

エナメル質亀裂の非侵襲的断層画像診断

東京医科歯科大学大学院 摂食機能保存学講座 う蝕制御学分野 歯と骨の GCOE

今井加奈子 島田 康史 SADR Alireza 田上順次

Non-invasive cross-sectional visualization of enamel crack using OCT

Cariology and Operative Dentistry, Graduate school, Tokyo Medical and Dental University

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

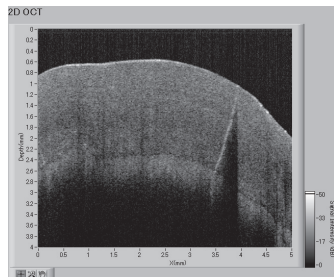
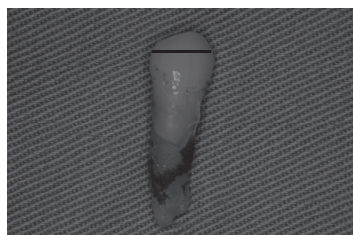
IMAI Kanako, SHIMADA Yasushi, SADR Alireza, TAGAMI Junji

(緒言) エナメル質亀裂は、ブラキシズム、過度の咬合力などが原因で起こると言われている。まれに違和感を生じ、知覚過敏やう蝕の原因となることがある。またホワイトニングでは、エナメル質亀裂を有する歯は知覚過敏を発症することがあり、禁忌となっている。しかしながら、亀裂の診断基準となるのは術者の視診やマイクロスコープなどであり、伸展方向や深さの情報を得ることはほぼ不可能といえる。光干渉断層計 (Optical Coherence Tomography, OCT) は 1991 年に報告され (Huang, 1991) 電離放射線による被曝を伴わない撮影技術であり、眼科領域はじめ医科の診断に普及しつつある。生体の微細構造や組織の精密断層像をチェアサイドで得ることができ、歯科への導入が期待されている。本研究では歯冠部亀裂の OCT による断層画像診断を試みた。

(材料および方法) 歯冠に亀裂を有すると思われるヒト抜去前歯、小白歯、大白歯 50 本を使用した。歯冠亀裂を視診により診断し、OCT (Santec OCT-2000®, santec) による断層画像診断を行った。その後ダイヤモンドブレードにて半切し、走査型レーザー顕微鏡にて亀裂の状態を観察した。

(結果) OCT を用いた歯冠亀裂の検出は散乱した光の輝度変換によって得られ、視診よりも精度の高いことが判明した。エナメル質からのシグナルは深さ約 3mm におよび、エナメル象牙境 (E D J) が明瞭に観察できた。OCT により亀裂の伸展方向や深さの情報を得ることができ、半切面の観察結果とほぼ一致していた。亀裂のほとんどはエナメル質表層からエナメル象牙境までであったが、一部象牙質まで及んでいるものも検出された。

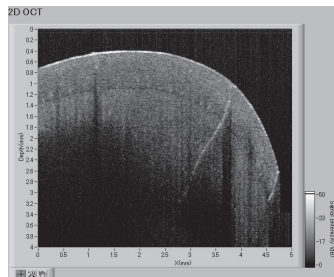
(考察) OCT 画像から、エナメル質亀裂を明瞭に捉えることができた。特に視診では、亀裂の深さを診断することはできないが、今回の実験では OCT により亀裂の深さを診断することができ、治療の必要性の有無を診断するひとつの手段となり得ることがわかった。また、視診では観察方向に限度があるが、OCT では多方向から観察することができるため、歯冠亀裂の早期診断と亀裂深度の観察の可能性が示唆された。断層画像をリアルタイムでチェアサイドで得ることができ、電離放射線被曝を伴わないため、小児、妊産婦への応用も可能であり、臨床への早期導入が望まれる。



左：抜去歯写真

黒線：観察断面

右：エナメル質表層からエナメル象牙境にかけて亀裂が生じており、輝度変換により観察できる。



左：抜去歯写真

黒線：観察断面

右：エナメル質表層から象牙質にまで及ぶ亀裂が観察される。

デジタル画像を用いた咬合面う蝕診断の識別能

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科総合診療歯科学分野¹,
歯学部附属病院歯科総合診療部², 歯科医療行動科学分野³, 医歯学教育システム研究センター⁴
○梅森 幸¹, 礪波健一², 新田 浩³, 荒木孝二⁴, 俣木志朗³

Validity of occlusal caries diagnosis using digital image

Sachi Umemori¹, Ken-ichi Tonami², Hiroshi Nitta³, Kouji Araki⁴, Shiro Matak³

Tokyo Medical and Dental University

General Dentistry, Graduate School¹, Oral diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital²

Behavioral Dentistry, Graduate School³, Center for Education Research in Medicine and Dentistry⁴

【緒言】

演者らは検診等のスクリーニングに応用可能な画像解析によるう蝕診断法を開発する目的で、デジタル画像を用いた咬合面う蝕診断の検討を行ってきた。前報にて口腔内カメラを用いて撮影したデジタル写真を用いても、小窩裂溝う蝕着色部形態のフラクタル次元を用いた画像解析により、う蝕診断が可能であることを報告した(日本歯科保存学会平成20年度第129回秋季大会)。本研究では同診断手法を用いた要治療歯による識別能を検討した。

【材料および方法】

東京医科歯科大学歯学部附属病院外来患者の咬合面小窩裂溝部に着色を有する臼歯83本(小臼歯31本、大臼歯52本)を被験歯とした。歯科医師が視診にて、要治療歯か否か(C1以上かC0か)を決定した後、DIAGNOdent(Kavo, Germany)を用いてう蝕診断を行った。次に、口腔内カメラPenscope(モリタ, Japan)による撮影で得られたデジタル写真について、画像解析ソフト(Image J, NIH, USA)を用いて画像処理および解析を行い、フラクタル次元を求めた。その後、要治療歯か否かを目的変数、フラクタル次元またはDIAGNOdent測定値を説明変数として判別分析を行い、判別式を求めた。それぞれの判別式を用いて、被験歯83本についての感度、特異度、陽性尤度比を比較検討した。

【結果および考察】

要治療歯か否かを目的変数とし、フラクタル次元を説明変数とする判別式は $Y=6.821X-8.229$ 、DIAGNOdent測定値を説明変数とする判別式は $Y=0.048X-1.346$ となった。それぞれの式より求めた感度、特異度、陽性尤度比を下表に示す。フラクタル次元の感度は、DIAGNOdent測定値よりも大きくなる一方で、特異度は小さい値となった。その結果、フラクタル次元を用いた方法は陽性尤度比がDIAGNOdent測定値よりも小さい値となり、DIAGNOdentよりも要治療歯の判別能が劣るという結果となった。その理由としては、画像上の着色部を抽出する際、面積の小さいC0に対して、実際よりも大きく選択してしまう傾向があるためと思われる。従って、今後新たなパラメーターを判別式に導入する等、本法のう蝕診断判別能を向上させることを検討している。

表 フラクタル次元を用いたう蝕診断法とDIAGNOdentの感度・特異度・陽性尤度比

測定法	感度	特異度	陽性尤度比
フラクタル次元	0.94	0.84	5.71
DIAGNOdent測定値	0.68	0.90	6.89

【参考文献】

礪波健一, 小沼正樹, 新田 浩, 荒木孝二, 俣木志朗, 黒崎紀正: う蝕診断を目的とした臼歯小窩裂溝部着色形態のデジタル画像分析に関する基礎的研究: 日歯保存誌 49, 725-730. 2006

ブロメライン酵素を応用した齲蝕除去効果の検討

¹昭和大学歯科病院歯内治療科 ²昭和大学歯学部歯科理工学講座

○山田嘉重¹、仲田泰治¹、増田宜子¹、那須裕弥¹、清水由子¹、玉置幸道²、藤島昭宏²

The application of a bromelain enzyme for caries removal

¹Dental Hospital Endodontics, Showa University

²Department of Oral Biomaterials and Technology, School of Dentistry, Showa University

○YAMADA Yoshishige¹, NAKADA Yasuharu¹, MASUDA Yoshiko¹, NASU Yuya¹,
SHIMIZU Yuko,¹ TAMAKI Yukimichi², FUJISHIMA Akihiro²

(緒言)

近年従来行われている高速回転器具を用いた齲蝕除去法以外にカリソルブを使用する方法が臨床応用されている。カリソルブは化学的齲蝕除去法の一つであり、齲蝕象牙質を選択的に軟化し、除去を容易にする作用があり、ミニマムインターベンション (MI) の達成を考慮する上で大変有用な方法である。しかし、低濃度ながら次亜塩素酸ナトリウムを使用すること、薬剤が高価なことなどの問題点がある。化学的齲蝕除去剤として、その他にパパイアの酵素を用いた papacarie がある。生体への危険性は低いが、その効果は現在のところはっきりしておらず普及はしていない。本研究では、papacarie 同様、果物に含まれる酵素の一つであり、有機質の軟化に効果があることが知られているパイナップルに含まれるブロメライン酵素を用いて、生体に安全性の高い有機酸やオレンジオイルと併用した場合の齲蝕除去能を検討した。

(実験方法)

本研究には歯周病等の理由にて除去された隣接面齲蝕を有するヒト臼歯 30 本を使用した。全ての試料は以下に挙げる各 10 本ずつの 3 グループに分類した。グループ I (10%ブロメラインと 10%酒石酸の混合) グループ II (10%ブロメラインと 10%オレンジオイルの混合)、グループ III (コントロール群; カリソルブ) とした。薬剤を齲窩に塗布し、1 分経過後にエキスカ等を用い齲蝕象牙質の除去を行った。齲蝕除去は齲蝕検知液にて判定し、各グループは齲蝕除去に要した時間を測定し、全ての齲蝕が除去できたと判定された後、齲蝕除去後の表面の状態を実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察した。その後、窩洞面をコンポジットレジンにて充填した後に辺縁漏洩試験を施行し得られた全ての結果を統計学的に検討した。

(結果)

10%ブロメラインと 10%オレンジオイルを混合した薬剤を使用したグループ II では、齲蝕除去が他のグループより容易に施行することができ、齲蝕除去までの時間は他の 2 グループより短い傾向が認められた。しかし統計学的には 3 グループともに有意な差は見られなかった。また齲蝕除去後の表面の状態は実体顕微鏡では特記する違いは認められなかったが、SEM 所見においてカリソルブを使用したグループ 3 に比べグループ 1、グループ 2 ともスメア層などの残存が多く認められる傾向にあった。しかしコンポジットレジン充填前に前処理を施すことにより象牙細管が観察されるようになり、清掃性において大きな問題は認められなかった。辺縁漏洩試験においても 3 グループ間に有意差は見られなかった。

(考察)

ブロメライン酵素を応用した今回の方法はカリソルブと同様に齲蝕除去に対して有効であることが確認された。

また、齲蝕除去後のコンポジットレジンの辺縁漏洩試験においてもカリソルブ使用グループと比較してグループ 1、2 とも差異が無いことから、これらの薬剤はコンポジットレジンの接着性に影響を与えないことも確認された。これまで得られた結果より、ブロメライン酵素を応用した薬剤においても齲蝕除去が可能であることが確認された。特にブロメライン酵素とオレンジオイルとを併用した薬剤は齲蝕除去の操作性が良く、オレンジオイルの匂いが患者に受け入れられやすい点などから、将来の齲蝕除去剤の有用な候補の一つに成り得るものと期待される。

The Effect of Increasing Thermal Cycling Regimens on Shear Bond Strength and Nanoleakage Expression of Total-etch Adhesive on Human Dentin

¹ Cariology and Operative Dentistry, Department of Restorative Sciences, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

² Global Center of Excellence (GCOE) Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Disease
HARIRI Ilnaz¹, SHIMADA Yasushi¹, SADR Alireza², TAGAMI Junji^{1,2}

Introduction: Adhesion to dental hard tissues is achieved through the use of bonding agents that advance micromechanical interlocking with the both enamel and dentin. Discrepancies between the depth of demineralization and resin infiltration in total-etch adhesives always results leaving some porous regions within the exposed collagen fibers and hybrid layers that contain voids. These porosities and voids can be penetrated by solution such as silver nitrate, even in gap free restoration and this has been termed 'nanoleakage'. The durability of adhesive bonds is still one of the areas of current interest in adhesive dentistry. The purposes of this study were to investigate the effect of increasing thermal cycling times on shear bond strength and nanoleakage expression.

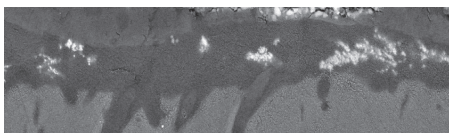
Materials and methods: The bonding system used in this study was Total-etch adhesive system (Single Bond). Bonding was applied on dentin surfaces according to the manufacturer's instructions, then divided into 4 groups of 0, 500, 1000 and 2000 cycles of thermal cycling, after that, specimens were subjected to shear bond test. For nanoleakage part 3 specimens were chosen for each group. Two central slabs of each specimen were divided into four groups of 0, 100, 500, and 2000 times of thermal cycling. Samples were immersed in a 50% w/v solution of silver nitrate for 24 h, and exposed to photo developing solution for 8 h. In order to examine the nanoleakage within the resin/dentin interface we observed our samples by FE-SEM, with the use of image analysis software (image j 1.34s, Wayne Rasband, national institute of Health, Bethesda, MD, USA) for calculation of the percentage distributions of silver deposits within the hybrid layers.

Results: In total 40 specimens were evaluated For shear bond strength. The mean shear bond strength and standard deviation was, 28.21 ± 3.7 , 16.54 ± 3.7 , 15.64 ± 2.3 , and 15.06 ± 2.1 respectively. Mann Whitney test was employed for each group showed there was a significant difference in shear bond strength before and after thermal cycling $P < 0.001$. But there is no significant difference among thermal cycling groups ($p > 0.05$).

For nanoleakage part, In total 48 images were evaluated, Data were statistically analyzed. The analysis were carried out by Mann-Whitney test with statistical significance set at $P < 0.001$. The two-step, etch-and- rinse adhesive—SB, showed distinct silver penetration in the hybrid zone (hybrid layer, adhesive–hybrid layer interface and also the adhesive layer), after the thermal cycling test. Nanoleakage was gradually increased at the dentin interfaces up to 500.

Conclusion: The bond strength in dentin dramatically decreased and nanoleakage was gradually increased at the dentin interfaces.

SEM images of silver nitrate penetration was cut by image J



Control group
2%



500 times of thermal cycling between
50°, 55°C, 26.2

Surface Characterization and Bond Strength of Two Adhesive Systems to intact vs. Ground Enamel

¹ Cariology and Operative Dentistry, Department of Restorative Sciences, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

² Global Center of Excellence (GCOE) Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Disease

NAZARI Amir^{1,2}, SHIMADA Yasushi¹, SADR Alireza², TAGAMI Junji^{1,2}

Summary:

Objectives: The aims of this study were, characterizing the etched intact and ground enamel surface by measuring the average surface roughness (Ra), and obtaining 3D surface profile along with evaluation of bond strength using two different adhesive systems, total-etch and self-etch system; and to investigate the effect of a separate acid etching step prior to self-etch adhesive application on enamel.

Methods: Intact and ground mid-labial surfaces of extracted human anterior teeth were used. The ground enamel surfaces were prepared by grinding approximately 0.3 mm of the enamel surface using high speed diamond bur. Six groups were exposed to three conditions: single Bond (3M ESPE), Easy Bond (3M ESPE) and additional acid etching step prior to Easy Bond. The specimens were viewed under confocal laser scanning microscope (CLSM) to obtain 3D surface profile and computation of the average roughness (Ra) of the etched enamel surface. The etched enamel surfaces were also viewed under scanning electron microscope (SEM) to observe the etched surfaces of different groups. To evaluate the bond strength, micro-shear bond test was performed.

Results: A relationship was observed between Ra and bond strength in total-etch system but not in self-etch system. Highest bond strength in both intact and ground enamel was achieved with acid etching followed by Easy Bond Adhesive.

Conclusion: To describe different etched surfaces, Ra is very useful. Grinding doesn't increase the bond strength if the enamel is treated with etchant prior to adhesive application. Combination of acid etching and self-etch system showed highest performance.

Groups	Intact SIB	Intact EB	Intact E+EB	Ground SIB	Ground EB	Ground E+EB
Bond Strength (MPa)	42.5 ± 10.4	16.7 ± 2.1	48.4 ± 7.9	39.5 ± 6.3	30.1 ± 5.8	50.2 ± 5.1
Roughness (μm)	17.5 ± 3.5	11.5 ± 1.3	17.9 ± 3.4	19.5 ± 2.5	26.1 ± 2.2	14.4 ± 1.5

SIB: Single Bond; EB: Easy Bond; E+EB: Etching prior to Easy Bond application

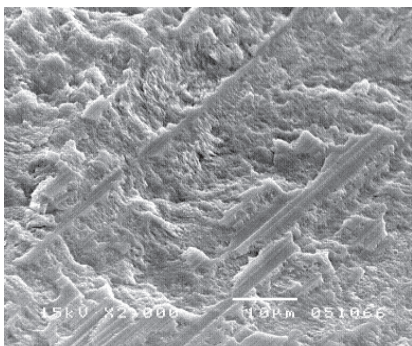


Fig 1. SEM Image of Ground Enamel with EB

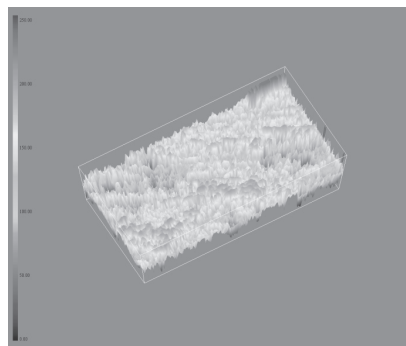


Fig. 2. 3D surface profile of Ground Enamel EB

POs-Ca 配合飲み物のエナメル質酸蝕抑制効果

¹東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野 ²東京医科歯科大学歯学部附属 歯科技工士学校

³江崎グリコ株式会社 健康科学研究所 ⁴歯と骨の GCOE

○美田 瞳¹、北迫 勇一¹、高垣 智博¹、藤井 美恵¹、
池田 正臣²、田中 智子³、滝井 寛³、田上 順次^{1,4}

Addition of Phosphoryl Oligosaccharides of Calcium (POs-Ca) to beverage to eliminate enamel erosion

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate school of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, ²Dentistry School for Dental Technology, Tokyo Medical and Dental University, ³Ezaki Glico Co., LTD., Health Science Laboratory, ⁴Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases, Tokyo Medical and Dental University

○Hitomi Mita¹, Yuichi Kitasako¹, Tomohiro Takagaki¹, Mie Fujii¹
Masaomi Ikeda², Tomoko Tanaka³, Hiroshi Takii³, Junji Tagami^{1,4}

【研究目的】

リン酸化オリゴ糖カルシウム (Phosphoryl Oligosaccharides of Calcium : POs-Ca) は、水溶性が極めて高く、デンタルガム (江崎グリコ株式会社) の再石灰化促進成分として配合されている。一方、近年、飲み物のエナメル質酸蝕に関する研究が数多く報告されているが、その抑制効果を目指す開発ならびに研究報告は少ない。本研究では、POs-Ca を配合した幼児向けりんごジュースのエナメル質酸蝕抑制効果について検討した。

【材料と方法】

抜去牛前歯の歯冠部から、7mm x 7mm x 2mm のエナメル質ブロックを切り出し、唇側面を鏡面研磨して平坦エナメル質面を露出させた後、その四方周囲 2mm 幅をテープで保護して、測定面を 5mm x 5mm に規定した。市販の幼児用 100%りんごジュース 100ml に、POs-Ca 粉末を 0%、0.5%、1%、2%および 5%濃度添加配合した。各種濃度におけるジュースの pH 値を測定後、実験者 5 名にて試飲しての食味評価を行った。その後、エナメル質ブロック試料を各種濃度配合ジュースに 5 分間あるいは 60 分間浸漬し、レーザー顕微鏡 (1LM15, レーザーテック) を用いて浸漬前後のエナメル質表面の粗さ変化について比較検討を試みた。試料数は各群 5 とし、得られた結果は 2 元配置分散分析と、ボンフェローニの調整を使った t 検定を用いて有意水準 5%にて検定を行った。

【結果および考察】

各種濃度 POs-Ca 配合時の pH 値は、いずれも臨界 pH 5.5 以下を示した (0% pH 3.6、0.5% pH 3.7、1% pH 3.8、2% pH 3.9、5% pH 4.1)。また、食味評価の結果、5%配合では、飲み物として適さない食味を示した為、その後の測定対象から除外した。一方、レーザー顕微鏡を用いた表面粗さ測定の結果、5 分浸漬後で POs-Ca 未配合の表面粗さに対し、0.5%配合、1%配合、2%配合で顕著な酸蝕抑制効果を各々示した (いずれも $p < 0.05$) (図 1)。また、0.5%、1%の配合で経時的な表面粗さ変化を認めたのに対し、2%配合では 60 分浸漬後も 5 分浸漬後と同等の表面性状を示した (図 2)。なお、無添加の 0%の条件下では 5 分浸漬状態と 60 分浸漬状態でも共に高い粗さを示し、その表面粗さ程度に有意差はみられなかった。このことから、60 分浸漬後に脱灰抑制効果を得るためには POs-Ca を 2%程度配合することが必要と考えられる。これらの要因として、POs-Ca を配合することで、ジュース内の Ca 濃度が高まり、エナメル質のヒドロキシアパタイトの溶出を抑制したものと推察された。

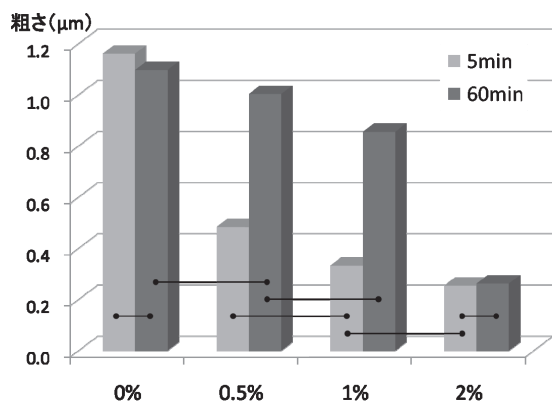


図 1

— : 有意差なし ($p > 0.05$)

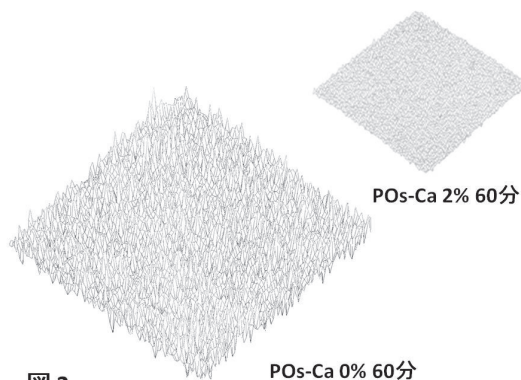


図 2

POs-Ca 0% 60分

POs-Ca 2% 60分

歯面上に成膜したシリカ薄膜の耐摩耗性

神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野,

¹⁾コンタミネーション・コントロール・サービス, ²⁾ミュンヘン大学歯学部

○田中隆博, 山口益司, 進藤豊彦¹⁾, クンツェルマン・カール・ハインツ²⁾, 寺中敏夫

Abrasion resistance of silica film coating on tooth surface

Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine, Kanagawa Dental College

¹⁾ Contamination Control Services, ²⁾ Division of Restorative Dentistry, Dental School of the Ludwig-Maximilians-University

Tanaka Takahiro, Yamaguchi Masuji, Shindo Toyohiko¹⁾, Kunzelmann Karl-Heinz²⁾, Teranaka Toshio

【研究目的】

エナメル質の抗齲蝕性を向上させることは齲蝕予防の観点から重要であり、歯面を水素イオンの透過を遮断できるようなシリカ薄膜でコーティングできれば優れた抗齲蝕性が期待される。我々は、第125回日本歯科保存学会学術講演会にてエナメル質に塗布したペルヒドロポリシラザン (PHPS) に過酸化水素水 (H₂O₂) を滴下し、炭酸ガスレーザーを照射するとシリカ薄膜を形成することができると報告した。本研究の目的は、エナメル質上に成膜したシリカ薄膜の耐摩耗性を評価することである。

【材料および方法】

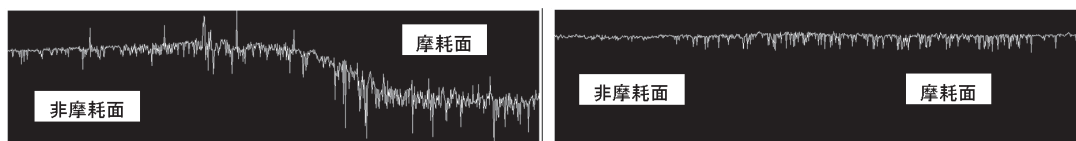
ウシ歯冠部エナメル質 (10×6mm) をモールドに MMA レジン (オストロン; ジーシー) にて包埋後、#2,000 耐水研磨紙および 1μm ダイヤモンドスラリーにて研磨、超音波洗浄を 15 分間行った。コーティング溶液には 10% PHPS 溶液 (NP-110; AZ エレクトロニックマテリアルズ) を用いた。シリカへの転化方法は、エナメル質表面に NP-110 を 2 回塗布、5 分間自然乾燥後、コーティング面を 1 分間 3% H₂O₂ に浸漬して親水化処理を行った。次いで 3% H₂O₂ を滴下し、炭酸ガスレーザー (OPELASER 03S, ヨシダ製作所) を 1.0W, ジャストフォーカス (10mm) で 1 分間照射した。試料を 37°C の蒸留水中に 24 時間保管後、歯ブラシ摩耗試験に供した (n=10)。なお、コントロールはエナメル質の摩耗量とした (n=10)。

摩耗試験は、歯ブラシ摩耗試験機 (TB-6; 大栄科学精器製作所) を用いた。歯磨剤には Crest Pro-Health (Procter&Gamble) を用い、歯磨剤と蒸留水の割合が重量比 1:3 になるように懸濁液を調製した。試料を歯ブラシ摩耗部と非摩耗部の両面ができるようサンプルホルダーに固定し、歯磨剤懸濁液に浸漬した。次いで、毛先が試料に垂直に接するように歯ブラシ (プロスペックヤングハード; ジーシー) を取り付け、荷重 150g, 1 分間に 60 回のストロークにて 10,000 サイクルまで摩耗試験に付した。試験終了後、試料を水洗し、蒸留水中で 15 分間超音波洗浄を行い、エアーシリンジにて乾燥した。摩耗量はカラー 3D レーザー顕微鏡 (VK-9700; キーエンス) にてシリカ膜摩耗面、シリカ膜非摩耗面、エナメル質摩耗面 (コントロール)、およびエナメル質非摩耗面の表面性状の観察と粗さ測定を 2,000 サイクル毎に行った。摩耗量、および粗さの測定は各群 10ヶ所計測した。摩耗量はシリカ膜、エナメル質それぞれの非摩耗面と摩耗面の段差を変化量として評価した。得られた結果から平均値および標準偏差を求め、一元配置分散分析を用いて危険率 5% にて検定を行った。

【結果および考察】

歯ブラシ摩耗 10,000 サイクル後の摩耗量は、シリカ膜摩耗面が 0.17(0.13) μm, エナメル質研磨面が 2.32(0.38) μm を示し、シリカ膜摩耗面はコントロールであるエナメル質研磨面に対し有意に低い摩耗量を示した。図にはエナメル質およびシリカ薄膜の段差プロフィールを示す。

以上より、エナメル質上に成膜したシリカ薄膜は、10,000 サイクルの歯ブラシ摩耗に対しても優れた耐摩耗性を有することが示された。



a) エナメル質

b) シリカ薄膜

図 段差プロフィール

バイオアクティブ修復材料のう蝕象牙質に対する効果

鶴見大学歯学部第一歯科保存学教室

○宮内貴弘, 秋本尚武, 大森かをる, 英 將生, 原 麻由子, 桃井保子

Effect of Bio-active Restorative Materials on Carious Dentin

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○MIYAUCHI Takahiro, AKIMOTO Naotake, OHMORI Kaoru, HANABUSA Masao, HARA Mayuko, MOMOI Yasuko

【研究目的】象牙質う蝕において、う蝕検知液を指標に保存されたう蝕象牙質内層（第二層）は、う蝕原性細菌により一部脱灰されているが、口腔内においては経時的にこの部分が生理的な再石灰化をすることが報告されている。接着治療において、う蝕象牙質内層の生理的再石灰化に加え、修復材料により再石灰化が促進、強化されれば象牙質接着界面の長期耐久性を得ることができると考えられる。そこで本研究では、ヒト抜去大白歯に乳酸およびう蝕原性細菌により人工う蝕象牙質を作製し、様々なイオンを徐放することが知られている S-PRG フィラーを含有した GIOMER 修復材料により修復を行い、修復 7 日および 3 ヶ月後の象牙質接着界面周囲の超微小押し込み硬さ、組成変化および超微構造を詳細に観察し、修復材料による再石灰化の可能性について検証を行ったので報告する。

【材料および方法】ヒト抜去第三大白歯の歯根部をマイクロカッターで解剖学的歯頸線より 3 mm 下で切断し、軟組織および歯髄を除去した。咬合面に直径 3 mm、深さ 3 mm の円柱窩洞を形成し、歯根切断面はコンポジットレジンにて封鎖した。窩洞以外の歯面を表面滑沢硬化材で被覆後、オートクレーブ滅菌を行い実験に用いた。試料は、初めに窩洞内を乳酸 (pH 4) で 48 時間脱灰させた後、 10^9 CFU / mL に調整した *Streptococcus mutans* 菌液を 200 μ L 接種した 20 mL 5% スクロース含有 BHI broth 中に浸漬した。BHI broth は 4 日毎に半量を交換、4 週間 37°C にて振盪培養し人工う蝕試料を作製した。4 週間後、う蝕検知液 (カリエスディテクター, クラレメディカル) で窩洞内を染色し、赤染した象牙質を低速スチールラウンドバーで注意深く除去した。窩洞は、次に示す 2 種類のレジン接着材と修復材料により修復した。すなわち、S-PRG フィラー含有 GIOMER 修復材料として、フルオロボンドシェイクワンおよびビューティフィルフロー (以上、松風、SO 群)。対照群としてクリアフィルメガボンドとクリアフィルマジエスティ LV (以上、クラレメディカル、MB 群) をメーカー指示に従い用いた。修復後、電解質輸液 (ラクテック注、大塚製薬) を用い 15 cm H_2O の静水圧下にて歯髄内圧を再現し、37°C 100% 相対湿度中にて 7 日間および 3 ヶ月間保管した。各保管期間終了後、試料をマイクロカッターで接着界面と垂直になるように近遠心方向に切断し、通法に従い鏡面研磨を行い、硬さ測定用試料とした。硬さの測定は、超微小押し込み硬さ試験機 (ENT-1100a, エリオニクス) を用いて行った。測定荷重は 1mN とし、窩底から 100 μ m まで 5 μ m 間隔で測定後、100 μ m 間隔でさらに 500 μ m までの硬さ測定を行った。なお各測定点では水平方向に 10 点ずつの測定を行い、これら測定点を一部位とし、一歯につき三部位測定を行った。試料数は各群 3 歯とした。硬さ測定により得られた値は、t 検定および一元配置分散分析、Tukey 多重比較 ($\alpha=0.05$) にて統計解析を行い比較検討した。さらに硬さ測定のために半切した試料の残り一対を用い、エネルギー分散型 X 線分析装置 (Genesis, EDAX) による接着界面の元素組成分析および走査電子顕微鏡 (S-4800, HITACHI) による超微構造観察を行った。

【結果および考察】超微小押し込み硬さ試験の結果から、作製した人工う蝕象牙質は接着界面から 100 μ m 付近まで健全象牙質と比較して有意に硬さが低く、乳酸およびう蝕原性細菌により脱灰の影響を受けていることがわかった。3 ヶ月保管後で SO 群と MB 群を比較すると、脱灰の影響を受けている 100 μ m までのすべての測定点において、SO 群は MB 群と比較して高い硬さ値を示した。また SO 群を保管期間で比較をすると、7 日間保管試料と比較して 3 ヶ月保管試料のほうが有意に高い硬さ値を示した。以上の硬さ測定結果から、乳酸およびう蝕原性細菌により作製した人工う蝕象牙質に対し S-PRG フィラー含有修復材料を充填した試料において、接着界面付近の硬さ値が有意に上昇したことから、S-PRG フィラー含有修復材料はう蝕象牙質内層の再石灰化を促進する可能性があることが示唆された。

細胞外リン酸によるヒト歯髄細胞からの bone morphogenetic protein-2 発現誘導

東北大学大学院歯学研究科歯内歯周治療学分野
多田 浩之、根本 英二、金谷 聡介、島内 英俊

Expression of bone morphogenetic protein-2 induced by inorganic phosphate in human pulp cells
Department of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry
Hiroyuki TADA, Eiji NEMOTO, Sousuke KANAYA, Hidetoshi SHIMAUCHI

【緒言】 高い予知性を持った露出した歯髄に対する象牙質再生法の確立は、歯内療法における大きな目標の一つである。さて、リン酸(inorganic phosphate、以下 Pi)は硬組織の構成成分であるばかりでなく、細胞外 Pi が骨形成に関わることが報告されている。例えば、細胞外 Pi の上昇を特徴とする ANK 遺伝子変異マウスでは、セメント質が野生型マウスと比べて約 10 倍肥厚するほか、細胞外 Pi の刺激により Na⁺依存性 Pi トランスポーターである Pit1 を介して骨芽細胞のアルカリフォスファターゼ活性が亢進されることなどが報告されている。象牙質の再生には、象牙芽細胞によるその形成が必要であるが、近年強力な骨形成促進作用を持つ bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) が象牙芽細胞の分化を調節することが明らかにされた。そこで本研究では、細胞外 Pi が歯髄細胞から BMP-2 発現誘導のどのような役割を果たすのかについて *in vitro* で検討した。

【材料と方法】 ヒト歯髄細胞は、インフォームドコンセントを得た抜去歯の歯髄組織を outgrowth 法により単離したものをを用いた。同細胞は 50 μg/ml アスコルビン酸含有 5% FBS 添加α-MEM 培地にて Pi を刺激し、BMP-2 mRNA 発現を real-time 定量性 RT-PCR 法により測定した。また、Pi による BMP-2 遺伝子発現に関わるシグナル伝達機構を解析するため、phosphonoformic acid (PFA, Pit 阻害剤)および mitogen-activated protein kinase (MAPK)ファミリー (ERK, JNK および p38)の選択的阻害剤で細胞を前処理した後に刺激を行った。Pi の刺激による MAPK ファミリー分子のリン酸化はウェスタンブロッティング法によって検出した。

【結果と考察】 ヒト歯髄細胞に Pi を刺激すると、2 日後に 3 mM をピークとした BMP-2 mRNA 発現の増強がみられた。この BMP-2 mRNA 発現の増強は、PFA を前処理すると完全に抑制された。同細胞には構成的な Pit-1 ならびに Pit-2 mRNA 発現がみられたため、Pi による BMP-2 mRNA 発現の増強は Pit を介した Pi の細胞内流入が関与するものと考えられた。また、Pi による BMP-2 mRNA 発現の増強は、actinomycin D (RNA 合成阻害剤)あるいは cycloheximide (蛋白合成阻害剤)を前処理すると抑制されたことから、この増強作用には Pi の刺激による RNA ならびにタンパク質の合成が必須であることが明らかとなった。さらにシグナル伝達機構について検討したところ、Pi の刺激により MAPK のリン酸化が検出された。また、MAPK ファミリー分子である ERK, JNK および p38 のインヒビターを前処理すると、Pi による BMP-2 mRNA の増強作用は消失した。

【結論】 歯髄細胞において、細胞外 Pi は Pit を介して細胞内に流入して、MAPK を介したシグナル伝達機構により BMP-2 の発現が著明に増強されることが見出された。今後、象牙質再生においてリン酸カルシウムを主体とした担体を用いることで、歯髄細胞からの BMP-2 発現の誘導をターゲットとした治療法の基盤となることが期待される。

歯科切削音聴取時の局所脳血流量変化 —多チャンネル近赤外線スペクトロスコピによる検討—

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)
山田朋美, 恵比須繁之

Cortical hemoglobin-concentration changes induced by hearing dental noise in humans
— **Multi-channel near-infrared spectroscopy measures** —
Department of Restorative Dentistry and Endodontology
Osaka University Graduate School of Dentistry
Tomomi Yamada, Shigeyuki Ebisu

[研究目的]

歯科用エアタービンハンドピースの発生音 (以下, タービン音) は歯科診療室の音環境に大きな影響を及ぼしており, 患者に不安感や不快感を与えている。我々は, 歯科における騒音低減デバイスの開発を目指し研究を行っている。これまでに, 歯科切削音には 20kHz の可聴域を超える周波数成分が豊富に含まれるという音響特性を明らかにし, さらに, 可聴域を対象とした心理学的計測を行い, 音響物理パラメータを用いたタービン音による主観的印象予測モデルを考案している。聴力検査の上限周波数は 8kHz までであるが, タービン音に含まれる 8kHz 以上の高周波成分が知覚にどの程度影響しているのか不明である。また, タービン音の聴取は神経生理学的にどのような影響を及ぼすのか検討した報告はない。多チャンネル近赤外線スペクトロスコピ (NIRS) は, 主に大脳皮質の脳血流量変化を捉える検査で, 被験者に対して非侵襲的かつ簡便に測定でき, 時間分解能に優れ, 脳機能の変化を視覚的に捉えられる。今回, 我々は, 成人および若年者を対象として, タービン音聴取中の脳血流量変動を多チャンネル NIRS により比較検討したので報告する。

[対象および方法]

被験者は, 成人および若年者 (52 歳から 7 歳) の 6 名のボランティアを対象とした。はじめに, 高周波域の知覚を確認するため, 音響編集ソフトを用いて, 4kHz, 8kHz, および 10kHz から 20kHz まで 1kHz 毎の純音を作成した。純音はオーディオインターフェイスを介し被験者左右両耳の高さに設置したスピーカより再生した。被験者または研究者が音量ダイヤルを操作し知覚の可否を判定した。その後, 脳機能測定を行った。測定は光トポグラフィ装置 (日立メディコ, ETG-4000) を用い, 前頭部および両側頭部 48 チャンネルを計測した。呈示する音として, 人工歯 (Nisshin, A20-500) を切削した時のタービン音 (原音) および音響編集ソフトにより 17kHz 以上の周波数成分のみ抜粋し作成したタービン音を用いた。さらに比較のため, オルゴール音を準備した。被験者がスピーカより示される音を 5 秒間聴取することを課題 (タスク) とし, 20 秒のレストを設定した。本実験では, 1/4 インチマイクロホンおよび騒音解析装置を用いて 20kHz までの周波数域においても問題なくスピーカから再生できることを事前に確認して用いた。

実験に用いた音圧レベルおよび呈示時間は安全性に十分配慮したものである。本研究は, 大阪大学歯学研究科倫理審査委員会の承認を得ており, すべての被験者および保護者には十分な説明を行い, 書面による同意を得て実施した。

[結果]

純音による設定音圧における聴力調査では, 40 代, 50 代の 2 名は 14kHz で, 16 歳は 18kHz でスケールアウトした。14 歳以下 3 名はいずれも 20kHz まで知覚できた。すべての被験者において, 原音のタービン音聴取時に比較的広い範囲で血流の増大が認められた。一方, 17kHz 以上の周波数成分のみとしたタービン音の聴取では, 成人は主観的に知覚できず, 大脳皮質の脳血流においても変化は認められなかったが, 若年者では血流の増大が認められた。

[考察および結論]

タービン音聴取時に大脳前頭野および側頭野が活性化することが示された。若年者においては, 成人では知覚できない高周波帯域まで含んだタービン音を知覚していることを明らかとした。大脳前頭野は認知や快不快に関与すると考えられている。若年者は, 心理的に幼いためだけではなく, 歯科切削音の大きさや鋭さをより強く知覚することにより, 歯科治療に対する不安や不快を感じやすいのではないかと推測する。

参考文献 山田朋美: 歯科医療機器から発生する超高周波音, 日本音響学会誌, 65 (1), 52-57, 2009