferase activity of the construct, pLUC3, which encompasses nucleotides -116 to +60, as well as longer constructs. Effect of kaempferol abrogated in constructs included 2 bp mutations in the inverted CCAAT box, cAMP response element (CRE) and FGF2 response element (FRE). Gel shift assays showed that kaempferol increased binding of CRE and FRE elements. Whereas the CCAAT-protein complex did not change after stimulation by kaempferol.

Conclusion: These data suggest that kaempferol stimulated BSP gene transcription by targeting the inverted CCAAT, CRE and FRE elements in the rat BSP gene promoter.

Co investigator without membership: Xinyue Li, Zhengyang Li, Shuang Wang, Zhitao Wang

低濃度 LPS 刺激条件下の脂肪細胞・マクロファージ共培養系における脂肪細胞の網羅的遺伝子発現解析

- 1)広島大学大学院医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻 顎口腔頸部医科学講座 健康増進歯学分野
2)岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 病態機構学講座 歯周病態学分野
3)日本大学松戸歯学部生化学教室
山下明子¹⁾, 曾我賢彦²⁾, 岩本義博²⁾, 安孫子宜光³⁾, 西村英紀¹⁾

Microarray analyses of the genes differentially expressed in adipocytes co-cultured with macrophages stimulated with LPS

- 1)Department of Dental Science for Health Promotion, Division of Cervico-Gnathostomatology, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences 2)Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences 3) Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo
○Akiko Yamashita¹⁾, Yoshihiko Soga²⁾, Yoshihiro Iwamoto²⁾, Yoshimitsu Abiko³⁾, Fusanori Nishimura¹⁾

【目的】

近年、脂肪細胞からのアディポサイトカイン産生に、マクロファージが関与する可能性が報告された。すなわち、脂肪細胞周囲血管に集積したマクロファージに由来するサイトカインが脂肪細胞に働いてアディポサイトカイン産生が亢進し、糖尿病や動脈硬化が増悪するという、脂肪細胞・マクロファージ相互作用説である。一方、高感度CRPの上昇が虚血性心疾患の予知因子として有用であるという事実に代表されるように、歯周病のような軽微な慢性感染症が、動脈硬化の増悪因子として働く可能性が示唆されている。演者らは、脂肪細胞・マクロファージ共培養系を、軽微な慢性感染症を想定した低濃度 LPS で刺激した場合、IL-6, MCP-1, RANTES, KC といったアディポサイトカインの産生性が著しく亢進することを報告した(Yamashita A *et al.*, Obesity, 2007)。そこで、脂肪細胞-マクロファージ共培養系において、細菌由来 LPS がこれらのサイトカイン以外にも、メタボリックシンドロームや動脈硬化の病態形成にかかわるとされる重要な遺伝子群の発現に影響を及ぼすとの仮説を設けた。そのためここでは、脂肪細胞-マクロファージ共培養系において、LPS を作用させた際に脂肪細胞で発現が変動する遺伝子群を DNA マイクロアレイの手法を用いて網羅的に解析することとした。

【方法】

1. 細胞およびその培養

マウスマクロファージ由来細胞株 RAW264.7 とマウス由来前駆脂肪細胞株 3T3-L1 を使用した。3T3-L1 を通常法に従って分化誘導し、誘導開始から 14 日後の細胞を分化脂肪細胞として用いた。

2. マクロファージ・脂肪細胞の共培養および LPS 刺激

分化 3T3-L1 および RAW264.7 を、小孔を有するメンブレンで上室と下室が分離され液性因子のみが各室間を移動できるようにしたトランスウェルシステムで共培養し、両細胞を *E. coli* LPS (1ng/ml) で刺激した。同時に対照として LPS 未刺激の系も設けた。

3. RNA の回収

刺激開始から 0, 4, 8, 12, 24 時間経過した時点で脂肪細胞から、Qiagen RNeasy Lipid Tissue Mini Kit を用いて RNA を回収した。

4. 遺伝子解析

DNA マイクロアレイ法(Affymetrix)にて各設定時間における脂肪細胞の発現遺伝子群を LPS 未刺激の細胞における発現遺伝子群と比較した。

【結果と考察】

脂肪細胞-マクロファージ共培養系を LPS 刺激した場合、刺激が無い場合と比較して、これまで蛋白レベルで産生性が亢進することを明らかにした IL-6, MCP-1, RANTS, KC の遺伝子発現も著しく亢進した。すなわち、本アレイ解析の有効性が蛋白質の翻訳レベルで確認できたものと考えられる。K-means comparison を用いたクラスター解析の結果、NF- κ B 転写因子の支配を受ける遺伝子群の顕著な発現亢進が観察された。さらに、発現量に著明な差を認めた個々の遺伝子について検討した結果、インスリン抵抗性や動脈硬化の進行を助長する可能性のある遺伝子群の発現量が著しく変動することが明らかとなった。すなわち、歯周病のような慢性の微細感染症に由来する抗原が、マクロファージの活性化を介して脂肪組織における炎症性変化を遺伝子の転写レベルで亢進させる可能性が考えられた。またこれにより動脈硬化や糖尿病といったいわゆるメタボリックシンドロームの病態がさらに増悪する可能性が示唆された。

Oncostatin M と IL-1beta は相乗的にヒト歯肉線維芽細胞のケモカイン産生および接着分子発現を誘導する

1) 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 歯科保存学分野 2) 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔保健支援学分野

○ 細川義隆 1)、細川育子 1)、尾崎和美 2)、中江英明 1)、松尾敬志 1)

Oncostatin M and IL-1beta synergistically induce chemokines production and adhesion molecules expression by human gingival fibroblasts.

1) Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School, 2) Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School

○ Yoshitaka Hosokawa 1), Ikuko Hosokawa 1), Kazumi Ozaki 2), Hideaki Nakae 1) Takashi Matsuo 1)

【研究目的】

Oncostatin M (OSM)はinterleukin (IL)-6 familyに属するサイトカインで、gp130/OSM receptor-beta (OSMRbeta)あるいはgp130/leukemia inhibitory factor receptor (LIFR)をレセプターとすることが分かっている。歯周組織においては健康歯肉と歯周炎における歯肉溝浸出液中のOSM濃度を比較すると歯周炎においてより高濃度のOSMが検出されるという報告はあるが、OSMの歯周組織構成細胞に与える影響に関する報告はほとんどない。

また、IL-1betaは炎症性サイトカインの一種であり、歯周組織構成細胞のサイトカイン産生ならびに接着分子発現を誘導することにより、歯周炎の発症および進行に関与している事が示唆されている。しかしながら、OSMとの相互作用に関しては報告がなく不明な点が多い。

本研究では歯周組織の主な構成細胞の一つであるヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) に与えるOSMとIL-1betaの関与、特にTh1細胞浸潤に関与しているとされるCXCL9, CXCL10およびCXCL11ならびに炎症性細胞浸潤・定着に関与している接着分子であるICAM-1発現に与える影響について解析を行った。

【材料および方法】

HGFsは智歯抜歯時に正常歯肉組織よりout growth法により分離し、10%FBSを含むDMEM培地にて培養し実験に用いた。まず、HGFsのOSMレセプター発現をRT-PCRおよびflow cytometryを用い解析した。次に、HGFsをOSMおよびIL-1betaで刺激しCXCL9, CXCL10およびCXCL11産生をELISA法で、ICAM-1発現をflow cytometryを用い解析した。また、IL-1betaがgp130ならびにOSMRbeta発現に与える影響、ならびにOSMがIL-1 receptor type 1 (IL-1R1)発現に与える影響をflow cytometryを用い解析した。最後にnuclear factor kappa B (NF-kappaB)経路の関与を調べるためにIkappaB-alphaのリン酸化をwestern blot法を用い解析した。また、一部の実験ではNF-kappaB阻害剤でHGFsを前処理した後、OSMおよびIL-1betaでHGFsを刺激し、ケモカイン産生ならびに接着分子発現を解析した。

【成績】

HGFsはOSMレセプター (gp130, OSMRbeta)を発現していた。また、OSMとIL-1betaは相乗的にHGFsのCXCL9, CXCL10およびCXCL11産生ならびにICAM-1発現を誘導した。IL-1betaはOSMRbeta発現を増強し、OSMはIL-1R1発現を増強した。さらに、OSMとIL-1betaの共刺激は単独刺激と比較し、IkappaB-alphaのリン酸化を増強した。また、OSMとIL-1betaが誘導したCXCL10産生およびICAM-1発現はNF-kappaB阻害剤により抑制された。

【考察および結論】

今回の結果より、HGFsにはOSMのレセプターであるgp130ならびにOSMRbetaが機能的に発現し、OSMとIL-1betaはTh1ケモカインであるCXCL9, CXCL10およびCXCL11産生ならびに接着分子であるICAM-1発現を誘導することが明らかとなった。また、その相乗効果はお互いのレセプター発現を増強させることが原因の一つであると考えられた。さらに、OSMとIL-1betaの相乗効果にはNF-kappaBを介した経路に関与している事も示唆された。

これらの結果より、OSMはIL-1betaとともにTh1ケモカインや接着分子発現を誘導することにより、Th1細胞浸潤ならびに炎症性細胞定着に関与し、歯周炎の発症・増悪に関与していることが示唆された。

cAMP Regulation of Bone Sialoprotein Gene Expression in Human Prostate Cancer Cells

Departments of Periodontology¹ and Research Institute of Oral Science².

Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba, Japan.

Tianjin Stomatology Hospital, Tianjin, China³.

Zhengyang Li³, Hideki Takai^{1,2}, Shouta Araki¹, Masaru Mezawa¹, Yoko Sasaki¹
and Yorimasa Ogata^{1,2}

Introduction: Forskolin (FSK) activates adenylate cyclase and elevates intracellular cAMP level. And intracellular cAMP level has great relationship with BSP transcription. Bone sialoprotein (BSP) is a mineralized tissue-specific protein expressed by differentiated osteoblasts that appears to function in the initial mineralization of bone. To determine the molecular mechanism of FSK regulation of osteogenesis, we analyzed the effects of FSK on the expression of BSP in human prostate cancer cells.

Masteries and Methods: To investigate the transcriptional regulation of BSP. We conducted real-time PCR [BSP, Runx2, Osterix, estrogen receptor (ER) and androgen receptor 1 (AR1)], transient transfection analyses with chimerical constructs of the human BSP gene promoter linked to a luciferase reporter gene, and gel mobility shift assays using radiolabeled double stranded oligonucleotides [cAMP response element (CRE) and FGF2 response element (FRE)].

Results: Treatment of DU145 cells with FSK (1 μ M) for 6 and 12 h, resulted in increased in the mRNA levels of BSP, Osterix, ER and AR1. On the other hand, Runx2 mRNA level did not change after stimulation by FSK. In transient transfection analyses, using various sized human BSP gene promoter linked to luciferase reporter gene, FSK (1 μ M, 6 h) stimulated luciferase activity of the construct (-184humanBSPLUC), which encompasses nucleotides -184 to +60 transfected into DU145 cells. The effects of FSK were partially inhibited by protein kinase C (PKC) inhibitor H7, and almost complete inhibited by protein kinase A (PKA) inhibitor H89. Mutation in the CRE1 (-79~-72), CRE2 (-673~-666) and double mutation in CRE1 and CRE2 elements reduced the effects of FSK on the transcriptional activities. Gel mobility shift assays using two CREs (CRE1 and CRE2) and FRE ds-oligonucleotides revealed increased binding of nuclear proteins from FSK (1 μ M, 6 h) stimulated DU145 cells. The CRE1-protein complexes formation was inhibited by anti-CREB1 antibody and supershifted by anti-phospho CREB1 and anti-Smad1 antibodies.

Conclusion: These studies indicated that FSK (1 μ M) increased BSP gene transcription through PKC and PKA dependent pathways and that the FSK effects were mediated through CRE1, CRE2 and FRE elements in the human BSP gene promoter.

Co investigalor without membership: Xingyue Li, Li Yang, Zhitao Wang and Shuang Wang.

細胞間接着装置及びケモカインに着目した歯肉上皮細胞の防御機構の解明

広島大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野

○藤田 剛, 柴 秀樹, 加治屋幹人, 岸本亮義, 内田雄士, 林田浩一, 松田真司, 河口浩之, 栗原英見
The defensive system of human gingival epithelial cells by regulating intercellular junctional complex and chemokine.

Department of periodontal Medicine, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University
○Tsuyoshi Fujita, Hideki Shiba, Mikihiro Kajiyama, Akiyoshi Kishimoto, Yuushi Uchida, Kouichi Hayashida, Shinji Matsuda, Hiroyuki Kawaguchi, Hidemi Kurihara

歯周病は細菌感染に対する宿主の免疫応答の結果として歯周組織が破壊される疾患である。歯肉上皮細胞は歯周病原細菌の侵入に対して、物理的なバリアーとして、あるいは抗菌ペプチドなどを産生することによって防御的に機能する。その一方で、上皮細胞は細菌刺激に対して炎症性サイトカインを産生し炎症の惹起に関与している。上皮細胞には tight junction, adherence junction, gap junction, desmosome の細胞間接着装置が存在する。これらの細胞間接着装置の発現制御機構を解明することは、歯周病原細菌に対する防御機構の解明、および歯周病発症のメカニズムの解明につながると考えられる。本研究ではヒト歯肉上皮細胞 (HGEC) 培養系において、歯周病原細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) が細胞間接着装置、およびサイトカイン発現に及ぼす影響、さらに MAP kinase の関与について検討した。

方法

- 1) 細胞培養: HGEC は健康な歯肉組織から酵素消化法によって分離し、3-4 代継代培養したものを実験に使用した。培地は Hu-mediaKB2 に insulin, transferrin, 2-mercaptoethanol, sodium selenite, bovine pituitary extract を添加したものを用いた。
- 2) HGEC に p38 MAP kinase inhibitor である SB203580, あるいは ERK inhibitor である PD98059 存在下または非存在下で heat-killed *Aa* を作用させ、total RNA および cell layer を回収した。tight junction の構成タンパク質である claudin-1, adherence junction を構成する E-cadherin の発現を real-time PCR 法, Western blotting を用いて mRNA および蛋白レベルで分析した。さらに細胞培養上清中の CXCL-1, CXCL-2, CXCL-3, CXCL-8 量を ELISA を用いて測定した。
- 3) *Aa* 刺激下 HGEC における p38 MAP kinase, ERK のリン酸化は Western blotting を用いて分析した。

結果

- 1) *Aa* は HGEC の claudin-1 発現を時間依存的に増加した。またその発現増加は SB203580 によって抑制された。
- 2) *Aa* は HGEC の E-cadherin 発現を時間依存的に抑制したが、その抑制は SB203580 の添加により阻害された。
- 3) HGEC への *Aa* の添加は、CXCL-1, CXCL-2, CXCL-3, CXCL-8 の産生を時間依存的に増加した。また、PD98059 はその発現増加を抑制した。
- 4) *Aa* は HGEC の p38 MAP kinase, ERK のリン酸化を促進した。

考察

歯肉上皮細胞への *Aa* 刺激は、歯肉上皮細胞のバリアー機能によって tight junction を構成する claudin-1 の発現を増加させる一方、adherence junction 構成タンパク質の E-cadherin を低下させた。また、同時に *Aa* は上皮細胞のケモカイン産生を促進した。*Aa* 菌の上皮細胞への感染は、細胞間接着、およびケモカインという防御関連タンパクに異なる経路を介して影響を与えることが示唆された。

BSP 遺伝子の発現に対する骨関連転写因子の効果

日本大学松戸歯学部歯周病学講座¹, 口腔科学研究所²

○ 高井英樹^{1,2}, 荒木正大¹, 目澤優¹, 佐々木庸子¹, 中山洋平^{1,2}, 小方頼昌^{1,2}

Effects of Bone Related Transcription Factors on Bone Sialoprotein Gene Expression

Departments of Periodontology¹ and Research Institute of Oral Science²,

Nihon University School of Dentistry at Matsudo

Hideki Takai^{1,2}, Shouta Araki¹, Masaru Mezawa¹, Yoko Sasaki¹, Youhei Nakayama^{1,2}

and Yorimasa Ogata^{1,2}

キーワード: 骨シアロタンパク質、遺伝子発現、転写因子

【目的】骨シアロタンパク質 (BSP) は石灰化初期に硬組織特異的に発現し、アパタイト結晶形成能を有することから、初期の石灰化において重要な役割を果たすと考えられている。転写因子は遺伝子プロモーター領域に特異的に結合するタンパク群であり、プロモーター上のエンハンサーやサイレンサー等の転写を制御する領域に結合し、DNA の遺伝情報を RNA に転写する過程を促進、あるいは逆に抑制する。転写因子は、一般的にこの機能を他の蛋白質と複合体を形成することで実行する。今回は、転写因子として Runx2、Dlx5、c-Src および Smad1 を過剰発現させ BSP の転写調節を明らかにした。

【材料および方法】1) ラット骨芽細胞様細胞である ROS17/2.8 細胞を用いて、BSPmRNA 発現に対する FGF2 (10 ng/ml) の効果および Runx2mRNA 発現に対する転写因子 (Runx2、Dlx5、c-Src および Smad1) の効果を Real-time PCR 法にて検索した。2) ROS17/2.8 細胞を用いて、Runx2 タンパク量に対する FGF2 の効果を検索した。3) ROS17/2.8 細胞を用いて、BSP mRNA 発現に対する転写因子 (Runx2、Dlx5、c-Src および Smad1) の効果をノーザンハイブリダイゼーション法にて検索した。4) 長さの異なるラット BSP プロモーターを挿入したルシフェラーゼプラスミドを使用し、転写因子 (Runx2、Dlx5、c-Src および Smad1) の BSP の転写活性に対する影響をルシフェラーゼアッセイにより検索した。

【結果】1) Real-time PCR 法の結果、FGF2 刺激 6 時間後に BSPmRNA 量は増加し、12 時間後に最大となった。また、ROS17/2.8 細胞に Runx2 および Dlx5 発現プラスミドを導入し、細胞内での Runx2 および Dlx5 タンパクを過剰発現させると、Runx2 mRNA 量は増加した。c-Src および Smad1 発現プラスミドを導入すると、Runx2 mRNA 量は変化しなかった。2) Western blot の結果、FGF2 刺激 3 時間後に Runx2 タンパク量は増加し、その後 12 時間まで変化は認められなかった。3) ノーザンハイブリダイゼーション法の結果、ROS17/2.8 細胞に Runx2 および Dlx5 発現プラスミドを導入し、細胞内での Runx2 および Dlx5 タンパクを過剰発現させると、BSPmRNA 量は増加した。c-Src および Smad1 発現プラスミドを導入しても BSPmRNA 量に変化は認められなかった。4) Runx2 および Dlx5 タンパクを過剰発現すると、pLUC3 (-116~+60) および pLUC4 (-425~+60) ルシフェラーゼコントロールの転写活性が上昇し、c-Src および Smad1 では変化しなかった。

【考察及び結論】ROS17/2.8 細胞を FGF2 刺激すると Runx2 タンパク量および BSPmRNA の発現の増加が認められた。BSP 遺伝子の転写調節に関与する Runx2 および Dlx5 タンパクを過剰発現させると、BSP プロモーター配列中の FGF2 応答配列 (FRE) およびホメオボックス応答配列 (HOX) に結合し、BSPmRNA の発現を増加させたと考えられた。さらに骨芽細胞分化に必須である Runx2mRNA の発現も同様な結果が得られた。このことから、ROS17/2.8 細胞において Runx2 および Dlx5 が BSP および Runx2 の転写調節に重要であることが示唆された。

Muramyl-dipeptide (MDP) による炎症性サイトカイン産生およびエンドトキシンショック増強効果とそのメカニズム解析

東北大学大学院歯学研究科口腔生物学講座歯内歯周治療学分野

○四釜洋介, 島内英俊

Effects of muramyl-dipeptide (MDP) on the augmentation of LPS-induced pro-inflammatory cytokine productions and endotoxin-shock

Division of Periodontology and Endodontology Tohoku University Graduate School of Dentistry

○Shikama Y and Shimauchi H

【目的】

歯周疾患は種々のリスクファクターが関与する炎症性疾患であるが、その歯周組織の破壊に最も重要な因子と考えられているのが歯周病原性細菌由来リポ多糖 (LPS) である。LPS は、*in vivo*, *in vitro* において様々な細胞から炎症性サイトカインを誘導することが知られている。

同じく歯周病原性細菌の菌体成分である peptidoglycan も多彩な生物活性を示し、その活性を担う最小構成単位が muramyl-dipeptide (MDP) である。マウスにおいて、LPS と MDP の同時または MDP 前投与はエンドトキシンショックや炎症性サイトカイン産生を著しく増強するが、MDP 単独投与による注目すべき効果はみられず増強の機序は不明である。そこで本研究では *Escherichia coli*, *Porphyromonas gingivalis* LPS を用い、MDP 前投与による炎症性サイトカインとエンドトキシンショック増強効果について解析した。

【材料及び方法】

- ① マウス: BALB/c (雄, 6~8 週齢); WT (Wild type), IL-1 KO (deficient in IL-1 α and IL-1 β), TNF KO (deficient in TNF- α) Triple (T) KO (deficient IL-1 α/β and TNF- α) を各々用いた。
- ② 菌体成分刺激: *E. coli* B55:O5 LPS, *P. gingivalis* 381 LPS および MDP (*N*-acetylmuramyl-*L*-alanyl-*D*-isoglutamine) は各々滅菌生理食塩水に対して所定濃度に溶解し、マウス尾静脈より投与した。なお、LPS 刺激は MDP 投与後 4 時間で行った。
- ③ エンドトキシンショックの評価: マウス直腸温により評価した。
- ④ 炎症性サイトカイン: IL-1 β , IL-6, IL-12, TNF- α , IFN- γ の産生量は ELISA 法を用いて、また IL-1 β については western blotting 法及び qRT-PCR 法により、さらに解析した。
- ⑤ SOCS (Suppressor of Cytokine Signaling) 1 の発現: western blotting 法及び qRT-PCR 法により解析した。

【結果および考察】

- ① WT マウスにおいて、MDP 前投与はエンドトキシンショックを顕著に増強したが、上記 KO マウスでは、この増強効果は見られなかった。
- ② WT マウスへの MDP 投与により、組織中の pro-IL-1 β は増加したが、血中での増加は見られなかった。また、IL-1 β を前駆体から活性型に変換する酵素である caspase-1 に有意な変化は見られなかった。
- ③ WT マウスにおいて、MDP 前投与により、*E. coli* LPS による組織および血清中 IL-1 β 産生が増強された。
- ④ WT, IL-1 KO マウスにおいて、MDP 前投与により、*E. coli* LPS による組織および血清中 TNF- α 産生が増強された。
- ⑤ WT マウスへの MDP 投与により、サイトカインシグナルを負に制御する調節因子である SOCS1 の組織における発現が減少した。
- ⑥ MDP 前投与マウスでは、*E. coli* LPS 投与によって組織及び血清での IL-12 p40 が、また血清中 IFN- γ (TNF- α も含め、これらサイトカインは SOCS1 により制御されている) の産生が増強された。
- ⑦ MDP 前投与マウスでは、*P. gingivalis* LPS 投与により血清中 TNF- α 産生が増強された。

以上の結果から LPS の作用に対する MDP の増強効果の機序には、MDP による組織中での pro-IL-1 β の増加と SOCS1 の減少が関係する事が示唆された。

会員外共同研究者: 高田春比古 (東北大学, 口腔細菌学)

黒石智誠, 永井康弘, 菅原俊二, 遠藤康男 (東北大学, 口腔分子制御学)

アナターゼ型二酸化チタンの光触媒作用の解析

松本歯科大学 歯科保存学第2講座¹ 松本歯科大学 歯科保存学第1講座²

佐藤将洋¹ 横井由紀子² 河瀬雄治¹ 安西正明¹ 吉成伸夫² 山本昭夫¹ 笠原悦男¹

Analysis of Photocatalytic Effect of Anatase-Titanium dioxide (TiO₂)

Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University¹

Department of Periodontology, Matsumoto Dental University²

Masahiro Sato¹ Yukiko Yokoi² Yuji Kawase¹ Masaaki Anzai¹ Nobuo Yoshinari² Akio Yamamoto¹
Etsuo Kasahara¹

【目的】

二酸化チタンは、組成式 TiO₂ で単に酸化チタンとも呼ばれる。光触媒作用を有する TiO₂ には、結晶構造の異なる3種類の多型、すなわちルチル型（正方晶高温型）、アナターゼ型（正方晶低温型）、ブルッカイト型（斜方晶）が知られており、紫外線部波長の光を照射することにより活性酸素や OH ラジカルなどが発生する。これらのラジカルは消毒や殺菌作用を示し、また、有機物を主体とした汚染物質や臭いの成分（主として有機化合物）を炭酸ガスと水などに酸化分解する作用を有する。従来よりこれらの光触媒活性を歯科領域（予防充填材への添加や、歯牙漂白など）へ応用させるための研究が行われている。

アナターゼ型 TiO₂ は、他の結晶型よりも結晶の表面積が大きく、また粒子径が小さく光触媒作用を有しており、粒子表面をコーティングしていないため光触媒作用が強いという特徴を有している。今回注目したアナターゼ型 TiO₂-ST シリーズは、光触媒活性が非常に高く、また、有機バインダーなどへの分散に優れている。このような特徴を有する TiO₂ は、歯科領域においてまだ研究、応用はされていない。

本研究は、アナターゼ型 TiO₂ を歯科領域で応用して行くための基礎的データ収集を目的として2種 TiO₂ の光触媒作用を検討した。

【材料および方法】

二酸化チタンは、石原産業の ST シリーズの ST-01（粒子径 7nm）と ST-21（粒子径 20nm）を使用した。

二酸化チタン ST-01 と ST-21 の粒子形状を見るために透過型電子顕微鏡（TEM：H-7600）を用いた。二酸化チタンは原料や製法によって結晶構造や結晶性が異なるため、X線回折装置（XRD）を用いて結晶構造を調べた。光触媒作用の解析としては、試料 10mg を 1.5ml セミマイクロキュベットに採取し、1時間 37度インキュベーターに安置（遮光）後、メチレンブルー（MB）溶液 1ml を入れた。パラフィルムでシールしトランスイルミネーター TOYOBO model TSL-20 を使用し、365nm, 10,000 microwatts / cm² の紫外線を照射し、経過時間を追って MB の退色変化を検討した。

【結果および考察】

ST-01 粒子径は直径約 7nm であり、ST-21 の粒子径は直径約 28nm であった。ST-01 の一次粒子は小さいが、凝集性を有し直径約 20nm の二次粒子を形成している。X線回折により ST-01 と ST-21 は、アナターゼ型二酸化チタンであると同定された。ST-01 は、ST-21 と比較し MB の吸光度（668nm）を有意に低下させた。また、両者とも照射後 2分 で吸光度を低下させその後ほぼ一定となった。その後、紫外線を再照射すると MB の退色が認められた。また紫外線照射時間を長くすると吸光度も大きく低下した。

【結論】

二酸化チタンの光触媒作用は、粒子径が小さいほど、UV 照射時間が長いほど、強くなる事が確認された。また、紫外線照射後 2分以内に光触媒作用を発揮する事が明らかとなった。

本結果より光触媒作用を有する ST-01, ST-21 は、歯牙漂白などの歯科領域への応用が示唆された。

血小板活性化因子(PAF)の脊髄腔内投与によるアロディニア発症へのグリシン受容体 $\alpha 3$ の関与

¹⁾広島大学大学院歯薬学総合研究科顎口腔頸部医学講座(健康増進歯学分野), ²⁾病態探究医学講座(歯科薬理学), ³⁾広島大学名誉教授, ⁴⁾山口整形外科

○本山 直世¹⁾, 森田 克也²⁾, 北山 友也²⁾, 西村 英紀¹⁾, 土肥 敏博^{3),4)}

Glycine receptor $\alpha 3$ (GlyRa3) mediation of tactile allodynia induced by platelet-activating factor (PAF) through cGMP signaling in spinal cord in mice.

¹⁾Department of Dental Science for Health Promotion, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences, ²⁾ Department of Dental Pharmacology, Division of Integrated Medical science, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences, ³⁾ Professor of Emeritus, Hiroshima University, ⁴⁾Yamaguchi Orthopedic Hospital

○Naoyo Motoyama¹⁾, Katsuya Morita²⁾, Tomoya Kitayama²⁾, Fusanori Nishimura¹⁾, Toshihiro Dohi^{3),4)}

【緒言】

血小板活性化因子(PAF)は、種々の組織で細胞外からの刺激に反応して、細胞膜エーテル型リン脂質から phospholipase A2 によりアラキドン酸と同時に産生され、炎症・免疫系細胞の活性化、強い血管透過性亢進作用や気管支収縮作用、妊娠・分娩、循環系など多彩な生理・病態生理に関係するオートコイドとしての作用が注目されている。私達は、すでに歯髄炎、歯周炎等の炎症部位で PAF 濃度が高いことを報告してきた。PAF は末梢組織では強い血管透過性をもつ炎症性メディエーターとされているが、PAF を末梢に投与しても痛みが惹起されない等、疼痛反応における PAF の役割については明らかではない。本研究では、脊髄における PAF の疼痛制御への役割、特に通常痛みを感じない触覚などの非侵害刺激に対して強い痛みを感じるアロディニアの発症について検討した。

【実験方法】

実験には ddy 系雄性マウスを用い、薬物は人工脳脊髄液 (ACSF) 5 μ l に溶解し第 5, 第 6 腰椎間から脊髄腔内投与(i.t. 投与)または静脈内投与 (i.v.投与)した。脊髄 GlyRa3 ノックダウンマウスは、GlyRa3 遺伝子の特異的配列から siRNA を作成し、i.t.投与することにより作成した。アロディニア反応は、ペイントブラシによる軽い触覚刺激に対するアロディニアスコアと von Frey hairs フィラメントによる足蹠刺激に対するマウス後足の逃避行動閾値により評価した。

【結果ならびに考察】

PAF 0.1 pg の i.t.投与により直ちにペイントブラシによる軽い接触刺激に対して強力なアロディニア反応を引き起こし、von Frey 刺激による逃避反射閾値においても顕著な閾値低下を認めた。PAF 誘発アロディニア反応は、PAF 受容体拮抗薬前処置により完全に消失し、PAF 受容体を介してアロディニアが発現することが明らかとなった。

脊髄においてATPやグルタミン酸がアロディニア発現に重要な役割を果たしている。PAF誘発アロディニア反応は、P2X受容体阻害薬、NMDA受容体阻害薬およびNO合成酵素阻害薬により抑制された。従って、PAF受容体刺激によりATPが遊離され、P2X受容体活性化を介してグルタミン酸を遊離し、NMDA受容体/NOカスケードを活性化してアロディニアを誘発する可能性が示唆された。NOドナー、膜透過性cGMPアナログpCPT-cGMPのi.t.投与によりアロディニアを認めた。NO合成酵素阻害薬は、PAFおよびグルタミン酸誘発アロディニアを抑制したが、NOドナー、8-pCPT-cGMP誘発アロディニアには影響しなかった。NOスカベンジャー、可溶性グアニル酸シクラーゼ阻害薬i.t.投与は、PAF,グルタミン酸、NOドナー誘発アロディニアを抑制したが、cGMPアナログによるアロディニア誘発には影響しなかった。cGMP依存的プロテインキナーゼ(PKG)阻害薬のi.t.投与はPAF,グルタミン酸、NOドナー、cGMPアナログによるアロディニア誘発を抑制した。

特異的siRNAをi.t.投与し、脊髄グリシン受容体 $\alpha 3$ (GlyRa3)ノックダウンマウスを作成した。PAF, ATP, グルタミン酸、NOドナー、cGMPアナログによるアロディニア発現は、GlyRa3ノックダウンにより著明に抑制されたが、ミュータントsiRNAでは抑制されなかった。PAF誘発アロディニアにcGMP/PKGによるグリシン受容体機能の抑制が関与する可能性が示唆された。

以上より、PAFは脊髄においてATP、グルタミン酸の遊離を介してアロディニアを誘発し、その機序にNMDA受容体の活性化とそれに伴うNO産生とそれに続く可溶性グアニル酸シクラーゼ、PKG活性化が重要な役割を果たしており、PKGはGlyRa3を標的とし痛みシグナル伝達抑制系を脱抑制することによりアロディニア発現に関与することが示唆された。また、歯科領域における炎症や組織損傷によって誘発されるアロディニアにPAFが関与する可能性が考えられた。

マウス胎仔顎下腺における *Barx2* の発現と局在

奥羽大学歯学部歯科保存学講座修復学分野
中貴弘、横瀬敏志

Immunohistochemical Localization of *Barx2* in the Developing Fetal Mouse Submandibular Glands.
Division of Operative Dentistry Department of Conservative Dentistry Ohu University School of
Dentistry
Takahiro Naka and Satoshi Yokose

【目的】唾液は口腔の健康維持に不可欠であり、唾液分泌低下は歯周病やう蝕の憎悪をもたらす。そのため、対症療法として人工唾液などが応用されているが、患者の QOL を考えた場合、患者の生体由来細胞から唾液腺組織を再生させることが最も優れた方法である。再生医学を研究する際には、発生学の知識が必須なのは言うまでもない。マウス胎仔顎下腺（以下 SMG）は、胎生 11.5 日（以下 E11.5）に口腔上皮組織が肥厚し、神経堤細胞由来の間葉組織中に陥入することにより開始される。その後、分枝形態形成と呼ばれる特徴的な上皮間葉相互作用により形態形成が行われ、唾液腺特有の形態が構築される。E16 では SMG 内で腺房細胞の分化が開始され、分泌物の生成が開始されるなどの機能的分化が開始される。これらの過程は、シグナル因子とホメオボックス遺伝子の相互作用により調節されていることが報告されている。そこで今回、我々は毛包や腸管など、上皮間葉相互作用により形態形成が行われる器官の発生に関与することが報告されているホメオボックス遺伝子の 1 つである *Barx2* に着目し、SMG の発生においてどのような関与を果たすのかを、免疫組織化学的ならびに分子生物学的に検討した。また、ホメオボックス遺伝子が細胞接着因子などの発現を調節することで、発生に関与していることも知られている。そこで、*Barx2* との関連が示唆されている神経接着因子である NCAM-L1 の発現もあわせて検討し、知見を得たので報告する。

【材料と方法】実験には、E11.5～18.5 の ICR 系マウス胎仔を用いた。母体より摘出した胎仔を 10% 中性緩衝ホルマリンにて固定後、通法に従ってパラフィンに包埋し、前頭断にて連続切片を作成した。同切片を用いて、H-E 染色および抗マウス由来 *Barx2* ラビットポリクロナール抗体、抗マウス由来 NCAM-L1 ラビットポリクロナール抗体を一次抗体とし、avidin biotin complex 法を用いた免疫組織化学的染色を行った。染色を行った切片は、光学顕微鏡下で観察した。また、胎生各時期より摘出した SMG より total RNA を抽出し、cDNA を作成、これを鋳型として Real-time PCR を行った。

【結果と考察】免疫組織化学的染色の結果、E11.5 の胎仔では、SMG 形成予定部の上皮組織を形成する細胞の核内に、抗 *Barx2* 抗体陽性像を認めた。E12.5 では、H-E 染色にて上皮組織が間葉組織中に陥入する所見を認めたが、上皮組織を構成する細胞の核内に、抗 *Barx2* 抗体陽性像を認めた。E13.5 では、H-E 染色にて分枝する上皮組織が認められたが、上皮組織を構成する細胞の核内に限局して、抗 *Barx2* 抗体陽性像が認められた。E14.5 になると、上皮組織を構成する細胞の核内に認められた染色陽性像が、現弱する所見が認められた。E16.5 には、染色陽性像が消失する所見を認めた。Real-time PCR を用いた *Barx2* の mRNA 発現を調べた結果、E14.5 で最も高い *Barx2* の発現が認められ、胎生が進むにつれて発現量が減少する所見を認めた。以上の結果より、*Barx2* は、SMG の分化期ではなく、発生期における上皮組織の細胞に対して、関与を有する可能性が示唆された。一方、抗 NCAM-L1 抗体を用いた免疫組織化学的検索では、E12.5 から 18.5 の SMG 上皮組織に発現陽性像が認められたが、E18.5 では発現が減弱する所見が認められた。*Barx2* と NCAM-L1 の発現が上皮組織に限局し、分化期では発現が減弱する所見から、*Barx2* は NCAM-L1 の発現を調節し、結果として SMG の分子形態形成を調節している可能性が示唆された。

【結論】*Barx2* は、SMG 発生期に関与する可能性が示唆された。

下顎頭軟骨の発生における Indian Hedgehog の役割
東京歯科大学歯周病学講座
○渋谷義宏、太田幹夫、山田 了

Role of Indian Hedgehog during mandibular condyle development
Department of Periodontology, Tokyo Dental College
○Yoshihiro Shibukawa, Mikio Ota and Satoru Yamada

研究目的：顎関節は顎運動をつかさどる重要な器官であるため、咬合、咀嚼などの口腔機能と深く関わっている。顎関節は胎児期、小児時期に形成された形態が様々な機能的因子（年齢、性別、機能力、歯牙の有無、食性の変化など）から影響を受け、それらの因子はその後の形態形成に影響を及ぼしていると考えられる。一方、顎関節は機能的あるいは器質的な変化から障害を起し、临床上、さまざまな問題を引き起こすことも知られている。しかし、顎関節の形態形成を制御するメカニズムは不明な点が多く、分子生物学的な解析は少ない。Indian Hedgehog (Ihh) は軟骨細胞の増殖や分化を制御することにより四肢や体幹の骨格形成において重要な役割を担うことが知られている。本研究の目的は顎関節および下顎頭の形態形成におけるIhhの役割を明らかにすることである。

材料および方法：胎生15日齢から生後2ヶ月齢までのIhhノックアウト (KO) マウスおよび正常マウスを用い、顎関節および下顎頭の形態形成における細胞増殖、骨・軟骨関連遺伝子および関節関連遺伝子の時空間的な発現をin situ ハイブリダイゼーション法により検索した。

成績：正常胎生期マウスでは、Ihhは前肥大軟骨細胞に発現が認められ、Ihhの受容体であるPatched (Ptch1)およびSmoothed (Smo)や下流シグナルのグリ転写調節因子群 (Gli1, 2, 3) は軟骨細胞だけでなく、その上層の増殖層の前軟骨細胞、表層部の線維層、さらに顎関節円板原基の細胞にも認められた。生後には顎関節円板や関節腔が明瞭に認められ、関節腔の滑膜に沿ってLubricin (滑液の主な構成成分) の発現が認められた。一方、Ihh KOマウスでは、種々の細胞増殖に関与する副甲状腺関連蛋白 (以下、PTHrP) の発現が表層部で消失し、前軟骨細胞の増殖が抑制された結果、軟骨細胞は早期に成熟することにより肥大層は菲薄化し、下顎頭は著しく短縮していた。さらに、顎関節円板および上下関節腔の形成は見られず、Lubricinの発現も認められなかった。

考察および結論：正常な胎生期下顎頭の発生過程において、Ihhは下顎頭表層部にPTHrPの発現を促し、増殖層の前軟骨細胞の増殖を維持し、肥大層においては軟骨細胞の最終分化を抑制することにより、軟骨細胞を維持していることが示唆された。さらに、Ihhは顎関節円板、顎関節腔の形成にも必須であることが示唆された。

実験的骨粗鬆症における雄ラットの下顎骨に関する研究

日本歯科大学新潟病院総合診療科
○馬場玲子、江面 晃

Research of experimental osteoporosis of the mandibula in male rat's
Niigata Hospital, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University
BABA Reiko, EZURA Akira

【研究目的】

加齢に伴い骨量が減少し骨は脆くなる。骨量の減少が生理的範囲を超えて認められた病態を骨粗鬆症という。骨はコラーゲンを主体とする有機質とカルシウム、リンを主体とする無機質の骨塩を主成分として形成されている。

カルシウム、リンを欠乏させ雄ラットに意図的に代謝障害を起こし、骨粗鬆症を生じさせたラットの下顎骨と大腿骨において骨がどのような変化をもたらすのかを目的とした。

【材料および方法】

1. 実験動物

週齢 14 週の Wistar 系ラット雄を 18 匹用いた。ラットに骨粗鬆症を惹起させるため、カルシウム、リン欠乏飼料を与えた実験群と通常飼料を与えたコントロール群に分け、実験期間を 10 週群と 20 週群として飼育した。実験終了後、エーテル麻酔下で屠殺、下顎骨と大腿骨を摘出し 10% 中性ホルマリンで固定した。右側下顎骨と大腿骨をマイクロ CT 撮影に、左側下顎骨と大腿骨は未脱灰研磨標本に使用した。

2. マイクロフォーカス X 線 CT (以下マイクロ CT) による測定

マイクロ CT (島津製作所: SMX-100T-SV) を用い、下顎骨は管電圧 60kV 管電流 23 μ A で第一大臼歯遠心側歯冠の最大膨隆部から近心側に、大腿骨は管電圧 63kV 管電流 23 μ A で骨幹端部の二次海綿骨を撮影した。撮影したデータを 3 次元解析ソフト (ラトック社製: 3D-BON) を用い海綿骨を抽出し骨梁構造解析を行った。

3. 組織標本作製および観察

10% 中性ホルマリン固定後、MMA 樹脂で樹脂包埋した。下顎骨は第一大臼歯遠心根を含むように近遠心断、大腿骨は大腿骨中央部で横断し未脱灰研磨標本を制作した。研磨標本を軟 X 線発生装置 (ソフテックス, C-SNM) を用いてコンタクトマイクロラジオグラム (以下 CMR) (イーストマンコダック, Type649-0) を管電圧 15.5kVp 管電流 3mA, 照射時間 20 分の条件で撮影した。

【結果】

3D-BON 解析による海綿骨の骨梁構造解析の平均値

	下顎骨				大腿骨			
	10週群	cont群	20週群	cont群	10週群	cont群	20週群	cont群
骨組織体(mm ³)	0.01±0.01	0.01±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.09±0.01	0.08±0.01	0.10±0.01	0.08±0.02
骨表面積(mm ²)	1.02±0.22	0.99±0.16	0.95±0.11	1.15±0.26	4.83±0.74	5.22±0.06	6.43±0.92	5.07±0.42
骨密度(%)	43.63±9.09	59.41±4.43	26.91±4.63	54.26±18.06	25.16±2.20	63.52±24.90	29.00±2.21	58.99±16.56
骨梁幅(μ m)	11.82±1.43	15.43±1.97	8.16±0.88	15.07±4.88	9.18±0.44	19.33±8.67	8.90±0.44	19.40±9.41
骨梁数(1/mm)	36.88±5.37	38.82±4.35	32.83±3.18	35.89±3.14	27.41±2.12	33.77±3.18	32.60±1.96	32.26±6.07
骨梁間隙(μ m)	15.86±4.88	10.54±1.71	22.54±3.50	12.93±5.75	27.49±3.02	10.46±6.17	21.87±1.94	12.43±3.52

【考察】

1. 下顎骨と大腿骨においてマイクロ CT, CMR 共にカルシウム、リン欠乏飼料群の方が海綿骨の空洞化および皮質骨の菲薄化が見られた。
2. 顎骨自体の形態的大きさに差は認められないが、骨密度、骨梁幅、骨梁間隙においては両群間において差が認められた。

20週群下顎骨のCMR



E-selectinの新機能：感染の制御

¹⁾国立長寿医療センター研究所 口腔疾患研究部

²⁾北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野

小松 寿明^{1,2)}, 江口 傑徳¹⁾, 杉浦 進介¹⁾, 猪俣 恵¹⁾, 古市 保志²⁾, 松下 健二^{1,2)}

E-selectin: A Novel Infection Regulator

¹⁾ Department of Oral Disease Research, National Institute for Longevity Sciences (NILS)

²⁾ Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

【研究目的】Eセレクトリン (ESEL) は、カルシウム要求型 (C型) レクチンに分類され、炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-1 β) による刺激で血管内皮の血管内腔側に表在化する。血中の白血球は、細胞表面の糖鎖シアリルルイスにより、このESELと結合・解離を繰り返した後、組織へと浸潤し異物処理に当たる。近年、歯周病患者と非肥満性2型糖尿病患者において血中可溶性Eセレクトリン (sESEL) 濃度が、健常人と比較して高値を示すことが報告され、疾患マーカーとして注目されている。しかし、そこでのsESELの発現・動態・機能は不明である。そこで我々は、血管内皮細胞および自作のsESEL産生細胞を用いて感染・炎症モデルを構築し、ここにおけるESEL/sESELの発現・動態・機能を検討した。

【材料・方法・結果】1. ESELの基本的な発現様式を知るために、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) に TNF- α を作用させ、ESEL mRNA の発現を PCR 法で、sESEL タンパク質を ELISA でそれぞれ経時的変化を定量した。その結果、TNF- α 刺激による ESEL mRNA 発現は 2 時間後にピークを迎え、8 時間後以降には収束した。細胞抽出液中の ESEL タンパク質量は、刺激後 2 時間で最大であり、培養上清中の sESEL 量は刺激後 2 4 時間で最大であった。2. sESEL の動態の理解を目的に、ヒト胎児腎由来細胞 (HEK293) へ GFP 融合 sESEL 発現プラスミド DNA を遺伝子導入し、安定形質 293/sESEL-GFP 細胞株を作製した。この細胞の培養上清中では、ELISA により 60 ng/ml 程度の sESEL-GFP が検出された。さらに、限外濾過により sESEL コンディションドメディウム約 1350 ng/ml を得た。3. 培養モデルにおける ESEL-菌体成分相互作用を知るために、食食依存的 pH 依存的に赤色蛍光を発する大腸菌菌体成分を、293/sESEL-GFP 細胞の培地に添加し、タイムラプス蛍光顕微鏡観察を行った。その結果、sESEL-GFP 低産生細胞では、早期に菌体成分貪食が起り、sESEL-GFP 高産生細胞は、細胞運動しながら菌体成分侵入に対して抵抗を続けた。4. そこで ESEL レクチンドメインが直接菌体成分を認識するとの仮説の下、ESEL の ELISA システムに菌体成分を作用させたところ、特定濃度の菌体成分により sESEL 検出感度が低下したことから、この濃度範囲で菌体成分と ESEL が結合することが示唆された。

【考察】従来はEセレクトリンが炎症時の白血球浸潤に寄与するとされてきた。それに対し今回、Eセレクトリンが菌体成分と結合し、感染制御を担うとの新機能が見いだされた。同じセレクトリンファミリーに属すP-selectinはマクロファージにも発現しその貪食を促進し、又、マクロファージや樹状細胞で発現するC型レクチンの多くは、病原体認識をも担うことも知られている。これらの報告を含めて総合的に解釈すると、膜型ESELは白血球の組織浸潤、病原体認識、貪食促進を担うのに対し、可溶性ESELは白血球浸潤阻止による過剰免疫応答の制御と病原体排除を行い、感染と循環器疾患を制御していると考えられる。ESEL/sESELの発現・動態・機能を調節による、歯周病や動脈硬化、糖尿病の制御の可能性を視野に入れ、作製したsESELの応用およびESEL制御法の開発を行っている。

ラット歯肉上皮組織における claudin-1,3,7 の局在

広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 先進医療開発科学講座 歯周病態学分野¹,
広島大学病院 障害者歯科²

○林田浩一^{1,2)}、藤田剛¹⁾、柴秀樹¹⁾、岸本亮義¹⁾、河口浩之¹⁾、栗原英見¹⁾

Localization of claudin-1,3,7 in rat gingival epithelium.

¹Department of Periodontal Medicine, Division of Frontier Medical Science, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences. ²Special Care Dentistry, Hiroshima University Hospital.

○Koichi Hayashida^{1,2)}, Tsuyoshi Fujita¹⁾, Hideki Shiba¹⁾, Akiyoshi Kishimoto¹⁾,
Hiroyuki Kawaguchi¹⁾, Hidemi Kurihara¹⁾

[緒言]

歯肉上皮細胞における細胞間接着には、tight junction, gap junction, adherence junction 等が知られている。このうち tight junction はバリア機能・フェンス機能を有し、シグナル伝達にも関与していると考えられている。claudin は tight junction 形成に必須の構成要素である 4 回膜貫通型のタンパクであり、24 種類の claudin が様々な組み合わせによって tight junction を形成し、バリア機能によって、細菌感染の防御に関与している。したがって、歯周病の初期段階の歯肉上皮の感染防御においても、claudin は重要な役割を果たしていると考えられる。そこで本研究では、まず正常の歯肉上皮組織における claudin-1,3,7 の局在について、SPF ラットを用いた免疫組織化学による評価を行った。

[材料と方法]

実験には、SPF 雄性 F344 Fischer ラット 8 週齢を用いた。灌流固定後、10% 蟻酸で脱灰し、パラフィンに包埋した。上顎骨のうち、第二臼歯が観察できるように、前頭断・厚さ 5 μ m の連続切片を作成した。免疫染色は ABC 法を用いた。一次抗体として抗 rat claudin-1,3,7 rabbit ポリクローナル抗体を使用し、DAB-Nickle で発色後、メチルグリーンで対比染色を施した後、それぞれの claudin の局在を光学顕微鏡で観察した。

[結果]

- ・ claudin-1 は、主に接合上皮を構成する細胞の細胞間隙および細胞膜周辺に強い陽性反応が認められた。
- ・ claudin-3 は、主に外縁上皮に陽性反応が認められ、その顆粒層および有棘層を構成する細胞の細胞間隙および細胞質において顕著であった。
- ・ claudin-7 は、歯肉上皮組織内で顕著な陽性反応は認められなかった。

[考察]

これまでの報告では、tight junction は接合上皮にほとんど存在しないと考えられてきた。今回の実験では、接合上皮に claudin-1 の発現が認められたことから、接合上皮に細菌感染がないあるいは少ない状態では接合上皮にも tight junction が形成されていると考えられる。また、claudin-1,3,7 の発現部位が異なるのは、tight junction は多種多様な機能が必要とされ、claudin の構造によって機能も異なるからであると考えられる。

ラット片側臼歯喪失における下顎頭軟骨代謝への影響

奥羽大学歯学部歯科保存学講座修復学分野
○高橋 一人、菊井 徹哉、横瀬 敏志

The Effects of unilateral teeth loss on metabolism of mandibular condylar cartilage in rats
Division of Operative Dentistry Department of Conservative Dentistry Ohu University School of
Dentistry

○Takahashi Kazuto, Kikui Tetsuya, Yokose Satoshi

【目的】片側咀嚼は顎関節に異常な機械的負荷を与えることが考えられるので、臼歯が片側のみ喪失した際に顎関節への機械的刺激が軟骨代謝へどのような影響をあたえるかを調べるのが本研究の目的である。

【材料と方法】本研究の実験動物には生後 10 週齢のメス SD ラットを用い、上顎右側第 1、第 2 および第 3 臼歯を抜歯した群 (実験群) と正常群 (対照群) とに分けた。抜歯を行ってから 3 日、5 日、7 日、および 14 日後に、抜歯した側の下顎頭 (抜歯側)、抜歯を行っていない側の下顎頭 (非抜歯側) と同時に対照群の下顎頭を摘出し、10% 中性緩衝ホルマリンにて固定して試料とした。EDTA にて 1 週間脱灰し、パラフィン包埋した後、切片を作成した。作成した切片に H-E 染色、アルシアンブルー染色および免疫組織化学染色を行った。免疫組織化学染色として抗 PCNA 抗体、抗 BrdU 抗体、抗 Sox9 抗体、抗 Ihh 抗体、抗 PTHrP 抗体、抗 Type II collagen 抗体、抗 Type X collagen 抗体を用いた。

【結果】H-E 染色では、対照群と比較して、抜歯群において 3 日、5 日、7 日後において軟骨層の厚さに減少がみられた。また非抜歯側では 7 日、および 14 日後に軟骨層の厚さに増加がみられた。軟骨基質でのアルシアンブルー染色は対照群と比較して、抜歯側では 7 日後まで染色性が減少していた。また非抜歯側では 7 日後において染色性が増加していた。免疫組織化学的染色における PCNA の発現は、対照群と比較して抜歯側では全ての実験期間において、陽性細胞数は減少していた。また非抜歯側では 7 日後、14 日後に発現が増加していた。BrdU の発現も同様の結果を示した。Sox9、Ihh、および PTHrP の発現は、増殖層および成熟層の軟骨細胞にみられ、対照群と比較して抜歯側では陽性細胞数は減少していた。また非抜歯側では 7 日後に発現が増加した。Type II collagen の発現は成熟層および肥大層の軟骨基質にみられ、対照群と比較して抜歯側では 3 日、7 日、および 14 日後において発現が減少した。また非抜歯側では 14 日後において発現が増加した。Type X collagen の発現は肥大層の軟骨基質にみられ、対照群と比較して抜歯側では全ての実験期間において発現が減少した。また非抜歯側では、14 日後に発現が増加した。

【考察】本研究から、機械的負荷の変化によって、抜歯側においては、Sox9、Ihh、および PTHrP の発現が減少した結果、細胞の分化、増殖が減少し、これと関連して軟骨基質であるアグリカン、type II collagen、および type X collagen の減少が認められた。このことから、間葉細胞集団からの細胞供給が減少した結果、軟骨層の厚さの減少が起きたと考えられる。逆に非抜歯側においては、Sox9、Ihh、PTHrP の発現が増加した結果、細胞の分化、増殖が増加し、これと関連して軟骨基質であるアグリカン、type II collagen、および type X collagen の増加が認められた。このことから、間葉細胞集団からの細胞供給が増加した結果、軟骨層の厚さの増加が起きたと考えられる。

【結論】片側臼歯の抜歯によって引き起こされた機械的負荷の変化は Sox9、Ihh、PTHrP といった成長因子が関与する顎関節の軟骨代謝に影響を及ぼすことが明らかになった。

喫煙と歯肉組織線維化との関連

1 日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座 2 岡山大学大学院医歯薬総合研究科口腔生化学・分子歯科学分野

○武内 寛子¹, 村樫 悦子¹, 久保田 聡², 滝川 正春², 沼部 幸博¹

Relationship between smoking and gingival fibrosis

1 Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

2 Department of Biochemistry and Molecular Dentistry, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Science,

○TAKEUCHI Hiroko¹, MURAKASHI Etsuko¹, KUBOTA Satoshi², TAKIGAWA Masaharu², NUMABE Yukihiko¹

【目的】

すでに我々は第127回秋季保存学会にて、喫煙と歯周組織の線維化との関係を解明すべく、ニコチンのヒト歯肉線維芽細胞(HGF)と歯根膜細胞(PDL cells)における線維化因子である結合組織増殖因子(CCN2/CTGF)の発現誘導作用について報告した。今回我々は、線維化の主体であるI型コラーゲンとCCN2/CTGFとの関係、および禁煙後の組織回復力について検討した。

【材料および方法】

健常歯周組織を有する患者よりHGFを分離し、10% FBS DMEM/F-12にてサブコンフルエントまで培養の後、24時間無血清下に置き0.5% FBS DMEM/F-12 (control), 0.1, 1.0, 10.0 µg/mlのニコチンを添加し12, 24, 48時間培養した。位相差顕微鏡にて細胞形態を観察し、I型コラーゲンのmRNA発現をRT-PCRおよびタンパク産生量をELISAにて測定した。同様の実験はCCN2/CTGF中和抗体存在下でも行なった。またニコチンによる影響の可逆性を検討するため、1.0 µg/mlニコチンを作用し24時間培養後、上清を10% FBS DMEM/F-12に交換し細胞生存率を測定した。

【結果】

ニコチン濃度1.0 µg/mlを作用させた群では、細胞質内に空胞様構造物が認められた一方、I型コラーゲンのmRNA発現は、ニコチン濃度1.0 µg/mlで最も発現が高く、Controlと比較して有意に増加した(p<0.05)。I型コラーゲンのタンパク質産生は、培養上清ではControlと比較して増加し(NS)、細胞分画中でも有意に増加した(p<0.05)。この効果はCCN2/CTGF中和抗体存在下では有意に減少した(p<0.01)。また細胞内に空胞様構造物が認められた後、ニコチンを含まない培地に交換し培養した結果、6時間後に空胞様構造物は消滅し、6日間にわたり時間依存的に細胞数は有意に増加した(p<0.05)。

【考察】

I型コラーゲンのmRNA発現およびタンパク質産生はCCN2/CTGFと同様に有意に増加し、CCN2/CTGF中和抗体により有意に減少した。また、空胞様構造物の生じた細胞はnicotine刺激を除去することにより細胞の増殖能力を回復した。以上より、nicotineにより増加したCCN2/CTGFによりI型コラーゲン誘導され増加することによって、喫煙による歯肉組織の線維化が生じる一方、喫煙を中止することにより歯肉線維芽細胞が再活性化する可能性が示唆された。本研究は、文部省科学研究費助成金：基盤研究C、課題番号：20592437の助成を受けて行われた。

Porphyromonas gingivalis 由来ジンジパインを用いた新規炎症評価動物モデルの検討
ライオン株式会社研究開発本部オーラルケア研究所
○ 堤 康太、丸山 真達、角谷 治夫、山本 高司

Development of novel *in vivo* evaluation model for *Porphyromonas gingivalis* derived gingipains-induced inflammation
Oral-Care Research Laboratories, Research and Development Headquarters, Lion Corporation
○ Kota Tsutsumi, Masato Maruyama, Haruo Kadoya, Takashi Yamamoto

【目的】

歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* が産生するジンジパインは、歯周病の発症および進行に関与すると考えられており、その阻害剤が歯周病予防・治療薬として期待されている。しかし、ジンジパインによって炎症が惹起される動物モデルは確立されていないため、*in vivo* において阻害剤の有効性評価が可能な、動物モデルの検討を行った。

【材料および方法】

- 1) *P. gingivalis* 培養上清: *P. gingivalis* ATCC 33277 を常法通り培養し、遠心にて培養上清を回収した後、硫酸塩析にて調製した。*P. gingivalis* 培養上清中のジンジパイン活性は、蛍光基質を用いて常法により測定した。
- 2) 起炎剤: 各濃度に調製した *P. gingivalis* 培養上清、およびカラゲニン溶液
- 3) ジンジパイン阻害剤: KYT-1 (Rgp 阻害剤, (株)ペプチド研究所), KYT-36 (Kgp 阻害剤, (株)ペプチド研究所)
- 4) 足浮腫容積測定試験: 起炎剤、または起炎剤と阻害剤を、Wister 系雄ラット(6週齢, 5匹/群)の右後肢足裏皮下に投与した後、経時的に足容積を測定し、浮腫率を算出した。
- 5) 組織学的解析: 浮腫部位の組織を採取し、10%ホルマリンによる固定後、HE染色を行い、光学顕微鏡で観察した。

【結果】

- 1) *P. gingivalis* 培養上清によって起炎することで、ジンジパイン活性の強さに依存して浮腫率は増加した。しかし、*P. gingivalis* 培養上清単独では、浮腫率は3時間目でピークに達した後、6時間目にはほぼ消失した。
- 2) *P. gingivalis* 培養上清とカラゲニン 0.25%を併用して起炎した場合、浮腫率は3時間目でピークに達した後、6時間目においても浮腫が持続しており、ジンジパイン活性による炎症評価条件として適していた。
- 3) この炎症評価条件において、ジンジパイン阻害剤の浮腫形成抑制効果を検討した結果、5時間目の平均足浮腫形成抑制率は、KYT-1投与群で約51%、KYT-36投与群で約45%、KYT-1+KYT-36投与群で約50%であった。また、HE染色した組織解析より、コントロール群において炎症性細胞の浸潤が認められたのに対し、阻害剤投与群ではいずれも炎症性細胞の浸潤が抑制されていた。

【考察および結論】

P. gingivalis 培養上清とカラゲニンの併用投与によるラット足浮腫形成作用は、ジンジパイン阻害剤投与により抑制されることが明らかになった。この結果より本モデルにおける炎症惹起作用は *P. gingivalis* 産生ジンジパインに起因しており、ジンジパイン阻害剤の有効性評価が可能な、新たな炎症評価モデルとして有用と考える。現在、浮腫部位の炎症メディエーターの変化等を調べ、更なる評価パラメーターの検討を進めている。

ダイヤモンド電着手用スクレーラーの開発に関する研究

武蔵工業大学工学部機械工学科表面加工研究室¹⁾ 東北大学大学院歯学研究科歯内歯周治療学分野²⁾
 ○佐藤秀明¹⁾, 石幡浩志²⁾, 村岡直樹¹⁾, 島内英俊²⁾

Development of hand scaler electroplated with diamond abrasives possible application for root planing

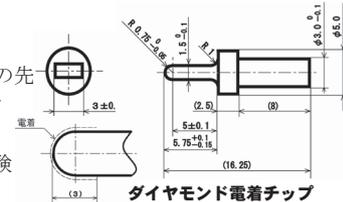
Surface Engineering and Machining Laboratory, Faculty of Engineering Musashi Institute of Technology¹⁾, Division of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry²⁾
 Hideaki Sato¹⁾, Hiroshi Ishihata²⁾, Naoki Muraoka¹⁾ and Hidetoshi Shimauchi²⁾

【目的】

根面清掃と滑沢化は歯周治療後の組織治癒や再生に最も大きな影響を与える因子である(瀬戸康博, 日歯周誌 Vol.41, No.4 409-416, 1999). 現在のスクレーリングおよびルートプレーニングは, ステンレス鋼切れ刃を用いた搔爬が主流であるが, 送り方向が切れ刃に対して垂直方向に限定されるため, 特に複雑な形態を有する根面に対する操作が困難となる. そこで演者らは送り方向に関係なく, 根面に対する清掃と滑沢化を行うことが可能な鑷(やすり)型スクレーラーとして, 手用スクレーラー先端部にダイヤモンド砥粒を電着したスクレーラーを着想し, モデル実験を行った. 本研究においてはヒト歯根象牙質に調製した平滑面に対する, ダイヤモンド砥粒電着スクレーラーチップによる搔爬後の象牙質表面粗さ, および摩耗量を計測した.

【材料と方法】

ダイヤモンド電着スクレーラーとして, 幅3mm, 厚さ1.5mmのステンレス材の先端を曲率半径0.75mmにて半円状に加工した上, 面積平均粒径 $75\mu\text{m}$ のダイヤモンド砥粒を電着したものを作成した(右図). ヒト抜去歯を硬組織薄切器(SP1600: Leica)にて歯軸と平行に切断し, 歯根象牙質を滑沢な平面にした. 実験群においては, この象牙質平面に対し, ダイヤモンド電着スクレーラーを1.96~



4.9Nの荷重で垂直に押付けながら, 象牙質試料を5回あるいは10回平行に搔動した. 対照群では交換用グレーシースクレーラーの刃先(No.5 and No.6)(YDM)を, 象牙質面に対し搔爬可能な角度とし, 4.9N重にて5~20回搔動した. 各搔爬面の算術平均粗さ(Ra)および摩耗痕最大深さ(Δh)を, 触針式表面粗さ計(SURFTTEST SV-400 ミツトヨ)により計測した. 群間の有意差は, Kruskal-Wallis test を用いて検定した.

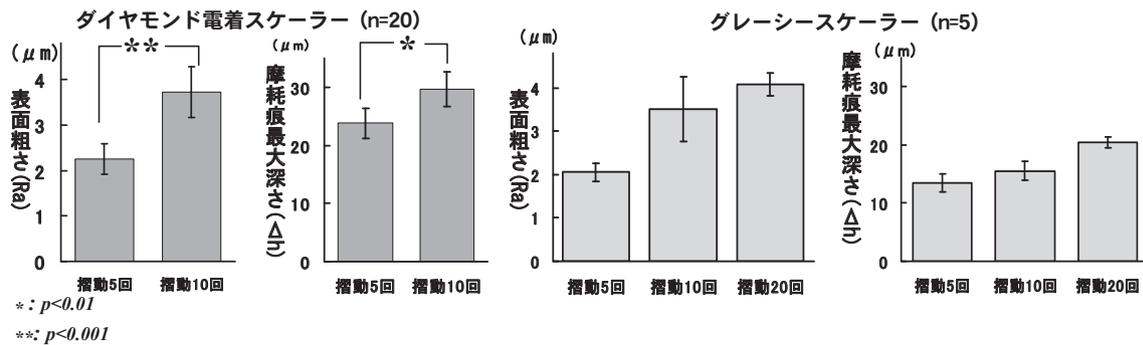
【結果】

Ra および Δh 平均値は実験群, 対照群ともに搔動回数の増加に伴い増加し(下図), このうち実験群では搔動5回と10回の群間(各 $n=20$)に有意差が認められた(下図左). また同じ搔動回数では, 対照群の Δh は実験群のおよそ半分であり, このうち実験群における搔動10回群の Ra は, 対照群の搔動20回群のそれと同等であった. さらに異なる荷重値による, Ra および Δh に対する影響については, 1.96N と 4.9N の群間において有意差(搔動5回: $p<0.05$, 搔動10回: $p<0.01$; 各 $n=5$)が認められた.

【考察】

グレーシースクレーラーは根面搔爬が主に一方のみであるが, ダイヤモンド電着チップでは往復両方で搔爬されるため, 同じ搔動回数では象牙質削除量に約2倍の差が生じたとみられる. 従って削除量を加味すれば, 試作したダイヤモンド電着チップの搔爬による表面粗さは従来型スクレーラーと同等であると思われる. 小田(日歯周誌 Vol.34, No.1 46-59, 1992)は, 実際のスクレーリングでは, 表面から2ストローク目までは約 $30\mu\text{m}$ の深さ, 以後は1ストローク毎に約 $20\mu\text{m}$ 削除されるとしている. 本研究では削除量がこれを下回るのは, 平面の象牙質試料に対する搔爬であったことと, 荷重値が小さかったためと考えられる.

象牙質平滑面に対する搔爬後の表面粗さ, および象牙質削除量



超音波スケーリングがアバットメント表面に及ぼす影響

日本歯科大学東京短期大学¹⁾、日本歯科大学附属病院²⁾、日本歯科大学生命歯学部共同利用研究センター³⁾、
日本歯科大学生命歯学部化学⁴⁾、日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座⁵⁾
斉藤洋一¹⁾、仲谷寛²⁾、柴田潔⁴⁾、斉藤文重²⁾、三橋扶佐子³⁾
佐藤宏和⁵⁾、伊藤弘⁵⁾、沼部幸博⁵⁾、小口春久¹⁾

Effect of Ultrasonic scaling for abutment surface

The Nippon Dental University College at Tokyo¹⁾、Division of General Dentistry, The Nippon Dental University Hospital²⁾、The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo, Research Center for Odontology³⁾、
Dept of chemistry⁴⁾、Dept of Periodontology⁵⁾
Saitoh Yoichi¹⁾、Nakaya Hiroshi²⁾、Shibata Kiyoshi⁴⁾、Saitoh Fumie²⁾、Mituhashi Fusako³⁾、
Sato Hirokazu⁵⁾、Ito Hiroshi⁵⁾、Numabe Yukihiro⁵⁾、Oguchi Haruhisa¹⁾

キーワード:インプラント、超音波スケーラー、バイオフィーム

[目的]

インプラントは天然歯同様に、微生物に感染すると、インプラント周囲炎を発症する。それらが初発するペリインプラントサルカスに接するアバットメント（歯肉貫通部）は、近年、硬度や審美的に優れるジルコニアによるアバットメントが用いられるようになった。そこで今回、メンテナンス時に用いる超音波スケーラーによるスケーリングの影響を検討するため、アバットメント部（粘膜貫通部）を想定して、チタンプレートとジルコニアブロックを超音波スケーラーでスケーリングし、洗口液中に浸漬培養後、走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて観察した。

[材料と方法]

1) 試料の作製

ジルコニアブロック（GC、東京）10 x 8 x 5mmとチタンプレート10 x 8 x 2mm（JIS 第1種）をそれぞれ作製した。ジルコニアブロックは、GC社CAD/CAMセンターにて切削されたものを耐水ペーパー3000番まで研磨し、その後ダイヤモンドペーストで処理した。チタンプレートも同様の研磨処理を行った。

2) 観察試料のインキュベート

それぞれのプレートに人工プラークを塗布した後、インプラント専用チップP1を装着したピエゾンマスター600（松風、京都）にてスケーリング操作を行った。スケーリング時の超音波スケーラーの出力は、予備実験から得られたデータを基にレベル3とレベル10で行った。本実験の主旨を理解し同意の得られた健康者から、口腔清掃を中止し生理食塩液にて洗口後、洗口液をバイアルに採取、液体培地に加え、チタンプレート（Tp）、ジルコニアブロック（Zr）と共に37°C、好気培養条件下にて24h、72h培養した。

3) SEMによる観察

各々の試料は、グルタルアルデヒドにて固定後、エタノール系列で脱水し、オスミウムでコーティング後、SEM（S-4000, HITACHI社製）で観察した。

[結果]

Zr未研磨群のSEMによる観察では、CAD/CAMセンターでの切削痕が残っており、研磨群と比較して明確に違いが認められた。スケーラーのチップ痕は、Zr未研磨群のほうが確認できた。Tp未研磨群のSEMによる観察では、チタン板作製時に形成されたと思われる連続した溝パターンが観察されたが、研磨群表面は、比較的平面であり部分的に研磨操作による不規則な波状線が観察された。

Tp群24h培養後の観察では、多数の球菌が観察され、スケーリングの裂溝に沿って観察された。72h培養後では、球菌、桿菌、糸状菌を含む成熟したバイオフィームが観察された。これらは、スケーリングされた面に多く付着する状態が観察された。Zr群も同様に、球菌、桿菌、糸状菌を含む成熟したバイオフィームが観察された。スケーリングされた面と比較すると特に変化は観察されなかった。

[考察および結論]

TpはZrと比較して、スケーリングによる影響を受けやすく、傷つけることによりバイオフィームの足場となる可能性がある。よってインプラントのスケーリングには慎重な操作が必要であることが示された。

会員外共同研究者：日本歯科大学生命歯学部共同利用研究センター 那須優則

ルートプレーニング法とEDTA処理による根面清掃の研究

岩手医科大学歯学部 歯科保存学第一講座¹⁾ 日本歯科薬品株式会社研究所²⁾
○志賀 華絵¹⁾ 中島 薫¹⁾ 佐々木 愛¹⁾ 寺田 林太郎¹⁾ 常川 勝由²⁾

The cleaning characteristic by root planing methods and various EDTA formulation, applied on root surface

Department of Operative Dentistry and Endodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University¹⁾
Nippon Shika Yakuhin Co., LTD²⁾
SHIGA Hanae¹⁾, NAKASHIMA Kaoru¹⁾, TERATA Rintaro¹⁾, TSUNEKAWA Masayoshi²⁾

【緒言】 歯周病により付着の喪失が起こった根面には、細菌によって汚染されたセメント質が露出しており、その除去方法、ストローク数、細菌を含むスマア層の除去について多数の報告がされている。一方、外傷脱落歯における根面は、歯周病とは異なり、細菌の汚染のない歯根膜とセメント質が存在しているが、再植時の治癒を阻害する壊死歯根膜の除去方法やスマア層の除去については報告が少なく、一定の見解は得られていない。本研究では、外傷脱落歯の壊死歯根膜除去を想定し、歯根膜やセメント質に汚染のないヒト抜去歯を用い、一定加重でストローク数を変化させてルートプレーニングを行ない、根面の歯根膜の除去状況について検討した。また、近年、根面清掃剤として注目されているEDTAを使用し、濃度、形状の異なるEDTA製剤をルートプレーニング面に作用させ、スマア層の清掃性についても検討した。

【材料および方法】 材料は、矯正、補綴等の理由により抜歯と診断された歯周疾患のないヒト前歯および小臼歯の単根歯で、抜去後-20℃で冷凍保存し、使用直前に生理食塩水に浸漬して常温(24℃)で自然解凍したものを使用した。

【実験1】 抜去歯をダイヤモンドジスクで CEJ と歯根の歯頸側1/3の位置で切断して試料片を作製し、根面の唇・頬側が上になるように常温重合レジンブロックに固定した。グレーシーキュレット(LM-Servo LM Dental)の#11/12で、刃部と根面の角度70度、荷重200gで試料片のルートプレーニングを行った。ストローク数は10回、25回、50回、100回、200回とし、水洗、乾燥後、試作24%EDTAゲルを1分間作用させ、水洗した。真空デシケーター中で24時間乾燥した後、イオンスペクターにて白金蒸着し、SEM観察を行ない、歯根膜およびセメント質の残存状況について観察した。

【実験2】 同様の方法で作製した試料片に、実験1より得られた結果をもとにストローク数を決定してルートプレーニングを行ない、各種EDTA製剤(スマアクリーン[®]、モルホニン[®]、RC-Prep[®]、Glyde[®]、試作24%EDTAゲル)を1分間作用させ、水洗後、同様にSEM観察し、スマア層の清掃状況について観察を行った。スマア層の残存の有無は、AEFC(無細胞固有線維原生セメント質)の凹凸構造(以下、AEFC構造)および象牙細管の開口の有無により判定した。

【結果】 各ストローク数でルートプレーニングを行なった根面は、10回、25回では歯根膜線維の残存が確認された。50回では歯根膜線維の残存はなく、AEFC構造が確認され、象牙細管の開口を認めなかった。100回、200回ではAEFC構造は不明瞭になり、象牙細管の開口を認めた。上記結果より、歯根膜線維の残存がなく、象牙質に達しないストローク数は50回であったことから、実験2のストローク数を50回とし、各種EDTA製剤を作用させたところ、24%EDTA、モルホニン、スマアクリーンでAEFC構造が確認されたが、RC-Prep、Glydeでは根面のスマア層は除去されず、AEFC構造は確認できなかった。

【考察】 歯周疾患におけるルートプレーニングでは、本研究と同様の条件では象牙質が露出するとの報告があるが、本研究では歯根膜が残存している点で異なっており、歯根膜を除去し、セメント質を残存させるためには50回程度のストローク数が必要であり、100回以上ではオーバーインスツルメンテーションとなることが示された。

各種EDTA製剤による根面の清掃性について、本研究では24%EDTAゲル、モルホニン、スマアクリーンを1分間作用させることでスマア層は完全に除去されたが、RC-Prep、Glydeではスマア層が残存し、十分な清掃効果を得られないことが示された。本研究では、歯周治療時のルートプレーニングと比較して、スマア層には有機質が多く含まれている可能性が高く、浸透性の良い水溶液のモルホニン、スマアクリーンでは低濃度でもスマア層を除去することが可能であったが、浸透性の低いペーストやゲルは24%の高濃度であれば作用時間1分で清掃効果を発揮できるが、15%では十分に奏功しなかったものと考えられた。またRC-Prep、Glydeは潤滑剤としてカーボワックス等が添加されており、これらの添加剤が水洗で除去できずに根面に残存したことも考えられた。また、実際にEDTA製剤を根面に作用させる場合、必要な部位のみ一定時間作用させるためには、形状安定性が必要であり、今回使用したゲル状の24%EDTA製剤は根面清掃剤として有効に使用できると考えられた。

歯周病と GCF 中の炎症性物質との関連について

○山本俊郎¹、足立圭司^{1,2}、西垣 勝¹、
大迫文重¹、雨宮 傑¹、喜多正和³、金村成智¹

¹ 京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学

² 京都府心身障害者福祉センター附属リハビリテーション病院歯科

³ 京都府立医科大学大学院医学研究科免疫微生物学

Relationship between periodontitis and inflammatory substances in gingival crevicular fluid

Toshiro Yamamoto¹, Keiji Adachi^{1,2}, Masaru Nishigaki¹,

Fumishige Oseko¹, Takeshi Amemiya¹, Masakazu Kita³, Narisato KANAMURA¹

¹Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine, Graduate School of Medical Science

²Department of Dentistry, Kyoto Prefectural Rehabilitation Hospital for the Disabled

³Department of Microbiology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Graduate School of Medical Science

【研究目的】我々は、歯周病予防のための知識普及および実施事業の一環として京都市の助成を受け、京都市民に対し公開講座を開催している。そこで今回は、本公開講座の参加者のうち口腔内検診の受診者に対し、GCF (Gingival Crevicular Fluid: 歯肉溝浸出貯留液) 中の炎症性物質であるラクトフェリン (LF)、 α_1 -アンチトリプシン (AT)、アスパルテートアミノトランスフェラーゼ (AST) と歯周病との関係について検討を加えたので報告する。

【材料および方法】口腔内検診の受診者に対し、年齢、性別および口腔内検診を実施した。口腔内検診の検査項目としては、残存歯数および機能歯数 (咬頭嵌合位での歯牙および歯根膜負担の補綴物を有する歯牙の数)、CPI (Community Periodontal Index: 地域歯周疾患指数) および GCF の歯肉溝バイオマーカー検査 (ペリオキャッチャーTM、いかがく) とした。そして、炎症性物質の LF、AT、AST と歯周ポケットの有無 (CPI スコア 3 以上を歯周ポケット有り、2 以下を歯周ポケット無しとした) に関して統計学的 (χ^2 独立性の検定、Mann-Whitney の U 検定) に検討を加えた。なお本研究は、京都府立医科大学医学倫理審査委員会の承認 (C-478) を得て実施した。

【結果】参加者 94 名のうち口腔内検診の受診者は 75 名 (男性 24 名、女性 51 名) で、女性が男性の約 2 倍を占め、その内訳は 90 歳以上 1 名、89-80 歳代 4 名、79-70 歳代 41 名、69-60 歳代 20 名、59-50 歳代 8 名、49-40 歳代 1 名であった。CPI は、スコア 3 が 32 名とスコア 1 が 23 名であったが、各 CPI スコアの残存歯数および機能歯数はほぼ同数であった。そして、歯周ポケットの有無と LF、AT、AST との関連性を認め、特に、歯周ポケットを有する受診者の LF 測定値は、歯周ポケットを有しない受診者に比べ有意に高値を示した ($p < 0.05$)。

【考察および結論】本結果から、口腔内検診受診者の年齢は高齢化傾向であり、歯周病の病態が二極化していた。そして、GCF 中の好中球顆粒蛋白で抗菌物質の LF、血清由来蛋白で出血および毛細血管の漏出の指標である AT、歯周組織破壊の指標である AST は、CPI で表される歯周病の病態との関連を認め、歯周ポケットの状態の評価が可能であった。今後、引き続き調査対象症例を増やすとともに、歯周病と全身の健康への影響に関して検討を加える予定である。

短期間禁煙が GCF エラスターゼ活性に及ぼす影響
日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座、日本歯科大学附属病院¹⁾、東京都²⁾
伊藤 弘、小川智久¹⁾、中村彰一郎¹⁾、永田達也²⁾、伊藤明子²⁾、沼部幸博

The Effects of Short Term Smoking Cessation on GCF Elastase Activity
The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo, Department of Periodontology,
The Nippon Dental University Hospital, General Dentistry¹⁾, Tokyo-to²⁾
Hiroshi Ito, Tomohisa Ogawa, Shoichiro Nakamura, Tatsuya Nagata, Akiko Ito and Yukihiko Numabe

【目的】

喫煙習慣を持つ生活習慣病の治療・改善には、禁煙は必要不可欠である。歯周病領域において、喫煙は最大の環境因子として認知され、喫煙者における歯周治療は非喫煙者と比較して予後は不良であることは周知の事実である。その喫煙が歯周組織破壊に関与するメカニズムは、不明な点が多く、報告により見解の相違が認められるものの、生体防御機構の変調が大きく関わっていると考えられている。我々は、禁煙により変化すると推察される GCF の生化学的変化より、禁煙による生化学的恩恵を考察し、喫煙が歯周組織免疫応答に及ぼす影響とその生化学的マーカーの検索を目的とした。

【材料および方法】

被験者は、健康な歯周組織を有し、3ヶ月間抗菌薬の投与のない日本歯科大学附属病院の研修医および医員を対象とした。被験者は、喫煙習慣のある男性のみを対象とし、まずファガーストロームのタバコ依存度テストを行った。その後、被験者には、生活に支障の無い限り禁煙を行ってもらい、禁煙前・禁煙中・喫煙再開時期に、臨床パラメータと GCF 中に反映されるエラスターゼ活性と唾液中コチニン量の変化を観察した。臨床パラメータには、PPD、GI、PII、GCF 量 (periotoron[®]値) を用いた。唾液中コチニン量の測定には、ELISA kit を用いた。GCF の採取は、修復物のない上顎犬歯もしくは側切歯とした。GCF 中における生化学的検査項目は、elastase activity (free elastase と active elastase- α -2-macroglobin complex 形成量) を enzyme assay にて計測した。なお本研究における、試料の採取に関しては、日本歯科大学歯学部倫理委員会の承認のもと行われた。

【結果】

- 1、被験者のタバコ依存度はファガーストロームのタバコ依存度テストでは普通であった。
- 2、本研究に参加した常用喫煙者において、日常生活に支障のない禁煙期間は 7.8 日であった。
- 3、禁煙 10 日で唾液中コチニン量は 0ng/ml となった。
- 4、医療面接より、禁煙中に喫煙フリーの場所 (飲食店など) に入出入りしている場合、受動喫煙によると思われる暴露により唾液中コチニン量が 0ng/ml となることはなかった。
- 5、禁煙により、緩やかな elastase activity の低下が観察された。

【結論および考察】

喫煙習慣や禁煙の達成度の測定には、唾液中・血清中・尿中コチニン量の計測があげられる。唾液中に反映されるコチニン量は、禁煙開始を行ったとしてもその半減期が 20~40 時間であり、1 週間以上の禁煙により生体内のコチニンレベルが大きく変化する報告と同様に、短期間による禁煙では唾液中のコチニンレベルは、僅かな減少をとどめるのみであった。同時に、elastase activity は極僅かながらその活性の減少傾向が観察された。これは、喫煙者によるタバコ煙暴露による慢性反応が、禁煙により変化したものと推察された。今後、禁煙期間の延長により歯肉溝内で演じられる生化学的変化の現れる時期を唾液中コチニン量と比較する検討が必要であると考えている。そして、その生化学的変化が、喫煙の歯周組織破壊に関与するひとつの生化学的マーカーとなりうる可能性があるかと推察される。

本研究は、文部省科学研究費助成金：基盤研究 C、課題番号：20592437 の助成を受けて行われた。

歯周基本治療前後における血清中レプチンの変動について

新潟大学大学院 医歯学総合研究科 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野
○島田靖子、小松康高、鈴木育世、田井秀明、杉田典子、吉江弘正

Effects of periodontal treatment on serum leptin level in chronic periodontitis

Division of Periodontology,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

Yasuko SHIMADA, Yasutaka KOMATSU, Ikuyo SUZUKI, Hideaki TAI, Noriko SUGITA and Hiromasa YOSHIE

【研究目的】

メタボリックシンドロームは肥満が引き起こす糖尿病、高脂血症、高血圧症からなり、やがては動脈硬化症の高いリスクとなるという疾患概念で、近年歯周炎との関連性が非常に着目されている。この成因の一つとして、肥満により肥大した脂肪細胞から産生されるTNF- α 、IL-6、レプチン、アディポネクチンなどのアディポサイトカインの分泌異常が知られている。

このうちレプチンは摂食抑制やエネルギー消費亢進作用の他に、炎症性サイトカインと類似した機能や骨芽細胞抑制機能を持つことが知られており、歯周炎との関連性については、歯周炎局所（歯肉溝滲出液；GCF）や血清中のアディポサイトカインと歯周炎重症度との関連性についてもいくつかの報告がなされている。しかし歯周炎の治療効果とこれらとの関係を明らかにした報告はまだない。本研究の目的は、慢性歯周炎の治療が血清中のレプチンをはじめとするアディポサイトカインに与える影響を検討することである。

【材料および方法】

新潟大学医歯学総合病院歯周病診療室を受診しインフォームドコンセントの得られた初診時慢性歯周炎患者33名および健常者18名を対象とした。慢性歯周炎患者には歯周基本治療（ブラークコントロール、スクレーピング、SRP）を行い1か月後に再評価を行った。健常者は初診時、歯周炎患者は初診時並びに再評価時に、臨床評価と採血を行い、採取された血液から血清を分離してTNF- α 、IL-6、レプチン、アディポネクチンならびにCRP濃度をELISA法にて測定した。これらのアディポサイトカイン濃度を慢性歯周炎罹患者と健常者、歯周炎治療前後での変化を統計学的に検討した。

【結果】

- 1) 歯周炎群と健常者群の間に、年齢・性別・BMIに関して有意差はなく、また歯周炎群においては基本治療後、臨床パラメーターの有意な改善が見られた。
- 2) 初診時歯周炎群と健常者群を比較したところ、血清中のIL-6、レプチン、CRPは歯周炎群で有意に高かった（ $p=0.0064$, 0.0018 , 0.0095 ）が、TNF- α 、アディポネクチンには有意差は認められなかった。
- 3) 初診時におけるレプチン濃度と臨床パラメーターの関連をみたところ、平均PPD、CAL、骨吸収度、BMIとの間に有意な相関関係を認めた（ $r=0.43$, $p=0.0017$; $r=0.33$, $p=0.020$; $r=0.44$, $p=0.0014$; $r=0.60$, $p<0.0001$ ）。
- 4) また初診時における血清中レプチン濃度とTNF- α 、IL-6、アディポネクチン、CRP濃度との関連については、IL-6、CRP濃度との間に有意な相関関係を認めた（ $r=0.42$, $p=0.0032$; $r=0.50$, $p=0.0002$ ）が、TNF- α 、アディポネクチンには相関関係は認められなかった。
- 5) 歯周炎群の基本治療前後において、血清中のIL-6、レプチン、CRPは治療後に有意に低下した（ $p=0.047$, 0.024 , 0.015 ）が、TNF- α 、アディポネクチンには有意差は認められなかった。

【考察】

メタボリックシンドロームと関連するアディポサイトカインのうち、レプチンは最も歯周炎の重症度との関連性が高く（結果2, 3）、さらに歯周治療後で有意に低下する（結果5）ことから、歯周炎との強い関連性が考えられる。血中から肝臓に達した歯周病原性細菌によりIL-6の産生が促され、これが直接、またCRPの産生亢進を促すことにより、脂肪細胞からのレプチン産生に影響を与えているのかもしれない（結果4）。

【結論】

血清レプチン濃度は歯周炎の重症度と相関し、歯周治療後に低下することが明らかとなった。このことより、レプチンは歯周炎とメタボリックシンドロームとの結びつきを担う一因子になりうると考えられる。

共振を応用した音波式電動歯ブラシの臨床評価

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯周病学講座¹ オムロンヘルスケア株式会社²
日本歯科大学新潟短期大学³ 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科理工学講座⁴
山下亜希¹ 両角祐子¹ 菅原淳道¹ 多田和弘¹ 岩堀敏之² 宮崎晶子³ 原田志保³ 佐藤治美³
小倉英夫⁴ 佐藤聡¹

Clinical Study on Plaque Removal Efficacy of a Sonic-Toothbrush Applying Mechanical Resonance

Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University¹
Omron Healthcare Co., Ltd²

The Nippon Dental University, College at Niigata³

Department of Dental Materials Science, School of Life Dentistry at Niigata,
The Nippon Dental University⁴

YAMASHITA Aki¹ MOROZUMI Yuko¹ SUGAWARA Atsunori¹ TADA Kazuhiro¹ IWAHORI Toshiyuki² MIYAZAKI Akiko³
HARADA Shihō³ SATO Harumi³ OGURA Hideo⁴ and SATO Soh¹

[目的]

歯周病の予防および治療において、プラークコントロールは重要な治療法の1つであり、様々な器具が使用されている。その中でも電動歯ブラシは各種手用歯ブラシに加え、比較的簡便かつ有効にプラークコントロールできる手段として広く普及している。電動歯ブラシの清掃性に関与する要素としては、運動様式、振幅、振動数などが考えられている。振動数が高い電動歯ブラシはプラークを効率よく除去できる一方、歯周組織に対する影響も否定できない。

われわれは第127回日本歯科保存学会秋季学術大会において、共振を応用した音波式電動歯ブラシを用いた *in vitro* の結果、ブラッシング圧100gfにおいて、第2共振（高速）、第1共振（低速）、共振外（中速）の順にプラーク除去率が高く、振動数が低い共振領域を応用した低速の方が、共振領域ではない中速よりプラーク除去率が高い値となったことを報告した。また、第129回本大会にて、ブラッシング圧を規定せずに行った *in vivo* の結果、第2共振（高速）、共振外（中速）、第1共振（低速）の順にプラーク除去率が高い値となり、*in vitro* とは異なった結果となった。そこで本研究では *in vivo* で、ブラッシング圧を規定した音波式電動歯ブラシのプラーク除去効果の検討を行った。

[材料および方法]

被験者は日本歯科大学新潟病院で診療に従事する歯科医師6名（男性3名、女性3名、平均28.8歳）とした。被験歯は全歯を対象とした。トリプルクリアブラシ®を装着した音波式電動歯ブラシ（オムロンヘルスケア株式会社、京都）を用い、振動数は共振領域の振動数である低速、高速、共振領域の振動数でない中速とした。ブラッシング荷重は *in vitro* での結果をもとに100gfとした。ブラッシング圧検知にはストレインゲージを装着した音波式電動歯ブラシを用い、ブラッシング圧を確認しながら行った。ブラッシング前後のプラーク付着状態を0' Leary らの Plaque Control Record に準じて測定し、プラークスコアの変化からプラーク除去率を求めた。なおブラッシング時間は3分間とした。

[結果および考察]

プラークの平均除去率は第1共振（低速） $56.2 \pm 6.25\%$ 、共振外（中速） $54.2 \pm 8.60\%$ 、第2共振（高速） $61.0 \pm 6.46\%$ であった。隣接面におけるプラーク平均除去率は第1共振（低速） $46.0 \pm 7.70\%$ 、共振外（中速） $43.0 \pm 12.7\%$ 、第2共振（高速） $47.7 \pm 9.39\%$ であった。

本研究では *in vitro* の結果と同じく、共振領域である第1共振（低速）の方が共振外（中速）よりプラーク除去率が高い結果となった。これはブラッシング圧を規定することにより、共振の特徴である振動振幅の増大が有効に作用したためと考えられる。プラーク除去率には、振動振幅または振動数の一方の要素が大きく関与しているのではなく、振動数と振動振幅の組み合わせが重要であるとされている。本研究ではそこに適切なブラッシング圧も重要な要素の一つであると考えられる。

KCB-1D(FGF-2)による歯周組織再生治療の3年間経過症例

北海道医療大学個性差医療科学センター¹、北海道医療大学口腔機能修復再建学系う蝕制御治療学分野²
○寺田 裕¹、藤井健男¹、舞田健夫¹、北所弘行¹、小西ゆみ子¹、辻ひふみ¹、川上智史¹、
泉川昌宣²、斎藤隆史²

A Case Report of Periodontal Tissue Regenerative Therapy by KCB-1D(FGF-2) for 3 Years Follow-Up
Institute of Personalized Medical Science¹, Division of Clinical Cariology and Endodontology²,
Health Sciences University of Hokkaido

○Yutaka Terada¹, Takeo Fujii¹, Takeo Maida¹, Hiroyuki Kitajyo¹, Yumiko Konishi¹, Hifumi Tsuji¹,
Tomofumi Kawakami¹, Masanobu Izumikawa² and Takashi Saito²

<緒言>

塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2)は、強力な血管新生作用と間葉系細胞の増殖誘導能を有しており、現在 FGF-2 による新規歯周組織再生療法への応用を目指した臨床試験が行われている。今回、KCB-1D(FGF-2)製剤(科研製薬株式会社)の後期第二相歯周組織再生試験に参加し、フラップ手術時に KCB-1D を投与、術後三年を経過した症例について報告する。

<症例>

患者は、60歳女性で左下臼歯部の歯肉の鈍痛と腫脹を主訴に2005年4月に来院した。家族歴、及び全身既往歴に特記事項はない。初診時の口腔内所見は、全額的に歯肉の発赤、腫脹、及び下顎前歯には歯石の沈着が認められ、4~6mmの歯周ポケットの割合は69.9%、7mm以上の歯周ポケットは5.1%存在した。37、46、及び47は欠損であった。エックス線所見では13、25、26、27、34、35、及び38に歯根長二分の一以上の垂直性、また15は根尖に至る歯槽骨欠損を認め、慢性歯周炎と診断した。治療経過は、歯周基本治療(ブラークコントロール、スケーリング、ルートプレーニング、咬合調整及びブラークリテンションファクターの除去)を行い、15及び36については抜歯した。再評価後、25近心口蓋側の垂直性骨欠損へ対するフラップ手術の適応と判断し、臨床試験の内容等についての十分な説明を行い、患者からの同意を得て、KCB-1D製剤による歯周組織再生試験を行った。

<臨床試験の経過>

歯周外科処置前の25近心口蓋側のプロービングポケット深さ(PPD)は5mm、臨床的アタッチメントレベル(CAL)は6mm、プロービング時の出血(BOP)は(+)であった。2005年9月にKCB-1D製剤(0.4%FGF-2、200 μ l投与)による歯周組織再生試験を行った。ウィドマン改良フラップ手術に従って歯肉弁を剥離し、2壁性骨欠損形態を確認した。ルートプレーニング及び炎症性肉芽組織を掻爬後、歯根面をクエン酸処理(pH 1.0にて30秒間)し、KCB-1D製剤を塗布後縫合した。術後4日目頃までは反応性の腫脹がみられ、14日目頃までは歯間乳頭部付近の腫脹も残っていた。術後3ヶ月時において、PPDは4mm、CALは5mm、BOP(+)であった。術後6ヶ月時においてPPDは3mm、CALは4mm、BOPは(+)で、術後9ヶ月時においても同様の値を維持していた。エックス線規格撮影写真上での計測による術前の骨欠損深さは5.79mmであったが、術後6ヶ月時には3.92mm、9ヶ月時には3.20mm、1年6ヶ月時には2.29mmであり、増加率は投与前と比較してそれぞれ32.28%、44.65%、60.38%と著明な改善がみられた。その後臼歯欠損部にはインプラント治療を行い、サポータィブペリオドンタルセラピー(SPT)へ移行した(2008年8月)。術後3年のPPDは頬側、口蓋側ともに3mm、エックス線写真において歯槽硬線の明瞭化を認めた。現在はブラキシズムに対する処置として上顎にオクルーザルプリントを装着している。

<考察>

イスに3壁性骨欠損を作製し、FGF-2を局所投与して8週後まで組織学的観察を行ったところ、術後1週から2週にかけて骨欠損部内に肉芽組織形成や血管新生が認められ、2週目から新生骨形成、歯根膜組織新生、及び新生セメント質添加が8週後においても続いていたという研究報告があり、今回の経過と類似していた。既存の再生療法と比較すると、組織再生誘導(GTR)法は術式が難しいこと、エナメルマトリックスタンパク質(製品名エムドゲイン)は作用機序に不明な点がみられること、骨移植術は使用材料や骨欠損形態により再生能に差があること等の問題がある。KCB-1Dは遺伝子組み換えであり、基剤はハイドロキシプロピルセルロースであるため操作性も良好であること等から、新規の歯周組織再生療法として期待できることが示唆された。(本臨床試験は、科研製薬株式会社の依頼を受け、GCPを遵守して実施された。)

歯周ポケットのないセメント質剥離歯を再植術により修復した症例

九州歯科大学口腔機能科学専攻口腔治療学口座歯周病制御再建学分野

○宮田勇一、中村友和、村岡宏祐、横田 誠

A case report of detachment of cementum without periodontal pocket restored by tooth replantation with EMD

Science of Oral Functions, Department of Cariology and Periodontology,

Division of Periodontology Kyusyu Dental College

○Yuichi Miyata, Tomokazu Nakamura, Kosuke Muraoka and Makoto Yokota

【目的】

咬合と歯周組織破壊に関しては、古くから議論されている。Hallmon (1999) は abfraction などと咬合や歯周組織破壊の関連についてはいまだ議論の余地があると述べている。このように現状では、咬合と歯周組織破壊については研究者により未だ混乱のある分野である。

歯根面のセメント質は繰り返しの咬合による応力の蓄積によって、微細なクラックを生じることが本教室の研究により明らかとなっている。また、しばしばこのセメント質の剥離が歯周治療の妨げとなり、難治性歯周炎と診断される一因となっている可能性が示唆されている。

しかしながら、この歯周炎がポケットを形成する以前の歯牙の治療に関する報告は少ない。そこで今回、セメント質剥離を原発として起こった歯周ポケット形成のない歯周炎に対して、再植術を行い予後良好に経過している症例を報告する。

【症例】

患者：75歳 女性

初診：2006年11月6日

主訴：歯茎を調べて欲しい

現病歴：歯肉の退縮を自覚し来院

既往歴：白内障

常用薬：特記なし

口腔内所見：全顎的にPPDは2~3mm、BOP(ー)。下顎左側中切歯根尖部歯肉に腫脹及び発赤、圧痛を認める。

レントゲン所見：下顎左側中切歯の近心根壁中央部に透過像を認める。

診断：歯槽膿瘍

治療経過：初診時には歯周組織に大きな問題はなく義歯調整とスクレーピング、TBIにて対応。その後磁性アタッチメントを装着した新義歯セットとなるも、義歯破折とともに下顎前歯部に腫脹と圧痛を訴えた。強接触部位の義歯粘膜面の調整で様子を見るが改善せず、根尖部に fistel を形成していたため切開、排膿を行う。その後 SP を行い経過観察とした。しかし、歯根中央および根尖部に透過像の拡大を認めたため再植+EMD 術を行った。

【結果及び考察】

肉眼的には、歯槽膿瘍を思わせる所見であった。歯肉弁の剥離後歯根歯頸部から根尖にかけて、著しいセメント質の剥離を観察したため、抜歯後、顕微鏡下にてデブライドメントとルートプレーニングの徹底を行った。その後 EMD を塗布し、再植縫合した。現在術後1年半が経過しているが予後は良好である。またレントゲン所見より、骨吸収を起こしていた部位には骨の再形成が認められる。

本症例より、セメント質の剥離によって引き起こされる、歯周ポケットの形成を伴わない歯周炎に罹患した歯牙に対して、EMD を併用した再植術の有効性が示された。今後経過観察する予定である。

歯周炎の再発に及ぼす人工骨移植材の影響

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座、日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門

○ 吉沼直人、佐藤秀一、汐見 登、蛭間重能、伊藤公一

Effect of non-resorbable hydroxyapatite graft material as a contributing factor in recurrence of periodontitis

Nihon University School of Dentistry, Department of Periodontology and Division of
Advanced Dental Treatment

○ YOSHINUMA Naoto, SATO Shuichi, SHIOMI Noboru, HIRUMA Shigetaka and ITO Koichi

緒言

歯周病治療において骨移植術は歯周炎により生じた歯槽骨内欠損を積極的に再生することを目的として用いられてきた。現在は GTR 法やエナメルマトリックスタンパク質を用いた歯周組織再生療法が開発されているが、臨床において骨移植術は頻りに用いられている方法である。日本では骨移植材は感染のリスクがない自家骨とハイドロキシアパタイトを主成分とする人工骨が主に用いられてきた。これらのうちハイドロキシアパタイトを主成分とする人工骨は生体親和性が高い物質であり、副作用は少ないと考えられるが、歯根吸収や移植材の歯根面への癒着などの副作用が報告されている。また人工骨移植における治癒は移植材が非吸収性であるために移植材周囲は歯肉結合組織で被包化され、歯根面は長い接合上皮で覆われることが報告されている。そのため、術後にサポータティブペリオドンタルセラピー(SPT)を行わず、歯周炎が進行し、歯周病原性細菌が移植材に感染した場合、歯周炎の再発が急速に進行する可能性が考えられる。今回、演者らは、SPT に応じず人工骨移植部位に歯周炎が再発した患者から採取した移植材を観察する機会を得たので報告する。

材料および方法

患者は 76 歳の女性で下顎右側中切歯の歯肉の腫脹を主訴に来院した。医科既往歴に関しては腰痛以外特記事項はなく、家族歴に関しても特記事項はなかった。現病歴は 15 年前に日本大学歯学部附属歯科病院で下顎右側中切歯に人工骨移植術を受けた。その後、14 年間は 3~4 ヶ月毎の SPT を受けていたが、最近、1 年間家庭の事情により来院しなかったところ、歯肉が腫脹してきたため、当病院歯周病科に再来院した。プロービング深さは最深部 10 mm で、歯の動揺度は 2 度であった。歯周基本治療後、再評価を行い、フラップ手術を行った。その際、歯根面に隣接する部位に人工骨移植材と考えられる白色の球状物質が観察され、その部位をグレーシースケラーにて除去した。患者の同意を取り、除去した球状物質を固定・脱水・臨界点乾燥を行い試料を作製し、走査電子顕微鏡による観察を行った。

結果

一塊として採取した試料は直径 300 μ mm 程度の球状物質の集合体であった。球状物質表面に気孔構造は観察されなかった。また、歯根側に近接していた球状物質の表面にらせん菌および桿菌と思われる像が観察された。術後、3 ヶ月目の再評価ではプロービング深さは 3 mm となり臨床症状の改善が認められた。

考察

演者らは、日本歯科保存学会 2003 年度 秋季学会(第 119 回)において、人工骨移植後、SPT が全く行われず歯周炎が進行し除去された歯の歯根表面を観察し、ハイドロキシアパタイトと考えられる球状物質が歯根表面に癒着していた症例を報告した。その症例では人工骨移植後、炎症により歯根吸収が生じ、SPT に応じなかったために急性炎症を繰り返したことにより、ハイドロキシアパタイトが歯根吸収部位に封入され、癒着したのではないかと考察した。本症例では、人工骨移植は成功し、14 年間は安定していたが、1 年間 SPT を怠ったために歯肉縁下に歯周病原性細菌が再増殖し、急性炎症を生じ、さらに隣接するハイドロキシアパタイトへの感染が波及し、急速な歯周病の悪化を生じた可能性が考えられる。

結論

人工骨移植は適切な症例を選択すれば長期間臨床症状の安定が得られるが、SPT を怠ると移植材の細菌感染により急速に進行する可能性が示唆された。

切迫早産妊婦の歯周組織状態と治療効果

北海道医療大学 歯学部 口腔機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野
○森 真理、加藤幸紀、栗倉あずさ、古市保志

Effect of periodontal therapy on delivery outcome in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor

Health Sciences University of Hokkaido

○Mari Mori, Satsuki Kato, Azusa Awakura and Yasushi Furuichi

【研究目的】

切迫早産は、妊娠 37 週未満に分娩時におこる子宮収縮や頸管熟化などの分娩兆候がみられるが、まだ出産に至っていない臨床状態をいい、早産（妊娠 22 週以降～37 週未満での出産）(PB)・低体重児出産（新生児の体重が 2,500g 未満での出産）(LB) につながる可能性が極めて高い。切迫早産の原因は多岐にわたるが、原因不明のまま経過する場合も多い。歯周病に罹患した歯周組織ではサイトカインなどが産生され、組織破壊が進行する。一方、早産は感染などを契機とするサイトカインやケモカインを介して誘発されることが報告されている。このような早産に関与しているサイトカインが歯周病病巣局所からも産生されることから、歯周病と早産の関連性が注目されている。

本研究では、切迫早産妊婦の歯周組織状態の調査と口腔清掃指導 (TBI)、スケーリング (Sc) および機械的歯面清掃 (PMTc) を行い、歯周組織状態の変化と PB・LB との関連性について検討した。

【方 法】

札幌医科大学産科周産科に切迫早産の診断で入院中で、歯科健診、TBI、Sc および PMTC の実施に同意した妊婦を対象に、歯周組織検査（歯肉炎指数 (GI, Löe, 1967)、ブランク指数 (PII, Sillness and Löe, 1964)、歯周ポケット深さ (PPD)、クリニカルアタッチメントレベル (CAL)、およびプロービング時の出血 (BOP+)）を行い、1 回目の口腔清掃指導を行った。その後、入院継続中の妊婦には 1 週後、2 週後に口腔清掃指導を再度行い、被験者が痛みを訴えない程度の専用スケーラーによるスケーリングと機械的歯面清掃を行い、1 ヶ月後に最初と同じ項目の検査を行った。また検査時に採血を行い、血清中の Interleukin (IL)-8 量を ELISA 法で測定した。出産後、新生児の体重、出産時の妊娠週数の調査を行った。すべての結果について早産・低体重児出産との関連性について分析した。

【結 果】

本研究に同意した産科的、内科的に原因不明の切迫早産の妊婦は 37 名であった。2 回目の健診を受け、治療効果の評価が可能な妊婦は 26 名であった。切迫早産妊婦 37 名のうち、PB 妊婦は 12 名 (32.5%)、LB 妊婦は 13 名 (35.1%) であった。治療効果の評価が可能な妊婦 (26 名) では、PB 妊婦は 9 名 (34.6%)、LB 妊婦は 8 名 (30.8%) であった。

PB 妊婦では正常産妊婦と比較して初診時の PII が有意に高かった。また LB 妊婦では、正常体重児出産妊婦と比較して、初診時の PII と GI が有意に高かった。また、BOP+ の割合も多い傾向が認められた。

TBI、Sc および PMTC の治療効果の評価が可能であった妊婦 (26 名) では、治療の前後で PII と GI が有意に改善し、BOP+ の割合も減少した。PB 妊婦では正常産妊婦と比較して治療後の結果について、いずれの比較でも有意差は認められなかったが、PII と GI が高い傾向を示した。また LB 妊婦では正常体重児出産妊婦と比較して、治療後の PII が有意に高く、GI も高い傾向が認められた。血清中の IL-8 濃度は、初診時に PB 妊婦では正常産妊婦に比べて高い傾向を示し、治療後も高い傾向が認められた。

【考 察】

切迫早産から PB、あるいは LB に至った妊婦では、切迫早産から正常で出産、あるいは正常体重児を出産した妊婦と比較して、初診時の口腔清掃状態と歯肉の炎症の程度は悪かった。TBI、Sc および PMTC を行うと PII と GI は有意に改善したが、PB 妊婦では正常産妊婦と比較して、LB 妊婦では正常体重児出産妊婦と比較して、それぞれ歯周組織状態は悪い傾向が認められた。これらのことから歯周病と切迫早産および PB、LB の発現には関係がある可能性が考えられた。今回は治療の時期が妊娠中期～後期であったことから、今後は介入の時期を早め、浸潤麻酔下での歯肉縁下のデブライドメントを行うなど、歯周治療の内容と質を検討する必要があると考えられた。会員外共同研究者：齊藤 豪、石岡 伸一（札幌医科大学医学部産婦人科学講座）、山口 晃（札幌医科大学医学部口腔外科学講座）

歯周治療における Er:YAG レーザーとファイバースコープの併用法
鶴見大学歯学部第二歯科保存学教室
○小林一行, 山崎泰志, 福田貴久, 鳥塚慎二, 小澤寿子, 新井 高

Combining the Er:YAG laser and the fiberscope on periodontal treatment
Department of Periodontics and Endodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine
○Kobayashi Kazuyuki, Yamazaki Yasushi, Fukuda Takahisa, Torizuka Shinji,
Ozawa Toshiko and Arai Takashi

【緒言】

Er:YAG レーザーはその発振波長(2.94 μ m)から水への吸収性が非常に高い。そのため、水分を含む生体組織によく吸収され、軟組織のみならず、硬組織の蒸散能力にも優れ、歯石を効率的に除去できることが可能である。また、極めて低い出力で殺菌作用を生じ、さらに歯根表面にはエンドトキシンの分解・除去効果が認められるなど、レーザー処置面にはスミヤ層がなく滅菌効果、無毒化が期待される。しかしながら、歯肉縁下の処置に対する盲目的なレーザー照射は歯根面を必要以上に蒸散させる危険性が考えられる。そこで今回、我々は観察、確認下でのレーザー照射は歯石やその他の有害物質の取り残しを防ぎ、さらに過度な処置を避けるなど歯周治療に有効であると考え、人工歯にマニキュアを塗布し歯石と想定した歯周治療実習用顎模型の歯肉縁下ポケットに対しファイバースコープ(FS)を使用してモニターで観察、確認下でのEr:YAG レーザー照射を行い、マニキュア除去効果についてその有用性を検討した。

【材料および方法】

多様な歯槽骨欠損および歯周ポケットを有するラバー歯肉付きの歯周治療実習用顎模型(高研社製)を使用した。この顎模型をファントームに装着し、実験に供した。人工歯(ニッシン社製)には罹患歯根面を想定し、上顎右側側切歯(#12)口蓋側、上顎右側第一小臼歯(#14)近心面、下顎右側第一大臼歯(#46)根分岐部の歯肉縁下に位置する部位にマニキュアを塗布し被験部位とした。

使用したイメージング装置は Dr. CAMSCOPE™(デニックス社製)、FS は外形 1.1 mm、レーザー用チャンネル、水流通チャンネルおよびライトガイドを有し、画素数は 6000 である。

レーザー装置は Er:YAG レーザー(アーウィン アドベール®:モリタ製作所社製)を使用した。コンタクトチップとして FS 未使用群は C400F(ϕ 400 μ m)を、FS 使用群は試作チップである E200FL(ϕ 200 μ m)を使用して注水下 80mJ・10pps の条件で照射した。

術者は FS・Er:YAG レーザー使用経験者である本教室員の 5 名とし、最初に被験部位に対して FS を使用せず Er:YAG レーザー照射を行い、人工歯を交換後、次に FS 観察下でレーザー照射を行った。そして、それぞれの処置後のマニキュア残存率および人工歯表面の性状を比較検討した。なお、統計学的分析は得られた結果から Mann-Whitney's U test を用いて危険率 5%で検討した。

【結果】

それぞれの処置後のマニキュア残存率の平均(FS 未使用群:FS 使用群)は #12 口蓋側面(79.07 \pm 16.96 % : 22.80 \pm 5.35 %)、#14 近心面(68.79 \pm 12.51 % : 25.40 \pm 12.37 %)、#46 根分岐部(80.58 \pm 10.47 % : 21.99 \pm 4.24 %)であり、FS 使用群は未使用群より有意にマニキュア残存率が低かった(Mann-Whitney's U test : p < 0.05)。

FS 未使用群および使用群それぞれのレーザー照射後の歯根表面性状の観察において著しい差は認められなかった。

【考察および結論】

FS を併用した結果、レーザー照射対象となる標的(マニキュア部)が明確に確認され、効率的な照射が可能となった。除石が困難と考えられる部位において Er:YAG レーザーと FS 併用の有用性が認められた。

薬物性歯肉増殖症患者の10年にわたる長期経過症例

—SPT 期間中に Ca 拮抗薬の再投与が行われた症例—

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 歯周歯内治療学分野

○ 二宮 雅美, 永田 俊彦

**A Case Report of Severe Drug-induced Gingival Overgrowth for 10 Years Follow-up
- Reevaluation of the Case that Calcium Antagonist was Administered Again During SPT Phase -**

Department of Periodontology and Endodontology,
Institute of Health Biosciences, University of Tokushima Graduate School

○ Masami NINOMIYA and Toshihiko NAGATA

【緒言】

高血圧症、狭心症治療薬の Ca 拮抗薬（ニフェジピン、アムロジピンなど）の投与により、口腔内副作用として歯肉増殖症が起こることが知られている。今回、重度のニフェジピン歯肉増殖症患者に対して、薬剤が変更され、歯周外科治療、MTM、自家歯牙移植を行うことで著明な歯周組織の改善が得られた。現在まで長期間にわたって定期的 SPT を行っているが、SPT 移行後 3 年目から Ca 拮抗薬の再投与が行われるようになり、歯肉増殖症の再発のリスクを抱えながらも SPT により健全な歯周組織を維持している症例を報告する。

【症例】

患者は 49 歳の男性。1997 年 2 月から脳梗塞、高血圧症の既往にて本院脳神経外科に通院中である。そこで投与された薬剤を服用後、数か月して歯肉の肥厚が認められるようになった。ブラッシング時に歯肉痛や出血があり、歯並びや噛み合わせも悪くなってきたため、精査加療を希望して 1998 年 12 月に本院第二保存科を受診した。服用している薬剤は、アダラート L（ニフェジピン）、レニベース、パナルジンであった。口腔内所見として、全顎的に歯冠が覆われるほどの著明な歯肉の肥厚が認められた。とくに歯間乳頭部においては、数珠状に歯肉が肥厚し、互いに接してクレフトを形成していた。プロービングデプスは全歯において 6mm 以上、BOP(+)であった。PCR は 68%で口腔清掃状態は不良であった。X線写真所見では、一部に軽度の歯槽骨吸収が認められる以外に異常所見は認められなかった。歯肉組織の病理組織検査を行い、薬物性（ニフェジピン）歯肉増殖症と診断した。

【治療経過】

脳神経外科に、患者の病状および降圧剤アダラート L（ニフェジピン）の他剤への変更が可能かどうかの問い合わせを行い、カリデナリン（ α 遮断薬）へ変更となった。当初の治療計画では、初期治療後に歯周外科治療を行う予定であったが、歯冠が覆われるほどの重度の歯肉肥厚であったため、治療の初期の段階で歯肉切除術を行い、その後ブラークコントロールの徹底を図った。上顎に関しては、歯間離開を改善する目的で M.T.M.を行った。また、右側上顎大臼歯欠損部を改善するために右下 7 を右上 6 部へ自家歯牙移植し、右側大臼歯部の咬合を改善して 2002 年 3 月に最終補綴を終了した。その後、1 回/2~3 か月の間隔で SPT を行っている。2005 年 1 月から患者の血圧の上昇がみられるようになり、現在の処方薬ではコントロールが不十分であると判断されてアムロジン（ベシル酸アムロジピン:Ca 拮抗薬）の追加投与が行われた。同年 5 月頃から、SPT 時に歯間乳頭部歯肉の軽度肥厚を認めるようになったが、SPT 期間を 1 回/1~2 か月に間隔を短くするなどして現在まで歯周組織の悪化を防いでいる。

【まとめ】

今回の症例は、当初、Ca 拮抗薬から α 遮断薬へ処方変更されたうえで歯周治療を開始した。治療に際して、本症例は重度の歯肉増殖症であったため、セオリーに従わず歯周外科治療を優先した。全顎的な歯周外科治療後、歯肉が正常なレベルにまで回復してくると、上下顎前歯部に認められた歯列不正、歯間離開が部分的に改善されているのが認められた。これは、重度に肥厚した歯肉による歯への圧迫が歯肉切除により解除されたためと思われる。右側上顎大臼歯欠損部に右下 7 を移植後 7.5 年経過するが、歯根吸収やアンキローシスは認められておらず、術後経過良好である。一方、2005 年 1 月から歯肉増殖症を誘発する可能性があるアムロジン（Ca 拮抗薬）の投与が行われ、その 4 か月後から歯間乳頭部歯肉の軽度肥厚を認めるようになった。また、患者の血液検査から、 $\alpha 2$ インテグリン+807 遺伝子型 (Ogino M : J Dent Res 2005;84(12)1183-1186) は歯肉増殖症患者に多い C/C 型であることがわかり、再発の可能性が危惧された。しかし、現在まで定期的な SPT をしっかり行うことで初診時のような悪化は予防できており、Ca 拮抗薬の再投与が行われても歯周組織を安定した状態で維持することは可能であることが示唆された。

学生の心理傾向と各種試験成績について

¹九州歯科大学口腔機能科学専攻口腔治療学講座歯周病制御再建学分野

²九州歯科大学健康増進科学専攻健康増進学講座総合内科学分野

○ 村岡宏祐¹、久保田浩三¹、笠井宏記¹、園木一男²、芳賀健輔¹、
中島啓介¹、高田豊²、横田誠¹

About student's psychology tendency and various examination results

¹Science of Oral Functions, Department of Cariology and Periodontology, Division of Periodontology Kyushu Dental College

²Science of Health Improvement, Department of Health Promotion, Division of General Internal Medicine Kyushu Dental College

○ Kosuke Muraoka¹, Kohzoh Kubota¹, Hironori Kasai¹, Kazuo Sonoki², Kensuke Haga¹,
Keisuke Nakashima¹, Yutaka Takata² and Makoto Yokota¹

【目的】

我々は、OSCE 形式の実習試験において、試験前後で有意に学生が緊張していることなどを報告した。また、歯周病学の筆記試験、OSCE 形式の実習試験においては、筆記試験が有意に緊張していることを認めた。このことは、学生にとって試験はストレスフルな状況であることを示している。

また、試験に対する各分野における心理的な傾向については報告されていない。

このため、今回、歯周病学の筆記試験、OSCE 形式の実習試験、内科学の筆記試験に対する学生の心理的な傾向を比較した。

【被験者および方法】

被験者は、2007年度九州歯科大学3年生で、本研究に参加した68名である。歯周病学の筆記試験、OSCE形式の実習試験、内科学の筆記試験の前に State-Trait Anxiety Inventory (STAI) を用いて不安尺度を測定したあと、ストレスの生化学マーカーである唾液中のクロモグラニンA (CgA) を測定した。

歯周病学の筆記試験は、歯周病の分野で、100点満点で評価した。

歯周病学のOSCE形式の実習試験は、「ブラッシング指導」の課題で、20点満点で評価した。

内科学の筆記試験は、歯周病の分野で、100点満点で評価した。

解析に用いたパラメータは、歯周病学の筆記試験の成績、歯周病学のOSCE形式の実習試験の成績、内科学の筆記試験の成績、STAI、CgAである。

統計処理は、個々のパラメータについて行った。

【結果】

歯周病学の筆記試験と内科学の筆記試験の比較は、状態不安、CgAにおいて、有意に歯周病学の筆記試験で高値を示した。歯周病学のOSCE形式の実習試験と内科学の筆記試験の比較は、状態不安、特性不安、CgAにおいて、有意に内科学の筆記試験で高値を示した。歯周病学の筆記試験とOSCE形式の実習試験の比較は、状態不安、特性不安、CgAにおいて、有意に歯周病学の筆記試験で高値を示した。

歯周病学の筆記試験と内科学の筆記試験の成績について単回帰分析を行うと、有意な相関を認めた。

【考察】

学生は、試験に対して緊張感を持って臨んでいると思われる。特に、筆記試験に対しては不安、ストレスを持っていることがわかった。

このことから、歯周病学の筆記試験は、OSCE形式の実習試験より学生は緊張感を持っているため、技術的な側面もあるため、実習に対する重要性を教授する必要があることが示唆された。

さらに、近年、全身疾患を有し、歯科治療を行うケースが多いため、内科などの隣接医学の知識の習得が必須となりつつある。このため、さらなる歯科-隣接医学の密接したカリキュラムの編成を行う必要があることも示唆された。

岡山大学病院歯科医師臨床研修における歯科保存領域研修について —平成18年度と19年度における研修の分析—

岡山大学医学部・歯学部附属病院 総合歯科¹， 卒後臨床研修センター歯科研修部門²
○河野隆幸¹， 鳥井康弘^{1,2}

Practice Training of Conservative Dentistry on Postgraduate Clinical Training Course at Okayama University Hospital

- The Analysis of the 2006 and 2007 Academic Year -

Comprehensive Dental Clinic¹, Post Graduate Clinical Education Center, Okayama University Hospital²
○KONO Takayuki¹, TORII Yasuhiro^{1,2}

【緒言】

歯科医師臨床研修の目的は、歯科医師としての人格を涵養し、総合的な診療能力（態度・技能・知識）を身につけることである。歯科医師臨床研修が開始されて3年が経過したが、1年間の臨床研修において研修歯科医が経験する症例数の詳細は不明である。当院では、データベース型ソフトであるFileMaker Pro 8 (FileMaker, Inc.)を用いた電子ポートフォリオシステムを活用し、診療に伴う気付きや振り返りを促す研修教育を行っている。本システムでは、実施した診療項目を選択入力し、そのデータを抽出することによって各人が研修した内容を分析すること可能である。

今回、当院で使用している電子ポートフォリオシステムに入力された平成18年度と19年度のデータから、岡山大学病院歯科医師臨床研修における歯科保存領域研修の現状を集計・分析したので報告する。

【対象および方法】

1. 対象

平成18年度と19年度において、岡山大学病院卒後臨床研修センター歯科研修部門において1年間の臨床研修を行った研修歯科医42名および31名が、それぞれ電子ポートフォリオシステムに入力した研修項目のうち、高頻度歯科治療研修を行う総合歯科における歯科保存領域に関わる研修項目を集計対象とした。

2. 保存領域診療研修の分析

平成18年度と19年度における対象とする研修項目を、Microsoft EXCEL 2003 (Microsoft) にエクスポートし歯科保存領域に関するものを抽出した後、修復処置、歯内療法、歯周治療の各分野における研修項目の詳細を調べた。また、これらの研修項目において、研修歯科医が1年間に経験した平均症例数を調べた。

【結果】

1. 処置項目数

平成18年度と平成19年度の総合歯科における歯科保存領域に関わる研修項目数の合計は、それぞれ4,186項目と2,576項目で、総合歯科で行ったすべての研修項目の65.7%と64.6%を占めていた。また、平成18年度と19年度における保存領域に占める3分野の割合は、修復処置分野がそれぞれ19.3%と20.9%、歯内療法分野が17.9%と17.0%、そして、歯周治療分野が62.8%と62.1%であった。

2. 保存領域における処置項目の詳細

修復処置分野において最も経験数が多かった項目はレジン充填で、修復処置分野に占める割合と研修歯科医の一人当たりの経験症例数は、平成18年度は63.9%で12.3症例、平成19年度は53.9%で9.4症例であった。同様に、歯内療法分野においては、拡大・貼薬が最も多く、平成18年度は49.5%で8.9症例、平成19年度は40.8%と5.8症例であった。一方、歯周治療分野においては、平成18年度は超音波スクレーリングが最も多く32.0%で20.0症例、平成19年度はSupportive periodontal therapy (SPT) が最も多く42.6%で22.0症例であった。

【結論およびまとめ】

岡山大学病院歯科医師臨床研修では、総合歯科における高頻度歯科治療研修と専門診療科における専門診療科研修を行っている。この内、総合歯科における研修では、歯科保存領域における研修が最も高い比率を占め、中でも歯周治療分野の研修が多いことが明らかになった。しかしながら、総合的な診療能力を身につけるという歯科医師臨床研修の目的を達するためには、まだまだ経験項目の偏りや経験症例数の不足があるようにも感じられる。今後は、現在の症例数と項目の到達度の相関を調べることによって、より良質な研修プログラムの改正を行っていく必要があると考える。

RCAを用いた歯科医療事故の分析

京丹後市立久美浜病院歯科¹、京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学²
○真下 肇¹、山本俊郎²、金村成智²

Analysis of dental clinical accident using the RCA(Root Cause Analysis)

Department of Dentistry, Kumihama Municipal Hospital¹
Department of Dental Medicine,
Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science²
Hajime MASHIMO¹, Toshiro YAMAMOTO², Narisato KANAMURA²

【緒言】

近年、国民の生活安全に対する関心の高まりとともに医療に対しても安全性が強く求められるようになってきている。2007年に改正された医療法では歯科を含む各医療機関での医療安全管理の義務化が定められ、歯科医療機関においても医療安全対策は重要な課題となっている。

各医療機関において医療事故を防止するためには、医療機関で発生した医療事故事例および事故にまで至らないようなインシデント事例を的確に集約し分析を行うことによって今後の医療事故発生の防止対策を検討し実行することが必要である。医療事故事例の分析について定性的な分析を行う場合、医科では主として工業分野で開発されてきた4M4E, SHELL, RCA, FMEAなどの分析手法を応用して行われることが多い。今回われわれは歯科医療事故事例に対してRCAを用いて分析を行ったのでその概要について報告する。

【RCAとは】

RCA (Root Cause Analysis 根本原因分析) は事故事例の背景にある基本的な事故の要因を特定する分析手法である。RCAは産業事故の分析手法として人間工学分野から開発された手法であるが、米国医療施設評価合同委員会 (JCAHO) が認証病院における重大な医療事故に対してRCAを行うことを義務付けていることなどから医療事故の分析に際して用いられることの多い分析手法である。

RCAの特徴として1) 複数のスタッフによって意見を出し合って分析を行う。2) 事例の要因が特定できるまで疑問と回答を繰り返して事例を深く考察する。3) 事故の原因として医療従事者の個人的要因でなくシステム要因を明らかにすることを目的にしている。があげられる。

【RCAの手順】

われわれは次のような手順でRCAを実施した。

- 1) 事例の整理：事例を時間経過の順に整理し各出来事について「いつ」「だれが」「何をしたのか」を明確にする。
- 2) なぜ・なぜ分析：各出来事に対してなぜそうなったのかを考察する。疑問点が見つからなくなるまで何回も繰り返し行う。
- 3) 因果関係の分析：なぜ・なぜ分析の結果を整理し事例の根本原因を明確にする。
- 4) 対策の立案：事例の根本原因に対して今後の事故防止のための方策を検討する。

【歯科医療事故に対するRCA】

歯科医療事故のなかで頻度が高いといわれている金属修復物の誤飲事例について実際に生じた事例に対してRCAを用いた分析を行った。

その結果、以下の知見が得られた。

- 1) RCAの実施によってこれまで気づかなかった事故の原因が明らかになるとともに情報をスタッフが共有することにより事故予防に有用であると思われた。
- 2) RCAの実施によって日常の業務内容を見直すきっかけとなる。
- 3) RCAの実施には相当の時間を要するため日常的に実施することは困難である。
- 4) RCAは組織の中に存在する事故要因を特定する分析手法であるが組織として比較的小規模にまとまっている歯科の場合は組織の中の要因は検出しにくいと感じられた。

福岡歯科大学医科歯科総合病院における針刺し・切創等の分析および対策の検討

○岡田一三¹⁾, 米田雅裕¹⁾, 泉 利雄²⁾, 鈴木奈央¹⁾, 内藤 徹¹⁾,
山田和彦¹⁾, 岩元知之¹⁾, 梶尾陽介¹⁾, 阿南 壽²⁾, 廣藤卓雄¹⁾

¹⁾ 福岡歯科大学総合歯科学講座総合歯科学分野

²⁾ 福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野

Analysis of needlestick injuries in Fukuoka Dental College Medical and Dental Hospital

Ichizo Okada,¹⁾ Masahiro Yoneda¹⁾, Toshio Izumi²⁾, Nao Suzuki¹⁾, Toru Naito¹⁾,
Kazuhiko Yamada¹⁾, Tomoyuki Iwamoto¹⁾, Yosuke Masuo,¹⁾ Hisashi Anan²⁾, and Takao Hirofujii¹⁾

¹⁾ Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

²⁾ Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College

【目的】

歯科医療では観血処置の頻度が高く、注射針や鋭利な器具の使用により針刺し・切創の危険もある。血液媒介感染の危険のある針刺し・切創等を効果的に防止するためには、施設における現状把握とその対策の評価を行う必要がある。今回、福岡歯科大学医科歯科総合病院の感染制御チーム（ICT）が中心となって、本院の針刺し・切創等の事故状況を分析し、さらに改善策を検討してその効果を確認した。

【材料および方法】

平成14年1月から平成19年12月の間に福岡歯科大学医科歯科総合病院院内感染防止対策委員会に提出された感染事故報告書をもとに集計を行った。報告書は、本院の医師、歯科医師、臨床研修歯科医、看護師・歯科衛生士・本学歯学部臨床実習生（5年生。以下、本学学生）、福岡医療短期大学歯科衛生学科の臨床実習生（3年生。以下、短大学生）および契約している清掃業者から提出された。感染事故報告書はコード化し個人情報が判別できない方法で集計し、公表に関しては上記委員会の許可を得た。なお、感染事故報告書には針刺し・切創の他、唾液や血液の飛沫が目に入った事故も記載されていたので今回の集計に加えた。

【結果】

6年間で計80件の針刺し・切創が報告され、月別では11月、曜日別では火曜日、時間帯では午前11時台に多く発生していることが明らかになった。事故に関連した器材では注射針がもっとも多く、縫合針、スケーラーチップ・パー類がこれに続いた。事故者の職種別割合では医師・歯科医師が最も多く、臨床実習に参加している短期大学学生、歯学部学生がこれに続いた。事故時の作業内容では片づけ中がもっとも多かったが、これは実習生が片づけに参加していることも原因のひとつだと考えられる。

【結論および考察】

これらの現状をふまえ、本学では医療安全に関するマニュアルの整備を行い、針刺し・切創防止のための講義や講演会を実施している。さらに平成17年からは注射針の取り扱いを職員に限定し実習生の注射針の取り扱いを禁止した。その結果、平成17年から平成19年にかけて針刺し・切創が減少し特に短大学生による事故が減少した。一方、事故が発生しても未報告のケースもあると考えられるので、今後は、事故が発生した時には迅速な報告をうながす必要があると思われる。また、ヒューマンエラーはゼロにできないことから安全装置の開発や導入も必要であると考えられる。