

ヒト末梢血単核球における IL-32 の破骨細胞分化への影響

広島大学大学院 医歯薬 歯周病態学

○應原一久, 藤田剛, 岩田倫幸, 柴秀樹, 河口浩之, 栗原英見

The effect of IL-32 in osteoclastogenesis of human peripheral blood derived mononuclear cell

Department of Periodontal Medicine, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences

○Ouhara Kazuhisa, Fujita Tsuyoshi, Iwata Tomoyuki, Shiba Hideki, Kawaguchi Hiroyuki, Kurihara Hidemi

目的:IL-32 は慢性関節リウマチや潰瘍性大腸炎のような慢性炎症性疾患で新しく発見されたサイトカインである。歯周炎は歯周病原細菌と宿主の相互作用の結果引き起こされる歯槽骨吸収を伴う慢性炎症性疾患である。したがって IL-32 が歯周炎の発症、進行にも関与している可能性がある。これまでに IL-32 産生が歯周炎組織では健常組織と比較して低下していること、また歯肉由来線維芽細胞の IL-32 産生は歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* によって抑制されることを報告した。今回の研究ではヒト末梢血単核球(PBMC)の破骨細胞への分化における IL-32 の作用、ラット歯周炎モデルにおける歯槽骨吸収に対する IL-32 の影響を検討した。

方法:PBMC は健常者末梢血から Histopaque 1077, 1119 を用いた比重遠心法で分離し、RPMI1640 培地で 24 時間培養後、フラスコ底に接着したものを使用した。PBMC を sRANKL(50 ng/ml), M-CSF(20 ng/ml)および IL-32 γ (0, 1, 10, 100 ng/ml)を含む培地で 48 時間培養後、total RNA を抽出し、破骨細胞活性化関連遺伝子(TRAF6, NFATc1, OSCAR, c-FOS, Cathepsin K, MMP-9)発現をリアルタイム PCR で解析した。また 16 日間培養後、TRAP 染色を行い破骨細胞に分化した細胞数をカウントした。さらに IL-32 γ の骨吸収に対する作用を *in vivo* で検討するために、F344 ラット大白歯口蓋側歯肉に sRANKL(100 ng)および IL-32 γ (100 ng)を注入し、10 日後の歯槽骨吸収率を測定した。また TRAP 染色を用いて組織学的に破骨細胞の局在を検討した。

結果:IL-32 γ は sRANKL および M-CSF による PBMC の破骨細胞への分化を濃度依存的に抑制した。さらに IL-32 γ は mRNA レベルで sRANKL および M-CSF による TRAF6, OSCAR, c-FOS および Cathepsin K の誘導を抑制したが、NFATc1 と MMP-9 については変化が認められなかった。ラット歯槽骨において IL-32 γ は sRANKL によって引き起こされる骨吸収を抑制した。またラット歯周組織の破骨細胞数は IL-32 γ の注入により有為に減少した。

考察:以上の結果から、IL-32 γ は PBMC の破骨細胞への分化を抑制することが示された。またこれまでの結果と合わせて、健常時には歯周組織において歯槽骨吸収抑制に貢献しているが、炎症時には産生が抑制されるため歯槽骨吸収が進行していることが示唆された。

フラボノイドによる歯髄炎症制御の応用～リン酸化プルラン複合体を用いての検討～第2報

広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻 顎口腔頸部医科学講座 健康増進歯学分野¹, 岡山大学大学院医歯学総合研究科 機能再生・再建科学専攻 生体機能再生・再建学 講座 生体材料学分野²

○米廣純子¹, 山下明子¹, 吉田靖弘², 西村英紀¹

Application of anti-inflammatory effects of flavonoids for pulp cell inflammation

-Potential use of phosphorylated pullulan as drug carrier-Part 2

Department of Dental Science for Health Promotion Division of Cervico-Gnathostomatology Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Hiroshima, Japan¹, Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan²

○Yonehiro Junko¹, Yamashita Akiko¹, Yoshida Yasuhiro², Nishimura Fusanori¹

【研究目的】可逆性歯髄炎の病態成立において、マクロファージや樹状細胞といった自然免疫担当細胞が主な役割を果たすことが報告されている。歯髄に浸潤したマクロファージは、歯髄細胞との相互作用で炎症を惹起すると考えられる。我々はこれまで歯髄炎を想定した「歯髄細胞とマクロファージの共培養系」の確立に取り組み、共培養により炎症性サイトカイン産生性が相乗的に亢進すること、その亢進の少なくとも一部にはマクロファージ由来 TNF- α が関与すること、さらにフラボノイドが亢進した炎症性サイトカイン産生性を著明に抑制することを明らかにした。そしてフラボノイドの抗炎症作用を覆髄材に応用する試みの一端として、歯質接着性を有するリン酸化プルラン複合体を担体として選択し、フラボノイドの徐放能をLPS刺激したマクロファージのTNF- α 産生抑制効果を指標として検討しその効果を確認したが、本研究ではその抗炎症効果が歯髄炎の抑制に有用か否かを検討する為、確立した *in vitro* 移行期歯髄炎モデルの変法を用いてリン酸化プルラン複合体から徐放されたフラボノイドの炎症制御能を評価した。

【材料と方法】1.フラボノイド: 演者らのこれまでの検討をふまえフラボノイドとして luteolin を用いた。最終濃度が 0, 10 μ M, 30 μ M となるよう調整した。2.リン酸化プルラン複合体から徐放された luteolin 含有培養液の作製: リン酸化プルラン, CaCl₂, Luteolin を練和して直径 3 mm 程度のペレットを作製した。これを 12 well 細胞培養用プレート上へ静置し, 10% FBS 含有 RPMI 培地を添加後, 24 時間浸漬した後の溶液を回収し, 未溶解物質を分離する目的で 4 $^{\circ}$ C, 6000 rpm, 15 分の遠心分離を行い, 上澄液を回収した。3.歯髄細胞: ヒトロメラゼ逆転写酵素(hTERT)および simian virus 40 (SV40)の SV40T 抗原の遺伝子導入によって不死化したヒト歯髄細胞株 (DP-1)および初代培養したヒト歯髄細胞を歯髄細胞として実験に用いた。4.マクロファージ: ヒト由来単球細胞株 THP-1 を通法に従って分化誘導し, 誘導開始から 24 時間後の細胞を使用した。5.培養上清中のサイトカイン量の測定 (ELISA 法): 回収した培養上清中のサイトカインタンパク量は human ELISA kit (Endogen Inc., Woburn, MA, USA)を用いて定量した。実験 1 では, 歯髄細胞培養上清をマクロファージへ作用させ, 回収した培養上清中の TNF- α を定量した。実験 2 では歯髄細胞培養上清刺激により活性化したマクロファージへ上記 2 で作製した luteolin 含有培養液による前処理を行い, 回収した培養上清中の TNF- α を定量した。実験 3 では, LPS 刺激により活性化されたマクロファージの培養上清を歯髄細胞へ作用させ, 回収した培養上清中の IL-6, MCP-1 を定量した。実験 4 では LPS 刺激マクロファージの培養上清により活性化した歯髄細胞へ上記 2 で作製した luteolin 含有培養液による前処理を行い, 回収した培養上清中の IL-6, MCP-1 を定量した。実験 5 では歯髄細胞の培養上清により活性化されたマクロファージの培養上清を歯髄細胞へ作用させ, 回収した培養上清中の IL-6, MCP-1 を定量した。実験 6 では歯髄細胞の培養上清刺激マクロファージの培養上清により活性化した歯髄細胞へ上記 2 で作製した luteolin 含有培養液による前処理を行い, 回収した培養上清中の IL-6, MCP-1 を定量した。

【成績】リン酸化プルラン複合体から徐放された luteolin は実験で用いた種々の刺激により亢進した歯髄細胞やマクロファージからのサイトカイン産生を有意に抑制した。

【考察および結論】本研究の結果より, リン酸化プルラン複合体から徐放された luteolin は移行期歯髄炎モデルにおいても炎症性サイトカイン産生性を有意に抑制した。このことからリン酸化プルラン複合体から徐放された luteolin が歯髄炎の制御に有用である可能性が示唆された。以上よりリン酸化プルラン複合体の徐放・担体機能および luteolin の抗炎症効果を期待した複合体は歯髄炎を制御するための覆髄材に有用であると考えられた。

【会員外研究協力者】鎌田 伸之, 太田 耕司; 広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻 顎口腔頸部医科学講座 口腔外科分野

歯内療法の認知度に関する調査 —患者へのアンケートの結果より—

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)¹, 医療法人豊永会きのもと歯科²

○木ノ本喜史^{1,2}, 多田敬子¹, 林美加子¹, 恵比須繁之¹

Assessment of how well patients understand endodontic treatments -A report based on a questionnaire to the patients-

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, Osaka, Japan¹,

Medical Corporation Hoeikai Kinomoto Dental Office, Osaka, Japan²

○Kinomoto Yoshifumi^{1,2}, Tada Keiko¹, Hayashi Mikako¹, Ebisu Shigeyuki¹

【研究目的】 歯科治療の中で歯冠修復や義歯とは異なり歯内療法は外から見えない根管を対象とするため、治療を受けている患者にとって何をされているかわかりにくい。また、歯の構造を理解しなければその内容を説明されても容易には理解しにくい。したがって、知覚過敏や歯周病などマスメディアでも扱われることがある歯科用語に比較すると認知度が低いと予測される。一方、近年米国では American Association of Endodontists が“Root Canal Awareness Week”を毎年行い、歯内療法の認知度の向上に努力しているが、我が国では歯内療法の認知度を調べた報告さえもほとんど見かけない。

一方、う蝕や歯周病などは比較的罹患率が高い疾患であるがゆえ、ときにはいわゆる風邪を引いた時と同じ感覚で、歯科治療は治療して時間が経過すればほとんど治癒すると思いついでいる患者に出会うこともしばしばである。しかし、歯内療法の成功率は決して 100%でないため、患者との間に意志の疎通がうまくできない場合がある。また、諸外国と比較すると我が国の保険で設定されている歯内療法の治療費はかなり低い水準であるが、一般にはほとんど知られていないと思われる。

そこで今回、次の項目について調査することを目的にアンケートを実施し分析した。ひとつは歯内療法の認知度を他の歯科治療と比較することであり、もうひとつは歯内療法の成功率の予測程度と妥当な治療費についての意見を患者から得ることである。また、歯内療法を表す言葉についての質問も同時に行った。

【材料と方法】 平成 22 年 10 月から平成 23 年 2 月の間、大阪府の住宅街の歯科医院を訪れた患者に対して無記名のアンケートを行った。内容は、Q1. 性別, Q2. 年代(20 歳-39 歳, 40 歳-59 歳, 60 歳以上), Q3. 歯科の治療法(インプラント, 知覚過敏, セラミック修復, 歯周病, 歯内療法, シーラント)の理解度(言葉も聞いたことがない, 言葉は聞いたことがある, 内容が分かる)。歯内療法についての説明を読んだ後, Q4. 神経を取る治療の成功率, 再治療の成功率, Q5. 歯内療法に相当だと思う治療費を差し歯と比べて何倍が適切と思うか, Q6. 根の管の治療を説明する言葉として適当なもの, について選択式の回答を得た。回答は Kruskal-Wallis test および Mann-Whitney's U test にて検定し分析した。

【結果と考察】 総数 123 人(男性 31 人, 女性 92 人)から回答を得た。

今回比較した6つの治療法の間認知度において有意な差があった($p < 0.001$)。それぞれの治療法と“歯内療法”を比較したところ、“シーラント”だけは有意な差を認めなかったが、歯内療法の認知度はそれ以外の4つに比べるといずれも有意に低かった($p < 0.001$)。

治療の成功率に関して、抜髄に対する回答の最頻値は 50%、中央値は 70%、再治療では最頻値は 50%、中央値は 50%と、必ずしも 100%治癒するとは思われていなかった。しかし、100%治ると答えた者の割合が、抜髄で 8.1%、再治療で 7.3%は存在したため、患者への丁寧な説明が必要であると思われた。

治療費に関しては、上部構造の治療費と同程度と答えた者が最も多かった。歯内療法の意味を理解すると、上部構造と同程度の治療費が妥当だと考える人が多いことがわかった。

歯内療法を説明する言葉としては、“根の治療”が一番多かったが、“どれもわかりにくい”との回答もかなり認めた。

【結論】 歯内療法に関する認知度は予測された通り他の歯科治療の名称と比較して有意に低かった。また、治療の成功率を尋ねた結果は 100%の成功率を選んだ者は少なかった。治療費に関しては上部構造と同程度の治療費を妥当と考える回答が最多であった。患者に歯内療法の必要性や価値を分かってもらうためには、まずその言葉や存在を理解してもらうことが重要であると考えられた。

骨髄ストローマ細胞の骨芽細胞分化における LIF の機能解析

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)

○松下健太, 伊藤祥作, 池田峻, 恵比須繁之

Functional analysis of Leukemia Inhibitory Factor in osteoblast differentiation of bone marrow stromal cells

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

○Matsushita Kenta, Itoh Shousaku, Ikeda Shun, Ebisu Shigeyuki

【研究目的】

骨髄ストローマ細胞は分化誘導培地にて培養することにより、骨芽細胞・線維芽細胞・象牙芽細胞などに分化することがわかっている。これは骨髄ストローマ細胞には未分化間葉系幹細胞が含まれているからである。つまり、骨髄ストローマ細胞は、歯内・歯周組織に分化しうる細胞であると考えられる。これまでに IL-6 をはじめとする IL-6 ファミリーサイトカインは、骨髄ストローマ細胞に作用し骨芽細胞へ分化を誘導すると考えられてきた。しかし、そのファミリーに属する Leukemia Inhibitory Factor (LIF) の骨芽細胞分化に対する働きについては、未だ明らかとなっていない。そこで今回、我々は骨髄ストローマ細胞から骨芽細胞への分化誘導培地に LIF を加えてその働きについて解析したので報告する。

【材料と方法】

C57BL/6J マウス的大腿骨と頸骨から骨髄細胞を調整し、10%FBS 含有 α -MEM 中で培養した。培養3日目に PBS にて浮遊細胞を除去した。そして2週間培養後、トリプシン・EDTA処理により付着細胞を回収した(骨髄ストローマ細胞)。

1. 10%FBS 含有 α -MEM と 50 μ g/ml ascorbic acid, 10mM β -Glycerophosphate, 10^{-8} M Dexamethasone にて骨芽細胞分化誘導培地を調整し、これに LIF を含むものと含まないものを作成した。骨髄ストローマ細胞をこれらの培地中で3週間培養したのち ALP 染色および von Kossa 染色を行い、CFU-O (Colony-forming units-osteoblast) 数を計測し、石灰化能を評価した。

2. 上記の LIF 含有、非含有骨芽細胞分化誘導培地にて骨髄ストローマ細胞を培養した。2週間培養後、セパゾールを用いて RNA を回収し逆転写酵素を用いて cDNA を合成した。この cDNA に対して骨芽細胞分化マーカーである ALP, BSP, Col1a, OCN, Runx2, Osx の各プライマーを用いて real-time PCR を行い各マーカーの mRNA の発現量を比較検討した。

【結果】

1. LIF を含む骨芽細胞分化誘導培地にて培養した骨髄ストローマ細胞の CFU-O 数は、LIF を含まない骨芽細胞分化誘導培地にて培養した骨髄ストローマ細胞の CFU-O 数に対して有意に減少していた。

2. すべての骨芽細胞分化マーカーの発現量が LIF の添加によりその発現量を抑制していた。

【結論】

以上の結果から LIF は骨芽細胞への分化および石灰化を抑制することが明らかとなった。

ヒト培養歯髄細胞の自然免疫応答に対するインターフェロン γ の影響

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

○武川大輔, 中西正, 平尾功治, 湯本浩通, 高橋加奈子, 松尾敬志

Effects of interferon-gamma on innate host responses in cultured human dental pulp cells

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

○Takegawa Daisuke, Nakanishi Tadashi, Hirao Kouji, Yumoto Hiromichi, Takahashi Kanako, Matsuo Takashi

【研究目的】

歯髄炎は、主にう蝕細菌による侵襲に対して歯髄の生体防御機構が作動することにより惹起されると考えられている。歯髄細胞は歯髄組織の大部分を占めており、組織の維持だけでなく歯髄の免疫応答においても積極的に関与している可能性が示唆されている。インドールアミン酸素添加酵素 (Indoleamine 2,3-dioxygenase: IDO) は、ヒトの肺、小腸、胎盤など多くの組織に分布し、種々の感染症や炎症で強く誘導されてトリプトファン代謝を著しく亢進することが知られており、生体内の免疫調節において重要な役割を担っていると考えられているが、歯髄炎における IDO の役割については明らかにされていない。演者らはこれまでに歯髄炎における自然免疫に関与するレセプター群 (Pattern Recognition Receptors; PRRs) の役割、特に Toll-like receptor (TLR) のヒト培養歯髄細胞における発現ならびに機能について検討し、これらに対するリガンド刺激において IL-6 などのサイトカインや CXCL10 などのケモカインが産生されることを明らかにしてきた (Hirao et al. 2009)。さらに、本学会 2009 年度秋季学術大会 (第 131 回) において、活性化された T 細胞で産生され免疫系に対して調節作用を有するインターフェロン γ (IFN- γ) が TLR リガンド刺激した歯髄細胞における IL-6, CXCL10 産生を増強させることを報告した。IFN- γ は、IDO 誘導能を有する重要なメディエーターの一つとされており、歯髄細胞の生体反応性においても調節的役割を果たしている可能性がある。

そこで今回、歯髄細胞における IDO 発現を検討し、さらに細菌ペプチドグリカン由来構造物を細胞内で認識する PRR である nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor に着目し、NOD1 ならびに NOD2 リガンド刺激した歯髄細胞の IFN- γ に対する反応性について検討を行った。

【材料と方法】

1. 歯髄細胞の培養 徳島大学病院歯科を受診し、う蝕および歯周炎を有さず矯正目的のために抜去された健全智歯より歯髄を採取し、細切後 outgrowth した細胞を歯髄細胞とし、5~10代継代したものを実験に使用した。
2. 歯髄細胞の IDO 発現における IFN- γ の影響の解析 歯髄細胞を 6 穴プレートに播種しサブコンフルエントまで培養した後、IFN- γ にて一定時間刺激を行い、歯髄細胞中の IDO 発現をウエスタンブロット法にて解析した。
3. PRRs リガンド刺激した歯髄細胞における IFN- γ の影響の解析 歯髄細胞を 96 穴プレートに播種しサブコンフルエントまで培養した後、iE-DAP(NOD1 リガンド)、MDP(NOD2 リガンド)とともに IFN- γ にて一定時間刺激を行い、上清中の IL-6 および CXCL10 濃度を ELISA 法にて測定した。

【結果および考察】

歯髄細胞に IFN- γ を作用させることで、IDO の発現が認められた。また、NOD1 あるいは NOD2 リガンド刺激した歯髄細胞に IFN- γ を共刺激させることで IL-6 および CXCL10 の産生は相乗的に増加し、その相乗効果は IFN- γ 濃度依存的に増大した。これらの結果より、IFN- γ は歯髄細胞の自然免疫反応を修飾している可能性が示唆された。

【結論】

IFN- γ 刺激したヒト培養歯髄細胞において、IDO の発現が認められた。また、NOD リガンドと IFN- γ を共刺激したヒト培養歯髄細胞において、IL-6 ならびに CXCL10 産生が相乗的に増加することが示された。

ラット培養歯髄細胞における最終糖化産物(AGEs)の石灰化促進作用

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

○中島由紀子, 稲垣裕司, 板東美香, 廣島佑香, 木戸淳一, 永田俊彦

Advanced Glycation End-product Affects Calcification in Cultured Rat Dental Pulp Cells

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

○Nakajima Yukiko, Inagaki Yuji, Bandou Mika, Hiroshima Yuka, Kido Jun-Ichi, Nagata Toshihko

【研究目的】 糖尿病患者の血管壁には粥状石灰化巣が発症しやすく、これには最終糖化産物である AGEs の蓄積が関係しているといわれている。また、糖尿病患者の歯髄では高頻度で歯髄腔の狭窄や不定形の石灰化物の形成が認められることが報告されている。これまでに我々の研究室では2型糖尿病ラット由来の歯髄細胞では健常ラットと比較して多数の歯髄結石および象牙前質の肥厚など歯髄内での石灰化亢進が認められることを報告した(J Endod 36, 1014-20, 2010)。これらのことから、歯髄での石灰化現象にAGEsが関与している可能性が考えられる。そこで本研究ではこの仮説を検証するために、ラット由来歯髄細胞培養系培地中の AGE-BSA 濃度および BSA 濃度を変化させ、培地中に形成される石灰化骨様結節(BN)の量を比較するとともにアルカリフォスファターゼ(ALP)活性およびオステオポンチン(OPN)の発現量の相違について調べた。また、種々の石灰化関連分子の mRNA 発現についても検索を行った。

【材料および方法】 実験動物には wistar ラット 6 週齢のオスを用いた。Kasugai らの方法に従い上顎切歯より歯髄を採取し、1 週間コンフルエントになるまで培養した後、50 μ g/ml アスコルビン酸、2mM β -グリセロリン酸および 10%血清含有 EMEM 培地に、Tanikawa らの方法に従い作製した AGE-BSA を 200 μ g/ml、1000 μ g/ml 添加し細胞培養を行った。対照として同方法にて作製した BSA を同容量添加したものを用いた。引き続き、形成された BN に対して von Kossa 染色あるいはアリザリンレッド S 染色を行い、これらを NIH image を用いて定量した。また ALP 活性の測定、および ELISA 法により培養液中に分泌された OPN タンパクの定量を行った。RNA の抽出には RNA iso を用い、骨基質タンパクである OPN とオステオカルシン、AGE 受容体である RAGE、骨芽細胞マーカーである cbfa1 のプライマーを用いて PCR を行い、各 mRNA 発現について検索を行った。

【結果】 AGE-BSA を添加したラット歯髄細胞培養系では BSA を添加したものより石灰化骨様結節の形成量が約 3 倍、ALP 活性が約 1.5 倍と有意に上昇し、OPN 産生量では有意差はないものの 2 倍の値を示した。mRNA 発現についてはいずれも有意な差は認められなかった。

【考察と結論】 AGE-BSA を添加したラット歯髄細胞培養系では BN の形成量と ALP 活性が有意に亢進していた。この結果は糖尿病患者の歯髄における石灰化亢進に AGEs が関与する可能性を示唆するものである。ただし mRNA の発現に差が認められなかったことから AGE-BSA 添加による歯髄石灰化亢進の機序については今後さらなる検討が必要である。

歯髄炎によって引き起こされる三叉神経節細胞の異所性異常興奮

日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座¹, 日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座、

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²

○松浦慎吾¹, 清水康平², 大原絹代¹, 小林慶美¹, 小木曾文内²

Mechanisms of extrateritorial hyperexcitability in TRG neurons following tooth pulp inflammation

Departments of Endodontics, Nihon University School of Dentistry¹, Departments of Endodontics, Nihon University

School of Dentistry, Divisions of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of

Dentistry²

○Matsuura Shingo¹, Shimizu Kohei², Ohara Kinuyo¹, Kobayashi Yoshimi¹, Ogiso Bunnai²

【研究目的】 歯髄炎が引き起こされると、患歯だけでなく隣在歯や口腔顔面領域に異所性の疼痛異常が誘導されることが知られている。これまでの多くの研究で、このような異所性の疼痛異常には中枢神経系における神経回路の可塑的变化が関係すると報告されているが、末梢神経系に関してはほとんど注目されていない。最近、末梢組織に炎症や神経損傷が引き起こされると、神経節レベルにおいて細胞間の情報伝達が亢進し神経節細胞が可塑的变化を起こすことが報告され、これが異所性疼痛発症に関与する可能性が示された。しかし、このような神経節細胞間における情報伝達の亢進がどのように異所性疼痛異常を誘導するかについては全く不明である。演者らは、これまで複数歯を支配する三叉神経節 (TG) 細胞が存在し、歯髄炎を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が隣在歯をも同時に支配しており、隣在歯における侵害情報伝達が亢進されることを示した。この他に仮説として三叉神経節細胞間の情報伝達の亢進が異所性の疼痛異常に関与する可能性があると考えた。そこで、本研究では歯髄炎モデルラットを作製し、隣在歯の歯髄刺激により興奮する TG 細胞をリン酸化 extracellular signal-regulated protein kinase (pERK) を指標に検索し、歯髄炎によって隣在歯に引き起こされる異所性疼痛発症における三叉神経節内の情報伝達機構の一端を解明することを目的とした。

【材料および方法】 実験には、SD 系雄性ラット (8~9w) を用いた。ラットを sodium pentobarbital (50 mg / kg, i.p.) で麻酔した後、右側上顎第一大臼歯歯髄 (M1) をカーバイトバーにて露髄した。その後、M1 に逆行性神経トレーサーである Fluoro Gold (FG) と complete Freund's adjuvant (CFA) の混合液に浸漬したデンタルペーパーポイントを刺入し、ガラスアイオノマーセメントにて仮封を行い、歯髄炎モデルラットを作製した (CFA 群)。同様に Fluoro Gold (FG) と Saline の混合液を用いたものを Vehicle 群とした。3 日後、同側上顎第二大臼歯歯髄 (M2) を露髄し、10mM カプサイシンに浸漬したデンタルペーパーポイントを刺入した。刺入 5 分後、ラットを再度 sodium pentobarbital で麻酔し、4%パラホルムアルデヒド溶液にて灌流固定し、TG を取り出した。厚さ 10 μ m の連続切片を作成し、TG における pERK 陽性細胞の発現様式および衛星細胞の活性化状態 (Glial fibrillary acidic protein (GFAP) 陽性細胞発現) について免疫組織化学的に検索した。

【結果】 CFA 群では、全 TG 細胞のうち約 12% が、また Vehicle 群では約 6% が pERK 陽性を示した。M1 の FG 注入によってラベルされた FG 陽性 TG 細胞のうち、M2 のカプサイシン刺激によって pERK 陽性を示した細胞は、CFA 群では 38 \pm 4.4% (n=5)、Veh 群では 20 \pm 4.7% (n=5) であった。これに対し、M2 にカプサイシンの Vehicle である Saline+Tween80+Ethanol を投与した control 群では 3.7 \pm 1.2% (n=5) であった。また、CFA 群では TG において多くの GFAP 陽性細胞発現が認められた。

【考察および結論】 前回の報告と今回の結果から、次のようなメカニズムが示唆された。1) 歯髄炎を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が隣在歯をも同時に支配しており、隣在歯における侵害情報伝達が亢進される。2) 炎症を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が、活性型衛星細胞を介して隣接した他の歯髄を支配する TG 細胞の興奮性増強を引き起こす。

感染根管治療における根管口の周囲感染象牙質の評価

鶴見大学歯学部附属病院総合歯科²，鶴見大学歯学部歯科保存学第二講座²

○矢作保澄¹，山口博康¹，八島章博²，高水正明¹

Evaluation of infected dentin surrounding root canal orifice on infected root canal treatment

Department of General Dentistry and Clinical Education, Tsurumi University School of Dental Medicine, Yokohama, Japan¹

Department of Periodontics and Endodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine, Yokohama, Japan²

○Yahagi Hozumi¹，Yamaguchi Hiroyasu¹，Yashima Akihiro²，Takamizu Masaaki¹

【目的】感染根管治療における齶蝕象牙質の除去は重要である。しかしながら、感染象牙質の残存と治療の予後に関する詳細な関連については明らかとなっていない。特に根管口付近の感染象牙質の残存は根管充填材と根管壁の間にコロナルリケージが生じていることが予想される。そこで、根管治療の必要な症例の根管口周囲の齶蝕象牙質の状態について齶蝕検知液の染色性と半導体レーザーを使用した齶蝕の診査法について検索した。

【方法】鶴見大学歯学部附属病院総合歯科 2 に来院した患者の中から感染根管治療の必要な症例について検索した。術前診査、デンタル X 線写真撮影後、感染根管治療開始時に根管口周囲の象牙質について齶蝕検知液ブルー（ニシカ）を用いて染色後、滅菌生理食塩水で洗浄、この染色された象牙質について DIAGNOdent (KaVo) を用いて計測した。

【結果】X 線診査によって根尖透過像を有する症例による測定値は根管口周囲では DIAGNOdent で高い数値を示し感染象牙質の残存が懸念された。

【考察】X 線診査により根尖透過像を有する症例では根管口周囲の DIAGNOdent 診査で高い値を示したことからコロナルリケージによる影響も示唆された。齶蝕検知液と DIAGNOdent の併用診査は感染根管治療における感染歯質の除去の指針となる可能性が考えられた。今後、切削した歯質と細菌感染について調査する予定である。

根尖孔からの溢出現象評価実験モデル

鶴見大学歯学部附属病院総合歯科²，鶴見大学歯学部歯科保存学第二講座²

○山口博康¹，矢作保澄¹，小林一行²，高木立¹，高水正明¹

Deference between two root canal enlargement technique in the amount of debris out side apex

Department of General Dentistry and Clinical Education, Tsurumi University School of Dental Medicine, Yokohama, Japan¹

Department of Periodontics and Endodontics, Tsurumi University School of Dental Medicine, Yokohama, Japan²

○Yamaguchi Hiroyasu¹，Yahagi Hozumi¹，Kobayashi Kazuyuki²，Takagi Ryu¹，Takamizu Masaaki¹

【目的】近年、感染根管形成中のフレアアップ、バイオフィルムの形成が問題としてとりあげられている。しかし、この根管形成による切削片の押し出し等による根尖孔外の評価方法は報告されていない。そこで根管拡大形成法の違いによる根尖孔からの切削物の押し出しの定量的評価を行った。

【方法】模擬感染根管として10 μ m エッペンドルフの先端を切断し模擬根管を作製した。根管長は23mmとし生理的根尖孔を#80に設定した。模擬感染歯質としてルートキャナルシーラー(ニシカ)にリエスチェック1滴を混和しペーパーポイントで模擬根管壁に塗布した。模擬歯周組織としてエッペンチューブ(1.5ml)の蓋部分に直径250 μ mの孔を作製し、この中に蒸留水を満たし模擬根管を装着した。作業長を23mmとし、ステップバック法で25mmファイルを使用し#25から#40K、通法に従い根管形成を行った。クラウンダウン法では#40、20mmから開始し、#25、23mmまで形成を行った。根尖孔からの切削片の押し出された成分についてはエッペンチューブに溶出した成分をリエスチェックの吸光度のピーク569nmで吸光度測定を行った。コントロールは未処置すなわち根管形成しない状態で3分間の溶出成分とした。

【結果】ステップバック法ではコントロール、クラウンダウン法に比較して高い吸光度を示した。

【考察】本研究モデルでは根管形成の術式の違いにより根尖から歯周組織へ影響を与える可能性が示唆された。近年、根尖孔からの細菌の侵入により根尖周囲にバイオフィルムを形成していることが明らかとなっていることから、特に根尖孔からの切削片の押し出しに注意が必要である。特にクラウンダウン法は感染根管治療における術式として推奨されていることから切削片を押し出すことなく根管形成が行うことが可能な術式と考えられた。今後、さらに歯周組織に影響を与えない根管治療術式の評価を行う予定である。

mineral trioxide aggregate および接着性材料を用いた根管充填における coronal リークエッジの評価

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

○坂上 斉, 吉岡 俊彦, 小松 恵, 石村 瞳, 海老原 新, 須田 英明

Evaluation of Coronal Leakage in Root Canal Filling with Mineral Trioxide Aggregate and Dentin Adhesive Materials

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

○Sakaue Hitoshi, Yoshioka Toshihiko, Komatsu Kei, Ishimura Hitomi, Ebihara Arata, Suda Hideaki

【結論】MTA を用いて根管充填を行った群は、15 および 30 日後の色素漏洩量が有意に少なく、良好な封鎖性を示した。

【研究目的】我々は第 131 回本大会にて、MetaSEAL (Parkell, 以下 MS), Epiphany SE (Pentron, 以下 ES), および RoekoSeal (Coltene/Whaledent GmbH, 以下 RS) を用いて根管充填を行った群における coronal リークエッジについて評価し、報告した。本研究では、さらに mineral trioxide aggregate (ProRoot MTA, Dentsply Tulsa Dental, 以下 MTA) を用いて根管充填を行い、coronal リークエッジを評価した。

【材料および方法】実験には、単根管性のヒト抜去上顎小白歯 28 本を用いた。まず歯冠を Isomet で除去し、歯根長を 12 mm に調整した。根管上部を GGD (Produits Dentaires S.A.) #1~4 でフleaー形成後、K-file を用いてマスターアピカルファイル (MAF) が #80 となるように根管形成を行った。根管形成中は根管内に 6% NaClO で満たし、根管形成終了後に 18% EDTA および 6% NaClO にて根管洗浄を行った後、ペーパーポイントにて乾燥した。次いで、これらの歯を根管充填方法によって 7 本ずつ 4 群に分けた。A 群では MTA を用い、ブラガーおよび K-file で根管充填を行った。B 群ではガターパーチャポイント (ジーシー, 以下 GP) と MS を用い、単一ポイント法にて根管充填を行った。C 群では Resilon (Pentron, 以下 RP) と ES を用い、加熱ガッタパーチャ法にて根管充填を行った。D 群では GP と RS を用い、加熱ガッタパーチャ法にて根管充填を行った。その後、歯根上部にポリプロピレンチューブを取り付け、チューブ内に 0.06% メチレンブルー溶液を 0.2 ml 注入した。さらに、精製水を 3 ml 入れたガラス容器内に根尖のみが浸漬するように被験歯を固定し、歯根を通過した色素がガラス容器内に流出するようにした。湿度 100%、37°C の条件下で保管しながら、精製水中に漏洩した色素の吸光度を 1, 4, 8, 15, および 30 日後にマイクロプレートリーダーにて測定した (波長 630 nm)。得られた色素漏洩試験のデータは、一元配置分散分析を用い、有意水準 5% にて統計学的に解析した。

【結果】15 および 30 日後において、A 群は B~D 群と比較し漏洩量が有意に低かった ($p < 0.05$, 図)。

【考察】15 および 30 日後において、MTA を用いて根管充填を行った A 群は、他の群と比較して有意に色素漏洩量が少なかった。1 日後において、各群間には色素漏洩量に有意差が認められなかったことから、MTA を用いて根管充填を行った A 群は、時間経過とともに封鎖性が向上する可能性が示唆された。

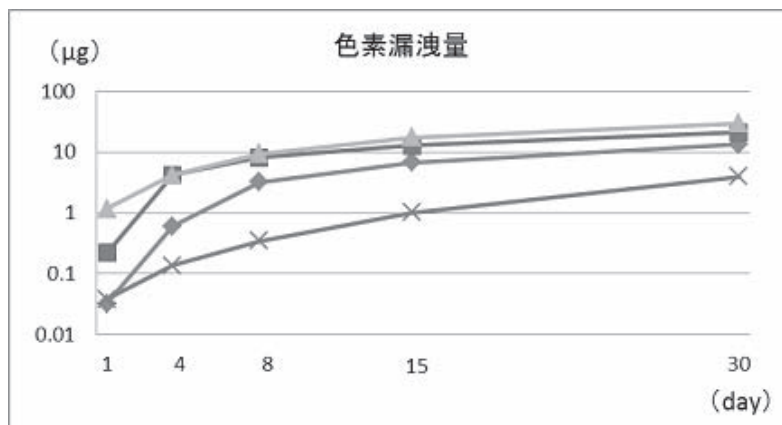


図 各群における色素漏洩量の経日変化
× : A (MTA)
■ : B (GP+MS)
▲ : C (RP+ES)
◆ : D (GP+RS)

ヒト歯髄培養細胞において CTGF/CCN2 は MMP-3 により産生され細胞遊走および石灰化に関与する

日本大学 松戸歯学部 歯内療法学講座¹, 日本大学 生物資源科学部 獣医生化学研究室²,

日本大学 口腔科学研究所³

○室町幸一郎¹, 神尾直人¹, 成田貴則², 神尾素代¹, 細谷史規¹, 山浦賀弘¹, 三浦孝司¹, 杉谷博士², 松島潔¹

CTGF/CCN2 is induced by MMP-3 and is related to migration and calcification of human dental pulp cells

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba, Japan¹, Department of Veterinary Biochemistry, College of Bioresource Sciences, Nihon University, Kanagawa, Japan², Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba, Japan³

○Muromachi Koichiro¹, Kamio Naoto¹, Narita Takanori², Annen-Kamio Motoyo¹, Hosoya Shiki¹, Yamaura Yoshihiro¹, Miura Takashi¹, Sugiya Hiroshi², Matsushima Kiyoshi¹

【目的】 Matrix metalloproteinases-3 (MMP-3) は stromelysin-1 と呼ばれ細胞外基質を幅広く分解するプロテアーゼとして知られているが、その他に断髄後や窩洞形成後のラット歯髄およびヒト急性歯髄炎において MMP-3 発現が亢進することが知られており、ラット歯髄を断髄後、MMP-3 で覆髄すると血管新生および硬組織形成が促進され歯髄の創傷治癒を促進することが報告されている。しかし、MMP-3 がどのような機序で創傷治癒に働くのかは未だ明らかではない。一方、MMP-3 が核内に移行して直接 connective tissue growth factor/CCN family 2 (CTGF/CCN2) 遺伝子の発現を調節するとの報告があり、組織治癒の場面で MMP-3 と CTGF/CCN2 の両者が作用することが想定される。本研究では、MMP-3 および CTGF/CCN2 のヒト歯髄培養細胞に対する効果を明らかにする目的で、western blotting による CTGF/CCN2 タンパク質の検出、migration assay による細胞遊走効果の検討、real-time PCR による dentin sialophosphoprotein (DSPP) mRNA 発現量の解析、alizarin red S 染色による石灰化の検出を行った。

【材料および方法】 1) 細胞培養：矯正治療目的で抜歯予定の患者に研究のインフォームドコンセントを行い、同意を得た後に抜去された歯から歯髄を分離した後、5~7 代継代培養した細胞をヒト歯髄培養細胞として実験に用いた。2) CTGF/CCN2 タンパク質の検出：western blotting 法を用い、MMP-3 刺激による CTGF/CCN2 タンパク質の発現を検索した。

3) 細胞遊走に対する MMP-3 および CTGF/CCN2 抗体の効果：culture-insert を用い培養シャーレ上に cell free area を作製し、細胞遊走に対する MMP-3 および CTGF/CCN2 抗体の効果を検討した。

4) DSPP mRNA 発現量の検索：real-time PCR 法を用い、CTGF/CCN2 刺激による DSPP mRNA 発現量を検索した。

5) 石灰化の検出：2 mM β -glycerophosphate, 50 μ g/ml L-ascorbic acid 2-phosphate を添加した培地で 28 日間培養した後に alizarin red S 染色を用い、CTGF/CCN2 刺激による石灰化を検出した。

【結果】 1) ヒト歯髄培養細胞において、MMP-3 刺激による CTGF/CCN2 タンパク質発現増強が認められ、100 ng/ml MMP-3 刺激で 1 時間後に発現が最大となった。

2) 100 ng/ml MMP-3 刺激により、ヒト歯髄培養細胞の遊走が促進された。

3) 100 ng/ml MMP-3 刺激によるヒト歯髄培養細胞の遊走促進効果は CTGF/CCN2 抗体によって抑制された。

4) CTGF/CCN2 刺激による DSPP mRNA 発現増強が認められ、100 ng/ml CTGF/CCN2 刺激で 1 時間後に発現が最大となった。

5) CTGF/CCN2 刺激により、石灰化の亢進が認められた。

【考察】 ヒト歯髄培養細胞において、MMP-3 は CTGF/CCN2 タンパク質の発現を濃度および時間依存的に増強することが示唆された。また、MMP-3 による細胞遊走促進効果が CTGF/CCN2 抗体により抑制されたことから、MMP-3 は CTGF/CCN2 産生を誘導することで細胞遊走を促進していると推察された。MMP-3 の歯髄培養細胞に対する直接的な象牙芽細胞分化促進作用は認めないとの報告があることから、次に CTGF/CCN2 がヒト歯髄培養細胞に及ぼす効果について検討したところ、DSPP mRNA 発現の増強および石灰化の亢進が認められ、象牙芽細胞への分化を促進する可能性が考えられた。

以上の結果より、ヒト歯髄培養細胞において CTGF/CCN2 は MMP-3 により産生され細胞遊走および石灰化に関与することが明らかになった。

本研究は、平成 22 年度科学研究費補助金(基盤研究(C) No. 20592239)、(若手研究(B) No. 22791846)により行った。

超音波チップを用いた根管治療-髓腔開拓から根管形成そして根管洗浄について-

日本大学 歯学部 保存学教室 歯内療法学講座

○明石俊和, 武市収, 勝呂尚, 小森則雄, 鶴町保, 小木曾文内

Ultrasonic Vibration for Access Cavity and Root Canal Preparation and Irrigation

Department of Endodontics Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Akashi Toshikazu, Takeichi Osamu, Suguro Hisashi, Komori Norio, Turumachi Tamotu, Ogiso Bunnani

【はじめに】 超音波振動装置の根管治療への活用は髓腔開拓から根管口明示、そして根管形成、根管洗浄に使用し治療の確実性と効率性を図るには優れた装置である。とくに超音波チップの種類を目的別に選択することにより従来の回転切削による根管治療の煩雑性から解放されることは安全に安心の治療法に近づいたと考えられる。超音波チップは感染歯質、髓角、エンド三角等の除去に始まり髓腔開拓、根管口明示、根管形成が行える。また、歯質切削と並行して超音波振動時に発生するキャビテーション作用は根管口の探索、根管内容物除去、再根管治療時の充填物除去、拡大形成後のスマア層除去などの根管洗浄に活用できる。そこで多目的使用振動装置であるナカニシ社製バリオス 370S Lux に各種超音波チップを装着し髓腔開拓から根管口明示、根管形成、そして根管洗浄について検討したので報告する。

【材料及び方法】 バリオス 370S Lux と専用チップ V-S51D, V-S51, V-G71, V-G77 試作チップ V-NA1, V-NA2, V-NA3, V-NA4 を使用する。A)超音波振動根管形成の手順と使用超音波チップ 1)髓室開拓と根管口明示(V-G71, V-NA1, 2, 3, 4) 2)ストレートラインアクセスの確保(V-G77, V-NA3, 4) 3)作業長の決定(#10 手用K型ファイル) 4)根管のガイドグループ形成(#10~#20K型ファイル) 5)根管上部 1/3 の根管形成(V-S51D, V-NA3) 6)根中央部 1/3 の根管形成(V-S51D) 7)根尖部 1/3 の根管形成(V-S51D) 8)アピカルシート形成(#35K型ファイル)B)超音波チップ洗浄と使用超音波チップ 1)髓室の洗浄(V-G71, V-NA1, 2) 2)根管洗浄(V-S51) 3)スマア層除去(V-G71, V-G77, V-NA1, 2, 3, 4) 4)再根管治療時の根管充填材(剤)除去(V-G71, V-G77, V-NA3, 4)

【結果および考察】 1)髓室開拓、根管口明示ができる、2)根管口上部 1/3 の根管形成ができる、3)根中央部 1/3 の根管形成ができる、4)根尖部 1/3 の根管形成ができる、5)根管洗浄ができる 歯科用回転切削による髓腔開拓から根管口明示にいたる操作は過剰な歯質切削や偶発的穿孔の危険があり、細心の注意が必要である。しかし超音波チップに歯質切削はヘッド部が小さく患部の視野確保が容易である。また、回転切削より切削効果が劣ることにより過剰切削が予防できる。回転切削や K 型ファイルによる根管拡大は随時太い K 型ファイルに取替える必要がある。しかし超音波チップによる根管形成は咬み込みによる切削ではなく振動による歯質破壊による。そのため超音波チップ交換は必要なく 1 種類 1 本で根管形成が出来る。また超音波チップ振動時に発生するキャビテーション、攪拌、還流作用により髓腔、根管の洗浄ができる。とくに髓腔開拓、根管拡大時に形成されるスマア層が除去できることは根管充填時の辺縁封鎖性、CR 築造時の接着性の向上が期待できる。

【結論】 超音波振動装置バリオス 370S Lux と各種超音波チップにより髓腔開拓から根管口明示、そして、根管形成、根管洗浄ができる。

MDP およびフッ化ナトリウムの配合が試作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

○澁谷和彦, 大原直子, 星加知宏, 田中久美子, 西谷佳浩, 吉山昌宏

Influence of MDP and Sodium Fluoride added to Experimental Resin Cements on Dentin Bond Strength

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University

Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan

○Shibuya Kazuhiko, Ohara Naoko, Hoshika Tomohiro, Tanaka Kumiko, Nishitani Yoshihiro, Yoshiyama Masahiro

【目的】

接着性レジンセメントは、接着性、機械的強度並びに辺縁封鎖性を有するため、臨床に用いられる頻度が増加している。そのなかでもセルフアドヒーシブレジンセメントは歯面処理を必要とせず、チェアタイムが短縮されるなどの利点がある。本研究ではセルフアドヒーシブレジンセメントの歯質接着性を高めるため、歯質のハイドロキシアパタイトやカルシウムとの親和性が高く優れた接着安定性を持つ MDP の配合量を変化させるとともに、二次う蝕抑制効果を付加するためフッ化ナトリウムを同時に配合した試作レジンセメントを作製し、MDP およびフッ化ナトリウムの配合が試作レジンセメントの象牙質接着強さに及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】

試作セメントとして MDP およびフッ化ナトリウム配合量を各 3 段階に変化させた計 9 種類のセメントを作製した。健全ヒト抜去小白歯の咬合面象牙質平坦面を耐水研磨紙(#600)を用いて研磨したものを象牙質面とした。被着体としてエステニア(クラレメディカル)ブロックを使用し、表面処理はアルミナサンドブラスト(5s)、超音波洗浄(2min)、リン酸エッチング(5s)、水洗乾燥、シラン処理を行った。試作レジンセメントにより象牙質面とエステニアブロックを接着し、接着試料を 37°C 水中に 24 時間保管後、1.0×1.0mm²の短冊状に切り出した。これを測定試料とし EZ Test (SHIMADZU)を用いクロスヘッドスピード 1.0mm/min にて微小引張接着強さを測定した。測定結果は t 検定を用い p<0.05 にて統計処理を行った。引張試験後の試料は、デジタルマイクロスコープ(KEYENCE VH-5500)を用いて破断面形態の観察を行った。

【結果および考察】

MDP 配合量を上昇させた場合、有意に接着強さが増加した。また、フッ化ナトリウム配合量を少量増加させた場合には接着強さの低下は認められなかったが、フッ化ナトリウム配合量をさらに増加させると接着強さが低下する傾向が認められた。破断面の観察では、いずれの群もセメントと界面の混合破壊が多く認められた。以上の結果より、MDP およびフッ化ナトリウムの配合量はレジンセメントの象牙質接着強さに影響を及ぼすことが示唆された。今後、試作セメントの物性およびフッ素徐放量等を測定し、総合的に評価していく予定である。

炭酸カルシウム添加 4-META/MMA-TBB レジン表面への骨形成

北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室

○逸見優, 菅谷勉, 中塚愛, 中澤篤史, 洲崎真希, 川浪雅光

Bone formation on the surface of 4-META/MMA-TBB resin with calcium carbonate

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine(Prof. Masamitsu Kawanami)

○Henmi Masaru, Sugaya Tsutomu, Nakatsuka Megumi, Nakazawa Atsushi, Sunosaki Maki, Kawanami Masamitsu

【目的】4-META/MMA-TBB レジンは歯質に対する優れた接着性を有し、生体親和性もきわめて高いことから、歯根端切除術や再植術時の root-end sealing, 垂直歯根破折の接着治療、髄床底穿孔部の封鎖などに応用し、良好な成績を報告してきた。しかしその治癒形態は、軟組織がレジンを被覆するものであり、レジン上にセメント質の形成は観察されていない。一方、ラット頭蓋骨に 4-META/MMA-TBB レジンを接着させた研究では、長期的には硬化したレジン表面に周囲から新生骨が増生し、レジンと骨が軟組織を介在することなく直接接していたことから、レジン表面への硬組織形成の可能性が示唆されている。そこで、4-META/MMA-TBB レジン表面に骨やセメント質等の硬組織を形成させて強く結合させる特性を付与するために、炭酸カルシウムを添加し、骨髄腔内に移植して骨増生への影響や新生骨との結合状態などを評価した。

【方法】4-META/MMA-TBB レジン(スーパーボンド C&B、サンメディカル)のポリマー粉末に粒子サイズ 5~10 μ m の炭酸カルシウムを 0,30,60% の重量比で混和し、内径 1mm のポリプロピレンチューブ内で硬化させた。硬化後、長さ 5mm に破断して移植試料とした。実験動物には、10 週齢 Wistar 系雄性ラット 15 匹を使用した。大腿骨骨髄腔に 2 か所穿孔し、試料破断面が骨髄腔内に位置するように移植した。観察期間は 2 週, 8 週として薄切標本を作製し、試料破断面を評価部位として、組織学的観察および組織計測を行った。計測は骨基質形成率、破断面と新生骨基質間の平均距離、試料と新生骨基質の接触率について行った。さらに 60% 群の一部は、8 週の観察期間終了後、試料破断面と新生骨との界面を SEM で観察した。

【結果】術後 2 週では、0% 群と 30% 群の移植破断面はやや厚い軟組織に被包され、その外側に薄い梁状の新生骨が形成された。60% 群では移植試料に近接した部位で新生骨が形成され、構造は緻密であった。術後 8 週では、0% 群と 30% 群は、術後 2 週と比べると新生骨は破断面と近接し、緻密化していた。0% 群は移植試料と新生骨間には数層の細胞が介在していたが、30% 群では破断面と新生骨が直接接している部分もわずかに認められた。60% 群では、破断面と新生骨が直接接している部分が多く観察された。骨基質形成率は、2 週後 0% 群が 69.7 \pm 24.1%, 30% 群 72.1 \pm 31.6%, 60% 群 78.9 \pm 20.4%、8 週後はそれぞれ 86.7 \pm 7.6%, 75.0 \pm 14.6%, 92.7 \pm 5.2% で、いずれの観察期間も 3 群間に有意差はなく、2 週後と 8 週後の間にも有意差はなかった。破断面と新生骨基質間の平均距離は、2 週後、0% 群が 40.5 \pm 27.0 μ m, 30% 群 19.2 \pm 5.0 μ m, 60% 群 10.2 \pm 6.1 μ m であった。60% 群は 0% 群に比較して有意に小さかった。8 週後はそれぞれ 10.8 \pm 8.5 μ m, 5.2 \pm 2.3 μ m, 3.3 \pm 0.9 μ m で、3 群間に有意差はなかった。2 週後と 8 週後を比較すると、0% 群、30% 群では 8 週後に有意に減少していた。破断面と新生骨の接触率は、2 週後では 3 群とも直接接している部分はなかったが、8 週後では、0% が 0%、30% 群 6.6 \pm 6.5%、60% 群 18.3 \pm 8.9% であった。2、8 週後とも 60% 群は 0% 群に対して有意に高く、2 週後と 8 週後を比較すると 60% 群では有意に増加していた。8 週後の 60% 群試料を SEM で観察すると、レジンと新生骨が間隙なく接している部分が見られた。

【考察】炭酸カルシウムを添加した移植試料周囲には、局所的に高濃度のカルシウムイオンが存在していたと考えられ、試料近傍での新生骨の形成を促進し、直接接する部位が増加したと考えられた。また、SEM 観察では、レジンの陥凹部に骨基質が増生し、間隙なくレジンと嵌合している部分も観察されたことから、レジンと新生骨の強固な結合が得られる可能性があると考えられた。

【結論】4-META/MMA-TBB レジンに炭酸カルシウムを添加すると、レジンと骨の直接接触を高め、硬組織との結合を促進させる可能性が示唆された。

クリアフィルフォトボンドの象牙質に対する微小引張り接着強さにおける白金ナノコロイドの塗布方法の効果

北海道大学 歯学部 歯科学研究科

○付佳楽, 丁世俊, 潘峰, 角田晋一, 中沖靖子, 池田考績, 田中享, 佐野英彦

The effect of application methods of colloidal platinum nano-particles on micro-tensile bond strength to dentin by using Clearfil Photo Bond (Kuraray)

The Department of Restorative Dentistry, Hokkaido University, Sapporo, Japan

○Fu Jiale, Ting Shihchun, Pan Feng, Kakuda Shinichi, Nakaoki Yasuko, Ikeda Takatsumi, Tanaka Toru, Sano Hidehiko

Objective: The purpose of this study was to investigate the effect of different application methods of colloidal platinum nano-particles (CPN) on micro-tensile bond strength to dentin.

Materials & Methods: In this study, one bonding system was tested: Clearfil Photo Bond (PB, Kuraray). Twelve human third molars were randomly divided into six groups with two teeth for each group. Six groups' bonding application followed as: (1) moist dentin surface after 200 μ L 35% phosphoric etching; (2) dry dentin surface after 200 μ L 35% phosphoric etching; (3) moist dentin surface after etching with mixture of 100 μ L 70% phosphoric and 100 μ L 100% CPN; (4) dry dentin surface after etching with mixture of 100 μ L 70% phosphoric and 100 μ L 100% CPN; (5) moist dentin surface after priming with 200 μ L 10% CPN; (6) dry dentin surface after priming with 200 μ L 10% CPN. The adhesive was applied following the instruction of manufacture and followed by build-up with resin composite (Clearfil AP-X) with light curing for 20s each time. After storage in 37°C distilled water for 24 hours, the bonded specimens were sectioned into 1.0mm² sticks, which subjected for the micro-tensile bond strength (μ TBS) test at a crosshead speed of 1mm/min. The obtained data was expressed as MPa and statically analyzed by Games-Howell. The fractured surfaces of dentin side were observed with SEM and TEM was also contributed to the observation of this study.

Results: The results of μ TBS test showed that the higher bonding performances are from group (1), (3) and (5) for Photo Bond, which were significantly higher than the other three groups ($p < 0.05$), however, there was no significant difference inside of three higher groups.

Conclusion: It would be advocated that CPN could not improve the bonding performance of PB through the comparison between group (1), (3) and (5).

フロアブルレジンの機械的性質とその臨床応用

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 生体工学研究所部門², 福本歯科医院³,
横須賀共済病院 歯科⁴

○高見澤俊樹^{1,2}, 井上直樹¹, 色川敦士^{1,2}, 田久保周子¹, 大塚詠一朗¹, 森健太郎¹, 福本敬一³, 宮直利⁴,
宮崎真至^{1,2}

Mechanical properties of newly developed flowable resin composites and clinical use

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Division of Biomaterials Science,
Dental Research Center, Tokyo, Japan², Fukumoto Dental Clinic, Tokyo, Japan³, Yokosuka Kyosai Hospital, Yokosuka,
Kanagawa⁴

○Takamizawa Toshiki^{1,2}, Inoue Naoki¹, Irokawa Atushi^{1,2}, Takubo Chikako¹, Otuka Eiichiro¹, Mori Kentaro¹,
Fukumoto Keiichi³, Miya Naotoshi⁴, Miyazaki Masashi^{1,2}

【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は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。このタイプのコンポジットレジンは、臨床応用範囲の拡大を目的としてフィラー含有量やレジンモノマーなどに改良が加えられ、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、最近市販されたフロアブルレジンの機械的性質について評価するとともにその臨床応用について検討した。

【材料および方法】

供試したフロアブルレジンは、Metafil Flow Low-Flow (Sun Medical, 以後, ML), Metafil Flow Medium-Flow (Sun Medical, 以後, MM) および Filtek Supreme Ultra Flowable Restorative (3M ESPE, 以後, SU) の 3 製品とした。

評価項目については、以下の 5 項目としてそれぞれ測定した。

- 1) 無機フィラー含有量 (wt %)
- 2) 熱膨張係数 ($10^{-6}/^{\circ}\text{C}$)
- 3) 曲げ強さ (MPa) および曲げ弾性率 (GPa)
- 4) 体積重合収縮率 (vol %)
- 5) フロアブル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、61.0～63.3 wt % であり、熱膨張係数は $49.8\sim 56.2\times 10^{-6}/^{\circ}\text{C}$ と、SU で最も小さい値を示した。また、24 時間後の曲げ強さは、133.0～143.4 MPa、曲げ弾性率は 6.1～6.8 GPa であり、いずれも SU で最も高かった。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、2.94～3.31 vol % であり、ML が最も低い値を示した。フロアブルレジン硬化物の SEM 観察からは、ML および MM ではサイズの異なる不定形フィラーを高密度に充填するとともに、部分的に有機複合化を図っている像が観察された。一方、SU ではナノフィラーおよびナノフィラーをクラスター化した像が観察された。また、臨床使用時の操作性に関しては、その流動性、付形性など用いた製品によって異なるものであった。以上の結果から、供試したフロアブルレジンの機械的性質および臨床操作性は製品によって異なるため、臨床使用の際には材料の有する特徴を勘案した使用が望まれるものと考えられた。

【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のうち、機械的性質および臨床操作性は製品によって異なることが示された。

フッ化物含有ペーストの塗布がシングルステップシステムのエナメル質接着性に及ぼす影響

日本大学 歯学部 保存学教室 修復学講座¹, 日本大学 歯学部 総合歯学研究所 生体工学研究部門², 佐藤歯科³,
植原歯科⁴

○陸田明智^{1,2}, 小倉由佳理¹, 土屋博昭¹, 坪田圭司^{1,2}, 瀧川智義^{1,2}, 安藤進^{1,2}, 佐藤幹武^{1,3}, 植原俊雄⁴, 宮崎真至^{1,2}

Influence of fluoride paste on enamel bond strengths of single-step self-etch systems

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Division of Biomaterials Science,
Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan², Sato Dental Clinic³, Uehara Dental Clinic⁴

○Rikuta Akitomo^{1,2}, Ogura Yukari¹, Tuchiya Hiroaki¹, Tsubota Keishi^{1,2}, Takigawa Tomoyoshi^{1,2}, Ando Susumu^{1,2},
Sato Mikitake^{1,3}, Uehara Toshio⁴, Miyazaki Masashi^{1,2}

【研究目的】 修復の対象となる歯質は、う蝕予防や PTC 後の歯質強化、さらには酸蝕歯への対応など、フッ化物含有ペーストの応用が行われている。しかし、これら歯質の研磨ペーストの使用が歯質接着性に及ぼす影響については不明な点が多い。

そこで演者らは、口腔内での環境を想定した研究の一環として、エナメル質へのフッ化物含有ペーストの塗布がシングルステップシステムの接着性に及ぼす影響について、剪断接着強さ試験および試験後の破壊形式を観察するとともに、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行うことによって検討した。

【材料および方法】 1. 供試レジンシステムおよび可視光線照射器

供試したシングルステップシステムは、ビューティボンド (松風)、ボンドフォース (トクヤマデンタル) および G-ボンドプラス (ジーシー) の 3 製品であり、対照として 2 ステップシステムのシングルボンドプラス (3M ESPE) を用いた。可視光線照射器としては、Optilux 501 (sds Kerr) を、その光強度を確認して使用した。

2. フッ化物含有ペーストの塗布条件

フッ化物含有ペーストとしては、市販のメルサージュクリアジェル (松風) を用い、これを試片に塗布し、ティースブラシを用いて 30 秒間処理後、10 分間放置した。なお、塗布条件としては、塗布直後 (直後群) および 1 日 2 回、7 日間塗布を行ったもの (7 日群) の 2 条件とした。また、無処理のものをコントロールとした。

3. 接着試験用試片の製作

被着体としては、ウシ下顎前歯の唇面エナメル質を SiC ペーパーの #600 まで仕上げ、超音波洗浄を行ったものを用いた。

次いで、条件に従って塗布後、被着面積を規定し、各製造者指示条件にしたがって歯面処理を行い、内径 4 mm、高さ 2 mm の円筒形ジュラコン型を静置して、レジンペーストを填塞、ストリップスを介して光線照射を行い、接着試験用試片とした。

これらの試片は、37 °C 精製水中に 24 時間保管後、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 の条件でその剪断接着強さの測定を行った。

なお、接着試片の数は各条件につき 10 個とし、その製作は 23 ± 1 °C、相対湿度 50 ± 5% の恒温恒湿室で赤色ランプ照明下にて行った。得られた接着強さの測定値については、各条件間の有意差の検定を有意水準 5 % の条件で行った。

4. 破壊形式の判定

接着強さ測定後の破断試片については、その破壊形式を知るために、実体顕微鏡を用いて歯質側破断面を観察し、併せて、通法に従って SEM (ERA-8800FE, エリオニクス) 観察を行った。

【成績および考察】 供試したシングルステップシステムのエナメル質接着強さは、コントロール群と比較して、直後群では、いずれの製品においても接着強さに有意な変化は認められなかった。一方、7 日群においては、その接着強さは低下する傾向を示し、接着試験後の破壊形式は、界面破壊例が増加した。対照とした 2 ステップシステムにおいては、直後群および 7 日群においても接着強さに有意な変化は認められなかった。このフッ化物含有ペーストの塗布における接着強さの低下は、繰り返しペーストが塗布されることによる成分の残渣により、接着性が十分に発揮できなかったためと考えられた。

【結論】 供試したシングルステップシステムにおいて、フッ化物含有ペーストを繰り返し塗布することによって、エナメル質接着性に影響を及ぼす可能性が示唆された。

ワンステップデュアルキュア接着システムにおいて化学重合硬化の放置時間が根管象牙質への接着強さに及ぼす影響について

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 口腔制御学分野

○ティッタウィーラットスッパソン, 坂野若詠, 中島正俊, 田上順次

Effect of waiting interval before filling with resin-core material on bonding to root canal dentin using dual-cure one-step adhesives with chemical activation mode.

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

○Thitthaweerat Suppason, Sakano Wakae, Nakajima Masatoshi, Tagami Junji

Introduction Nowadays, dual-cure one-step adhesives have been introduced for bonding to root canal dentin, because they can chemically polymerize in the deeper region with the absence of light energy and simplify bonding procedures. However, several studies have demonstrated that the light-curing strategy to dual-cure adhesives strongly affected the bond strength to root canal dentin and the absence of light energy absolutely reduced the bonding performance. This might be due to incomplete polymerization of the adhesive when the contraction stress generated by polymerization of resin core material occurred. The purpose of this study was to evaluate the effect of waiting interval before filling with resin-core material on bonding to root canal dentin using dual-cure one-step adhesives with chemical activation mode.

Materials & Methods The fifty-four post spaces (depth of 8 mm; diameter of 1.5 mm) were prepared in extracted human lower premolars using FiberKor drill. One of three dual-cure one-step adhesives (Estelite Core Quick: Tokuyama; Clearfil DC Bond; Kuraray; Unifil Core EM: GC) were applied to the post space according to the manufacturer's instructions and then air-blown for 10 seconds. The adhesive was photo-irradiated using a light curing unit (Optilux 500) for 10 seconds or none. For the no photo-irradiation groups, the waiting intervals (0, 10 and 30 seconds) were set before filling with resin-core materials into the post space. After filling with the resin core material, all specimens were photo-irradiated for 60 seconds and then stored in water for 24 hours. The each bonded specimen was serially sectioned into 8, 0.6 x 0.6-mm thick beams for the μ TBS test.

Results The microtensile bond strengths are presented in Table.

		Light-activation	No light-activation		
			0s	10s	30s
Estelite Core Quick	Coronal	47.36±5.58A	N.D.	29.91±6.3B	30.63±2.81B
		$p < 0.05$		$p < 0.05$	$p < 0.05$
Clearfil DC Bond	Apical	28.68±6.15a	N.D.	24.46±4.19b	24.86±2.47b
	Coronal	37.14±5.07A	N.D.	22.15±2.06B	23.05±1.65B
Unifil Core EM		$p < 0.05$		$p < 0.05$	$p < 0.05$
	Apical	26.29±6.52a	N.D.	13.41±0.94b	14.93±2.02b
Unifil Core EM	Coronal	28.56±5.37A	27.42±4.11A	27.59±3.12A	28.42±5.58A
		$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$	N.S.
Unifil Core EM	Apical	22.55±5.3a	18.53±5.39b	19.76±2.74b	24.84±5.84a

All values are mean±SD. The same letter means no statistical difference in each row ($p > 0.05$).

Conclusions Estelite Core Quick and Clearfil DC Bond with light activation mode were significantly higher bond strength to root canal dentin than those of chemical-activation mode, in which the waiting interval with chemical-curing mode increased the bond strengths. On the other hand, for Unifil Core EM, there were no significant differences in μ TBS to coronal region between the experimental groups; however the waiting interval with chemical-activation mode increased the μ TBS to apical region.

I型コラーゲンの接着モノマー修飾と石灰化ハイブリッドの誘導形成

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 う蝕制御学分野¹, 東京医科歯科大学 機器分析センター², 東京医科歯科大学 歯と骨の GCOE³, American Dental Association Health Foundation Paffenbarger Research Center⁴

○島田康史¹, 市ノ瀬志津子², Sadr Alireza³, Nazari Amir¹, 中川寿一¹, 田上順次³, Eidelman Naomi⁴,

高木章三⁴, Chow Laurence⁴

Modification of type I collagen with adhesive monomer and guided formation of calcified hybrid

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University¹, Instrumental Analysis Research

Center, Tokyo Medical and Dental University², GCOE Program: International Research Center for Molecular Science in

Tooth and Bone Diseases, Tokyo Medical and Dental University³, American Dental Association Health Foundation

Paffenbarger Research Center⁴

○Shimada Yasushi¹, Ichinose Shizuko², Sadr Alireza³, Nazari Amir¹, Nakagawa Hisaichi¹, Tagami Junji³,

Eidelman Naomi⁴, Takagi Shozo⁴, Chow Laurence⁴

【目的】コンポジットレジン修復において、接着界面付近に耐酸塩基性の高くなる層の形成が報告されている。本研究では、脱灰象牙質または知覚過敏露出根面などにおいて、高度な石灰化層の誘導形成を目的とし、I型コラーゲンに接着性モノマー処理を行い、石灰化を試みた。

【方法】Kikuchらの方法(2001)に準じ、I型コラーゲンの石灰化を試みた。まず Ca(OH)₂サスペンション(100mM)と H₃PO₄水溶液(60mM)を等量混和し、その後1N HClならびに0.5N NaOHを用い、pH5-5.5またはpH8-8.5の石灰化液を作成した。それぞれの石灰化液は37℃とし、先に作成した Ca(OH)₂サスペンションならびに H₃PO₄水溶液と同じ液を約1ml/minずつ滴下し、それぞれの石灰化液 pH は pH コントローラーに接続した1N HClならびに0.5N NaOHにより一定に保持した。次に、I型コラーゲンスポンジに接着モノマーMDP(1%、5%、20%)処理、またはメガボンドプライマー処理(MB)を行い、24時間放置後、無処理(コントロール)のコラーゲンスポンジとともに石灰化液に浸漬した。10日間経過後コラーゲンスポンジを取り出し、ただちにアセトンに浸漬し、石灰化を停止した。自然乾燥した後、コラーゲンの沈着物について、ICP発光分光分析によりCaとPの定量を試みた。また、コントロール、MDP20%、MBについてはXRDにより生成物の分析を行った。

【成績】ICP発光分光分析の結果を表1、2に示す(表1:pH5-5.5、表2:pH8-8.5、mg/g)。すべてのコラーゲン処理において、Ca、PはpH5-5.5の条件のほうがpH8-8.5よりも多かった。またCa、Pの沈着は、pH5-5.5、pH8-8.5ともにMDP1%ではコントロールよりも少なかったが、MDP5%、MDP20%、MBでは多くみられた。XRD分析の結果、pH5-5.5ではDCPDのピークが、またpH8-8.5ではハイドロキシアパタイトのピークがみられた。またMDPまたはMB処理を行った場合、pH5-5.5、pH8-8.5ともにMDP-Caと思われる強いピークが確認された。

【結論】ICP発光分光分析から、I型コラーゲンスポンジに5%以上のMDPまたはMBを作用させた場合、Ca、Pの沈着が多くみられたが、MDP1%はコントロールよりも少なく、モノマーの濃度による影響が認められた。またXRD分析より、MDPまたはMB処理によるMDP-Caの強いピークが

認められ、コラーゲンに付着したMDPによるCaの吸着作用が考えられた。Ca、P生成物はpH濃度による影響を受け、特にpH8-8.5ではハイドロキシアパタイトが、pH5-5.5ではDCPDが多く形成されることが判明した。以上より、至適濃度のMDPによる処理は、I型コラーゲンの石灰化誘導に有効である可能性が示唆された。

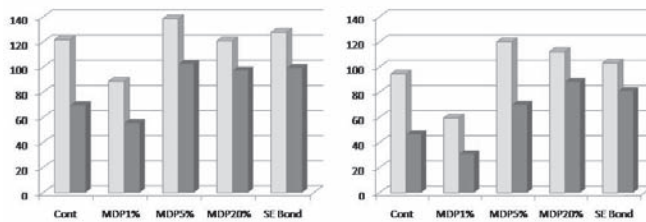


図1. pH5-5.5

図2. pH8-8.5

1級型歯冠築造用窩洞におけるレジンコアの接着実態

日本歯科大学 生命歯学部 歯科保存学講座

○小川信太郎, 前野雅彦, 秋山沙絵子, 原学, 山田正, 柵木寿男, 奈良陽一郎, 勝海一郎

Actual adhesion state of resin composite core applied for class 1 type coronal core cavity

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

○Ogawa Shintaro, Maeno Masahiko, Akiyama Saeko, Hara Manabu, Yamada Tadashi, Maseki Toshio, Nara Yoichiro,
Katsuumi Ichiroh

【目的】近年、接着材とコンポジットレジンによるシステム化された歯冠築造の応用は、修復過程における歯質保存のみならず術後に生じる各種応力の均衡・分散化を図れることから、脆弱な失活歯に有益な処置法として普及している。しかし、本法による接着の実態は不明な点が多い。そこで本研究では、規格化した1級型築造用窩洞に2種レジンコアシステムによる歯冠築造を行い、髄床底象牙質ならびに近心軸側壁象牙質への微小接着強さを測定することによって比較検討した。

【材料および方法】被験歯には、0.1%チモール水溶液中に保存したヒト抜去健全下顎第一大臼歯 16 本を用いた。まず被験歯の近心頬・舌側咬頭頂と遠心頬側咬頭頂とによって決定される平面が植立用規格化円筒モールド底面と平行になるよう被験歯を植立した。ついで髄腔開拓し、通法に従い根管充填し、規格化窩洞形成器と基準窩洞模型の併用により、Fig. 1 に示す規格化した1級型歯冠築造用窩洞(C 値:4.6)を形成した。その後、新規試作システム ECG Resin Core Kit (以後 ECG, Tokuyama Dental) と市販システム Clearfil DC Core Automix (以後 CDA, Kuraray Medical) による製造者指定の歯面処理、窩洞内壁全面へのコア材一層塗布(1mm) + 光照射の有無条件を経て、計2回の積層充填・光照射によって歯冠築造を終えた。これら試料を 37°C 湿 Box に 24 時間保管後、髄床底象牙質(以後 P 壁)ならびに近心軸側壁象牙質(以後 A 壁)を含む2片の板状試料を切り出した。ついで、規格化試料形態調整器を用いて、最狭窄部幅:1.0mm、厚さ:1.0mm、平行部長さ:1.0mm、接着面積 1.0mm² の規格化ダンベル状試料に調整後、P 壁と A 壁に対する Micro-tensile bond strength(以後 μ -TBS 値、n=8)を測定した。得られた値は t 検定によって検討を加えた。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。

【成績およびまとめ】得られた結果を Fig. 2 に示す。コア材一層塗布を実施しない填塞試料(Non-coated)は調整過程中的離断によって μ -TBS 値が得られなかった。一方、コア材一層塗布による填塞試料(Coated)の μ -TBS 値は約 10MPa 以下であり、分析の結果、レジンコアシステムの違いにかかわらず、P 壁への μ -TBS 値は A 壁値より有意に小さいことが明らかとなった。また、窩壁象牙質の違いにかかわらず2種コアシステムの μ -TBS 値は同等であった。以上から、1級型歯冠築造用窩洞におけるレジンコアの接着はコア材の収縮応力による多大な影響を受け、また分割積層法によるコア材の填入だけでは接着が不確実となり、事前のコア材窩壁一層塗布によって一定レベル値への向上を図る必要性が示唆された。しかし、現状の μ -TBS 値は低値に止まり、かつ P 壁は A 壁より接着獲得に難点を有する性状も厳然として存在することから、修復用接着システムの併用も含め、コアシステム全体の改良と応用時の創意工夫が望まれる。

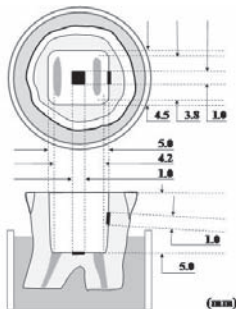


Fig. 1 Dimension of standardized core cavity and μ -TBS measuring area

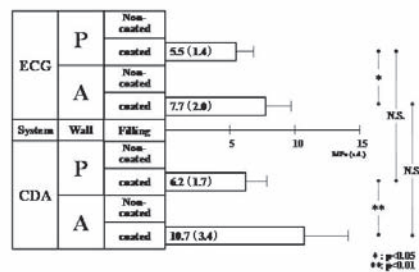


Fig. 2 Mean μ -TBS to pulpal and axial dentin wall of two resin core systems

新規試作ワンステップボンディングシステム MTB200 の歯質接合界面の観察

虎の門病院歯科

○杉崎順平, 森上誠, 宇野滋, 山田敏元

SEM and TEM observation of the interfacial ultrastructure of the newly designed one-step bonding system "MTB200"

Department of Dentistry, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan

○Sugizaki Junpei, Morigami Makoto, Uno Shigeru, Yamada Toshimoto

【緒言】ワンステップのボンディングシステムはここ 10 年の間に急速に普及し臨床の場で用いられるようになってきているが、水や有機溶媒、さらには親水性モノマーをすべて1液の中に含んでおり、このことが歯質との接着性の耐久性に影響を及ぼすことが懸念されている。今回クラレメディカルが開発した新規ワンステップボンディングシステムはこの点を改善すべく重合率の向上、接着性能の向上、吸水性の低減などを目指し成分の改良を行なっている。われわれはこの新規システムを用いてその歯質接着性能を確認すべく歯質との接合界面の詳細な観察を行ったので報告する。

【材料と方法】1. 本研究に用いられた材料は新規開発された試作ワンステップボンディングシステム MTB200 であり、成分には新規の親水性・疎水性モノマー、光重合触媒、化学重合促進剤、フッ化ナトリウムなどが加えられている。接着手順としてはボンド塗布後 10 秒間の放置、エアードライ後 10 秒間の光照射を行いコンポジットレジンの充填操作を行うというものである。2. 歯質接合界面の FE-SEM 観察:小窩裂溝に中程度の象牙質う蝕を有するヒト抜去臼歯の歯冠部から健全エナメル質、健全象牙質を含む平坦面を露出させ、さらにう蝕部分を除去した窩洞を併せて被着面とした。被着面は MTB200 を用いて処理を行った後に Clearfil Majesty にて築盛した。通法に従って接合界面が露出するようにエポキシ樹脂にて包埋・研磨後アルゴンイオンエッチングを施した試料について歯質との接合界面の様相を FE-SEM を用いて詳細に観察した。3. 歯質接合界面の TEM 観察:MTB200 と Clearfil ProtectLiner F を用いて SEM 観察試料と同様に作製された接着試片を固定後エタノール脱水系列にて脱水し、通法に従ってエポキシレジンに包埋した。ダイヤモンドナイフを用いて厚さ 85nm の超薄切片を作製し、未脱灰のまま透過型電子顕微鏡 TEM にて健全象牙質との接合界面の様相を詳細に観察した。

【結果ならびに考察】1. 接合界面の FE-SEM 像 健全エナメル質、健全象牙質平坦面に対しては約 5 μ m の幅で、またう蝕除去後の象牙質窩洞においては約 10 μ m の幅でボンド層が観察され、どの被着面に対しても非常に良好な接合状態を示し、ギャップなどは観察されなかった。健全象牙質表層においては約 0.2 μ m の幅でボンディング層とは構造の異なるハイブリッド層が観察されたが、う蝕除去後の象牙質表層ではその境界が若干不明瞭であった。またボンド層とコンポジットレジン層との境界も非常に密接に接合しており、そのなじみの良さが窺われた。2. 接合界面の TEM 像 健全象牙質との接合界面は TEM によっても非常に緊密な接合状態であることが観察された。表層には約 0.2 μ m の幅でアパタイト結晶が脱灰されそこにレジンが浸透したハイブリッド層の存在が確認された。ボンディング層は Tri-S Bond がその重合阻害の影響で 2 層構造を示していたのに対して、均一な重合性が得られている可能性が示された。

【結論】今回クラレメディカルから新規開発された試作ワンステップボンディングシステム MTB200 は歯質に対して非常に良好な接着性を示し、その構造から接着耐久性についても大いに期待できるものであると思われた。今後接着耐久性を中心にさらに検討を行っていく予定である。

フロアブルレジンの使用頻度に関する臨床調査

虎の門病院 歯科

○森上誠, 行定健治, 田島賢一, 佐藤暢昭, 杉崎順平, 宇野滋, 山田敏元

A clinical survey on the frequency of flowable resin composite restorations

Department of Dentistry, Toranomom Hospital, Tokyo, Japan

○Morigami Makoto, Yukisada Kenji, Tajima Kenichi, Satoh Masaaki, Sugizaki Jumpei, Uno Shigeru, Yamada Toshimoto

【研究目的】

近年、歯科臨床において、フロアブルレジンが非常に多く用いられるようになってきている。その理由として、フロアブルレジンにはダイレクトアプリケーションシリンジによって供給され、窩洞の充填に際しきわめて填入しやすいく、そして修復される窩洞のサイズが比較的小さくなっていること、また最近開発・市販されているものはフィラー充填率が高く、従来の白歯用コンポジットレジンとほぼ同等の高い耐摩耗性を有していること、さらに種々のシェードが供給され、審美修復に用いられやすくなっていること、などが挙げられる。今回、フロアブルレジンが実際の臨床のレジン修復においてどの程度の使用頻度を占めているのかについて調査を行い、考察を試みた。

【方法】

本調査に参加した歯科医師は、虎の門病院歯科に在籍する10名であり、調査期間は、平成22年9月から11月までの3カ月間であった。まず、レジン修復を行った窩洞の種類をI級、II級、III級、IV級、V級、WSD、根面う蝕、切縁、Facing、補修修復、その他の11種類に、窩洞の幅を小(1mm未満)、中(1mm以上2mm未満)、大(2mm以上)の3段階に、窩洞の深さを浅(1mm未満)、中(1mm以上2mm未満)、深(2mm以上)の3段階に、使用したレジンの種類をF(フロアブルレジン)、P(従来のペーストレジン)、F+P(フロアブルレジンとペーストレジンによる併用修復)の3パターンに分け、これらのデータを記録するためのプロトコールを作成した。各歯科医師が、レジン修復を行った後にそれぞれのデータをプロトコールに記入した。調査期間終了後、データを集計し、フロアブルレジンの使用頻度を算出した。

【結果および考察】

調査期間中に行われたレジン修復の全症例数は1,122であった。このうちフロアブルレジン修復は567(50.5%)、ペーストレジン修復は378(33.7%)、併用修復は177(15.8%)であり、全症例の半数でフロアブルレジン修復が行われており、さらに併用修復を含めると全症例の約2/3でフロアブルレジンが使用されていることが明らかとなった。

また、窩洞別の症例数は、I級が32(フロアブルレジン修復)、47(ペーストレジン修復)、36(併用修復、以下同順)、II級が58、25、63、III級が80、52、18、IV級が12、18、16、V級が117、27、6、WSDが191、126、14、根面う蝕が43、27、7、切縁が10、11、2、Facingが5、38、9、補修修復が12、2、5、その他が7、5、1であった。これより、ペーストレジン修復が過半数を占めたのはFacing(73.1%)だけであり、III級、V級、WSD、根面う蝕、補修修復ではフロアブルレジン修復が過半数を占めることが明らかとなった。また、II級は併用修復の占める割合が43.2%と全窩洞の中で最も高く、マトリックスを装着した後に窩洞の奥部にフロアブルレジンを填入し、その後咬合面の裂溝部から辺縁隆線部をペーストレジンで形態を整えながら築盛する手法が取られることが多いと推察された。

窩洞の幅および深さと使用したレジンとの関係では、窩洞の幅が1mm未満であれば、窩洞の深さにかかわらずフロアブルレジン修復が過半数を占め、窩洞の深さが1mm未満であれば窩洞の幅にかかわらずやはりフロアブルレジン修復が過半数を占めた。これに対して、窩洞の幅および深さがいずれも1mm以上になるとペーストレジン修復または併用修復の占める割合が大きくなり、特に、窩洞の幅が1mm以上かつ窩洞の深さが2mm以上の症例では併用修復が過半数を占めることが明らかとなった。

【結論】

今回の調査より、フロアブルレジンが全症例の約2/3で使用されていることが明らかとなった。窩洞が狭い症例や浅い症例ではフロアブルレジンのみで修復されることが多く、窩洞が広くかつ深い症例では併用修復のライニングとして使用されることが多いことが明らかとなった。

ナノインデンテーションを用いた深い窩洞でフロアブルレジンベースの評価に関する検討

東京医科歯科大学 歯と骨のGCOE拠点 う蝕制御学分野

○Sadr Alireza, Mandurah Mona, 田上順次

Mechanical characterization of two flowable resin composites used as base in a deep cavity by nanoindentation

Department of Cariology and Operative Dentistry, Global Center of Excellence Program, IRCMSTBD, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

○Sadr Alireza, Mandurah Mona, Tagami Junji

[Objectives] Flowable composites may be used as cavity base in deep posterior direct fillings, as they have a better adaptation to the cavity and simplify placement procedures. However, effective polymerization of composite in deeper regions is a concern. The aim of this in vitro study was to investigate the effect of cavity depth and light curing on the mechanical properties of two flowable composite materials in deep cavities using the nanoindentation technique.

[Method] Standard box-shaped cavities (5mm x 5mm x 5mm) were prepared using a composite mold in 6 groups. The cavities were treated by a bonding agent and bulk-filled by one of the two flowable composites were used in this study; Clearfil Majesty Flow (MJ; Kuraray Medical, Japan) or Surefil SDR flow (SF; Dentsply Caulk, USA). Then the composite was polymerized at an intensity of 600mw/cm² by a either halogen light-curing unit (Optilux 501, Kerr Demetron, USA) for 20s (H20) or 40s (H40) or an LED unit (Dentaport, J. Morita, Japan) for 20s (L). The specimens were then sectioned by a low-speed diamond saw, fine polished down to 0.25 μm particle size and subjected to cross-sectional nanoindentation (ENT-1100a, Elionix, Japan). Ten points were indented at each 500 μm depth on the cross-sections under a load of 100mN. Hardness at each depth was compared by ANOVAs.

[Results] Hardness in MJ groups was in the range of 600-700 MPa in the top region, while that for SF was in 400-500 MPa range. Three-way ANOVA showed that all factors; material, depth and light-curing had a significant effect on the hardness and the interactions of all factors were also significant (p<0.05). Further analysis showed hardness of SF was not affected by depth regardless of the light-curing method but depth was a significant factors for MJ and significant drop was detected at around 3mm in MJ groups (Bonferroni correction, p<0.05). There was no significant difference between H20 and L; however, H40 resulted in a slight but significant improvement in polymerization depth.

[Conclusion] SF showed the advantage of homogenous polymerization as a composite resin base in a cavity as deep as 5 mm by common light curing techniques. An extended curing time was effective in reaching a higher hardness at deeper areas for MJ. Flowable composite resin can be bulk-placed in a deep cavity provided that adequate polymerization of the composite is ensured, which may require additional measures depending on the material. Further investigation is required with regard to the polymerization shrinkage of the materials. This study was supported by the Global COE, IRCMSTBD, at TMDU.