

紫外線照射による象牙質の機械的強度変化の多面的解析

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)

○古谷 優, 林 美加子, 恵比須 繁之

Analysis of mechanical properties of human dentin with UV irradiation.

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

○Yu Furuya, Mikako Hayashi, Shigezumi Ebisu

【研究目的】 日常臨床で遭遇する失活歯の歯根破折を防ぐために、様々な観点から検討がなされてきており、象牙質の強化もその一つに挙げられる。我々は、ヒト象牙質の機械的強度が加熱や紫外線照射により著しく増加することを発見し、紫外線による強化について本学会第 131 回学術大会にて報告した。今回、象牙質の微少領域における紫外線照射による機械的強度変化を分析すると同時に、破壊靱性を評価し、興味ある知見を得たので報告する。

【材料および方法】 う蝕および破折のないヒト抜去第三大臼歯の歯冠中央部より、 $0.9 \times 1.6 \times 8.0$ mm の棒状試料および厚さ 1.0 mm の円盤試料を低速精密切断機 (ISOMET2000, BUEHLER) を用いて採取し、HBSS に浸漬した状態で保管した。紫外線照射は、LED 紫外線照射装置 (ZUV-C30H, オムロン) を用いて、波長 365 nm、出力 1600 mW/cm²、照射時間 15 分の条件で行った。紫外線照射による微少領域での機械的強度の変化は、ナノインデンテーションによって評価した。先端半径 100 nm のベルコピッチチップを装着した微少押込み試験器 (Nano Indenter SA2, エムティエスジャパン) を用いて、円盤試料における紫外線照射前後での押込み硬さおよび弾性係数を、室温大気中にて荷重 10 μ N の条件で測定した。さらに原子間力顕微鏡 (Nanoscope Dimension 3100, Digital Instruments) による 20000 倍の画像上で、象牙細管の中心から測定点までの距離を計測し、押し込み硬さおよび弾性係数との関係を分析した。破壊靱性の評価では、棒状試料の上面に低速精密切断機で深さが厚みの約 1/3 のノッチを形成し、万能試験機 (AUTOGRAPH AG-IS, 島津製作所) にて片持ち梁曲げ試験に供した。得られた破面から実体顕微鏡観察にてノッチ深さを求め、次式より破壊靱性値 (以下 K 値, MPa \sqrt{m}) を求めた。 $K = S \sqrt{(a\pi)F(a/b)}$, $F(a/b) = 1.112 - 0.231(a/b) + 7.33(a/b)^2 - 13.08(a/b)^3 + 14.0(a/b)^4$
S: 曲げ強さ (MPa), a: ノッチ深さ (m), b: 試料厚み (m)

得られた結果は、二元配置分散分析法および Scheffe' s F 法にて有意水準 95% で検定した。

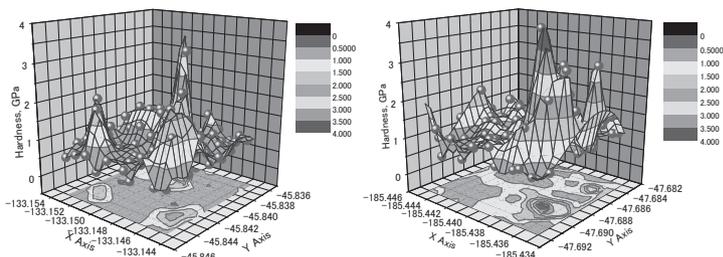
【結果および考察】 ナノインデンテーションの結果より、管周象牙質は紫外線照射前後で押し込み硬さおよび弾性係数に変化が認められないものの、管間象牙質では照射前後で押し込み硬さが 0.81 ± 0.03 GPa から 1.10 ± 0.05 GPa へ、弾性係数が 21.89 ± 0.69 GPa から 26.83 ± 0.95 GPa へと有意に増加していた ($p < 0.05$)。コラーゲンを多く含有する管間象牙質が選択的に強化されたことより (下図)、紫外線照射によってコラーゲンの物性が向上する変化が生じたものと考えられる。紫外線照射前後の K 値は、コントロール群では 1.50 ± 0.08 MPa \sqrt{m} であったのに対し、照射群では 1.94 ± 0.20 MPa \sqrt{m} であり、紫外線照射にて象牙質の破壊靱性は低下しないことが分かった。

(本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金 (基礎研究 (A) 19209060) の補助の下に行われた)

【参考文献】 Hayashi *et al.*, Heat treatment strengthens human dentin. *J Dent Res* 2008, 87(8) 762-6.

Hayashi, Furuya *et al.*, Effects of rehydration on dentin strengthened by heating or UV irradiation. *J Dent Res* 2010, 89(2) 154-8.

紫外線照射前(左)後(右)での硬さの変化
(ナノインデンテーションの 1 例)
管間象牙質に相当する 0~1GPa 付近が
選択的に強化されている。



フッ化物濃度が歯根面の耐酸性に及ぼす影響

¹日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座
²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
○新海航一¹、平 賢久²、鈴木雅也¹、加藤千景¹、加藤喜郎¹

Effect of varying fluoride concentrations on inhibition of root surface demineralization

¹Department of Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
²Advanced Operative Dentistry · Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
○SHINKAI Koichi¹, TAIRA Yoshihisa², SUZUKI Masaya¹, KATO Chikage¹, KATOH Yoshiroh¹

【目的】

露出歯根面の臨界 pH は乳歯と同程度に高いといわれ、高齢者において根面齲蝕の罹患率が高い一因と考えられる。フッ化物塗布やレーザー照射はエナメル質の脱灰を抑制することが報告されているが、それらのセメント質あるいは象牙質に対する脱灰抑制効果の詳細はほとんど知られていない。フッ化物塗布、炭酸ガスレーザー照射あるいは両者の併用はエナメル質と同様に根面象牙質に対しても耐酸性を向上させるものと予想される。今回はまずフッ化物濃度が歯根面の耐酸性に及ぼす影響についてヒト抜去歯を用いて検討した。

【材料と方法】

グレーシー型スケーラーを用いて歯根全体のルートプレーニングを行った後、セメントエナメル境から約 2mm 根尖寄りの位置で頬舌方向に切断したヒト抜去小白歯の歯根を実験に供した (20 歯)。近心あるいは遠心の歯根面に正方形のマスキングテープ (3×3mm) を切断面から約 2mm の位置に貼付し、歯根全体に Protect Varnish[®] (Kuraray Medical) を塗布、乾燥させてからさらにネイルバーニッシュを塗布した。乾燥後、テープを除去し、各種濃度 (2.0、0.2、0.05%) に調整したフッ化ナトリウム液を正方形窓内に各々応用した。各フッ化ナトリウム液の応用時間と方法は 2% : 5 分間塗布 (実験群 1)、0.2% : 50 分間の液中浸漬 (実験群 2)、0.05% : 200 分間の液中浸漬 (実験群 3) とした。なお、フッ化ナトリウム液を応用しない群をコントロールとし、5 歯ずつ 4 実験群を設けた。pH サイクリングは、pH4.7 に調整した脱灰溶液 (0.05M 酢酸、2.2mM CaCl₂、2.2mM KH₂PO₄) と pH7.0 に調整した再石灰化溶液 (0.02M HEPES、3.0mM CaCl₂、1.8mM KH₂PO₄) を用いて行い、「脱灰 18 時間⇒精製水による水洗 5 分間⇒再石灰化 6 時間⇒精製水による水洗 5 分間」のサイクルを 2 回繰り返した。pH サイクリング終了後、Isomet[®] (Buehler) にて試料を約 250μm の厚さで歯軸に対して垂直に切断して薄切切片を作成した。さらに砥石法にて #2000 まで研磨し、最終的に約 120μm の厚さに調整した。1 歯から 3 枚の薄切切片を作製し、各実験群につき 15 枚の切片を得た。ガラス乾板 (High Precision Photo Plate[®], Konica Minolta) 上に切片を密着させ、コンタクトマイクロラジオグラフィ撮影装置 (S-11, Softex) を用いて加速電圧 7kV、加速電流 3mA、照射時間 20 分間の条件下で CMR 撮影を行った後、プレートを現像・定着・水洗して CMR 画像を得た。光学顕微鏡を用いて脱灰層を観察 (×200) し、CCD カメラでデジタル画像を撮影した。汎用画像解析ソフトウェア (Image-Pro Express[®], Planetron) を用いて脱灰深さ (μm) を測定した。実験群間の統計学的有意差 (p<0.05) は、一元配置分散分析を行った後に Bonferroni post hoc test により検定した。

【結果ならびに考察】

各実験群における脱灰深さの測定結果 (平均値 ± 標準偏差) を下表に示す。

	実験群 1 (2.0%NaF)	実験群 2 (0.2%NaF)	実験群 3 (0.05%NaF)	コントロール
脱灰深さ (μm)	28.5 ± 5.3	32.2 ± 7.4	39.8 ± 6.8	46.7 ± 6.9

統計分析の結果、実験群 1 と実験群 2 の間を除いた各実験群の間に統計学的有意差を認めた (p<0.05)。すなわち、脱灰深さにおいて 2% フッ化ナトリウム液を 5 分間応用した実験群 1 と 0.2% フッ化ナトリウム液を 50 分間応用した実験群 2 の間には有意差は認められなかった (p>0.05) が、それら以外の実験群の間に有意差が認められた。したがって、歯根面に対するフッ化ナトリウム液の応用は脱灰抑制効果があることが判明したが、フッ素濃度によりその効果が異なり、洗口剤に含まれる低濃度のフッ素濃度 (225ppm) では応用時間を長くしても歯根面の耐酸性を向上させる効果は薄いものと推察される。

本研究の一部は、平成 21 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 (A) : No.21249091) の助成を受けて行われた。

ワンステップボンディング材の象牙質に対する薄膜接着強度

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学
○日下部修介, 村田雄基, 福田隆光, 小竹宏朋, 堀田正人

Thin film adhesion strength of one-step bonding agents to human dentin

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

○KUSAKABE Shusuke, MURATA Yuki, FUKUDA Takateru, KOTAKE Hiroto, HOTTA Masato

【研究目的】

現在、ボンディング材の接着の評価として剪断や引張り接着強さが多く用いられている。この方法は、接着面の破壊強度を数値によって表すことができるという利点がある。しかし、接着の破壊は基本的に機械的強度の一番弱い部分あるいは欠陥が存在する部分から生じるため、被着体破壊も起こることがあり、測定値はレジンや歯質自体の機械的強度が大きく影響している。したがって、ボンディング材の界面部における接着強さ、真の接着力が正確に測定できないという欠点がある。一方、薄膜接着強度試験は鋭利な圧子を被着面に押し付けながら滑らせ、被膜に損傷や剥離を生じさせ、押し込み荷重の度合で被膜の接着性を評価することができるものであり、ボンディング材と歯質との界面部における接着を評価することが可能と考えられる。そこで今回、ワンステップボンディング材を用いて象牙質に対する薄膜接着強度試験を行い、薄膜接着強度と引張り接着強さとの関連について検討したので報告する。

【材料および方法】

1. 供試材料

本実験には、ワンステップボンディングシステムのビューティボンド (松風, 以下BB)、ボンドフォース (トクヤマデンタル, 以下BF)、イージーボンド (3M ESPE, 以下EB)、クリアフィルトライエスボンド (クラレメディカル, 以下TB) を使用した。

2. 薄膜接着強度試験

ヒト新鮮抜去大白歯の歯冠中央部を精密低速切断機 (Isomet, Buehler) で歯軸と垂直方向に切断し、切断面を耐水研磨紙#600まで研磨し、平坦な象牙質面を作製した。この象牙質面にワンステップボンディング材を塗布し、照射をメーカーの指示通りに行い、硬化させたものを試料とした。なおボンディング材による薄膜は約50 μ m以下の厚さになるよう調整した。この試料体を24時間、37 $^{\circ}$ C大気中にて保管後、AEセンサー付自動スクラッチ試験機 (CSEM Instruments) により半径200 μ mのダイヤモンド製ロックウエルIndenterで0.03~10.0Nの荷重、移動スピード5.245mm/minで、試料体に長さ約7mmのスクラッチを行い、ボンディング材を剥離させた時の荷重を測定した。各ボンディング材に対して10回測定し、各々の荷重の平均値を求めた。得られた値は、一元配置分散分析と多重比較検定schefféを用いて有意差検定 ($p < 0.05$) を行った。

3. 引張り接着強さ試験

ヒト新鮮抜去歯を用い、歯冠部象牙質を研削、露出させ、平坦な象牙質面を作製し耐水研磨紙#600まで研磨した。この面に各ボンディング材をメーカーの指示どおりに処理後、クリアフィルAP-X (A3, クラレメディカル) をボンディング処理歯面に固定したテフロンモールド (上底3.0mm, 下底6.0mm, 深さ7.0mm) に2mmの深さまで填入し、メーカーの指示どおりに照射して硬化させた。24時間、37 $^{\circ}$ C蒸留水に浸漬後、万能試験機イージーグラフ (島津製作所) にてクロスヘッドスピード0.25mm/minで引張り接着強さ試験を行った。各ボンディング材に対して10回測定した。得られた値は、一元配置分散分析と多重比較検定Schefféを用いて有意差検定 ($p < 0.05$) を行った。

【結果および考察】

1. 薄膜接着強度試験

各ボンディング材の平均薄膜接着強度と標準偏差を図1に示す。BBとBF、BFとEBおよびBFとTBとの間に有意差が認められた。

2. 引張り接着強さ試験

各ボンディング材の平均引張り接着強さと標準偏差を図2に示す。BBとBF、BFとEB、BFとTBおよびEBとTBとの間に有意差が認められた。

3. 相関分析

薄膜接着強度と引張り接着強さに相関係数0.82で強い正の相関があり直線的関係が認められた。

以上より、薄膜接着強度試験は、ボンディング材の接着の評価をする方法として有用である可能性が示唆された。

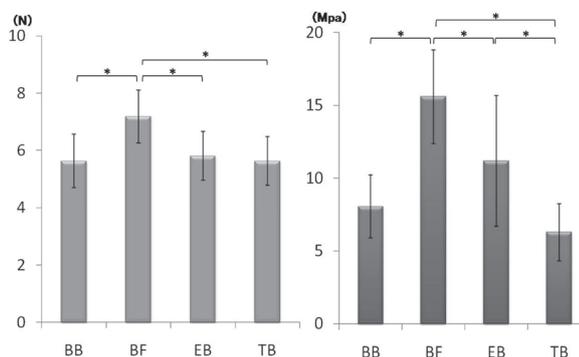


図1 薄膜接着強度試験の結果 (*: $p < 0.05$)

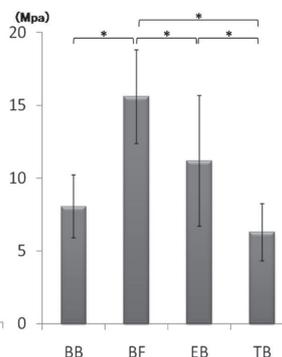


図2 引張り接着強さ試験の結果 (*: $p < 0.05$)

浸漬溶液の違いがサーマルサイクル負荷後の象牙質接着強さに及ぼす影響

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野
中田 貴、塩出 信太郎、山路 公造、西谷 佳浩、吉山 昌宏

The effect of difference of solutions on dentin bond strengths after thermal cycling

Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
Department of Operative Dentistry
Takashi Nakata, Shintaro Shiode, Kouzou Yamaji, Yoshihiro Nishitani, Masahiro Yoshiyama

【緒言】

我々はこれまで PCR サーマルサイクラーを用いたサーマルサイクル負荷試験に関して報告した(Nakata T *et al.*, Dent Mater J. 2007)。この実験方法は従来型と比較して負荷を行う際の浸漬溶液が少量であり、水以外の溶液で行うことができる特徴がある。コンポジットレジンを用いた接着修復において、その界面の劣化は物理的な負荷を除くとレジンの加水分解や MMP による象牙質のコラーゲン繊維の分解に起因するとの報告がなされている。そこで本研究では浸漬する溶液として加水分解の影響の少ない Mineral oil や MMP 阻害剤 (CTT および GM6001) を用い、サーマルサイクル負荷を行い浸漬溶液の違いが接着強さの低下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】

接着システムとして 1 ステップセルフエッチングシステムの Tri-S BOND (Kuraray Medical) を本研究に用いた。ヒト抜去大白歯の歯冠象牙質をモデルトリマーおよび #600 の耐水研磨紙を用い、流水下で 30 秒間研磨し平坦な被着象牙質表面を作製した。各接着システムはメーカー指示通りに象牙質に歯面処理を施し、コンポジットレジン (AP-X shade A3, Kuraray Medical) を被着面より高さ 4mm になるよう積層し光照射 (JETLITE 3000, J. Morita USA) した。試料を 37°C の水中に 24 時間浸漬させた後、接着界面に垂直で断面が 1×1 mm の角柱にトリミングした。得られた試料は 5°C, 60 秒, 55°C, 60 秒を 1 サイクルとするサーマルサイクルを 20000, 40000 回行った。PCR サーマルサイクラーを用いたサーマルサイクルは、角柱試料を PCR チューブ内の 50μl の各溶液に浸漬し、PCR サーマルサイクラー (C1000, BIO-RAD) に上記の条件をプログラムしサーマルサイクル負荷を行った。浸漬溶液として蒸留水、MMP-2, MMP-9 の特異的阻害剤である CTT (50 μM, Enzo Life Sciences)、広範な MMP 阻害剤である GM6001 (25 μM, Enzo Life Sciences)、Mineral Oil (nacalai tesque) の 4 種を用いた。また比較対照としてサーマルサイクルを行わず、37°C の水中に 24 時間浸漬した試料も作製した。サーマルサイクル負荷後、角柱試料の微小引張り接着強さを測定した (n=10)。得られたデータは一元配置分散分析ならびにダネット法を用いて統計学的検定を行った ($p < 0.05$)。

【結果および考察】

微小引張り接着強さの結果を表に示す。水中浸漬しサーマルサイクル負荷を行った場合、回数依存的に、微小引張り接着強さの平均値は低下し、40000 回の負荷で比較対照と比して有意差を認めた。CTT, GM6001 に浸漬しサーマルサイクル負荷を行った場合、負荷回数依存的に接着強さの平均値は低下したものの統計学的有意差は認めなかった。Mineral oil に浸漬しサーマルサイクル負荷を行った場合、接着強さはほとんど低下しなかった。サーマルサイクル負荷後の試験前破壊 (PMF) は水中浸漬し、サーマルサイクル 40000 回で 3 本認められ、その他の条件下では認められなかった。本研究で用いた MMP 阻害剤である CTT および GM6001 に浸漬したサーマルサイクル負荷後の接着強さは、接着強さは低下したものの水中浸漬の場合よりも低下は緩徐であった。さらに加水分解の影響のない Mineral oil に浸漬したサーマルサイクル負荷後は接着強さの低下はほとんど認められなかった。サーマルサイクル負荷による接着強さの主な要因は、熱膨張係数が異なるため温度変化による界面剥離によって劣化することが考えられる。本実験の結果より、加水分解の影響の少ない条件や MMP 阻害剤によってサーマルサイクル負荷による接着強さの低下を緩徐にすることができる可能性が示唆された。

表 各種の溶液に浸漬したサーマルサイクル負荷後の象牙質接着強さ

	24h	Distilled water		CTT		GM6001		Mineral oil	
		20000	40000	20000	40000	20000	40000	20000	40000
Mean (MPa)	38.45	22.77	18.23*	37.96	30.41	36.73	31.59	39.44	37.82
SD	7.59	17.65	19.61	17.95	13.69	20.22	14.94	17.82	28.06
PMF	0	0	3	0	0	0	0	0	0

* コントロール群と比較した有意差を示す

ブロメライン酵素とオレンジオイルの併用による齲蝕除去歯面に対する接着性の評価

¹昭和大学歯科病院歯内治療科 ²昭和大学歯学部歯科保存学講座 ³昭和大学歯学部歯科理工学講座
○山田嘉重¹、増田宜子¹、川中岳雄¹、真鍋厚史²、久光久²、藤島昭宏³、宮崎隆³

Evaluation of bonding ability after caries removal by using in combination with a Bromelain enzyme and orange oil

¹Department of Clinical Endodontology, School of Dentistry, Showa University

²Department of Clinical Cariology, School of Dentistry, Showa University

³Department of Oral Biomaterials and Technology, School of Dentistry, Showa University

○YAMADA Yoshishige¹, MASUDA Yoshiko¹, KAWANAKA Takao¹, MANABE Atsufumi²
HISAMITSU Hisashi², FUJISHIMA Akihiro³ MIYAZAKI Takashi³

(目的)

近年の齲蝕治療において歯質の除去を最小限に収めるミナマルインターベンション(MI)は重要な要素と考えられるようになってきている。MIを遂行するための手段として薬液を使用して齲蝕除去を遂行する物理—化学的齲蝕除去法がこれまで報告されている。現在次亜塩素酸ナトリウムを主成分とするカリソルブが主流であるが、我々は第131回歯科保存学会において、パイナップルに含まれるブロメライン酵素とオレンジオイルを主成分とした薬液(BO 試薬)が齲蝕除去に有効であることを報告した。本薬剤は天然成分を主要成分としているため患者には安全な薬剤であると考えられる。そのためこれら薬剤による齲蝕除去は、通常のダイヤモンドバーによる齲蝕除去に対する恐怖症の患者や、歯科治療に非協力的な小児患者等の処置に対して危険性の少ない安全な方法であると推察される。しかしその様な患者にはボンデング前の窩洞内の防湿が十分に行えない可能性が考えられる。そのため本研究では歯面の乾燥状態がBO試薬処理後の窩洞面とコンポジットレジンとの接着性に影響を与えるかを乾燥、湿潤環境条件下にて様々なボンデング剤を使用して検討した。

(実験方法)

本研究では隣接面に齲蝕を有する抜去歯35本を使用した。試薬塗布前に齲窩に接しているエナメル質を除去した後、BO試薬にて齲蝕除去、EDTA製剤(スマアクリン)にて1分間前処理水洗した後、21本は気銃を用いて窩洞内を乾燥状態にし、残りの14本は水洗後に乾燥綿球で表面を一層ふき取りただけに留めて窩洞内の水分が充分除去されずに湿潤状態になるように再現した。乾燥状態の21本は7本ずつ3グループに分類し、1液性のセルフエッチングプライマー配合のボンデング剤で処理をおこなった。グループ1はボンドフォース(トクヤマ)、グループ2はクシーノV(デンツプライ)、グループ3はAQボンド(サンメディカル)を用いてボンデング後コンポジットレジン(エステライトΣクイック:トクヤマ)にて窩洞内を充填した。残りの試料も7本ずつの2グループに分類し、グループ4にはアブソリュート2(デンツプライ)、グループ5にはフルオロボンドシェイクワン(松風)を使用した。これらの2つのボンデング剤は窩洞内が充分に乾燥されていない湿潤環境下においても接着性の影響を受け難いとされており窩洞内が湿潤している条件のグループ4、5に対して使用した。その後はグループ1~3と同様にコンポジットレジンにて窩洞内を封鎖した。全てのグループはコンポジットレジン充填終了後、5℃、55℃を1サイクルとして1万回サーマルサイクリングを行い辺縁漏洩試験を行った。辺縁漏洩試験終了後、縦断方向に分割して歯質—コンポジットレジン間の辺縁漏洩状態を実体顕微鏡にて観察した後各試料の接着面の微細構造を走査型電子顕微鏡(SEM)にて観察した。

(結果)

辺縁漏洩試験の結果では、歯面が乾燥状態でボンデング、コンポジットレジン充填を行ったグループ1、2、3において殆どの試料に辺縁漏洩は認められなかった。また歯面が湿潤状態のグループ4、5においてもグループ1~3と同様に辺縁漏洩は殆ど認められなかった。SEMによる観察では、歯面とレジンの接着部位はすべてのグループにおいて良好な接着状態を示していた。

(考察)

本研究結果よりBO試薬を使用した齲蝕除去法は1液性のセルフエッチングプライマーを用いたボンデングの接着性を阻害しないことが確認された。さらに辺縁漏洩試験の結果より、窩洞内が湿潤の条件下でもボンデング剤の選択と使用法の厳守により窩洞内が乾燥している条件と近似した結果を得ることが可能なことも確認された。これらのことより本法は口腔内の乾燥を維持することが困難な小児や通常の歯科診療が困難な患者などに対して齲蝕除去・コンポジットレジン充填を行う上で安全かつ有用な方法の候補に成り得るものと期待される。しかし今後はより多くのサーマルサイクリングの条件における検討や、長期使用時の接着性の減少の有無や程度などに対する検討も必要であると思われる。

SS-OCT を用いた脱灰象牙質の検出に関する検討

- 1) 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
- 2) 国立長寿医療センター先端医療部口腔機能再建科
- 3) 歯と骨のGCOE

○夏目悠子¹⁾ 島田康史¹⁾ 中嶋省志¹⁾ Sadr Alireza^{1, 3)} 角保徳²⁾ 田上順次^{1, 3)}

In vitro study on detection of dentin demineralization by SS-OCT

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

Division of Oral and Dental Surgery, Department of Advanced Medicine, National Hospital for Geriatric Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology

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

○Yuko NATSUME, Yasushi SHIMADA, Shoji NAKASHIMA, Alireza SADR, Yasunori SUMI, Junji TAGAMI

【研究目的】

SS-OCT (Swept-Source Optical Coherence Tomography) により、従来のう蝕診断機器ではできなかった病巣の断層画像が得られることから、これまでにない新しいう蝕の診断 (う蝕の侵襲程度、脱灰・再石灰化に関する経時変化) システムとしての臨床応用が期待されている。そこで本研究では、SS-OCT を用いた根面う蝕の診断技術の確立を目指す基礎実験として、牛歯根面に人工象牙質う蝕を形成させ、脱灰の進行過程と SS-OCT 画像の変化との関連性、および SS-OCT 画像から脱灰深さを客観的に推定する解析法について検討した。

【材料及び方法】

牛歯の根面象牙質片 (約 2×4×2mm) を作製し、これらについて脱灰前の SS-OCT (Santec OCT-2000®, Santec, 波長 1330nm) 断層画像を撮影した。次いで、37°C 下で脱灰液 (50mM 酢酸緩衝液、pH4.5 群と pH5.0 群、各群 n=8) に浸漬した。1, 2, 4, 7 日間後にこれら脱灰歯片を取り出し、同一脱灰歯片について SS-OCT 画像を経時的に取得した。一方、7 日間脱灰した歯片を約 300 μm の厚さの薄片とし、光学顕微鏡にて組織学的脱灰深さを計測した。7 日間後の SS-OCT 画像については、脱灰最前線 (下図参照) と推定される境界 (dB として表示される反射強度の低下した部位) が認められたことから、画像分析ソフト (Image J) を用いて SS-OCT 画像の断面プロファイル (dB vs 深さ) を作成し、組織学的脱灰深さ (真値) を推定する解析法を検討した。

【成績】

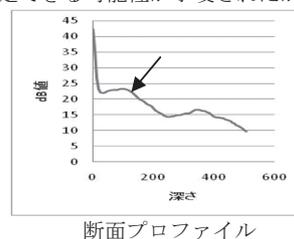
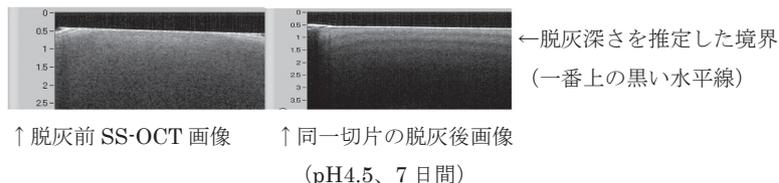
- 1) 脱灰期間が進むに伴い、SS-OCT 画像では最表層での反射強度が高まり、脱灰最前線 (下図参照) と推定される境界が見られた。この状態は、断面プロファイルにおける深さ方向に対する dB 値の変化 (肩) で確認できた (下図の→で表示)。またこの肩は pH4.5 群で顕著であった。さらに、pH4.5 の断面プロファイルでは 2 つの極大値が、また pH5.0 では単調な右肩下がりが認められる場合が多かった。これは OCT 画像上でも確認できた。
- 2) 個々の歯片について、組織学的病巣深さ (pH4.5 で 249±28 μm、pH5.0 で 153±19 μm) に対応する断面プロファイル上での座標 (Y 軸: dB 値、X 軸: 深さ) で dB 値 (深さ対応値) を求めたところ、pH4.5 群では 11.3~19.2、pH5.0 群では 11.1~19.8 で、ほぼ同じ値であった。また同座標近傍に明瞭な変曲点が認められる場合とそうでない場合とが存在した。

【考察】

脱灰期間が進むに伴う SS-OCT 画像上での変化および断面プロファイルの特徴から、SS-OCT 法にて脱灰深さが推定できる可能性が示唆された。一方、断面プロファイルを用いた解析に関して、深さ対応値 (dB 値) に関して、pH4.5 と 5.0 ではほぼ同じ分布と平均値を示した。このことが、SS-OCT 画像上で脱灰深さを推定していく上で何を意味するか、今後検討を加えていく考えである。

【結論】

SS-OCT により、象牙質脱灰過程の経時変化が画像化でき、その脱灰深さを推定できる可能性が示唆されたが、断面プロファイルによる客観的推定には、課題が残された。



細胞外リン酸は Pit および ERK1/2 を介してヒト歯髄細胞から BMP-2 を誘導する

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、島内 英俊

Phosphate-dependent regulation of BMP-2 in human pulp cells: Role of Pit and ERK1/2
Department of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of
Dentistry

Hiroyuki Tada, Eiji Nemoto, Hidetoshi Shimauchi

【緒言】 露出した歯髄に対して、象牙質再生を行って歯髄を保護することは歯内療法における大きな目標の一つであるが、その分子メカニズムはいまだ十分に明らかにされていない。細胞外リン酸(inorganic phosphate、以下 Pi) および細胞外カルシウム (以下 Ca^{2+}_0) は、共に硬組織の構成成分であるばかりでなく、一次メッセンジャー分子としても骨形成に関わることが広く注目されている。象牙質は分化した象牙芽細胞により形成されるが、同細胞の分化は強力な骨形成促進作用を持つ bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) により調節されることが明らかにされている。我々は第 131 回秋季学術大会において、Pi をヒト歯髄細胞に刺激すると、BMP-2 mRNA 発現が増強されることを報告した。そこで本研究では、Pi または Ca^{2+}_0 を歯髄細胞に *in vitro* にて刺激した際の BMP-2 発現誘導の分子メカニズムについて検討した。

【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から outgrowth 法により単離した。Pi 刺激は $NaH_2PO_4 \cdot H_2O + Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ を用いて、また Ca^{2+}_0 刺激は $CaCl_2$ を用いて 50 $\mu g/ml$ アスコルビン酸含有 α -MEM 培地にて細胞に添加した際の BMP-2 タンパクおよび BMP-2 mRNA 発現について、ELISA 法および定量性 RT-PCR 法により測定した。Pi または $CaCl_2$ の刺激による BMP-2 遺伝子発現に関するシグナル伝達機構を解析するため、phosphonoformic acid (PFA, Pit 阻害剤)、nifedipine (Ca^{2+} channel 阻害剤)、MDL12330A (アデニル酸シクラーゼ (AC) 阻害剤)、H-89 (protein kinase A (PKA) 阻害剤)あるいは PD98059 (MAP kinase ERK1/2 阻害剤)を前処理した後に Pi あるいは $CaCl_2$ を刺激した。また、Pi または Ca^{2+}_0 刺激による ERK1/2 のリン酸化は、western blotting 法にて検出した。

【結果と考察】 1) Pi を歯髄細胞に刺激すると、BMP-2 mRNA 発現および BMP-2 タンパクの生産が増強された。この増強作用は、PFA の前処理により完全に抑制された。Pi 刺激により Pit1 mRNA 発現が増強されたことから、Pi による BMP-2 mRNA 発現の増強には、Pit1 を介した Pi の細胞内流入が関与することが示唆された。加えて、Pi を刺激すると細胞内 cAMP 濃度の上昇がみられた。そこでシグナル伝達機構について検討した結果、AC および PKA 阻害剤を前処理すると、Pi による BMP-2 mRNA の増強作用は消失した。また、Pi 刺激により ERK1/2 のリン酸化が検出され、ERK1/2 阻害剤を前処理すると、Pi により誘導される BMP-2 mRNA は著明に減少した。

2) $CaCl_2$ を歯髄細胞に刺激すると、Pi と同様に BMP-2 mRNA 発現が増強された。次にシグナル伝達機構について検討したところ、 $CaCl_2$ による BMP-2 mRNA 発現の誘導は nifedipine の前処理により部分的に抑制された。加えて、 $CaCl_2$ 刺激により ERK1/2 のリン酸化が検出され、ERK1/2 阻害剤を前処理すると BMP-2 mRNA 発現の誘導は著減した。しかしながら、歯髄細胞ならび歯根膜細胞は CaSR を発現していないことから、 Ca^{2+}_0 による BMP-2 mRNA 発現の誘導は、CaSR 以外の受容体が関与することが示唆された。

以上の結果から、歯髄細胞において Pi は Pit1、AC-PKA および ERK1/2 を介して、一方 Ca^{2+}_0 は Ca^{2+} channel および ERK1/2 を介して BMP-2 発現の誘導を増強させることが明らかにされた。

【結論】 歯髄細胞において、Pi または Ca^{2+}_0 により著明に BMP-2 発現が誘導されることが見出された。今後象牙質再生において、リン酸カルシウム製剤を主体とした担体を用いた歯髄細胞からの 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。

MMP-3 はイヌ一部性歯髄炎モデルにおいて歯髄治癒を促進する

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座 *国立長寿医療センター研究所口腔疾患研究部
江場 久哲 中島 美砂子* 庵原 耕一郎* 松下 健二* 中田 和彦 中村 洋

MMP-3 accelerates dental pulp healing in a partial pulpitis model in the dog

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
Laboratory of Oral Disease Research, National Institute For Longevity Sciences,
National Center For Geriatrics and Gerontology

Eba Hisanori, Nakashima Misako*, Iohara Koichiro*, Matsushita Kenji*, Nakata Kazuhiko, Nakamura Hiroshi

【研究目的】

私どもは、以前の報告(第127回日本歯科保存学会)で、MMP-3は歯髄幹細胞に高発現し、血管内皮細胞に対して増殖・遊走促進およびアポトーシス抑制効果を有し、ラットの生活歯髄切断モデルにおいて歯髄創傷治癒促進作用があることを明らかにした。しかしながら、歯髄炎におけるMMP-3の効果は明らかにされていない。したがって、本研究では、歯髄炎におけるMMP-3の歯髄治癒促進作用を明らかにする目的で、イヌ一部性歯髄炎モデルを作製し、MMP-3を露髄面に塗布し、経時的に形態学的解析を行った。すなわち、MMP-3の抗炎症作用、血管・神経再生・基質形成促進作用及び象牙芽細胞分化促進作用について、免疫組織化学的検討を行った。

【材料と方法】

- 一部性歯髄炎モデル作製：イヌ9-10ヶ月齢の雌(体重8-9Kg)において全身麻酔を施した後、上下顎左右小白歯部に生活歯髄切断を行った。その後、切髄面を洗浄し、完全止血後、下記のような処置を行った。
 - ①24時間及び72時間そのまま開放。
 - ②Lipopolysaccharide (LPS)適用：10mg/ml LPSを0.5 μ l滴下し、72時間作用。
 - ③PAM3適用：10mg/ml PAM3を0.5 μ l滴下し、72時間作用。LPS、PAM3適用群に対しては切髄面に圧がかからないようにして止血用ゼラチンスポンジを置き、窩洞をセメント及びレジンにて完全封鎖した。通法に従ってパラフィン切片を作製し、H-E染色後、形態観察を行い、最適な一部性歯髄炎モデルの検討を行った。
- MMP-3適用：MMP-3(100 μ g/ml)0.5 μ lを断髄面へ直接滴下し、止血用ゼラチンスポンジを置き、セメント及びレジンにて窩洞を完全封鎖した。1日、3日、7日、14日及び28日にそれぞれ抜歯し、通法に従って縦断面の5 μ mパラフィン切片を作製した。コントロール群としては、生理食塩水を用いた。
- 組織学的検討：H-E染色にて形態学的染色を行い、MMP-3の抗炎症作用を検索するためにCD68及びMHC Class IIにて免疫組織化学的染色を行った。さらに、BS1-lectin染色にて血管新生を、PGP9.5の免疫染色にて神経再生を検討し、基質形成については、マッソントリクロム染色を行った。
- 分子生物学的検討：イヌEnamelysinアンチセンスプローブにてin situハイブリダイゼーションを行った。

【結果】

イヌ生活歯髄切断直後では歯髄切断面に出血及び歯髄変性を認め、切断面下において好中球を主体とする炎症性細胞が認められた。歯髄開放24時間後には炎症性細胞浸潤が切断面より根管歯髄の1/3程度まで波及し、72時間後には1/2程度にまで波及した。LPSおよびPAM3適用群では歯髄全体に炎症もしくは壊死が拡大した。以上のことから、24時間開放が一部性歯髄炎モデルとして適切であることが示唆された。

さらにMMP-3を歯髄炎モデルに応用すると、3日目で次第に炎症の消退がみられ、7日目で血管が新生され、14日目で歯髄再生、神経再生がみられ、28日目で上部に基質形成あるいは象牙質形成がみられた。一方、コントロール群では歯髄全体に重度の炎症と壊死が認められた。

【結論】

以上のことから、イヌ一部性歯髄炎モデルにMMP-3を適用すると、炎症が抑制され、血管・神経再生、歯髄再生、基質形成、さらには象牙芽細胞分化が促進されることにより、歯髄炎が治癒する可能性が示唆された。

ラット実験的歯髄炎により惹起される中枢性感作
—視床のNMDARの機能に関する検索—

1 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
2 グローバルCOEプログラム; 歯と骨の分子疾患科学の国際教育拠点
3 東京医科歯科大学歯学部附属病院 総合診療科 クリーンルーム 歯科外来
○河村 隼^{1,2}, 金子友厚¹, チョックチャナチャイサクン ウライワン^{1,2}, 砂川光宏^{1,3}, 金子実弘¹, 須田英明^{1,2}

Central Sensitization Caused by Rat Experimental Pulpitis
—Retrieval Concerning Function of Thalamic NMDAR—

1 Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences
2 Global Center of Excellence (GCOE) Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases
3 Clean Room, University Hospital, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
○KAWAMURA Jun^{1,2}, KANEKO Tomoatsu¹, CHOKECHANACHAISAKUL Uraivan¹, SUNAKAWA Mitsuhiro^{1,3}, KANEKO Mitsuhiro¹, SUDA Hideaki¹

(目的)

私達は、これまでにラット臼歯歯髄刺激に対し応答性を示す歯髄駆動ニューロンを内側視床核群の内側背側(MD)核内に同定した。さらに、神経興奮性物質である mustard oil (MO) を歯髄に適用し実験的に歯髄刺激を起こすと、このMD核内歯髄駆動ニューロンの応答性の増強が生じ、中枢性感作が生じることを報告した。そこで本研究では、視床の歯髄駆動ニューロンにおける N-methyl-D-aspartate receptors (NMDAR) の関与を確認するため、MO を歯髄に適用し中枢性感作が生じた視床における NMDAR mRNA 発現を、分子生物学的手法を用いて検索した。

(方法)

実験には、10週齢の雄性 Sprague-Dawley 系ラットを用いた。

1. 生理学的検索

上顎左側第一臼歯に MO を適用して、実験的に歯髄炎を起こし、中枢性感作を生じさせた。NMDAR の視床における役割を検索するため、NMDAR 非競合的拮抗薬である MO-MK801 を、MO 適用 10 分後、MD 核内に直接投与した。視床 MD 核における歯髄駆動ニューロンのスパイク発射の記録は、MO 適用 60 分後まで行った。

2. 分子生物学的検索

健常時 (コントロール)、上顎左側第一臼歯に MO 適用 10 分後、MO-MK801 投与 2 分後 (MO 適用 12 分後) の視床組織をそれぞれ左右別々に摘出し、通常に従い RNA を抽出後、NMDAR mRNA の発現を RT-PCR 法により検索した。

(結果)

1. 生理学的検索

MO 歯髄適用による歯髄駆動ニューロンの応答性は、MO 適用前と比較して有意に増大した。また、MO 適用により増大した歯髄駆動ニューロン応答性は、視床 MD 核への MK-801 投与後、有意に減少した。

2. 分子生物学的検索

MO 適用 10 分後、正常時の視床と比較して、右側視床における NMDAR の mRNA の発現増加が観察された。MD 核内へ MK-801 を投与すると、投与 2 分後 (MO 適用 12 分後) には、MO 適用 10 分後と比較して右側視床における NMDAR mRNA の発現の減少が観察された。一方、左側視床における NMDAR の mRNA の発現は、全ての観察時点において、健常時と比較して有意な変化は認められなかった。

(考察および結論)

MO の歯髄適用による中枢性感作を生じた視床において、NMDAR mRNA の発現増加が認められた。しかし、NMDAR 非競合的拮抗薬の投与によって、歯髄駆動ニューロンの応答性は減少し、さらに、この中枢性感作により増加した NMDAR mRNA も、拮抗薬の投与により減少した。以上の結果より、視床における歯髄駆動ニューロンの応答性と左側視床における NMDAR mRNA 発現との間に相関が認められたことから、視床における中枢性感作の調節に NMDAR が関与している可能性が示唆された。

根管内の高精度診断を目指したイメージファイバー観察システムの検討

1. 九州歯科大学齲蝕歯髄疾患制御学分野, 2. 早稲田大学大学院情報生産システム研究科,
3. 九州歯科大学総合診療学分野, 4. 九州歯科大学感染分子生物学分野

吉居 慎二¹, 柳 永植², 北村 知昭¹, 寺下 正道³, 西原 達次⁴, 植田 敏嗣²

Root Canal Observing System Using Image Fiber for High Accuracy Diagnosis

1. Div. of Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, Kyushu Dental College, 2. Graduate School of Information, Production and Systems, Waseda University, 3. Div. of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College, 4. Div. of Infections and Molecular Biology, Kyushu Dental College
YOSHII Shinji¹, LIU Yongzhi², KITAMURA Chiaki¹, TERASHITA Masamichi³, NISHIHARA Tatsuji⁴, UEDA Toshitsugu²

【研究目的】現在の歯内治療では、歯の解剖学的形態の複雑さに起因する微細根管や破折等を歯科用顕微鏡で高精度に検出することが可能である。しかしながら、根管側面に存在する側枝や破折等は高倍率の歯科用顕微鏡を用いても検出が難しい。3次元断層撮影が可能な歯科用コーンビームCTも存在するが直接観察しながら治療を行うことはできない。今回、歯の内部、根尖歯周組織および歯周ポケット内に存在する微細構造を高解像度で検出する新しい診断装置の開発を目的として微細径のイメージファイバーの特性、環境の影響、および側方観察装置の検討を行った。

【材料および方法】微細径イメージファイバー、ライトソース、イメージシステム、モニターおよび観察試料台微調整装置を使用した。イメージファイバーはフジクラ製グレーデッドインテックス型マルチモードファイバー(FIGH-03-215S, FIGH-06-300S, FIGH-15-480S, FIGH-10-500N)を、観察試料としてはガラス表層にクロムをスパッタリング後、格子線上に線の幅と線間隔が等しくなるように Focused Ion Beam (FIB) を用いて線を描いたものを使用した。次に環境の影響を検討するため、空気中・蒸留水中(屈折率:n=1.33)の2条件で観察対象物とファイバーとの距離を0 μ mから330 μ mまで10 μ m間隔で離していき Matlab により画像のピンぼけの度合いを数値化し各距離における屈折率の違いによる解像度の差を検討した。さらにファイバーによる側方観察のため、FIGH-15-480S, コーンミラー, 側方観察用観察試料および LED ライトを使用した装置を作成した。コーンミラーは外径 500 μ m, 先端角 45 度の円錐状のステンレスを用いた。観察試料はアクリル板に直径 500 μ m の半円柱状の溝を作成し、クロム, 金を合わせて 50nm の厚さにスパッタリング後, FIB にて溝部に幅 50 μ m あるいは 100 μ m で格子線上になるよう加工したものを用いた。装置は観察試料溝部にコーンミラーおよびコーンミラー先端にファイバーを接地し配置することで LED からの光が金属を蒸散したスペースから出てコーンミラーに反射しファイバーに光が入り画像を得られるようにした。得られた画像を補正するため Matlab により画像を展開しコーンミラーに反射する前の画像に近い画像を得るようにした。

【結果】各ファイバーの特性を解明するため対物距離 0 μ m の状態で line/space: 1~6 μ m の観察試料画像を取得後, $R(\text{コア半径})=0.332L(\text{コア間距離})$ という式から, ファイバー固有の開口径 NA, コア間距離 L, コア半径 R から焦点距離を求め, 各ファイバーの特性が得られた。次にファイバーによる観察時の環境として空気中・蒸留水中の各条件下で, 観察対象物とファイバーとの距離を 10 μ m 間隔で離していき観察試料の画像を取得後, 屈折率の違いによる解像度の差を検討したところ, FIGH-15-480S で line/space: 100 μ m の試料を観察した場合に, 蒸留水中では空気中よりも解像度が向上し同程度の画像を得るのに, 空気中で対物距離 280 μ m, 水中で 330 μ m まで離すことができ対物距離を最大 50 μ m 延長できた。さらに, 作成した側方観察用実験装置により, アクリル板に作成した line/space: 50 μ m あるいは 100 μ m で格子線上に加工した試料を観察したところ, 最も画素数の高い FIGH-15-480S で line/space: 100 μ m の試料を蒸留水中で観察したときのみピンぼけ画像が得られた。

【考察】今回, 歯の内部, 根尖歯周組織, および歯周ポケット内に存在する微細構造を高解像度で検出する新しい診断装置を開発することを目的として, イメージファイバーの特性・屈折率の差による解像度を比較するとともに, イメージファイバー・コーンミラーを用いての側方観察モデルの作成を行った。イメージファイバーの焦点距離では根管内で鮮明な画像を取得するのは難しいため, 今後, 性能を改善する必要があることが示唆された。

【結論】高解像度イメージを得るためには環境を考慮したイメージファイバーの性能改善が必要である。

歯髄幹細胞を用いた抜髄後歯髄再生のタンパク化学的解析による証明

¹⁾ 国立長寿医療センター研究所 口腔疾患研究部

²⁾ 愛知学院大学 歯学部 小児歯科学講座

³⁾ 愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座

今林貴代美¹⁾、庵原耕一郎¹⁾、石坂亮^{1,2)}、江場久哲^{1,3)}、松下健二¹⁾、中村洋³⁾、中島美砂子¹⁾

Proteomic analysis of regenerated pulp after whole pulp removal by transplantation of dental pulp stem cells

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

²⁾ Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University

³⁾ Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University

Kiyomi Imabayashi¹⁾, Koichiro Iohara¹⁾, Ryo Ishizaka^{1,2)}, Hisanori Eba^{1,3)}, Kenji Matsushita¹⁾, Hiroshi Nakamura³⁾, Misako Nakashima¹⁾

【研究目的】

私共の研究室では、抜髄後の根管内に歯髄幹細胞を移植すると、歯髄に類似した組織が再生されることを形態学的に示した(本学会にて、庵原口頭発表)。しかしながら、完全に歯髄組織が再生されたことを証明するための、歯髄特異的のマーカーはいまだ同定されていない。また、歯髄組織の系統的なタンパク化学的解析もいまだ報告されていない。近年、質量分析計の技術革新およびタンパク質・核酸配列データベースの充実により、タンパク質を大規模解析する「プロテオミクス」研究が急速に進展しつつある。このプロテオミクスにより歯髄のタンパク質を網羅的に解析できる可能性がある。そこで、本研究では再生された歯髄様組織と正常歯髄のタンパク質スポットの発現パターンを二次元電気泳動法により比較し、さらにプロテオーム解析を行い、再生された組織がタンパク化学的に歯髄であることを証明することを目的とする。

【材料と方法】

1. サンプル採取: イヌ(ビーグル、メス、7~8月齢)の前歯部(上下左右2番および3番)の根管内に歯髄 CD105 陽性細胞を移植後1ヶ月の再生歯髄様組織、正常歯髄組織および歯根膜組織を摘出した。

2. タンパク質抽出: 組織を細切後、マイクロホモジナイザーを用いて抽出液(6M 尿素、1.97M チオ尿素、2% (w/v) CHAPS、64.8mM dithiothreitol、2% (v/v) Pharmalyte (pH3-10、GE)) 中にてホモジナイズし、さらに超音波破碎を5分間行った。遠心(15,000rpm、15分、4℃)後、上清のタンパク質抽出液を回収した。

3. 二次元電気泳動(クールホレスター二次元電気泳動システム、anatech): Immobiline DryStrip (pH4-7、18cm、GE) にサンプルのタンパク質をアプライし、等電点電気泳動(定電圧、32時間)を行った。12.5% SDS-ポリアクリルアミドゲル(20cm×20cm)を用いて、SDS-PAGE(定電流、25mA/gel 15分の後、30mA/gel 5.5時間)を行った。

4. 染色および撮影・ゲル解析: フラミンゴゲル染色(BioRad)し、ゲルを撮影(フルオロホレスター、anatech)後、各組織のタンパク質スポットのパターンの違いを画像解析した(Progenesis、nonlinear dynamics)。

5. ゲル内酵素処理およびペプチド精製: 歯根膜組織には発現せず、再生歯髄様組織および正常歯髄組織のみに発現したスポットを切り出し、トリプシンにてゲル内のタンパク質を消化し、ZipTip (Millipore) にて精製した。

6. 質量分析、プロテオーム解析: Finnigan LCQ Advantage MAX (Thermo Fisher Scientific) を用いて質量分析を行い、データベースと照合して、タンパク質を同定した。

【結果】

再生歯髄様組織は正常歯髄組織のスポットパターンと非常に類似していたが、歯根膜組織とはかなり異なっていた。再生歯髄様組織および正常歯髄組織の両者に共通して認められたスポットは123個(85.4%)、再生歯髄様組織のみに認められたスポットは14個(9.7%)、正常歯髄組織のみに認められたスポットは7個(4.9%)であった。再生歯髄様組織のみに認められたスポットについてタンパク質解析を行ったところ、転写制御因子のひとつである MORC family CW-type zinc finger 2 などを同定した。

【考察】

再生歯髄様組織および正常歯髄組織を二次元電気泳動法によりタンパク質スポットの発現パターンを比較・解析したところ、検出したスポットのうち85%が同一のタンパク質であり、両者は非常に類似した特徴を有していることが示唆された。一方、歯髄組織と歯根膜組織ではスポットの発現パターンが大きく異なり、二次元電気泳動法は、組織の同一性を検討するのに有効であることが示唆された。また、質量分析により、再生歯髄様組織のみに認められたスポットから MORC family CW-type zinc finger 2 などを同定したが、組織再生に特異的に関与すると考えられるタンパク質は認められなかった。今回解析した再生歯髄様組織は歯髄 CD105 陽性細胞を移植後1ヶ月経過しており、歯髄として成熟したため、組織再生に特異的なタンパク質が検出されなかったと推察される。

【結論】

本研究により、再生歯髄様組織および正常歯髄組織の両者はタンパク化学的に酷似していることが示され、再生歯髄様組織が歯髄組織であることが証明された。

軽度の熱刺激は象牙芽細胞様細胞の熱耐性を向上させる

¹九州歯科大学齶蝕歯髓疾患制御学分野, ²総合診療学分野, ³福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野
○諸富孝彦^{1,3}, 鷲尾絢子¹, 北村知昭¹, 寺下正道², 阿南 壽³

Heat Tolerance of Odontoblast-like Cell is Enhanced by Mild Heat Stress.

¹Division of Pulp Biology, Operative Dentistry, and Endodontics, ²Division of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College.

³Section of Operative Dentistry and Endodontology, Fukuoka Dental College.

○ MOROTOMI Takahiko^{1,3}, KITAMURA Chiaki¹, TERASHITA Masamichi², and ANAN Hisashi³.

【研究目的】

生活歯の窩洞形成は歯科臨床上日常的に行われる処置であるが、この際に生じる熱刺激は象牙質-歯髓複合体に傷害を引き起こすことが広く知られている。歯髓保存の観点から、熱刺激に対する歯髓細胞の耐性を向上させることは臨床上有意義である。これまでに我々は、象牙芽細胞様細胞株 (KN-3 細胞) が 43°C、45 分間の熱刺激に対して熱耐性を有し、刺激後も増殖能や象牙質形成能を維持し続けることを報告した。今回、我々は致死的な熱刺激に対する耐性を歯髓細胞に獲得させることを目的として、mild heat stress を事前に加えることによる KN-3 細胞が示す熱耐性の変化について検討した。

【材料および方法】

KN-3 細胞を培養ディッシュに播種後、10%ウシ胎仔血清添加培地 (α -MEM) を用いて 37°C、5%CO₂ 条件下で培養した。細胞がサブコンフルエントに達した後、KN-3 細胞を 41°C で 5 日間培養し、MTS 法による細胞数の推移と FACS による細胞周期の変化を確認した。次に、41°C の mild heat stress (Mild Heat) 条件下における細胞内の熱刺激タンパク (HSPs) やアルカリフォスファターゼ (ALP) 発現の変化を、RT-PCR 法および Western Blotting 法を用いて確認した。

さらに、Mild Heat を 1 時間-12 時間加えた後 (Pre-heat)、恒温器内に静置したアルミブロック上で 46°C、10 分間の熱刺激 (Severe Heat) を加え、細胞数の変化を MTS 法により確認した。コントロール群には 41°C による Pre-heat を加えず、Severe Heat のみ加えた。

【結果】

KN-3 細胞を 5 日間 Mild Heat 条件下で培養した際、細胞増殖能は有意に低下した。FACS による解析により、41°C 培養 24 時間後では Sub G1 期の細胞増加が認められた。一方、41°C で 1 日および 3 日間培養した後に 37°C の培養条件に戻すと、KN-3 細胞は再び活発な増殖を開始した。FACS においても細胞周期の正常化が確認された。

次に、KN-3 細胞に 46°C、10 分間の Severe Heat を加えたところ細胞は死滅した。一方、Severe Heat の直前まで Pre-heat を与えると、3 時間までの Pre-heat ではコントロールと比較し差を認めなかったものの、12 時間の Pre-heat を加えた群では、有意に細胞の生存能の向上が確認された。

Pre-heat の間における HSPs の mRNA 発現は、RT-PCR 法により熱刺激開始後 3 から 6 時間の間に増加のピークが確認された。一方、Western Blotting において HSPs の発現は 12 時間後まで増加を認めた。ALP の mRNA 発現は pre-heat 開始後 24 時間まで差を認めなかった。

【考察】

41°C の熱刺激に対しては、KN-3 細胞は細胞周期を停止するものの増殖能は回復可能であること、41°C で pre-heat を長時間加えることにより致死的な熱刺激に対する KN-3 細胞の熱耐性が上昇すること、さらに短時間の mild pre-heat は KN-3 細胞の熱耐性に影響を及ぼさないことが示された。以上の結果は適切な温度・時間による pre-heat や他の方法による HSPs 発現誘導が、窩洞形成時の発熱による象牙質-歯髓複合体への刺激を減弱させる可能性を示唆している。

【結論】

象牙芽細胞様細胞株である KN-3 細胞は、mild heat stress により致死的な熱刺激への熱耐性が上昇する。

歯周組織再生に用いられる間葉系幹細胞の比較

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座¹
産業技術総合研究所セルエンジニアリング部門組織・再生工学研究グループ²
○加藤智崇^{1,2} 沼部幸博¹

Comparison of various mesenchymal stem cells involved application of periodontal regeneration
Nippon Dental University school of life dentistry at Tokyo Department of Periodontology¹
National Institute of Advanced Industrial Science and Technology²
○Tomotaka Kato^{1,2} Yukihiro Numabe¹

【緒言】

歯周組織再生において、骨髄、脂肪および歯根膜由来間葉系幹細胞（以下、BMSCs、ADSCs およびPDLSCs）の細胞治療が検討されている。しかし、これら間葉系幹細胞の個々における有用性は報告されているが、間葉系幹細胞間の性質を同一条件で比較検討した報告は少ない。今回我々は、歯周組織再生に向けたBMSCs、ADSCs およびPDLSCsの有用性を比較検討した。

【材料および方法】

雄性Fischer344ラット12週齢より大腿骨、鼠径部脂肪および上下顎臼歯を採取し、ドナーが同一であるBMSCs、ADSCs およびPDLSCsを樹立した。これら間葉系幹細胞の初代培養を用いて*in vitro*および*in vivo*実験を行った。

In vitro

増殖能（BrdU取り込み量）、表面抗原（FACS解析）、骨分化能（Alizarin染色、ALP染色、ALP活性及びCa取り込み量、Osteocalcin量、Rt-PCR）、を比較検討した。骨分化能は分化誘導群（dexamethasone添加）、非誘導群（dexamethasone非添加）の2群で2週間細胞培養を行った。

In vivo

φ5×2mmのハイドロキシアパタイト多孔体にBMSCs、ADSCs、PDLSCsを播種させ、雄性Fischer344ラット12週齢の背部皮下に移植。6週後に回収し、μCTおよび組織切片を作成した。

【結果】

In vitro

増殖能ではBMSCs、ADSCsがPDLSCsより高い所見が得られた。表面抗原において各細胞共にCD29、CD90陽性でCD45陰性の細胞が多数であった。骨分化能において、分化誘導群では、BMSCsが最も骨分化能が高く、PDLSCsも一定の骨分化能が観察された。また、PDLSCsは非分化誘導群も骨分化能を有していた。

In vivo

BMSCsが最も新生骨の添加が多く認められ、PDLSCsも一定の新生硬組織が観察された。

【考察】

骨分化誘導群においてBMSCsは高い骨分化能が得られ、PDLSCにおいても一定の骨分化の所見が得られた。またPDLSCsは非誘導群でも骨分化能を有する所見を得られた。これらの結果よりBMSCsおよびPDLSCsは歯周組織再生に向けた細胞治療において有用であることが示唆された。

研究協力者 服部耕治 大串始

(産業技術総合研究所セルエンジニアリング部門組織・再生工学研究グループ)

試作ティートリーオイル含有洗口液の抗菌効果

北海道医療大学 歯学部口腔生物学系微生物学分野¹, 大学病院総合歯科診療科²,
歯学部口腔機能修復・再建学系歯周歯内治療学分野³, 个体差医療科学センター⁴
○植原 治^{1,2}, 宮川博史¹, 藤田真理¹, 中塚侑子³, 鎌口有秀¹, 古市保志³, 川上智史^{2,4}, 中澤 太¹

The antibacterial effect of the mouth wash containing tea tree oil

Department of Oral Biology, Division of Microbiology, School of Dentistry¹, Division of General Dentistry, University Hospital²,
Department of Oral Rehabilitation, Division of Periodontology and Endodontology, School of Dentistry³,
Institute of Personalized Medical Science⁴, Health Sciences University of Hokkaido
○UEHARA Osamu^{1,2}, MIYAKAWA Hiroshi¹, FUJITA Mari¹, NAKATSUKA Yuko³, KAMAGUCHI Arihide¹,
FURUICHI Yasushi³, KAWAKAMI Tomofumi^{2,4}, NAKAZAWA Futoshi¹

【研究目的】

ティートリーオイル (TTO) を含有する新規の洗口液を試作した。TTOは、フトモモ科植物Tea Treeの葉から蒸留した天然精油でその優れた消毒・殺菌作用などにより、英国およびオーストラリアにおいて医薬品への使用が承認され、新国際標準化機構 (ISO) 規格に登録されている。また、芳香作用にも優れ、米国を中心としてアロマセラピーや化粧品、入浴剤、洗剤などへの応用も進んでおり、日本では食品添加物として承認されている。TTOは、天然由来成分による安全性とともに、殺菌作用や抗炎症作用等の複合的な作用によりプラークの沈着、歯周炎および口臭の予防を期待できる。今回は、試作したTTO含有洗口液を用いin vitroにおける口腔微生物に対する抗菌効果および生体細胞に対する細胞傷害性について検討したので、その成績を報告する。

【材料および方法】

1. 供試液：試作TTO含有洗口液 (株式会社モリタ東京製作所より提供)、市販洗口液 (0.05%クロルヘキシジングルコン酸塩含有)、生理食塩液 (0.9%NaCl, 大塚製薬株式会社) を用いた。
2. 供試菌株および培養条件： *Agreggatibacter actinomycetemcomitans* (ATCC 29522株), *Fusobacterium nucleatum* (JCM 6328株), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277株), *Prevotella intermedia* (ATCC 25611株), *Streptococcus mutans* (Ingbritt株), *Streptococcus sobrinus* (NIDR 6715株), *Candida albicans* (2S2株) の口腔微生物7菌種を用いた。また、*C. albicans* は好気培養、それ以外は嫌気培養 (80%N₂, 10%H₂, 10%CO₂) を行った。
3. 方法
 - (1) 供試液の抗菌効果の測定：前培養した各菌体を集菌、洗浄し、菌液濃度を約 1.0×10^7 cfu/ml (*C. albicans*は、 1.0×10^6 cfu/ml) に調整した。各供試液の2段階希釈系列に播種、24~72時間培養し、最小発育阻止濃度 (MIC) の測定を行った。それらの菌を寒天培地に播種、培養し、最小殺菌濃度 (MBC) の測定も行った。測定は独立に3回行った。
 - (2) 各供試液の抗菌効果に及ぼす処理時間の影響：同様に調整した菌液をチューブに分注し集菌後、供試液を1, 2, 5分間作用させ、集菌、洗浄し10倍希釈系列を用い寒天培地に播種し、培養後の生菌数を測定した。測定は独立に3回行った。
 - (3) 細胞傷害性の検討：96ウェルマイクロタイタープレート上で培養したヒト歯肉線維芽細胞 (HGF, 1.0×10^4 cells/well) に供試液を1, 2, 5分間作用させ、細胞増殖活性の影響をWST-1試薬 (タカラバイオ社製) で測定した。なお、使用したHGFは、倫理委員会の承認と患者の同意が得られている講座保有株である。
 - (4) 統計分析：統計解析にはSPSS16.0J for Windowsを用い、Mann-WhitneyのU検定で統計分析を行った。

【成績および考察】

試作洗口液群と市販洗口液群間において、7菌種すべての抗菌効果のMICとMBCの濃度差に統計学的な有意差が認められた ($p < 0.05$)。また、*C. albicans*以外の1, 2, 5分処理した6菌種で、試作洗口液群と市販洗口液群間の生菌数の差に統計学的な有意差が認められた ($p < 0.05$)。一方、HGFの細胞増殖活性で、試作洗口液群と市販洗口液群間の吸光度の差に統計学的な有意差は認められなかった。

【結論】

試作 TTO 含有洗口液は、細胞傷害性も市販洗口液と同程度であり、検討した種々の口腔微生物に対して優れた抗菌効果を有することから、本試作洗口液の臨床応用への有用性が示唆された。

【追記】

現在、TTO 由来の種々の成分について、その口腔内応用に関する特許を申請中である。(特願 2009-184093)

ハワイ在住日系人の歯科検診結果報告 —米国型ライフスタイルが口腔状況に及ぼす影響—

広島大学大学院・医歯薬学総合研究科・健康増進歯学分野¹・歯周病態学分野²
○峯岡 茜¹、荒川 真¹、長谷川直彦²、栗原英見²、西村英紀¹

Report on Dental Check-up in Hawaii—Effects of U.S. life-style on dental status—
¹Department of Dental Science for Health Promotion, ²Department of Periodontal Medicine,
Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University

○Akane Mineoka, Makoto Arakawa, Naohiko Hasegawa, Hidemi Kurihara, Fusanori Nishimura

【目的】

近年、う蝕および歯周病の発症にはライフスタイルが影響すると言われている。しかしその影響を具体的に検証できる集団は多く存在しない。

米国ハワイ州には多くの日系人が居住しており、全人口の約 17%を占める。またその遺伝的素因は日本人と近いと考えられる。ゆえに現地での口腔状況が日本のものと異なれば、その原因はライフスタイルが影響した可能性が高い。そこで同州最大の面積をもつハワイ島において歯科検診を実施し、その結果を日本在住者対象のものと比較、検討することにより、ライフスタイルが口腔状況に及ぼす影響を検証することを目的とした。

【方法】

2007年7月から8月にかけて、本学所属の歯科医師4名による歯科検診を実施した。

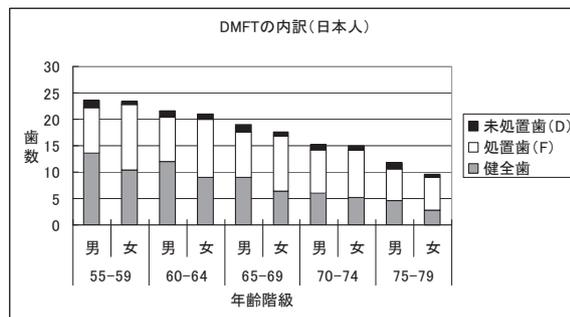
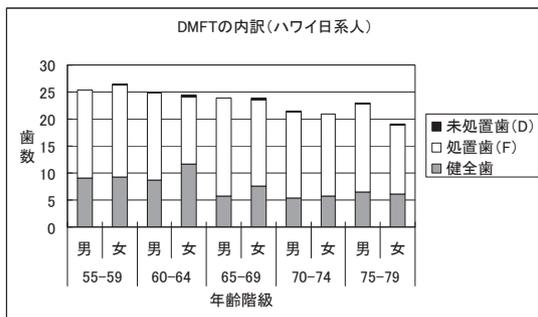
- 1) 被験者：ハワイ島在住の日系人計 260 人（男性 102 人、女性 158 人）
- 2) 評価項目：①年齢 ②性別
- 3) 診査項目：①歯式を含む DMF index（1人当たり平均本数）、②CPI（1人平均分画数、個人最大コード）、③アタッチメントロス

得られた結果は、2005年厚生労働省歯科疾患実態調査における日本の結果と比較、検討した。また本検診と同時に、口腔内状況に関するアンケートを実施した。

【結果および考察】

日本人と比較において、ハワイ在住日系人では以下の結果が得られた。

- ・未処置歯(D)および喪失歯(M)は少ない。（*特に、未処置歯（≒う蝕）は大幅に少ない。）
- ・処置歯(F)/残存歯率が高い。
- ・歯周疾患係数（CPIコード3以上）の割合が低い。



遺伝的素因が類似していると考えられる集団間において、以上のような調査結果が得られた。

日本人に比べ日系人は生活習慣の欧米化が早期に進行しておりメタボリックシンドロームの罹患率が高い。にもかかわらずう蝕、歯周病罹患率は低い。また、アンケートにより日系人は予防意識が高く、被験者の8割以上が年2~3回の定期的な歯科受診を実践していることが判明した。これが、う蝕および生活習慣病の一つである歯周病に対する早期発見、早期治療をもたらし、結果的に良好な口腔状況の実現に寄与している可能性がある。

【結論】

ハワイ在住日系人と日本人との比較調査により、ライフスタイルが口腔内状況に影響を及ぼす可能性が示唆された。

先進医療「歯周外科治療におけるバイオ・リジェネレーション法」の治療成績

¹東京医科歯科大学歯学部口腔保健学科口腔健康推進統合学講座口腔疾患予防学分野, ²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, ³東京医科歯科大学グローバルCOEプログラム 歯と骨の分子疾患科学の国際教育拠点

○塩山秀裕¹, 水谷幸嗣², 田中敬子², 青山典生², 藤原香², 須田智也², 木下淳博¹, 和泉雄一^{2,3}

Examination of advanced dental technology with EMDOGAIN[®] gel in periodontal regeneration therapy

¹Section of Preventive Oral Health Care Science, Department of Oral Health Care Promotion, School of Oral Health Care Sciences, Faculty of Dentistry, ²Section of Periodontology, Department of Hard Tissue Engineering, Graduate School, ³Global Center of Excellence (GCOE) Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases, Tokyo Medical and Dental University

○Hidehiro Shioyama¹, Koji Mizutani², Keiko Tanaka², Norio Aoyama², Kaori Fujiwara², Tomonari Suda², Atsuhiko Kinoshita¹, Yuichi Izumi^{2,3}

【研究目的】

東京医科歯科大学歯学部附属病院では、2007年10月に先進医療として「歯周外科治療におけるバイオ・リジェネレーション法」が厚生労働省より認可された。本先進医療ではエムドゲイン[®]ゲルを使用すること、実施歯科医師が日本歯周病学会専門医であることが施設基準となっている。本研究の目的は、先進医療として行われたエムドゲイン[®]ゲルによる歯周組織再生治療の臨床成績を評価することである。

【材料および方法】

2007年11月から2008年11月までに東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病外来を受診し、先進医療の実施に同意した患者70名87症例にエムドゲイン[®]ゲルを用いた歯周外科治療を行った。術前に全身疾患の有無や喫煙歴に関する医療面接、プロービングポケット深さ(PPD)とクリニカルアタッチメントレベル(CAL)の測定、デンタルエックス線検査を行った。術中には明視下にて骨欠損サイズの計測を行った。術後1年に術前と同様の検査を行った。

実施された症例は定期的なサポータティブペリオドンタルセラピー(SPT)が行われた。術後1年の検査が可能であった症例のうち、術前と経過観察時エックス線写真が比較可能な22名29症例について、PPDおよびCALの変化の評価、ならびにエックス線学的な組織再生量の測定を行った。エックス線写真の読影は日本歯周病学会専門医1名と認定医2名によって行われた。臨床検査およびエックス線学的評価の統計学的分析はpaired *t*-testにて有意水準5%で行った。

【結果】

対象患者の平均年齢は54.6歳で、男性5名、女性17名であった。術前の平均PPDは6.0mm、CALは7.1mmであった。また、7症例には分岐部病変が存在し、その半数以上が下顎大臼歯Ⅱ度の分岐部病変であった。エックス線学的には、平均骨欠損深さは5.7mmで、骨欠損が歯軸となす角度は平均33.5度であった。術中所見として明視下にて計測された骨欠損は平均深さ4.8mmで、三壁性欠損は6症例、二壁性欠損が14症例であった。

術後1年の平均PPDは3.1mm、CALは5.0mmであり、術前と比べて統計学的有意なPPD、CAL値の改善が認められた。29症例中25症例でCAL獲得がみられ、平均で2.2mmのCAL増加が認められた。エックス線学的には平均骨欠損深さは3.4mmに減少し、43.2%の骨充填率であった。骨壁数別では平均CAL獲得が三壁性欠損3.0mm、二壁性欠損2.6mmであった。また、喫煙者2名の3症例においては1年後の平均CAL獲得は0.3mmであった。また、術後1年まで暫間固定もしくは補綴物による連結がなされた5症例の平均PPD減少量は4.2mm、CAL獲得は3.0mmであった。

【考察】

先進医療の導入により、エムドゲイン[®]ゲル応用症例が増加している。本研究により臨床的ならびにエックス線学的に歯周組織再生が国内外の報告と同程度に得られていることが確認された。また、術前のCAL値が大きく、二壁性以上の欠損において、より良好な成績が得られた。この結果から、骨欠損が深く、骨壁数が多いほど歯周組織再生が期待できることが示唆された。今後は、より多数の症例数の分析に基づき、エムドゲイン[®]ゲルを用いた歯周組織再生治療の結果に影響を与える因子の検索を行うことが必要である。

【結論】

東京医科歯科大学歯学部附属病院にて先進医療として行われたエムドゲイン[®]ゲルによる歯周組織再生治療は、国内外の報告と同程度の良好な臨床成績を示した。

光干渉断層画像診断法(OCT)の歯周組織診断への応用

¹東京医科歯科大学 大学院歯学総合研究科 生体硬組織再生学講座 歯周病学分野

²国立長寿医療センター病院先端医療部口腔機能再建科

³東京医科歯科大学 グローバル COE プログラム 歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点

○佐藤郁文¹, 水谷幸嗣¹, 青木章¹, 谷口陽一¹, 福田幹久¹, 石田裕子¹, 角保徳², 和泉雄一^{1,3}

Application of optical coherence tomography for periodontal diagnosis

¹Section of Periodontology, Department of Hard Tissue Engineering, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

²Division of Oral and Dental Surgery, Department of Advanced Medicine, National Hospital for Geriatric Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology

³Global Center of Excellence (GCOE) Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

○Ikufumi Sato¹, Koji Mizutani¹, Akira Aoki¹, Yoichi Taniguchi¹, Motohisa Fukuda¹, Yuko Ishida¹, Yasunori Sumi², Yuichi Izumi^{1,3}

【背景】生体への被曝や侵襲のない光干渉断層画像(OCT)は、X線、コンピュータ断層撮影(CT)、核磁気共鳴画像法(MRI)、超音波に加え新たな最先端の画像測定装置として研究されてきた。OCTは、歯周治療においては歯周病患者の病態の診断、および歯周治療後の治癒の評価方法への応用などに期待が持たれている。しかしながら、OCTを用いた歯周組織診断については、その基本的な画像解析および評価法は未だ確立されていない。

【目的】本研究は、歯周治療のOCTによる評価方法の確立のため、臨床データから得られた資料を基にOCT画像と比較することによって、歯周組織診断におけるOCT画像の基本的な読影および評価分析方法を確立することを目的とした。

【材料および方法】本研究では、口腔内用に改良された波長走査型光干渉断層画像装置(Santec社)を使用した。

波長走査型OCT(SS-OCT)は、波長を連続かつ高速に走査可能な分析用波長走査光源を使用し、後方散乱光の解析に高速フーリエ変換を適応することで、モーションアーチファクトに耐性を有した組織断層像のリアルタイム描出を可能とする。装置の仕様は、波長1260~1360nm、掃引率(掃引率20kHz)、水平方向分解能が37 μ m(焦点スポット:10 μ m)、深さ方向分解能が11 μ m(空気中)および8 μ m(組織中)、出力はプローブ先端で平均4mW(装置内平均値6mW、ピーク時11mW)で、画像構成時間は25msである。口腔内用プローブには金属のガイドフレームを装着し、OCTの対物レンズを計測する対象歯の歯軸と並行に保持しモニタ上のリアルタイム画像から選択決定し、評価対象歯の頬舌方向の断層写真を得た。

研究グループ内での健常な被検者6名(平均年齢32 \pm 7.8歳)に対し、下顎右側中切歯、側切歯、犬歯頬側中央をOCTにて撮影した。評価対象歯の頬側中央で頬舌方向の断層写真を得た。次にポケット診査と口腔内写真およびデンタル標準X写真撮影を行なった。X線撮影の規格化には、撮影用インジケータ(CID-III、阪神技術研究所)を用いた。OCTおよびX線撮影においては、撮影における操作に要した時間(秒)の測定、および撮影時の疼痛と不快感の評価をVAS法にて行った。また、OCTによる画像診断の後、撮影後歯周組織の肉眼的変化の有無について調べた。OCTの評価分析においては、断層画像と実際の組織の厚さの補正に被験者から採得した石膏模型を使用した。撮影された断層写真の読影は歯周病専門医が行い、従来のプロービングによる臨床検査結果とX線写真を参考として、OCT像との比較を行った。

【結果と考察】OCT撮影画像では、エナメル質、象牙質、歯肉、歯根などの解剖学的形態が確認できた。歯槽骨については必ずしも明瞭ではないが、条件が良ければ一様な暗色を示す歯槽骨様の構造物から歯槽骨頂の位置や形態を同定することができた。さらに、歯槽骨付近には多くの場合、根尖側から歯冠側方向に走行する特徴的な白色の刷毛様の構造が認められた。

OCT撮影はX線撮影より短時間(11.3 \pm 6.7秒)で完了することが可能で、撮影時に口唇の圧排に伴う軽度の不快感やOCT口腔内プローブに装着したガイドフレームの接触による軽度の疼痛は認められたが、通常のX線と比較して、VAS値は同程度であった。さらに、撮影後に対象部位に撮影が原因と思われるような肉眼的組織変化は認められなかった。撮影面積から考えるとガイドフレームはさらに小型化できるため、将来的にはさらにストレスが少なく、短時間での撮影が可能となると考えられる。

【結論】OCTを用いた歯周組織の画像診断は、非常に操作が単純でかつ短時間に行うことが可能で、さらに用いる光エネルギー自体には生体への侵襲が全くないことから、歯周組織の診断において有効で、臨床への貢献が期待できる新たな診断法になり得ることが示唆された。今後、より確実な臨床応用へ向けてさらに詳細な検討が必要である。

企業内定期健康診断における歯周病原細菌に対する血清 IgG 抗体価検査を用いた 歯周病スクリーニング効果の統計学的検討

¹⁾岡山大学病院歯周科, ²⁾トヨタ自動車株式会社, ³⁾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,
⁴⁾日本歯科大学東京短期大学歯科衛生学科, ⁵⁾岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野
○工藤直英¹⁾, 成石浩司¹⁾, 三橋千代子²⁾, 米田哲³⁾, 永田俊彦³⁾, 佐藤勉⁴⁾, 前田博史⁵⁾, 高柴正悟⁵⁾

Evaluation of Screening Ability for Periodontitis by a Blood Test in Occupational Physical Examination

¹⁾Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital, ²⁾Toyota Motor Corporation, ³⁾Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School, ⁴⁾Department of Dental Hygiene, Nippon Dental University College at Tokyo, ⁵⁾Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○Chieko Kudo¹⁾, Koji Naruishi¹⁾, Chiyoko Mitsuhashi²⁾, Toshihiko Nagata³⁾, Satoshi Yoneda³⁾, Tsutomu Sato⁴⁾, Hiroshi Maeda⁵⁾, Shogo Takashiba⁵⁾

【緒言】

昨今、歯周病は慢性的な微弱炎症として捉えられ、糖尿病や動脈硬化症などの全身疾患を増悪する可能性が指摘されている。したがって、歯周病罹患の早期発見は、各人の全身の健康保持のために効果的である。2008年4月には「特定健康診査・特定保健指導」が国の施策として実施され、国民の健康に対する意識も高まりを見せている。

歯科健康診断(健診)は、被健診者各々の口腔内を診査するため繁雑となり多くの時間を費やす。また、古くから歯周病健診の有用な検査として実施されている Community Periodontal Index (CPI) は、実際は代表歯を対象とした診査であるので、健診結果が真の歯周病病態を反映しないことも多い。そこで、このような現在の歯科健診の問題点を解決して、医科健診の項目に、円滑に、歯周病健診などの歯科健診が組み入れられるような仕組みを作り上げることが、歯科医師に課せられた課題である。

我々は、これまでに歯周病スクリーニング検査として歯周病原細菌に対する血中 IgG 抗体価検査が臨床的に有効であることを提唱してきた。しかしながら、本検査を広く一般の健康診断に応用させるためには、検査の基準値(カットオフ値)の設定が必須であった。今回、某企業の定期健康診断において、我々は歯周病原細菌に対する血中 IgG 抗体価検査の基準値を設定して、他の歯周病関連の検査項目との統計学的関連を評価し、本検査の歯周病スクリーニング効果を検討した。

【対象および方法】

対象: 2008年9月~2009年11月の期間中に某企業(東京)の定期健康診断を受診した従業員735名(平均44.1±9.1歳)を対象とした。また、歯周病原細菌に対する血中 IgG 抗体価の基準値を決定するために、岡山大学病院をはじめ、全国11の大学附属病院における歯周病関連診療科を受診した慢性歯周炎患者536名(平均年齢:51.8±13.9歳、全身疾患のない者)および上記の企業健診を受診した者の中で歯周病のない従業員116名(平均年齢:34.5±4.8歳、CPI=0、視診にて歯肉炎のない者)を対照とした。

歯周病関連検査項目: CPI検査、歯周病原細菌に対する血清 IgG 抗体価検査、唾液生化学検査[乳酸脱水素酵素(LDH)活性および唾液中遊離ヘモグロビン量(ともに刺激唾液を使用)]とした。血清 IgG 抗体価は、リージャー長崎ラボトリー(諫早)に外注して測定した。なお、対象菌株は *Porphyromonas gingivalis* FDC381 (Pg) とした。唾液検査は、BML(東京)に外注して測定した。

Pg に対する血中 IgG 抗体価の基準値の設定: 抗体価の基準値は、ROC (Receiver Operating Characteristic) 分析によって算出・決定し、その基準値以上の検査値を歯周病「陽性」、基準値未満の検査値を歯周病「陰性」を判定した。

企業内定期健康診断における血中 IgG 抗体価の有用性: 1. Pg に対する血清 IgG 抗体価の検査値をもとに、「陽性」群と「陰性」群に群分けし、それぞれ CPI 検査値の一致度を検討した。2. 血清 IgG 抗体価の陽・陰性群間における唾液生化学検査値を、Mann-Whitney の U 検定によって比較検討した。3. 定期健康診断受診者を性別および年齢によって4グループ(①23-39歳の男性: N=74, ②40歳以上の男性: N=335, ③23-39歳の女性: N=153, ④40歳以上の女性: N=106)に分け、各グループにおける血清 IgG 抗体価の陽・陰性群の割合を、「CPI=0」群と「CPI=1-4」群の2群間でカイ二乗検定を用いて比較検討を行った。

【結果】

1. Pg に対する血中 IgG 抗体価をもとに ROC 曲線を作製し、そのカットオフ基準値を1.682(感度:0.774, 特異度:0.586)と決定できた。なお、Area Under the Curve (AUC) は0.708だった。
2. IgG 抗体価の陽性者は412名(全体の55.3%)、陰性者は333名(全体の44.6%)であった。また、CPI 陽性(CPI=1-4)は367名(全体の49.3%)、CPI 陰性(CPI=0)は378名(全体の50.7%)であった。なお、CPI 陰性にもかかわらず IgG 抗体価陽性者は全体の26.7%、CPI 陽性にもかかわらず IgG 抗体価陰性者は全体の20.6%を占めた。
3. 唾液 LDH 活性値および唾液中遊離ヘモグロビン量のいずれにおいても、IgG 抗体価の陰性群と陽性群の両群間に有意差はなかった(LDH: P=0.5556, 遊離ヘモグロビン: P=0.2722)。
4. 「CPI=0」群と「CPI=1-4」群の両群間における血中 IgG 抗体価陽性・陰性の割合を年齢・性別によるグループ別に比較した結果、いずれのグループにおいても統計学的な関連はなかった。

【考察および結論】

歯周病患者を効果的にスクリーニングするため、Pg に対する血清 IgG 抗体価の基準値を設定した。今回、企業内定期健康診断における本血清 IgG 抗体価検査の有効性を検討するため、従業員の生活背景による他の因子の影響を考慮して、年齢、性別を指標に再分類して、血清 IgG 抗体価と従来の CPI 検査との一致度を検討したところ、両検査間に統計学的な関連性はないことが分かった。このことは、歯周病スクリーニング検査として発展してきた血清 IgG 抗体価と CPI 検査は、互いに異なる歯周病の病態を捉えていることを示唆するもので、将来、それぞれの検査の特長を考慮した臨床応用が必要であると考えられる。

象牙質への自由電子レーザー照射による波長と昇温との関連

¹ 日本大学大学院松戸歯学研究所う蝕抑制審美治療学,

² 日本大学松戸歯学部う蝕抑制審美治療学講座

○根本章吾¹, 鈴木英明², 神谷直孝², 岩井啓寿², 壹岐宏二², 岩井仁寿¹, 池見宅司²

Relation between wavelength and raised temperature with FEL irradiation to dentin

¹Department of Dental Caries Control and Aesthetic Dentistry, Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo,

²Department of Dental Caries Control and Aesthetic Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Nemoto Shogo¹, Suzuki Hideaki², Kamiya Naotaka², Iwai Hiroto², Iki Koji², Iwai Hitoshi¹, Ikemi Takuji²

【目的】 現在、臨床に応用されているレーザーによる象牙質の蒸散メカニズムは、水の吸収特性に合った波長が、象牙質内の水分子の微小爆発を起こすことによるもので、蒸散時には瞬間的に高温が発生しているとされている。このため、熱作用による歯髄への影響、硬組織の熱変成層の形成などが懸念されている。一方、自由電子レーザー (FEL) は、市販のレーザーとは同一波長でも硬組織に対する蒸散効果が異なり、赤外領域の波長においても少ない発熱で効率的な象牙質の蒸散ができる可能性を有しているものと考えられているため、象牙質への照射には理想的なレーザーとして将来、臨床応用が期待されている。しかし、FELはその発振方法の違いから、臨床に応用されているレーザーによる象牙質の蒸散メカニズムとは異なるため、その効率的な照射条件も異なるものと考えられる。しかし、その効率的な照射条件についての検討はまだ行われていないのが現状であり、将来、FELによる象牙質の蒸散において、熱的影響を考慮した安全かつ効率的な治療を行うための照射条件を検討することは有益であるといえる。演者らはFELの波長可変性に着目して日本大学量子科学研究所所有の自由電子レーザー (LEBRA-FEL) にて波長を変化させて象牙質に照射し、それぞれの波長における昇温と蒸散深さを検討することを目的として実験を行った。

【材料および方法】 抜歯後、冷凍保管したウシ前歯の唇側エナメル質を削除して7.0mm×7.0mm×1.5mmの象牙質ブロックを作製し、唇側の照射試料面を耐水研磨紙 (#2000) にて最終研磨したものを試料とした。波長は、2.50, 2.94, 3.00, 3.50, 4.00μmとし、それぞれの波長の繰り返し数は2ppsおよび5ppsとした。その際の平均照射エネルギーは2ppsで6.5mJ, 5ppsで5.4mJであった。象牙質の温度上昇は、レーザー照射側 (照射側) および背面 (歯髄側) から放射温度計 (TR-0506C, ミノルタ) にて照射5秒間と照射後5秒間の測定を行った。なお、歯髄側の測定では試料周囲の散乱光によるノイズの防止のためレーザー遮光板 (YL-500: 山本光学) を使用した。レーザー照射後、SEM (S-2150: 日立) にて被照射部位の表面形状および蒸散深さを観察した。

【結果および考察】

1. 全ての波長における2ppsの照射側および歯髄側の昇温ピークは、それぞれ $1.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 、 $0.5 \pm 0.1^\circ\text{C}$ の範囲で、5ppsでは、 $2.2 \pm 0.2^\circ\text{C}$ 、 $1.2 \pm 0.1^\circ\text{C}$ の範囲となり、照射の繰り返し数が多くなるほど昇温するが、本実験条件での波長および照射時間ではその昇温は非常に小さいことが判明した。そして、波長が異なっても昇温挙動は近似しており、波長依存性のないことが示された。
2. SEM観察において、2ppsと5ppsの照射痕の直径は、波長4.00μmにおいて216μm、219μmで最も大きくなった。蒸散深さに関しては、波長2.50μmで認識できる深さは得られなかった。波長3.50μmでは2ppsと5ppsともに最も深く蒸散され、それぞれ486μm、884μmであった。一方、Er:YAGレーザーの波長に合わせた2.94μmでは395μm、703μmであった。なお、波長4.00μmでは190μm、219μmと蒸散効果が低くなることが示された。
3. 照射部位のSEM観察では、全ての波長において象牙細管が明瞭に観察され、熱変性している像は観察できなかった。以上のことから、FELで象牙質を蒸散する際の昇温は非常に小さく、本実験条件の範囲では、その昇温は波長依存性のないことが示された。そして、波長3.50μmにおける象牙質の照射痕が比較的大きく、蒸散深さが最も深くなることが判明した。このことは、従来から報告されている水の吸収特性とは異なっており、FEL照射による象牙質蒸散のメカニズムは、現在臨床で使用されているレーザーとは異なり、ピークパワーが非常に高いので、照射部における熱の加わった象牙質のほとんどが蒸散されるために、昇温が少なく且つ深く削除できるものと考えられた。

アナターゼ型二酸化チタンの光触媒作用の解析 (第3報)

松本歯科大学 歯科保存学第2講座
○佐藤将洋 河瀬雄治 安西正明 山本昭夫 笠原悦男

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

Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University
Masahiro Sato Yuji Kawase Masaaki Anzai Akio Yamamoto Etsuo Kasahara

【目的】

二酸化チタン (TiO₂) は、化粧品 (おもに白色顔料)、あるいは食品添加剤として使われてきた。二酸化チタンを含む塗装は、紫外線などにより塗料の色成分の顔料がチョーク (白墨) のような粉状になって顕われるチョーキング (Chalking) 現象を起こすことが知られている。この現象は、二酸化チタンの光触媒作用 (photocatalysis) によるものであり、この光触媒作用は光を照射することにより触媒作用を示す光化学反応の一種と定義される。紫外線によって-OH、O₂⁻、HO₂⁻、H₂O₂などのフリーラジカルを放出し、その強力な酸化力によって有機質を溶解する性質がある。

二酸化チタンの結晶構造にはブルッカイト型、アナターゼ型、ルチル型の三種類が存在する。

我々は、光触媒作用が強いアナターゼ型二酸化チタンで粒子径の違う ST-01 (7nm) と ST-21 (20nm) の光触媒作用の解析について第130回、第131回の本学会にて報告した。ST-01は、粒子径が小さく強い光触媒作用を有しているが、凝集性が強く2次粒子を形成し、表面積に比例する光触媒作用を低下させる。

本研究は、ST-01の2次凝集を分散させたSTS-01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-01 (粒子径 7nm) と STS-01 (粒子径 7nm) を使用した。

1. 電子顕微鏡：二酸化チタン ST-01 と STS-01 の粒子形状を見るために日立 H-7600 を用いた。
2. X線回折：ST-01 と STS-01 がアナターゼ型二酸化チタンであることを確認するために SJEOL X-RAY DIFFRACTOMETER SYSTEM を用いて行った。
3. 光触媒作用の解析：30% (W/W) ST-01 を 10 μl, 1.5ml セミマイクロキュベットに採取、また 30% (W/W) STS-01 を 10 μl, 1.5ml セミマイクロキュベットに採取し1時間 37°C インキュベーターに安置 (遮光) 後、メチレンブルー溶液 (MB: 12ppm) 1ml を入れた。パラフィルムでシールドトランスイルミネーター TOYOBO transilluminator model TSL-20 を使用し、365nm, 10,000 microwatts/cm² の紫外線を 10 秒間照射し、MB の退色変化を NanoDrop® ND-1000 spectrophotometer を用いて検討した。

【結果および考察】

1. 電子顕微鏡：STS-01 は、ST-01 と比較し 2 次粒子は分散している。
2. X線回折：STS-01 と ST-01 はともにアナターゼ型二酸化チタンである。
3. 光触媒作用の解析：STS-01 は、ST-01 と比較し MB の極大吸収 (λ_{max}) である吸光度 (668nm) が低下した。

【結論】

二酸化チタンの 2 次粒子を分散させ、表面積を大きくすると光触媒作用は強くなることが明らかとなった。

本結果より ST-01 の 2 次凝集を分散させた STS-01 は、歯牙漂白など歯科領域への応用の可能性が示唆された。

光干渉断層装置を用いたホワイトニングが歯質に及ぼす影響の検討

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, 横須賀共済病院³

○渡邊孝行¹, 田村ゆきえ¹, 森 健太郎¹, 大岡悟史¹, 古賀賢策¹,
高見澤俊樹^{1,2}, 黒川弘康^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 宮 直利³

Tooth Surface Observation After Whitening by Means of Optical Coherence Tomography
Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Yokosuka Kyosai Hospital³
○WATANABE Takayuki¹, TAMURA Yukie¹, MORI Kentaro¹, OOOKA Satoshi¹, KOGA Kensaku¹,
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, MIYA Naotoshi³

【緒言】

光干渉断層画像化法 (Optical Coherence Tomography, 以後, OCT) は, 他の医療用画像技術と比較してチェアサイドで簡便かつ非侵襲的に高解像度の組織精密断層像を得られることを特徴としている。これまで演者らは, OCT 断層像に及ぼす影響因子を検討し, 歯科臨床への応用が可能であることを報告してきた。

今回, OCT の効果的な臨床使用術式を確立するための基礎的研究の一環として, ホワイトニング剤の種類によっては生じる可能性のある, エナメル質表面の変化について検討することを企画した。すなわち, オフィスホワイトニング後の歯質を OCT を用いることによって観察した。

【材料および方法】

ホワイトニング剤は, オフィスホワイトニング用の Shofu HiLite (松風) を用い, ホワイトニング操作は製造者指示条件で行った。粉液を練和してペースト状にしたホワイトニング剤を, ウシ下顎前歯唇側エナメル質表面に 1~2 mm 程度の厚さとなるよう塗布し, これを 5 分間放置した。その後, 可視光線照射器 (Optilux 501, sds Kerr) を用いて 3 分間照射した。次いで, 照射から 1 分間放置した後, 十分に水洗してホワイトニング剤を除去した。この一連の操作を 5 回繰返すことで 1 回のホワイトニングとし, 1 週間に一回, 4 週間連続して行った。

断層像の観察は, 試作 OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用いて行った。この装置は, 光源の低コヒーレンス性を応用したものであり, Super Luminescent Diode (SLD) 光源からの光を光分割器により 2 束に分割し, 1 束を参照鏡に, 他方を対象物に入射し, それぞれから反射してきた光を干渉させ, 測定対象物の表層から深層にわたる反射光分布を測定することで断層像を得るものである。

測定対象としては,

1. ホワイトニング期間を通じて 37℃の人工唾液中に保管したウシ下顎前歯唇側エナメル質
2. ホワイトニング期間を通じて 37℃の精製水中に保管したウシ下顎前歯唇側エナメル質
3. 37℃の人工唾液中に 1ヶ月間保管したウシ下顎前歯唇側エナメル質
4. 37℃の精製水中に 1ヶ月間保管したウシ下顎前歯唇側エナメル質

の 4 条件とした。

OCT を用いてこれらの断層像を観察するとともに, 形状測定レーザ顕微鏡 (VK-9710, キーエンス) を用いて歯質の表面を撮影することで比較, 検討した。なお, OCT による観察時期としては, ホワイトニング前およびホワイトニング直後の 4 回とした。

【成績および考察】

試作 OCT 装置を用いて, ホワイトニング剤を適用したエナメル質の断層像を観察したところ, 人工唾液中に保管したエナメル質試片では, 実験期間を通じて断層像に変化は認められなかったものの, 精製水中に保管した条件では, 実験期間の延長に伴い歯質表面のシグナルが強くなる傾向を示した。このように, ホワイトニング期間中の保管条件の違いが断層像に影響を及ぼした原因としては, 本実験に使用したホワイトニング剤が 35%過酸化水素であることから, エナメル質の表面性状に何らかの影響を及ぼすものの, 保管条件の違いによってその程度が異なり, OCT から照射された近赤外線の歯質表面での散乱の程度が異なったためと考えられた。

【結論】

OCT を用いてオフィスホワイトニングによって生じる歯質の極微小な変化を観察することは可能であった。また, オフィスホワイトニングのエナメル質に対する影響は極めて表層に限局するものであり, 基質的变化はほとんど認められなかった。今後, ホワイトニング剤の種類あるいはホワイトニングの違いがエナメル質および象牙質に及ぼす影響について, OCT を用いて検討する予定である。

表層下脱灰病変に対する漂白処理の影響

神奈川歯科大学 口腔治療学講座保存修復学分野¹⁾
湘南短期大学 歯科衛生学科²⁾

○向井義晴¹⁾, 椎谷 亨¹⁾, 坂本英里¹⁾, 室野井麻紘¹⁾, 藤野富久江²⁾, 寺中敏夫¹⁾

Influence of bleaching agent on enamel subsurface lesion

Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine, Kanagawa Dental College¹⁾
Department of Dental Hygiene, Shonan Junior College²⁾

○MUKAI Yoshiharu¹⁾, SHIYA Toru¹⁾, SAKAMOTO Eri¹⁾, MURONOI Mayu¹⁾, FUJINO Fukue²⁾, TERANAKA Toshio¹⁾

【研究目的】 エナメル質に認められるホワイトスポット（白斑病変）は表層下で脱灰が進行している状態であり、非侵襲的に再石灰化が可能であるとされているが、易崩壊性であり、臨床における管理には十分な注意が必要とされている。一方、白斑病変が存在するエナメル質がブリーチングの対象歯となる場合も見受けられる。このような場合の白斑病変を含めた漂白処理の是非は不明であり、ブリーチングシステムが白斑病変の重篤化に関与するか否かを検討した報告はない。そこで本研究では、*in vitro* で作製したエナメル質表層下脱灰病巣に対するブリーチングシステムの影響を Transversal Microradiography (TMR) にて評価した。

【材料および方法】 ウシ下顎中切歯よりエナメル質片を切り出し、3×4 mm の平坦な面を作製した。その後、1500番の耐水研磨紙で研磨し、超音波洗浄を5分間行った。耐酸性パーニッシュを塗布することにより試験面を2×3 mmに規定し、各5個ずつ以下の4群に分けた。ブリーチンググループ(BL)：上記のように作製したエナメル質試験面にオフィスブリーチング材である松風Hi-Liteを適用した。製品指示書では3度の処理を1回とし、週1回で6週間を限度として行われるが、今回は3度の処理の後、水洗、乾燥し、それを連続的に6回行った。脱灰病巣グループ(SL)：エナメル質片を脱灰ゲル(0.1 M 乳酸, 8% methylcellulose, pH 4.6)に10日間浸漬することにより表層下脱灰病巣を作製した。脱灰病巣→ブリーチンググループ(SLBL)：エナメル質に表層下脱灰病巣を作製した後、上述の方法でブリーチング処理を行った。非処理グループ(CS)：BLグループの試片上で、耐酸性パーニッシュを施した部分を非処理グループとして使用した。各処理後、エナメル質片から厚さ150 μmの薄片を切り出し、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(Inspektor)を用いてミネラルプロファイルを作製、ミネラル喪失量を測定した。統計分析には、Student's t-testを用い有意水準5%にて行った。

【結果】 本脱灰システムを用いることにより、表層55%および病巣体部35%のミネラル密度を有する典型的な表層下脱灰病巣が作製された(SL)。ブリーチンググループ(BL)では、エナメル質表面付近に僅かな透過像が確認された。脱灰病巣にブリーチングを施したSLBLは、SLと同様の表層下脱灰病巣形態を示していた。ミネラル喪失量の比較では、CS: 514.0±216.7, BL: 839.6±390.1, SL: 3816.5±383.1, SLBL: 3675.1±139.6 (単位: vol%×μm) であり、CS-BL間およびSL-SLBL間では有意差は認められなかった($p > 0.05$)。

【考察】 通常、表層下脱灰病巣は歯質内外由来フッ化物の影響を受けているため健全エナメル質よりも高い耐酸性を有するものの、病巣の底部では脱灰が進行することが確認されている。Hi-Liteは35%の過酸化水素水を含み、練和後のpHは約4を示すことから本実験においても表層下脱灰病巣の底部における無機質の溶解、病巣の進行が惹起される可能性が懸念されたが、表層下脱灰病巣にHi-Lite処理を行った場合(SLBL)、SLと比較して有意な脱灰の進行は認められなかった。この理由として、pHは4付近であるが本材一回の適用時間が約10分と短いため、今回のように本材最長使用限度の6週間に相当する6回(3×6=18度)まで行った場合でも水素イオンが表層下脱灰病巣底部まで多量に侵入せず、脱灰進行が回避されたものと考えられた。また、ブリーチング処理したエナメル質(BL)では非処理のエナメル質(CS)に比較し若干のミネラル喪失が確認されたが有意差は認められなかったことも、本材料の同様の理由によるものと考えられた。

【結論】 代表的なオフィスブリーチング材であるHi-Liteには、エナメル質表層下脱灰病巣いわゆる白斑病巣を進行させる危険性は少なく、白斑病巣の存在するエナメル質面に対してもそれらを含めて塗布することに問題ないことが示唆された。

フッ素含有材料の乳酸溶液へのフッ素溶出 (II)

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室
船戸良基、小島健太郎、小松久憲、奥山克史、木地村太基、田中享、佐野英彦

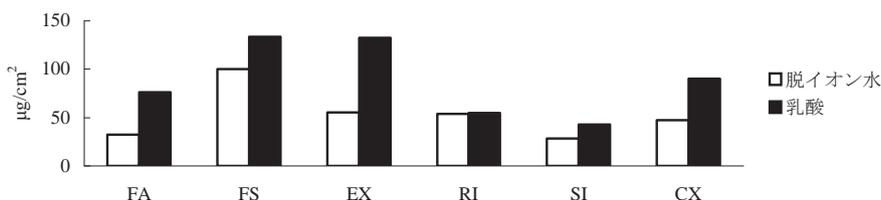
Fluoride release from fluoride containing materials in lactic acid solution(II)
Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine
FUNATO Yoshiki, KOJIMA Kentaro, KOMATSU Hisanori, OKUYAMA Katsushi,
KIJIMURA Taiki, TANAKA Toru, SANO Hidehiko

【目的】フッ素は歯質の脱灰を抑制するとともに再石灰化を促進することが知られており、この齲蝕抑制効果を期待し、多数のフッ素含有歯科材料が開発され、臨床の場における使用が進んでいる。フッ素含有材料の齲蝕抑制効果については第125回、第127回本学会において報告した。材料から溶出したフッ素による再石灰化の促進は、脱灰すると同時 (pH5.5-4.5) に進行するため、酸性状態でのフッ素の溶出が齲蝕の進行抑制に強く関与していると考えられる。そこで本研究では、乳酸溶液を用いた酸性条件下でのフッ素含有材料におけるフッ素の溶出量とコントロールとして脱イオン水における溶出量を測定し、フッ素の齲蝕抑制効果について比較検討した。

【材料と方法】フッ素含有材料として、グラスアイオノマーセメントである FUJI IX GP FAST (FA : GC), FUJI VII (FS : GC), FUJI IX GP EXTRA (EX : GC), riva self cure (RI : SDI), レジン系材料では、D-RPG フィラー含有イオン徐放性予防的歯面コーティング材 SI-R20607 (SI : 松風), Clinpro XT Varnish (CX : 3MESPE), の6種類のフッ素含有材料を選択した。FA, FS, EX, RI は練和を必要としないカプセル方式を用い、各材料を内径9mm 厚さ3mm のプラスチック製 mold に充填後、スライドガラスにて両面から圧接した。レジン系材料では、同様なプラスチック製 mold に充填・両面圧接後、上下両面それぞれ SI に10秒、CX に20秒の照射を行った。各材料を充填後に、37°C 相対湿度100% の恒温槽で保存し、練和開始より1時間後に充填物の過剰部の除去を行ってから、mold に装着したナイロン糸により8ml の各溶液中に吊るし、37°C 恒温槽中に静置保存した。溶液には pH4.5 乳酸溶液と脱イオン水を用い、作製した試料に対し充填1日後、2日後、1週から6週までは各1週間後、それ以降は各2週間後に、8週後まで測定を行った。測定の際には各溶液2ml で試料を洗浄し、測定溶液を10ml としたのち測定溶液を3ml 分注し、TISABIII (Orion Research Inc) 0.3ml を加え、乳酸溶液にのみ1%酢酸ナトリウム溶液0.1ml を追加し、イオンメーター (Digital IONALYZER model290A : Orion Research Inc) とフッ素イオン電極 (9609BN : Orion Research Inc) を用い、フッ素イオン電極法により測定した。

【結果と考察】8週までの累積フッ素溶出量を示す。累積フッ素溶出量は、乳酸溶液においてFSで最も多く、次いでEX, CX, FA, RI, SIであった。脱イオン水においてもFSで最も多く、次いでEX, RI, CX, FA, SIであった。乳酸溶液でのFS, EX, FA, CXのフッ素溶出量は脱イオン水に比較し有意に高く、SI, RIでは乳酸溶液と脱イオン水間の溶出量に有意差はみられなかった。また、乳酸溶液中では、FS・EX間、FA・RI間、RI・SI間以外のすべての材料間で有意差があったのに対し、脱イオン水中ではFSが他の全ての材料に対し有意に高い溶出量を示し、FS以外の材料間には有意差がみられなかった。フッ素による齲蝕抑制効果には酸性条件下におけるフッ素溶出量が深く関与すると考えられるため、今回の実験で乳酸溶液中での各材料の溶出量に差がみられたことは、齲蝕抑制効果の判定にとって重要な情報であると考えられる。また、SIと従来のフッ素含有レジン系材料であるBEAUTIFIL II (BII:松風), UNIFIL-FLOW (UF : GC) とを、8週目累積フッ素溶出量で比較したところ、脱イオン水中で約8倍、乳酸溶液中で約3倍と高い値を示し、SIが従来のフッ素含有レジン系材料よりも高い抗齲蝕性を有していることが示唆された。

8週までの累積フッ素溶出量



フッ素含有材料からの歯質への長期フッ素取込み量

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室

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若狭湾エネルギー研究センター研究開発部

○小松久憲, ¹山本洋子, ²安田啓介, 船戸良基, 小島健太郎, 木地村太基, 奥山克史, 佐野英彦

Long term fluorine uptake into tooth from fluoride-containing materials

Department of Restorative Dentistry, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate school of Dentistry

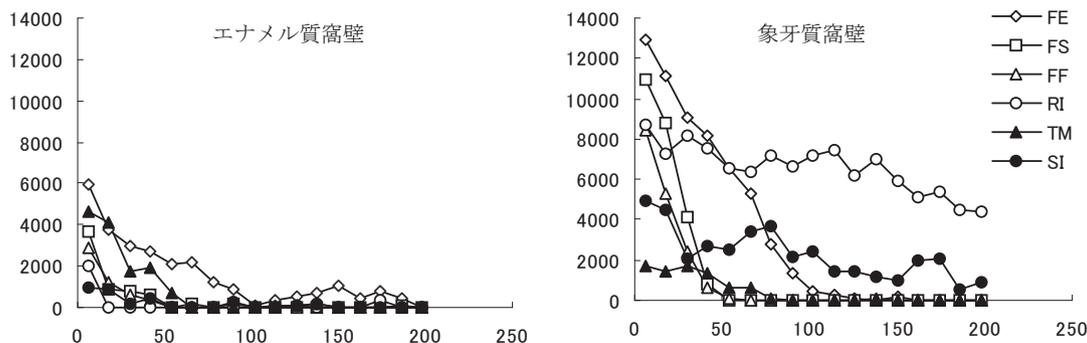
²The Wakasa wan Energy Research Center

○Komatsu Hisanori, ¹Yamamoto Hiroko, ²Yasuda keisuke, Funato Yoshiki, Kojima Kentaro, Kijimura Taiki, Okuyama Katsushi, Sano Hidehiko

【緒言】フッ素含有材料周囲歯質では、材料からフッ素が移行しフッ素濃度が上昇することや材料周囲 pH が低下すると材料からフッ素が溶出し再石灰化を促進させることによって、齲蝕の進行が抑制されると考えられている。第130回本学会では、日本原子力開発機構高崎量子応用研究所の PIGE/PIXE 装置を使用し、齲蝕進行に伴うフッ素含有材料周囲歯質へのフッ素の取込みについて報告した。本研究では、若狭湾エネルギー研究センターに設置されている PIGE/PIXE 装置を用いて、各種フッ素含有材料から窩洞周囲歯質へのフッ素の取込み量を検討した。

【材料と方法】グラスアイオノマーセメントとして、Fuji IX GP FAST (FF) と Fuji VII (FS), RIVA S/C (RI), FUJI IX GP EXTRA (FE)を、さらにフッ素含有材料である Teethmate F-1 (TM), Unifil Flow + G-Bond (UN), Beautifil II+ Shack one (BS), APX + Mega Bond FA (AP), 松風社試作品 D-PRG フィラー含有イオン徐放性予防的歯面コーティング材 (SI-R20607) (SI) を用いた。ヒト抜去歯V級窩洞に、指示書に従い各材料を充填し、材料からの溶出フッ素の歯質への取込みを減らすため、500ml 脱イオン水に 37°C で保存した。なお、保存期間中は定期的に脱イオン水を交換した。測定試料は、フッ素測定2週前に、窩洞部を含むように頬舌的に切断、厚さ約 150 μ m に研磨調整した。窩壁部のフッ素濃度分布を、若狭湾エネルギー研究センターの PIGE/PIXE 装置を用い、フッ素とカルシウム濃度測定により算出した。測定領域は窩洞部を含む 1000 x 1000 μ m の範囲とし、窩壁から離れた健全歯質のカルシウム量の 90%を示した部位を窩壁辺縁と規定した。各群のフッ素取込み量の比較には、窩壁から 200 μ m までの累積値を用いた。

【結果および考察】図に水中保存1年における窩壁からの距離 (μ m) に対するフッ素濃度 (ppm) 分布を示した。UN, BS, AP では、各距離でのフッ素濃度が少ないため、表示に加えなかった。エナメル質窩壁では、FE が最も多いフッ素取込み量を示し、次に TM, FS, FF, SI, RI の順であった。象牙質窩壁では、RI が最も多く、次に FE, SI, FS, FF の順で、TM は最も少なくエナメル質での取込み量よりも少なかった。TM を除く全ての材料で、エナメル質よりも多いフッ素取込み量を示した。材料からのフッ素の取込み量は、材料との界面で最も多く、距離が離れるに従って濃度が低下するが、RI と SI では濃度の低下が少なかった。この相違の理由は不明であるが、フッ素が歯質に深く浸透することは耐酸性を獲得する層が厚くなる利点とも考えられる。界面でのフッ素濃度が高いことと耐酸層が厚いことのどちらに有効性が高いかを今後検討すべきと思われる。充填直後と1年後とのフッ素取込み量を比較したが、多くの場合、経時的にフッ素量が増加していたが、変化がない場合も確認された。使用した歯に起因する場合も考慮して、材料間の相違を明確することによって、フッ素含有材料の適切な選択基準の確立は可能と思われる。そのためにも PIGE/PIXE 装置の活用が不可欠と考える。



充填 1 年後におけるフッ素含有材料の齲蝕抑制効果

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室

○小島健太郎, 小松久憲, 船戸良基, 木地村太基, 奥山克史, 池田考績, 松田康裕, 佐野英彦

Caries inhibitive effect of one-year aged fluoride-containing materials

Department of Restorative Dentistry, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

○Kojima Kentaro, Komatsu Hisanori, Funato Yoshiki, Kijimura Taiki, Okuyama Katsushi, Ikeda Takatsumi, Matsuda Yasuhiro, Sano Hidehiko

【目的】 フッ素の齲蝕抑制効果を期待し、フッ素含有材料が数多く開発されている。しかし、製品によりフッ素の配合形態が異なるなど、材料間における臨床評価は定かではない。当教室では従来から使用している自動 pH サイクル装置は、口腔内同様の pH の連続した変化と溶液の還流を再現し、脱灰と再石灰化を繰り返すことによって人工齲蝕を発生させることが可能になる。この装置を用いたフッ素含有材料の充填直後の齲蝕抑制効果に関しては、本学会 127 回で報告した。しかし、一般に充填材料は口腔内に長期間保持される。それを考慮し、本研究では、フッ素含有材料の充填 1 年後の齲蝕抑制効果を、自動 pH サイクル装置を用いて検討した。

【材料と方法】 本研究ではヒト抜去小白歯を使用した。前処理として 2.0mol/l 過塩素酸に 30 秒間浸漬、脱灰させ、フッ素濃度の高い最表層エナメル質を除去し、使用歯のフッ素含有量の相違を少なくした。使用材料として FujiVII CAPSULE (GC), Teethmate F-1 2.0 KIT (クラレメディカル), SI-R20607 (松風) を選択した。前処理後頬側面をアルミナ懸濁液で光沢が出るまで研磨し、V 級窩洞形成、指示書に従い、充填を行った。その後、脱イオン水に保存した。材料からの溶出フッ素量を希釈するため、脱イオン水を 500ml とした。なお、保存期間中は定期的に脱イオン水を交換した。保存 1 年後、窩洞部を含むように頬舌的に切断、厚さ約 150 μ m に研磨調整した。pH サイクルは、口腔内の環境を再現する目的で、1 日 6 回脱灰溶液と再石灰化溶液を交互に還流させ連続 5 週間行い、脱灰溶液 (0.2mol/l 乳酸, 3.0mmol/l CaCl₂, 1.8mmol/l KH₂PO₄, pH4.0) と再石灰化溶液 (0.02mol/l HEPES, 3.0mmol/l CaCl₂, 1.8mmol/l KH₂PO₄, pH7.0) を用いた。齲蝕進行評価は pH サイクル開始前と 5 週後にアルミステップウェッジ (10 μ m \times 20 段) とともに Transverse Micro Radiography (TMR) を撮影し、得られた画像における脱灰像の黒化度を汎用画像解析ソフトウェア (Scion Image, Scion, USA) により測定した。測定は、充填材料からの歯質への直接的なフッ素の取り込みによる影響を避けるとともに、充填材料から一度溶出したフッ素の効果を意図し、窩壁から 150 μ m 離れた部位とした。得られた黒化度は、アルミステップウェッジの黒化度を基準として補正後、ミネラルプロファイルを算出し、それを元に得られる Integrated Mineral Loss (IML) について比較検討した。

【結果と考察】 いずれの材料に関しても IML の値が当教室の研究による以前の値よりも高く、しかも IML において材料間で有意差を認めなかった。その理由の一つとして、フッ素溶出量の減少が挙げられる。本学会第 130 回で充填直後から 12 週までにおけるフッ素溶出量には材料間に有意差があると同時に、どの材料においても経時的には減少する傾向があったと報告した。それを考慮すれば、今回の充填後 1 年という期間においては、材料から溶出するフッ素は経時的に減少し、材料間での溶出量の相違は少なくなると予想される。それが一つの要因となり、今回の結果となったと考察される。しかし実際の口腔内ではフッ素のリチャージが考えられるため、今後はそれも考慮した研究が望まれる。

G-BOND PLUS の歯質脱灰能に関する研究

日本大学松戸歯学部う蝕抑制審美治療学講座¹, 日本大学松戸歯学部クラウンブリッジ補綴学講座²,
日本大学松戸歯学部生体材料学講座³,
○ 藤田(中島)光¹, 岡田珠美¹, 會田雅啓², 西山典宏³, 池見宅司¹

Etching Efficacy of Tooth Component by G-BOND PLUS

Department of Dental Caries Control and Aesthetic Dentistry¹, Department of Crown Bridge
Prosthodontics², Department of Dental Biomaterials³, Nihon University School of Dentistry at Matsudo
FUJITA (NAKAJIMA) Kou¹, OKADA Tamami¹, AIDA Masahiro², NISHIYAMA Norihiro³, IKEMI Takuji¹

【目的】

近年, 接着操作の簡便化を図る目的で, ワンボトル・ワンステップボンディング材が開発され, 市販されて臨床応用されている. また, それ以上の確実な接着性能を発揮させるために改良も進められている. しかし, ボンディング材に配合されている酸性モノマーと歯質との相互作用の詳細については未だ不明な点が多い.

本研究では, ワンステップボンディング材に配合されている酸性モノマーと歯質との相互作用の詳細について検討することを目的とし, G-BOND PLUS とハイドロキシアパタイトまたは象牙質とを相互作用させ, ボンディング材の上澄み液の¹³C NMR スペクトルを測定し, 酸性モノマーと歯質成分との相互作用の詳細について検討した.

【材料および方法】

G-BOND PLUS (GC) 2.00 g 中にハイドロキシアパタイト粉末 (HA200, 太平化学) または切削したウシ歯冠象牙質粉末を 0.40 g を懸濁し, 10 分間振盪・攪拌した. その後, これらの懸濁液を遠心分離し, ボンディング材上澄み液の¹³C NMR スペクトルを測定した. なお, NMR の測定には EX 270 スペクトロメーター (日本電子) を用いた. 得られた NMR スペクトルから, G-BOND PLUS にリン酸エステル系モノマーとして添加されているモノマーのビニル基メチレンカーボンに帰属される NMR ピークと TEGDMA (トリエチレングリコールジメタクリレート) 分子内ビニル基メチレンカーボンの NMR ピークに対する相対強度を求め, その強度変化から歯質成分の脱灰により生成されたカルシウム塩の生成量を算出した.

【結果および考察】

G-BOND PLUS の¹³C NMR スペクトル溶液を測定した結果, ¹³C NMR ピークは, 4-MET, UDMA, TEGDMA, MDP, その他を構成しているカーボン核に帰属される成分であることがわかった.

G-BOND PLUS のビニル基メチレン領域の¹³C NMR スペクトルを図 1 に示した. 上段は歯質成分添加前, 中段はハイドロキシアパタイト添加後, 下段は象牙質添加後である. ここで, 126.30 ppm 付近に検出される NMR ピークは TEGDMA 分子内ビニル基メチレンカーボンに帰属され, 125.90 ppm 付近に観測される NMR ピークは MDP 分子内ビニル基メチレンカーボンに帰属された.

G-BOND PLUS にハイドロキシアパタイトまたは象牙質を添加し, 両者を相互作用させると, MDP のビニル基メチレンに帰属される NMR ピークの相対強度は減少し, その減少率はハイドロキシアパタイトで 22.0%, 象牙質では 66.0% であった. これは, MDP が歯質アパタイトを脱灰し, ボンディング材に不溶性のカルシウム塩を生成して析出したためと考えられる.

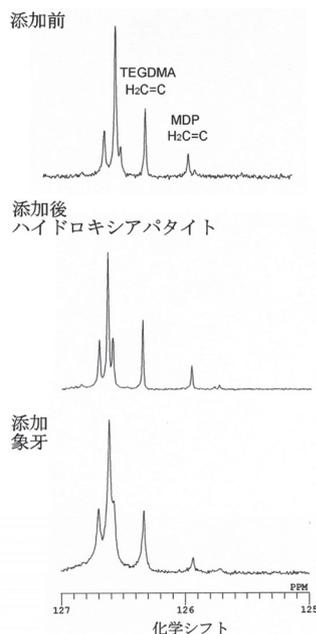


図1 G-BOND PLUSのビニル基メチレン領域の¹³C NMRスペクトル

攪拌操作によるゼロステップコンポジットレジン接着システムの象牙質接着強さ

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学
○小竹宏朋、望月久子、岡崎 愛、堀田正人

Effect of Agitating on Bond Strength to Dentin of Zero-Step Resin Composite Adhesive System
Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Department of Operative Dentistry, Asahi
University School of Dentistry
KOTAKE Hirotomo, MOCHIZUKI Hisako, OKAZAKI Ai, HOTTA Masato

【研究目的】

1 液性のワンステップボンディングシステムが開発され、臨床に応用されている。これから臨床の場で望まれるコンポジットレジン接着システムはゼロステップコンポジットレジン接着システム、つまり自己接着コンポジットレジンであると我々は考えている。今回、アメリカで市販されている Fusio™ Liquid Dentin (Pentron, USA, 以下 Fusio) に注目し、充填操作に Agitate、つまり攪拌を要することから、より象牙質に振動を与えて充填するためにエレクトリックアジテーターを試作し (以下、試作アジテーター)、攪拌操作の違いによる象牙質引張り接着強さを測定した。

【材料および方法】

供試材料：供試した材料は自己接着フロアブルコンポジットレジンである Fusio を用いた。条件として象牙質に充填・接着させる際に添付文書通り、needle tip で 20 秒間攪拌する群 (通常攪拌群)、needle tip を象牙質に触れさせず攪拌しないで充填した群 (無攪拌群)、試作アジテーターで 10 秒間攪拌した群 (試作アジテーター群) の 3 つのグループに分け、接着強さ試験に供した。

引張り接着強さ試験：ヒト新鮮抜去歯の象牙質を用い、#600 の耐水研磨紙で研磨し、平坦化した象牙質上に内径 3.0mm のテフロンモールドを固定し、Fusio を填入し、各群の条件下で攪拌処理を行い、光照射を側方から 10 秒間、象牙質に垂直に 10 秒間行い重合させた。作製した試料片は、37°C 蒸留水中に 24 時間保管後、万能試験機 (EZ Graph、SHIMADZU) により引張り接着強さ (MPa) を測定した。測定は各試料について 20 回行い、一元配置分散分析と Scheffé の多重比較検定 ($p < 0.05$, $p < 0.01$) を行った。

【結果および考察】

通常攪拌群は 6.36 ± 2.29 MPa (mean \pm SD)、無攪拌群は 5.38 ± 2.16 MPa、試作アジテーター群は 8.56 ± 3.57 MPa であった (図 1)。試作アジテーター群が通常攪拌群や無攪拌群と比較して有意に増加したことから、試作アジテーターは Fusio の象牙質に対する自己接着能の増強に寄与することが示唆された。電気モーターによる振動は象牙質表面に伝達され、Fusio 中の酸性モノマーをより多く反応させた可能性がある。また、Fusio と接している状態で擦られた象牙質の脱灰が促進された可能性も推測できる。しかし、試作アジテーター群の SD は大きかった。強い振動がレジン内に気泡を作り、その大きな気泡部で破壊していたものもあったことから、単に強い振動を作用させただけでは安定した接着強さの獲得は困難と思われる。これらのことから、試作アジテーターはゼロステップコンポジットレジン接着システムの接着強さを増強させたが、出力・振動数に関しては再考の余地があると思われる。

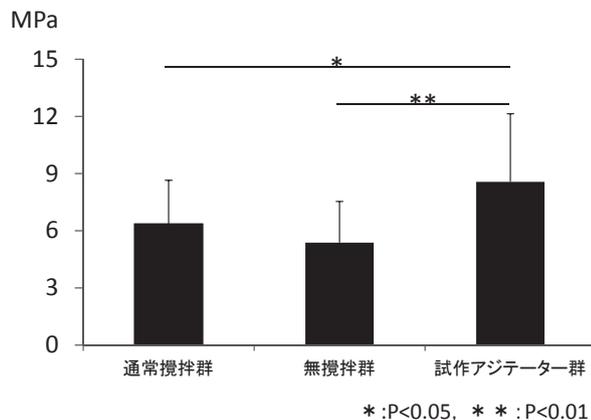


図 1 Fusio の象牙質に対する引張り接着強さ試験の結果

歯頸部摩耗症象牙質に対するオールインワン接着システムの初期引張接着強さ

¹日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座、²日本歯科大学附属病院総合診療科

³ハーバード大学歯学部-フォーサイス研究所

○小川信太郎¹、原 学¹、新田俊彦²、貴美島 哲¹、柵木寿男¹、
奈良陽一郎^{1,3}、I. L. Dogon³、勝海一郎¹

Immediate tensile bond strengths of all-in-one adhesive systems to dentin of cervical wear lesions

¹Dept. of Endodontics and Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

²General Dentistry, The Nippon Dental University Hospital at Tokyo, ³Harvard School of Dental Medicine - The Forsyth Institute

○OGAWA Shintaro¹, HARA Manabu¹, NITTA Toshihiko², KIMISHIMA Tetsu¹, MASEKI Toshio¹,
NARA Yoichiro¹, DOGON I.L.³, KATSUUMI Ichiroh¹

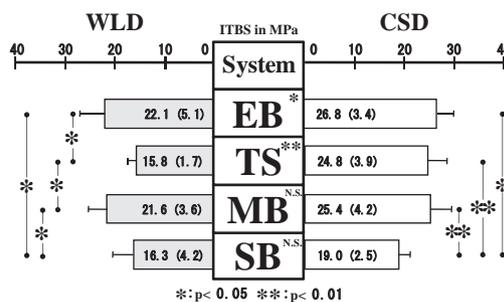
【研究目的】 今日、簡便な操作性と高次元の歯質接着性を有するオールインワン接着システムの研究開発が進み、臨床においても広く普及している。さて、臨床において遭遇頻度の高い歯頸部摩耗症象牙質を有する症例は、エナメル質の偏在、石灰化が亢進した象牙質の存在、歯肉への近接、咬合応力の集中などの諸条件が重なり、良好な歯質接着の獲得に難点を有することが知られている。そこで本研究では、オールインワン接着システムの臨床的な接着能力を明らかにすることを目的に、接着対象歯面を歯頸部摩耗症象牙質に求め、接着操作直後の引張接着強さを測定することによって評価検討した。

【材料および方法】 オールインワン接着システムとしては1ボトル1ステップ型の2システム、すなわち Adper Easy Bond Self-Etch Adhesive (EB:3M ESPE 社)、Clearfil Tri-S Bond (TS:クラレメディカル社)、また対照システムとしては2ステップ型セルフエッチングプライマーシステムの Clearfil Mega Bond (MB:クラレメディカル社)と2ステップ型セルフプライミングアドヒーズシステムの Single Bond (SB:3M ESPE 社)を用いた。被験歯には0.1%チモール水溶液中に保存した、中等度の歯頸部摩耗症象牙質(WLD)を有するヒト抜去上顎犬歯・小白歯および歯頸部に実質欠損や齶蝕を認めないヒト抜去健全上顎犬歯・小白歯を選択し用いた。まず、WLD に対し注水下における低速回転ポリッシングブラシによる清掃を行った後、製造者指定の方法に準じ、各システムによる歯面処理を行った。一方、健全歯に対しては、中等度の大きさとなる歯頸部規格化V字状窩洞を形成し、切削健全象牙質(CSD)のみで構成された歯肉側壁を各システムによって歯面処理した。その後、WLD と CSD の被処理象牙質面中央部に対し、*in vivo/in vitro* 両用小型接着試験装置を用いた直径1.0mm 円形被着面規定による初期引張接着強さ(ITBS)の測定を行った。得られた測定値(n=8)については、象牙質と接着システムの違いを因子とする分散分析、Tukey の q 検定による水準間多重比較、および t 検定を行った。なお、ITBS 値は被着象牙質面に対する接着操作後2分間以内の直後値である。

【成績】 図に4システムのWLDならびにCSDに対する平均ITBS (s.d.) 値を示す。統計学的分析の結果、象牙質の違いならびにシステムの違いはITBS 値に対し、それぞれ危険率1%で有意な影響を及ぼしていることが判明した。特に、EB と TS の WLD に対する ITBS 値は CSD に対する同値に比べ有意に小さいものの、MB と SB による両値は同等であった。さらに、EB の WLD に対する ITBS 値は SB の同値に比べ有意に大きく、かつ MB の同値と同等であった。また、TS の WLD に対する ITBS 値は MB の同値に比べ有意に小さく、かつ SB の同値と同等であった。一方、EB と TS の CSD に対する ITBS 値は SB の同値に比べ有意に大きく、かつ MB の同値と同等であった。なお、MB の WLD・CSD に対する ITBS 値は SB の両同値に比べ有意に大きな値であった。

【考察および結論】 本実験の結果、セルフエッチ系レジン接着システムの進化型システムともいえる1ボトル1ステップ型のオールインワン接着システムは、接着対象が象牙質面である場合には、従来の2ステップ型セルフエッチングプライマーシステムや2ステップ型セルフプライミングアドヒーズシステムに比べ、象牙質の違いによる影響を強く受けることが判明した。さらに、CSD と比較して、構造的には象牙質細管の狭窄や閉鎖が認められ、質的には石灰化・耐酸性の亢進が生じているWLDを被着体とする場合には、今回検討したオールインワン接着システムによっても接着強さ獲得の難しさが確認できた。また、オールインワン接着システムのWLDに対する接着能力は、過去の研究報告によって優れた歯質接着性を有するとの評価を得ている2ステップ型セルフエッチングプライマーシステムのMBと同等の接着強さ獲得能を具備するシステムの存在が明らかとなった。オールインワン接着システムに対する今後の検討課題としては、健全象牙質のみならず、多様な硬組織疾患の影響を受けた臨床的修復対象歯質に対しても信頼性に長け、さらに苛酷な口腔内環境下においても強靱な接着性を維持し続ける能力の兼備が挙げられる。

なお、ヒト抜去歯の使用に関しては日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認を得た。



*: p < 0.05 **: p < 0.01
Immediate tensile bond strengths of four adhesive systems to two types of cervical dentin

新規セルフエッチングプライマー (SBP-40TX) のエナメル質及び象牙質に与える影響

北海道医療大学口腔機能修復再建学系歯周歯内治療学分野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

○湯本泰弘¹、伊藤修一²、粟倉あずさ¹、山崎厚¹、斎藤隆史²、古市保志¹

Effect of newly developed Self Etching Primer (SBP-40TX) on enamel and dentin

Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido¹

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido²

【研究目的】

近年、様々な接着システムが新規開発され臨床に広く用いられている。接着システムの品質と信頼性を向上させるためには歯面処理が重要な役割を担っており、特に歯に対する侵襲性が低く、かつ臨床的に十分な接着力が得られる歯面処理剤が求められている。

最近接着性レジンセメントの歯面処理において、エナメル質に対するリン酸エッチング処理および象牙質に対するクエン酸処置に変わる新たな低侵襲性歯面処理剤として酸性モノマーを使用したセルフエッチングプライマーが注目されている。従来の歯面を酸処理するシステムと比較して、セルフエッチングプライマーはエナメル質に対しては低侵襲性であり、象牙質に対してはスマイヤ層を溶解しながら歯質に浸透していくためレジンが未含浸な脱灰象牙質が出来にくいといった長所がある。

本研究では、4-META を成分に含む新規セルフエッチングプライマー (以下 SBP-40TX、サンメディカル) のエナメル質及び象牙質に与える影響を評価することを目的とした。

【材料および方法】

北海道医療大学歯科内科クリニックに来院した患者で、治療上抜歯が必要と診断され抜去した単根歯を実験に用いた。なお、患者には抜去歯が今回の研究に用いられることをあらかじめ説明し同意を得た。

エナメル質に対する影響を評価するために、従来のリン酸エッチングシステム (サンメディカル) および SBP-40TX を実験に使用した。予め拡大鏡でエナメル質に問題が無いことを確認した計 10 歯を用いて、SBP-40TX を頬側エナメル質にスポンジで 20 秒間作用させ乾燥した群、および 20%リン酸を頬側エナメル質にスポンジ 20 秒間作用させ水洗乾燥した群にランダムに分けた。歯面処理後のエナメル質をイオンコーターで金蒸着後に走査型電子顕微鏡 (SSX-550、島津製作所) で表面観察を行った。

根管内象牙質に対する影響を評価するために、計 10 歯をダイヤモンドポイントを用いて髓腔開抜後、根管拡大用ニッケルチタンファイル ProTaper® (デンツプライ三金) を用いてメーカーの指示通り F3 ファイルまで拡大した。形成終了後に EDTA 含有根管洗浄剤 (スマアクリーン、歯科薬品) を 2 分間根管に作用させた後、10%次亜塩素酸ナトリウム (ネオクリーナー、ネオ製薬) にて根管洗浄し、ペーパーポイントで乾燥を行った。アクセルと SBP-40TX を 1 対 1 で混和した混合液で根管を処理後、歯を分割し上記方法に従い走査型電子顕微鏡で根管内象牙質観察した。コントロール群として、従来のアクセル処置+クエン酸処理を行った試料も同様に評価した。また、歯面処理後の根管をスーパーボンド根充シーラーと GC ガッタパーチャポイント (GC) で根管充填し、接着界面の観察も行った。

【結果・考察】

SEM 観察において、リン酸処理したエナメル質表面ではエナメル小柱の過度な露出が認められるが、SBP-40TX ではエナメル質の経度の陥凹を認めるに留まった。また、象牙質に対しても象牙細管形態を変化させることがなく、スーパーボンド根充シーラーで根管充填した象牙質には良好な樹脂含浸層を観察することができた。本研究結果より、新規セルフエッチングプライマー SBP-40TX は、既存の歯面処理方法と比較して歯面に与える影響が少なく、臨床的に良好な接着強さが得られる可能性が示唆された。

オール・イン・ワン・アドヒーズ前処置がレジンセメントの 象牙質接着強さに及ぼす影響

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野

○塩出信太郎、山路公造、高橋 圭、中田 貴、西谷佳浩、吉山昌宏

Effect of pretreatment with an all-in-one adhesive on dentin bond strengths of a resin cement

Department of Operative Dentistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and
Pharmaceutical Sciences

○Shintaro SHIODE, Kozo YAMAJI, Kei TAKAHASHI, Takashi NAKATA,
Yoshihiro NISHITANI and Masahiro YOSHIYAMA

【目的】

現在接着技術の進歩により様々な接着性レジンセメントが開発されている。PMMA系レジンセメントはエナメル質へのダイレクトボンディングのみならず、間接法による象牙質への接着にも臨床応用されている。また、近年では審美性への要求の高まりや硬質レジンの機械的性質の向上などからレジンインレー等で修復処置を行う機会も増加してきた。しかし、レジンインレー修復ではメタルインレー修復と比べて窩洞が深くなる傾向にあり、窩洞形成後に冷水痛などの不快症状を呈することがある。このような不快症状を防止するために象牙質に対しレジンコーティングを施すことがある。当教室では、トクヤマデンタル社から開発されたオール・イン・ワン・アドヒーズである BOND FORCE をコーティング材として着目した。しかし、ボンディング材をコーティング材として応用した場合の象牙質接着強さに及ぼす影響については、十分に検討されていないのが現状である。

そこで、本研究では象牙質に対する BOND FORCE による前処置が Multibond II (トクヤマデンタル) の象牙質接着強さに及ぼす影響について評価した。

【方法】

本研究では、レジンセメントとして Multibond II、オール・イン・ワン・アドヒーズとして BOND FORCE (トクヤマデンタル) を用いた。ヒト抜去大白歯の咬合面を研削して象牙質平坦面を作成し、#600 の耐水研磨紙で研磨した。被着体として硬質レジン (PEARLESTE, トクヤマデンタル) を用いた。硬質レジンをメーカー指示通り硬化させた後に、サンドブラスト処理を施しシランカップリング材 (CERAMIC PRIMER, トクヤマデンタル) を用いて表面処理を行った。象牙質表面を BOND FORCE で前処理したものをコーティング (+) とし、処理しないものをコーティング (-) とした。その後、いずれの群もメーカー指示通りに Multibond II を用いて硬質レジンを合着した。作製した試料を 37°C の水中に 24 時間浸漬させた後、接着界面に垂直で断面が 1×1mm の角柱になるように精密低速切断機 (Isomet, Buehler) でトリミングした。EZ Test (Shimadzu) (クロスヘッドスピード 1mm/min) を用いて微小引張り試験を行った。得られたデータは Mann-Whitney 検定を用いて統計学的検定を行った。

【成績および考察】

測定した各条件における微小引張り試験の結果を示す。

	コーティング(+)	コーティング(-)
象牙質接着強さ(MPa)	25.1±3.6 ^a	20.2±2.5 ^b

異なる文字間は統計学的有意差あり(P<0.05) (n=10)

コーティング (+) の象牙質接着強さは、コーティング (-) と比べて有意に高い値を示した。また、破断面形態はいずれの群も混合破壊の割合が最も多かった。しかし、コーティング (+) はコーティング (-) より硬質レジンと Multibond II の間での界面破壊が多かった。また、象牙質接着界面の走査型電子顕微鏡 (DS-720, Topcon) での観察によりコーティング (+) はコーティング (-) と比較して明確な樹脂含浸層やレジンタグの形成が観察された。これは、あらかじめ BOND FORCE を用いてコーティングすることにより、レジンタグが形成され Multibond II の象牙質接着強さが向上したことが考えられる。

以上の結果、Multibond II を用いて硬質レジンを合着する場合、オール・イン・ワン・アドヒーズである BOND FORCE を用いて象牙質表面を処理することにより、象牙質接着強さが向上する可能性が示唆された。

【結論】

オール・イン・ワン・アドヒーズを用いてレジンコーティングを施すことにより、レジンセメントの象牙質接着強さが向上する可能性が示唆された。

Er, Cr:YSGG Laser 窩洞に対するコンポジットレジンの微小引張り接着強さ

¹日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

²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

○加藤 千景¹、新海 航一¹、平 賢久²、鈴木 雅也¹、加藤 喜郎¹

Micro-tensile Bond Strength of Resin Composite to Cavities Prepared Using Er, Cr:YSGG Laser

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

²Advanced Operative Dentistry・Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University

○Kato Chikage¹, Shinkai Koichi¹, Taira Yoshihisa², Suzuki Masaya¹, Katoh Yoshiroh¹

【目的】

第131回秋季学術大会にて Er, Cr:YSGG Laser で窩洞形成を行うと象牙質表層に熱変性層様の層が形成された。これに対し各種表面処理を行うとその表面形態や厚み^が変化したり、消失したりすることが分かり詳細を報告した¹⁾。この層の存在や表面形態の差は、コンポジットレジン修復の接着強さに少なからず影響を与えるものと思われる。そこで本研究では、表面処理の違いによる接着強さについて検討を行った。

【実験方法】

ヒト抜去歯の咬合面を削除し、耐水研磨紙 #120~#600 で平坦な象牙質面(各群につき5歯)を形成した。次に Er, Cr:YSGG Laser (turbo hand piece, tip: MX5, 2.0W, 75%Water, 60%Air) を照射して切削面を作製し、透明アクリルチューブ(内径6mm、高さ3mm)を固定後、各種表面処理(表1)を行った。その後、Clearfil® Majesty® LV(A3, Kuraray, Japan)を厚さ約1mm塗布し20秒間光照射、次いで Clearfil® Majesty® (A3, Kuraray) を約2mm積層し40秒間光照射を行った。接着試料は恒温恒湿器中に24時間保管後、Isomet(Buehler, USA)により象牙質接合界面の断面積が1mm²となる角柱型ビームを作製した。ビームは微小引張り試験用治具(Bencor-multi-T試験器: Danville Engineering, USA)に取り付け、小型卓上試験機 EZ Test 500N (Shimadzu, Japan) にてクロスヘッドスピード0.5mm/min で微小引張り接着試験を行った(n=20)。得られた結果はANOVAとTukeyHSD検定による統計学的解析を行い、実験群間の有意差の検定を行った(p<0.05)。

【結果および考察】

各種表面処理方法による微小引張り接着強さを(表1)に示す。Er, Cr:YSGG Laser 使用群では Group 3 が最も高かったが Group 4、Group 6 との間にも有意差は見られず、リン酸やADゲルを併用した3群は比較的接着強さが高かった。一方、リン酸やADゲルを併用していない Group 1, 2, 5 は相対的に低い値となった。このことから、リン酸やADゲルによる処理を行ったほうが接着強さが高くなる^{ことが}分かった。

しかしどの群も Air-turbine 使用のメガボンド群に比べ優位に低い値となったことから、Er, Cr:YSGG Laser 窩洞の表面処理方法にはまだ追加検討し改善する余地があるといえる。

【参考文献】

- 加藤千景, 新海航一, 鈴木雅也, 平賢久, 小川正明, 加藤喜郎: Er, Cr: YSGG レーザー窩洞と Air-turbine 窩洞の形態学的ならびに組成学的比較検討, 日歯保学会2009年度秋季学術大会プログラムおよび講演抄録集, 135, 2009.
- 平賢久, 新海航一, 鈴木雅也, 加藤千景, 加藤喜郎: 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)ならびにハイドロキシアパタイト配合接着性レジンステムの象牙質接着強さに関する検討—塩化カルシウムと合成ペプチド配合量の関係について—, 日本歯科保存学会2009年度春季学術大会プログラムおよび講演抄録集, 104, 2009.

《表1》各種表面処理方法と微小引張り接着強さ

窩洞形成	実験群 (n=20)	表面処理方法	接着強さ MPa:mean(SD)
Er, Cr:YSGG Laser	Group 1 無処理	Mega bond Bondのみ→光照射(10秒間)→修復	22.0±11.0 ^a
	Group 2 メガボンド	Mega bond Primer(20秒間処理)→エアブロー →Mega bond Bond→光照射(10秒間)→修復	21.8±4.9 ^a
	Group 3 リン酸 メガボンド	K-etchant(30秒間処理)→水洗・乾燥 →Mega bond Primer(20秒間処理)→エアブロー →Mega bond Bond→光照射(10秒間)→修復	40.7±6.3 ^b
	Group 4 リン酸 ADゲル メガボンド	K-etchant(30秒間処理)→水洗・乾燥 →AD Gel(90秒間処理)→水洗・乾燥 →Mega bond Primer塗布(20秒間処理)→エアブロー →Mega bond Bond塗布→光照射(10秒間)→修復	39.0±10.0 ^b
	Group 5 トライエス	Tri-S bond(20秒間処理)→エアブロー →光照射(10秒間)→修復	29.4±9.6 ^{ac}
	Group 6 リン酸 ADゲル トライエス	K-etchant(30秒間処理)→水洗・乾燥 →AD Gel(90秒間処理)→水洗・乾燥 →Tri-S bond塗布(20秒間処理)→エアブロー →光照射(10秒間)→修復	34.8±9.0 ^{bc}
Air-turbine 【参考文献 ²⁾ 】	Control Group メガボンド	Mega bond Primer塗布(20秒間処理)→エアブロー →Mega bond Bond塗布→光照射(10秒間)→修復	52.7±8.7

Clearfil Mega bond (Kuraray), Clearfil Tri-S bond (Kuraray) 同一文字は有意差なし (P>0.05)
K-etchant (37%リン酸水溶液, Kuraray), AD Gel (10%NaClO Gel, Kuraray)
光照射器 (Candelux, Morita, Japan) ポンディング: 800mW/cm², 修復: 200mW/cm² (10秒) →600mW/cm² (30秒)

1 ボトル 1 ステップシステムの Er:YAG レーザー照射歯質に対する接着
—サーマルサイクルがエナメル質接着強さに及ぼす影響—

大阪歯科大学歯科保存学講座

○ 岩田有弘, 初岡昌憲, 西田尚敬, 恩田康平, 福井優樹, 横田啓太, 小正玲子, 黄地智子, 山本一世

Tensile Bond Strength of One-bottle One-step Bonding Systems to Dental Hard Tissues Irradiated by Er:YAG laser

—Effect of Thermal Cycling on Enamel Bond Strength—

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

IWATA Naohiro, HATUOKA Yoshinori, NISHIDA Hisataka, ONDA Kohei, FUKUI Masaki, YOKOTA Keita,

KOMASA Reiko, OUCHI Tomoko, YAMAMOTO Kazuyo.

【緒言】

近年, 歯科用レーザーの応用が進み, 臨床においても様々な分野で使用されるようになってきた. 歯牙硬組織切削では, Er:YAG レーザーは特に優れた効果を示し, 臨床応用されている. 我々は第 130 回春季保存学会において, Er:YAG レーザー照射後のエナメル質および象牙質に対する 1 ボトル 1 ステップボンディングシステムにおける接着試験について報告を行った.

今回, 我々は接着強さの低下しなかった Er:YAG レーザー照射後のエナメル質に対し, サーマルサイクル負荷試験を行ったので報告する.

【材料および方法】

Er:YAG レーザー発振装置として Erwin[®]Adverl (モリタ製作所, 以下レーザー) を用いた. 照射条件を 100mJ, 10pps とし, 照射チップとして C600F を使用した. また先端出力は出力測定器 LaserMate-P (COHERENT) にて計測し, 規定した. また 1 ボトル 1 ステップボンディングシステムとして, G-BOND PLUS (GC, 以下 GP), CLEARFIL[®]S3BOND (クラレメディカル, 以下 TS), Adper[™]EASY BOND (3M, 以下 EB), BeautiBond (松風, 以下 BB) を使用した. 光重合型コンポジットレジンとして, CLEARFIL[®]AP-X (クラレメディカル) を使用した.

被験歯として牛歯を用い, エナメル質をモデルトリマーにて面出し後, 耐水紙 #600 まで研磨を行った. 被験歯をコントロール群とレーザー照射群に分け, レーザー照射群にはレーザー照射を行った. レーザー照射にはムービングステージを用い, 試料を 2.5mm/sec で移動させ, 6×6mm の範囲に均一に照射した. 製造業者指定の方法にて接着操作を行い, 各試料の被着面の接着面積は 3mm に規定した. 接着後 37°C 水中に 24 時間保管したのち, 歯頸部にて切断し, 歯髄を除去した. その後コントロール群およびレーザー照射群をそれぞれ, 24 時間後群とサーマルサイクル群に分けた. サーマルサイクル群は 5°C と 55°C の水中に 30 秒間ずつ 2000 回および 5000 回浸漬するサーマルサイクルを行った. 接着試験は万能試験機 IM-20 (INTESCO) を用い, クロスヘッドスピード 0.3mm/min にて引張強さの測定を行い, 平均値および標準偏差を算出した (n=10). 測定結果は一元配置分散処理および Tukey の検定により統計処理を行った (P<0.05). また試験後の破断面を通法通り金蒸着し SEM 観察を行った.

【結果および考察】

同一接着システムにおいて, コントロール群 24 時間後群とレーザー照射群 24 時間後群の間に有意差は認められなかった. また, GP を除いて, 他のシステムでは, サーマルサイクル 2000 回群ではコントロール群とレーザー照射群間に有意差は認められなかったが, すべての接着システムにおいて, サーマルサイクル 5000 回群では有意差が認められた. このことより, レーザー照射試料がストレス負荷に弱く, 接着耐久性に劣ることが示唆された.

		GP	TS	EB	BB
コントロール群	24時間後群	9.73	10.02	9.29	9.04
	サーマルサイクル2000回群	12.08	8.62	8.87	10.55
	サーマルサイクル5000回群	9.01	9.98	8.93	8.65
レーザー照射群	24時間後群	7.26	9.90	8.85	7.46
	サーマルサイクル2000回群	8.78	9.26	8.50	9.07
	サーマルサイクル5000回群	5.81	4.56	5.59	5.93

(MPa)

Er, Cr:YSGG レーザー一切削窩洞におけるコンポジットレジン修復物の窩壁適合性

¹ 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

² 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

○鈴木雅也¹, 新海航一¹, 平賢久², 加藤千景¹, 加藤喜郎¹

Adaptation of Resin Composite to the Cavities Prepared with Er, Cr:YSGG Laser

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

²Advanced Operative Dentistry · Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata,

The Nippon Dental University

○SUZUKI Masaya¹, SHINKAI Koichi¹, TAIRA Yoshihisa², KATO Chikage¹, KATOY Yoshiroh¹

【目的】

レーザー器機を用いた齲蝕除去・窩洞形成では、窩壁表層に残存する熱変性組織の影響によりコンポジットレジン修復物の接着性・適合性の低下が懸念される。本研究は、Er, Cr:YSGG Laser 一切削窩洞に対して各種表面処理を施した後コンポジットレジン修復し、温度負荷（サーマルストレス）を与えた場合の窩壁適合性を評価・検討した。

【材料および方法】

本研究は、日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得てから行った（許可番号:ECNG-H-39）。Er, Cr:YSGG Laser 装置は、Waterlase MD (Biolase Inc, USA) と turbo hand piece を用い、tip は MX5 (焦点径φ500 μm) を装着した。照射設定はエナメル質: 3.0~3.5W-Water75%-Air85%、象牙質: 2.0W-Water75%-Air60%の条件で、ヒト抜去歯（大白歯の頬・舌側面）に直径3mm、深さ2mmの窩底隅角の滑らかな箱型窩洞を形成した。窩洞に各種表面処理【表1】を施した後、象牙質面に Clearfil Majesty LV (A3, Kuraray, Japan) を充填、40秒間の光照射を行った。次いで、Clearfil Majesty (A3, Kuraray) で修復し、再度40秒間の光照射を行った。Air-turbine hand piece に diamond point (FG#440SS, Shofu, Japan) を装着し注水下にて同サイズの窩洞を形成、steel round bur (CA#2, Kavo Dent GmbH, Germany) で窩壁を整理し、Mega bond®で歯面処理した試料を対象群とした。試料は37℃・湿度95%で24時間保管後、最終研磨を Sof-Lex Disc (3M, USA) で行い、2日間以内に5℃⇄55℃のサーマルストレスを500回与えた（循環式電子冷熱装置、東洋製作: パーコテスター, 和田精密）。24時間保管後、各窩洞を歯軸方向に縦断し (Isomet, Buehler, USA)、切断面に1.0%アシッドレッドプロピレングリコール溶液 (Caries Detector, Kuraray) を数滴滴下し、5秒放置後水洗乾燥した。実態顕微鏡 (EZ4D, Leica, Germany) を用いて20倍で観察を行い、カラー写真で記録した。象牙質の色素侵入度（窩壁不適合度）について、写真上で象牙質の窩壁全周の長さとして色素侵入した窩壁の長さを測定し、百分率を算出して評価した (Image-Pro Express, Planetron Inc, USA)。結果は Kruskal-Wallis Test と Mann-Whitney U-test with Bonferroni correction で統計処理を行った (SPSS, SPSS Japan)。

【結果および考察】

各表面処理法による窩壁不適合度を【表1】に示す。Er, Cr:YSGG レーザー使用群では Group 4 が最も値が小さかった。K-etchant®や AD Gel®を併用しない群 (Group 1, 2, 5) では対象群より有意に大きい値となり (P<0.05)、これらすべての試料で色素侵入を認めた。

加藤ら¹⁾は、Er, Cr:YSGG レーザー一切削窩洞の窩壁象牙質表面には約10~20 μmの熱変性層が存在し、Group 4の表面処理によってこの接着阻害層を除去できることを報告している。歯科用接着材に K-etchant®と AD Gel®を前処理として併用することでコンポジットレジン修復物の象牙質窩壁適合性を改善できることが明らかとなった。なお、すべての実験群でエナメル質への色素侵入は認められなかった。

【参考文献】1) 加藤千景, 新海航一, 鈴木雅也, 平賢久, 小川正明, 加藤喜郎: Er, Cr: YSGG レーザー窩洞と Air-turbine 窩洞の形態学的ならびに組成学的比較検討, 日歯保学会2009年度秋季学術大会プログラムおよび講演抄録集, 135, 2009.

【表1】各種表面処理方法と窩壁不適合度

窩洞形成	実験群 (n=10)	表面処理方法	窩壁不適合度 %:mean (SD)
Er, Cr: YSGG Laser	Group 1 無処理	Mega bond Bondのみ→光照射 (10秒間) →修復	81.6 (13.9)
	Group 2 メガボンド	Mega bond Primer (20秒間処理) →エアブロー →Mega bond Bond→光照射 (10秒間) →修復	15.7 (11.4)
	Group 3 リン酸 メガボンド	K-etchant (30秒間処理) →水洗・乾燥 →Mega bond Primer (20秒間処理) →エアブロー →Mega bond Bond→光照射 (10秒間) →修復	7.1 (9.9) *
	Group 4 リン酸 ADゲル メガボンド	K-etchant (30秒間処理) →水洗・乾燥 →AD Gel (90秒間処理) →水洗・乾燥 →Mega bond Primer 塗布 (20秒間処理) →エアブロー →Mega bond Bond塗布→光照射 (10秒間) →修復	5.8 (8.0) *
	Group 5 トライエス	Tri-S bond (20秒間処理) →エアブロー →光照射 (10秒間) →修復	66.5 (18.8)
	Group 6 リン酸 ADゲル トライエス	K-etchant (30秒間処理) →水洗・乾燥 →AD Gel (90秒間処理) →水洗・乾燥 →Tri-S bond塗布 (20秒間処理) →エアブロー →光照射 (10秒間) →修復	15.6 (16.1) *
Air-turbine	Control Group メガボンド	Mega bond Primer 塗布 (20秒間処理) →エアブロー →Mega bond Bond塗布→光照射 (10秒間) →修復	1.4 (2.2) *

Clearfil Mega bond (Kuraray), Clearfil Tri-S bond (Kuraray) *有意差なし (P>0.05)
K-etchant (37%リン酸水溶液, Kuraray), AD Gel (10%NaClO Gel, Kuraray)
光照射器 (Candelux, Morita, Japan) ボンディング: 800mW/cm², 修復: 200mW/cm² (10秒) →600mW/cm² (30秒)

ハイフロータイプフロアブルレジンの基本的諸性質

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,
松崎デンタルオフィス³, 福本歯科医院⁴

○ 高見澤俊樹^{1,2}, 太田舞子¹, 渡邊孝行¹, 前田 徹¹, 色川敦士^{1,2},
角野奈津¹, 宮崎真至^{1,2}, 松崎辰男³, 福本敬一⁴

Mechanical Properties of Newly Developed High Flow Resin Composites

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Matsuzaki Dental Office³, Fukumoto Dental Clinic⁴

○ TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, OOTA Maiko¹, WATANABE Takayuki¹, MAEDA Toru¹, IROKAWA Atsushi^{1,2},
SUMINO Natsu¹, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, MATSUZAKI Tatsuo³, FUKUMOTO Keiichi⁴

【研究目的】

歯質接着システムの進歩によって、光重合型コンポジットレジンの使用頻度が増加するとともに応用範囲も広がっている。とくに、フロアブルタイプのコンポジットレジンは、操作性に優れるところから日常臨床には欠くことのできない材料のひとつになっている。フロアブルレジンはその応用範囲の向上を目的としてフィラー含有量やレジンモノマーなどが改良され、機械的性質および操作性の向上が図られている。そこで演者らは、最近市販されたハイフロータイプのフロアブルレジンの基本的諸性質について評価を行った。また、レジン硬化物のフィラー形状について走査電子顕微鏡（以後、SEM）観察を行い考察資料とした。

【材料および方法】

供試したフロアブルレジンは、Estelite Flow Quick High Flow（Tokuyama Dental, 以後 EF）および Beautiful Flow Plus F03（Shofu, 以後 BF）の2製品とし、ユニバーサルタイプのコンポジットレジンとして Estelite Σ Quick（Tokuyama Dental, 以後 EQ）および Beautiful II（Shofu, 以後 BII）の2製品をこれらのフロアブルレジンの対照として用いた。

評価項目については、以下の6項目について検討した。

- 1) 無機フィラー含有量 (wt %)
- 2) 熱膨張係数
- 3) 曲げ強さおよび曲げ弾性率
- 4) 体積重合収縮率 (vol %)
- 5) レーザー顕微鏡を用いたコントラクションギャップの観察
- 6) レジン硬化物のフィラー形状の SEM 観察

【成績および考察】

供試したフロアブルレジンの無機質フィラー含有量は、61.8~65.4 wt %の値を、熱膨張係数は、 $38.2\sim 48.4 \times 10^{-6}/^{\circ}\text{C}$ の値を示した。一方、ユニバーサルタイプのコンポジットレジンの無機質フィラー含有量は、67.4~77.2 wt %の値を、熱膨張係数は、 $34.7\sim 41.1 \times 10^{-6}/^{\circ}\text{C}$ の値を示した。また、フロアブルレジンの曲げ強さは、ユニバーサルタイプと同等の値を示した。一方、照射開始から180秒後のフロアブルレジンの体積重合収縮率は、ユニバーサルタイプに比べて大きい値を示した。このことからハイフロータイプのフロアブルレジンは、優れた機械的性質を有するものの、重合収縮率は高いため、臨床使用の際にはこれらの諸性質を十分勘案する必要性が示唆された。一方、重合収縮応力についてはフロアブルレジンで低いことが報告されているところから、今後の検討課題であると考えられた。

【結論】

本実験の結果から、供試したフロアブルレジンの基本的諸性能は、製品によって異なることが示された。また、フロアブルレジンは、ユニバーサルタイプのコンポジットレジンに比較して、その曲げ強さは同等の値を示したものの、重合収縮挙動に関しては異なるものであり、臨床応用にあたって留意が必要であることが示唆された。

低収縮コンポジットレジンの重合収縮応力

鶴見大学歯学部歯科保存学第一講座
山本雄嗣, 久保田 祐, 桃井保子

Polymerization contraction stresses of low shrinking resin composites
Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine
YAMAMOTO Takatsugu, KUBOTA Yu, MOMOI Yasuko

【緒言】 コンポジットレジンの重合収縮応力は、レジン・歯質の変形や辺縁部の間隙形成を起こしうる。この重合収縮応力の低減を目的として、低重合収縮を示すコンポジットレジンが開発されている。本研究では、低重合収縮を示す数種類のコンポジットレジンの重合収縮応力を、亀裂を導入したガラスモールドを用いた方法を用いて測定し、加えて重合収縮率と弾性率を測定し、検討した。

【材料および方法】 評価対象としたコンポジットレジンは、メーカー表示の収縮率が比較的低い Clearfil Majesty Posterior (クラレメディカル)と Reflexions (Bisco)であり、比較対象レジンは収縮応力が低い Heliomolar (Ivoclar Vivadent)である。

1. 重合収縮応力の測定 $\phi 3 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ の円柱窩洞を有する $\phi 12 \text{ mm}$ のドーナツ型ガラス円盤 ($K_c = 0.61 \text{ MPam}^{0.5}$) をモールドとした。窩縁から 200, 300, 400, 500 μm 離れたガラス面に亀裂を導入し、その長さを測定した。シラン処理した窩洞内にコンポジットレジンを一挙充填し、光照射を行なった ($540 \text{ mW/cm}^2 \times 45 \text{ 秒}$)。照射後 2 分および 10 分経過時に亀裂の長さを再度計測し、亀裂先端周囲に発生した重合収縮応力を算出した¹⁾。応力値は三元配置分散分析を用いて、有意水準 5% にて統計学的比較を行った。また各測定点での応力値を回帰分析し、接着界面での応力値を推定した。

2. 重合収縮率の測定 体積測定器 (AcuVol, Bisco) を用いて、照射後 2 分および 10 分経過時の、各コンポジットレジンの体積重合収縮率を測定した。なお照射条件は前述と同様とした。収縮率は二元配置分散分析および Tukey の多重比較を用いて、有意水準 5% にて統計学的比較を行った。

3. 弾性率の測定 各コンポジットレジンを $\phi 4 \text{ mm} \times 2 \text{ mm}$ の円柱金型に充填し、上面より前述と同様の光照射を行なった。その後、レジンの照射面を研磨し、超微小押し込み硬さ試験機 (ENT-1100a, エリオニクス) を用いて、弾性率を測定した。弾性率は一元配置分散分析および Tukey の多重比較を用いて、有意水準 5% にて統計学的比較を行った。

【結果および考察】 Heliomolar の値は、久保田らの報告²⁾から引用した。

材料		Clearfil Majesty Posterior		Reflexions		Heliomolar	
経過時間		2 分	10 分	2 分	10 分	2 分	10 分
収縮応力 (MPa)	500 μm	2.2 \pm 0.8	2.5 \pm 0.7	3.3 \pm 0.7	---	3.1 \pm 0.4	4.1 \pm 0.4
	400 μm	3.3 \pm 0.8	3.7 \pm 0.9	4.5 \pm 1.2	---	3.7 \pm 0.3	4.8 \pm 0.4
	300 μm	3.5 \pm 0.4	4.0 \pm 0.6	5.0 \pm 0.9	---	4.0 \pm 0.2	4.8 \pm 0.3
	200 μm	3.9 \pm 0.8	4.6 \pm 0.9	6.9 \pm 1.2	---	5.2 \pm 0.4	5.9 \pm 0.7
推定界面応力 (MPa)		5.1	5.9	8.8	---	6.3	6.7
重合収縮率 (vol.%)		1.5 \pm 0.2	1.6 \pm 0.1	1.7 \pm 0.3	1.8 \pm 0.1	2.5 \pm 0.4	2.5 \pm 0.5
弾性率 (GPa)		27.9 \pm 1.8		33.3 \pm 1.3		12.6 \pm 1.3	

両レジンのとも、Heliomolar よりも重合収縮率は有意に低く、弾性率は有意に高かった。収縮応力は、Heliomolar と比較して、Clearfil Majesty Posterior では低い値となり、反対に Reflexions では高い値となった。加えて Reflexions/10 分では、収縮応力によるガラスの破折が認められた。Clearfil Majesty Posterior は弾性率が高く、なおかつ収縮応力が小さいコンポジットレジンであり、収縮応力に起因する術後不快症状の出現防止に有効であることが示唆された。

1) 久保田 祐, 山本雄嗣: 接着修復直後に窩洞周囲の歯質に生じる応力; 日歯保存誌 51, 700-715, 2008.

2) 久保田 祐, 西出明史, 山本雄嗣, 桃井保子: 低重合収縮コンポジットレジンの重合収縮応力; 日本歯科保存学会平成 21 年度秋季大会 (第 131 回), 演題番号 P14.

レイヤリングテクニックの厚みが色彩に及ぼす影響

東京歯科大学 歯科保存学講座

○手銭親良 間 奈津子 中澤妙衣子 牛窪敏博 天谷哲也 中川寛一

Influence on the color of resin composite in the layering technique
Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College
○TEZEN Chikara AIDA Natsuko NAKAZAWA Taeko USHIKUBO Toshihiro AMAGAI Tetsuya
NAKAGAWA Kanichi

【目的】コンポジットレジン修復は日常臨床において多用され、それに伴い審美修復に対する研究が盛んに行われている。コンポジットレジン修復は天然歯に近い自然で審美的な修復を行うために積層充填を用いたレイヤリングテクニックの応用が有効である。そこで今回我々は、積層充填時のコンポジットレジンの厚みが色彩に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】コンポジットレジン、(トクヤマデンタル(株):茨城)シェード OA3、A1、A2、A3、B3 を使用した。試料はディスクの直径を 10mm、厚み 3.0mm とした。OA3 の厚さを 0、1.0、2.0、3.0mm とし、それぞれの試料に A1、A2、A3、B3 を積層し、厚み 3mm の試料を作製した。測色には微小面分光色差計 VSS300H (株)日本電色工業)を用い CIE1976L*a*b*表色系を用いて、XYZ と L*、a*、b*を求めた。背景には黒色板と白色板を用い、各々 3 回測色した。得られた L*、a*、b*値の各々の平均値から TP 値を、XYZ から CR 値を算出し、レジンの厚みが色彩に及ぼす影響を検討した。

【結果および考察】A3 シェードは、白色背景時、L*値と b*値が、厚みが増すにつれて低下した。厚み 3mm の試料で OA3 を併用したものは厚みに関係なく同等の値を示した。よって OA3 を併用することにより、オペーク効果が得られたと考えられる。黒色背景の A3 シェードの L*値は、白背景時より低い値を示した。A3 シェードは、OA3 が厚くなるにつれて L*値が上昇した。A3 シェードは、b*値も白色背景時よりも低い値を示した。A3 シェードの b*値は、OA3 の厚みが増すと上昇した。したがって、黒色背景時に白色背景時と同程度の色彩を表現するには、OA3 の厚みが 2mm 必要だと考えられる。

B3 シェードは、白色背景時、L*値と b*値は厚みが増すと低下した。OA3 を 2mm 介在した試料は、他の 3mm の試料に比べ高い値を示した。OA3 の厚みが増すと a*値は、増加した。A3 シェードに比べ B3 シェードは、黒色背景時の結果は、白色背景時と同等の結果が得られた。B3 シェードは、OA3 の厚みが 2mm 以上になると OA3 の色彩が強く表現されると考えられる。

TP 値は、各シェードで厚み 2mm 以上の時に 3.0 付近の値を示した。CR 値は、各シェードで厚み 2mm 以上の時に 1.0 に近似した値を示した。OA3 は、TP 値が 3mm で 1.50 の値であった。OA3 の厚みが薄くなるに伴い、TP 値は、全てのシェードで上昇した。CR 値は、OA3 で 0.97 であった。OA3 の厚みが薄くなるに伴い、CR 値は、全てのシェードで低下した。OA3 が厚くなると TP 値は、上昇し CR 値は 1.0 に近似した。

以上のことから、積層充填時に OA3 を併用することは、各シェードのコンポジットレジンの色彩を表現する上で有効である。しかし、OA3 が厚すぎると OA3 の色彩が、積層後の色彩に影響することが示唆された。

チタン材に接着した歯科用セメントの接着強さと熱膨張量の関係

松本歯科大学 歯科保存学第2講座¹⁾ 松本歯科大学 歯科理工学講座²⁾
河瀬 雄治¹⁾ 吉田 貴光²⁾ 佐藤 将洋¹⁾ 永沢 栄²⁾ 伊藤 充雄²⁾
内山 真紀子¹⁾ 安西 正明¹⁾ 山本 昭夫¹⁾ 笠原 悦男¹⁾

Relationship between bonding strength to bonded titanium and thermal expansion of bonding materials

Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University¹⁾

Department of Dental Materials, Matsumoto Dental University²⁾

Yuji Kawase¹⁾ Takamitsu Yoshida²⁾ Masahiro Sato¹⁾ Sakae Nagasawa²⁾ Michio Ito²⁾

Makiko Uchiyama¹⁾ Masaaki Anzai¹⁾ Akio Yamamoto¹⁾ Etsuo Kasahara¹⁾

【目的】

近年、口腔内に装着された修復物が原因と考えられる金属アレルギーが多く報告されている。そこでアレルギーを有する患者の修復物には生体親和性が高く、耐食性に優れているチタンが注目されている。チタン修復物との接着には歯科用セメントが使用されるが、セメントには多くの製品があり、最適なセメントの使い分けが困難である。また口腔内は、飲食による熱履歴が生じ、セメントの機械的性質に影響を及ぼすとされている。そこで、本研究は口腔内の温度変化を想定し、サーマルサイクル試験を行い、接着強さと熱膨張量を測定し、各種セメントの性質を検討した。

【材料および方法】材料は従来型セメント、グラスアイオノマー系レジンセメント、接着性レジンセメントを使用した。試験片は、温度 23°C、湿度 50% の恒温恒湿室にて作製した。引張せん断試験片はチタン板 (JIS2 種) を 2 枚使用し、セメントの皮膜厚さ 50 μm 、接着面積 25mm² になるように製作した。その後、万能試験機を用いてクロスヘッド速度 0.5mm/min にて、引張せん断強さと伸びを測定した。またブラスト処理の条件はアルミナサンドブラストを用いて 0.4MPa にて行い、ブラスト処理の影響についても検討した。熱膨張試験片は $\phi 8 \times 4\text{mm}$ の樹脂型を使用して製作し、蒸留水中にて 1°C/min の加熱速度で熱膨張率を測定した。またサーマルサイクル試験 (4°C-1min, 60°C-1min, 10000 回) を行った試験片についても、引張せん断試験および熱膨張試験を行った。剥離試験はチタン板上に皮膜厚さ 50 μm にて接着したセメントに対し、剥離試験機を用いて刃幅 0.5mm、水平速度 3 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 、垂直速度 0.3 $\mu\text{m}/\text{sec}$ の条件にて剥離強度を測定した。試験終了後、それぞれの試験結果について 2 元配置分散分析による統計処理を行った。

【結果】引張せん断強さと伸びは、レジン系が従来型より有意に大きい値を示した。またブラスト処理を行うことにより全てのレジン系セメントのせん断強さが有意に大きくなった。サーマルサイクル後のせん断強さは、レジン系で小さくなる傾向を示し、伸びはすべてのセメントで大きくなる傾向を示した。37°C における熱膨張率はレジン系が従来型より有意に大きい値を示した。またサーマルサイクル後の熱膨張率は小さくなる傾向を示した。剥離試験における接着材の表面強度は従来型が大きく、界面での剥離強度はレジン系が大きい値を示した。

【考察および結論】レジン系は従来型よりも熱履歴の影響が大きく、接着強さが著しく低下する材料が認められた。しかしながら、サーマルサイクル試験後においても、レジン系の接着強さは従来型セメントよりも有意に大きい値を示すことから、チタン修復物には有用であると考えられた。

試作レジンセメントの有効性に関する基礎的検討

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, 市石歯科医院³

○井上直樹¹, 吉田武史¹, 安田源沢¹, 天野紫乃¹, 森 健太郎¹,
池田昌彦¹, 安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 市石芳博^{1,3}

Mechanical Properties of Experimental Resin Cement for Luting

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²

Nihon University School of Dentistry, Ichiishi Dental Clinic³

○INOUE Naoki¹, YOSHIDA Takeshi¹, YASUDA Genta¹, AMANO Shino¹, MORI Kentaro¹,
IKEDA Masahiko¹, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, ICHIISHI Yoshihiro^{1,3}

【研究目的】

セラミックスなどで製作された審美性歯冠修復物の装着には、接着性レジンセメント（以後、レジンセメント）が応用されている。これらのレジンセメントに関しては、その接着性能については多くの報告がされている。しかし、口腔内環境における修復物の良好な予後を得るためには、その機械的性質も重要な因子となり、臨床使用の際にはこれらの特徴を考慮して製品を選択する必要がある。とくに、レジンセメントにおいては、口腔内に露出した部分における経時的な摩耗が問題視されており、これを解決する製品が望まれているのが現状である。

そこで今回演者らは、耐摩耗性の向上を主眼として開発された試作レジンセメントについて、その機械的性質として異なる被着体に対する接着性および耐摩耗性について、市販製品を対象として比較、検討を行った。

【材料および方法】

供試したレジンセメントは、試作レジンセメント MSM 007 (ジーシー)、G ルーティング (ジーシー)、パナビア F 2.0 (クラレメディカル) およびバリオリック II (Ivoclar Vivadent) の4種類である。

被着体としては、ジルコニア、アルミナ、ウシエナメル質および象牙質とした。各被着体に対する表面処理は、セラミックスではサンドブラスト処理を行い、ウシエナメル質および象牙質では、SiC ペーパーの#600まで研削し、超音波洗浄を5分間行い被着面とした。これらの被着面に対して、製造者指示条件に従って練和した。次いで、セメント泥を被着面においた型に填塞し、硬化させた。これら接着試片は、照射後直ちに37℃精製水中に24時間浸漬した。

所定の保管時間が終了した試片について、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。なお、接着試片の数は、それぞれ10個とし、それぞれ平均値と標準偏差を求め、有意水準5%の条件で統計学的検定を行った。接着試験後の破壊面について分類を行うとともに、その一部についてはSEM観察を行った。

レジンセメントの機械的性質としては、熱膨張係数およびフィラー含有量の測定を行うとともに、衝突摩耗試験機を用いて耐摩耗性についても検討を行った。衝突摩耗試験においては、レーザー顕微鏡 (Laser scanning microscope, VK-9710, Keyence) を用いて、その最大摩耗深さを測定することによって、各レジンセメントの摩耗量とするとともに、セメント表面の3Dイメージ像を比較、検討した。

【成績および考察】

供試した試作レジンセメントの接着強さは、他のレジンセメントと比較して高い接着強さを示した。しかし、熱膨張係数は $59.1 (x 10^{-6})$ と3製品に比べ高い数値であり、フィラー含有量は 55.3 wt% と最も低い数値を示した。衝突摩耗試験の結果からは、製品によってその摩耗量および摩耗形態は異なるものであった。以上の結果より耐摩耗性の向上においては、フィラーの形状および粒径の違いが影響を及ぼしている可能性が示唆された。

【結論】

本実験の結果から、今回使用した試作レジンセメントは比較した3製品よりも優れた接着性能を有しているものの、耐摩耗性に関しては、製品間によって異なるものであった。今後、レジンセメントに含有されているフィラーの種類および形態などについて、さらに詳細な検討が必要であると考えられた。

仮着用セメントの除去法が象牙質の表面自由エネルギーに及ぼす影響

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, 佐藤歯科³
○瀧本正行¹, 黒川弘康^{1,2}, 土屋博昭¹, 小倉由佳理¹, 高見澤俊樹^{1,2},
大山幸治¹, 安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 佐藤幹武^{1,3}

Influence of Temporary Cement Removal Methods on Surface Free Energy of Dentin
Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Sato Dental Clinic³

○TAKIMOTO Masayuki¹, KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, TSUCHIYA Hiroaki¹, OGURA Yukari¹
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, OYAMA Koji¹, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, SATO Mikitake³

【研究目的】

暫間修復物の装着には、仮着用セメントが用いられている。この、仮着用セメントが歯面に残留すると、最終歯冠修復物の装着に用いられるセメントの歯質接着性に影響を及ぼすとされている。そのため、仮着用セメントの除去法は歯質接着性に影響を及ぼす可能性はあるものの、その詳細については不明である。

そこで演者らは、仮着用セメントの除去法が歯質接着性に及ぼす影響について、界面科学の観点から検討を加えることとした。すなわち、仮着用セメント除去後の象牙質における表面自由エネルギーを測定するとともに、走査電子顕微鏡(以後、SEM)を用いてその残留状態を観察した。

【材料および方法】

仮着用セメントとしては、テンポラリーセメントハード(松風, 以後 TH), テンポラリーセメントソフト(松風, 以後 TS)およびテンポラリーパック(ジーシー, 以後 TP)の, 合計 3 製品を使用した。なお、仮着操作を行うことなく保管した試片をコントロールとした。

1. 表面自由エネルギー測定用試片の製作

ウシ下顎前歯歯冠部の象牙質平坦面を SiC ペーパーの#600 まで研削をし、これを試片とした。これらの試片に対して、仮着用セメントを製造者指示条件に従って練和し、暫間修復物を想定したレジン板に塗布した後、荷重 5 N で仮着を行い、37°C 精製水中に 1 週間保管したものを仮着試片とした。所定の保管期間が経過した後、仮着試片からレジン板を撤去し、歯面に残留した仮着用セメントを以下の条件に従って除去を行い、表面自由エネルギー測定用試片とした。

- 1) 探針を用いて残留した仮着用セメントを可及的に除去した(以後, EP 群)
- 2) 探針を用いて仮着用セメントを除去した後、マイクロモーターに歯面研磨ブラシを装着し、注水下にて回転 5,000 rpm で 15 秒間清掃を行った(以後, BR 群)
- 3) 注水下で、超音波スケーラーのチップ先端を歯面に水平に接触させ、15 秒間清掃を行った(以後, UL 群)

2. 表面自由エネルギーの測定

表面自由エネルギーの各成分が既知の液体として 1-プロモナフタレン, ジョードメタンおよび精製水を使用した。接触角の測定は、全自動接触角計(Drop Master, DM500, Kyowa Interface Science)を用い、セシルドロップ法でそれぞれの液滴を 1 μ L 滴下し、 $\theta/2$ 法で測定を行った。得られた接触角から拡張 Fowkes の理論式を用いて、象牙質における表面自由エネルギーとして、分散力、双極子および水素結合成分をそれぞれ算出した。

3. SEM 観察

仮着用セメントの残留状態については、通法に従って試片を製作し、SEM 観察を行った。

【成績および考察】

仮着材除去後の表面自由エネルギーは、いずれの条件においても仮着を行っていない試片と比較して有意に低い値を示した。また、除去法の違いにおいては、EP 群と比較して BR および UL 群の表面自由エネルギーは有意に高くなった。製品間で比較すると、TP における表面自由エネルギーは、他の製品と比較していずれの条件でも小さくなる傾向を示した。このように、仮着用セメント除去後の表面自由エネルギーは、仮着用セメントに含まれる成分あるいは残留状態に影響を受けた可能性が考えられた。

【結論】

仮着用セメントの除去法は、象牙質の表面自由エネルギーに影響を及ぼすことが示された。また、仮着用セメント除去後の象牙質における表面自由エネルギーは、製品の種類によって異なることが判明した。

試作レジンコーティング材とレジンセメントのせん断接着強さ

¹ 日本大学大学院松戸歯学研究科う蝕抑制審美治療学

² 日本大学松戸歯学部う蝕抑制審美治療学講座

³ 中国西安交通大学口腔医院修復科

○周 秦^{1,3}, 関根哲子¹, 平山聡司², 森俊幸², 藤田(中島)光², 池見宅司²

Shear Bond Strength of Experimental Resin Coating Material to Resin Cements

¹Department of Dental Caries Control and Aesthetic Dentistry, Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo

²Department of Dental Caries Control and Aesthetic Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

³Department of Prosdontics, Stomatological Hospital, Xi'an Jiaotong University

Zhou Qin^{1,3}, Sekine Satoko¹, Hirayama Satoshi², Mori Toshiyuki², Fujita(Nakajima) Kou², Ikemi Takuji²

【目的】レジンコーティングを主目的としたハイブリッドコート (HyC、サンメディカル) のアクリル酸エステル (Ac) とトリメチロールプロパントリメタクリレート (TMPT) の配合比を変えて、象牙質とのせん断接着強さ検討した結果、Ac と TMPT をそれぞれ 67%、33%の重量比で配合した試作レジンコーティング材において、より高い接着強さが得られた報告を前回行った。しかし、レジンコーティング材のもう一つの重要な所要性質として、インレーの接着に使用されるレジンセメントとの強固な接着強さが求められる。そこで、今回は本試作レジンコーティング材と3種類のセメントとのせん断接着強さと破壊様式について調べることを目的として、実験を行った。

【材料および方法】本実験では試作レジンコーティング材に適したセメントの種類を調べるために、被着体には合着体と同一のセメントを使用し、接着材として HyC および試作レジンコーティング材を用いて試験体を作製した。

1. 試料の作製：常温重合レジンにて円筒形の重合体を作製し、その上部中央に直径 4mm 深さ 3mm の内開き形の窩洞形成を行った。窩洞内に市販のレジンセメントを充填し、カバーガラスをセメント表面に設置後、重合硬化させて被着体試料とした。使用したレジンセメントはスーパーボンド (サンメディカル)、パナビア F-2.0 (クラレ)、G-CEM (GC) を使用した。被着体表面に HyC および試作レジンコーティング材 (67%Ac : 33%TMPT、33%Ac : 67%TMPT、0%Ac : 100%TMPT) を塗布し、通法に従って光重合を行った。試料を 1 週間 37°C 水中に保管後、直径 3.2mm 厚さ 2mm のシリコンリングを貼付して被着体と同一のレジンセメントを合着体として充填後、重合硬化した。光照射器は G ライトブリマ (GC) を使用した。

2. せん断接着強さの測定：試験体を 37°C 水中に 24 時間保管後、インストロン型万能試験機 (TG-5KN, Minebea) に設置し、クロスヘッドスピード 1.0mm/min にてせん断接着強さを測定した。試料数は各々 10 とし、有意差検定は Tukey-Kramer ($p < 0.05$) にて行った。

3. 破断面の観察：せん断接着強さ試験後の破断面の観察は、実体顕微鏡 (ステレオズーム SZ-3003、アズワン) を使用して、3 次元的な観察を試み、I/M/C (interfacial, mixtural, cohesive failure) の破壊様式について調べた。

【結果および考察】せん断接着強さでは、スーパーボンドにおいて高いせん断接着強さが得られ、HyC および試作レジンコーティング材の全ての試料は 20MPa 以上の接着強さを示した。各群間に有意差は認められず、TMPT の配合量に影響されないものと推測され、33%Ac : 67%TMPT において最大値 23.0MPa が得られた。パナビアと G-CEM では HyC において有意に高い接着強さを示し、それぞれ 12.3MPa、16.6MPa であった。試作レジンコーティング材では TMPT の配合量が多くなるほど接着強さが低下した。破壊様式の I/M/C に関して、スーパーボンドは全ての試料において 0/0/40 が得られ、界面破壊は認められなかった。パナビアは HyC において 7/3/0 で、その他は 30/0/0 であった。G-CEM では HyC で 0/3/7、67%Ac : 33%TMPT で 1/3/6、その他は 29/1/0 であった。レジンセメントのせん断接着強さの違いは、各々の材質自体の強さにもよるために、その接着強さだけで本レジンコーティング材に対する適・不適を比較することは困難であるが、破壊様式と合わせて検討することで適・不適を比較できるものと考えた。使用したセメントの中では試作レジンコーティング材に適しているのは接着強さだけでなく、全てに凝集破壊を認めたスーパーボンドであることが判明し、その際 TMPT の配合量に影響されない事が示された。また、パナビアと G-CEM は試作レジンコーティング材に適していない事が示され、特に、パナビアでは接着力が弱く、ほとんどの試料で界面破壊を認めた。

審美性歯面コート材の細菌付着性

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学
○伊藤知佐 作 誠太郎 中川豪晴 下出 輝 藤井和夫 堀田正人

Bacteria Adhesion on esthetic coating materials

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

○Ito Chisa Saku Seitaro Nakagawa Takeharu Shimode Akira Fujii Kazuo Hotta Masato

【緒言】

近年、白く輝く歯に対するニーズが高まってきており、審美的要求の改善法として、様々な処置が施されている。歯面コート材は暫間的ではあるが審美的要求に対して、即日に対応できる材料であり MI 歯学の概念からも有用な処置法である。暫間的とは言うものの、耐久性がその予後に大きく関与することから、平成 21 年度春季大会（第 130 回）にて 4 種のドリンクと洗口剤に浸漬した際の劣化を走査電子顕微鏡（以下 SEM）にて観察し報告した。しかしながら、劣化した試料表面への細菌の付着性は観察していないことから、本実験では各種ドリンクおよび洗口剤に浸漬した後の試料表面への細菌付着性を SEM にて観察した。

【材料および方法】

1. 供試材料

本実験では酸反応性フッ素含有ガラスフィラー配合の歯面コート材であるビューティコート（松風，以下 BC）とホワイトコート（クラレメディカル，以下 WC）を使用した。なお、BC に関しては作製方法により、圧接群（以下 BCA）、グロスエフェクト群（以下 BCG）および研磨群（以下 BCP）について検討し、WC に関しては圧接群（以下 WCA）、トップコート群（以下 WCT）および研磨群（以下 WCP）について実験を行った。

2. 細菌付着性試験

各試料を専用のテフロン製型枠（直径 10.0mm、厚さ 1.0mm）に填入後、業者の指示どおり可視光線にて硬化させ、上記の表面処理群のものを各 5 個ずつ作製した。次に市販されているミネラルウォーター（以下 W）、ポカリスエット（以下 P）、コココーラ（以下 C）、ワイン（以下 WI）および洗口液であるリスチリン（以下 Li）に各試料を 14 日間浸漬し、各 5 個の試料片を取り出した後、PBS にて洗浄した。次に 10^7 CFU/ml に調整した *Streptococcus mutans* (ATCC35037, 以下 *S.mutans*) の菌液中にそれぞれ dipping した。2 時間経過後、通法に従い固定、乾燥、導電処理を施した後に、各試料表面の細菌付着状態を SEM にて観察した。

【結果】

各種ドリンクおよび洗口剤に浸漬した BCP 表面には研磨による粗造な所見が観察され、同様に WCP 表面にも粗造な所見が観察された。また、細菌付着性に関して、各種ドリンクおよび洗口剤間に相関関係は確認されなかったものの、WC に比較して BC 表面への細菌付着性が低い傾向にあった。

【考察およびまとめ】

今回用いた歯面コート材の表面を観察した結果、研磨した各試料（BC、WC）に研磨時に生じたと思われる粗造な表面状態が観察され、細菌付着性については、WC に比較して細菌付着性が低い傾向にあったことから、臨床での有用性が確認されたとともに、塗布後の処理方法としては研磨群にフィラーの脱落を思わせるような所見が認められたことから、臨床では研磨を回避するべきでないかと考えられた。

S-PRG フィラー含有イオン徐放性予防的歯面コーティング材の抗菌性

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学

○森川 貴史 作 誠太郎 渡辺 茂文 堀田 正人

Antibacterial Effect of Teeth Coating Material Including S-PRGfiller

Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Department of Operative Dentistry,

Asahi University School of Dentistry

○Morikawa Takashi Saku Seitaro Watanabe Shigefumi Hotta Masato

【緒言】

近年、抗菌性や抗プラーク性を有する歯科用材料が開発され、市販されている。中でも S-PRG フィラーはフッ素のリリース&リチャージ機能を有する多機能性ガラスフィラーであり、広く臨床に応用されている。そこで今回、我々は予防的に使用することを目的として S-PRG フィラー含有予防的歯面コーティング材を試作し、その効果を検討した。

【材料および方法】

1. 供試材料

本実験に供した材料は S-PRG フィラー含有イオン徐放性予防的歯面コーティング材である SI-R20607 (松風) であり、試料片の作製は、 $2 \times 2 \times 0.4$ mm の金型にベースレジン (A レジン) を填入後、可視光線にて重合させた後、試料全面に SI-R20607 を専用の刷毛で塗布し、再度、可視光線にて重合させたものを実験に用いた。また、コントロールとしては A レジンをを用いた。

2. 抗プラーク性試験

各供試材料を上顎第一大臼歯の湾曲に合わせて整形した後、頬側面にライナーボンド II (クラレメディカル) にて装着し、8 時間経過後に歯表面から取り出し、通法により固定、乾燥、導電処理後、走査電子顕微鏡 (S-4500, 日立, SEM) にて観察した。

3. 抗菌性試験

供試細菌は、*Streptococcus mutans* ATCC25175(*S.mutans*)を用いた。*S.mutans* を 10^7 CFU/ml に調整した後、各調整菌液中に各試料片を入れ、24 時間、 37°C 嫌気条件下で抗菌効果を検討した。菌数の測定は RTF を用いて 10 倍連続希釈を行った後、各希釈液の 0.1ml を TSBY 平面培地に滴下し、 37°C にて 4 日間嫌気培養を行った。培養後 100 個前後のコロニーの発育が認められた平面板を選んで生菌数を測定し、有意差検定を行った。

【結果】

まず初めに、SI-R20607 の表面観察を SEM にて行った。その結果、表面は平坦で凹凸は少なかった。次に口腔内に 8 時間装着した SI-R20607 表面の観察を行ったところ、コントロールに比較して細菌付着は少ない傾向にあった。抗菌性試験の結果、コントロールに比較して SI-R20607 に抗菌性が認められた。

【考察およびまとめ】

本実験では S-PRG フィラー含有イオン徐放性予防的歯面コーティング材である SI-R20607 の抗プラーク性および抗菌性を検討した。その結果、細菌付着が抑制される傾向にあり、抗菌性も認められたことから、う蝕を抑制する可能性を有する材料であり、う蝕感受性の高い患者への予防的処置に有用であると考えられる。

キシリトール洗口液および乳酸菌タブレットの唾液中ミュータンス菌レベルへの影響

○川守田暢 安田善之 新田督 田邊一成¹ 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 ¹たなべ保存歯科

Effects of xylitol mouthrinse and *Lactobacillus salivarius* tablet on *Streptococcus mutans* level in saliva

○Toru Kawamorita, Yoshiyuki Yasuda, Osamu Nitta, Kazunari Tanabe¹ and Takashi Saito
Division of Clinical Cariology and Endodontology, Departemnt of Oral Rehabilitation,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, ¹Tanabe Dental Clinic

【緒言】

キシリトールは、う蝕原因菌に酸を産生させない事から非う蝕性甘味料として使用されている。これまでに、キシリトール配合ガムを長期間摂取することで、唾液中の *Streptococcus mutans* 菌数が減少するという報告は多数あるが、キシリトールを主成分とした洗口液の唾液中 *S. mutans* 菌レベルへの影響に関する報告はほとんどない。また、乳酸菌は整腸や免疫増強などのプロバイオティクス療法に用いられ、その予防や治療効果において有効性があると報告されている。さらに、歯周病関連菌への抗菌作用も明らかとされており、乳酸菌によるう蝕、歯周病予防への期待が高まりつつある。そこで今回、キシリトール洗口液および乳酸菌 WB21 株タブレットを使用した際の唾液中 *S. mutans* 菌レベルに対する影響を調べその有用性を検討した。

【材料および方法】

キシリトールの *S. mutans* 菌増殖抑制効果:96well プレートに *S. mutans* 菌液を播種し、キシリトールを最終濃度 0.01%、0.1%、1%添加し、37°C、嫌気条件下にて 24 時間培養した。吸光度を測定し細菌増殖能への影響を調べた。

キシリトール洗口後の唾液中キシリトール残留濃度:今回の実験に対して同意を得た被験者に 5%キシリトール洗口液 10ml にて 1 分間洗口してもらい、10 分ごとに唾液 1ml を採取し、キシリトール残留濃度(mg/ml)を測定した。

キシリトール洗口の唾液中 *S. mutans* 菌レベルに与える影響:今回の実験に対して同意を得た被験者より洗口開始前唾液 1ml を採取した。洗口液 10ml にて 1 分間洗口、これを 1 日 3 回 4 週間継続してもらい、4 週間後唾液 1ml を採取した。MSKB 寒天培地を用い唾液中の *S. mutans* 菌数を測定し、洗口開始前と 4 週間後で比較検討した。

乳酸菌の *S. mutans* 菌増殖抑制効果:乳酸菌タブレット(WB21 株、ワカモト) 1 錠を PBS 10ml にて溶解後、100 μ l を採取し *S. mutans* 菌液 100 μ l と 10、20、30 分間混合させた後、MSKB 寒天培地上にて培養した。*S. mutans* 菌数を測定し乳酸菌の *S. mutans* 菌増殖能への影響を調べた。

乳酸菌タブレットの唾液中 *S. mutans* 菌レベルに与える影響:今回の実験に対して同意を得た被験者より摂取前唾液 1ml を採取した。乳酸菌タブレット 1 個を摂取してもらい、摂取後唾液 1ml を採取した。MSKB 寒天培地を用い唾液中の *S. mutans* 菌数を測定し、摂取前と摂取後で比較検討した。

【結果および考察】

キシリトールは濃度依存性に *S. mutans* の増殖を抑制した。また、キシリトール洗口後の唾液中キシリトール残留濃度は、時間経過とともに減少し 60 分後では検出されなかった。キシリトール洗口 4 週間後の唾液中 *S. mutans* 菌数は洗口開始前に比べて約 60%減少した。乳酸菌は接触時間の経過とともに *S. mutans* の増殖を抑制した。また、タブレット摂取後の唾液中 *S. mutans* 菌数は摂取前と比較して減少した。キシリトール洗口液および乳酸菌タブレットにより唾液中の *S. mutans* 菌レベルを減少させることが分かり、う蝕予防としての有用性が示唆された。

抗菌成分を添加したフッ化ジアミンシリケートの抗菌性評価

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、
○柴田眞吾、菅 俊行、木村智子、松尾敬志

Antibacterial activity of ammonium hexafluorosilicate with the addition of antimicrobial agent

Department of Conservative Dentistry, Institute of Health Biosciences,
The University of Tokushima Graduate School
○Shingo SHIBATA, Toshiyuki SUGE, Tomoko KIMURA, Takashi MATSUO

【研究目的】

我々はフッ化ジアミン銀 ($\text{AgF}:(\text{NH}_3)_2\text{AgF}$, サホライド) 塗布後の歯質変色という欠点を改良する目的で銀成分をシリカに置換したフッ化ジアミンシリケート溶液 ($(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$) を調製した。そして、これまでの研究結果から、フッ化ジアミンシリケートはフッ化ジアミン銀と同程度の歯質脱灰抑制効果を有しており、齲蝕予防に使用できる可能性が示唆された。しかしながら、フッ化ジアミン銀は銀成分が歯質に沈着し、その結果、優れた抗菌作用により齲蝕進行を抑制するが、シリカ成分は銀に比べて抗菌性が劣ることが予想される。そのため、フッ化ジアミンシリケートに各種抗菌成分を添加した溶液を作成し、象牙質中への程度浸透して結晶生成するのか評価を行い、第130回本学会において発表した。今回は各種抗菌成分を添加したフッ化ジアミンシリケート溶液の抗菌性を評価することを目的として、ハイドロキシアパタイト (HAP) ディスクへの付着細菌量を測定した。

【材料および方法】

付着細菌量はハイドロキシアパタイト (HAP) ディスクを用いて測定した。HAP ディスクを 1mol/L リン酸で 2 日間処理した後、9000 ppm のフッ化ジアミンシリケート溶液に各種抗菌成分 (クロルヘキシジン(CHX)、塩化セチルピリジニウム(CPC)、イソプロピルメチルフェノール(IPMP)、カテキン(エピガロカテキンガレート; EGCG)) を添加した溶液およびフッ化ジアミン銀を綿球にて 3 分間塗布し、水洗、乾燥後、*Streptococcus mutans* UA159 懸濁液中 (10^5 CFU/ml, 37°C) に 12 時間浸漬させた。固定乾燥後、HAP ディスク表面を走査電子顕微鏡 (SEM) により観察した。また、正確な付着菌数の測定は、HAP ディスクに付着した菌体細胞を剥離、回収して BHI 培地に播種し、嫌気培養 (37°C) 後の CFU 測定を行い、各種抗菌成分を添加したフッ化ジアミンシリケート溶液の抗菌性を抗菌成分無添加の溶液およびフッ化ジアミン銀と比較した。

【結果および考察】

SEM 観察では各種抗菌成分添加フッ化ジアミンシリケート処理後にはいずれも未処理の試料と比較すると付着細菌量の減少がみられた。しかしながら、抗菌成分無添加フッ化ジアミンシリケート処理した場合より付着細菌量が減少したのは、CPC 添加試料とフッ化ジアミン銀のみであった。CFU 測定の結果では付着細菌数 (log CFU/ml) は未処理試料が 7.58 であったのに対し、抗菌成分無添加フッ化ジアミンシリケートでは 6.39、フッ化ジアミン銀については 4.30 であった。一方、各種抗菌成分を添加したフッ化ジアミンシリケート処理後の付着細菌数はそれぞれ 7.20(CHX)、4.60(CPC)、7.13(IPMP)、7.23(EGCG)、であった。このことから、CPC 添加によりフッ化ジアミン銀と同程度の抗菌性を得られることが示された。一方、CHX、IPMP、EGCG を添加した場合には抗菌成分無添加フッ化ジアミンシリケート処理と比較して、付着細菌数が増加しており、抗菌性が減少していることが明らかとなった。

【結論】

フッ化ジアミンシリケート溶液に CPC を添加することで、*S. mutans* に対してフッ化ジアミン銀と同程度の抗菌性を発揮することが明らかとなった。したがって、CPC 添加フッ化ジアミンシリケート溶液は齲蝕予防に臨床応用できる可能性が示唆された。しかしながら、その他の抗菌成分の添加は逆にフッ化ジアミンシリケート溶液が本来持っている抗菌性を減少させ、添加しても抗菌性の向上が得られないことが示された。

rep-PCR を用いた *S. mutans* 株のバンディングパターン

日本大学松戸歯学部う蝕抑制審美治療学
岡田珠美、藤田光、鈴木英明、池見宅司

Genetic diversity of *S. mutans* using rep-PCR

Dept. of Caries control and esthetic Dentistry

Tamami Okada, Kou Fijita, Hideaki Suzuki and Takuji Ikemi

Mutans streptococci はう蝕発症の初期に深いかかわりを持っています。7 菌種 8 血清型に分かれる本菌群のうちヒトから分離されるのは血清型 *c, e, f* の *S. mutans* と *d, g* の *S. sobrinus* の 2 菌種です。最近小児の口腔に生息する *S. mutans* 株の遺伝子型には多様性があると示唆されています。遺伝子型の差異を調べる技術は、将来において高う蝕罹患者を識別する上での重要な技術となる可能性があります。遺伝子型の多様性を比較する方法としては puls-field 電気泳動法が一般的ですが、この方法は特別な機械・技術を要し、結果を得るまでに時間を要します。一方 rep-PCR 法は特別な機械を必要とせず、安価であるという利点があります。この rep-PCR 法を *S. mutans* を始めとする mutans streptococci にアプローチしたところ種々のバンドを得ることができたという報告を踏まえ、演者らは市販プライマーを用いて *S. mutans* 標準株にアプローチしたところ数種のバンドを得ることができました。今回は標準株および臨床分離株についてそのバンディングパターンの多様性の差異について検討したところ若干の知見を得たので報告します。

研究目的: 本研究は *S. mutans* 標準株と臨床分離株からの DNA の多様性の差異を rep-PCR を用いて比較検討することです。

材料および方法: *S. mutans* 標準株 6 菌株、*S. sobrinus* 標準株 4 菌株と 33 人のヒトより分離した *S. mutans* 株を本実験に供しました。BHI 培地を用いた 1 夜培養液より菌体を回収し、市販 DNA 抽出キット (Qiagen) を用いて DNA を抽出・調整し本実験に供しました。市販プライマー・バッファーコンポーネントを用い通法に従い rep-PCR を行いました。得られた DNA 増幅産物の分離は、2%のアガロース・ゲルによる電気泳動により行った後、エチジウムブロマイドで染色し、得られたバンディングパターンの多様性を標準株間および臨床分離株間で比較検討しました。

結果および考察: バンディングパターンはすべての標準株および臨床分離株中で認められた。おおよそ 1500bp、900bp、および 500bp 付近に強いバンドが認められた。これらの強いバンドは異なったプライマーとバッファーコンポーネントでも認められたことから、これら 3 つのバンドは *S. mutans* に特異的なバンドである可能性があります。標準株の中でも、いくつかの異なったバンディングパターンが認められました。標準株 JC-2 と PS14 は 900bp に 3 つの強いバンドを持つという同様のパターンを持っています。一方、Ingbritt と GS-5 には、同部に 2 つの強いバンドを持つというパターンが得られました。また、*S. sobrinus* のパターンは *S. mutans* のそれとは全く異なっていました。さらに、臨床分離株の中でも異なったバンディングパターンが認められました。900bp 付近で認められるバンドの数に従って、3 つのグループを作りました。33 人のうち 5 人 (15%) は、900bp に強い 1 本のバンドが、9 人 (27%) は同部に 3 本の強いバンドが認められました。残り 19 人 (58%) では 2 本のバンドが認められました。また、33 人中 10 人から各々 2-3 株ずつ分離した *S. mutans* からの DNA パターンは同一人物内ではすべて類似したパターンが認められました。

結論: 被検者の 50%以上が 900bp 付近に 2 つの強いバンドを持っていました。1 個人が有する *S. mutans* 株のバンディングパターンは類似していました。これらの結果は、本 rep-PCR 法が将来において有用な技術となる可能性があると考えられます。

超音波による骨代謝の影響について

奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学講座

○和田 隆史, 中 貴弘, 横瀬 敏志

Effect of ultrasound irradiation on bone metabolism in rat tibiae

Division of Operative Dentistry, Department of Conservative Dentistry,

Conservation Dentistry, School of Dentistry, Ohu university

Wada Takashi, Naka Takahiro, Yokose satosi

[目的] 近年, 侵襲性治療や薬物による副作用を懸念し, 物理的刺激を応用した治療法が注目され, 低出力超音波パルス (LIPUS) もその中の 1 つである. しかしながら, LIPUS が骨代謝に及ぼす影響を *in vivo* において細胞機能に注目し, 組織学的に調べた報告はほとんどみられないのが現状である. 顎骨再建へ LIPUS を応用するために基礎的な知見を得ることを目的として実験を行った.

[材料と方法] 8 週齢の雌 SD ラットを用い, ラット両側の膝関節より約 1cm 下方の顎骨部にデンタルバーにて幅 1.5mm 長さ 3mm の骨欠損を形成し, 翌日より LIPUS を, 毎日, 周波数 1.0 MHz, 出力 0.24W, 出力モード 20 %, パルス周波数 100 Hz で照射を行った. ラットは脱灰切片グループと非脱灰切片グループと三点曲げ試験グループに分け, 1 グループ 5 匹で行った. 非脱灰切片グループには採取 2 日前と 5 日前, 2 度にわたりカルセインを投与した. 顎骨は術後, 1, 2, 3, 4 週にて採取した. 三点曲げ試験グループは採取後, 生理食塩水に浸し, 三点曲げ試験を行った. 脱灰切片グループの顎骨は採取後, 4°C の中性緩衝ホルマリンに浸漬し, 24 時間固定を行い, 水洗後, 骨形態計測を行い, 4°C, 10%EDTA にて脱灰後, パラフィン包埋し厚さ 4 μ m の切片を作成し. H-E 染色, アルシアンブルー染色, 免疫組織学的染色 (OPN) を行い. 光学顕微鏡にて観察を行った. 非脱灰切片グループも同様に固定, 水洗, 骨形態計測を行った後, テクノビットを用いて包埋し厚さ 4 μ m の切片を作成し, 蛍光顕微鏡にて観察した.

[結果] 軟エックス線, DEXA, 免疫組織学的染色はすべての実験期間において著名な変化は見られなかったが, 三点曲げ試験より 2, 3 週において機械的強度の向上がみられた. また, H-E 染色において 2 週目より periosteum 側に骨形成がみられた. アルシアンブルー染色においては両群に染色性はみられなかった. 非脱灰切片においては照射群では periosteum 側に, Cont 群においては endosteum 側に骨形成がみられた.

[考察] 本研究から, LIPUS 照射において軟エックス線, DEXA, OPN の染色の違いは観察できなかったが, 三点曲げ試験での 2, 3 週においての機械的強度の上昇, 脱灰切片の H-E 染色, 非脱灰切片の蛍光染色より 2 週目以降においての periosteum 側の骨増生により骨折治療が促進していると考えられた.

[結論] LIPUS を骨欠損部に照射することにより periosteum での骨形成の促進が認められた. これは, 骨欠損部の治療が亢進するメカニズムの 1 つであることがわかった. さらに, LIPUS は歯科領域においてみられる抜歯やインプラント治療での治療促進に効果的であることが示唆された.

根尖病巣に接して植立された骨内インプラントの臨床経過

東京歯科大学歯科保存学講座

○堀内 章 山田雅司 藤井理絵 松永健嗣 浅井知宏 渡邊浩章 森永一喜 中川寛一

Treatment of periapical lesion on adjacent dental implant

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○HORIUCHI AKIRA, YAMADA MASASHI, FUJII RIE, MATSUNAGA KENJI, ASAI TOMOHIRO,
WATANABE HIROAKI, MORINAGA KAZUKI, NAKAGAWA KAN-ICHI

研究目的

骨内インプラント埋入後の中長期的な経過における植立安定に関わる因子として骨吸収が問題にされ、これらは多くの場合インプラント周囲炎と密接な関連を示している。近年、骨内インプラント周囲に形成される骨破壊を伴う病変が IPL (Implant Periapical Lesion) と呼称され、原因および主として予防法について考察が行われている。

本報告では骨内インプラントと隣在歯に形成された根尖病等の治療経過を IPL 関連の文献とともに考察した。

方法

27 歳女性、上顎左側側切歯部の自発痛を主訴として東京歯科大学千葉病院に来院した。患者は、1991 年に上顎左側側切歯の麻酔抜髄後、根管充填し、その後補綴処置が行われた。2001 年に上顎左側犬歯部にインプラントを植立、2004 年より上顎左側側切歯部の急性炎症と慢性炎症とを繰り返していたという。初診時のエックス線写真では、上顎左側側切歯根尖部 1/3 からインプラント体近心部 1/2 を含む透過像を認めた。急性化膿性根尖性歯周炎の診断のもとに感染根管治療および抗生剤の投与を行った。また、インプラント体と根尖部の病変との関連を精査する目的で、2005 年 6 月 8 日同部を歯科用コーンビーム CT (CBCT, HITACHI CB Throne) にて撮影した。

成績および考察

本例では現在、インプラント体に近接する当該歯の根管処置によってエックス線透過像の縮小を確認した。CBCT で確認された口蓋部の骨欠損は修復が認められたが、インプラント体との接界面付近は骨修復の遅延傾向が認められ唇舌的な所見に限定される。デンタルエックス線写真と、任意の領域での読像が可能な CBCT との所見に差異が認められた。しかし、根尖部における病変とインプラント体の接触界面における感染は否定できず、今後の処置方針として根管治療を継続するとともに、症状の改善が認められない場合、根尖およびインプラント周囲病巣の搔爬、インプラント体の除去を視野に入れた治療を行う必要がある。

IPL は、文献的に Retrograde peri-implantitis と Teeth with periradicular lesions on adjacent dental implants とに分類されると考えた。特に Retrograde peri-implantitis の原因として、インプラント植立時におけるオーバーヒート、植立後の過負荷、植立部位の感染などがあげられる。また、Teeth with periradicular lesions on adjacent dental implants の原因として、植立時におけるインプラント隣在歯の損傷、歯内-歯周病変の存在、隣在歯の根尖病変などがあげられる。

今回の症例は、上顎左側側切歯の根尖性歯周炎から波及した IPL であり後者に位置づけすることができる。

結論

IPL 予防のためには術前にインプラント隣在歯の適切な歯内治療もしくは術後感染のおそれがある場合、外科処置として病態部の除去を行う必要があると考えられる。一方、文献的には保存的な処置として感染後のフィクスチャー周囲の積極的な除菌や表面改修が考えられ、水酸化カルシウムの応用、クロルヘキシジンによる洗浄、Laser 照射などが試みられている。しかしながらこれら処置の効果は、インプラント体の表面性状、形状により大きく左右される。骨との積極的な固着を目的として、アパタイトコーティングや多孔体化、粗造面の付与が施されている場合は、積極的な処理が困難であり効果も低いと考えられる。

乳歯および永久歯歯髄細胞による骨再生・インプラント治療への応用

¹⁾名古屋大学大学院医学系研究科 頭頸部・感覚器外科学講座 顎顔面外科学分野,

²⁾名古屋大学医学部附属病院 遺伝子・再生医療センター

○中村さやか¹⁾, 山田陽一²⁾, 伊藤憲治¹⁾, 上田実¹⁾

Cell-based therapy for bone regeneration and dental implant using dental pulp stem cells

¹⁾Department of Oral and Maxillofacial Surgery Nagoya University Graduate School of Medicine,

²⁾Center for Genetic and Regenerative Medicine Nagoya University School of Medicine

○Sayaka Nakamura¹⁾, Yoichi Yamada²⁾, Kenji Ito¹⁾ and Minoru Ueda¹⁾

[研究目的]

近年、再生医療の重要な因子である幹細胞は様々な組織に存在することが明らかとなってきている。中でも歯髄から得られる歯髄幹細胞は歯髄・象牙質複合体の再生のみならず、心筋梗塞、脳梗塞等の虚血性疾患や神経疾患など全身疾患への有効性も報告され、注目を集めている。我々は、非侵襲的に容易に採取可能である乳歯歯髄細胞に特に注目して、乳歯歯髄細胞は幹細胞特性を有し、増殖能が高いこと、マトリックス産生が盛んであることを報告してきた(第129回、第130回日本歯科保存学会学術大会)。本研究では特に歯髄細胞を用いた骨再生に焦点をあて、乳歯歯髄細胞と永久歯歯髄細胞の骨再生能について現在臨床応用されている骨髄由来間葉系幹細胞(MSCs)と比較することにより、その有用性について検討することを目的とした。

[材料および方法]

1. イヌ乳歯歯髄細胞、永久歯歯髄細胞および骨髄由来 MSCs の調製

生後2ヶ月の子イヌより乳歯を抜去し、歯髄組織を採取後、酵素処理にて歯髄由来細胞を単離し、10%FBS含有D-MEM培地にて培養した。また、親イヌより永久歯を抜去し、同様に歯髄由来細胞を単離、培養した。さらに、骨髄穿刺により骨髄由来MSCs採取し、通法に従い培養した。

2. 歯槽骨欠損モデルへの細胞移植

親イヌ顎骨に直径10mmの歯槽骨欠損モデルを作成し、得られた乳歯歯髄由来細胞、永久歯歯髄由来細胞および骨髄由来MSCsを骨芽細胞分化誘導培地にて培養後、それぞれ移植した。生理活性物質および足場としては、多血小板血漿(PRP)を用いた。コントロールとしては、移植を行わない群(欠損のみ)およびPRPのみを移植する群(PRPのみ)を用いた。移植2週、4週、8週後にバイオプシーを行い、骨再生について組織学的、組織形態学的評価を行った。

3. 細胞移植部へのインプラント埋入

細胞移植8週後にHA-coated implants(JMM)埋入を行い、16週後に屠殺し、組織学的、組織形態学的評価を行った。

[結果]

移植後4、8週において、コントロール群(欠損のみ、PRPのみ)では骨形成がほとんど得られなかったのに対し、乳歯歯髄由来細胞、永久歯歯髄由来細胞および骨髄由来MSCs移植群においては骨形成が確認された。また、移植後8週における骨占有率は、細胞移植群がコントロール群に対して有意に高い値を示したが、細胞間での有意差は認められなかった。インプラントと再生骨の骨結合率bone-implant contact(BIC)は、コントロール群と比較し細胞移植群では有意に高いことが示された。

[考察]

乳歯歯髄由来細胞、永久歯歯髄由来細胞は骨髄由来MSCsと同等の骨再生能力を有することが明らかとなった。また、細胞移植により再生された骨と埋入されたインプラントとの骨結合率が良好であったことから、骨欠損部への歯髄由来細胞移植が咬合機能回復に有用であることが示唆された。さらに、乳歯歯髄由来細胞を用いた世代間を超えた移植により良好な骨再生が得られたことから、同種移植の可能性が示唆された。

[結論]

乳歯および永久歯歯髄由来細胞の移植により骨髄由来MSCsと同等の良好な骨形成が得られたことから、歯髄由来細胞が骨再生医療に有効である可能性が示された。また、歯髄由来細胞は現在臨床において骨再生医療に用いられている骨髄由来MSCsと比較して患者への負担が少なく簡便に採取できることから、骨髄に代わり次世代を担う有用な幹細胞源となることが期待される。

象牙細管封鎖材による可逆性歯髄炎発症の抑制効果

神奈川県立歯科大学 口腔治療学講座 歯内療法学分野
○渡部弘隆、武藤徳子、三橋晃、石井信之

The inhibition of pulpal inflammation to cavity preparation by sealing materials

Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental College
○WATABE Hiroataka, MUTO Noriko, MITSUHASHI Akira, TANI-ISHII Nobuyuki

【目的】

窩洞形成や支台歯形成後の歯髄組織は象牙質切削刺激により、切削象牙質直下の歯髄は毛細血管の拡張と象牙芽細胞の変性が生じ歯髄充血などの可逆性歯髄炎を惹起する。また、象牙質切削面には象牙細管の開口により容易に口腔常在菌の感染が起きやすいため、歯髄鎮静療法や間接覆髄によって象牙質切削面を保護することが健康歯髄を維持、回復するために重要である。最近の接着性レジンを中心とした審美歯科材料は、歯髄鎮静療法や間接覆髄に使用するセメントの使用が接着性低下を引き起こすことにより使用機会が減少し、セメント材料に替わる象牙質封鎖材が必要とされている。本研究は歯面コーティング材に着目し、開口象牙細管の封鎖効果と象牙質切削刺激による炎症性歯髄反応の抑制効果を検討することを目的とした。

【材料および方法】

1. 象牙細管封鎖効果

0.5%クロラミンT水溶液(4℃)中に保管した新鮮ヒト抜去歯の唇(頬)側歯頸部に5級窩洞形成を行い、切削面にクロラミン中和剤としてアクセル(サンメディカル)を作用させた。その後、リン酸処理、水洗乾燥後に歯面コーティング材としてHybrid Coat(HC)、Hybrid CoatII(HCII)(サンメディカル)を塗布、光重合により硬化させて被験試料とした。被験試料は走査型共焦点レーザー顕微鏡(OLYMPUS社)と走査型電子顕微鏡(SEM)にて表面観察を行い、象牙細管封鎖効果を解析した。

2. 病理組織変化の解析

7週齢、Wistar系ラット雌を深麻酔下で上顎第一臼歯近心歯頸部に高速タービンをを用いてラウンドバーでグループ状に窩洞を形成した。齧蝕病巣を想定し、24時間の象牙質切削面放置により口腔常在菌の感染を惹起させ、24時間後に窩洞面に歯面コーティング材(修復材料)としてHC、HCII、光重合型コンポジットレジン充填群、光重合型ガラスアイオノマー充填群、および未処置群(コントロール群)の5群に分類した。実験終了7日後に灌流固定を行い、顎骨を採取し、EDTA脱灰、パラフィン包埋し連続薄切切片を作成後、HE染色ならびに抗ネスチン抗体を用いた免疫染色を施して病理組織学的検索を行った。

【結果】

走査型共焦点レーザー顕微鏡およびSEMによる表面観察の結果、HC塗布群は開口象牙細管がHCにより封鎖されていた。また、病理組織変化の解析においては、窩洞形成面に一層のコーティング材が認められ、象牙細管内への細菌侵入が抑制されていた。窩洞形成面直下の歯髄組織には著明な変化は認められなかった。一方、未塗布群ではHC塗布群と比較し、象牙細管内に多数の細菌が存在し、窩洞形成面直下の歯髄組織には炎症性細胞の浸潤が認められた。

【考察】

本研究で得られた結果から、窩洞形成後に歯面コーティング材を用いて象牙細管を封鎖することは、象牙細管を経由した歯髄組織への口腔細菌の侵入を阻止するだけでなく、切削象牙質直下の象牙芽細胞層に集積する多形核白血球浸潤を抑制し、早期に健康歯髄に回復することが示された。以上の結果からHC、HCIIの歯面コーティング材は窩洞形成後の歯髄組織の炎症反応を抑える有用な処置であることが示唆された。

ヒト歯髄創傷治癒過程で生じる Fibrillin-1 の分解は細胞分化と石灰化を誘導する

¹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, ²松本歯科大学 口腔解剖学第二講座
○吉羽永子¹, 吉羽邦彦¹, 大倉直人¹, 細矢明宏², 重谷佳見¹, 興地隆史¹

Degradation of fibrillin-1 induces calcification and cyto-differentiation during wound healing of human dental pulp

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences;

²Department of Oral Histology, Matsumoto Dental University

○ YOSHIBA Nagako¹, YOSHIBA Kunihiko¹, OHKURA Naoto¹, HOSOYA Akihiro², SHIGETANI Yoshimi¹, OKIJI Takashi¹

【研究目的】

Fibrillin は弾性線維系を構成するタンパク質の一種であり、3 種類のアイソフォームが報告されている。中でも Fibrillin-1 (FBN1) に関しては、transforming growth factor- β (TGF β) のシグナル伝達を制御する細胞外基質として、多くの報告がなされている。歯髄組織において TGF β は、象牙芽細胞の成熟化と細胞外基質の分泌に必須な因子である。FBN1 は不活性型 TGF β を結合しており、FBN1 が分解を受けることで活性型 TGF- β が遊離される機構が知られている。私達はこれまで、(1)ヒト歯髄組織にも FBN1 が豊富に存在すること、(2)ヒト歯髄組織に MTA や Ca(OH)₂ で直接覆髄処置を施すと、初期の段階から選択的に FBN1 タンパクが消失すること、(3)この FBN1 消失領域では術後 10 日前後で強い MMP-3 の反応が観察されること、(4)FBN1 分解領域が、細胞増殖・分化の場となり、さらにアルカリフォスファターゼ (ALP) 陽性反応を示すこと、(5)石灰化誘導培地で歯髄組織片を培養すると FBN1 タンパクが分解され、これに MMP-3 阻害剤を添加すると FBN1 タンパクの分解が阻害されると同時に石灰化も阻止されることを報告してきた。本研究ではさらに in situ ハイブリダイゼーションによる FBN1 mRNA 発現の変化と、リアルタイム PCR による遺伝子発現量の解析を行ない、ヒト歯髄組織における FBN1 の細胞分化と石灰化に対する機能について検討を加えた。

【材料と方法】

材料には研究の趣旨に同意を得られた患者の矯正治療上要抜去と診断された健全歯を用いた(新潟大学歯学部倫理委員会承認番号 21-R17-09-10)。浸潤麻酔下に MTA による直接覆髄を施し一定期間後抜去した。4%パラホルムアルデヒドにて浸漬固定後、10%EDTA にて脱灰し 10 μ m の凍結切片を作製した。これまでの FBN1 と MMP-3 タンパクに対する免疫組織反応の所見から、ともに反応が消失する術後 6 週における切片を用い、in situ ハイブリダイゼーションにより FBN1 mRNA の発現を検索した。プローブには DIG 標識 RNA プローブを用い抗 DIG-AP 標識抗体で検出した。in vitro の実験では、健全抜去歯から摘出した歯髄を厚さ約 1.5mm の組織片とし、10 mM β -glycerophosphate を添加した。さらに、FBN1 が分解されることで放出されると考えられる TGF β を中和するために、TGF β 中和抗体を同時に加え検討した。培養 1 ないし 2 週後、totalRNA を抽出し、リアルタイム PCR により FBN1, MMP-3 の遺伝子発現量の変化を解析した。

【結果と考察】

FBN1 タンパクは、健全歯では歯髄全体に分布したが、MTA 覆髄 2 週以降では覆髄近傍でその局在が観察されなくなり、術後 6 週では同部位に FBN1 mRNA の発現も認められなかった。また、石灰化誘導培地においても、石灰化の進行と共に FBN1 の遺伝子発現量が減少していることが確認された。MMP-3 の遺伝子発現は、健全歯髄ではほとんど認められないものの、石灰化誘導培地で培養 1 週間には発現量が増加し、その後減少した。これらより覆髄および石灰化誘導培養の初期では FBN1 は MMP-3 により分解され、その後 FBN1 は転写レベルで発現が抑制されることが示唆される。さらに、石灰化誘導培地に TGF β 中和抗体を添加すると、FBN1 タンパクが認められなくなるとともに ALP の発現も減少し、アリザリンレッドを指標とした石灰化も観察されなかった。以上の結果より、歯髄組織創傷治癒過程における細胞分化と石灰化には、初期における FBN1 の MMP-3 による分解を起点とする機構とその後の FBN1 mRNA の発現の抑制が関与していることが推測される。