

歯髄細胞における Osterix 発現

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¹
東京医科歯科大学 GCOE プログラム “歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点—デント・メドミクスのインテリジェントハブ—²
○川島伸之¹、許婧^{1,2}、周夢宇^{1,2}、瀧本晃陽¹、小泉悠¹、大井智恵¹、高橋里美¹、鈴木規元¹、須田英明^{1,2}

Osterix expression in the dental pulp cells

Pulp Biology and Endodontics, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University¹
GCOE Program—International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases—, Tokyo Med & Dent Univ²
○KAWASHIMA Nobuyuki¹, XU Jing^{1,2}, ZHOU Mengyu^{1,2}, TAKIMOTO Kouyou¹, KOIZUMI Yu¹, OHI Chie¹,
TAKAHASHI Satomi¹, SUZUKI Noriyuki¹, SUDA Hideaki^{1,2}

研究目的： Osterix (Osx: Sp7) は骨芽細胞分化において Runx2 と並んで重要な転写調節因子であり、Osx null マウスにおいては骨の形成が著しく阻害されることから、未分化間葉系細胞の硬組織形成細胞への分化を広く制御している可能性が示唆される。今回、歯における間葉系の硬組織形成細胞である象牙芽細胞および歯髄細胞における Osx 発現について検討した。

材料および方法： 実験には生後 6 週 (6w) および胎生 15 日 (E15) の Wistar 系ラットを用いた。6w ラットにおいては、切歯および臼歯を周囲の骨ごと摘出し、4%パラフォルムアルデヒド/リン酸塩緩衝液 (PBS) にて固定 (4℃、12 時間) し、15%EDTA 溶液にて脱灰 (4℃、3 週間) した後、30%Sucrose 溶液に浸漬し、OCT コンパウンドにて包埋した。E15 胎児においては頭部を切断し、同様に固定した後すぐに包埋した。その後、厚さ 7μm の凍結切片を作製し、抗 Osx 抗体 (x2000、Abcam) を用いて ABC 法 (R. T. U. VECTASTAIN Elite ABC Reagent, Vector) にて Osx 陽性細胞の局在について検討した。発色は diaminobentidin (DAB)、核染色はメチルグリーンにて行った。

成績： 臼歯、切歯ともに 6w ラットの歯髄組織においては、広く歯髄細胞に Osx の発現が認められたが、特に象牙芽細胞に強い発現が認められた。歯根部においては全ての象牙芽細胞に Osx の強い発現が認められた (図) が、歯冠部の咬頭あるいは切端に向かうにつれ Osx 陽性の象牙芽細胞は減少した。なお、骨芽細胞に強い発現が認められた他、セメント芽細胞にも Osx 発現が認められた。一方、E15 の標本において、骨および骨原基においては常に強い Osx 発現が認められたが、象牙芽細胞および歯乳頭細胞における Osx 発現はほとんど認められなかった。

考察： 歯髄細胞、特に象牙芽細胞において、強い Osx 発現が認められたことから、象牙芽細胞の分化および機能に Osx が関与している可能性が示唆される。特に根尖付近の幼弱な象牙芽細胞において強い発現が認められたことから、象牙芽細胞が成熟する過程に Osx が重要な働きを担っていると推察される。なお、Osx null マウスにおいては歯胚の形成は障害されないことから、歯の発生において Osx の関与は低いと考えられる。今回も歯胚の初期発生において、歯胚周囲の骨原基においては Osx 発現が認められる一方、歯胚においてはほとんどその発現を認めなかった。以上の結果より、象牙芽細胞あるいは歯髄細胞への分化の方向性が確立した後、それらの成熟あるいは機能に Osx は関与していると思われる。

結論： 歯髄組織において Osx 発現が認められた。特に象牙芽細胞において強い Osx 発現が認められた。

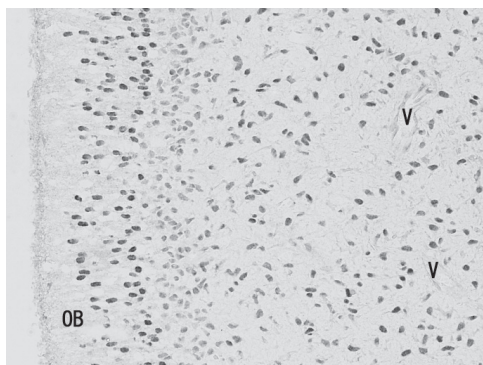


図 ラット切歯歯髄における Osx 発現
ラット (6w 雄性 Wistar) 切歯歯髄において、Osx は象牙芽細胞に強く発現していた。また、多くの歯髄細胞にも象牙芽細胞よりは弱いながらも Osx 発現が認められた。(x20)
OB:象牙芽細胞、v:血管

謝辞： 本研究を行うに当たり、適切な助言をいただいた東京女子医科大学・先端生命医学研究所、岩田隆紀先生に深く感謝いたします。

オスモティックストレスが歯髄細胞の硬組織形成能とオステオポンチン産生に及ぼす影響

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

○稲垣裕司、板東美香、廣島佑香、木戸淳一、永田俊彦

Osmotic Stress Affects Mineralized Tissue Formation and Osteopontin Expression

in Cultured Rat Dental Pulp Cells

Department of Periodontology and Endodontology

Institute of Health Biosciences, University of Tokushima Graduate School

○Yuji Inagaki, Mika Bando, Yuka Hiroshima, Jun-ichi Kido and Toshihiko Nagata

【背景および目的】

歯痛の発症メカニズムについては、古くから流体力学仮説が支持されている。すなわち、冷刺激や甘味料などの外来刺激が象牙細管内の組織液の浸透圧に影響を与え、その結果、歯髄組織内の神経終末を刺激するというものである。このような浸透圧変化が惹起する刺激源は一般にオスモティックストレス (osmotic stress) と呼ばれている。しかし歯髄におけるオスモティックストレスと修復象牙質形成との観点から硬組織形成を論じた成書や研究報告はほとんどない。本研究では浸透圧変化 (オスモティックストレス) に呼応して歯髄細胞の硬組織形成能に変化が生じるか、また硬組織形成関連蛋白であるオステオポンチン(OPN)の発現に変化が生じるかを検証するために、歯髄細胞培養系に低張/高張ストレスを付与してその石灰化能を測定し、OPN 蛋白の発現量について調べた。

【材料および方法】

実験材料には 8 週齢の Wistar 系ラットを用いた。低張培地は、市販の EMEM 培地に、NaCl と KCl を含まない特注 EMEM 培地を加えて希釈し、塩濃度が EMEM 培地に対し 0-90%のものを作製した。高張培地は、市販の EMEM 培地に NaCl を添加し、塩濃度が EMEM 培地に対し+25-+300mM NaCl のものを作製した。上顎切歯より歯髄を採取し、1 週間コンフルエントになるまで培養した後、50 μ g/ml アスコルビン酸と 2mM β -グリセロリン酸を含む各種塩濃度の EMEM 培地+10%FBS にて細胞培養 (ストレス付与) を行った。ストレス付与後、細胞の形態変化を観察するとともに、15、18、25、29 日後に、石灰化度を von Kossa 染色により測定し、また培養液中に分泌された OPN 蛋白を ELISA 法で測定した。

【結果】

(1) 歯髄細胞培養系において、塩濃度 40%以下の低張培地では細胞の形態変化が認められた。また塩濃度 80%以下の低張培地では石灰化能の低下が認められた。さらに、塩濃度 90%以下の低張培地では OPN 産生の上昇が認められた。また総蛋白量に対する OPN の比率も塩濃度の低下とともに上昇した。
(2) 歯髄細胞培養系において、塩濃度+200mM NaCl 以上の高張培地では細胞の形態変化が認められた。また塩濃度+25mM NaCl 以上の高張培地では石灰化能の低下が認められた。さらに、塩濃度+25mM NaCl 以上の高張培地では OPN 産生能の低下が認められた。また総蛋白量に対する OPN の比率も塩濃度の上昇とともに低下した。

【考察と結論】

以上より、(1)歯髄細胞培養系においては、低張および高張の何れの浸透圧ストレスによっても硬組織形成能が低下すること、(2)歯髄細胞培養系においては、塩濃度依存的に OPN 発現の低下が生じ、また総蛋白量に対する OPN の比率も塩濃度依存的に低下すること、ことが明らかになった。上記結果からオスモティックストレスは歯髄細胞の硬組織形成能や OPN 発現に影響を及ぼし、修復象牙質の形成に関与することが示唆された。しかしオスモティックストレスにより硬組織形成能の増加を観察できなかったことは予想外の結果であった。

ヒト間葉系幹細胞の石灰化能に与える象牙質フォスフォフィン由来ペプチドの影響

○安田善之、泉川昌宣、川守田暢、立松祐哉、新田督、斎藤隆史
北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野

Effect of dentin phosphophoryn-derived peptides on the mineralization of human mesenchymal stem cells

○YASUDA Yoshiyuki, IZUMIKAWA Masanobu, KAWAMORITA Toru,
TATEMATSU Yuki, NITTA Osamu, SAITO Takashi
Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

【目的】

象牙質フォスフォフィン(DSPP (Dentin Sialophosphoprotein) 遺伝子産物で、象牙質の非コラーゲン性タンパク質の 50%を占める高リン酸化タンパク質である。これまでにわれわれは、象牙質フォスフォフィンと I 型コラーゲンとの複合体が in vitro における再石灰化実験系において高い石灰化誘導活性を示し、象牙質の石灰化において主要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。これは、ヒト DSPP 遺伝子変異が象牙質異形成症や象牙質形成不全症を引き起こし、さらには DSPP 遺伝子ノックアウトマウスがヒト象牙質異形成症に似た病態を示すことから示唆される。またわれわれは、動物由来象牙質フォスフォフィン・コラーゲン複合体を動物の大腿骨欠損部や歯周病モデルとしての歯槽骨欠損部に移植してそれらの組織再生に対する高い誘導活性を確認した。さらに、イヌの人工露髄面に移植し覆髄実験を行ったところ、早期に細管構造を有する緻密な修復象牙質の形成誘導が認められた。しかも、歯髄に炎症がほとんど認められず、強力な修復象牙質形成誘導活性と生体親和性を兼ね備えた覆髄材料であることを明らかにした。しかし、数年前からの BSE 問題により、より安全な組織再生材料の開発が重要課題となっている。本研究は、新規骨再生材料の開発を目的として、ヒト象牙質フォスフォフィン由来の各種合成ペプチドを作製し、ヒト間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化および石灰化能に与える影響について検討した。

【材料および方法】

ヒト間葉系幹細胞の培養:ヒト間葉系幹細胞(BioWhittaker)を 10%FBS 添加幹細胞培地を用いて 37°C・5% CO₂ 環境下にて培養した。さらに石灰化誘導培地として、アスコルビン酸、グリセロリン酸とデキサメタゾンを添加した。

合成ペプチドの作製:ヒト象牙質フォスフォフィンはその特徴的な配列として、細胞接着に重要な RGD 配列、グリコサミノグリカン結合配列である SGXG 配列や高度にリン酸化された DSS 繰り返し配列を有する。これらの配列を有する計 14 種類のペプチドを合成し、ポジティブコントロールとして細胞外基質リントタンパク質由来ペプチドである Dentonin (AC-100)を用いた。

細胞分化および石灰化能への影響:ペプチド添加 7 日後の ALP 活性は LabAssay kit (Wako) を用いて測定し、培地中のヒトオステオカルシン産生量の測定には Human Osteocalcin ELISA (Biomedical Tech.)を使用した。ペプチド添加 28 日後の石灰化結節の形成はアリザリンレッド染色法により検討した。

【結果・考察】

各種合成ペプチドの ALP 活性への影響を調べたところ、SGXG 配列や DSS 配列を有するペプチドはほとんど影響がなかったが、RGD 配列を有するペプチドのみが有意に活性を増加させた。その中でも、RGD-1 が最も ALP 活性を促進したが、 $\alpha v \beta 3$ インテグリン抗体の前処理により抑制された。さらに、RGD-1 作用群は、コントロール群に比べてオステオカルシン産生や石灰化結節形成においても亢進が認められた。以上の結果から、象牙質フォスフォフィン由来ペプチドである RGD-1 は骨再生材料として有用であることが示唆された。

レチノイン酸と TGF- β のラット歯髄細胞 (RPC-C2A) の石灰化に及ぼす効果

鶴見大学歯学部第二歯科保存学教室
石尾登子 五味一博 細矢哲康 新井 高

Effects of retinoic acid and TGF- β on the mineralization of rat pulp cell (RPC-C2A)

Department of Periodontics and Endodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine
ISHIO Takako, GOMI Kazuhiro, HOSOYA Noriyasu and ARAI Takashi

【目的】

歯髄中の未分化間葉細胞の象牙芽細胞への分化に、レチノイン酸 (All-trans retinoic acid: ATRA) や TGF- β super family が影響を与えることを示唆するいくつかの報告があるが、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。そこで本研究では、ラット歯髄由来細胞の株細胞 (RPC-C2A) に、TGF- β 1、その阻害剤である SB431542 (SB) と ATRA を添加し、象牙芽細胞への分化について石灰化能を指標として検討を行った。

【材料と方法】

歯髄は様々な細胞の複合体である為性質の特定が難しい。そこでラット歯髄からクローニングし cell line 化した安定した性質を持つ細胞 RPC-C2A (S. Kasugai *et al.* Arch Oral Biol 1988;33(12):887-891) を実験に用いた。まず、RPC-C2A 培養細胞に TGF- β 1 阻害剤である SB を用い、RPC-C2A 中に存在する内在性の TGF- β 活性を抑制したうえで、TGF- β 1 および ATRA を添加し、ALP 活性の測定を行った。さらに、同条件下で RT-PCR 法による Dentin sialophosphoprotein や Osteocalcin の遺伝子発現、また長期培養による石灰化についてアリザリンレッド染色や Ca 濃度を指標として ATRA、TGF- β の効果を判定した。RPC-C2A 中の内在性 TGF- β の存在は TGF- β に反応する転写調節領域を持つ Luciferase reporter gene assay で確認した。

【結果】

RPC-C2A は、SB 存在下での ATRA 添加群で、ALP 活性が著しく増加した。同条件下で RT-PCR 法により、象牙芽細胞分化の指標である DSPP、OC の遺伝子の発現が増強した。さらに長期培養を行うと石灰化が誘導された。TGF- β の Luciferase reporter gene assay では RPC-C2A 培養上清に Luciferase 活性が認められ、RPC-C2A には内在性の TGF- β が存在することがわかった。また、RPC-C2A における TGF- β の作用を調べるため、SB で内在性の TGF- β 活性を抑制した状態でさらに TGF- β 1 を SB での抑制以上に過剰に添加し、ALP 活性を調べると、ATRA により上昇した ALP 活性は TGF- β 1 の濃度依存性に抑制された。

【考察】

ATRA は骨細胞の骨形成促進作用を示し、石灰化の重要な要素であると考えられている。本実験の結果からも、ATRA は RPC-C2A を含む歯髄細胞においても象牙芽細胞分化誘導に重要な因子であると考えられる。また、RPC-C2A は ATRA により石灰化が促進され、その作用は SB 存在下で増強されることが確認された。このことは SB により抑制される内在性の TGF- β の存在を示唆しており、TGF- β の存在は Luciferase reporter gene assay の結果からも明らかとなった。さらに、内在性の TGF- β の作用を SB で阻害すると ATRA の象牙芽細胞への分化誘導がより増強され、その効果は TGF- β 1 過剰投与で抑えられることが明らかとなった結果から、TGF- β は歯髄において分化を抑制する方向に作用していると考えられる。歯髄細胞は普段その恒常性を維持し、通常では象牙芽細胞には分化しない。これは歯髄細胞中に存在するなんらかの因子がその分化を抑制していると考えられる。TGF- β は骨芽細胞において、その分化成熟を抑制するという報告が挙げられており、歯髄においてもその分化抑制に TGF- β が重要な役割を果たしている可能性が高いことが示唆された。

ラット歯髄刺激後における海馬内アデノシンの脳微小透析による分析

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

*兵庫医科大学医系物理化学教室

○長谷川誠実、*秦 順一、阿部徹也、藤原正識、本田公亮

Effect of tooth pulp stimulation on hippocampal adenosine levels in rats using brain microdialysis

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine

*Department of Medical Physics and Chemistry, Hyogo College of Medicine

○HASEGAWA Makoto, *HADA Junichi, ABE Tetsuya, FUJIWARA Masanori, HONDA Kousuke

【緒言】

第 129 回本学会において、ラットの歯髄を電気刺激することにより海馬に血流増加反応を生じること、さらに海馬血流増加反応にアデノシンが関係していることを報告した (Neurosci. Res., 2009, in press)。そこで、今回は脳微小透析 (マイクロダイアリシス) システムにより、ラット歯髄刺激後の海馬内細胞外液を採取し、高速液体クロマトグラフィーによりアデノシンの動態について検討した。

【実験材料と方法】

実験には 10~12 週齢の雄性ラット (300~320 g) を 12 匹使用した。ラットは、20%ウレタン (1.2 g/kg) により全身麻酔を施し、両側の切歯に象牙質に至る窩洞を形成し、導電性ペーストと電極固定用の即時重合型レジンをを用いて直径 0.3 mm の銀線電極を固定し、さらに歯根膜内に直径 0.2 mm のステンレス針電極を挿入し、歯髄刺激電極とした。ラットを、脳定位固定装置に固定し、脳アトラスを指標にして頭蓋骨に直径 2.0 mm の穴を開け、左側海馬内にマイクロダイアリシスプローブを挿入した。次に、インフュージョンポンプを用いて、人工髄液を 2 μ l/min をプローブ内に流し、10 min 毎に歯髄刺激前 30 min よび刺激後 60 min まで海馬内細胞外液を回収採取した。採取した細胞外液は、高速液体クロマトグラフィーを用いて細胞外液内アデノシン量の分析を行った。実験群は、歯髄刺激 (TPS) 条件により以下のように分類した。条件 (1) : duration 0.5 ms, interval 10 ms からなる pulse train (10 s 間) を 1 回 (n = 4)。条件 (2) : (1) と同じ parameter で 20 s 毎に 5 回 (n = 4)。条件 (3) : (1) と同じ parameter で 20 s 毎に 30 回 (n = 4)。

細胞外液内アデノシン量について、歯髄刺激直前のアデノシン量を基準として、刺激後のアデノシン量の増減変化を比較検討した。

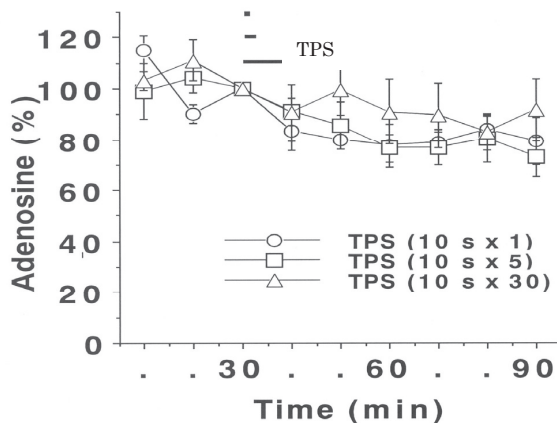
【結果】 得られたデータを右図にまとめた。

マイクロダイアリシスプローブから採取した海馬内アデノシンの basal level は、 0.128 ± 0.035 μ M (平均値 \pm 標準偏差, n = 36) であった。刺激条件 (1)、(2)、(3) のいずれにおいても、歯髄刺激によって、30 min と 60 min の時点での海馬内アデノシン level は、刺激前アデノシン level に比べて、有意に変化しなかった。

【考察】

歯髄刺激による海馬内細胞外液のアデノシン量の変化は認められなかった。テオフィリンを用いた実験で、歯髄刺激による海馬血流増加反応にアデノシンの関与は示唆された。しかし、マイクロダイアリシスによる方法では細胞外液内に検出されなかった。これは、歯髄刺激時のアデノシン遊離量が極めて微量であるためかも知れない。また、マイクロダイアリシスは、時間分析能が低いため、歯髄刺激後のアデノシン遊離の peak が極めて短時間であるために検出されなかったからかも知れない。今後、本研究により示唆された問題点について検討を進めて行く予定である。

本研究は、文部省科学研究費助成金：基盤研究 (C)、課題番号：21592438 の助成を受けて行われた。



交互洗浄における次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水の機能解析

日本大学松戸歯学部歯内療法学講座

○三浦 浩、松井 智、高橋知多香、小峯千明、高瀬俊彦、山浦賀弘、富田 敬、辻本恭久、松島 潔

Functional Analysis of Alternate Irrigation Using NaClO and H₂O₂

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○MIURA Hiroshi, MATSUI Satoshi, TAKAHASHI Chitaka, KOMINE Chiaki, TAKASE Toshihiko,
YAMAURA Yoshihiro, TOMITA Takashi, TSUJIMOTO Yasuhisa and MATSUSHIMA Kiyoshi

緒言

次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) と過酸化水素水 (H₂O₂) の交互洗浄は、根管治療時の洗浄法として広く用いられている。NaClO と H₂O₂ は、ともに活性酸素に分類されている。これらの洗浄液を交互洗浄することにより、NaClO + H₂O₂ → NaCl + H₂O + O₂ ↑ の反応式による酸素の発泡作用が生じると考えられている。この反応系は、一重項酸素の発生系と言われており、発生した酸素が根管内の切削片や感染歯質の除去を行なえるものと考えられてきた。しかし、発生する酸素により皮下気腫を偶発したり、中和反応により、それぞれの薬効が消失してしまうことが懸念される。よって、交互洗浄の是非については、論点が分かれている。演者らは、第 129 回の日本歯科保存学会において、NaClO と H₂O₂ の交互洗浄時に発生するフリーラジカルを ESR 法で複数のスピントラップ剤を用いて検出を行ったところ、高濃度の NaClO では、super oxide (O₂⁻・) の発生が認められ、低濃度の NaClO では、hydroxyl radical (OH・) が発生することを報告した。そこで本研究では、この反応系から発生するフリーラジカルのオキシダント作用が根管洗浄時におよぼす影響を解明する一助として、NaClO と H₂O₂ の混合水における機能解析をフリーラジカルおよび殺菌試験を中心に検討を行った。

材料および方法

フリーラジカルの測定

3% H₂O₂ に 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5.0% の NaClO を反応させ、発生したフリーラジカルを ESR 法にて DMPO adduct の ESR signal として捕捉し、反応後、30, 90, 180, 300, 600 秒後に測定を行った。

Enterococcus faecalis を用いた殺菌試験

Enterococcus faecalis (歯内療法学講座保管) は、Brain Heart Infusion (BHI) broth でガス交換嫌気法によって 37 °C 18 時間培養した後、各試験管に 1 ml ずつ分注、遠沈、10 mM の Tris-HCl buffer にて 2 回洗浄し、上清を捨て沈渣を得た。これらの試験管に 3% H₂O₂ と各濃度の NaClO 混合液を 37 °C、5 分間作用させ、その後、buffer にて 2 回洗浄し、通法の 10 段階希釈を行い、Mitis Salivarius-agar に塗抹して、48 時間ガス置換嫌気培養後、*Enterococcus faecalis* の生存 CFU の算定を行った。

結果および考察

3% H₂O₂ に 5% の NaClO を反応させると、安定した O₂⁻・ のスピニアダクトが認められ、600 秒間継続していた。2.5% の NaClO を反応させると、30 秒後では、O₂⁻・ と OH・ のスピニアダクトが認められ、時間の経過とともに OH・ のシグナルに変化していった。1.25% の NaClO では、大量の OH・ スピニアダクト認められ、0.625% の NaClO では、1.25% NaClO と比較して OH・ の減少が認められた。

現在、NaClO の濃度の違いで発生するフリーラジカル種が *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果におよぼす影響について検索している。

Vibringe®による根管内音波洗浄に関する研究

東京歯科大学歯科保存学講座

○副島寛貴 末原正崇 浅井知宏 呉 明憲 山田雅司 加藤広之 中川寛一

Evaluation of irrigation ability on simulated root canal using Vibringe®

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○SOEJIMA HIROTAKA, SUEHARA MASATAKA, ASAI TOMOHIRO, KURE AKINORI,
YAMADA MASASHI, KATO HIROSHI, NAKAGAWA KAN-ICHI

研究目的

リーマーやファイルなどの切削器具により根管形成を行った場合、切削時に発生する削片により根管壁表面にスミア層が形成される。特に感染根管治療の際、このスミア層は感染物質を包含している可能性があることから、除去の必要性が指摘されている。また根管壁表面に形成されたスミア層の除去は、根管充填におけるガッタパーチャおよび根管シーラーの根管壁への接触性を高め、より高い封鎖性が得られることが報告されている。これらのことから従来より、根管洗滌時に超音波チップを応用するなど、様々な方法が検討されてきた。Vibringe®は、バイブレーション機能を持つ洗浄用シリンジアッセンブリーで、内筒の内部に充電式の電源用電池と音波振動発生装置を内蔵している。この音波振動は外筒から洗浄針へと伝わり、根管内へ注入された洗浄液を振動させる。

本研究の目的は、根管形成により根管壁表面に形成されたスミア層の除去に対する Vibringe®の有効性を評価することである。

材料および方法

本研究には歯根に歯質欠損の少ないヒト抜去下顎小白歯 25 本を用いた。被験歯の歯根は歯頸部で歯冠と注水下に切断分離し、根管の拡大形成を行った。根管切削には、Ni-Ti 製ロータリーファイル(K3 ENDO, 0.04 taper, #25, SybronEndo)を用い、根管内に生理食塩液を満たした状態で指示書の手順に従い行った。根管洗浄は各ファイル使用毎に滅菌精製水で洗浄、滅菌ペーパーポイントで吸湿した。

根管の拡大形成後の歯根を各 5 本ずつ 5 群に分け、4 つの実験群として、5.25%次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いる群 (SH 群)、根管洗浄用 EDTA 製剤であるスメアクリーン(日本歯科薬品)を用いる群 (SC 群) とし、これらによる洗浄時に Vibringe® (Vibringe B.V.) を併用したものをそれぞれ、SH+Vi 群、SC+Vi 群とした。また対照群として滅菌精製水による洗浄のみ行う群を設定した。次亜塩素酸ナトリウム溶液ならびにスメアクリーンを、拡大形成後の根管に応用 (根管内に洗浄針を根尖から 3 mm の位置まで挿入し、各 5 ml をそれぞれの条件下に 60 秒間かけ洗浄) した後、滅菌精製水により充分に根管洗浄した歯根を、歯軸と平行になるよう近遠心的に切断した。全ての試料は乾燥後、Au-Pd スパッターコーティングを行い、走査型電子顕微鏡(日本電子社, JSM6340F)で根管壁表面を観察した。

成績

対照群の切削領域では比較的平滑で象牙細管開口部が認められず、切削によるスミア層形成が確認された。SH 群および SH+Vi 群では、切削領域全体にわたりスミア層の残留が認められた。SC 群では、スミア層の除去により象牙細管の開口部が認められたが、残留したスミア層により未だ閉鎖している細管も多数認められた。SC+Vi 群では、スミア層の除去により SC 群と比較し明らかに多くの象牙細管の開口部が認められた。

考察

本実験では根管の拡大形成に Ni-Ti 製ロータリーファイルを用いることにより、スミア層の形成環境の均質化を図った。SC 群に比較し、SC+Vi 群でより多くの象牙細管の開口部が確認されたことから、Vibringe®による音波振動がスメアクリーンによるスミア層除去効果を向上させたものと考えられた。しかし SH 群および SH+Vi 群でスミア層の残留が認められたことから、Vibringe®による音波振動のみでは、スミア層は除去出来ないことが確認された。

結論

根管の拡大形成後の根管壁表面に形成されたスミア層の除去に対しスメアクリーンを用いた場合、Vibringe®を併用することで、より効果的にスミア層を除去出来ることが確認された。

超音波吸引洗浄法の開発

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

○小林千尋, 吉岡隆知, 須田英明

A Development of Ultrasonic Aspiration Technique for Root Canal Irrigation

Pulp Biology and Endodontics, Dept. of Restorative Sciences, Graduate School,

Tokyo Medical and Dental University

○KOBAYASHI Chihiro, YOSHIOKA Takatomo and SUDA Hideaki

【研究目的】

根管内吸引洗浄法は安全なよい洗浄法であるが、太い吸引針を使用しないと目詰まりを生じやすいという欠点があった。この目詰まりを防ぐ一つの方法として、吸引針に超音波振動を加える超音波吸引洗浄法 (Ultrasonic aspiration technique, UAT) を考案したところ、短時間で効率的な洗浄が期待できることが分かった。この方法の有用性を実験的に評価するのが本実験の目的である。

【材料および方法】

UAT 機器の製作

Solfy (モリタ) 本体からハンドピースに向かう給水チューブを切断し、吸引ポンプ (HK435A, メド一産業) に接続した。吸引圧は約-49kPa であった。洗浄液 (水道水) は、約 1m の高さの給水タンクより流量調整用の三方活栓を介して滴下させた。吸引針としては iNP ニードル (みくに工業) をユニバーサルチップ (モリタ) を、基部で切断したものにロウ着し、実験に用いた。iNP ニードルは、根管内吸引洗浄用に開発されたため、外径に比し内径が大きいという特徴を持つ。

実験 1. 洗浄時に根尖孔外に生じる圧力の測定

10 μ L ピペットチップ (104, QSP) を根管模型として用い、圧力センサー (AP-12, キーエンス) により UAT 時に根尖孔外に生じる圧力を測定した。

実験 2. 透過光による洗浄効果の評価

第 130 回学術大会で発表した方法 (ピペット内に満たした Calicipex の除去を透過光量により評価) を用いて、各種の洗浄方法の効果を比較検討した。UAT では Solfy はパワー 2 で用いた。対照は、① 27G ブラント洗浄針による通常の洗浄、② Solfy に超音波用エンドファイル (マニー) を装着し、Solfy のパワー 1 あるいは 3 で超音波洗浄、③ Solfy に #15K ファイル (ジッペラー 31mm の K ファイルをカットして使用) を装着し、Solfy のパワー 1 あるいは 3 で超音波洗浄、④ Solfy に #25K ファイルを装着し、Solfy のパワー 1 あるいは 3 で超音波洗浄、の 4 群とした。

【結果】

実験 1

UAT 時に根尖孔外に生じる圧力は -2.5kPa 程度で、シリンジを用い、強い力で根管内に水を圧入した時のみ、0.5kPa 程度の弱い陽圧が記録された (Tukey Kramer test, $p < 0.05$)。

実験 2

UAT は、シリンジと一部の超音波洗浄よりも有意に効果が高かった。洗浄時間は、シリンジによる洗浄および UAT が、一部の超音波洗浄よりも有意に短かった (Tukey Kramer test, $p < 0.05$)。

【考察】

根管洗浄の目的は、根管内感染物質の除去である。根管内感染物質の除去には、吸引が有効であり、吸引と超音波洗浄の相乗効果が期待できる UAT では、より高い洗浄効果が実現できるものと思われる。今後、臨床応用を目指し、器械の安全性の向上、吸引針装着方法の簡易化、最適な洗浄液の選択、等について検討を加える予定である。

【結論】

超音波吸引洗浄法は、通常の洗浄法より優れている可能性があることが明らかになった。

Er:YAG レーザーとファイバースコープの併用による根管充填材除去への応用

○福田貴久, 山崎泰志, 小林一行, 鳥塚慎二, 小澤寿子, 下田信治*, 川崎堅三*, 新井 高
鶴見大学歯学部第二歯科保存学教室、解剖学第一講座*

Application of Er:YAG laser and fiberscope to removal of root canal filling materials

○Fukuda Takahisa, Yamazaki Yasushi, Kobayashi Kazuyuki, Toriduka Shinji,
Ozawa Toshiko, Shimoda Shinji*, Kawasaki Kenzo*, Arai Takashi

Department of Periodontics and Endodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine,
Department of Anatomy 1, Tsurumi University School of Dental Medicine*

「目的」

近年、Er:YAG レーザーは歯科領域において臨床応用され、歯内治療においては根管内の乾燥消毒や根管拡大、異物除去などに応用されている。今までに歯周組織や根管内の観察および処置を目的とした多目的チャンネル内蔵の歯科用ファイバースコープ (以下 FS) を作成し、臨床応用を行い良好な成績を得ている。本研究の目的は、Er:YAG レーザー用に新しく試作した FS 観察下でレーザー照射を行い根管充填材の除去への応用を検討することである。

「材料と方法」

下顎中切歯抜去歯を使用し、通法に従い髓腔開拓、根管口明示を行い被験試料とした。その後根管拡大形成はエンドウェーブ、デンタポートで 60 号、02 テーパーまで拡大後、エンドシーラー、JM ガッタパーチャポイント (以上株式会社モリタ 京都) にて側方加圧根管充填を行った。

37℃、100%湿度で一週間保管後、再びエンドウェーブ、デンタポート、手用ファイルを併用して根管充填材を除去しマイクロ CT (MCT-CB100MFZ 日立メディコ 東京) 撮影し、FS で根管内を観察した。FS は先端直径 1.1 mm の外筒内に 6000 画素のイメージファイバーとライトガイドおよび直径 0.36 mm のチャンネルを内蔵し、レーザーファイバーやその他の特殊器具も挿入が可能となっている。

注水下で根管内に残存した根管充填材を FS と Er:YAG レーザー (アーウィンアドベール 株式会社モリタ) を併用し根管内に残存した根管充填材を除去した。Er:YAG レーザーの出力は 100~250 mJ、10 pps に設定し、レーザーファイバーは E200FL (長さ 90 mm 直径 200 μm) を使用した。

その後、マイクロ CT を撮影し、その画像をもとに三次元構築を行い、根管の形態、根管充填材の除去効果を判定した。

「結果および考察」

FS の観察により、根管内の残存した根管充填材の位置はおおよそ確認できた。Er:YAG レーザーと FS を用いて鏡視下で根管内に残存した根管充填材を除去することができたが、髓腔開拓と根管口明示が不十分だと FS の可動域が制限されるため死角になり、根管充填材除去が困難になってしまうことがあった。今回使用した FS では根管中央部付近までしか挿入できなかったため、特に根尖部が彎曲している根管では根尖部の根管充填材を確認しにくかったが、これは歯科用顕微鏡を用いた場合でも死角になると思われる。また歯科用顕微鏡においてはレーザー照射時の水流により視野が妨げられてしまうためレーザー照射時の根管内の観察は困難であると思われる。その後のマイクロ CT 撮影により、FS の挿入深度、角度に制限があるため鏡視下で観察できなかった部位に根管充填材が存在し、その部位に残存してしまうことが多かった。

本研究ではレーザー照射は注水下で行ったが、今回使用した Er:YAG レーザーのチップは長さ 90 mm で出力はチップ先端で約 70% 減弱されるため、実際は 75 mJ 程であり根管内の熱影響はほとんどないと思われる。しかしながら Er:YAG レーザーは表面吸収型レーザーで水と反応し微小爆発が起こるため根管壁の過剰な切削を招く可能性は否定できないため今後の検討が必要である。

今後さらに FS と Er:YAG レーザーの併用法を構築し、検討していく予定である。

パルス波レーザーのキャビテーション現象を応用した根管内洗浄効果

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、坂田篤信、西垣奏一郎、
後藤千里、牛島 寛、佐藤浩美、赤峰昭文

Cavitation effects of the pulsed laser in root canal models

Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University
Himeka Matsumoto, Yoshito Yoshimine, Atsunobu Sakata, Soichiro Nishigaki,
Chisato Goto, Kan Ushijima, Hiromi Sato, 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不明な点が多い。

本研究では、Er:YAG レーザーによる根管内のキャビテーション現象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】 高速度デジタルカメラのレンズ前方に、水を入れたガラス製セル (10×10×45mm) およびガラス製模擬根管モデルを設置し、Er:YAG レーザー (アーウィンアドベール: モリタ社製) に根管照射用円錐型チップ (R135T, R200T, R300T, R400T) を装着した。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、1pps または 10pps の繰り返し速度で照射を行い、チップ先端周囲に生じる気泡形成・崩壊の過程を撮影記録した。

【成績】 セル内でのチップ先端周囲の蒸発に伴う気泡形成は、球形に広がり照射エネルギーが高いほど大きい傾向を示した。一方、模擬根管モデル内では、蒸発に伴う気泡が膨張して消失した後、数回にわたりキャビテーション現象による気泡形成が繰り返し観察された。

【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。根管内の様に閉鎖された狭い環境においては、蒸発による気泡の膨張とその後の消失により生じた減圧が原因でキャビテーション気泡が出来易いと考えられる。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】 水中での Er:YAG レーザーによるキャビテーション現象に関して検索した結果、チップ先端周囲を中心とした気泡の形成・崩壊が生じる過程で、急速なジェット流が発生することが分かり、この作用によって根管内洗浄の増強効果を期待できる可能性が示唆された。

TGF- β I型受容体阻害剤による歯根膜細胞の石灰化制御

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学(口腔治療学教室)

○河原貴展、山下元三、梶川哲宏、橋本悠平、柳田 学、山田 聡、北村正博、村上伸也

Challenging for the periodontal ligamental cell ossification by TGF- β type I receptor kinase inhibitor

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○Takanobu Kawahara, Motozo Yamashita, Tetsuhiro Kajikawa, Yuhei Hashimoto,
Manabu Yanagita, Satoru Yamada, Masahiro Kitamura and Shinya Murakami

【研究目的】

TGF- β (Transforming Growth factor beta) は、広汎な組織で発現が認められる多機能な増殖因子である。そのリガンド刺激により惹起される細胞の増殖分化、遊走、接着、細胞外マトリックスの産生などの多様な細胞の高次機能発現は、生体の発生や組織形成のみならず、組織再生にとって重要であることが明らかにされてきた。近年開発されたTGF- β I型受容体の拮抗阻害剤であるSB431542は、TGF- β 刺激を特異的に遮断することから、臨床への応用が強く期待される低分子化合物である。本研究では将来的な歯周組織再生療法への臨床応用を目指し、SB431542による TGF- β 刺激伝達系抑制の生理的意義を歯根膜細胞の機能発現のレベルで解析し、TGF- β シグナル制御による歯根膜細胞の分化制御を*in vitro*実験系にて検討した。

【材料と方法】

幹細胞の増殖・分化に必須である増殖因子およびTGF- β I型受容体の拮抗阻害剤 (SB431542) を用いて、歯根膜細胞 (以下MPDL22) の石灰化制御を解析した。

1. 歯根膜細胞における受容体発現

MPDL22におけるTGF- β I型及びII型受容体、BMP受容体の発現をRT-PCR法により検討した。

2. 内在性TGF- β シグナルが歯根膜細胞の石灰化物形成に及ぼす影響

MPDL22の石灰化誘導培養系において、TGF- β I型受容体の拮抗阻害剤 (SB431542) を添加、濃度、添加時期を変化させ石灰化物形成に及ぼす影響を検討した。

3. 歯根膜細胞の石灰化物形成において、サイトカイン及びTGF- β I型受容体の拮抗阻害剤 (SB431542)

が及ぼす影響

MPDL22の石灰化誘導培養系において、代表的なサイトカインであるBMP-2、FGF-2、PDGFを単独、或いはSB431542と共に添加し、MPDL22の石灰化物形成に及ぼす影響を検討した。

4. サイトカイン並びにTGF- β I型受容体の拮抗阻害剤 (SB431542) の添加下で、歯根膜細胞の石灰化物形成時

に誘導される遺伝子の発現

サイトカイン刺激によるMPDL22の石灰化誘導培養系において、SB431542を添加、石灰化時に誘導される遺伝子の発現をmRNAレベルでPCR法にて検討した。

【結果と考察】

歯根膜細胞はTGF- β I型及びII型受容体を発現し、BMP受容体を発現していることをRT-PCR法により確認した。BMP-2により誘導される歯根膜細胞の石灰化物形成は、TGF- β I型受容体の阻害剤であるSB431542を石灰化誘導培地へ共に添加することにより、著しい亢進を認めた。*in vitro*の実験系においてBMP-2により歯根膜細胞を分化誘導する際に、SB431542を用いて歯根膜細胞におけるオートクライン、パラクライン様式のTGF- β 刺激伝達を遮断することで、石灰化物形成が促進することが示唆された。現在、各種サイトカインによる歯根膜細胞の増殖・分化誘導時に認められる遺伝子発現にもたらすTGF- β I型受容体阻害剤の影響について解析中である。

AhR シグナルがヒト歯根膜細胞のコラーゲン代謝に及ぼす影響

¹九州大学病院歯内治療科

²九州大学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

友清淳¹、前田英史¹、藤井慎介¹、和田尚久¹、門野内聡²、堀清美²、郡勝明²、山本直秀²、赤峰昭文²

The effect of AhR signaling on collagen metabolism in human periodontal ligament cells

Department of Endodontology & Operative Dentistry, Kyushu University

Atsushi Tomokiyo, Hidefumi Maeda, Shinsuke Fujii, Naohisa Wada, Satoshi Monnouchi, Kiyomi Hori, Katsuaki Koori, Naohide Yamamoto, Akifumi Akamine

【研究目的】

カネミ油症はダイオキシンを原因とする中毒症であり、発生から40年が経過した現在でも被害者らが多くの臨床症状を訴えている。我々は油症検診を通じて、油症患者において歯周ポケットが深化する傾向が認められることを報告した(Hashiguchi et al. Fukuoka Igaku Zasshi 170-175 2007)。ダイオキシン類の毒性シグナルは細胞質に存在する arylhydrocarbon receptor (AhR) を介して主に核内に伝達されることが知られているが、AhR シグナルと歯周ポケット深化の関連についての報告は皆無である。そこで本研究では AhR シグナルを誘導する benzo(a)pyrene (BaP) を用い、AhR シグナルがヒト歯根膜細胞(HPLF)の collagen 及び collagenase 発現に及ぼす影響について検討することを目的とした。

【材料及び方法】

(1)HPLF における AhR 発現：矯正治療を目的に九州大学病院を訪れた2名の患者(30歳女性、14歳男性)より抜去歯を得たのち歯根膜を採取し、4-6 継代培養した細胞をそれぞれ HPLF-2G、HPLF-2I として実験に使用した。これらの細胞における *AhR* mRNA 発現を RT-PCR 法にて、AhR タンパク発現を免疫細胞化学的染色法にて解析した。なお歯根膜の採取は、九州大学歯学部倫理委員会規定に基づいて行った。

(2)HPLF における BaP 添加後の AhR シグナル変動解析：CYP1A1、CYP1B1、及び AhRR は AhR シグナルにより発現の誘導が起こることが報告されている。そこで RT-PCR 法を用いて、BaP 添加後の HPLF におけるこれらの遺伝子発現について解析を行った。

(3)HPLF における BaP 添加後の matrix metalloproteinase-1(MMP-1)および type I collagen(CoI)発現解析：BaP 添加後の HPLF における、*MMP-1* および *CoI* mRNA 発現を RT-PCR 法にて、MMP-1 タンパク発現を ELISA 法にて解析した。

【結果および考察】

HPLF-2G、HPLF-2I 共に *AhR* mRNA 及び AhR タンパク発現が確認された。BaP 添加により、いずれの HPLF においても *AhRR* 及び *CYP1B1* mRNA 発現の上昇を認めたが、*CYP1A1* mRNA の発現は認められなかった。これらの結果からヒト歯根膜細胞は AhR を発現し、ダイオキシンと結合することで核内へシグナルを伝達することが示唆された。次に BaP 添加後の HPLF における、経時的な *MMP-1* 及び *CoI* mRNA 発現について解析を行った結果、培養日数と共に *MMP-1* mRNA 発現は上昇したが *CoI* mRNA 発現は減少した。さらに28日後には、HPLF-2G 及び HPLF-2I 共に非添加群と比較して、*MMP-1* mRNA 発現は40倍を超えて上昇し、一方 *CoI* mRNA 発現は90%を超えて減少した。また HPLF-2G 及び HPLF-2I の培養上清中における MMP-1 タンパク量を測定した結果、どちらの細胞とも BaP 添加により有意に MMP-1 タンパク量が増加していた。以上のことから、ヒト歯根膜細胞の核内へ伝達された AhR シグナルは、MMP-1 発現の上昇及び CoI 発現の減少を引き起こし、歯根膜線維における修復やリモデリングに影響を与えることで歯周ポケットの深化に関与することが推察された。

【結論】

ヒト歯根膜細胞において、AhR を介したシグナルが核内に伝達されることによって、*MMP-1* mRNA および MMP-1 タンパク発現の上昇、及び *CoI* mRNA 発現の減少が生じることが明らかとなった。

柿ポリフェノールオリゴマーによる抗菌および抗酸化作用

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生体硬組織再生学講座歯周病学分野
○渡辺 久、竹内康雄、和泉雄一

Antibacterial and antioxidant activities of persimmon polyphenol oligomer

Department of Hard Tissue Engineering (Periodontology), Graduate School,
Tokyo Medical and Dental University

○Hisashi WATANABE, Yasuo TAKEUCHI and Yuichi IZUMI

研究目的

食物由来のポリフェノールはその安全性と優れた抗菌・抗酸化作用により、医療分野において注目されている。柿ポリフェノールオリゴマー (PP オリゴマー) は柿の未熟果や柿皮より抽出された柿タンニンを低分子化したもので、高ピロガロール、高ガロイル構造であることが知られている。我々のこれまでの研究で、PP オリゴマーは *Porphyromonas gingivalis* に対し抗菌性を示すことを明らかにした。本研究の目的は PP オリゴマーによる歯周病原細菌に対する抗菌作用の更なる検討と抗酸化作用について調べ、口腔疾患の予防や改善のために応用できる可能性を探ることにある。

材料および方法

(1) 最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) の測定

寒天平板希釈法により PP オリゴマーの MIC を測定した。感受性測定用培地に最終濃度が 0.016-4,096 $\mu\text{g/ml}$ になるように PP オリゴマーの希釈液を加え測定に用いた。また、アンピシリン (ABPC)、緑茶カテキンであるサンフェノン BG-3 および EGCg、リンゴポリフェノールであるアップルフェノン SH (A-SH)、0.9%NaCl を加えた培地も比較対照として検討した。被験菌は、*P. gingivalis* ATCC 33277、W50、381、A7A128、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 43718、NCTC 9710、*Porphyromonas intermedia* ATCC 25611、*Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 を用いた。これらの細菌は $5 \times 10^7 \text{CFU/ml}$ に調整し、2 μl を培地に接種し、37°C で 48 時間嫌気培養後、肉眼的に菌の発育が認められない最終濃度を MIC とした。

(2) 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ラジカルおよびヒドロキシルラジカル (HO^\cdot) 消去作用の測定

PP オリゴマーならびに上述の各種ポリフェノールについて検討した。DPPH ラジカル消去作用の測定は、Yamaguchi らの方法に準じた。0.1mol/l トリス塩酸緩衝液 (pH 7.4) 80 μl 、試験検体 20 μl に、0.5 mmol/l DPPH 溶液 100 μl を添加し、20 分間反応させた後に 517 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーにより測定した。

HO^\cdot 消去作用の測定は、Halliwell らの方法を一部改変して行った。57.2 mmol/l リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) 175 μl 、1.5 mmol/l EDTA 50 μl 、2 mmol/l FeCl_3 25 μl 及び試験検体 150 μl を加えた。50 mmol/l デオキシリボース溶液 50 μl 及び 2 mmol/l アスコルビン酸溶液 50 μl の添加により反応を開始し、37°C で 10 分間反応させた。反応後、2.8% トリクロロ酢酸溶液 500 μl 及び 1%チオバルビツール酸ナトリウム溶液 500 μl を加えた。沸騰水浴中で 15 分間加熱した後、急冷し、532 nm の吸光度をマイクロプレートリーダーにて測定した。

結果

PP オリゴマーおよび対照群 (BG-3・EGCg・A-SH) は *P. gingivalis* の各菌株に抗菌性を示したがそれ以外の菌種には抗菌性を示さなかった。ABPC の MIC との比較からその作用は静菌作用レベルであった。

PP オリゴマーは、濃度依存的な DPPH ラジカル消去作用を示した。また、対照群も同様であった。一方、 HO^\cdot 消去作用では検討した最大濃度である 0.01 w/v%において、抑制率 0.0 \pm 0.0%であった。また、BG-3・EGCg・A-SH は、検討した最大濃度である 0.01 w/v%において、抑制率はそれぞれ 0.0 \pm 0.0%、0.0 \pm 0.0%、15.5 \pm 4.5%であった。

考察および結論

PP オリゴマーは抗菌性において緑茶カテキンとほぼ同等の効果を示した。PP オリゴマーは、DPPH ラジカルに対して抗酸化作用を示したが、 HO^\cdot に対しては抗酸化作用を示さなかった。PP オリゴマーは主要な歯周病原細菌である *P. gingivalis* に対し静菌作用を示すことから耐性菌や菌交代現象の出現の副作用がなく、長期に亘って使用可能であり、歯周病予防剤などの応用が期待される。しかし、その効果のメカニズムの詳細を明らかにするためには更なる検討が必要である。

FGF-2 含有コラーゲンハイドロゲル - スポンジ複合体が骨新生に与える効果

北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室
○小林尚子, 宮治裕史, 井原朝子, 鷲巣太郎, 横山裕之, 光銭裕太, 菅谷 勉, 川浪雅光

Effect of FGF-2 Loaded Collagen Hydrogel-sponge Composite Scaffold on Bone Formation

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine
○KOBAYASHI Naoko, MIYAJI Hirofumi, IBARA Asako, WASHIZU Taro,
YOKOYAMA Hiroyuki, KOSEN Yuta, SUGAYA Tsutomu and KAWANAMI Masamitsu

【目的】

近年、再生療法のスキャホールドとして様々な材料が研究、開発されている。アテロコラーゲン溶液を銅-アスコルビン酸架橋したコラーゲンハイドロゲルと、線維化アテロコラーゲン-熱変性アテロコラーゲン (FC-HAC) スポンジで構成されるコラーゲンハイドロゲル-スポンジ複合体は、骨再生療法のスキャホールドとして有用である可能性が示されている。また、FGF-2 は創傷治癒や血管新生を促進する増殖因子として広く知られている。そこで本研究では、コラーゲンハイドロゲル-スポンジ複合体に FGF-2 を添加させラット頭蓋骨骨窩洞に移植し、骨形成に与える影響を検討した。

【材料および方法】

コラーゲンハイドロゲルは、ウシ真皮由来アテロコラーゲン粉末に滅菌蒸留水を加えて攪拌後、塩酸を加えてアテロコラーゲン溶液とし、L(+)-アスコルビン酸と塩化第二銅二水和物を加えて作製した。FGF-2 (フィブラスト(R)スプレー500) を希釈してコラーゲンハイドロゲルに混和、攪拌し、4%FC-HAC スポンジ (6×6×3mm、オリンパスステルモ) に十分に含浸させ、FGF-2 含有コラーゲンハイドロゲル - スポンジ複合体を作製した。FGF-2 量は 0, 3, 15 μg となるように調整した。

次に Wistar 系雄性ラット (10 週齢、N=72) の頭蓋皮膚切開後に頭蓋骨中央を露出させ、ラウンドバーにて矢状縫合部より前方に 4×4×0.2mm の骨窩洞を形成した。ラットを F0 群、F3 群、F15 群の 3 群に分け、それぞれ骨窩洞上に 0, 3, 15 μg FGF-2 含有コラーゲンハイドロゲル - スポンジ複合体を移植し、皮膚弁を縫合した。観察期間は 1, 2, 5 週とし、病理組織学的観察と組織学的計測を行った。組織学的計測項目は新生骨面積と新生骨高さとした。統計学的分析には Two-way ANOVA および Bonferroni の多重比較法を用い、有意水準を 5% とした。

【結果と考察】

1 週 : F3 群、F15 群では移植した複体内への窩洞側からの線維芽細胞様細胞や骨芽細胞様細胞の侵入が顕著で、多数の新生血管と骨形成がみられた。結合組織側から複体内への細胞の侵入はあまり見られなかった。F0 群では細胞の侵入は少なく、血管新生、新生骨もほとんど認められなかった。2 週 : F3 群、F15 群では更に多くの骨形成が認められた。F0 群でもわずかな骨新生が認められた。5W : 各群とも形成された骨は緻密化し、複合体はほぼ消失していた。

F0、F3、F15 群の新生骨面積 (mm^2) は、それぞれ 1 週で 0.02 ± 0.02 、 0.38 ± 0.28 、 0.52 ± 0.23 、2 週で 0.23 ± 0.23 、 0.97 ± 0.48 、 1.31 ± 0.51 、5 週で 0.83 ± 0.33 、 1.50 ± 0.45 、 1.42 ± 0.58 であり、F3 群、F15 群はすべての観察期間で、F0 群と比較して有意な骨新生が認められた。新生骨高さは、F15 群はすべての観察期間で F0 群と比較して、1, 2 週では F3 群と比較して有意に大きかった。また、2 週の F3 群は F0 群と比較して有意に大きかった。

コラーゲンハイドロゲル - スポンジ複合体に FGF-2 を添加することで、保持された FGF-2 が骨髄や骨由来の細胞増殖を促進させ、骨増生を引き起こしたものと考えられた。

【結論】

FGF-2 含有コラーゲンハイドロゲル - スポンジ複合体は骨新生を促進する。

歯周炎罹患歯肉組織局所における特異的遺伝子発現の解析

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

○久保田健彦、阿部大輔、清水太郎、両角俊哉、中曾根直弘、吉江弘正

Specific gene expression profiling in periodontitis-affected gingival tissue

Department of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Takehiko KUBOTA, Daisuke Abe, Taro Shimizu, Toshiya MOROZUMI, Naohiro NAKASONE, Hiromasa YOSHIE

【目的】 歯周炎に罹患した炎症歯肉組織中に発現している全遺伝子(Transcriptome)を網羅的に検索し、健常歯肉組織の Transcriptome と比較し発現量・頻度に有意差がある遺伝子および生物学的に関連付けられた遺伝子群を統計学的に解析することにより、歯周炎歯肉組織特異的遺伝子発現プロファイルを同定する。

【材料と方法】 新潟大学医歯学総合病院を受診し、限局型重度慢性歯周炎と診断され、本研究に対し十分なインフォームドコンセントが得られた患者3名をマイクロアレイ解析の対象とした。通法の歯周初期治療終了後、歯周外科手術が必要と診断された部位より歯周炎罹患歯肉組織及び同術野の臨床的健常歯肉組織を採取後、RNA stabilization 溶液中で安定化させ、AGPC法にて total RNA を抽出・DNase 処理を行った。RNA の品質はアジレント 2100 バイオアナライザーを用いて確認した。Affimetrix 社製の GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array (>47000 transcripts / >54000 probe sets) を用いてマイクロアレイ遺伝子発現解析を行った。その後、統計学的手法を用い解析結果を物学的に意義付け(Data mining: Clustering, Gene Ontology and Pathway analyses)、有意に関連が認められた生物学的 Pathway に含まれる遺伝子群を同定した。その後、それら遺伝子の特異的 Taqman プローブおよび PCR プライマーを用いて各遺伝子の発現量を quantitative reverse transcription Realtime-PCR (qRT-PCR) 法にて定量した。qRT-PCR 解析は、Kubota らの方法(*J. Periodontol*, 2008)に準じて新たな28名の患者・ボランティアより同様に得られた歯周炎歯肉、健常歯肉各14サンプルにて行い、統計は Mann-Whitney-U 検定にて5%以下の危険率で有意差ありとした。

尚、本研究は新潟大学歯学部倫理委員会の承認を得て行われた。

【結果】 GeneChip® expression array 解析の結果、歯周炎罹患歯肉組織中で統計学的に有意に2倍以上の発現変動を認めた遺伝子数は、それぞれ上昇:94, 41, 955、減少:64, 32, 40であった。全例に共通して発現上昇したものには、Interleukin 1 beta など cytokines や chemokine ligands/receptors など炎症・免疫応答に関する遺伝子が、低下したものでは、keratin, dermokine など上皮や細胞骨格に関わる遺伝子が多い傾向が見られた。

一方、Gene Ontology 頻度解析より歯周炎罹患組織に共通して発現が2倍以上有意に変動した生物学的 Pathways は、Leukocyte transendothelial migration, Hematopoietic, Cytokines-receptors, ECM-receptors, Wnt-signaling, Toll-like receptor signaling などが上昇し、Cell communication, Arachidonic acid metabolism などが減少した。上昇した Leukocyte transendothelial migration pathway における5遺伝子(ITGB2, MMP-2, CXCL12, CXCR4, Rac2)及び、低下した Cell communication pathway における4遺伝子(Connexin, DSG1, DSC1, Nestin)計9遺伝子に注目し、qRT-PCR 解析を行った。新たな、歯周炎群14名、健常者群14名でqRT-PCR 解析・統計学的評価を行った結果、9遺伝子すべてにおいてマイクロアレイの結果を裏付ける有意な遺伝子発現量の変化が確認・実証された。

【考察及び結論】 我々は歯周炎罹患歯肉組織局所において特異的に発現上昇あるいは低下する遺伝子を網羅的に解析した。その結果、歯周炎罹患局所においては、炎症性サイトカイン、生体組織破壊酵素及び免疫応答関連シグナル・受容体遺伝子の発現上昇、並びに上皮及び細胞骨格・細胞接着関連遺伝子の発現低下が見られた。以上より、歯周炎罹患炎症歯肉局所においては、上皮組織・細胞基質・細胞間接着の分解・喪失が亢進すると共に、炎症性サイトカインや金属プロテアーゼ、免疫シグナル伝達関連遺伝子の発現が亢進しており、局所の歯周組織防御・分解・修復のリモデリングに関与することが示唆された。本研究結果は、一部はこれまで我々を含むグループから報告されてきた歯周炎関連遺伝子を含むものであったが、更に新規候補遺伝子を追加することとなった。これら遺伝子群は歯周炎における組織破壊の病態解明や歯周病の診断・予防・治療を考える上で有用なマーカー遺伝子と考えられ、今後、本遺伝子の機能については多角的にさらなる研究が必要と結論づけられた。

長期水中浸漬がワンステップボンディング材硬化体の吸水性・溶解性およびその機械的性能におよぼす影響について

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯蝕制御学分野

²東京医科歯科大学 GCOE プログラム歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点

○高橋真広¹、保坂啓一¹、伊藤志麻¹、中島正俊¹、田上順次^{1,2}

Effect of water-storage time on the sorption and solubility behavior and mechanical property of one-step self-etch adhesive polymers

¹Tokyo Medical and Dental University, Graduate School of Medical and Dental Science, Cariology and Operative Dentistry

²GCOE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

○TAKAHASHI Masahiro¹, HOSAKA Keiichi¹, ITOH Shima¹, NAKAJIMA Masatoshi¹, TAGAMI Junji^{1,2}

【緒言】

近年、臨床上の簡便さから 1-step セルフエッチング接着システムが広く臨床に用いられている。1-step セルフエッチング接着システムは、優れた象牙質接着性能を示すことが報告されているが、親水性レジンモノマー (HEMA) などの親水性成分が多く加えられているため、重合硬化後も吸水することが知られている。臨床において、長期的な吸水量の多寡は機械的性能に影響を与え、ひいては象牙質接着耐久性への影響を与えることが予想される。しかし、長期水中浸漬が吸水性・溶解性および機械的性能に検討を加えた報告は多くない。そこで本研究では長期水中浸漬が 1-step ボンディング材の吸水性・溶解性およびその機械的性質におよぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】

市販の HEMA 含有 1-step セルフエッチングシステム、トライエスボンド (TS; クラレメディカル社製)、オブチボンドオールインワン (OB; サイブロンカー社製) を用いた。吸水率と溶解率を計測するためのレジンディスク試料 (直径 8mm 厚さ 1.5mm) および機械的性能を評価するためのダンベルシェイプ試料 (長さ 0.5mm 幅 1mm) を作製するためのシリコンモールドを準備した。各ボンディング材を暗室にてエアブローを用いて水分を十分に蒸散させたのち、各シリコンモールドにボンディング材を填入し、プラスチックストリップスを置いて 90 秒間光硬化させた。その後、プラスチックストリップスを除去し慎重にボンディング材をモールドからはずした後、裏面からさらに 90 秒間光照射を行い試料を作成した。

吸水率・溶解率測定用のディスク試料をデシケーターにて重量が一定になるまで乾燥し、その初期重量を m1 とした。この時同時に体積 V (mm³) を計測した。ただちに 37°C 水中保管し、重量が一定になるまで吸水させ、その重量を m2 とした。その後再びデシケーターにて乾燥し、重量が一定になるまで乾燥させ、その重量を m3 とした。一方、初期乾燥後、6 か月、1 年水中浸漬したものの重量を m2 (6m, 1y) とし、その後デシケーターにて同様に乾燥重量を測定し m3 (6m, 1y) とし、吸水率 (WS) および溶解率 (SL) を以下のように計算した。

$$WS = (m2 - m1) / V \quad SL = (m1 - m3) / V$$

一方ダンベルシェイプ型試料は、試料作成後 37°C 水中保管し、WS の値が得られた日および 6 か月後、一年後に微小引張り試験を行い Ultimate Tensile Strength (UTS) を測定した。得られた実験データについて、two-way ANOVA および Bonferroni test を用いて有意水準 5% にて統計処理を行った。

【結果】

吸水率・溶解率および UTS の結果を表に示す。括弧内は標準偏差を示す。バーは水中浸漬期間の間の有意差なしを示し、p < 0.05 および NS は材料間の有意差の有無を示す。

	WS (μg/mm ³)			SL (μg/mm ³)			UTS (MPa)		
	initial	6m	1y	initial	6m	1y	initial	6m	1y
TS	98.5 (8.3)	90.1 (9.1)	98.1 (10.5)	9.8 (17.0)	13.3 (13.8)	15.6 (16.1)	22.0 (2.4)	17.9 (1.7)	17.8 (2.1)
	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	P<0.05	NS	NS	NS
OB	146.1 (25.1)	143.4 (8.8)	150.6 (13.7)	22.4 (18.4)	45.8 (27.4)	58.7 (23.0)	18.2 (5.2)	18.8 (3.5)	19.1 (5.5)

【結論】

長期水中浸漬は 1-step セルフエッチングシステムの吸水率に影響を与えなかったが、溶解率は増大し、レジン成分が経時に溶解した可能性がある。しかしながら、機械的性能 (UTS) には影響を与えなかった。

新規高強度臼歯部用フロアブルレジン、MI フィルの開発

虎の門病院歯科

○田島 賢一、杉崎順平、森上 誠、宇野 滋、山田敏元

Development of a highly wear-resistant flowable resin for posterior cavities

Toranomon Hospital, Department of Dentistry

○TAJIMA Kenichi, SUGIZAKI Jumpei, MORIGAMI Makoto, UNO Shigeru, and YAMADA Toshimoto

【研究目的】

約 15 年ほど前に米国において始まったフロアブルレジンの臨床応用は、本邦においては山田によって臨床に導入され (日歯保存誌 40 秋季特別号 119、1997)、その後各メーカーから続々と新製品が開発市販され、MI コンセプトの導入と相俟って比較的小さな窩洞の修復に広く用いられるようになってきた。最近臨床家の多くは、ダイレクトアプリケーションシリンジによって供給されるフロアブルレジンが、その填塞の容易さゆえに中程度の咬合面窩洞にも用いられるようになり、現在市販されているコンポジットレジンのシリンジ数と比較すると、従来のものに比べてフロアブルレジンの方が上回っている傾向を示している。そこで小さな窩洞に応用されてきたフロアブルレジンと、比較的大きな窩洞にも応用され得るように耐磨耗性などの機械的性能を向上させた製品の開発が待たれていた。本報では G C 社によって新たに開発された臼歯部咬合面フロアブルレジン、MI フィルの基礎的・臨床的性能を検討した。

【材料と方法】

試作されたフロアブルレジンには、 $0.3\mu\text{m}$ 以下のストロンチウムガラス、ランタンフッ化物をフィラーとして用い、充填率は 69%に設定されている。シェードは A1, A2, A3, A3.5, A4, A5, B1, B2, B3, C2, C3, A01, A02, A03, BW, E1, E2 の 17 種類であり、審美修復にも十分対応されるようになっている。

基礎的性能についての検討では、1) 従来からの山田の方法に従って、硬化物研磨面のアルゴンイオンエッチング面の SEM 観察を行った。2) $2\times 2\times 25\text{mm}$ の硬化物について $1\text{mm}/\text{min}$ のクロスヘッドスピードで水中保管 1 日後に 3 点曲げ試験を行った。3) 堀江、総山の設計になる東京医科歯科大型の磨耗試験機により水中保管 1 日後の硬化物について、人工食物・PMMA のビーズ、 0.84MPa の荷重のもと 10 万回の 3 体磨耗試験を行った。4) 抜去臼歯咬合面の 1 級窩洞修復を行った。5) 同様に実際に口腔内において修復処置を行った。

【結果及び考察】

SEM 所見からは、非常に細かい 2 種のフィラーが高密度に充填されていた。曲げ強さ、耐磨耗性はそれぞれ $152(14.6)\text{MPa}$ 、 $6(1.4)\mu\text{m}$ であり、比較に用いたものより有意に高い値を示した。抜去臼歯咬合面の 1 級窩洞修復においても、実際に口腔内においても極めて優れた審美的修復処置を行うことができた。

【結論】

今回 G C 社により開発されたフロアブルレジンである MI フィルは、極めて高い機械的性能を有した臼歯咬合面に応用可能なフロアブルレジンであり、さらに良好な審美性を有していることが明らかとなった。

Adper Easy Bond の短期臨床成績

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹, 総合歯学研究所生体工学研究部門²,
東京電力病院歯科³, すずき歯科医院⁴

○高見澤俊樹^{1,2}, 辻本暁正¹, 千葉康史¹, 黒川弘康^{1,2}, 坪田圭司^{1,2},
安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 岩崎圭祐^{1,3}, 鈴木敏裕^{1,4}

Short-Term Clinical Evaluation of Adper Easy Bond

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center², Nihon University
School of Dentistry, Tokyo Denryoku Hospital³, Suzuki Dental Clinic⁴

○TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, TSUJIMOTO Akimasa¹, CHIBA Yasushi¹, KUROKAWA Hiroyasu^{1,2},
TSUBOTA Keishi^{1,2}, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, IWASAKI Keisuke^{1,3}, SUZUKI Toshihiro^{1,4}

【研究目的】

操作時間あるいはステップの簡略化を目的として、ワンステップ接着システムが開発された。このシステムは、実験室環境においては良好な歯質接着性を示すことが報告されている。しかし、歯質脱灰能が低いことやアドヒーシブ内に水分を含有しているなどから長期接着耐久性についての課題が指摘されている。そのため、モノマー組成などを改良した製品が開発、臨床応用されている。しかし、これら接着システムは市販から間もないことから、臨床的評価に関しては資料が少ないのが現状である。そこで演者らは、最近市販されたワンステップ接着システムの Adper Easy Bond の臨床成績について、評価を行うことを企画した。

【材料および方法】

供試したワンステップ接着システムは、Adper Easy Bond (3M ESPE)を、レジンペーストとしては Supreme DL (3M ESPE)を用いた。被験者は、日本大学歯学部付属歯科病医院保存修復科に来院し、本研究の主旨を説明し、了解を得られた患者とした。なお、本調査研究に関しては、日本大学歯学部倫理委員会の審査を経て承認を得ている(倫理 2008-19号)。修復歯としては、犬歯および小臼歯の頬側歯頸部の楔状欠損とした。また、修復法としては、欠損部を注水下で清掃し、乾燥後、簡易防湿下で製造者指示に従ってアドヒーシブを塗布、光照射した。次いで、選択されたシェードのレジンペーストを填塞するとともに、形態修正ならびにポップオンディスク (3M ESPE) を用いて研磨を行った。

修復物の評価は、USPHS の評価基準を参考とした。すなわち、観察期間を通じて自発痛、咬合痛、打診痛、冷水痛および温水痛の臨床症状について診査を行った。さらに、修復後からは歯周組織について診査および修復物の状態について評価を行った。修復物の状態としては、保持、色調適合性、表面着色、辺縁着色、辺縁適合性、解剖学的形態(摩耗)、表面性状、辺縁破折、体部破折および二次齶蝕の各項目について精査した。この評価時期としては、処置直後、1週間、3ヶ月、6ヶ月とし、全症例について口腔内写真撮影を行うとともに、代表例については、被験歯に対してシリコーン印象材 (Imprint II Grant Light Body, 3M ESPE) を用いて印象採得を行い、エポキシ樹脂を用いてレプリカ模型を製作し、レーザー顕微鏡 (VK-9710, Keyence) を用いて観察を行った。

【成績および考察】

被験者としては、平成 21 年 1 月から 7 月までに日本大学付属歯科病医院保存修復科外来に来院した、年齢 40~86 歳までの男性 4 名、女性 12 名であった。症例数の内訳は、上顎犬歯 7 症例、上顎第一小臼歯 9 症例、上顎第二小臼歯 7 症例、下顎犬歯 1 症例、下顎第一小臼歯 4 症例、下顎第二小臼歯 4 症例の合計 32 症例であった。観察期間を通じていずれの症例においても自発痛、咬合痛、打診痛、冷水痛あるいは温水痛の臨床症状は認められなかった。修復物の状態については、3ヶ月経過した時点から、数例において辺縁部にステップが認められたものの、再研磨で対応できる範囲であった。また、いずれの症例においても二次齶蝕、体部破折あるいは脱落などの臨床的不快事項は発現せず、良好に経過した。

【結論】

Adper Easy Bond を用いたレジン修復の短期臨床成績を検討した結果、観察期間を通じてすべての症例において脱落、二次齶蝕あるいは歯髄炎等の臨床的不快事項は認められず、良好な臨床経過を示した。

フッ化物徐放性フィラー含有知覚過敏治療材の象牙質再石灰化誘導能

神奈川県大学 口腔治療学講座保存修復学分野
○向井義晴, 椎谷 亨, 富山 潔, 岡田周策, 寺中敏夫

Remineralization Potential of the Fluoride-Releasing Desensitizer on Simulated Hypersensitive Dentin

Department of Oral Medicine, Division of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College
○ MUKAI Yoshiharu, SHIYA Toru, TOMIYAMA Kiyoshi, OKADA Shusaku, TERANAKA Toshio

[研究目的]

我々はこれまで、S-PRG フィラーとポリアクリル酸を使用した S-PRG 法が効果的に象牙細管を封鎖し、細管内に Ca と P を含む石灰化物が細管内に誘導されることを SEM 観察および EPMA 分析により報告した。一方、プラークの堆積が知覚過敏症状の誘発に関連するという報告も見受けられるため、今回、表層下脱灰を伴う細管開口象牙質を作製し、本材料の再石灰化誘導能を検討した。

[材料および方法]

ウシ歯根部から 5mm×3mm の象牙質試料を切り出し、表面を 2,000 番の耐水研磨紙で研磨した。象牙細管の開口は、10%リン酸溶液で 10 秒間処理、水洗後、ヒドロキシアパタイトペーストを 1 試片あたり 0.1g 使用しブリストルブラシを用い 1,000rpm で 1 分間研磨を行った。その後、超音波浴槽中で 35 分間、脱イオン水中に 18 時間浸漬することにより洗浄した。これら細管開口の終了した象牙質表面にネールバーニッシュにて 3mm x 3 mm の試験面を設定し、脱灰ゲル (1.5mM Ca、0.9mM P、50mM acetic acid、pH5.0) 中に 37°C、2 週間浸漬することにより表層下脱灰病巣を作製した。形成された表層下脱灰病巣を保存するため、試験面半分をネールバーニッシュで被覆し 3 グループに分け (n=5)、被覆されていない 1.5mm x 3 mm の象牙質面に対し以下の処理を行った。① Control : 細管封鎖処理を行わず、再石灰化溶液 (1.5mM Ca、0.9mM P、130mM KCl、20mM Hepes、pH7.0) に 8 週間浸漬。② SPRG : S-PRG 法により細管封鎖処理 (ポリアクリル酸 (6.5 w/v %) に浸したフェルトスティックを使用して S-PRG パウダー (85.0wt% S-PRG フィラーと平均粒径 40nm ヒュームドシリカを含有するパウダー) を微量採取し 15 秒間擦り込んだ後、余剰ペーストを拭き取る)。その後、再石灰化溶液に浸漬。③ MS : MS コートを指示書に従って塗布後、再石灰化溶液に浸漬。再石灰化溶液は 1 試片あたり 50 ml とし、毎週新鮮な溶液に交換した。8 週間経過後、厚さ 300 μm の薄切片を切り出し、TMR 撮影 (PW3830、管電圧 25kV、管電流 15mA、照射時間 20 分) を行い分析用ソフト TMR2000 を用いてミネラルプロファイルを作成した。歯片毎に、再石灰化溶液浸漬前後のプロファイルの差から再石灰化量を算出した後、One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5%にて統計分析を行った。

[結果]

再石灰化量は、Control: 1705.0±243.3 (vol%×μm)、SPRG: 1728.2±149.5 (vol%×μm)、MS: 711.5±350.0 (vol%×μm) であり、MS 群では他 2 群に比較し有意に低い再石灰化量を示した。再石灰化期間終了後の TMR の比較では、MS 群で象牙質表面から 20~30 μm の侵蝕像 (エロージョン) が観察された。SPRG 群では 10~20 μm の深度に表層下病巣の残存が認められた。また、両群とも過再石灰化と思われるミネラルプロファイルが得られた。Control 群では侵蝕像や顕著な再石灰化不良部位は観察されなかったが、過再石灰化もわずかであった。

[考察および結論]

MS コート塗布象牙質面では、酸性溶液の作用により Ca が溶け出しシュウ酸カルシウムと MMA ポリマーの混在した非常に脆弱な層が形成されている可能性が考えられ、その後の長期の再石灰化溶液浸漬によりその層が次第に溶解し、エロージョンの形成に至ったものと思われた。今回は、脱灰層を有する知覚過敏部をシミュレートしているのもその影響がより強く出たものと思われる。SPRG 法も 6.5%ポリアクリル酸を使用しているため、脱灰層を有する知覚過敏部に塗布した場合、表面近くは比較的強い脱灰を受け、その部位が再石灰化期間終了後も完全に再石灰化せずに再石灰化不良部位として残存したものと思われるが、それより深部において顕著な過再石灰化が生じているため再石灰化量としては Control と有意差が生じなかったものと考えられた。

カリエスリスク診断に関する研究

第5報 簡易型 DEPIM のブラッシング前後のプラーク内総細菌数測定
愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○大下尚克、村上景子、服部由佳、佐藤かおり、富士谷盛興、千田彰

A Study on Caries Risk Diagnosis

Part 5. Efficiency of the Portable DEPIM in Measuring Quantity of Plaque Bacteria Before and After Brushing

Aichi Gakuin University, Department of Operative Dentistry

○ Naoyoshi OSHITA, Keiko MURAKAMI, Yuka HATTORI, Kaori SATO, Morioki FUJITANI, Akira SENDA

【研究目的】

歯科診療を行う上で、疾病に対する患者個々のリスクファクターを評価することは非常に重要であり有益である。う蝕の予防・管理においては、カリエスリスク評価が重要視されるが、この評価は唾液分泌量やその緩衝能、口腔内細菌数、フッ化物の使用状況、歯垢の蓄積量、DMFT、食習慣など関連する多くの因子を総合的に分析、評価することで行われている。演者らはそれら関連因子の中でも口腔内細菌数について着目し、誘電泳動とインピーダンス計測を利用した DEPIM 法 (DiElectro Phoretic Impedance Measurement method) を応用し、簡易に口腔内細菌数を測定する方法ならびにその有用性を本学会において既に報告した (第 114 回、116 回、119 回、121 回)。

本研究は、新たに簡易小型化された簡易型 DEPIM を用いて、ブラッシング前後におけるプラーク内総細菌数の測定を行い、当機器の臨床的有用性について検討した。なお、本研究における当機器の信頼性について検証するために、従来の培養法との比較検討も併せて行った。

【研究材料および方法】

本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認 (承認番号:174) を得て行った。研究目的、方法などについて十分に説明を行い、同意の得られた当講座の医局員 5 名の協力を得た。規定部位よりプラークの採取を滅菌綿棒を用いて行い、イオン交換水を用いて懸濁液を調製し、簡易型 DEPIM にて細菌数の測定を行った。さらに懸濁液の残りをポアメディア血液寒天培地 (栄研化学) を用いて、37℃ 恒温槽中にて 24 時間嫌気培養を行い、測定されたコロニー数から細菌数 (CFU/ml) を算出し、簡易型 DEPIM による測定結果と比較検討した。

また被験者には 1 度目のプラーク採取後に 5 分間のブラッシングを指示し、その後、対側同名歯より再度プラークの採取を行った。その後、前述と同様の方法により、簡易型 DEPIM による細菌数の測定、ならびに嫌気培養による細菌数の算出を行い、ブラッシング前後における細菌数の比較検討を行った。

【結果および考察】

ブラッシング後における簡易型 DEPIM によるプラーク内総細菌数の測定において、ブラッシング前と比較して総細菌数の減少を有意に認めた (t -test, $p < 0.01$)。また、簡易型 DEPIM と従来の培養法による測定結果の間には高い相関関係 ($r = 0.72$, $p < 0.001$) を認めた。従って、簡易型 DEPIM はプラーク内総細菌数を非常に簡便に測定でき、さらにプラーク内の細菌数の変化にも即応する能力を有していることが判明した。

以上より簡易型 DEPIM は日常臨床において、患者のう蝕予防を含めた、口腔内環境改善のモチベーション向上に寄与できるものと考えられた。

【結論】

本研究で用いた簡易型 DEPIM は、プラーク内細菌数を「非侵襲」かつ「短時間」で「簡便」に測定を行うことが可能である。さらに本機器の測定においてブラッシングにより細菌数の減少が認められたことから、その臨床使用は有用であると考えられた。

種々の濃度での抗菌性モノマーMDPBの殺菌・静菌特性の解析

¹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)、
²東北大学大学院歯学研究科 口腔生物学講座 口腔生化学分野
○泉谷尚美¹, 今里 聡¹, 中條和子², 高橋信博², 高橋雄介¹, 恵比須繁之¹

Evaluation of bactericidal/bacteriostatic effects of antibacterial monomer MDPB at various concentrations

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology Osaka University Graduate School of Dentistry, Division of Oral Ecology and Biochemistry, ²Department of Oral Biology, Tohoku University Graduate School of Dentistry
○Naomi Izutani¹, Satoshi Imazato¹, Kazuko Nakajo², Nobuhiro Takahashi², Yusuke Takahashi¹, Yuichiro Noiri¹, Shigeyuki Ebisu¹

【目的】

近年実用化に至った抗菌性接着システムに配合されている 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide (MDPB)は、未重合状態で殺菌作用を発現すると同時に、重合後には固定化されて接触型の抗菌効果を発揮するという特徴を有するモノマーであり、種々のレジン系材料への応用の可能性が考えられる。これまで、未重合 MDPB がう蝕や感染根管に関連する細菌に対して強い抗菌性を備えていることについては数多く報告がなされているが、本モノマーをさまざまな局面で活用するためには、その抗菌特性をさらに詳細に検索する必要がある。そこで本研究では、*Streptococcus mutans* NCTC10449 を用いて、MDPB の種々の濃度での殺菌・静菌特性について検討を加えた。

【材料および方法】

[1] 最小発育阻止濃度(MIC)/最小殺菌濃度(MBC)の測定: MDPB と、HEMA、MDP、ならびに抗菌剤である Cetylpyridinium chloride (CPC)と Chlorhexidine diacetate (CHX)の MIC/MBC を測定し、抗菌力を比較した。

[2] 即時殺菌効果の検討: 約 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^6$ CFU/mL の *S. mutans* 懸濁液に、10~1000 $\mu\text{g/mL}$ の MDPB を 20~60 秒間接触させた後、残存生菌数を測定した。また、コラーゲンディスク上に作成したバイオフィルムに、500 あるいは 1000 $\mu\text{g/mL}$ の MDPB を 20~60 秒間作用させた後、viability staining method にて生死の判定を行い、画像解析により殺菌率を算出した。

[3] 低濃度 MDPB による増殖及び代謝抑制効果の検討: 約 1×10^3 CFU/mL の *S. mutans* を 0.2~8 $\mu\text{g/mL}$ の MDPB を含有する培地に培養し、96 時間まで経時的に吸光度を測定して増殖を評価した。また、2~8 $\mu\text{g/mL}$ の MDPB を含有する *S. mutans* 懸濁液に 10 mM glucose を添加して培養し、pH 値の経時的測定と、pH stat システムによる酸産生速度の測定を行った。さらに、終末代謝産物をカルボン酸分析計にて定量した。

【結果】

[1] MDPB の MIC/MBC 値は 7.8/125 $\mu\text{g/mL}$ であり、CPC、CHX よりは大きいものの、HEMA、MDP と比較すると明らかに小さい値であった。 [2] 1×10^3 CFU の浮遊菌の場合は、500 $\mu\text{g/mL}$ MDPB と 40 秒間、あるいは 1000 $\mu\text{g/mL}$ MDPB と 20 秒間の接触により殺菌率は 100%となった。 2×10^4 または 1×10^5 CFU の浮遊菌に対しても、1000 $\mu\text{g/mL}$ MDPB と 60 秒間接触することにより 95%以上の細菌が死滅した。また、バイオフィルム細菌では、1000 $\mu\text{g/mL}$ MDPB を 60 秒間作用させることにより 100%の殺菌率が得られた。 [3] 1・8 $\mu\text{g/mL}$ MDPB 存在下では、増殖誘導期の延長がみられ、4、6、8 $\mu\text{g/mL}$ MDPB 存在下では倍加時間の増加も認められた。8 $\mu\text{g/mL}$ MDPB 存在下で、培養開始 30 分後に酸産生速度の有意な低下が生じ、4 または 8 $\mu\text{g/mL}$ MDPB により、培養 2 時間以降の pH 低下が有意に抑制された。また、MDPB の存在下では、終末代謝産物としての乳酸の産生量の有意な減少が認められた。

【考察および結論】

第四アンモニウムの誘導體である MDPB は、細胞膜との高い反応性を示すため、浮遊菌、バイオフィルム細菌のいずれであっても、膜障害に基づいて 60 秒以内の短時間で死に至らしめ、また、低濃度でも増殖や代謝の障害を引き起こすものと考えられた。以上の結果より、MDPB は、口腔細菌に対して即時的な殺菌効果を発現し、また、低濃度でも細菌の活性を阻害する特性を備えていることが明らかとなり、各種材料に応用するうえで有用なモノマーであることが示唆された。

塩化カルシウム, 象牙質マトリックスタンパク質 (DMP1) 由来合成ペプチド (pA, pB) ならびに
ヒドロキシアパタイト配合接着性レジンシステムによるラット露髄面の直接覆罩効果
-添加物の配合量と創傷部治癒態度について-

¹ 日本歯科大学大学院 新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学専攻
² 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座
○平 賢久¹, 新海航一², 鈴木雅也², 加藤千景², 加藤喜郎²

Direct Pulp Capping Effect with Experimentally Developed Adhesive Resin Systems Containing CaCl₂, Synthetic Peptide Derivatives (pA, pB) of Dentin Matrix Protein 1 and Hydroxyapatite on Rat Pulp -Mixed Amounts of Additives and Their Effect on Wound Healing -

¹ Advanced Operative Dentistry · Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
² Department of Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
○TAIRA Yoshihisa¹, SHINKAI Koichi², SUZUKI Masaya², KATO Chikage², KATOH Yosiroh²

【研究目的】

当講座の加藤らは、象牙質マトリックスタンパク質 (DMP1) 由来合成ペプチド pA, pB の象牙質形成促進効果を確認するため、CaCl₂ (10wt%) および pA, pB (10wt%) 配合プライマー、ヒドロキシアパタイト (10wt%) 配合ボンディング材からなる試作接着性レジンシステムを用いてラット露髄面に直接歯髄覆罩すると、特異な三層構造を呈した修復性象牙質を形成して創傷治癒に至ることを観察した¹⁾。しかしながら、接着システムの製品化に際しさらなるコストの削減が求められる。そこで本研究では、CaCl₂ および pA, pB の配合量を変え直接歯髄覆罩した場合の歯髄創傷治癒態度について病理組織学的ならびに免疫組織化学的に検討を行った。

【材料と方法】

8～9 週齢の雄性 SD 系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭頂部を露髄し、創面を AD Gel® (クラレメディカル) にて 5 分間処理、6%NaClO と 3%H₂O₂ による交互洗浄を行った後、直接歯髄覆罩を行った。覆罩に用いた試作接着性レジンシステムは Clearfil® Mega bond® (MB: クラレメディカル) を基本組成としている。試作プライマーは、MB プライマー (MBP) に CaCl₂ (1, 5wt%)、ならびに pA, pB (0.1, 1, 5wt%) を配合したものを、試作ボンディング材は、MB ボンド (MBB) に 10wt%Hydroxyapatite (OHAp) 粉末を配合したもの (MB2) を用いた。これらは使用直前に手の内で攪拌・混和を行った。窩洞は Clearfil® AP-X® (クラレメディカル) で修復、光照射は Candelux® (モリタ) で行った。観察期間 14・28 日後に屠殺、4%PFA 溶液で固定し摘出試料は 10%EDTA 溶液にて脱灰、通法にてパラフィン連続切片標本を作製した。H-E 染色、Hucker-Conn 組織細菌染色、鍍銀染色、免疫染色 (高分子ポリマー法: TGF-β 1, DMP1) を行い観察し、Medina-加藤の評価基準を用い歯髄組織の変化 (PTD)、炎症性細胞浸潤 (ICI)、修復象牙質の形成 (RDF)、細菌侵入 (BP) について評価を行った。各評価項目の統計学的解析には、コントロールグループ (CONT) として 10wt%の結果¹⁾ を含め Kruskal-Wallis H-test ($p < 0.05$) を行い、有意差を認めたものにはさらに post hoc test として Mann-Whitney U-test with Bonferroni correction を行った。

処理手順 (n=5)	プライマー I (CaCl ₂ 配合量)	→	プライマー II (pA, pB 配合量)	→	ボンド (OHAp10wt%配合)	→	コンボジット レジン修復	
Group 1	1 wt%	20 秒処理 ↓ エアー乾燥	0.1 wt%	20 秒処理 ↓ エアー乾燥 ↓ 光照射 ↓ 10 秒	MB2	光照射 10 秒	AP-X (A3)	光照射 40 秒
Group 2	1 wt%		1 wt%					
Group 3	1 wt%		5 wt%					
Group 4	5 wt%		0.1 wt%					
Group 5	5 wt%		1 wt%					
Group 6	5 wt%		5 wt%					
CONT ¹⁾	10 wt%		10 wt%					

【結果ならびに考察】

観察期間 14 日では、試料間にばらつきがあるものの全ての Group で RDF を認めた。PTD と ICI が少ない試料が多く見られた。各評価項目について Kruskal-Wallis H-test ($p < 0.05$) を行った結果 RDF と PTD に有意差を認め、Mann-Whitney U-test による Group 間比較では RDF の CONT と全ての Group 間で、Group 3 と Group 1, 4, 5, 6 間に、PTD では Group 3 と Group 2, 4, 5 間に有意差を認めた。観察期間 28 日では、全ての Group で高度に形成された RDF を認めた。CONT および全ての Group 間の比較では統計学的に差は認められなかった ($p > 0.05$)。PTD と ICI についてはそれに該当する歯髄組織の変化は全く認められなかった。

【参考文献】

1) 加藤喜郎, 鈴木雅也, 荻須崇仁, 加藤千景, 新海航一, 山内淳一, 朝倉哲郎: 象牙質マトリックスタンパク質 (DMP1) 由来合成ペプチド (pA, pB) によるラット露髄面の直接覆罩効果; 日歯保存誌 50 (秋季特別号), 12, 2007.

新規覆髄実習システムの開発

北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野
○泉川昌宣 新田督 半田慶介 伊藤修一 安田善之 尾立達治 永井康彦
甕富美子 小池俊之 嶋村成一郎 斎藤隆史

Development of a novel pulp-capping training system

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences
University of Hokkaido

○Masanobu Izumikawa, Osamu Nitta, Keisuke Handa, Shuichi Ito, Yoshiyuki Yasuda, Tatsuzi Odachi, Yasuhiko Nagai,
Fumiko Motai, Seiichiro Shimamura, and Takashi Saito

【目的】

日常臨床において、う蝕治療は「う蝕の処置」および「修復処置」からなっており、MI の概念に立脚した注意深い「う蝕の処置」が要求されている。しかし従来から保存修復学基礎実習では、窩洞形成をはじめとする「修復処置」に関する教育に重点が置かれてきた。

そこで我々は、保存修復学基礎実習における効果的なう蝕治療教育を実践することを目的として、「う蝕の処置」「修復処置」に関する一連の基本的技能を効果的に習得できる「う蝕検知液可染性う蝕付き人工歯」の開発を行い、同人工歯を実習に導入してきた。

今回、う蝕除去後に間接覆髄・直接覆髄の歯髄保護対策が必要となる深在性う蝕症例をシミュレートした覆髄実習用う蝕付き人工歯および示説教材を開発し、それらの適性の評価を行った。

【方法】

従来から実習に用いられてきた歯髄腔付き人工歯を改良し、深在性う蝕部を付与した覆髄実習用う蝕付き人工歯（間接覆髄用：A29-006-#45、直接覆髄用：A29-005-#34）および示説教材を開発した。当講座員15名および第3学年学生99名を対象として、本人工歯を用いた覆髄実習を行い、適性評価を行った。

【結果および考察】

学生および教員に対するアンケート調査では、まず、「う蝕の染色性」は学生、教員共に65%以上が「適当」と回答した。また、う蝕染色液による染色回数は、教員は3～5回であったが、学生は1～10回とばらつきが大きく、このことは「う蝕の処置」実習が有意義であることを示唆していると考えられた。「深在性う蝕部の大きさ」は学生、教員共に70%以上が「適当」と回答した。「う蝕と歯髄腔との位置関係」については88%の学生と50%の教員が「適当」と回答した。「髄角の高さ」については84%の学生が「適当」と回答したのに対し、90%の教員は「低い」または「低すぎ」と回答した。このことは、深部性う蝕モデルを強調して人工歯開発を行なったことが原因と考えられた。さらに、教材に関して「PowerPoint 教材」「ビデオ教材」とともに、実習内容の理解に「有用である・非常に有用である」との回答が多かった。

【結論】

今回開発した覆髄実習システムは、「う蝕の除去」「覆髄処置」「修復処置」の一連の基本的技能を効果的に習得できる教育システムとして有用であることが示唆された。

アパタイト-コラーゲン複合体の外科的歯内療法処置への応用—5年経過例—

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野*

秋田康充、河野哲、河津祐之、竹中祥紘、武田進平、土井豊*、吉田隆一

Application of Apatite-collagen Complex to Endodontic Surgery After 5 years

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

*Department of Dental Materials Science, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,

Asahi University School of Dentistry

AKITA Yasumitsu, KAWANO Satoshi, KAWAZU Sukeyuki, TAKENAKA Yoshihiro, TAKEDA Shinpei,
DOI Yutaka* and YOSHIDA Takakazu

【研究目的】

我々は第 119 回の日本歯科保存学会において、再線維化させたコラーゲンを β -グリセリン酸カルシウム溶液に浸漬すると、無機析出量が経時的に増大し、その析出物は、X 線回折および赤外線吸収スペクトル (FT-IR) よりアパタイトであることを明らかにした。さらに第 121 回の日本歯科保存学会において、実験的に根尖病巣を発症させた成犬を用いて、歯根端切除術後の骨創腔にアパタイト-コラーゲン複合体 (HAp-Col 複合体) を填入し、生体親和性ならびに新生骨生成の様相について硬組織伝導性を検討した結果、速やかな新生骨の形成が認められ、本複合体の生体親和性および硬組織伝導性を確認できた。そこで今回、5年間という長期経過における複合体の生体親和性を確認することを目的に、レントゲン写真、3D μ -CT 像ならびに H.E. による病理組織観察を行い、有用性を検討した。

【材料および方法】

材料: 再線維化コラーゲンをアルカリフォスファターゼ、ホスビチン処理後に β -グリセリン酸カルシウム溶液に 3 日間浸漬させたアパタイト-コラーゲン複合体を用いた¹⁾。

方法: 雑種成犬 (11.5kg) の下顎第三、第四前臼歯をエンジンリーマーにて意図的に近心根根尖を穿通し、4 週間放置した後、X 線写真撮影を行い、近心根根尖周囲の骨透過像を確認した (根尖病巣の発症)。この近心根を作業長通りに #70 まで拡大後、健康な骨面上である下顎第二前臼歯近心より第四前臼歯遠心まで粘膜骨膜弁を形成した。病変によって菲薄化した骨の範囲を探针にて注意深く確認した後、生理食塩液注水下にて、骨切離線を形成し、病巣を露出させた。腐骨ならびに不良肉芽を除去・搔爬後、病巣内の根尖を生理食塩液注水下で切除し、根管充填を行った。骨創腔に HAp-Col 複合体複合体を填入した後、粘膜骨膜弁を復位し、縫合を行い、施術を終了した。実験期間は 5 年間とし、新生骨の形成状態について同一個体をレントゲンの追跡撮影による確認および各実験期間終了後、通法に従い屠殺し、3 次元マイクロ CT による検討を行った。また、同部位の H.E. 染色による病理組織学的観察を行った。

【結果および考察】

5年間経過時点で患歯は動揺なく、歯肉も炎症はみられず安定していた。レントゲン写真において、複合体填入部位の不透過性が経時的に向上し、周囲組織との骨梁の連続性が確認できた。さらに、3 次元マイクロ CT 像において、頰側の創が骨様組織によって完全閉鎖していた。また、病理組織所見において、骨欠損を行った範囲と思われる部分の骨は、骨再生が行われ、皮質骨ならびに海綿骨が形成されていた。皮質骨の厚みや海綿骨梁の密度が舌側よりも低くみられるが、組織学的には正常な層板を示す骨組織に戻っていると考えられる。骨髄組織は、まだ他の骨髄にみられるような脂肪髄には至っておらず、やや染色が濃い組織が存在していた。一方、骨欠損と同時に切断した歯根は切断された象牙質の位置に新たに付加した硬組織を認めた。今回の実験結果より、根尖病巣を有する歯の歯根尖切除術後の骨創腔にアパタイト-コラーゲン複合体の填入が有効であった。長期的にみても組織は安定した治癒形態をとっていたことから骨置換材として極めて有用な材料であり、外科的歯内療法処置への応用が可能となることがわかった。

【参考文献】1. 秋田康充、河野 哲、竹中祥紘、土井 豊: アパタイト-コラーゲン複合体の外科的歯内療法処置への応用、日歯保存誌 vol.48、835-849、2005

【謝辞】病理組織学的観察にご支援ご協力いただきました、本学歯学部口腔病理学分野の永山元彦准教授に深謝いたします。