

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会
2011年度秋季学術大会（第135回）
プログラムおよび講演抄録集

Program and Abstracts, the 135th Meeting
of the Japanese Society of Conservative Dentistry,
October 20-21, 2011, Osaka

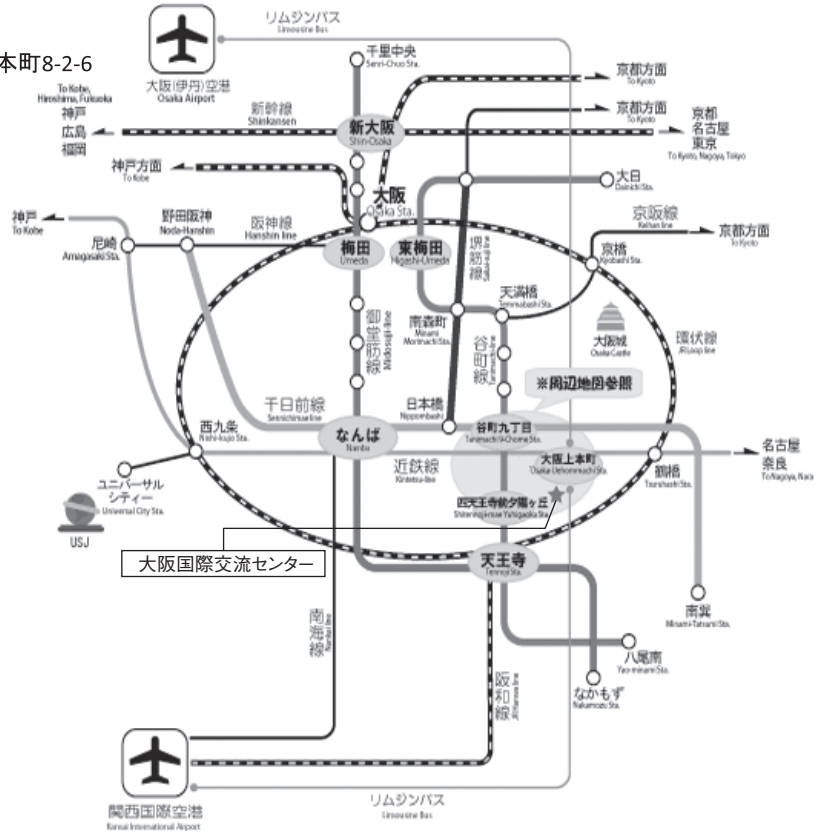
2011年10月20日（木），10月21日（金）
大阪市 大阪国際交流センター



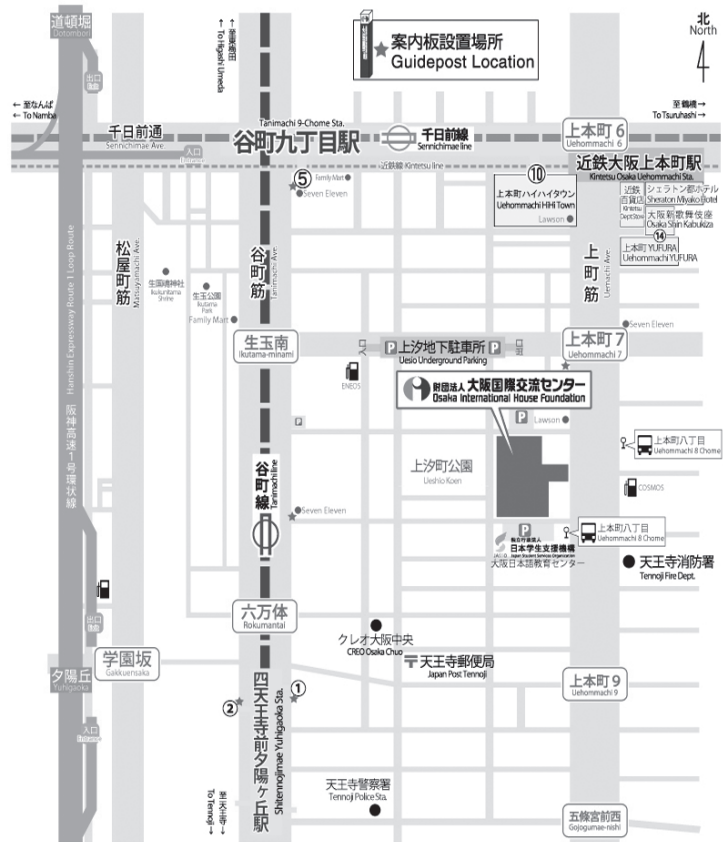
会場へのご案内

【学会会場】
 大阪国際交流センター
 〒543-0001 大阪市天王寺区上本町8-2-6
 TEL : 06-6772-5931
 FAX : 06-6772-7600

広域地図



周辺地図



特定非営利活動法人 日本歯科保存学会
2011 年度 秋季学術大会 (第 135 回)
プログラムおよび講演抄録集

Program and Abstracts, the 135th Meeting
of the Japanese Society of Conservative Dentistry,
October 20-21, 2011, Osaka

会 期：2011 年 10 月 20 日 (木) 8：50～18：00
2011 年 10 月 21 日 (金) 9：00～17：10

学会会場：大阪国際交流センター
〒543-0001 大阪市天王寺区上本町 8-2-6
TEL：06-6772-5931 FAX：06-6772-7600

日本歯科保存学会 HP：<http://www.hozon.or.jp>
学術大会 HP：<https://apollon.nta.co.jp/jscd135/>

A 会 場：1F 大ホール
B 会 場：2F 大会議室さくら西・東
C 会 場：2F 小ホール
ポスター会場：1F アトリウム
企業展示会場：2F 会議室 A-D, 2F 大会議室さくら西・東前

口頭発表者へのお願い

- ◆口演時間は、一般演題は発表 8 分です。また、質疑応答は 2 分です。発言は座長の指示に従ってください。口演に使用できるプロジェクターは 1 台となっております。
- ◆当日お持ちいただいたデータ（メディア：USB フラッシュメモリ、CD-ROM のいずれか一方をご用意ください）の PC 試写は以下の時間で可能です。2 日目に口演される発表者が、前日に受付することも可能です。

PC 試写時間：

10 月 20 日（木） 8：30～16：50

10 月 21 日（金） 8：30～15：30

※A 会場、B 会場ともに、1F アトリウムの PC 受付にお越しくください。

ポスター発表者へのお願い

- ◆ポスター発表は、10 月 20 日（木）、21 日（金）の両日、ポスター会場（1F アトリウム）にて行います。なお、すべてのポスターは 1 日ごとに張り替えをお願いします。
- ◆ポスターパネルは、掲示可能なスペースが横 90 cm、縦 210 cm で、そのうち最上段の縦 20 cm は演題名等用のスペースとし、本文の示説用スペースは横 90 cm、縦 190 cm とします。

- ◆最上段左側の横 20 cm、縦 20 cm は演題番号用スペースで、演題番号は学術大会運営事務局が用意します。また、ポスター掲示用の押しピンも学術大会運営事務局にて用意します。

- ◆最上段右側の横 70 cm、縦 20 cm のスペースに、演題名、所属、発表者名を表示してください。なお、演題名の文字は、1 文字 4 cm 平方以上の大きさとし、また、共同発表の場合、発表代表者の前に○印を付けてください。

- ◆ポスター余白の見やすい位置に、発表代表者が容易にわかるように手札判（縦 105 mm、横 80 mm）程度の大きさの顔写真を掲示してください。

- ◆ポスターには図や表を多用し、見やすいように作成してください。3 m の距離からでも明確に読めるようにしてください。なお、ポスターには研究目的、材料および方法、成績、考察、結論などを簡潔に記載してください（※症例報告の場合は、緒言、症例、経過、予後、考察、結論）。

- ◆ポスターを見やすくするために、バックに色紙を貼ることは発表者の自由です。

- ◆ポスターの準備は、下記の日時で行ってください。

10 月 20 日（木） 9：00～10：00

10 月 21 日（金） 9：00～10：00

- ◆ポスター発表および質疑応答は以下のとおりです。

デンツプライ 賞候補演題および演題番号 P1～67：10 月 20 日（木） 13：00～14：00

演題番号 P68～134：10 月 21 日（金） 16：00～17：00

ポスター発表および質疑応答の時間は、発表者はポスター前に立って自由に討論を行ってください。



◆ポスター撤去は以下の時間内に行ってください。

10月20日（木） 16：50～18：10

10月21日（金） 17：00～17：20

座長の先生へのお願い

◆口演における次座長の先生は、15分前までに、次座長席にご着席ください。

理事，編集連絡委員，一般会員へのお知らせ

◆理事懇親会は、10月19日（水）19：00～21：00 シェラトン都ホテル 4F 浪速西にて行います。

◆デンツプライ授賞式は、10月20日（木）12：00～12：10にA会場（1F 大ホール）にて行います。

◆編集連絡委員会は、10月21日（金）12：00～13：00 3F 中会議室 銀杏にて行います。

企業展示のお知らせ

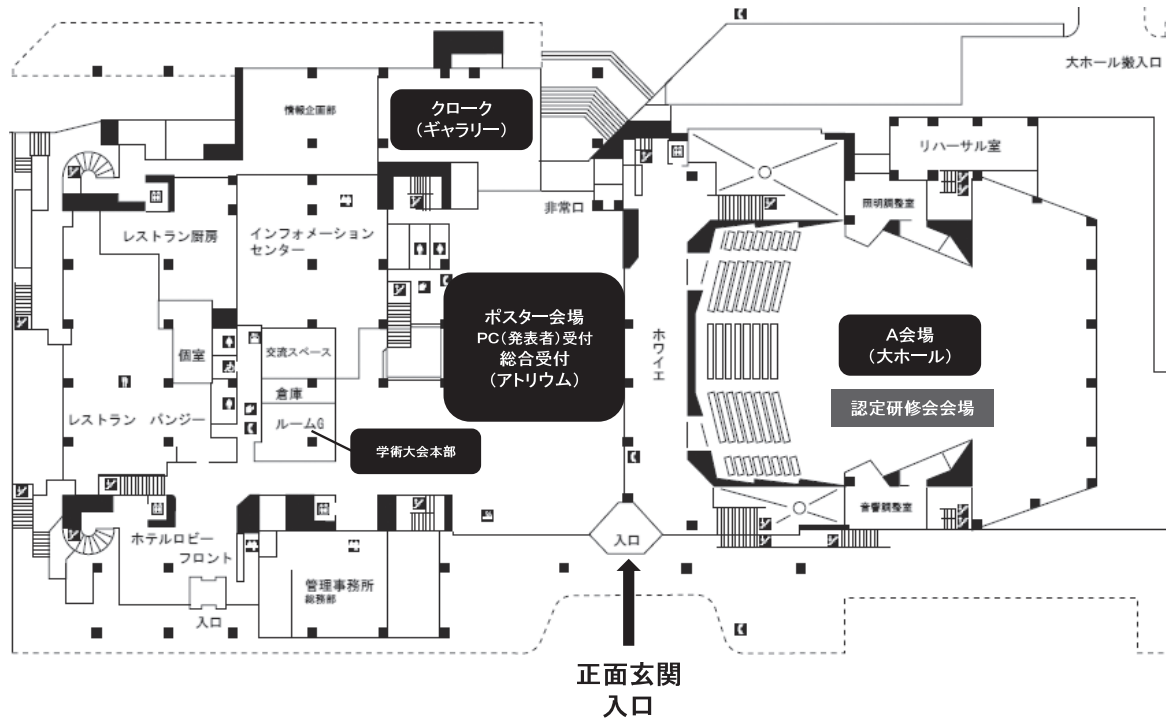
◆協賛各社による企業展示を、企業展示会場（2F 会議室 A-D，2F 大会議室さくら西・東前）にて行います。
展示時間は以下をご参照ください。

10月20日（木） 9：00～17：00

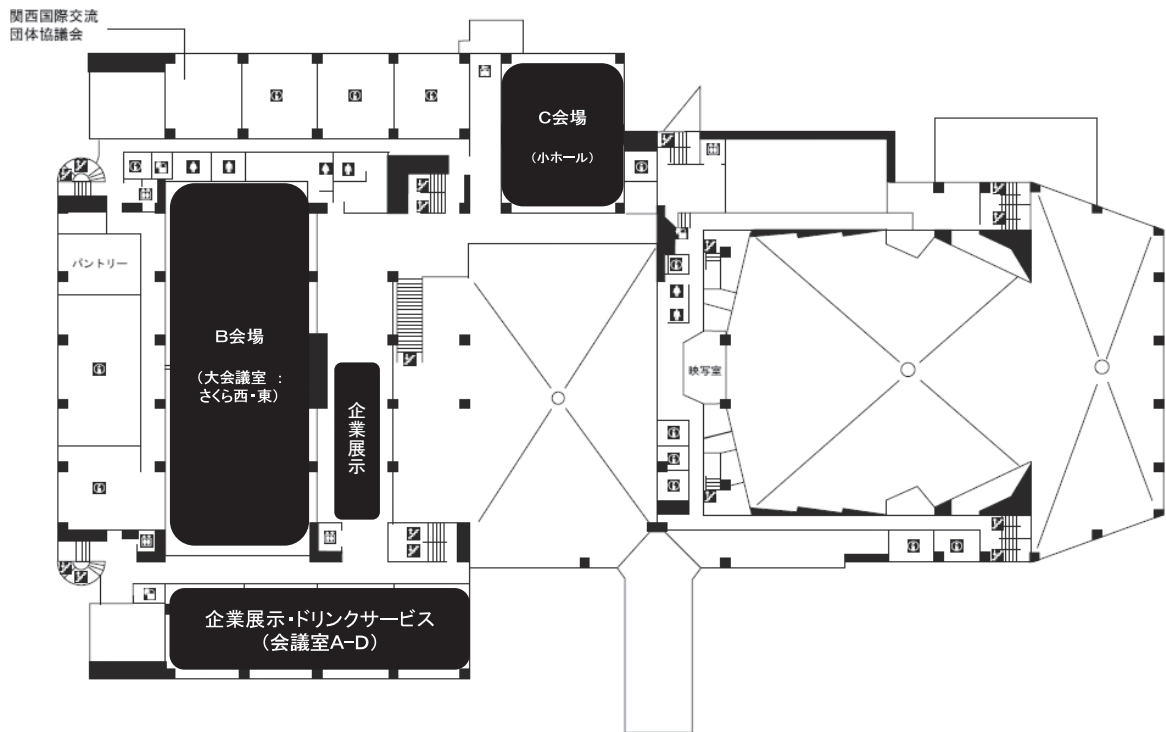
10月21日（金） 9：00～15：00

【会場案内図】

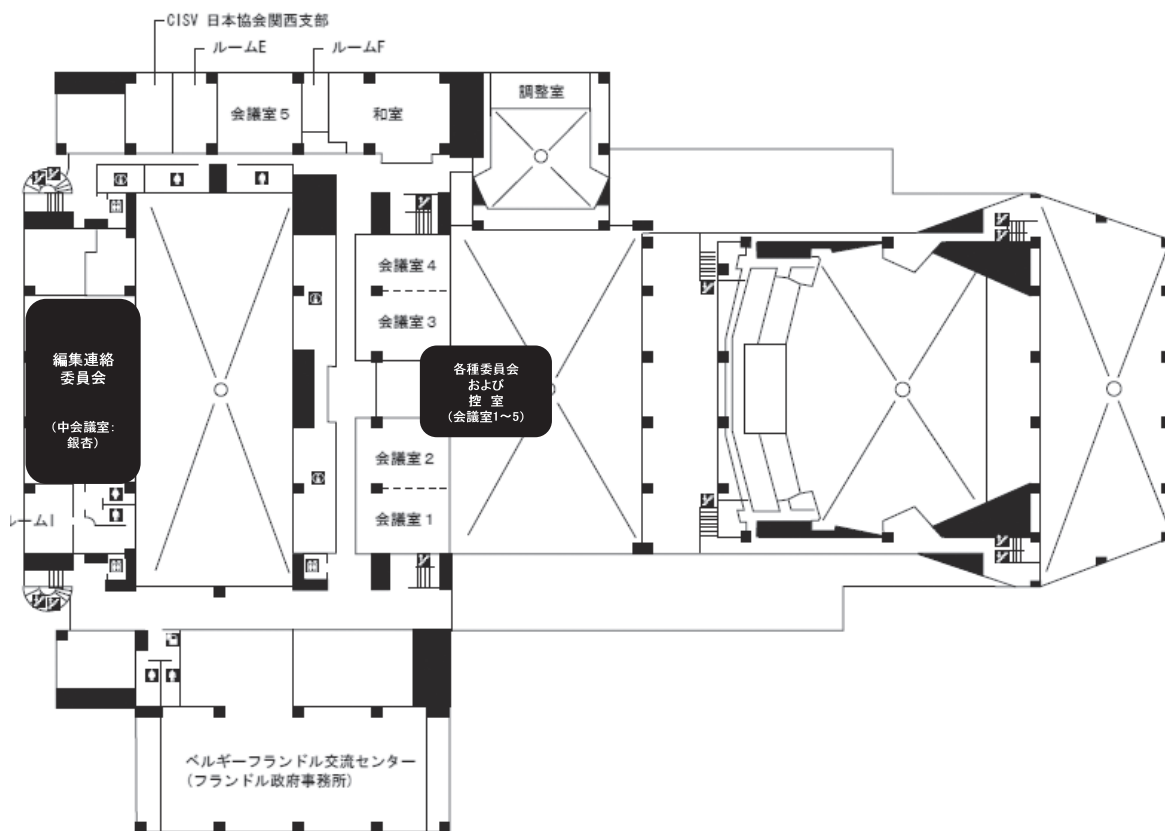
大阪国際交流センター 1F



大阪国際交流センター 2F



大阪国際交流センター 3F



1F

- ・総合受付 (参加登録, 新入会・年会費納入受付)
- ・PC 受付 (発表者)
- ・ポスター会場
- ・クローク
- ・学術大会本部
- ・A 会場 (大ホール)

10月20日 (木)

- 開会式
- 研究発表 (20日:口演)
- 特別講演 I
- デンツプライ授賞式
- シンポジウム I
- 認定研修会

10月21日 (金)

- 研究発表 (21日:口演)
- 特別講演 II
- シンポジウム II
- 閉会式

2F

- ・企業展示, ドリンクサービス (会議室 A-D)
- ・B 会場 (大会議室さくら西・東)

10月20日 (木)

- 研究発表 (20日:口演)
- ランチョンセミナー I

10月21日 (金)

- 研究発表 (21日:口演)
- ランチョンセミナー III
- シンポジウム III

- ・C 会場 (小ホール)

10月20日 (木)

- ランチョンセミナー II

10月21日 (金)

- ランチョンセミナー IV

3F

- ・各種委員会 (19日)
- ・編集連絡委員会 (21日)
- ・特別講演者・シンポジスト控室 (20日・21日)

学術大会スケジュール 前日 10月19日(水)

時間	3F 中会議室 銀杏	3F 会議室 1	3F 会議室 2	3F 会議室 3
10:00				
11:00		10:30~11:30 認定委員会	10:30~11:30 学会のあり方委員会	10:30~11:30 研究活性化委員会
12:00		11:30~12:30 学術用語委員会	11:30~12:30 国際交流委員会	11:30~12:30 倫理委員会
13:00		12:30~13:30 医療合理化委員会	12:30~13:30 教育問題委員会	12:30~13:30 表彰委員会
14:00		13:30~14:30 定款委員会	13:30~14:30 広報委員会	
15:00	15:00~18:00 理事会			
16:00				
17:00				
18:00				
19:00	シェラトン都ホテル 19:00~21:00 理事懇親会			

学術大会スケジュール 第1日目 10月20日(木)

時間	総合受付 (1Fアトリウム)	A会場 (1F大ホール)	B会場 (2F大会議室さくら西・東)	C会場 (2F小ホール)	ポスター会場 (1Fアトリウム)	企業展示会場 (2F会議室A-D,他)
8:30	受付開始					
		開会の辞				
9:00		A 1 A 2 A 3 A 4 A 5	B 1 B 2 B 3 B 4 B 5		9:00~10:00 ポスター準備	9:00~17:00 企業展示
		休憩				
10:00		A 6 A 7 A 8 A 9 A10	B 6 B 7 B 8 B 9 B10			
		休憩				
11:00		11:00~12:00 特別講演 I			10:00~13:00 ポスター掲示	
12:00		デンツブライ授賞式	休憩			
			12:10~13:00 ランチョン セミナー I	12:10~13:00 ランチョン セミナー II		
13:00					13:00~14:00 デンツブライ賞 候補演題ポスター発 表・ポスター発表	
14:00		休憩				
15:00		14:10~15:50 シンポジウム I			14:00~16:50 ポスター掲示	
		休憩				
16:00		A11 A12 A13 A14 A15	B11 B12 B13 B14 B15			
		休憩				
17:00		17:00~18:00 認定研修会			16:50~18:10 ポスター撤去	
18:00	受付終了					

学術大会スケジュール 第2日目 10月21日(金)

時間	総合受付 (1F アトリウム)	A 会場 (1F 大ホール)	B 会場 (2F 大会議室さくら西・東)	C 会場 (2F 小ホール)	ポスター会場 (1F アトリウム)	企業展示会場 (2F 会議室 A-D, 他)	編集連絡委員会 (3F 中会議室 銀杏)
8:30	受付開始						
9:00		A16 A17 A18 A19 A20	B16 B17 B18 B19 B20		9:00~10:00 ポスター準備		
		休憩					
10:00		A21 A22 A23 A24 A25	B21 B22 B23 B24 B25				
		休憩					
11:00		11:00~12:00 特別講演II					
12:00		休憩				9:00~15:00 企業展示	
			12:10~13:00 ランチョン セミナーIII	12:10~13:00 ランチョン セミナーIV			12:00~13:00 編集連絡委員会
13:00		休憩			10:00~16:00 ポスター掲示		
14:00		13:10~14:50 シンポジウムII	13:10~14:50 シンポジウムIII				
		休憩					
15:00		A26 A27 A28 A29 A30	B26 B27 B28 B29 B30				
		休憩					
16:00	受付終了				16:00~17:00 ポスター発表		
17:00		閉会の辞			17:00~17:20 ポスター撤去		

特別講演 I

研修コード【3101】

講演名：MI に基づくレーザー歯科治療を目指して

日時：2011年10月20日（木）11時00分～12時00分

会場：A会場（1F 大ホール）

座長：寺下正道 教授

（九州歯科大学歯学科口腔機能科学専攻 医療人間形成学講座 総合診療学分野）

演者：栗津邦男 教授

（大阪大学大学院工学研究科環境・エネルギー工学専攻 量子エネルギー工学講座 量子ビーム応用工学領域）

演者略歴

1984年 神戸大学大学院工学研究科修了

1988年 順天堂大学医学部消化器内科研究生

工学博士（神戸大学），医学博士（順天堂大学）

1993年 米国留学：University of TEXAS, MD ANDERSON CANCER CENTER レーザー生物学研究室（～1995年）にて，乳がん PDT 基礎研究・生体へのフォトラベリング研究に従事

1995年 自由電子レーザー研究所（通産省系プロジェクト研究所）主任研究員・部長

2000年5月 大阪大学大学院工学研究科教授

現在，工学研究科・量子エネルギー工学講座教授，臨床医工学融合研究教育センター教授を兼任。



学会等活動

レーザー学会理事・編集委員，日本レーザー医学会理事・学会誌編集委員長，日本レーザー歯学会理事，SPIE 終身会員。第2回応用物理学会講演奨励賞（共著）（1997），電気学会優秀技術活動賞（技術報告賞）共同受賞（2002），第24回日本レーザー医学会総会賞（2003），The 7th International Conference on Nano-Molecular Electronics Outstanding Poster Presentation Award（coauthor）（2006）など。

特別講演 II

講演名：日本学術振興会の今—もっと科研費を知ろう—

日 時：2011年10月21日（金）11時00分～12時00分

会 場：A会場（1F 大ホール）

座 長：村上伸也 教授

（大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座）

演 者：宮脇和男 参与

（独立行政法人 日本学術振興会学術システム研究センター）

演者略歴

1986年 茨城大学経理課長
1988年 文部省学術国際局研究助成課課長補佐，学術課課長補佐等を歴任
1997年 文部省学術国際局科学研究費助成企画室長
2000年 文部省学術国際局主任学術調査官
2001年 日本学術振興会研究事業部長
2004年 大学共同利用機関法人 高エネルギー加速器研究機構理事
2007年 独立行政法人 日本学術振興会審議役
2011年 金沢工業大学教授
独立行政法人 日本学術振興会学術システム研究センター参与



社会貢献等活動

東北大学流体科学研究所運営委員会委員，奈良先端大学院大学経営協議会委員，名城大学評議員

シンポジウム I
バイオフィルム見聞録

研修コード【2203】

日時：2011年10月20日（木）14時10分～15時50分

会場：A会場（1F 大ホール）

座長：恵比須繁之 教授

（大阪大学理事・副学長，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））

講演1：プラークからバイオフィルムへ

演者：恵比須繁之 教授

（大阪大学理事・副学長，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））

演者略歴

1972年3月 大阪大学歯学部卒業
1976年3月 大阪大学大学院歯学研究科修了（歯学博士）
4月 米国ミシガン大学医学部生化学部門ポスドクトラルフェロー
1978年4月～大阪大学歯学部助手，講師，助教授
1990年2月 徳島大学歯学部教授
1996年1月 大阪大学歯学部教授
2000年4月 大阪大学大学院歯学研究科教授に配置換
2004年4月 大阪大学歯学部附属病院長（～2006年3月）
2005年4月 日本歯科保存学会理事長（～2007年3月）
2011年8月 大阪大学理事・副学長，大阪大学教授



学会等活動

日本歯科保存学会理事，日本歯周病学会理事，日本歯内療法学会理事，日本外傷歯学会理事，日本細菌学会，Bacterial Adherence & Biofilm 研究会（運営委員），IADR，JADR，日本学術会議連携会員（2006年10月～），日本歯科医学会会長賞（研究部門）（2010），日本歯科保存学会学会賞（2008）

講演2：バイオフィルムの病原性とその対策

演者：三宅洋一郎 教授

（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔微生物学分野）

演者略歴

1976年 広島大学歯学部歯学科卒業

1980年 広島大学大学院歯学研究科歯学基礎系単位取得退学
広島大学助手歯学部（口腔細菌学）
1984年 National Institutes of Health 出張
1986年 広島大学講師歯学部
1987年 広島大学助教授歯学部
1994年 徳島大学教授歯学部（口腔細菌学）
2004年 徳島大学大学院教授ヘルスバイオサイエンス研究部（口腔微生物学）



講演3：地球環境から見たバイオフィルムの効用

演者：森川正章 教授
（北海道大学大学院地球環境科学研究院 環境分子生物学分野）

演者略歴

1983年3月 大阪大学工学部醗酵工学科卒業
1985年3月 大阪大学大学院工学研究科醗酵工学専攻博士前期課程修了
4月 日清製油株式会社入社
1986年4月～1988年3月 通産省工業技術院化学技術研究所（受託研究員）
1989年3月 日清製油株式会社退職
1990年4月 大阪大学工学部助手
1995年7月 大阪大学大学院工学研究科助教授
1996年9月～2001年3月 生物系特定産業技術研究推進機構「新技術・新分野創出のための基礎研究推進機構」統括代表研究者
2001年5月～2002年3月 文部科学省長期在外研究員（米国ハーバード大学医学部微生物学・分子生物学教室）
2004年5月 北海道大学大学院地球環境科学研究院教授



学会等活動

(財)バイオインダストリー協会 新資源生物変換研究会幹事（1998～）、環境バイオテクノロジー学会理事（2007～）、日本生化学会北海道支部評議員（2009～）、Open Biotechnol 編集委員（2007～）、Archaea 編集委員（2009～）、Petroleum & Environ Biotechnol 編集委員（2010～）

受賞

J Biosci Bioeng 論文賞（1993, 1994, 1999）、バイオインダストリー協会「醗酵と代謝」奨励賞（2003）、酵素応用シンポジウム奨励賞（2007）、農芸化学研究企画賞（2011）

シンポジウム II
修復治療で進むイノベーション

日時：2011年10月21日（金）13時10分～14時50分

会場：A会場（1F 大ホール）

座長：桃井保子 教授
（鶴見大学歯学部保存修復学講座）

講演1：内科的歯科に向けた齲蝕診断の技術革新と展望

演者：稲葉大輔 准教授
（岩手医科大学歯学部口腔保健育成学講座口腔保健学分野）

演者略歴

1981年 岩手医科大学歯学部卒業
岩手医科大学助手（歯学部口腔衛生学講座）
1989年 長崎大学助手（歯学部予防歯科学講座）
1992年 長崎大学講師（歯学部附属病院予防歯科）
1993年 オランダ国立フローニンゲン大学留学（～1995）
1996年 長崎大学助教授（歯学部予防歯科学講座）
岩手医科大学歯学部准教授（口腔保健育成学講座）



学会等活動

日本口腔衛生学会理事・評議員・禁煙推進委員・査読委員，日本齲蝕学研究会 Cariology Today in Japan（編集委員長・理事），国際歯科研究学会 IADR（会員），ヨーロッパ齲蝕学会 ORCA（シニア会員），ほか，アジア予防歯科学会 AAPD 学会賞（2006）

講演2：歯科理工学の立場から

演者：宮崎 隆 教授
（昭和大学歯学部歯科理工学講座）

演者略歴

1978年 東京医科歯科大学歯学部卒業（歯学士）
1984年 東京医科歯科大学大学院歯学研究科修了（歯学博士）
昭和大学歯学部講師（歯科理工学講座）
1991年 昭和大学歯学部教授（歯科理工学講座）
2003年 昭和大学歯学部長



学会等活動

一般社団法人 日本歯学系学会協議会副理事長，日本歯科 CAD/CAM 学会会長，歯科チタン学会前会長，日本歯科理工学会元会長

シンポジウム Ⅲ 次世代『歯周病の科学』の構築

日時：2011年10月21日（金）13時10分～14時50分

会場：B会場（2F 大会議室さくら西・東）

座長：高柴正悟 教授
（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野）

講演1：プラークを再考する

演者：前田博史 准教授
（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野）

演者略歴

1991年 岡山大学歯学部卒業
1995年 岡山大学大学院歯学研究科修了
岡山大学歯学部附属病院助手
1996年 米国ボストン大学ゴールドマン歯学部研究員
2001年 岡山大学大学院医歯学総合研究科歯周病態学分野助手
2007年 岡山大学医学部・歯学部附属病院歯周科講師
2008年 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野准教授

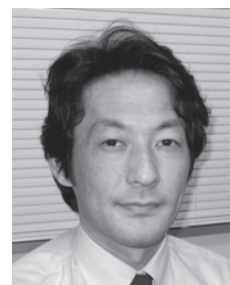


講演2：歯周炎と動脈硬化性疾患の関連メカニズムについて
—*P. gingivalis* の脂質代謝変動への作用—

演者：多部田康一 准教授
（新潟大学研究推進機構超域学術院）

演者略歴

1997年 新潟大学歯学部卒業
2001年 新潟大学大学院修了 博士（歯学）
新潟大学歯学部附属病院医員
2002年 スクリプス研究所（米国）リサーチフェロー
2005年 新潟大学大学院医歯学系助手
2007年 新潟大学超域研究機構准教授
2011年 新潟大学研究推進機構超域学術院准教授



第 2 日目 B 会場

講演 3：網羅的遺伝子解析が担う歯周病研究の未来 — 歯根膜特異的分子 PLAP-1 遺伝子多型が歯根膜機能へ及ぼす影響 —

演 者：山田 聡 講師
(大阪大学歯学部附属病院口腔治療・歯周科)

演者略歴

1991 年 大阪大学歯学部卒業
1995 年 大阪大学大学院歯学研究科修了 博士 (歯学)
米国国立衛生研究所 (NIH) 研究員
1996 年 日本学術振興会海外特別研究員
1999 年 日本学術振興会特別研究員
2002 年 大阪大学大学院歯学研究科助手
2004 年 大阪大学歯学部附属病院講師



学会等活動

日本歯科保存学会 (専門医), 日本歯周病学会 (専門医), 国際歯科研究学会 (IADR), 国際歯科研究学会日本支部 (JADR), 日本炎症・再生医学会, 日本分子生物学会, 日本免疫学会

認定研修会

研修コード【2603】

講演名：コンポジットレジンを用いた審美修復の実際

日時：2011年10月20日（木） 17時00分～18時00分

会場：A会場（1F 大ホール）

座長：和泉雄一 教授（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）

演者：宮崎真至 教授（日本大学歯学部保存学教室修復学講座）

演者略歴

1987年 日本大学歯学部卒業

1991年 日本大学大学院修了 博士（歯学）

日本大学助手

1994年 米国インディアナ州立大学歯学部留学（2年間）

2003年 日本大学講師

2005年 日本大学教授



ランチョンセミナー I
歯科は集団とどのように向き合うか
—大震災を通して、一本の歯ブラシから見えてくるもの—

日 時：2011年10月20日（木）12時10分～13時00分

会 場：B会場（2F 大会議室さくら西・東）

演 者：佐々木良紀 先生

（自衛隊呉病院歯科診療部長，東京歯科大学有床義歯補綴学講座非常勤講師）

演者略歴

1978年 東京歯科大学歯学部卒業 歯科医籍登録 第75583号 歯科医師
1982年 東京歯科大学大学院歯学研究科博士課程（衛生学）修了 歯学博士
海上自衛隊入隊：海上自衛隊横須賀地区病院歯科医長
1991年 自衛隊舞鶴病院副院長兼歯科診療部長
1994年 米国留学
Harvard Univ. Dental School；Forsyth Dental Centre：Visiting Scholar
School of Public Health：Affiliate Scholar
1996年 自衛隊佐世保病院副院長兼歯科診療部長
2003年 海上自衛隊潜水医学実験隊実験部第1部長等を経て
2010年 自衛隊呉病院歯科診療部長



学会等活動

歯科医師臨床研修指導医，日本口腔衛生学会認定医，日本スポーツ歯科医学会評議員，International Association for Dental Research 会員，日本スポーツ歯科医学会学会賞（2009）等受賞

（共催：ライオン株式会社）

ランチョンセミナー II
ティオンオフィスを安全にお使い頂くために

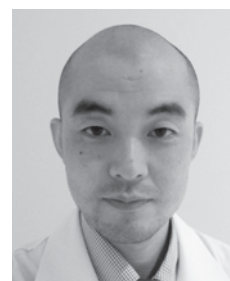
日 時：2011年10月20日（木）12時10分～13時00分

会 場：C会場（2F小ホール）

演 者：山口 晋 先生
（株式会社ジーシー デンタルインフォメーションセンター）

演者略歴

1997年 株式会社ジーシー入社 研究所配属
2002年 ホワイトニング材の開発を開始



（共催：株式会社ジーシー）

第2日目 B会場

ランチオンセミナー Ⅲ

根拠に基づくう蝕予防効果—フッ化物局所応用について—

日時：2011年10月21日（金）12時10分～13時00分

会場：B会場（2F 大会議室さくら西・東）

演者：飯島洋一 准教授

（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 社会医療科学講座 口腔保健学）

演者略歴

1975年 岩手医科大学歯学部歯学科卒業
1975年 4月～1982年10月 岩手医科大学講師（歯学部口腔衛生学講座）
1981年12月 歯学博士（東北大学）取得
1986年 4月 アラバマ大学歯学研究所（アメリカ合衆国）海外研修（至1987年3月）
1987年 9月～2002年3月 長崎大学助教授（歯学部予防歯科学講座）
1991年10月 フローニンゲン大学材料研究所（オランダ）海外研修（至1992年3月）
1996年 5月 フローニンゲン大学材料研究所（オランダ）海外研修（至1997年1月）
2002年 4月 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科准教授 社会医療科学講座口腔保健学
2000～2011年（現在）厚生労働省研究補助金によるフッ化物応用による歯科疾患の予防技術
評価に関する総合的研究を研究協力者ならびに研究分担者として参画



演者：高塚 勉 先生

（サンスター株式会社 研究開発部）

演者略歴

1991年 大阪大学理学部卒業
サンスター（株）研究開発部
2002年 Academic Centre for Dental Amsterdamにて研修
2006年 博士（歯学）（長崎大学医歯薬学総合研究科）
2007年 サンスター（株）研究開発部 グループ長



（共催：サンスター株式会社）

ランチオンセミナー IV
MiCD と私の臨床—歯の延命を目指して—

日時：2011年10月21日（金）12時10分～13時00分

会場：C会場（2F小ホール）

演者：寺田林太郎 先生
（JA秋田厚生連 平鹿総合病院歯科）

演者略歴

1988年 3月 岩手医科大学歯学部歯学科卒業
1990年 12月 University of California, San Francisco 留学（1年間）
1992年 3月 岩手医科大学大学院歯学研究科満期退学
4月 岩手医科大学助手（歯科保存学第一講座）
1997年 1月 岩手医科大学講師（歯科保存学第一講座）
2007年 7月 岩手医科大学准教授（歯科保存学第一講座）
2010年 4月 JA秋田厚生連平鹿総合病院歯科



（共催：株式会社松風）

第 1 日目 A 会場

特定非営利活動法人

日本歯科保存学会 2011 年度秋季学術大会（第 135 回）一般発表プログラム

演題の読み方：上段；A は A 会場（1F 大ホール），B は B 会場（2F 大会議室さくら西・東），P はポスター会場（1F アトリウム）を示し，次の 1～3 桁は演題番号，下 4 桁は口演開始時刻，（ ）内は分野，下段【 】は日本歯科医師会生涯研修個人カードの研修コードを示します。

（例）上段 A1-0910.（修復） → A 会場，演題番号 1 番，午前 9 時 10 分，修復分野

下段【0901】 → 研修項目 IX-1-1）齲蝕

第 1 日目 10 月 20 日（木） A 会場（1F 大ホール）

8：50～9：00 開会の辞……………特定非営利活動法人 日本歯科保存学会秋季学術大会
大会長 村上伸也
理事長挨拶……………特定非営利活動法人 日本歯科保存学会理事長 勝海一郎

9：00～9：50 研究発表

座長 千田 彰（愛院大歯）

- A1-0900.（修復） レジンの象牙質接着強さに及ぼす残存象牙質厚さの影響について
【2604】 ……………○吉川孝子，趙 永哲（東医歯大院・う蝕制御）
WATTANAWONGPITAK Nipaporn（Naresuan 大・修復）
田上順次（東医歯大院・う蝕制御，歯と骨の GCOE）
- A2-0910.（修復） STD-NMR 法を用いたコラーゲンモデルと接着性モノマー相互作用の分析
【3102】 ……………○平石典子，大槻昌幸（東医歯大院・う蝕制御）
田上順次（東医歯大院・う蝕制御，歯と骨の GCOE）
- A3-0920.（修復） グラスアイオノマーセメントの表面処理条件がコンポジットレジンとの接着に及ぼす影響
【2603】 —表面自由エネルギーからの検討—
……………○大塚詠一朗，小倉由佳理，白玉康司，太田舞子，吉田武史（日大歯・保存修復）
高見澤俊樹，瀧川智義，宮崎真至（日大歯・保存修復，総合歯学研究所・生体工学）
若松英輝（若松歯科医院）

座長 奈良陽一郎（日歯大）

- A4-0930.（修復） 種々の被着体に接着性を有する多目的接着システムのレジン接着について
【2603】 第 1 報 レジンと象牙質を同時接着処理した場合のレジンの接着強さ
……………○杉尾憲一，森田有香，佐藤かおり，富士谷盛興，千田 彰（愛院大歯・保存修復）
- A5-0940.（修復） Er：YAG レーザー照射歯質に対するコンポジットレジン修復物の窩壁適合性に関する研究
【2604】 ……………○保尾謙三，吉川一志，山本一世（大歯大・保存）

9：50～10：00 休憩

座長 寺中敏夫 (神歯大)

- A6-1000. (修復) 新規開発オールインワン接着システムを用いた歯頸部修復の接着信頼性に及ぼす
 【2604】 口腔内環境想定複合ストレスによる影響
 ……………○前野雅彦, 秋山沙絵子, 小川信太郎, 山田 正, 原 学, 柵木寿男,
 奈良陽一郎, 勝海一郎 (日歯大・保存)
 I. L. Dogon (ハーバード大歯・生体材料)
- A7-1010. (修復) シングルステップアドヒーシブの表面処理がエナメル質接着性に及ぼす影響
 【2604】 ……………○坪田圭司, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
 瀧本正行, 古宅真由美, 井上直樹, 渡邊孝行 (日大歯・保存修復)
 細矢由美子 (長大院医歯薬・小児顎口腔発達管理)
 長谷川 賢 (協立病院)
- A8-1020. (その他) ワンボトル・セルフエッチボンディング材を応用した新規デュアルキュアレジンコアシステム
 【3102】 (MTB-200/NDC-100) の根管壁象牙質に対する接着性能
 ……………○ティッタウィーラット スッパソン, 中島正俊, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御)

座長 林 善彦 (長大院医歯薬)

- A9-1030. (修復) ヘスペリジン配合セルフエッチングプライマーの象牙質接着性への影響
 【3102】 ……………○イスラム ソフィクル, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
 平石典子, 大槻昌幸 (東医歯大院・う蝕制御)
- A10-1040. (修復) 自己接着性フロアブルコンポジットの歯質接合界面の SEM 観察
 【2603】 ……………○宇野 滋, 森上 誠, 杉崎順平, 山田敏元 (虎の門病院・歯科)
 阿保備子 (虎の門病院・歯科, 鶴大歯・教育探索歯学寄附)

- 10:50~11:00 休憩
 11:00~12:00 特別講演 I
 12:00~12:10 デンツプライ授賞式
 12:10~13:00 ランチョンセミナー I (B 会場にて)
 12:10~13:00 ランチョンセミナー II (C 会場にて)
 13:00~14:00 ポスター発表:P1~67 (ポスター会場にて)
 14:10~15:50 シンポジウム I
 15:50~16:00 休憩
 16:00~16:50 研究発表

座長 真鍋厚史 (昭大歯)

- A11-1600. (修復) 光強度が試作コア用レジンの象牙質接着性に及ぼす影響
 【2604】 ……………○大藤竜樹, 清水裕亮, 田村ゆきえ, 藤井雄介 (日大歯・保存修復)
 金丸壽良 (かなまる歯科クリニック)
 坪田圭司, 陸田明智, 安藤 進, 宮崎真至
 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)

第 1 日目 A 会場

- A12-1610. (修復) リン酸カルシウムから成る新規の象牙質知覚過敏抑制材の実験室評価
【2502】 ー長期間人工唾液に浸漬した後の効果の持続性ー
……○タナヴァラーゴン オルニチャ, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
中嶋省志 (東医歯大院・う蝕制御)
池田正臣 (東医歯大院・口腔臨床)
- A13-1620. (修復) 試作知覚過敏抑制材の象牙細管封鎖性に関する研究ー超音波透過法を用いた検討
【2502】 ……………○遠藤 肇, 川本 諒, 岩佐美香 (日大歯・保存修復)
高見澤俊樹, 黒川弘康, 安藤 進, 宮崎真至
(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
山形哲則 (花園歯科医院)
- 座長 斎藤隆史 (北医大歯)
- A14-1630. (修復) 新規デバイス開発のための歯科切削音および咀嚼音の骨導音計測の試み
【3101】 ……………○山田朋美, 板東秀典, 恵比須繁之 (阪大院歯・感染制御 (保存))
- A15-1640. (修復) 殺菌処理後に残存したバイオフィルム構造への *Streptococcus mutans* の付着について
【2203】 ……………○大墨竜也, 竹中彰治, 若松里佳, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)

16:50~17:00 休憩

17:00~18:00 認定研修会

第1日目 10月20日(木) B会場(2F大会議室さくら西・東)

9:00~9:50 研究発表

座長 阿南 壽(福歯大)

- B1-0900. (歯内) ラット根尖病変における ADAM-8 と ADAM-17 の役割
 【2503】 …○田中 毅, 尾関伸明, 川合里絵, 今泉一郎, 山崎雅弘, 中村 洋(愛院大歯・歯内治療)
- B2-0910. (その他) グリンレンズ併用イメージファイバによる根管内の高精度観察システムの検討
 【2302】 ……………○吉居慎二, 北村知昭(九歯大・齶蝕制御)
 李 慧穎, 植田敏嗣(早大院・情報生産システム研究科)
 寺下正道(九歯大・総合診療)
 西原達次(九歯大・感染分子生物)
- B3-0920. (歯内) ファイル破折をどう除去するか
 【2503】 ……………○明石俊和, 小林慶美, 勝呂 尚, 鶴町 保,
 小木曾文内(日大歯・歯内療法, 総合歯学研究所・高度先端医療)

座長 木村裕一(奥羽大歯)

- B4-0930. (歯内) 原因の同定により短期間で患者満足が得られた歯内疾患症例
 【2503】 ……………○米田雅裕, 廣藤卓雄(福歯大・総合歯科)
- B5-0940. (歯内) 歯髄刺激に伴う血中コルチコステロンと血糖値の動態におよぼすナロキシンの影響
 【2205】 ……………○長谷川誠実, 阿部徹也, 藤原正識, 大津奈央, 本田公亮(兵医大・歯科口腔外科)

9:50~10:00 休憩

10:00~10:50 研究発表

座長 松尾敬志(徳大院)

- B6-1000. (歯内) Sub-MIC の緑茶カテキンが *Porphyromonas gingivalis* バイオフィルムに及ぼす影響の検索
 【2203】 ……………○朝日陽子, 野村由一郎, 前藺葉月, 山本れいこ, 山口幹代,
 恵比須繁之(阪大院歯・感染制御(保存))
- B7-1010. (歯周) 茶カテキンは LPS 誘導性の歯周ポケット形成および歯槽骨吸収を抑制した
 【2504】 ……………○吉永泰周, 鶴飼 孝, 藏本明子, 中村弘隆, 吉永美穂, 白石千秋, 吉村篤利,
 野口恵司, 高森雄三, 原 宜興(長大院医歯薬・歯周)
- B8-1020. (歯周) 炭酸ガスレーザー照射は骨移植後の治癒を促進する
 【3199】 ……………○中 貴弘, 横瀬敏志(奥羽大歯・修復)

座長 北村知昭(九歯大)

- B9-1030. (その他) フルオロアパタイト置換型リン酸カルシウムセメントの物理的特性
 【3103】 ……………○尾形英大, 小森規雄, 鈴木裕介(日大歯・歯内療法)
 林 誠, 小木曾文内(日大歯・歯内療法, 総合歯学研究所・高度先端医療)
 高木章三, Laurence C. CHOW(米国立標準技術院パッフエンバーガー研究所)
- B10-1040. (歯内) 魚コラーゲンの物理・化学的性質
 【2503】 ……………○山本耕平, 池田 毅, 山田志津香, 林 善彦(長大院医歯薬・齶蝕)

第1日目 B会場

- 10:50~11:00 休憩
11:00~12:00 特別講演Ⅰ (A会場にて)
12:00~12:10 休憩
12:00~12:10 デンツプライ授賞式 (A会場にて)
12:10~13:00 ランチョンセミナーⅠ
12:10~13:00 ランチョンセミナーⅡ (C会場にて)
13:00~14:00 ポスター発表 P1~67 (ポスター会場にて)
14:00~14:10 休憩
14:10~15:50 シンポジウムⅠ (A会場にて)
15:50~16:00 休憩
16:00~16:50 研究発表

座長 赤峰昭文 (九大院歯)

- B11-1600. (歯内) ペリオスチンによる骨芽細胞分化制御
【2503】○川島伸之, 周 夢宇, 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
工藤 明 (東工大院・生命理工)
勝部憲一 (東医歯大院・口腔病理)
- B12-1610. (歯内) Dentin sialophosphoprotein の骨芽細胞分化誘導作用並びにそのメカニズムの解析
【3104】○鈴木茂樹, 小武家誠司, 西村英紀 (広大院医歯薬・健康増進)
- B13-1620. (歯内) 新規幹細胞集団における硬組織再生能の評価
【2503】○伊藤祥作, 松下健太, 池田 峻, 山本由美子,
恵比須繁之 (阪大院歯・感染制御 (保存))

座長 林 美加子 (阪大院歯)

- B14-1630. (歯内) ラット象牙芽細胞の分化におよぼす β -catenin の作用について
【2599】○門倉弘志, 和田康弘, 和田隆史, 中 貴弘, 横瀬敏志 (奥羽大歯・修復)
- B15-1640. (歯内) 最終糖化産物 (AGEs) がラット培養歯髄細胞の石灰化物形成と抗菌ペプチド発現に及ぼす影響
【2503】○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 (徳大院・歯周歯内)

- 16:50~17:00 休憩
17:00~18:00 認定研修会 (A会場にて)

第1日目 10月20日(木) ポスター会場(1F アトリウム)

9:00~10:00 ポスター準備 (P1~67)

10:00~13:00 ポスター掲示 (P1~67)

13:00~14:00 ポスター発表 (P1~67)

14:00~16:50 ポスター掲示 (P1~67)

16:50~18:10 ポスター撤去 (P1~67)

デンツプライ賞選考対象演題 P1~2(修復), P3~4(歯内), P5~7(歯周)

- P1. (修復) 高出力 LED 照射器がデュアルキュア型レジンセメントの硬さに与える影響
 【2604】○渡部平馬(新大院医歯・う蝕, きたしろ歯科診療所)
 浅井哲也, 興地隆史(新大院医歯・う蝕)
 金谷史夫(きたしろ歯科診療所)
 風間龍之輔(東医歯大院・部分床義歯)
 石崎裕子(新大歯・総合診療)
 渡辺孝一(新大院医歯・生体材料)
 福島正義(新大院医歯・口腔保健)
- P2. (修復) ブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略
 【2501】○飯塚純子, 向井義晴, 寺中敏夫(神歯大・保存)
 高垣裕子(神歯大・生化学・分子生物)
- P3. (歯内) ラット実験的根尖歯周炎における血管新生関連遺伝子の発現
 【2503】○山中裕介, 金子友厚, 興地隆史(新大院医歯・う蝕)
- P4. (歯内) 赤外線サーモグラフィを用いた歯根破折診断法の開発
 【2503】○松下真美, 岩見行晃, 林 美加子, 恵比須繁之(阪大院歯・感染制御(保存))
 三浦治郎, 竹重文雄(阪大歯病院・総合診療)
 阪上隆英(神戸大院工・機械工学)
 和泉遊以(滋賀県大工・機械システム工学)
 今里 聡(阪大院歯・歯科理工)
- P5. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* 感染マウスモデルにおける炎症応答への NKT 細胞の関与
 【2504】○青木由香莉, 宮下博考, 宮内小百合,
 宮沢春菜(新大・超域学術院, 新大院医歯・歯周, 口腔保健)
 中島貴子(新大・超域学術院, 新大歯・総合診療)
 高橋直紀(The University of California)
 前川知樹(新大・超域学術院, 新大院医歯・歯周)
 多部田康一(新大・超域学術院)
 山崎和久(新大・超域学術院, 新大院医歯・口腔保健)
- P6. (歯周) *Fusobacterium nucleatum* が早産に関与するメカニズム
 【2402】○立石ふみ, 中村 梢, 中村利明, 野口和行(鹿大院医歯・歯周病)
- P7. (歯周) 抗 Dkk1 抗体の Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を介した骨形成促進メカニズムの解析
 【2504】○小林茉莉, 松崎英津子, 濱地貴文, 平塚俊志, 前田勝正(九大院歯・口腔機能(歯周))

第 1 日目 ポスター

- P8. (修復) 齧蝕原因菌に対するコエンザイム Q10 の抗菌効果
【3001】○鈴木英明, 鈴木義純, 三田 肇, 熱田 互, 並木泰次, 岡田珠美,
池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
有川量崇 (日大松戸歯・公衆予防歯科)
- P9. (修復) Er: YAG レーザー照射が象牙質ゼラチナーゼ活性に及ぼす影響
【3101】○西谷佳浩, 星加知宏, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
山田三良, 富士谷盛興, 千田 彰 (愛院大歯・保存修復)
- P10. (修復) 歯科用可視光線照射器による光照射の血管平滑筋に対する影響
【3101】○吉野文彦, 吉田彩佳, 李 昌一 (神歯大・薬理)
西村知子, 石井信之 (神歯大・歯内)
- P11. (修復) VSC による金銀パラジウム合金の変色防止について
【3102】○藤井和夫, 玄 太裕, 野田陽子, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
土井 豊 (朝日大歯・歯科理工)
- P12. (修復) 超音波透過法を用いたセルフアドヒーシブセメントの初期硬化挙動測定
【2603】○石山智恵美, 瀧本正行, 田久保周子, 利根川雅佳, 渡邊孝行 (日大歯・保存修復)
黒川弘康, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
松崎辰男 (松崎デンタルオフィス)
- P13. (修復) 新規充填用セルフアドヒーシブレジンモディファイドグラスアイオノマーセメントの
【3102】 吸水膨張について
.....○橋本直樹, 小松久憲, 大木彩子, 福山麻衣, 川野晋平, 松田康裕,
付 佳楽, 佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
- P14. (修復) ボンドフィル SB の乳歯に対する微小引張接着強さ
【2604】○横山武志, 抜井康浩, 荒田正三 (サンメディカル (株) 研究開発部)
細矢由美子 (長大院医歯薬・小児歯科)
- P15. (修復) フッ素含有材料周囲う蝕エナメル質におけるストロンチウム分布の測定
【3102】○船戸良基, 小松久憲, 小島健太郎, 松田康裕, 奥山克史, 木地村太基,
佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
山本洋子 (阪大院歯・感染制御 (保存))
- P16. (修復) 新規 1 液型ボンディング材 MTB-200 の吸水特性と歯質接着性能
【2604】○雛元 愛, 西垣直樹, 武井 満 (クラレメディカル (株))
- P17. (修復) 新規 1 液型象牙質接着材の長期耐久性の検討
【2604】○角田晋一, 付 佳楽, 福岡杏里, 中沖靖子, 池田考績, 田中 享,
佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
武井 満, 西垣直樹, 雛元 愛 (クラレメディカル (株))
- P18. (修復) 市販オールインワン接着材の接着強さに対するスマヤー層の影響について
【2604】○付 佳楽, 潘 峰, 丁 世俊, 角田晋一, 川野晋平, 橋本直樹, 福岡杏里, 松田康裕,
川本千春, 中沖靖子, 池田考績, 井上 哲, 田中 享, 小松久憲,
佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
- P19. (修復) 新規 1 ステップボンド (MTB-200) とデュアルキュア型レジンコア材料 (NDC-100) の
【2604】 象牙質接着強さ
...○常盤珠美, 秋本尚武, 大森かをる, 英 將生, 宮内貴弘, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)

- P20. (修復) 1 ステップ接着システムの象牙質スマヤー層の除去能
 【2604】○福澤尚幸, 福岡杏理, 佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
 井上 哲 (北大病院・口腔総合)
- P21. (修復) 電子スピン共鳴法 (ESR) によるワンステップボンディング材のラジカル発生挙動の測定
 【3102】○武田宏明, 塩津範子, 桑山香織, 河野隆幸, 鳥井康弘 (岡大病院・総合歯科)
- P22. (修復) 象牙質に対する市販 All-in-one システムの接着性能
 【2604】○後閑由香, 水上英子, 谷 千尋, 久光 久 (昭大歯・保存)
- P23. (修復) 新規ワンステップボンディング材の開発に関する研究 (2)
 【2604】○岩井仁寿, 根本章吾, 周 秦 (日大院松戸歯・歯学, 日大松戸歯・保存修復)
 藤田 (中島) 光, 岩井啓寿, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
 西山典宏 (日大松戸歯・生体材料)
- P24. (修復) 新規オールインワン接着システムの歯頸部辺縁封鎖性に及ぼす口腔内環境想定
 【2604】 複合ストレスによる影響
○秋山沙絵子, 前野雅彦, 小川信太郎, 山田 正, 原 学, 柵木寿男, 奈良陽一郎,
 勝海一郎 (日歯大・保存)
 I. L. Dogon (ハーバード大歯・生体材料)
- P25. (修復) ワンステップボンディング材の劣化に関する研究
 【2604】○藤田 (中島) 光, 岡田珠美, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
 岩井仁寿 (日大院松戸歯・歯学)
 西山典宏 (日大松戸歯・生体材料)
- P26. (修復) 3 種の市販オールインワンセルフエッチングシステムの接着強さについて
 【2604】○丁 世俊, 付 佳楽, 潘 峰, 角田晋一, 中沖靖子, 池田考績, 田中 享,
 佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
- P27. (修復) 術者の違いがセルフエッチングシステムの接着強さに及ぼす影響について
 【2604】○潘 峰, 付 佳楽, 丁 世俊, 角田晋一, 中沖靖子, 池田考績, 福山麻衣, 橋本直樹,
 田中 享, 佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
- P28. (修復) TCD ウレタンモノマー配合コンポジットレジンの光照射後 24 時間の重合収縮応力の変化
 【3102】○久保田 祐, 山本雄嗣, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
- P29. (修復) ブラシ研磨による歯科用純チタンの精密研磨
 【2207】○田中大資, 佐藤秀明 (東京都市大院工・機械工学)
 佐藤秀樹, 小松正志 (東北大院歯・保存)
 石戸谷重晴 (東京技研)
 石幡浩志 (東北大院歯・歯内歯周)
- P30. (歯内) 水酸化カルシウム直接覆髄後の被蓋硬組織形成過程
 【2503】 ーラット白歯における免疫組織化学的研究ー
○重谷佳見, 吉羽邦彦, 鞍立桃子, 吉羽永子, 山中裕介, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P31. (歯内) 血管内皮細胞がラット培養歯髄細胞へ与える影響について
 【2503】○増田宜子, 山田嘉重 (昭大歯病院・歯内治療)
 宮本洋一, 上條竜太郎 (昭大歯・口腔生化学)
- P32. (歯内) NF- κ B 阻害剤は BMP による骨形成を促進する
 【2503】○平田志津, 北村知昭 (九歯大・齶蝕制御)
 諸富孝彦 (福歯大・修復・歯内)
 寺下正道 (九歯大・総合診療)

第 1 日目 ポスター

- P33. (歯内) ヒト歯髄由来線維芽細胞の MMP-3 産生に及ぼす MAP kinase の影響
【2503】○加藤 侑, 林 宏行 (大歯大・口腔治療)
合田征司, 池尾 隆 (大歯大・生化学)
小正玲子, 竹内 摂, 山本一世 (大歯大・保存)
- P34. (歯内) 単層培養法と三次元培養法における歯髄細胞の象牙芽細胞分化について
【2503】○山本弥生子, 川島伸之, 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
- P35. (歯内) ブタ乳歯歯根膜から得た上皮細胞を用いた三次元再構成培養組織の移植後における
【2503】 免疫組織学的観察
.....○山田理絵, 松田浩一郎 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)
新井恭子, 北島佳代子, 五十嵐 勝 (日歯大新潟・保存 I)
- P36. (歯内) 新しく開発されたバイオガラス配合セメントの特徴
【2503】○鷲尾絢子, 北村知昭 (九歯大・齶蝕制御)
寺下正道 (九歯大・総合診療)
- P37. (歯内) フォスフォフォリン-コラーゲン誘導性ラット修復象牙質の微細形態学的研究
【2503】○小池俊之, 半田慶介, 林 敬次郎, Mohammad Ali Akbor Polan, 唐 佳,
齋藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
- P38. (歯内) 高周波・電磁波照射による骨芽細胞の Growth Factor の発現・産生誘導
【2503】○湯本浩通, 平尾功治, 高橋加奈子, 松尾敬志 (徳大院・保存)
富永敏彦 (徳大院・保存, とみなが歯科医院)
- P39. (歯内) 異なる MPC ポリマー濃度による MC3T3-E1 の増殖に関する研究
【0410】○副島寛貴, 間 奈津子, 伊藤幸太, 渡邊浩章, 手銭親良, 中川寛一 (東歯大・保存)
- P40. (歯内) 歯髄細胞が産生する因子のゲノミクス, プロテオミクス解析
【3104】○小武家誠司, 鈴木茂樹, 米廣純子, 半井英雄, 藤井紗貴子,
西村英紀 (広大院医歯薬・健康増進)
- P41. (歯内) 破壊された根尖孔でのセメント質形成に及ぼす Emdogain® gel の効果の解明
【3103】○松本典祥, 水上正彦, 泉 利雄, 松浦洋志, 諸富孝彦, 榮田太郎, 春名千英子,
國本俊雄, 福田泰子, 牛尾悟志, 阿南 壽 (福歯大・修復・歯内)
- P42. (歯内) 酸化チタン含有試作合成 MTA セメントによる MC3T3-E1 細胞の分化促進作用
【3102】○今井啓全, 山田眞義, 木村裕一, 齋藤高弘, 天野義和 (奥羽大歯・歯内)
前田豊信 (奥羽大歯・口腔生化学)
- P43. (歯内) MTA の骨芽細胞分化促進作用は溶出する Ca²⁺ を介する
【2503】○岩田桜子 (日大歯・歯内療法)
林 誠, 武市 収, 清水康平, 小木曾文内
(日大歯・歯内療法, 総合歯学研究所・高度先端医療)
鈴木直人 (日大歯・生化学, 総合歯学研究所・機能形態)
前野正夫 (日大歯・衛生, 総合歯学研究所・機能形態)
- P44. (歯内) Mineral Trioxide Aggregate の生体内組成変化: ラット皮下移植による検討
【2503】○吉羽邦彦, 重谷佳見, 山中裕介, 武井絵梨花, 吉羽永子, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P45. (歯内) 量子ドットを使った D-グルコサミンの細胞内移行のナノイメージング解析
【2503】○川久保 敦, 藤原 守, 井川一成, 林 善彦 (長大院医歯薬・齶蝕)
謝 明芳 ((株) ケア・フォー バイオ事業部)
大庭英樹 ((株) ケア・フォー バイオ事業部,
産業技術総合研究所・生産計測技術研究センター)

- P46. (歯内) マウス骨芽細胞様細胞における炎症性サイトカイン誘導 ADAM28 は
 【2503】 骨吸収因子 MMP-13 の発現を制御する
 …○尾関伸明, 川合里絵, 田中 毅, 折本 愛, 中田和彦, 中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
- P47. (歯周) S-PRG 溶出液が歯周病原性細菌のプロテアーゼ活性および共凝集活性におよぼす影響
 【2504】 ……………○榎尾陽介, 米田雅裕, 鈴木奈央, 山田和彦, 岩元知之, 藤本暁江, 伊波幸作,
 廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)
- P48. (歯周) 歯肉溝滲出液 (GCF) を用いた歯周病罹患部位の診断と治療効果のモニタリングの有用性
 【2504】 一歯周病迅速診断キット開発に向けて一 (第三報)
 ……………○伊藤 弘, 沼部幸博, 関野 愉, 村樫悦子, 井口一美 (日歯大・歯周病)
 戸岡智幸, 橋本修一 (日歯大共同利用研究センター・アイソトープ)
 佐々木大輔, 八重柏 隆, 國松和司 (岩医大歯・歯周)
 高井英樹, 目澤 優, 小方頼昌 (日大松戸歯・歯周治療学)
 渡邊 久, 萩原さつき, 和泉雄一 (東医歯大歯・歯周病)
 廣島佑香, 木戸淳一, 永田俊彦 (徳大院・歯周歯内)
- P49. (歯周) 歯肉溝滲出液中のバイオマーカーと歯周炎罹患部位の関連
 【2504】 ……………○島田靖子, 杉田典子, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
- P50. (歯周) 歯周病原性細菌 *P.g* 感染が血球新生に及ぼす影響
 【2401】 ……………○前田憲一郎, 久保田実木子, 大原廣之, 伊山舜吉, 沢田啓吾, 竹立匡秀, 山下元三,
 北垣次郎太, 市川朋生, 北村正博, 村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P51. (歯周) 唾液検査と自覚症状の質問紙調査を組み合わせた歯周病スクリーニング法の検討
 【3001】 ……………○森田十誉子, 山崎洋治, 湯之上志保, 石井孝典 ((公財) ライオン歯科衛生研究所)
 富士谷盛興, 千田 彰 (愛院大歯・保存修復)
 中垣晴男 (愛院大歯・口腔衛生)
- P52. (歯周) 東京歯科大学水道橋病院総合歯科における歯周外科手術の概要
 【2504】 ……………○早川裕記, 井田 篤, 大田 恵, 古澤成博, 槇石武美 (東歯大・口健・総歯)
 齋藤 淳 (東歯大・歯周)
- P53. (歯周) Er : YAG レーザーによる SRP 治癒効果および菌血症予防効果の検討
 【2402】 ……………○小松康高, 両角俊哉, 阿部大輔, 岡田 萌, 奥田一博, 中曽根直弘,
 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
 小林哲夫 (新大歯・総合診療)
- P54. (歯周) グレーシースケーラーによるヒト象牙質の掻爬試験 (切れ刃のすくい角と表面粗さの関係)
 【2504】 ……………○石澤知寛, 佐藤秀明 (東京都市大院工・機械工学)
 石幡浩志, 島内英俊 (東北大院歯・歯内歯周)
- P55. (歯周) 歯肉に炭素ローラーが与える影響
 【2299】 ……………○本城賢一, 山本健太, 市岡宏顕 (京府医大院・歯科口腔科学, 免疫学)
 山本俊郎, 西垣 勝, 金村成智 (京府医大院・歯科口腔科学)
 中村 亨 (京府医大院・歯科口腔科学, 宇治徳洲会病院歯科口腔外科)
 坂下敦宏 (京府医大院・歯科口腔科学, 国保京丹波町和知歯科診療所)
 喜多正和 (京府医大院・免疫学)
- P56. (歯周) 各種レーザーによるメラニン色素除去効果の比較
 【2504】 ……………○西田英作, 武藤昭紀, 窪川恵太, 海瀬聖仁, 三木 学, 小松 寿,
 吉成伸夫 (松歯大・保存 I)
 内田啓一 (松歯大・歯科放射線)

第 1 日目 ポスター

- P57. (歯周) エア・ポリッシング後の象牙質に対する *Streptococcus mutans* の付着
【2504】○多田和弘, 織田洋武, 稲富道知, 佐藤 聡 (日歯大新潟・歯周病)
- P58. (歯周) 歯周治療における抗菌薬の費用と効果についての検討
【2504】○加藤智崇, 関野 愉, 沼部幸博 (日歯大・歯周病)
- P59. (歯周) 塩化亜鉛溶液を用いた洗口による口腔常在フローラの変化
【3001】○鈴木奈央, 畑野優子, 米田雅裕, 廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)
中野善夫, 横瀬勝美, 桑田文幸 (日大歯・化学)
- P60. (その他) 铸造ポスの除去方法に関する基礎的検討
【2599】 —従来型ポスコアリムーバーと改良型ポスコアリムーバーの比較—
.....○小西秀和 (王喜歯科医院)
- P61. (その他) 永久歯に内部吸収のみられた歌舞伎メイキャップ症候群の 1 例
【2402】○小林洋子, 小松正志 (東北大院歯・保存)
金田一孝二 (東北大院歯・口腔器官構造)
金田一純子 (国立成育医療センター)
- P62. (その他) 新規開発した酸化マグネシウム系 MgO Sealer に対するマウス皮下組織の反応
【3199】○佐藤将洋, 笠原悦男 (松歯大・保存II)
山本昭夫 (松歯大・保存II, 松歯大院・健康増進口腔科学)
- P63. (その他) BMS 患者における唾液中コルチゾルの評価
【3199】○春名千英子, 泉 利雄, 松浦洋志, 諸富孝彦, 榮田太郎, 松本典祥, 國本俊雄,
福田泰子, 水上正彦, 牛尾悟志, 阿南 壽 (福歯大・修復・歯内)
- P64. (その他) マウスガードの臨床的使用期間を設定するための基礎的研究
【3099】○富田浩一, 徳田雅行, 鳥居光男 (鹿大院医歯・修復歯内)
蟹江隆人 (鹿大院医歯・生体材料)
- P65. (その他) ヒト歯髄幹細胞の特徴化の中高齢者・若年者による比較検討
【3199】○堀部宏茂 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療, 愛院大歯・顎口腔外科)
庵原耕一郎, 村上真史, 中島美砂子 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療)
竹内教雄 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療, 愛院大歯・歯内治療)
石坂 亮 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療, 愛院大歯・小児歯科)
栗田賢一 (愛院大歯・顎口腔外科)
- P66. (その他) う蝕リスク診査を取り入れた学校歯科健診
【2108】 —健診と生活習慣との関係—
.....○深谷芽吏, 近藤愛恵, 齋藤 渉, 大森かをる, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
石原容子 ((株) ジーシー)
花田信弘 (鶴大歯・探索歯学)
- P67. (その他) 神経障害性疼痛発症における脊髄抑制性グリシン神経の変調機序に関する研究
【2204】○本山直世, 西村英紀 (広大院医歯薬・健康増進)

第2日目 10月21日(金) A会場(1F大ホール)

9:00~9:50 研究発表

座長 五十嵐 勝(日歯大新潟)

- A16-0900. (歯内) 象牙細管内の動水力学的水圧に対する象牙芽細胞膜の歪みについて
 【2205】○池田英治, 李 穎, 須田英明(東医歯大院・歯髄生物)
- A17-0910. (修復) スクロースによる高浸透圧刺激下における象牙芽細胞の応答
 【2502】 ...○藤澤真理, 徳田雅行, 山下(森元)陽子, 宮下桂子, 鳥居光男(鹿大院医歯・修復歯内)
- A18-0920. (歯内) 実験的歯髄炎に対する PRG バリアコートの効果に関する研究
 【2503】○渡部弘隆, 佐藤武則, 武藤徳子, 石井信之(神歯大・歯内)

座長 中村 洋(愛院大歯)

- A19-0930. (修復) 象牙質マトリックスタンパク質 1 (DMP1) 由来合成ペプチド (pA, pB) による
 【2699】 ラット露髄面の直接覆罩効果—増粘剤を添加したプライマーによる創傷部の長期的観察—
○鈴木雅也, 加藤千景, 山内淳一, 新海航一(日歯大新潟・保存II)
 平 賢久(日歯大新潟・総合診療)
- A20-0940. (歯内) ヒト歯髄培養細胞におけるエンドサイトーシスを介した MMP-3 による CTGF/CCN2 発現調節
 【2503】○室町幸一郎, 神尾直人, 神尾素代(日大松戸歯・歯内)
 成田貴則, 杉谷博士(日大生物資源科学・獣医生化学)
 松島 潔(日大松戸歯・歯内, 日大口腔科学研究所)

9:50~10:00 休憩

座長 興地隆史(新大院医歯)

- A21-1000. (修復) OCT を用いた歯質断層像の解析について—状態変化と OCT イメージの関連性
 【2304】○黒川弘康, 安藤 進, 宮崎真至(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
 島村 穰, 村山良介(日大歯・保存修復)
 日野浦 光(日野浦歯科医院)
 釜口昌平, 三畑幸則((株)モリタ東京製作所)
- A22-1010. (修復) う蝕病巣におけるう蝕歯質の硬さと DIAGNOdent による評価との関係
 【2501】○岩見行晃, 山本洋子, 林 美加子, 恵比須繁之(阪大院歯・感染制御(保存))
- A23-1020. (その他) SS-OCT を用いた脱灰象牙質の再石灰化度の推定 (TMR との比較)
 【2304】○中嶋省志, 島田康史, 夏目悠子(東医歯大院・う蝕制御)
 角 保徳(国立長寿医療研究センター・口腔機能再建)
 Sadr Alireza, 田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)

座長 吉山昌宏(岡大院医歯薬)

- A24-1030. (その他) OCT を用いた I 級窩洞のフロアブルレジンのリアルタイム 2 次元断層画像撮影
 【3102】○サダル アリレザ, 田上順次(東医歯大院・歯と骨の GCOE, う蝕制御)
 島田康史(東医歯大院・う蝕制御)
 角 保徳(国立長寿医療研究センター)

第2日目 A会場

- A25-1040. (修復) MI (Minimal Intervention) 治療法について再考すべきこと
【2402】 一慢性 GVHD を発症した慢性骨髄性白血病患者における多発性う蝕を経験して—
.....○大津奈央, 長谷川誠実, 本田公亮 (兵医大・歯科口腔外科)

- 10:50~11:00 休憩
11:00~12:00 特別講演II
12:00~12:10 休憩
12:10~13:00 ランチョンセミナーIII (B会場にて)
12:10~13:00 ランチョンセミナーIV (C会場にて)
13:00~13:10 休憩
13:10~14:50 シンポジウムII
13:10~14:50 シンポジウムIII (B会場にて)
14:50~15:00 休憩
15:00~15:50 研究発表

座長 堀田正人 (朝日大歯)

- A26-1500. (その他) Establishment of artificial caries-affected dentin model for interfacial remineralization study
【2604】○ホヴェス ヘラルド, 井上 剛, 中嶋省志, 二階堂 徹 (東医歯大院・う蝕制御)
田上順次 (東医歯大院・歯と骨のGCOE)

- A27-1510. (修復) 歯面上に成膜したシリカ薄膜の耐酸性
【2501】○田中隆博, 山口益司, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
原 めぐみ, 小泉忠彦 (神歯大・総合歯科)
進藤豊彦 (コンタミネーション・コントロール・サービス)

- A28-1520. (修復) エナメル質初期う蝕最表層部における POs-Ca およびフッ素配合ガム咀嚼後の
【2501】 微小硬さ変化ならびにフッ素分布
.....○北迫勇一 (東医歯大院・う蝕制御)
池田正臣 (東医歯大歯・歯科技工士学校)
小林隆嗣, 田中智子, 釜阪 寛 (江崎グリコ (株) 健康科学研究所)
Alireza Sadr, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨のGCOE)

座長 山本一世 (大歯大)

- A29-1530. (修復) PRG バリアコートのエナメル質脱灰抑制・再石灰化促進効果
【3102】○村山良介, 島村 稔, 飯野正義, 砂田識敦 (日大歯・保存修復)
近藤 貢 (近藤歯科医院)
吉野弘三 (福石歯科医院)

- 黒川弘康, 安藤 進, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
A30-1540. (修復) 新規歯面処理材によるエナメル質表層下脱灰病変の再石灰化効果
【2501】○半場秀典, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨のGCOE)
井上 剛, 二階堂 徹 (東医歯大院・う蝕制御)

- 15:50~16:00 休憩
16:00~17:00 ポスター発表:P68~134 (ポスター会場にて)
17:00~17:10 閉会の辞

第2日目 10月21日(金) B会場(2F大会議室さくら西・東)

9:00~9:50 研究発表

座長 齋藤 淳(東歯大)

- B16-0900. (歯周) TWEAKがヒト歯肉線維芽細胞のIL-1 β 誘導CCL20産生に与える影響
 【2504】○細川義隆, 中江英明, 松尾敬志(徳大院・保存)
 細川育子(徳大院・口腔微生物, 日本学術振興会特別研究員PD)
 尾崎和美(徳大院・口腔保健支援)
- B17-0910. (歯周) ADAMTSL6 β によるTGF- β シグナル抑制効果に関する研究
 【2504】○黒河みさ紀, 荻野光明(東理大院・基礎工・生物工)
 辻 孝(東理大院・基礎工・生物工, 東理大・総合研究, (株)オーガンテクノロジーズ)
 齋藤正寛(東理大院・基礎工・生物工, 東理大・総合研究)
- B18-0920. (歯周) 酪酸による酸化ストレス誘導時に放出されるHMGB1の解析
 【2504】○江部典子(東医歯大院・歯周病)
 横山三紀, 寺澤和恵(東医歯大院・硬組織病態生化学)
 柳下正樹(東医歯大院・硬組織病態生化学, 歯と骨のGCOE)
 和泉雄一(東医歯大院・歯周病, 歯と骨のGCOE)

座長 野口和行(鹿大院医歯)

- B19-0930. (歯周) Amphotericin Bはヒト歯肉上皮細胞のIL-8発現を制御する
 【2504】○今井遥香, 藤田 剛, 應原一久, 松田真司, 内田雄士, 宮川剛史, 柴 秀樹,
 河口浩之, 栗原英見(広大院医歯薬・歯周病態)
- B20-0940. (歯周) 脳由来神経栄養因子(BDNF)の血管内皮細胞透過性に及ぼす影響についての研究
 【2504】○松田真司, 藤田 剛, 武田克浩, 橘高瑞穂, 今井遥香, 柴 秀樹, 河口浩之,
 栗原英見(広大院医歯薬・歯周病態)

9:50~10:00 休憩

10:00~10:50 研究発表

座長 吉成伸夫(松歯大)

- B21-1000. (歯周) 実験的歯周病モデルを用いた脂肪組織由来未分化間葉系幹細胞の移植による歯周組織再生
 【2504】○沢田啓吾, 竹立匡秀, 小笹匡雄, 岩山智明, 野崎剛徳, 市川朋生, 前田憲一郎,
 田内拓史, 三木康史, 大原廣之, 伊山舜吉, 北村正博,
 村上伸也(阪大院歯・免疫制御(治療))
 安齋 純(科研製薬(株))
- B22-1010. (歯周) ナノハイドロキシアパタイトがBMP-2による硬組織形成と象牙質吸収に及ぼす影響
 【2504】○玉川博貴, 西尾啓英, 中澤篤史, 菅谷 勉, 川浪雅光(北大院歯・歯周・歯内)
- B23-1020. (歯周) 培養ヒト歯根膜由来上皮細胞および線維芽細胞間相互作用による石灰化調整
 【2504】○高橋 健, 下西 充, 渡邊弘淳, 遠藤直樹, 齋藤 修(東北大病院・総合歯科)
 小松正志(東北大院歯・保存)

第2日目 B会場

座長 沼部幸博 (日歯大)

- B24-1030. (歯周) バブルリポソームと超音波を利用した効率的薬物・核酸導入システムの
【3199】 口腔組織への応用に向けた基礎的検討
……………○菅野真莉加, 榎本拓哉, 野瀬冬樹, 鶴見亜有子, 宮園あがさ, 白井通彦, 滝口 尚,
須田玲子, 鈴木基之, 山本松男 (昭大歯・歯周病)
Enkhzaya Guruudivaa (昭大歯・歯周病, モンゴル健康科学大歯・
マイデント歯科トレーニングクリニック)
齊藤正人 (北医大歯・小児歯科)
安彦善裕 (北医大歯・臨床口腔病理)
- B25-1040. (歯周) IL-1Ra 欠損マウスの破骨細胞形成能と実験的歯周炎について
【2504】 ……………○石原裕一, 水谷大樹, 伊澤有郎, 三谷章雄, 黒須康成, 川瀬仁史, 稲垣幸司,
野口俊英 (愛院大歯・歯周病)

- 10:50~11:00 休憩
11:00~12:00 特別講演II (A会場にて)
12:00~12:10 休憩
12:10~13:00 ランチョンセミナーIII
12:10~13:00 ランチョンセミナーIV (C会場にて)
13:00~13:10 休憩
13:10~14:50 シンポジウムII (A会場にて)
13:10~14:50 シンポジウムIII
14:50~15:00 休憩
15:00~15:50 研究発表

座長 小方頼昌 (日大松戸歯)

- B26-1500. (歯周) JP2型 leukotoxin promoter を有する *A. actinomycetemcomitans* 菌の分離と解析
【2601】 ……………○長澤敏行, 清水伸太郎, 日高竜宏, 門 貴司, 加藤幸紀, 森 真理,
古市保志 (北医大歯・歯周歯内)
- B27-1510. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* LPS が microRNA 発現に及ぼす影響
【2504】 ……………○本田朋之, 高橋直紀, 宮内小百合 (新大超域学術院, 新大院医歯・歯周)
奥井隆文, 多部田康一 (新大超域学術院)
中島貴子 (新大超域学術院, 新大歯・総合診療)
山崎和久 (新大超域学術院, 新大院医歯・口腔保健)
- B28-1520. (歯周) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* がヒト歯肉上皮細胞の細胞接着因子に及ぼす影響
【2206】 ……………○高知信介, 山城圭介, 山本直史, 本郷昌一, 富川和哉, 鶴川祐樹, 前田博史,
高柴正悟 (岡大院医歯薬・歯周病態)
下江正幸 (岡大院医歯薬・歯周病態, 興生総合病院歯科・口腔外科)

座長 栗原英見 (広大院医歯薬)

- B29-1530. (歯周) 歯槽骨吸収における *Actinomyces naeslundii* ペプチドグリカンの役割
【2504】 ……………○佐藤武則, 石井信之 (神歯大・歯内)
- B30-1540. (歯周) コンポジットレジン修復物の辺縁部におけるエア・ポリッシングの影響
【2504】 ……………○清水 豊, 多田和弘, 鴨井久博, 佐藤 聡 (日歯大新潟・歯周病)
関 秀明 (日歯大新潟・総合診療)
- 15:50~16:00 休憩
16:00~17:00 ポスター発表:P68~134 (ポスター会場にて)
17:00~17:10 閉会の辞 (A会場にて)

第2日目 10月21日(金) ポスター会場(1F アトリウム)

9:00~10:00 ポスター準備 (P68~134)

10:00~16:00 ポスター掲示 (P68~134)

16:00~17:00 ポスター発表 (P68~134)

17:00~17:20 ポスター撤去 (P68~134)

- P68. (修復) オーラルケアに関する研究
 【3001】 —とくに東日本大震災および福島第一原発事故が幼若永久歯に及ぼした影響について—
 ……………○山田満憲 (響会)
- P69. (修復) CEREC AC システムにより作製されたオールセラミッククラウンのマージン部適合性の評価
 【2601】 ……………○堀内 章, 間 奈津子, 宮下 卓, 手銭親良, 副島寛貴, 吉澤佑世, 森永一喜,
 中川寛一 (東歯大・保存)
- P70. (修復) コンポジットレジンの歯ブラシ摩耗について
 【2603】 —摩耗深さおよび表面性状—
 ……………○京泉秀明, 山田純嗣, 鈴木敏光, 久光 久 (昭大歯・保存)
 Finger Werner J., 兼平正史, 小松正志 (東北大院歯・保存)
- P71. (修復) 新規支台築造用レジンコアシステムに関する研究
 【2603】 ……………○竹内晶子, 西村麻衣子, 星加知宏, 西谷佳浩, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P72. (修復) 新規デュアルキュア型レジンコア材料を用いた支台築造システムにおける根面接着様相の評価
 【2603】 ……………○松本真理子, 矢谷博文 (阪大院歯・補綴一)
 三浦治郎 (阪大歯病院・口腔総合診療)
- P73. (修復) 東北大学病院で使用されている光照射器の照射光量の3年後の変化
 【2603】 ……………○遠藤達雄, 星野圭美, 笹崎弘己, 小松正志 (東北大院歯・保存)
- P74. (修復) 試作レジンコーティング材の材料学的性質
 【2604】 ……………○周 秦, 関根哲子, 根本章吾, 岩井仁寿, 小里達也, 西山典宏,
 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
- P75. (修復) フッ化炭素鎖を含む表面処理剤の歯科への応用 (XX)
 【2604】 —混合シランの物理化学的特性—
 ……………○二瓶智太郎, 大橋 桂, 三宅 香, 芹田枝里, 原 健一郎, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
 カール・ハインツ クンツェルマン (ミュンヘン大歯・保存修復)
 倉田茂昭 (神歯大・生体材料器械)
 山口真一郎 (神歯大・総合歯科)
 清水統太 (神歯大・顎口腔修復科)
 近藤行成, 好野則夫 (東理大・工業化学)
- P76. (修復) 試作フッ素系シール材の象牙質脱灰抑制能
 【2501】 ……………○富山 潔, 向井義晴, 飯塚純子, 椎谷 亨, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 平山倫子,
 寺中敏夫 (神歯大・保存)
 平林正道 (神歯大・総合歯科)
 藤野富久江 (湘南短大・歯科衛生)
- P77. (修復) 新規接着性モノマー CMET 配合シーリングコート材の象牙質接着性及び再石灰化誘導能
 【2502】 ……………○甕 富美子, 伊藤修一, 塚本尚弘, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)

第2日目 ポスター

- P78. (修復) 最新のフロワブルコンポジットレジンの白歯用修復材としての可能性：
【2603】 2級窩洞適合性からの検討
.....○入江正郎 (岡大院医歯薬・生体材料)
吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P79. (修復) フロアブルレジンの重合収縮挙動および機械的性質
【2603】○山本 明, 石井 亮, 辻本暁正, 森 健太郎 (日大歯・保存修復)
高見澤俊樹, 色川敦士, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
鈴木敏裕 (すずき歯科クリニック)
天野 晋 (天野歯科医院)
- P80. (修復) フロアブルレジンのダイナミック硬さ
【3102】○平山聡司, 岩井啓寿, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
谷本安浩, 西山典宏 (日大松戸歯・生体材料)
- P81. (修復) 各種フロアブルレジンの重合収縮と窩壁適合性 (第4報)
【2603】 - μ CTを用いた重合収縮挙動の評価-
.....○武村幸彦 (神歯大・保存, 放射線)
花岡孝治, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
川股亮太 (神歯大・放射線)
海老原 敬 (ペガサス歯科医院)
押川亮宏, 倉田茂昭 (神歯大・生体材料器械)
- P82. (修復) 繰返し衝撃荷重がフロアブルレジンの表面形状に及ぼす影響
【2603】○新海航一, 加藤千景, 鈴木雅也, 鈴木司郎 (日歯大新潟・保存II)
平 賢久 (日歯大新潟・総合診療)
- P83. (修復) 修復性象牙質形成促進剤および増粘剤を添加した接着性レジンシステムの象牙質への接着強さ
【2604】○加藤千景, 鈴木雅也, 新海航一 (日歯大新潟・保存II)
平 賢久, 海老原 隆, 若木 卓, 関 秀明 (日歯大新潟・総合診療)
- P84. (修復) 薄層試作オパークレジンの色彩学的検討
【2605】○関根哲子, 周 秦 (日大院松戸歯・歯学, 日大松戸歯・保存修復)
福嶋千春, 大場 (高鹿) 志保, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
- P85. (修復) ウルトラリン酸ナトリウムの着色除去効果
【2605】○小安正洋, 真鍋厚史 (昭大歯・保存, 昭大歯病院・美容歯科)
柴 肇一 (リジェンティス (株))
久光 久 (昭大歯・保存)
- P86. (修復) オフィスホワイトニング後のコンポジットレジンの歯質接着性に関する研究
【2604】 ...○志賀華絵, 岡田伸男, 中村芳章, 千葉史子, 山本槇子, 増山知之, 柳谷隆仁, 熊谷啓二,
工藤義之, 野田 守 (岩医大歯・保存修復)
- P87. (修復) フッ素含有知覚過敏抑制材の漂白効果への影響
【2605】○宮森沙耶香, 田中晴美, 小里達也 (サンメディカル (株) 研究開発部)
玉岡慶鐘, 東光照夫, 久光 久 (昭大歯・保存)
- P88. (修復) 象牙質知覚過敏抑制剤の湿潤象牙質に対する接触角
【2501】○渡辺茂文, 日下部修介, 岡 勇輝, 東田一仁, 小竹宏朋,
堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))

- P89. (修復) リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材 (CPD-100) の象牙細管内における経時的変化
 【2502】 —FE-SEM による超微小構造観察—
 …○秋本尚武, 宮内貴弘, 大森かをる, 英 將生, 常盤珠美, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
- P90. (修復) リン酸カルシウム系象牙質知覚過敏抑制材の漂白エナメル質に対する効果
 【2502】 …○大森かをる, 常盤珠美, 秋本尚武, 英 將生, 宮内貴弘, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
- P91. (修復) 試作リン酸 Ca 系知覚過敏抑制材 (CPD-100) が象牙質接着に及ぼす影響
 【2502】 …○英 將生, 常盤珠美, 宮内貴弘, 大森かをる, 秋本尚武, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
- P92. (修復) 知覚過敏抑制材適用歯面へのボンドフィル SB の接着性
 【2604】 ……………○井波智鶴, 宮森沙耶香, 小里達也 (サンメディカル (株) 研究開発部)
 西谷佳浩, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P93. (修復) う蝕象牙質に対するボンドフィル SB の接着性
 【2604】 ……………○田中晴美, 岩崎小百合 (サンメディカル (株))
 西谷佳浩, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P94. (修復) 前処理の複合がボンドフィル SB の各種被着体に対する接着性に及ぼす影響
 【2604】 ……………○大槻 環, 荒田正三, 抜井康浩 (サンメディカル (株))
 今里 聡 (阪大院歯・歯科理工)
- P95. (歯内) 24%EDTA 水溶性ジェルの根管壁スミヤー層除去性能
 【2504】 ……………○寺田林太郎 (平鹿総合病院歯科)
 下田恵美, 横田兼欣, 常川勝由 (日本歯科薬品 (株) 研究所)
- P96. (歯内) BO 試薬による根管拡大・形成時の操作性向上の可能性に対する検討
 【2503】 ……………○山田嘉重, 増田宜子 (昭大歯病院・歯内治療)
 木村裕一 (奥羽大歯・歯内)
- P97. (歯内) 埋伏した下顎第一大臼歯に施した外科的歯内療法
 【2503】 …○北村和夫, 山崎孝子, 石井隆資, 阿川透久, 清水章矢, 四方田 拓 (日歯大・総合診療)
 小森 成 (日歯大・矯正歯科)
 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P98. (歯内) オレイン酸, ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした新規根管充填用シーラーの
 【2503】 物性に対するロジンの影響について
 ……………○前田宗宏, 石塚克巳, 勝海一郎 (日歯大・保存)
 橋本修一 (日歯大・共同利用研究センター RI 研究室)
- P99. (歯内) 根管長測定可能な学生実習用顎模型の改良
 【2503】 ……………○竹田淳志, 池田英治, 小林千尋, 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
- P100. (歯内) 新型エアスケーラーを用いた根管内水酸化カルシウム材の除去について
 【2503】 ……………○石村 瞳, 小松 恵, 吉岡俊彦, 八幡祥生, 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
 吉岡隆知 (吉岡デンタルオフィス)
- P101. (歯内) マイクロヘッドエアータービンハンドピースの下顎大白歯髓腔開拡への有用性
 【3101】 ……………○湯本琴美, 山崎泰志, 甲田 智, 小澤寿子 (鶴大歯・歯内・歯周病)
- P102. (歯内) 感染根管治療時の意図的根尖狭窄部拡大が術後疼痛発生に与える影響と
 【2503】 非歯原性疼痛との関連の検討
 ……………○永吉雅人, 西野宇信, 鷺尾絢子, 市丸美希, 平田志津, 吉居慎二, 西藤法子,
 廉 晃勲, 中川愛加, 北村知昭 (九歯大・齶蝕制御)
 居林晴久 (いばやし歯科医院)
 寺下正道 (九歯大・総合診療)

第 2 日目 ポスター

- P103. (歯内) 根管形成操作解析装置の開発
【2503】 ートルク・荷重曲線観察下におけるファイル操作ー
.....○庭野和明, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P104. (歯内) マイクロフォーカス X 線 CT 装置による上顎側切歯根管形態の評価 (第 2 報)
【2503】○天野亮子, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P105. (歯内) Cone-Beam-CT による難治性根尖性歯周炎の診断
【2503】○河瀬雄治 (松歯大・歯科理工)
内田啓一, 田口 明 (松歯大・歯科放射線)
山本昭夫, 山口祐美, 内山真紀子, 佐藤将洋, 笠原悦男 (松歯大・保存 II)
吉成伸夫, 西田英作 (松歯大・保存 I)
- P106. (歯内) 歯科用コーンビーム CT を用いた根尖部骨欠損の三次元的形態評価
【2503】○小松 恵, 吉岡俊彦, 坂上 齊, 石村 瞳, 海老原 新,
須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
- P107. (歯内) 新規ハイブリッドアルギン酸ナトリウム/リン酸三カルシウムスポンジ状担体の
【3103】 骨髄幹細胞による骨形成能
.....○柿木栄幸, 好川正孝, 林 宏行 (大歯大・口腔治療)
- P108. (歯内) α -TCP/Te-CP セメントの覆髄剤への応用
【2503】 1) 各種練和液による硬化時間, pH, 圧縮強度への影響
.....○武田進平, 河野 哲, 小栗健策, 田中雅士, 中野友紀子,
吉田隆一 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
土井 豊 (朝日大歯・歯科理工)
- P109. (歯内) オートリバーストルク値を変えて TF ファイルを用いた場合の拡大形成の違いに関する研究
【2503】○松田浩一郎, 山田理絵 (日歯大新潟・硬組織機能治療)
新井恭子, 北島佳代子, 五十嵐 勝 (日歯大新潟・保存 I)
- P110. (歯内) 4-META/MMA-TBB レジンの象牙質接着に及ぼす次亜塩素酸電解水の影響
【2503】○小此木 雄, 中村裕子, 小林健二, 小谷依子, 高橋哲哉, 牛込瑛子,
橋島弓子 (明海大歯・歯内療法)
申 基喆 (明海大歯・歯内療法, 歯周病)
- P111. (歯内) 模擬根管におけるパルスレーザーの洗浄効果の評価
【2503】○松本妃可, 吉嶺嘉人, 牛島 寛, 佐藤浩美, 坂田篤信, 磯辺量子,
赤峰昭文 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存))
- P112. (歯内) 垂直破折歯根の破折間隙におけるインピーダンス値と超音波チップの歯根表面までの距離
【2503】○川端伸也, 菅谷 勉, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
- P113. (歯周) Effect of Protamine on Bone Sialoprotein Gene Transcription
【2504】○Liming Zhou (Department of Periodontology Nihon University School of Dentistry at
Matsudo, Anhui Medical University of Stomatology Hospital, Anhui, China)
Matsumura Hiroyoshi, Sasaki Yoko (Department of Periodontology Nihon
University School of Dentistry at Matsudo)
Mezawa Masaru, Takai Hideki, Ogata Yorimasa (Department of Periodontology and Research
Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo)
- P114. (歯周) ヒト BSP 遺伝子発現に対するインターロイキン 11 の影響
【2599】○松村浩禎, 佐々木庸子 (日大松戸歯・歯周治療学)
目澤 優, 高井英樹, 小方頼昌 (日大松戸歯・歯周治療学, 口腔科学研究所)

- P115. (歯周) EGF がヒト歯根膜細胞に及ぼす影響について
 【2504】 ……○寺松陽子, 山本直秀, 河野清美, 郡 勝明 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存))
 前田英史, 友清 淳, 和田尚久 (九大病院・歯内治療)
 門野内 聡 (九大病院・油症ダイオキシン研究診療センター)
 藤井慎介 (阪大院医・分子病態生化学)
 赤峰昭文 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存), 九大病院・歯内治療)
- P116. (歯周) 骨吸収に対するペプチドグリカンとリポ多糖の協調作用に関する研究
 【2504】 …○岸本隆明, 金子高士, 鶴飼 孝, 横山美穂, 吉永泰周, 佐藤佳昌, 長野史子, 山下泰徳,
 吉村篤利, 原 宜興 (長大院医歯薬・歯周)
- P117. (歯周) 歯周炎関連遺伝子多型は白血球の FcγRIIB 陽性率を変化させる
 【2504】 ……○岩永璃子, 杉田典子, 王 燕銘, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
- P118. (歯周) メカニカルストレスがヒト歯根膜由来細胞の成長因子産生に与える影響
 【2299】 ……○市岡宏顕, 山本健太, 本城賢一 (京府医大院・歯科口腔科学, 免疫学)
 山本俊郎, 赤松佑紀, 大迫文重, 金村成智 (京府医大院・歯科口腔科学)
 喜多正和 (京府医大院・免疫学)
- P119. (歯周) 羊膜を基質とした培養歯髓由来細胞シートの作成
 【3103】 ……○山本俊郎, 赤松佑紀, 足立圭司, 雨宮 傑, 金村成智 (京府医大院・歯科口腔科学)
 本城賢一, 市岡宏顕, 山本健太 (京府医大院・歯科口腔科学, 免疫学)
 喜多正和 (京府医大院・免疫学)
- P120. (歯周) p53 誘導新規化合物の同定とその作用機序の解析
 【2504】 ……○北垣次郎太, 村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P121. (歯周) 光誘導蛍光システムによるブラークの質的評価について
 【2302】 ……○伊佐津克彦, 高島英利, 長谷川篤司 (昭大歯・歯学教育研修センター)
- P122. (歯周) Haptic Device を用いた適正プロービング圧トレーニングシステムの開発
 【3198】 ……○吉田能得 (阪大院歯・顎口腔機能再建, 免疫制御 (治療))
 山口 哲, 今里 聡 (阪大院歯・顎口腔機能再建)
 村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P123. (歯周) SIRT1 による歯根膜細胞の石灰化制御
 【2504】 ……○中村友美, 山下元三, 河原貴展, 橋本悠平, 梶川哲宏, 森 健太, 前田憲一郎,
 北垣次郎太, 柳田 学, 山田 聡, 北村正博, 村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P124. (歯周) 最終糖化産物はマクロファージ様細胞の炎症関連因子の発現を調節する
 【2402】 ……○村田裕美, 木戸淳一, 板東美香, 廣島佑香, 稲垣裕司, 永田俊彦 (徳大院・歯周歯内)
- P125. (歯周) ドキシサイクリンによる歯周病原細菌感染を伴う腹部大動脈瘤拡張の抑制
 【2402】 ……○青山典生 (東医歯大院・歯周病)
 鈴木淳一 (東医歯大院・循環制御内科, 東大・先端臨床医学開発)
 磯部光章 (東医歯大院・循環制御内科)
 和泉雄一 (東医歯大院・歯周病, 歯と骨の GCOE)
- P126. (歯周) 血清アミロイド A による動脈硬化症発症の検討
 【3407】 ……○窪川恵太, 海瀬聖仁, 西田英作, 武藤昭紀, 吉成伸夫 (松歯大・保存 I)
 田口 明 (松歯大・歯科放射線)
- P127. (その他) エリックプライマーを用いた *S. mutans* と *S. sobrinus* のバンディングパターンとの差異
 【3104】 ……○岡田珠美, 鈴木英明, 藤田 光, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)

第2日目 ポスター

- P128. (その他) イヌ歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞の抜髄後根管内移植による歯髄再生能比較
【3199】 ……○石坂 亮 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療, 愛院大歯・小児歯科)
庵原耕一郎, 村上真史, 中島美砂子 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療)
中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
福田 理 (愛院大歯・小児歯科)
- P129. (その他) 乳酸菌配合歯磨剤の口腔衛生改善効果についての臨床研究
【3001】 ……○畑野優子, 鈴木奈央, 米田雅裕, 山田和彦, 岩元知之, 榊尾陽介, 藤本暁江, 伊波幸作,
廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)
- P130. (その他) 大規模災害における保存系診療の役割
【2599】 ……○泉川昌宣, 半田慶介, 小池俊之, 油尾俊也, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
衣笠裕紀, 古市保志 (北医大歯・歯周歯内)
- P131. (その他) 大規模災害における歯科救護活動への北海道医療大学の取り組み
【2599】 ……○半田慶介, 小池俊之, 泉川昌宣, 油尾俊也, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
衣笠裕紀, 古市保志 (北医大歯・歯周歯内)
- P132. (その他) 新規デンタルユニット連動型自律神経活動モニターシステムの開発
【2401】 ……○下地伸司, 菅谷 勉, 根岸 淳, 田中佐織, 伊藤 豊, 小田島朝臣, 宮治裕史,
齋藤恵美子, 川村直人, 元木洋史, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
白井 薫 (長田電機工業 (株))
- P133. (その他) EMD 由来合成ペプチドのヒト歯髄細胞の増殖, 接着, 遊走に及ぼす影響
【3199】 ……○高橋宰達, 田口洋一郎, 安井菜津希, 奥田麻貴子, 上田雅俊 (大歯大・歯周病)
富永和也, 田中昭男 (大歯大・口腔病理)
- P134. (その他) 天然多糖プルランのリン酸化合物と塩化セチルピリジニウム混合液のラットへの
【3102】 反復経口投与毒性試験と細胞へ与える影響
……○河田有祐, 難波尚子, 峯柴 史, 前田博史, 高柴正悟 (岡大院医歯薬・歯周病態)
吉田靖弘 (岡大院医歯薬・生体材料)

講演抄録

特別講演Ⅰ	2
特別講演Ⅱ	3
シンポジウムⅠ	4
シンポジウムⅡ	7
シンポジウムⅢ	9
認定研修会	12
ランチョンセミナーⅠ	13
ランチョンセミナーⅡ	14
ランチョンセミナーⅢ	15
ランチョンセミナーⅣ	16

一般研究発表

□演発表 (A, B) ・ポスター発表 (P)

第1日目 A 会場：A1～15	17～31
第1日目 B 会場：B1～15	32～46
第2日目 A 会場：A16～30	47～61
第2日目 B 会場：B16～30	62～76
第1日目ポスター発表：P1～67	77～143
第2日目ポスター発表：P68～134	144～210

MIに基づくレーザー歯科治療を目指して

大阪大学大学院工学研究科, (兼) 臨床医工学融合研究教育センター

栗津邦男

半世紀前にレーザーが発明されて以来, 歯科では, レーザーが積極的に活用されてきた. 保存に関わる分野においては, う蝕除去・窩洞形成・歯周・根管治療などが, さらに審美歯科, 口腔外科を始め, 現在では広範な領域においてレーザーの有効性が示されている. もはやレーザー特有の治療効果は臨床において欠かせず, 開業歯科の約30%は何らかのレーザー機器を所有する計算になるまで普及している. しかしながら, どのレーザーをどんな風に, どの程度照射すれば所望の効果が得られるのかという, 照射パラメータの最適化については, ごく少数のレーザー治療機器でのみの検討に留まっているため十分とはいえない.

たとえば, 硬組織切削用レーザーの場合, 赤外域に発振波長をもつ Er:YAG レーザーや Er,Cr:YSGG レーザーが臨床で使用されているが, これらの治療器は強いレーザー吸収体である水の状態によって切削能が変わるため, う蝕の正確かつ客観的な除去には不向きである. したがって, ミニマルインターベンション (Minimal intervention; MI) に基づいた治療に向けては異なるレーザー吸収原理による硬組織切削が検討されるべきであろう.

そこで本講演は, 1) MI に向け, 中赤外波長域に多数の特徴的なレーザー吸収帯をもつ歯硬組織・軟組織の光吸収特性に注目することから始めたい. 次に, 2) われわれが開発し進めてきた中赤外波長可変レーザーを用いた, 有機質のアミド結合の振動に由来する波長 $6\mu\text{m}$ レーザーエネルギーにてう蝕を選択的除去する研究の途中経過を紹介し, 赤外領域である $6\mu\text{m}$ 帯が健全象牙質に低侵襲に, 脱灰象牙質のみを切削できることを示す. この結果は, レーザー照射面のレジン接着強さも Er:YAG レーザーよりも大きく改善され, MI の概念に一致したレーザー治療の実現をも示唆していると考えている. さらに, 3) 波長 $6\mu\text{m}$ 帯の医療用超小型光源として開発を進めてきた量子カスケードレーザー (Quantum cascade laser; QCL) の, 有効性検証実験について紹介する. QCL 試作デバイスを用い軟組織除去を試みたところ, 「炭酸ガスレーザーと同等の切削および止血能を期待できる」結果が得られた. すなわち, 「1台で軟組織と硬組織に対応できる多機能な治療機器」としても QCL はきわめて有望となる.

一般臨床で広く用いられるレーザー歯科治療機器は MI に向けて, 最適化設計がなされるべきであり, 今後のさらなる技術開発も期待されるが, QCL のもつポテンシャルは, 歯科の多くの分野での治療にも適応を広げることが可能である. 医科での先進的なレーザー治療機器の開発は, 欧米にリードを許している昨今だが, 歯科は国産が常にリードする歴史をもつ. ぜひ, 歯科からいわゆる「デバイスラグ・ギャップ」解消に向け, 日本発のレーザー治療機器で世界に挑戦してみたい.

日本学術振興会の今—もっと科研費を知ろう—

独立行政法人 日本学術振興会学術システム研究センター

宮﨑和男

【背景】

人類は、地球環境問題や食料問題等、多くの困難な課題をかかえており、その解決は、科学技術・学術研究の着実な進展に委ねられているといっても過言ではありません。たとえば、米国は基礎研究への投資を10年間で2倍にすることを打ち出していますし、EUにおいても第7次研究枠組み計画（FP7：Seventh Framework Programme）により505億ユーロ（72億ユーロ/年）の投資を掲げ科学技術の振興に力をいれています。

わが国においても、科学技術基本計画の策定により、科学技術関係経費が着実に充実され、平成23年度は約3兆5,700億円が計上されています。

しかしながら大学の現場からは、研究費や国際交流経費等が足りない、との悲痛な声も聞こえています。

【日本学術振興会の概要について】

日本学術振興会は、わが国の中核的学術支援機関として、学術研究が円滑に推進できるよう種々の支援事業を行っています。

具体的には、人文・社会科学から自然科学のあらゆる分野を対象として優れた独創的・先駆的な学術研究を支援する「科学研究費事業」、優れた若手研究者の養成・確保を図るための「特別研究員事業」、諸外国との共同研究・国際交流を推進するための「学術国際交流事業」、加えて、「大学院GPなど大学改革の推進に資する事業」も行っています。さらに、創造性に富んだ優れた若手研究者を顕彰する「日本学術振興会賞」や天皇陛下からいただいた御下賜金をもとに平成22年度から「日本学術振興会育志賞」を創設し、次代を担う若手研究者の勉学、研究意欲を高める顕彰も行っています。

これらの事業を円滑に遂行するため「学術システム研究センター」が設置されており、研究現場の声を反映しつつ公平・公正で透明性の高い審査評価システムを構築し、科研費などの事業改善に取り組んでいます。

【科研費の現状など】

科研費は、研究者の自由な発想による学術研究を支援している研究者にとって一番身近な競争的資金です。平成23年度予算は2,633億円となっており、その一部は基金化され、研究費の使用について年度の壁を取り除くものとして計上されました。

科研費は、あくまでも研究の内容、重要性に基づきピアレビューによる公正で透明性の高い審査・評価システム（審査員：約6,000人）により採択が決められています。基盤研究等の申請の際に使用する「系・分野・分科・細目表」については、急速に進展していく学術研究の動向に適切に対処していくため、5年ごとに見直しを行い10年ごとに大改正を行っており、研究者の申請がしやすいよう努めています。現在、平成25年度公募から使用するためのものを検討中です。

経費についても、研究者の立場に立って、研究計画遂行上必要な場合は可能な限り研究費の使途を制限しない柔軟な執行を可能としています。たとえば、研究の進展に応じた使用経費の弾力的変更や年度の繰越しも可能です。

当日は、研究者のニーズに基づき改善される科研費をはじめとする日本学術振興会事業の現状について説明します。

プラークからバイオフィルムへ

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）

恵比須繁之

う蝕や歯周病に代表される口腔疾患の多くが細菌バイオフィルムに起因する感染症であるとする概念は、今日周知のことであるが、“バイオフィルム”という言葉が歯科領域で使用されるようになったのはここ15年ほどのことである。

歯面に形成される細菌塊は、van Leeuwenhoekによって17世紀に細菌体として初めて観察され、デンタルプラーク（歯垢）として知られていたが、一般的にバイオフィルムという概念が誕生したのは1980年代であり、主に工業分野であった。その後、慢性気道感染症や尿路感染症の病巣部で、またペースメーカーやカテーテルなどの埋込型医療材料表面にバイオフィルムが相次いで観察され、さらにバイオフィルムによる感染症は、抗菌薬による効果が得られにくく、難治性であることが明らかとなった。アメリカ疾病管理予防センターの見積りでは、現在人類が防ぐことができない細菌感染の65%以上でバイオフィルムが関与するとされている。

細菌は、自然界では試験管内で培養したような浮遊状態で存在していることは少なく、多くは菌体外マトリックスに被覆された独自の微少環境を形成し、対象物に付着している。バイオフィルム内では、遺伝子の水平的伝達や代謝産物の共有がなされており、自己の数や異種細菌の数を感知し特定の遺伝子発現を制御するクオラムセンシングなどの菌体間相互反応が生じている。

多糖などで構成されるマトリックスに被覆されたバイオフィルム細菌は、浮遊細胞に比べて抗生物質に高い抵抗性を示すとともに、頻繁に遺伝子の水平伝達が行われ形質転換を起こす。抗菌薬の投与や抗菌剤で処理すると浮遊細胞は検出されなくなるが、バイオフィルム細胞はしぶとく生き残り、薬剤が作用しなくなると再び増殖し、増悪や再感染の原因となる。

う蝕・歯周病・感染根管といった歯科保存領域が対象とする主戦場の敵は、いずれもバイオフィルムである。したがって、このバイオフィルムの実体を深く知り、理解することが良き保存治療専門医への道標であると信じている。戦いに勝つためには、敵の本態をよく知る必要がある。

バイオフィルム見聞録と題した本シンポジウムでは、徳島大学の三宅先生に、バイオフィルムの病原性とその対策に関して先生の研究成果を含めてお話しいただく。また、北海道大学の森川先生には、逆に、バイオフィルムの有効利用という観点から、先生の研究成果を含めて微生物利用技術の新たな可能性を説明していただく。そして恵比須は、約40年前にデンタルプラーク研究に取り組んで以来、現在のバイオフィルム研究に至る過程でのエピソードを紹介し、現在、国際学会ではデンタルプラークという言葉はあまり使用されず、バイオフィルムという用語が主流である理由について解説する。

バイオフィルムの病原性とその対策

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔微生物学分野

三宅洋一郎

自然界において多くの微生物は液層に浮遊しているのではなく、なんらかの固相表面に付着して生息しているといわれている。固相表面に付着し、バイオフィルムを形成することが微生物の生き残りにとって都合がよいのであろう。ヒトに感染している多くの微生物もヒトの組織や細胞に付着した状態で存在している。口腔内でも同様であり、デンタルプラークは典型的なバイオフィルムであり、またバイオフィルムの概念が医学分野で提唱される以前から盛んに研究されてきた。

口腔内のバイオフィルムは齲蝕および歯周病の原因となっているが、口腔以外の部位でも多くのバイオフィルム・ディジーズが知られている。尿路・血管カテーテル、人工関節、人工弁、人工血管、ペースメーカー、人工骨頭など生体内留置物表面に形成されたバイオフィルムによる感染症がそれであり、縫合糸上に形成されたバイオフィルムによる膿瘍なども報告されている。また、生体内組織表面に形成されたバイオフィルムによって感染性心内膜炎、骨髄炎、慢性気道感染症（慢性気管支炎、びまん性汎細気管支炎）などが発症する。

バイオフィルムによる病原性発現メカニズムには2つの経路が考えられている。1つはバイオフィルムそのものの病原性であるが、バイオフィルム細菌の病原因子産生は落ちていることから、むしろグライコカリックスに対する免疫反応などが働いていると思われる。もう1つはリザーバーとしてのバイオフィルムである。バイオフィルム細菌がバイオフィルムを離れ、持続的に体内に放出されることにより感染が持続することが、バイオフィルム・ディジーズの難治化の原因と考えられている。バイオフィルム・ディジーズ難治化の原因としてはバイオフィルム細菌の抗菌薬に対する抵抗性も関与している。われわれはバイオフィルムを形成していなくても、単に固相表面に付着した細菌も抗菌薬抵抗性を発揮することを明らかにしてきたが、それには付着により活性化されるいくつかの遺伝子が関与しているようである。

バイオフィルム・ディジーズ対策としては、1) バイオフィルムを機械的に除去・破壊する、2) バイオフィルムにも有効な抗菌薬・消毒薬を用いる、3) バイオフィルムを作らせない、などが考えられる。歯磨きは典型的な機械的除去であるが、これは体内のバイオフィルムには応用できない。抗菌薬・消毒薬も現在のところ特に有効なものは見いだされていない。われわれはバイオフィルムを作らせないために、微生物低付着性素材の開発を目指しているので、その成果についてもお話しする予定である。

地球環境から見たバイオフィームの効用

北海道大学大学院地球環境科学研究院 環境分子生物学分野

森川正章

病原微生物のバイオフィームは私達の健康をおびやかす悪者として、その効果的な除去法の開発が各方面で望まれている。しかしその一方では、私達の身の回りに役に立つバイオフィームというものも存在する。たとえば、日本の伝統的な発酵食品のひとつである納豆は“煮豆の表面に納豆菌がバイオフィームを形成”したものであり、あのネバネバの主成分であるγポリグルタミン酸はバイオフィーム形成と深く関わっている。清酒の醸造工程において不可欠な麹菌は、米粒の表面に付着しないとデンプンを糖化する酵素グルコアミラーゼを生産しない。ヒトの寿命に影響するといわれている腸内細菌群もバイオフィームを形成して腸内環境に定着していることが予想される。また、下水処理場の活性汚泥の機能に欠かせないアンモニア酸化細菌と脱窒細菌は、栄養共生しながら複合バイオフィームを形成することによって効果的に廃水を浄化してくれている。このように私達の快適な生活を支えてくれているのもバイオフィームである。

現在、経済産業省管轄の新エネルギー産業技術開発機構（NEDO）では、「微生物群のデザイン化による高効率型環境バイオ処理技術開発」プログラムを2007年から5年間にわたって推進し、そのなかで私達のグループは「バイオフィーム工学による微生物のデザイン化」を担当している。

一般に、環境バイオ処理技術は化学的手法などに比べて環境負荷の少ない浄化技術であるが、実験室で検証された微生物活性を過酷な自然環境中で発揮するためには、窒素化合物やリン酸塩さらには酸素の供給が必要となる。ところがこれらの投入は、高コスト要因となるばかりでなく過剰な栄養供給による、お呼びでない微生物の異常増殖および生態系の攪乱といった二次的な問題を引き起こす危険性がある。また、原生動物などによる捕食などを含めた土着微生物との生存競争も考慮すべき問題である。つまり栄養分や酸素を過剰投与することなく、熾烈な生存競争下で当該微生物を汚染現場に定着させ、その活性を持続的に発揮できれば、環境バイオ処理技術はより安価で安全な技術として広く普及することが期待される。

私達はバイオフィームをうまく利用することが、上記問題解決の活路となると考えている。そこでまず、モデル環境汚染物質であるナフタレンを分解する細菌のバイオフィーム細胞と浮遊細胞の分解活性と原油汚染土壌における耐久性を比較した。その結果、ガラス容器内壁に形成したバイオフィーム細胞は分解活性の発現までにある程度の時間を要するものの、最大分解速度は浮遊細胞の約3倍に達した。その原因について調べた結果、バイオフィームが活性の高い細胞をつぎつぎに発射する航空母艦のような役割をしていることがわかった。一方、原油汚染土壌に同等の細胞数を投入した場合、浮遊細胞は7週間後には10%以下に減少したが、バイオフィーム細胞は40%程度が残存しており高いナフタレン分解活性も保持していた。以上の結果はバイオフィームの長期安定性を示すものである。

一方、微生物は植物表面にも付着し、バイオフィームを形成する。北大植物園に自然繁殖しているウキクサの根圏からさまざまな環境汚染物質分解細菌を単離した。そのなかで特に高いフェノール分解活性を有し、かつウキクサ根に強く付着する細菌 P23 を選定し以降の実験に供した。

植物用無機塩培地中で P23 はフェノールをほとんど分解できなかったが、あらかじめウキクサ根に付着させて試験したところ、顕著なフェノール分解活性が認められ、その活性は光照射のみで栄養塩を投入することなく1週間以上持続した。さらに興味深いことに P23 が付着したウキクサは滅菌ウキクサに比べて、約2倍速く生育することがわかった。このようなバイオフィームを介した相利共生関係の理解と活用は次世代の環境低負荷型汚染浄化技術の開発に貢献することが期待される。

文献

- 1) Yamaga F, Washio K, Morikawa M : Sustainable biodegradation of phenol by *Acinetobacter calcoaceticus* P23 isolated from the rhizosphere of duckweed *Lemna aoukikusa* ; Environ Sci Technol 44, 6470—6474, 2010.
- 2) Morikawa M : Beneficial biofilms formation by industrial bacteria, *Bacillus subtilis* and related species ; J Biosci Bioeng 101, 1—8, 2006.



内科的歯科に向けた齲蝕診断の技術革新と展望

岩手医科大学歯学部口腔保健育成学講座口腔保健学分野

稲葉大輔

カリオロジーの世界でいま最も革新的な動きは、歯の診断技術の劇的な進化である。これはいわば、外科的な歯科 (operative dentistry) から内科的な歯科 (internal dentistry) へのシフトとも表現できる。内科的歯科が重要である理由は、歯が口腔で治癒できる段階で対応する可能性を高めることにある。内科の基本は不可視段階にある初期兆候の検出であるが、不幸にして口腔は目でよく見えるために診断技術の開発が遅れてしまった。しかし、いま齲蝕が減少に転じたことを契機に、ようやく初期兆候の検出と治癒支援という内科的歯科が実現しようとしている。

こうした背景に対応し、かつての主観的で形態重視であった齲蝕診断に代わり、現在は初期齲蝕病変の客観的な評価方法が注目されつつある。視診をベースにした、その試みのひとつが ICDAS である。ただし、この方法では特異度は高いが敏感度が残念ながら低い。この欠点を補い、ごく初期の齲蝕 (脱灰) の客観的な可視化を実現できる方法が Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF, 光励起蛍光法) である。ただし、QLF は敏感度が高いが特異度が低いことが知られている。その後、技術革新が継続され近年、第二世代の QLF である QLF-D が開発された。これは QLF と同様に初期脱灰を可視化定量できるとともに、細菌由来のポルフィリンを特異的に画像定量できるので、進行した齲蝕をも診断できるところに特徴がある。そこで、目下、高い感度と特異度の診断を実現すべく、QLF (-D) と ICDAS をリンクさせる研究が進んでいる。今回は、それらを題材に、カリオロジーの将来を展望してみたい。

- 研究1：対象は患者の口腔にある抜歯予定の未処置齲蝕で、抜歯前に ICDAS II で診査され、同時に咬合面、頬側面および舌側面の通常写真と QLF 画像が撮影された。抜歯のあと、対象歯は薄切され、病理診断と先の結果と対比された。その結果、ICDAS II スコアと QLF で算出される蛍光減少率 ΔF (%) は高い相関を示し、QLF で ICDAS II スコアを判別できることが確認された。
- 研究2：本研究の材料は抜去されたヒト大白歯 8 歯で、咬合面が QLF-D で撮影されたのち、頬舌的に分割され、その断面のポルフィリン分布が同じく QLF-D で評価された。断面のポルフィリン深度は、0：ポルフィリンなし、1：エナメル質限局、2：象牙質まで、3：齲窩形成、の4段階でスコア化された。赤色蛍光強度 ΔS の値はポルフィリン深度スコアと有意な相関を示した ($r=0.78$, Spearman 順位相関; $p<0.05$)。よって、咬合面から QLF-D で検出された赤色蛍光強度は歯質内部のポルフィリン分布深度、すなわち潜在性齲蝕の深度とよく一致することが示唆された。
- 研究3：この研究では ICDAS II スコアと QLF-D で測定された赤色蛍光強度が比較された。その結果、両者は有意な相関を示し ($r=0.60$, Spearman 順位相関; $p=0.0048$)、 ΔS 値が ICDAS II のスコア 3 と 4 を判別する性能は敏感度 0.78、特異度 0.73 であった。

以上より、ICDAS と QLF-D の組み合わせは齲蝕診断に有用であり、将来的には、初期齲蝕のより客観的かつ定量的な検出手段の開発と効果的な齲蝕の予防管理が期待されるところである。

歯科理工学の立場から

昭和大学歯学部歯科理工学講座

宮崎 隆

わが国においては齲蝕が激減したが、齲蝕の予防、早期発見、侵襲の少ない処置、機能期間の保証等を含めて修復治療の重要性は益々高まっている。現在の修復治療は材料と器材の進歩に支えられてきた歴史がある。本講演では、演者の研究室の最近の研究成果を紹介しながら、修復治療に必要なイノベーションについて私見を述べたい。

エナメル質の基本構造はエナメル小柱であり、ナノスケールのハイドロキシアパタイト結晶が小柱構造のおよそ95%を占めている。エナメル質はこれまで、セラミックスと同様の無機脆性材料と考えられてきたが、実際はナノスケールのアパタイト結晶とエナメルタンパクの高度な複合材料であり、ハイドロキシアパタイト単体とは大きく異なる微小物理学的特性を示す。ナノインデントを用いた微小物理学特性評価により、歯質と歯冠修復材料を直接比較し、修復材料に必要な材料特性を再考したい。

生体組織であるエナメル質の化学的特性に積極的に介入し、再石灰化能をコントロールすることは齲蝕予防や初期脱灰病変再生への主要な第一歩である。エナメル質最表層には、小柱構造をもたない脆弱なアパタイト結晶の層がある。エナメル質表面にアパタイトの成分を供給して表面にナノ結晶を析出させた報告があるが、物性的には脆弱な層である。一方、漂白処理で用いられる高濃度の過酸化水素水は、硬組織に対する浸透性がきわめて高く、エナメル深部にも短時間で容易に到達することが報告されている。これにハロゲンランプ照射をすると、処理後のエナメル質は未処理のものに比べて、再石灰化能が向上し、耐酸性が改善する。過酸化水素水とハロゲンランプ照射によるエナメル質の石灰化能促進は、ミネラル濃度が深部で低下している初期脱灰病変の再生にも応用できると考えられる。本法は、従来の材料で生体組織の表面や一部を置換する治療法とは異なる新しい発想の治療法の可能性を秘めている。

歯質欠損が大きい症例には間接法によるインレー・アンレー修復が利用される。患者の安全性や審美性に対する希望に応えるために、金属修復ではなくセラミック修復が期待されている。間接法にデジタル技術（CAD/CAM）を利用し、即日セラミック修復を提供するセレックシステムが登場し、世界中で臨床に普及しつつある。欧米ではすでに光学印象用のカメラが各種開発され臨床に使用されている。これらを利用することにより、印象材や石膏などの医療廃棄物の削減、感染防止、治療時間の削減、コストの削減、修復物の品質管理等が可能になる。歯科用CAD/CAMは、わが国においても補綴治療やインプラント治療へ幅広く実用化されている。講演では歯科用CAD/CAMの歴史と現状を紹介し、修復治療への展望を述べたい。

プラークを再考する

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野

前田博史

歯周病の原因（病因）に関する研究は、ヒポクラテスの歯石研究に始まる。その後、プラーク（細菌）が歯周病の病因であるとの考えが定着したのは1970年代に入ってからである。このころから、歯周病の原因菌が何であるかという議論が活発となり、「特定（異）細菌病原性説」と「非特異的細菌病原性説」が提唱されるようになった。そして、われわれがよく知る *Porphyromonas gingivalis* や *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* が口腔内から分離・同定されている。現在では、“red complex”を筆頭とした、十数種類のグラム陰性嫌気性桿菌とスピロヘータが「歯周病原細菌」として歯周病の発症と進行に深く関与しているとの解釈が一般的となっている。

それでは、現在の病原因子に関する研究はどのような展開をみせているのだろうか？ “periodontal pathogen”をキーワードにPubMedを検索すると2011年に約80の論文がリストアップされてくる。内容をみると、全身疾患と歯周病原細菌との関連性を調べた研究と、歯周病原細菌（菌体成分）に対する宿主細胞の応答性を調べた研究が大半を占めている。これに続いて、細菌（病原因子）自体の性状解析、あるいは細菌間のインターアクション（バイオフィルム）の解析、抗菌（除菌）療法、そして、細菌検査に関する研究報告がある。研究内容は多岐にわたり細分化していく傾向にある。そして、研究対象となる細菌種は *P. gingivalis* と数種類の歯周病原細菌に限られている。

われわれの研究室においても、ご多分にもれず、近年では *P. gingivalis*、あるいは *A. actinomycetemcomitans* を標的として、遺伝子クローニング、あるいはその後のゲノム解析の恩恵に預かり、熱ショック蛋白質や膿瘍形成関連分子、あるいは small non-coding RNA 等の解析を行ってきた。細分化して進められている個々の研究内容は非常にレベルの高いものとなっている。しかしその一方で、解析した現象が、実際の歯周炎局所において、どの程度病態を修飾しているのだろうか？と疑問に思うこともある。分子生物学的手法の発展によって、ポケット内細菌叢の複雑性が示された現段階においては、もう一度、プラークの解析に立ち戻る必要があるのではないだろうか？ すなわち、①プラーク中に存在する歯周病原細菌以外の微生物の解析を行うこと、そして、②プラークを微生物の共生体、ひとつの集合体として捉え、パンゲノムとしての構造や機能を解析する必要があるのではないかと考える。

本演題では、プラーク中に存在する真正細菌（歯周病原細菌）以外の微生物として、メタン産生性古細菌を取り上げて紹介する。そして、次世代シーケンサーを活用したメタゲノム解析が活発に行われている腸内細菌の研究を参考として、プラーク細菌叢のメタゲノム解析の戦略について展望する。

歯周炎と動脈硬化性疾患の関連メカニズムについて —*P. gingivalis* の脂質代謝変動への作用—

新潟大学研究推進機構超域学術院

多部田康一

新潟大学研究推進機構超域学術院（歯周-全身プロジェクト）においては歯周炎と動脈硬化性疾患の関連について、コホート研究（*J Atheroscler Thromb.* 2011）、臨床介入研究（*J Periodontal Res.* 2010）に並行して動脈硬化症マウスモデルを用いた歯周炎と動脈硬化性疾患の関連メカニズムについて解析を行ってきた。これは両疾患の関連における生物学的エビデンスの獲得を目的とすることに加えて、疾患関連メカニズムを理解することが全身的影響を観点とした歯周炎関連マーカーまたは治療介入の際の効果判定マーカーを抽出する可能性につながると考えるためである。

歯周炎と動脈硬化性疾患として特に心血管系イベント（狭心症、心筋梗塞発作）との関連が指摘されて久しく、これまでの知見として以下が挙げられる。①多数の横断的疫学調査において歯周炎罹患と心血管系イベントの発症に関連がある。②コホート研究から歯周炎罹患が心血管系イベント発症のリスクとなる。③歯周治療の介入により全身的炎症マーカーは改善するが、心血管系イベントを減少させるような効果は認められていない。④実験動物において歯周病原細菌感染により動脈硬化形成の促進が認められる。②、③については実際には欧米の報告が中心であり特に人種の違いや、生活習慣の違う日本人において結果がそのままあてはまるかについて不明であるため、日本において大規模コホート研究と歯周治療による介入研究がいまだ必要とされる。一方、これまでの欧米での検討も必ずしもすべてが両疾患の関連性を検出していないため、今後において従来と同様な研究デザインで両疾患の関連が検出されるかについては不安が大きい。この理由の一つとして大規模集団に対する歯周炎のスクリーニングとしてプロービングが全身への影響を考慮した歯周炎の重症度または病態を反映しているかが不明であることも要因の一つと考えられる。

では何をもって評価することにより歯周炎による全身への影響、または特定の疾患へ与える生体応答を評価すべきであろうか？現時点において歯周炎に関連するバイオマーカーとして歯肉溝滲出液や血清中の炎症性サイトカイン、急性期タンパク CRP、歯周病原細菌に対する血清抗体価等が候補として挙げられるが、さらに疾患の生物学的関連メカニズムの解析によりそれに基づいた疾患関連性についての考察、検討によって基礎・臨床面における大きな発展が期待できるとわれわれは考える。このような観点からわれわれは動脈硬化感受性のある C57BL/6 マウス、Apolipoprotein E 欠損マウスを用い、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) の経口感染が個体に与える影響について検討してきた。*P. gingivalis* 経口感染により炎症応答として歯槽骨の破壊と血清中の炎症性サイトカイン産生を誘導するとともに大動脈における接着分子やケモカインの発現を誘導する。また一方で長期の経口感染継続によって血清脂質値が変動することが明らかとなり、炎症と脂質代謝の2つの視点から両疾患の関連について理解する必要があると考えられた。*P. gingivalis* 感染後の大動脈と肝臓における遺伝子発現の DNA マイクロアレイ解析においては動脈硬化症関連遺伝子の変動が認められた。特に Lxr (Liver X receptor) 遺伝子に関連する Abca1 (ATP binding cassette transporter) を介したコレステロール排出機構が *P. gingivalis* に対する生体応答において抑制されることが明らかとなった (*PLoS One.* 2011)。

本シンポジウムではこれらの内容について、「歯周病の科学」としての微生物に対する宿主応答の観点から生物学的な歯周炎と動脈硬化性疾患の関連を紹介して議論をさせていただきたい。

網羅的遺伝子解析が担う歯周病研究の未来 —歯根膜特異的分子 PLAP-1 遺伝子多型が歯根膜機能へ及ぼす影響—

大阪大学歯学部附属病院口腔治療・歯周科

山田 聡

1984年初版刊行の「歯周病の科学」(原著名 Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases)では、寄生体：歯周病原性細菌と宿主：免疫担当細胞との相互作用の観点から、歯周炎の発症や組織破壊のメカニズムが論じられている。その後の細菌学、免疫学のめざましい発展により、今日では、歯周病原性細菌の病原性の分子・遺伝子レベルでの解明、Toll-like 受容体 (TLR) の発見に至る自然免疫の関与など、さまざまな知見が明らかとなり、歯周病における immunopathogenesis の詳細が解明されつつある。

一方、咀嚼機能の維持には、健康な歯周組織の恒常性維持が必要不可欠である。近年の研究から歯周組織のなかでも歯根膜は石灰化関連分子やサイトカインを自ら産生することにより歯周組織の再生を担うこと、また、歯周組織の再生を可能とする未分化間葉系幹細胞のリザーバーとなっていることなどが明らかとなり、歯根膜は歯周組織の恒常性維持および歯周病によって破壊された歯周組織の修復・再生に中心的な役割を果たしていると考えられる。そこでわれわれは、この歯根膜の特性に着目し、同組織の cDNA ライブラリを用いたトランスクリプトーム解析を行った。その結果、新規細胞外基質タンパク PLAP-1 の単離・同定に成功した。さらに機能解析を行うことにより、PLAP-1 が歯周組織のなかでも歯根膜に特異的に発現していること、歯根膜細胞の分化・硬組織形成を抑制的に制御すること、その抑制機構のひとつとして BMP-2 のアンタゴニストとして機能していることを明らかとした。以上のことから、歯根膜特異的分子 PLAP-1 は、硬組織形成に対して抑制的に作用し、硬組織形成能を有しながらも石灰化せず、線維性の結合組織として機能する歯根膜の組織恒常性維持に重要な因子であることが示された。

最近、興味深いことに、PLAP-1 の N 末端に存在するアスパラギン酸の連続配列が個人によって異なるという PLAP-1 遺伝子多型と変形性関節症 (OA) との関連性が報告された。ここでは、膝関節軟骨における PLAP-1 の遺伝子多型による機能の差違が、OA 発症のメカニズムとして示されている。そこで、本シンポジウムでは、PLAP-1 の遺伝子多型が歯根膜機能へ及ぼす影響に関して、最新の研究結果を報告するとともに、その歯周病感受性への関与について考えてみたい。さらに、今回紹介する網羅的遺伝子解析が歯周病研究の未来にどのように貢献し得るのか、議論したいと考えている。

コンポジットレジンを用いた審美修復の実際

日本大学歯学部保存学教室修復学講座

宮崎真至

歯冠修復を行うにあたっての基本コンセプトには、齲蝕に関する知見の蓄積あるいは接着技術の飛躍的向上によって Minimal Intervention という明瞭な方向性が示されている。これに伴って、歯質接着性を有するコンポジットレジンの臨床使用頻度が増加するとともに、これに関するエビデンスの蓄積が精力的に行われてきた。今日では、優れた歯質接着材を用いることによって、光重合型コンポジットレジンを用いた機能と審美とを両立させた歯冠修復処置を可能にしている（図1）。また、その適応症は前歯の小窩洞のみならず、歯冠破折などの比較的大型窩洞や臼歯部咬合面あるいは隣接面を含む窩洞などへも適応範囲が拡大している。

歯質接着性の向上は、修復材の辺縁封鎖性を確実なものとするとともに健康歯質の削除を最小限でとどめることを可能とし、歯の寿命を延長することに貢献することとなった。歯質と同様の色調を有する接着性修復材の開発は、カリオロジーに基づいて行われる修復治療を支えるものとなり、その重要性は今後ともゆるぎないものであろう。最新のシステムともいえるシングルステップアドヒーズは、接着ステップ数を減少させることによって、操作に伴って生じるエラーを減少させることが一つの狙いである。これらの接着修復システムの進歩によって、これまで歯科用合金を用いた間接修復を行ってきた症例においても、直接修復を行うことが可能となったのである。

基礎研究によって開発された修復システムは、多くの歯科医師が臨床使用することによって問題点が顕在化し、これが製品の改良にフィードバックされている。接着技術に支えられることによって改良が進められてきたコンポジットレジン修復であるが、適切な周辺器具を適切に選択することによって、さらに審美的な歯冠修復処置が可能となる。本研修会では、審美性の高いコンポジットレジン修復を行うにあたっての、臨床的な注意事項に焦点を当てるとともに、模型を用いたデモンストレーションを行うことによって、充填テクニックの臨床的留意点と如何に短時間で確実な修復処置を可能とするかについて、明日からの臨床に生かせるポイントについて解説する予定である。

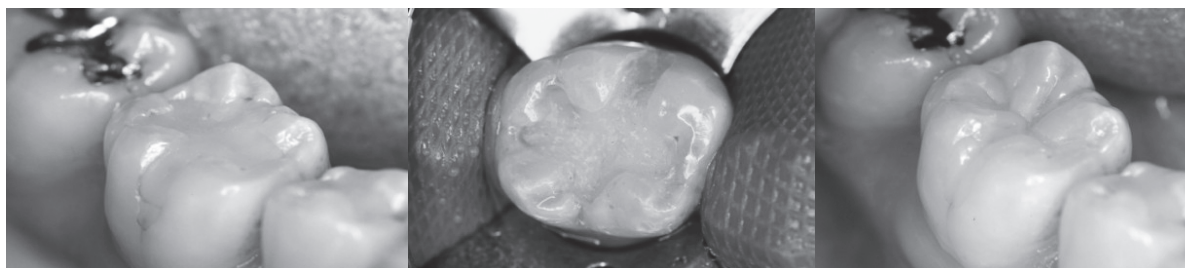


図1 適切な接着操作を行うとともに、コンポジットレジンの性質を考慮して修復操作を行う。これによって、機能と審美性を両立させるとともに、耐久性に優れた修復が可能となる。

歯科は集団とどのように向き合うか —大震災を通して、一本の歯ブラシから見えてくるもの—

東京歯科大学有床義歯補綴学講座, 海上自衛隊 自衛隊呉病院歯科診療部

佐々木良紀

毎日のニュースを見るたびに、いまさらながら今回の震災の大きさを実感されている方も多いのではないのでしょうか。私は、海上自衛隊で医療に携わっていることもありいっそうその感を強くしています。そして、被災された方々の一日も早い復興を心から願わずにはいられません。また私たちが震災発生直後から派遣した歯科医療メンバーが微力ながら、被災地の皆様のお役に立てましたことを嬉しく思っております。

私は長年にわたり、自衛隊という集団を対象として Public Health の視野に基づく歯科医療に携わってきました。いい換えれば、私の置かれた状況が個々の患者さんと向き合うだけではなく常に集団を意識した歯科医療を必要としてきたといってもいいでしょう。集団のニーズを的確に捉えた医療を提供すること、これはなかなか難しいことですが自衛隊のような集団においてばかりではなく皆様の行われている日々の歯科医療にも決して無縁のものではありません。

このような視点で、このたび被災された方々の行動や発言を見聞きすると歯科に対する興味深い発見がありました。その一つは、震災発生の翌日、まだ生活の基盤となるインフラなど全く整わないなか、“今必要なものは”との質問に“歯ブラシがほしい”という答えが挙げられたことです。その後も必要とされる支援物資の中に必ず歯ブラシがあったとも聞いています。私が、過去の災害から得た情報の中で被災直後に歯科に関する要望が挙げられたというものは見あたりませんでした。ハリケーンによって大被害を被ったニューオーリンズで救援に当たった米国歯科医師会は被災当初、歯科医療に対するニーズは皆無だったと報告しています。被災直後は救急救命医療が最重要であることは間違いありません。しかし、歯科医療や歯科に関連するニーズはそれが一段落した後出始めるという今までの常識は覆されたといえます。その理由については今後多くの分析が必要ですが、一つにはこれら被災された方々の集団、そして日本の社会に歯磨き行動による口腔衛生の観念、歯科医療に対する意識が潜在的に定着しているといえるのかもしれない。事実、私たちの歯科医療メンバーからは当初から予想を上回る歯科治療希望件数の報告があげられこの推測を裏付けるものとなりました。このように、普段何気なく聞き流してしまいそうな“歯ブラシが必要です”という言葉も集団というバックグラウンドの上に立てば、その集団に大きな意味をもってきます。今回、この集団のサインが適切に解読されたか否かは定かではありませんが、集団のもつ特性が理解されていれば従来と違った歯科医療支援が行われるものと期待しています。

近年私は、日本スポーツ歯科医学会誌に総説を掲載する機会をいただきました。

集団のもつ特性を理解した歯科医療は、さまざまな環境や職域で働く集団に最適な歯科医療を提供することで効果的にその職域の歯科疾患状態を改善し、結果としてその職域全体のパフォーマンス向上に役立ちます。またこの視点はおおのこの競技に適した歯科医療を提供して競技パフォーマンスの向上を目指すスポーツ歯科医学とも共通点もっています。そこで、拙著では海上自衛隊に存在するさまざまな職域の集団を Public Health 的にとらえた私の調査結果を基に集団の特性を踏まえた歯科医療の必要性を述べさせていただきました。

今回の機会には、いかに集団に向き合い集団をとらえるかということに焦点を当て、私が行ってきた調査と経験を基に歯ブラシ行動を通して見ることのできる集団のいろいろな特性などについて、さらにいくつかのエピソードをあげながらお話ししたいと思います。

ティオンオフィスを安全にお使い頂くために

株式会社ジーシー デンタルインフォメーションセンター

山口 晋

ジーシーが2004年に行った「国民のお口の健康に関する意識調査」のなかで、「お口のことで満足していないことは？」という質問では、「歯並び」「口臭」を抑え「歯の色」と回答した人が最も多いという結果でした。このことから、自分の歯の色を気にしている人は非常に多いと考えられます。このような要望に応えるために、歯科医院では、ジャケットクラウン、ラミネートベニア、ダイレクトボンディング、ホワイトニング、歯面研磨等の治療が行われています。これらの治療法のなかでホワイトニングは、健全歯を切削する必要がないので、MIの観点からいえばリスクが低い治療法であるといえます。しかしながら、ホワイトニングに用いる薬材の主成分は過酸化水素や過酸化尿素などの過酸化物であり刺激性が強いため、薬剤自体のリスクは高いという側面もあります。

ティオンオフィスでは、可視光応答型酸化チタン (TiO_2-xN_x) を応用することによりホワイトニング材の過酸化水素濃度を約23%にまで下げています。しかしながら、この濃度では口腔粘膜や皮膚に対する刺激性がないとはいえません。このため、ティオンオフィスでは誤って意図しない部分に付着しないよう、歯面に留まって垂れにくい性質をもつジェル状のホワイトニング材とすることにより、リスクの低減を図っています。

さらに安全にホワイトニング治療を行うためには、口腔粘膜や周囲の皮膚を保護する必要があると考え、さまざまな関連商品の開発・製品化も行っています。刺激性が強いホワイトニング材が歯肉に付着しないよう、歯面に隣接する歯肉をカバーする歯肉保護レジンの開発を行い、ティオンオフィスの一部として製品パッケージの中に封入しております。また、顔にホワイトニングジェルが誤って付着するのを防ぐフェイシャルシート、ホワイトニング中の口唇の乾燥を防ぐためのリップクリームの開発・製品化を行っております。このように、ティオンオフィスではリスクの高い薬剤（過酸化水素）をいかに安全に使用していただけるかが鍵であると考え、付属品、関連製品およびツールを充実させております。

今回は、ティオンオフィスの特長および使用方法を説明させていただくとともに、ティオンオフィスを安全にご使用いただくためには欠かせない前準備である口腔粘膜の保護について、デモンストレーションを交えながら詳しく解説させていただきたいと考えています。

根拠に基づくう蝕予防効果 —フッ化物局所応用について—

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 社会医療科学講座 口腔保健学

飯島洋一

サンスター株式会社 研究開発部

高塚 勉

コクラン共同計画におけるシステマティックレビュー (Systematic Review ; 以下 SR) とは、個々の研究成果を、よい結果も悪い結果も含めて加味・統合することで、あたかも 1 つの多数例の大規模試験を実施したかのように結論を導くことができる。しかも、ランダム効果モデルは、将来の研究成果についても予測可能性を有する結論を導くことになる。臨床試験についての SR は、臨床判断のゴールドスタンダードである。フッ化物を用いたう蝕予防に関し、その効果が高く、かつ根拠レベルが上位の場合、同様なフッ化物使用を普及し、また将来の臨床応用を推進することになる。SR では、個々の効果をフッ化物非使用である対照との比較、フッ化物応用相互間の比較、フッ化物使用を組み合わせた場合の比較について評価している。本セミナーでは SR の主要な特徴について紹介する。

SR によれば、個々のフッ化物の効果については、高い順にバーニッシュ 46%、フッ化物ゲル 28%、フッ化物洗口 26%、フッ化物配合歯磨剤 24%、と報告されている。さらに、各種フッ化物応用の組み合わせによるう蝕予防効果、特に、受容性にすぐれたフッ化物配合歯磨剤の単独応用例とフッ化物配合歯磨剤+他のフッ化物製剤との組み合わせを比較した報告も認められる¹⁾。この SR を実施した著者自身が、最近の報告のなかでその結果についても次のように要約している²⁾。

『組み合わせによりフッ化物局所応用の永久歯についての効果を増強する傾向が示唆されている。しかしながら 9 例の結果から、フッ化物配合歯磨剤+いずれかの他の局所応用製剤との組み合わせはフッ化物配合歯磨剤の単独使用に比較して、D (M) FS 指標で 10%の付加効果 (95%信頼区間 2-17%) が確認されている。現時点での 10%のう蝕減少の付加効果は、他の所見を考慮して決められるべきである。すなわち、局所応用の効果の増強は当初の D (M) FS が高い小児に期待されるので、年間 2 歯面の増加が予測される対象集団においては検討に値すること。さらには、フッ化物配合歯磨剤とそれ以外のフッ化物局所応用との併用による有害事象の発現を意味する。主作用であるう蝕予防効果と有害事象の両面、これらを勘案して決定すべきである』

フッ化物配合歯磨剤の予防効果を最大限に発揮し、有害事象を最小限とする根拠に基づく使用方法について共考し、その効果を支えるフッ化物の作用メカニズムについて概観する。また、成人から高齢者に多発する根面う蝕の予防についても考察したい。

文献

- 1) Marinho VCC, Higgins JPT, Sheiham A, Logan S : Combinations of topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels, varnishes) versus single topical fluoride for preventing dental caries in children and adolescents ; Cochrane Database of Systematic Reviews 2004, Issue 1. Art. No. : CD002781. DOI : 10.1002/14651858. CD002781. pub2.
- 2) Marinho VC : Evidence-based effectiveness of topical fluorides ; Adv Dent Res 20, 3-7, 2008.

MiCD と私の臨床 —歯の延命を目指して—

JA 秋田厚生連 平鹿総合病院歯科

寺田林太郎

最近、松風歯科クラブから発刊されている学術誌「デンタルエコー」や情報誌「ha・ha・ha」では、MiCDという文字が目につきます。皆様、MiCDをご存じですか？ MiCDを実践していますか？

MiCD (Minimally Invasive Cosmetic Dentistry) とは、天然歯への侵襲を最小限に抑えつつ審美的な結果を導き出す患者のニーズを汲み取った歯科治療をいいます。いい換えれば、単純な修復治療ではなく、より良い患者の笑顔を追求すべく、患者の心理面、健康面、そして審美的要望を十分考慮に入れ、さらに予防やメンテナンスを含めた総合的な歯科治療になります。したがって、治療に使用される材料も、生体親和性はもちろんのこと、口腔内環境を健全に保てるような機能性材料である必要があります。

松風が開発した S-PRG filler は 3 層構造からなり、それぞれ以下に示した特長を有しています。

1. 多機能性ガラスコア：高い X 線造影性、優れた光透過性、エナメル質と同等の硬さ
2. グラスアイオノマー相：フッ素のリリースおよびリチャージ、Sr, Na, B, Al, Si イオンのリリース
3. 表面改質層：高い機械的特性を有し、長期的な材料安定性を維持

この S-PRG filler が含まれる材料は GIOMER と呼ばれ、MiCD を実践するのにまさにうってつけの材料であると思われまます。すなわち、S-PRG filler は、口腔内のフッ素濃度に応じてフッ素のリリースおよびリチャージを長期間繰り返すので、周囲の歯質強化や二次齲蝕の予防あるいは抑制が期待できます。また、各種イオンを徐放し、唾液と反応することにより細菌付着を抑制する機能も確認されています。

これまでの齲蝕治療は、修復治療がなされた歯が二次齲蝕や修復物の脱落、抜髄、破折などを経て、抜歯に向かって進行していきました (Repeated restoration cycle)。これからは、歯の延命を助ける治療を目指し、歯科材料や器具・器械の進歩と歩調を合わせ、これまでの歯科医師本位の治療ではなく患者本位の治療を実現すべく、患者が歯科に対して関心や知識をもつように患者を啓蒙しながら、患者に喜ばれる付加価値の高い歯科治療を目指す必要があると思えます。

あなたも MiCD の世界の扉を開けてみませんか。

レジンの象牙質接着強さに及ぼす残存象牙質厚さの影響について

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科摂食機能保存学講座 歯制御学分野¹,
Naresuan 大学修復学講座², 歯と骨の GCOE³
○吉川孝子¹, WATTANAWONGPITAK Nipaporn², 趙 永哲¹, 田上順次^{1,3}

Effect of RDT on Resin Composite Bond Strength to the Dentin

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹, Dept. of Restorative Dentistry, Naresuan University², GCOE Program; IRCMSTBD³
○YOSHIKAWA Takako¹, WATTANAWONGPITAK Nipaporn², CHO Eitetsu¹, TAGAMI Junji^{1,3}

【研究目的】

レジンの接着強さは、平坦面の象牙質被着体に対して評価されることが多いが、残存象牙質厚さが少ないとレジンの象牙質への接着強さが低下することが報告されている。そこで本研究では、各種ボンディングシステムを使用したレジンの接着強さに及ぼす残存象牙質厚さの影響について検討した。

【材料および方法】

ヒト抜去大白歯の咬合面エナメル質を削除し、600番のシリコンカーバイドペーパーで仕上げた象牙質平坦面を製作した。3種の接着システム；Clearfil Mega Bond (MB: Kuraray Medical)、Single Bond (SB: 3M ESPE)、Clearfil Tri-S Bond (TB: Kuraray Medical)を用い業者指示に従い処理した後、Z-100 (3M ESPE)のレジンを3x5x2mm(C-factor=0.3)に築盛し、実験用ハロゲンランプ電圧可変光照射器(GC)を用い、出力600 mW/cm²で40秒間光照射を行い重合硬化させた。37℃暗所水中に24時間保管後、試料中央部から長軸方向に、約1mm²の試片を切り出した。これら試片の残存象牙質厚さ(RDT)を測定した後、試片の両端を試験装置にシアノアクリレートで接着し、これをEZ test (島津製作所)に装着して、クロスヘッドスピード1mm/minで微小引張り接着強さ(μ-TBS)を測定した。接着強さはRDTにより、1~4 flatの4群に分けた。1 flat: RDT<2 mm, 2 flat: 2 ≤<3 mm, 3 flat: 3 ≤<4 mm, 4 flat: ≥ 4 mm。測定値(n=8)は、Bonferroni testを用いて統計処理を行った。微小引張り接着強さ測定後の試料破断面は走査電子顕微鏡にて観察し、接着界面の破壊様式を分類し評価した。

【成績ならびに考察】

RDTが4mm以上の群においては、Clearfil Mega Bondの接着強さが最も高く、以下Single Bond、Clearfil Tri-S Bondの順に有意に低くなった。ツーステップセルフエッチングシステムのClearfil Mega BondはRDTが増すと、有意に接着強さが高くなった。一方、トータルエッチングシステムのSingle Bondは、どちらのRDTでも同程度の接着強さを示した。ワンステップセルフエッチングシステムのClearfil Tri-S Bondは、RDT2mm未満の群は、2mm以上のどの群より有意に低い接着強さを示した。残存象牙質厚さが少ない歯髓腔に近接している部分は、象牙細管の直径が大きく、象牙細管密度が高いことにより、管間象牙質の面積が少ないことにより接着強さが低下したものと考えられる。

Adhesive system	1 flat	2 flat	3 flat	4 flat
MB	60.7 (6.0) ^{a,A}	75.0 (5.6) ^{a,A}	76.9 (4.4) ^{a,A}	84.6 (6.8) ^{a,A}
SB	65.3 (4.2) ^b	66.2 (3.6) ^a	67.0 (4.9) ^a	65.9 (6.2) ^a
TS	39.9 (3.2) ^{a,b,A,B,C}	53.0 (1.4) ^{a,A}	49.3 (4.1) ^{a,B}	51.2 (3.7) ^{a,C}

Intergroup date designated with same superscript small letters each adhesive are significantly different (p<0.05).

Intergroup date designated with same superscript capital letters each RDT are significantly different (p<0.05).

【結 論】

全ての群でClearfil Mega Bondが最も高い接着強さを示した。Clearfil Mega Bondの接着強さはRDTと高い相関があり、Single Bondの接着強さはRDTの影響を受けず、Clearfil Tri-S Bondの接着強さはRDTが2mm未満の場合のみ低下することが明らかとなった。レジンの象牙質接着強さへ及ぼすRDTの影響は、ボンディングシステムにより異なる傾向を示すことが示唆された。

本研究の一部は、文部省科学研究費補助金#22592115ならびに歯と骨のグローバルCOEプログラムにより行われた。

STD-NMR 法を用いたコラーゲンモデルと接着性モノマー相互作用の分析

東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野¹, 東京医科歯科大学大学院歯と骨の GCOE²

○平石典子¹, 大槻昌幸¹, 田上順次^{1,2}

STD-NMR studies on the interaction of adhesive monomers with collagen model peptide

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹, GCOE Program at Tokyo Medical and Dental University²

○HIRAISHI Noriko¹, OTSUKI Masayuki¹, TAGAMI Junji^{1,2}

【諸言 目的】

現在の接着性モノマーの開発で、歯質への接着は大いに向上した。しかし、接着界面での分子レベルでの解析はまだ十分に行われていないのが現状である。分子レベルでの解析法の一つである NMR を応用した歯科接着性モノマーのスクリーニングは、モノマーの加水分解、またはミネラルとの相互作用が報告されている。しかし象牙質有機質との相互作用は未発表であり、コラーゲンと接着性モノマーの結合性、複合体としての動向は興味深い分析である。今回我々は飽和移動差 (Saturation Transfer Difference, STD)NMR 法を用い、コラーゲンモデルと接着性モノマーの相互作用を評価し、コラーゲンに対する接着性モノマーの相互作用部位 (エピトープ) を解析した。

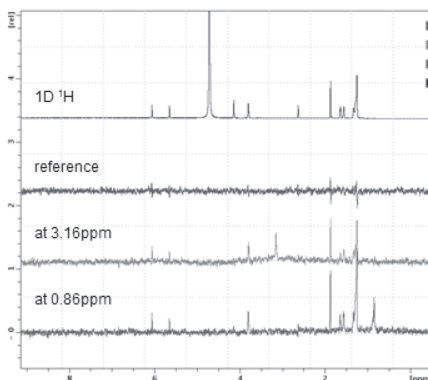
【方法】

化合物 (4-META, MDP) はすべて *d*-DMSO に溶解後、最終 1 mM に調整(最終 *d*-DMSO は 5%)した。コラーゲン分子の mono helical chain の ペプチドモデルを Gly Pro Hyp (M.W. 3000), また N-, C-両末端のテロペプチドを酵素処理し水溶性を高めた Triple helical コラーゲンモデルを使用した。ペプチドモデルは最終 50 μ M に調製、Triple helical 水溶性コラーゲンは飽和溶液を 20 倍に希釈して最終サンプルとした。バッファー条件は 50 mM *d*-Acetic acid NaOD (pD 4.0), 150 mM NaCl, 5 mM CaCl₂, 0.02% NaN₃ in D₂O とした。NMR 測定は全て Bruker 800 MHz equipped with CryoProbe を用い、温度 298K にて行った。1D 1H 測定の条件は 16384 pts x 8 scans, inter delay (D1)= 3sec で、1H STD の測定条件は 16384 pts x 512 scans, d1 = 3 sec でそれぞれ行った。

【結果 考察】

4-META と MDP についてはペプチドモデル、コラーゲンモデルともに STD を観測することができた。結合の強度は 4-META よりも MDP が強いことが示唆され、MDP については積算回数を増やした測定を行い、STD を再確認した。これらの結果より、MDP 配合の接着性レジンにて象牙質を接着した場合、接着界面でコラーゲンと結合し、より安定した複合体を構築し、強い接着強さを生み出すものと示唆できた。

水溶性コラーゲンモデル V.S. MDP 積算回数 3072 回



26

ガラスイオノマーセメントの表面処理条件がコンポジットレジンとの接着に及ぼす影響 -表面自由エネルギーからの検討-

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, 若松歯科医院³,
○大塚詠一朗¹, 小倉由佳理¹, 白玉康司¹, 太田舞子¹, 吉田武史¹, 高見澤俊樹^{1,2},
瀧川智義^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 若松英輝³

Influence of surface treatment of glass-ionomer cements on bond strength with resin composite -A surface free energy perspective-

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Wakamatsu Dental Clinic³
○OTSUKA Eiichiro¹, OGURA Yukari¹, SHIRATSUCHI Koji¹, OTA Maiko¹, YOSHIDA Takeshi¹,
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, TAKIGAWA Tomoyoshi^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, WAKAMATSU Hideki³

【研究目的】

コンポジットレジン修復に先立って、ガラスイオノマーセメント（以後、GIC）を裏層材として用いるサンドイッチテクニックが行われている。この臨床技法において、GICとコンポジットレジンとの良好な接着が必要でありGIC表面の処理法について検討がされてきた。しかし、その検討の多くは剪断あるいは引っ張り試験などの力学的強度試験を指標として評価してきたのが現状である。

そこで演者らは、GICとコンポジットレジンとの接着機構を解明する研究の一環として、GICの表面処理条件がコンポジットレジンとの接着性に及ぼす影響について、剪断接着強さ試験とともに表面自由エネルギーを指標として検討した。

【材料および方法】

供試したGICは、Fuji IX (GC), Fuji II LC EM (GC), Fuji LC Flow (GC)および試作GICであるEHM-10 (GC)の、合計4種類とした。また、光重合型コンポジットレジンとしては、Clearfil AP-X (Kuraray Medical)を用いた。

1. 表面自由エネルギーの測定

供試したGICを製造者指示に従って練和し、硬化後SiCペーパーの#600まで研削し、測定面とした。その表面処理としては、リン酸エッチング、セルフエッチングプライマー、シランカップリングおよびサンドブラストとした。これらの試片を、全自動接触角計 (DM500, 協和界面科学) に静置し、プロモナフタレン、エチレングリコールおよび蒸留水の接触角を測定し、得られた接触角から酸塩基理論を用いて、表面自由エネルギーを算出した。また、被着面に表面処理を施すことなく測定を行ったものをコントロールとした。

2. 接着試験

接着試験に際しては、表面自由エネルギーの測定と同様に調整し、表面処理を施した試片に対し、レジンをペーストを充填し、接着試験用試片を製作した。これらの試片は、37℃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 mm/minの条件で剪断接着強さを測定した。

3. SEM観察

GICとコンポジットレジンとの接合状態を検討するため、通法に従って試片を製作し、FE-SEM (ERA-8800FE, Elionix) を用いて、その接合界面を観察した。

【成績および考察】

表面処理後の表面自由エネルギーは、未処理面と比較していずれの製品においても高い値を示すとともに表面処理法の違いによって異なるものであった。このことは、異なる表面処理によってGIC表面の改質あるいは表面性状の変化が生じ、表面自由エネルギーが向上したことを示すものと考えられた。表面処理後のGICに対するコンポジットレジンとの接着強さは、未処理面と比較していずれの条件においても高くなる傾向を示した。これは、被着面の処理によって、その界面化学および機械的嵌合力の変化が生じたためと考えられた。

【結論】

ガラスイオノマーセメントに対するコンポジットレジンとの接着強さに関して、表面自由エネルギーをパラメーターとして検討することが可能であり、これによって最適な表面処理法を提示できる可能性が示された。

種々の被着体に接着性を有する多目的接着システムのレジン接着について
第1報 レジンと象牙質を同時接着処理した場合のレジンの接着強さ

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○杉尾憲一, 森田有香, 佐藤かおり, 富士谷盛興, 千田 彰

Resin-Bond of Multipurpose Adhesive System to Various Adherents
Part 1 Resin-Bond Strengths to Simultaneously Conditioned Resin and Dentin

Aichi Gakuin University, Department of Operative Dentistry

○SUGIO Kenichi, MORITA Yuka, SATOH Kaori, FUJITANI Morioki, SENDA Akira

【緒言】

MI の理念に基づいた歯科治療では、二次う蝕または辺縁の着色など欠陥が認められる修復に対しては、それらの臨床状況により補修修復が選択肢となる。また、この補修修復も含め、1 歯の修復に異なる材料で修復(複合修復)する場合もある。すなわち、コンポジットレジンを用いた MI 修復法では、歯質のみならずレジン、セラミクス、金属、セメントなど種々の被着体に対し、各々の接着処理が行われ、さらにこれらの被着体の種類によりレジンの接着性には差が生じる可能性がある。このような被着体によってレジンの接着性能に差がある場合は、修復部位の形態的な影響(C-factor)と同様にレジン修復の臨床経過に重大な問題を生じる可能性をもつ。従って、被着体間でレジンの接着強さに差異のないバランスのとれた接着材を用いれば、これらのリスクの減少と接着耐久性向上が期待できると考えられる。最近、エナメル質、象牙質、金属、ジルコニアあるいはアルミナ等に対して接着性をもつ多目的接着システムが開発された。そこで、種々の被着体を本接着システムにより同時処理した場合のレジンの接着性について検討することにし、本研究では、まず象牙質とコンポジットレジン被着体とした場合のレジンの接着性について検討した。

【材料および方法】

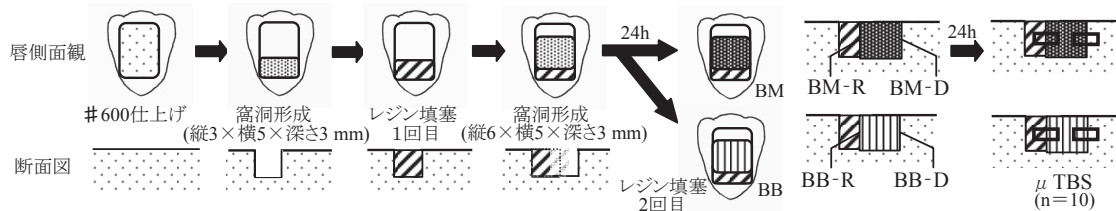


図 試料調製方法ならびに実験群

表 2回目のレジン填塞時の接着処理方法

BM処理群	ビューティボンドマルチ塗布10秒→ビューティボンドマルチ PRプラス 5秒(アジテーション)→光照射10秒→ビューティフィル II 填塞
BB処理群	リン酸処理10秒→松風ボーセレンプライマー塗布10秒→ビューティボンド塗布10秒→光照射10秒→ビューティフィル II 填塞

本実験で使用した材料を表に示す。また、試料調製方法と実験群を図に示す。ウシ抜去切歯歯冠部唇側象牙質に、箱型窩洞を形成後、レジンで填塞し、37℃蒸留水中に 24 時間保管した。その後、填塞したレジンが露出するように、箱型窩洞を形成し(図)、表に示す接着処理を行った後、レジンを追加填塞し、37℃蒸留水中に 24 時間保管した。BM 処理群のうち、窩壁が象牙質のものを BM-D 群、レジンのものを BM-R 群とし、BB 処理群も同様にそれぞれ BB-D 群、BB-R 群とし、各群の接着強さを微小引張り試験により検討した。得られた測定値は、Bonferroni/Dunn の多重比較検定を用いて有意水準 5%にて統計処理した。また接着面試験後の破断面の破壊形態を実体顕微鏡で観察した。

【結果および考察】

得られた接着強さは、28.1±6.6 MPa (BM-R 群)、19.4±5.5 MPa (BM-D 群)、24.3±5.9 MPa (BB-R 群)、20.6±5.9 MPa (BB-D 群)であった。各群間における有意な差は認められなかった。また微小引張り試験後の破壊形態は、BM-R 群、BB-R 群においてはレジン内凝集破壊が認められ、BM-D 群、BB-D 群では界面破壊が多かった。

【結論】

本研究で用いられた多目的接着システムは、レジンと象牙質を同時処理したときの被着体間での接着強さに差異がなかった。従来のボンディング材に比べて、ステップの簡略化が図られたにも関わらず、ほぼ同等の接着強さが得られた。

Er:YAG レーザー照射歯質に対するコンポジットレジン修復物の窩壁適合性に関する研究
大阪歯科大学 歯科保存学講座
○保尾謙三, 吉川一志, 山本一世

Study on Marginal Adaptation of composite restorations to Dental Hard Tissues Irradiated
by Er:YAG Laser

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University
○YASUO Kenzo, YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

【研究目的】 歯の硬組織の除去に優れた Er:YAG レーザー (以下レーザー) は臨床応用されているが, レーザー照射象牙質面は切削象牙質面と比較してコンポジットレジンの接着強さや辺縁封鎖性が低下することが報告されている. 以前我々は, レジン添加型ガラスイオノマーセメントによる被膜裏層が, レーザー照射象牙質に対するコンポジットレジン修復における辺縁封鎖性の改善に有効であり, その理由はコンポジットレジンの重合収縮応力を緩和することによるものであると報告した (第 10 回日本歯科用レーザー学会学術大会). 今回, コンポジットレジンの重合収縮応力を緩和する方法としてレーザー照射歯質に対してコンポジットレジンの積層充填を行い, 辺縁封鎖性を検討したので報告する.

【材料と方法】 レーザー照射装置として Erwin® Adver1 (MORITA) を用い, C600F チップを使用, 先端出力 100mJ, 10pps とした. 被膜裏層材に, 従来型ガラスイオノマーセメント GC LINING CEMENT (GC, 以下 LI) を使用した. ボンディング剤に 1 ボトル 1 ステップシステム G-BOND PLUS (GC, 以下 GP) を, 光硬化型コンポジットレジンに SOLARE (GC, 以下 SO) を使用した.

辺縁漏洩試験: 抜去ヒト大臼歯を被験歯とし, 近遠心側歯頸部に長径 3mm・幅径 2mm・深さ 1.5mm の楕円形窩洞を形成した. レーザー照射は窩洞内面全体に, LI による被膜裏層はレーザー照射後の窩洞象牙質面にのみ行った. 別途記載した各条件通りに処理と接着操作を行い, 接着後 37°C 水中に 24 時間保管した. その後, 5-55°C・2000 回のサーマルストレスを負荷し, 色素浸透試験を行った. エナメル質側, 象牙質側それぞれについて 0~3 のスコアリングを行い, Mann-Whitney 法により有意差を検討した (n=10).

【結果ならびに考察】 エナメル質側については有意差は認められなかった. 象牙質側については, レーザー非照射の切削群と比べて Er, LI 群は優位に高い漏洩度を示した. 切削群と比べて IF1, IL1, IF2, IL2 群は優位に高い漏洩度が認められ, レーザー照射の Er 群ならびに被膜裏層を行った LI 群と比べて, 同程度の漏洩が認められた. IF1, IL1, IF2, IL2 群はそれぞれの間に漏洩に有意差は認められなかった. 本実験で行ったコンポジットレジンの積層充填の方法では, レーザー照射象牙質に対するコンポジットレジン修復時の重合収縮応力を十分に緩和できなかった可能性が示唆される.

本研究は, 平成 22 年度大阪歯科大学学術研究奨励助成金 (研究課題番号 10-01) により行った.

各群の接着条件

①削群	窩洞形成→GP処理→SOをBulk充填	④IF1群	窩洞形成→レーザー照射→GP処理→SOを積層充填(エナメル質側から)
②Er群	窩洞形成→レーザー照射→GP処理→SOをBulk充填	⑤IL1群	窩洞形成→レーザー照射→LI塗布→GP処理→SOを積層充填(エナメル質側から)
③LI群	窩洞形成→レーザー照射→LI塗布→GP処理→SOをBulk充填	⑥IF2群	窩洞形成→レーザー照射→GP処理→SOを積層充填(象牙質側から)
		⑦IL2群	窩洞形成→レーザー照射→LI塗布→GP処理→SOを積層充填(象牙質側から)

新規開発オールインワン接着システムを用いた歯頸部修復の接着信頼性 に及ぼす口腔内環境想定の変換ストレスによる影響

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座¹、ハーバード大学歯学部修復学生体材料学講座²

○前野雅彦¹、秋山沙絵子¹、小川信太郎¹、山田 正¹、原 学¹、
柵木寿男¹、奈良陽一郎¹、勝海一郎¹、I. L. Dogon²

Effect of combination stress simulating intra-oral environment on bonding reliability of cervical resin composite restoration with a newly developed all-in-one adhesive system

Dept. of Endodontics and Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University¹

Dept. of Restorative Dentistry and Biomaterials Sciences, Harvard School of Dental Medicine²

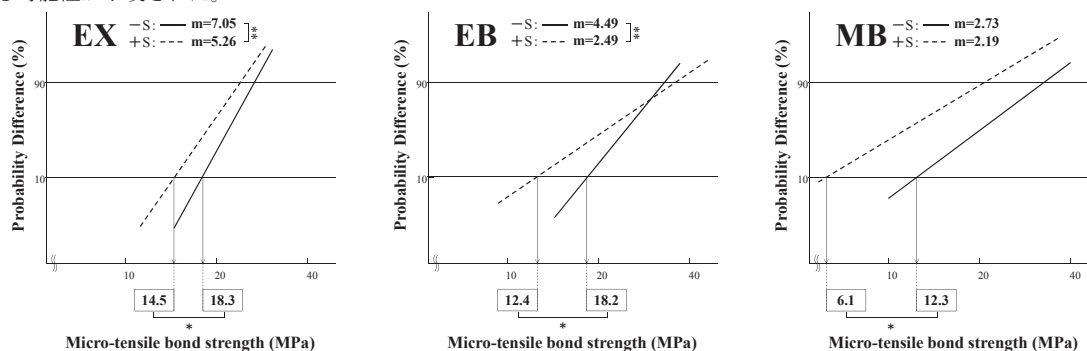
○MAENO Masahiko¹, AKIYAMA Saeko¹, OGAWA Shintaro¹, YAMADA Tadashi¹, HARA Manabu¹,
MASEKI Toshio¹, NARA Yoichiro¹, KATSUUMI Ichiroh¹, DOGON I. L.²

【研究目的】 今日、簡便な操作性と優れた歯質接着性を兼備した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。しかし、それらシステムを用いたコンポジットレジン修復に対する口腔内ストレスによる影響は多様性を示す。そこで本研究では、新規開発のオールインワン接着システムに注目し、当該システムを用いた歯頸部修復の接着信頼性を明らかにすることを目的に、口腔内環境想定の変換ストレスの有無を条件とした微小引張接着強さ(μ-TBS)に基づく評価検討を行った。

【材料および方法】 被験歯には、本学部研究倫理委員会の承認を得てヒト抜去健全下顎小白歯 60 本を用いた。被験材料には、新規開発オールインワン接着システムである EXL759 (EX, 3M ESPE) を選択し、また現在市販されている先行システム: Adper Easy Bond (EB, 3M ESPE) ならびに優れた歯質接着性を具備しているとの国内外評価を得ている 2 ステップ型セルフエッチングプライマーシステム: Clearfil Mega Bond (MB, クラレメディカル) を対照として用いた。なお、修復用コンポジットレジンには各製造者推奨の光重合型コンポジットレジンを用いた。評価に際しては、まず被験歯に対し、歯頂側壁がエナメル質と象牙質によって、歯肉側壁が象牙質のみによって構成される規格化 V 字状窩洞を形成した。ついで、製造者指定の歯面処理、修復用レジンの一塊充填、光照射を行い、37℃湿ボックス中に 24 時間保管後、Soflex® XT (3M ESPE) による一連の研磨を行った。修復試料は複合ストレス非負荷群(-Stress : -S) と負荷群(+Stress : +S) に区分し、4℃/60℃間 (各 15 秒間浸漬) 1,250 セットのサーマルサイクリングと 12 kgf×10 万回 (90 回/分) の繰り返し荷重による同時負荷を加えた。ついで、全試料は窩洞中央部を歯軸と平行に半切研磨後、近心・遠心 2 試料それぞれから厚さ 1.0 mm の板状切片を切り出し、歯肉側壁中央部の象牙質面に対する μ-TBS 値測定のために、被着面積 1.0mm²、最狭部幅・厚さ・平行部長さ各 1.0 mm の規格化ダンベル状試料に調整し、テストスピード 1.0 mm / min 下における μ-TBS 値の測定(n=20)を行った。なお、μ-TBS 値はメジアンランク法によるワイブル分析によって統計学的解析を行った。

【成績】 3 種システムの下 S / +S 条件下における μ-TBS 値 (MPa) は、EX: 23.8 (3.8) / 20.5 (4.1)、EB: 27.4 (6.4) / 26.8 (10.7)、MB: 24.8 (9.3) / 14.9 (8.2) であった。下図に、ワイブル分析から得た各システムの μ-TBS 値と累積破壊確率との関係における複合ストレス有無間の違いを示す。3 種システムの下 S / +S 条件下におけるワイブル係数 (m 値) は、EX: 7.05 / 5.26、EB: 4.49 / 2.49、MB: 2.73 / 2.19 であった。m 値に対する有意差検定の結果、EX は EB と同様に +S 値が -S 値より有意 (p<0.01) に小さく、+S 値と -S 値が同等を示した MB とは異なる信頼性の挙動を呈することが判明した。しかし、EX の m 値は -S 条件下において EB 値と同等、MB 値より有意 (p<0.01) に大きく、+S 条件下で EB 値・MB 値より有意 (p<0.01) に大きいことが判明した。また、臨床的意義が高いと考えられる累積破壊確率 10% における推定破壊応力値はシステムにかかわらず +S 値が -S 値より有意 (p<0.05) に小さい。しかし、EX の +S 推定破壊応力値は EB・MB 値より有意 (p<0.05) に大きな値を示し、接着破壊耐性に優れていると考えられる。

【考察ならびに結論】 新規開発のオールインワン接着システム: EXL759 を用いた歯頸部修復は、口腔内環境想定の変換ストレス負荷条件下であっても EB・MB より優れたシステム固有の接着強さ獲得のための信頼性を具備していた。したがって、当該システムを用いた修復は、苛酷な口腔内環境にあっても堅固な接着を維持し、良好な予後獲得に寄与する可能性が示唆された。



Difference in probability of failure against micro tensile bond strength between with and without combination stress

シングルステップアドヒーシブの表面処理が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、総合歯学研究所生体工学研究部門²
長崎大学大学院歯薬学総合研究科 小児顎口腔発達管理学分野³、医療法人社団刀圭会 協立病院⁴
○坪田圭司^{1,2}、瀧本正行¹、古宅真由美¹、井上直樹¹、
渡邊孝行¹、宮崎真至^{1,2}、細矢由美子³、長谷川 賢⁴

Effect of application methods of single-step adhesives on enamel bond strength

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center², School of Dentistry, Nihon University, Department of Pediatric Dentistry, Course of Medical and Dental Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences³, Toukeikai Kyouritsu Hospital⁴
○TSUBOTA Keishi^{1,2}, TAKIMOTO Masayuki¹, KOTAKU Mayumi¹, INOUE Naoki¹,
WATANABE Takayuki¹, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, HOSOYA Yumiko³, HASEGAWA Ken⁴

【研究目的】

近年、光重合型レジン接着システムとして、操作ステップを簡略化したシングルステップアドヒーシブの臨床使用頻度が増加している。これに伴って、多くの製品が市販されているが、アドヒーシブの塗布方法は製品によって異なっており、テクニックセンシティブ因子になることが懸念される。

そこで演者らは、シングルステップアドヒーシブの臨床術式を確立する研究の一環として、アドヒーシブの塗布方法がエナメル質接着性に及ぼす影響について、接着試験およびSEM観察を行うことによって検討した。

【材料および方法】

供試したシングルステップシステムは、G-Bond Plus (GC)、iBond Self Etch (Heraeus Kluzer)、Optibond All in One (SDS Kerr) および Xeno V (Dentsply) の4種類とした。

接着試験用試片の製作には、被着体としてヒト抜去智歯を用い、エナメル質をSiCペーパー#600まで順次研磨した。歯面処理法としては、アドヒーシブの塗布をアジテーションで行う群と行わない群の2条件を設定し、塗布回数と時間は製造者指示条件で行った。また、シングルステップシステムのエナメル質接着性を向上させることが知られているリン酸エッチングによる前処理による影響も併せて検討した。規定した歯面処理を行った後、Ultradent shear bond deviceを用いて、レジンペースト (TPH[®], Dentsply) を充填、照射を行い、これを接着試験用試片とした。次いで、これらの試片は37°Cの精製水中に24時間保管、あるいは24時間保管後に、5°C⇄55°Cを1サイクルとするサーマルサイクルを4000回負荷した。所定の保管期間が経過した後、万能試験機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を求めた。なお、各条件における試片の数は10個とした。また、各条件間の有意差検定は多群比較検定で行った。

アドヒーシブ処理後のエナメル歯面に関しては、電子顕微鏡 (Miniscope TM3000, 日立ハイテクノロジーズ) を用いて、通法に従って観察を行った。

【成績および考察】

供試した全てのシングルステップアドヒーシブの24時間後のエナメル質接着強さは、アジテーションを行った群で向上する傾向が認められた。一方、リン酸エッチングによる前処理を行った条件では、アジテーションを行わないもので接着強さが高くなる製品が認められた。エナメル質に対するサーマルサイクルの影響においては、負荷後に接着強さが向上、低下あるいは変わらないものなど製品によって異なる傾向を示した。また、リン酸エッチングの影響においては、いずれの製品においてリン酸エッチングを行った群で接着強さが高くなる傾向を示した。アジテーション塗布によって接着強さが向上、低下あるいは変わらないものなど製品により違いが認められた。このように、塗布法によって接着強さに違いが認められた理由としては、エッチングパターンの影響、機能性モノマーとアパタイトとの反応性、あるいは硬化させたアドヒーシブに残留している溶媒などの影響による重合性などが関係しているものと考えられた。

【結論】

供試したシングルステップ接着システムは、アジテーション群が、これを行わないものに比較して有意向上する傾向が認められた。しかし、リン酸エッチングによる前処理を行った群ではアジテーションで塗布した群で接着強さが低下する製品もあることから、臨床では塗布方法を十分に留意する必要があることが示唆された。

ワンボトル・セルフエッチボンディング材を応用した新規デュアルキュアレジンコアシステム(MTB-200/NDC-100)
の根管壁象牙質に対する接着性能

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

○ティッタウィーラット スッパソン, 中島正俊, 田上順次

Micro-tensile bond strength of a newly-developed resin core system (MTB-200/NDC-100) to root canal dentin

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

○THITTHAWEEERAT Suppason, NAKAJIMA Masatoshi, TAGAMI Junji

Introduction Dual-cure adhesive systems have been developed for the bonding placements of indirect restoration in vital tooth and core build-up/prefabricated fiber post in non-vital tooth, in which it is required to chemically polymerize resin material with absent of light penetration. However, there is still limitation for bonding to deeper region of root canal because dual-cure adhesive with chemical activation has slower polymerization behavior and lower mechanical properties than that of light activation. Recently, a newly-developed 1-bottle self-etch adhesive: MTB-200 has been introduced, which was reported to have superior bonding performance to coronal dentin. MTB-200 is a light-cure adhesive, but can chemically polymerize without light activation in conjunction with an accompanying dual-cure core material (NDC-100), due to polymerizing reaction between a chemical accelerator in MTB-200 and a chemical initiator in DNC-100. The purpose of this study was to evaluate the bonding efficacy of a newly developed resin core system (MTB-200/NDC-100) with different activation mode of the adhesive to root canal dentin.

Materials & Methods The 36 post spaces (depth of 8 mm; diameter of 1.5 mm) were prepared in extracted human lower premolars using FiberKor drill. Two dual-cure resin core systems (Clearfil DC Core system:CDB/CDC and New experimental system: MTB-200/NDC-100, Kuraray) were used in this study. The adhesives were applied to root canal dentin surface according to the manufacturer's instruction, followed by light activation for 10s (LA10s), 20s (LA20s) or none (CA). After filled into post space, resin core materials were light activated for 60s (Optilux 501) and then all specimens were stored in water for 24 hours. Each bonded specimen was serially sectioned into 8, 0.6 x 0.6-mm thick beams for the μ TBS test. EZ testing machine was used to measure the bond strength values at crosshead speed 1mm/min. The failure mode was also observed after testing using SEM. 3way-ANOVA and Dunnett's T3 test were used for statistical analysis of the bond strength values. The failure mode was statistically analyzed using Chi-square test.

Results The micro-tensile bond strengths (MPa) are presented in Table.

Resin core system	CDB / CDC			MTB-200 / NDC-100		
	Adhesive activation modes	CA	LA10s	LA20s	CA	LA10s
Coronal	n.d.	37.14±5.06 ^{B2}	39.60±6.22 ^{B2}	31.66±7.71 ^{A2}	37.85±3.6 ^{B2}	39.51±7.22 ^{B2}
Apical	n.d.	26.32±5.76 ^{ab1}	30.91±2.23 ^{c1}	24.89±6.96 ^{a1}	30.24±4.8 ^{bc1}	32.54±2.58 ^{c1}

All values are mean±SD. The same superscript letter and number mean no statistical differences in each row and column, respectively ($p>0.05$). n.d.= No data available.

Conclusions For both materials, there were significant differences in the μ TBS to root canal dentin among light and chemical activation mode. When using chemical activation, MTB-200/NDC-100 was higher bond strength to root canal dentin than CDB/CDC. When using light activation, μ TBS of MTB-200/NDC-100 to each region was not influence by light irradiation time. On the other hand, μ TBS of CDB/CDC to apical region was dependent upon the light irradiation time, although there was no significant difference in μ TBS to coronal region among light irradiation time.

ヘスペリジン配合セルフエッチングプライマーの象牙質接着性への影響
東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野¹, 東京医科歯科大学大学院歯と骨の GCOE²
○イスラム ソフィクル^{1,2}, 平石典子¹, 大槻昌幸¹, 田上順次^{1,2}

Effect of Incorporation of Hesperidin in a Self-etching Primer on Dentin Bond Strength

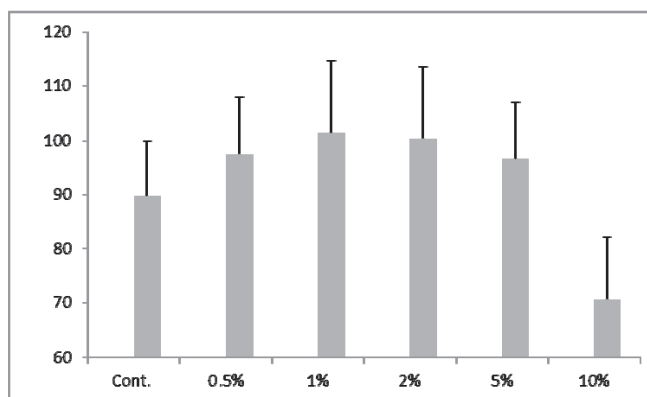
Cariology and Operative Dentistry, Department of Restorative Science, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan¹,

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

Medical and Dental University, Tokyo, Japan²

○ISLAM Sofiqul^{1,2}, HIRAISHI Noriko¹, OTSUKI Masayuki¹, TAGAMI Junji^{1,2}

Objectives: Deterioration of dentin bond durability should be related with degradation in resin-dentin interface. This degradation occurs because hydrophilic characteristic of the monomer can be hydrolyzed. Resulting exposed collagen matrix should be protected by MMPs inhibitors or cross-linker. In this study we attempted hesperidin (HPN), a citrus flavonoid, to add into a self-etching primer and evaluated the micro tensile bond strength (μ TBS) and its effect as a natural cross-linker. **Methods:** Flat dentin surfaces were obtained from 18 extracted human molar teeth and smear layer was created on each surface. HPN (0.5wt %, 1.0 wt %, 2.0wt %, 5.0 wt %, 10.0 wt %) was incorporated into the Clearfil SE primer (Kuraray) to prepare the experimental primers. Pure SE primer was preserved as a control. Each experimental primer applied on a flat dentin surface. Each sample was bonded with Clearfil SE bond and restored with resin composite. After storage in water for 24 hours at 37 ° C, the bonded specimens were cut using a low speed diamond saw to obtain beams (0.9 x 0.9 mm) and subjected to micro tensile bond testing. Failure mode analysis of dentin surface and the morphological observation on each self-etching effect were performed using Scanning Electron Microscope (SEM). **Results and discussion:** One-way ANOVA showed a significant difference among the tested groups ($p < 0.05$). Tukey post-hoc test revealed that the μ TBS was improved in 0.5 wt% group (97.5 \pm 10.5 MPa) though it was not statistically significant ($p > .05$). The μ TBS 1.0 wt% incorporated group (101.4 \pm 13.2 MPa) and 2.0 wt% incorporated group (100.4 \pm 13.2 MPa) was significantly higher when compared with the control group (89.7 \pm 10.3 MPa). The μ TBS significantly reduced in 10.0 wt% group (70.6 \pm 11.5 MPa) and increased percentage of adhesive failure on bonded interface. The increase in μ TBS was observed by greater concentration of HPN up to 5.0 %.



自己接着性フロアブルコンポジットの歯質接合界面の SEM 観察

虎の門病院・歯科¹, 鶴見大学歯学部・教育探索歯学寄附講座²

○宇野 滋¹, 阿保備子^{1,2}, 森上 誠¹, 杉崎順平¹, 山田敏元¹

SEM observation on the interface between a self-adhering flowable composite and tooth substrates

Toranomon Hospital, Department of Dentistry¹,

Tsurumi University, School of Dental Medicine, Translational Research²

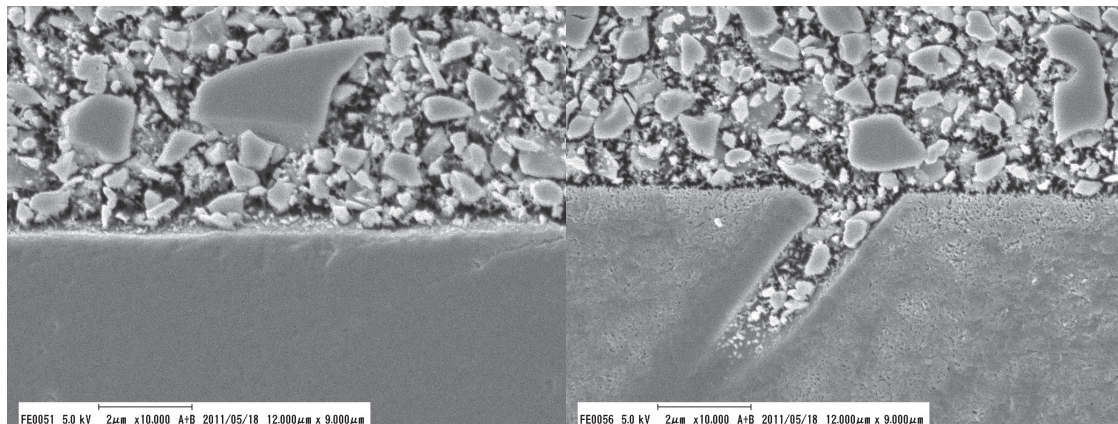
○UNO Shigeru¹, ABO Tomoko^{1,2}, MORIGAMI Makoto¹, SUGIZAKI Jumpei¹, YAMADA Toshimoto¹

近年の目覚ましい接着技術、とりわけセルフエッチングの進歩により、より少ない接着ステップで確実なレジン接着が可能となった。この技術は、自己接着性レジンセメントのようなレジン系含着材の分野のものが応用されている。一方、修復材料に関しては従来のコンポジットレジンに加え種々流動性を有するフロアブルレジンが多用されるようになってきた。こうした中 Kerr 社は、レジンボンディング材とコンポジットレジンの技術を併用して、自己接着性のフルアブルレジン・バーティス (Vertise) を開発した。この材料にはリン酸基を有する接着性モノマー-GPDM が使用されており、ボンディング材による接着操作を必要とせず、接着性モノマーを含んだレジンペーストを歯面にこすりつけることにより接着機構が働き、充填と同時に歯質との接着が得られる“ゼロステップ”タイプのものである。本研究では、本材の性能を評価する一環として、歯質との接合界面の SEM 観察を行った。

【材料と方法】ヒト抜去大白歯の歯冠部を水平に切断、SiC#1000 にて研削した面を被着面とした。Vertise をメーカー指示にしたがって被着面上に約 1mm の厚さに充填・照射した。24 時間水中に保存した後、歯軸方向に歯冠を 2 分割しエポキシレジンに包埋した。包埋材が十分に硬化した後、試料の切断面を SiC (#800, #1000, #1200) およびダイヤモンドペースト (6, 3, 1, 0.25 μm) を用いて鏡面研磨した。この試料にアルゴンイオンエッチングを 35 秒間施し、通法により白金蒸着し、FE-SEM (ERA-8900FE, エリオニクス) にて接着界面の SEM 観測を行った。

【結果およびまとめ】Vertise のエナメル質と象牙質との接着界面の SEM 像 (×10,000) を図に示す。コンポジットレジンには prepolymerized fillers とと思われる大きさ 1 μm 前後のものやさらに細かいフィラーが含まれており、この層が直接歯質と接合している。従来のボンディング材層がアルゴンイオンエッチングされた際に示すような網目状構造は認められない。エナメル質および象牙質表面に脱灰像はほとんど認められないものの、双方と緊密な接合状態を示していた。

接着界面を SEM 観察する限り Vertise の歯質との接着は良好なものと判断されたが、その接着機構は歯表面のごく表層において生じているものと思われる。



エナメル質

象牙質

光強度が試作コア用レジン象牙質接着性に及ぼす影響

日本大学歯学部保存修復学教室¹, 総合歯学研究所生体工学研究部門²
かなまる歯科クリニック³

○大藤竜樹¹, 清水裕亮¹, 田村ゆきえ¹, 藤井雄介¹, 坪田圭司^{1, 2}, 陸田明智^{1, 2}, 安藤 進^{1, 2},
宮崎真至^{1, 2}, 金丸壽良³

Influence of power density on bond strength of trial core foundation systems

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Kanamaru Dental Clinic³

○OTO Tatsuki¹, SHIMIZU Yusuke¹, TAMURA Yukie¹, FUJII Yusuke¹, TSUBOTA Keishi^{1, 2}, RIKUTA Akitomo^{1, 2},
ANDO Susumu^{1, 2}, MIYAZAKI Masashi^{1, 2}, KANAMARU Toshio³

【研究目的】

近年、コンポジットレジンの機械的性質およびアドヒージブの歯質接着性の向上によって、根管治療後に直接法によるコア用レジンを用いた支台築造が行われる頻度が増加している。これらコア用レジンの多くは、化学重合と光重合の性質を併せ持つデュアルキュア型が採用されている。そのため、照射光線の到達しにくい部位においても重合硬化が進行することから、良好な接着性および物性を有することが期待されている。その一方で、光強度が象牙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、試作コア用レジンシステムである SI-R 20907 (Shofu)を用いて、照射強度と象牙質接着性の関連性について接着試験および電子顕微鏡観察を行うことによって検討した。

【材料および方法】

供試したコア用レジンシステムとしては、開発コード SI-R 20907 (以後 SI, Shofu), Estelite Core Quick (以後 EQ, Tokuyama Dental), Unifil Core EM (以後 EM, GC)および Clearfil DC Core Automix(以後 DC, Kuraray Medical)を用いた。接着システムとしては、各コア用レジンシステムに付属のものを用いた。可視光線照射器としては Optilux 501 (sds Kerr)を用い、スライドレギュレーターに接続し、その照射強度が 200, 400, 600 mW/cm²となるように調整した。

接着試験に際し、被着体としてはウシ下顎前歯の歯冠部を常温重合レジンに包埋したのものを用いた。次いで、SiCペーパーの#600まで研削した後、超音波洗浄し被着面とした。この被着面に対し、製造者指示条件に従ってアドヒージブ処理を行い、内径4 mm、高さ2 mm、の円筒形テフロン型を静置し、練和したペーストを型に填塞したものを接着試片とした。コア用レジンに対する光線照射条件としては0 (照射無し)、200, 400および600 mW/cm²に設定し製造者指示時間照射を行った。

ペーストの練和開始から10分間経過した後、37°C精製水中に24時間保管した後、万能試験機 (Type 5500R, Instron)を用いてC.H.S = 1.0 mm/minの条件で剪断接着強さの測定を行った。なお、試片の数は各条件につき10個とし、ANOVAおよびTukey HSD testを用いて統計学的検定を行った。接着強さ試験後の破断試片について、その破壊形式の観察を行った。

接着界面の観察には、接着試験に用いたのと同様に接着操作を行った試片の縦断面を、通法に従って走査電子顕微鏡(ERA-8800FE, 以後 SEM)を用いて観察を行った。

【成績および考察】

DCおよびEMは照射強度の上昇に伴って、象牙質接着強さも上昇する傾向が認められた。一方、SIおよびEQではいずれの照射条件においてもその接着強さに有意差は認められなかった。接着強さ測定後の破壊形式では、EQにおいてはそのほとんどが象牙質の凝集破壊を示したものの、DC、EMおよびSIでは界面破壊が多数を占めた。また、SEMによる接合界面の観察では、いずれのシステムにおいても接合界面にギャップの形成は認められず良好な接合状態を呈した。

このように製品によって照射強度による接着強さの違いに異なる傾向が認められた理由としては、システムによる重合開始剤系の違いによるものと考えられた。

【結論】

本実験の結果から、照射強度によるコア用レジンの象牙質接着強さの変化は、製品によって異なる傾向を示すことが明らかになった。以上のことから、製品の特性を理解して臨床使用することが不可欠であることが示唆された。

リン酸カルシウムから成る新規の象牙質知覚過敏抑制材の実験室評価

-長期間人工唾液に浸漬した後の効果の持続性-

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, 口腔臨床科学分野², 歯と骨のGCOE³
○タナヴァラーゴン オルニチャ^{1,3}, 中嶋省志¹, 池田正臣², 田上順次^{1,3}

***In vitro* Evaluation of a Newly Formulated Calcium Phosphates Desensitizing Material**

-Durability after long term immersion in artificial saliva-

Cariology and Operative Dentistry¹, Oral Health Care Science², Tokyo Medical and Dental University
GCOE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases³

○THANATVARAKORN Ornnicha^{1,3}, NAKASHIMA Syozi¹, IKEDA Masaomi², TAGAMI Junji^{1,3}

Objectives: to evaluate and compare the ability of two desensitizing agents, CPD-100 (development code, a new formula of calcium phosphates, Kuraray Medical) and SuperSeal® (SS, Phoenix Dental), on dentinal tubule occlusion and permeability reduction immediately after their applications and after post-treatment with immersion in artificial saliva.

Materials and methods: Dentin discs prepared from human molars were firstly divided into 2 groups to simulate sensitive dentin by treating surface with 0.5 M EDTA, or 0.5 M EDTA followed by 5% NaOCl. Each group was applied with CPD-100 or SS, then dentin permeability reduction (PR%) was evaluated by hydraulic conductance device. The treated dentin discs were immersed in artificial saliva (AS) for 4 weeks and PR% was again evaluated and the morphology was observed by SEM.

Results: Both desensitizing agents showed significant PR% ($p < 0.05$, Fig. 1) immediately after application. After the immersion in AS, CPD-100 group (EDTA/NaOCl) showed significant increase in PR% ($p < 0.05$, Fig. 1), whereas SS groups showed relapsed PR% ($p < 0.05$, Fig. 1). SEM observation exhibited the deposition of crystals on dentin surface and in some dentinal tubules in CPD-100 groups, whereas less crystal deposition on dentin surface was found in SS groups (Fig. 2).

Discussion: Increase in PR% by CPD-100 treatment after immersion in AS could be attributed to crystal growth of existing apatite minerals (HA) induced by CPD-100 due to supersaturation of the AS regarding HA, resulting in further occlusion of dentinal tubules. Whereas the relapsed PR% in of SS groups could be explained by partial dissolution of calcium oxalate (CaOX) due to undersaturation of the AS regarding CaOX. Moreover, dissolved oxalate ion from CaOX might inhibit HA formation. Study on dynamic crystal growth in the former and the dissolution in the latter after immersion in salivary fluid would be needed to elucidate the relevant mechanisms on the durability of PR%.

Conclusion: The application of CPD-100 or SS could effectively reduce dentin permeability. CPD-100 is expected to be a new generation material in the meaning of self growing of the crystal, leading to long term stability in oral environment.

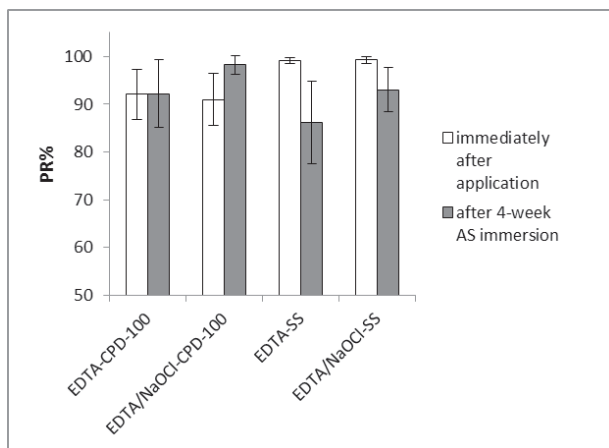


Fig. 1 Mean ± standard deviations of PR% before and after AS immersion for 4 weeks (n=10 per group)

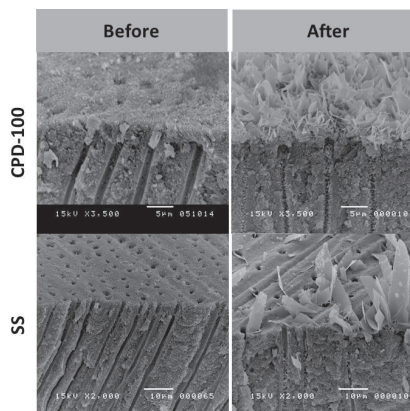


Fig. 2 SEM images before and after AS immersion

試作知覚過敏抑制材の象牙細管封鎖性に関する研究 -超音波透過法を用いた検討

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, 花園歯科医院³

○遠藤 肇¹, 川本 諒¹, 岩佐美香¹, 高見澤俊樹^{1,2}

黒川弘康^{1,2}, 安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 山形哲則³

Evaluation of Newly Developed Dentin Sensitivity Suppressor by means of ultrasonic device
Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²
Nihon University School of Dentistry, Hanazono Dental Clinic³

○ENDO Hajime¹, KAWAMOTO Ryo¹, IWASA Mika¹, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2},
KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, YAMAGATA Tetsunori³

【緒言】

象牙質知覚過敏症に対する処置には、これまで多くの方法が提案されてきた。とくに、患部に塗布することでその疼痛を軽減する知覚過敏抑制材は、操作が簡便であるところから様々なタイプの製品が臨床応用されている。しかし、即効性に優れるとともに、持続的な効果を有する知覚過敏抑制材は少ないのが現状である。そこで演者らは、クラレメディカルによって新たに開発された、生体親和性に優れた新規自己硬化性リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材(開発コード CPD-100)を用い、その再石灰化能あるいは象牙質封鎖性について検討した。すなわち、CPD-100を歯質に塗布し、その後生じた歯質に生じた脱灰あるいは再石灰化という変化を、非破壊的に物質の状態変化を測定可能である超音波透過法を用いて検討した。さらに、レーザー顕微鏡観察、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察および元素組成分析を併せて行い、考察資料とした。

【材料および方法】

1. 象牙質知覚過敏試片の製作

ウシ抜去下顎前歯の唇側象牙質を 4×4×1 mm のブロックとして切り出し、耐水性 SiC ペーパーの #2,000 まで順次研磨した。これら試片に対して超音波洗浄を 30 分間作用させ、象牙細管の開口を伴う知覚過敏モデルを製作した。

2. pH サイクル試験

口腔内環境をシミュレートするために、37°C人工唾液 (pH 7.0) の浸漬保管に先立ち、pH サイクルを設定した。

- 1) 0.1 M 乳酸緩衝液 (pH 4.75) に 10 分間浸漬 (以後、De 群)
- 2) 脱灰液への浸漬に先立って、CPD-100 を 1 度塗布し、水洗する群 (以後、CPD 群)
- 3) 脱灰液への浸漬に先立って、CPD-100 を塗布、水洗し、これを 7 日毎に行う群 (以後、Repeat 群)
- 4) CPD-100 を塗布、水洗した後、実験期間を通じて人工唾液への浸漬のみを行う群 (以後、Control 群)

なお、pH サイクルは 1 日 2 回、28 日間行った。

3. 超音波伝播時間の測定およびレーザー顕微鏡観察

超音波測定装置 (Model 5900, Panametrics) を用いて、縦波で発せられる超音波の伝播時間を測定し、縦波音速を求めた。また、所定期間の浸漬が終了した試片について、レーザー顕微鏡を用いて表面性状の経時的変化を観察した。

4. SEM 観察および元素組成分析

FE-SEM (ERA8800-FE, エリオニクス) を用いて、試片の断面を観察し、象牙細管内への知覚過敏抑制材浸透性を評価した。また、象牙質に生じた変化については元素分析を併せて行った。

【成績および考察】

脱灰溶液に浸漬した De 群では、他の条件と比較して経時的にその音速が低下する傾向が認められたが、CPD 群ならびに Repeat 群では、音速が高くなる傾向が認められた。この歯質を透過する音速の変化は、CPD-100 が脱灰抑制あるいは再石灰化に影響を及ぼしたことを示すものと考えられた。また、レーザー顕微鏡観察からは、CPD 群および Repeat 群においては脱灰を示す像は認められず、細管内に CPD-100 由来と考えられる付着物あるいは析出物が認められた。SEM 観察からは Repeat 群では CPD 群と比較して、象牙細管の深部まで浸透している像が観察された。

【結論】

試作知覚過敏抑制材 CPD-100 は、歯質の再石灰化効果および象牙細管の封鎖によって知覚過敏の抑制に寄与する可能性を有することが示唆された。

新規デバイス開発のための歯科切削音および咀嚼音の骨導音計測の試み

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○山田 朋美, 板東 秀典, 恵比須 繁之

Measurement of bone-conducted sound in dental treatment for new device development

Department of Restorative Dentistry and Endodontology,

Osaka University Graduate School of Dentistry

○YAMADA Tomomi, BANDO Hidenori, EBISU Shigeyuki

【研究目的】

エタービンハンドピースやスケーラなどの音は歯科治療を受ける多くの患者に不快感を与えている。我々は、患者が快適に受診できるように不快感低減デバイスの開発をめざした研究に取り組んでいる。これまでに、第 129 回および第 131 回本学会において、気導切削音に含まれる 8kHz 以上の高周波成分の不快感への関与について心理評価法や光トポグラフィー装置を用い検討し報告してきた。治療中の患者は、気導音だけではなく、歯から骨を介した骨導音も知覚している。タービンやスケーラからの発生音に含まれる高周波成分は骨導においても伝達されている可能性があり、骨導音を測定し歯科における骨導知覚の詳細を明かにする必要がある。しかし、従来の骨導マイクロホンは主に通話用であるため高周波成分を抑圧する性質があり、高周波成分を含む骨導音計測を実施することは困難であった。

今回、高周波まで対応した試作骨導マイクロホンを用いて気導音および骨導音同時測定システムの構築を行い、歯科領域に関わる様々な骨導音の測定を試みたので報告する。

【方法】

大阪大学歯学研究科に設置された防音室および大阪大学歯学部附属病院保存科診療室において、発音、咀嚼音およびタービンやスケーラ使用時の気導音および骨導音測定を行った。骨導音は、小林理学研究所圧電応用研究室安野功修氏により試作提供されたヘッドホン式骨導マイクロホンおよびヘッドバンド式骨導マイクロホンを用いて収録した。オーディオインターフェイスを介した骨導マイクロホンは、気導音集音のためのコンデンサーマイクロホンとともに多チャンネルレコーダーに接続し同時レコーディングを行った。骨導マイクロホンは被験者の甲状軟骨上または前額部および左右頬骨上に装着し、気導音集音用マイクロホンは頭部より 15センチの距離に設置した。被験者はいくつかの単語を発音し、その後、テクスチャーの異なる数種類の食物を咀嚼し嚥下するまでを計測した。歯面上の即時重合レジンダイヤモンドバーおよびスケーラを用いて切削した時の音を切削音として収録した。収録されたデータは、コンピューター上で再生し、音響解析ソフトにより波形解析および周波数解析をおこなった。本研究は大阪大学の倫理委員会の審査を受け、被験者には十分な説明と同意を得て行ったものである。

【結果と考察】

波形解析の結果、気導音と同期する骨導信号波形を確認した。周波数解析により、発音時の気導音は主に 6 kHz までの周波数成分が多く認められ、骨導音では高い周波数帯域では減衰が認められた。硬い食物の粉碎時の咀嚼音には、20 kHz にいたる高周波域の音響信号が発生することを確認した。タービンおよびスケーラによる気導切削音には複数の突出した特徴周波数成分が 20 kHz までに複数認め、骨導においても同周波数帯域で高いレベルのスペクトルを確認した。

今回、新たに試作した骨導マイクロホンを用いることにより幅広い帯域の骨導音の計測が可能であることを確認した。今後、計測した音響信号レベルと知覚レベルの関係を明かにして不快感低減デバイス開発の検討を進めていく予定である。

殺菌処理後に残存したバイオフィーム構造への *Streptococcus mutans* の付着について

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

○大墨竜也, 竹中彰治, 若松里佳, 興地隆史

Secondary adhesion of *Streptococcus mutans* to disinfected biofilm structures

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

○OSUMI Tatsuya, TAKENAKA Shoji, WAKAMATSU Rika, OKIJI Takashi

【目的】 演者らは第 134 回本学術大会において、洗口液を用いてバイオフィーム中の細菌が殺菌されてもその構造が付着界面に残存することを報告した。残されたバイオフィーム構造は、蛋白質、多糖体を含む細胞壁が残存するとともに表面が粗造であるため、バイオフィーム再形成への足がかりとなる可能性がある。本研究では、殺菌処理した *in vitro Streptococcus mutans* バイオフィームに対する細菌の付着性について検討した。

【材料及び方法】

(バイオフィーム) 直径 6 mm, 厚み 1.5 mm のレジンディスク (Premise flowable, Kerr 社) を 10^6 /ml に調整した *Streptococcus mutans* ATCC 25175 株培養液中に 75 rpm の速度で回転させながら 37°C、2 時間浸漬することにより、ディスク表面に細菌を付着させた。2 時間後、Rotating Disc Reactor (RDR; BioSurface Technologies 社) を用いて 50 rpm の速度で回転させながら毎分 4.6 ml の速度で 0.05% スクロースを含む 1/10 濃度の BHI 液体培地を灌流させ 3 日間好気培養することによりバイオフィームを形成させた。3 日後、70% イソプロピルアルコールに 90 分浸漬し殺菌したのち、再度 RDR 中で 10^6 /ml に調整した *Streptococcus mutans* 培養液を 4 時間灌流させた。

(実験 1 : 共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) による観察) SYTO9/PI 染色 (Invitrogen 社) もしくは Calcein-AM (CAM)/Rhodamine (Rho) 染色を施した後、XYZ 断層像を採取するとともに、厚さ 8 μ m の凍結切片を各試料 ($n = 5$) について 40 μ m おきに 30 枚作製した。CLSM を用いて、バイオフィームの厚さを計測するとともに、殺菌処理後のバイオフィーム構造および新たに付着した生菌の面積を Metamorph ソフトウェアを用いて解析した。

(実験 2 : 付着細菌数および総菌数計測) ディスクを PBS に浸漬し超音波処理によりバイオフィームを回収したのち、生菌数を Plate count 法により、総菌数を PCR-Invader 法により計測した。

【結果】 3 日培養で形成されたバイオフィームの厚さは最大で 150.6 μ m であった。三次元構築像から、殺菌処理後のバイオフィーム構造が残存する部位では、主としてバイオフィーム底部で培地の反流動側に沿って引っかかるように蓄積する生菌が観察された。一方、バイオフィーム構造が存在しない界面では新たに付着した生菌の厚さは小さい傾向にあった。殺菌処理されたバイオフィーム構造に対する新たに付着した細菌叢の面積比は SYTO9/PI 染色では $19.1 \pm 11.3\%$ (最大 47.6%)、CAM/Rho 染色では $20.1 \pm 14.4\%$ (最大 64.1%) であった。ディスク上の生菌数は $2.4 \times 10^4 - 2.7 \times 10^6$ cfu/ml、総菌数は 10^7 copies/ml 程度であった。

【考察および結論】 殺菌処理後に残存するバイオフィーム構造に、新たな浮遊細菌の付着が生じることが認められた。残存バイオフィーム構造が新たなバイオフィーム形成の起点となることが示唆された。

ラット根尖病変における ADAM-8 と ADAM-17 の役割

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○田中 毅, 尾関伸明, 川合里絵, 今泉一郎, 山崎雅弘, 中村 洋

Roles of ADAM-8 and ADAM-17 in Development of Rat Periradicular Lesion

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○TANAKA Tsuyoshi, OZEKI Nobuaki, KAWAI Rie, IMAIZUMI Ichiro, YAMASAKI Masahiro, NAKAMURA Hiroshi

【目的】

根尖性歯周炎は、根尖部歯周組織の破壊を特徴とする炎症性疾患である。根尖病変でみられる組織破壊には、結合組織の主要構成成分である細胞外マトリックス (extracellular matrix: ECM) の分解が深く関係しており、好中球やマクロファージなどの炎症性細胞から放出される MMPs(matrix metalloproteinases) などのプロテアーゼによって組織破壊が進行する。近年、MMPsの近縁遺伝子ファミリーでメタロプロテアーゼとインテグリンの相互作用を有する ADAMs (a disintegrin and metalloproteinases) ファミリーに属する ADAM-8 と ADAM-17 が、好中球の浸潤や TNF- α の産生を制御し、骨吸収を伴う炎症性疾患に関与することが報告されているが、根尖病変における詳細な役割について明らかにされていない。そこで本研究では、ラット根尖病変における ADAM-8 と ADAM-17 の動態を、RT-PCR 法を用いた遺伝子解析と免疫組織化学染色により評価した。

【材料および方法】

生後 8 週齢、体重 240 g の雄性ウイスター系ラットを用いて、下顎左右第一臼歯の咬合面をラウンドバーにて露髄後 0 週 (未露髄)、2, 4, 6, 8 週で屠殺を行い実験試料とした。摘出した下顎骨を 4%パラホルムアルデヒドで 12 時間固定後 0.5M EDTA 溶液 (pH7.4) で低温脱灰し、厚さ 7 μ m の連続切片を作製した。摘出した下顎骨から第一臼歯近心根の根尖部歯周組織を採取し、TRIzol Reagent (Invitrogen, CA, USA)を用いて、total RNA の抽出を行った。RT-PCR は INV SSIII OneStep HiF 100REX (Invitrogen)を用いて行い、ADAM-8 と ADAM-17 の遺伝子発現を検索した。さらに、ADAM-8, ADAM-17 および好中球の局在を免疫組織化学染色により評価した。また、下顎第一臼歯近心根の根尖部面積は Keyence BZ-9000 fluorescence microscope (Keyence, 東京)および、BZ-II Analyzer software (Keyence)を使用して計測した。

【結果】

RT-PCR 法による遺伝子解析において、ADAM-8 は露髄後 2 週で発現し、4 週で発現のピークを示した。一方、ADAM-17 は露髄後 2 週から 4 週にかけて発現のピークを示し、その後、減少傾向を示した。免疫組織化学染色により、露髄後 2 週的好中球浸潤部位と根尖部歯槽骨に隣在して ADAM-8 陽性細胞がわずかに認められ、ADAM-17 陽性細胞は根尖部の炎症性細胞浸潤部位にわずかに観察された。露髄後 4 週では根尖部歯周組織の炎症性細胞浸潤はさらに強くなり、膿瘍形成と根尖部の骨吸収が認められ、好中球浸潤部位と根尖部歯槽骨に隣在して ADAM-8 陽性細胞の増加が観察された。また、膿瘍中に ADAM-17 陽性細胞が観察された。さらに、露髄後 6 週と 8 週では、線維性結合組織の増生が観察され、ADAM-8 陽性細胞はほとんど認められず、ADAM-17 陽性細胞の減少が認められた。

【考察および結論】

ラット根尖病変は露髄後 2 週から 4 週にかけて著しい好中球の浸潤が認められ、病変が急速に拡大した。一方、4 週から 6 週にかけて病変の大きさに変化は見られず、慢性期に移行したことが推測される。ADAM-8 陽性細胞は露髄後 2 週から 4 週にかけて好中球の浸潤部位と根尖部歯槽骨に隣在して発現を認めた。また、ADAM-17 陽性細胞も同様に露髄後 2 週から 4 週にかけて炎症性細胞浸潤部位に発現が認められたが、根尖病変が減少傾向を示す 6 週から 8 週にかけて発現が減少を示した。以上の結果から、ADAM-8 と ADAM-17 は根尖病変成立過程において、ECM 破壊と破骨細胞の活性促進による病変拡大に関与している可能性が示唆された。

グリーンレンズ併用イメージファイバによる根管内の高精度観察システムの検討

九州歯科大学齶蝕歯髄疾患制御学分野¹, 早稲田大学大学院情報生産システム研究科²,

九州歯科大学総合診療学分野³, 九州歯科大学感染分子生物学分野⁴

○吉居慎二¹, 李 慧穎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 with grin lens for High precision Diagnosis

Div. of Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, Kyushu Dental College¹, Graduate School of Information, Production and Systems, Waseda University², Div. of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College³, Div. of Infections and Molecular Biology, Kyushu Dental College⁴
○YOSHII Shinji¹, LI Huiying², KITAMURA Chiaki¹, TERASHITA Masamichi³, NISHIHARA Tatsuji⁴, UEDA Toshitsugu²

【研究目的】

現在の歯科治療では、歯科用顕微鏡・歯科用コーンビーム CT などの診断機器により歯の複雑な解剖学的形態や破折等を高精度に検出することが可能である。しかしながら、歯の根管内部の歯質の診断や側枝の検出・歯周ポケット内の縁下歯石は通常の診断法では難しく、感覚に頼っているのが現状である。本研究は、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いる。今回の研究では、ファイバ先端にグリーンレンズを取り付けることによる焦点距離の延長、そして1本のイメージファイバでの画像の取得と観察サンプルへの光の照射を同時に行う光学システムを検討した。

【材料および方法】

実験には微細径イメージファイバ、ライトソース、イメージングシステム、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 (FIGH-10-500N) を、観察試料としてはガラス表層にクロム薄膜をスパッタリング法で作成後、格子状の等しい間隔のラインとスペースを Focused Ion Beam (FIB) を用いて形成したものを用いた。焦点距離の延長を目的としてファイバ先端に直径 1.8 mm・0.29 ピッチのグリーンレンズを接続した。まず直径・高さ共に約 3 mm の円柱状シリコンゴムの一端から 1 mm の高さまで直径 1.8 mm の円柱状に中をくり抜き、もう一端から高さ 2 mm まで直径 0.6 mm の円柱状に円の中心がそろおうようになり抜いた。このくり抜いた部分の両端よりグリーンレンズとファイバを2つが接するように挿入し、スペースに瞬間接着剤を介在させることで接続・固定した。観察は試料とグリーンレンズの間を水で満たした状態で行った。

次に、ファイバ径を小さくし鮮明な画像を取得するため、1本のイメージファイバで画像の取得と観察サンプルへの光の照射を同時に行える機器を作成した。C-MOS イメージセンサ・レンズ・プリズムビームスプリッタ・イメージファイバを順に直線状に配置し、光ファイバをそれらに対し直角にかつプリズムビームスプリッタの部位で接するように配置した。イメージファイバ・観察サンプル間を実際の使用条件に合うよう水で、界面での光反射防止のため、イメージファイバ・プリズムビームスプリッタ間、光ファイバ・プリズムビームスプリッタ間を油で満たした。

【結果】

ファイバ・グリーンレンズ間の距離を可能な限り0に近づけることで最大 10 mm まで焦点距離を延長することができ lines/piece $20\mu\text{m}$ の試料まで観察可能であった。機器の作成により光ファイバからの光量 0.9 mW のときファイバの画像取得面の光量は 0.1 mW で、光効率の良い光学系を開発できた。また、ここで得られた画像は従来使用していたイメージングシステム (3CCD イメージングシステム FT-203F, FiberTech 社) と同等の解像度であった。

【考察】

グリーンレンズを用いることで焦点距離の延長を可能にし、また1本のイメージファイバで画像の取得と観察サンプルへの光の照射を同時に行うことが可能となり、根管内をより深部まで観察できることが示唆された。

【結論】

今後この結果を踏まえ、1本のイメージファイバで画像の取得と観察サンプルへの光の照射を同時に行った状態で、根管内に合った径のグリーンレンズを用いて観察する必要がある。

ファイル破折をどう除去するか

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

○明石俊和, 小林慶美, 勝呂 尚, 鶴町 保, 小木曾文内

Removal of Fractured endodontic Instruments using An ultrasonic tip

Department of Endodontics Nihon University School of Dentistry,

Divisions of Advanced Dental Treatment Nihon University School of Dentistry

○AKASHI Toshikazu, KOBAYASHI Yoshimi, SUGURO Tadashi, TURUMACHI Tamotsu, OGISO Bunnai

【はじめに】

根管治療時の根管内でのファイルは金属製の刃部が根管壁に噛み込み切削される。そのときファイルの刃部には応力による歪が発生している。この切削操作の繰り返しかえしにより、金属疲労が刃部に蓄積し、ファイル破折が起こる。

ニッケルチタンファイルは、切削時の刃部の歪によるねじれ変形などの破折予知の兆候を目視できないため突然、予期せぬ時に破折が起こってしまう。ファイル破折はその後の根管治療に支障となり、予後に多大な影響を与える。

そのため、根管内での破折器具の予防策としてファイルの回転数、切削時間、回転トルクの調整を考慮して対応する事が望ましい。しかし、器具の管理が難しく、残念ながら破折の症例が増加傾向にある。

ファイルが破折したならば1) 残置した破折ファイルの予後不良の可能性についての対処法を説明し、患者の同意を得た上で根管充填を行う。2) 破折ファイルが除去できるまで根管充填を行わない。3) 破折ファイル除去が困難であることを説明し、除去が可能な医療機関に転医を勧める。以上が医療訴訟の予防策であり、今後は破折ファイルを残置するのではなく除去することがもっとも望ましい処置法となるであろう。

そこで、破折ファイルを効率よく除去する方法として、根管拡大・形成から根管洗浄に使用する多目的使用超音波振動装置であるバリオス 370S Lux に各種超音波チップを装着し、破折ファイル除去を行ったので報告する。

「材料および方法」

超音波振動装置にはバリオス 370S Lux 使用し、髄腔開拓にはV-G71、根管口明示にはV-G77、V-S51D は根管拡大・形成、根管洗浄、破折ファイルの除去、V-S51 は根管洗浄、破折ファイル除去に使用した。トルクはメーカー指示値の最大数を使用し、超音波切削の通報に従い拡大・形成、根管洗浄それに続く、破折ファイルの除去を行った。

【結果および考察】

破折ファイルが除去出来る理由は破折ファイル破折部にV-S51チップが接触しチップの振動が伝達され根管にくい込んでいる破折ファイルが振動により徐々に緩み根管口部に移動し排出される。

あるいは根管内のV-S51チップの振動によるキャビテーション作用と注水された水の攪拌と還流により、破折ファイルが根管内に浮遊状態となり根管口部に移動し排出される。

とくに破折ファイルを効率よく除去するには超音波チップの振動を破折ファイルに伝達する必要がある。そのためには超音波チップによる根管拡大・形成法の手順を理解し、根管を直線的に拡大することが重要である。すなわち、超音波振動による根管拡大にはV-S51Dチップ使用により根管壁象牙質を破壊(破碎)し、根管拡大する。

破折ファイルの存在はすでにガイドグループ(先導溝)が形成されており、破折ファイルまでの根管を直線的にV-S51Dチップにより拡大するとともに破折ファイルの先端部が超音波チップの先端に接触できる部位まで歯質切削を行う。

次いで、V-S51チップ先端を破折ファイルの破折部に接触させ、振動が伝達されることにより除去された。すなわち超音波チップの振動を破折ファイルに伝えることが破折ファイル除去の効果的な手段であった。

【結 論】

超音波振動装置バリオス 370S Lux と各種超音波チップの使用により破折ファイル除去が可能である。

原因の同定により短期間で患者満足が得られた歯内疾患症例

福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野

○米田雅裕, 廣藤卓雄

Obtainment of patients' satisfaction by proper diagnosis and endodontic treatment - cases series report -

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

○YONEDA Masahiro, HIROFUJI Takao

【緒言】

歯内病変は症状が当該歯およびその周囲に限局されることが多く原因歯の同定はそれほど困難ではない。しかし、時には歯周疾患に類似した症状を呈したり遠隔の部位に症状が発現したりすることがあるため注意が必要である。福岡歯科大学医科歯科総合病院総合歯科には歯周治療や他の治療を長期間受けるが症状が改善されないことを理由に来院する患者が増加している。今回、原因の同定および原因歯の歯内治療により急速に症状が改善し大きな患者満足が得られた3症例を紹介する。

【症例報告】

症例1. 患者：59歳・女性。主訴：右下奥歯の歯ぐきが腫れている。当該歯の治療歴：初診の半年前に下顎右側第一大臼歯(46)頬側歯肉が腫脹したため近医を受診。切開・排膿後、歯周治療を受け症状改善。しかし、その後たびたび歯肉腫脹を繰り返すため別の歯科医院を受診。2ヵ所目の歯科医院でも同様の処置を行うが症状が改善しないため当科初診。現症：46頬側歯肉腫脹、動揺度M2、歯周ポケット最深部5mm、根分岐部エックス線透過像+、歯髄電気診+。診断：46慢性化膿性根尖性歯周炎(I型歯内歯周病変)。治療内容：感染根管治療、全部鑄造冠。症状の変化：歯肉腫脹消失。根分岐部エックス線透過像消失。

症例2. 患者：24歳・男性。主訴：右側頬から膿が出る。右側頬部皮膚の治療歴：初診の数年前から同部にしこり発現。その後、排膿し始めたため皮膚科受診。切開・排膿、抗生剤投与により一時的に改善するが、しばらくすると症状再発。知人の紹介により当科初診。現症：右側頬部皮膚から持続的排膿。下顎右側第一大臼歯(46)インレー下に深部カリエス、動揺度M1、歯周ポケット最深部5mm、根尖部～根分岐部エックス線透過像+、歯髄電気診-。診断：46慢性化膿性根尖性歯周炎による外歯瘻。治療内容：感染根管治療、全部鑄造冠。症状の変化：頬部からの排膿停止。根尖部～根分岐部エックス線透過像消失。

症例3. 患者：72歳・男性。主訴：口臭が気になる。口臭の治療歴：初診の20年前から口臭が気になる。口臭を減らすため近医で長期間、歯周治療を受けるが改善しない。固めの歯ブラシで清掃したり、酸性食品を摂取したり自分なりに口臭除去を試みるが改善しないため当科初診。現症：官能検査スコア4(我慢できる強い悪臭)、硫化水素6.2ng/10ml mouth air、メチルメルカプタン4.6ng/10ml mouth air、ジメチルサルファイド0.7ng/10ml mouth air、上顎右側第一大臼歯(16)全部鑄造冠内部から悪臭。診断：16慢性化膿性根尖性歯周炎を原因とする口腔由来病的口臭。治療内容：感染根管治療、全部鑄造冠。症状の変化：口臭減少。

【考察】

今回報告した3症例は他の疾患と類似しているため的確な診断が行われず、長期間の治療を余儀なくされたものである。歯内病変は通常、打診痛、根尖部の腫脹や瘻孔などの典型的な症状を呈することが多く、エックス線写真でも根尖付近の透過像により原因歯を同定することが可能である。しかし、I型歯内歯周病変では根分岐部エックス線透過像などのために歯周疾患と混同されることがある。歯内歯周病変は治療が困難なこともあるが、I型の場合は歯内治療により比較的容易に改善が期待できるための確な診断と適切な歯内治療が重要である。また、外歯瘻のように原因歯と離れた部位で症状が発現することがある。この場合、患者は皮膚疾患と判断することがあるが、的確な診断が行われないと治療が長期間にわたることもあるため注意が必要である。口腔由来病的口臭の場合、歯周疾患が原因であることが多く一般歯科医も最初に歯周治療を行う傾向がある。しかし、時には歯内病変により口臭が発生することがあるため歯周治療で改善しない場合は再度の検討が必要である。このように歯内病変が原因で種々の症状が発現することがあるため慎重な診査、的確な診断が重要だと思われる。

歯髄刺激に伴う血中コルチコステロンと血糖値の動態におよぼす ナロキシンの影響

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○長谷川誠実, 阿部徹也, 藤原正識, 大津奈央, 本田公亮

Effect of naloxone on tooth pulp stimulation-induced changes in blood concentrations of corticosterone and glucose

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine

○HASEGAWA Makoto, ABE Tetsuya, FUJIWARA Masanori, OHTSU Nao, HONDA Kousuke

【緒言】第 129 回本学会において、演者らは、歯髄刺激によりラット海馬血流に増加反応を生じることを報告した。このことは、歯髄刺激が何らかの情動効果を招来することを示唆する。その得られた示唆に基づいて演者らは、歯髄刺激によってストレスホルモンの遊離量が増加していることを前提に一連のテーマで研究を開始した。しかしながら、実際に研究を進めたところ、歯髄刺激を繰り返し与えると、ストレスホルモンの遊離はむしろ抑制され、また血糖値の上昇も抑制されることが明らかとなった(第 132、133 回本学会)。そこでストレスホルモン遊離抑制は、内因性オピオイドに関与した下行性疼痛抑制によるものである可能性を考え、まずカテコールアミンの遊離抑制に関して、オピオイドの拮抗薬であるナロキシンをを用いて検討した(第 134 回本学会)。今回は、引き続き歯髄の繰り返し刺激による血糖値上昇の抑制およびコルチコステロンの遊離抑制に関するメカニズムを明らかにする目的で、ナロキソン投与下における血糖値の変化および歯髄刺激時のコルチコステロン動態について調べた。

【実験材料と方法】実験には、ウイスター系雄性ラット(13 週齢、体重 380 – 400 g) 20 匹を使用した。ラットにはすべてウレタン(1.2 g/kg)による全身麻酔を施した。まず、大腿静脈にカテーテルを挿入し、採血用の静脈路の確保を行った後、下顎両側切歯の歯冠部を切断除去し、先端以外を絶縁したステンレス針電極を根管内に挿入し歯髄刺激電極とした。次に、ラットを脳定位固定装置に固定し、左側海馬内に血流測定用プローブを挿入し実験を開始した。始めにオピオイドの拮抗薬であるナロキソン 1 mg/kg を静脈内投与し、20 分後に 1 回目の採血(1.5 ml)を行った。その後歯髄刺激(以下 TPS)群では intensity 3.3 mA (TPS に対する海馬血流増加反応閾値の 5 倍)、対照(以下 Sham)群では 0.0 mA の duration 0.5 ms で interval 10 ms からなる pulse train 10 s の電気刺激を 20 s 毎に 10 分間与えた。刺激 1 時間後および 2 時間後にそれぞれ 1.5 ml の採血を行った。有効な歯髄刺激の判断は海馬血流増加反応によるモニタリングで行った。まず採血した中から 0.5 ml を用い i-STAT (扶桑薬品)により血糖値の測定を行い、その後、残りの 1.0 ml 血液から遠心分離により血漿を採取し、コルチコステロン分析を行った。そして、血糖値およびコルチコステロンに関して、TPS と Sham 群間における比較を行った。統計学的分析には、Student の T-test を用いて行った。

【結果】血糖値に関しては、ナロキソン投与下において、TPS 群は Sham 群と比較して、歯髄刺激 1 時間後および 2 時間後ともに有意に増加していた。コルチコステロンに関しては、TPS 群は Sham 群と比較して、歯髄刺激 1 時間後では差を認めなかったが、2 時間後において有意に遊離が抑制されていた。

【考察】第 134 回本学会において、TPS により血糖値が低下することを報告している。血糖値は、副腎髄質から遊離するアドレナリンに依存する部分が多いので、歯髄刺激に伴うカテコールアミンの遊離動態がそのまま反映される。今回、ナロキソン投与下で、TPS により血糖値が増加したことは、歯髄刺激の繰り返しが内因性オピオイドに関連した下行性疼痛抑制であるとした第 135 回本学会における演者らの考えを裏付けるものである。但し、TPS によるコルチコステロンの遊離抑制は、ナロキソン投与下でも生じていた。この点に関しては、現段階では不明で今後さらなる検討が必要である。

会員外協力者：秦 順一(社会福祉法人、枚方療育園)

本研究は、科学研究費補助金の助成のもとに行われた(基盤研究(C)、課題番号 21592438)。

Sub-MIC の緑茶カテキンが *Porphyromonas gingivalis* バイオフィームに及ぼす影響の検索

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)
○朝日陽子, 野杵由一郎, 前菌葉月, 山本れいこ, 山口幹代, 恵比須繁之

Effects of sub-MIC green tea catechin on *Porphyromonas gingivalis* biofilm

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○ASAHI Yoko, NOIRI Yuichiro, MAEZONO Hazuki, YAMAMOTO Reiko, YAMAGUCHI Mikiyo, EBISU Shigeyuki

【研究目的】

抗菌療法に抵抗する細菌バイオフィームの抑制法として、歯科臨床では機械的除去が第一選択として行われている。一方、難治性根尖性歯周炎には、根尖孔外バイオフィームが関与し、*Porphyromonas gingivalis*をはじめとするグラム陰性菌が高頻度で検出されることが明らかとなっている。このように除去が困難な部位に形成されたバイオフィームに対しては、有効な化学的コントロール法の開発が必要である。一方、細菌にはクオラムセンシングと呼ばれる自己誘導因子 (AI) を介した細胞間コミュニケーションが存在し、毒素の産生やバイオフィーム形成等に関与している。我々は、AI類似化合物の一部が、*P. gingivalis* のバイオフィーム形成に対し、抑制的に働くことを明らかにした¹⁾。一方、大腸菌において、sub-MICの緑茶カテキンはクオラムセンシングに影響を及ぼすことおよび、バイオフィームを破壊することが報告されている。また、緑茶カテキンは、*P. gingivalis* に対して抗菌活性を有することが明らかとなっている (MIC 500 μ g/ml)²⁾。今回、sub-MICの緑茶カテキンが*P. gingivalis*のバイオフィームに及ぼす影響を検索した。さらに、*P. gingivalis*のAI産生に及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】

緑茶カテキンの1種であるエピガロカテキングレート (EGCg) を用い実験を行った。

1. バイオフィームに及ぼす影響の検索: ポリスチレン製マイクロタイタープレートに*P. gingivalis* 381の培養液を播種し、48時間培養した。その後、最終濃度が1-500 μ g/mlに調整したEGCgを添加し、24時間作用させた。プレート表面に付着したバイオフィーム細菌を1%クリスタルバイオレットで染色、エタノールで抽出後、595 nmの波長を測定し、評価した。EGCg無添加のものをコントロール群とした。統計学的有意差の検討にはFisher's PLSDを用いた。また、試料の一部は、浸漬固定後、脱水、置換し、凍結乾燥を行った後、白金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡(SEM)観察に供した。3次元的観察には、マイクロタイタープレートの代わりにガラスボトムディッシュ上でバイオフィームを形成させた後、Live/Dead® Kitsにて染色し、共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)観察を行った。

2. AI-2産生に及ぼす影響の検索: AI-2のレポーター株である *Vibrio harveyi* BB170 を AB 培地で一晚培養した。これを、5000 倍に希釈したものに、EGCg を作用させた *P. gingivalis* の上清を添加し 30°C で培養した。一定時間後の培養液の発光をルミノメーターで測定し、EGCg が *P. gingivalis* の AI-2 産生に及ぼす影響を評価した。

【成績】

1. 300, 400, 500 μ g/ml の EGCg を添加した群において、コントロール群と比較し有意にバイオフィーム量が低下した ($p < 0.001$)。SEM 観察においては、いずれの群も菌体外マトリックスに覆われたバイオフィームが観察され、微細形態学的な変化は認められなかった。共焦点レーザー顕微鏡観察では、EGCg を 300, 400, 500 μ g/ml 添加した群において、バイオフィームの厚みの減少および死菌が認められた。

2. 1~25 μ g/ml の低濃度の EGCg 作用群においてはコントロール群との間で、*P. gingivalis* の AI-2 産生に減少傾向を認めた。

【考察および結論】

緑茶カテキンの主要成分である EGCg は、MIC 以下の濃度で *P. gingivalis* のバイオフィームを抑制することが明らかとなった。また、*P. gingivalis* の AI-2 産生に影響を及ぼすことから、*P. gingivalis* バイオフィームとともに病原性をコントロールする可能性が示唆された。

参考文献 1) 朝日陽子ら, 日歯保存学誌 51 (春季特別号), 34, 2008

2) *BioSci Biotech Biochem*, 60(5), 745-9, 1996

茶カテキンはLPS誘導性の歯周ポケット形成および歯槽骨吸収を抑制した

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 展開医療科学講座 歯周病学分野
○吉永泰周, 鶴飼 孝, 藏本明子, 中村弘隆, 吉永美穂, 白石千秋, 吉村篤利, 野口恵司,
高森雄三, 原 宜興

Green tea catechin suppressed the LPS-induced periodontal pocket formation and alveolar bone resorption

Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
○YOSHINAGA Yasunori, UKAI Takashi, KURAMOTO Akiko, NAKAMURA Hirotaka, YOSHINAGA Miho,
SHIRAIISHI Chiaki, YOSHIMURA Atsutoshi, NOGUCHI Satoshi, TAKAMORI Yuuzou, HARA Yoshitaka

【研究目的】

歯周炎は、プラーク由来の細菌によって誘導される慢性炎症性疾患であり、臨床的特徴は歯周ポケット形成と歯槽骨吸収である。茶カテキンは抗酸化作用、抗菌作用、抗炎症作用、抗癌作用など様々な生物学的活性を示すが、歯周炎に対する作用はよくわかっていない。そこで今回我々は、LPS誘導性ラット歯周炎モデルを用いて、茶カテキンの歯周ポケット形成及び歯槽骨吸収に与える影響について検討した。

【材料および方法】

- 1) **実験スケジュール** : 9週齢雄性Lewis系ラットを用いて実験を行った。すべてのラットは、*E. coli*由来LPSを Freund's complete adjuvant とともに腹腔内投与し、28日後に再度LPSを Freund's incomplete adjuvant とともに腹腔内投与を行うことにより免疫感作を行った。2回目の腹腔内投与後、上顎両側第一臼歯の口蓋側歯肉溝にLPSを30分間(5分おきに $3\mu\text{l}$ ずつ)24時間毎に滴下した群をLPS群、LPSと茶カテキンを混合した溶液を滴下した群をカテキン群とした。両群ともに10、20回滴下した24時間後に屠殺し、上顎骨を摘出、固定、脱灰、パラフィン包埋後、 $4\mu\text{m}$ の組織切片を作成し、HE染色、RANKLの免疫染色を行った。コントロールとして無滴下の感作ラットを用いた。
- 2) **血清抗体レベルの測定** : LPSによる免疫感作の状態を確認するために、2回目のLPS腹腔内投与後、1、6、11、21日後に各ラットの眼窩下静脈から血液を採取、血清を分離し、ELISA法により*E. coli* LPSに対するIgG抗体レベルを吸光度にて評価した。
- 3) **炎症の評価および形態学的評価** : HE染色を行った切片を用いて、接合上皮(JE)周囲結合組織またはJE内へ浸潤した炎症性細胞数を光学顕微鏡下にて計測し、炎症性細胞浸潤について評価した。さらに歯周ポケット形成の評価としてアタッチメントロスすなわちセメント・エナメル境(CEJ)から根面に接したJEの歯冠側端までの距離を、さらに骨吸収の評価としてCEJから骨頂部までの距離をPCソフトImage Jにて測定した。
- 4) **骨面周囲のRANKL陽性細胞数** : RANKL免疫染色を行った切片を用いて、RANKL陽性細胞の分布を確認し、骨面周囲のRANKL陽性細胞数を光学顕微鏡下にて計測した。

【結果】

血清抗体価は、LPS群、カテキン群ともに2回目の免疫感作6日後には上昇し、実験期間中その上昇は維持され、実験期間中両群間に有意な差は認められなかった。JE内およびJE周囲の結合組織へ浸潤した炎症性細胞数、アタッチメントロス、歯槽骨吸収は、コントロール群と比べてLPS群で有意に増加していた。しかしながら、カテキン群ではLPS群と比べて10日、20日ともに有意に減少していた。骨面周囲のRANKL陽性細胞数は、10日、20日ともにコントロール群と比べてLPS群で増加していたが、10日目においてカテキン群の方がLPS群と比べて有意に減少していた。

【結論および考察】

本実験の結果より、茶カテキンは炎症性細胞浸潤を抑制し歯周ポケット形成を減少させ、さらにRANKL産生を抑制することによりLPS誘導性の歯槽骨吸収を抑制することが示唆された。これらの茶カテキンの作用は、臨床的に応用することにより歯周病の予防および治療に有用であると考えられる。

炭酸ガスレーザー照射は骨移植後の治癒を促進する

奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学分野

○中 貴弘, 横瀬敏志

Carbon Dioxide Laser Irradiation Induces Bone Healing After Bone Transplantation
Division of Operative Dentistry, Department of Conservative Dentistry,
Ohu University, School of Dentistry.
○NAKA Takahiro, YOKOSE Satoshi

【研究目的】炭酸ガスレーザー照射は、歯科診療において応用頻度が高いが、その効果に対する科学的根拠は多くない。特に骨代謝領域に対する検討は少ない。炭酸ガスレーザー照射はメカニカルフォース（機械的刺激）の一つであり、メカニカルフォースの受容体が骨細胞であると考えられていることから、我々はこれまで、炭酸ガスレーザー照射と骨細胞の関係について研究報告を行ってきた。今回、骨移植後の治癒に対して、炭酸ガスレーザー照射がどのような影響を及ぼすかについて動物実験モデルを応用することにより解析を行ったので報告する。

【材料および方法】本実験は、奥羽大学実験動物委員会の承認を得た上で行った。10週齢メスSDラット（35匹）を使用し実験を行った。ラットは、骨片供給群、A群およびB群の3群に分類した。A・B両群のラットに対し、麻酔後に脛骨を露出させ、バーにて1mm×3mmの骨欠損を形成し、骨移植片を埋入した。移植片は、骨片供給群のラット脛骨を皮質骨のみとし、1mm×3mmの小片に加工し、埋入まで冷却したPBS溶液中で保管したものと炭酸ガスレーザー照射を行ったものを準備した。炭酸ガスレーザー照射は、出力0.5w、照射距離3cm、照射時間30秒、トータルエネルギー密度132.3 J/cm²とした。AB両群のラットに対し、右側脛骨埋入窩に未処理の骨片（A-Control群あるいはB-Control群）を、左側にはレーザー照射した骨片（A-Laser群あるいはB-Laser群）を埋入した。骨片移植後、B群にのみ炭酸ガスレーザー照射を、埋入直後、1日、3日、5日、7日後の計5回、皮膚面上から出力0.5w、照射距離3cm、照射時間30秒、トータルエネルギー密度132.3 J/cm²にて行った。試料採取は、埋入後10日と20日に実施し、軟エックス線写真撮影後、EDTAにて脱灰を行なった後にパラフィン包埋し、連続切片を作製した。切片を用いて、酒石酸耐性酸性フォスファターゼ（TRAP）染色およびSOSTに対する免疫組織学的染色を施した。

【結果】レーザー照射を行った移植骨片では、骨細胞の形態的变化が認められた。移植後10日のA群においては、明確な移植骨と周囲皮質骨の癒合は確認できなかったが、B群のラットでは癒合が促進されている所見が認められた。TRAP染色の結果でも、有意な陽性細胞数の増加が認められた。免疫組織化学的解析の結果は、Sclerostinの発現が、移植後10日の時点でB群において多く認められた。移植後20日のB群においては、さらに周囲骨との癒合が認められる所見が得られた。一方、移植前にレーザー照射を行った群と行っていない群では、治癒に対する差は認められなかった。

【考察】炭酸ガスレーザー照射が、骨移植後の代謝に与える影響を検討した結果、B群ではA群と比較して骨代謝が亢進され、移植骨と周囲骨の癒合が促進された。これは、骨細胞が炭酸ガスレーザーの刺激をメカニカルフォースとして感知し、骨細胞が産生するシグナル伝達が亢進することで、結果として骨代謝が亢進され、移植骨周囲の治癒が促進されたものと考えられる。今後は、メカニカルフォースに反応した骨細胞が、どのようなシグナルを産生することで骨代謝が亢進されるのかを解析していく予定である。

【結論】炭酸ガスレーザー照射は、骨移植後の治癒を促進することが示唆された。

フルオロアパタイト置換型リン酸カルシウムセメントの物理的特性

日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門², 米国国立標準技術院パッフェンバーガー研究所³

○尾形英大¹, 林 誠^{1,2}, 小森規雄¹, 鈴木裕介¹, 高木章三³, CHOW Laurence³, 小木曾文内^{1,2}

Physical properties of Fluorapatite-forming Calcium Phosphate Cements

Departments of Endodontics¹ division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, ADA Foundation Paffenbarger Research Center, National Institute of Standards and Technology³

○OGATA Hidehiro¹, HAYASHI Makoto^{1,2}, KOMORI Norio¹, SUZUKI Yusuke¹, TAKAGI Shozo³, CHOW Laurence³, OGISO Bunnai^{1,2}

【研究目的】

近年、リン酸カルシウムセメントを主成分とした多種の骨補填材が臨床に広く使用されている。これらのなかに1985年にBrownとChowによって開発されたCalcium Phosphate Cement (CPC)がある。このセメントは、Dicalcium Phosphate Anhydrous (CaHPO₄: DCPA)とTetracalcium Phosphate (Ca₄(PO₄)₂O: TTCP)の等モル比からなり、水分の介在により硬化し最終産物がHydroxyapatite (HA)になることで知られている。

一方、フロライド (F) の存在するHAは骨構造を強化するとの報告がある。このことから、演者らはフルオロアパタイト置換型CPC (FA-forming CPC)を試作し、物理学的特性を調べる一環として、硬化時間、Diametral tensile strength (DTS)、気孔率、X線回析について検討を行った。

【材料および方法】

CPC粉末にフッ化ナトリウム配合量を各5段階 (F/Ca=0 (control), 0.05, 0.1, 0.2 (FAの化学量論比), 0.4)に変化させたセメントを試作し、0.5Mのリン酸溶液とP/L=2.5になるように混和した。その後すぐに、ステンレスの型 (直径6 mm、厚さ3 mm)に充填し、2枚のフリットガラス版で挟み、37°C、湿度100%の環境下のインキュベーター内で4時間保管した。セメント硬化後、試料をステンレス型から外し、同様の環境下でPhysiologic like solution (PLS) (1.15M CaCl₂, 133mM NaCl, 1.2mM KH₂PO₄, 50mM HEPES, pH=7.4) (10mL/disc)に20時間および1週間浸漬した。

硬化時間の測定はGilmore needle methodを用いた。DTSはINSTRON 5500R Testing Machineを用い、速度は10mm/minとして算出した。気孔率は被検材料を1日乾燥させて後、密度より算出した。X線回析は、vertically-mounted diffractometer system (D/MAX 2000, Rigaku, Danvers, MA)を用いた。測定結果はTwo-way ANOVAを用いて、 $P < 0.05$ にて統計処理を行った。

【成績】

フッ化ナトリウム配合量を増加させた場合、硬化時間はcontrolと比較し、F/Ca=0.05、0.1、0.2は有意に低い値を示し、F/Ca=0.4は有意に高い値を示した。DTSは、controlと比較し、すべてのグループで有意に低い値を示した。気孔率は、controlと比較し、F/Ca=0.05、0.1で有意差は無く、F/Ca=0.2、0.4は有意に高い値を示した。X線回析では、20時間PLSに浸漬した場合、controlと比較し、すべてのグループにおいてTTCP量の増加が見られた。また、1週間PLSに浸漬した場合、20時間浸漬後と比較し、すべてのグループにおいてHA量の増加が見られた。

【考察および結論】

以上の結果より、FA-forming CPCの物理学的特性は、骨補填材として臨床応用できる可能性が示唆された。F/Ca=0.4では、X線回析パターンがTTCPと類似していたため、FAがTTCPの表面を覆ってしまったと考えられる。このことにより、他のグループと比較し、硬化時間の延長、気孔率の増加、およびDTSが低下したものと推察された。

魚コラーゲンの物理・化学的性質

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野
○山本耕平, 池田 毅, 山田志津香, 林 善彦
Physicochemical Properties of Fish Collagen
Department of Cariology, Nagasaki University
Graduate School of Biomedical Sciences

○YAMAMOTO Kohei, IKEDA Takeshi, YAMADA Shizuka, HAYASHI Yoshihiko

【緒言】再生医療において不可欠な3要素、細胞、足場、栄養素のうち、われわれは足場材に関して種々検討を加えている。キトサンの足場材としての特性に関して、キトサンスポンジを試作しすでに報告を行ってきた(第134回日本歯科保存学会学術大会)。残念ながら、キトサンはイヌなどの大動物の歯髄への応用で初期に急性炎症を惹起させる欠点を有している。そこで、人獣共通感染症の対象とならない魚コラーゲンについて足場材としての検討を開始している。その物理・化学的性状について報告する。

【材料および方法】

- 1) 魚コラーゲン; テラピアの皮膚からペプシン可溶化し1、2%に調整されたタイプIアテロ化コラーゲン(5mM酢酸溶液、0.45 μ mフィルター濾過済)は、(株)ニッピバイオマトリクス研究所から提供を受けた。
- 2) 変性温度計測; 各種濃度の魚コラーゲン溶液の変性温度はゲル化の前後で示差走査熱量計(エスアイアイ・ナノテクノロジー EXSTAR DSC6000)によって計測した。
- 3) 物性試験; 魚コラーゲンを凍結乾燥して得られた円柱状のサンプルをPBS緩衝液に浸漬し濡れた状態で、床置型オートグラフ(島津オートグラフAG-X)にて静的引張試験を行い、応力-ひずみ曲線により強度、柔軟性を評価した。
- 4) エンドトキシン含有量; 上記スポンジを1時間浸漬したPBS緩衝液から検体を採取し、反応液を添加後マイクロプレートリーダー(コロナSH-1000)内にて、カイネティック比色法により吸光度(405nm)の経時的変化率(mAbs/min)を測定し、エンドトキシン含有量(EU/ml)を算出した。
- 5) 形態観察; 各濃度の溶液から凍結乾燥によって調整したスポンジ体を、デジタルマイクロスコープ(キーエンスVHX-1000)で観察した。

【結果】今回使用したコラーゲンのアミノ酸組成から、プロリンの水酸化率は43%と比較的高かった。コラーゲンの物性に影響する変性温度は、0.5、1、2%のいずれの濃度でも約35 $^{\circ}$ Cであった。またゲル化後は40 $^{\circ}$ C程度に上昇することが確認できた。

1、2%の魚コラーゲンから作製したスポンジは、PBS緩衝液で濡れた状態で、0.1MPa以上の引張強度を示し、1%以下のものと比べて強度の増加が顕著であった。

エンドトキシン析出量の結果については、0.01EU/ml程度となり、いずれも日常の臨床上多用されている注射用蒸留水の目安規格値である0.25EU/ml以下であった。

作製したスポンジは、形態的にはメッシュ状構造をとっており、孔径は100~200 μ m程度であった。

【まとめ】魚コラーゲンは、すでに報告したキトサンスポンジと比べて同等以上の物性を有していた。魚コラーゲンは一般に変性温度が低いため臨床への応用には、制約があるとされていたが、今回の結果から、熱帯域の魚であるテラピアでは予想された以上の高い変性温度が確認できたので、今後は、ゲル化、架橋化の調整によって生体への応用の可能性が示唆された。現在歯髄、歯槽骨組織内における足場材として不可欠な特性は生体親和性および生分解性である。埋入後の組織反応、生体内分解動態など検討を加える予定である。

【参考文献】

- 1 ; Hayashi Y: Application of chitosan oligosaccharide and glucosamine in dentistry. In *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*, ed. Se-Kwon Kim, CRC Press- Taylor & Francis Group, 447-460, 2010.
- 2 ; Hayashi Y, Yamada S, Ikeda T, Yanagiguchi K: Fish collagen and tissue repair. In *Marine Cosmeceuticals: Trends and Prospects*, ed. Se-Kwon Kim, CRC Press- Taylor & Francis Group, in press, 2011.

ペリオスチンによる骨芽細胞分化制御

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯髄生物学分野¹, 口腔病理学分野²,
東京工業大学大学院生命理工学研究科³

○川島伸之¹, 周 夢宇¹, 須田英明¹, 工藤 明³, 勝部憲一²

Regulation of osteoblast differentiation by periostin

Pulp Biology and Endodontics¹, Section of Oral Pathology²,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
Department of Biological Information, Tokyo Institute of Technology³
○KAWASHIMA Nobuyuki¹, ZHOU Mengyu¹, SUDA Hideaki¹, KUDO Akira³, KATSUBE Ken-ichi²

【研究目的】

ペリオスチン (Postn) は osteoblast specific factor と呼ばれ、骨芽細胞分化において重要な働きを担っている。Postn が欠損したマウスにおいては、骨に負荷をかけることにより、その構造に質的な異常が生じることが報告されている。Postn の主要な機能はコラーゲンの三次元構造の成熟にあるといわれているが、他の機能については未だ詳細が不明である。ところで、Postn は非石灰化組織である歯根膜に強く発現しており、歯根膜のマーカー遺伝子のひとつでもある。このことは、Postn が単に骨芽細胞の分化誘導以上の機能を有している可能性を示唆する。さらに我々は、骨芽細胞への分化傾向の強いマウス骨髄間質細胞 Kusa-A1 と、同じ組織由来で分化傾向の低い Kusa-O との間で遺伝子発現を比較検討したところ、特に Kusa-O 細胞に発現が高かった遺伝子の一つが Postn であった。今回、Postn が骨芽細胞分化を抑制的に制御している知見が得られたのでここに報告する。

【材料および方法】

<Postn 発現誘導および抑制>

Postn を強制発現させるために、Kusa-A1 に Postn 発現ベクターをトランスフェクションし、シングルコロニーを抗生剤により選別して安定発現株を作製した。他方、Postn 発現を抑制するために、Kusa-O に Postn RNAi (Silencer® Select Pre-Designed and Validated siRNA, Applied Biosystems) をトランスフェクションした。

<機能解析>

1. 石灰化結節形成

石灰化誘導培地(10%FBS, 5mM β -glycerophosphate, 0.2mM ascorbic acid 含有 α -MEM 培地)にて細胞を培養し、形成された石灰化結節をアリザリンにて染色した。

2. 骨芽細胞マーカー発現

骨芽細胞マーカー発現をリアルタイム PCR (rPCR)にて解析した。すなわち、培養細胞より RNA を抽出 (QuickGene Mini80, 富士フィルム) し、抽出された RNA (300ng) より cDNA を合成 (RevertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit, Thermo) し、その cDNA をテンプレートに骨芽細胞マーカー特異的プライマーを用いて rPCR (GoTaq™ qPCR Master Mix, Promega, CFX96, BioRad) を行った。

【結果および考察】

Kusa-A1 細胞は骨芽細胞への強い分化能を示し、石灰化誘導培地中にて石灰化結節を容易に形成する。Postn 安定発現株においては、石灰化結節形成が抑制される傾向を示した。またオステオカルシンをはじめとする骨芽細胞マーカーの発現も抑制されていた。一方、Kusa-A1 と同じ組織由来でありながら骨芽細胞への分化傾向が弱い Kusa-O において Postn 発現を抑制したところ、石灰化が亢進する傾向が認められた。さらに骨芽細胞マーカー発現も亢進していた。以上の知見は、Postn 発現の増強が骨芽細胞分化および石灰化を抑制することを示唆している。

【結論】

Postn 発現の増強は、骨芽細胞の分化および成熟を負の方向に向かわせると考えられた。

Dentin sialophosphoprotein の骨芽細胞分化誘導作用並びにそのメカニズムの解析

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 顎口腔頸部医科学講座 健康増進歯学研究室

○鈴木茂樹, 小武家誠司, 西村英紀

Dentin sialophosphoprotein induction of osteoblastic differentiation and the analysis of its cleavage into two functional proteins

Department of Dental Science for Health Promotion Division of Cervico-Gnathostomatology Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences
OSUZUKI Shigeki, KOBUKE Seiji, NISHIMURA Fusanori

<研究目的>歯の支持組織である象牙質は TypeI collagen が豊富に存在する骨に似た組織であり、コラーゲン以外に多量に存在する非コラーゲンタンパクが協調的に作用し硬組織を形成する。Dentin phosphoprotein (DPP) 及び Dentin Sialoprotein (DSP) は、象牙質に最も多量に存在する非コラーゲンタンパクであり、それぞれ象牙質石灰化に必須の役割を果たすと考えられている。DSP はプロテオグリカンとして、DPP は高度にリン酸化されたタンパクとして象牙質に沈着する。DSP と DPP は *Dentin sialophosphoprotein (DSPP)* という 1 遺伝子が合成された後、DSPP precursor protein が開裂されることにより DSP と DPP となり象牙質に沈着する。これまでに当研究室では、正常 DSPP または開裂抵抗性 DSPP を発現する細胞株を作製したことを報告してきた。そこで本研究では、これら樹立した細胞を用いて、DSPP の硬組織形成分化に対する影響を検討するとともに、DSPP 開裂の意義とメカニズムの解明を試みた。

<材料および方法> **1.** DSP 抗体を用いたウエスタンブロッティング法により細胞上清中の DSP (DSPP) のサイズや発現量の検討を行った。**2.** MC3T3 (マウス前骨芽細胞株) DSPP 過剰発現細胞株を石灰化誘導培地で長期に培養し、アルカリフォスファターゼ活性並びにアリザリン染色にて硬組織分化に対する影響を検討した。**3.** 更に、正常 DSPP 過剰発現株を石灰化誘導培地で培養の際、細胞膜透過性 Furin Inhibitor I を 10、20、50、100 μ g/ml の濃度で上清に加え、Furin Inhibitor I が DSPP の開裂を抑制するか否かを検討し、その硬組織形成分化に対する影響についても検討した。**4.** 培養 3 日ごとに細胞数を血球計測板にてカウントし、正常 DSPP または開裂抵抗性 DSPP 過剰発現が細胞増殖に与える影響についても検討した。

<結果> **1.** MC3T3 細胞株では、正常 DSPP、開裂抵抗性 DSPP、コントロールそれぞれ 3 種のクローン用安定発現株を、C3H/10T1/2 ではそれぞれ 2 種の安定発現株を作製した。これら細胞上清中の DSP のタンパクサイズ並びに量を DSP 特異抗体によるウエスタンブロッティングにて解析した結果、MC3T3、C3H/10T1/2 共に正常 DSPP では 100kDa 以下にスミアに広がるバンドを認めた。開裂抵抗性 DSPP では 100kDa 以上に強いバンドを認め、100kDa 以下には全くバンドを認めなかった。コントロールではバンドを認めなかった。**2.** 石灰化誘導時のアルカリフォスファターゼ活性は培養 0、3、6、9、12 日において、正常 DSPP 過剰発現株では開裂抵抗性 DSPP 過剰発現株並びにコントロールと比較して有意に高いことが明らかとなった。開裂抵抗性 DSPP 過剰発現株とコントロール間には有意な差は認められなかった。また、石灰化ノジュール形成は正常 DSPP 過剰発現株では培養 9 日目から明らかになるのに対し、開裂抵抗性 DSPP 並びにコントロールでは培養 18 日以降にアリザリン陽性染色像が認められた。**3.** Furin Inhibitor I で細胞を刺激することにより、正常 DSPP 過剰発現株上清に認められる DSPP は非開裂型の割合が増え、50 μ g/ml 刺激でほぼすべての DSPP の開裂が抑制された。更に、Furin Inhibitor I 刺激で、早期分化マーカーである *msx1* や後期分化マーカーである *osteocalcin* 遺伝子の発現低下が認められた。**4.** 細胞増殖速度は正常 DSPP 過剰発現株では、開裂抵抗性 DSPP 並びにコントロールと比較して有意に遅いことが明らかとなった。開裂抵抗性 DSPP とコントロール間では有意な差は認められなかった。

<考察及び結論>以上の結果より、DSPP の開裂抑制はその細胞外分泌を抑制しないだけでなく、更に開裂抵抗性 DSPP では正常 DSPP より強いバンドシグナルを認めることが明らかとなった。正常 DSPP の過剰発現は骨芽細胞の硬組織形成分化を促進するが、開裂抵抗性 DSPP では促進が認められなかったことから、DSPP は象牙質に沈着する細胞外基質としてのみではなく、積極的に硬組織形成細胞分化を促進させる分子であることが明らかとなった。更に、その機能発現には DSPP の DSP 及び DPP への開裂が必須であることが明らかとなった。

新規幹細胞集団における硬組織再生能の評価

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)
○伊藤祥作, 松下健太, 池田 峻, 山本由美子, 恵比須繁之

The evaluation of the differentiation capacity of the novel stem cell population
Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○ITO Shousaku, MATSUSHITA Kenta, IKEDA Shun, YAMAMOTO Yumiko, EBISU Shigeyuki

【研究目的】

未分化間葉系幹細胞は、骨芽細胞・脂肪細胞・軟骨芽細胞に分化しうる幹細胞として定義されている。そして、歯内・歯周組織を構成する骨芽細胞・線維芽細胞・象牙芽細胞・歯髓細胞などは、未分化間葉系幹細胞由来であると考
えられている。我々はマグネティックビーズを用いた簡便な精製法により未分化間葉系幹細胞の濃縮に成功したこ
とを本学会 2009 年度秋季学術大会 (第 131 回) にて報告した。今回、我々は新規幹細胞集団(Hip0P:Highly purified
osteoprogenitors)の硬組織再生能について解析し、新しい知見が得られたので報告する。

【材料と方法】

- 1) マウス骨髄 (C57BL/6J および 129-Tg(ACTB-EYFP)7AC5Nagy/J) から骨髄細胞を調整し、10%FBS 含有 α MEM 中で培
養する。培養 3 日目に PBS にて浮遊細胞を除去する。2 週間培養の後、トリプシン・EDTA 処理により付着細胞を
回収する (骨髄ストローマ細胞)。
- 2) 回収した骨髄ストローマ細胞と、血球系細胞のマーカー分子に対する抗体 (抗 CD5、抗 CD45、抗 CD11b、抗 Gr-1、
抗 7-4、抗 Ter-119、抗 CD45R) を結合したマグネティックビーズとを反応させる。反応後、細胞をマグネティッ
クカラムに注入し、カラムから流出してきた細胞を回収する。
- 3) マグネティックビーズ法により精製した新規細胞集団について以下の方法にて評価を行った。
 - (1) 移植片中における移植細胞の局在の評価: 129-Tg(ACTB-EYFP)7AC5Nagy/J から調整した新規細胞集団を ICR
nude マウスに移入する。約 8 週後に移植片を摘出し、脱灰および固定ののち凍結切片を作製した。抗 CD34
抗体を用いて免疫化学組織染色をおこない移植細胞の局在を評価した。
 - (2) in vivo における硬組織再生能についての評価: C57BL/6J から調整した様々な細胞数 (1.0×10^5 個、 2.5×10^5 個、
 7.5×10^5 個、 1.0×10^6 個、 1.5×10^6 個、 2.0×10^6 個) の新規細胞集団を ICR nude マウスに移入する。約 8 週後に移
植片を摘出し micro-CT にて硬組織量を計測した。

【結果】

- 1) 移植細胞が分化して形成された移植片は、皮質骨用硬組織によって囲まれ (egg shape)、その中には、骨梁や骨
髄などの組織が観察された。移植片のすべての領域において YFP 陽性細胞が観察され、移植細胞により再構成さ
れていることが明らかとなった。抗 CD34 抗体による免疫化学組織染色では、YFP 陽性血管内皮細胞の周囲に多数
の CD34 陽性が認められ骨髄 niche の形成が観察された。
- 2) 移植細胞数と硬組織産生量は、正の強い相関関係が認められた ($r=0.97$)。

【結論】

新規幹細胞集団 (Hip0P) により再生する硬組織は、移植する細胞数と相関することが明らかとなった。

ラット象牙芽細胞の分化におよぼす β -catenin の作用について

奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学分野
○門倉弘志, 和田康弘, 和田隆史, 中 貴弘, 横瀬敏志

Effects of β -catenin on odontoblast differentiation in rat dental pulp cells

Division of operative dentistry, Department of conservative dentistry, Ohu university school of dentistry
○KADOKURA Hiroshi, WADA Yasuhiro, WADA Takashi, NAKA Takahiro, YOKOSE Satoshi

【研究目的】

個体発生や形態形成の場において Wnt ファミリーは分泌シグナル因子として様々な器官、組織、細胞に作用し、複数からなる Wnt シグナル伝達経路を介して細胞の増殖や分化をコントロールしている。歯の発生過程においても Wnt ファミリーは歯胚にその発現が認められ、歯数や歯の形態等の決定に重要な働きがあることが報告されている。しかし、歯髄組織および象牙質形成における Wnt ファミリーの作用は未だ不明な点が多く、さらなる研究が望まれている。今回、我々は象牙芽細胞分化における Wnt シグナルの作用を調べることを目的として、Wnt シグナル伝達経路の一つである canonical Wnt/ β -catenin シグナル伝達経路に注目し、ラット培養歯髄細胞を用いて実験を行ったので報告する。

【材料と方法】

5 週齢の雌ラットの下顎切歯から歯髄組織を摘出し、細切後にコラーゲン-トリプシン酵素液にて分離した細胞を実験に用いた。培地は 10%CS α MEM に 1.5mM の β グリセロリン酸と 50 μ g/ml のアスコルビン酸を添加して使用した。 β -catenin の核内への集積の為に GSK-3 β の阻害薬として塩化リチウムを加えた群 (LiCl 添加群)、を実験群とし、対照群と比較した。培養 20 日目において ALP 染色法および象牙質様石灰化結節の解析の為に、Von Kossa 染色法を行った。実験群および対照群について、象牙芽細胞の分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ (ALP)、DSP、オステオカルシン (OCN) mRNA の発現をリアルタイム PCR 法により解析した。また Wnt シグナルのアンタゴニストであり、硬組織形成に関わるシグナル因子である SOST mRNA の発現について LiCl 群、対照群、そして遺伝子導入により培養歯髄細胞の β -catenin を knock down した群 (β -KD 群) においてリアルタイム PCR 法により解析した。

【結果と考察】

対照群では培養 20 日目には ALP 陽性細胞の周囲に象牙質様石灰化結節の形成が認められたが、LiCl 添加群では対照群と比較して象牙質様石灰化結節は減少した。ALP、DSP、OCN mRNA の発現は対照群に比較して LiCl 添加群では抑制された。以上の結果から canonical Wnt/ β -catenin シグナル伝達経路は象牙芽細胞の分化を抑制することが示唆された。さらに SOST mRNA の発現を解析したところ、対照群と比較して LiCl 添加群ではその発現は亢進していた。一方、 β -KD 群では SOST 発現の亢進は認められなかった。SOST の遺伝子産物である sclerostin は Wnt シグナルのアンタゴニストであり、SOST 遺伝子のノックアウトマウスでは骨の過形成が起こる。また、sclerostin は骨芽細胞の骨形成を抑制することが報告されている。さらに骨と象牙質の形成には共通の遺伝子発現や同様の石灰化機構があると考えられている。これらのことから sclerostin が骨芽細胞におよぼす作用と同様のメカニズムにより、本実験での象牙芽細胞の分化の抑制が起こった可能性が示唆された。また、LiCl 添加群において SOST mRNA の転写活性が上昇したことから、Wnt シグナルに対して sclerostin の negative feedback loop が存在する可能性が示唆された。

【結論】

Canonical Wnt/ β -catenin signaling pathway はラットの象牙芽細胞分化を調節していることが示唆された。

最終糖化産物(AGEs)がラット培養歯髄細胞の石灰化物形成と抗菌ペプチド発現に及ぼす影響

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 歯周歯内治療学分野

○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-products Affects Calcification and Antimicrobial Peptide Expression in Cultured Rat Dental Pulp Cells

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

○NAKAJIMA Yukiko, INAGAKI Yuji, BANDO Mika, HIROSHIMA Yuka, KIDO Jun-ichi, NAGATA Toshihiko

【研究目的】 糖尿病患者では動脈硬化が合併症として現れるが、近年 AGEs の蓄積が血管の石灰化に重要な役割を担っていることが明らかになった。一方、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。我々の研究室では、糖尿病ラットの歯髄で病的石灰化物の増加やその周囲で骨基質タンパク質の発現が上昇していることを報告した (*J Endod* 36, 1014-20, 2010)。また第 134 回日本歯科保存学会春季学術大会で、①糖尿病ラットの歯髄組織では AGEs 受容体 (RAGE) や骨基質タンパク質である OPN, OCN の mRNA 発現が増強していること、②ラットの歯髄細胞培養系に AGEs を添加すると石灰化骨様結節の形成量、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性、OPN 産生量が増加することを明らかにし、糖尿病ラットの歯髄の石灰化に AGEs が関与していることを示した。そこで本研究では、AGEs の影響が歯髄細胞に特徴的であるかどうかを検証するために、ラットの歯肉線維芽細胞培養系に AGEs を添加し、その石灰化誘導について歯髄細胞培養系と比較した。また、動脈硬化巣では炎症の亢進とともに抗菌ペプチドで Ca²⁺結合能を有する S100A8, S100A9 の発現増加が報告されている。そこで歯髄でも同様の現象が認められるかどうかを検証するために、ラット歯髄細胞培養系に AGEs と LPS を添加し、S100A8, S100A9, IL-6 および IL-1 α の mRNA 発現について調べた。

【材料および方法】 実験材料には 6 週齢の雄性 Wistar 系ラットを用いた。AGEs としては、Takeuchi らの方法に従い AGE-BSA を作製し実験に用いた。歯肉線維芽細胞は Kataoka らの方法に従い下顎臼歯部の歯肉より採取して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%ウシ胎児血清含有 DMEM 培地に AGE-BSA を 200 μ g/ml または 1mg/ml 添加して細胞培養を行った。なお同濃度の BSA を添加した群を対照群とした。最長 28 日まで細胞培養を継続し、ALP 活性の測定およびプレートに形成された石灰化骨様結節に対して von Kossa 染色を行い、歯肉線維芽細胞と歯髄細胞の石灰化指標の変化を比較した。歯髄細胞は Kasugai らの方法に従い上顎切歯より採取してコンフルエントになるまで培養した後、10%ウシ胎児血清含有 EMEM 培地に 1mg/ml AGE-BSA と 1 μ g/ml LPS を添加し、3, 6, 24, 48 時間後に RNA を抽出した。なお同濃度の BSA を添加した群を対照群とした。引き続き S100A8, S100A9, IL-6 および IL-1 α について RT-PCR を行い、mRNA の発現の変化について調べた。

【結果】 ラット歯肉線維芽細胞培養系において AGE-BSA 添加群では何れの添加濃度においても石灰化骨様結節は形成されず、ALP 活性はラット歯髄細胞培養系と比較して極めて低い値を示した。またラット歯髄細胞培養系において AGE-BSA と LPS を添加すると、AGE-BSA 添加群では対照群と比較して、S100A8, S100A9, IL-6 および IL-1 α の mRNA の発現が増強した。

【考察と結論】 ラット歯肉線維芽細胞培養系に AGE-BSA を添加しても、石灰化指標にほとんど変化が認められなかった。この結果より、AGE-BSA 添加によるラット歯髄細胞培養系の石灰化亢進が、歯髄細胞に特有な反応であることが示された。また、AGE-BSA と LPS の添加により抗菌ペプチドや炎症性サイトカインの mRNA の発現が増強したことから、糖尿病ラットの歯髄では AGEs の蓄積により炎症反応が亢進する可能性が示された。以上より、歯髄細胞培養系に AGEs を添加すると石灰化と炎症の両方の指標が増加することが明らかになった。

象牙細管内の動水力学的水圧に対する象牙芽細胞膜の歪みについて

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

○池田英治, 李 穎, 須田英明

Deformation of Odontoblast Membrane in Response to the Hydrodynamic Pressure

Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences,

Tokyo Medical and Dental University

○IKEDA Hideharu, LI Ying, SUDA Hideaki

【研究目的】

象牙芽細胞は歯髄最外層に整列し、単極性の長い突起を象牙細管内に伸ばしている。我々はこれまでに、象牙芽細胞が個々ではなく、電気カップリングを介して機能複合体として働くことを証明した。感覚神経終末を変形させるとされている象牙細管内の動水力学的水圧に対して、象牙芽細胞の体積や形状も変化することが推測される。しかしこの詳細を明らかにした研究はほとんどない。また、あらゆる細胞には体積膨張に対して体積を調節し、生存していくための機能がある。

この研究で我々は象牙芽細胞膜に存在する、機械的刺激に対する体積・形態調節能力を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】

矯正治療の一環として抜歯された4本の小臼歯を用いた。130 μ m以上の単極性突起と局在性の楕円形の核を有する細胞を抜歯後30分以内に単離し、3時間以内に以下の実験に用いた。細胞膜への機械的刺激は、先端を丸めたガラス微小ピペットを用い、圧コントロール式高感度マニピュレーターに装着して行った。細胞外液の浸透圧と温度を調節し、単一チャンネル記録法と化学的穿孔法を用いて、象牙芽細胞の細胞膜表面に存在するイオンチャンネルの動態を記録した。

なおこの研究は、患者(11-14歳)とその保護者からの研究に歯を使用することへの同意と、東京医科歯科大学歯学部倫理委員会の認可を得て行われた。

【成績】

- ①単一チャンネル記録法から、細胞膜の伸展に応答するMg²⁺感受性の非選択的陽イオンチャンネルが存在することが明らかになった。
- ②化学的穿孔法を用いた記録から、陽イオン性電流が観察され、この電流は浸透圧変化に伴う細胞膨張時に増大した。

【考察】

象牙芽細胞膜には細胞膜伸張感受性あるいは膨張感受性の陽イオンチャンネルが存在することが明らかにされた。このチャンネルは、細胞外の機械的変形をエネルギー変換するだけでなく、細胞容積調節にも重要な働きをしていると推測される。この機能は、細胞の変形や体積変化を起こす傷害を受けた際、象牙芽細胞が生存するために重要であると考えられる。

【結論】

象牙芽細胞は、その細胞膜に存在するMg²⁺感受性のある張力感受性イオンチャンネルを介し、細胞膜の歪みを検知して、細胞膜形態および容積を調節していると考えられる。

スクロースによる高浸透圧刺激下における象牙芽細胞の応答

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科保存学分野
○藤澤真理, 徳田雅行, 山下(森元)陽子, 宮下桂子, 鳥居光男

The responses of odontoblast cells under hyperosmotic stress by sucrose

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate School of
Medical and Dental Sciences

○FUJISAWA Mari, TOKUDA Masayuki, YAMASHITA(Morimoto)Yoko, MIYASHITA Keiko, TORII Mitsuo

[研究目的]

我々は以前より、様々な刺激のなかでも浸透圧に着目し、象牙芽細胞へ及ぼす影響について調べている。常に細胞内外の浸透圧の変化を感知している腎臓・肺・角膜などの組織においては、高・低浸透圧下での細胞応答が報告されているが、象牙芽細胞に対する浸透圧の直接的な影響はほとんど解明されていない。

そこで我々は、高浸透圧刺激物質として、甘味痛の原因と考えられるスクロースを用い、高浸透圧刺激が象牙芽細胞に及ぼす影響について検討を行った。

[材料と方法]

<象牙芽細胞の培養と浸透圧刺激の条件>

マウス歯胚から分離培養した odontoblast-lineage cell line; OLC (Arany S. et. al: Biochem. Biophys. Res. Commun. 342:718-724, 2006) を、10% FBS 添加 D-MEM で培養した。実験には 5 ~15 代までの細胞を用いた。

通常培地 (浸透圧 (330 mOsm)) を 1M スクロースにて、500~1000 mOsm に調整したものを刺激用培地とした。

<高浸透圧刺激下での細胞応答の検討>

- 1) 生存率…高浸透圧下での、0, 1, 3, 6, 12, 24 時間後までの生存率を MTT assay にて検討した。
また、MAPKs inhibitor を添加した場合の、浸透圧刺激後の生存率の変化も検討した。
- 2) 細胞形態の変化…高浸透圧刺激後 3 時間の細胞形態を光学顕微鏡下で観察した。
- 3) アクアポリン (AQP) の発現…水チャネルである AQP2, 5 の発現をウェスタンブロット法、免疫蛍光染色にて確認し、AQP の inhibitor である HgCl₂ を用いて、生存率の変化を MTT assay にて検討した。
- 4) シグナル伝達…高浸透圧刺激後、細胞から総タンパクを回収し、MAPKs (p38, JNK, ERK) のリン酸化をウェスタンブロット法にて解析した。
- 5) 細胞死…高浸透圧刺激 3 時間後に DAPI を用いて核染色を行い、蛍光顕微鏡にて核の形態を観察した。また、高浸透圧刺激 3 時間後に、総タンパクを回収し、cleaved caspase-3 の活性化をウェスタンブロット法にて解析した。さらに細胞死の程度を Flow cytometry を用いて解析した。

[結果]

- ・高浸透圧刺激後 3 時間より、浸透圧 600 mOsm 以上では急激に生存率が低下し、細胞形態、核形態も変化した。
- ・AQP のインヒビターである HgCl₂ を添加することで、生存率の低下が有意に抑制された。
- ・活性型 caspase-3, 各種リン酸化 MAPKs は 500 mOsm で発現量の上昇を認めた。
- ・p38, JNK に対する inhibitor を作用させると、700 mOsm で生存率の低下が有意に抑制された。

[考察]

これらの結果より、スクロースは浸透圧を介して象牙芽細胞の細胞死を誘導することが明らかとなった。またこれには、AQP や MAPKs 及び caspase-3 の関与が示唆された。以上から、スクロースによる高浸透圧刺激は、象牙芽細胞に対して様々な細胞応答を促すことが示された。

実験的歯髄炎に対する PRG バリアコートの効果に関する研究

神奈川県歯科大学 口腔治療学講座 歯内療法学分野
○渡部弘隆, 佐藤武則, 武藤徳子, 石井信之

The effect of pulp tissue response to PRG Barrier Coat on rat
Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental College
○WATABE Hirotaka, SATO Takenori, MUTO Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【目的】

窩洞形成後の歯髄組織は、象牙質切削刺激により、切削面直下に位置する象牙芽細胞の変性と毛細血管の拡張が生じ、歯髄炎を引き起こす。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、歯髄鎮痛消炎療法や間接覆髄法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。間接覆髄等に使用するセメントの使用が審美歯科修復における接着性レジン接着性の低下を引き起こすことが危惧されてきたことから、セメント材料に替わる象牙細管封鎖作用を持つ歯面コーティング材が必要とされている。

本実験は新規歯面コーティング材を用いて、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】

4 週齢の♀Wistar ラットに深麻酔を施し、上顎第一臼歯近心歯頸部を歯科用顕微鏡下でグループ状に窩洞形成を施した。実験群として、窩洞形成面に新規歯面コーティング材である PRG バリアコート(松風株式会社)(Coat 群)を通法に従い、乾燥後薄く塗布し、LED 照射器を用いて 10 秒間照射、光重合により硬化させた。対照群としてエッチング処理群と未処理群に分類した。

実験終了 3 日後および 7 日後に灌流固定を行い、顎骨を採取し、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、エッチング処理群と未処理群をコントロール群として比較し、病理組織学的検索を行った。

【結果】

病理組織変化の解析において、実験終了 3 日後の結果は、エッチング処理群では切削面の象牙細管内に多数の細菌の侵入が認められた。切削象牙質直下では、毛細血管の拡張、象牙芽細胞の変性が生じ、多形核白血球を中心とした炎症性細胞の集積が認められた。未処理群では、切削面に細菌の侵入が認められるもののエッチング処理群で認められた炎症性細胞の浸潤は顕著に認められなかった。Coat 群では切削後の象牙細管内への細菌侵入は抑制されており、実験終了 3 日後では、象牙芽細胞の変性は認められるものの象牙芽細胞層下への炎症性細胞の波及はほとんど見られず、実験終了 7 日後ではエッチング処理群と比べて象牙芽細胞の再配列傾向が認められる結果であった。さらにエッチング処理群では、切削象牙質直下には修復象牙質形成が顕著にみられた。

【考察】

本実験の結果から、歯面コーティング材を用いた窩洞形成後の象牙細管封鎖は、象牙細管を經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、窩洞直下の象牙芽細胞層内で炎症性反応をとどめることで、早期に健康歯髄に回復することが示される。歯面コーティング材である PRG バリアコートは窩洞形成後の歯髄組織の炎症反応を最小限に抑える有用な材料であることが示された。

象牙質マトリックスタンパク質 1 (DMP1) 由来合成ペプチド (pA, pB) による ラット露髄面の直接覆罩効果

—増粘剤を添加したプライマーによる創傷部の長期的観察—

日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座¹, 日本歯科大学新潟病院総合診療科²

○鈴木雅也¹, 平賢久², 加藤千景¹, 山内淳一¹, 新海航一¹

Direct Pulp Capping Effect with Synthetic Peptide Derivatives (pA, pB) of Dentin Matrix Protein 1 (DMP1) on Exposed Pulp in Rat

—Long-term Study on Wound Healing Effect of Nano-filler Containing Primer—

Department of Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University¹,
Niigata Hospital, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University²

○SUZUKI Masaya¹, TAIRA Yoshihisa², KATO Chikage¹, YAMAUCHI Junichi¹, SHINKAI Koichi¹

【研究目的】硬組織誘導効果を持つ機能性接着性レジンシステムの開発を目的として、当講座ではCaCl₂添加プライマー、象牙質マトリックスタンパク質 1 (DMP1) 由来合成ペプチド (pA, pB) 添加プライマー、hydroxyapatite 添加ボンド材から構成されるシステムを用いてラット露髄面に直接歯髄覆罩すると、術後 14~28 日で特異な層状構造を呈する修復性象牙質を形成して創傷治癒に至ることを報告した^{1, 2)}。しかし、これらの修復性象牙質は露髄面から離れた比較的深部に形成される傾向がみられ、また、各層の間には歯髄組織が介在していた。この層状形成はCaCl₂ 添加プライマーが歯髄組織内へ一気に浸透・拡散しやすいことが原因であることが、これまでの一連の研究から推測された。そこで、第 134 回日本歯科保存学会において、増粘剤を添加してプライマーの粘性を増加させてCaCl₂ の徐放機能を持たせた結果、いわゆる層状構造は少なくなり均一で密度の高い新生象牙質が誘導される傾向にあることを報告した。今回はより長期の観察結果を追加報告する。

【材料と方法】8~9 週齢の雄性 SD 系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭頂部を露髄し、創面を AD Gel (クラレメディカル) で 5 分間処理、6%NaClO と 3%H₂O₂ による交互洗浄を行った後、直接歯髄覆罩を行った。覆罩に用いた試作接着性レジンシステムは Clearfil Mega bond (MB: クラレメディカル) を基本組成としている。試作プライマーは、MB プライマー (MBP) に CaCl₂ を 5wt% 添加 (P1)、MBP に pA, pB を 5wt% 添加 (P2)、P1 に増粘剤として nano-filler (Aerosil 380, 比表面積が約 380m²/g の hydrophilic fumed silica: 日本アエロジル) を 10wt% 添加 (PIF) の 3 種類、ボンドは MB ボンド (MBB) に hydroxyapatite (OHAp) 粉末を 10wt% 添加 (MB2) の 1 種類を準備した。試作システム群は、Group 1: P1→P2→MB2, Group 2: P1F→P2→MB2, Group 3: P1→P1F→P2→MB2 とした。それぞれの使用法は P1 と P1F: 20 秒処理→エア乾燥, P2: 20 秒処理→エア乾燥→光照射 10 秒, MB2: 塗布後光照射 10 秒である。対照群 (Control Group) には水酸化カルシウム製剤 Dycal (DY: デンツプライ三金) を用いた。窩洞は Clearfil AP-X (APX: クラレメディカル) で修復、光照射は Candelux (モリタ) で行った。観察期間 2, 4, 8, 16 週後に屠殺、4%PFA 溶液で固定した。摘出試料は 10%EDTA 溶液にて脱灰し、通法にてパラフィン連続切片標本を作製した。H-E 染色, Hucker-Conn 組織細菌染色, NF 銀染色, 免疫組織化学染色を行い観察した。

【結果ならびに考察】本システムによる新生象牙質形成の概要は、はじめに露髄面から少し離れた歯髄組織に楕円形で円内側に歯髄組織を含む硬組織を形成した (14 日)。その楕円形の硬組織は経時的に成長を続け、最終的に象牙質橋状の形成に至ったが、円内側に歯髄組織を介在しているためトンネル状構造の存在が示唆された (28 日)。これと同時に露髄部直下では別途新生象牙質の形成が見られ、楕円形の硬組織との間に歯髄組織が存在した。本研究では、各修復性象牙質間に介在する歯髄組織は経時的に減少する傾向がみられたが、観察期間 56~112 日においても完全に硬組織化されることはなかった。しかしながら、介在歯髄組織量は Group 1 に比べて PIF を用いた Group 2 と Group 3 の方がより少なく、CaCl₂ 添加プライマーの粘性増加は密度の高い修復性象牙質の形成には効果的であった。Control Group では、一定の厚みがある象牙質橋を形成した試料から不均一な試料まで様々であり、とくに DY が歯髄組織に押し込まれるように貼葉された試料で修復性象牙質の形成量が少なく、象牙質橋が形成されない試料も存在した。

【参考文献】

1) 加藤喜郎, 他: 象牙質マトリックスタンパク質 (DMP1) 由来合成ペプチド (pA, pB) によるラット露髄面の直接覆罩効果, 日歯保存誌 50 (秋季特別号), P12, 2007.

2) Yoshihisa Taira & others: Direct Pulp Capping Effect with Experimentally Developed Adhesive Resin Systems Containing Dentin Promoting Agents on Rat Pulp -Mixed Amounts of Additives and Their Effect on Wound Healing-, Odontology, 2011, in press.

ヒト歯髄培養細胞におけるエンドサイトーシスを介した MMP-3 による CTGF/CCN2 発現調節

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, 杉谷博士², 松島 潔^{1,3}

Regulation of MMP-3-induced CTGF/CCN2 expression via endocytosis in human dental pulp cells

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan¹
Department of Veterinary Biochemistry, College of Bioresource Sciences, Nihon University, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, Japan²
Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Matsudo, Chiba 271-8587, Japan³

○MUROMACHI Koichiro¹, KAMIO Naoto¹, NARITA Takanori², ANNEN-KAMIO Motoyo¹, SUGIYA Hiroshi², MATSUSHIMA Kiyoshi^{1,3}

【目的】

私たちの研究グループでは MMP-3 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研究を行い、CTGF/CCN2 発現がヒト歯髄培養細胞において MMP-3 により促進され、細胞遊走および石灰化に関与することを報告した (第 134 回日本歯科保存学会)。ラット歯髄を断髄後に 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おり、我々は CTGF/CCN2 がその機序に加担する因子のひとつになり得ると仮定しているが、詳細なシグナル伝達の経路は未だ明らかでない。本研究では MMP-3 が CTGF/CCN2 発現を調節する際のシグナル経路の解明を目的とし、細胞が細胞外の物質を取り込む過程であるエンドサイトーシスに着目して CTGF/CCN2 発現を指標に検討を行った。

【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) CTGF/CCN2 発現に対する dynasore の効果：dynamin 阻害剤である dynasore を用いて MMP-3 刺激による CTGF/CCN2 発現に対する効果を検討した。
- 4) CTGF/CCN2 発現に対する NNGH の効果：MMP-3 阻害剤である NNGH を用いて MMP-3 刺激による CTGF/CCN2 発現に対する効果を検討した。
- 5) MMP-3 刺激時の細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 動態：蛍光色素 Fura 2-AM を用い 2 波長蛍光測定法により MMP-3 刺激時のヒト歯髄培養細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 動態を測定した。

【結果】

- 1) ヒト歯髄培養細胞において、MMP-3 刺激による CTGF/CCN2 タンパク質発現は dynasore により濃度依存的に抑制された。
- 2) MMP-3 刺激による CTGF/CCN2 タンパク質発現は NNGH により抑制されなかった。
- 3) MMP-3 刺激によるヒト歯髄培養細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 動態の変化は認められなかった。

【考察】

ヒト歯髄培養細胞において、MMP-3 は dynamin 依存性のエンドサイトーシスにより CTGF/CCN2 タンパク質の発現を調節し、MMP-3 のプロテアーゼ活性は関与しないことが示唆された。Dynamin は GTPase ドメインを有する 100 kDa のタンパク質で、エンドサイトーシスにおける出芽した被覆小胞のくびれ部分に結合しその切り離しに関与していると考えられている。ヒト軟骨細胞様細胞株において蛍光標識し投与した MMP-3 が核内から検出されたとの報告もあることから、MMP-3 は従来考えられていたプロテアーゼとしての働きのみならず自身が細胞内シグナル伝達因子として振る舞い CTGF/CCN2 発現を誘導する能力を持つことが推察された。また、プロテアーゼ活性は必要でないことから MMP-3 の特定のドメインが認識され細胞内に取り込まれ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 MMP-3 はエンドサイトーシスを介して CTGF/CCN2 発現を調節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。

OCT を用いた歯質断層像の解析について—状態変化と OCT イメージの関連性

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,
日野浦歯科医院³, モリタ東京製作所⁴
○黒川弘康^{1,2}, 島村 穰¹, 村山良介¹, 安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 日野浦光³, 釜口昌平⁴, 三畑幸則⁴

Analysis of Tooth Tomographic Images by OCT - Relationship between Morphological Changes and OCT Images

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science Dental Research Center², Nihon University School of Dentistry,
Hinoura Dental Clinic³, J. Morita Tokyo Mfg. Corp⁴
○KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, SHIMAMURA Yutaka¹, MURAYAMA Ryosuke¹, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2},
HINOURA Ko³, KAMAGUCHI Syohei⁴, MIHATA Yukinori⁴

【緒言】

光干渉断層画像法 (Optical Coherence Tomography, OCT) は, 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ることを可能とする画像診断システムとして注目されている。これまで演者らは, OCT の歯科領域への導入を目指して, OCT のイメージ像に及ぼす影響因子を検討するとともに, 光重合型コンポジットレジン修復における接着欠陥の検出など, 多方面からの検討を行ってきた。これらの研究によって得られたデータを考察すると, OCT は歯質の微細な状態変化を客観的に捉えるのに有効であるものの, X 線画像診断とは画像構築原理が異なることから, OCT を用いた歯質の断層像の解析については, これに適した読像法が必要であり, これによって, 歯質の状態変化と OCT イメージ像の変化の関連性を把握することが可能になると考えられた。

そこで, 口腔内環境をシミュレートした pH サイクルに歯質を適用した場合の状態変化を, OCT イメージ像および信号強度グラフによって解析するとともに, レーザ顕微鏡観察を行うことによって歯質の状態変化とイメージ像との関連性について検討した。

【材料および方法】

ウシ下顎前歯歯冠部唇側面を, モデルトリマーを用いて直径 4~6 mm のエナメル質が得られるように研削した。この研削面を耐水性 SiC ペーパーの# 2000 を用いて平坦面が露出するように調整し, これを測定用試片とした。これらの試片を, 0.1M 乳酸緩衝液に 10 分間, 1 日 2 回浸漬し, その後 37℃人工唾液あるいは精製水に保管する 2 条件を設定し, OCT を用いて経時的に観察した。

OCT による断層像の観察には, SLD を光源として, マイケルソン型光干渉計の応用技術によって構築された Time-Domain 型 OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用いた。すなわち, SLD から発せられる近赤外線を試片に照射し, 試片内部から反射あるいは散乱してくる物体光と参照鏡から反射してくる参照光を干渉させることで 2 次元断層像をイメージ化するとともに, 歯質の表層から深層にわたる反射光分布の信号強度を解析することで, その関連性について検討した。

OCT による断層像の観察時期としては, 実験開始前および実験開始 1, 7, 14, 21 および 28 日経過後とし, あわせて, 形状測定レーザマイクロスコープ (VK-9710, キーエンス) を用いて歯質の表面性状を観察した。

【成績および考察】

乳酸緩衝液に浸漬後, 37℃精製水に保管した条件での, 実験開始前および開始 7 日後における OCT のエナメル質断層像からは, 表層付近にシグナルが観察され, 実験期間の延長に伴いシグナルの強度および幅の増加が認められた。また, 信号強度を解析したグラフからは最大ピークが検出され, イメージ像上のシグナルの変化とほぼ一致するように, ピーク幅の拡大および位置の深さ方向への移動が確認され, イメージ像の変化との関連性を示した。一方, レーザ顕微鏡による観察からは, 観察期間の延長に伴って歯質表面が粗糙になる傾向が認められた。

OCT は照射光線の透過性の違いによって内部構造をイメージ化することから, 歯質の変化による光線透過性の変化がイメージ像上のシグナルおよび信号強度ピークの変化として表れたものと考えられた。

【結論】

OCT を用いた歯質断層像の解析においては, 歯質が脱灰することによって生じた基質的变化が光線透過性に影響を及ぼすことによって, OCT イメージ像の変化として表れた。さらに, A スキャンモードにおける信号強度で検出されるピークの幅あるいは位置を検討することによって, より詳細な解析が可能であることが示された。

う蝕病巣におけるう蝕歯質の硬さと DIAGNOdent による評価との関係

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)

○岩見行晃, 山本洋子, 林 美加子, 恵比須繁之

Relationship between the knoop hardness of carious dentin and the evaluation by DIAGNOdent in carious lesions

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

○IWAMI Yukiteru, YAMAMOTO Hiroko, HAYASHI Mikako, EBISU Shigeyuki

【目的】

う蝕病巣の除去に際しては、う蝕歯質の色と並んでう蝕歯質の硬さも病巣内のう蝕の状態を知る有力な指標である。しかしながら、う蝕病巣におけるう蝕歯質の硬さと病巣内のう蝕の進行状態との関係は必ずしも明確ではない。最近、う蝕象牙質硬さ測定器カリオテスター (三栄エムイー) が発売され、口腔内でのう蝕除去中に歯質のヌーブ硬さが簡単に測定できるようになった。また、口腔内でう蝕病巣の診断を行う機器として市販されているレーザーう蝕診断器 DIAGNOdent (KaVo) は、病巣内の細菌や細菌代謝物からの蛍光強度を数値化している可能性が報告され、それによるう蝕歯質の評価結果は、細菌検出率と密接に関連している^{1, 2)}。このため、DIAGNOdent による評価結果は、う蝕の進行状態を数値的に表していると考えられる。

そこで、本研究では、DIAGNOdent による評価結果をう蝕の進行度の Gold Standard として、カリオテスターを用いて測定したう蝕病巣におけるう蝕歯質の硬さととの関係を調べた。

【材料および方法】

う蝕検知液 (Caries Detector, クラレメディカル) で明瞭に染色されるう蝕病巣を持つヒト抜去大白歯のエナメル質う蝕部分を回転研磨器 (EcoMet 3000, Beuhler) により削除し、規格窩洞形成器 (伊藤エンジニアリング) に装着した。その後、う蝕検知液による象牙質の着色が認められなくなるまで歯髄方向に 150 μm ほどのう蝕病巣の削除を繰り返した。この際、歯質削除ごとに、削除面の歯質について、う蝕検知液による染色と DIAGNOdent による評価、カリオテスターによる硬さ測定を行った。

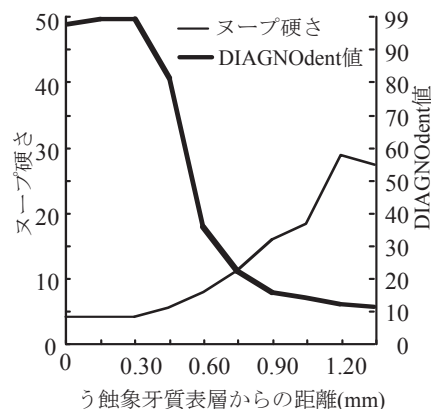
【結果】

う蝕病巣においてう蝕象牙質表層から深部に向かうほど、ヌーブ硬さは大きくなり、DIAGNOdent 値は小さくなる傾向が認められた。また、象牙質う蝕病巣におけるヌーブ硬さと DIAGNOdent 値との間では、非線形回帰が可能であった。

【考察および結論】

象牙質う蝕病巣におけるヌーブ硬さとう蝕の進行度との間には密接な関係が認められ、ヌーブ硬さがう蝕除去の際の目安になる可能性が示唆された。

- 1) Iwami Y *et al.* Relationship between bacterial Infection and evaluation using a laser fluorescence device, DIAGNOdent; Eur J Oral Sci 112, 419-423, 2004.
- 2) Iwami Y *et al.* Relationship between laser fluorescence and bacterial invasion in arrested carious lesions; Lasers Med Sci 26, 439-444, 2011.



う蝕象牙質表層からの距離とヌーブ硬さ及び DIAGNOdent 値との関係

SS-OCT を用いた脱灰象牙質の再石灰化度の推定(TMRとの比較)

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¹

国立長寿医療センター先端医療部口腔機能再建科², 歯と骨のGCOE³

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

Estimation of dentin lesion remineralization by SS-OCT in comparison with TMR

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹

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

National Center for Geriatrics and Gerontology²

GCOE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases³

○NAKASHIMA Syozi¹, SADR Alireza^{1,3}, SHIMADA Yasushi¹, NATSUME Yuko¹, SUMI Yasunori², TAGAMI Junji^{1,3}

【研究目的】人工的に作製した脱灰象牙質を各期間再石灰化し、その期間ごとにSS-OCT (Swept Source Optical Coherence Tomography) にて病変の断層画像を取得し、一方で同一病変のTMR (Transverse Microradiography) 画像から再石灰化の進行度(脱灰深さ、ミネラル損失量など)を計測し、両者の比較からSS-OCT にて再石灰化の進行度が推定できるかどうかを検討することである。

【材料及び方法】表面研磨した牛歯根象牙質を18日間脱灰し、これらを6群に分けそれぞれ一定期間(2~11週間)再石灰化させた(以下、これをサンプル)。同時に、SS-OCT (HSL-2000®, Santec, 波長1260-1360nm) にて、脱灰前後と再石灰化後の断層画像を取得した(図1, 2)。同画像にて、脱灰前線と推察される輝度変化の境界(boundary)が観察されたので、サンプル表面からそこまでの深さを計測した。またImage J画像解析ソフトを用いてSS-OCT画像の断層プロファイル(輝度dB vs 深さ)を作成し、ミネラル溶出量と推定される面積値の差($\Delta R = R_{\text{demin}} - R_{\text{remin}}$; R: dB \times boundary までの深さの積分値)も算出した。一方、再石灰化の終了後、サンプルからTMR用の薄切片を作製し、病変のデジタル画像を取得後(図3)、解析ソフトにて脱灰パラメータ(脱灰深さ、脱灰量: ΔZ)を算出した。こうして得られたOCT情報(boundary深さ、断層プロファイル)と脱灰パラメータとの相関性を検討した。

【結果】1)OCT画像で推定された脱灰深さ(boundary深さ)とTMR解析で得られた脱灰深さとの間に相関性を認めた(図4. Pearson係数: 0.587, $p=0.007$)。2) ΔR 値と ΔZ との間にも同様に相関性を認めた(図5. Pearson係数: 0.540, $p=0.02$)。3) 再石灰化後において多様な断層プロファイルが認められ、脱灰深さや再石灰化表層の形成や厚さと関連するような「特徴(ピークや屈曲点など)」は確認できなかった。

【考察】boundary深さとTMR深さ、および ΔR 値と ΔZ の間に相関性を認めたが、いずれも必ずしも相関係数は高くはなかった。一方、断層プロファイルにて、脱灰深さや再石灰化表層の形成や厚さと関連する「特徴」の確証は得られなかった。これらのことは、脱灰/再石灰化後においてdB値に与える要因(ミネラル密度、露出コラーゲン量、水分量、dB値の光学的な自然減衰など)が複雑に絡み合っていることによると考えられた。

【結論】脱灰象牙質の再石灰化過程において、OCT画像からその脱灰深さの変化および断層プロファイルからは ΔZ を推定できる可能性が示唆されたが、推定の確かさを向上させるため更なる検討が必要である。

図1. 再石灰化前のOCT画像

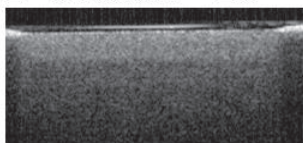


図2. 11週間再石灰化後のOCT画像

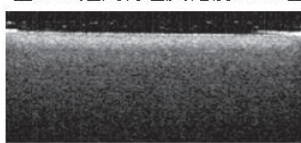
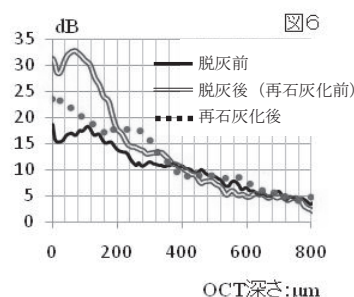
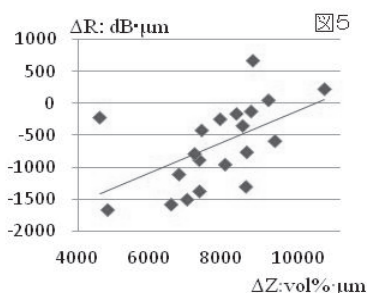
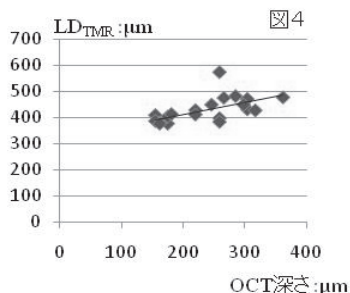
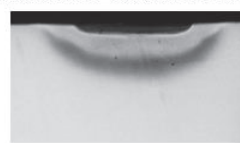


図3. 11週間再石灰化後のTMR画像



OCT を用いた I 級窩洞のフロアブルレジンベースのリアルタイム 2 次元断層画像撮影

東医歯大院・歯と骨の GCOE・う蝕制御¹

東医歯大院・う蝕制御²

国立長寿医療センター³

○サダル アリレザ¹, 島田康史², 田上順次¹, 角 保徳³

Real-time two-dimensional tomographic imaging of flowable resin base placement in Class I cavities using OCT

Cariology and Operative Dentistry, Global COE, Tokyo Medical and Dental University¹

Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University²

National Center for Geriatrics and Gerontology³

○SADR Alireza¹, SHIMADA Yasushi², TAGAMI Junji¹, SUMI Yasunori³

[Objectives] Polymerization stress of flowable composites in a deep cavity with high C-factor may affect the adaptation and longevity of restorations. The aim of this study was real-time tomographic assessment of resin-dentin interface during placement of flowable resin composites as base into a class I cavity.

[Methods] A swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) system with laser center wavelength of 1310 nm (Santec, Japan) was used to record tomographic movies at a resolution of 2001 x 1019 pixels and 30 FPS video frame rate during bulk placement and light-polymerization of four commercially available flowable resin materials: SDR (Dentsply Sankin), PALFIQUE ESTELITE LV (Tokuyama Dental), MI FLOW (GC) and Metafil Flo (Sun Medical). The composites were bulk filled into 1.7-mm-deep standard cylindrical class I dentin cavities 3mm in diameter, treated by an all-in-one adhesive system (Xeno V, Dentsply Sankin). The tomographic movies were used to monitor the placement and polymerization procedures up to 2 min after photo-activation. Single fine shots were used to investigate the interfacial gap resulting from polymerization shrinkage, dimensional contraction, and structural voids in a central cross section of the restored cavity. The specimens were then sectioned and analyzed using a confocal laser scanning microscope (CLSM) to confirm the SS-OCT findings.

[Results] Interfacial gaps, which appeared as sharp bright lines along interface under SS-OCT, were generated due to the polymerization shrinkage in all groups except for SDR. The final shot of each tomographic video are presented below. Metafil Flo resulted in the largest dimensional changes, followed by MI Flow and PALFIQUE ESTELITE LV. SDR exhibited a self-leveling feature before polymerization, with little visible changes at the interface during polymerization. In the groups where gaps were formed at the cavity floor, the gap initiated a few seconds after start of light-curing from the line angles, and propagated towards the center of cavity floor. Metafil Flo showed the fastest propagation rate, followed by MI FLOW. In 3D scans obtained 2 min after light-curing, Voids or bubbles within the composite were occasional observed in all groups.

[Conclusions] Polymerization shrinkage volume, rate of modulus development and stiffness of the composite affected the outcome of bulk placement of flowable composite as a base in a cavity. SDR may have the potential to decrease the stresses developed due to polymerization shrinkage by its flexible resin matrix. SS-OCT is capable of providing real-time high-speed high-resolution images suitable for non-destructive cross-sectional assessment and monitoring of dental composite resins and the surrounding hard tissues, a useful tool for dental materials research. This study was supported by GCOE program at TMDU, manufacturers provided materials used.



MI (Minimal Intervention) 治療法について再考すべきこと—慢性 GVHD を発症した慢性骨髄性白血病患者における多発性う蝕を経験して—

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座
○大津奈央, 長谷川誠実, 本田公亮

Reevaluation of caries management based on the concept of "Minimal Intervention": A case study
Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine
○OHTSU Nao, HASEGAWA Makoto, HONDA Kousuke

【諸言】

我々は慢性骨髄性白血病 (CML) の造血幹細胞移植手術前スクリーニングを行った患者において、継続管理の中断を余儀なくされたことから、多発性う蝕に罹患した症例を経験した。近年、保存修復の治療コンセプトとして MI (Minimal Intervention) が提唱されている。しかしながら利点の多くは主張されるものの MI の持つ欠点が着目され論じられることはほとんどないように感じる。本症例は MI の治療コンセプトを基にふり返り、全身疾患を有する患者を通じて MI の留意すべき点において臨床的視点から検討した。

【症例および経過】

患者: 39 歳、男性。既往歴: 脳水腫。家族歴: 特記事項無し。平成 15 年慢性骨髄性白血病にて造血幹細胞移植予定となり当院血液内科より移植手術前スクリーニング目的に同年 9 月当科初診となる。初診時の診断にて右側第 3 大臼歯う蝕ならびに智歯周囲炎より抜歯術施行。その他感染巣ならびにう蝕を認めないことから、ブラッシング指導および全顎スケーリングを行い、同年 10 月に当科略治となり、同年 12 月血液内科より造血幹細胞移植が施行された。平成 16 年 5 月 Chronic graft versus host disease (慢性 GVHD) 診断目的に血液内科より LipBiopsy 依頼にて来科。病理診断にて軽度から中等度の慢性 GVHD との診断を得、血液内科に逆紹介となった。平成 19 年 5 月口腔内全体の歯肉の痛み、多数歯にわたる冷水痛および自発痛を主訴に来科。口腔粘膜の委縮および重度の口腔乾燥が認められた。また全歯牙が隣接面う蝕ならびにう蝕症第 1 度から第 4 度のいずれかに罹患しており、順次う蝕処置ならびにブラッシング指導を行い、現在も継続治療中である。

【考察】

MI の定義として 2009 年う蝕ガイドラインより 5 つの項目が提唱された。1) 口腔内の細菌叢の改善、2) 患者教育、3) エナメル質および象牙質のう蝕でまだう窩を形成していないう蝕の再石灰化、4) う窩を形成したう蝕への最小の侵襲、5) 欠陥のある修復物の補修がそれらに該当する。しかし臨床において MI 提唱項目の中で最小の侵襲のみが注目され、他項目を置き去りに独り歩きしているのではないだろうか。今回の症例において、当初歯科的立場として重要であったのは造血幹細胞移植手術直前における感染巣の検索であるが、移植後の GVHD による口腔乾燥の出現による自浄性の低下などを十分に評価し、その後の継続管理のあり方について適切に再評価ならびに患者教育が成されていれば全顎的にう蝕に罹患することを回避できた可能性がある。この症例を通じ、口腔内の環境変化が及ぼす影響の大きさを感じた。すなわち現在う蝕治療の根本のようにしてとりあげられる MI を実践する上において、十分な免疫拡大のなされていない MI であればこそ、継続管理の重要性を再認識すべきであると考え。MI の最小の侵襲に重点を置くことに問題は無いが、継続管理こそが MI 治療法を成功させる大前提であることを主張したい。全身疾患を有する患者においてはなおさらで、基礎疾患に続発する症状ならびに常用薬、症状に合わせて変更や追加される薬など、様々な場面での口腔内リスクを見直す再評価が重要であり、同時にそれらの場面に応じたガイドラインも必要であると考え。

Establishment of artificial caries-affected dentin model for interfacial remineralization study

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, 歯と骨のGCOE²

○ホヴェス ヘラルド¹, 井上 剛¹, 中嶋省志¹, 二階堂 徹¹, 田上順次²

Establishment of artificial caries-affected dentin model for interfacial remineralization study

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University¹, GCOE Program; International

Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases²

○JOVES Gerardo¹, INOUE Go¹, NAKASHIMA Syozi¹, NIKAIDO Toru¹, TAGAMI Junji²

(Introduction) According to minimal invasive concept, caries-affected dentin should be left after removal of caries infected dentin. Sattabanasuk created caries lesions and reported a maximum depth of 134 μm measured by SEM. Zanchi created artificial caries-affected dentin with bacteria and obtained a significant decrease in bond strength. many previous studies reported that bond strength of dentin bonding systems to caries-affected dentin is lower than intact dentin. Sunago demonstrated a discrepancy in the mineral density between natural and artificially produced remineralized lesions using Transverse Microradiography (TMR). However, Tay reported remineralization of human dentin with Portland cement. Therefore, in terms of remineralization of the adhesive interface, the bonding performance should be improved. The purpose of this study was to establish an artificial caries-affected dentin model in order to use it as a bonding substrate. (Materials and Methods) Caries-infected human dentin was used to know the mineral profile with TMR. Carious dentin was removed using a steel bur. The teeth were cut into 100-240 μm thickness. Caries-free human teeth were trimmed and polished. The surround enamel was cut with a diamond blade using an inclination of 45° at low speed. Nail varnish was applied on the surround surface to leave only the dentin surface exposed. Specimens were immersed in a demineralizing solution (pH 4.5) for 7 days to obtain a lesion depth around 400-500 μm confirmed by Optical Coherence Tomography (OCT). Specimens were polished to obtain the smear layer. Specimens were cut into 12 slices and submitted to TMR analysis. To observe the morphology of both dentins, SEM was performed. The data was analysed using SPSS 16.0. T-test. (Results) The results were listed in table 1. Significant differences in lesion depths between natural caries-affected dentin (NCAD) and artificial caries-affected dentin (ACAD) model were observed ($P < 0.05$). Mineral density at different depths between NCAD and ACAD did not show significance differences ($P > 0.05$). ACAD could be seen as more porous than the natural one. (Conclusion) Morphological similarity between natural and ACAD was confirmed using TMR and SEM.

Table 1. Mean values of Natural and Artificial Caries Affected Dentin. T-test values (1-tailed). Sig, < 0.05

Type of CAD	Lesion Depth (LD)	Mineral Density at 0 μm	Mineral Density at 50 μm	Mineral Density at 100 μm	Mineral Density at 150 μm
Natural Caries Affected Dentin	249.19 \pm 138.21 ^a	7.91 \pm 3.63 ^c	27.76 \pm 9.27 ^c	35.42 \pm 7.44 ^c	40.20 \pm 6.13 ^c
Artificial Caries Affected Dentin	194.18 \pm 30.45 ^b	8.30 \pm 3.60 ^c	27.37 \pm 5.61 ^c	36.43 \pm 3.84 ^c	42.32 \pm 1.80 ^c
(1-tailed) Significance	0.037	0.358	0.432	0.284	0.062

Same letters mean no significance difference. Different letters mean significance values.

歯面上に成膜したシリカ薄膜の耐酸性

神奈川県立歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野¹, 総合歯科学講座²,
コンタミネーション・コントロール・サービス³
○田中隆博¹, 山口益司¹, 原 めぐみ², 小泉忠彦², 進藤豊彦³, 寺中敏夫¹

Acquired acid resistance of enamel by silica film coating

Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine¹, Dept. of Comprehensive Dent²,
Kanagawa Dental College, Contamination Control Services³

○TANAKA Takahiro¹, YAMAGUCHI Masuji¹, HARA Megumi², KOIZUMI Tadahiko², SHINDO Toyohiko³,
TERANAKA Toshio¹

【研究目的】

エナメル質の抗齶蝕性を向上させることは齶蝕予防の観点から重要であり、歯面を水素イオンの透過を遮断できるようなシリカ薄膜でコーティングできれば優れた抗齶蝕性を期待できる。我々は、これまでに日本歯科保存学会学術講演会にてエナメル質に塗布したペルヒドロポリシラザン (PHPS) に過酸化水素水 (H₂O₂) を滴下し、炭酸ガスレーザーを照射すると低温でシリカ薄膜を形成が可能であり、母材のウシエナメル質に比較して有意に優れた耐摩耗性を有することを報告した。

本研究では、耐摩耗性以外にも耐酸性などの優れた特性も有していると報告されている PHPS シリカコーティング材でウシエナメル質を被覆して耐酸性試験を行い、本シリカ薄膜の耐酸性能を評価した。

【材料および方法】

ウシ歯冠部エナメル質 (7×7 mm) は、#2,000 耐水研磨紙および 1 μm ダイヤモンドスラリーにて研磨、超音波洗浄を 15 分間行った。コーティング材には PHPS 溶液 (AZ エレクトロニックマテリアルズ) を用いた。シリカコーティング方法は、エナメル質表面に PHPS を塗布、5 分間自然乾燥後、3% H₂O₂ を 40 ml 滴下し、炭酸ガスレーザー (OPELASER 03S, ヨシダ製作所) を 1.0 W, 照射距離 10 mm で 1 分間照射した。ポジティブコントロールとしてレジシン系表面滑沢硬化材のジーシーG-コート (ジーシー) を業者指示に従いエナメル質表面に塗布、光照射を 20 秒間行った。また、ネガティブコントロールは非処理エナメル質とし、各群試料表面に直径 3 mm の窓を規定し、窓以外の部分をすべてネイルバーニッシュで被覆した。バーニッシュ乾燥後、各試料を 0.1 mol/l HCl 溶液 10 ml が入ったスチロール製サンプル瓶中に吊り下げて 30 分間浸漬し、エナメル質表面から HCl 溶液中に溶出した Ca および P 量をそれぞれアルセナゾ III (分析波長 660 nm), バナドモリブデン酸アンモニウム (分析波長 420 nm) による吸光光度法により測定した。なお、試料は各群 6 個とし、得られた結果から平均値および標準偏差を求め、一元配置分散分析を用いて危険率 5%にて検定を行った。

【結果および考察】

表には各種処理後の Ca, P の溶出量を示した。シリカコーティング群および G-コート群は、非処理エナメル質群と比較し、Ca, P ともに有意に低い溶出量を示した。また、シリカコーティング群はポジティブコントロールである G-コート群と同等の Ca, P の溶出量であった。

以上より、本シリカコーティング法はエナメル質に対して耐摩耗性のみならず、優れた耐酸性を付与することが示された。

表 各種処理群のCa, P溶出量

	Ca	P
シリカコーティング	0.002(0.001) ^a	0.015(0.009) ^b
G-コート	0.005(0.003) ^a	0.023(0.020) ^b
非処理エナメル質	2.345(0.709)	0.175(0.048)

単位 : mmol/l n=6

謝辞 : 本研究の遂行に当たりご協力いただきました、神奈川県立歯科大学自然科学講座歯科生体工学分野藤原努博士に深謝いたします。

エナメル質初期う蝕最表層部における POs-Ca およびフッ素配合ガム咀嚼後の微小硬さ変化ならびにフッ素分布

東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野¹, 東京医科歯科大学 GCOE プログラム歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点², 東京医科歯科大学歯学部附属歯科技工士学校³, 江崎グリコ株式会社健康科学研究所⁴

○北迫勇一¹, Sadr Alireza^{1,2}, 池田正臣³, 小林隆嗣⁴, 田中智子⁴, 釜坂 寛⁴, 田上順次^{1,2}

Effect of chewing gum containing POs-Ca and fluoride on nanohardness and fluoride mapping of superficial enamel subsurface lesions *in situ*
Cariology and Operative Dentistry, Graduate school of Medical and Dental Sciences¹, Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases², Dentistry School for Dental Technology, Tokyo Medical and Dental University³, Institute of Health Sciences, Ezaki Glico Co., LTD⁴

○KITASAKO Yuichi¹, SADR Alireza^{1,2}, IKEDA Masaomi³, KOBAYASHI Takatsugu⁴,
TANAKA Tomoko⁴, KAMASAKA Hiroshi⁴, TAGAMI Junji^{1,2}

[研究目的]

演者らは、第 131 回日本歯科保存学会にて、リン酸化オリゴ糖カルシウム(POs-Ca)およびフッ素配合ガムを摂取することにより、エナメル質初期う蝕の再石灰化が促進されること、さらにミネラル密度回復は、ハイドロキシアパタイト結晶量の回復である可能性を示唆した。また、第 133 回学会では、エナメル質初期う蝕の 10 μ m 深さ別ミネラルならびに微小硬さ変化について検証した結果、表層 10 μ m において、POs-Ca ガムと比較して POs-Ca +フッ素配合ガムの方が高い硬さ回復率を示したものの両者間に有意差が認められないことを報告した。そこで今回、ガム咀嚼後のサンプル最表層部における、1 μ m 深さ別の微小硬さ変化 (深さ 20 μ m まで) およびフッ素分布 (深さ 80 μ m まで) について追加検討を加えたので報告する。

[材料と方法]

POs-Ca ガム, POs-Ca および緑茶抽出物由来フッ素配合 (フッ素として 0.024 mg) ガムのいずれかを二重盲検下にて 1 日 3 回 14 日間摂取させた。微小硬さ変化については、超微小硬さ測定器 (ENT-1100a, Elionix) を用い、荷重 10mg にて、各種ガム咀嚼後のエナメル初期う蝕最表層部 (深さ 20 μ m まで) における 1 μ m 深さ別の微小硬さ測定および最表層部全域の硬さ回復率 (Hardness recovery rate (%))=(再石灰化部硬さ-脱灰部硬さ)/脱灰部硬さ \times 100) を算出し (n=5), *t* 検定を用い危険率 5%にて有意差検定をおこなった。また、飛行時間二次イオン質量分析計 (Time-of-flight secondary ion mass spectrometer: TOF-SIMS) を用い、POs-Ca およびフッ素配合ガム咀嚼後のエナメル初期う蝕最表層部 (深さ 80 μ m まで) におけるフッ素分布についてイオン質量分析を行った。

[結果および考察]

POs-Ca ガム, POs-Ca およびフッ素配合ガム咀嚼後の、エナメル質初期う蝕表層より 20 μ m における 1 μ m 深さ別の硬さプロファイルを図 1 に、POs-Ca およびフッ素配合ガム咀嚼後の脱灰・再石灰化領域の代表的な TOF-SIMS 画像を図 2 に示す。微小硬さ回復率は、POs-Ca ガムでは 17.4 \pm 4.3%, POs-Ca およびフッ素配合ガムでは 31.3 \pm 2.2%を各々示し、両群間において有意差を認めた ($p < 0.05$)。また、両群における硬さプロファイル曲線は同様な挙動を示したものの、再石灰化部の表層 5 μ m 付近において、その最大微小硬さ値が異なった。さらに、TOF-SIMS 画像より、POs-Ca およびフッ素配合ガム咀嚼後の再石灰化部において、脱灰部では認められないフッ素分布が観察された。以上より、*in situ* 環境下、短期間フッ素配合ガム摂取において、ガム由来フッ素がエナメル質初期う蝕最表層部に取り込まれ、同最表層部の微小硬さ変化に影響を及ぼす可能性が示唆された。

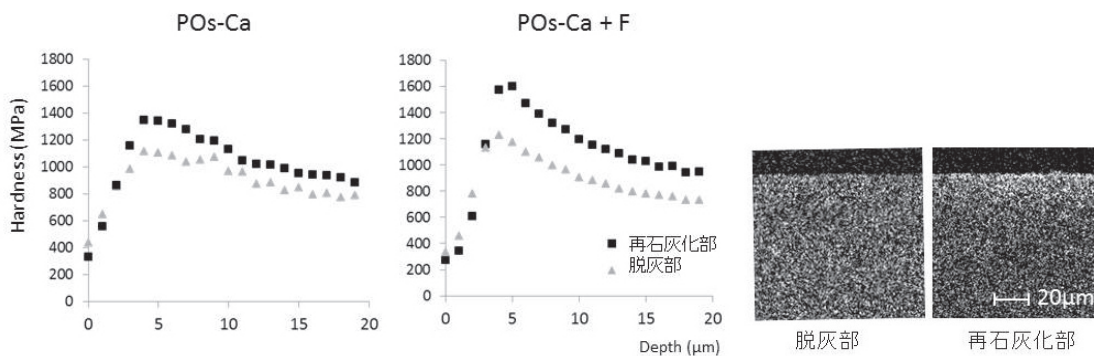


図1

図2

PRG バリアコートのエナメル質脱灰抑制・再石灰化促進効果

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

近藤歯科医院³、福石歯科医院⁴

○村山良介¹、島村 穰¹、飯野正義¹、砂田識敦¹

黒川弘康^{1,2}、安藤 進^{1,2}、宮崎真至^{1,2}、近藤 貢³、吉野弘三⁴

Effect of PRG barrier coat Application on Remineralization of Tooth Substrate

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

Nihon University School of Dentistry, Kondo Dental Clinic³, Fukuishi Dental Clinic⁴

○MURAYAMA Ryosuke¹, SHIMAMURA Yutaka¹, IINO Masayoshi¹, SUNADA Noriatsu¹

KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, KONDO Mitsugu³, YOSHINO Kohzo⁴

【緒言】

近年、齲蝕リスクの低減化あるいは脱灰と再石灰化という動的平衡をコントロールすることの重要性が喧伝されている。このような観点から、歯質の積極的な再石灰化あるいは脱灰抑制を目的として、多種のイオンを徐放する PRG フィラーを含有したコーティング材が市販された。そこで演者らは、PRG フィラー含有コーティング材 (PRG バリアコート、松風) を歯質に塗布し、歯質に生じた脱灰あるいは再石灰化という変化を、非破壊的に物質の状態変化を測定可能である Optical Coherence Tomography を用いて検討した。さらにレーザー顕微鏡を用いて歯質を観察し、これを考察資料とした。

【材料および方法】

1. 測定用試片の製作

ウシ下顎前歯を用い、その唇側エナメル質を $4 \times 4 \times 1$ mm のブロックとして切り出し、これを測定用試片とした。なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 5 個とした。

2. 保管方法および PRG フィラー含有歯質コーティング材の塗布

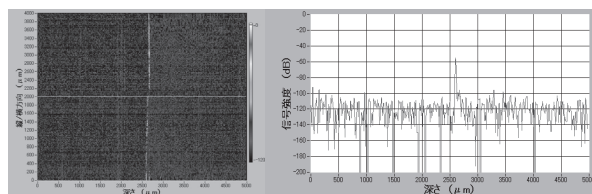
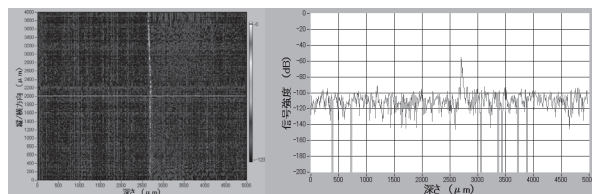
試片の表面に対して、PRG バリアコートを塗布したもの (以後、AP 群)、あるいは塗布を行わないもの (以後、NA 群) の 2 条件を設定した。その後 37°C 人工唾液 (pH 7.0)、あるいは精製水中に 30 日間浸漬保管した。

3. OCT およびレーザー顕微鏡観察

保管中の試片については、試作 OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用い、その経時的変化を観察した。所定の保管期間が終了した試片については、PRG バリアコートを探針にて除去し、レーザー顕微鏡 (VK-8700, KEYENCE) を用いてコート材除去後の表面性状の観察を行った。

【成績および考察】

人工唾液保管群の PRG バリアコート塗布直後および 4 日後の OCT 画像を示す (図 1, 2)。塗布直後の画像からは、塗布面表層とその下方に強度分布を示す画像が得られた。その信号強度を解析したグラフからは、最大ピークのほかに、信号の増幅部が検出された。一方、4 日後の画像からは、コート面表層でのシグナルは減少し、その部位での信号解析からは、そのピーク幅の拡大が認められた。また、非コート面の歯質は、塗布直後に比べ、表層でのシグナルは増加し、そのグラフ解析より、信号強度は増幅していることがわかった。



【結論】

本実験の結果から、PRG バリアコートは、歯質に生じる脱灰を抑制し、再石灰化を促進する可能性を有することが示された。

新規歯面処理材によるエナメル質表層下脱灰病変の再石灰化効果

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 歯と骨の GCOE 拠点²
○半場秀典^{1,2}, 井上 剛¹, 二階堂 徹¹, 田上順次^{1,2}

Effect of enamel remineralization by a bioactive agent

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University¹
Global COE program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone
Diseases, Tokyo Medical and Dental University²
○HAMBА Hidenori^{1,2}, INOUE Go¹, NIKAIIDO Toru¹, TAGAMI Junji^{1,2}

【研究目的】初期う蝕、いわゆる表層下脱灰病変に対するアプローチとしてミネラルの再石灰化療法が期待されている。Ca や P をいかに病変部に浸透させ、健全な歯質へと再石灰化させるかが課題である。新規歯面処理材である知覚過敏抑制材ナノシール(日本歯科薬品)は Al-Ca-F-SiO₂ ガラスの分散媒とリン酸を等量混和し、塗布することで効果的に歯質表層へ浸透し、沈着、被覆することを特徴としている。エナメル質表層下脱灰病変への再石灰化効果について2010年 JADR 学術大会(第58回)にて報告した。そこで、本研究ではその効果について更に検討するために、含有成分である Si, F を配合調整した試作材料を用いて再石灰化効果を解析することを目的とした。解析には非破壊的に同一試料の経時的観察および解析を行うことができる高解像度マイクロ CT 装置を用いた。

【材料および方法】ヒト第三大臼歯を精密低速切断機(Isomet, Buehler)にて歯冠歯根部で切断した。エナメル質側面を耐水研磨紙にて平坦に研削後、1 x 4 mm の処理面をネイルバーニッシュにて規定した。試料は脱灰液(17.8 mM Ca, 8.8 mM P and 100 mM lactic acid, pH 4.3)に6日間浸漬し、約 150 μm の表層下脱灰病変を作成した。各群の試料数は6個とし、以下の4種の材料を塗布した。すなわち、ナノシール(NS群)、ナノシール(Fなし)(F0群)、ナノシール(Si/Al比0.7に調整(NS群は比1.0))(SiLow群)、コントロール(蒸留水)(DW群)を用いた。各群エナメル質処理面に20秒間中に3回の塗布を行った。塗布後、水洗および乾燥を行い、人工唾液(1.5 mM Ca, 0.9 mM P, 130 mM KCl, and 20 mM HEPES, pH 7.0)に1週間浸漬した。以上の期間で、脱灰後、塗布後、再石灰化1週後に試料を取り出し、高解像度マイクロ CT 装置(SMX-100CT, 島津製作所)にて撮影した。得られた脱灰部の3D解析には3D骨梁構造計測ソフト(TRI/3D-BON, RATOC)を用いた。得られたCTスケール値は基準濃度のハイドロキシアパタイト体を用いて、BMD(Bone Mineral Density)値に変換し、表層からの深さ方向へのミネラル密度プロファイルを算出した。脱灰後と再石灰化後のミネラル密度プロファイルから再石灰化率を求めた。得られた測定値は一元配置分散分析後、有意水準5%にて統計処理を行った。

【結果および考察】ミネラル密度プロファイルの結果から、表層下脱灰病変は再石灰化後にすべての群で回復が認められた。NS群は病変底部のミネラル回復率が最大であり、FなしのF0群は病変最表層のミネラル回復率が最大であった。再石灰化率では、NS群の再石灰化率が最大であった。NS群とF0群はDW群と比較して有意に高い再石灰化率を認めた。一方、Siの配合率を低くしたSiLow群の再石灰化率はDW群に対して有意差を認めなかった。以上から、本実験において、Fに比べてSiの配合比増加によってエナメル質表層下脱灰病変の効果的な再石灰化を示すことが示唆された。

【結論】新規歯面処理材(ナノシール)はコントロールに比べてエナメル質表層下脱灰病変の再石灰化効果を促進すること、および本材中に含有するFよりもSi成分の配合比が再石灰化効果に影響する可能性が示唆された。

本研究の一部は、東京医科歯科大学 歯と骨の GCOE 拠点によって遂行された。

TWEAK がヒト歯肉線維芽細胞の IL-1 β 誘導 CCL20 産生に与える影響

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¹, 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔微生物学分野 日本学術振興会特別研究員 PD², 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔保健支援学分野³
○細川義隆¹, 細川育子², 尾崎和美³, 中江英明¹, 松尾敬志¹

The effect of TWEAK on CCL20 production on IL-1 β -stimulated human gingival fibroblasts

Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School¹, Department of Oral Microbiology, The University of Tokushima Graduate School, JSPS Research Fellow², Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School³
○HOSOKAWA Yoshitaka¹, HOSOKAWA Ikuko², OZAKI Kazumi³, NAKAE Hideaki¹, MATSUO Takashi¹

【研究目的】

Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK)はTNF superfamilyに属するサイトカインであり、マクロファージなどから産生されることが明らかとなっている。我々はすでにヒト歯周炎組織にTWEAKが存在し、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) のIL-8産生を誘導する事を報告している。(Clin Exp Immunol, 146, 540-9, 2006) また、CCL20はCCR6をレセプターとするケモカインであり、炎症性骨吸収への関与が示唆されているTh17細胞の遊走に関わっている事が明らかとなっている。我々はすでにIL-1 β 刺激によりHGFsからのCCL20産生が誘導される事を報告している。(Clin Exp Immunol, 142, 285-91, 2005) しかしながら、TWEAKがHGFsのCCL20産生に与える影響に関しては不明である。本研究では、TWEAKがIL-1 β 刺激HGFsのCCL20産生に与える影響に関して検討を行った。

【材料および方法】

HGFsは智歯抜歯時に正常歯肉組織よりout growth法により分離し、10%FBSを含むDMEM培地にて培養し実験に用いた。まず、HGFsをIL-1 β およびTWEAKで刺激しCCL20産生をELISA法により解析した。さらにIL-1 β とTWEAKで刺激したHGFs内の細胞内シグナル伝達分子 (MAPKs, Akt, I κ B- α) のリン酸化をwestern blot法にて解析を行った。また、IL-1 β とTWEAKが誘導するCCL20産生に関与するシグナル伝達経路を解明するためにシグナル伝達阻害物質にて前処理後、刺激を行いCCL20産生をELISAを用い確認した。

【成績】

TWEAK単独刺激はHGFsのCCL20産生を誘導しなかったが、IL-1 β が誘導したCCL20産生はTWEAK濃度依存的に増強された。また、p38 MAPK, ERK, AktおよびNF- κ Bのシグナル伝達阻害物質はIL-1 β とTWEAKが誘導したHGFsのCCL20産生を抑制した。さらに、IL-1 β とTWEAKの共刺激は単独刺激と比較しERK, AktおよびI κ B- α のHGFs内のリン酸化が増強された。

【結論】

今回の結果より、TWEAKはIL-1 β が誘導したHGFsのCCL20産生を増強し、その増強効果にはERK, AktおよびNF- κ Bを介した経路が関与している事が明らかとなった。また、これらの結果よりTWEAKは歯周炎変局所でCCL20産生を増強することによりTh17細胞の歯周炎局所への浸潤を促し、歯周組織の炎症性骨吸収に関与している事が示唆された。

ADAMTSL6 β による TGF- β シグナル抑制効果に関する研究

東京理科大学・基礎工・生物工¹, 東京理科大学・総合研究機構², 株)オーガテクノロジーズ³

○黒河みさ紀¹, 荻野光明¹, 辻 孝^{1,2,3}, 齋藤正寛^{1,2}

ADAMTSL6 β negatively regulates TGF- β signaling

Tokyo University of Science Faculty of Industrial Science and technology¹, Research Institute for Science and technology², Organ Technologies Inc.³

○KUROKAWA Misaki¹, OGINO Komei¹, TSUJI Takashi^{1,2,3}, SAITO Masahiro^{1,2}

【研究目的】マルファン症候群(MFS)は *Fibrillin-1* (*Fbn-1*) のミスセンス変異により引き起こされるマイクロフィブリルの断裂化による機械的外力の低下と、TGF- β の病的な活性化により組織崩壊が進行する遺伝性の結合組織疾患である。私たちは、本学会にて (第 132 回) 新規細胞外マトリックスである ADAMTSL6 β が MFS の歯根膜においてマイクロフィブリル形成不全を改善し、組織修復を誘導することを報告してきた。また、MFS モデルマウスの歯根膜創傷治癒モデルに組み換え ADAMTSL6 β の局所注入を行った結果、マイクロフィブリルの再構築を伴う歯根膜の創傷治癒の促進効果と共に、TGF- β シグナルを抑制したことから、ADAMTSL6 β が TGF- β シグナルに対して抑制的に調節している可能性が示唆された。そこで本研究では、ADAMTSL6 β の分子機能を解析する目的に、TGF- β シグナル抑制機構を解析することを目的とした。

【材料および方法】

1. 遺伝子導入型歯胚を用いた ADAMTSL6 β の機能解析: アデノウイルス発現系を用いて ADAMTSL6 β を帽状期歯胚に遺伝子導入し、ADAMTSL6 β 遺伝子導入型歯胚を作製した。その後、ADAMTSL6 β 遺伝子導入型歯胚の器官培養にて分化誘導を行った。次に TGF- β に及ぼす影響を解析するため、その標的遺伝子である *periostin* の発現を *in situ* hybridization あるいは realtimePCR にて解析を行った。
2. MFS 由来ヒト歯根膜細胞を用いた解析: MFS 由来ヒト歯根膜細胞 (MHPDL) にレンチウイルス発現系を用いて ADAMTSL6 β を強制発現し、*periostin* の発現に及ぼす影響を realtimePCR にて解析を行った。また *periostin* の発現量を正常者由来歯根膜細胞 (HPDL) と比較検討した。
3. Pull down assay: ADAMTSL6 β と TGF- β の結合能を解析のため、組み換え ADAMTSL6 β を 293free style を用いた発現系を用いて作製し、TGF- β の結合を magnet beads を用いた Pull down assay にて評価した。
4. TGF- β に対する機能的抑制能の解析: 不死化マウス歯小囊細胞(MDF)を 0.1%FBS を含む DMEM 培地に、TGF- β 添加あるいは TGF- β + 組み換え ADAMTSL6 β を添加し、48 時間培養した後に total RNA を採取した。その後、*periostin* の発現を realtimePCR 法にて解析し、TGF- β シグナルに対する抑制効果を評価した。

【成績】ADAMTSL6 β 遺伝子導入型歯胚を作製し、TGF- β の標的遺伝子である *periostin* の発現を解析した結果、歯小囊部位でその発現が顕著に低下することが分かった。次に、MHPDL における *periostin* の発現を解析すると、HPDL より高いことが確認された。しかし ADAMTSL6 β の過剰発現により MHPDL での *periostin* の発現が HPDL と同レベルにまで減少することが判明した。そこで ADAMTSL6 β と TGF- β が結合するかを pull down assay で検証したところ、組み換え ADAMTSL6 β は TGF- β と濃度依存的に結合していることが判明した。ADAMTSL6 β の TGF- β シグナルに対する抑制効果を MDF 細胞を用いて解析した結果、TGF- β により誘導される *periostin* の遺伝子発現を濃度依存的に抑制することが確認された。

【考察】近年の MFS の研究成果より、TGF- β シグナルを抑制することで MFS の死因である大動脈瘤を予防できることが報告されている。本研究において ADAMTSL6 β は、MFS の発症原因であるマイクロフィブリルの形成不全を改善するばかりでなく、症状の悪化を引き起こす TGF- β シグナルも抑制することが判明した。ADAMTSL6 β と TGF- β との関係は不明な点は残されているが、同分子は *Fbn-1* の重合と TGF- β シグナルを調整することで、結合組織形成を調整している可能性が示唆された。これらの結果より、ADAMTSL6 β は MFS の予防・治療薬として開発出来る可能性が示された。

【結論】ADAMTSL6 β は歯根膜形成過程において、TGF- β シグナルを抑制的に制御していることが示された。

酪酸による酸化ストレス誘導時に放出される HMGB1 の解析

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

歯周病学分野¹, 硬組織病態生化学分野², GCOE プログラム³

○江部典子¹, 横山三紀², 寺澤和恵², 柳下正樹^{2,3}, 和泉雄一^{1,3}

Analyses of HMGB1 under butyric acid-induced oxidative stress

Department of Periodontology¹, Department of Biochemistry², GCOE Program³,

Graduate School of Medical & Dental Science, Tokyo Medical & Dental University

○EBE Noriko¹, HARA-YOKOYAMA Miki², TERASAWA Kazue², YANAGISHITA Masaki^{2,3}, IZUMI Yuichi^{1,3}

【研究目的】

組織障害により細胞死を起こした細胞からは「死の信号分子 (alarmin)」が細胞外に放出されて組織修復や免疫応答を引き起こす。High-mobility group box 1 (HMGB1) は核タンパク質で、転写因子としての機能をもつ一方、代表的な死の信号分子としても知られている。しかし過剰に HMGB1 が放出されると炎症を増悪化する。このような疾患として敗血症や脳梗塞、関節リウマチが挙げられ、抗 HMGB1 抗体を投与することで疾患の改善が見られる。

歯周病患者の歯肉溝滲出液中の HMGB1 濃度は健康者の場合よりも高いことが報告されており、歯周病の進行における HMGB1 の関与が示唆されている [Morimoto et al, (2008)]。また私達は、これまでに免疫組織化学染色により歯肉ポケット上皮における HMGB1 の核局在が低下していることを報告している [Ebe et al, (2011)]。HMGB1 の生理的作用は翻訳後修飾 (特に酸化) により制御されることが知られているので、本研究では歯肉上皮細胞のモデルとして現在入手可能な細胞株である Ca9-22 細胞 (ヒト歯肉癌由来細胞) を用いて、酸化ストレスにともない放出される HMGB1 タンパク質の酸化状態について解析した。酸化ストレス誘導には、多くの歯周病原細菌の代謝産物である酪酸を用いた。

【材料および方法】

Ca9-22 細胞は JCRB 生物資源バンクより入手した。酪酸刺激による活性酸素産生はジヒドロエチジウムを用いたフローサイトメトリーにより解析した。内在性 HMGB1 の放出は HMGB1 ELISA キット (SHINO-TEST) を用いて測定した。また HMGB1 の酸化状態の変化を検出するために N 末端に FLAG タグを付加した HMGB1 (FLAG-HMGB1) を Ca9-22 細胞に導入し、安定発現株を作成した。細胞に酪酸刺激を行った後、非還元状態の SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動により酸化型と還元型の FLAG-HMGB1 を分離し、抗 FLAG モノクローナル抗体を用いたイムノブロットによる検出を行った。

【成績】

酪酸刺激により Ca9-22 細胞の活性酸素の産生が引き起こされた。このとき内在性 HMGB1 および FLAG-HMGB1 の放出がみとめられた。FLAG-HMGB1 は非還元状態の SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動において移動度の異なる分子種として検出され、酪酸により誘導された酸化ストレスにより酸化型 HMGB1 が放出されたことが示唆された。

【考察】

HMGB1 は細菌感染に関与する Toll-like receptor (TLR) を介したシグナル誘導を引き起こし、リポポリサッカライドの TLR 活性化へも影響を与える。また HMGB1 の酸化状態は TLR との相互作用を制御することが報告されている。本研究に歯周病に罹患した組織において歯周病原細菌代謝産物の酪酸刺激により HMGB1 の放出とその酸化状態が影響を受ける可能性が示唆された。歯周病原細菌によって誘導される炎症により、歯周組織が酸化状態になっている可能性もあり、今後解析する必要がある。

【結論】

Ca9-22 細胞の酪酸の刺激により、時間・濃度依存的に酸化された HMGB1 放出が認められた。

Amphotericin B はヒト歯肉上皮細胞の IL-8 発現を制御する

広島大学大学院医歯薬総合研究科先進医療開発講座 歯周病態学講座

○今井遥香, 藤田 剛, 應原一久, 松田真司, 内田雄士, 宮川剛史, 柴 秀樹, 河口浩之, 栗原英見

Amphotericin B regulates IL-8 expression in human gingival epithelial cells

Department of Periodontal Medicine, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Science
○IMAI Haruka, FUJITA Tsuyoshi, OUHARA Kazuhisa, MATSUDA Shinji, UCHIDA Yushi, MIYAGAWA Tsuyoshi,
SHIBA Hideki, KAWAGUCHI Hiroyuki, KURIHARA Hidemi

【目的】抗真菌薬である amphotericin B は、ポリエン系抗生物質で、真菌の細胞膜のエルゴステロールと結合し、膜に小孔を作ることで殺菌作用を示す。近年、amphotericin B が歯周治療の治療薬として一部で利用されているが、真菌が歯周病の原因であるプラークを構成しているという報告はなく、有用性及び、その科学的根拠は未だ解明されていない。歯周病は歯周病原細菌感染に対する宿主の免疫応答の結果として歯周組織が破壊される疾患であることから、amphotericin B が寄生体である歯周病原菌ではなく、宿主の応答に影響を与えている可能性がある。歯肉上皮細胞は歯周病原性細菌の侵入に対して、物理的なバリアーとして、あるいは抗菌ペプチドなどを産生することによって防御的に機能する。一方で、上皮細胞は細菌刺激に対して炎症性サイトカインを産生し炎症の惹起に関与している。したがって歯肉上皮細胞の機能制御は、歯周病における炎症の抑制に関与する可能性がある。本研究では amphotericin B の歯肉上皮細胞に対する抗炎症作用を解明するために、歯周病原細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* または tumor necrosis factor (TNF)- α 作用下の歯肉上皮細胞に対する amphotericin B の IL-8 発現とそのシグナル経路に対する影響を検討した。

【材料および方法】

ヒト歯肉上皮細胞 (HGEC) は健康な歯肉組織から酵素消化法によって分離し、3-4 代継代培養したものを実験に使用した。培地は Hu-mediaKB2 に insulin, transferrin, 2-mercaptoethanol, sodium selenite, bovine pituitary extract を添加したものを用いた。 *A.actinomycetemcomitans* は 1%ホルマリンで 4°C、12 時間処理し、死菌としたものを用い、TNF- α は RSD 社の human recombinant TNF- α を用いた。HGEC をコンフルエントの状態まで培養し、 *A.actinomycetemcomitans* (1×10^8 cell/ml) または TNF- α (50 ng/ml) を添加する 30 分前に amphotericin B (50 μ M、500 μ M) または ERK 阻害剤である PD98059 (50 μ M) を作用させ、12 時間後に total RNA を回収した。IL-8 mRNA 発現は、real-time PCR 法で解析した。さらに、amphotericin B が ERK カスケードに及ぼす影響を検討するために、HGEC をコンフルエントになるまで培養し、amphotericin B (50 μ M) を作用させた後に、 *A.actinomycetemcomitans* (1×10^8 cell/ml) または TNF- α (50 ng/ml) を 15 分間、または、30 分間作用させ、回収した。ERK のリン酸化について Western blotting を用いて分析した。また、HGEC をコンフルエントの状態まで培養し、amphotericin B (5 μ M、50 μ M、500 μ M、5 mM、50 mM) を作用させ細胞毒性について MTS assay を用いて検討した。

【結果および考察】 *A.actinomycetemcomitans* 刺激によって HGEC の IL-8 の mRNA 発現が増加したが、amphotericin B または ERK 阻害剤はその発現促進を抑制した。さらに *A.actinomycetemcomitans* 刺激によってヒト歯肉上皮細胞の ERK のリン酸化は促進したが、amphotericin B によってリン酸化が抑制された。また、TNF- α でも同様の結果が得られた。また、amphotericin B は 5 mM よりも低い濃度では細胞毒性を示さなかった。このことから、抗真菌薬 amphotericin B は *A.actinomycetemcomitans* や TNF- α 刺激によって誘導される炎症性サイトカインの発現を ERK を介して制御することが示唆された。

脳由来神経栄養因子 (BDNF) の血管内皮細胞透過性に及ぼす影響についての研究

広島大学医歯薬学総合研究科歯周病態学分野

○松田真司, 藤田 剛, 武田克浩, 橘高瑞穂, 今井遥香, 柴 秀樹, 河口浩之, 栗原英見

The effect of BDNF on permeability of endothelial cells

Department of Periodontal Medicine Division of Frontier Medical Science Hiroshima University
Graduated School of Biomedical Science

○MATSUDA Shinji, FUJITA Tsuyoshi, TAKEDA Katsuhiko, KITAKA Mizuho, IMAI Haruka,
SHIBA Hideki, KAWAGUCHI Hiroyuki, KURIHARA Hidemi

研究目的：これまでに脳由来神経栄養因子 (BDNF) がビーグル犬の歯周炎モデルにおいて、上皮の侵入を抑制し、歯周靭帯及び歯槽骨の再生を促進することを報告してきた。*In vitro* において BDNF は歯周靭帯細胞の分化、増殖及びセメント芽細胞の分化を促進し、さらに上皮細胞の増殖には影響を及ぼさなかった。また、血管内皮細胞の増殖、遊走を促進し、組織再生に必要な血管新生を促進させた。近年、歯周組織再生治療の分野では様々なサイトカイン療法の開発がさかんに進められている。歯周組織再生過程において炎症は不可避であるが、過剰な炎症反応は組織再生を阻害する。このことから、歯周組織再生療法に応用するサイトカイン自体に組織再生能の他に抗炎症作用を持つことが望ましいと考えられる。炎症過程においては様々な炎症性サイトカインの影響で血管内皮細胞の透過性が亢進する。血管透過性の亢進は再生組織内に浮腫を起こす可能性や、再生過程に必要な血管新生を阻害する可能性がある。そこで本研究では、BDNF の歯周組織再生のメカニズム解明のため、再生過程における BDNF の抗炎症作用に着目して以下の実験を行った。

材料と方法：①ヒト微小血管内皮細胞 (HMVEC、CAMBREX 社) は 5 代継代培養した細胞を実験に使用した。

②血管内皮細胞の細胞間透過性の検討・・・HMVEC を Transwell plate の Type1 collagen でコーティングした upper chamber (pore size 0.4 μ m) に confluent になるまで培養し、BDNF (25 ng/ml) を IL-1 β を添加する 12 時間前に作用させた。24 時間後に FITC-conjugated dextran (3000 kDa) を 100 μ g/ml 添加。4 時間後に lower chamber の吸光度を測定した。

③HMVEC の VE-cadherin の発現・・・細胞間接着の adherence junction の構成タンパク質である vascular endothelial cadherin (VE-cadherin) の発現を解析した。6 well plate で confluent になるまで HMVEC を培養した後、BDNF (25 ng/ml) を IL-1 β を添加する 12 時間前に作用させた。IL-1 β 添加 24 時間後に細胞の回収を行った。解析は Western blotting で行った。

結果：①IL-1 β による lower chamber の dextran の吸光度の上昇が BDNF によって抑制された。

②IL-1 β は HMVEC の VE-cadherin の発現を濃度依存的に減少させた。BDNF は IL-1 β による VE-cadherin の発現の減少を回復した。

考察：BDNF は炎症性サイトカインである IL-1 β による血管透過性の亢進を抑制した。また BDNF は IL-1 β による血管内皮細胞の VE-cadherin の発現減少を回復した。これらのことから BDNF は血管内皮細胞の VE-cadherin を介し、IL-1 β による血管透過性の亢進を制御していることが考えられる。以上のことから、BDNF が歯周靭帯細胞やセメント芽細胞の分化や増殖の促進などのほかに、歯周組織再生過程の環境整備の一端として、抗炎症作用を持つことが示唆された。このことから、BDNF は再生組織内の炎症制御することができれば、BDNF を安全で確実性の高い歯周組織再生療法として応用できる可能性がある。

実験的歯周病モデルを用いた
脂肪組織由来未分化間葉系幹細胞の移植による歯周組織再生
大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 (口腔治療学教室)¹
科研製薬株式会社²

○沢田啓吾¹, 竹立匡秀¹, 小笹匡雄¹, 岩山智明¹, 野崎剛徳¹, 市川朋生¹, 前田憲一郎¹,
田内拓史¹, 三木康史¹, 大原廣之¹, 伊山舜吉¹, 安齋 純², 北村正博¹, 村上伸也¹

**Periodontal tissue regeneration by transplantation of
adipose-tissue derived stem cells in experimental periodontitis model**
Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry¹
Kaken Pharmaceutical Co.Ltd²

○SAWADA Keigo¹, TAKEDACHI Masahide¹, OZASA Masao¹, IWAYAMA Tomoaki¹,
NOZAKI Takenori¹, ICHIKAWA Tomoo¹, MAEDA Kenichirou¹, TAUCHI Takushi¹, MIKI Kouji¹,
OOHARA Hiroyuki¹, IYAMA Mitsuyoshi¹, ANZAI Jun², KITAMURA Masahiro¹, MURAKAMI Shinya¹

【目的】

我々の研究室では、脂肪組織中の未分化間葉系幹細胞 (ADSC) に着目し、細胞移植による新規歯周組織再生療法の確立を目指して、*in vitro*, *in vivo* の両面から解析を重ねてきた。これまでに、ADSC の硬組織形成細胞への分化能を確認し、さらにその安全性についても報告した。また、ビーグル犬歯周病モデルを用いた解析から、ADSC の移植が、骨・セメント質の新生を伴う歯周組織の再生を誘導することを報告してきた。本研究では、今後のヒトでの臨床応用を考慮し、基材としてボルヒール®を用いるとともに、本基材に混合可能な最大細胞数を用いて、歯周組織再生効果の検討を行った。実験モデルとしては、ビーグル犬 2 級根分岐部歯周病モデルおよび 2 壁性骨欠損モデルを用いた。

【材料および方法】

(1) ビーグル犬脂肪組織からの ADSC 単離

ビーグル犬の腹部内臓脂肪 (大網) より脂肪組織を採取し、細切後、1 時間のコラゲナーゼ処理を行った。コラゲナーゼ処理後、HISTOPAQUE®を用いた比重遠心により血球成分を除去し、プレートに播種した。24 時間の培養後、プレートに付着している細胞を EDTA 処理により回収し、得られた細胞を ADSC とした。

(2) ビーグル犬を用いた実験的歯周病モデルの作製および ADSC の移植

1. 2 級根分岐部歯周病モデル: ビーグル犬 5 頭を用い、全身麻酔および局所麻酔下にて、脂肪組織を採取すると同時に、第三前臼歯、第四前臼歯の頬側根分岐部に、頬舌径 3mm、深さ 4mm の 2 級根分岐部骨欠損モデルを作製し、シリコン材を填入した。4 週後、左右の欠損部位を無作為に試験側と対照側に振り分け、試験側には ADSC+ボルヒール®を、対照側にはボルヒール®のみを移植した。移植 6 週後に屠殺し、組織学的計測による歯槽骨再生の評価を行った。

2. 2 壁性骨欠損モデル: ビーグル犬 5 頭を用い、全身麻酔および局所麻酔下にて、脂肪組織を採取すると同時に、左右両側の下顎第四前臼歯の抜去を行った。3 ヶ月後、第一後臼歯の近心部歯槽骨に、頬舌径 3mm、近遠心径 5mm、深さ 4mm の 2 壁性骨欠損を作製し、左右の欠損部位を無作為に試験側と対照側に振り分け、試験側には ADSC+ボルヒール®を、対照側には、ボルヒール®のみを移植した。移植 6 週後に屠殺し、レントゲン写真による骨塩量の評価とマイクロ CT による歯槽骨再生の評価を行った。

【結果】

2 級根分岐部歯周病モデルにおいて、組織学的計測により、対照側と比較し、ADSC 移植側における有意な歯槽骨の新生が認められ、癒着等の異常所見は認められなかった。2 壁性骨欠損モデルにおいて、レントゲン写真を用いた骨塩量解析により、対照側と比較し、ADSC 移植側における有意な歯槽骨の骨塩量増加が認められた。また、マイクロ CT を用いた解析により、対照側と比較して、ADSC 移植側における有意な歯槽骨の新生が認められた。

【考察】

ボルヒール®を基材として ADSC を移植することにより、癒着等の組織学的異常所見を認めることなく、歯槽骨の再生が誘導された。このことは、歯周組織欠損部位への「ADSC-ボルヒール®複合体」の移植が、歯周組織再生を誘導することを強く示唆するものであり、今後のヒトでの臨床応用につながる情報が得られたと考えられる。

ナノハイドロキシアパタイトが BMP-2 による硬組織形成と象牙質吸収に及ぼす影響

北海道大学歯学部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

○玉川博貴, 西尾啓英, 中澤篤史, 菅谷 勉, 川浪雅光

Effect of nano-hydroxyapatite on BMP-2 induced hard tissue formation and dentin resorption

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University, Sapporo Japan.

○TAMAGAWA Hiroki, NISHIO Takahide, NAKAZAWA Atsushi,
SUGAYA Tsutomu, KAWANAMI Masamitsu

【研究目的】

これまでに我々は、象牙質表面をキャリアーとして BMP-2 を結合組織内に移植すると、象牙質表面にセメント質様硬組織が形成されるとともに、象牙質吸収が認められること、さらに硬組織形成と象牙質吸収の比率は、BMP-2 濃度と BMP-2 塗付前の象牙質表面の脱灰方法の違い、すなわちキャリアーの違いにより大きく影響を受けることなどを報告してきた。一方 BMP-2 のキャリアーであるコラーゲン膜にナノハイドロキシアパタイトを複合化すると、硬組織誘導能が高められる可能性が認められた。そこで本研究では、コラーゲン膜にナノハイドロキシアパタイトを複合化して BMP-2 のキャリアーとした場合の、象牙質面上への硬組織形成と象牙質吸収に及ぼす影響について組織学的に検討した。

【材料及び方法】

ナノハイドロキシアパタイト複合化コラーゲン膜 (H 群) およびコラーゲン膜 (C 群) を 100 および 400 $\mu\text{g/ml}$ の rhBMP-2 に 10 分間浸漬し、H100, H400, C100, C400 の 4 群とした。ラット象牙質から試験片 ($2 \times 2 \times 0.3\text{mm}$) を作製し、EDTA で象牙質表面を 3 分間脱灰した。各群の膜を貼付して、ウィスター系ラット (10 週齢) の大腿筋内に移植した。2, 4 週後、HE 重染色を行って、象牙質上に形成された硬組織の形成率と象牙質吸収率を計測した。

【成績と考察】

2 週後、H100, H400 の硬組織形成率は、C100, C400 と比べて有意に高かった ($p < 0.05$)。象牙質吸収率は、H100 が C100 よりも有意に大きかった ($p < 0.05$)。

4 週後、硬組織形成率は、H100 が C100 より有意に大きかった ($p < 0.05$) が、H400 と C400 は差がなかった。象牙質吸収率は、C400 は C100 に比べて有意に大きかった ($p < 0.05$) が、H100 と C100、H400 と C400 の間に有意差はなかった。

BMP-2 は骨芽細胞だけでなく破歯細胞も活性化するが、ナノハイドロキシアパタイトは BMP-2 の破歯細胞活性化作用より骨芽細胞活性化作用を高めると考えられた。

【結論】

ナノハイドロキシアパタイト複合化コラーゲン膜を BMP-2 のキャリアーとして用いることで、低濃度の BMP-2 で象牙質吸収を増加させずに早期に多量の硬組織を誘導できることが明らかとなった。

培養ヒト歯根膜由来上皮細胞および線維芽細胞間相互作用による石灰化調整

東北大学病院 総合歯科診療部¹, 東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座歯科保存学分野²
○高橋 健¹, 下西 充¹, 渡邊弘淳¹, 遠藤直樹¹, 斎藤 修¹, 小松正志²

Epithelial-mesenchymal interactions regulate mineralization in human periodontal ligament *in vitro*

Division of Comprehensive Dentistry, Tohoku University Hospital¹,

Division of Operative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry²

○TAKAHASHI Ken¹, SHIMONISHI Mitsuru¹, WATANABE Hiroatsu¹, ENDOU Naoki¹, SAITO Shu¹,
KOMATSU Masashi²

(研究目的)

歯の萌出後、断裂して残った上皮細胞の集団であるマラッセの上皮遺残は上皮-間葉間相互作用によって歯根膜の恒常性維持に関与している可能性がある。われわれはヒト歯根膜組織より上皮細胞および線維芽細胞を境界が明瞭な状態で初代培養し (IEF cells)、エナメルマトリックスプロテインの Amelogenin H72、Ameloblastin およびエナメルマトリックスプロテアーゼの Kallikrein-4 (KLK4) の mRNA の誘導を確認した (第 134 回日本歯科保存学会にて発表)。本研究では、IEF cells をプロナーゼにて回収し、再度、同一シャーレ内に播種、混培養し (MEF cells)、その細胞間相互作用による Amelogenin、Ameloblastin、MMP-20 および KLK4 の mRNA の発現に関する検討を行った。

(材料および方法)

東北大学病院口腔外科外来で抜歯した第三大臼歯より歯根膜組織を採取した。無血清混合培地により同一組織片より上皮細胞および線維芽細胞を培養し、境界部の確認をした後 (IEF cells)、プロナーゼにて細胞を回収し、再度、同一シャーレ内に播種、混培養した。広範囲のサイトケラチンを認識する AE1/AE3 にて上皮細胞の存在を確認した後、サンプルとして実験に用いた (MEF cells)。細胞は、通法に従い *In situ* hybridization 法、半定量的 RT-PCR 法にて Leucine-rich amelogenin peptide (LRAP)、Ameloblastin、MMP-20 および KLK4 の mRNA の発現を解析した。コントロールとして、上皮細胞のみを培養したものをを用いた (PE cells)。

(結果)

位相差顕微鏡像にて MEF cells は IEF cells のように上皮細胞と線維芽細胞の境界が明瞭ではなく、シャーレ全体に上皮細胞と線維芽細胞が混在して確認された。 *In situ* hybridization 法では、MEF cells の上皮細胞に Amelogenin exon6、Ameloblastin および KLK4 の mRNA の発現が強くみられた。また、MMP-20 の mRNA の発現も観察された。一方、IEF cells および PE cells に MMP-20 の mRNA の発現は観察されなかった。半定量的 RT-PCR 法では、MEF cells に LRAP、Ameloblastin、MMP-20 および KLK4 の mRNA が IEF cells および PE cells に比較して有意に強く発現した ($P < 0.01$)。一方、IEF cells は Ameloblastin および KLK4 の mRNA が PE cells に比較して有意に強く発現した ($P < 0.05$)。

(考察)

われわれはこれまで IEF cells の上皮細胞と線維芽細胞の境界部において基底膜の成分である Type IV コラーゲンおよびラミニン、また、それを破壊する MMP-2 の誘導を確認し、増殖する上皮細胞に対して恒常性を保とうとする働きがあることを報告してきた。基底膜を介さない細胞間相互作用によって歯の石灰化に関与する LRAP、Ameloblastin、MMP-20 および KLK4 の誘導は、マラッセの上皮遺残がセメント質のリモデリングに関与することを示唆するものとなった。

バブルリポソームと超音波を利用した効率的薬物・核酸導入システムの口腔組織への応用に向けた基礎的検討

昭和大学歯学部歯周病学教室¹, 北海道医療大学歯学部小児歯科学分野²,
北海道医療大学歯学部臨床口腔病理学分野³, モンゴル健康科学大学歯学部マイデント歯科トレーニングクリニック⁴
○菅野真莉加¹, Guruudivaa Enkhzaya^{1,4}, 齊藤正人², 安彦善裕³, 榎本拓哉¹, 野瀬冬樹¹, 鶴見亜有子¹, 宮園あがさ¹,
白井通彦¹, 滝口 尚¹, 須田玲子¹, 鈴木基之¹, 山本松男¹

Application of drug and gene delivery system with bubble liposome and ultrasound to oral tissue

Department of Periodontology, Showa University School of Dentistry¹
Department of Pediatric dentistry, Health Sciences University of Hokkaido School of Dentistry²
Department of Oral Pathology, Health Sciences University of Hokkaido School of Dentistry³
'My dent' Dental Teaching Clinic of School of Dentistry, Health Sciences University of Mongolia⁴
○SUGANO Marika¹, GURUUDIVAA Enkhzaya^{1,4}, SAITO Masato², ABIKO Yoshihiro³, ENOMOTO Takuya¹, NOSE Fuyuki¹, TSURUMI Ayuko¹,
MIYAZONO Agasa¹, USUI Michihiko¹, TAKIGUCHI Takashi¹, SUDA Reiko¹, SUZUKI Motoyuki¹, YAMAMOTO Matsuo¹

【背景および研究目的】 口腔疾患に対する薬物療法は、副作用や耐性菌の問題などから、全身的な長期連続投与でなく、病変部周囲への局所投与が現実的である。しかし、現在までの局所投与は、持続性や組織深達性が十分ではない。そのため、標的組織に効率的に薬物を送達させ、局所浸透性を向上させる新たなドラッグデリバリーシステムの開発が必要不可欠である。このような観点から、病変部位に対する低侵襲かつ効率的な先進的治療として、口腔疾患に対しても薬物・核酸導入法の応用が期待される。しかし、口腔領域への薬物・核酸導入に関する報告は極めて少なく、臨床応用に向けて今後の発展性が求められる。近年、物理的エネルギーとして超音波 (US) を利用した薬物・核酸導入法に、超音波造影剤である微小気泡 (マイクロバブル) を併用すると、導入効率が著しく増強することが報告され、標的組織における低侵襲かつ効率的な薬物・核酸導入法として注目されている。共同研究者である根岸らは、既存のマイクロバブルの問題点である大きさ、安定性、安全性、標的指向性の欠如などを改善したバブルリポソーム (BL) を開発し、*in vitro/in vivo* の両方において高い導入効果を示してきた。そこで、本研究では口腔組織における BL と US を併用した薬物・核酸導入法の有用性を明らかにするために、遺伝子導入効率の高い骨格筋により構成される舌組織を標的とした基礎的検討を行った。

【材料と方法】 舌組織への本導入法の有用性を評価するために、ルシフェラーゼおよび緑色蛍光タンパクである EGFP 遺伝子をコードした 2 種のレポータープラスミドを用いた。ICR マウスを麻酔後、口腔外に牽引した舌に BL とプラスミドの混合溶液を直接注入し、直後に超音波照射を行った。5 日後に舌を回収し、タンパク量当たりのルシフェラーゼ活性の測定と、蛍光顕微鏡による GFP 発現細胞の組織学的観察を行った。また、舌組織に対する最適な導入条件を決定するために、投与するプラスミド量 (0.2-20 μg)、超音波照射強度 (0-4.0 W/cm^2)、超音波照射時間 (0-180 秒) について条件検討を行った。さらに、本法による組織障害性を評価するために、エバンスブルーの非特異的細胞内取り込み量を蛍光顕微鏡にて観察した。また、機能タンパク質の発現を評価するために、抗菌ペプチドの 1 つであるヒト β -ディフェンシン 3 (hBD3) および血管新生因子であるヒト塩基性線維芽細胞増殖因子 (hbFGF) を候補とし、マウス舌組織に対する最適条件下でプラスミドの導入を行い、発現を解析した。

【結果および考察】 BL+US 照射群において、BL/US なし、BL のみ、US のみの群に比べて、有意に高いルシフェラーゼ活性が認められ、従来の導入法と比較して導入効果が長期に維持されていた。また、蛍光顕微鏡にて EGFP の発現を確認したところ、BL+US 群において、舌骨格筋組織に明瞭で多数の EGFP 発現細胞が観察された。さらに、導入効率と障害性の評価から、マウス舌に対する本導入法の適切な導入条件が得られた。また、同条件によって hBD3 および hbFGF のマウス舌組織における発現が確認された。

本結果より、BL と US を併用した薬物・核酸導入法がマウス舌組織においても有用であることが示され、口腔組織への持続性と組織深達性を改善した新たなドラッグデリバリーシステムとなることが示唆された。今後、標的組織の拡大のため、本導入法を舌組織以外の他の口腔組織にも応用し、その有用性を評価していく必要がある。また、今回は基礎的検討として高分子化合物であるプラスミドを用いたが、導入分子としてペプチド、薬物や siRNA などの応用も可能である。そのような低分子導入では、より深部組織への効率的な導入効果が期待されることから、本法が口腔疾患に対する新しい治療法として有効なツールとなることが示唆される。

尚、本研究は、BL の開発や超音波を利用した薬物・核酸導入に関する基礎的研究を進めている東京薬科大学薬物送達学教室 (根岸洋一 准教授) および帝京大学生物薬剤学教室との共同研究として行った。

IL-1Ra 欠損マウスの破骨細胞形成能と実験的歯周炎について

愛知学院大学 歯学部 歯周病学講座

○石原裕一, 水谷大樹, 伊澤有郎, 三谷章雄, 黒須康成, 川瀬仁史, 稲垣幸司, 野口俊英

Osteoclast formation and experimental periodontitis in IL-1Ra knockout mice

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University

○ISHIHARA Yuichi, MIZUTANI Hiroki, IZAWA Ario, MITANI Akio, KUROSU Yasunari,
KAWASE Hitoshi, INAGAKI Koji, NOGUCHI Toshihide

【研究の目的】歯周疾患の発症と進行には局所で産生される、炎症性サイトカインが深く関与していることが明らかとなっている。その中でもインターロイキン-1 (IL-1) は単球・マクロファージから産生され、歯槽骨吸収に直接関与することが基礎的・臨床的研究により報告されている。一方、IL-1 レセプターアンタゴニスト (IL-1Ra) は IL-1 インヒビターとして IL-1 活性調節に働くことから、すでにリウマチ治療薬として海外では使用されている。しかし、歯周疾患において IL-1Ra が歯槽骨吸収抑制に直接働いているかどうかを調べた研究はまだない。そこで IL-1Ra 欠損マウス腹腔 Mφ を歯周病関連細菌の一つである *A. actinomycetemcomitans* (*A. a.*) LPS で刺激した際の炎症性サイトカイン産生と造血幹細胞の破骨細胞分化と骨吸収活性を調べること、また *A. a.* 感染による実験的歯周炎モデルを IL-1Ra 欠損マウスに惹起し、歯周組織を野生型マウスのそれと形態学的に比較することにより、歯周炎の進行における IL-1Ra の役割を調べることを目的とした。

【材料および方法】チオグリコレート培地で誘導した腹腔 Mφ を LPS で刺激し、得られた培養上清中の炎症性サイトカイン量を ELISA 法により測定した。またその培養上清を骨髄細胞培養系に添加することにより破骨細胞形成能を調べた。さらにマウス頭蓋冠にこの上清を添加した場合の骨吸収活性を IL-1Ra 欠損マウスと野生型マウス間で測定し比較検討した。次に *A. a.* (ATCC29524 株) 菌体浮溶液 (1×10^{10} CFU/ml) を IL-1Ra 欠損と野生型マウス口腔内に 9 日間投与し実験的歯周炎を惹起させ、45 日後に屠殺し、HE 染色にて比較検討した。IL-1Ra 欠損と野生型マウス由来骨芽細胞を *A. actinomycetemcomitans* 生菌で刺激した際の RANKL, OPG 発現は qPCR にて比較した。

【結果】14 週齢 IL-1Ra 欠損マウス腹腔 Mφ 培養上清中の IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , RANKL 産生量は IL-1Ra 欠損マウスが野生型マウスに比べ有意に高く、IL-1Ra は野生型マウスでのみ産生されていた。破骨細胞形成数も野生型マウスに比べ IL-1Ra 欠損マウスで有意に多く、頭蓋冠での骨吸収活性も IL-1Ra 欠損マウスの方が高い傾向が観察された。6 週齢マウスで惹起された実験的歯周炎をマイクロ CT 画像上で形態計測したところ、下顎左側第二臼歯近心根の歯槽骨吸収率は野生型マウス (14.2%) に比べ IL-1Ra 欠損マウス (25.7%) の方が有意に高かった。HE 染色において IL-1Ra 欠損マウスでは付着上皮と歯肉固有層への炎症性細胞浸潤、付着の喪失および歯槽骨吸収が形態学的に観察された。IL-1Ra 欠損マウス由来骨芽細胞における RANKL 発現と RANKL/OPG 比は野生型マウスに比べ高い傾向を示した。

【考察】今回 IL-1Ra 欠損マウス腹腔 Mφ から産生される炎症性サイトカインは IL-1Ra 欠損により、その産生が亢進されたが、このことは IL-1 の活性調節が IL-1 以外の炎症性サイトカイン産生をも間接的に制御していることを示唆している。また IL-1Ra は骨髄細胞培養系における破骨細胞分化や器官培養における骨吸収活性においても重要な働きをしていることが推察された。さらに、どちらのマウスでも骨髄細胞培養系にインドメタシンを添加することで破骨細胞形成が抑制され、今回の破骨細胞形成は COX-2 を介したものであることが明らかとなった。以上のことから IL-1Ra は炎症性サイトカイン産生、骨芽細胞の骨関連遺伝子発現、破骨細胞の分化・活性化と歯周炎の発症から進行まですべての過程に強く関与している事が示唆され、このことにより IL-1Ra 欠損により付着の喪失を伴う実験的歯周炎が観察されたと考えられた。したがって、IL-1Ra にはリウマチ治療薬としてだけでなく、今後、歯周病治療薬として開発される可能性があることが示唆された。

【結論】*A. actinomycetemcomitans* 単独感染において IL-1Ra 欠損マウスの方が野生型マウスに比べ有意に進行した実験的歯周炎を惹起しており、歯周病の発症と進行に IL-1Ra が深く関与していることが明らかとなった。

JP2 型 leukotoxin promoter を有する *A. actinomycetemcomitans* 菌の分離と解析

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野
○長澤敏行, 清水伸太郎, 日高竜宏, 門 貴司, 加藤幸紀, 森 真理,
古市保志

Isolation and characterization of *A. actinomycetemcomitans* with JP2 type leukotoxin promoter
Division of Periodontology&Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido
○NAGASAWA Toshiyuki, SHIMIZU Shintaro, HIDAKA Tatsuhiro, KADO Takashi, Kato Satsuki, MORI Mari,
FURUICHI Yasushi

【研究目的】

A. actinomycetemcomitans 菌は侵襲性歯周炎の病巣から比較的高頻度に検出される歯周病原細菌であり、主要な病原因子として白血球の細胞死や赤血球の溶血をおこす leukotoxin が知られている。*A. actinomycetemcomitans* 菌の JP2 株は haemoglobin-binding protein A 遺伝子 (hbpA) に変異があり、栄養源として hemoglobin から鉄を得ることができない事、leukotoxin 遺伝子のプロモーター領域に 530bp の欠失があるために leukotoxin を多量に産生し、病原性が高い事が報告されている。JP2 株はアフリカからヨーロッパ、南北アメリカで分布が報告されているものの、アジアではこれまで存在が確認されていない。本研究では北海道における *A. actinomycetemcomitans* 菌の特徴を検討することを目的として、北海道医療大学歯科内科クリニックで分離された臨床分離株の leukotoxin 遺伝子と hbpA 遺伝子を検討した。

【材料および方法】

1. 北海道医療大学歯科内科クリニックに来院した 22 人の歯周炎患者、12 人の軽度歯肉炎・健常者を対象とし、混合唾液と歯肉縁下プラークを採取した。唾液及び歯肉縁下プラークサンプル中の *A. actinomycetemcomitans* 菌の有無を PCR 法で検討した。
2. PCR 法で *A. actinomycetemcomitans* 菌が認められた被験者の歯周ポケット 2 箇所から同菌を培養した。各部位からそれぞれ 2 コロニーを分離・培養し、得られた臨床分離株から DNA を分離して leukotoxin 遺伝子プロモーター領域の変異を検討した。
3. 臨床分離株の中から被験者ごとに 1 株を選択して hbp 遺伝子のシーケンスを行って配列を決定した。同様に JP2 株の hbpA 遺伝子のシーケンスを行い、臨床分離株と配列の比較を行った。

【成績】

PCR 法により 22 人の歯周炎患者のうち 7 名から *A. actinomycetemcomitans* 菌が検出され、健常者 12 人からは検出されなかった。7 名の *A. actinomycetemcomitans* 菌陽性患者の歯周ポケットより 28 株の臨床分離株を得た。28 株の臨床分離株のすべてにおいて JP2 と同様な leukotoxin 遺伝子プロモーターの欠失が認められた。hbpA 遺伝子の配列を比較した結果、臨床分離株は JP2 株の持つ hbpA 遺伝子の変異を持たないことが明らかとなった。

【考察】

これまで日本及び東アジアで報告されている *A. actinomycetemcomitans* 菌とは異なり、本研究で得られた臨床分離株では leukotoxin 遺伝子のプロモーター領域に JP2 株と同じ欠失が認められた。しかし hbpA 遺伝子は JP2 株と異なることから、JP2 株とは異なる性質を持つことが示唆された。今後はこの *A. actinomycetemcomitans* 菌がどの地域のどのような個体に分布しているのか、JP2 と比較してどの程度の病原性が認められるのかなどについて詳細な検討が必要であると思われる。

【結論】

本研究により JP2 様の leukotoxin promoter を持ちながら hbpA が JP2 と異なる *A. actinomycetemcomitans* 菌が北海道に分布していることが明らかとなった。

Porphyromonas gingivalis LPS が microRNA 発現に及ぼす影響

新潟大学 超域学術院¹, 大学院医学総合研究科 歯周診断・再建学分野², 口腔保健学分野³,
医学総合病院 歯科総合診療部⁴

○本田朋之^{1,2}, 高橋直紀^{1,2}, 奥井隆文¹, 宮内小百合^{1,2}, 中島貴子^{1,4}, 多部田康一¹, 山崎和久^{1,3}

The effect of *Porphyromonas gingivalis* LPS on microRNA expression

Center for Transdisciplinary Research, Niigata Univ.¹, Div. Periodontology²,
Div. Oral Science for Health Promotion³ Niigata Univ. Graduate School of Medical and Dental Sciences,
General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata Univ. Medical and Dental Hospital⁴

○HONDA Tomoyuki^{1,2}, TAKAHASHI Naoki^{1,2}, OKUI Takafumi¹, MIYAUCHI Sayuri^{1,2}, NAKAJIMA Takako^{1,4},
TABETA Koichi¹, YAMAZAKI Kazuhisa^{1,3}

【研究目的】

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) は、宿主の免疫応答を制御しその排除機構から逃れ、歯周炎という慢性病態の成立に関与していると考えられる。我々はこれまでに、*P. gingivalis* がマクロファージあるいは歯肉上皮細胞に対して TLR シグナル伝達系における負の制御因子 IRAK-M を増強し、免疫応答が抑制されることを報告した (Domon *et al.*, J Leukoc Biol, 2008, Takahashi *et al.*, J Periodont Res, 2010)。近年、新たな遺伝子制御分子として microRNA の存在が注目され、TLR シグナル伝達系への関与も報告されている。*P. gingivalis* による免疫制御に microRNA が関わっている可能性が考えられる。そこで今回我々は、*P. gingivalis* LPS の microRNA 発現に及ぼす影響および microRNA のサイトカイン産生に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

ヒト単球系細胞株 THP-1 に対して、*P. gingivalis* LPS, *E. coli* LPS および Pam₂CSK4 にて刺激後 (1 μg/mL, 8h), 通常に従い total RNA を抽出した。同細胞の未刺激サンプルをコントロールとして、Human miRNA マイクロアレイ (アジレント・テクノロジー社, Release 12.0) を用いて刺激による microRNA の発現変化を網羅的に検索した。発現変動のみられた microRNA に関してはこれに特異的なプライマーを用いた Real-time PCR 法にてさらに検証した。

変動のみられた microRNA の機能的関与を明らかにするため、PMA によりマクロファージ様細胞に分化させた THP-1 に対して、microRNA に特異的な inhibitor または precursor をトランスフェクトし、ノックダウン・強制発現させた。上記同様に刺激後、microRNA のターゲット候補分子の発現変化を Real-time PCR 法, Western Blot 法にて確認し、炎症性サイトカイン産生の変化を Real-time PCR 法, ELISA 法にて確認した。

【結果】

マイクロアレイ解析の結果、THP-1 において *P. gingivalis* LPS 刺激により未刺激に比較して 2 倍以上の発現変動を認めた microRNA は 10 種類検出され (上昇: 8 種類, 減少: 2 種類), その中で miR-146a のみ有意な上昇が認められた。*P. gingivalis* LPS による miR-146a 発現上昇率は、同濃度の *E. coli* LPS 刺激の場合に比較して高い傾向が認められたが、両刺激間に有意差は認められなかった。

miR-146a は、TLR シグナル分子である IRAK-1 および TRAF6 が候補ターゲットとして報告されている (Taganov *et al.*, PNAS, 2006)。miR-146a のノックダウンにより、IRAK-1, TRAF6 発現, サイトカイン産生に関していずれも変化は認められなかった。一方、miR-146a の強制発現により、IRAK-1, TRAF6 発現に関して変化は認められなかったが、炎症性サイトカイン (TNF-α, IL-6) 産生は有意に低下した。

【考察】

P. gingivalis LPS により大きな発現変動を示す microRNA は miR-146a のみであった。miR-146a の強制発現により、IRAK-1, TRAF6 を直接的に介さず刺激時のサイトカイン産生を抑制することが今回示された。しかしながら、これは刺激による発現上昇レベルを超えた非生理的レベルにまで強制発現させて得られる作用であり、miR-146a のサイトカイン産生に及ぼす影響はわずかであると考えられる。microRNA の実際の歯周炎病態形成における関与を明らかにするためには今後さらなる検討が必要である。

【結論】

P. gingivalis LPS により miR-146a の発現上昇が認められたが、miR-146a のサイトカイン産生に及ぼす影響はわずかであることが示唆された。

Aggregatibacter actinomycetemcomitans がヒト歯肉上皮細胞の細胞接着因子に及ぼす影響

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 病態機構学講座 歯周病態学分野¹
社団医療法人里仁会 興生総合病院 歯科・口腔外科²

○高知信介¹, 山城圭介¹, 山本直史¹, 本郷昌一¹, 下江正幸^{1,2},
富川和哉¹, 鶴川祐樹¹, 前田博史¹, 高柴正悟¹

Aggregatibacter actinomycetemcomitans infection affects cell adhesion molecules in human gingival epithelial cells

Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Okayama University
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences¹
Rijinkai Medical Foundation Kousei General Hospital, Division of Dentistry and Oral Surgery²

○KOCHI Shinsuke¹, YAMASHIRO Keisuke¹, YAMAMOTO Tadashi¹, HONGO Shoichi¹, SHIMOE Masayuki^{1,2},
TOMIKAWA Kazuya¹, UGAWA Yuki¹, MAEDA Hiroshi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【緒言】

歯肉上皮は、細胞間および歯面との接着によって、歯周病原細菌の感染に対する物理的バリアーとして機能している。細胞表面受容体であるインテグリンは、ヘミデスモゾーム結合を構成する重要な細胞接着因子であり、細胞外基質と特異的に結合することによって組織間の接着を強固にしている。歯周病によって上皮の組織破壊が起こる際のインテグリンや細胞外基質の発現を制御するメカニズムには不明な点が多い。そこで本研究では、培養ヒト歯肉上皮細胞と歯周病原細菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 (Aa Y4) の共培養時の、歯肉上皮細胞におけるインテグリン、細胞外基質、さらにサイトカインに着目して、これらの遺伝子発現の量的変化について検討した。

【材料及び方法】

1. 歯肉上皮細胞の分離と培養：健康な歯肉を採取し、歯肉上皮細胞を 3 mg/mL collagenase type I および 4 mg/mL dispase で分離して、10 cm 培養皿に播種した。その後、Keratinocyte-Serum Free Medium (Invitrogen) を用いて、37 °C, 5 %CO₂ 存在下で、1 週間培養した。
2. 歯肉上皮細胞と AaY4 との共培養：Trypticase Soy Broth で 16 時間培養した Aa を遠心分離し、上清を吸引後、抗生剤が含まれていない Keratinocyte-Serum Free Medium で懸濁した。歯肉上皮細胞を継代培養し、10 cm 培養皿でコンフルエント (4×10⁵ 個) に達した時に、実験群には上記の Aa を multiplicity of infection (MOI) が 10 および 100 となるよう添加し、24 時間培養した。
3. 細胞接着分子、細胞外基質、サイトカインの遺伝子発現の定量：上記条件で培養した歯肉上皮細胞から、全 RNA を抽出し、cDNA に逆転写後、リアルタイム PCR 法を用いて以下の 11 遺伝子の発現変化の定量を行った。サイトカイン：Transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1), Interleukin-8 (IL-8)；接着因子：Integrin α2, Integrin α3, Integrin α5, Integrin β4, Integrin β6；細胞外基質：Tenascin C, Fibronectin, Versican；増殖関連：Proliferation cell nuclear antigen (PCNA)

【結果】

1. IL-8 の遺伝子発現量は著しく増加し、TGF-β1 の遺伝子発現量はわずかに増加した。
2. Integrin α2, Integrin α3, Integrin β4, そして Integrin β6 の遺伝子発現量は減少した。しかし、Integrin α5 の遺伝子発現量は増加した。
3. Versican の遺伝子発現量は増加した。しかし、この条件での Tenascin C および PCNA は減少した。

【考察及び結論】

歯肉上皮細胞に Aa が感染することによって、TGF-β1 と炎症性サイトカインである IL-8 の遺伝子発現が増加し、細胞接着因子の遺伝子発現が減少した。TGF-β1 は、インテグリンの発現と深く関わっていることが報告されているが、それ以外にも細胞間接着因子の減少や、細胞外基質の増加、そして間葉細胞への形質転換にも関わっていることが報告されている。一方、Aa の感染によって遺伝子発現が増加した Integrin α5 と Versican は間葉細胞のマーカーでもあることから、Aa の感染によって歯肉上皮細胞は、その細胞の性質を変化させている可能性がある。今後 TGF-β1 による細胞接着の制御メカニズムをさらに検討することは、歯周病による上皮破壊解明の一助になると考えられる。

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会承認番号：975)

歯槽骨吸収における *Actinomyces naeslundii* ペプチドグリカンの役割

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 歯内療法学分野

○ 佐藤武則, 石井信之

The role of peptidoglycan from *Actinomyces naeslundii* in alveolar bone resorption

Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental College,

○SATO Takenori, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】歯槽骨吸収はプラーク中の細菌により産生された毒素がマクロファージを刺激して炎症性サイトカインを誘導し、破骨細胞を活性化させることにより生じることが知られている。歯周炎局所においては偏性嫌気性グラム陰性菌が優位に分離されることから、細胞壁成分であるリポ多糖 (LPS) が歯槽骨破壊に関与する主たる細菌学的因子として数多く報告されており、細菌の細胞壁には歯槽骨吸収に関与する生物学的活性が存在するものと考えられている。一方、グラム陽性菌についてはグラム陰性菌の定着や増殖の足場となりプラーク形成に重要な働きを示していることは明らかにされているが、細胞壁成分と歯槽骨吸収の関連性については明らかにされていない。このことからグラム陽性菌の歯槽骨吸収因子の解析は歯周炎予防と健全な口腔環境の維持に役立つものと考えられる。本研究では、まず根尖病変や歯周疾患から多く検出されるグラム陽性菌、*Actinomyces naeslundii* 生菌をラット口腔内に投与する実験的歯周炎により歯槽骨吸収への影響を評価した。次いで、本菌の細胞壁主要構成成分であるペプチドグリカンを用いて破骨細胞分化誘導能と骨吸収能の解析、炎症性サイトカイン産生能について検討した。

【材料および方法】供試菌と培養条件：*A. naeslundii* T14V と *P. gingivalis* ATCC 33277 を BHI 培地により 37°C, 18 時間嫌気培養した。
1. 実験的歯周炎：実験動物は 3 週令 Sprague-Dawley 系ラット雄 (n=18) を用いた。スルファメトキサゾールとトリメトプリムの合成抗菌薬により口腔常在菌を減少させた後、ラット口腔内に 5%カルボキシルメチルセルロース(CMC)で調整した供試菌 (3.0×10^{11} CFU/ml) を 1 日おきに 0.5 ml ずつ 5 回接種した。非感染群は CMC のみを接種した。実験開始から 42 日後に屠殺して上顎骨を採取後に歯槽骨吸収量を測定した。2. 破骨細胞分化誘導能と骨吸収能：BALB/c マウス骨髄細胞と破骨細胞分化支持細胞 (MC3T3-G2/PA6) を共培養し、ペプチドグリカン添加群、*E. coli* LPS 添加群と無添加群 (コントロール) に分けて比較した。破骨細胞分化誘導能は 1 週間培養後の TRAP 陽性細胞数をカウントし、骨吸収能は骨片入りプレート上で培養して骨吸収窩を測定した。3. 炎症性サイトカイン産生能：チオグリコロート培地を接種した BALB/c マウス腹腔内よりマクロファージを回収し、RT-PCR 法によりペプチドグリカン添加群、*E. coli* LPS 添加群とコントロールにおける炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6, TNF- α) の発現を比較解析した。

【成績】1. 実験的歯周炎：*A. naeslundii* 接種群は *P. gingivalis* 接種群と同等の骨吸収を示し、非感染群と比較して有意な骨吸収を認めた ($p < 0.01$)。2. 破骨細胞分化誘導能と骨吸収能：ペプチドグリカン添加群 (10 $\mu\text{g/ml}$) は *E. coli* LPS 添加群 (1 $\mu\text{g/ml}$) と同等の TRAP 陽性細胞の分化誘導と骨吸収が認められ、コントロールに比べて有意な破骨細胞の活性化が認められた ($p < 0.01$)。3. 炎症性サイトカイン産生能：ペプチドグリカン添加群 (10 $\mu\text{g/ml}$) と *E. coli* LPS 添加群 (1 $\mu\text{g/ml}$) はコントロールに比べて炎症性サイトカインの発現が強く認められた。

【考察および結論】実験的歯周炎の結果より、*A. naeslundii* は歯槽骨吸収を惹起させる細菌であることが示唆された。また、ペプチドグリカンを添加することにより *E. coli* LPS と同等の破骨細胞分化誘導と骨吸収能が認められ、さらに炎症性サイトカインである IL-1 β と IL-6, TNF- α が発現されたことから *A. naeslundii* のペプチドグリカンが歯周炎の病原因子として歯槽骨吸収に関与することが明らかにされた。

【研究協力者】神奈川歯科大学 感染制御学講座 微生物学分野：遠山歳三, 渡辺清子, 熊田秀文, 浜田信城

コンポジットレジン修復物の辺縁部におけるエア・ポリッシングの影響

日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座¹, 日本歯科大学新潟病院総合診療科²

○清水 豊¹, 多田和弘¹, 関 秀明², 鴨井久博¹, 佐藤 聡¹

Effect of air polishing to resin composite-dentin interface

Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata¹,

Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital²

○SHIMIZU Yutaka¹, TADA Kazuhiro¹, SEKI Hideaki², KAMOI Hisahiro¹, SATO Soh¹

【目的】エア・ポリッシングは、圧縮空気と水、微粒子を歯面に噴霧することによりプラークやステインを除去する治療法で、臨床において幅広く応用されている。また、キュレットや超音波スケーラー、ラバーカップの使用と比較し、容易かつ迅速に細部のプラークやステインを除去できることが数多く報告されている。しかし、微粒子を歯面に高压で噴霧するため、歯質や修復物の破壊が懸念されている。以前の研究で、エア・ポリッシングは、象牙質やコンポジットレジンに対する有意な破壊が認められるが、成熟エナメル質に対する破壊が少ないことが報告された。われわれは、これまでにエア・ポリッシングが与える象牙質の破壊程度を検討し、微粒子の種類 (NaHCO₃, グリシン) と噴射角度により象牙質破壊程度が異なることを報告した。しかし、コンポジットレジンと象牙質の境界部に対するエア・ポリッシングの影響は検討しておらず、他の報告もみられない。本研究では、コンポジットレジンと象牙質の境界部におけるエア・ポリッシングの影響を観察し、異なる硬度の微粒子と噴射角度による破壊深度、破壊体積の検討を行った。

【材料および方法】ヒト抜去歯 54 歯を清掃、乾燥後、一辺 6mm の象牙質ブロックを作製し、エポキシ樹脂に包埋した。その後、象牙質表面の半側に 2mm×3mm×2mm の窩洞を形成し、2 ステップ型ボンディング材 (クリアフィルメガボンド, クラレメディカル) を使用しメーカー指示書に従って接着処理を行い、コンポジットレジン (クリアフィルマジスティ, クラレメディカル) の充填を行った。水中に 48 時間保管した後、コンポジットレジンの研磨を行った。エア・ポリッシングは、エア・ポリッシャー (AIR-FLOW S II, EMS) のノズル先端と試料面間の距離を 3mm に固定し、コンポジットレジンと象牙質の境界部に対して、90°, 象牙質側から 45°, コンポジットレジン側から 45° の角度条件で、噴射条件毎に 6 歯に対して 5 秒間行った。ポリッシングパウダーは、平均粒径が 65 μm の NaHCO₃ 粒子 (AIR-FLOW CLASSIC, EMS), 平均粒径が 25 μm のグリシン粒子 (AIR-FLOW PERIO, EMS), 平均粒径が 65 μm のグリシン粒子 (AIR-FLOW SOFT, EMS) の 3 種類をそれぞれ使用した。エア・ポリッシング後の試料表面の破壊深度と破壊体積の解析は、測定顕微鏡 (STM6, OLYMPUS) を用いて行った。

【結果および考察】粒子の違いにおける試料表面の破壊は、NaHCO₃ 粒子と比較しグリシン粒子で小さく、統計学的有意差が認められた。平均粒径の異なるグリシン粒子間では、25 μm のグリシン粒子と比較し、65 μm のグリシン粒子で試料表面の破壊が小さい傾向が認められた。噴射角度の違いにおける試料表面の破壊深度の比較では、象牙質側から 45° の角度条件で噴射した群で最も深い破壊深度が認められた。コンポジットレジンと象牙質の境界部に対して 90° の角度条件で噴射した群とコンポジットレジン側から 45° の角度条件で噴射した群の比較では、コンポジットレジン側から 45° の角度条件で噴射した群に破壊深度が浅い傾向が認められた。噴射角度の違いにおける試料表面の破壊体積の比較では、コンポジットレジンと象牙質の境界部に対して 90° の角度条件で噴射した群と象牙質側から 45° の角度条件で噴射した群は、コンポジットレジン側から 45° の角度条件で噴射した群と比較し、破壊体積が大きい傾向が認められた。この結果から、コンポジットレジンと象牙質の境界部に対するエア・ポリッシングは、象牙質と比較し硬度が高いコンポジットレジン側からノズルを向けて噴射することにより、境界部の破壊を最小限に抑えることが可能であることが示唆された。

【結論】本研究より、エア・ポリッシングのコンポジットレジンと象牙質の境界部における破壊が最も小さいのは、平均粒径が 65 μm のグリシン粒子を使用し、コンポジットレジン側から 45° の角度条件で噴射した場合であることが示唆された。

高出力 LED 照射器が デュアルキュア型レジンセメントの硬さに与える影響

新潟大学大学院 歯学分野¹, きたしろ歯科診療所², 東京医科歯科大学大学院 部分床義歯補綴学分野³,
新潟大学歯科総合診療部⁴, 新潟大学大学院生体材料学分野⁵, 新潟大学大学院口腔保健学分野⁶
○渡部平馬^{1,2}, 浅井哲也¹, 金谷史夫², 風間龍之輔³, 石崎裕子⁴, 渡辺孝一⁵, 福島正義⁶, 興地隆史¹

Effect of high intensity light-emitting diode (LED) unit on the hardness of dual-cured resin cement

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Graduate School, Niigata University¹, Kitashiro
Dental Office², Removable Partial Denture Prosthodontics, Graduate School, Tokyo Medical and Dental
University³, General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University⁴, Division of Biomaterial Science,
Niigata University⁵, Division of Oral Science for Health Promotion, Niigata University⁶
○WATANABE Heima^{1,2}, ASAI Tetsuya¹, KANAYA Fumio², KAZAMA Ryunosuke³,
ISHIZAKI Hiroko⁴, WATANABE Koichi⁵, FUKUSHIMA Masayoshi⁶, OKIJI Takashi¹

【目的】 CAD/CAM セラミック修復物を口腔内で長期間安定して保持するためには、フィラーを含有したレジンセメントで歯質と一体化させる必要がある。そのため、デュアルキュア型レジンセメントを用いる際は、光照射により十分に硬化させる必要がある。近年、プラズマ照射器と同等の出力を持つ高出力型 LED 光照射器が開発されており、光重合レジンの硬化時間の短縮が期待されているが、これらを用いセラミックスを介して光照射した場合のレジンセメントの硬化度を検討した報告は少ない。そこで本研究では、CAD/CAM 用マシーナブルセラミック材を介してデュアルキュア型レジンセメントに光照射を行い、照射器の種類や照射時間がセメントの硬さに与える影響を検討した。

【材料と方法】 高出力型 LED 照射器として Demi (Kerr : 以下 DE), PenCure 2000 (Morita : 以下 PC)および Valo (Ultradent : 以下 VL) を、また QTH (ハロゲン) 照射器として Jetlite 3000 (Morita : 以下 JL) を用いた。

長石系セラミックブロック (Vita Mark 2 : A2, Vita Zahnfabrik) を硬組織切断機にて切断後、表面を耐水研磨紙 #1000 で研磨して 12.0×10.0×2.0 mm のセラミック試片を作製した。次いで、デュアルキュア型レジンセメント (クリアフィルエステティックセメント ユニバーサル, クラレメディカル) を内寸 12.0×2.0×2.0mm のステンレス金型に充填し、透明ポリエチレンフィルムおよびセラミック試片の介在あるいは非介在下で、各照射器を密着させて光照射を行った。照射条件は、DE、JL ではハロゲン照射器に対するメーカー指定照射時間(20 秒)およびその 2 倍 (40 秒)、また、PC、VL では最大出力下でプラズマ照射器に対するメーカー指定照射時間 (5 秒)およびその 2 倍 (10 秒)とした。全ての試料は暗室中で 37℃蒸留水に 24 時間浸漬保管後、耐水研磨紙#1500 まで研磨を行い、微小硬度計 (MVK、明石製作所; 荷重 50g, 荷重保持時間 15 秒) を用いて、光照射側から 100 μm の位置で 3 カ所ヌーブ硬さを計測して平均値を求めた。得られたデータは二元配置分散分析および Tukey の多重検定により統計処理を行った (P = 0.05)。

また、セラミック試片 (厚さ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mm) 介在下あるいは非介在下における各照射器の光強度を、Radiometer (Demetron) にて測定した。

【結果および考察】 メーカー指定照射時間では、ヌーブ硬さは全群ともセラミック試片介在下で有意に低下した (P<0.05)。また、照射時間をメーカーの 2 倍とした場合は、JL のみセラミック試片介在下で有意な硬さの低下が生じ (P<0.05)、DE、VL は JL に比較して有意に高い値を示した (P<0.05)。光強度はセラミック試片介在により大幅に減弱し、厚さ 2 mm のセラミック試片を介在させた場合約 1/5 以下に減弱した。

以上の結果から、オールセラミック修復物をデュアルキュア型レジンセメントで接着する場合、メーカー指定の照射時間ではセメントの硬化度が低下すること、および、高出力型 LED 照射器で照射時間を 2 倍とすることにより、セメント硬化度の低下が回避されることが示唆された。高出力型 LED 照射器は、オールセラミック修復物装着時にデュアルキュア型レジンセメントの硬化度の向上、照射時間の短縮の両面で有用と考えられた。

【結論】 今回の実験条件においては、高出力型 LED 照射器では、メーカー指定の 2 倍の照射時間でデュアルキュア型レジンセメントを重合させた場合、マシーナブルセラミックスの介在によるセメント硬さの低下はみられなかった。

ブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略 —表層下脱灰病巣に結合した唾液タンパク質の化学的変化—

神奈川県立歯科大学 口腔治療学講座 保存修復学分野¹
神奈川県立歯科大学 生体機能学講座 生化学・分子生物学分野²
○飯塚純子¹, 向井義晴¹, 高垣裕子², 寺中敏夫¹

Remineralization strategy for enamel subsurface lesions utilizing bleaching therapy

- Chemical alteration of human salivary proteins in subsurface enamel lesions -

Department of Oral Medicine, Division of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College¹

Department of Functional Biology Division of Biochemistry and Molecular Biology, Kanagawa Dental College²

○IIZUKA Junko¹, MUKAI Yoshiharu¹, TAKAGAKI Yuko², TERANAKA Toshio¹

【研究目的】 エナメル質表層下脱灰病巣を形成している表層にはサブミクロンレベルの孔や裂溝が存在し、病巣体部に侵入したタンパク質等の有機物が着色の原因となるのみならず再石灰化の進行を妨げている可能性が報告されている。我々はエナメル質表層下脱灰病巣に侵入している有機物を分解し効果的な再石灰化を誘導するための手段の一つとしてオフィスブリーチング剤の有効性を検討し、134回本学術大会において、安静時唾液から抽出した唾液タンパク質に対しHiLite処理を模した条件下で30%過酸化水素水を作用させると特定のタンパク質が断片化される一方で高分子量の新たな反応物が生成されることを報告した。しかしながら、表層下脱灰病巣部に侵入していると考えられる唾液タンパク質に対するブリーチング剤の作用は未だ不明である。そこで本研究では、ウシエナメル質に表層下脱灰病巣を作製し、安静時唾液中に浸漬することで唾液タンパク質を侵入させ、HiLite処理の有無による病巣侵入唾液タンパク質の変化を検討した。

【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、3×4mmの平坦な面を作製し、耐水研磨紙2,000番で研磨を行った。耐酸性パーニッシュにて試験面を2×3mmに規定し、エナメル質片を脱灰溶液(0.1M acetic-acid, 1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, pH 4.6)に37°Cで4日間浸漬し表層下脱灰病巣を作製し、以下に示す2群(n=12)に分けた。1) Lesion群: エナメル質片に表層下脱灰病巣を作製した後、氷冷下にて採取した自己安静時唾液(0.02% NaN₃添加)に37°Cで5日間浸漬した。また、1日1回新鮮な唾液と交換した。2) HiLite群: Lesion群と同様に病巣を作製後、安静時唾液中に浸漬した。その後、HiLiteを9回適応した。これらの処理後、試料表面に付着した唾液やHiLiteにより変性したタンパク質等を取り除くため氷冷リン酸ナトリウム緩衝液(20 mM PB, pH 6.8)にて洗浄した。洗浄後、0.15 M NaCl含有PBSおよび0.4 M PB (pH6.8)をそれぞれ試験面に5μlずつ2回滴下して病巣内のタンパク質を順次抽出した。以上の抽出操作後も残存したタンパクを得るため、1N HClを同様に滴下し回収した。これらの抽出液を透析、濃縮後、SDS sample bufferに溶解し、94°C、5分熱変性処理した。回収されたタンパク質はSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動後、Gel Code Blue Stain (Thermo SCIENTIFIC社製)にて染色し、安静時唾液中のタンパク質と比較した。

【結果】 安静時唾液中に浸漬した表層下脱灰病巣から抽出した試料は、安静時唾液中のタンパク質のパターンと比較すると、低分子量のタンパク質に限られていた。またLesion群とHiLite群を比較すると、HiLite群ではタンパク質成分が大幅に消失・減少していることが確認された。

【考察】 安静時唾液中に浸漬した表層下脱灰病巣から抽出した試料と、安静時唾液中のタンパク質試料の電気泳動パターンを比較すると、類似性はあるものの、主として低分子量成分が回収されたことから、表層下脱灰病巣内には選択的に唾液タンパク質が結合していると考えられた。また、Lesion群と比べ、HiLite群では大幅にタンパク質が消失・減少した(図1参照)ことから、表層下脱灰病巣内に侵入した唾液タンパク質はHiLite処理により変性・断片化されたと考えられた。

【結論】 表層下脱灰病巣には選択的に唾液タンパク質が結合し、オフィスブリーチング剤であるHiLiteを作用させると、特定のタンパク質が断片化されることが示された。

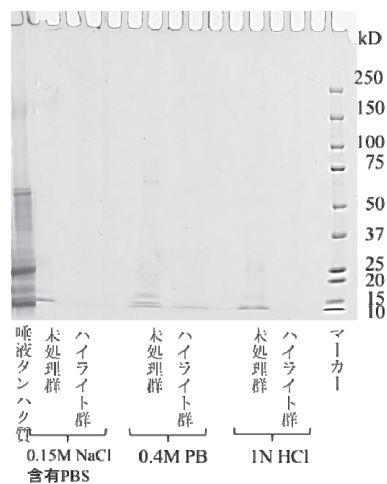


図1 唾液および表層下脱灰病巣内のタンパク質 SDS電気泳動像

ラット実験的根尖歯周炎における血管新生関連遺伝子の発現

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
○山中裕介, 金子友厚, 興地隆史

Angiogenic factor expression in rat experimental apical periodontitis

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○YAMANAKA Yusuke, KANEKO Tomoatsu, OKIJI Takashi

【研究目的】

我々は、血管内皮細胞において血管新生関連遺伝子 CXCR2 mRNA および CXCL1 mRNA の発現が根尖性歯周炎の拡大期である露髄開放 14 日経過例において上昇し、慢性期である 28 日経過例において減少することを、第 134 回保存学会において報告し、血管内皮細胞における血管新生関連遺伝子発現の変化が根尖性歯周炎の成立に関与している可能性を示唆した。そこで、本研究では、病変が慢性期に入り安定化する露髄開放 56 日経過例まで検索期間を延長し、血管内皮細胞とその周辺組織における血管新生関連遺伝子の発現が病変の成立・慢性化に果たす役割を、免疫レーザーキャプチャーマイクロディセクション (immune-LCM) を用い分子生物学的に検索することを目的とした。

【材料および方法】

5 週齢雄性 Wistar 系ラットにセボフルレン麻酔後、8% 抱水クロラルの腹腔内投与 (350mg/kg) による全身麻酔を施した。次いで、電気エンジンに装着したラウンドバー (#1/2) にて下顎第一臼歯を露髄させたのち開放のまま放置し、14, 21, 28, 56 日経過後 (n = 各 4) の根尖歯周組織を検索対象とした。灌流固定後、被験歯を顎骨ごと摘出し、EDTA にて低温脱灰後、連続浮遊切片とした。CD31 (抗血管内皮細胞) 抗体を一次抗体として ABC 法により酵素抗体染色を施した。14, 21, 28, 56 日経過後において、CD31 陽性血管内皮細胞および CD31 陰性の血管内皮細胞周囲組織を、それぞれ LCM を用いて採取した。また、病変が完成し安定化している 56 日経過後においては、根尖膿瘍周囲と病変外周部の血管内皮細胞および血管内皮細胞周囲組織を、それぞれ別々に LCM を用いて採取した。採取したそれぞれの組織から total RNA 抽出後、real time PCR を用い Be1-2, CXCL1 及び CXCR2 mRNA に対する遺伝子発現の定量解析を行った。

【結果】

血管内皮細胞およびその周囲組織における Be1-2, CXCL1 及び CXCR2 mRNA 発現は、病変の拡大期である 14 日経過例で有意に高く、以後 56 日経過後まで減少傾向を示した。

56 日経過例において、病変外周部と根尖膿瘍周囲と分割して検索を行ったところ、病変外周部において太く長く発達した CD31 陽性の血管が光学顕微鏡下で観察された。根尖膿瘍周囲の血管内皮細胞における Be1-2, CXCL1 及び CXCR2 mRNA 発現は、病変外周部の血管内皮細胞と比較して有意に増加していた。また、根尖膿瘍周囲の周囲組織における Be1-2, CXCL1 及び CXCR2 mRNA 発現も、病変外周部の周囲組織と比較して有意に増加していた。

【考察】

血管内皮細胞およびその周囲組織における血管新生関連遺伝子 Be1-2, CXCL1 及び CXCR2 mRNA の発現増強が病変の拡大期である 14 日経過で認められ、以後 56 日経過例まで減少したことは、血管新生関連遺伝子が病変の形成に関与している可能性が示唆された。

56 日経過例において、根尖膿瘍周囲の血管内皮細胞および周囲組織で、血管新生関連遺伝子 Be1-2, CXCL1 及び CXCR2 mRNA の発現増強が認められたことから、根尖膿瘍周囲において、血管新生が旺盛であることが示唆された。一方、病変外周部において、太く長い成熟した血管が多く観察され、また血管新生関連遺伝子の発現も下方制御されていたことから、病変の慢性化に伴った遺伝子発現状況をよく反映していた。以上の結果より、病変の安定化した 56 日経過例においては、血管内皮細胞およびその周囲組織が、病変の部位により異なった発現を示し、血管新生を調節することで病態の安定化に関与していることが示唆された。

【結論】

血管内皮細胞とその周囲組織が、慢性根尖性歯周炎の成立過程および成立後の病変の部位 (根尖膿瘍周囲・病変外周部) により血管新生関連遺伝子の発現を変化させることで、慢性根尖性歯周炎病態の成立・安定化に関与している可能性が示唆された。

赤外線サーモグラフィを用いた歯根破折診断法の開発

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,
大阪大学歯学部附属病院口腔総合診療部², 神戸大学大学院工学研究科機械工学専攻³,
滋賀県立大学工学部機械システム工学科⁴, 大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能再建講座 (歯科理工学教室)⁵
○松下真美¹, 三浦治郎², 竹重文雄², 岩見行晃¹, 阪上隆英³, 和泉遊以⁴, 林 美加子¹, 今里 聡⁵, 恵比須繁之¹
A study on diagnostic method of root fracture with infrared thermography
Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry¹,
Division for Interdisciplinary Dentistry, Osaka University Dental Hospital²,
Department of Mechanical Engineering, Kobe University Graduate School³,
Department of Mechanical Systems Engineering, The University Of Shiga Prefecture⁴,
Department of Biomaterials Science, Osaka University Graduate School of Dentistry⁵
○MATSUSHITA Manami¹, MIURA Jiro², TAKESHIGE Fumio², IWAMI Yukiteru¹, SAKAGAMI Takahide³, IZUMI Yui⁴,
HAYASHI Mikako¹, IMAZATO Satoshi⁵, EBISU Shigeyuki¹

【研究目的】

歯根に生じる破折や微小な亀裂は歯科臨床において深刻な病態のひとつであるが、それらの診断法は確実性に乏しく、特に微小亀裂の正確な確定診断を下すには不十分である。本研究では、ヒト抜去歯を用いた歯根亀裂モデルを新たに作成し、超音波振動により亀裂部分に生じた摩擦熱を赤外線サーモグラフィで計測するVibroIR法 (Sakagami et al. JSME Vol. 46-1, 93-98, 2003) を用いた歯根亀裂診断法の開発を試みた。さらに歯根亀裂の検出条件を調べるために、試料の亀裂幅と検出時間の関係についての検討を行った。

【材料および方法】

1. 歯根亀裂モデルの作成

本研究の趣旨に同意した患者 (大阪大学 研究倫理審査委員会 承認番号 H22-E3) の抜去歯の根管拡大を行い、根管内にシリコン印象材を満ちし、エポキシレジンに包埋した。硬化後、印象材を除去し、実体顕微鏡で観察しながら、テーパー付き圧子で根管内に荷重負荷をかけて亀裂を発生させた。

2. 赤外線サーモグラフィ解析

歯科用超音波治療器に超音波チップ (直線型チップ) を取り付け、37°C の環境下で、亀裂から 0°、30°、45°、60°、90° 離れた部位 (超音波負荷部位) の根管壁に、出力 0.43W、0.63W、0.80W、0.89W、1.18W、1.48W の超音波振動を与えて亀裂面に生じた摩擦熱を、赤外線サーモグラフィにて記録した。結果をもとに、歯科用超音波治療器の最適出力および超音波チップ先端の位置における亀裂の検出時間を、一元配置分散分析と Scheffe 法 (危険率: 5%) を用いて検定した。

3. 赤外線サーモグラフィ解析に用いた試料の亀裂幅の測定

赤外線サーモグラフィ解析後の試料をエポキシレジンに包埋し、硬化後、マイクロカッターにて厚さ約 60 μm の切片を作成し、光学顕微鏡を用いて亀裂幅の測定を行った。

【結果】

1. 今回用いた亀裂作成法により、4~78 μm の亀裂幅を持つ歯根亀裂モデルを作成することができた。
2. 超音波負荷部位が 0°、30°、45°、60° のいずれにおいても、出力が増加すると検出時間が短くなる傾向があり、出力 0.80W 以下と 0.89W の間で検出時間に有意差が認められた。また、超音波負荷部位が 90° では亀裂の検出が不可能であった。
3. 亀裂幅 4~35.5 μm では赤外線サーモグラフィ解析による亀裂の検出が可能であった。

【考察および結論】

VibroIR 法を用いた方法で亀裂を検出する際の条件設定として、歯科用超音波治療器の出力 0.89W、超音波負荷部位の角度間隔は 45° 以下 (根管周囲を 90° ごとに 4 回計測) が適切であることが明らかになった。本研究の結果から、今までマイクロスコープやデンタル X 線写真では検出が困難である亀裂幅 35.5 μm 以下の歯根亀裂の検出に対し、VibroIR 法を用いた歯根亀裂診断は、有効であることが示唆された。

***Porphyromonas gingivalis* 感染マウスモデルにおける炎症応答への NKT 細胞の関与**

新潟大学 超域学術院¹, 新潟大学 大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野²,
新潟大学 大学院医歯学総合研究科 口腔保健学分野³, 新潟大学 医歯学総合病院 歯科総合診療部⁴,
The University of California, San Diego⁵
○青木由香莉^{1,2,3}, 中島貴子^{1,4}, 宮下博考^{1,2,3}, 宮内小百合^{1,2,3}, 宮沢春菜^{1,2,3}, 高橋直紀⁵, 前川知樹^{1,2},
多部田康一¹, 山崎和久^{1,3}

The effect of NKT cells in the inflammatory response in *P. gingivalis* infected Mice

Center for Transdisciplinary Research, Niigata University¹, Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences², Division of Oral Science for Health Promotion, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences³, General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital⁴,
The University of California, San Diego⁵

○AOKI Yukari^{1,2,3}, NAKAJIMA Takako^{1,4}, MIYASHITA Hirotaka^{1,2,3}, MIYAUCHI Sayuri^{1,2,3}, MIYAZAWA Haruna^{1,2,3}, TAKAHASHI Naoki⁵, MAEKAWA Tomoki^{1,2}, TABETA Koichi¹, YAMAZAKI Kazuhisa^{1,3}

【目的】 Natural-killer T (NKT)細胞は、CD1d 分子に結合した糖脂質リガンドを認識するユニークなリンパ球であり、活性化に伴って多くのサイトカインを短時間で大量に産生する。Th1 タイプのサイトカインである IFN- γ と Th2 タイプのサイトカインである IL-4 の両方を産生することから、その免疫調節機能が注目されている。我々はこれまでに、ヒト歯周炎組織において NKT 細胞の浸潤が増加していることを報告している。しかしながら、歯周炎病因論における NKT 細胞の役割は明らかではない。そこで、今回我々は、*Porphyromonas gingivalis* を経口感染させたマウスモデルにおける NKT 細胞の役割について検討することとした。

【材料と方法】 6 週齢の C57BL/6 マウスに 3 日ごとに計 10 回、*P. gingivalis* W83 株を経口感染させた。同時に、NKT 細胞欠損モデルとして CD1d^{-/-}マウス、および NKT 細胞活性化モデルとして α -Galactosylceramide (α -GC)を週に 1 回計 5 回、腹腔投与した群も同様に経口感染させ、各種解析を行った。歯周炎の指標としての歯槽骨の吸収量は、実体顕微鏡による第一臼歯舌側の歯根面積をもって表した。血清中 SAA レベルは ELISA 法にて測定した。超音波破砕抗原を用いて、抗 *P. gingivalis* W83 抗体価 (IgM, IgG whole, IgG1, IgG2a, IgG2b)を ELISA 法にて測定した。さらに、感染終了後のマウスの脾細胞数を測定後、*P. gingivalis* W83 超音波破砕抗原にて再刺激し、培養 6 日後の上清中のサイトカイン産生量を ELISA 法にて測定した。

【結果と考察】 *P. gingivalis* 感染による歯槽骨吸収は、NKT 細胞の活性化により促進され、NKT 細胞が欠損すると歯槽骨吸収が起こらないことが示された。すなわち、NKT 細胞が *P. gingivalis* 特異的な歯槽骨の吸収に促進的に作用することが示唆された。全身の炎症性マーカーである、血清中の SAA レベルは、コントロール群において感染による上昇が認められたが、NKT 細胞活性化マウスではさらなる上昇がみられ、それに対し NKT 欠損マウスでは感染による上昇が認められなかった。口腔内からの *P. gingivalis* 感染が局所だけでなく、全身の炎症性マーカーに影響を及ぼすことが示され、さらに NKT 細胞によって炎症が促進されている可能性が示唆された。血清中の IgM および IgG 抗体価レベルもまた感染による上昇がみられたが、NKT 細胞の活性化によりさらなる上昇が認められた。IgG サブクラス別に測定した結果、Th2 に関連して産生される IgG1 の産生が NKT 細胞の活性化の影響を受けていることが示された。また、すべてのサブクラスにおいて NKT 細胞の欠損マウスでは感染による抗体価の上昇が抑制されていた。すなわち、B 細胞による抗体産生にも NKT 細胞が大きく影響していることが示された。次に、感染後のマウスの脾臓から得られた細胞数を測定したところ、NKT 細胞活性化群において脾細胞数の増加が認められた。さらに、これらの脾細胞を、超音波破砕した *P. gingivalis* 抗原にて再刺激し、上清中のサイトカインレベルを測定したところ、コントロール群において、感染により IFN- γ 産生が優位に上昇し、NKT 細胞欠損群においては感染による上昇が認められなかった。しかし予想に反して、NKT 細胞活性化群においても IFN- γ レベルは低下していた。これに対し、IL-4, IL-6, IL-10 産生は、NKT 細胞活性化群における感染で産生量が有意に上昇した。 α -GC 投与による NKT 細胞の活性化が、サイトカインバランスを Th2 優位に調整し、その結果抗体産生が上昇したと考えられる。

【結論】 マウスにおいて *P. gingivalis* 感染は NKT 細胞のサイトカイン産生プロファイルを modulate し、局所においては歯槽骨吸収を促進するとともに、全身的には炎症状態を亢進させることが明らかになった。

Fusobacterium nucleatum が早産に関与するメカニズム

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野

○立石ふみ, 中村 梢, 中村利明, 野口和行

The possible mechanism by which *Fusobacterium nucleatum* is involved in preterm birth.

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

○TATEISHI Fumi, HASEGAWA-NAKAMURA Kozue, NAKAMURA Toshiaki, NOGUCHI Kazuyuki

【目的】歯周病と早産・低体重時出産との関連についてこれまで多くの報告があるが、歯周病が早産・低体重児出産に関与するメカニズムは未だ解明されていない。そこで本研究は、歯周病が出産に及ぼす影響のメカニズムを解明するために、正常出産妊婦及びハイリスク妊婦における歯周組織の状態と、出産時に得られた子宮内組織での歯周病原細菌の存在の有無を調べた。さらに、培養ヒト絨毛膜由来細胞を用いて、歯周病原細菌である *Fusobacterium nucleatum*(Fn)刺激による分娩関連サイトカインである IL-6 の産生と、出産開始時期の決定に関与するホルモンである corticotrophin-releasing hormone(CRH)の産生への影響を検討した。

【材料および方法】1. 被験者は正常出産妊婦 15 名、及び早産のリスクの高い(ハイリスク)妊婦 24 名とした。インフォームドコンセント取得後、出産前に歯周組織検査及び口腔内サンプル(唾液及び歯肉縁下プラーク)を採取し、出産時に子宮内組織(卵膜)を採取した。採取したサンプルから DNA を抽出し、Fn の検出を PCR 法を用いて行った。2. 卵膜より分離培養した絨毛膜由来細胞を、polymyxinB 存在下または非存在下で heat-killed Fn を用いて刺激した。その後、TLR-2 及び TLR-4 の遺伝子発現を real-time PCR 法を用いて解析し、培養上清中の IL-6 量を ELISA 法にて定量した。3. 絨毛膜由来細胞または、siRNA により toll-like receptor(TLR)-2 または TLR-4 の遺伝子発現を抑制した絨毛膜由来細胞を、Fn LPS で刺激し、TLR-2 及び TLR-4 の遺伝子発現、培養上清中の IL-6 及び CRH 量を定量した。(本研究は鹿児島大学医学部・歯学部付属病院及び鹿児島市立病院倫理委員会において承認された)

【結果】1. ハイリスク妊婦は正常出産妊婦と比べて有意に plaque index が高く、歯周パラメータ(probing pocket depth, clinical attachment level, bleeding on probing)も有意に悪化していた。2. 24 名のハイリスク妊婦のうち、全ての妊婦の口腔内サンプルと 7 名の妊婦の卵膜サンプルより Fn が検出された。正常出産妊婦 15 名のうち 12 名の口腔内サンプルから Fn が検出されたものの卵膜サンプルからは検出されなかった。3. 絨毛膜由来細胞を heat-killed Fn で刺激すると、培養上清中の IL-6 レベルが有意に亢進したが、polymyxinB を加えるとその IL-6 レベルは有意に減少した。4. 絨毛膜由来細胞を Fn LPS で刺激すると培養上清中の IL-6 及び CRH レベルと、TLR-2 の遺伝子発現が有意に上昇した。5. Fn LPS 刺激により上昇した IL-6 及び CRH レベルは、TLR-2 及び TLR-4 遺伝子発現を抑制することで有意に減少したが、TLR-2 遺伝子抑制下と比較して TLR-4 遺伝子抑制下で有意に産生が抑制された。

【考察および結論】本研究により、ハイリスク妊婦は正常出産妊婦と比べて歯周組織の状態が悪化しており、約 29% のハイリスク妊婦の卵膜組織で Fn が検出されることが明らかになった。絨毛膜由来細胞において heat-killed Fn は IL-6 の産生と、TLR-2 の発現を上昇させるが、その反応は polymyxinB で抑制されることから、Fn の作用は主に LPS によるものであることが示された。Fn LPS は IL-6 及び CRH の産生を誘導し、その経路は TLR-2 及び TLR-4 を介していることが示された。これらのことから、子宮内組織に定着した Fn の構成成分である LPS が、TLR-2 及び TLR-4 を介して分娩の開始に関わるサイトカインやホルモンの発現上昇を促すことにより、妊娠維持機構に影響を及ぼし、出産に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

研究協力者：大貝悠一、小松澤均(鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 口腔微生物学分野)

川俣和弥、堂地勉(鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 生殖病態生理学分野)

波多江正紀(鹿児島市立病院 産婦人科)

抗 Dkk1 抗体の Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を介した 骨形成促進メカニズムの解析

九州大学大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯周病学分野

○小林茉莉, 松崎英津子, 濱地貴文, 平塚俊志, 前田勝正

Anti-Dkk1 antibody induces bone formation thorough the Wnt/ β -catenin signaling pathway

Periodontology Section, Division of Oral Rehabilitation,
Faculty of Dental Sciences, Kyushu University

○KOBAYASHI Mari, MATSUZAKI Etsuko, HAMACHI Takafumi, HIRATSUKA Shunji, MAEDA Katsumasa

【研究目的】

Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路は、骨芽細胞の分化に重要な役割を果たしている。Dickkopf1 (Dkk1) は、骨組織に多く発現するこのシグナルのアンタゴニストで、共働受容体 low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) 5/6 のリガンドとして機能することにより Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を阻害することが知られている。近年、溶骨性の病変を示す多発性骨髄腫において、Dkk1 は骨髄腫細胞によって過剰に産生され、Dkk1 の中和抗体である抗 Dkk1 抗体が骨破壊を抑制することが示されている。しかしながら、正常な骨組織において、抗 Dkk1 抗体が骨芽細胞分化に及ぼす影響ならびに抗 Dkk1 抗体が骨再生に及ぼす影響については、未だ明らかとなっていない。我々はこれまでに、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路の転写因子である TCF の結合部位を含むヒトアルカリフォスファターゼ (ALP) プロモーター領域 (-1059/+249bp) を組み込んだベクターを作製し、ALP が Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路の標的遺伝子であることを報告している。そこで今回、抗 Dkk1 抗体が骨芽細胞分化に及ぼす影響について、特に ALP プロモーター活性に着目して詳細に検討を行った。また、ラット脛骨骨欠損部において、抗 Dkk1 抗体が骨再生に及ぼす影響についても検討した。

【材料および方法】

実験には MC3T3-E1 (マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株) 細胞を使用した。まず、抗 Dkk1 抗体の骨芽細胞分化への影響を検討するため、ALP 活性を測定した。次に、抗 Dkk1 抗体の骨芽細胞分化マーカー (ALP、オステオカルシン) の発現に及ぼす影響について検討した。mRNA 発現はノーザンブロット法および定量的 RT-PCR 法、タンパク質発現はウエスタンブロット法を用いて解析した。抗 Dkk1 抗体が骨芽細胞の石灰化に及ぼす影響について、von Kossa 染色を用いて検討した。また、抗 Dkk1 抗体が、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路に及ぼす影響を、 β -カテニンのタンパク質発現、TCF/LEF 転写活性について検討した。さらに、抗 Dkk1 抗体が TCF 結合部位を含むヒト ALP プロモーター活性に及ぼす影響を、ルシフェラーゼアッセイを用いて解析した。Dkk1 の siRNA 導入により、Dkk1 の発現を抑制した細胞への抗 Dkk1 抗体の効果も検討した。また、*in vivo* における抗 Dkk1 抗体の骨再生への効果を検討するために、ラット脛骨に作製した骨欠損部に、抗 Dkk1 抗体を添加して、 μ CT を用いた新生骨の解析を行った。

【結果および考察】

1. MC3T3-E1 細胞において、抗 Dkk1 抗体は、①ALP 活性、②ALP、オステオカルシンの mRNA・タンパク質の発現、③石灰化結節の形成、を増加させ、骨芽細胞分化ならびに石灰化を促進することが示唆された。また、その効果は Wnt-3a と同程度であった。
2. 抗 Dkk1 抗体は、 β -カテニンのタンパク質発現および TCF/LEF の転写活性を増加させ、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を介して骨芽細胞の分化を促進することが明らかとなった。
3. 抗 Dkk1 抗体は、TCF 結合部位を含む ALP プロモーター領域を組み込んだレポーターベクターの転写活性を増加させたことから、抗 Dkk1 抗体による ALP 発現の増加は、TCF/LEF 結合部位を介していることが示唆された。
4. Dkk1 の siRNA の導入により、Dkk1 をノックダウンしたところ、Wnt-3a 添加による ALP プロモーター活性の増加は影響を受けなかったが、抗 Dkk1 抗体添加によるプロモーター活性の増加は抑制された。
5. ラット脛骨に作製した骨欠損部に対して、抗 Dkk1 抗体を局所投与すると、コントロールと比較して、新生骨の添加が多く認められ、骨形成を促進することが明らかとなった。

本研究の一部は、科学研究費補助金 (20791616) を用いて、実施された。

齲蝕原因菌に対するコエンザイム Q10 の抗菌効果

日本大学松戸歯学部 保存修復学講座¹, 日本大学松戸歯学部 公衆予防歯科学講座²
○鈴木英明¹, 有川量崇², 鈴木義純¹, 三田 肇¹, 熱田 互¹, 並木泰次¹, 岡田珠美¹, 池見宅司¹

Antibacterial effects of Coenzyme Q10 against cariogenic bacteria

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo¹,
Department of Preventive and Public Oral Health, Nihon University School of Dentistry at Matsudo²
○SUZUKI Hideaki¹, ARIKAWA Kazumune², SUZUKI Yoshizumi¹, MITA Hajime¹,
ATSUTA Wataru¹, NAMIKI Yasuji¹, OKADA Tamami¹, IKEMI Takuji¹

【研究目的】

Coenzyme Q10 (以下、CoQ10) は体内の ATP 産生の過程で要となる働きを果たすことや、活性酸素やフリーラジカルから防御する抗酸化物質であることが明らかになっている。また、CoQ10 の摂取により AIDS 患者の IgG が増加し、癌患者においては副作用が生じることなく延命効果が得られたこと、乳癌の消失に有効であったこと、初期のパーキンソン病に改善効果があったことなどが報告されている。

口腔疾患に関しては、CoQ10 の摂取量が歯周疾患の罹患率に影響があることが報告されており、また我々の研究ではシェーグレン症候群などドライマウス患者が CoQ10 によって改善することも明らかになっている。

今回我々は、医療分野で頻用されている CoQ10 に着目した。CoQ10 に関する歯科治療に関する研究は数多くなされているにもかかわらず、齲蝕予防に関する研究はほとんど行われていない。そこで、本研究は、CoQ10 を用い、齲蝕抑制効果の有無を *in vitro* において検討した。

【材料および方法】

1) 供試菌株および試薬

日本大学松戸歯学部口腔微生物学講座から供与された *Streptococcus mutans* PS-14 株 (以下 *S. mutans*)、*Streptococcus sobrinus* 6715 株 (以下 *S. sobrinus*)、*Actinomyces viscosus* ATCC19246 株 (以下 *A. viscosus*) を本実験に使用した。CoQ10 は Bio Q10 (三菱ガス化学社製) を使用した。

2) 最小発育阻止濃度の計測

使用培地は BHI 培地 (Difco 社製) を用い、2 倍段階法にて最小発育阻止濃度の計測を行った。各菌体を 37°C、24 時間培養後、 1×10^7 cells/ml に調整して接種し、48 時間培養後に発育の有無を判定した。

【成績】

CoQ10 を用いた最小発育阻止濃度の結果は、*S. mutans*、*S. sobrinus* に対して 500 µg/ml、*A. viscosus* に対しては 250 µg/ml であった。菌種間において若干の差はあるものの、これらの菌に対して抗菌力を有することが認められた。

【考察および結論】

本実験の結果、CoQ10 は *S. mutans*、*S. sobrinus*、*A. viscosus* 全てに対して抗菌作用を有することが確認され、齲蝕抑制物質として有用であることが示唆された。

Er:YAG レーザー照射が象牙質ゼラチナーゼ活性に及ぼす影響

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¹

愛知学院大学歯学部 保存修復学講座²

○西谷佳浩¹, 星加知宏¹, 山田三良², 富士谷盛興², 千田 彰², 吉山昌宏¹

Effects of Er:YAG laser irradiation for activation of dentin gelatinase

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences¹

Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University²

○NISHITANI Yoshihiro¹, HOSHIKA Tomohiro¹, YAMADA Mitsuyoshi², FUJITANI Morioki², SENDA Akira², YOSHIYAMA Masahiro¹

【研究目的】

近年, Minimal intervention の概念に基づいたレーザー歯科治療の新たな試みが着目されている. 歯科用レーザーの中でも歯の硬組織が切削可能な Er:YAG レーザーは, 歯科治療において応用範囲が広くう蝕治療にも広く応用されている. 演者らは, コンポジットレジン修復の際に行うセルフエッチングプライマー処理直後においては, 被着面の象牙質コラーゲン分解酵素活性が増加することを報告した¹⁾. しかしながら, レーザー照射後の象牙質内因性ゼラチナーゼ活性については不明な点が多い. 本研究では, Er:YAG レーザーの照射が象牙質ゼラチナーゼ活性に及ぼす影響について検討を行った.

【材料および方法】

新鮮抜去ヒト大白歯からエナメル質, セメント質, 軟組織を取り除いた歯根象牙質を液体窒素で凍結後に粉碎して得られる象牙質粉末(直径 150~300 μm)を象牙質試料とした. Er:YAG レーザーはアーウィン アドベール(モリタ)を使用した. エネルギー密度を一定(24 mJ/cm²)として, 異なる照射時間(0~40 秒間)で注水を行わず, レーザー照射した象牙質粉末をよく攪拌した後, 96 穴マイクロプレート中に 10 mg 採取した. これらの試料をゼラチン(Enzchek Gelatinase/Collagenase Assay Kit, Molecular Probes, Eugene, USA)と 24 時間反応させた後に, ゼラチン分解量を蛍光マイクロプレートリーダー(Gemini XPS, Molecular Devices)で測定した.

【成績】

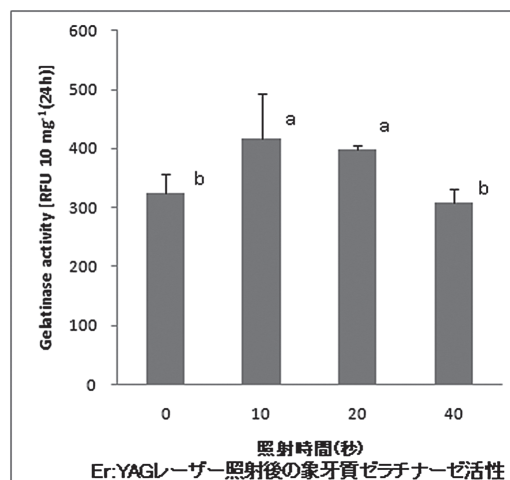
各照射条件下でのゼラチナーゼ活性値を図に示す. コントロール(照射時間 0 秒)の活性値 323.6[RFU 10mg-1(24h)]に対して, 10 秒間および 20 秒間照射した場合にゼラチナーゼ活性は有意に高かった. 40 秒間照射した場合には有意な差がなかった.

【考察および結論】

レーザー照射により象牙質表層部が蒸散されることによって, コラーゲン中に存在するゼラチナーゼがより多く露出することから, コントロールに比べて高いゼラチナーゼ活性を示したと考えられる. しかしながら, 照射時間の延長により, 露出したゼラチナーゼが熱変性することから, 40 秒間照射した場合には活性値に差が無かったと考えられる. Er:YAG レーザー照射後の象牙質コラーゲン分解酵素活性は照射の影響を受け, さらにそれは照射時間により異なることが判明した.

【参考文献】

1) Nishitani Y, Yoshiyama M, Wadgaonkar B, Breschi L, Mannello F, Mazzoni A, Carvalho RM, Tjäderhane L, Tay FR, Pashley DH: Activation of gelatinolytic/collagenolytic activity in dentin by self-etching adhesives; Eur J Oral Sci. 114, 160-166, 2006.



本研究の一部は, 日本学術振興会科学研究費基盤研究(A)課題番号 21249091 にて遂行された.

歯科用可視光線照射器による光照射の血管平滑筋に対する影響

神奈川歯科大学学生体管理医学講座薬理学分野¹
神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野²
○吉野文彦¹, 吉田彩佳¹, 西村知子², 石井信之², 李 昌一¹

Effect of irradiation using the dental curing light on vascular smooth muscle

Division of Pharmacology, Department of Clinical Care Medicine, Kanagawa Dental College¹
Division of Endodontics, Department of Oral Medicine, Kanagawa Dental College²
○YOSHINO Fumihiko¹, YOSHIDA Ayaka¹, NISHIMURA Tomoko², TANI-ISHII Nobuyuki², LEE Masaichi¹

【研究目的】現在、歯科医院のチェアサイドにおいてコンポジットレジン (CR) 修復や歯の漂白処置に歯科用可視光線照射器による光照射が広く行われている。とくに近年、CR 修復のために開発された歯科用可視光線照射器は、オフィスブリーチングにも応用されるようになり、従来の CR 修復に用いられる照射時間と比較し長時間照射されるようになってきた。そして、光照射の際には目に対する悪影響 (黄斑変性症等) を回避する目的で、フィルターで目の保護を行っているにも関わらず、口腔、とくに微小循環を有する歯髄に与える光の影響についての検証はこれまでほとんど行われてない。したがって、我々は今回摘出血管を用い歯科用可視光線照射器による光照射の影響を評価したので報告する。

【方法】Wistar rat (♂, 8 週令) をペントバルビタール麻酔下にて大動脈を摘出後、らせん状標本を作製し、スーパーフュージョンバス内に懸垂し、95% 酸素・5% 二酸化炭素ガスを通気した Krebs-Ringer 溶液を表面還流し、歯科用可視光線照射器により光照射を行い、血管張力変化を測定した。また、この張力変化に対する活性酸素種 (ROS) の影響を各種抗酸化剤 (superoxide dismutase; SOD, dimethyl sulfoxide; DMSO, L-histidine) および α 受容体拮抗薬 (Phentolamine) を用いて検討を行った。

【成績】歯科用可視光線照射器による光照射群はコントロール群 (非照射群) と比較し、有意な血管張力の増大を認めた。そして、この張力変化は、Phentolamine, および各種抗酸化剤である SOD, DMSO, L-histidine 添加において抑制された。

【考察】ノルアドレナリン (NA) 受容体拮抗薬である Phentolamine によって光照射による血管収縮が抑制されたことより、シナプス終末より遊離される NA が α 受容体を介し血管収縮を誘導した可能性が示唆された。さらに、光照射により生成されることが考えられるスーパーオキシドや一重項酸素などの ROS の関与を検討するため、各種抗酸化剤を用いた結果、用いたすべての抗酸化剤は血管収縮を抑制した。これら以上の結果より、光照射による血管平滑筋の収縮は、血管神経終末において生成された ROS が NA 遊離を誘導し、放出された NA が血管平滑筋収縮に関与する可能性が示唆された。

【結論】歯科用可視光線照射器による光照射は、歯髄血管内で ROS を生成し、血管平滑筋を収縮させるため、長時間または複数回の光照射は歯髄血管収縮を介した歯髄虚血-再灌流を誘導する可能性があり、また ROS は生体のエイジングを加速させるため、光照射を用いる処置前に抗酸化剤を投与することでこれらの影響を回避できる可能性が示唆される。

VSCによる金銀パラジウム合金の変色防止について

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分野¹, 歯科理工学分野²
○藤井和夫¹, 玄 太裕¹, 野田陽子¹, 土井 豊², 堀田正人¹

Prevention of discoloration with VSC in Au-Ag-Pd alloy

Department of Operative Dentistry¹, Dental Materials²,
Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,
Asahi University School of Dentistry

○FUJII Kazuo¹, GEN Taiyuu¹, NODA Yoko¹, DOI Yutaka², HOTTA Masato¹

【緒言】

口腔内揮発性硫化物 (VSC) が金銀パラジウム合金の変色に関連しているという報告がある。一方で「ゼオライト A」, 「ハイドロタルサイト」が VSC の吸着除去の素材として検討されている。そこで, メチルメルカプタン (CH₃SH) および硫化水素 (H₂S) を多量に産生する微生物である偏性嫌気性菌 3 種を用い, 金銀パラジウム合金の変色に与える影響と, VSC の吸着除去素材がその変色を減少させられるかどうか検討した。

【材料および方法】

1. 試料の作製

試料は 1.0×1.5 cm の金銀パラジウム合金 (トクリキキンパラエース 12S) を 700°C にて熱処理し, 自動研磨機にて研磨後, ルージュにて艶出しを行った。さらに超音波洗浄器を用い, 蒸留水にて 3 分間ずつ 2 回洗浄を行った。

2. 培養条件

今回使用した偏性嫌気性菌は, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (Pg), *Prevotella intermedia* ATCC 25611 (Pi), *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 (Fn) である。

BHI 培地を用い, 48 時間培養した各菌液 2 ml と含硫アミノ酸 (L-Cysteine) を加えた 12 well 培養用マルチウェルプレート (2.5×2.5 cm) に試料と, それぞれ「吸着素材なし」と, 「ゼオライト A」, 「ハイドロタルサイト」を加え 37°C, 7 日間嫌気培養を行った。培養後消毒用エタノール液に 5 分間浸漬し, 滅菌蒸留水にて 2 回洗浄した後, 新たに BHI 培地に入れ, 同様に嫌気培養を行った。この操作を 4 回繰り返す (4 週間), 測定試料とした。測定試料は, 条件ごとに 5 つずつ作製した。また, コントロールは同様の条件で菌を加えないものとした。

3. 変色の測定および分析方法

各試料は培養の前後に光沢度および色彩の測定を行った。光沢度は光沢度計 (光沢計 VG7000、日本電色工業) を用い, 60° 鏡面光沢度で測定した。色彩は色彩計 (高速分光光度計 CMS-35FS、村上色彩技術研究所) を用い, L*, a*, b* 表色系にて数値化し, 培養前後の各試料間の色差 ΔE*ab を求めた。

【結果および考察】

1. 光沢度は各菌液とも培養前後で有意に低下したが, 吸着素材の有無で有意差は認められなかった。
2. 色彩変化は各菌液とも培養前後で色差値 3.5~6.8 (平均) を示し, 変色していた。また, Pg 菌のみ「吸着素材なし」の色差が 6.3 (平均), 「ゼオライト A」が 3.5 (平均), 「ハイドロタルサイト」が 4.1 (平均) と吸着素材を混入したものの色差が小さかった。しかし, Pi 菌, Fn 菌では大きな差はなかった。

今後は, 今回使用した菌から発生する VSC の量を数値化し, 修復材料の変色にどのように関わっているのか検討していきたいと考えている。

共同研究者 (日本歯科保存学会会員以外)

横川善之 (大阪市立大学大学院工学研究科)

村上幸孝, 長谷川義明 (朝日大学歯学部口腔微生物学分野)

超音波透過法を用いたセルフアドヒーズセメントの初期硬化挙動測定

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
○石山智恵美¹, 瀧本正行¹, 田久保周子¹, 利根川雅佳¹,
渡邊孝行¹, 黒川弘康^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 松崎辰男³

Determination of Setting Behavior of Self-Adhesive Cements by use of an Ultrasonic Device
Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Matsuzaki Dental Office³
○ISHIYAMA Chiemi¹, TAKIMOTO Masayuki¹, TAKUBO Chikako¹, TONEGAWA Motoka¹,
WATANABE Takayuki¹, KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, MATSUZAKI Tatsuo³

【緒言】

欠損部が比較的大きい症例に対する審美性歯冠修復処置として、間接法を用いた処置が増加している。これらの審美性修復物の装着には、機械的強度および接着性の観点からレジンセメントが多く用いられてきた。一方、レジンセメントは、とくに余剰セメントの除去に関する困難性が指摘されており、装着材としての機械的性質を維持しながら、容易な除去性を有する特性の具備が望まれている。一方、臨床操作ステップの簡略化を目指して開発されたセルフアドヒーズセメントは、歯質とともに修復物への前処理を不要としたセメントである。しかし、このセメントに関しては、装着後の除去性に関する臨床的要求を満たしているかについての検討はなされていない。

そこで演者らは、非破壊試験である超音波測定装置を用いて、光線照射条件の違いがセルフアドヒーズセメントの初期硬化挙動に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

セルフアドヒーズセメントとして、クリアフィル SA セメントオートミックス (クラレメディカル), G-ルーティング (ジーシー), マックスセム (sds Kerr) およびユニセム 2 オートミックス (3M ESPE) の、合計 4 製品を用いた。

超音波伝播時間の測定には、超音波送受信装置であるパルサーレーザー (Model 5900, Panametrics), 探触子として縦波用トランスデューサー (V112, Panametrics) およびオシロスコープ (Wave Runner LT584, Lecroy) を使用した。各製造者指示に従って練和したセメント泥を、試料台に静置した内径 5 mm, 高さ 2 mm の透明型に填入し、ラッピングフィルムを介してトランスデューサーを接触させ、超音波の伝播時間を経時的に測定し、測定された試片の厚さから超音波の縦波音速を算出した。

セメントの初期硬化挙動の測定は、照射を行わない、あるいは 600 mW/cm² および 200 mW/cm² の条件で 30 秒間照射を行う 3 条件で行った。照射を行わない条件では、練和開始から 3 分まで 10 秒毎に、その後 15 分まで 30 秒毎に測定した。照射を行う条件では、照射中は 5 秒毎に、照射終了後 15 分まで 10 秒毎に測定した。また、1 および 24 時間経過した試片についても測定を行った。なお、超音波伝播時間の測定は 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行うとともに、試片の数は各条件につき 3 個とした。

【成績および考察】

いずれのセメントにおいても、硬化が進行するのに伴って音速の伝播速度は高くなるものの、その傾向は照射条件で異なるものであった。とくに、照射を行わない条件では音速の変化は練和開始 3 分後までは緩徐であった。一方、照射を行なった条件では、光強度の違いにより硬化挙動に違いが認められるものの、照射を行わない条件と比較して照射開始から短時間で音速が上昇し、照射終了後も継続する傾向を示した。また、その上昇傾向は光線照射によって音速が急激に速くなるもの、あるいは比較的緩徐に進行するものなど、製品によって異なるものであった。これは、各セメントの組成や重合開始剤の特性が異なることによるものと考えられた。

【結論】

セルフアドヒーズセメントの初期硬化反応の進行には、光線照射条件が影響するとともに、その傾向はセメントの種類によって異なることが判明した。したがって、セメントの硬化特性を把握するとともに、デュアルキュアタイプのセメントであっても光線照射を行うことが、初期硬化反応をスムーズに進行させるためには重要であることが示された。

新規充填用セルフアドヒーズレジンモディファイドグラスアイオノマーセメントの吸水膨張について

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

○橋本直樹, 小松久憲, 大木彩子, 福山麻衣, 川野晋平, 松田康裕, 付 佳楽, 佐野英彦

Hydroscopic expansion of newly developed self adhesive resin-modified glass ionomer cement

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

○HASHIMOTO Naoki, KOMATSU Hisanori, OKI Saiko, FUKUYAMA Mai, KAWANO Shinpei, MATSUDA Yasuhiro, FU Jiale, SANO Hidehiko

【緒言】 グラスアイオノマーセメントはフッ素徐放性, 歯質接着性, 抗菌性などの大きな利点があるが, 硬化初期の感水性, 機械的強度の不足などの問題があった. その後ハイドロキシエチルメタクリレート (HEMA) などのレジン成分を添加したレジンモディファイドグラスアイオノマーセメントが開発され, この欠点であった初期感水性, 機械的強度や操作性などの諸性質が向上したが, HEMA などのレジン成分の吸水性が問題となり吸水膨張が大きくなることが報告されている. そこで本研究では HEMA フリー組成となっている新規充填用セルフアドヒーズレジンモディファイドグラスアイオノマーセメント (SI-R21001, 松風) の吸水膨張について従来型のレジンモディファイドグラスアイオノマーセメントと比較し評価した.

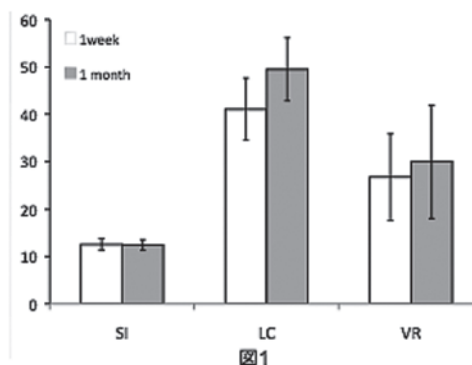
【材料と方法】 使用材料を表 1 に示す. 対照として従来型である Fuji 2 LC Improved (LC), Vitremer R (VR) の 2 種類のセメントを選択した. 吸水膨張を評価するためにセメントをテフロン性窩洞 (内径 5mm, 深さ 4mm) に充填, 硬化, 研磨した後, 表面の断面曲線を水中浸漬前後に計測し, その差を求めることで評価した. 手順を以下に記す. 窩洞内にセメントを深さ 2mm まで填入し, 光照射器 (JETLITE 1000, モリタ社製) を用いて 20 秒間照射を行い, さらにセメントを填入, ガラスプレートをを用い圧接後, ガラスプレートの上より 40 秒間光照射を行った. ガラスプレートを除去した後, 試料を相対湿度 100%中に保存し, セメント練和開始 1 時間後に注水下で #600 耐水研磨紙を用いてテフロン表面と同一平面になるよう表面を調整した. 表面荒さ形状測定機 (サーフコム 130A, 東京精密社) を用いて試料体表面の断面曲線の測定を行いベースラインとした. 測定した試料を 37°Cの脱イオン水中に 7 日間浸漬させた後, 水中より取り出し再度表面の断面曲線の測定を行い再び 37°C脱イオン水に保存, 30 日経過後にも表面の断面曲線の計測を行った. 膨張量は 7 日間あるいは 30 日間水中浸漬後とベースラインとの差 (μm) を得られたチャート紙より算出した. 一元配置分散分析, Tukey 多重比較 ($P < 0.05$) にて統計分析を行い評価した. なお, 試料は各セメントについて 7 個とした.

【結果】 結果を図 1 に示す. 水中浸漬 7 日で全セメントに吸水膨張を認め, 30 日間では LC, VR で膨張量の増加を示したが有意差はなかった. 材料間の比較では両期間共に膨張量に有意差があり, SI が最も低い値となった.

【考察】 今回の研究での吸水膨張量の計測は表面の断面曲線を計測, 比較したが, 従来の重量を計測することによる吸水試験よりもより臨床的であると考えられる. HEMA フリー組成となっている SI で低い膨張量となったことは親水性モノマーである HEMA の含有がないことが一因として考えられる. 臨床的に吸水膨張量が低いことは, 体積膨張による前歯舌面, 臼歯咬合面での干渉や隣接部における鼓形空隙の形態変化によるブラークの堆積などが起こりにくくなることが考えられ, 充填材料としての有用性が高くなっていることが示唆される.

表 1

材料	製造者	略号	粉液比 (P/L)(g/g)	ロット番号
SI-R21001	松風	SI	4.5/1.0	P: 101221D-P L: 101221D-L1
Fuji 2 LC Improved	GC	LC	3.2/1.0	P: 1011291 L: 1012161
Vitremer R	3M	VR	2.5/1.0	P: N201859 L: N190949



ボンドフィル SB の乳歯に対する微小引張接着強さ

サンメディカル株式会社 研究開発部¹

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 医療科学専攻 展開医療科学講座 小児歯科学²

○横山武志¹, 抜井康浩¹, 荒田正三¹, 細矢由美子²

Micro-tensile bond strength of BondfillSB to sound primary tooth

Sun Medical Co., Ltd. Research and development department¹

Department of Pediatric Dentistry, Course of Medical and Dental Sciences,

Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences²

OYOKOYAMA Takeshi¹, NUKII Yasuhiro¹, ARATA Masami¹, HOSOYA Yumiko²

【緒言】

乳歯は永久歯と比較して形態学的構造や化学組成的な相違を有しており、酸処理剤で脱灰されやすいと言われている。細矢らは、レジン・象牙質接着界面部のバイオメカニカルな性状と微細構造の総合的観察¹⁾や two-step および one-step self-etch 接着性レジン材の乳歯に対する微小引張接着強さ²⁾を行い、接着性レジン材種によってはその接着性能が永久歯と異なるだけでなく、脱灰部へのレジンの浸透が不十分であることを報告してきた。

2011年2月に4-META/MMA-TBBレジンの接着機構を応用した化学重合型自己接着性充填材『ボンドフィル SB』が開発された。付属の歯面処理材『ティースプライマー』は、エナメル質・象牙質兼用のマイルドな脱灰特性を有する処理材で、本特性は臨床的局所から乳歯への接着に好適に作用すると考えられる。

そこで我々は、ボンドフィル SB の乳歯に対する接着性能を評価するべく、微小引張接着強さ(MTBS)試験、並びに走査電子顕微鏡(SEM)による観察を行い、永久歯への接着性能と比較したので報告する。

【材料及び方法】

抜去後生理食塩水中に冷凍保存した健全乳犬歯 6 歯と健全第三大臼歯 6 歯を用いた。注水下にて、乳犬歯は唇側面、大臼歯は咬合面を耐水エメリー紙#180 でそれぞれ研削し、平坦なエナメル質若しくは象牙質を露出させた。メーカー指示書に従い、ティースプライマーを各研削歯面に 20 秒間作用させた後にエアブローを行い、ボンドフィル SB を筆積み法にて積層した。37°C、24 時間水中浸漬した後、Isomet(ビュラー)にて歯軸方向に厚さ約 0.7mm の間隔で切断し、断面積が 1mm²になるようダンベル型にトリミングした。これらの接着試験サンプルを、小型卓上試験機 EZ-Test(島津製作所)を用いてクロスヘッドスピード 1mm/minにて MTBS を測定した。一方、SEM 観察サンプルは、上記同様の接着操作を施し、スライスした試料を鏡面研磨後に、エナメル質は 6N 塩酸に浸漬・水洗し、象牙質においては先述及び 1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液にそれぞれ浸漬・水洗を施した。これらのサンプルをデンケーター内に 1 晩放置、乾燥させ白金蒸着後、走査電子顕微鏡 JSM-5610LV(日本電子)を用いて接着界面の観察を行った。

【結果及び考察】

MTBS 試験の結果、乳歯エナメル質 19.4±1.5MPa、象牙質 22.5±7.6MPa であったのに対して永久歯ではエナメル質 19.2±3.3 MPa、象牙質 29.8±8.0MPa を示しエナメル質、象牙質ともに乳歯-永久歯間に有意な差は認められなかった(p>0.05)。また微小引張り接着強さ試験後の破断面においても双方に差はなく、何れの被着体に対しても破壊形式はレジンの凝集破壊が大勢を占めた。一方、接着界面の SEM 観察ではエナメル質、象牙質ともに接着界面に空隙は認められず、良好な接合状態を示していた。

以上のように、これらの結果はトリ-*n*-ブチルボラン(TBB)の作用により確実に接着界面から硬化させ、更には適度な柔軟性を有したボンドフィルSBの性能特性によるものである事が示唆され、複雑な応力が掛かる部位や修復方法に悩む症例に対しても簡便で確実な修復ができる接着性充填材として期待できると考える。

【結論】

ボンドフィル SB の接着性能はティースプライマーを用いたマイルドな脱灰であるにも関わらず高い接着強度を維持し、乳歯-永久歯間で差は認められなかった。

【参考文献】

- 1) Hosoya Y: Hardness and elasticity of bonded carious and sound primary tooth dentin; *J Dent* 34, 164-171, 2006.
- Uekusa S, Yamaguchi K, Miyazaki M, Tsubota K, Kurokawa H, Hosoya Y: Bonding efficacy of single-step self-etch systems to sound primary and permanent tooth dentin; *Oper Dent* 31, 569-576, 2006

フッ素含有材料周囲う蝕エナメル質におけるストロンチウム分布の測定

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

Measurement of strontium distribution in carious enamel around fluoride-containing materials

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine¹
Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Division of Oral Infection and Disease Control,
Graduate School of Dentistry Osaka University²
○FUNATO Yoshiki¹, KOMATSU Hisanori¹, YAMAMOTO Hiroko², KOJIMA Kentaro¹, MATSUDA Yasuhiro¹,
OKUYAMA Katsushi¹, KIJIMURA Taiki¹, SANO Hidehiko¹

【緒言】

フッ素含有材料のう蝕抑制効果を評価するために、う蝕を想定した pH サイクルを行い[1], 人工う蝕エナメル質を作製し、マイクロ PIGE/PIXE を用い歯質内へのフッ素の取り込みについて検討してきた[2]. ある種のフッ素含有材料では、ストロンチウムがカルシウムの代わりあるいは X 線不透過性を高めるために添加されている. このストロンチウムは水中に溶出することから、う蝕抑制効果が期待される. 本研究では、ストロンチウムの標準試料を作製し、ストロンチウム・フッ素含有材料周囲人工う蝕エナメル質でのストロンチウムの濃度分布測定を試みた.

【実験方法】

ストロンチウム・フッ素含有材料として、PRG バリアコート (松風社製) および Fuji IX_{GP} Extra (GC 社製) を用いた. 本研究ではヒト抜去小白歯を使用したが、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. 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. 24 時間後、歯軸に平行に窩洞部を含むように切断し、厚さ約 170 μm の試料を作製した.

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、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 pH サイクルを行い、材料周囲エナメル質に人工う蝕を作製した.

人工う蝕エナメル質でのストロンチウムの濃度分布は、高崎量子応用研究所のマイクロ PIGE/PIXE 装置を用い、窩洞から 100 μm 以上離れたう蝕表層から深部を選び、ストロンチウムとカルシウムを測定し求めた. なお、う蝕部最表層を健全歯質の Ca 量の 5%を示した部位と規定した. ストロンチウム標準試料として、炭酸ストロンチウムと水酸化アパタイトの混合物を加圧、成型後、焼成したものを作製、使用した.

【結果および考察】

使用材料中のストロンチウムは、PRG バリアコートで 9.1±2.9%, Fuji IX_{GP} Extra で 8.0±2.7%であることが本測定で確認できた. 人工う蝕エナメル質でのストロンチウムの濃度分布は、測定試料による相違が認められた. Fuji IX_{GP} Extra では検出できなかったが、PRG バリアコートでは、測定試料 6 個中 4 個に、明確なエナメル質表層でのストロンチウムの浸透、拡散が認められた. 両材料の相違が認められたことは、今後、ストロンチウムの材料からの溶出を検討する必要があると思われた. エナメル質表層でのストロンチウムの存在は、脱灰・再石灰化の過程で、カルシウムの代わりにストロンチウムが歯質に取り込まれた可能性を示すものと考えられる. さらに、材料からのストロンチウムの溶出は歯質の再石灰化に関与することが期待される. 今後、PRG バリアコートにおける測定試料間での相違を検討することにより、ストロンチウムが歯質に取り込まれる機序をある程度予測できるものと思われた.

[1] Y.Matsuda et al., Dent. Mater. J. 24 (2006) 280.

[2] H.Komatsu, et al., Nucl. Instr. and Meth. B 267 (2009) 2136.

新規1液型ボンディング材 MTB-200 の吸水特性と歯質接着性能

クラレメディカル株式会社
○雛元 愛, 西垣直樹, 武井 満

Water Absorption and Microtensile Bond Strength of Newly Developed One-step Adhesive MTB-200

Kuraray Medical Inc.
○CHINAMOTO Ai, NISHIGAKI Naoki, TAKEI Mitsuru

【研究目的】

近年の歯質修復治療において、操作の簡便性から1液型ボンディング材が臨床に広く受け入れられている。1液型ボンディング材の設計においては歯質への浸透性を確保するために親水性成分を配合しているが、歯質接着性の観点からは硬化後の吸水特性は抑制することが望ましい。新たに開発した1液型ボンディング材 MTB-200 では、親水性を損なわずに硬化後の吸水特性を抑制すべく、新規光重合触媒、多官能親水性モノマーおよび撥水性モノマーを導入した。今回、MTB-200 の吸水特性および歯質接着性能について、クリアフィル トライエスボンドとの比較評価を行った。

【材料および方法】

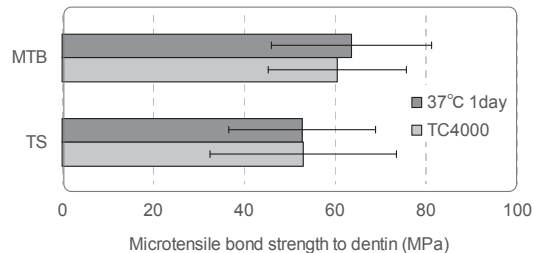
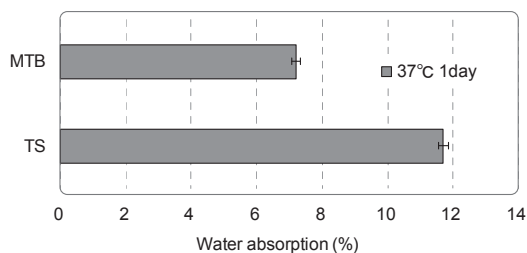
- 1) 材料: 本研究に使用した1液型ボンディング材は、MTB-200 (クラレメディカル、以後 MTB) およびクリアフィル トライエスボンド (クラレメディカル、以後 TS) とした。また、コンポジットレジンとしてクリアフィル AP-X (クラレメディカル) を使用した。
- 2) 吸水率の測定: 2種の1液型ボンディング材にエアブローを施し、重量変化が認められなくなるまで溶媒を蒸散させた。続いて、ポリエステルフィルムの上に置いた直径10mm x 高さ1mmのテフロン製の型に溶媒を蒸散させた2種のボンディング材を填塞し、ポリエステルフィルムを被せて上下各面より10秒ずつ照射して硬化させた。作製した試料を37°Cの水中にそれぞれ24時間保管した後、水分を拭き取り、重量を測定した(重量A)。続いて、試料を90°Cの恒温器で3時間乾燥した後、乾燥後の重量を測定し(重量B)、次の式により吸水率を算出した。

$$\text{吸水率} = (\text{重量A} - \text{重量B}) / \text{重量B} \times 100$$

- 3) 微小引張接着強さの測定: 健全ヒト抜去大白歯の象牙質を露出させ、#600の耐水研磨紙で研磨し、被着面とした。続いて2種の1液型ボンディング材を適用し、コンポジットレジンを積層築盛した。これらの試料から被着面積1mm x 1mmの角柱状の試験片を作製し、37°Cの水中に24時間保管(37°C 1day群)後、あるいは24時間保管後にサーマルサイクル試験機にて、4°C-60°C(浸漬時間1分)を1サイクルとする熱負荷を4,000回負荷した(TC4000群)後、EZ Test (島津製作所)を用いてクロスヘッドスピード1mm/minにて接着強さを測定した。

【結果および考察】

- 1) 吸水率: MTBはTSと比較して低い吸水率を示した。
- 2) 微小引張接着強さ: MTBとTSを比較した結果、37°C1日後および熱負荷後においてMTBはTSよりも高い微小引張接着強さを示した。
- 3) MTBの高い歯質接着性は、新たに導入された新規光重合触媒、多官能親水性モノマーおよび撥水性モノマーの効果によって硬化後の吸水率が低減された結果と考えられる。



【結論】

MTB-200 は、その硬化物の吸水率が低いこと、および優れた歯質接着性能を有することが確認された。

新規 1 液型象牙質接着材の長期耐久性の検討

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
クラレメディカル株式会社²

○角田晋一¹, 付 佳楽¹, 武井 満², 西垣直樹², 雛元 愛²,
福岡杏里¹, 中沖靖子¹, 池田考績¹, 田中 享¹, 佐野英彦¹

Long Term Durability of Newly Developed One Bottle Type Dentin Adhesive System

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science,
Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University¹
Kuraray Medical Inc.²

○KAKUDA Shinichi¹, FU Jiale¹, TAKEI Mitsuru², NISHIGAKI Naoki², HINAMOTO Ai²,
FUKUOKA Anri¹, NAKAOKI Yasuko¹, IKEDA Takatsumi¹, TANAKA Toru¹, SANOHIDEHICO¹

【緒言および目的】

象牙質接着材は、う蝕の MI 的処置にとって重要な材料であるが、水中での長期保存の影響により接着材層の劣化が進むと考えられている。今回比較研究を行った新規 1 液型象牙質接着材は、接着材層の強度および耐水性を高めることを目的に光重合触媒、多官能親水性モノマーおよび撥水性モノマーを新たに導入しており、高い初期接着強さのみならず長期経過による接着材層の劣化を抑制することも期待される。

本研究では、これら技術の導入が接着材層の劣化に及ぼす影響を考察するため、新規象牙質接着材と市販されている 2 種類の 1 液型接着材について、初期接着強さと長期接着強さの比較検討を行った。

【材料および方法】

2 名の術者 (Op1, Op2) が実験を行った。接着材として新規象牙質接着材 MTB-200 (MTB: クラレメディカル)、ならびに現行の Tri-S Bond (TriS: クラレメディカル) と BeautiBond (BB: 松風) 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と #600 の耐水研磨紙を用い、注水下で 60 秒間研磨し平坦な被着象牙質表面を作製した。各接着材は、製造者の指示に従って歯面処理し、コンポジットレジン (クリアフィル AP-X A3, クラレメディカル) を築盛し、被着面より高さ 5 mm になるよう積層した。光照射には JETLITE 3000 (J Morita USA) を使用した。試料は 37°C の水中に 24 時間浸漬させた後、接着界面に対し垂直な角柱 (断面 1 × 1 mm) にトリミングした。

得られた試料は 5°C/60 秒と 55°C/60 秒を 1 サイクルとするサーマルサイクルを 20,000 回 (TC20k) 行った。サーマルサイクルでは角柱試料を PCR チューブ内の脱イオン水中に浸漬し、プログラムした PCR サーマルサイクラー (Mastercycler gradient, eppendorf) を用いた。また、初期接着強さの試料では、サーマルサイクルを行わずに 37°C の水中に 24 時間浸漬しただけの試料 (TC0) も作製した。

それぞれのサーマルサイクル後、角柱試料 (n = 14~15) の微小引張り強さを測定した (EZ-Test, 島津製作所)。得られた測定値は、Games-Howell 法 ($p < 0.05$) を用いて統計分析を行った。

【結果および考察】

右表に微小引張り強さの平均値と標準偏差を示す (同じ文字は有意差がないことを示す)。

全ての条件において MTB は BB よりも有意に高い接着強さを示した。また、MTB と TriS では長期の加速負荷後も接着強さが有意に低下しなかったのみならず、術者間の結果にも有意差は認められなかった。

		微小引張り接着強さ (mean ± SD)		
条件	術者	MTB	TriS	BB
TC0	Op1	72.2 ± 19.6 A	56.8 ± 12.8 AB	20.4 ± 10.7 DE
	Op2	72.8 ± 15.1 A	72.7 ± 10.9 AB	41.7 ± 15.7 BC
TC20k	Op1	75.8 ± 21.5 A	59.9 ± 11.7 AB	17.9 ± 7.2 E
	Op2	65.2 ± 17.9 A	58.4 ± 11.1 A	36.5 ± 14.2 CD

一方で、標準偏差を平均値で除した値、すなわち変動係数は、TC0BBOp1 (0.53), TC20kBBOp2 (0.43), TC20kBBOp1 (0.40), TC0BBOp2 (0.38), TC20kMTBOp1 (0.29), TC0MTBOp1 (0.27), TC20kMTBOp2 (0.26), TC20kTriSOp1 (0.23), TC0TriSOp1 (0.23), TC20kTriSOp2 (0.21), TC0MTBOp2 (0.21), TC0TriSOp2 (0.15) となった。すなわち、1 例を除き同じ術者、同じ材料において、変動係数は TC20k > TC0 となり、長期の加速負荷後には接着強さのばらつきが大きくなる傾向が認められた。長期耐久性に対する新規技術の導入効果を明らかにするためには、より長期の加速負荷試験を行う必要があることが示唆された。

市販オールインワン接着材の接着強さに対するスミヤー層の影響について

北海道大学大学院歯科研究科口腔講座歯科保存学教室

○付 佳楽, 潘 峰, 丁 世俊, 角田晋一, 川野晋平, 橋本直樹, 福岡杏里,
松田康裕, 川本千春, 中沖靖子, 池田考績, 井上 哲, 田中 享, 小松久憲, 佐野英彦

The effect of different dentin smear layers on three commercial all-in-one adhesives
Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science Hokkaido University,
Graduate School of Dental Medicine

○FU Jiale, PAN Feng, TING Shih-chun, KAKUDA Shinichi, KAWANO Shinpei, HASHIMOTO Naoki, FUKUOKA Anri,
MATSUDA Yasuhiro, KAWAMOTO Chiharu, NAKAOKI Yasuko, IKEDA Takatsumi, INOUE Satoshi, TANAKA Toru,
KOMATSU Hisanori, SANOHIDEHIKO

Objective: The objective of present study was to evaluate the effect of dentin smear layers on three commercial all-in-one adhesives.

Methods: Eighteen human third molars were used in this study and every six teeth were randomly assigned to each adhesive system with two teeth in one group. The adhesives employed were three all-in-one adhesive systems: BB (BeautiBond, Shofu), BF (BondForce, Tokuyama Dental) and EB (Easy Bond, 3M). After removal of crown segment, the 240-grit, 600-grit, and 2000-grit Sic paper was employed to polish the dentin surface under running the water for three groups in each system respectively. The adhesives were used under the instruction of each manufacture and followed by the resin composite build-up. After storage in 37°C distilled water for 24 hours, the specimens were sectioned into the beam sticks with the cross sectional area 1.0 mm² for the micro-tensile bond strength (MTBS) test at cross head speed of 1mm/min. The obtained data were expressed as MPa and statistically analyzed with one-way ANOVA and Games-Howell test or Tukey test.

Results: The mean±SD of MTBS of three systems were showed in the table followed. According to statistical analysis, BB was showed no significant difference within three Sic papers ($p>.05$). On the other hand, both BF and EB in 240-grit group showed significant lower bonding performance than 2000-grit group ($p<.05$), but there is no significant difference between 600-grit and 2000-grit group neither in BF nor EB ($p>.05$).

Conclusion: Different dentin smear layers could effect on bonding performance on all-in-one adhesives.

Table of mean±SD of MTBS of three systems

	#240	#600	#2000
BB	40.02±25.72 ^a	33.46±12.61 ^a	35.92±20.80 ^a
BF	18.32±12.28 ^{AC}	21.12±12.69 ^{BC}	28.18±13.72 ^B
EB	67.83±18.49 ^{XZ}	88.08±20.03 ^{YZ}	89.62±22.22 ^Y

The same letter means no statistical difference ($p>.05$).

新規 1 ステップボンド (MTB-200) とデュアルキュア型レジンコア材料 (NDC-100) の象牙質接着強さ

鶴見大学歯学部保存修復学講座

○常盤珠美, 秋本尚武, 大森かをる, 英 將生, 宮内貴弘, 桃井保子

Dentin Bond Strength of a Newly Developed Dual-cured Resin Core Material (NDC-100) with One-step Bond (MTB-200)

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine
○TOKIWA Tamami, AKIMOTO Naotake, OHMORI Kaoru, HANABUSA Masao, MIYAUCHI Takahiro, MOMOI Yasuko

【研究目的】

コンポジットレジンの機械的性質及びボンドの接着性能が向上し、歯質保存の考えから支台築造にもコンポジットレジンが多用されるようになってきた。根管内に充填されるレジンコア材は、光が十分に届かなくても重合するようデュアルキュアシステムになっている。これまでレジンコア用接着材として用いられてきたセルフエッチング接着材は、デュアルキュアレジンに対応するため2液を混和する2ボトル1ステップボンドが一般的に用いられてきた。今回クラレメディカルは、コンポジットレジン修復用接着材である1ステップボンド (MTB-200) を用い、光重合のみならず化学重合でも臨床使用可能な新規デュアルキュア型レジンコア材料 (NDC-100) によるシステムを開発した。そこで、本研究では MTB-200 と NDC-100 を用いた支台築造システムとこれまでに市販されているレジンコアシステムの象牙質接着強さを剪断接着試験により比較検討した。

【材料と方法】

1. 被着歯面の調整

被着体として冷凍されたウシ下顎切歯を常温に解凍して用いた。歯冠部が露出するように常温重合レジン (オストロンⅡ, ジーシー) を用いて包埋した後、唇側面の象牙質を露出させ、耐水研磨紙 #600 で研削後、超音波洗浄を行ったものを被着面とした。接着面積は直径 4mm に規定した。

2. 試料の作製と接着試験

試験材料として用いた支台築造システムは、1) MTB-200 と NDC-100 (クラレメディカル)、2) Unifil Core EM (ジーシー)、3) ESTELITE-CORE QUICK (トクヤマデンタル) の3種類である。メーカー指示に従って被着面に接着処理を行った後、内径 4mm のテフロンモールドを設置し、接着面積を規定した。テフロンモールド内に各レジンコア材料を填塞し、光照射した。37°C 蒸留水中に 24 時間浸漬後、剪断接着試験機 (日計電測社製 M-451) を用いてクロスヘッドスピード 1.0mm/min にて剪断接着強さを測定した。なお、試料は各条件につき 10 個とし、得られたデータは一元配置分散分析後、Turkey 多重比較 ($\alpha=0.05$) にて統計処理を行った。

3. 破断面の観察

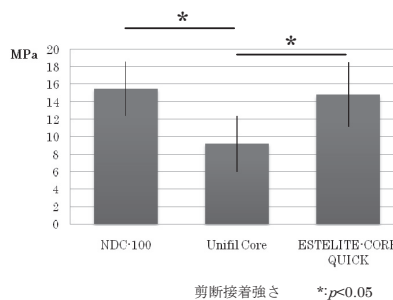
接着試験後の試料の破断面の様相を実体顕微鏡にて観察した。

4. SEM 観察

各試料の象牙質接着界面における超微構造を走査型電子顕微鏡 (JSM-5600LV, JOEL) にて観察した。

【結果ならびに考察】

剪断接着試験の結果を右図に示す。1 ステップボンド (MTB-200) とデュアルキュア型レジンコア材料 (NDC-100) の接着強さは、ESTELITE-CORE QUICK と比較して有意差は認められなかったのに対し、Unifil Core EM と比較すると有意に高い値を示した。結果より、新たに開発された 1 ボトル 1 ステップボンド MTB-200 とデュアルキュア型レジンコア材料 NDC-100 を用いたレジンコアシステムの象牙質接着強さは、従来のシステムと同等かそれ以上であることから、臨床における有用性が示唆された。



1 ステップ接着システムの象牙質スマヤー層の除去能

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座保存修復学教室¹

北海道大学病院歯科診療センター口腔総合治療部²

○福澤尚幸¹, 福岡杏理¹, 井上 哲², 佐野英彦¹

Ability of one-step self-etch adhesives to remove the dentin smear layer
Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Hokkaido University
Graduate School of Dental Medicine¹

Division for General Dentistry, Hokkaido University Hospital²

○FUKUZAWA Naoyuki¹, FUKUOKA Anri¹, INOUE Satoshi², SANO Hidehiko¹

【目的】1 ステップ接着システム (1-SEAs) は現在多くの製品が市場に出ており、臨床応用されている。このシステムはセルフエッチングシステムに分類され、ユーザーフレンドリーな材料であるが、いくつかの問題が指摘されている。その一つが、窩洞形成中に生じるスマヤー層の存在である。超マイルドタイプの 1-SEAs はいわゆる 'nano-interaction zone' を形成し象牙質と接着するが、スマヤー層は、窩洞形成に使用されるバーの種類によって厚さが異なるとされ、超マイルドな 1-SEAs ではスマヤー層を十分に除去できず短長期的接着性能に影響を及ぼすことが危惧されている。

本研究ではスマヤー層の除去能に着目し、研削条件すなわちスマヤー層の厚さが異なる 2 種類の研削象牙質表面を、6 種の市販 1 ステップ接着システムで処理した後、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察し、象牙質スマヤー層除去の程度を比較検討した。

【材料と方法】健全ヒト抜去大白歯歯冠部をモデルトリマー (MT-7D、モリタ) にて歯軸に垂直に切断し、平坦な歯冠中央象牙質面を得た。その面をレギュラーダイヤモンドポイント (Diamond Point FG、#104R、松風、以下レギュラー) あるいは SiC ペーパー (#2000、マルトー、以下#2000) を用い、レギュラーでは弱圧下で 10 往復研削、#2000 では 60 秒間研削を行い、可及的平坦な研削象牙質面を得た (各 21 本)。その後、レギュラーにて根部を切断し、研削面の厚みが 2mm 程度残るように根面側からスリットを形成した。それらの研削面を 6 種の 1-SEAs、すなわちクリアフィルトライエスボンド (クラレメディカル、S3)、アブソリュート 2 (デンツプライ三金、AB)、ハイブリッドコート II (サンメディカル、HC)、G-ボンドプラス (ジーシー、GP)、ボンドフォース (トクヤマデンタル、BF) およびビューティボンド (松風、BB) を用い、指示書通りに処理した後、光照射を行わず、30 秒間アセトン洗浄した (各研削面および材料につき 3 本ずつ計 36 本)。1-SEA 処理を行わないものを対照とした (各研削面につき 3 本ずつ計 6 本)。エタノール系列脱水と室温での 24 時間乾燥後、スリットに合わせ割断した。割断試料の一片で研削面を、もう一片で割断面の観察を行えるよう試料台に配置し、Au-Pd 蒸着後 SEM (S-4000、日立製作所) にて観察した。

【結果】未処理のレギュラーおよび#2000 研削面はいずれもスマヤー層で覆われていた。象牙細管上のスマヤー層はレギュラー研削面ではひび割れていたが、#2000 研削面では象牙細管と管間象牙質との区別がつかず、一様にスマヤー層で覆われていた。割断面でも、象牙質表面はスマヤー層で覆われ、細管中にはスマヤープラグが認められた。

S3 ではレギュラー研削面はスマヤー層で覆われており、細管のひび割れ様の像が観察された。割断面の象牙質表面はスマヤー層で埋まり、細管内にはスマヤープラグが認められた。これに対し、#2000 研削面ではスマヤー層は除去され象牙細管が観察されたが、割断面の細管中にはスマヤープラグが残存しているものが認められた。同様の像が HC、GP、BF および BB でのレギュラーおよび#2000 の研削面、割断面両方において観察された。すなわち、いずれの材料でも#2000 で研削した際のスマヤー層の方がその残留が少なかった。一方、AB では、いずれの研削面においてもスマヤー層は除去され、象牙細管は開口し、スマヤープラグは認められなかった。特に細管開口部が漏斗状に広がっており、管周象牙質が脱灰されていた。

【考察】AB の pH は 1.8 と低く、他の材料よりも脱灰作用がやや「ストロング」なためこのような結果になったと思われる。ただし、GP の pH は 1.5 であるものの、スマヤー層の除去に関しては他のマイルド (BF、BB) や超マイルド (S3、HC) な材料と同様の像を示した。その理由として処理時間や構成成分の違いなどが影響したと考えられた。

電子スピン共鳴法 (ESR) によるワンステップボンディング材のラジカル発生挙動の測定

岡大病院・総合歯科

○武田宏明, 塩津範子, 桑山香織, 河野隆幸, 鳥井康弘

Measurement of radical generating behavior of one-step self-etch adhesive using electron spin resonance spectroscopy (ESR)

Okayama University Hospital, Comprehensive Dental Clinic

○TAKETA Hiroaki, SHIOTSU Noriko, KUWAYAMA Kaori, KONO Takayuki, TORII Yasuhiro

【研究目的】

ワンステップボンディング材は一液でエッチング, プライミング, ボンディングという多機能を発現させるために多種の成分が混合されるが, 酸として機能させるためには水の配合は必須である. 一方, 歯面処理後のボンディング材の乾燥の程度や方法が接着強さに影響すると報告されており, 溶液中の水の蒸散は歯質接着に重要なステップとなると思われる. そこで本研究では, ワンステップボンディング材の歯質接着機構解明の一環として, 今回, 乾燥の時間を変化させたワンステップボンディング材中のラジカル発生量を電子スピン共鳴法 (ESR) で経時的に測定し, 乾燥とラジカル発生量の関係を検討した. また, 牛歯エナメル質, 象牙質にボンディング材塗布後に同様の方法で乾燥させた場合の接着強さについても調べた.

【材料および方法】

ワンステップボンディング材は, Bis-GMA(Aldrich Chemical Co.), HEMA (Aldrich Chemical Co.), MDP(クラレメディカルより供与), カンファーキノン(東京化成), 4-ジメチルアミノ安息香酸エチル(東京化成), 無水エタノール(丸石製薬), 精製水を用いて調整した. これをガラス練板に滴下し, それぞれ20秒, 40秒, 60秒, 120秒間エア- (Z-283 AIR DUSTER, ホーザン) にて乾燥させた後, それぞれを直径2mm, 高さ1mmのテフロン製チューブに充填した. 充填後, 照射器 (Luxor-4000, ICI) を用いて10秒間照射し, 直ちにESR試料管 (NEW Era Enterprises) に投入して電子スピン共鳴装置 (JES-FR30, 日本電子) でラジカル発生量を測定した. また, 他成分は一定のまま, 水を含有させずエタノールの分量を変化させたボンディング材も供試した. なお, 照射開始時点を重ね開始として時間経過ごとに測定を行った. さらに, 各乾燥時間における牛歯エナメル質, 象牙質に対する引っ張り接着強さを, オートグラフ (AG-20 kNX, 島津製作所) を用いて測定した.

【成績】

発生したラジカルは時間経過とともに減衰傾向を示した. また, 乾燥時間が長い程, ラジカル初期発生量が多くなる傾向が認められた. 水を含有しないボンディング材では, 含有するものと比べラジカル初期発生量が多かった. 象牙質に対する引っ張り強さでは, 20秒間乾燥させた場合では15.7MPa, 120秒間乾燥させた場合では18.6Mpaであった.

【考察】

本研究の結果から, 水の存在でラジカルの初期発生量が減少することが示唆された. 一方, 十分な乾燥により水を蒸散させた場合には, レジンのモノマー成分が濃縮されラジカルの発生が促進されたと考えられる. ラジカル量が多いことはモノマーの重合反応がより急激に進展していることを意味し, 乾燥によってボンディング材の重合反応が促進され接着が早期に確立されるものと考えられる.

【結論】

ボンディング材中の水の存在によりラジカル初期発生量が抑制されるため, 乾燥の程度はボンディング材の重合反応に影響を及ぼし, 接着強さの増減に関与することが示唆された.

【謝辞】

本研究をご指導頂いた岡大院医歯薬・生体材料, 鈴木一臣前教授 (現特命教授) に感謝致します.

象牙質に対する市販 All-in-one システムの接着性能

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座
○後閑由香, 水上英子, 谷 千尋, 久光 久

Bonding efficacy of commercial all-in-one adhesive system in dentin

Department of Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry
○GOKAN Yuka, MIZUKAMI Eiko, TANI Chihiro, HISAMITSU Hisashi

【研究目的】完全な象牙質窩洞適合性を獲得するためには、齶蝕除去時に被着面に形成されるスメア一層を過不足無く除去し、ボンディング処理に先立ってプライマーを用いて歯面を前処理することが重要である。近年、これらの臨床術式を簡略化する目的でボンディング処理までのすべての歯面処理を一括で行う All-in-one システムが多数市販されている。このほど Dentsply-Sankin より、長期保存性と臨床操作性を改良した Xeno JP および Xeno V+ が市販された。今回我々は、これら 2 種類の市販 All-in-one システムの接着性能について、コントラクションギャップの計測および接着界面の微細構造の観察による評価を行った。

【材料および方法】ヒト抜去大白歯隣接面エナメル質を削除し象牙質平面を作成し、直径 3.0mm 深さ 1.5mm の円柱窩洞を形成した。窩洞に 2 種類のボンディングシステムをメーカーの指示書通り使用し、市販光重合型コンポジットレジン (Palfique Estelite, Tokuyama Dental) を填塞硬化させた。10 分間の水中保管後、窩縁を露出および研磨し、窩縁に生じるコントラクションギャップの計測を光学顕微鏡下で行った。値は窩洞直径に対する百分率で表した。試片は各群 10 個、合計 20 本調整した。また、計測の完了した試片に臨界点乾燥および白金パラジウム蒸着を行い、走査電子顕微鏡を用いて接着界面の観察を行った。

Brand	Manufacture	Lot No.	w-t-w Contraction Gap
Xeno JP	Dentsply-Sankin, Japan	470-004	0.091 ± 0.062 (2)
Xeno V+	Dentsply-Sankin, Japan	1012000752	0.066 ± 0.048 (3)

【結果および考察】Xeno JP のコントラクションギャップの値は、 $0.091 \pm 0.062\%$ となり、2 本の試片で完全な窩洞適合性が確認できた。また、Xeno V+ では $0.066 \pm 0.048\%$ となり、3 本の試片で完全な窩洞適合性が確認できた。走査電子顕微鏡による接着界面の観察では、これまでの All-in-one システムに観察されたような厚いボンディング材層は観察されず、コンポジットレジンと窩壁とが近接した界面が観察された。今回用いた 2 種類の市販システムは、歯面処理を一括で行うことにより臨床操作性が向上し、加水分解による長期保存性に問題が生じる可能性のある 2-HEMA を含まず、保管方法の制限等について改善した製品であるが、窩洞適合性においては改善の余地があると結論づけられた。

新規ワンステップボンディング材の開発に関する研究 (2)

日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻¹,
日本大学松戸歯学部保存修復学講座², 日本大学松戸歯学部歯科生体材料学講座³
○岩井仁寿^{1,2}, 藤田(中島) 光², 根本章吾^{1,2}, 周 秦^{1,2}, 岩井啓寿², 西山典宏³, 池見宅司²

Development of Novel All-in-one Adhesive (2)

Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo¹,
Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo²,
Department of Dental Biomaterials, Nihon University School of Dentistry at Matsudo³
○IWAI Hitoshi^{1,2}, FUJITA(NAKAJIMA) Kou², NEMOTO Shogo^{1,2}, ZHOU Qin^{1,2}, IWAI Hirotohi², NISHIYAMA Norihiro³,
IKEMI Takuji²

[目的]

本研究では、MDPの添加量の異なる試作ワンステップボンディング材を調製し、歯質アパタイトと相互作用させ、MDPの添加量がMDPのCa塩の生成量に及ぼす影響および歯質へのレジンの接着強さに及ぼす影響について検討した。

[材料および方法]

1. 材料 ワンステップボンディング材の調製: UDMA、TEGDMAをそれぞれ10 g、4-METAを9.4 g、MDPを0、3、6、10、15 g添加した後、水を11.2 g、アセトンを69.3 g添加してMDPの添加量の異なる5種類の4-META含有ボンディング材 (MCボンディング材: MC-0、MC-3、MC-6、MC-10、MC-15) を調製した。さらに、光増感剤としてカンファーキノン、重合促進剤として

-ジメチルアミノ安息香酸エチルをこれらの混合モノマーにそれぞれ1 wt%添加した。
2. 方法 MDPのCa塩の生成量: ワンステップボンディング材1.000 g中にエナメル質あるいは象牙質粉末を0.200 g添加し、10分間攪拌した後、遠心分離して上澄み液を得た。この上澄み液の¹³C NMRスペクトルを測定し、UDMAのビニル基メチレンカーボンに対するMDPのビニル基メチレンカーボンの相対強度を求めた。つぎに、歯質成分添加前後における相対強度の変化からMDPの減少率を求め、この減少率からMDPのCa塩の生成量を算出した。

接着試験: ウシ前歯抜去歯の唇側エナメル質を#1000シリコンカーバイトペーパーにて研磨し、新鮮エナメル質または象牙質を露出させた。この研磨面をMCボンディング材で20秒間処理した後、5秒間強圧エアブローを行い、可視光線を10秒間照射した。直ちにコンポジットレジンを充填して光照射 (20秒間) を行い、試験体を作製した。その後、24時間37℃水中に保管し、インストロン型万能試験機を使用してクロスヘッドスピード1.0 mm/minにて圧縮剪断接着強さを測定した。なお、試料数はそれぞれの実験群で15個とし、照射器はXL 3000 (3M ESPE) を用いた。

[結果および考察]

MDPのCa塩の生成量および残留量を表1に、MDPのCa塩の生成量が接着強さに及ぼす影響を図1に示す。MDPの添加量が増加するとMDPのCa塩の生成量は増加した。MDPのCa塩の生成量の増加に伴い接着強さは増加し、MDPのCa塩の生成量がエナメル質の場合37.0 mg、象牙質の場合39.0 mgのときに最大接着強さが得られ、その後、MDPのCa塩の生成量の増加に伴い接着強さは低下した。本研究の一部は、平成22-24年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究(C)、課題番号22592128) および日本大学松戸歯学部口腔科学研究所総合研究プロジェクトにより行われた。

表1 MDPのCa塩生成量と残留量

	MDP 総量	エナメル質		象牙質	
		Ca 塩生成量	残留量	Ca 塩生成量	残留量
MC-0	0	0	0	0	0
MC-3	26.6	14.7	11.9	18.0	8.6
MC-6	51.8	37.0	14.8	39.0	12.8
MC-10	83.4	48.5	34.9	60.4	23.0
MC-15	120.1	79.4	40.7	101.2	18.9

(MCボンディング材1.000 g中のMDPの量、単位: mg/g)

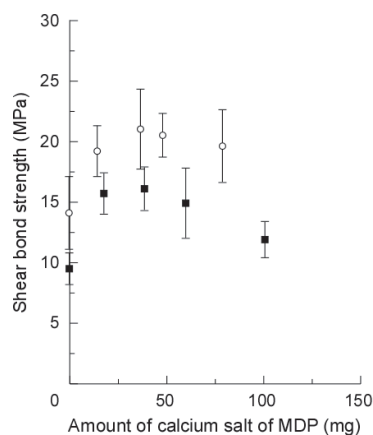


図1 MDPのCa塩生成量が接着強さに及ぼす影響

○: Enamel ■: Dentin

新規オールインワン接着システムの歯頸部辺縁封鎖性に及ぼす 口腔内環境想定複合ストレスによる影響

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座¹、ハーバード大学歯学部修復学生体材料学講座²
○秋山沙絵子¹、前野雅彦¹、小川信太郎¹、山田 正¹、原 学¹、
柵木寿男¹、奈良陽一郎¹、勝海一郎¹、Dogon. I. L.²

Effect of combination stress simulating intra-oral environment on cervical marginal sealing of a latest all-in-one adhesive system

Dept. of Endodontics and Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University¹
Dept. of Restorative Dentistry and Biomaterials Sciences, Harvard School of Dental Medicine²
○AKIYAMA Saeko¹, MAENO Masahiko¹, OGAWA Shintaro¹, YAMADA Tadashi¹, HARA Manabu¹,
MASEKI Toshio¹, NARA Yoichiro¹, KATSUUMI Ichiroh¹, DOGON I. L.²

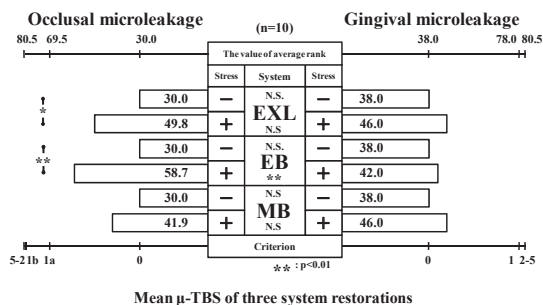
【研究目的】 コンポジットレジン修復に際し使用するオールインワン接着システムは、簡便な操作に加え、高次元の歯質接着性を有していることから広く臨床に普及している。一方、コンポジットレジンと歯質との接着は口腔内の多様かつ苛酷なストレス環境下においても堅固な接着性の担保が求められる。特に辺縁封鎖性の良否は、経時的な接着強さ減弱の直接的要因であると同時に、外来刺激、口腔内細菌、色素の窩洞内接合界面への侵入の指標であり、臨床的な予後予測に寄与する。そこで本実験では、新規オールインワン接着システムの辺縁封鎖性に及ぼす口腔内環境想定複合ストレスの影響を客観的に明らかにすることを目的に、歯頸部修復に対する色素浸透試験による微小漏洩の評価によって検討を行った。

【材料および方法】 被験歯には、本学部研究倫理委員会の承認を得てヒト抜去健全下顎小白歯 60 本を用いた。被験材料として用いたレジン接着システムは、新規オールインワン接着システム：EXL759 (EXL, 3M ESPE)、対照として現在市販のオールインワン接着システム：Adper Easy Bond (EB, 3M ESPE)ならびに優れた歯質接着性を具備しているとの国内外評価を得ている 2 ステップ型セルフエッチングプライマーシステム：Clearfil Mega Bond (MB, クラレメディカル)とした。評価に際しては、まず被験歯に対し、歯頂側壁がエナメル質と象牙質によって、歯肉側壁が象牙質のみによって構成される規格化 V 字状窩洞を形成した。ついで、製造者指定の歯面処理、修復用レジンの一塊填塞、光照射を行い、37°C 湿ボックス中に 24 時間保管後、Soflex® XT (3M ESPE)による一連の研磨を行った。修復試料は複合ストレス非負荷群(−Stress : −S)と負荷群(+Stress : +S)に区分し、4°C/60°C間 (各 15 秒間浸漬) 1,250 セットのサーマルサイクリングと 12 kgf ×10 万回 (90 回/分)の繰り返し荷重による同時負荷を加えた。その後、両群試料は 37°C 1%メチレンブルー水溶液中に 1 時間浸漬し、窩洞中央部を歯軸と平行に半切研磨後、色素浸透状態の評価を行い、一修復試料から得た近心・遠心両試料結果のうち、色素浸透がより進行した試料のスコアを代表値(n=10)として採択した。なお、漏洩試験結果は、Kruskal-Wallis の順位検定と Wilcoxon の符号付順位検定による分析を行った。

【成績】 下図に、3 修復システムの微小漏洩結果を示す。分析の結果、歯頂側壁漏洩では、EXL と EB において+S 群が−S 群より有意に大きな漏洩を示し、MB では同等であった。一方、歯肉側壁漏洩では、システムにかかわらず、+S 群と−S 群との漏洩は同等であった。また、3 修復システム間の漏洩は、複合ストレスの有無、窩壁の違いにかかわらず同等であった。さらに、歯頂側壁と歯肉側壁間の漏洩は、−S 群においてシステムにかかわらず同等であったものの、+S 群では EXL と MB は同等であり、EB の歯頂側壁漏洩は歯肉側壁漏洩より有意(p<0.01)に大きかった。

【考察および結論】 新規オールインワン接着システム：EXL759 を用いた歯頸部修復は、口腔内環境想定複合ストレス負荷によって、エナメル質を窩縁とする歯頂側の辺縁封鎖性が侵襲を受けるものの、その程度は EB・MB と同等の軽微なものであった。一方、象牙質を窩縁とする歯肉側の封鎖性は、複合ストレスによる侵襲が生じにくく、EB・MB と同等の優れた封鎖性を維持することが判明した。また、複合ストレスが負荷された場合、システムの違いにかかわらず漏洩の平均順位値は歯頂側壁値が歯肉側壁値と同等または大きいことが確認できた。この理由としては歯頂側壁部に働く圧縮・引張応力値は、ずれ応力値より大きく、一方、歯肉側壁部に働くずれ応力値は圧縮・引張応力値より大きく、これら応力が歯肉側壁よりも小さい歯頂側壁に作用することが一因として考えられる。

以上から、今回検討した新規システム EXL759 は、現在市販されている先行システムならびに安定した接着性能を有するとの容認を受けているセルフエッチングプライマーシステムと同等の辺縁封鎖性を有し、口腔内の多様かつ苛酷なストレス環境下においても堅固な接着性の保持に貢献し、良好な予後獲得が期待できるシステムのひとつと考える。



ワンステップボンディング材の劣化に関する研究

日本大学松戸歯学部保存修復学講座¹, 日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻²,
日本大学松戸歯学部生体材料学講座³
○藤田(中島) 光¹, 岩井仁寿², 岡田珠美¹, 西山典宏³, 池見宅司¹

Degradation of one step-bonding adhesives
Department of Operative Dentistry¹, Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo²
Department of Dental Biomaterials³, Nihon University School of Dentistry at Matsudo
○FUJITA(NAKAJIMA) Kou¹, IWAI Hiroto², OKADA Tamami¹, NISHIYAMA Norihiro³, IKEMI Takuji¹

【目的】

市販されているワンステップボンディング材は、長時間の保管や高温での保管により、歯質に対するレジンの接着強さが低下する傾向がある。そこで本研究では、ワンステップボンディング材で処理した歯質に対するレジンの接着強さが低下する原因を検討することを目的として、ワンステップボンディング材に含まれているモノマーの変質に及ぼす影響を接着強さと核磁気共鳴法 (¹³C NMR 法) を用いて検討した。

【材料および方法】

1. ワンステップボンディング材の保管

ワンステップボンディング材として G-BOND PLUS (GC) を使用した。機能性モノマー(4-MET, メタクリル酸エステル)が主成分であるボンディング材を 40°C の恒温槽中に保管した。保管時間は 0, 1, 3, 7 および 14 週間とした。

2. ¹³C NMR 法によるワンステップボンディング材の解析

所定時間保管したワンステップボンディング材 300mg とジメチルスルホキシド(DMSO) 250mg を NMR 管に精秤し、振盪・攪拌して NMR の試料とした。また、¹³C NMR の測定は EX 270 スペクトロメーター (日本電子) を用いた。

3. 歯質に対するコンポジットレジンの圧縮せん断接着強さの測定

新鮮ウシ抜去歯のエナメル質および象牙質を被着面(#1000)とし、G-BOND PLUS を指示書に従って作用させ、コンポジットレジン(クリアフィル APX)を填塞し、試験体とした。試験体を 37°C 水中に 24 時間浸漬し、万能試験機 (TG-5KN, ミネベア社) を用いてクロスヘッドスピード 1mm/min の条件で、エナメルおよび象牙質に対する接着強さを測定した。

【結果および考察】

G-BOND PLUS のエナメル質の接着強さは、保管時間 0 日(コントロール)の場合 17.2MPa であったが、保管時間が長くなるにつれて接着強さは低下し、保管時間が 14 週間では 10.9MPa と大きく低下した。また象牙質では、保管時間 0 日(コントロール)の場合 15.4MPa であったが、保管時間が 14 週間では 11.6MPa と、接着強さは低下した。

レジンの接着強さが低下した原因を調べるために、40°C の恒温槽中に保管したワンステップボンディング材の ¹³C NMR スペクトルを測定した。その結果、G-BOND PLUS 水溶液の ¹³C NMR のスペクトルは、4-MET 分子内ベンゾイルエステル基が加水分解し、HEME とトリメリット酸に加水分解されることがわかった。

以上の結果から、ボンディング材を長期間保管すると、ワンステップボンディング材に含まれる機能性モノマーが加水分解して変質し、その結果、レジンの接着強さが低下することが明らかとなった。

本研究は、平成 22-24 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 (C), 課題番号 22592129) により行われた。

3種の市販オールインワンセルフエッチングシステムの接着強さについて

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

○丁 世俊, 付 佳楽, 潘 峰, 角田晋一, 中沖靖子, 池田考績, 田中 享, 佐野英彦

Bonding performance of three commercial self-etching all-in-one systems

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

○TING Shih Chun, FU Jiale, PAN Feng, KAKUDA Shinichi,
NAKAOKI Yasuko, IKEDA Takatsumi, TANAKA Toru, SANO Hidehiko

【Objective】

The purpose of this study was to evaluate the bonding performance of three commercial self-etching all-in-one systems by using μ TBS (Micro-tensile bond strength).

【Materials and Methods】

Six human third molars were randomly divided into three groups with each two teeth for one group and each group applied by one of the three systems: G-aenial Bond (GaB, GC), Easy Bond (EB, 3M) and BeautiBond (BB, SHOFU).

After removal of crown segment, the 600-grit SiC paper was employed to polish the dentin surface under running the water for 60 seconds. The adhesives were used under the instruction of each manufacture and followed by the resin composite build-up. After storage in 37°C water for 24 hours, each bonded specimen was sectioned into 15 beams per tooth (cross-sectional area: 1 mm²) using an Isomet diamond saw. μ TBS test was carried out using a portable test machine (EZ Test, SHIMADZU, Kyoto, Japan) at a crosshead speed of 1 mm/min. μ TBS was expressed in MPa, and all data were analyzed by the Games-Howell test ($n = 30$; $p < 0.05$).

Featured surface on dentin side was observed by SEM.

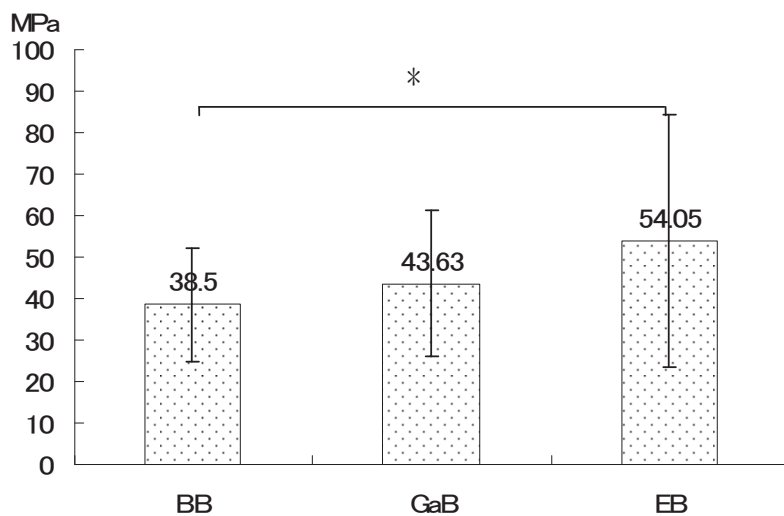
【Result】

The result of three systems were GaB(43.63±13.54), BB(38.50±17.54), EB(54.65±30.38). In statistical analysis, EB showed significant higher bonding performance than BB.

GaB showed no significant difference compares with BB nor EB ($p < 0.05$).

【Conclusion】

EB could have higher bonding performance in present study.



* Asterisk means significant difference ($p < 0.05$).

術者の違いがセルフエッチングシステムの接着強さに及ぼす影響について

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

○潘 峰, 付 佳樂, 丁 世俊, 角田晋一, 中沖靖子, 池田考績, 福山麻衣, 橋本直樹, 田中 享, 佐野英彦

Effect of operator's variability on bonding performance of self-etching systems

Department of restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Hokkaido University,
Graduate School of Dental Medicine

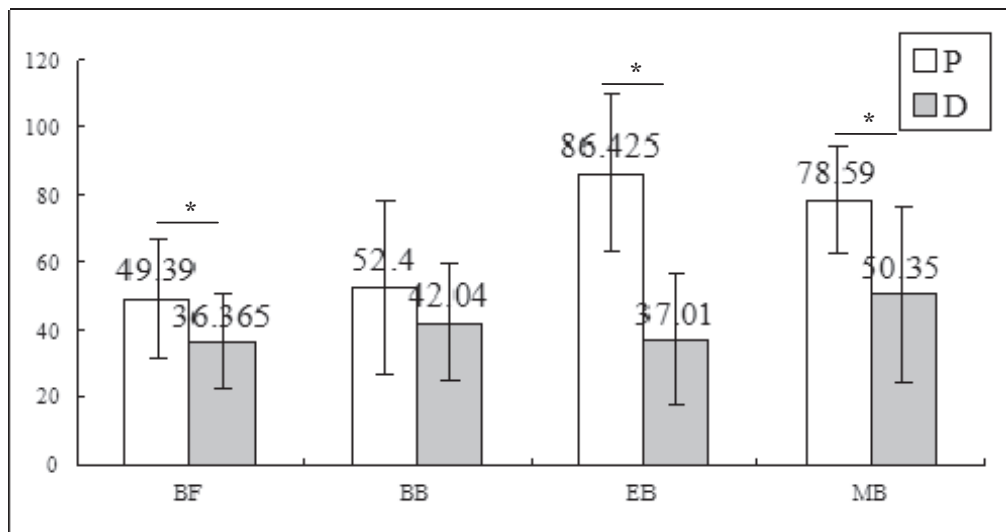
○PAN Feng, FU Jiale, TING Shihchun, KAKUDA Shinichi, NAKAOKI Yasuko, IKEDA Takatsumi, FUKUYAMA Mai,
HASHIMOTO Naoki, TANAKA Toru, SANO Hidehiko

Objective: This study was to evaluate the operator's variability on bonding performance of self-etching systems between the different operators.

Materials and Methods: In this study, four self-etching adhesives were employed for this experiment: BondForce (BF, Tokuyama Dental); BeautiBond (BB, SHOFU); Easy Bond (EB, 3M); and MegaBond (MB, Kuraray), depending on the material suppliers. The operators of this study were D and P who was the first and second year of PhD. education of Graduate School on Dental Medicine Hokkaido University respectively. Sixteen third molars were used in this study, and every eight teeth were equally divided into four systems. Two operators finish this experiment independently. Then the adhesives were used under the instruction of each manufacture and followed by the resin composite build-up. After storage in 37°C distilled water for 24 hours, each specimen was sectioned into 15 beams with the cross sectioned area 1.0mm² for the micro-tensile bond strength test (MTBS) at cross speed of 1mm/min. The obtained date was expressed as MPa and statistically analyzed with Independent-Samples t-Test. The dentin side of the fractured surfaces was observed by SEM.

Result: The results of 4 self-etching systems of P tended to show higher bond strength than that of D. But, in statistical analysis, only BB showed no statistically significant difference between the results of two operators ($p < 0.05$).

Conclusion: Operator's variability could effect on bonding performance of the most self-etching systems.



Asterisk means there is significant difference ($p < 0.05$)

TCD ウレタンモノマー配合コンポジットレジン の光照射後 24 時間の重合収縮応力の変化

鶴見大学歯学部保存修復学講座
○久保田 祐, 山本雄嗣, 桃井保子

Change in polymerization contraction stress of a resin composite containing TCD-urethane monomer for 24 h after light-irradiation

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine
○KUBOTA Yu, YAMAMOTO Takatsugu, 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減少を目的として、新規モノマーを配合したコンポジットレジンが開発されている。当講座の西出ら¹⁾は、DX-511モノマーを含有する KALORE (GC)の応力を照射後 24 時間測定し、KALORE の収縮応力は、コントロールの低収縮応力を示す Revolution Formula 2 (Kerr)よりも低かったと報告した。そこで今回、重合収縮力が小さいとされる新規モノマー(tricyclodecane-urethane monomer)²⁾を含有するコンポジットレジン(Charisma[®] Diamond, Heraeus Kulzer)の重合収縮応力を、亀裂評価法を用いて光照射後 24 時間測定し、前述の KALORE と比較した。

【材料および方法】

中央に $\phi 3$ mm \times 2 mm の円柱窩洞を有する $\phi 12$ mm のドーナツ型ガラス円盤(破壊靱性値: 0.61 MPam^{0.5})をモールドとした。まず、窩縁から 200, 300, 400, 500 μ m 離れたガラス平面にビッカース圧子で亀裂を導入し、その長さを測定した。次いで、窩壁にシラン処理(Clearfil Porcelain Bond Activator + Megabond Primer)を施してから、窩洞内に CHARISMA を一挙填塞し、光照射を行なった(540 mW/cm² \times 45 秒)。照射後 2 分, 10 分, 30 分, 1 時間, 12 時間, 24 時間経過時に亀裂長さを再度計測し、亀裂先端周囲に発生した応力を算出し、その値から接着界面での応力値を求めた¹⁾。応力値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。なお、KALORE の応力値は西出らの報告¹⁾の値を引用した。

【結果および考察】

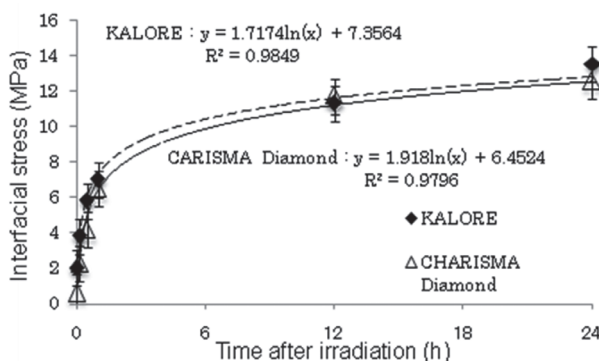


図1 接着界面における重合収縮応力

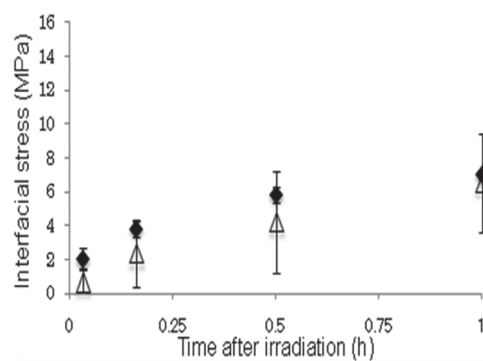


図2 光照射1時間後までの重合収縮応力

各経過時間での界面応力値を図1,2に示した。図2は、図1の照射1時間後までを拡大したものである。回帰分析では $R^2 > 0.97$ と高い決定係数を示した。両レジンの界面応力は二要因(材料, 時間)に有意に影響を受けた。CHARISMAの応力値は、有意差は示さなかったものの、光照射30分後まで KALORE よりも低い傾向にあった。また両レジンの応力は24時間経過時まで増加し続ける傾向を示した。CHARISMAはKALOREと同等の低い収縮応力を示し、特に重合初期の応力が低いことから、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)西出明史, 山本雄嗣, 桃井保子: コンポジットレジンの重合収縮応力-照射24時間後までの変化-; 第133回日本歯科保存学会秋季学術大会 演題番号 P24

2) A. UTTERODT et al: Evaluation of compatibility of a new nano-hybrid composite to adhesives; IADR/AADR/CADR 87th General Session and Exhibition 1810

ブラシ研磨による歯科用純チタンの精密研磨

東京都市大学大学院 工学研究科 機械工学専攻¹, 東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座歯科保存学分野², 東京技研³, 東北大学大学院歯学研究科 口腔生物学講座歯内歯周治療学分野⁴

○田中大資¹, 佐藤秀明¹, 佐藤秀樹², 石戸谷重晴³, 石幡浩志⁴, 小松正志²

Precision Polishing of Purity Titanium for Dental Material by Brush Tool

Tokyo City University Graduate School of Engineering¹, Division of Operative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry², Tokyo Giken³, Division of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry⁴

○TANAKA Daisuke¹, SATO Hideaki¹, SATO Hideki², ISHIDOYA Shigeharu³, ISHIHATA Hiroshi⁴, KOMATSU Masashi²

[緒言]

近年, 歯冠修復用金属材料は, 優れた生体親和性を有することが要求されており, それらの要求を満たすため, 種々の歯冠修復用金属材料が開発されている. その中でも, チタン系材料は, 特に金属アレルギーの発生が極めて少ないことから, 難削材であるにも関わらず, 多く使用され始めている. 現在, チタン系材料の歯冠修復物の, 溝部等の複雑な形状を, 軸付き砥石により目標の表面粗さまで研磨するには, 工程が多く, 多大な時間を要している. ところで, ブラシ研磨は, 溝部の凹面の研磨に適しており, 冠などの咬合面の複雑な形状の仕上げ研磨に適している. そこで, 本研究においては, ブラシ研磨による, 純チタンの仕上げ研磨の可能性について検討する.

[材料および方法]

試験片の材料は, JIS2 種純チタン(神戸製鋼所 KS50)である. 図1に, ブラシ形状を示す. ブラシの外径は約φ6mm, フィラメントはナイロン製で, その径(毛の1本の太さ)は, φ0.1mm, φ0.2mm およびφ0.3mm, ブラシの長さは約5mmである. フィラメント本数は, それぞれ, 約1700, 約580 および約260本である. 研磨剤は, 粒度番号#8000(平均粒径1.2μm)のWA またはGC 砥粒(糊フジミンコーポレーテッド)に, PVP(ポリビニルピロリドン)を混入させ, 水道水を加えて, 十分に攪拌する. これを静置し, 上澄み液を除去し, ペースト状の研磨剤を製作し, これを用いた.

図2に, ブラシ研磨装置(株東京技研製)の概略を示す. ブラシはモータからベルト車を介して3800rpmで回転する. ブラシ軸は, 主軸より0.5mm 偏心しており, ブラシ軸は自転しながら, 同じ回転数で公転している. 試験片をバイスに固定し, 研磨剤を約1g 試験片の上に塗布する. ブラシの先端を接触させ, 軸方向にブラシを約0.2mm 押付ける. 次に, 試験片を手動で約2秒毎に1往復(1ストローク30mm)の摺動を行い, 150秒間研磨を行った. 試験片の初期粗さは, Bollenら⁽¹⁾が示す歯冠修復物の理想的な表面粗さの値(Ra=0.2μm 以下)を参考に, 粒度番号#240 および#320のGC 砥粒の耐水研磨紙を用いて, 表面粗さを約Ra=0.2μm に調整研磨した. 表面粗さは, 触針式表面粗さ計を用いて, 算術平均粗さRa および最大高さRzを測定した.

[結果]

図3に, 150秒研磨後におけるフィラメント径と算術平均粗さRaの関係を示す. 砥粒の種類に関わらず, フィラメント径が大きくなると, Raは小さくなっていく. Kruskal-Wallisテストによる結果, フィラメント径がφ0.1mmの場合には, WAとGC砥粒の算術平均粗さRaとの間には, 有意差が見られなかったが, φ0.2mm およびφ0.3mmの場合には, 有意差があり, その差が大きくなった. これは, フィラメント径が大きくなると, 砥粒の押付け力が大きくなるが, フィラメント径がφ0.1mmの場合, 押付け力が小さく, WAとGC砥粒の性能の差が表れにくかったためだと考えられる. また, フィラメント径がφ0.2mm およびφ0.3mmの場合においては, 表面粗さが小さくなり, 十分に光沢のある滑沢面が得られた.

参考文献 (1) Curd M. L. Bollen, Paul Lambrechts, Marc Quirynen, Dental Materials, 13(1997), 258-269.

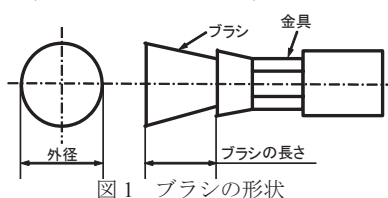


図1 ブラシの形状

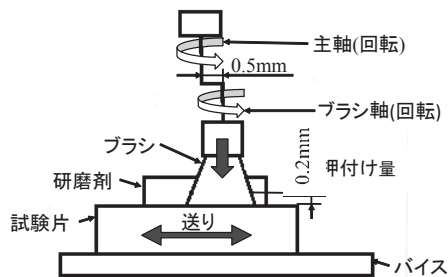


図2 ブラシ研磨装置

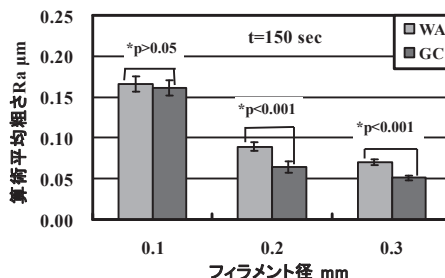


図3 150秒研磨後における算術平均粗さRa

水酸化カルシウム直接覆髄後の被蓋硬組織形成過程

—ラット臼歯における免疫組織化学的研究—

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

○重谷佳見, 吉羽邦彦, 鞍立桃子, 吉羽永子, 山中裕介, 興地隆史

Reparative dentinogenesis in rat molars after direct pulp capping with calcium hydroxide : an immunohistochemical study

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

○SHIGETANI Yoshimi, YOSHIBA Kunihiko, KURATATE Momoko, YOSHIBA Nagako, YAMANAKA Yusuke,
OKIJI Takashi

【研究目的】

水酸化カルシウムは、直接覆髄剤のゴールドスタンダードとして広く用いられており、優れた被蓋硬組織形成能を有する反面、強アルカリのため直下の健全歯髄組織の広範な壊死を招くことが指摘されている。しかしながら、その硬組織形成機構は、未だ完全に解明されていない。

本研究では、水酸化カルシウムによる直接覆髄後の硬組織形成過程について、新生象牙芽細胞様細胞の分化過程と非コラーゲンタンパクの局在変化との関連に着目して免疫組織化学的に観察した。

【実験方法】

実験動物として、8週齢 Wistar 系雄性ラットを用いた。全身麻酔下で上顎第一臼歯を#1 ラウンドカーバイドバー（直径 0.8mm）で咬合面より露髄させ、洗浄・止血後、水酸化カルシウムによる直接覆髄処置を施した。窩洞は光硬化型ガラスイオノマーセメント（Vitrebond, 3M）充填を行った後に、フロアブルレジン（FiltekFlow, 3M）で被覆した。観察期間は術後 6、12 時間、1、3、5、7、14 日とし、所定期間経過後に 4%パラホルムアルデヒド液にて灌流固定したのち脱灰パラフィン切片を作成し、HE 染色ならびに象牙芽細胞の分化マーカーである nestin、また石灰化組織に関連する非コラーゲンタンパクである osteopontin (OPN) および dentin matrix protein 1 (DMP-1) に対する酵素抗体染色を行った。

【結果】

術後 6 時間から 1 日で覆髄部直下に変性層が認められ、その下層に炎症性細胞浸潤が観察された。3 日では露髄部近傍の一部で円柱状の細胞配列が確認され、5 日では覆髄部直下に線維性基質形成が観察された。7 日後には薄い被蓋硬組織が形成され、さらに 14 日後では細管構造を示す象牙質様基質が認められた。

Nestin 陽性反応は術後 3 日から変性層下に出現し、5 日後では nestin 陽性細胞が線維性基質直下に配列するとともに、その下層にも分布していた。7 日、14 日後では被蓋硬組織直下に nestin 陽性の象牙芽細胞様細胞の配列が観察された。OPN および DMP-1 陽性反応は 6 時間から歯髄変性層直下に認められ、5 日後では線維性基質とほぼ一致して強い反応が確認された。また 7 日、14 日後では被蓋硬組織の表層に陽性反応が認められたが、細管を有する象牙質様基質では反応が観察されなかった。

【考察】

水酸化カルシウムと歯髄組織との界面部において、nestin 陽性細胞の出現に先立ち OPN および DMP-1 陽性反応が認められたことから、OPN および DMP-1 が象牙芽細胞様細胞の分化および被蓋硬組織形成過程の発動に何らかの役割を果たしていることが示唆された。

【結論】

水酸化カルシウムによる直接覆髄後の修復過程では、露髄部に OPN および DMP-1 の沈着が生じた後、その直下に nestin 陽性細胞が出現し、被蓋硬組織形成が進行することが示された。

【謝辞】

本研究は、新潟大学大学院医歯学総合研究科顎顔面再建学講座硬組織形態学分野 大島勇人教授との共同研究である。

血管内皮細胞がラット培養歯髄細胞へ与える影響について

昭和大学歯科病院・歯内治療科¹, 昭和大学歯学部・口腔生化学教室²
○増田宜子¹, 山田嘉重¹, 宮本洋一², 上條竜太郎²

Effect of the endothelial cells on rat cultured dental pulp cells

Showa University, Dental Hospital, Endodontics¹, Showa University, School of Dentistry, Dept of Biochemistry²
○MASUDA Yoshiko¹, YAMADA Yoshishige¹, MIYAMOTO Yoichi², KAMIJO Ryutaro²

(目的) 第131、133回の本学会において我々は、培養血管内皮細胞にレーザーによって無菌的に広範囲に損傷を与え、遊走した歯髄細胞を含む血管内皮細胞においてのみ早期に TGF- β 1 遺伝子の発現が認められることを報告した。今回刺激を加えない血管内皮細胞と歯髄細胞とをフィルターを介して共培養もしくは、直接共培養し、血管内皮細胞が歯髄細胞へ与える影響を調べるため、歯髄細胞における TGF- β 1 遺伝子の発現を調べることにした。

(材料と方法) 5週齢の雄性 Wister ラット4匹の下顎切歯より歯髄組織を摘出し、Collagenase、trypsin、EDTA を含む酵素液にて細胞を分離し 5%CO₂ 条件下にて α -MEM 培地に 10% FBS を加え培養した。一方ラット大動脈内皮細胞(凍結細胞)(旭硝子)をラット内皮細胞成長培地(旭硝子)にて培養した。血管内皮細胞がコンフルエントになったら 1×10^4 cells/cm² の濃度で 6 well plate (Transwell[®], Corning Inc.) の下段に継代し7日後に、コンフルエントになった歯髄細胞を上段に継代した。

上段の底は直径 8.0 μ m の孔のポリカルボネートの膜で覆われている。37°C、5%CO₂にて培養し14日後に下段の血管内皮細胞、上段の歯髄細胞の Total RNA を調整し cDNA を合成し TGF- β 1 の遺伝子の発現を RT-PCR によって調べた。一方、血管内皮細胞を下段に継代した7日後に直接歯髄細胞を下段に継代しポリカルボネートの膜を介さない共培養も行った。コントロールとして上段に歯髄細胞を培養しない下段の血管内皮細胞と下段に血管内皮細胞を培養しない上段の歯髄細胞の培養を行い同様に測定した。

(結果) 14日後の RT-PCR の結果、血管内皮細胞と歯髄細胞をポリカルボネートの膜を介さず共培養したもので強く TGF- β 1 遺伝子の発現が認められた。下段に血管内皮細胞を培養した上段の歯髄細胞においても TGF- β 1 遺伝子の発現が認められた。コントロールの上段に歯髄細胞を培養しない血管内皮細胞と下段に血管内皮細胞を培養しない歯髄細胞では TGF- β 1 遺伝子の発現はほとんど認められなかった。

(考察及び結論) 血管内皮細胞と歯髄細胞とを共培養すると歯髄細胞において TGF- β 1 遺伝子の発現が認められた。細胞が接触することによってよりそれぞれの細胞において発現が増加するのか血管内皮細胞と歯髄細胞の発現が合わさって増加したように見えるのかについて発現量の定量化を行う必要がある。また、培地の α -MEM (FBS) に β -Glycerophosphate、Ascorbic acid を加えて培養した場合においても血管内皮細胞と歯髄細胞を共培養した場合の歯髄細胞の発現する遺伝子の変化をさらに検討していく予定である。

NF- κ B 阻害剤は BMP による骨形成を促進する

九州歯科大学口腔治療学講座齶蝕歯髓疾患制御学分野¹, 医療人間形成学講座総合診療学分野²,
福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野³
○平田志津¹, 諸富孝彦³, 寺下正道², 北村知昭¹

NF- κ B Inhibitor Enhances BMP2-Induced Bone Formation
Division of Pulp Biology, Operative Dentistry, and Endodontics¹,
Division of Comprehensive Dentistry², Kyushu Dental College
Section of Operative Dentistry and Endodontology, Fukuoka Dental College³
○HIRATA Shizu¹, MOROTOMI Takahiko³, TERASHITA Masamichi², KITAMURA Chiaki¹

【目的】

重篤な根尖性歯周炎では炎症が根尖部歯槽骨まで達し大きな骨欠損を伴う。骨欠損の再生には適切な歯内治療を行っても長期間を要することが多い。強力な骨誘導作用を持つ BMP は、Smad と呼ばれる細胞内情報伝達分子依存性・非依存性に細胞分化亢進等の様々な生理活性作用を有し、骨組織再生因子として注目されている。一方、転写因子 NF- κ B は Rel Homology domain を共有する 5 つの転写因子 (p50, p52, p65, cRel, RelB) の総称で、炎症反応、免疫応答、発生や癌化等に関与する。そこで NF- κ B シグナルと BMP/Smad シグナルのクロストークの可能性について検討した。

【材料と方法】

胎生 13.5 日齢の野生型 (WT)、p65 欠損 (p65^{-/-})、および p50 欠損 (p50^{-/-}) 各マウス胎仔から線維芽細胞 (MEF) を調製した。WT および p65^{-/-} MEF を BMP2 (100 ng/ml) で刺激し、骨芽細胞の初期分化マーカーであるアルカリホスファターゼ (ALP) 活性測定と染色による観察を行った。また、WT と p65^{-/-} MEF に BMP2 (100 ng/ml) を刺激後、骨芽細胞の後期分化マーカー遺伝子としてオステオカルシンのプライマーを用いて PCR を行った。次に、WT および p65^{-/-} MEF を BMP2 刺激し、抗リン酸化 Smad1/5/8 抗体を用いてウェスタンブロット法により Smad1/5/8 リン酸化を分析した。さらに、WT と p65^{-/-} MEF を BMP2 で刺激後、クロマチン免疫沈降法と BMP Response Element のプローブを用いたゲルシフトアッセイを行い、p65 の BMP 刺激による Smad の DNA 結合への影響を検討した。また、文献上で p65 の機能に關与すると知られている領域の欠失変異体を作製し、BMP シグナルにおよぼす影響を BMP の標的遺伝子である Id1 ルシフェラーゼ遺伝子を用いて検討した。次に、p65 は Smad1/5/8 または Smad4 のどちらと結合するのかを免疫沈降法にて検討した。さらに、BMP による異所性骨化におよぼす NF- κ B の阻害剤の効果の検証をするために、BMP (2 μ g) のみ、BMP+ NF- κ B の選択的阻害剤である BAY11-7082 (20 μ g) をコラーゲンペレットに含有し、凍結乾燥したペレットを 4 週間、マウスの背部筋膜下に埋め、軟 X 線写真および μ CT 撮影にて骨形成量の比較検討をした。また組織切片を作製し、H-E 染色および酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 染色を行った。

【結果・考察】

WT、p65^{-/-}、および p50^{-/-} MEF を BMP2 で刺激すると、WT MEF と比較して p65^{-/-} MEF では BMP2 刺激による著明な ALP 活性上昇と多数の ALP 陽性細胞が誘導された。また、WT MEF と比べ p65^{-/-} MEF では、BMP2 刺激の早い段階から、オステオカルシンの発現の増加がみられた。しかし、WT および p65^{-/-} MEF を BMP2 で刺激しても Smad1/5/8 のリン酸化に有意な差は認められなかった。p65^{-/-} MEF に WT の p65 を過剰発現させると BMP 刺激による Id1 の転写活性が著しく抑制されたが、428 番目以降欠失させた変異体では、抑制が解除された。また、p65 は Smad1 ではなく、Smad4 と結合することがわかった。さらに in vivo の結果、軟 X 線写真、 μ CT および骨密度測定で、BMP のみと比較して、BMP+ BAY11-7082 のペレットで骨形成量の増加が認められた。また H-E 染色で、BMP のみ、BMP+ BAY11-7082 のどちらの切片からも、正常な骨組織が形成されていることが確認された。さらに、TRAP 染色において、双方に著しい違いは認められなかった。

【結論】

NF- κ B シグナルは、p65 が Smad4 と結合することで Smad の DNA 結合を阻害し、BMP シグナルを抑制していることが示唆された。またその抑制効果は、p65 の C 末端側に依存する可能性が高い。さらに、NF- κ B の阻害剤は BMP による骨形成において、よい補助薬になる可能性が示唆された。

ヒト歯髓由来線維芽細胞の MMP-3 産生に及ぼす MAP kinase の影響

大阪歯科大学 口腔治療学講座¹, 生化学講座², 歯科保存学講座³

○加藤 侑¹, 合田征司², 小正玲子³, 竹内 摂³,
山本一世³, 池尾 隆², 林 宏行¹

Effects of MAP kinase on the Production of MMP-3
in Human Dental Pulp Fibroblast Like Cell

Department of Endodontics, Osaka Dental University¹
Department of Biochemistry, Osaka Dental University²
Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University³

○KATO Yu¹, GODA Seiji², KOMASA Reiko³, TAKEUCHI Osamu³,
YAMAMOTO Kazuyo³, IKEO Takashi², HAYASHI Hiroyuki¹

【目的】

う蝕の進行に伴い歯髓組織では炎症性サイトカインである TNF- α が産生され炎症が惹起される。また、歯髓炎ではう蝕歯質の細菌層を除去することにより正常な歯髓へと回復することが可能な場合がある。そのため歯髓細胞における TNF- α と炎症に深く関わる酵素である MMPs との関係を解明することは歯髓保存のために重要である。

【方法および結果】

1) 本研究に参加同意を得た患者 (大歯医倫 100505) の抜去歯より歯髓組織を採取・培養し、3~10 世代目を本実験に使用した。2) ヒト歯髓由来線維芽細胞を TNF- α 存在下で 24 時間培養後、上清中の MMPs の発現を Gelatin zymography, Western Blotting で確認した。MMP-3 の産生は TNF- α 濃度依存的に増強したが、MMP-2 の発現には影響はなかった。3) TNF- α 刺激による ERK1/2 のリン酸化について Western Blotting で検討した結果、ERK1/2 のリン酸化は濃度依存的・経時的に変化した。4) 次に TNF- α 刺激時の MEK 阻害剤 U0126 の影響について検討した結果、TNF- α 刺激により増強した MMP-3 の産生と ERK1/2 のリン酸化は U0126 により抑制された。

【結論】

ヒト歯髓由来線維芽細胞において、TNF- α 刺激による MMP-3 産生経路には ERK1/2 が関与することが示唆された。

単層培養法と三次元培養法における歯髄細胞の象牙芽細胞分化について

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

○山本弥生子, 川島伸之, 須田英明

Odontoblastic differentiation of dental pulp cells under monolayer and three dimensional cultures

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

○YAMAMOTO Mioko, KAWASHIMA Nobuyuki, SUDA Hideaki

【研究目的】

単層培養法では、培養した細胞が二次元的に培養皿底面に付着し、立体構造をとる生体環境とは大きく異なることが知られている。そこで近年、生体により近い環境で培養する方法として、三次元培養法に関する多くの研究がなされている。三次元培養法には、コラーゲンゲルや合成ポリマーなどのスキャフォールドを用いる方法や、細胞が接着しないよう加工された培養皿上で培養することで細胞を凝集させ、多細胞の集合体を形成するスフェロイド法などがある。歯髄細胞をスフェロイド法で培養し、その性質を研究したという報告は少ない。今回、簡便に三次元培養できるスフェロイド法に着目し、ヒト歯髄細胞を用いて、単層培養法と三次元培養法における象牙芽細胞および骨芽細胞マーカーの発現を比較検討した。

【材料および方法】

本研究は東京医科歯科大学倫理審査委員会の許可(第442号)を得て、患者の同意の上で行われた。本学歯学部附属病院口腔外科外来にて抜去されたヒト第三大臼歯より歯髄細胞を採取し、5継代したものを実験に使用した。培養液として α -MEM (10%FBS添加)を用いた。単層培養には96ウェル平底マルチプレート(グライナナー)、三次元培養には96ウェルNanoCulture Plate (SCIVAX)を使用した。播種細胞数は1ウェルあたり 3×10^4 個とし、細胞を播種した翌日を0日目と設定した。実験群は、単層培養群と三次元培養群の2群用意し、3日間培養を行った。なお、単層培養の0日目の細胞を対照群とした。0日目および3日目の時点で、細胞よりRNAを抽出し、cDNAを合成後、象牙芽細胞あるいは骨芽細胞に特異的なプライマー(DSPP、ALP、Col I、OC)を用いてリアルタイムPCRを行った。結果はTukey-Kramer ($p < 0.05$)にて統計学的解析を行った。

【結果および考察】

- DSPP発現：単層培養群と比較して三次元培養群において有意なDSPP発現の亢進を認めた。
- ALP発現：対照群と比較して単層培養群においては、大きな変動を認めなかったが、三次元培養により有意にALP発現が亢進した。
- OC発現：対照群と比較し、単層培養群においてOC発現が亢進していたが、三次元培養ではさらにOC発現が亢進していた。
- Col I 発現：対照群と比較し、単層培養群・三次元培養群ともに統計学的に有意な発現の低下を認めた。単層培養群と三次元培養群の間には有意差を認めなかった。

以上の結果より、歯髄細胞の培養において単層培養で維持した場合、骨芽細胞マーカーのうちOCを除いてほとんどのマーカーが抑制されていた。一方、三次元培養を行った結果、象牙芽細胞および骨芽細胞マーカーの発現が誘導され、より分化が進展している可能性が高いことが推察された。

【結論】

ヒト歯髄細胞を三次元で培養したところ、単層培養と比較して象牙芽細胞・骨芽細胞マーカーであるDSPP、ALP、OCの発現が有意に亢進した。

ブタ乳歯歯根膜から得た上皮細胞を用いた三次元再構成培養組織の 移植後における免疫組織学的観察

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¹

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座²

○山田理絵¹, 新井恭子², 北島佳代子², 松田浩一郎¹, 五十嵐 勝²

Immunohistochemical observations of engrafted three-dimensional culture using epithelial cells and fibroblasts derived from porcine PDL

Advanced Operative Dentistry · Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata,
The Nippon Dental University¹

Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University²

○YAMADA Rie¹, ARAI Kyoko², KITAJIMA Kayoko², MATSUDA Koichiro¹, IGARASHI Masaru²

【諸言】

コラーゲンをを用いた三次元再構成培養法では、一度バラバラに分散された細胞をコラーゲン内に三次元的に播種することにより、新しく立体構造体を再生することができる。三次元培養では、細胞がもつ組織形成能を顕在化することができるとともに、より生体に近い単純化された組織として多様な実験を行うことが可能である。生体において一度組織が失われると周囲組織から細胞が分化し組織を再生するが、欠損の大きさにより治癒の経過は異なる。そこで *in vitro* で再生した組織が生体に生着するか否かの確認と、その後の組織変化の過程を知ることは重要なこととなる。

本研究では、抜去歯根面に付着している歯根膜から上皮細胞を分離培養し、線維芽細胞を用いて三次元構成組織を作り、ヌードマウス皮下組織に移植し、その後の組織変化を観察したので報告する。

【材料および方法】

生後6カ月のブタ下顎骨を入手し、下顎第二乳臼歯を分割抜去後、Penicillin, Streptomycin, Amphotericin B を通常の2倍含むPBSで洗浄し、実体顕微鏡下で歯根の中央部歯根膜組織を採取した。DMEMとHam's F12 (Sigma) を3:1で混合し、Penicillin/Streptomycin (Pen/Strep, Gibco) 100 units/ml, hydrocortisone (Sigma) 400ng/ml, epidermal growth factor 10ng/ml, cholera toxin (Sigma) 8.4ng/ml, bovine insulin (Intergen) 5ng/ml, adenine (Sigma) 18.2ng/ml, および10% (v/v) FBS を添加した上皮細胞培養液FADを使用し、feeder layerとしてMitomycin処理した3T3 (ATCC, #CCL92) を加えて共培養を行った。コラーゲン内培養には2~3継代の線維芽細胞を用い、コラーゲン液にDMEMを添加後1N-NaOHで中和し、10% (v/v) FBSと線維芽細胞 1.0×10^5 /wellを加えた。37°C CO₂下で20分間インキュベートし、2~3継代した上皮細胞を 8×10^5 /wellゲル表面に播種し、24時間後にナイロンシート上に移し気相培養を行った。

次に、5週齢のヌードマウス (n=20) (日本SLC) にエーテルにて全身麻酔を施し、背部にφ1cmの開窓を作製した。その後に露出した皮下組織に、気相培養1週例の三次元培養組織を移植した。移植片は皮下組織に密着するように置き、その上部にエチレンオキサイドガスにて滅菌を行ったφ14.5mmのポリスチレン製半球型キャップを載せ、周囲を接着剤 (アロンアルファ, 東亜合成) で皮膚に貼り付けた。なお、開窓後キャップのみを応用したものをコントロールとした。移植1, 3, 7, 14日後に移植片と皮下組織を一塊として取り出し、10%中性ホルマリンに浸漬固定した。その後厚さ6μmの連続パラフィン切片を作製し、HE染色および免疫染色を行い顕微鏡にて観察した。

【結果および考察】

ブタ歯根膜の初代培養14日後に線維芽細胞が外生し、30日後に上皮細胞様の敷石状を示す外生細胞がみられた。移植1, 3日後のコントロールでは、HE染色所見で炎症性細胞浸潤がみられなかったが、三次元培養組織を移植した実験群では移植1日後で、移植した三次元培養組織の表層は数層の上皮細胞より成る上皮層がみられ、三次元培養組織に接している皮下組織に炎症性細胞浸潤がみられた。実験群3日後では背部皮下組織と三次元培養組織との境界は不明瞭となり、皮下組織に炎症性細胞浸潤がみられなかったが、三次元培養組織内に著しい炎症性細胞浸潤がみられた。移植7日後のコントロールは1, 3日目と同様に炎症性細胞浸潤はみられなかった。一方、実験群は移植後3日目よりもさらに背部皮下組織と三次元培養組織との境界は不明瞭となった。

【結論】

歯根膜から得られた上皮細胞と線維芽細胞を用いた三次元再構成培養組織は移植後、短期では境界域に炎症反応を示すものの、経時的に消退して生着することが示された。

新しく開発されたバイオガラス配合セメントの特徴

九州歯科大学口腔治療学講座齶蝕歯髄疾患制御学分野¹

医療人間形成学講座総合診療学分野²

○鷲尾絢子¹, 寺下正道², 北村知昭¹

Properties of Newly-Developed Bioglass Cement

Division of Pulp Biology, Operative Dentistry, and Endodontics, Department of Cariology and Periodontology¹, Division of Comprehensive Dentistry, Department of Clinical Communication and Practice², Kyushu Dental College

○WASHIO Ayako¹, TERASHITA Masamichi², KITAMURA Chiaki¹

【目的】 生体組織の適切な創傷治癒・再生誘導を目的とした歯髄保護処置や歯内療法において使用されるセメントは、象牙質・歯髄、あるいは歯根膜・骨組織と直接接触することになる。そのため、良好な封鎖性を獲得するための組織との融合、および生体親和性や硬組織形成誘導能などの所要性質を有することが期待されており、現在までに様々なセメントが開発され臨床応用されている。我々のグループは、組織融合性や生体親和性、硬組織誘導能などを示すセメントを企業とともに共同で研究を行っており、新しくバイオガラス配合セメント（開発コード：NSY-222）を開発した。今回、NSY-222 を用い、セメント硬化体の表面性状、およびセメント周囲の pH に与える影響を検討した。また、実際の生体内への影響を想定して、象牙芽細胞の特徴を有する象牙芽細胞様細胞株（KN-3 細胞）に対する NSY-222 の影響を検討した。

【材料と方法】

<試験片の作成> 新しく開発されたバイオガラス配合セメント NSY-222 は 2 つのペーストを練和することにより作成される。実験に用いた試験片は、2 つのペーストを練和後に定型の鋳型内（内径 6 mm、高さ 12 mm）に埋入し、擬似体液（SBF）内に 4 日間および 7 日間浸漬することで硬化させ精製水で洗浄して作成した。コントロールとしては精製水のみ浸漬したものを使用した。

<試験片の表面性状> 作成した試験片を試料台に固定後、白金蒸着を施し、電界放出型電子顕微鏡（FE-SEM）を用いて表面観察を行った。また、粉末エックス線回折装置を用いて、試験片の表面観察および結晶構造の解析・同定を行った。

<pH の変化> 温度 37°C、相対湿度 100%のチャンバー内に 24 時間静置した試験片、SBF に 4 日間および 7 日間浸漬した試験片をそれぞれ 1 個につき 40 mL の精製水中に静置し、経時的に精製水の pH の変化を測定した。

<細胞への影響> 培養用ディッシュ中央に、SBF に浸漬して作製した試験片を静置後、通法に従って KN-3 細胞を播種し、試験片が浸漬されるまで培養液を追加した。播種後 3 日目に位相差顕微鏡下で細胞の変化を観察した。

【結果】 FE-SEM の解析結果から、SBF に浸漬した NSY-222 試験片の表面には網状の結晶構造が析出しているのが観察された。網状結晶構造は、粉末エックス線回折による解析結果からハイドロキシアパタイト（HAP）と同等のものが同定された。pH について、練和直後のペーストを精製水に浸漬すると pH10.1 と高アルカリ性を示すものの、予め SBF 中に 7 日間浸漬しておいた硬化体については、中性に近い値を示すことが明らかとなった。さらに、KN-3 細胞へのセメントの影響を位相差顕微鏡で観察したところ、セメントに直接接触する位置まで細胞が増殖しているのが観察された。また、セメントの存在しない場合と比較して細胞突起が伸長している細胞も観察された。

【考察】 今回、新しく開発されたセメント NSY-222 の表層に析出した結晶が HAP と同等のものであること、将来的にセメント硬化後の pH が中性域で安定すること、またセメントが細胞に為害性を与えず良好な影響を示すことが明らかとなった。以上の結果は、バイオガラス配合セメント NSY-222 は生体親和性の非常に高いセメントであることを示している。

【結論】 新しく開発されたバイオガラス配合セメントは、覆髄や歯内療法、穿孔部封鎖などに応用されるセメントとして期待される。

フォスフォフォリン-コラーゲン誘導性ラット修復象牙質の微細形態学的研究

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯蝕制御治療学分野
○小池俊之, 半田慶介, 林 敬次郎, Polan Mohammad Ali Akbor, Jia Tang, 斎藤隆史

Micro morphological study of reparative dentin induced by Phosphophoryn-collagen composite in rats
Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
○KOIKE Toshiyuki, HANDA Keisuke, HAYASHI Keijiro, POLAN Mohammad Ali Akbor,
TANG Jia, SAITO Takashi

【目的】

我々は生体親和性を有し積極的に象牙質形成を誘導する歯髄保存療法剤の開発を最終目標としている。これまでに我々は、象牙質に特異的な石灰化誘導性リントランパク質であるフォスフォフォリンと、I型コラーゲンとの複合体がラット直接覆髄実験において高い修復象牙質形成能を有することを示唆してきた。本研究の目的は、フォスフォフォリン-I型コラーゲン複合体と一般的な覆髄剤である水酸化カルシウム製剤によって誘導される修復象牙質の微細構造を観察し、詳細に分析することである。

【方法】

ブタ抜去歯から抽出、精製したフォスフォフォリン (以下 PP)20mg と I 型コラーゲン(新田ゼラチン;以下 COL) 10mg を EDC(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, Dojindo)にて架橋結合させて PP-COL 複合体を作製した。全身麻酔を施した 8 週齢ウィスター系雄性ラットの上顎第一臼歯に人工露髄面を形成し、1) PP-COL 複合体、2) COL、3) 水酸化カルシウム製剤(MultiCal, Pulpdent : 以下 CA)を覆髄材料として直接覆髄を施した。術後 2、4 週で歯を顎骨ごと摘出し、固定後、回転式研磨機(ECOMET 3, Buehler)にて頬側面から切削することで試料を作成した。メチレンブルー染色にて修復象牙質の緻密さを肉眼的に観察した後、走査型電子顕微鏡(SSX-550, 島津製作所)にて修復象牙質の形態学的観察を行い、各々の覆髄材料における修復象牙質の微細構造を比較・検討した。

【結果および考察】

術後 2 週の PP-COL 群では、露髄面を封鎖する緻密な修復象牙質形成が認められ、修復象牙質の歯髄側には細管構造が認められた。一方、CA 群によって誘導された修復象牙質は露髄面を完全に封鎖しておらず、その構造は多孔性であり、メチレンブルー色素の通過が確認された。

術後 4 週の PP-COL 群では、さらに緻密な修復象牙質によって露髄面が完全に封鎖されており、修復象牙質の歯髄側には明瞭な細管構造が認められた。これは、生体親和性に優れるコラーゲンによって覆髄直後から露髄面が保護され、フォスフォフォリンの持つ強力なアパタイト誘導能によって早期に修復象牙質が誘導されたものと考えられる。一方、CA 群においても誘導された修復象牙質によって露髄面がほぼ封鎖されていたが、多くの報告にあるように、その構造は粗糙であり裂隙が多数認められた。水酸化カルシウム製剤による直接覆髄では歯髄に壊死層が形成され、その直下には血餅などの血液凝固物が多く存在するため、それが硬組織形成の阻害因子として作用するためと考えられる。

【まとめ】

フォスフォフォリン-I型コラーゲン複合体によるラット直接覆髄によって誘導された修復象牙質のSEM観察を行った結果、明瞭な細管構造を有する緻密な修復象牙質の誘導を確認した。このことからフォスフォフォリンは強力な修復象牙質再生能を有することが実証された。

高周波・電磁波照射による骨芽細胞の Growth Factor の発現・産生誘導

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 発達予防医歯学部門 健康長寿歯科学講座
歯科保存学分野¹, 医療法人とみなが歯科医院²,
○湯本浩通¹, 富永敏彦^{1,2}, 平尾功治¹, 高橋加奈子¹, 松尾敬志¹

Induction of Expression and Production of Growth factors in Osteoblastic cells by Electro-Magnetic-Wave Irradiation

Department of Conservative Dentistry, Institute of Health BioSciences, The University of Tokushima Graduate School¹, Tominaga Dental Clinic, Matsudo²

○YUMOTO Hiromichi¹, TOMINAGA Toshihiko^{1,2}, HIRAO Kouji¹, TAKAHASHI Kanako¹, MATSUO Takashi¹

【研究目的】

感染根管治療では、根管系の形態が非常に複雑であることから、完全に病原細菌や感染歯質を除去する事は困難であり、通常の治療に反応せずに予後不良の場合には抜歯せざるを得ない場合もある。さらに近年、根管系のみならず根尖孔外の歯根表面に病原細菌が Biofilm を形成し、これが持続的な慢性炎症を惹起し、難治性の炎症性疾患を形成している事が示唆されている。しかしながら、複雑な根管系から病原細菌や感染歯質を除去する方法としては、根管治療器具やレーザー等を改良したという報告をみるのみであり、その除去効果や器具到達領域に限界がある事から改善の余地は大きく残されている。そこで我々は、病原細菌の消毒及び治癒促進に応用されている高周波治療に着目し、第 131 回秋季本学会において高周波・電磁波照射の口腔内細菌に対する殺菌効果について、また第 134 回春季本学会において大きな根尖病変を有する歯の根尖孔外及び根尖部根管内に高周波・電磁波照射を行い、良好な治癒を示した症例について報告した。本研究では、高周波・電磁波照射が歯周組織に及ぼす影響について、骨芽細胞様細胞における遺伝子発現変化と蛋白産生量について検討した。

【材料および方法】

1. 高周波・電磁波照射器と能動電極： 周波数は 500 kHz~1,000 kHz に設定し、通電時間は 1 秒間・5 回に規定し、能動電極は Mani 社製 K-file (K-file #10 号) を使用し、通電による蓄熱現象も検討するため、CUSTUM CT-1300 Type K (CUSTUM Corp.) を用いて培地の温度変化をモニタリングした。
2. 電磁波・高周波照射のマウス骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)の細胞増殖に対する効果の解析： 48-well plate に播種した MC3T3-E1 に、高周波・電磁波を照射し、TetraColor One (生化学工業) を用いて、経日的に細胞増殖に対する効果を解析した。
3. 電磁波・高周波照射による MC3T3-E1 での遺伝子発現変化の解析： 高周波・電磁波(500 kHz)照射 1 日と 3 日後に、MC3T3-E1 から抽出・精製した total RNA を用いて、Microarray (Affimetrix) により遺伝子発現を網羅的に解析した。
4. 電磁波・高周波照射による MC3T3-E1 での遺伝子発現と蛋白産生の定量： Microarray による遺伝子発現解析結果に基づいて、高周波・電磁波(500 kHz)照射後に、MC3T3-E1 から抽出・精製した total RNA と培養上清を用いて、real-time PCR と ELISA により遺伝子発現と蛋白産生の定量解析を行った。

【結果および考察】

1. 高周波・電磁波(500, 750, 1,000 kHz)照射後 3 日目より、未照射群と比較して、MC3T3-E1 細胞に有意な細胞増殖が認められた。
2. Microarray による遺伝子発現解析結果、500 kHz での高周波・電磁波照射 1 日後に、未照射群と比較して、Platelet Derived Growth Factor (PDGF) α 及び β , Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1), basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) や Connective Tissue Growth Factor (CTGF) 等の遺伝子発現が顕著に増強(2.26~4.02 倍)していた。
3. real-time PCR による PDGF や TGF- β 1 の遺伝子発現変化は、Microarray の結果と一致し、それらの培養上清中の蛋白量も ELISA 法にて高周波・電磁波照射 3 日後まで顕著に増加している事が認められた。また、Osteopontin の遺伝子発現と蛋白産生の増強も認められた。

これらの結果より、高周波・電磁波照射は、骨芽細胞様細胞(MC3T3-E1)に対して、細胞増殖能を活性化させ、さらに Growth Factor 等の遺伝子発現を誘導する事が示され、治癒促進に応用されている高周波治療や電磁波照射を非外科的歯内療法に応用できる可能性が示唆された。

異なる MPC ポリマー濃度による MC3T3-E1 の増殖に関する研究

東京歯科大学歯科保存学講座

○副島寛貴, 間 奈津子, 伊藤幸太, 渡邊浩章, 手銭親良, 中川寛一

Research on proliferation of MC3T3-E1 with different density of MPC polymer

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○SOEJIMA Hiroataka, AIDA Natsuko, ITO Kota, WATANABE Hiroaki,

TEZEN Chikara, NAKAGAWA Kan-ichi

[目的]

本研究では、生体親和性ポリマー(MPC ポリマー)のマウス頭蓋冠由来骨芽細胞 (MC3T3-E1) に対する影響を細胞形態ならびに濃度依存性および細胞毒性の観点から比較検討した。

[材料と方法]

細胞には、マウス頭蓋冠由来骨芽細胞 (MC3T3-E1) (RIKEN BioResource Center) を、培養液は α -MEM に L-Ascorbic Acid と β -Glycerophosphate を添加した骨芽細胞分化誘導培地 (OBM) を使用した。被験材の生体親和性ポリマーとして重合度の異なる 2 種類の MPC ポリマー (mf3、cf72) を使用した。

① 実験開始時において細胞と MPC ポリマーを混和した群 (以下 A 群) と細胞を播種 24 時間後、MPC ポリマーを混和した群 (以下 B 群) の 2 群で細胞形態を観察し比較検討した。各群において 6well-dish に mf3 と cf72 の 2 種類の MPC ポリマーを 100 μ l と 1000 μ l に OBM 培地を 3ml 混和した。また細胞は 5×10^5 cell/well で播種した。そして Inverted Microscope System TE300 (Nikon) を使用し、10 倍率にて 7 日目に形態観察を行った。

② 6well-dish にそれぞれ 500 μ l、600 μ l、700 μ l、800 μ l、900 μ l の MPC ポリマー mf3 と cf72 を塗布し細胞毒性を観察した。細胞は 5×10^5 cell/well で播種し、2、3、7 日後に細胞形態を観察し、7 日目の細胞総数と生細胞数を計測した。そして Inverted Microscope System TE300 (Nikon) を使用し、10 倍率にて行った。0.25%トリプシン溶液 (Invitrogen) で細胞剥離後、0.4%トリパンブルー (和光純薬) と細胞浮遊液を 1:1 で混合した。細胞総数と生細胞数の計測は、色素に染色されない細胞を生細胞とし血球計算板を用い算定、比較検討した。

[結果および考察]

① A 群において、100 μ l の mf3、cf72 混和では付着しなかった細胞数は増加したが、細胞の付着は得られることが認められた。しかし、cf72 に比較し mf3 では細胞生着、増殖が低いことが認められた。また、1000 μ l の mf3、cf72 では、ほぼ全ての細胞が生着せず浮遊していることが分かった。B 群において、100 μ l の mf3、cf72 混和では A 群と同様に、cf72 に比較し mf3 で細胞増殖が低いことが観察された。また 1000 μ l の mf3、cf72 では、ほぼ全ての細胞が浮遊し、生着しなかった。しかし、その細胞形態は A 群とは異なり、一度細胞接着が起こった後 dish から剥離された形態であることが観察された。また、mf3、cf72 共に A 群に比べ B 群で細胞増殖、生着が強いことが認められた。

② mf3 では、500 μ l、600 μ l 塗布した場合、細胞総数に比較し生細胞の減少は著しいが、細胞の生着は認められた。しかし、700 μ l 以上の塗布ではほぼ細胞生着は認められなかった。また、cf72 では 700 μ l 塗布以上で細胞総数が減少したが、細胞総数と生細胞の差はあまり認められなかった。

このことから、mf3 に比較し cf72 は、細胞増殖能は減少するが細胞生着能に影響は与えないと考えられた。また、細胞生着と増殖は MPC ポリマーに対して濃度依存性であることが示され、培養方法との関連も示唆された。

歯髄細胞が産生する因子のゲノミクス、プロテオミクス解析

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 顎口腔頸部医科学講座 健康増進歯学分野

○小武家誠司, 鈴木茂樹, 米廣純子, 半井英雄, 藤井紗貴子, 西村英紀

Genomics and proteomics analysis of secreted proteins by pulp cells

Department of Dental Science for Health Promotion Division of Cervico-Gnathostomatology Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences

○KOBUKE Seiji, SUZUKI Shigeki, YONEHIRO Junko, NAKARAI Hideo, FUJII Sakiko, NISHIMURA Fusanori

<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細胞が重要な役割を果たすことが報告されている。すなわち、この時期に適切に炎症を制御することは、歯髄炎が不可逆性に移行することを回避する上で極めて重要と考えられる。

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、細胞非接着型共培養系において、LPS 刺激時の interleukin (IL)-6, IL-8, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, regulated upon activation normal T cell expressed and secreted (RANTES), tumor necrosis factor (TNF)- α などの炎症性サイトカイン産生性が相乗的に亢進することを明らかにしてきた。つまり、マクロファージは歯髄細胞が産生する液性因子を介した相互作用により炎症を惹起すると考えられ、そこにはある種のサイトカインネットワークが存在すると想定される。また、興味深いことに、歯肉線維芽細胞または歯根膜線維芽細胞を用いた同様の共培養系では、歯髄細胞使用時に見られるような相乗的サイトカイン産生性の亢進は見られない。つまり、歯髄細胞から産生される特異的液性因子が存在し、マクロファージの炎症性サイトカイン産生亢進に寄与すると考えられるが、未だその因子の同定には至っていない。そこで本研究ではマクロファージのサイトカイン産生性亢進を誘導する歯髄細胞特異的液性因子の同定を目的として、培養歯髄細胞のゲノミクス解析並びに培養歯髄細胞上清のプロテオミクス解析を行った。

<材料および方法>

本研究では以下の細胞を用いた。歯髄細胞: ヒト歯髄細胞株 (DP-1) ヒテロメレース逆転写酵素 (hTERT) およびヒトパピローマウイルス (HPV) の E6, E7 遺伝子導入により不死化した細胞である。培養歯髄細胞 広島大学病院において、矯正便宜抜歯による抜去歯牙から研究協力者の同意の上で歯髄組織を採取し、培養皿上で outgrowth してきた細胞を歯髄細胞とした。歯肉線維芽細胞: 当院内の協力者から採取した歯肉組織を培養し outgrowth してきた細胞である。歯根膜線維芽細胞: 同様に当院内の協力者から採取した便宜抜歯による抜去歯牙から歯根膜組織を剥離し、培養皿上で outgrowth してきた細胞である。歯髄細胞培養上清の回収: 歯髄細胞特異的液性因子同定のため、DP-1 細胞を 10%血清存在下でサブコンフルエントになるまで培養した。その後、PBS で十分に洗浄後、血清非存在下で 48 時間培養した。培養上清は 24 時間毎に交換・回収した。その後、回収した培養上清をカラムにて濃縮した。歯髄細胞上清の網羅的タンパク質同定: MS/MS によるペプチド質量の測定及びデータベース検索によりタンパク質の同定を行った。更に、同定したタンパク質について、その遺伝子に対する特異的 PCR プライマーを作製した。上記で述べた歯髄細胞、歯肉線維芽細胞、歯根膜細胞から mRNA を抽出し、cDNA を用いて PCR を行い、その遺伝子発現の歯髄細胞における特異性を比較検討した。

<結果>MS/MS 解析により約 1000 種のタンパク質を歯髄細胞培養上清から同定した。その中で、MS/MS 解析の信頼度の高い上位 20 種のタンパク質について、遺伝子発現を比較した結果、複数の遺伝子では、歯髄細胞において歯肉線維芽細胞や歯根膜細胞と比較して高い発現を認めることが明らかとなった。

<考察及び結論>以上の結果から、我々が歯髄細胞培養上清から同定したタンパク質の中で、その遺伝子が歯髄細胞に高く発現するものを認めた。これらタンパク質のサイトカイン産生性への影響は今後の検討課題である。また、我々が当初期待したような、歯髄細胞のみに高発現するような因子の同定には至っていない。現在、さらに同定されたタンパク質の遺伝子発現解析数を増やし、歯髄細胞特異的因子の探索を行っている。

破壊された根尖孔でのセメント質形成に及ぼす Emdogain®gel の効果の解明

福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野

○松本典祥, 水上正彦, 泉 利雄, 松浦洋志, 諸富孝彦, 柴田太郎,
春名千英子, 國本俊雄, 福田泰子, 牛尾悟志, 阿南 壽

The effect of Emdogain®gel on cementogenesis within open root apex
Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College
○MATSUMOTO Noriyoshi, MINAKAMI Masahiko, IZUMI Toshio, MATSUURA Hiroshi,
MOROTOMI Takahiko, EIDA Tarou, HARUNA Chieko, KUNIMOTO Toshio,
FUKUDA Yasuko, USHIO Satoshi, ANAN Hisashi

【目的】

日常の臨床において、根尖孔の破壊された症例の根管治療に苦慮することがよくある。このような際の治療法としては、水酸化カルシウムによるアペキシフィケーションが推奨されているが、更にセメント質をはじめとする根尖部歯周組織の再生を促進させ、破壊された根尖孔やその周囲の組織を再生することができれば、根管治療のあり方に大きく貢献できるものと考えられる。我々は Emdogain®gel (EMD) を根尖部歯周組織に応用することで、硬組織の再生を促進させ生物学的なアペキシフィケーションを促すことができるのではないかと考えた。今回、根尖孔を破壊したラット根尖病変モデルを用いて、EMD の生物学的なアペキシフィケーションを惹起する可能性について検討した。

【材料および方法】

実験には 5 週齢 Wistar 系雄性ラットを用いた。麻酔下にて下顎第一臼歯の髓腔を開拓し、根尖孔を穿通、開放することにより根尖病変の成立を計った。実験 1 では 1 週間後 (急性期) に、実験 2 では 4 週間後 (慢性期) にそれぞれ根管を清掃し、ラットを 2 群に分けた。その後、EMD あるいは EMD の溶解液であるプロピレングリコールアルジネート (PGA) を貼薬し、1、2、4 週目にそれぞれ標本を採取し、試料は固定完了後、28-56 日間脱灰して OCT compound に凍結包埋した。標本は縦断切片 (厚さ 5 μm) 作製後、HE 染色およびトルイジンブルー染色を行い、病理組織学的に鏡検した。また、抗ラット ED1 抗体、抗 TGF-β1 抗体を一次抗体として、シンプルステイン MAX-PO (MULTI) キットあるいはシンプルステイン MAX-PO (G) キットを用いた酵素標識ポリマー法により免疫染色を行い、検討した。

【結果】

実験 1 および実験 2 の EMD 群では根尖部に新生セメント質の添加が認められた。特に 4 週目において、EMD 群では PGA 群と比較して厚い新生セメント質が形成され、根尖直下の歯根膜幅は有意に低い値を示した。また EMD 貼薬後 1 週目において、TGF-β1 陽性細胞が病変中に多数観察された。

【考察】

EMD の硬組織形成能にはアメロゲニンの作用に加えて、多種類のサイトカインが関与することが報告されている。今回、実験 1 および実験 2 ともに EMD 群は PGA 群と比較して厚い新生セメント質が根尖部に形成されていることが観察され、根尖直下の歯根膜幅は有意な減少を示した。これらのことから、EMD は根尖性歯周炎が惹起された根尖部においても新生セメント質の産生を促進させる可能性が推測された。また、その作用は炎症の異なる時期でも認められる可能性が示唆された。

酸化チタン含有試作合成 MTA セメントによる MC3T3-E1 細胞の分化促進作用

奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野¹, 口腔機能分子生物学講座口腔生化学分野²

○今井啓全¹, 前田豊信², 山田真義¹, 木村裕一¹, 齋藤高弘¹, 天野義和¹

Differentiation-promotive action of experimentally synthetic MTA cement containing titanium oxide on MC3T3-E1 cells

Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry¹, Division of Biochemistry, Department of Oral Function and Molecular Biology, Department of Oral Medical Science², Ohu University School of Dentistry

○IMAI Hiroaki¹, MAEDA Toyonobu², YAMADA Masayoshi¹, KIMURA Yuichi¹, SAITO Takahiro¹, AMANO Yoshikazu¹

【目的】

現在, 逆根管充填材として Mineral Trioxide Aggregate (MTA) セメントが主に使用されている。硬化後, MTA セメントは良好な封鎖性があるが, 硬化時間が 2 時間以上もかかることから, 硬化中にセメントから溶出されるさまざまな微量金属元素や炎症による局所的な環境の変化によって MTA セメントが骨芽細胞に対して影響を及ぼす可能性がある。そこで, 今回は, 骨芽細胞に及ぼす影響を調べることを目的として MTA セメントと類似した組成の合成セメントとこれに酸化チタンを加えたセメントを作成し, これらのセメントを使用し骨芽細胞様細胞の MC3T3-E1 細胞を用いて骨形成について比較検討した結果, 興味ある知見を得たので報告する。

【材料および方法】

材料として合成 MTA セメント, 酸化チタン含有合成 MTA セメントを用いた。ポートルランドセメント 75%, 酸化ビスマス 20%, 石膏 5% を配合したセメントを合成し, 1 g あたり滅菌蒸留水 0.35 ml を加えてコントロールの合成 MTA セメントとして使用した。酸化チタン (IV) (アナターゼ型, 粒径 5 μm, 純度 99.9%) (和光製薬) を合成 MTA セメント 1 g あたり 3.3% になるように配合し, 滅菌蒸留水 0.35 ml を加えて酸化チタン含有合成 MTA セメントとして使用した。骨芽細胞様細胞の MC3T3-E1 細胞の ALP, BMP-2, 4, Col-1, osteocalcin, bone sialoprotein の mRNA 量の測定を行った。各種合成 MTA セメントを 1 分間練和し, 直径 10.0 mm (約 0.1g) になるようにディスクを調整し, 14 日間滅菌蒸留水中に保管し完全硬化後に取出し試料として使用した。コントロールとして MC3T3-E1 細胞だけを入れた 6 ウェルのプレートと MTA ディスクと酸化チタン含有 MTA ディスクをそれぞれ MC3T3-E1 細胞と一緒に入れた 6 ウェルのプレートに α -MEM+10%FBS+アスコルビン酸+ β -グリセロリン酸の培地と一緒にコンフルエント後, 14 日間, 37°C, 5.0%CO₂ 存在下でインキュベートした後, total RNA を抽出し RT-qPCR にて解析 (house keeping gene として β -アクチンを使用) し, mRNA 量を測定した。統計処理は多重比較検定の Tukey-Kramer 法を用い危険率 5% で判定した。

【結果および考察】

ALP と BMP-2, 4, osteocalcin および bone sialoprotein は合成 MTA セメント群とコントロール群は有意差がなく, 酸化チタン含有 MTA セメント群だけに有意差が認められた。Col-1 は合成 MTA セメント群はコントロール群より mRNA 量が減少し, 酸化チタン含有 MTA セメント群では mRNA 量の増加が認められた。

以前の我々の報告では Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) 測定の定量分析によると 1 日目の合成 MTA セメント群のカルシウム溶出量は酸化チタン含有 MTA 群より多く溶出していたが, 1 週目以降からは酸化チタン含有 MTA 群の方が多かったが, 2 週目には合成 MTA セメント群, 酸化チタン含有 MTA セメント群ともにチタンの溶出が認められている。この溶出したチタンが本研究の分化促進作用に関与したことが考えられる。

酸化チタンは骨芽細胞様細胞の MC3T3-E1 細胞に対して骨分化に関わる種々の遺伝子発現量を多くすることや, チタンが生体内で酸化膜を形成したあと, 生体内タンパク質が酸化チタンの表面に吸着することも示唆されている。酸化チタンを応用することにより, 酸化チタン含有 MTA セメントは合成 MTA セメントに酸化チタンを加えることにより, チタン酸カルシウム, 酸化チタンビスマス, 酸化チタン鉄, 酸化チタンマグネシウムなどの化合物で存在していると考えられる。酸化チタン含有 MTA の表面に BMP が吸着することが考えられるが, 酸化チタン含有 MTA セメントから溶出されるチタンも BMP の産生を増加させる要因の一つであると考えられる。

以上の結果より, 酸化チタン含有合成 MTA セメントは MC3T3-E1 細胞の骨芽細胞への分化促進作用があると考えられる。しかし, 今後は酸化チタンの含有量と酸化チタンの溶出量および酸化チタン含有 MTA の表面の状態についても検討する必要があると考えられる。

MTA の骨芽細胞分化促進作用は溶出する Ca^{2+} を介する

日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座¹, 日本大学歯学部生化学教室²,
日本大学歯学部衛生学教室³, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門⁴,
日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門⁵

○岩田桜子¹, 林 誠^{1,4}, 武市 収^{1,4}, 清水康平^{1,4}, 鈴木直人^{2,5}, 前野正夫^{3,5}, 小木曾文内^{1,4}

The Ca^{2+} released from MTA promotes osteoblastic differentiation

Departments of Endodontics¹, Biochemistry², Oral Health Sciences³, Nihon University School of Dentistry,
Divisions of Advanced Dental Treatment⁴, Functional Morphology⁵, Dental Research Center, Nihon University
School of Dentistry

○IWATA Sakurako¹, HAYASHI Makoto^{1,4}, TAKEICHI Osamu^{1,4}, SHIMIZU Kohei^{1,4}, SUZUKI Naoto^{2,5},
MAENO Masao^{3,5}, OGISO Bunnai^{1,4}

【研究目的】

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は歯根端切除術における逆根管充填材、穿孔封鎖材および直接覆髄剤など歯内治療用セメントとして広く応用されている。MTA の臨床的有用性を裏付ける多くの研究が行なわれており、特に硬組織形成促進作用が着目されている。実際の生体内では、未分化間葉系細胞が硬組織形成細胞に分化・増殖すると考えられる。これまでに演者らは、MTA が未分化間葉系細胞の骨芽細胞および軟骨細胞への分化を促進することを第133回本学会で報告したが、MTA の未分化間葉系細胞の分化に及ぼす作用については未だ不明な点が多い。そこで今回演者らは、MTA から溶出する Ca^{2+} がヒト歯髄由来細胞の増殖を促進するとして瀧田らの報告(第122回本学会)を受けて、MTA の骨芽細胞分化促進作用にも Ca^{2+} が関与している可能性があると考え、C2C12 細胞の分化に及ぼす Ca^{2+} の影響について検討した。

【材料および方法】

〈被験材料〉

被験材料として MTA (Pro Root, DENTSPLY) を用いた。材料は製造者指示通りに混和後、直径 9.0 mm、厚さ 3.0 mm に調製し、37℃、湿度 100% で 24 時間硬化させ、その後 DMEM 培地中に 3 日間浸漬したものを用いた。

〈細胞培養〉

未分化間葉系細胞のモデル細胞である C2C12 細胞を 10% fetal bovine serum (FBS) を添加した DMEM 培地で 37℃、湿度 100%、0.5% CO_2 存在下で培養した。C2C12 細胞を 6 穴プレートに 2×10^4 /well となるように播種し、2 日間後に FBS 濃度を 5% にし、C2C12 細胞の筋芽細胞への分化を誘導した。被験材料をメンブレンフィルター (Cell culture insert, BD Falcon) を介して静置し、 Ca^{2+} キレート剤であるグリコールエーテルジアミン四酢酸 (EGTA) を非添加および添加して 7 日間培養した。また細胞膜に存在する L 型 Ca^{2+} チャネルブロッカー剤の一つである verapamil (10 μM /well) を非添加および添加して培養した。

〈分化マーカーの遺伝子発現〉

C2C12 細胞の分化の指標となるマーカーの遺伝子の発現を real-time PCR 法で調べた。すなわち、C2C12 細胞を前述の方法で培養し、骨芽細胞分化マーカー (Runx2, Osterix)、軟骨細胞分化マーカー (Sox9)、脂肪細胞分化マーカー (lipoprotein lipase; LPL) および筋芽細胞分化マーカー (MyoD) の mRNA 発現を、培養 1, 3, 5 および 7 日目の細胞を用いて解析した。統計分析は、一元配置分散分析法を用いて、各々有意水準 5% にて統計学的検定を行った。

【成績】

MTA によって増加した Runx2, Osterix および Sox9 発現は、EGTA 添加によって有意に減少した。一方、MTA によって減少した LPL および MyoD 発現は、コントロールレベルまで増加した。また、verapamil は、MTA によって増加した Runx2, Osterix および Sox9 発現を減少させるとともに、減少した LPL および MyoD 発現を増加させた。

【考察】

以上の結果から、MTA の未分化間葉系細胞の骨芽細胞への分化促進作用には、MTA から溶出する Ca^{2+} が深く関与していることが示唆された。

Mineral Trioxide Aggregate の生体内組成変化：ラット皮下移植による検討

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
○吉羽邦彦, 重谷佳見, 山中裕介, 武井絵梨花, 吉羽永子, 興地隆史

Compositional Changes of Mineral Trioxide Aggregate Subcutaneously Implanted in Rats
Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences

○YOSHIBA Kunihiko, SHIGETANI Yoshimi, YAMANAKA Yusuke, TAKEI Erika,
YOSHIBA Nagako, OKIJI Takashi

【研究目的】 Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は逆根管充填, 直接覆髄・断髄, 穿孔封鎖, アペキシフィケーションなど様々な用途に臨床応用されるとともに, 良好な封鎖性, 抗菌性, 生体適合性, 硬組織誘導能を有することが報告されており, 生体機能的材料として注目されている。MTA は水和反応による硬化過程で水酸化カルシウムを生成するとともに, その溶解等によるカルシウムイオンの持続的放出とこれに伴う表層析出物の形成から本材の生物学的作用の一端が説明されている。

本研究では, MTA の生体内での挙動を検索する目的で, 本材をラット皮下組織内に移植し, 組織-MTA 界面部近傍での各種元素の分布状況の変化を観察するとともに, 移植体周囲結合組織を TEM にて微細構造学的に観察した。

【材料および方法】 被験材料として, White ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental) を, また実験動物として生後 4 週齢 Wistar 系雄性ラットを用いた。内径 2mm, 長さ 5mm のテフロンチューブに混和した MTA を填塞し, ラット背部皮下組織内に移植した。1, 2, 4 週後に移植体を周囲結合組織とともに取り出し, カコジル酸緩衝 2.5% グルタルアルデヒドにて 24 時間固定した。移植体表層部の観察には, 5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液にて周囲結合組織を溶解し, 脱水, 樹脂包埋後, 試料を長軸方向に切断し, Ca, P, Si, Al の各元素分布について, 波長分散型エックス線マイクロアナライザー (WDX-EPMA1601, 島津) にて分析を行った。また, 一部の試料は試料表面の微細構造を SEM にて観察した。一方, 移植体周囲結合組織の微細構造学的観察には, 移植体より剥離した結合組織をオスミウム酸にて後固定, 脱水後, エポキシ樹脂に包埋し, 超薄切片作成後, TEM にて観察を行った。

【結果】 移植後 1 週例の切断試料の元素マッピング像では, MTA 表層に幅 60-70 μm 程度のカルシウム溶脱層が観察された。その最表層には比較的 Ca 濃度の高い層が認められ, この層に一致して P の集積像が観察された。一方, Si および Al はカルシウム溶脱層に一致して高濃度を示したが, 最表層では低濃度層が観察された。移植後 2-4 週例では, カルシウム溶脱層の厚みが 150-250 μm 程度に増加して観察されたが, 元素マッピング像では 1 週例と同様の元素分布を示していた。また, 試料表面の SEM 観察の結果, 移植後 1 週例から顆粒状あるいは立方状ないし板状の結晶様構造物が確認され, 2-4 週例ではさらに集積して観察された。

移植後 1 週例の周囲結合組織の TEM 観察では, 球状あるいはコラーゲン細線維に沿った電子密度の高い針状結晶様構造物が集積して観察された。

【考察】 生体内においても *in vitro* と同様, MTA 表層部におけるカルシウム溶脱層の形成と Si および Al の集積が生じるとともに, MTA 表面では結晶様構造物の析出が観察された。MTA を蒸留水に浸漬するとその表面に炭酸カルシウムおよび水酸化カルシウムが, また PBS 中に浸漬すると無定形リン酸カルシウムや炭酸アパタイトが析出することが報告されている。本研究で観察された結晶様構造物の性状は不明であるが, これらが MTA に対する生体組織の反応に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。一方, 周囲結合組織中にも針状結晶様構造物が観察され, コラーゲン性石灰化が惹起されている可能性が示唆された。

【結論】 MTA をラット皮下組織内に移植すると, MTA 表層部におけるカルシウム溶脱層の形成と Si, Al の集積, および MTA 表面における結晶様構造物の沈着が生じた。さらに, MTA 周囲の結合組織中では針状結晶様構造物の形成が確認された。

量子ドットを使ったD-グルコサミンの細胞内移行のナノイメージング解析

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野¹, (株) ケア・フォー バイオ事業部²,
産業技術総合研究所 生産計測技術研究センター³

○川久保 敦¹, 藤原 守¹, 井川一成¹, 謝 明芳², 大庭英樹^{2,3}, 林 善彦¹

Nano-imaging analysis for the intracellular transportation of D-glucosamine using quantum dot

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate school of Biomedical Sciences¹, Biotechnology Division of
Care four Company Ltd.², Measurement Solution Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science
and Technology³

○KAWAKUBO Atsushi¹, FUJIWARA Mamoru¹, IGAWA Kazunari¹, XIE Ming-Fang², OHBA Hideki^{2,3},
HAYASHI Yoshihiko¹

はじめに

D-グルコサミン (MW:約 215) はキチンの完全加水分解物で、変形性関節炎に効果があるとされており、欧米を含め世界的に利用されている。キトサンの中で健康食品として、最も販売量の多いタイプとされている。当教室では、キチン/キトサンに関して 10 年以上にわたり基礎的、臨床的研究をおこなってきた。初期炎症反応が弱く、かつ創傷治癒作用の優れた D-グルコサミンに注目している。

そこで、D-グルコサミンの細胞内への移行および細胞内での動態について興味をもち、検討を行っている。すなわち、細胞内に取り込まれた低分子量の生理活性物質 (今回は D-グルコサミン) の細胞内動態を量子ドットイメージングというナノテクノロジーを応用して解明するものである。

材料と方法

1) D-グルコサミンと量子ドットの結合

0.1g D-グルコサミンを 1mL の PBS に溶解し、4°C で一晩静置する。15nm のカルボキシル化量子ドット (セレン化カドミウム、CdSe 粒子、コロイド法によって作製) 50 μ L を加えて攪拌後、さらに 0.1M EDC (1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩) 溶液 100 μ L を加え静かに混ぜた。

2) 培養細胞の調整

NOS-1 細胞 (株化ヒト骨肉腫由来骨芽細胞) をガラスボトムカルチャーディッシュ (World Precision Instruments, Ltd., FD35-100) に 1.6x10⁵ 個程度となるように播種した (10%FBS 添加 α -MEMを使用)。細胞は、顕微鏡ステージ CO₂ (5%) 培養器 (okalab) 内で通常どおり培養を行った。

3) D-グルコサミン結合量子ドットの取り込み

量子ドットの細胞への取り込みは、D-グルコサミン濃度が 0.1%程度となるよう調整した培地で継代直後から培養した場合と、細胞が培養皿へ付着した 2 日目以降に結合量子ドット含有培地で培養した場合の 2 とおとした。

4) 観察

量子ドットの観察は、細胞播種後 10-12 時間後に共焦点レーザー顕微鏡 (ライカ TCS SL) にて行った。蛍光観察の条件は、励起波長 385nm、最大蛍光波長 525nm とした。

結果

量子ドットは緑色の蛍光 (FITC に近似) として培地に添加 6 時間で細胞内に明瞭に観察された。量子ドットの NOS-1 細胞への取り込みは、継代直後から培地に添加した方が良好であった。同一視野内の細胞で、量子ドットを取り込んでいる細胞と、取り込んでいない細胞の 2 種類が確認できた。また、今回 12 時間後までの観察では、核内への移行、細胞外への排出は観察できなかった。

まとめ

今回、初めて D-グルコサミンの取り込みが、量子ドットを介してイメージングできた。量子ドット単体では細胞への取り込みはないことはすでに確認されている。また、量子ドットとの結合は、カルボキシル基とアミノ基との結合であり細胞内へ入っても解離することはないので、今回の観察は D-グルコサミンの細胞膜内への移行を表していることとなる。

今後は、膜内通過時間、状況ならびに細胞内小器官への分布状況、さらには細胞外への排出状況などを検討する必要がある。さらに、同一視野において量子ドットの入っている細胞と入っていない細胞が見られたこと、また継代直後から添加した方が細胞内への移行が良好な所見も得られたので、細胞膜の状況によって取り込まれ方がこととなると推察されたので、この点も検討していく必要がある。

文献

大庭英樹、謝 明芳：蛍光性量子ドットの合成と生命科学・医療への応用の可能性について。レーザー研究 38(6): 433-439, 2010.

マウス骨芽細胞様細胞における炎症性サイトカイン誘導 ADAM28 は 骨吸収因子 MMP-13 の発現を制御する

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○尾関伸明, 川合里絵, 田中 毅, 折本 愛, 中田和彦, 中村 洋

Inflammatory cytokine induced ADAM28 controls expression of bone-resorbing factor MMP-13 on mouse osteoblast-like cells

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○OZEKI Nobuaki, KAWAI Rie, TANAKA Tsuyoshi, ORIMOTO Ai, NAKATA Kazuhiko, NAKAMURA Hiroshi

【研究目的】

さまざまな細胞外マトリックスを分解するタンパク分解酵素として知られるマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)ファミリーに属する MMP-13 は、骨芽細胞などで発現が認められ、炎症性病変や骨吸収を伴う病変に関与すると報告されている。近年、MMP の近縁遺伝子ファミリーでメタロプロテアーゼと細胞接着因子(インテグリン)の相互作用を有する ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) ファミリーに属する ADAM28 が、メタロプロテアーゼの活性作用により骨破壊に関与することが示唆されているが、そのメカニズムは未だ明らかにされていない。そこで本研究では、炎症性サイトカイン誘導 ADAM28 による MMP-13 の発現制御について検討をおこない、根尖病変における新たな骨吸収のメカニズムを明らかにすることを研究目的とした。

【材料および方法】

理研 BRC より入手したマウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) を通法に従い培養し、3 継代以内の細胞を実験に用いた。炎症性サイトカインとして、Peptrotech 社製の IL-1 β 単独と 1U あたり 1 ng/ml の IL-1 β , TNF- α , IFN- γ からなるサイトカインミクスチャーを添加し、RT-PCR 法により ADAM28 と MMP-13 の遺伝子発現を評価した。サイトカイン刺激による細胞増殖は MTT アッセイの簡便法である WST-1 で評価した。さらに、アポトーシス細胞死の評価は、BrdU 標識 DNA fragment の検出を ELISA 法による定量化でおこなった。Santa cruz 社製の ADAM28 short interfering RNA (siRNA) を用いて、ADAM28 遺伝子のノックダウンをおこない、MMP-13 の発現動態について検討をおこなった。

【結果および考察】

MC3T3-E1 において、IL-1 β (0.25 ng/ml) とサイトカインミクスチャー (1U) 添加群で、ADAM28 と MMP-13 の遺伝子発現が観察された。また、同群で細胞増殖が有意に認められ、アポトーシス細胞死は観察されなかった。さらに、ADAM28 siRNA によるノックダウンにより、MMP-13 の遺伝子発現が有意に抑制され、細胞増殖とアポトーシス細胞死に変化は認められなかった。

【結論】

マウス骨芽細胞様細胞 MC3T3-E1 において、炎症性サイトカインにより誘導された ADAM28 をノックダウンすることにより、MMP-13 の遺伝子発現が有意に抑制されたことから、ADAM28 が MMP-13 の発現を制御していることが示唆された。つまり、根尖病変の成立過程において、炎症性サイトカインの刺激により骨芽細胞が ADAM28 を発現し、MMP-13 の発現を制御することで骨吸収に関与し、根尖病変の拡大に関与している可能性が示唆された。

S-PRG 溶出液が歯周病原性細菌のプロテアーゼ活性および共凝集活性におよぼす影響

福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野

○榎尾陽介, 米田雅裕, 鈴木奈央, 山田和彦, 岩元知之, 藤本暁江, 伊波幸作, 廣藤卓雄

Effect of S-PRG eluate on protease and coaggregation activities of periodontopathogens

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

○MASUO Yosuke, YONEDA Masahiro, SUZUKI Nao, YAMADA Kazuhiko,
IWAMOTO Tomoyuki, FUJIMOTO Akie, IHA Kousaku, HIROFUJI Takao

【緒言】

界面機能性ガラス surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) はデンタルプラークに強い歯科材料として注目されており、これまでに S-PRG 配合レジンの抗プラーク作用や、S-PRG 含有根管充填剤の抗菌作用が報告されている。その有効因子のひとつとして、S-PRG による種々のイオン徐放性が示唆されている。今回は歯周病原性細菌のプロテアーゼ活性 (Bz-Arg-pNA 塩酸塩 (以下 BAPNA) 分解、ゼラチン分解および共凝集活性に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】

S-PRG 溶出液 (Lot. 080217) は、株式会社 松風より提供された (pH7.3)。

1. *P. gingivalis* のプロテアーゼ活性 (BAPNA 分解活性) に対する作用

P. gingivalis ATCC 33277 株の超音波抽出物 (*P. g* SE) を調製し、BAPNA を基質に用いた発色反応を行った。S-PRG を添加した場合としない場合で、5 分ごとに 30 分間、吸光度の変化を調べた。

2. *P. gingivalis* のゼラチン分解活性に対する作用

P. g SE に滅菌蒸留水 (dw) または S-PRG 溶出液を加え段階希釈した。ゼラチンコーティングしたエックス線フィルム (Kodak Ultraspeed) に 20 μ l ずつスポットし、湿度 100% の状態で 37°C、2 時間インキュベートした。フィルムを流水下で水洗後、スポットした表面が剥離した場合をゼラチナーゼ活性ありと判定した。

3. *P. gingivalis* と *F. nucleatum* の共凝集に対する作用

P. gingivalis ATCC 33277 株と *F. nucleatum* ATCC25585 株を液体培養し共凝集バッファーで洗浄した。滅菌蒸留水または S-PRG 溶出液で希釈した共凝集バッファーに懸濁し、両者を混合した。凝集結果の判定は S. A. Kinder らの方法に準じて行った。

【結果】

1. *P. gingivalis* のプロテアーゼ活性 (BAPNA 分解活性) に対する作用

低濃度の *P. g* SE を用いた場合、S-PRG 溶出液は BAPNA 分解活性を抑制する傾向が見られた。

P. gingivalis の 2 つの株 (ATCC33277 株、381 株) について同様の結果が得られた。

2. *P. gingivalis* のゼラチン分解活性に対する作用

反応液に S-PRG 溶出液を 40% 以上加えると、*P. g* SE のゼラチナーゼ活性が抑制された。

3. *P. gingivalis* と *F. nucleatum* の共凝集に対する作用

共凝集バッファー希釈時に滅菌蒸留水を S-PRG 溶出液に替えると *P. gingivalis* と *F. nucleatum* の共凝集が抑制された。

【考察】

S-PRG 溶出液は *P. gingivalis* のプロテアーゼ活性 (BAPNA 分解活性) を抑制した。本抑制効果は二つの菌株について同様であった。そのメカニズムは不明であるが、プロテアーゼと金属イオンの結合を S-PRG 溶出液中の各種イオンが競合阻害している可能性が考えられる。また、S-PRG 溶出液は *P. gingivalis* のゼラチン分解活性も抑制した。ゼラチン分解活性は修復物の脱離に関係すると考えられており、S-PRG 含有材料は修復治療の長期予後を良好にする可能性が期待できる。凝集の抑制についても S-PRG 溶出液中の各種イオンが関与している可能性がある。今後、酵素活性や共凝集の抑制メカニズムを解明する必要がある。

歯肉溝滲出液(GCF)を用いた歯周病罹患部位の診断と治療効果のモニタリングの有用性
-歯周病迅速診断キット開発に向けて- (第三報)

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座¹,

日本歯科大学生命歯学部共同利用研究センター・アイソトープ研究施設²,

岩手医科大学歯学部口腔機能保存学講座歯周病学分野³, 日本大学松戸歯学部歯周治療学講座⁴,
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生体支持組織学系専攻生体硬組織再生学講座歯周病学分野⁵,
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⁶

○伊藤 弘¹, 沼部幸博¹, 関野 愉¹, 村樫悦子¹, 井口一美¹, 戸円智幸², 橋本修一², 佐々木大輔³,
八重柏 隆³, 國松和司³, 高井英樹⁴, 目澤 優⁴, 小方頼昌⁴, 渡邊 久⁵, 萩原さつき⁵, 和泉雄一⁵,
廣島佑香⁶, 木戸淳一⁶, 永田俊彦⁶

Utility of diagnostic methods for periodontal disease and monitoring therapeutic gain using GCF

-Development of kit for rapid diagnosis of periodontitis -part3

Department of Periodontology, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo¹,

Dental Research Institute, Radio Isotope Center, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry Tokyo²,

Department of Conservative Dentistry and Oral Rehabilitation, Division of Periodontology, School of Medicine,

Iwate Medical University³, Departments of Periodontology, School of Dentistry at Matsudo, Nihon University⁴,

Section of Periodontology, Department of Hard Tissue Engineering, Graduate School of Medical and Dental Science,

Tokyo Medical and Dental University⁵, Department of Periodontology and Endodontology,

Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School⁶

○ITO Hiroshi¹, NUMABE Yukihiro¹, SEKINO Satoshi¹, MURAKASHI Etsuko¹, IGUCHI Hitomi¹,

TOEN Tomoyuki², HASHIMOTO Shuichi², SASAKI Daisuke³, YAEGASHI Takashi³, KUNIMATSU Kazushi³,

TAKAI Hideki⁴, MEZAWA Masaru⁴, OGATA Yorimasa⁴, WATANABE Hisashi⁵, HAGIWARA Satsuki⁵,

IZUMI Yuuichi⁵, HIROSHIMA Yuka⁶, KIDO Jun-ichi⁶, NAGATA Toshihiko⁶

【目的】

歯周治療後における歯周組織の維持・安定には、質の高いSPTの継続と医療従事者による病状把握が重要である。GCFにおけるエラスターゼ活性とAST活性は歯肉炎症との相関が報告されており、臨床パラメータとの併用により、精度の高い診断が期待される。しかし、その評価方法はGCF総量もしくは濃度と、統一は図られていない。今回、GCF総量・濃度との酵素活性を統計学的に比較し、歯周病診断ツールとしての評価方法に対する有用性の検討を行った。

【材料と方法】

被験者は非喫煙者のSPT期患者184名とし、歯冠修復物のない上下顎前歯部401部位からGCFを採取した。検索項目は、臨床パラメータとして、PII, GI, CAL, PPD, BOP, GCF量を行い、同部位におけるGCFの生化学的検索項目としてエラスターゼ活性, AST活性, そして蛋白質量とした。GCF量は、ペリオトロン8000を用いて採取・定量した。統計学的検索は、Mann-Whitney U検定, Kruskal Wallis 検定, そしてROC曲線とYouden indexからカットオフ値の作成を行った。なお、本研究は倫理委員会の承認(承認番号2111)のもと遂行された。

【結果】

BOPの有無とPPD4mm以下と5mm以上を基準とした各臨床的カテゴリーでの比較は、Mann-Whitney U検定, Kruskal Wallis 検定を用いた解析では、蛋白質濃度のみが、すべての各臨床的カテゴリーにおいて統計学的有意差を認めなかった。カットオフ値を用いた検討では、濃度測定と比較して総量測定では、AUC(area under the curve)と正診率がエラスターゼ活性, AST活性, そして蛋白質量共に高かった。

【考察】

酵素および細胞を含む蛋白質およびペプチドの濃度である蛋白質は、各臨床的カテゴリーにおいて有意差が認められないことから、GCF中では一定の蛋白質濃度が維持されていることが示された。また、AUCと正診率から臨床的評価との整合性はGCF総量での評価が有効であると示され、GCF総量による評価の妥当性が示された。

本研究は、文部省科学研究費助成金：基盤研究C, 課題番号：20592437, 日本歯科医師会・新医療機器・医療技術産業ビジョンプロジェクトの助成を受けて行われた。

歯肉溝滲出液中のバイオマーカーと歯周炎罹患部位の関連

新潟大学大学院医歯学総合研究科 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野
○島田靖子, 杉田典子, 吉江弘正

Association between biomarkers in the gingival crevicular fluid and periodontitis
Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○SHIMADA Yasuko, SUGITA Noriko, YOSHIE Hiromasa

【研究目的】歯肉溝滲出液 (GCF) 中のバイオマーカーの定量は歯周炎が有する部位特異性を解析する上において最も有用な手段の一つであるが、採取できうる検体量が非常に少量であるため同一部位における多項目の解析は困難であった。一方、近年開発されたマルチプレックスサスペンションアレイシステム法は細胞の表面の特定抗原タンパク質を、蛍光でラベル化されたビーズを用いた特殊なフロー法による蛍光検出システムにより自動的に検出する方法で、微量のサンプルから同時に多項目のタンパク質を定量することを可能にした。本研究においては同一部位における GCF 中の 40 項目のバイオマーカーをマルチプレックスサスペンションアレイシステム法を用いて測定し、この測定方法が GCF に応用可能かを評価すること、ならびに歯周炎の臨床パラメーターと比較することを目的とした。

【方法】新潟大学医歯学総合病院 歯周病診療室において歯周病安定期治療 (SPT) 中の慢性歯周炎患者 11 名を対象とした。それぞれの被験者より健康部位 (Pd \leq 3mm) 1 部位、歯周炎罹患部位 (Pd \geq 5mm) 2 部位の計 3 部位より GCF を、また歯周炎罹患部位より縁下プラークを採取した。GCF 中の 40 項目のバイオマーカーはマルチプレックスサスペンションアレイシステム法を用いて測定し、また歯周炎罹患部位の *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) はリアルタイム PCR 法にて測定した (いずれも外部委託)。健康部位と歯周炎罹患部位、歯周炎罹患部位における *P. gingivalis* の陽性部位と陰性部位のそれぞれの群間比較は Mann-Whitney test を用いて解析した。なお本研究は新潟大学歯学部倫理委員会の承認を得ている。

【結果】本研究の測定系においては 40 測定項目のうち、27 項目がマルチプレックスサスペンションアレイシステム法にて測定可能であり、また 6 項目は高濃度、7 項目は低濃度のため一部もしくは全て測定不可能であった。測定可能であった 27 項目について健康部位と歯周炎罹患部位を比較したところ、17 項目のバイオマーカーは統計学的有意に歯周炎罹患部位で高いことが認められた (MMP-1, MMP-3, PAI-1, IL-1 β , IL-8, IL-21, MCP-1, MCP-3, RANTES, IP-10, ICAM-1, VCAM-1, sE-selectin, PlGF-1, VEGF-A, Trail, CRP)。また歯周炎罹患部位のうち *P. gingivalis* の陽性部位と陰性部位を比較したところ、IL-1 β ($p = 0.018$) と IP-10 ($p = 0.03$) に統計学的有意差を認めた。

【考察および結論】マルチプレックスサスペンションアレイシステム法により 40 項目中 27 項目 (67.5%) の GCF 中のバイオマーカーの測定が可能であり、6 項目についても希釈により可能であることから、本測定方法が GCF にも応用可能であることが明らかとなった。また SPT 中も残存する歯周ポケットに *P. gingivalis* が存在すると、代表的な炎症性サイトカインである IL-1 β ならびに IP-10 (Interferon inducible protein-10; インターフェロン誘導性タンパク質-10) の GCF レベルが上昇することが認められた。今後はサンプル数を増やした経時変化についても検討することにより、将来的には歯周炎局所の現時点での炎症状態ならびに予知性を反映するバイオマーカーの設定への応用を検討している。

本研究において IL-1 β ならびに IP-10 は歯周ポケットの進行度、*P. gingivalis* の存在を反映するバイオマーカーとして有用である可能性が示唆された。

歯周病原性細菌 *P. g* 感染が血球新生に及ぼす影響

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学講座)
○前田憲一郎, 久保田実木子, 大原廣之, 伊山舜吉, 沢田啓吾, 竹立匡秀,
山下元三, 北垣次郎太, 市川朋生, 北村正博, 村上伸也

Effects of *Porphyromonas gingivalis* infection on hematopoiesis

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○MAEDA Kenichiro, KUBOTA Mikiko, OOHARA Hiroyuki, IYAMA Mitsuyoshi, SAWADA Keigo,
TAKEDACHI Masahide, YAMASHITA Motozo, KITAGAKI Jirouta, ICHIKAWA Tomoo,
KITAMURA Masahiro, MURAKAMI Shinya

[研究目的]

歯周病の病巣に由来する宿主の炎症関連因子や歯周病原性細菌およびその菌体成分が、血流を介して組織・全身の臓器に運ばれることで、種々の全身疾患のリスク因子になっている可能性が示唆されている。一方、免疫を司るリンパ球やマクロファージ等の血球系細胞は骨髄内に存在する造血幹細胞に由来し、その分化や増殖が厳密に制御されることにより、全身の免疫恒常状態が保たれている。そして興味深いことに、その制御機構は白血病や急性炎症のみならず慢性炎症により影響を受けることが近年報告されている。しかしながら現在にいたるまで歯周病が骨髄内の造血幹細胞への増殖や分化に及ぼす影響については検討されていない。そこで本研究では歯周病モデルマウスにおける骨髄中の血液細胞を解析し、歯周病罹患が骨髄内での血球分化に対する影響を解析した。

[材料と方法]

1. 歯周病モデルマウスの作成

歯周病モデルマウスの作成はBakerらの方法(Baker et al. *Infect Immun.* 2000) に準じて行った。感染開始13日前から10日間 Sulfamethoxazole 0.8mg と Trimethoprim 0.16mg を投与し、感染3日前から抗生剤を休止した。その後歯周病原性細菌である *Porphyromonas gingivalis* W83 菌株 (*P.g*) をメチルセルロースにマウス1匹あたり 1×10^9 CFU となるように溶解した菌液を3日に1回投与し、計10回感染を行った。非感染群はメチルセルロースのみを投与した。マウスは8週令のC57BL/6を使用した。

2. 歯周病罹患マウスの骨髄中の血球解析

10回の*P.g*感染後、感染および非感染群のマウスの大腿骨と脛骨を採取し、骨髄内を洗浄して内部の細胞を回収した。回収した細胞数を確認後リンパ球であるB細胞のマーカー CD19 とミエロイド系細胞のマーカーである Mac-1 (CD11b) を用いて解析した。さらにプリミティブな分化ステージでの変化を観察するために骨髄内の血液幹細胞および前駆細胞である Hematopoietic Stem Cell (HSC), Multi Potent Progenitor (MPP), Common Lymphoid Progenitor (CLP), Common Myeloid Progenitor (CMP) の分布割合および細胞数の計測を行い、感染と非感染群のマウスと間にて比較した。これらの前駆細胞は成熟した血球細胞のマーカー(NK1.1, CD3, CD8, CD19, B220, Mac-1, Gr1, TER-119)がネガティブであり (Lineage negative cells)、それらを c-kit, Sca-1, IL-7 receptor (IL-7R), Flt3 のマーカーを用いて同定を行った。Lineage negative cells のうち、HSC は c-kit^{hi}, Sca-1^{hi}, Flt3⁻, MPP は c-kit^{hi}, Sca-1^{hi}, Flt3⁺, IL-7R⁻ CLP は c-kit^{lo}, Flt3⁺, IL-7R⁺, CMP は c-kit^{hi}, Sca-1⁻にて同定し、これらの表現型解析はフローサイトメーターを使用した。

[結果および考察]

歯周病原性細菌 *P.g* 感染群において骨髄中の血球数の減少が見られ、さらに骨髄内でのリンパ球への血球分化の減少が認められた。またこの抑制はよりプリミティブな血球の前駆細胞においても確認され、*P.g* の感染が骨髄中の血球分化に影響を及ぼすことが示唆された。

唾液検査と自覚症状の質問紙調査を組み合わせた歯周病スクリーニング法の検討

(公財)ライオン歯科衛生研究所¹, 愛知学院大学歯学部保存修復学講座²,
愛知学院大学歯学部口腔衛生学講座³

○森田十誉子¹, 山崎洋治¹, 湯之上志保¹, 石井孝典¹, 富士谷盛興², 千田 彰², 中垣晴男³

A Study on the screening method of periodontal disease that combined saliva test and self-reported items of subjective symptom

The LION Foundation for Dental Health¹, Department of Operative Dentistry², Department of Preventive Dentistry and Dental Public Health³, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○MORITA Toyoko¹, YAMAZAKI Yoji¹, YUNOUE Shiho¹, ISHII Takanori¹, FUJITANI Morioki², SENDA Akira², NAKAGAKI Haruo³

【研究目的】

集団健診における歯周病のスクリーニングには、通常、C P I が用いられているが、検査に時間を要し、受診者の負担も大きいことから、歯周病の簡易な検査法が求められている。演者らは、唾液を用いて歯周病を簡易に判定できる検査法を検討しており、ヘモグロビン、白血球が歯周病と関連していることから、唾液中からこれらを検出することでその判定が出来るものと考えた。しかし、喫煙習慣があると歯周病が進行していても唾液中の炎症成分が低値になることが報告されており(木林ら, 2008)、唾液検査だけでは歯周病罹患を見逃す可能性がある。一方、進行した歯周病のスクリーニングには自覚症状から成る質問紙調査が有効であることが報告されている(小山ら, 2008)。そこで、唾液検査と自覚症状から成る質問紙調査との組み合わせによる歯周病スクリーニング法を検討した。

【対象および方法】

対象は、某事業所の歯科健診を受診した成人のうち、本試験への参加に同意が得られた477名(平均年齢36.7歳、男性367名、女性110名)とした。唾液検査指標の評価に用いた試料は、3mlの蒸留水を口にふくみ、10秒間軽く洗口した後の吐出液とした。唾液検査指標はヘモグロビン、蛋白質、白血球および濁度とした。ヘモグロビン、蛋白質および白血球は、検査紙(アークレイ社製)を用いて反射率により測定した。濁度は660nmの吸光度により求めた。質問紙調査項目としては、自覚症状(歯茎から血がでることがある、歯茎が赤っぽい、食べ物がはさまりやすい、口の中が乾く感じがする、ぐらぐらする歯がある、固いものが噛みにくいなど12項目)および喫煙習慣、年齢とした。歯周病の診査はC P I測定により行い、歯周ポケット有りと無しに分類した。各唾液検査指標については、t検定により歯周ポケット有無との関連性を検討し、さらに、ROC曲線から感度、特異度を算出して検出感度の高い唾液検査指標を選択した。自覚症状の項目についてはカイ二乗検定により、歯周ポケット有無と関連がある項目を選択した。さらに、唾液検査と質問紙調査を組み合わせたときの感度、特異度を算出することにより、最適組み合わせを検討した。解析ソフトはJMPを用い、有意水準は5%とした。本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認(承認番号197)を受け遂行された。

【結果】

1. 唾液検査指標ではヘモグロビン、蛋白質、白血球、濁度のいずれにも歯周ポケット有無と有意な関連性が認められ、ヘモグロビンが最も高い検出感度を示した。2. 自覚症状では、「歯茎から血が出ることがある」、「歯茎が赤っぽい」、「食べ物がはさまりやすい」、「ぐらぐらする歯がある」、「固いものが噛みにくい」の5項目に歯周ポケット有無との有意な関連性が認められ、5項目を組み合わせることにより高い検出感度が認められた。さらに、喫煙習慣、年代を加えることにより検出感度は高まった。3. 唾液検査と質問紙調査の組み合わせでは、ヘモグロビンが陽性または、自覚症状5項目、喫煙習慣、年代のうち4項目以上該当の場合に陽性と区分した時に最も高い検出感度を示した。

【考察】

歯周病のスクリーニング法として、唾液検査と自覚症状項目を組み合わせることにより高い検出感度が得られた。自覚症状の中で、血がでることがある、ぐらぐらする歯がある、噛みにくい、という質問項目は、歯周病と関連することが報告されている(Genco, 2007, Dietrich, 2007)。唾液検査のみでは、喫煙などの影響により歯周病に罹患していても陰性になることがあるが、自覚症状と組み合わせることにより、歯周病の検出感度が高まったと考えられる。

【結論】

唾液検査と自覚症状の質問紙調査との組み合わせは、産業歯科活動の現場で活用できる簡易な歯周病のスクリーニング法として有用であることが示唆された。

会員外共同研究者：細久保和美、武儀山みさき

東京歯科大学水道橋病院総合歯科における歯周外科手術の概要

東京歯科大学口腔健康臨床科学講座¹, 歯周病学講座²

○早川裕記¹, 井田 篤¹, 大田 恵¹, 古澤成博¹, 槇石武美¹, 齋藤 淳²

Surgical periodontal therapy at General Dentistry, Tokyo Dental College Suidobashi Hospital:
A statistical profile in 2010

Department of Clinical Oral Health Science¹, Department of Periodontology², Tokyo Dental College
OHAYAKAWA Hiroki¹, IDA Atsushi¹, OTA Kei¹, FURUSAWA Masahiro¹,
MAKIISHI Takemi¹, SAITO Atsushi²

【研究目的】

歯周外科治療は、主に歯周基本治療では十分な改善が得られなかった症例、解剖学的な形態異常や審美障害が認められる症例に行われる。実施においては適切な診断のもと、症例や適応症を選択することが求められる。今回、我々は所属診療科における歯周外科治療の現状を把握することを目的とし、実施状況について検討した。

【材料および方法】

東京歯科大学水道橋病院総合歯科において、2010年4月から2011年3月までの期間に行われた歯周外科治療を対象に調査を行った。調査は、1. 症例基本情報 2. 歯周外科の種類 3. 手術部位 4. 初診時および基本治療後の歯周パラメーターの項目を含む記録用紙を使用し、歯周外科治療を行う毎に術者が記載し、自己申告する方法で行った。データは単純集計を行い、同一患者に複数回手術を行った場合、別症例として集計した。

【結果】

合計69名の患者(男性28名, 女性41名)に対し歯周外科治療が行われ、症例総数は112であった。手術時の患者年齢は、平均51.4歳(男性50.8歳, 女性52.4歳)であった。すべて全身状態は良好であったが、基礎疾患として高血圧、糖尿病、甲状腺疾患を有する者が含まれていた。喫煙者は、男性5名, 女性2名であり、全体の10.1%であった。手術は合計17名(臨床経験2年~23年)の術者により行われた。主な手術部位の初診時のプロービングデプス(PD)(最深部)は平均7.3mmであり、歯周基本治療後は平均6.6mmであった。初診時にプロービング時の出血(BOP)が認められた部位は平均83%であったが、歯周基本治療後には43%であった。口腔清掃状態は、初診時において平均PCR46%であったが、基本治療後は31%であった。手術部位(歯)の動揺度は平均0.6であり、37%は根分岐部病変を伴っていた。手術の内訳は、フラップ手術79例, 歯周組織再生療法27例, 歯周形成外科6例であった。歯周組織再生療法としては、エナメルマトリックスメドセラピー(EMD)または骨移植が選択されていた。手術対象部位は上下顎臼歯部が全体の80%で、下顎前歯部は最も少なく9%だった。

【考察】

歯周外科治療は、上下顎臼歯部に多く行われており、これらの部位は解剖学的に複雑で、前歯と比較して基本治療後に歯周ポケットが残存しやすいことが再確認された。3mm以上の歯周ポケットへのSRPは、歯石が残存する可能性が報告されている。深い歯周ポケットに対し歯周外科を行う必要性があり、臼歯部への適応が大部分を占めた。また、歯周基本治療によって炎症は軽減したが、口腔清掃状態への対応には改善の必要性が示された。今後、再評価の結果も含めて検討を行う予定である。

Er: YAG レーザーによる SRP 治癒効果および菌血症予防効果の検討

新潟大学大学院 医歯学総合研究科 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野¹
新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部²

○小松康高¹, 両角俊哉¹, 小林哲夫², 阿部大輔¹, 岡田 萌¹, 奥田一博¹, 中曾根直弘¹,
吉江弘正¹

Effects of Er: YAG laser on prevention of bacteremia caused by scaling and root planning
Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹
General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital²
○KOMATSU Yasutaka¹, MOROZUMI Toshiya¹, KOBAYASHI Tetsuo², ABE Daisuke¹, OKADA Moe¹,
OKUDA Kazuhiro¹, NAKASONE Naohiro¹, YOSHIE Hiromasa¹

【目的】

歯周基本治療の scaling root planning (SRP)においては、出血の際に細菌が血液中に混入することで頻繁に一過性の菌血症が生じる。一方、このことが感染性心内膜炎リスク患者などに対して重篤な影響を及ぼすことがある。本研究は、Er: YAG レーザーと従来の手用スケーラーによる臨床治癒効果および菌血症の発生頻度を比較検討することを目的とした。

【材料および方法】

対象は新潟大学医歯学総合病院歯周病診療室を受診し、インフォームドコンセントの得られた以下基準を満たす全顎的に中等度～重度慢性歯周炎患者 20 名 (レーザー群: 10 名、ハンド群: 10 名) とした。

- ① 残存歯数 18 本以上、1/4 口腔に pd=5mm 以上の歯が 3 本以上あること。
- ② プラークコントロールが確立されており、縁上スケーリングまで終了していること。
- ③ 全身疾患、妊娠がないこと。
- ④ 3 ヶ月以内に歯周治療の既往がなく、抗菌薬を内服していないこと。

ベースライン時に歯周ポケット内細菌検査(*Streptococcus*, *P.intermedia*, *P.gingivalis*, *T.forsythensis*, *T.denticola*, *F.nucleatum*)、臨床パラメーター (残存歯数、PPD、CAL、%BOP、PCR) 評価と採血を行った。各群とも局所浸潤麻酔下にて、レーザー群は Er: YAG レーザー (Erwin AdvEr[®], モリタ社, パネル設定=100mJ, 10pps)、ハンド群は手用スケーラー (Gracey curette, original standard, Hu-Friedy) 各々単独にて SRP を行った。また、SRP 開始 6 分後に採血し、菌血症発生頻度について調べた。1 ヶ月後、再び歯周ポケット内細菌検査および臨床パラメーター再評価を行なった。P<0.05 を有意水準とした。

【結果】

臨床パラメーターは両群とも、術前に比較し術後で有意に改善が見られたが、ハンド群で%BOP のみ有意差が認められなかった。ポケット内細菌検査では、レーザー群では総菌数と *F.nucleatum* 以外の全ての細菌で減少傾向を示し、また *P.intermedia* の有意な減少が認められた (P=0.02)。一方、ハンド群では *P.gingivalis* のみで減少傾向が認められ、その他で有意差は認められなかった。培養検査の結果、菌血症の発生頻度はハンド群: 80%(8/10 人)、レーザー群: 0% (0/10 人) であった。主な検出細菌は α -streptococcus, *Fusobacterium* などであった。

【考察】

Er: YAG レーザーによる SRP の臨床効果については、日本歯周病学会ポジションペーパーにも記載されており、比較的コンセンサスが得られている。一方、本研究においてレーザー群で一過性の菌血症の発症が抑制されたが、①歯周ポケット底での組織損傷の抑制 ②レーザーによる歯肉縁下細菌に対する殺菌効果が考えられる。すなわち、Er: YAG レーザーでの SRP はチップ先端がポケット底上皮に触れず、また熱エネルギーによる殺菌効果が期待できたことによると思われる。

【結論】

以上より、Er: YAG レーザーによる SRP は従来の手用スケーラーによる方法と比較し、同等の臨床的効果が期待でき、菌血症予防に有効なことが示唆された。

グレイースケーラーによるヒト象牙質の搔爬試験 (切れ刃のすくい角と表面粗さの関係)

東京都市大学大学院工学研究科 機械工学専攻¹
 東北大学大学院歯学研究科 口腔生物学講座歯内歯周治療分野²
 ○石澤知寛¹, 佐藤秀明¹, 石幡浩志², 島内英俊²

Scratch test of Human Dentin by Gracey Curette
 (Relationship between Rake Angle of Cutting Edge and Surface Roughness)

Graduate School of Engineering, Tokyo City University¹, Division of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry²
 ○ISHIZAWA Tomohiro¹, SATO Hideaki¹, ISHIHATA Hiroshi², SHIMAUCHI Hidetoshi²

[緒言]

歯周治療には、炎症の消退および組織再生のため、歯周組織との付着を喪失した歯根面の清掃および平滑化が必須である。多くの研究者が、鋼製スケーラーによるスケーリングについて報告しているが、スケーラーが手指による把持のため、切れ刃に作用する荷重や、切れ刃のすくい角を一定に保てなかった。本研究においては、グレイースケーラーを保持し、固定するジグを製作した。搔爬における、垂直荷重およびすくい角を一定にし、搔爬条件を規格化し、ヒト象牙質表面を搔爬するシミュレーションを実施した。これより、グレイースケーラーの切れ刃のすくい角が、搔爬面性状に及ぼす影響について検討した。

[方法]

搔爬を実施する象牙質試験片として、ヒト抜去歯を歯軸に沿って切断、ヒト象牙質の平滑面を製作し、この平滑面を用いた。次に、この面をGC 砥粒の耐水研磨紙の#600 および#1200を用いて研磨し、初期粗さを $Ra \approx 0.25\mu\text{m}$ 以下にした。この試験片に対し搔爬試験を行う際、切れ刃のすくい角 α (図1)を一定に保持するジグを製作した。このジグには、搔爬中に刃部に加わる垂直荷重によるたわみによって、すくい角 α が変化することを防止するための支柱を付加し剛性を高めた。搔爬には、特型平面摩耗試験機(東洋精機製作所社製)を用いた。グレイースケーラーは#G7(YDM 社製)を用いた。搔爬試験の際に、スケーラーに、一定の垂直荷重 F を加えた。 F は、 $F=2.0\sim 4.9\text{N}$ 、搔爬回数 N は、 $N=5\sim 20$ 回、搔爬距離 L は $L=3\text{mm}$ 、すくい角 α は $\alpha=6^\circ\sim 14^\circ$ 、平均搔爬速度 V を $V=6\text{mm/s}$ とした。試験は各条件にて10回ずつ行った。搔爬面の表面粗さは、触針式表面粗さ計(ミツトコ社製 サーフテスト SJ-400)にて算術平均粗さ Ra 、最大高さ Rz を計測した。また、搔爬面性状は、デジタルマイクロSCOPE(キーエンス社製 VH-5000)により観察した。本研究においては、搔爬痕最大深さ Δh は、 Rz の値を用いた。

[結果と考察]

デジタルマイクロSCOPEにより、グレイースケーラーの搔爬面は掬い取られたような面が観察された。これはグレイースケーラーは、切れ刃が直線ではなく、わずかに円弧を描いているため、その形状が転写されたと考えられる。また、図2の結果より、 Ra および Δh は、すくい角 α の増加に伴い、減少していく傾向がある。これより、切れ刃のすくい角によって、切削量および表面粗さの調整が可能になるものと思われる。

[結論]

これまでのスケーリングの研究においては、手指による把持で実験が行われてきたため、実験結果に対する定量評価が困難であったが、本研究においては専用ジグと搔爬試験器を用いたことで、スケーリング実験の再現性を確保し、実験結果の定量評価を行うことができた。本研究の結果を用いれば、最適な根面滑沢を得るための、トレーニングに応用できると考えられる。

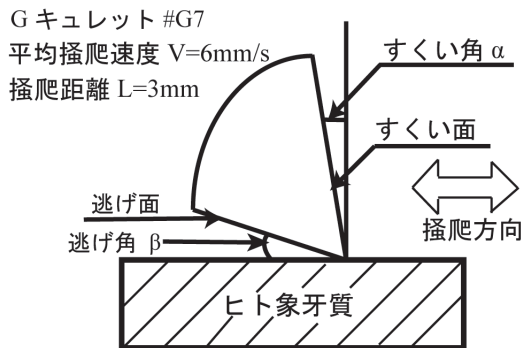


図1 グレイースケーラーおよび試験片

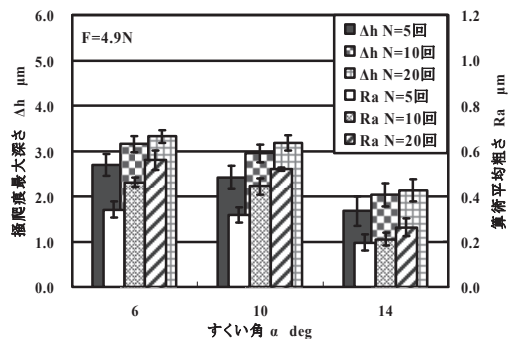


図2 すくい角 α と Ra , Δh の関係

歯肉に炭素ローラーが与える影響

京都府立医科大学大学院医学研究科 歯科口腔科学¹, 京都府立医科大学大学院医学研究科 免疫学²
宇治徳洲会病院歯科口腔外科³, 国保京丹波町和知歯科診療所⁴

○本城賢一^{1,2}, 山本俊郎¹, 山本健太^{1,2}, 市岡宏顕^{1,2}, 西垣 勝¹,
中村 亨^{1,3}, 坂下敦宏^{1,4}, 喜多正和², 金村成智¹

Effect of carbon roller for human gums

Department of Dental Medicine¹, Department of Immunology², Kyoto Prefectural University of Medicine
Graduate School of Medical Science, Department of Oral Surgery and Dentistry, Uji Tokusyukai
Hospital³,

Kokuho Kyotambacho Wachi Dentistry Medical Office⁴

○HONJO Kenichi^{1,2}, YAMAMOTO Toshiro¹, YAMAMOTO Kenta^{1,2}, ICHIOKA Hiroaki^{1,2}, NISHIGAKI Masaru¹,
NAKAMURA Toru^{1,3}, SAKASHITA Nobuhiro^{1,4}, KITA Masakazu², KANAMURA Narisato¹

【研究目的】

歯周病の予防には、歯周病原因子の影響を直接受ける歯肉を健康な状態に維持することが重要であり、歯肉へのマッサージ効果に関する報告が散見される。また等方性超高密度炭は遠赤外線放射効率がが高く、近年、様々な医療機器への応用が期待されているが、これまでに歯肉に対する影響を検討した報告はみられない。そこで今回我々は、ヒト正常歯肉線維芽細胞株である Gin-1 に対する等方性超高密度炭で作製された炭素ローラーの効果について検討を行った。

【材料および方法】

Gin-1 を 24 穴プレートに 2×10^4 cells/dish 播種し、37°C、5% CO₂ 条件下で 10% FBS/DMEM にて培養。コンフルエントに達した後、炭素ローラーに温熱 (37°C、42°C) ならびに振動機能を備えたマッサージローラー (GUM-ROLLER、大木工藝、滋賀) を用い、炭素ローラー単独 (3 分) 群、炭素ローラー単独 (5 分) 群、炭素ローラー+温熱 (37°C) (3 分) 群、炭素ローラー+温熱 (37°C) (5 分) 群、炭素ローラー+温熱 (42°C) (3 分) 群、炭素ローラー+温熱 (42°C) (5 分) 群、炭素ローラー+振動 (3 分) 群、炭素ローラー+振動 (5 分) 群、炭素ローラー+温熱 (37°C)+振動 (3 分) 群、炭素ローラー+温熱 (37°C)+振動 (5 分) 群、炭素ローラー+温熱 (42°C)+振動 (3 分) 群、炭素ローラー+温熱 (42°C)+振動 (5 分) 群を作製した。なお、同条件で培養した Gin-1 に炭素ローラーを使用しない群を control 群とした。その後、RNA を抽出し、Real time RT-PCR 法を用いて線維芽細胞増殖作用をもつ Fibroblast growth factor (FGF) および細胞修復促進作用をもつ Nerve growth factor (NGF) の発現について検討を行った。また、全ての群において位相差顕微鏡による Gin-1 の形態学的変化、WST assay による細胞活性を評価した。

【成績】

FGF および NGF mRNA 発現は、control 群と比較して炭素ローラー単独群と炭素ローラー+温熱群において増加傾向を認めしたが、振動を併用した群において変化は認めなかった。また、Gin-1 の形態学的変化や細胞活性の変化は本研究で検討を行った全ての群で認めなかった。

【考察】

FGF、NGF は本研究において炭素ローラーにより歯肉線維芽細胞から誘導され、それぞれ線維芽細胞増殖作用、細胞修復促進作用を有することから、炭素ローラーが歯肉の創傷治癒能力の向上に寄与する可能性が示唆された。さらに、その効果は温熱刺激を併用することで増大する可能性が考えられた。炭素ローラーが歯肉に与えるその他の効果も検討するために、今後更なる実験が必要である。

【結論】

FGF、NGF は炭素ローラーにより歯肉線維芽細胞から誘導され、歯肉の創傷治癒能力向上に寄与する可能性が示唆された。さらに、その効果は温熱刺激を併用することで増大する可能性が考えられた。

各種レーザーによるメラニン色素除去効果の比較

松本歯科大学 歯科保存学第1講座¹

松本歯科大学 歯科放射線学講座²

○西田英作¹, 武藤昭紀¹, 窪川恵太¹, 海瀬聖仁¹,
三木 学¹, 小松 寿¹, 内田啓一², 吉成伸夫¹

Comparison of the Degree in Gingival Depigmentation by Laser Treatments

Department of Periodontology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University¹

Department of Oral-Radiology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University²

○NISHIDA Eisaku¹, MUTO Akinori¹, KUBOKAWA Keita¹, KAISE Kiyohito¹,
MIKI Manabu¹, KOMATSU Toshi¹, UCHIDA Keiichi², YOSHINARI Nobuo¹

【研究目的】口腔領域の審美障害のうち、メラニンに代表される歯肉の色素沈着、特に前歯部歯肉における色素沈着を主訴とする患者が増加している。歯肉における着色は、歯肉の健康に対してなんら影響を及ぼさないが、審美的主訴をもつ患者（ホワイトニング前後や、審美性に富む前歯部の補綴物装着）においては、除去が必要不可欠となってくる。従来より、歯肉着色の除去方法は、レーザーによる歯肉の蒸散、カーボランダムを用いた歯肉上皮の機械的削除、薬品による歯肉の腐食などがある。この中で、カーボランダムポイントを用いる方法は、局所麻酔下で行わなければならない、術後疼痛が生じるといった患者への負担がある。レーザーによる処置では、Er: YAG レーザーは表面で100%反応が起こるため、歯肉にチップを接触させる必要がある。一方、炭酸ガスレーザーのエネルギーは表層下0.2mm程度まで到達するため、非接触下にて対応できるといった、レーザーごとに特徴がある。これまで、レーザーを用いた歯肉着色の除去にはさまざまな報告があるが、今回、喫煙患者における著明なメラニン色素沈着に対する除去効果を数値化し、術前、術後で比較した。同一口腔内、同一施術者によって着色除去を行うことにより、レーザーによるメラニン色素の除去効果において興味深い結果を得たので、報告する。

【方法】患者は37歳男性で、1日15本、16年間の喫煙習慣がある。上下顎第一小臼歯間の唇側歯肉に著明なメラニン色素沈着を認めた。色素沈着は黒褐色で左右対称的に境界明瞭であり、特に付着歯肉や歯間乳頭部で著明であった。口唇や口角の皮膚にも着色や乾燥が認められた。また、全顎の歯面に着色が見られ、特に下顎前歯部舌側、上顎右側臼歯部に強く認められた。色素沈着の著しい部位は、上下顎ともに犬歯遠心間であったため、処置部位を上顎右側、上顎左側、下顎左側、下顎右側の4ブロックに分割し、患者の同意のもと、上顎右側をカーボランダムポイントで、上顎左側をEr: YAGレーザーで、下顎左側は未処置、下顎右側は炭酸ガスレーザーにて2週間に一度、処置を行った。歯科用レーザー装置はEr: YAGレーザー (Erwin AdvErL, 株式会社モリタ、東京)、炭酸ガスレーザー (OPELASER Lite, 株式会社ヨシダ、東京) を使用した。また、カーボランダムポイントは、No13、24、28 (松風CA, 株式会社松風、京都) を使用した。規格写真として、患者を水平位にし、頭部正面観から45度側方に傾斜させ、術前術後の口腔内写真を撮影した。撮影場所、撮影者は全て同一術者にて行った。各装置のメラニン着色の効果はImage J (ver1.44, NIH, Bethesda) を使用し、算出した。術者と患者が満足した歯肉の色調をもって処置終了とした。

【結果および考察】Er: YAGレーザーでは、1回目から3回目までほとんど着色除去はできなかった。しかし、4回目以降より着色除去率が高くなり、10回目で患者の満足いく歯肉の色調になった。患者は、わずかな術中の痛みを感じた。炭酸ガスレーザーは2回目までほとんど着色除去はできなかったが、3回目以降より着色除去率が高くなり、10回目で患者の満足いく歯肉の色調になった。炭酸ガスレーザー処置では術中に疼痛の発現はなかった。カーボランダムポイントでは、施術2回目で患者の満足いく歯肉の色調になった。歯科用レーザーにおける歯肉のメラニン色素沈着の除去効果は、Er: YAGレーザーと炭酸ガスレーザー間で差はなかった。また、レーザー蒸散によるメラニン色素症の処置は、カーボランダムポイントによる機械的削除より患者に苦痛を与えることが少なかった。今後、色素沈着の後戻りに対する効果も比較検討する予定である。

【結論】色素沈着症の処置は、痛みや施術回数を踏まえ、患者のニーズに合わせた方法を選ぶべきである。

エア・ポリッシング後の象牙質に対する *Streptococcus mutans* の付着

日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座
○多田和弘, 織田洋武, 稲富道知, 佐藤 聡

Streptococcus mutans adhesion on air-polishing dentin

Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
○TADA Kazuhiro, ODA Hirotake, INATOMI Michitomo, SATO Soh

【研究目的】デンタルプラークは、歯肉炎や歯周炎の主な原因であり、Professional mechanical tooth cleaning (PMTC) は、歯肉縁上、縁下に存在するデンタルプラークを機械的に除去し、歯質表面を滑沢にすることを目的としている。現在 PMTC には、キュレットや超音波スケーラー、ラバーカップ、さらにエア・ポリッシングなどが使用されている。エア・ポリッシングの利点は、プラークの除去におけるキュレット、超音波スケーラー、ラバーカップの使用に対する高い効率性といえる。エア・ポリッシングで使用されている微粒子は、炭酸水素ナトリウム (NaHCO_3) 粒子と、近年開発されたグリシン粒子の2種類である。 NaHCO_3 粒子を使用して、エア・ポリッシングを行った試料表面は、ラバーカップを使用した後の試料表面と比較して粗さが増加し、*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) の付着量の増加が認められたとの報告がある。グリシン粒子は、 NaHCO_3 粒子と比較して、水溶性が高く、モース硬度が低い。グリシン粒子を使用したエア・ポリッシングは、 NaHCO_3 粒子を使用したエア・ポリッシングと比較し、有意に象牙質表面の破壊が少ないとの報告がある。しかし、 NaHCO_3 粒子とグリシン粒子を使用した後の、象牙質表面の規格化された粗さに対する、*S. mutans* の付着を検討した報告は少ない。本研究の目的は、エア・ポリッシング後の、象牙質表面の規格化した粗さに対する、*S. mutans* の付着を検討することである。

【材料および方法】象牙質ブロック (4×4×1mm) は、ラバーカップと研磨粒子を併用し、低速回転で5秒間の研磨を行った (コントロール)。エア・ポリッシングの条件は、エア・ポリッシャー (AIR-FLOW® SII, EMS, Nyon, Switzerland) のノズル先端と象牙質面間距離を6mmとし、象牙質面に対して45°の角度で、3種類の粒子を噴射条件毎に6歯に対して5秒間噴射した。粒子は、粒子径が65 μm の NaHCO_3 粒子 (CLASSIC)、粒子径が25 μm のグリシン粒子 (PERIO)、粒子径が65 μm のグリシン粒子 (SOFT) の3種類を使用した。エア・ポリッシング後の象牙質表面の粗さは、レーザ顕微鏡 (VK-8500, Keyence, Tokyo, Japan) を使用し、平均粗さ (Ra) にて評価した。象牙質表面に対する *S. mutans* の付着は、獲得被膜を付着させた象牙質のブロックを、*S. mutans* を培養した1%スクロース含有 Brain Heart Infusion (BHI) 溶液内に4時間浸漬させ、*S. mutans* の付着を行った。象牙質表面に付着した *S. mutans* の菌数測定は、Alamar Blue を用いたミトコンドリア活性による還元染色にてその吸光度を測定し、比較・検討を行った。

【結果および考察】粒子の種類における象牙質表面の平均粗さ (Ra) の比較では、CLASSIC を使用したエア・ポリッシングは、コントロール、PERIO、SOFT を使用したエア・ポリッシングと比較し、平均粗さが増加し、統計学的有意差が認められた ($p < 0.01$)。SOFT を使用したエア・ポリッシングは、コントロールと比較し有意な平均粗さの増加が認められたが ($p < 0.01$)、PERIO を使用したエア・ポリッシングは、コントロールと比較し、統計学的有意差が認められなかった。象牙質表面に付着した *S. mutans* 菌数の比較では、CLASSIC を使用したエア・ポリッシングは、コントロール、PERIO、SOFT を使用したエア・ポリッシングと比較し、象牙質表面に付着した *S. mutans* の菌数増加が認められた。PERIO、SOFT を使用したエア・ポリッシングは、コントロールと比較し、象牙質表面に付着した *S. mutans* 菌数に変化は認められなかった。この結果から、グリシン粒子を使用したエア・ポリッシングは、粒子の大きさに関係なく、 NaHCO_3 粒子を使用したエア・ポリッシングと比較し、象牙質の粗さが減少し、*S. mutans* の付着が生じにくいことが示唆された。

歯周治療における抗菌薬の費用と効果についての検討

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座

○加藤智崇, 関野 愉, 沼部幸博

Comparative study on the cost and efficacy of systemic antimicrobials in periodontal therapy

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

○KATO Tomotaka, SEKINO Satoshi, NUMABE Yukihiro

【研究目的】

歯周基本治療において抗菌薬の併用療法が有用であるという報告があり、我が国でも抗菌薬の全身投与が歯周病患者者に使用されている。しかし、日本での歯周治療は保険診療が大半を占めており、歯周治療に使用できる抗菌薬は限られている。この保険制度に沿った歯周治療における抗菌薬の使用について、その費用と効果についての詳細な検討は少ない。そこで我々は、保険制度に沿った歯周治療における抗菌薬の費用と効果について検索した。

【材料および方法】

Medline(PubMed)と医中誌を用いて過去の論文から抗菌薬の歯周治療における評価を検索した。「スケーリング・ルートプレーニングと抗菌薬の併用療法」と「スケーリング・ルートプレーニングのみ」の2群におけるアタッチメントレベルの差から抗菌薬の効果について評価した。抗菌薬の選択は我が国の保険制度で歯周治療に使用できる薬剤に限定した。抗菌薬を使用した場合の副作用、耐性菌の発生等にかかる費用について、今回の研究では組み込まなかった。

【結果・考察】

我が国の歯科臨床で頻用されているセフェム系抗菌薬において歯周治療の研究は乏しく、速やかにセフェム系抗菌薬の歯周治療の評価が必要であることがわかった。

歯科臨床においてもジェネリック薬品の使用頻度が増加してきているが、ジェネリック薬品を用いた歯周治療の研究は見当たらなかった。ジェネリック薬品の効果が先発薬品と同様の効果を得られるならば、費用対効果はジェネリック薬品が優れている。

個々の研究における抗菌薬の効果に違いがあるため、歯周治療における抗菌薬の使用は慎重に用いるべきである。

【結論】

我が国の保険制度に沿った歯周治療における抗菌薬の使用について、その費用と効果について検索した。その結果、現在、臨床で頻用されている抗菌薬の一部において歯周治療の評価が乏しいため、更なる研究が必要である。

塩化亜鉛溶液を用いた洗口による口腔常在フローラの変化

福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野¹

日本大学歯学部 化学²

○鈴木奈央¹, 中野善夫², 畑野優子¹, 米田雅裕¹, 横瀬勝美², 桑田文幸², 廣藤卓雄¹

Change of oral microflora by washing mouth with zinc chloride-solution

Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College¹

Department of Chemistry, Nihon University School of Dentistry²

○SUZUKI Nao¹, NAKANO Yoshio², HATANO Yuko¹, YONEDA Masahiro¹, YOKOSE Katsumi², KUWATA Fumiya², HIROFUJI Takao¹

【研究目的】

口臭は口腔より発せられる不快な臭気である。市販の洗口剤には口臭対策を目的とするものも多く、口臭物質の中和や臭気の隠蔽の役割を担っている。塩化亜鉛は、洗口剤の口臭抑制成分として利用され、亜鉛の口臭抑制作用は、口臭の主な原因物質である揮発性硫黄化合物 (volatile sulfur compound, VSC) と直接結合し VSC 産生を阻害することであるとされている。また亜鉛イオンは、微生物の解糖系を阻害し抗菌作用を示すことによっても VSC 産生の抑制に貢献すると考えられている。しかしながらこれまでに *Porphyromonas* 属や *Fusobacterium* 属等の、ごく一部の細菌種の変動しか調べられておらず、細菌叢全体にどのような影響をもたらすのかは明らかになっていない。そこで本研究では、塩化亜鉛溶液による洗口実験を実施し、唾液中の口腔常在フローラの変動を調べた。

【方法】

福岡歯科大学歯学部学生 21 名を対象に、市販水で 3 日間、続いて 0.1%塩化亜鉛溶液で 3 日間洗口を行った。洗口は一日 3 回、5 mL 液で 1 分間実施した。洗口開始前日と 3 日目の終業後、3 日目は昼食後の洗口から 5 時間後に、刺激唾液を採取した。唾液サンプルから抽出した細菌 DNA について、16S rRNA 遺伝子を利用した terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) 法および高速シーケンス解析法によって細菌構成の決定を行った。

【結果と結論】

分析対象者 20 名 (男性 14 名、女性 6 名、平均年齢 24.4 ± 2.2 歳) について、市販水による洗口前後と塩化亜鉛溶液による洗口前後の細菌構成の変化を T-RFLP 法を用いて比較した。その結果、塩化亜鉛溶液による洗口後は T-RF ピーク数の減少がみられ、細菌叢がより単純化することが示唆された。次に高速シーケンス法を用いて、塩化亜鉛溶液による洗口前後で変化する細菌種を同定したところ、表に示す細菌種の増減がみられた (出現頻度が 3 サンプル以上の菌種に限定)。菌叢が単純化するため、常在菌と呼ばれる *Streptococcus salivarius* などの *Streptococcus* 属細菌の割合が上がるのがわかった。他に、*Rothia* 属、*Prevotella* 属細菌で上昇がみられた。一方、*Porphyromonas* 属細菌などが減少したが、特定の種が特異的に除去されるというほど顕著な変化はみられなかった。塩化亜鉛溶液による継続した洗口によって口腔常在フローラが単純化し、構成する菌種の変動が起こることが示唆された。

亜鉛洗口後に割合の増加した菌種 (≥2)	亜鉛洗口後に割合の増加した菌種 (≥1)	亜鉛洗口後に割合の減少した菌種 (1>)
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Streptococcus mitis</i> bv 2	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>
<i>Rothia mucilaginos</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i> II	<i>Neisseria flavescens</i>
<i>Streptococcus vestibularis</i>	<i>Granulicatella adiacens</i>	<i>Capnocytophaga</i> sp.
<i>Streptococcus cristatus</i>	<i>Prevotella histicola</i>	<i>Gemella haemolysans</i>
<i>Actinomyces</i> sp.	<i>Veillonella atypica</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Granulicatella adiacens</i> [para-adiacens]	<i>Porphyromonas</i> sp.
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Leptotrichia</i> sp.
<i>Rothia</i> sp.	<i>Streptococcus infantis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	<i>Solobacterium moorei</i>	<i>Terrahaemophilus aromaticivorans</i>
<i>Gemella sanguinis</i>	<i>Streptococcus</i> sp.	
<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>	
<i>Streptococcus peroris</i>	<i>Streptococcus australis</i>	
TM7 [G-1] sp.		
<i>Prevotella melaninogenica</i>		
<i>Abiotrophia defectiva</i>		
<i>Veillonella parvula</i>		
<i>Prevotella</i> sp.		
<i>Corynebacterium durum</i>		
<i>Streptococcus parasanguinis</i> I		
<i>Streptococcus salivarius</i>		

鑄造ポストの除去方法に関する基礎的検討
—従来型ポストコアリムーバーと改良型ポストコアリムーバーの比較—

王喜齒科医院
○小西秀和

Basic Investigation for Removing Method of Cast Posts
—To Compare a standard-type Post and Core Remover
with an improved-type Post and Core Remover—

Ouki Dental Clinic
○KONISHI Hidekazu

【研究目的】

歯科医療において、鑄造ポストの除去処置は困難で、除去後に歯根破折などのトラブルが起こるケースが少なくない。このことから患者に快適で安全・安心な歯科医療を提供するためには、修復物除去の時間短縮 (Speedy)、除去の確実性 (Sure)、患者への最小限の侵襲および安全性 (Safe) を考慮する必要があると考えられる (3S)。そこで本研究では、より容易に 3S をクリアできる鑄造ポストの除去方法について、抜去歯からのメタルコア (鑄造ポスト) の除去を行い、これまでのポストコアリムーバー (以下 PR, YDM) とその改良型を用いて臨床的有用性の比較検討を行った。

【材料および方法】

鑄造ポストの装着されているヒト抜去歯 32 本を 2 群に分け、鑄造ポストを従来型 PR で除去した群を R 群、改良型 PR (従来型 PR に把握力を緩衝調節できる板バネを一枚のみ付与した構造の試作品) で除去した群を RS 群と定義した。R 群および RS 群両群とも、FG ジェットカーバイドバー #1970 (松風) を用いて、唇 (頬) 側面と舌 (口蓋) 側面のコアの金属マージン部にポストに達する深さまで切れ込みを入れた。さらに二種類の PR の先端の嘴部を、おのおのこの二カ所の切れ込みに適合させ、鑄造ポストの方向 (歯の中心方向) へ少しずつ PR の把握力を加えながら、ポストを脱離させて除去した。その際に、鑄造ポスト除去に要した時間やポスト部の長さの測定を行い、さらにニシカ カリエスチェック (日本歯科薬品) を用いて、ポスト除去部の歯質の染め出しをすることにより、歯根破折線の有無およびその長さなどを評価した (色素浸入試験)。

【結果および考察】

ヒト抜去歯の鑄造ポストの除去は、上記のいずれかの方法を用いてもすべて 5 分以内に除去できた [R 群:16/16, RS 群:16/16(単位:本)]。PR の種類別の鑄造ポストの除去時間の平均は、R 群 120±70 秒、RS 群 103±76 秒であり、RS 群は R 群に比較して除去時間の平均がやや短い傾向にあったものの、両群間で有意差はなかった (Mann-Whitney U test, $P \geq 0.05$)。除去した鑄造ポストの長さの平均は、R 群 6.1±1.5mm、RS 群 6.1±1.4mm であり、両群間で有意差はなかった (Mann-Whitney U test, $P \geq 0.05$)。また、最小の太さの FG ジェットカーバイドバー #1970 を用いたことから、鑄造ポスト除去時の歯質の削除による侵襲を可及的に小さくできていた。さらに、鑄造ポストの除去に二種類の PR を用いたことによる除去歯の歯根破折は、色素浸入試験においてほとんど観察されなかった。

【結論】

以上のことから、二種類の PR はともに迅速・確実・安全 (3S) に鑄造ポストを除去できる可能性が示唆された。さらに、改良型 PR の方が従来型 PR に比較して、除去時間が短い傾向にあることが経験された。

(研究協力者: 株式会社 YDM 営業部 土屋秀昭氏)

永久歯に内部吸収のみられた歌舞伎メイキャップ症候群の1例

東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座 歯科保存学分野¹,
東北大学大学院歯学研究科 口腔機能形態学講座 口腔器官構造学分野², 国立成育医療センター³
○小林洋子¹, 金田一孝², 金田一純子³, 小松正志¹

A case of Kabuki make-up syndrome with internal resorption in permanent teeth

Division of Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry¹, Division of Oral and Craniofacial Anatomy, Tohoku University Graduate School of Dentistry², National Center for Child Health and Development³
○IWAMATSU-KOBAYASHI Yoko¹, KINDAICHI Koji², KINDAICHI Junko³, KOMATSU Masashi¹

【研究目的】

歌舞伎メイキャップ症候群は、新川ら、黒木らによって1981年に初めて報告された新しい症候群であり、特異な顔貌、骨格異常、皮膚紋理異常、精神発達遅滞、発育不良の5主徴を有する。この5主徴のうち顔貌、特に目に特徴があり、切れ長眼裂、下眼瞼の外反、アーチ型の眉といった日本伝統芸能である歌舞伎役者のメイキャップに似ていることから名づけられている。近年、常染色体性優性遺伝(818q-)であるとの報告もある。

本症候群は、以上の5主徴の他に口唇口蓋裂が41-71%で合併し、側切歯欠損の報告もある。今回、我々は本症候群の1例において、両側上顎中切歯が内部吸収を起こし、そのうち破折したため抜歯に至った左側中切歯を組織学的に検討したので報告する。

【材料および方法】

歌舞伎メイキャップ症候群と診断された13歳4カ月女子の上顎左側中切歯が破折したため抜歯した。抜歯した歯は、4%パラホルムアルデヒドにて固定、EDTAにて脱灰後、パラフィン切片を作製した。H-E染色を施し、光学顕微鏡(キーエンスBZ-9000)にて観察した。

【結果】

本症例の中切歯は、両側ともに外傷の既往はなく、短根歯であった。肉眼的にピンク色を呈し、レントゲンのには内部吸収が認められた。

破折のため抜歯となった左側中切歯を組織学的に観察したところ、象牙質の吸収が広範囲において認められ、吸収窩には多核の破歯細胞が観察されることもあった。また、吸収窩に置換性の骨様組織が観察されることもあった。骨様組織はときに層板構造を呈することもあった。

【考察】

これまで、歌舞伎メイキャップ症候群における歯の内部吸収に関する報告はない。本症例では、両側上顎中切歯にレントゲンのに内部吸収が認められたが、外傷や矯正治療等の既往はなかった。左側が破折したために抜歯となり、組織学的に観察したところ、広範囲に象牙質の吸収が認められ、同部において破歯細胞や置換性骨様組織が観察された。内部吸収の発生機序と歌舞伎メイキャップ症候群との関係はまだ不明であるが、今後も注意深く経過を観察する必要があると思われる。

【結論】

歌舞伎メイキャップ症候群の1例にみられた内部吸収をおこした永久歯について組織学的に検討したところ、広範囲に象牙質の吸収が認められ、同部において破歯細胞や置換性骨様組織が観察された。

新規開発した酸化マグネシウム系 MgO Sealer に対するマウス皮下組織の反応

松本歯科大学 歯学部 歯科保存学第二講座¹, 同大学院 歯学独立研究科 健康増進口腔科学講座²

○佐藤将洋¹, 山本昭夫^{1,2}, 笠原悦男¹

Subcutaneous Tissue Reactions to Newly-Developed MgO Sealer in Mice

Department of Endodontics and Operative Dentistry, School of Dentistry¹, Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral Medicine², Matsumoto Dental University

○SATO Masahiro¹, YAMAMOTO Akio^{1,2}, KASAHARA Etsuo¹

【目的】新規に開発した酸化マグネシウム系 MgO Sealer (MS ; ネオ製薬) について, ISO10993-6 (Biological evaluation of medical devices: Part 6. Test for local effects after implantation) に準拠した皮下埋入試験を実施し, その皮下組織反応から生体への安全性を検討した.

【材料と方法】 被検検体は新規に開発した酸化マグネシウム系シーラー-MgO Sealer で, 既製品の Finapex APC (FP: 京セラ), Sealapex (SP: Kerr) と AH Plus (AH: Dentsply) を対照として用いた. これらを直径約 10mm, 厚さ 0.1~1 mm の円盤状にその形態を成型した. 埋入に先立ち, イソフルランの吸入による全身麻酔を施し, 術台上に載せた. 背部の手術野を電気バリカンで剃毛, 酒精で拭掃した後, 正中を挟み左右 2ヶ所の埋入部皮膚にピクリン酸飽和エタノールで目印 (大きな×印) を付けた. なお, このマーキングは経時的消失を防ぐ為適宜繰り返して行った. 各検体は埋入部から約 10 mm 離れた部にメスにて切開を加え, そこから挿入し, 目印部直下の皮下組織内に留め置いた. 傷口は縫合糸にて一針縫合するとともに, 外科用瞬間接着剤の塗布処理を施した. 埋入期間の 1 週および 12 週経過時に検体埋入部位を周囲組織と共に一塊として摘出し病理組織学的に評価した.

【結果と考察】 マウスの背部皮下に埋入し 1 週経過した標本では, 埋入部の被検材料 MS は多少崩壊し, 標本上では黒褐色の粒子状構造物の集塊として観察され, その部にエオシン好染の無構造物質が交じり合っている部もあった. その一部は標本上から脱落していた. 周囲に一層の壊死層が形成され, これはエオシンに比較的均質に染色され観察された. 下層部には, 線維芽細胞が多数増殖して肉芽組織を形成していた. 増殖した肉芽組織の一部には多少の出血巣が認められた. 埋入 12 週の標本では, 被検材 MS 周囲の一層の壊死層を境に増殖した肉芽組織の主たる構成細胞はマクロファージで, その胞体内に顆粒状の構造物を多量に容れており, 同細胞は被検材料 MS の崩壊成分を活発に貪食していることが確認できた. 一方対照の FA, SP と AH についてもほぼ同様な組織反応であった. MS の 12 週の標本においては比較的線維化した被膜が形成されていたが, その初期においては材料の成分である酸化マグネシウムによると考えられる傷害性刺激による組織反応, すなわち組織の壊死等が若干引き起こされていた. しかし, これは, 水酸化カルシウムのような強力なものではなかった. その結果として 12 週の標本において被膜形成が確認されたのであろう. なお, 対照として検討した同じ酸化マグネシウムを含有する他社製品である FP の組織反応と比較すると組織反応に類似性があったが, 若干炎症性細胞浸潤の消退の遅延傾向があった. これは共に酸化マグネシウムを含有しているが, FP が次炭酸ビスマス含有しているのに対し, MS は酸化ビスマスで, この成分の相違によるものと思われる.

【結論】今回開発した酸化マグネシウム系 MgO Sealer は, 被包を形成する初期の肉芽組織に若干の炎症性細胞浸潤があったが, 12 週ではそのほとんどが消失していた. これらの組織反応は, この材料は比較的組織傷害性が弱く安全に使用できることを示唆している.

【会員外共同研究者】中野敬介, 富田美穂子, 松浦幸子, 川上敏行 (松本歯科大学大学院歯学独立研究科)

BMS 患者における唾液中コルチゾルの評価
福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野

○春名千英子, 泉 利雄, 松浦洋志, 諸富孝彦, 柴田太郎, 松本典祥, 國本俊雄, 福田泰子,
水上正彦, 牛尾悟志, 阿南 壽

Association between salivary cortisol levels and BMS
Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of odontology, Fukuoka Dental College
○HARUNA Chieko, IZUMI Toshio, MATSUURA Hiroshi, MOROTOMI Takahiko, EIDA Taro, MATSUMOTO Noriyoshi,
KUNIMOTO Toshio, FUKUDA Yasuko, MINAKAMI Masahiko, USHIO Satoshi, ANAN Hisashi

【背景】

Burning mouth syndrome(BMS)とは口腔粘膜に明らかな病変が認められないにもかかわらず、舌や唇などに灼熱感や痛みを伴う不快な疾病状態をいう。BMSの病因はいまだ不明であり、身体的には局所の微小粘膜障害や神経損傷、全身性の栄養障害や内分泌疾患、精神的には心気神経症、うつ病などの病態が考えられる。一般的な検査では症状を説明するだけの所見が認められないことが多いため、患者の訴える症状を説明する局所の機能的変化や、病態を裏付ける中枢性の変化を解明する必要がある。そこで本研究では、ストレス性内分泌ホルモンであるコルチゾルの変化に着目し、BMSの病態との関係を調べた。

【対象と方法】

81名のBMS患者と年齢および性別をマッチングさせた33名のコントロール群の比較を行った。ケース群は、症状の重症度によって2群に分けた。

BMS1 (41名) : 口腔内の灼熱感および舌のピリピリを時々感じる。

BMS2 (40名) : 口腔内の灼熱感および舌のピリピリをいつも感じる。

本研究に関する十分な説明を行い、文書による同意を得た後、口腔および全身に関する問診、口腔内診査、唾液流量検査などを行った。唾液は、唾液収集用チューブを用いて、ガム法による唾液流出量を測定し、-30℃で保存した。唾液中コルチゾルおよびクロモグラニンAの測定にはそれぞれCortisol ELISAキット(Salimetrics社)、CgA ELISAキット(矢内原研究所)を用いた。統計解析には、SPSS Ver. 11.0 for Windowsを用いた。

【結果】

81名のBMS患者において、コルチゾル値はコントロール群に比べて有意に高い値を示した。次に、BMS1およびBMS2の両群とコントロール群とを比較した結果、それぞれコルチゾル値の有意な上昇を認めた。また、BMS1とBMS2を比較したところ、BMS2においてコルチゾル値の有意な上昇を認めた。多変量解析により、年齢、性別および服用薬の補正を行っても有意性は保たれた。

【考察】

本研究の結果から、BMSと唾液中コルチゾルとの関連性が示唆された。

歯科領域において急増している非歯原性疼痛を訴える患者に対しては、安易に咬合調整や歯牙研磨などの不可逆的な治療のみを行うのではなく、患者の訴えを否定せず良く聞き共感(受容)、良くなることを伝え(支持)、実際に良くなっていることを客観的な検査結果の提示によって説明する(保証)という手続きを踏むことが重要と考えられる。安心感を与え治療を行う簡易精神療法を行うにあたって、唾液中のストレス性内分泌ホルモンの評価は患者対応の一助となる可能性が示唆された。

マウスガードの臨床的使用期間を設定するための基礎的研究

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面機能再建学講座 歯科保存学分野¹
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面機能再建学講座 歯科生体材料学分野²
○富田浩一¹, 蟹江隆人², 徳田雅行¹, 鳥居光男¹

The basic study for clinical using period of mouthguards

Department of Restorative Dentistry and Endodontology¹, Biomaterials Sciences²,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○TOMITA Kouichi¹, KANIE Takahito², TOKUDA Masayuki¹, TORII Mitsuo¹

(研究目的)

歯科用軟質材料として定義され、口腔内である期間にわたって使用される材料として、軟質裏装材やマウスガードがあげられる。このうち、マウスガードは、歯科医院で作製するカスタムメイドタイプとスポーツ店等で販売されている既製タイプ(ストックタイプ、加熱タイプ)のものが多く、これらの材料の適応と使用方法に関しては、基礎的データに乏しく経験的に使われているものが多い。マウスガードに使用されている材料は、アクリル系、シリコン系、ポリオレフィン系、ポリウタレン系、エチレン酢酸ビニル系等広範囲にわたっており、どの材料も程度の差はあっても吸水することが知られている。このことは、使用が長期にわたると材料表面に水分子だけではなく、口腔内の細菌も付着する可能性があると考えられる。細菌の付着が阻害されることについては、細菌自体の増殖が阻害される場合と抗菌剤の薬理作用などにより付着が阻害される場合が考えられる。中には、機械的性質が劣化する前に、細菌の付着量が多くなる材料が存在する可能性も推測されるが、これらに関する研究はほとんど見受けられない。本研究では、マウスガードとして使用されるエチレン酢酸ビニル系カスタムタイプの市販軟質材料について、機械的性質と細菌付着性を経時的に測定して、その使用限界を検討することを目的とした。

(研究方法)

バイオプラスト (SCHEU-DENTAL) : BP、キャプチャーシート (松風) : CS、MG-21 (CGK) : MG、インパクトガード (GC) : IG の 4 種類を準備し、100°C に加熱して軟化させたものを直径 12mm 高さ 10mm の孔を持つ金型中で、上下からガラス板で加圧成形したものを試料として使用した。これら 4 個の試料について、37°C 水中 3 時間振盪-乾燥-除菌スプレー洗浄-大気中保管 21 時間を 1、7、30、90 および 180 日繰り返す。圧縮弾性率とショア A 硬さおよび表面粗さを経時的に測定した。さらにその後、各試料への細菌付着量を測定するため、*S. mutans* UA159 野生株 (1×10^7 CFU/ml) 5ml あるいは、*C. albicans* 標準株 (1×10^4 CFU/ml) 10ml の懸濁液に 24 時間浸漬した。浸漬終了後、まず試料に付着していない菌を取り除くために洗浄を行い、次に試料に付着している菌を回収し各々の CFU を測定するために、*S. mutans* については、各試料を 5 秒間攪拌して菌液を BHI 寒天培地へ播種し、*C. albicans* については、各試料に 1% トリトン X-100 を 10 分間作用させてクロモアガー・カンジダ培地へ菌液を播種した。塗布 24 時間後の各々の CFU を測定し、細菌付着量を測定した。

(研究結果)

機械的性質に関しては、4 試料間の弾性率が 180 日後に 26~40%、表面硬さが 1.3~6.2% の増加であり、差は小さかった。細菌付着量に関しては、*S. mutans* は、IG 以外の 1 日後と CS と IG の 90 日後に細菌の付着が認められた。*C. albicans* は、1 日後に多くの付着がみられ、7 日後に一度付着が減少し、その後付着量が増加した。

(結論)

マウスガードは、洗浄や乾燥など管理をしっかりと行うことにより、長期にわたり比較的安定した特性を維持できると考えられる。

(謝辞)

本研究に関して、鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 口腔顎顔面センター 口腔外科 上川善昭、ならびに鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 先進治療科学専攻 生体機能制御学講座 永山知宏、両先生には多大なる御協力をいただいたことを感謝いたします。

なお、本研究は、日本歯科医学会プロジェクト研究費により助成されている。

ヒト歯髄幹細胞の特徴化の中高齢者・若年者による比較検討

国立長寿医療研究センター 歯科口腔先進医療開発センター 再生歯科医療研究部¹, 愛知学院大学 歯学部
顎口腔外科学講座², 愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座³, 愛知学院大学 歯学部 小児歯科学講座⁴
○堀部宏茂^{1,2}, 庵原耕一郎¹, 村上真史¹, 竹内教雄^{1,3}, 石坂 亮^{1,4}, 栗田賢一², 中島美砂子¹

Characteristics of human dental pulp stem cells from middle and old age compared with those from young age

Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute¹, Department of Oral and Maxillofacial Surgery², Department of Endodontics³, Department of Pediatric Dentistry⁴, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○HORIBE Hiroshi^{1,2}, IOHARA Koichiro¹, MURAKAMI Masashi¹, TAKEUCHI Norio^{1,3}, ISHIZAKA Ryo^{1,4}, KURITA Kenichi², NAKASHIMA Misako¹

【研究目的】私どもは新しい蝕・歯髄炎治療法として、歯髄幹細胞を用いた歯髄・象牙質再生治療法を開発してきた。まず、ヒト永久歯歯髄より、多分化能および高い遊走能・増殖能を有する CD105⁺ 細胞を分取し、マウス下肢虚血モデルおよび脳梗塞モデル移植による血管・神経再生促進作用を明らかにした。また、イン根完成後の抜髄後の根管内に移植すると歯髄が完全に再生された。よって、歯髄 CD105⁺ 細胞は高い血管新生・神経再生能及び歯髄再生能を有することが示された。しかしながら、抜髄処置は 40 歳後半をピークとするため、自家移植を考えると、中高齢者のヒトの歯髄組織から歯髄幹細胞を分取し、その幹細胞の特徴を明らかにする必要がある。よって本研究では、中高齢および若年のヒト歯髄組織から歯髄幹細胞を分取し、細胞の形質および特徴化を進め、継代による形質の変化を未分取の total 歯髄細胞とも比較し、中高齢者における自家歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療の有用性を推察した。

【材料と方法】

- ①中高齢者および若年者の患者から文書で同意を得た後、抜去歯から total 歯髄細胞を分離し、2代目で歯髄幹細胞の分取を行った。6代目および12代目において、それぞれ、以下の幹細胞の形質の比較を行った。
- ②細胞表面マーカー発現：フローサイトメトリーにて、CD29,31,44,73,90,105,146,CXCR4 の陽性率を比較した。
- ③分子生物学的解析：Real-time RT-PCRにて幹細胞マーカー、血管新生・神経栄養因子の mRNA 発現を比較した。
- ④in vitro における多分化能
 1. 血管誘導能：matrigel 上で三次元培養し、4時間後、管腔形成能を比較した。
 2. 神経誘導能：neurosphere 形成誘導および神経誘導を行い、28日後免疫組織学的および分子生物学的に比較した。
 3. 象牙質・骨誘導能：BMP2 添加 28日後、Alizarin Red 染色にて比較した。
 4. 脂肪誘導能：28日後 Oil Red O 染色にて脂肪誘導能を比較した。
- ⑤遊走能：TAXIScan-FLにて遊走因子に対する遊走能を比較した。
- ⑥増殖能：ヒト血清および遊走因子に対する細胞増殖能を比較した。

【結果】若年者の total 歯髄細胞 2代目では CD105 陽性率は約 10%であったが、中高齢者の total 歯髄細胞 2代目では約 1%であり、幹細胞の割合が低いことが示唆された。6代目において、中高齢者歯髄幹細胞は若年者と同様に、CD29,44,73,90 は 95%以上であり、CD31, CD146 はほぼ陰性であった。多分化能では、中高齢者歯髄幹細胞は若年者歯髄幹細胞と同様に、血管、神経、象牙質・骨、脂肪誘導能においてすべて、中高齢と若年との差はみられなかった。また遊走能、増殖能や血管新生・神経栄養因子の mRNA 発現も両者において発現の差はみられなかった。また、12代目においても、中高齢および若年とも、6代目と比べて形質の顕著な変化はみられなかった。

【考察・結論】中高齢者は若年と比べて、total 歯髄細胞における歯髄幹細胞の割合が低く、歯髄組織に含まれる歯髄幹細胞の割合が低いことが示唆されたが、分取した歯髄幹細胞の増殖能には有意な差がみられなかった。12代まで増幅させても、若年と同様に、多分化能を有し、未分取の total 歯髄細胞と比べて有意に遊走能が高く、血管誘導因子・神経栄養因子の発現が高かった。よって、中高齢者由来の歯髄幹細胞は若年と比較して細胞形質や幹細胞の特徴の差がみられないことから、若年者と同様に歯髄再生治療に用いることができる可能性が示唆された。

う蝕リスク診査を取り入れた学校歯科健診 —健診と生活習慣との関係—

鶴見大学歯学部保存修復学講座¹, 株式会社ジーシー², 鶴見大学歯学部探索歯学講座³
○深谷芽吏¹, 近藤愛恵¹, 齋藤 渉¹, 大森かをる¹, 石原容子², 花田信弘³, 桃井保子¹

Dental examination and caries risk evaluation for middle-and high school students —Relation between daily habits and DMF tooth rate—

Department of Operative Dentistry Tsurumi University School of Dental Medicine¹
GC CORPORATION²

Department of Translational Research Tsurumi University School of Dental Medicine³

○FUKAYA Meri¹, KONDO Yoshie¹, SAITO Wataru¹, OMORI Kaoru¹, ISHIHARA Yoko², HANADA Nobuhiro³, MOMOI Yasuko¹

【緒言】

近年、児童のう蝕は減少傾向にあり、平成 22 年度学校保健統計調査速報において 12 歳児のう蝕の本数は、1.29 本と報告され、10 年前の 2.92 本から半減している。しかし、このう蝕状況はその年齢以降急激に悪化し、15~19 歳においては 4.4 本にまで急増する（平成 17 年度歯科疾患実態調査）。すなわち、中学・高校時代のう蝕のコントロールは大変重要ということになる。先般、鶴見大学附属中学・高等学校長から大学歯学部校医を通じ、「歯学部に付属することのメリットを生かした、一步踏み込んだ歯科健診の実践」について依頼があったことから、歯科健診時に、従来の健診内容に加え唾液中の「う蝕原細菌」である *S.mutans* の菌数を測定することとした。さらに、健診時に、歯みがきや飲食などの生活習慣と、歯の色や歯並びなどへの意識についてアンケート調査を行った。健診結果と生活習慣との関連についても調査することで、多方面からのう蝕予防の指導を行う事が出来ると考えた。

【材料と方法】

本健診は、臨床研究を含むところから、鶴見大学歯学部倫理審査委員会承認のもと実施されている（承認番号：813）。

1. 対象：健診の対象は、鶴見大学附属中学・高等学校の生徒 800 人（中学生 300 人、高校生 500 人）である。
2. 健診：鶴見大学歯学部保存修復学講座に所属する歯科医師で行われ、従来の学校歯科健診に加え、中学・高校 1 年生には唾液検査を行い、健診項目においては、処置歯は金属色修復と歯冠色修復を見分けられるようにした。
3. アンケート：生活習慣に関する質問 10 項目と審美に関する質問 11 項目についてのアンケート調査を実施した。
4. 統計：データの分析は、健診結果(DMF 歯率)とアンケート結果それぞれを中学生、高校生の 2 グループに分け、アンケートの回答のグループごとに DMF 歯率の平均値、標準偏差を求め、統計処理は一元配置分散分析 ($\alpha=0.05$)を用いた。

【結果および考察】

1 人平均 DMF 歯数は、中学生 1.2、高校生 2.4 といずれも全国平均（平成 17 年度歯科疾患実態調査）より低い値であった。唾液 1 mL 中の *S.mutans* の数(CFU)は、中学生では 50 万以上 0 人、10~50 万 15 人、10 万未満 107 人、高校生では、50 万以上 6 人、10~50 万 28 人、10 万未満 99 人であり、唾液中に多くの細菌を持つ生徒の割合は、中学生より高校生で高かった。また、処置歯に対する金属色修復と歯冠色修復の割合は、どちらも歯冠色修復が 70%以上であることが分かった。アンケート調査からは、就寝前に歯磨きをする生徒は 90%、歯磨き時間は 1~10 分と幅があり、中学生から歯並びや歯の色に関心を持っている生徒が多いことなどが分かった。また、それぞれの項目において中学生と高校生との間に大きな差はなかった。

健診結果とアンケート結果との関係に関する統計結果から、中学生では生活習慣に関する質問 10 項目中 3 項目（習慣的に飲んでいる飲み物について、歯磨き習慣について）、審美性に関する質問 11 項目中 3 項目（口元や歯の形、歯肉の色についての意識について）において有意差があった。高校生では、生活習慣に関する質問において 1 項目（就寝時間について）、審美性に関する質問は 2 項目（口元や歯並びについての意識）のみ有意差があった。このことより、生活習慣と口腔内環境、審美性に関する意識と口腔内環境には関係があり、特定の因子がより強く関わっていることが示唆された。今後は、唾液中の *S.mutans* と口腔内環境、または生活習慣についての関係についても調査し、中高生のう蝕発生に大きく関わる因子を追求して行きたい。

神経障害性疼痛発症における脊髄抑制性グリシン神経の変調機序に関する研究

広島大学大学院医歯薬学総合研究科顎口腔頸部医科学講座 (健康増進歯学分野)
○本山直世, 西村英紀

Mechanisms of dysfunction of inhibitory neuronal regulation of pain signal transduction may be relevant to the development of neuropathic pain

Department of Dental Science for Health Promotion, Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences
○MOTOYAMA Naoyo, NISHIMURA Fusanori

[緒言]

末梢または脊髄神経の損傷に起因する神経障害性疼痛は難治性で、従来の鎮痛薬は奏効せず、新しい治療法・治療薬の開発が待たれている。私達は、抑制性グリシン神経に注目し、細胞外グリシン濃度の調節に重要な役割を果たすグリシントランスポーター(GlyT)阻害薬が長期間持続性の鎮痛作用を有することを見出し、その機序に脊髄グリシン神経シナプスで蓄積したグリシンがグリシン受容体(GlyR) $\alpha 3$ を活性化して、抑制性グリシン神経伝達の増強が関与することを報告してきた(第129回日本歯科保存学会秋季学術大会・第134回日本歯科保存学会春季学術大会)。神経障害性疼痛の開始、形成、維持過程には複雑なメカニズムが関わっている。本研究では神経障害性疼痛の発症と維持機序におけるグリシン神経の役割と、その機序の解明について詳細に検討した。

[方法]

実験には ddY 系雄性マウスを用い、坐骨神経部分結紮モデルを使用した。薬物は人工脳脊髄液(ACSF) 5 μ l に溶解し第5、第6腰椎間から脊髄腔内投与(i.t.投与)または静脈内投与(i.v.投与)した。脊髄機能分子ノックダウンマウスは、該当遺伝子の特異的配列から siRNA を設計し、i.t.投与することにより作製した。疼痛関連反応は、ペイントブラシによる軽い触覚刺激に対するアロディニアスコアと von Frey hairs フィラメントによる足趾刺激に対するマウス後足の逃避反射閾値より評価した。

[結果ならびに考察]

GlyTs 阻害薬を神経損傷 12 時間前、同時、術後 2 日目に投与しても術後 3 日間は抗アロディニア作用がみられず、4 日目以降に発現した。脊髄 GlyTs ノックダウンマウスでも同様の現象を認め、GlyTs 阻害はアロディニア発症には影響せず、形成されたアロディニアを寛解することが明らかとなった。対照的に GlyR 阻害薬および GlyR $\alpha 3$ ノックダウンでは術後 3 日までアロディニアは発症せず、4 日目以降に発現し、神経損傷後 3-4 日に作用逆転のクリティカルポイントが存在した。同様の逆転現象は GABA_A 受容体作用薬および GABA_A 受容体阻害薬においても認められた。アロディニア形成の早い時期においては脊髄における抑制系が消失しており、アロディニアの形成と維持のメカニズムが根本的に異なることを明確にした。この逆転現象はアロディニア機序解明の有益なツールとなることが示唆される。

グリシンや GABA_A 受容体は Cl⁻透過性のイオンチャネルを構成している。これら受容体が刺激されると Cl⁻イオンが細胞内に流入し、過分極して細胞が抑制される。神経損傷初期における抑制系消失に細胞内外の Cl⁻勾配がシフトしている可能性が示唆される。神経細胞内 Cl⁻濃度は、細胞から Cl⁻を汲み出す KCC2 と取り込む NKCC1 により維持されている。そこで、脊髄における KCC2 と NKCC1 の発現について検討した。KCC2 発現量は神経損傷後 12 時間から 2 日後まで著しい減少を認め、3 日以降漸次回復した。これはグリシンの作用逆転の時間経過とよく一致していた。NKCC1 については、KCC2 発現量の減少より少し遅れて増加した。従って、KCC2 や NKCC1 の発現変化が Cl⁻勾配のシフトに関係する可能性が考えられる。KCC2 の発現量低下は脊髄 BDNF ノックダウンおよび BDNF 受容体である TrkB ノックダウンにより消失し、ミクログリアの活性化を阻害するミノサイクリンの投与によってもリバースされた。神経損傷による KCC2 の発現量低下にミクログリア活性化、BDNF および TrkB の関与が示唆された。正常動物の脊髄腔内に KCC2 阻害薬 R-DIO を i.t.投与すると、用量依存的なアロディニア応答を惹起し、さらに脊髄 KCC2 ノックダウンや BDNF の i.t.投与でも長期間持続したアロディニアを惹起すること、脊髄 BDNF 或いは TrkB をノックダウンにより初期のアロディニア発現は抑制されること等を見出した。

これら一連の結果は、神経損傷の初期におけるミクログリアの活性化がこれら機能分子を介して Cl⁻勾配の逆転に寄与しており、結果としてグリシン作動性抑制系を変調(脱抑制)し、アロディニア発症に関係することが示唆された。

オーラルケアに関する研究
-とくに東日本大震災および福島第一原発事故が幼若永久歯に及ぼした影響について-
医療法人社団馨会
○山田満憲

A study on Oral Care
Influence of the Great East Japan Earthquake and Fukushima Nuclear Disaster on the Immature Permanent Teeth
Homare-kai medical corporation
○YAMADA Mitsunori

【研究目的】

医療法人社団馨会では、大正6年開業（譽田歯科醫院）から健康で明るく生活できるようライフステージに沿った口腔領域のプライマリーケアを継続的に行ってきた。とくに福島県における学校歯科保健の報告では、う蝕罹患率は全国平均と比べ有意に高く、その改善が望まれるところである。そのような経緯により当法人においては、特に幼若永久歯のう蝕予防の見地から定期的なメンテナンスを行っている。しかし、平成23年3月11日に発生した東日本大震災および福島第一原発事故以降、すべてのライフステージにおいて口腔内の環境悪化から来院する患者が急増している。そこで今回、災害が幼若永久歯に及ぼした影響について調査したのでその概要を報告する。

【方法】

う蝕予防を目的としたメンテナンスで通院し、また第一大臼歯萌出から3年以内の患者を無作為に10名抽出した。さらに、対象者には本調査の主旨説明を含むインフォームドコンセントを行い、第一大臼歯の萌出開始年齢、歯の脱灰状態、震災後の生活環境を調査した。脱灰の状態は、当法人でメンテナンスの度に計測している光学式う蝕検出装置ダイアグノデント（GC、以後Dd）の値にて震災の前後において相対評価を行った。また、生活環境として、1）震災後の断水期間、2）水道水における放射性物質検出後の水道水摂取制限期間、3）水道水摂取制限解除後それぞれにおける食生活状況、およびブラッシング状況についてアンケート調査を行った。

【結果および考察】

Ddの値は、対象者および部位によってばらつきがあるものの、震災後において値の上昇がみられるものがあつた。当該地域の断水期間は震災当日から3月21日までの10日間であり、断水解除後は行政機関による放射性物質の水質調査が行われた。放射性ヨウ素は、3月21日に23ベクレル/kg検出され、それ以降減少し4月11日からは検出されていない。また放射性セシウムはいずれの期間も検出されていない。断水期間も、旧家が多いこの地域では備蓄食糧および井戸水の使用から食生活およびブラッシング状況に大きな変化はみられなかった。しかし、水道水および簡易水道（井戸水）における放射性物質検出による摂取制限以降から制限解除後の現在まで、水道水摂取が控えられ、ミネラルウォーターの使用が多くなった傾向がみられた。その代替として清涼飲料水による水分摂取、および戸外の放射線量の影響から室内で過ごす時間が多くなりスナック菓子摂取の頻度が高くなる傾向があつた。また、多世代同居および精神的ストレスよると考えられるシュガーコントロールの難しさもみられた。

【結論】

定期的にメンテナンスで来院する患者の口腔内に対する意識は高く、ブラッシングの頻度は震災前後で変わらないものの、ショ糖を摂取する頻度が高くなれば口腔環境を悪化させ、特に幼若永久歯に影響を及ぼしたことが考えられ、短期間でもDdの値の上昇につながったものと推察された。

CEREC AC システムにより作製されたオールセラミッククラウンのマージン部適合性の評価

東京歯科大学歯科保存学講座

○堀内 章, 間 奈津子, 宮下 卓, 手銭親良, 副島寛貴, 吉澤佑世, 森永一喜, 中川寛一

Conformity assessment of the all-ceramic crown margin made by CEREC AC systems

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○HORIUCHI Akira, AIDA Natsuko, MIYASHITA Takashi, TEZEN Chikara, SOEJIMA Hiroataka,

YOSHIZAWA Yuusei, MORINAGA Kazuki, NAKAGAWA Kan-ichi

【目的】

CAD/CAM システムのソフトウェアの改良に伴い、修復物の適合精度や色調、操作性は向上し、本システムの応用による審美的な歯冠修復処置の臨床的選択基準が大きく変化している。加えて、より適合精度の高い修復物を作製するために、支台歯の最適な形成方法、更には CAD/CAM システムの特性を把握する必要がある。特に、CAD/CAM によるオールセラミック修復における辺縁漏洩は、厚みを必要とすることから、修復物の将来の成功率と耐久性に影響を及ぼすことが報告されている。本研究では、CEREC システムの最新ソフトウェアである CEREC AC を用いて、オールセラミック修復のマージン形態と適合性を、3D レーザー顕微鏡で計測し比較検討した結果を報告する。

【材料および方法】

試料は下顎左側第一大臼歯レジン製人工歯（ニッシン）と CEREC Blocs (S4-O 14mm, Sirona Dental Systems, Inc.: Germany) を用いた。レジン歯は、辺縁形態をシャンファー、全周 1.5mm のショルダー、ラウンドショルダーの 3 種類を作製し、支台高径 5mm としたクラウン支台歯の規格模型を作製し使用した。光学印象採得を行うにあたり、口腔内と同様の環境を想定し、直接法として顎模型上に固定した形成済み人工歯および隣在歯へ酸化チタン噴霧し、印象採得を行った。CEREC AC のマニュアルに従って設計を行い、オールセラミッククラウンを作製後、エスティックセメント（クラレメディカル）にて支台歯に接着した。その後、低荷重試験機を用いて 10kgf の荷重を 10 分間作用させた。マージン部適合性の測定は、ミニラボカッター（マルトール：東京）を用いて試料を近遠心的に切断し、辺縁および内面の 9 点におけるセメント厚さを 3D 測定レーザー顕微鏡（LEXT OLS4000, OLYMPUS）を用いて各々 5 回計測した。計測点は、頬側マージン、頬側軸面、頬側軸角、頬側髓軸角、咬合面、舌側髓軸角、舌側軸面、舌側軸角、舌側マージンの 9 点とし、得られたデータは二元配置の分散分析及び Turkey の多重検定法を用い、適合性、特に辺縁適合性に与える影響を検討した。

【結果および考察】

セメント厚さは、頬側マージン部におけるシャンファー平均 92.25 μ m、ショルダー平均 113.41 μ m、ラウンドショルダー 130.51 μ m であった。舌側マージン部におけるシャンファー平均 177.30 μ m、ショルダー平均 100.45 μ m、ラウンドショルダー平均 73.01 μ m であった。頬側マージン部における辺縁形態による有意差は認められなかった。しかし、舌側マージン部においてシャンファー形態に対しショルダー、ラウンドショルダー共に有意差が認められた ($P > 0.05$)。

また、9 計測点を測定した結果、ショルダー、ラウンドショルダーに比較しシャンファーでは各計測点でのばらつきが認められた。特に、頬側及び舌側マージン部、咬合面部における値のばらつきが著しいことが認められた。各計測点におけるセメント厚さは、シャンファー、ショルダーに比較しラウンドショルダーで厚さが小さいことが分かった。

このことから、辺縁の形態はショルダー、ラウンドショルダーの適合精度が高く、クラウン修復物辺縁適合性の臨床許容範囲内であることが分かった。また、辺縁形態をラウンドショルダーに設定することで、各計測点における内面適合精度が臨床許容範囲内になることから、辺縁形態がクラウン修復物の内面適合精度に影響を及ぼすことが示唆された。

コンポジットレジンの歯ブラシ摩耗について—摩耗深さおよび表面性状—

昭和大学歯学部 歯科保存学講座¹, 東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座歯科保存学分野²
○京泉秀明¹, 山田純嗣¹, 鈴木敏光¹, Finger Werner J.², 兼平正史², 小松正志², 久光 久¹

Toothbrush abrasion of resin composite -abrasion depth and surface morphology-

Department of Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry¹
Division of Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry²

○KYOIZUMI Hideaki¹, YAMADA Junji¹, SUZUKI Toshimitsu¹, FINGER Werner J.², KANEHIRA Masafumi², KOMATSU Masashi², HISAMITSU Hisashi¹

【緒言】

近年、コンポジットレジンにおいて、審美性や操作性および強度などの向上を目的として、フィラーのサイズをナノサイズにし、さらにナノハイブリットにするテクノロジーを取り入れた製品が市販されてきている。そこで、今回はナノフィラーを配合したコンポジットレジンの歯ブラシ摩耗試験後の摩耗深さおよび表面性状について検討した。

【材料および方法】

Venus® (VEN, microhybrid, Heraeus Kulzer)、Venus® Diamond (VED, nanohybrid, Heraeus Kulzer)、Venus® Pearl (VEP, nanohybrid, Heraeus Kulzer)、MI FIL (MFI, nanohybrid, GC) の4種類のコンポジットレジンを使用した。

それぞれの材料を使用して、3×3×12mmの試料を作製した。試料は相対湿度100%、温度37℃の恒温槽中に1時間放置した後、37℃の蒸留水中に23時間保管した。それぞれ10試料について摩耗試験直前に#600および#4000のシリコンカーバイトペーパーを使用し研磨した。

摩耗試験は歯ブラシ摩耗試験機(東京技研)を使用し、歯ブラシはプロスペックスリム(GC)を使用した。摩耗試験は毎分60回で、歯ブラシにかける垂直荷重は500gfとした。研磨剤は、炭酸カルシウム飽和水溶液を使用した。繰り返し回数は最大5万回とし、1万回ごとに表面粗さ輪郭形状測定機(SURFCOM 480A, 東京精密)で摩耗面の形状を記録し、研磨剤は新しいものと交換した。記録紙上でその最大の深さを計測し、歯ブラシ摩耗深さとした。試験開始前および各回ごとに摩耗面の表面粗さ(Ra)を測定した。5万回の摩耗試験後、それぞれグループの代表例でSEM観察(VE-8800, キーエンス)を行った。

【結果および考察】

歯ブラシ摩耗深さは、4種の材料とも経時的に深さが直線的に増加していく傾向を示した。5万回後最大摩耗深さを示したのがVEN(#600:522μm, #4000:403μm)で、続いてMFI(445μm, 271μm)、VEP(219μm, 179μm)、VED(36μm, 43μm)の順であった。また、#600と#4000の研磨面の比較では、VEDは5万回後の摩耗深さに差は認められなかったが、他の3材料では#600の方が#4000よりも大きい摩耗深さを示した。

試験開始前、4材料の表面粗さの差はわずかであった(#600:0.11~0.18μm, #4000:0.05~0.08μm)が、摩耗試験後はVED:1.35~1.51μm、VEP:0.26~0.33μm、VEN:0.10~0.16μm、MFI:0.09~0.18μmを示した。

図に#600で研磨した4材料の5万回後のSEM写真を示す。

今回の試験から、歯ブラシ摩耗試験後の摩耗深さと表面粗さはコンポジットレジンに含有するフィラーの量、タイプ、粒径に影響されることが推察された。

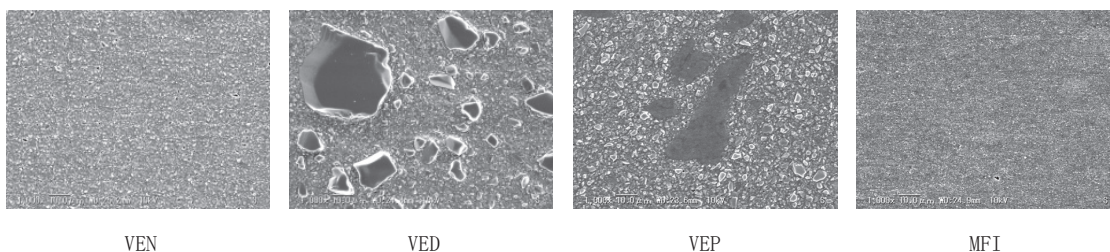


図 歯ブラシ摩耗5万回後のSEM写真(×1000)

新規支台築造用レジンコアシステムに関する研究

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

○竹内晶子, 西村麻衣子, 星加知宏, 西谷佳浩, 吉山昌宏

A study of a newly designed resin core system

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

University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○TAKEUCHI Akiko, NISHIMURA Maiko, HOSHIKA Tomohiro, NISHITANI Yoshihiro, YOSHIYAMA Masahiro

【研究目的】 審美修復治療の需要の高まりに伴いノンメタル修復が可能であり、かつメタルコアに比較して歯質に近似した弾性係数を有するレジンコアシステムが支台築造の際に選択されることが増えている。しかしながら、支台築造の際に照射を行うシステムにおいては、それらの多くがデュアルキュア方式ではあるものの、深部での重合性については不明な点が多い。このたびクラレメディカル社からオートミックスタイプのデュアルキュアレジンコアペーストと1ステップタイプのデュアルキュアボンディングシステムから構成される支台築造システムが開発された。本研究では、このシステムの象牙質接着強さならびに接合界面の微細構造について、市販のクリアフィル DC コアオートミックス (クラレメディカル), クリアフィル DC ボンド (クラレメディカル) と比較検討を行った。

【材料および方法】 抜歯後冷凍保管された新鮮抜去歯 12 本を実験に供した。歯冠部中央付近の象牙質平坦面を耐水研磨紙 (#600) で研削した面を被着面とした。ボンディングレジンとして、新規ワンステップボンディング材 (以下 MTB-200) またはクリアフィル DC ボンド (以下 DC ボンド) を、レジンコアペーストとして新規デュアルキュア型レジンコア (以下 NDC-100) またはクリアフィル DC コアオートミックス (以下 DC コア) を使用した。歯面に対してボンディングレジン塗布後、MTB-200 は 10 秒間、DC ボンドは 20 秒間静置後にエアーで乾燥を行い、照射をそれぞれ 10 秒間、20 秒間行った。MTB-200 で処理した場合は NDC-100 を、DC ボンド処理した場合は DC コアを築盛して照射を行わず 10 分間静置した。ボンディングレジン照射しない場合についても同様に試料を作製して、各群 3 本の試料とした。得られた試料を 24 時間、37°C 水中保管後に、歯軸と垂直方向に厚さ 1mm に切断した切片を被着面が約 1mm² となるようにダンベル型にトリミングを行い、微小引張接着強さを測定した。各群の切片 2 つは接合界面の走査電子顕微鏡観察用に使用した。

【結果】 引張接着強さの結果を表に示す。NDC-100 および DC コアは照射を行わない場合は平均値が低い傾向を示すが、照射を行う場合に比べて接着強さに有意差はなかった。さらに NDC-100 は照射の有無に関わらず DC コアよりも高い値であった。全ての条件において破断面形態は主として象牙質とボンディングレジンの混合破壊であった。接合界面はいずれの条件においてもレジンコア/ボンディングレジン/象牙質が緻密かつ連続的に観察された。

【考察】 MTB-200 は照射が十分ではない環境下にお

いても性能を発揮できるように、新規光重合触媒および化学重合促進剤に加えて親水性かつ硬化後の強度が高い多官能親水性モノマーが配合されており、NDC-100 は MTB-200 との接触で化学重合が可能な新規重合促進剤が配合されている。その結果、照射を行わない条件においても NDC-100 は十分な性能を発揮できたと考えられる。照射が十分に行えない環境下においても優れた性能を発揮する NDC-100/MTB-200 を応用した支台築造システムは、臨床応用が期待される。

各支台築造システムの象牙質引張接着強さ(MPa±S.D.)

	照射(+)	照射(-)
NDC-100/MTB-200	49.4±8.1 ^a	46.3±4.3 ^a
DCコア/DCボンド	32.7±5.4 ^b	27.3±2.5 ^b

異なる文字は有意差あり(p<0.05)

N=8

垂直線間は有意差あり(p<0.05)

新規デュアルキュア型レジンコア材料を用いた支台築造システムにおける 根面接着様相の評価

大阪大学大学院歯学研究科統合機能口腔科学専攻顎口腔機能再建学講座歯科補綴学第一教室¹,
大阪大学歯学部附属病院口腔総合診療部²
○松本真理子¹, 三浦治郎², 矢谷博文¹

Evaluation of adhesion of newly developed resin composite to radicular dentin in a direct resin core build-up method

Department of fixed Prosthodontics, Osaka University Graduate School of Dentistry¹,
Division for Interdisciplinary Dentistry, Osaka University Dental hospital²
○MATSUMOTO Mariko¹, MIURA Jiro², YATANI Hirofumi¹

【目的】

根管処置歯に対する支台築造法として、歯根破折対策、審美性向上、および歯質保全という観点から、支台築造用コンポジットレジンを用いた方法が臨床で多用されるようになってきている。しかし、歯冠部象牙質に対するレジンの接着強さに比べて、根管象牙質に対する接着強さは低いとの報告が多くなされている。現在、支台築造用レジンにはデュアルキュアの製品が主流であるが、光の到達不足によって起こるレジンの未重合部の存在が接着強さの低下を引き起こす原因の一つとして考えられている。そこで本研究では、従来型レジンコア材料、および従来型に化学重合を強化した新規レジンコア材料を用い、根管象牙質の接着に関して、引張接着試験と界面の走査型電子顕微鏡観察および元素組成分析を行い、具体的に接着界面の評価を行うことを目的とした。

【材料と方法】

1) 試料の作製

う蝕に罹患していないヒト抜去犬歯と単根管小臼歯をセメントエナメル境で歯軸に対して垂直に切断したのち、Kファイルにて#80 まで拡大した。拡大中は根管を次亜塩素酸と過酸化水素水で交互洗浄を行った。根管を十分に乾燥させた後、ガッタバーチャポイントで側方加圧にて根管充填を行った。37°C水中に24時間保管したのち、根管形成バーでポストの長さをセメントエナメル境より10mmの長さに統一して、注水下にて形成を行った。根管清掃ブラシを用いてポストスペースの洗浄を行った後、ペーパーポイントとエアブローで十分に乾燥を行った。ボンディング剤にはDC bondおよび試作ボンディング剤(MTB-200, クラレメディカル)を、支台築造用レジンにはDC コアオートミックスおよび試作レジン(NDC-100, クラレメディカル)を用い、マニュアルに従って支台築造を行った。

2) 引張試験

試料を37°C水中に24時間浸漬したのち、0.2mm厚さのダイヤモンドディスクにて、セメントエナメル境より1mmの厚みで試料を切り出し、さらに根管部分を含む部位で1mm幅のサンプルを、一歯につき6本切り出した。全てのサンプルを、小型卓上試験機EZ-test(島津製作所)を使用してクロスヘッドスピード1mm/min.にて微小引張試験を行った。

4) 界面観察および元素分析

界面は、走査型電子顕微鏡(S-5200 日立製)にて1,500~2,500倍にて観察を行った。また、同一倍率にてエネルギー分散型X線分析装置(GENESIS EDAX 社製)を用いて、断面の元素組成分析を行った。

【結果ならびに考察】

接着強さは、従来型および新規レジンコア材料ともに、根管象牙質の歯冠側で高く、根尖方向にいくに従って減少する傾向があった。化学重合を強化した新規レジンコア材料は、従来型と比較して、根尖部での接着強さは高い傾向にあった。光の到達が難しい根尖側の接着において、化学重合の強化がレジンコアの接着に効果的であることが示唆された。

本研究の一部は、平成23年度文部科学省化学研究補助金若手研究(B)22791831の補助および文部科学省ナノテクノロジーネットワークプロジェクト(阪大複合機能ナノファウンダリ)の支援を受けて実施されました。

東北大学病院で使用されている光照射器の照射光量の3年後の変化

東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座 歯科保存分野

○遠藤達雄, 星野圭美, 笹崎弘己, 小松正志

The change of light-cure units intensity using in the Tohoku University Hospital after 3 years
Division of Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Tohoku University Graduate
School of Dentistry

○ENDO Tatsuo, HOSHINO Tamami, SASAZAKI Hiromi, KOMATSU Masashi

【研究目的】

一般歯科臨床において最も高頻度に行われる治療の一つであるコンポジットレジン修復において必須の診療器具である光照射器の照射光量の低下は、コンポジットレジン修復の予後に大きな影響を与える因子の一つであるコンポジットレジンと歯質間の接着に影響を与える可能性がある。本研究の目的は日常の臨床で用いられている光照射器の経年使用による光量低下の有無について調べることにある。

【材料および方法】

照射光量計として DENTSPLY 社製 Cure Rite™ を用いた。東北大学病院保存修復科外来に設置されているハロゲンタイプ9台 (Glip Light II; Shofu: 5台, Acta; Satelec: 2台, New Light VL-II; GC: 2台) および LED タイプ2台 (G-Light; GC: 1台, Curenos; Shofu: 1台) 計11台の光照射器の照射光量を測定し、3年経過後に再度測定を行い比較した。測定回数は各群5回とした。

【結果および考察】

1. 3年後の照射光量の変化

今回測定に用いた光照射器の照射光量の平均値は、試験開始時点ではハロゲンタイプで $415 \pm 21 \text{mW/cm}^2 \sim 982 \pm 13 \text{mW/cm}^2$ 、LED タイプで $1455 \pm 11 \text{mW/cm}^2 \sim 1739 \pm 8 \text{mW/cm}^2$ を示した。3年経過後ではハロゲンタイプで $66 \pm 9 \text{mW/cm}^2 \sim 881 \pm 19 \text{mW/cm}^2$ 、LED タイプで $1385 \pm 9 \text{mW/cm}^2 \sim 1711 \pm 27 \text{mW/cm}^2$ を示した。

2. 試験期間途中で修理の有無が光量変化に与える影響

全11台の光照射器のうち途中で故障により修理を行った光照射器が3台あった。途中で修理を行わなかった8台についてはすべてにおいて照射光量の低下が認められ、二元配置分散分析 (Two-factor factorial ANOVA) によって有意であった ($P < 0.05$)。途中修理を行わなかった群では3年間使用後にハロゲンタイプでは初期値の9%から98%を、LED タイプでは初期値の95%から98%を示した。ハロゲンタイプのうちの1台においては初期の照射光量が $783 \pm 12 \text{mW/cm}^2$ から $66 \pm 9 \text{mW/cm}^2$ へと急激な低下を示していたが、ハロゲンランプの球切れが発生していなかったために術者によって使用し続けられていた状態であった。これに対して途中で故障により修理を行った3台については3台すべてにおいて照射光量の上昇が認められ、二元配置分散分析 (Two-factor factorial ANOVA) によって有意であった ($P < 0.05$)。3年間使用後において初期値の104%から120%を示した。長期間の照射器使用により術者の気付かないうちにきわめて大きな光量低下が起こる事例が観察されたため、光照射器には定期的な光量の検査が必要であることが示された。

【結論】

- 11台の光照射器のうち、3年間の期間内に故障により修理を行った光照射器が3台あった。
- 長期間の照射器を使用しているうちに、術者の気付かないうちにきわめて大きな光量低下が起こることがあるため、光照射器には定期的な光量の検査が必要であることが示された。
- 長期間の照射器の使用により、途中で修理等のメンテナンスを行っていない機種については有意に照射光量が低下していた。

試作レジンコーティング材の材料学的性質

日本大学松戸歯学部 保存修復学講座

○周 秦, 関根哲子, 根本章吾, 岩井仁寿, 小里達也, 西山典宏, 池見宅司

Physical Properties of Trial Resin Coating Material

School of Dentistry at Matsudo, Nihon University School

○ZHOU Qin, SEKINE Satoko, NEMOTO Shogo, IWAI Hitoshi, ORI Tatsuya, NISHIYAMA Norihiro, IKEMI Takuji

【研究目的】今日、歯質とコンポジットレジンが強固に接着するシステムが開発され、従来の修復治療の術式を含めた概念が変化してきた。その一つとして、レジンコーティング法が挙げられる。このコーティング法は、生活歯のインレー修復窩洞形成後の象牙質知覚過敏や窩洞汚染の予防、さらにはインレー体の歯質接着性向上を図る上で有意義な治療手法となりつつある。最近では、レジンコーティングを主目的としたワンステップ型のコート材が市販されるようになり、演者らは市販のハイブリッドコート（サンメディカル HyC）にトリメチロールプロパントリメタクリレート（TMPT）を配合した試作レジンコーティング材の象牙質接着強さを検討した。その結果、HyC中のアクリル酸エステル成分（Ac）とTMPTを67:33%重量比で配合した試料において、象牙質とのせん断接着強さが高くなることが判明し、報告を行った。しかし、TMPTをモノマーとして歯質接着システムに応用した報告がみられず、このTMPTを配合した材料の材料学的性質を調べることを目的として実験を行った。本実験では、AcとTMPTの重量比を変化させて、市販HyCに配合した試料のヌーブ硬さと曲げ強さについて検討した。

【材料および方法】試料はAc:TMPTを100:0 (T0)、67:33 (T33)、33:67 (T67)そして0:100% (T100)の重量比とし、各40gを褐色ナスフラスコに入れ、ロータリーエバポレータを用いて50℃の温度条件下で、重量変化が無くなるまで溶媒成分を留去した。これを、曲げ強さ試験用のテフロン型（4mm×30mm×2mm厚）に填入し、セロハンを介したガラス板で圧接した後、α-ライトIIにて照射を10分間（片面5分）行った。得られた硬化体を、#600の耐水研磨紙で表面研磨した後、80℃で72時間減圧乾燥し、これを曲げ強さ試験用硬化体とした。曲げ強さは支点間距離を10mmとし、インストロン型万能試験機（TG-KN, Minebea）にてクロスヘッドスピード2.0mm/minの条件で測定した（N=5）。ヌーブ硬さは同一試料の両端を3μmインペリアルラッピングフィルム（3M）で研磨して、島津微小硬度計（HNV-2000）にて50g/20secの条件で測定した（N=10）。

【成績】曲げ強さは、TMPTの配合比が大きくなるに従って減少する傾向を示した。ヌーブ硬さに関しては、TMPTの配合比が大きくなるに従って高くなり、T100では37Hkを示した。なお、T33は曲げ強さは市販製品よりも減少する傾向を示し、ヌーブ硬さは高くなることが判明した。

【考察】TMPTは3つの官能基を有しており、レジンコーティング材に配合することで、歯質との接着では架橋密度を増加させて接着強さの向上が期待できる。さらに、重合後も未反応基が存在するために、その上に応用されるフロアブルレジンと未反応基が重合することで安定した接着強さが得られるものと推測され、優れたコーティング材になるものと考えた。そこで、アクリル酸エステルとTMPTの配合比を変化させてHyCに添加したレジンコーティング材を試作し、象牙質に対するせん断接着強さを調べてT33が最も高いせん断接着強さを示したが、その材料学的性質は不明であった。本実験では、TMPTをコート材に配合して得られる材料学的性質の変化を調べ、今後の新材料開発に役立つ情報を得ることを目的として実験を行った。そして、曲げ強さとヌーブ硬さについて検討した結果、TMPT配合比の影響は、両者に関して逆の挙動を示した。曲げ強さに関しては、TMPT配合比を大きくすると減少する傾向を示した。この現象は、TMPT配合比を大きくすると材料自体の強さが低下してくるものと考えられた。また、ヌーブ硬さはTMPT配合比を大きくすると高くなり、TMPTを多く配合すると材料の脆弱性が増すものと考えられた。

【結論】市販HyCにTMPTを配合して作製した試作レジンコーティング材に関して、TMPT配合比が大きくなるに従って、曲げ強さは減少し、ヌーブ硬さは高くなった。T33の曲げ強さは137.3MPaでヌーブ硬さは32.8Hkを示した。

フッ化炭素鎖を含む表面処理剤の歯科への応用 (XX)

—混合シランの物理化学的特性—

神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野¹, ミュンヘン大学歯学部保存修復学講座², 神奈川歯科大学学生体材料器械学講座³, 神奈川歯科大学総合歯科学講座⁴, 神奈川歯科大学顎口腔修復科学講座⁵, 東京理科大学工業化学科⁶

○二瓶智太郎¹, カール・ハインツ クンツェルマン², 倉田茂昭³, 山口真一郎⁴, 大橋 桂¹,

三宅 香¹, 清水統太⁵, 芹田枝里¹, 原 健一郎¹, 近藤行成⁶, 好野則夫⁶, 寺中敏夫¹

Application of Surface Modifier Containing Fluorocarbon Chain in Dentistry (XX)

—Physico-chemical properties of mixed silane—

Div. of Restorative Dentistry¹, Dept. of Dental Materials and Devices³, Dept. of Comprehensive Dentistry⁴ and Dept. of Oral Maxillofacial

Rehabilitation⁵, Kanagawa Dental College, Dental School of LMU², Tokyo Univ. of Science⁶

○NIHEI Tomotaro¹, KUNZELMANN Karl-Heinz², KURATA Shigeaki³, YAMAGUCHI Shinichiro⁴, OHASHI Katsura¹, MIYAKE Kaori¹, SHIMIZU Tota⁵, SERITA Eri¹, HARA Kenichiro¹, KONDO Yukishige⁶, YOSHINO Norio⁶, TERANAKA Toshio¹

【研究目的】ポリフルオロアルキルトリメトキシシランを 3-メタクリロイルオキシプロピルトリメトキシシラン (3-MPS) に添加した混合シランで、ガラス面およびフィラーを処理し、接着強さならびにコンポジットレジン of 引張強さを検討し、3-MPS 単独処理と比較して、有意に高い処理効果と耐水性が向上したことを報告した¹⁻³⁾。今回は、この混合シラン層の耐水性と運動性を熱重量分析 (TGA) と電子スピン共鳴法 (ESR) より検討した。

【材料および方法】実験に供したシランカップリング剤は、3-MPS と鎖長の異なるフルオロアルキルシラン 4 種 [トリフルオロプロピルトリメトキシシラン (1F), ノナフルオロヘキシル (4F), ヘプタデカフルオロデカニル (8F), ヘニコサフルオロドデシル (10F)] の計 5 種とした。混合シランカップリング剤の調製は、3-MPS に対して各フルオロシランを 10, 20, 30, 50, 70 mol% とした。各々調製したシランはシリカフィラー (Aerosil 300) に 2 wt% となるようにエタノール溶液を加え、攪拌、自然乾燥した。乾燥後、100°C で 2 時間加熱し試料と以下の実験に供した。また、各シラン単独で処理した試料も同様に調製した。① TGA 測定; 各処理シリカ 7mg に蒸留水 70ml を加えてサンプル瓶に密閉後、100°C 水中に 24 時間保管した。その後、試料を桐山ロートと濾紙を用い、アスピレーターにより吸引濾過し、室温乾燥した後、熱天秤 (TGA-50, 島津) を用い大気下にて熱重量分析を行い、残留したシラン量を求め、初期の吸着シラン量との差から脱離したシラン重量 (減量%) を算出した。② ESR 測定; 4-[N-[3-triethoxysilylpropyl]carbamoyloxy]-2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinoxyl (スピラベル化シランカップリング剤) を合成し、上記シランに 0.04 mol/l 添加し同様にシリカフィラーに処理し、攪拌、乾燥、加熱処理を施した。各処理フィラーを石英管に詰め、JES-FR100 (日本電子) を用い、ESR スペクトルの測定を行い、処理シリカ上のラジカルの運動性を調べた。

【成績および考察】① TGA 測定の結果、3-MPS 単独処理の脱離量は約 40% であったが、各フルオロアルキルシラン単独処理では 8~15% と有意に低い脱離量であった (p<0.05)。また、混合シランでは各鎖長のフルオロアルキルシランの添加量が多くなるほど脱離量が減少する傾向であった。特に、4F を 20% 添加した混合シランが各混合処理の 10% 添加群と比べ急激に低くなり、他群の 20% 添加群と比較して有意に低い脱離量であった。② ESR 測定の結果、混合シランによる処理シリカの ERS スペクトルは、1F と 10F ではその添加量が増加するに従い、3-MPS 単独処理に比べシグナル強度が低くなり、波形はブロードとなった。反対に 8F は吸収スペクトルの分離幅とシグナル強度とともに高く、シャープであった。また、4F は分離幅とシグナル強度は若干増大したが、ほぼ 3-MPS 単独処理と同様なスペクトルであった。以上のことから、接着耐水性が有意に高かった 4F を添加した混合シラン¹⁻³⁾ では、4F が 3-MPS と分子鎖長が近似していることから、処理層中の各分子は立体的な障害の少ない比較的安定に配置していると考えられた。

【結論】3-MPS との混合シランにより構築される処理層の構造は、フルオロアルキルシランの鎖長と、その混合割合により影響され、耐水性にも違いが示された。

【参考文献】

- 1) 山中ら: 日歯保存誌 39, 221-229, 1996.
- 2) 二瓶ら: 歯材器 19, 495-501, 2000.
- 3) Nihei *et al.*: J Dent Res 81, 482-486, 2002.

試作フッ素系シール材の象牙質脱灰抑制能

神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野¹, 総合歯科学講座², 湘南短期大学歯科衛生学科³
○富山 潔¹, 向井義晴¹, 飯塚純子¹, 椎谷 亨¹, 長谷川晴彦¹, 倉持江里香¹, 平山倫子¹,
平林正道², 藤野富久江³, 寺中敏夫¹

Effect of fluoride-containing sealing material on acid resistibility of dentin

Dept. of Oral Medicine, Div. of Restorative Dent¹, Dept. of Comprehensive Dent²,
Kanagawa Dental College, Dept. of Dental Hygiene, Shonan College³

○TOMIYAMA Kiyoshi¹, MUKAI Yoshiharu¹, IIZUKA Junko¹, SHIYA Toru¹, HASEGAWA Haruhiko¹,
KURAMOCHI Erika¹, HIRAYAMA Michiko¹, HIRABAYASHI Masamichi², FUJINO Fukue³,
TERANAKA Toshio¹

【研究目的】

根面齲蝕を予防することは、高齢者の現在歯数を向上させるために重要である。良好なブラッシングおよびフッ化物含有歯磨材の使用は有効ではあるものの露出歯根面における齲蝕の発症はまだまだ数多く認められる。今回、さらなる歯根面齲蝕の予防効果の向上を目的として開発されたフルオロアルミノシリケートガラスをナノサイズに粉碎したフィラーを原料とする試作フッ素系シール材（ナノシール：日本歯科薬品）を象牙質面に適用し、*in vitro*にて耐酸性を検討した。

【材料および方法】

ウシ下顎中切歯の歯根部の歯頸部直下および直下から 5mm 根尖側の位置を水平に切断し（IsometTM, Buehler, USA）、得られた円筒状試片を 2 分割（Well 3242, Walter Ebner, Germany）した後、表面を 2000 番の耐水研磨紙で研磨して象牙質試料を得た。各試料表面を 2 × 3mm の試験面を残してネイルバーニッシュで被覆した。実験群はコントロール（非処理）群、APF 群、ナノシール A 群、ナノシール B 群の 4 群とした（n=6）。APF 群はリン酸酸性フッ化物ジェルであるフルオールゼリー（Bee Brand Medico Dental）を塗布後に 1 分間放置、ナノシール A 群は 10 秒ごとに混和したナノシールを追加しながら計 20 秒間処理、またナノシール B 群は 20 秒ごとに混和液を追加しながら 60 秒間処理した。各群の処理を行なった後、酢酸ジェル（1.5mM Ca, 0.9mM PO₄, 50mM acetic acid, 0.2ppm F, pH 5.0, 37°C）による脱灰を 1 週間行ない、厚さ 300 μm の薄切切片を作製し、Transversal Microradiogram (TMR) を撮影（PW3830, Spectris, UK）、ミネラル喪失量（IML）を測定（TMR2000, Inspector, The Netherlands）後、各群の脱灰抑制能を比較、検討した。

【結果】

コントロール群では、典型的な表層下脱灰病巣が形成されていた。一方、APF 群およびナノシール B 群ではコントロール群同様表層下脱灰病巣の形成が確認されたが表層および病巣体部のミネラル密度は上昇していた。IML を比較した結果、ナノシール B 群（1,829 vol% × μm）および APF 群（1,766 vol% × μm）はコントロール群（2,234 vol% × μm）に比較し有意に小さい値となり（ $p < 0.05$: One-way ANOVA, Duncan's multiple range test）、ナノシール B 群と APF 群間には有意差は認められなかった。一方、ナノシール A 群（2,036 vol% × μm）とコントロール群との間に有意差は認められなかった。

【考察】

今回の結果は、象牙質表面を被覆したナノシール中のナノサイズフィラーから徐放されたフッ化物などが象牙質の耐酸性の向上に寄与し、同時間処理した APF と同等の象牙質の保護効果を発揮したものと思われ、ナノシールが初期齲蝕の脱灰抑制に有効である可能性が示唆された。今後は APF 製剤と比較した本材料の長期的有効性を比較検討する必要があるものと考えられた。

【結論】

ナノシール塗布後の健全象牙質は、同じ処理時間に規定した場合、APF 処理後と同等の耐酸性を有していたことから、露出歯根面の齲蝕予防に有用であると考えられる。

新規接着性モノマーCMET 配合シーリングコート材の象牙質接着性及び再石灰化誘導能

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
○甕 富美子, 伊藤修一, 塚本尚弘, 齋藤隆史

Dentin Bond Strength and Dentin Remineralization of Sealing Coat Material including Newly Developed Adhesive Monomer CMET

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of
Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
○MOTAI Fumiko, ITO Shuichi, TSUKAMOTO Naohiro, SAITO Takashi

【目的】

象牙質知覚過敏症の治療には象牙質細管を封鎖することが有効である。新規に開発した象牙質再石灰化誘導活性を有する接着性モノマーである 4MET-Ca (calcium 4-methacryloxyethyl trimellitate ; 以下 CMET) をハイブリッドコートに配合したシーリング・コート材を試作し、CMET の象牙質接着性及び再石灰化誘導能を検討した。

【方法】

実験 1: ハイブリッドコート (サンメディカル, 以下 HC) に CMET を 5% 配合したシーリングコート材を試作し、実験に用いた (CMET 群)。コントロールとして HC を用いた (HC 群)。試料として大白歯 16 本を用いて、24 時間後及び 3、6 ヶ月後の微小引張接着強さの測定を行い、Mann-Whitney 検定で有意水準 5% にて統計処理を行った。また SEM にて、引張試験後の破断面の観察及び、24 時間後、3、6 ヶ月後の接着界面の観察を行った。

実験 2: モデルリントランパク質として卵黄由来のホスビチン (Sigma Chem Co., U.S.A.) を用い、ジビニルスルフォンを用いてアガロースビーズに架橋結合し、ホスビチン-アガロースビーズ複合体を作製した。これを 37°C にてハイドロキシアパタイトに対する飽和度 7.59 を有するカルシウム・リン酸溶液中でインキュベートすることにより、象牙質基質による再石灰化をシミュレートする系を作製した (PV 群)。また、ホスビチン-アガロースビーズ複合体を CMET 液にて攪拌、遠心分離、水洗、再度遠心分離後、カルシウム・リン酸溶液中に添加しインキュベートを行った (CMET 群)。同様に HC 液を用いた試料も作成した (HC 群)。それぞれの試料を経時的に回収し、誘導されたミネラル中のカルシウム量を原子吸光分析により計測を行った。インキュベート 36 時間後に誘導されたカルシウム量の測定値を Mann-Whitney 検定で有意水準 5% にて統計処理を行い、また、36 時間後の石灰化物を SEM にて観察を行った。

【結果】

実験 1: 微小引張接着強さの測定において、CMET 群と HC 群の間で 24 時間後、6 か月後において有意差が認められ、CMET 群が有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。微小引張試験後の破壊様式は HC 群、CMET 群、共に混合破壊が最も多く認められたが、HC 群の 6 か月後においては界面破壊も多く観察された。CMET 群は混合破壊と共に、コンポジットレジンでの凝集破壊も多く認められた。接着界面の観察においては、HC 群では 24 時間後では良好な接着状態が確認できたが、3、6 ヶ月後では接着界面に亀裂が多く入っていることが認められた。CMET 群では 24 時間後、3、6 ヶ月後共に良好な接着状態が確認された。

実験 2: PV 群、CMET 群、HC 群ともに 36 時間後に Ca 量の上昇が認められたが、試料間での有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。36 時間後の石灰化物の SEM 像も 3 試料共に結晶の形態、量、サイズは同程度であった。

【考察】

微小引張接着強さの測定において、CMET を配合することにより接着性が向上したが、石灰化誘導実験においては CMET を配合することによる有意差は認められなかった。接着強さの向上に関しては、化学的結合力の向上、CMET がフィラー代わりとなり、重合収縮が減少した等の可能性が考えられる。石灰化誘導実験においては、3 試料間に有意差は認められなかった。これに関しては、CMET 添加量や実験方法に改善すべき点があると考えられる。CMET の再石灰化の可能性やその機序に関しても、今後検討する必要がある。

【結論】

CMET 配合コート材は象牙質接着界面の耐久性に優れ、象牙質知覚過敏治療において有効であることが示唆された。

最新のフロワブルコンポジットレジンの臼歯用修復材としての可能性： 2級窩洞適合性からの検討

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野¹
岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野²
○入江正郎¹，吉山昌宏²

Up-to-date flowable composites for molar restoration: Interfacial gap-formation in Class II restoration
Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and
Pharmaceutical Sciences¹,
Department of Operative Dentistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and
Pharmaceutical Sciences²
○IRIE Masao¹, YOSHIYAMA Masahiro²

【 目的 】

歯冠修復に不可欠な近年のコンポジットレジンには、フィラーの高密度充填化や光重合の確立によって高性能、高機能をもたらしている。最近、国内外各社から臼歯咬合面修復にも可能なフロワブルコンポジットレジン（FCR、インジェクタブルコンポジットレジンとも呼ばれている）が登場した。そこで、臼歯修復材としての可能性を探る目的から、今回は2級窩洞適合性から検討した。

【 材料と方法 】

材料は Table に示す FCR10 種を使用した。

方法は、ヒト小臼歯に2級窩洞（近心歯肉側窩縁から遠心壁までの幅径：3.5mm，頬舌幅径：約2mm，近心歯肉側壁部深さ：4mm，咬合面部深さ：1.5mm）を形成，メーカー指示に沿って歯質処理材，FCRを積層法（1層が2mm程度）で充填，照射させて硬化させた。その後，照射直後研磨および1日間水中浸漬後研磨の両試料を窩洞中心部で遠心方向に切断，切断面の窩洞周囲に間隙が生じている間隙の有無（0.5mm間隔で14箇所）を読み取り顕微鏡（1,000倍）で観察，間隙が観察されなかった合計箇所数を計測，その値を140（1条件につき10箇所を準備，10箇所の測定箇所の総数）で除し，ギャップ阻止率（No interfacial-gap incidence）として%で表記した¹⁾。

【 結果と考察 】

ギャップ阻止率の結果を Table に示した。照射直後研磨では87-94%，1日間水中浸漬後研磨では93-96%の値を示し，すべてのFCRにおいて両者には有意差がなかった。FCRの流動性のよさ，優れた歯質接着性および積層法の影響が考えられる。この結果から，最近のFCRによる2級修復では，窩洞適合性の点から，1日後研磨でなく照射直後研磨の有意性が確認された。

【 まとめ 】

最近のFCRを使用した2級修復のギャップ阻止率から，積層法を用いることにより照射直後研磨法の有意性が確認された。なお，本件に関して利益相反の問題はない。

【 文献 】

1)M Irie *et al.* Dent Mater, 2010, 26, 608-615.

Table 1 No Interfacial-gap incidence for 10 Class II restorations

Restorative material	Percentage		
	Immediately	One-day storage	Alpha value*
SureFil SDR Flow + Xeno IV (Dentsply/Caulk)	94	94	> 0.05
Premise Flowable + OptiBond XTR (Kerr)	93	94	> 0.05
Filtek Supreme XT + Adper Easy Bond Self-Etch Adhesive (3M ESPE)	91	93	> 0.05
Tetric EvoFlow + AdheSE (Ivoclar Vivadent)	87	93	> 0.05
Venus Diamond Flow + iBond (Heraeus Kulzer)	93	95	> 0.05
MI Fil + G-Bond Plus (GC)	93	94	> 0.05
Beautiful Flow Plus F03 + FL Bond II (Shofu)	94	96	> 0.05
Metafil Flo Low-Flow + AQ Bond SP (Sun Medical)	90	93	> 0.05
Estelite Flow Quick + DBC-510 (Tokuyama Dental)	94	94	> 0.05
Clearfil Majesty LV + MTB-200 (Kuraray Medical)	94	96	> 0.05

N=10, *: Significantly different by Mann-Whitney's U-Test between the two sums (two-tailed test at 0.05)

フロアブルレジンの重合収縮挙動および機械的性質

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,
すずき歯科クリニック³, 天野歯科医院⁴

○山本 明¹, 高見澤俊樹^{1,2}, 石井 亮¹, 辻本暁正¹, 森 健太郎¹, 色川敦士^{1,2},
宮崎真至^{1,2}, 鈴木敏裕³, 天野 晋⁴

Polymerization Behavior and Mechanical Properties of Newly Developed Flowable Resin Composites

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Suzuki Dental Clinic³, Amano Dental Clinic⁴

○YAMAMOTO Akira¹, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, ISHII Ryo¹, TSUJIMOTO Akimasa¹, MORI Kentaro¹,
IROKAWA Atsushi^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, SUZUKI Toshihiro³, AMANO Susumu⁴

【目的】

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となっている。このタイプのコンポジットレジンは、さらなる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。また、最近では自己接着性を有するあるいは硬化深度の向上を図った新たなカテゴリーのフロアブルレジンの開発、市販されている。しかし、これらの製品の重合収縮挙動および機械的性質の詳細については、情報が少ないのが現状である。そこで演者らは、硬化深度の向上を図った試作レジンである Bulk Fil と現在市販されているフロアブルレジンの重合収縮挙動および機械的性質について比較、検討を行った。

【材料および方法】

供試したフロアブルレジンは、試作 Bulk Fil (GC, 以後, BF), Sure Fil SDR (Dentsply, 以後, SF), Estelite Flow Quick (Tokuyama Dental, 以後, EF), Filtek Supreme Ultra Flowable Restorative (3M ESPE, 以後, SU), Vertise Flow (sds/Kerr, 以後, VF) の5種類とした。

評価項目としては、以下の6項目とし、それぞれ測定ならびに観察を行った。

- 1) 無機フィラー含有量 (wt %)
- 2) 熱膨張係数 ($\times 10^{-6}/^{\circ}\text{C}$)
- 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) 硬化深度 (mm)
- 6) 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、61.0~68.4 wt %であり、熱膨張係数は43.6~49.8と、いずれもBFで最も小さい値を示した。また、24時間後の曲げ強さは、98.7~143.4 MPa、曲げ弾性率は5.5~9.2 GPaであり、いずれもVFで最も低かった。一方、重合硬化に伴う重合収縮は、いずれの製品も照射開始から急激な体積重合収縮を示し、照射終了後もゆるやかに収縮シプラトーンに達した。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、2.42~3.85 vol %であり、SFで最も低い値を示した。照射強度600 mW/cm², 20 secの条件での硬化深度は1.81~5.45 mmであり、BFで最も大きい値を示した。フロアブルレジンの硬化物のSEM観察からは、BF, SFおよびVFでは不定形フィラーを、EFおよびSUでは球状フィラーを高密度に充填している像が観察された。とくに、BFでは1 μm以下の不定形フィラーを有するとともに、部分的に有機無機複合化を図っている像が観察された。SUにおいて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。以上の結果から、供試したフロアブルレジンの重合収縮挙動および機械的性質は製品によって異なるため、臨床使用の際にはその特性を十分理解する必要があることが示唆された。

【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、重合収縮挙動および機械的性質は製品によって異なることが判明した。

フロアブルレジンのダイナミック硬さ

日本大学松戸歯学部 保存修復学講座¹, 日本大学松戸歯学部 歯科生体材料学講座²
○平山聡司¹, 谷本安浩², 岩井啓寿¹, 西山典宏², 池見宅司¹

Dynamic Hardness of Flowable Composites

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo¹, Department of Dental Biomaterials, Nihon University School of Dentistry at Matsudo²
○HIRAYAMA Satoshi¹, TANIMOTO Yasuhiro², IWAI Hiroto¹, NISHIYAMA Norihiro², IKEMI Takuji¹

【研究目的】

フロアブルレジンの物性向上によりその適用範囲は臼歯部咬合面窩洞に拡大し、充填操作の簡便性もあって日常臨床に無くてはならない使用頻度の高い充填材料となっている。一般的にフロアブルレジンは無機質フィラーの充填率を抑えることで高い流動性を実現している。しかし、フロアブルレジんに従来のヌープ硬さ測定法を適用した場合、マトリックス相の粘弾性的な特性を検出することはできない。そこで本研究は、試料の塑性変形分と弾性変形分の両方を含めて評価することができるダイナミック微小硬度計を用いてフロアブルレジンのダイナミック硬さおよび弾性率を測定した。更にそれらと無機質フィラー含有率との関係について検討を行った。

【材料と方法】

本研究に供したフロアブルレジンとして、クリアフィルマジスティ LV (クラレメディカル, CM), エステライトフロークイック (トクヤマデンタル, EF), ビューティフルフロープラス (松風, BF), フィルテックシューブリームウルトラ (3M ESPE, FS), MI フロー (ジーシー, MI) の計 5 種類を用いた。

1. 無機質フィラー含有率の測定

各フロアブルレジンの未重合ペーストを電子天秤 (AG285、メトラー・トレド) にて約 0.2g 秤量して、るつぼ内に入れた状態で卓上型高速昇温電気炉 (MSFT-1520-P、ニッカー) を用いて、コンポジットレジンを 550°C で 2 時間焼却してレジン成分を除去した。焼却後、再度秤量し、焼成前後の重量から無機質成分重量を算出することで無機質フィラー含有率を計算した (n = 3)。

2. 試験体の作製

各フロアブルレジンをゴムモールド (直径 5mm, 厚さ 2mm) に充填し、ポリエステルフィルムを介してスライドガラスで圧接・保持した状態で可視光線照射器 (α -light II, モリタ) にて片面のみ 90 秒間光照射した。硬化後、試料をモールドから取り出し、試料表面を #800 から #1000 の SiC ペーパーを用いて研磨を行った。研磨した試料は 37°C 蒸留水中に 24 時間浸漬させた後、乾燥させて実験試料とした。

3. ダイナミック硬さおよび弾性率の測定

各フロアブルレジンのダイナミック硬さおよび弾性率の測定は、ダイナミック超微小硬度計 (DUH-211、島津) を用い、最大荷重 20gf (196.1mN), 負荷速度 13.32mN/秒, 荷重保持時間 15 秒の条件で行なった。得られた荷重-押し込み深さ線図より、ダイナミック硬さおよび弾性率を算出した。なお試料数は各 5 個とし、1 試料につき 5 点の計測を行なった。

【結果および考察】

無機質フィラー含有率は、CM: 76.0 \pm 0.2%, EF: 69.1 \pm 0.1wt%, MI: 65.1 \pm 0.2 wt%, BF: 61.6 \pm 0.1 wt%, FS: 60.6 \pm 0.3 wt% の順に高い値を示した。また、各試料のダイナミック硬さは、CM: 40.2 \pm 3.3, EF: 37.0 \pm 1.8, FS: 32.4 \pm 2.5, BF: 31.9 \pm 2.3, MI: 25.8 \pm 2.7 であり、弾性率は、CM: 11.0 \pm 1.0 GPa, EF: 9.8 \pm 0.4 GPa, BF: 8.5 \pm 0.5 GPa, FS: 8.2 \pm 0.4 GPa, MI: 7.3 \pm 1.0 GPa の順に高い値を示した。以上の測定結果から、MI を除いた各フロアブルレジンのダイナミック硬さと弾性率は、無機質フィラー含有率が増えるに従って高くなる傾向がみられた。

【結論】

本研究においてダイナミック超微小硬度計を用いてダイナミック硬さや弾性率を測定することで、フィラー含有率のみならずマトリックスレジン成分についてもフロアブルレジンの機械的特性に影響を与える結果を得ることができた。

各種フロアブルレジンの重合収縮と窩壁適合性 (第4報) - μ CTを用いた重合収縮挙動の評価 -

神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野¹
神奈川歯科大学顎顔面診断科学講座放射線学分野²
ペガサス歯科医院³

神奈川歯科大学生体材料器械学講座⁴

○武村幸彦^{1,2}, 花岡孝治¹, 川股亮太², 海老原 敬³, 押川亮宏⁴, 倉田茂昭⁴, 寺中敏夫¹

Polymerization shrinkage and cavity adaptation of flowable composite resins (Part 4)

- Evaluation of polymerization shrinkage and characteristics with μ CT -

Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine, KANAGAWA DENTAL COLLEGE¹

Department of Oral and Maxillofacial Radiology, KANAGAWA DENTAL COLLEGE²

Pegasus DENTAL CLINIC³

Department of Biomaterials and Devices, KANAGAWA DENTAL COLLEGE⁴

○TAKEMURA Yukihiko^{1,2}, HANAOKA Koji¹, KAWAMATA Ryota², EBIHARA Kei³, OSHIKAWA Akihiro⁴,
KURATA Shigeaki⁴, TERANAKA Toshio¹

【目的】

MI 修復の概念の普及やフロアブルコンポジットレジンの材質向上に伴い、コンポジットレジンの臨床応用が拡大している現在でも、レジンの重合時収縮は修復物の臨床成績を左右する大きな要因であると認識されている。第134回本学会にて、非破壊で窩洞内のレジン収縮の評価が可能なマイクロフォーカスエックス線CT(μ CT)を用い、気泡をマーカーとして重合時収縮挙動を評価した結果、窩壁とレジンの接着状態が窩洞内のレジンの重合収縮挙動に大きな影響を与える要因であることが示され、気泡のトレーサーとしての有効性が推察された。今回、気泡の体積変化に着目し収縮挙動との関係をより詳細に検討した。

【材料と方法】

実験にはフロアブルレジンである MI Flow (MIF; GC: CT値 5649.6 \pm 176.6) を用いた。GN-I COMPOSITE BLOCK (GC0: GC: 13 \times 10 \times 17mm; CT値 2234.1 \pm 27.2) に内径 4mm 高さ 2.4mm (C-factor 3.4) の円筒型窩洞を形成し規格窩洞とした。窩洞全域にシランカップリング剤 (リライエックスTMセラミックプライマー: 3M) を塗布、乾燥後、30秒間練和することで気泡を混入させた MIF を窩洞に充填、重合前後に μ CT 撮影 (ボクセルサイズ 13 μ m) を行い、コンポジットレジンの profile から開放面での収縮量と窩壁での間隙発生量を評価するとともに気泡をマーカーとして、重合に伴う窩洞内部での材料の流れ (収縮パターン) の分析を行った。さらに気泡の体積と移動量の関係を評価すると共に、気泡の体積変化を膨張、収縮に大別し、レジンの収縮挙動との関係を評価した。画像上での気泡の抽出、移動の可視化には TRI/3D Bon (Ratoc システムエンジニアリング) を使用した。

【結果】

以下に、重合前後の 3D 形態変化像 (図1)、気泡の移動ベクトル表記像 (図2) および気泡の膨縮状態 (図3: 白い気泡 (膨張), 黒い気泡 (収縮)) および体積変化 (%) と移動量の相関図 (図4) を示す。

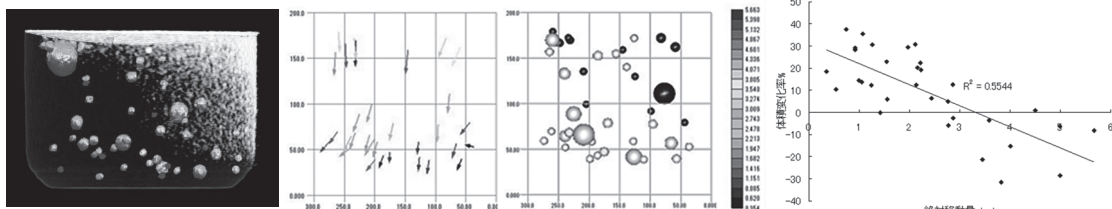


図1

図2

図3

図4

開放面に下方向への収縮が観察されると共に、右側の窩洞側壁上部に局限して間隙形成が認められ、内部気泡は主に下方向 (接着獲得面) に向うことが観察された。これに対応して、開放面、剥離側には収縮した気泡が多く存在することが観察され、逆に、接着獲得側では内部気泡の膨張が生じていることが観察された。また、気泡の体積と移動量には相関が認められなかったが、体積変化 (%) と移動量には高い相関が認められた。

【結論】

今回、 μ CT 画像分析に収縮挙動のマーカーとしてレジンに混入した気泡を詳細に検討した結果、気泡の大きさはレジンの重合収縮挙動を表す上で影響を及ぼさないことが示された。さらに、気泡の体積変化を評価することで、レジン内の応力状態を評価できる可能性が示唆された。

繰返し衝撃荷重がフロアブルレジンの表面形状に及ぼす影響

日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座¹, 日本歯科大学新潟病院総合診療科²
○新海航一¹, 平賢久², 加藤千景¹, 鈴木雅也¹, 鈴木司郎¹

Effect of Cyclic Impact Loads on Surface Properties of Flowable Resin Composites

Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata¹
Comprehensive Dental Care at Niigata Hospital, The Nippon Dental University²
○SHINKAI Koichi¹, TAIRA Yoshihisa², KATO Chikage¹, SUZUKI Masaya¹, SUZUKI Shiro¹

【研究目的】

フロアブルレジンはフィラー含有量を高めて物性を向上させた結果、前歯部に限らず臼歯部の咬合面窩洞にも適応範囲が拡大されている。また、填塞時の操作性が良好であるため臨床での使用頻度が高くなってきた。しかしながら、対合歯の咬頭が直接的・連続的に接触する状況下でのフロアブルレジンの修復物表面の形状変化に関しては、これまでのところ詳細に検討されていないのが現状である。

そこで、*in vitro*において繰返し衝撃荷重負荷試験による臼歯修復用フロアブルレジンの表面形状の変化をプロファイルし、口腔内での咬合接触点における修復物の耐久性を推測することが本研究の目的である。

【材料および方法】

実験材料としては、4種類の臼歯修復用フロアブルレジンスなわちクリアフィル[®]マジェスティ[®]LV (CMLV; クラレメディカル)、エステライトフロークイック (EFQ; トクヤマデンタル)、ユニフィル[®]ローフロープラス (ULP; ジーシー)、およびビューティフィルフロープラス F00 (BFP; 松風)を用いた。またコントロールとしてはクリアフィル[®]マジェスティ[®] (クラレメディカル)を用いた。セレック2・ビタブロックマークII (I8-A3C)の上面中央部に、#149ダイヤモンドポイントを用いて椀型窩洞(直径4mm、深さ2mm)を形成した。窩洞内にK-エッチャントを塗布して10秒間放置後、水洗乾燥、次にセラミックプライマー[®] (クラレメディカル)を塗布して5秒間放置後、エアブローを行ってシランカップリング処理を施した。ボンディングはクリアフィル[®]メガボンド[®]・ボンドを塗布し、エアブローにより薄膜にしてから光照射を10秒間行った。レジン填塞は2回積層法により行い、まず窩洞の約1/2を填塞して30秒間光照射し、2回目はやや過剰に填塞して30秒間光照射した。光照射器はキャンデラックス[®] (モリタ)を使用し、照射出力580mWで光照射した。填塞直後に、#1500耐水研磨紙を用いて填塞面を平坦に仕上げて試料を完成した。

連続衝撃試験機(吉田精機)を使用し、蒸留水に試料を浸漬した状態で修復物中央に向けて金属製(SK3)円錐型打撃ヘッド(半球状、直径3mm)を自然落下させた。落錘質量は100g、落下距離は10mmとし、120rpmで4万回まで繰返し衝撃荷重を負荷した。表面粗さ形状測定機(Surfcom470A)を用いて荷重負荷1万回ごとに、修復物表面で衝撃荷重により欠損を生じた部位のプロファイルを記録した。プロファイルをスキヤニングし画像解析ソフトウェア(Image-Pro[®] Express)を用いて欠損部の平均深さを算出した。1試料から欠損部の中心部で直交する2つのプロファイルを作成し、各実験群において5試料から10個のプロファイルを得た。ANOVAとTukey検定による統計学的解析を行い、1万回ごとに各実験群の間の有意差を検定した($p < 0.05$)。

繰返し衝撃荷重試験4万回後の試料に関しては、走査型電子顕微鏡を使用して衝撃荷重を受けて変化した修復物表面の微細形態を高倍率で観察した。

【結果および考察】

4万回負荷後における欠損部の平均深さとSDは、CMLV: 29.5±30.1 μ m、EFQ: 11.5±7.7 μ m、ULP: 8.8±5.7 μ m、BFP: 16.1±23.5 μ m、コントロール: 9.3±5.5 μ mであった。衝撃荷重の回数が増加すると、いずれのフロアブルレジンの修復物表面の欠損部が拡大する傾向がみられたが、2万回までの拡大は僅かであった。しかし、衝撃荷重3万回負荷後の計測では、CMLVで2個、BFPで1個の試料が2万回負荷後に比べて著しく大きな凹みを示した。凹みを示した部位を高倍率で観察すると無数の亀裂が認められ、打突点から内部に拡大しているような所見が認められた。

連続衝撃荷重に対する修復物表面形状の変化から推察すると、衝撃荷重に対するフロアブルレジンの耐久性はコントロールとほぼ同等と考えられるが、4万回後ではフロアブルレジンの一部の試料に疲労限界と思われるような破壊像が観察されたため、臨床での長期予後に懸念がもたれる。

修復性象牙質形成促進剤および増粘剤を添加した接着性レジンシステムの象牙質への接着強さ

日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座¹

日本歯科大学大学院新潟病院総合診療科²

○加藤千景¹, 平賢久², 鈴木雅也¹, 海老原隆², 若木卓², 関秀明², 新海航一¹

Dentin Bond Strength of Experimentally Developed Adhesive Resin Systems Containing Reparative Dentin-promoting Agents and Thickening Agent

Department of Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University¹
Niigata Hospital, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University²

○KATO Chikage¹, TAIRA Yoshihisa², SUZUKI Masaya¹, EBIHARA Takashi², WAKAKI Suguru², SEKI Hideaki², SHINKAI Koichi¹

【目的】

これまでの研究により、CaCl₂添加プライマー、象牙質マトリックスタンパク質1 (DMP1)由来合成ペプチド(pA, pB)添加プライマー、hydroxyapatite 添加ボンディング材から構成される歯質接着性システムにてラットに対し直接歯髄覆罩を行うと、特異な三層構造を呈すことがわかった。これはCaCl₂の拡散・浸透が原因であると考えられ、これを防ぐために増粘剤 (Aerosil) を添加したプライマーを試作した。本研究ではプライマーに添加した増粘剤が、象牙質とコンポジットレジンの接着強さにどのような影響を与えるか検討を行った。

【実験方法】

ヒト抜去歯の咬合面を削除し、耐水研磨紙#120~#600を用いて平坦な象牙質面(各群につき5歯)を形成し、透明アクリルチューブ(内径6mm、高さ3mm)を開窓した両面テープで固定した。AD Gel(10%NaClO Gel, Kuraray Medical)で5分間処理後6%NaClOと3%H₂O₂で交互洗浄を行い、表1に示す表面処理を行った。

各表面処理後、約1mmの厚さでClearfil Majesty LV(A3, Kuraray Medical)を塗布し20秒間光照射、次いでClearfil Majesty(A3, Kuraray)を約2mm積層修復し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)により象牙質接合界面断面積が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)に取り付け、小型卓上試験機EZ Test 500N(Shimadzu)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Bonferroni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】

各種表面処理方法による微小引張り強さを表1に示す。Aerosilを添加しないControl Groupの接着強さが最も高かったが、Group 1(Aerosil 5wt%)およびGroup 2(Aerosil 7.5wt%)との間に統計学的有意差は認められなかった。一方、Group 3(Aerosil 10wt%)の接着強さは他の実験群と比較して有意に低い値を示した。また、7.5wt%以上添加したプライマーはゲル化傾向が強くて操作し難かったが、5wt%程度の添加では操作性が比較的良好であった。

【考察】

増粘剤であるAerosilを添加しないコントロールと5wt%あるいは7.5wt%のAerosilを添加した各実験群の間には、象牙質接着強さにおける有意差が認められなかったが、10wt%添加した実験群は他群に比べ有意に低い値となった。したがって、増粘剤の添加量は本接着システムの象牙質接着強さに有意な影響を与えるものと推察され、Aerosilの添加量は接着強さの面では7.5wt%以下が望ましいと考えられる。

《表1》各種表面処理方法と微小引張り接着強さ

実験群 (n=20)	表面処理方法	接着強さ MPa: mean (SD)
Group 1 Aerosil 5wt%	Mega bond Primer + CaCl ₂ 5wt% + Aerosil 5wt% 添加プライマー(20秒間) ⇒エアブロー⇒P2(20秒間)⇒エアブロー⇒光照射(10秒間) ⇒ MB2 塗布 ⇒光照射(10秒間) ⇒修復	32.1±7.2 ^a
Group 2 Aerosil 7.5wt%	Mega bond Primer + CaCl ₂ 5wt% + Aerosil 7.5wt% 添加プライマー(20秒間) ⇒エアブロー⇒P2(20秒間)⇒エアブロー⇒光照射(10秒間) ⇒ MB2 塗布 ⇒光照射(10秒間) ⇒修復	32.6±5.4 ^a
Group 3 Aerosil 10wt%	Mega bond Primer + CaCl ₂ 5wt% + Aerosil 10wt% 添加プライマー(20秒間) ⇒エアブロー⇒P2(20秒間)⇒エアブロー⇒光照射(10秒間) ⇒ MB2 塗布 ⇒光照射(10秒間) ⇒修復	25.4±6.5 ^b
Control Group Aerosil 0wt%	Mega bond Primer + CaCl ₂ 5wt% 添加プライマー(20秒間) ⇒エアブロー⇒P2(20秒間)⇒エアブロー⇒光照射(10秒間) ⇒ MB2 塗布 ⇒光照射(10秒間) ⇒修復	38.2±8.8 ^a

P2: Mega bond Primer + pApB 5wt%
MB2: Mega bond Bond + hydroxyapatite (OHAp) 10wt%
Clearfil Mega bond (Kuraray Medical)、
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)

薄層試作オペークレジンの色彩学的検討

日本大学大学院松戸歯学研究科歯学専攻¹

日本大学松戸歯学部保存修復学講座²

○関根哲子^{1,2}, 周 秦^{1,2}, 福嶋千春², 大場(高鹿)志保², 池見宅司²

Colorimetric Study on Examination Thin Layered Trial Resin

Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo¹

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo²

○SEKINE Satoko^{1,2}, ZHOU Qin^{1,2}, FUKUSHIMA Chiharu², OBA(KOUROKU) Shiho², IKEMI Takuji²

【研究目的】

臨床において、う窩処置後の着色歯質を遮蔽するためにオペークレジンを使用する頻度が高くなってきた。コンポジットレジンが半透明性材料であるために、オペークレジンには積層したコンポジットレジンにその色が反映することなく、薄い層でも着色歯質の色を遮蔽する性質が求められる。演者らは、コンポジットレジン修復のより審美的修復を目指し、顔料の配合比を変化させて積層充填に用いられる試作オペークレジンの開発を試みてきた。オペークレジンやコンポジットレジンの色は、それぞれの厚さによって異なった色となることが多く報告されており、このことが臨床的に積層充填を応用する際のシェード選択を困難にしている。この問題点を解決する方法として、できるだけ少ない種類のオペークレジンとし、できるだけ薄い層で背景色を遮蔽でき、その上に積層されるコンポジットレジンに色に影響を与えない材料が求められる。

そこで、本研究では、窩洞の深さを2.0 mmと想定し、試作オペークレジンの0.3 mmと0.5 mm厚さの背景色遮蔽効果とコンポジットレジンの色に与える影響を色彩学的に調べることを目的として実験を行った。

【材料と方法】

試作オペークレジン (trial2) はジルコニアフィラーを7%含有したレジン基材として、黄、赤、黒の顔料配合量を変えて調色した。比較対象として市販オペークレジンには Metafil Flo Opaque (サンメディカル, Me)、PALFIQUE ESTELITE LV OPAQUER (トクヤマ, LV)、UniFil Lo Flo (GC, Uni) を使用した。trial2 および市販オペークレジンは、直径13.0 mmのディスク状の試料とし、光重合後、厚さが0.3 mm、0.5 mmとなるように研磨した。コンポジットレジンには Fantasista (サンメディカル) のA1~A4を使用し、直径13.0 mmのディスク状の試料を光重合後、厚さが1.5 mm、1.7 mm、6.0 mmとなるよう研磨した。光重合には G-Light Prima (GC) を使用し、試料表面は5 μm 砥粒のインペリアルラッピングフィルム (3M) にて最終研磨を行った。

積層試料は、オペークレジンとコンポジットレジン試料を組合わせて、厚さが2.0 mmとなるようにした。厚さ6.0 mmのコンポジットレジン試料は、コンポジットレジン自体の色の測色用試料とした。

背景色はコンピュータ VALUESTAR (NEC) にて作製し、 L^* 値が①96.96 (白色背景)、②50.08 (灰色背景)、③12.98 (黒色背景) の3種類を使用した。なお、①と③の色差は84.90であった。

測色はハンディ型分光色差計のNF999 (日本電色工業) を用い、色の測定方法 JIS Z 8722、測色用標準イルミナント及び標準光源 JIS Z 8720 に準じて D_{65} 光源、2度視野の条件で $L^*a^*b^*$ 値を求め、積層試料とコンポジットレジン自体の色との色差を背景色①と③で比較した。

コンポジットレジン自体の色は $L^*a^*b^*$ 表色系の中心値に出来るだけ近似した背景色②の上に厚さ6.0 mmのコンポジットレジン試料を設置して測色し、この $L^*a^*b^*$ 値をコンポジットレジン自体の色とした。色差は、 ΔE^*ab の臨床基準3.6以下を知覚色差として評価を行った。遮蔽効果に関しては、Translucency Parameter (TP 値) を算出して評価を行った。

【結果と考察】

オペークレジン0.5 mm試料のTP値は、trial2が0.43、Meが10.87、LVが6.69、Uniが19.74であった。オペークレジン0.3 mm試料のTP値は、trial2が0.47、Meが18.00、LVが14.13、Uniが31.66であった。このことから、オペークレジン試料の厚さが薄くなれば遮蔽効果は少なくなるが、trial2は0.3 mmの厚さで十分に背景色を遮蔽する効果を有していることが示唆された。

積層試料に関しては、背景色①と③の両方で6.0 mm試料との色差が知覚色差3.6以下となったのは、trial2の0.5 mm試料ではA1, A3.5、trial2の0.3 mm試料ではA1, A2, A3.5であり、市販オペークレジンには全て知覚色差以上の値を示した。全ての積層試料において、0.3 mm試料の方が0.5 mm試料よりも6.0 mm試料との色差が小さい値を示した。このことから、オペークレジンが薄いとコンポジットレジン厚みが増すため、コンポジットレジン自体の色に近似することが示唆された。Uniの背景色③で測色した0.3 mm積層試料において、6.0 mm試料との色差はA1, A2, A3.5では3.16以下となり、黒色背景においてはコンポジットレジンに近似した色となることが確認された。本研究から、試作オペークレジン trial2 は0.3 mmの厚さで背景色を十分に遮蔽する効果のあることが確認されたが、他の種類のコンポジットレジンとも比較検討する必要があると考えられた。

ウルトラリン酸ナトリウムの着色除去効果

昭和大学歯学部歯科保存学講座¹

昭和大学歯科病院美容歯科²

リジェンティス株式会社³

○小安正洋^{1,2}, 真鍋厚史^{1,2}, 柴 肇一³, 久光 久¹

Effect of Ultraphosphates on Teeth Whitening

Department of Clinical Cariology, school of Dentistry, Showa University¹

Department of Aesthetic Dentistry, Showa University Dental Hospital²

RegeneTiss Incorporation³

○KOYASU Masahiro^{1,2}, MANABE Atsufumi^{1,2}, SHIBA Toshikazu³, HISAMITSU Hisashi¹

【目的】ポリリン酸は生体内に存在する成分で、食品内にも添加されており、その安全性が確保されている。また再生医療の分野においても細胞の増殖促進、コラーゲン増産作用、骨再生促進作用、抗菌効果など、様々な研究がなされている。近年、歯科分野においてポリリン酸の中でもリン酸が網目状に重合したリン酸ポリマーであるウルトラリン酸塩はキレート力が強く、優れたステイン除去、着色防止効果が期待できる。そこで今回、ハイドロキシアパタイトのカルシウムの代用として、ガラスアイオノマーセメントの試片を使用した。実験目的はこのカルシウム代用セメントを人工的に着色させた時のウルトラリン酸ナトリウム水溶液による脱色効果と、あらかじめ蒸留水かウルトラリン酸水溶液に浸漬したセメント試片に浸漬したセメント試片の着色性の違いを比較検討することである。

【材料および方法】試片の制作には既成ステンレス製モールド（外形15mm/内径7mm/厚さ1.5mm）を用いた。ガラス練板、プレパレート、モールドにはあらかじめ分離剤としてワセリンを一層塗布し、練板上にモールドを設置し、ガラスアイオノマーセメント（FUJI I /株式会社ジーシー）を標準粉液比にて20秒練和後、充填、プレパレートにて5分間圧接をし、硬化制作した。出来上がった試片はモールドから外した後、蒸留水内に常温下（20℃）にて、24時間浸漬した。その後、分離剤除去の為に中性洗剤にて洗浄後、#2000の耐水ペーパーにて両面1分研磨、水洗後、超音波洗浄を10分間作用させ試片を完成させた。それぞれの試片は、歯科用色彩計（シェードアイNCC/株式会社松風）にて黒色シート上にて測色を行い、L*a*b*を計測した。その後、市販のコーヒー（FIRE BLACK/麒麟ビバレッジ株式会社）に20℃、72時間浸漬させた後水洗、乾燥させた。実験条件は、A群：ミネラルウォーター（HAWAII water/株式会社トーエル）に0時間（コーヒー72時間浸漬直後）、24時間、48時間、72時間浸漬

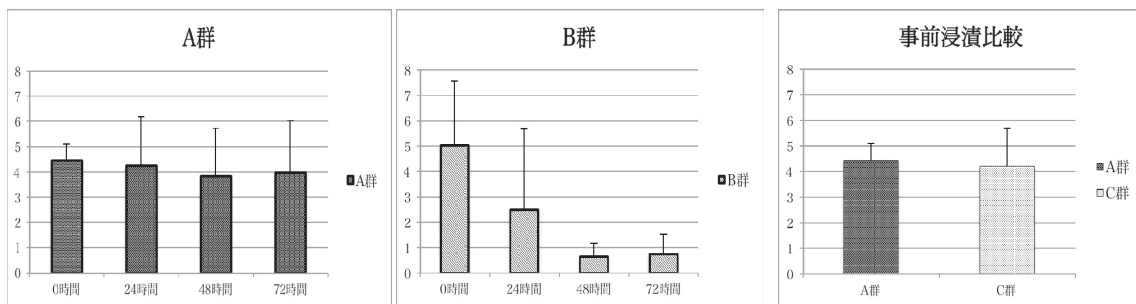
B群：50%ウルトラリン酸ナトリウム水溶液に0時間（コーヒー72時間浸漬直後）、24時間、48時間、72時間浸漬

C群：50%ウルトラリン酸ナトリウム水溶液にあらかじめ24時間浸漬させた後、コーヒー内に72時間浸漬

である。

各群においては、ミネラルウォーターのみに浸漬させた試片のL*a*b*値をコントロールとし、各時間毎に測色を行い、それぞれに対し色差 ΔE を算出し、A群とB群の比較検討を行った。またA群とC群においては、コーヒー72時間浸漬後の試片の ΔE を算出し、比較検討を行った。

【結果および考察】



ΔE はA群がB群に対し48時間、72時間後の計測において有意に大きい値を示した ($p < 0.05$)。NBS単位で比較すると、A群においては ΔE の平均値は48時間以降でAppreceable ($3.0 < \Delta E < 6.0$)であったのに対し、B群ではslight ($0.5 < \Delta E < 1.5$)であり、色調の差は認められず、ウルトラリン酸に着色除去効果がある事が推察された。またC群とA群の比較において優位な差は認められなかった。

オフィスホワイトニング後のコンポジットレジン製の歯質接着性に関する研究

岩手医科大学歯学部 総合歯科学講座総合歯科教育学・保存修復学分野

○志賀華絵, 岡田伸男, 中村芳章, 千葉史子, 山本慎子, 増山知之, 柳谷隆仁, 熊谷啓二, 工藤義之,
野田 守

Bond strength of resin composites to bovine teeth applied by office bleaching materials

Division of Operative Dentistry and Education for General Practice Residency, Department of General Dentistry,
School of Dentistry, Iwate Medical University

○SHIGA Hanae, OKADA Nobuo, NAKAMURA Yoshiaki, CHIBA Fumiko, YAMAMOTO Makiko, MASUYAMA Tomoyuki,
YANAGIDANI Takahito, KUMAGAI Keiji, KUDO Yoshiyuki, NODA Mamoru

【目的】近年、治療当日に効果が発揮されるオフィスホワイトニングのニーズが高まっている。また、ホワイトニング処置後にコンポジットレジン修復を必要とすることがあるが、ホワイトニング後の歯面ではレジンの接着力が低下することが知られている。原因は漂白剤による歯質表面構造の破壊や薬剤の残留であり、一定期間経過後に修復処置を行うことが望ましいといわれている。昨年、商品化されたTiON In Office®(GC)は二酸化チタンを触媒として漂白効果を得る新規材料であり、本材料使用後のコンポジットレジン製の接着強度は不明である。本研究ではTiON In Office使用後のコンポジットレジン製の接着強度について、既存のオフィスホワイトニング材と比較検討を行った。

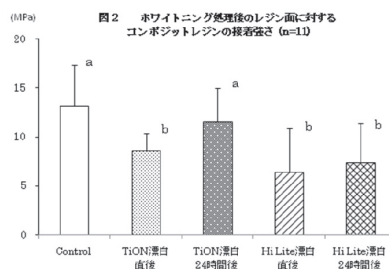
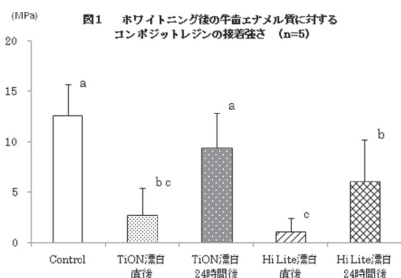
【材料】被着歯質としてウシ下顎前歯のエナメル質を使用した。漂白材はTiON in Office (GC, 以下TiON) およびHi Lite(松風), 接着システムはG-Bond Plus(GC), コンポジットレジン製はSolare (GC, Shade, A3)を使用した。

【方法】1. 牛歯唇面エナメル質新鮮面をDUOMET (BUEHLER)にて出し、耐水研磨紙にて#1000まで研磨後、超音波洗浄を行った。2. 研磨面にTiONあるいはHi Liteにて漂白を行い、30秒間水洗した。3. 試料をランダムに、漂白終了直後および漂白終了後24時間水中浸漬の2群に分けた。4. 両群ともG-Bond Plusを用いて歯面処理後、内径4mm、高さ3.5mmのステンレモールドでSolaleを充填、40秒間光照射(New Light VL-II, 750mW/cm², GC)を行った。Control群は、漂白処置をせずにSolaleを充填した。5. 37°Cで24時間水中保管した後、万能試験機(Instron4204)で引張り試験を行い、接着強度を測定した(クロスヘッドスピード0.5mm/min)。さらに、同様の試験をエナメル質の代わりにレジンプロックを被着面として行った。6. One-way ANOVA, Student-Newman-Keuls testにて統計学的検討を行った。

【結果および考察】図1, 2に引張り試験の結果を以下に示す。牛歯エナメル質, レジンプロックとも漂白直後は有意な接着強さの低下を認めた。漂白後24時間経過での接着強さは、TiONではControlと有意差を認めなかったのに対しHi Liteでは有意に低くなっていた。

漂白後の接着力の低下はレジンプロックでも同様の傾向を示したことから、酸素や残留薬剤の影響と考えられた。24時間経過後、TiONでの接着力の回復は、基材として用いられているグリコールが水中に溶出したためと思われる。また、統計学的に差は認められないが、漂白後24時間経過後もControlより低い値を示していることから、時間経過との関連性については今後も検討が必要である。

以上より、TiONは従来のホワイトニング材よりも漂白後早期にコンポジットレジン修復が行える可能性が示唆された。



mean±S.D. Different letters indicate significant difference (p<0.05)

フッ素含有知覚過敏抑制材の漂白効果への影響

サンメディカル株式会社 研究開発部¹
昭和大学歯学部 歯科保存学講座²

○宮森沙耶香¹, 田中晴美¹, 小里達也¹, 玉岡慶鐘², 東光照夫², 久光 久²

Effect of fluoride-containing desensitiser on bleaching

Sun Medical Co., Ltd. Research and development department¹

Department of Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry²

○MIYAMORI Sayaka¹, TANAKA Harumi¹, ORI Tatsuya¹, TAMAOKA Keisyou², TOKO Teruo², HISAMITSU Hisashi²

【緒言】

有髄変色歯の審美的処置として、過酸化水素や過酸化尿素を主成分とした漂白剤によるホワイトニングが急速に普及しているが、漂白時に知覚過敏を引き起こすことがある。対処法として知覚過敏抑制材を漂白処置前後に適用することが有効である。これまでに我々は、シュウ酸とMSポリマーを基材としたMSコートONEが、漂白効果を殆ど低減させずに知覚過敏を抑制する効果が高いことを報告してきた。しかし、フッ素配合歯磨剤の漂白処置前への適用や、フッ素配合の漂白剤を用いても漂白効果に影響を及ぼさないことは報告されているが、フッ素により耐酸性の向上した歯面に対する漂白効果への影響に関する報告は少なく、高濃度のフッ素を含有したリン酸酸性フッ化物製剤や知覚過敏抑制材に関する報告は認められない。

本研究は、フッ化ナトリウム配合の知覚過敏抑制材「MSコートF」を漂白処置前に歯面に適用し、漂白前後の色調を分光光度計により測定することで漂白効果を検討し、さらに処置後のエナメル質の表面性状を走査型電子顕微鏡(SEM)により観察し検討したものである。

【材料及び方法】

使用した知覚過敏抑制材は、フッ化ナトリウムが配合されているMSコートF、比較として使用したのはMSコートONEである。ヒト大白歯の未研削エナメル質を歯面清掃した後、ダイヤモンド・ディスクで歯冠を頬舌的に半裁したものを漂白用試片とした(n=6)。根面や切断面から漂白剤の作用が及ばないように、市販のマニキュアを被験歯の根面と切断面に塗布し、漂白処理前の被験面のエナメル質のCIEL*a*b*値を、分光光度計(CMS-35FS, 村上色彩)を用い測定した。被験面にMSコートF、もしくはMSコートONEを30秒間擦り塗り処理し、乾燥・水洗処理を行ったものをMSコート塗布群、被験面そのままのものをMSコート未塗布群とした。各々の被験面に対して歯科用漂白剤Hi-Lite(松風)を用い、メーカー指示通りに漂白処置を行った。この操作を9回行い、臨床での3来院に相当する漂白処置を行った。その後、漂白処置後のCIEL*a*b*値を測定し、処置前後の値より色差 ΔE を算出した。平均色差をMSコート未塗布、塗布群と比較することにより、MSコート塗布による漂白への影響があるか否かをStudent t検定を用いて評価した。さらに、漂白処置後の被験歯を乾燥させ白金蒸着を施し、SEM(JSM-5610LV, 日本電子)にて倍率2000~3500倍で観察を行った。

【結果および考察】

漂白処置前後の平均色差は、MSコートONEとMSコートF塗布群において、共に未塗布群と同等の色差であり、何れの群間にも有意差は認められなかった(p>0.05)。よって、MSコートFはフッ化ナトリウムを含有するものの、フッ素による漂白効果への影響はないと考えられた。一方、SEMによるエナメル質表面の観察では、MSコートONEおよびMSコートF塗布歯面には、共にMSポリマー被膜が確認された。これらより、MSコートFを漂白処置前に適用しても、漂白効果には影響がなく、形成されたMSポリマー被膜が歯面に残存することから、知覚過敏抑制能も維持されることが期待できる。

【結論】

フッ化ナトリウムが配合されたMSコートFは、漂白前に歯面に適用しても漂白効果に影響を及ぼさず、従来のMSコートONEと同等の漂白効果を示すことが示唆された。

象牙質知覚過敏抑制剤の湿潤象牙質に対する接触角

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
○渡辺茂文, 日下部修介, 岡 勇輝, 東田一仁, 小竹宏朋, 堀田正人

Contact angle to wet human dentin of dentin desensitizers

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

○WATANABE Shigefumi, KUSAKABE Shusuke, OKA Yuki,
HIGASHIDA Kazuhito, KOTAKE Hiroto, HOTTA Masato

【研究目的】

象牙質知覚過敏症は露出した象牙質に理化学的の刺激が加わった場合に一過性の誘発痛を生じることが特徴である。感覚の亢進程度は象牙質の露出面積, 開口する象牙細管の数, 残存象牙質の厚さなどに依存しており, 細管内液の移動と密接な関連があると考えられている。また, 一過性の誘発痛であるが, 鋭い電撃痛を訴えるため, その処置方法としては, 即効性とその効果の持続性が要求される。さらに隣接面や歯肉縁下などの複雑な形態部位にも応用可能な薬剤や材料が望まれる。したがって, 操作性の容易なもので象牙細管の緊密な封鎖を目的とした知覚過敏抑制剤が使用されている。しかし臨床において, 持続効果には差がみられ, 効果が十分に発揮されないことも多い。その原因として, 細管内液が移動, 流出する中で, 象牙質知覚過敏抑制剤を塗布することが挙げられ, 細管内液が象牙質知覚過敏抑制剤のぬれ性や封鎖性に影響を及ぼしていると考えられる。そこで今回, 象牙質に含まれる水分量が象牙質知覚過敏抑制剤のぬれ性に及ぼす影響について検討するため, 乾燥させた象牙質と湿潤させた象牙質に対して, 4種類の象牙質知覚過敏抑制剤を用いて接触角を測定したので報告する。

【材料および方法】

1. 供試材料

本実験には, 象牙質知覚過敏抑制剤としてMSコートONE (サンメディカル, 以下MS), シールドフォースプラス (トクヤマデンタル, 以下SF), グルーマ・ディセンシタイザー (ヘレウスクルツァー, 以下GLU), デセンシー (日本歯科薬品, 以下DES) を使用した。

2. 試料片の作製

ヒト新鮮抜去歯を用い, 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~#1500), およびダイヤモンドペースト (6~0.25 μ m) を用い通法に従い鏡面研磨を行い, 平坦な象牙質面を作製した。この試料片をそれぞれ37 $^{\circ}$ C, 24時間真空乾燥および37 $^{\circ}$ C, 24時間水中保管したものを試料とし, 乾燥象牙質および湿潤象牙質とした。

3. 接触角の測定

試料片をDropMaster (DM500, 協和界面科学) に静置し, 各々の象牙質知覚過敏抑制剤を1 μ L滴下し, 1秒後, 5秒後, 以後5秒間隔で, 60秒後まで経時的に測定を行った。なお, 室温23 \pm 1 $^{\circ}$ C下で, 各薬剤に対して5試料測定を行い, 平均値を求めた。

【結果】

乾燥象牙質の接触角において, MSは1秒後~60秒後で平均値62.3 $^{\circ}$ ~56.5 $^{\circ}$, SFは22.3 $^{\circ}$ ~8.8 $^{\circ}$, GLUは12.7 $^{\circ}$ ~7.2 $^{\circ}$, DESは13.0 $^{\circ}$ ~5.2 $^{\circ}$ を示し, すべての薬剤は経時的に減少した。一方, 湿潤象牙質の接触角において, MSは1秒後~60秒後で平均値58.0 $^{\circ}$ ~51.0 $^{\circ}$, SFは24.9 $^{\circ}$ ~12.1 $^{\circ}$, GLUは14.2 $^{\circ}$ ~6.6 $^{\circ}$, DESは17.1 $^{\circ}$ ~11.0 $^{\circ}$ を示し, すべての薬剤は経時的に減少した。各種象牙質知覚過敏抑制剤について乾燥象牙質と湿潤象牙質での接触角を比較すると, DESとGLUとSFは湿潤象牙質の方が高い値を示し, MSは乾燥象牙質の方が高い値を示した。

【考察】

象牙質の水分量の経時的変化を電子天秤にて秤量したところ, 特に象牙質を24時間真空乾燥した状態と24時間水中に保管した状態で水分量に大きく変化を認めたことから, 湿潤状態の象牙質に対する象牙質知覚過敏抑制剤の接触角を検討し測定した。SF, GLU, DESの接触角は, 乾燥象牙質が湿潤象牙質より小さい傾向を示したが, MSの接触角は湿潤象牙質が乾燥象牙質より小さい傾向を示し, 他の薬剤よりも接触角が大きい傾向を示した。このことから, 細管内液が移動, 流出する中で, 象牙質知覚過敏抑制剤を塗布することが, 象牙細管の封鎖性に影響を及ぼしている可能性が示唆された。また臨床において, SF, GLU, DESは歯面に対して, 可能な限り乾燥を行い塗布することが望ましく, MSはメーカーの指示通り, 擦り塗りすることが望ましいと考えられた。

今後, さらに象牙質知覚過敏抑制剤の象牙細管封鎖性を検討すべく, 乾燥象牙質および湿潤象牙質に対する象牙質知覚過敏抑制剤塗布後における色素浸透性, 象牙質知覚過敏抑制剤のぬれ性と臨床的症状との関連, 象牙質知覚過敏抑制剤と象牙質における界面の状態のSEM・TEM観察について検討することを考えている。

リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材 (CPD-100) の象牙細管内における経時的変化 — FE-SEM による超微小構造観察 —

鶴見大学歯学部 保存修復学講座

○秋本尚武, 宮内貴弘, 大森かをる, 英 將生, 常盤珠美, 桃井保子

FE-SEM Observation of Experimental Calcium Phosphate Desensitizer in Dentinal tubules

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○AKIMOTO Naotake, MIYAUCHI Takahiro, OHMORI Kaoru, HANABUSA Masao, TOKIWA Tamami, MOMOI Yasuko

【研究目的】

象牙質知覚過敏症の治療には、開口した象牙細管を封鎖する方法が一般的に行われている。クラレメディカルは、リン酸カルシウム系粉材と水系液材からなり、混和することでヒドロキシアパタイト硬化物になる試作知覚過敏抑制材 CPD-100 を開発した。本材料は、混和物が象牙細管に物理的に浸入した後、析出したヒドロキシアパタイトが象牙細管を封鎖することで長期にわたり象牙細管の封鎖が維持できるとされている。今回、スマイヤ層のない象牙質表面に対し歯髓内圧を負荷した状態で CPD-100 を塗布した場合の象牙細管の封鎖状態を FE-SEM により詳細に観察した。

【材料および方法】

ヒト抜去大白歯歯冠部を象牙質が露出するように歯軸に垂直方向に切断し象牙質を露出させ、この象牙質露出面が出るようにプラスチックモールドにブラックコンパウンド (GC) により包埋した。通法に従いシリコンカーバイドペーパーとダイヤモンドペーストにより鏡面研磨を行い、象牙質表層にスマイヤ層がない状態を作製した。その後、歯根を一部切断し、根管内容物を除去した後、根管内に 18 ゲージのステンレスチューブ (内径 0.9 mm×外径 1.26 mm) を挿入し、歯科接着用レジンセメント (スーパーボンド C&B, サンメディカル) で歯根部と接着させ固定した。15 cm H₂O の静水圧下にて歯髓内圧を再現し、歯髓内圧を歯根部より負荷した状態で 37°C 湿度 100% の条件で 1 日保管した。なお根管内に注入する歯髓内液を模したものとして、蒸留水および電解質輸液 (ラクテック注, 大塚製薬) の 2 種類を用いた。その後、歯髓内圧を負荷した状態で象牙質表面に試作リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材 (CPD-100) をメーカー指示に従い塗布し水洗した後、歯根部からの歯髓内圧を維持した状態 (蒸留水と電解質輸液) で 37°C 湿度 100% の条件で 1 日あるいは 1 週間保管した。コントロールとして象牙質表面に無処理のものを同様の条件で保管した。各保管期間後、試料をモールドより取り出し、割断試料を作製した。通法に従い白金蒸着後、FE-SEM (S-4800, 日立ハイテクノロジー) による象牙細管内および象牙質表層の超微構造観察を行った。

【成績および考察】

コントロールとした無処理試料は、各保管期間において象牙質試料表層から蒸留水あるいは電解質輸液が顕著に漏出していたのに対し、CPD-100 を塗布した試料は 1 週間保管試料においても漏出はわずかであった。

破断面の FE-SEM 観察の結果から、1 日保管のコントロール試料において、象牙細管内および象牙質表層に構造物は何も認められなかった。一方、蒸留水および電解質輸液試料ともに象牙細管内に CPD-100 によると思われる封鎖物が観察された。また象牙質表層にはコントロールでは認められなかった膜様構造物が観察された。7 日保管試料では、蒸留水および電解質輸液試料における象牙細管内の封鎖物の状態は様々で、いずれの試料においても象牙質表層に膜様構造物が認められ、電解質輸液試料では蒸留水保管試料よりやや厚い膜様構造物が観察された。

以上の FE-SEM 観察から、CPD-100 による象牙細管封鎖は一週間後まで持続しており、知覚過敏抑制効果が継続して得られることが示唆された。

リン酸カルシウム系象牙質知覚過敏抑制材の漂白エナメル質に対する効果

鶴見大学歯学部保存修復学講座

○大森かをる, 常盤珠美, 秋本尚武, 英 將生, 宮内貴弘, 桃井保子

Effects of Experimental Calcium Phosphate Desensitizer on Bleached Enamel

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○OHMORI Kaoru, TOKIWA Tamami, AKIMOTO Naotake,

HANABUSA Masao, MIYAUCHI Takahiro, MOMOI Yasuko

【研究目的】

有髄歯に対する漂白処置は、近年急速に普及し一般臨床にも取り入れられている。歯の漂白効果は、過酸化水素を分解することによって発生したフリーラジカルが、エナメル質の有機質着色物質の分解を促すとされ、その経路となるのがエナメル質表面に存在するエナメル葉や表面に存在する微小亀裂といわれている。漂白直後および漂白中に生じる象牙質知覚過敏の発生率は軽度のものを含めると 55-75%という報告もあるが、エナメル葉もその原因のひとつと考えられている。今回クラレメディカル社は、リン酸カルシウムを主成分とする粉液タイプの象牙質知覚過敏抑制材 CPD-100 を新たに開発した。そこで、この試作象牙質知覚過敏抑制材 CPD-100 をエナメル葉封鎖の可能性を確認するために、塗布後のエナメル質表面の SEM 観察を行ったので報告する。

【材料および方法】

試料の作製：透照診によりエナメル質の歯軸方向に亀裂を確認した抜去ヒト前歯の舌側面を唇面に対し平行に研削し、試料台に設置した。唇面エナメル質は、フッ化物未配合 P・クリーンポリッシングペースト（モリタ）をプロファイナーカップに塗布し 30 秒間ポリッシングを行った後、水洗・乾燥した。オフィスブリーチ材 松風ハイライト（松風）をメーカー指示に従って混和後エナメル質表面に均一に塗布し照射を行った。ペーストの色調が青から白に変化したのを確認後、除去し、新しいペーストを再度塗布した。これを 3 回繰り返した後、十分に水洗、乾燥し、漂白した面の半分をテープでマスキングした。試作象牙質知覚過敏抑制材 CPD-100 をメーカー指示に従って混和し、専用マイクロブラシにてエナメル質の半面に 30 秒間擦り込んだ。表面のペーストを水洗し、37℃100%湿潤下で 24 時間保管した。

SEM 観察：試料面のマスキングテープを除去し、金蒸着後、走査電子顕微鏡 JSM-5600（JEOL）（HITACHI）にてエナメル質表面の観察を行った。

【結果および考察】

コントロールとした CPD-100 未処理の漂白エナメル質表面は、pH4.1 のオフィスブリーチ材により有機質が除去され、マイクロクラックの存在が顕著に認められた。一方、CPD-100 を塗布したエナメル質表面では、クラックがリン酸カルシウムの結晶により塞がれている状態が観察された。リン酸カルシウムの結晶は、水洗によって除去されず、封入されることが示された。

試作リン酸カルシウム系象牙質知覚過敏抑制材 CPD-100 は、漂白後のクラックを封鎖する効果が認められたことから、有髄歯の漂白直後に塗布することにより、高い頻度で発症する知覚過敏症状の軽減が期待できると思われる。

試作リン酸 Ca 系知覚過敏抑制材 (CPD-100) が象牙質接着に及ぼす影響

鶴見大学歯学部保存修復学講座

○英 將生, 常盤珠美, 宮内貴弘, 大森かをる, 秋本尚武, 桃井保子

The Influence of Experimental Calcium phosphate Desensitizer on Dentin Bond Strength

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○HANABUSA Masao, TOKIWA Tamami, MIYAUCHI Takahiro,

OHMORI Kaoru, AKIMOTO Naotake, MOMOI Yasuko

【研究目的】

象牙質知覚過敏症は、臨床で多くみられる疾患の一つである。現在、象牙質知覚過敏症の治療は、露出した象牙質表面へ知覚過敏抑制材料を塗布する方法が最も一般的に行われている。今回クラレメディカル社は、ハイドロキシアパタイトによって象牙細管を封鎖する生体親和性に優れた試作リン酸 Ca 系知覚過敏抑制材 CPD-100 を開発した。この試作象牙質知覚過敏抑制材の使用によって象牙質知覚過敏が抑制されると考えられるが、実質欠損を伴った象牙質露出面での象牙質知覚過敏症は、象牙質知覚過敏材塗布後にコンポジットレジン修復を行うことがある。そこで今回、この試作リン酸 Ca 系知覚過敏抑制材 CPD-100 の塗布が歯質接着性材料の象牙質接着に及ぼす影響を知るために、CPD-100 塗布後の象牙質接着強さを微小引張接着試験によって検討した。

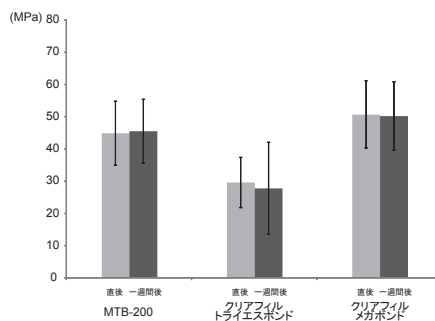
【材料および方法】

微小引張接着試験：抜去ヒト大白歯の歯冠中央部を歯軸に対し垂直方向にマイクロカッターMC-201 で切断後、象牙質露出面を #800~#1500 の耐水研磨紙で研削し、ダイヤモンドペースト 6 μm~1 μm で順次研磨した鏡面研磨面を被着面とした。作製した象牙質被着面に試作リン酸 Ca 系知覚過敏抑制材 CPD-100 をメーカー指示に従って塗布し、その塗布直後 (コントロール)、および、一週間後に、試作ワンボトルセルフアドヒーシブの MTB-200 (クラレメディカル)、ワンボトルセルフアドヒーシブのクリアフィルライエスボンド (クラレメディカル) およびツーステップセルフエッチングシステムのクリアフィルメガボンド (クラレメディカル) の 3 種類の接着システムをメーカー指示に従って塗布し接着処理を行った。接着処理後、コンポジットレジン (クリアフィル AP-X, クラレメディカル) を積層充填し照射した。試料を 24 時間 37°C 水中に浸漬後、接着界面と垂直に 1.5 mm × 1.0 mm となるようにマイクロカッターで短冊状に切断し、被着面が 1.0 mm × 1.0 mm となるようダンベル型にトリミングを行い接着試験の試料とした。その後、万能試験機 (Type 4443, インストロン) を使用し、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min にて微小引張接着試験を行った。微小引張接着試験によって得られたデータは、*t* 検定 ($\alpha=0.05$) にて統計処理を行った。

SEM 観察：微小引張接着試験と同様に作製した象牙質の鏡面研磨面に、試作リン酸 Ca 系知覚過敏抑制材 CPD-100 をメーカー指示に従って塗布し、塗布直後、および、一週間後にその試料の断面を走査電子顕微鏡 JSM-5600 (JEOL) にて観察した。

【成績および考察】

微小引張接着試験の結果を図に示す。微小引張接着試験の結果から、全ての接着システムで CPD-100 の塗布直後と一週間後では、接着強さに有意差は認められなかった。したがって、本実験で使用した試作リン酸 Ca 系知覚過敏抑制材 CPD-100 は、塗布一週間後の象牙質接着強さに影響を及ぼさないことが示された。また、SEM 観察から、塗布直後および一週間後の象牙質断面で象牙細管に CPD-100 が封入されている様子が観察された。



知覚過敏抑制材適用歯面へのボンドフィル SB の接着性

サンメディカル株式会社 研究開発部¹
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²

○井波智鶴¹, 宮森沙耶香¹, 小里達也¹, 西谷佳浩², 吉山昌宏²

Bonding performance of BondfillSB to tooth applied with desensitizer

Sun Medical Co., Ltd. Research and development department¹
Department of Operative dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences²
○INAMI Chidzuru¹, MIYAMORI Sayaka¹, ORI Tatsuya¹, NISHITANI Yoshihiro², YOSHIYAMA Masahiro²

【緒言】

高齢化社会を迎えた昨今、口腔衛生思想の普及も高まり、歯の延命化による高齢者の残存歯数も増加してきている。そのため、くさび状欠損や歯周病の進行に伴う露出歯根の知覚過敏の発症が年々増加傾向にある。可能な限り侵襲の少ない除痛処置を施すことは、患者への負担軽減から極めて重要であり、初回治療時に低侵襲性の知覚過敏抑制材を適用し、経過観察することがこれに該当する。しかし、痛みが消失しない場合や審美的改善が必要となる場合には、接着性レジンによる修復処置を余儀なくされる。

そこで本研究では、低侵襲性の知覚過敏抑制材を適用した歯面における、接着性レジンの接着性への影響を検討した。知覚過敏抑制材にはMSポリマーエマルジョンとシュウ酸水溶液から構成される「MSコートONE」、あるいはフッ化ナトリウムがさらに配合された「MSコートF」を、接着性レジンには柔軟性を有した接着充填材である「ボンドフィルSB」を用いて引張接着試験を行った。また、知覚過敏抑制材の種類の相違によるボンドフィルSBの接着性の比較評価も検討したので報告する。

【材料及び方法】

冷凍保管されたウシ新鮮抜去歯を、耐水エメリー紙を用いて歯冠部象牙質を露出し、#180まで研磨した。研磨面にMSコートONEまたはMSコートF(共にサンメディカル)を30秒間こすり塗り、次いでエアードライ・水洗操作を行った。次に、ボンドフィルSB(サンメディカル)を、本処理面の面積規定(φ4.8mm)した面に、付属のティースプライマーを20秒間作用させた後に、筆積み法にてアクリル棒を植立した。なお、研磨面にMSコート群を適用せずにティースプライマーで処理後、ボンドフィルSBにてアクリル棒を植立したものをコントロール試料とした。何れの試料も室温にて30分間放置後、37℃一晩水中浸漬後、もしくは5-55℃のサーマルサイクル試験(5000回)後に、万能試験機(AG-1S: Shimadzu)を用いて、クロスヘッドスピード2.0mm/minで引張接着試験を行った。

【結果及び考察】

引張接着試験の結果、MSコートONEを適用した象牙質へのボンドフィルSBの接着強さは、水中浸漬一晩後、サーマルサイクル試験後ともに約12MPaの値を示し、何れもコントロールと統計学的有意差は認められなかった(p>0.05)。これに対して、MSコートFを適用した象牙質への接着強さは、37℃水中浸漬一晩後でも著しく低下する結果となった(p<0.05)。これは、MSコートONEよりも耐酸性の向上したMSポリマー被膜が歯面に残存し、ボンドフィルSBのモノマーの浸透・拡散が抑制されたことや、フッ素により象牙質自体の耐酸性が向上し、ティースプライマーの脱灰が不十分になった可能性があると考えられる。

【結論】

知覚過敏抑制材を適用した象牙質へのボンドフィルSBの接着強さを評価した結果、知覚過敏抑制材の種類により、その接着性に影響を及ぼすことが示唆された。

う蝕象牙質に対するボンドフィル SB の接着性

サンメディカル株式会社¹, 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²

○田中晴美¹, 岩崎小百合¹, 西谷佳浩², 吉山昌宏²

Bonding ability of Bondfill SB to carious dentin

Sun Medical Co., Ltd.¹, Department of Operative Dentistry Okayama University Graduate School of Medicine,

Dentistry and Pharmaceutical Sciences²

○TANAKA Harumi¹, IWASAKI Sayuri¹, NISHITANI Yoshihiro², YOSHIYAMA Masahiro²

【研究目的】

近年, ミニマルインターベンション (MI) によるう蝕治療が重要視され, 先駆細菌叢が存在するう蝕感染象牙質の
みを削除し, 再石灰化可能なう蝕影響象牙質は削除せずにセルフエッチングシステムにて接着修復する方法が提唱さ
れるようになった。吉山ら^{1), 2)}は, う蝕象牙質に対する種々のセルフエッチングシステムの接着性について, これま
でに数多くの研究報告をしており, 殆どのボンディングレジンのう蝕象牙質への接着強さが, 健全象牙質のそれと比
較して有意に低下することを明らかにしてきた。一方, 4-META/MMA-TBB レジンの技術応用から新たに開発された「ボ
ンドフィル SB」は, 適度な柔軟性を有した接着充填材で, 側方応力が加わる歯頸部の充填にも適している。歯頸部へ
の充填として, くさび状欠損や歯頸部う蝕の症例が考えられるが, ボンドフィル SB のう蝕象牙質への接着性につ
いては報告がない。

そこで本研究では, ボンドフィル SB のう蝕象牙質への接着性を明らかにすることを目的に, 微小引張接着強さ (MTBS)
試験を行った。

【材料および方法】

被験歯には, 冷蔵保存された咬合面う蝕を有するヒト抜去大白歯を用いた。う蝕の程度を分類するため, う蝕検知
液 (クラレメディカル) にて染色を行い, 象牙質面において赤染部と淡ピンク染部の露出が見られるまで #180 の耐水
研磨紙で研削した。本実験では赤染部をう蝕感染象牙質, ピンク染部～淡ピンク染部をう蝕影響象牙質と定義した。
この表面に, ボンドフィル SB (サンメディカル) に付属のティースプライマーにてメーカー指示どおりに歯面処理を
行った後, ボンドフィル SB を筆積み法にて使用し 1cm 角のアクリルブロックを接着させた。なお, 歯面処理に表面処
理材グリーン (サンメディカル) を用いた場合を比較試料とした。その後, 試料を 37°C 水中に 24 時間浸漬させた後,
低速回転ダイヤモンドカッター ISOMET (BUEHLER) にて薄片に切り出して接着面積が 1mm² となる試験片を作製し, 小型
卓上試験機 EZ-TEST (島津製作所) でクロスヘッドスピード 1.0mm/min にて引張接着強さを測定した。得られたデータ
は分散分析, Tukey-HSD Test にて有意水準 5% にて統計処理を行った。

【結果と考察】

ティースプライマーを用いたボンドフィル SB の接着強さは, 健全象牙質およびう蝕影響象牙質では共に 35MPa 前後
を示したのに対し, う蝕感染象牙質では約 17MPa の値を示した。健全象牙質とう蝕影響象牙質間に有意差は認められ
なかったが, う蝕感染象牙質は有意に低い結果となった。表面処理材グリーン処理では, 健全象牙質およびう蝕影響
象牙質で約 35MPa, う蝕感染象牙質で約 22MPa となり, ティースプライマーと同様の傾向を示した。う蝕象牙質に対す
る接着強さは, う蝕の状態によりモノマーの浸透・拡散性が影響したと推察した。

【結論】

ティースプライマーを用いたう蝕影響象牙質に対するボンドフィル SB の接着強さは, 健全象牙質と同等で良好な接
着強さを示したが, う蝕感染象牙質に対しては有意に低下することが示唆された。

【文献】

- 1) 吉山昌宏ら: う蝕感染象牙質へのレジック接着性: セルフエッチングボンディングシステムの効果; 接着歯学 17, 186-191, 1999.
- 2) 吉山昌宏: 1 ステップ接着システム その現状と課題; The Quintessence 23, 79-83, 2004.

前処理の複合がボンドフィル SB の各種被着体に対する接着性に及ぼす影響

サンメディカル株式会社¹, 大阪大学大学院歯学研究科 歯科理工学教室²

○大槻 環¹, 荒田正三¹, 抜井康浩¹, 今里 聡²

Influences of complex pretreatment on bonding ability of Bondfill SB to various substrates

Sun Medical Co., Ltd.¹, Department of Biomaterials Science, Osaka University Graduate School of Dentistry²

○OOTSUKI Tamaki¹, ARATA Masami¹, NUKII Yasuhiro¹, IMAZATO Satoshi²

【研究目的】 ミニマルインターベンションの概念が普及してきた近年では、補綴物の破損や補綴物周囲の歯質欠損が生じた場合でも、その範囲が大きくなければ、コンポジットレジン充填による補修修復を行うことが少なくない。2011年2月に発売されたボンドフィル SB (サンメディカル) は、4-META/MMA-TBB レジンの技術を応用して開発された接着性を有する充填用レジンであり、金属や陶材に対する高い接着性と適度な柔軟性を併せ持つ。液材、粉材、キャタリスト V と、エナメル質・象牙質兼用セルフエッチングプライマーの「ティースプライマー」を組み合わせた構成からなり、前述のような補修症例への使用にも適している。

ところで、接着性レジンの最良の性能を発揮するには被着体にあわせた前処理が必要になるが、異なる被着体が近接する症例などでは前処理材の塗り分けが困難で、部分的に重なって塗布されてしまうことも十分に考えられる。そこで、本研究では、前処理材が重なって塗布された場合のボンドフィル SB の接着性能について検討した。

【材料および方法】 歯面処理材としてボンドフィル付属のティースプライマーを、貴金属用前処理材として V プライマー (サンメディカル) を、セラミックス用前処理材としてポーセレンライナー M (サンメディカル) を使用した。エナメル質、象牙質試料は、冷凍保存した抜去ウシ前歯を注水下で #180 の耐水研磨紙で研削して作製した。また、歯科用金銀パラジウム合金 (CAST WELL MCR : GC, 以下 Pd)、歯科金属焼付用陶材 (スーパーポーセレン AAA : ノリタケデンタルサブライ, 以下 Ce)、歯科用ジルコニウム (ジルコニアセラミックス : 品川ファインセラミックス, 以下 Zr)、歯科用コンポジットレジン (ファンタジスタ : サンメディカル, 以下 CR) を被験体とし、#600 耐水研磨紙で研磨後にアルミナサンドブラスト処理を行った面を被着面とした。各被着体に以下に示した方法で前処理を行った後、ボンドフィル SB を築盛して試験片を作製した。試料を 37°C 水中に 24 時間浸漬した後、オートグラフ (AG-10kNIS, 島津製作所) を用いて、クロスヘッドスピード 2.0 mm/min にて引張り接着強さを測定した。

<被着体の前処理方法>

前処理材の塗布順	被着体					
	象牙質	エナメル質	Pd	Ce	Zr	CR
コントロール (メーカー指示通り)	○	○	○	○	○	○
ティースプライマー → V プライマー	○	○	○	—	—	—
ティースプライマー → ポーセレンライナー M	○	○	—	○	○	○

【結果と考察】 歯質に対する接着強さに関しては、ティースプライマー処理面に V プライマーまたはポーセレンライナー M を重ねて塗布した場合でも、ティースプライマーのみのコントロールと比較して有意差は認められなかった ($p > 0.05$, Student's *t*-test)。また、他の被着体に対しても、ティースプライマーの前塗布はボンドフィル SB の接着強さに影響を及ぼさなかった。これらのことから、前処理の複合がボンドフィル SB の各種被着体に対する接着の阻害因子とはならないことが明らかとなった。

【結論】 異なる被着面への前処理材の塗り分けが困難で、二つの処理が重なった場合でも、ボンドフィル SB は高い接着性能を発揮することができ、歯質と金属あるいは歯質と陶材といったように異種の被着体が混合した部分の補修修復に適した充填材であることが示唆された。

24%EDTA 水溶性ジェルの根管壁スミヤー層除去性能

平鹿総合病院 歯科¹, 日本歯科薬品株式会社 研究所²

○寺田林太郎¹, 下田恵美², 横田兼欣², 常川勝由²

Smear layer removal by 24% EDTA water-soluble gel as a root canal irrigant

Dentistry, Hiraka General Hospital¹, R&D, Nippon Shika Yakuhin Co. Ltd²

○TERATA Rintaro¹, SHIMODA Emi², YOKOTA Kazuyoshi², TSUNEKAWA Masayoshi²

【目的】

演者らは、根管拡大時の潤滑材および根管壁スミヤー層除去材として適用すべく、操作性に優れ、製材を透して根管口を視認できるように透明化した 24%EDTA 水溶性ジェルを試作した。本研究では、試作 24%EDTA 水溶性ジェルおよび市販の 3 種ジェル状 EDTA 製材 (RC・ブレップ、グライド、ファイリーズJ) の水に対する溶解性、ならびに各 EDTA 製材浴下で根管拡大および洗浄を行った後の根管壁のスミヤー層の除去状態を比較検討した。

【材料および方法】

実験に使用した材料を表に示す。

製品名	製造業者	Lot.
試作 24%EDTA 水溶性ジェル	日本歯科薬品	YA7
RC・ブレップ	プレミア	100914
グライド	メルファー	35415
ファイリーズJ	ウルトラデント	B4PPP

実験 1: 溶解試験; 透明ガラス容器に各 EDTA 製材を 0.1g 採取後、精製水を 2mL 加え密閉し、振盪したときの各 EDTA 製材の水への溶解性状を観察した。

実験 2: 根管壁スミヤー層除去試験; 単根のヒト抜去歯を歯頸部で切断し、その歯根を手用 K-ファイルにて各 EDTA 製材浴下で #60 まで円周ファイリング法により根管拡大を行い、再度各 EDTA 製材を根管内に注入し 1 分間根管洗浄、さらに試作 24%EDTA ジェルについては 2 分間根管洗浄を行った。次亜塩素酸ナトリウムで根管洗浄した後、歯根を長軸に沿って 2 分割し、白金蒸着を施し、走査電子顕微鏡 (JSM-7000F、日本電子) にて倍率 800 倍で観察を行った。なお、観察部位は根管口部、根管中央部、根尖部の 3 箇所とした。

【結果】

実験 1; 試作 24%EDTA 水溶性ジェルは、すみやかに水に溶解し澄明な液体になったが、市販のジェル状 EDTA 製材群は、いずれも乳白色の懸濁液になり水に溶解しなかった。

実験 2; 試作 24%EDTA 水溶性ジェルは、ジェル浴下で根管拡大後、1 分間根管洗浄することで根尖部までスミヤー層を除去していたが、市販のジェル状 EDTA 製材では、ほとんどの部位でスミヤー層が残留していた。

試作 24%EDTA 水溶性ジェルは、2 分間根管洗浄しても根管壁の過剰脱灰は見られなかった。

【考察】

試作 24%EDTA 水溶性ジェルのスミヤー層除去性能は、市販のジェル状 EDTA 製材群よりも優れていた。試作 24%EDTA 水溶性ジェルは、EDTA が水にイオン化した状態で存在するため、水に溶解しにくい市販のジェル状 EDTA 製材群よりもスミヤー層除去性能 (EDTA のキレート能力) に優れていたものと思われる。

試作 24%EDTA 水溶性ジェルは、市販のジェル状 EDTA 製材と同様に粘性を有するので根管拡大時の潤滑材としての効果も期待でき、さらに拡大後 1 分および 2 分間洗浄することで過剰脱灰せずに根尖部までスミヤー層を除去できることから、根管壁スミヤー層除去材としても使用可能であると考えられる。

B0 試薬による根管拡大・形成時の操作性向上の可能性に対する検討

昭和大学歯科病院歯内治療科¹，
奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野²
○山田嘉重¹，増田宜子¹，木村裕一²

Evaluation to the possibility for the improvement of root canal preparation by the B0 reagent

Department of Endodontics, Showa University Dental Hospital¹
Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry²
○YAMADA Yoshishige¹, MASUDA Yoshiko¹, KIMURA Yuichi²

【緒言】

感染根管の症状を改善させるためには細菌に感染している根管部の感染象牙質を過不足なく除去することが重要である。そのため現在歯科臨床において感染歯質の除去を向上させるために根管拡大・形成処置を行う際に次亜塩素酸ナトリウム製剤や EDTA 製剤が使用されている。しかし感染根管の中には根管が汚染有機質で封鎖されている場合や、根管壁象牙質の多くの部位が細菌感染の影響にて著しく軟化している症例は少なくない。そのような状況下において、これらの薬剤では汚染有機質や軟化感染象牙質の除去が効率良く、かつ安全に施行することが困難であることが多々見られる。本研究では齶蝕象牙質の除去を目的に試作した B0 試薬を用いて根管内の汚染有機質や軟化象牙質の除去が効率的に行うことが可能かどうかを検討することを目的とした。

【材料および実験方法】

実験 I として 2 根管を有する透明人工歯を用いて根管内の汚染有機質の除去に B0 試薬が有効かどうかを検討した。それぞれの根管を K-ファイルにて 60 号まで拡大をおこなった透明人工歯 20 本の根管内に人工有機質を添加し、有機質の除去を様々な条件下で行った。各グループ 5 本ずつの人工歯において B0 試薬(グループ 1)，EDTA 製剤として RC プレップ (グループ 2)，次亜塩素酸ナトリウム製剤として AD ゲル (グループ 3) をそれぞれ根管に塗布した後に K-ファイルを用いて有機質の除去を施行し、完全に有機質が除去できるまで操作を繰り返し、有機質除去に要した時間を記録した。対照グループは根管内に何も塗布しないで K-ファイルのみで除去操作を行った (グループ 4)。実験 II として咬合面に歯髄まで達する齶蝕を有する下顎抜去大白歯 32 本を使用した。その中で使用する根管は遠心根管とした。実験に使用した根管は事前にデンタルエックス線にて根管の状態を確認し、根の湾曲度の少なく形態的にも近似したものを使用した。それらを 5 本ずつ 4 グループに無作為に選出し分類した。グループ 5 (B0 試薬)，グループ 6 (RC プレップ)，グループ 7 (AD ゲル) をそれぞれ根管内に塗布後、K-ファイルによる根管拡大を行った。グループ 8 は無処置下において K-ファイルで根管拡大を行った。根管拡大終了後各グループ 3 本ずつの試料は 2 分割に切断した後、根管壁の表面性状を実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察した。残りの各グループ 5 本ずつの試料はスメアクリン、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液、3%過酸化水素水溶液にて洗浄乾燥した後、根管充填を行い 37°C の恒温槽内に 1 週間静置後に辺縁漏洩試験を行った。

【結果】

実験 I の結果として有機質の除去に要した平均所要時間はグループ 1 : 2 分 2 秒、グループ 2 : 2 分 49 秒、グループ 3 : 2 分 57 秒、グループ 4 : 3 分 22 秒であり、B0 試薬を使用したグループが最も有機質の除去時間が短く、RC プレップ、AD ゲル、未処置の順であった。有機質除去後の根管は全ての試料において特記すべき問題点は認められなかった。天然抜去歯を用いて根管拡大を施行した実験 II の結果では、グループ 5~8 の全ての試料において実体顕微鏡観察、SEM 観察共に歯質に問題が生じる現象は確認されなかった。辺縁漏洩試験においても 4 グループともに顕著な色素の漏洩は認められずに全てのグループでほぼ類似した辺縁漏洩状態を呈していた。

【考察】

本研究結果より B0 試薬は根管内の有機質の除去および根管拡大の操作性の向上に有効であることが確認された。また B0 試薬を用いた根管拡大操作後の根管壁には破折や亀裂などの異常な所見も観察されず、根管充填操作にも影響を与えないことも確認され、本試薬の根管治療への使用における問題点は認められなかった。これら得られた結果より B0 試薬は根管拡大・形成における操作性の向上に対しても有効である可能性が強く示唆された。

埋伏した下顎第一大臼歯に施した外科的歯内療法

日本歯科大学附属病院総合診療科¹, 矯正歯科², 生命歯学部歯科保存講座³

○北村和夫¹, 山崎孝子¹, 石井隆資¹, 阿川透久¹, 清水章矢¹, 四方田 拓¹, 小森 成², 勝海一郎³

Surgical endodontic approach in impacted mandibular first molar

Division of General Dentistry¹ & Orthodontics², The Nippon Dental Univ. Hospital, Department of Endodontics & Operative Dentistry³, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo

○KITAMURA Kazuo¹, YAMAZAKI Takako¹, ISHII Takashi¹, AGAWA Yukihiisa¹,

SHIMIZU Fumiya¹, YOMODA Taku¹, KOMORI Akira², KATSUUMI Ichiroh³

【はじめに】

埋伏歯は、下顎第三大臼歯、上顎第三大臼歯、上顎犬歯にはよくみられるが、下顎第一大臼歯の埋伏症例は少ない。今回、埋伏した下顎第一大臼歯に根管治療と外科的歯内療法を行う貴重な機会に遭遇し、良好な経過が得られたので報告する。

【症例】

患者：20歳 男性

主訴：下顎左側第一大臼歯の埋伏

現病歴：2年前本学附属病院矯正歯科に紹介来院した。下顎左側第二小臼歯が遠心傾斜、下顎左側第二大臼歯が近心傾斜しており、間隙はわずかで第一大臼歯が萌出するスペースはなかった。各種エックス線検査後、下顎左側第二小臼歯と第二大臼歯の間隙を拡大し、スペースを確保して第一大臼歯の挺出を試みるも挺出せず、アンキローシスの精査のため、総合診療科に転科した。

既往歴：特記事項なし

家族歴：特記事項なし

現症：下顎左側第一大臼歯は、完全に埋伏しており咬合面以外は歯槽骨に覆われているが、植立方向に異常は見られない。挺出時に歯冠部に装着したフックの一部を肉眼で認めるが、歯冠まで歯肉に覆われている。

診断：下顎第一大臼歯の埋伏

処置と経過：下顎左側第一大臼歯の埋伏状態の精査のため、日本大学歯学部附属病院放射線科に歯科用CTの撮影を依頼した。検査の結果、下顎左側第一大臼歯は近心1根、遠心2根の3根であり、遠心2根の間を下顎管が走行し、遠心舌側根が舌側の皮質骨内で湾曲していた。遠心舌側根が皮質骨内で湾曲しているために挺出は困難と判断した。第一大臼歯の咬合面を覆っている歯肉を電気メスで切除し、麻酔抜髄を行った。1週間後に側方加圧法で根管充填し、ガラスアイオノマーセメントで仮封した。遠心頬側根と遠心舌側根の間に下顎管が走行しているため、遠心2根を分割抜去した。矯正歯科で、近心根の歯冠を歯肉縁上まで挺出させた。接着性レジンで支台築造し暫間被覆冠を装着した。今後、近心根の歯冠と第二小臼歯、近心根の歯冠と第二大臼歯の間を矯正力によりコンタクトさせて全部歯冠補綴により最終修復する予定である。

【考察とまとめ】

埋伏歯となる歯には、萌出できない何らかの原因がある。挺出を試みる際には、その原因を正確に診断する必要があり、特に複根歯においてはどの歯根が原因根かの分析が必須である。今回の症例では、下顎第一大臼歯の遠心根は2根であり、その間を下顎管が走行し、遠心舌側根が皮質骨内で湾曲しているため、挺出できなかった。デンタルエックス線検査やパノラマエックス線検査では歯根の形態や歯根と下顎管との位置関係の把握は困難であったが、歯科用CTにより歯根形態や下顎管の位置を三次元的に正確に把握して治療を進めることができ、改めて歯科用CTの有用性が認識できた。今後、さらに歯内療法の各種症例に対し、検討を加えていく予定である。

オレイン酸、ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした 新規根管充填用シーラーの物性に対するロジンの影響について

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

Influence of Rosin on Physical Properties of The New Root Canal Sealer Contained Mainly with Oleic Acid, Eugenol and Zinc Oxide

Department of Endodontics & Operative Dentistry¹, Section of Radioisotope Research,
Research Center for Odontology², Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○MAEDA Munehiro¹, HASHIMOTO Shuichi², ISHITSUKA Katsumi¹, KATSUUMI Ichiro¹

【はじめに】

新規根管充填用シーラー開発のため、ロジンの種類を変化させた際のオレイン酸、ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした練和物の物性について検討を行った。

【材料および方法】

1. 新規根管充填用シーラーの組成

粉 剤 (1g 中) : 酸化亜鉛 (和光純薬) 400mg、ロジン (ハリマ化成) 400mg、その他 200mg

液 剤 (1ml 中) : オレイン酸 (和光純薬) 0.75ml、ユージノール (Aldrich, USA) 0.15ml、その他 0.1ml

軟化温度および酸価の異なる 3 種類のロジン (A, B, C) をそれぞれ使用した。粉剤 1g に対して液剤 0.5ml の割合で、金属スパチュラを用いてガラス練板上で 30 秒間練和した。

2. 硬化開始時間

室温で練和直後のセメントを練板上で観察し、シーラー稠度が変化しはじめた時間を練和開始点から起算して硬化開始時間とした。

3. 崩壊度試験

練和直後のシーラーを内径 6mm、高さ 5 mm のシリコンチューブに填塞後、37°C、100%湿度の恒温恒湿器に 24 時間静置した。シーラー重量を計測後、重量既知のビーカーに蒸留水を 50ml 加え、試料が容器に触れないように懸垂し 24 時間 37°C で保管した。試料をビーカーから取り出し、水分を 60°C の恒温器内で蒸発させた。放冷後、実験前後のビーカーの重量差を浸漬前の練和物重量で除し、崩壊率 (%) とした。測定は各種ロジン (A, B, C) を含む各シーラーにつき 3 個ずつ行った。

4. 色素浸透試験

内径 5mm、長さ 30mm のガラス管に練和直後のシーラーを填塞し、直ちに 1%メチレンブルー水溶液中に浸漬した。浸漬後 24 時間でガラス辺縁への色素浸透距離をノギスで測定した。なお、測定は各種ロジンを含む各シーラーにつき 3 個ずつ行った。

5. 硬化度の測定

内径 8 mm、高さ 5 mm のガラス管に練和直後の各シーラーを填塞した。空气中に 24 時間静置したシーラーを測定用試料とした。先端径 1 mm、長さ 100 mm の測定針を装着したテクスチャーアナライザ (EZ Test、島津製作所) の試料台の上に、自家製固定装置を用いて試料の上面が測定針に接触するように固定し、測定針が試料の中央部に進入するように調整した。1 mm/sec の速度で測定針が試料に進入する際の荷重変化を専用データ処理ソフト (TRAPEZIUM、島津製作所) で記録し、硬化度の比較に用いた。なお、測定は各シーラーにつき 3 個ずつ行った。

【結果および考察】

1. ロジンの違いにより、硬化開始時間は 50 分～20 時間となった。
2. 崩壊度はロジンの種類により 0.04～0.14% の範囲で異なった。
3. ロジン A を含むシーラーの色素浸透距離はロジン B, C に比べて最も短い値を示した。
4. 硬化度は硬化開始時間が早いと上昇する傾向がみられた。

これまでロジン量の違いが練和物の硬化時間や硬化度と密接に関連することを報告してきたが、ロジン含量の違いのみならず、ロジンの軟化温度および酸価が変化するとシーラーが具備すべき所要性質に影響が生じることが示唆された。

根管長測定可能な学生実習用顎模型の改良

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
○竹田淳志, 池田英治, 小林千尋, 須田英明

Improvement of a Model for Training Electronic Root Canal Length Measurement
Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○TAKEDA Atsushi, IKEDA Hideharu, KOBAYASHI Chihiro, SUDA Hideaki

【緒言】

東京医科歯科大学歯学部学生の歯内療法基礎実習では、ヒト抜去歯を顎模型に植立して実習を行っている。平成16年の実習から、抜去歯を植立したアクリルチューブが容易に着脱できる顎模型を使用している。従来の顎模型は上下顎1対であったが、左右対称にして1つの顎模型のみで実習可能となるように改良したのでここに報告する。

【材料および方法】

透明アクリルチューブ(外径20mm, 長さ:25mm)に即時重合レジンで抜去歯を植立したもの(以下, アクリル植立模型)を容易に着脱できる顎模型を左右対称なものに変更した。これを, 平成23年1~3月本学歯学部5年生の歯内療法基礎実習に使用した。実習終了後, 学生およびインストラクター双方にアンケート調査を行い, 顎模型について検討した。

【結果】

アンケート結果(学生回答数65, インストラクター回答数15)

1) 顎模型の構造について

	学生	インストラクター
使いやすい	36	1
特に問題なし	26	11
改善の必要あり	3	3

2) アクリル植立模型の顎模型への固定について

	学生	インストラクター
しっかり固定できた	52	13
固定が不十分であった	12	2

3) 顎模型での電氣的根管長測定について

	学生	インストラクター
安定して測定できた	30	1
概ね問題なし	30	12
測定に支障があった	5	2

4) 左右対称の顎模型に変更したため, 小白歯と大白歯の植立位置が共通となったことについて

	学生	インストラクター
問題なし	34	2
概ね問題なし	30	9
問題あり	1	2

5) 左右対称の顎模型に変更したため, 費用が約1万円安くなったことについて

	学生	インストラクター
良かった	58	4
やや良かった	4	5
どちらともいえない	1	2
あまり良かったとは思わない	0	2
全く良かったとは思わない	2	1

【考察および結論】

学生およびインストラクターのアンケート結果から, 顎模型の構造, アクリル植立模型の顎模型への固定, 顎模型での電氣的根管長測定については肯定的な評価が多かった。一部で電氣的根管長測定に支障があった場合の原因については, アクリルチューブ内に生理食塩液を浸した綿花を密に充填するのを怠ったため電氣的接続が不十分であったことが考えられる。アンケートの設問4, 5で, 左右対称の模型に変更し, 顎模型を1個のみに変更したことについても好意的な回答が多かった。これらの結果から, 今回改良した電氣的根管長測定可能な学生実習用顎模型は, 学生実習に有用であることが示唆された。

新型エアスケーラーを用いた根管内水酸化カルシウム材の除去について
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 摂食機能保存学講座 歯髄生物学分野¹
吉岡デンタルオフィス²

○石村 瞳¹, 小松 恵¹, 吉岡俊彦¹, 八幡祥生¹, 吉岡隆知², 須田英明¹

Removal of calcium hydroxide paste in the root canal using a new sonic scaler system

Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹
Yoshioka Dental Office²

○ISHIMURA Hitomi¹, KOMATSU Kei¹, YOSHIOKA Toshihiko¹, YAHATA Yoshio¹, YOSHIOKA Takatomo², SUDA Hideaki¹

【緒言】 水酸化カルシウムは、多くの臨床家が根管貼薬の第一選択として使用している。本材（剤）の欠点の一つは除去が困難な点である。根管壁に残存した水酸化カルシウムは、根管充填時の根管の緊密な封鎖を妨げる恐れがあるとされている。近年、可聴波限界音域に発振周波数を有するエアスケーラー（サリー、ヨシダ）が開発された。本製品は、従来のエアスケーラーの持つ不快な音の発生が無く、また、超音波スケーラーとは異なり電磁波を発生せず、心臓ペースメーカーを使用している患者への使用も可能である。本研究の目的は、サリーを用いて根管洗浄を行い、水酸化カルシウムの除去効率を評価することである。

【材料および方法】 実験には2根管性の樹脂製根管模型（ディーメック）7本を用いた。この樹脂製根管模型は、根尖から5 mm, 9 mmの位置にそれぞれイスマスを有している。樹脂製根管模型に水酸化カルシウム材（カルンペックスII, 日本歯科薬品）を緊密に填入した。37°C, 24時間保管後、マイクロフォーカスX線CT (InspeXio SMX1000CT®, 島津製作所) にて各模型を撮像した。ついで、27G 根管洗浄針を用いて30秒間根管洗浄を行った。洗浄液は精製水とした。洗浄終了後、再度マイクロフォーカスX線CT撮像を行った（手洗浄群）。新たに水酸化カルシウム材を緊密に填入後、サリーにUファイル#30（ピヤス）を装着し、30秒間注水下にて根管洗浄を行った。最後に、マイクロフォーカスX線CT撮像を行った（サリー使用群）。得られた画像より、3次元画像解析ソフト (Amira5.3, Visage Imaging, オーストリア) を用いて根管内に残留した水酸化カルシウム材の体積を算出した。データはMann-WhitneyのU検定を用いて統計学的解析を行った。有意水準は5%とした。

【結果】 手洗浄群とサリー使用群との間には統計学的有意差を認め、サリー使用群の方が根管内に残留した水酸化カルシウム材は有意に少なかった。

【考察および結論】 根管内に貼付した水酸化カルシウム材（剤）の除去性に関する研究は数多く存在するが、2次元の解析に留まる研究が多い。今回マイクロフォーカスX線CTおよび3次元画像解析ソフトを用いたことで、根管模型内に残留した水酸化カルシウム材を定量的に解析することができた。手洗浄群とサリー使用群とを比較すると、残留した水酸化カルシウム材の体積には統計学的有意差を認め、新型エアスケーラーの有用性が確認できた。

マイクロヘッドエアタービンハンドピースの下顎大白歯髄腔開拓への有用性

鶴見大学歯学部 歯内・歯周病学講座
○湯本琴美, 山崎泰志, 甲田 智, 小澤寿子

Effects of the micro-head air turbine handpieces on access opening process of mandibular molars

Dept. of Periodontics and Endodontics, School of dental medicine, Tsurumi University
○YUMOTO Kotomi, YAMAZAKI Yasushi, KODA Satoshi, OZAWA Toshiko

【研究目的】

歯の切削時にエアタービンハンドピースヘッドに視野が妨げられてバーが見えなくなり、切削部分を目視できない状況にしばしば遭遇する。正確で安全な形成を行うためには、バー先端の切削状況を注視することが重要である。術者の視界が遮られる原因の一つとして、エアタービンハンドピースのヘッドサイズが大きすぎることがあげられる。エアタービンハンドピースヘッドの直径が小さくなれば可視領域は広がり、高さが低くなれば稼働領域が広がる。そこでエアタービンハンドピースヘッドの小径化が必要となる。今回、ヘッド径 9.0mm でヘッド先端部形態をスリム化したマイクロヘッドエアタービンハンドピース (ウルトラシリーズ) の下顎大白歯髄腔開拓への有用性について比較検討した。

【材料および方法】

使用したエアタービンハンドピースは株式会社モリタ製作所製 TwinPower Turbine のウルトラ M タイプ (PAR-4HUMX-0 : ヘッド径 9.0 mm, ヘッド高さ 10.6 mm, 以下 UM), ウルトラ E タイプ (PAR-4HUEX-0 : ヘッド径 9.0 mm, ヘッド高さ 12.7 mm, 以下 UE), ミニチュアタイプ (PAR-4HMX-0 : ヘッド径 10.5 mm, ヘッド高さ 10.6 mm, 以下 MT), スタンダードタイプ (PAR-4HEX-0 : ヘッド径 10.5 mm, ヘッド高さ 13.2 mm, 以下 ST), トルクタイプ (PAR-4HX-0 : ヘッド径 12.0 mm, ヘッド高さ 13.2 mm, 以下 TT) である。

髄腔付下顎第一大臼歯人工歯 (B22X-END#36・ニッシン社製) を顎模型にセットして髄腔開拓を行った。各エアタービンハンドピースにダイヤモンドバー (ジーシーズスムースカット ER1・GC 社製) を装着して髄腔開拓形成中の近心側壁および遠心側壁の固定位置にバーをセットした状態で、エアタービンハンドピースの挿入方向を規定して、デジタルカメラ (オペ録・キング工業株式会社製) で撮影し記録した。バーの観察可能領域の長さおよび髄腔開拓部窩洞の観察可能領域の面積を ImageJ1.35d (National Institutes of Health, USA) で計測して比較検討を行った。

【結果】

近心側壁にバーを固定した場合には、バーの可視状態の長さは UM 装着時の長さを基準 (100%) とすると、UE80.7%, MT57.3%, ST17.6%, TT8.0%であった。また、髄腔開拓形成中の観察可能面積の減少率は、窩洞外形の面積に対して UM39.3%, UE43.1%, MT62.7%, ST91.8%, TT92.2%であった。同様に遠心側壁にバーを固定した場合には、バーの可視状態の長さは、UE85.6%, MT73.6%, ST40.7%, TT37.3%であった。また、髄腔開拓形成中の観察可能面積の減少率は、UM9.8%, UE14.0%, MT30.8%, ST56.8%, TT61.2%であった。

【考察】

エアタービンハンドピースヘッドのヘッド径およびヘッド高さが小さいほど、髄腔開拓形成中に装着しているバーおよび窩洞面積の観察可能領域が大きくなり、小さいヘッドサイズのエアタービンを使用した方が切削時の視野を妨げずにより安全に切削できることが分かった。近心からの観察方向であったので、バーの位置が近心側壁であると遠心側壁の場合より可視領域は狭くなった。今後ミラービューについても検討を加えたい。また、これまでにコンパクトタイプのエアタービンハンドピースヘッドが導入された経緯はあるが、切削効率が悪かったため広く普及しなかったものと考えられる。通常はヘッドサイズが小さくなるとトルク値も小さくなる傾向があるが、今回使用したトルクタイプ以外のエアタービンハンドピース間では、切削感の相違は感じられなかった。

【結論】

マイクロヘッドエアタービンハンドピースは、従来タイプと比べて切削感に相違はなく、下顎大白歯髄腔開拓時のバーと窩洞の可視領域を広範囲に確保できることが明らかになった。

感染根管治療時の意図的根尖狭窄部拡大が術後疼痛発生に与える影響と 非歯原性疼痛との関連の検討

九州歯科大学齶蝕歯髓疾患制御学分野¹, いばやし歯科医院², 九州歯科大学総合診療学分野³
○永吉雅人¹, 居林晴久², 西野宇信¹, 鷺尾絢子¹, 市丸美希¹, 平田志津¹, 吉居慎二¹,
西藤法子¹, 廉 晃勲¹, 中川愛加¹, 寺下正道³, 北村知昭¹

Effects of preparation of apical foramen on postoperative pain in infected root canal treatment and the relationship with orofacial pain

Division of Pulp Biology, Operative Dentistry, and Endodontics, Kyushu Dental College¹, IBAYASHI Dental Clinic²,
Division of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College³,

○NAGAYOSHI Masato¹, IBAYASHI Haruhisa², NISHINO Takano¹, WASHIO Ayako¹, ICHIMARU Miki¹, HIRATA Shizu¹,
YOSHII Shinji¹, SAITOU Noriko¹, YEOM Kyoungun¹, NAKAGAWA Aika¹, TERASHITA Masamichi³, KITAMURA Chiaki¹

【目的】

現在の歯内治療では、抜髄時の根管形成については根尖狭窄部直前で留めるべきというコンセンサスが得られている。しかしながら、根尖性歯周炎に対する感染根管処置時の根管形成については、根尖孔外に及ぶ感染を除去するには根管形成時に根尖狭窄部を拡大する必要があるという考え方で、根尖狭窄部の拡大は根尖孔外病巣を刺激し感染・炎症を拡大させるので行うべきではないという考え方がある。根尖狭窄部の拡大は術後疼痛の出現頻度にも関連している。根管治療後の術後疼痛との関連についてこれまでに行われた研究で報告されている根管治療後の術後疼痛の発生頻度は2~80%と幅広い。発生頻度が異なる要因として1) 研究デザイン, 2) 治療方法, 3) 治療記録の採取時期, 4) 痛みの計測方法, 5) 統計学的分析方法の違いが考えられる。

一方、近年の歯科医療では、非歯原性疼痛 (Orofacial Pain) の存在が認識されつつある。長期間根管治療を行っても症状が改善しない場合、非歯原性疼痛に対処することで症状が軽減・改善することも報告されており、難治性歯痛の治療時には非歯原性疼痛を考慮する必要がある。

当分野では、歯内治療における治療方針と治療法を統一した歯内治療用クリティカルパスを確立し治療に用いており、本パスに沿った根管治療を行うことで症例の8割が治療回数4回目までに根管充填にいたることを明らかにしている (矢野ら, 日本歯科保存学会雑誌 2004)。今回の研究では、歯内治療用クリティカルパスに基づいた感染根管治療を行った際に生じる術後疼痛の発生頻度ならびに疼痛の程度を調査し、根尖狭窄部の拡大の有無による術後疼痛出現頻度の比較分析を行った。また、対象症例中にみられた非歯原性疼痛併発症例についても併せて検討した。

【研究方法】

1. 症例

九州歯科大学附属病院保存治療科を受診し根尖性歯周炎と診断された患者のうち、今回の研究主旨に同意を得られた症例 (35名) を対象とした。

2. 治療法

症例は無作為に2群、すなわち根管形成時に根尖狭窄部を保存する「従来法群」と根尖狭窄部を拡大する「意図的拡大群」に割り振った。従来法群、意図的拡大群ともに根尖部の形成法が異なること以外は、どの症例も歯内治療用パスに沿った根管治療を行った。

3. データ収集方法

術者は各患者の客観的な臨床症状を来院ごとに記録するとともに、痛みに対する主観的な変化を Wong-Baker FACES Pain Rating Scale (WBFPFR-scale) を用いて確認した。得られたデータを統計解析ソフト (SPSS: IBM 社製) を用いて解析し、治療方法と術後疼痛発現頻度の相関関係を検討した。

【結果】

根尖孔穿通の有無によって術後疼痛の発生頻度に差は認められなかった。一方、術前の疼痛が消退するまでの来院回数は意図的拡大群のほうが多い傾向が認められた。また、全症例中2症例は非歯原性疼痛治療を併用した症例であり、他の症例と比較して来院回数が増加する傾向が認められた。

【考察および結論】

以上の結果は、根尖狭窄部の拡大のみが術後疼痛を誘発する要因ではないことを示している。今後、症例数を増やしながら解析を続けることで術後疼痛発症要因を明らかにするとともに、歯原性疼痛と非歯原性疼痛の鑑別診断に反映していきたいと考えている。

根管形成操作解析装置の開発

- トルク・荷重曲線観察下におけるファイル操作 -

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

○庭野和明, 興地隆史

Development of a Device for Analyzing Dynamic Characteristics of Root Canal Instrumentation: File Manipulation Guided by Real-time Torque-force Curve Monitoring

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

○NIWANO Kazuaki, OKIJI Takashi

【緒言】 根管形成操作手技の習得過程において適切なフィードバックは技術レベルの向上に寄与すると考えられる。しかしながら根管形成時の器具操作状態は一般的には術者の動作等からの推察によらざるを得ない。演者らは根管拡大形成操作の客観的評価法を開発することを目的とし、根管模型への力学的作用の記録、表示をリアルタイムで行う装置を試作し報告した。しかしながらその表示形式はトルク・時間、および荷重・時間の波形であるため根管拡大を行う術者が2つの別波形を同時に視認して根管拡大操作のフィードバック制御を行うことは困難であった。今回トルクおよび荷重を X-Y 平面上(以後トルク・荷重平面)の点の軌跡(以後トルク・荷重曲線)としてリアルタイムで表示する装置(図1)を開発した。また当該表示観察下にてファイル操作のコントロールが可能かを予備的に検証したので報告する。

【材料および方法】 実験では Gates-Glidden bur #2 を用いて根管口より 13mm のプレフレアリングを行った透明エポキシレジン製歯根管模型(S8:ニッシン社製)を用いた。根管模型は基部を加工して装置のトルク・荷重歪ゲージセンサに接続し、K-file 40号により根管形成操作を行ってトルクおよび荷重データを200サンプリング/秒で記録した。

1) **モデルパターンの作製:** 演者1名がモニタ上のトルク・荷重平面表示を注視しながら Watch-winding motion(以下WWM)により定荷重を意識しながら根管形成を行った。記録されたトルク・荷重曲線より正回転と逆回転操作を交互に行うデータ部分のみを抽出し、その領域に相当する長方形範囲をモデルパターンとした。(図2)

2) **モデルパターン非提示による記録:** 歯学部6年次学生、本年度あるいは昨年度歯科臨床研修医10名を被験者とした。計測装置の概容とWWMについてのみ説明を行った後、モニタのリアルタイム表示を見せながらWWMを根管模型で20秒間以上行わせデータを採取した。

3) **モデルパターン提示による記録:** 2)の終了後、トルク・荷重表示上にモデルパターン範囲を示す長方形の青枠を表示し、被験者に枠の範囲で出来るだけ広く軌跡が動くようファイル操作することを指示し同様に記録を行った。

4) **統計処理:** 2)および3)のデータ先頭、すなわち未操作区間のデータおよびそれに続く5秒間のデータを削除した後、以後の10秒間の連続データを検定に供した。枠表示の有無により対応のある2群とし、モデルパターン範囲にデータ点が存在する数について Wilcoxon の符号付順位和検定(GNU R Version 2.13.0)により統計学的有意差を検定した。

【結果】 枠表示の無い場合のモデルパターンへの一致率(モデルパターン範囲に存在したデータ点の割合)は0~19.8%であった。また枠を表示した場合の一致率は25.2~80.0%であった。検定の結果、両者に統計学的有意差を認めた。(P<0.01)

【結論】 今回のファイル操作条件では、トルク・荷重曲線観察下でトルクあるいは荷重負荷を目標に対し変化させることが示された。今後他のファイル操作様式についても検討が必要と思われる。

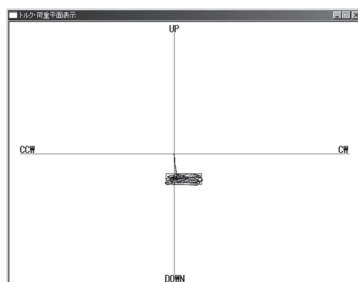
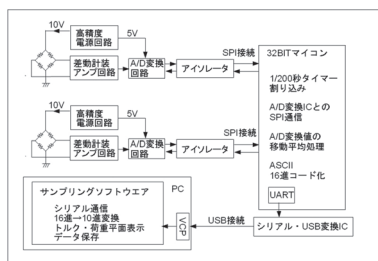


図1:左 リアルタイムトルク・荷重曲線表示装置のブロック図

図2:右 トルク・荷重平面上のモデルパターンとその源波形(実験時は枠のみ表示)

マイクロフォーカスX線 CT 装置による上顎側切歯根管形態の評価 (第2報)

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座

○天野亮子, 勝海一郎

Evaluation of Root Canal Morphology in Maxillary Lateral Incisor Using Micro-focus X-ray CT Device, Part2

Department of Endodontics & Operative Dentistry, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo

○AMANO Ryoko, KATSUUMI Ichiro

【はじめに】

上顎側切歯は、前歯の単根管歯であるにもかかわらず、根管充填後の予後が劣り治療の難しい歯種とされている。第1報ではマイクロフォーカスX線CT装置により連続的な断層像を撮影して三次元像を構築し、上顎側切歯の根管の走行と湾曲度について分析を行った。その結果、根管側枝やS字状湾曲根管など上顎側切歯歯髓腔形態の複雑さが窺われた。今回の実験では、さらなる詳細な観察として、根尖孔の開口位置と根管の扁平度について分析を行った。

【材料および方法】

実験には、第1報で使用したヒト上顎側切歯抜去歯20本を用いた。マイクロフォーカスX線CT装置 (ELE-SCAN、日鉄エレクトックス) を用い、管電圧80kV、管電流60 μ A、スライス厚31.7 μ mの条件で、断層像が根管の走行と垂直になるよう角度を調整しながらいくつかの区画に分け、連続的に断層撮影を行った。得られた断層像上で、根管断面積が最小になった箇所を生理学的根尖孔とみなし、解剖学的根尖からの距離を求めた。

また、根管の扁平度については最初に四方を歯質で囲まれた位置を解剖学的根尖孔とし、その位置から1mmごとに10mmまでの各位置の断層像を選出し測定した。各断層像における根管の最大幅径を長径、これと直行する最大幅径を短径とし、短径/長径を各断面の根管扁平度として判定した。根管扁平度が0.45未満のものを強扁平、0.45以上のものを弱扁平とし、同じ条件で撮影した上顎中切歯20本と比較した。

【結果とまとめ】

1. 根尖孔の位置

20歯中、19歯は根管開口部が根尖端から近遠心的に変位しており、尖端より近心側に開口している歯が13歯、遠心に開口している歯が6歯だった。根管開口部が頬舌的に変位している歯は7歯で、頬側に開口している歯が5歯、口蓋側に開口している歯が2歯だった。また、根管が根尖で分岐し複数開口している場合は、ファイルが最も挿入しやすいと思われる根管の開口部とし、今回完全に根尖端と開口部が一致した歯は見られなかった。解剖学的根尖から生理学的根尖孔までの距離は最大で2.4mm、最小で0.4mm、平均で0.9mmとなった。また、根尖付近で前回の実験では判別出来なかった側枝が6枝確認された。

2. 根管扁平度

20歯について1mmごとに10mmまでの各位置で選んだ断層像、計200部位のうち、根管が勾玉型など極度に湾曲し、長径を測定出来なかった部位が5箇所、強扁平を示した箇所が60箇所、弱扁平は135箇所であった。根尖から1mmでの強扁平の割合は16%、2mmでは32%、以下3mm(45%)、4mm(58%)、5mm(47%)、6mm(35%)、7mm(30%)、8mm(35%)、9mm(5%)、10mm(5%)であった。また、平均扁平度は0.60と全体的に根管は圧平されていた。対して、中切歯では今回強扁平を示した箇所は見られず、全体の平均扁平度は0.84と円形に近い形態であった。

今回の検討により、上顎側切歯は中切歯と比較して全体的に扁平で、特に根尖から3~5mmの位置で強扁平の割合が高く根管充填時に充填困難となることが予想された。今後、拡大や充填後の状態についてなど、さらなる詳細な分析を行う予定である。

Cone-Beam-CT による難治性根尖性歯周炎の診断

松本歯科大学 歯科理工学講座¹, 松本歯科大学 歯科保存学第二講座²,
松本歯科大学 歯科放射線学講座³, 松本歯科大学 歯科保存学第一講座⁴

○河瀬雄治¹, 内田啓一³, 田口 明³, 山本昭夫², 吉成伸夫⁴, 山口祐美²,

西田英作⁴, 内山真紀子², 佐藤将洋², 笠原悦男²

Diagnosis for refractory apical periodontitis using Cone-Beam-CT

Department of Dental Materials, Matsumoto Dental University¹, Department of Endodontics and Operative Dentistry, School of Dentistry, Matsumoto Dental University², Department of Oral and Maxillofacial Radiology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University³, Department of Periodontology, School of Dentistry Matsumoto Dental University⁴

○KAWASE Yuji¹, UCHIDA Keiichi³, TAGUCHI Akira³, YAMAMOTO Akio²,
YOSHINARI Nobuo⁴, YAMAGUCHI Yumi², NISIDA Eisaku⁴, UCHIYAMA Makiko²,
SATOU Masahiro², KASAHARA Etsuo²

【緒言】

歯内保存療法においてエックス線画像から得られる情報は、診断や治療計画の決定において重要な検査項目である。しかしながら口内法エックス線写真だけでは根尖部の状態、根管形態あるいは解剖学的構造物の関係を詳細に検討することは困難なことがある。近年では Cone-Beam-CT (CB-CT) による高分解能 3 次元画像が得ることにより、歯内療法においてもその有用性は高く活用されてきている。CB-CT は、歯内保存・歯周疾患領域だけではなく、埋伏歯の位置的関係や変形性顎関節症あるいはインプラントの術前後の診断や治療などに広く利用されており、松本歯科大学ではすでに 10000 件を越す画像検査を行っている。今回われわれは、1 年以上に及ぶ処置を繰り返しの確な診断が行われなまま処置が継続し、精査治療の目的で本学を紹介された難治性根尖性歯周炎において CB-CT によりの確な診断が行われた 3 症例について報告する。

【症例】

症例 1：上顎洞に及ぶ根尖病変の診断

68 歳の男性。上顎左側第一大臼歯部の継続する疼痛の精査治療目的にて来院。口内法エックス線写真では (写真 1)、頬側遠心根根尖部に透過像を認め、上顎洞底線が一部で不鮮明であった。CB-CT 画像では (写真 2)、根尖病変は上方に拡大し上顎洞底線を挙上しており、一部では洞底線の消失と上顎洞内部に粘液貯留を認めた。また舌側皮質骨の消失も認められた。保存不可能と判断し抜去、上顎洞閉鎖術を施行した。

症例 2：歯根破折の診断

57 歳の男性。上顎左側第二大臼歯部の咬合時疼痛の精査にて来院。口内法エックス線写真では (写真 3)、歯根膜腔拡大と口蓋根根尖部に透過像を認めた。CB-CT 画像では (写真 4)、根尖病変により上顎洞底は挙上され、歯根部に水平性の破折線を認めた。通法による根管拡大・形成を行い経過観察中である。

症例 3：湾曲根管の診断

57 歳の女性。下顎右側臼歯部疼痛の精査にて来院。口内法エックス線写真 (写真 5)、下顎右側第二小臼歯では歯根膜腔拡大を認め、根尖側では近心側への湾曲を認めた。また近遠心側に歯槽骨の水平垂直的吸収を認めた。CB-CT 画像では (写真 6)、歯根膜腔拡大と根尖部病変を認め、根尖部周囲に硬化性骨炎が見られた。歯冠側は舌側に傾斜しており根尖側では舌側方向へ強い湾曲屈曲を認め、舌側皮質骨の菲薄化を認めた。通法により根管拡大、形成および充填を行い経過観察中である。

【考察・まとめ】

CB-CT による歯内療法における適応の範囲としては、複根歯における各根の根尖病変の存在と病変範囲の観察、根管の数・形態 (湾曲度) や走行の確認、フェネストレーション、歯根破折や歯根吸収とパーフォレーションの有無や位置の確認、根分岐部病変や歯内一歯周病変の観察、および根管治療時における同一部位の経時的な観察を行えることである。今回の症例では治療開始前に CB-CT による画像検査が行われていれば、必要以上の治療時間を費やす必要がなかったと考えられる症例であった。近年では治療用マイクロスコープも導入されており、CB-CT の画像情報と併用しながら歯内療法を行うことにより治療成績向上に役立つものと考えられた。

歯科用コーンビーム CT を用いた根尖部骨欠損の三次元的形態評価
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

○小松 恵, 吉岡俊彦, 坂上 斉, 石村 瞳, 海老原 新, 須田英明

The morphological evaluation of periapical lesions using Cone-beam CT in three dimension
Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○KOMATSU Kei, YOSHIOKA Toshihiko, SAKAUE Hitoshi, ISHIMURA Hitomi, EBIHARA Arata, SUDA Hideaki

〔諸言〕 垂直性歯根破折 (VRF) と根尖性歯周炎 (per) は、臨床症状および根尖部 X 線透過像の形態が類似しているために鑑別が困難な場合が多い。歯根破折における特徴的な所見としては、限局した深いポケット形成および暈状の根尖部 X 線透過像が挙げられる。これまでの研究ではデンタル X 線写真の透過像あるいは歯科用コーンビーム CT (以下 CBCT) の近遠心・頬舌断面画像の骨欠損の形態を数値化・評価を行い、VRF の診断に用いてきた。このような 2 次元の評価に対し、本研究では近遠心・頬舌・水平の 3 方向から骨欠損の評価を描出することによって、3 次元的な骨欠損の形態を構築し、VRF と per の骨欠損の形態を比較・検討した。

〔材料および方法〕 東京医科歯科大学歯学部附属病院むし歯外来を受診し、むし歯外来にて CBCT (FineCube®, 吉田製作所) 撮像を行った患者を調査対象とした。患歯にはいずれも根尖周囲外科手術を行い、歯科用顕微鏡にて歯根破折の有無を確認した。破折線が確認された場合には VRF と診断し、破折線が認められなかった場合には per と診断した。なお、VRF は上顎前歯 5 症例および上顎小白歯 2 症例の計 7 症例、per は上顎前歯 8 症例および下顎小白歯 1 症例の計 9 症例で、全 16 症例であった。術前の CBCT 画像を近遠心・頬舌・水平断面画像の 3 方向から評価した。3 次元解析ソフト (Amira5.3, Visage Imaging, オーストリア) を用いて、それぞれの方向で最小スライス厚 (110 μm) の 2 次元画像の骨欠損から、下記のとおり画像を描出した。

1. 水平断面像における描出

上記ソフト Magic Wand ツールを用い、定めた範囲内の画素値で骨欠損部を描出した。すなわち、各症例において全ての断面で骨欠損部を逸脱せず、病変が歯根から離れない画素値を設定し、描出を行った。また、歯根や歯根膜腔の拡大は病変に含まず、骨欠損部を描出した。

2. 近遠心および頬舌断面像における修正

1 で得られた像をもとに近遠心および頬舌断において、骨欠損部を逸脱して描出している部分を修正した。

3. 解析方法

上記の 1 および 2 の評価をもとに、骨欠損部の 3 次元構築モデル (以下 TDM) を作製し、解析を行った。TDM の重心 (x1, y1, z1) と根尖孔の位置 (x2, y2, z2) を三次元座標で求め、その距離を算出し、R とした。また、TDM の体積を V とした。VRF および per における R と V との相関関係について、単回帰分析およびスピアマン試験を用い、有意水準 5% にて統計学的解析を行った。

〔結果〕 VRF においては R と V との相関関係は認められなかったが、per においては両者に統計学的に有意な正の相関関係が認められた。

〔考察〕 VRF と per は、その病変の成り立ちが異なることから、R と V との相関関係に相違があると考えられる。つまり、VRF の場合、一般に破折線に沿って病変が進展するため、per と異なり、歯根側方を含む複雑な形態を呈する。そのため、R と V との相関関係は認められなかったと推察された。一方、per の場合、根尖を中心に病変が進展することから、R と V とに正の相関が認められたものと推察された。

〔結論〕 VRF と per とでは病変の形態が異なり、特に per においては各症例とも相似した形態を呈することが示唆された。

新規ハイブリッドアルギン酸ナトリウム/リン酸三カルシウムスポンジ状担体の
骨髄幹細胞による骨形成能
大阪歯科大学・口腔治療学講座
○柿木栄幸, 好川正孝, 林 宏行

Osteogenesis by bone marrow cells in novel hybrid alginate / tricalcium phosphate sponge scaffold
Department of Endodontics, Osaka Dental University
OKAKIGI Hideyuki, YOSHIKAWA Masataka, HAYASHI Hiroyuki

【研究目的】

歯の再生にとって担体は細胞の増殖・分化のための三次元的な足場となる重要な役割を持つ。歯の再生には象牙質を主とする硬組織の形成を実現する必要がある。そのための担体として、ハイドロキシアパタイトをはじめとする素材の利用が考えられる。スポンジ状の担体は再生を必要とする硬組織の形状に容易に合わせて賦形できる利点を有する。そこで、複雑な形状を持つ歯の再生のために、非動物性のアルギン酸ナトリウムを素材として、賦形が容易なスポンジ状担体の作製を試みた。そして、アルギン酸ナトリウムを主成分とする試作スポンジの多孔性、気孔形状および連通性について、走査型電子顕微鏡的に観察した。さらに、これらのスポンジ状担体における *in vitro*での硬組織誘導を、生化学的および免疫化学的に評価した。

【材料および方法】

超純水 100ml にアルギン酸ナトリウム (AL) 4 g を混和溶解し 4% (w/v) 濃度の AL ゲルを調整した。さらに、10 % (w/v) に α -TCP を加えた 4% 濃度 AL ゲル、および、10% (w/v) に β -TCP を加えた 4% 濃度 AL ゲルを調整した。これら 3 種類のゲルを、すべて均一の形状にするために外径 8mm、内径 6mm、高さ 10mm の円柱状の金属リング内で凍結し、その後、0.5% 塩化カルシウム水溶液に浸漬して架橋した。架橋後、凍結乾燥によって 3 種類の AL 担体を作製した。これらの担体を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察するために 50% ジメチルスルホキシドに浸漬した後、液体窒素で凍結し、直ちに切断した。次いで、エタノール上昇系列での脱水、 τ -ブチルアルコール浸漬、凍結乾燥の後、白金パラジウム蒸着して担体の側面と切断面の超微細構造を SEM で観察した。

6 週齢の雄性 Fischer 344 ラットの大腿骨から骨髄細胞を採取し、初代培養を行った。担体 1 個につき 1×10^6 個の骨髄細胞を播種して 3 週間培養を行った。培養後、培養上清からオステオカルシン量を免疫化学的に定量し、さらに担体を磨砕して得た遠沈上清の ALP 活性を生化学的に測定した。

【結果と考察】

4% 濃度 AL ゲルから作製した担体の側面には気孔の開口部が認められなかった。切断面では気孔が観察され、その径は 30~180 μ m であった。これらの担体では幾層にも重なった板状構造物の屈曲によってできた隙が気孔を形成していた。細い線維状構造に幹細胞が付着し難いことは既に報告されており、層板状の構造は容易に細胞を保持し、固着させ、そして硬組織を形成させる場として適していると考えられる。 α -TCP を含む 4% 濃度 AL ゲルから作製した担体の側面にも気孔の開口部は確認できなかった。切断面では中心部から放射状に配列された 60~300 μ m の径を有する気孔が観察された。これらの気孔は相互に交通していた。 β -TCP を含む担体の側面には気孔の開口部が観察された。これらの直径は 30~60 μ m であった。切断面では 60~360 μ m の径を有する気孔が放射状に配列されており、これらの気孔は相互に交通していることが確認された。 β -TCP を含む 4% 濃度 AL ゲルから作製された担体では ALP 活性は有意に低く、またオステオカルシン量も有意に少なかった。 α -TCP は生体親和性に優れ、また他の TCP より高い溶解性を示してカルシウムイオンを放出し、細胞の活動を促進する。 α -TCP を含む 4% 濃度 AL ゲルから作製された担体で測定されたオステオカルシン量は他の 2 種類の試作担体と比べて有意に大きな値を示した。

【結論】

4% 濃度 AL ゲルを主成分とする試作スポンジ状担体は層板状構造の屈曲でできる隙を気孔として持ち、細胞をその場にとどめることから硬組織形成に効果的であると考えられた。そのなかでも、 α -TCP を含む 4% 濃度 AL ゲルから作製した担体が、硬組織形成に最も有効であることがオステオカルシンの免疫化学的定量的結果から明らかになった。

α-TCP/Te-CP セメントの覆髄剤への応用

1) 各種練和液による硬化時間、pH、圧縮強度への影響

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野¹ 歯科理工学分野²

○武田進平¹, 河野 哲¹, 小栗健策¹, 田中雅士¹, 中野友紀子¹, 土井 豊², 吉田隆一¹

Application of α-TCP/Te-CP Cement to Pulp Capping Materials

1) Effects of Various Mixing Liquids on Hardening Time, pH behavior and Compressive Strength

Department of Endodontics¹, Department of Dental Materials Science²,
Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

○TAKEDA Shinpei¹, KAWANO Satoshi¹, OGURI Kensaku¹, TANAKA Masashi¹, NAKANO Yukiko¹, DOI Yutaka², YOSHIDA Takakazu¹

【目的】

現在、直接覆髄剤として主に用いられている水酸化カルシウムは早期に被蓋硬組織を形成し、その形成量も多い。一方で pH12.5 の強アルカリ性のため歯髄刺激が強く、場合によっては歯髄の広範囲な壊死を生じたり、被蓋硬組織との間に死腔が生じ、強度が低く、封鎖性もないことから、辺縁漏洩による感染の危険性などの問題点も指摘されている。リン酸カルシウムが主成分である α-TCP/Te-CP セメントは、生体親和性が高く、硬組織を誘導するため、近年医科および歯科領域で注目されている。そこで今回我々はこの α-TCP/Te-CP セメントに注目し、各種練和液による硬化時間、pH、圧縮強度への影響を検討した。

【材料および方法】

1. α-TCP/Te-CP セメント粉末の作製

炭酸カルシウムと第二リン酸カルシウム二水塩をモル比 5:6 で機械混合したものを、1500℃で 5 時間加熱し、得られた焼結塊を粉砕してセメント粉末とした。

2. 練和液および練和条件 (粉液比)

① 1M 正リン酸水溶液 P/L1.5、② 1M リン酸二水素ナトリウム水溶液 P/L1.5、③ 1M リン酸二水素ナトリウム水溶液 P/L2.0、④ 2M リン酸二水素ナトリウム水溶液 P/L1.5、⑤ 2M リン酸二水素ナトリウム水溶液 P/L2.0、⑥ 1M クエン酸水溶液 P/L2.0、⑦ 1M クエン酸水溶液 P/L2.5、⑧ 2M クエン酸水溶液 P/L1.5 以下の実験は①-⑧の条件で行った。

3. 硬化時間試験

JIS 規格に準じて行った。

4. pH 挙動

各種条件で練和したセメントをアクリル型に填入し、練和開始から 2 分後にスターラー攪拌中の 37℃、50ml の蒸留水中に静置し、浸漬溶液の pH を 2 時間連続的に測定した。その後 1、3、7、14 日後の pH を測定した。

5. 圧縮強度試験

JIS 規格に準じ、練和開始から 24 時間後に測定した。

【結果および考察】

1. 硬化時間は②が約 52 分と最も長く、⑧が約 2 分と最も短かった。同じ練和液では濃度が高いもの、粉液比が大きいものほど硬化時間が短くなる傾向を示した。

2. pH 挙動は、①②③④⑤では練和直後に約 pH8 を示したのに対し、⑥⑦⑧では練和直後に約 pH6 を示した。その後 2 時間まで、①は徐々に pH が低下したのに対し、その他のものは徐々に pH が上昇した。14 日後には③が約 pH9.3 と最も高く、①が約 pH6.7 と最も低い値を示した。

3. 圧縮強度は⑧が約 14.7MPa と最も大きく、②が約 0.3MPa と最も小さかった。

今回の結果から、α-TCP/Te-CP セメントは練和液によりその性質を変化させることができ、水酸化カルシウムに比べると強度が高く、また、pH を調整することで覆髄剤として歯髄に適度な刺激を与えられることが示唆された。今後は α-TCP/Te-CP セメントの硬化反応機構を明らかにするため、エックス線回折や電子顕微鏡による観察を行い、覆髄剤としての有用性を検討していく予定である。

オートリバーストルク値を変えて TF ファイルを用いた場合の拡大形成の違いに関する研究

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¹

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座²

○松田浩一郎¹, 新井恭子², 北島佳代子², 山田理絵¹, 五十嵐 勝²

Research on differences of root canal preparations with TF files

using different auto reverse torque values

Advanced Operative Dentistry・Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata,
The Nippon Dental University¹

Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University²

○MATSUMURA Koichiro¹, ARAI Kyoko², KITAJIMA Kayoko², YAMADA Rie¹, IGARASHI Masaru²

【緒言】 NiTi ファイルは柔軟性に優れ根管の追従性が高いことから、湾曲根管の拡大形成に臨床応用されている。TF ファイル (TWISTED FILES、SybronEndo、CA、USA ; TF と略す) はマイクロクラックが製造過程で入らず、ファイル使用中も破折を軽減できるといわれている。今回われわれは、TF を用いて湾曲根管模型を拡大する際、トルクコントロール値の違いによって起きる拡大時の荷重の大きさ、作業時間、根管形態などの違いについて検討したので報告する。

【材料および方法】 実験に用いた TF は、先端径#25 でテーパーが .10、.08、.06、.04 の 23mm のもので、トルクコントロールエンジン (X-SMART™、DENTSPLY) に装着して使用した。拡大には根尖部で 30 度の湾曲を有する透明樹脂製根管模型 (ENDO-TRAINING-BLOC A0177、DENTSPLY) を用いた。作業長は 16.0 mm として、TF の使用前にステンレス製手用 K ファイル (21 mm、Zipperer) で #20 まで拡大してから実験に供した。モーター回転数を 500rpm とし、オートリバーストルク値を 1 Ncm もしくは 5 Ncm に設定し、クラウンダウン法にて順次使用した。使用時の抵抗が強くなりファイルを挿入できないかオートトルクリバースが働いたら使用を終了し、次のファイルに進んだ。3名の術者が各トルク値で 3 ブロックずつ拡大し、各トルク値での拡大ブロック数は合計 9 ブロックとした。各ファイル使用後に蒸留水で根管洗浄し、根管洗浄や器具交換に要した時間を除いた各ファイルでの拡大作業時間を合計し、総拡大形成時間とした。拡大中はデジタルフォースゲージ (FGC-18、日本電産シンボ (株)) を用いて 100 ms 間隔で経時的に荷重測定を行い、切削圧ソフト (NKS-162、日本海計測特機 (株)) で記録した。実験終了後、総拡大形成時間および押し込み時と引き抜き時の最大荷重の平均値を求めた。また拡大前後にメチレンブルー水溶液を根管内に注入し、ブロック側方からデジタル画像撮影を行い、画像処理ソフト (Photoshop5.0.1、USA) にて重ね合わせ画像を作製し比較した。

【結果】 総拡大形成時間は 5 Ncm では最長 21.8 秒、最短 10.5 秒、3名の平均±SD は 16.0±3.2 秒であった。1 Ncm では最長 16.1 秒、最短 9.4 秒、3名の平均±SD は 12.3±2.4 秒で、1 Ncm の方が 5 Ncm で使用した場合に比べ短くなった。拡大形成中にファイルに加わった荷重の平均を表に示す。根尖孔に最初に到達したファイルは 5 Ncm では .08 が 5 本、.06 が 4 本であったが、1 Ncm では .06 が 6 本、.04 が 3 本であった。ファイルの破折はなかったが、刃部の伸びが 5 Ncm では .10 と .08 で 9 本ずつ、.06 で 3 本みられ、1 Ncm では .10 で 2 本、.08 と .06 で 4 本ずつみられた。拡大前後の重ね合わせ画像では、5 Ncm で 9 例中 5 例に根尖孔の外側偏位がみられたが、1 Ncm ではみられなかった。

各ファイルの最大押し込み荷重、最大引き抜き荷重の平均値

	<5 Ncm>				<1 Ncm>				
	.10	.08	.06	.04	.10	.08	.06	.04	
Push max	174.6 g	116.6 g	57.1 g	40.4 g	Push max	45.2 g	50 g	86.8 g	52.3 g
Pull max	92.8 g	71.2 g	32.2 g	19.3 g	Pull max	14.7 g	48.7 g	76.8 g	10 g

【考察】 TF の 1 本当たりの切削時間は 2~3 秒以内が望ましいとされ、その場合、総拡大形成時間は 12 秒以内に収まることとなる。本研究の結果から 1 Ncm で使用する方が適した拡大形成時間を得られることがわかった。1 Ncm では .10、.08 使用時に 5 Ncm よりも早くオートリバースがかかるため拡大形成時間が短くなったと考えられる。最大荷重は押し込み時、引き抜き時ともに 5 Ncm では .10 で最大、1 Ncm では .06 使用時に最大となった。また、刃部の伸びが 5 Ncm で高頻度に発生したことから、より小さいトルク値で使用したほうがファイルに負担が掛かりにくいと考えられる。1 Ncm で根尖の偏位がみられなかったのは、小さなトルク値により根管の削り過ぎを防止できたためであると考えられる。拡大後の根管では内湾と外湾ともに拡大されているため、TF は湾曲根管の拡大に適していると考えられる。

【結論】 湾曲根管模型を TF を用いて拡大形成する場合、より小さいトルク値で根管拡大形成を行うことにより、根尖の偏位や刃部の伸びが起りにくくなり、結果としてファイルの破折を防止し易くなることが示された。

4-META/MMA-TBB レジンの象牙質接着に及ぼす次亜塩素酸電解水の影響

明海大学 歯学部 機能保存回復学講座 歯内療法学分野¹,
明海大学 歯学部 口腔生物再生医学工学講座 歯周病学分野²

○小此木雄¹, 中村裕子¹, 小林健二¹, 小谷依子¹, 高橋哲哉¹, 牛込瑛子¹, 橋島弓子¹, 申 基詰^{1,2}

Effect of Hypochlorous-acid Electrolyzed Water on Adhesion of 4-META/MMA-TBB Resin to Dentin

Division of Endodontics, Restorative and Biomaterials Sciences¹,

Division of periodontology, Department of Oral Biology and Tissue Engineering²,

Meikai University School of Dentistry

OOKONOGI Yu¹, NAKAMURA Yuko¹, KOBAYASHI Kenji¹, KOTANI Yoriko¹, TAKAHASHI Tetsuya¹, USHIGOME Eiko¹, HASHIJIMA Yumiko¹,

SHIN Kitetsu^{1,2}

【緒言】 根管充填後の根管封鎖性は、緊密な根管充填とともに、その後行われるポストコアやコア用レジンを使用した支台築造による象牙質との接着も重要な因子である。現在、市販されている接着性レジンの中で、4-META/MMA-TBB レジン(スーパーボンドC & B;サンメディカル社製)は最も確実に象牙質に接着するといわれている。4-META/MMA-TBB レジンの適応は広く、根管治療後の歯冠修復物、ポストコアの着着だけにとどまらず、直接覆髄、穿孔部封鎖などへの応用が報告されている。歯内療法の処置では、根管洗浄剤、根管貼薬剤および根管充填材などの用途で各種薬剤を象牙質に対して作用させることが多いが、根管洗浄剤として最も広く使用されている次亜塩素酸ナトリウム溶液(NaOCl)は、MMA系レジンセメントの象牙質表面との接着強さを低下するという報告がされている。これは、NaOClの有機質溶解作用により、象牙質の脆弱化、または象牙質表面の形態変化やNaOClの残存によるモノマーの浸透や重合が阻害されることで、樹脂含浸層の形成に影響を与えMMA系レジンセメントとの接着界面に空隙が生じることに起因すると考えられている。NaOClによる根管内の洗浄後の接着性材料の接着強さの低下は、支台築造後のファイバーポストやコア用レジンによる修復等を行うにあたっては大きな問題となりうる。近年、高濃度次亜塩素酸電解機能水(パーフェクトペリオ:以下HEW)が開発され、その優れたバイオフィーム除去効果、生体への安全性などが評価され、次世代の根管洗浄剤としての応用が期待されている。また、HEWは、中性であるため歯質への脱灰作用などの懸念はないものとされている。しかし、高濃度のHClO₂や活性酸素による作用が、接着性レジンと象牙質の接着に影響を与える可能性がある。そこで、今回はHEWの接着性レジン象牙質接着に及ぼす影響を検討することとした。

【材料および方法】 試料の作製: 屠殺直後に抜去し冷凍保存した牛上顎前歯20本を使用直前に解凍し、実験に用いた。セメントエナメル境にて歯根部を切除除去後、モデルトリマーにて唇側エナメル質を除去し、象牙質面を露出させた。露出させた象牙質を#600の耐水研磨紙を用いて注水下にて30秒間研磨し被着面とした。作製した試料は5本ずつ4群に分け、被着面の処理として、NaOCl, HEW, MTAD, 超純水(コントロール)にそれぞれ10分間浸漬させた。また、接着性レジンセメントとしてSuperbond C&B(SB, サンメディカル)を用いた。微小引張り接着試験: 上記の被着面処理を行った後、あらかじめ光硬化させたレジンコア(直径4mm, 厚さ3mmの円柱状, DC core Automix, クラレメディカル)を、メーカー指示どおりに用い、象牙質面に接着させた。その後、各試料を37°Cの超純水中に24時間浸漬した。微小引張り接着強さの測定には大型卓上剪断試験機(INSTRON, インストロンジャパンカンパニーリミテッド)を用い、クロスヘッドスピード1mm/minの条件で測定した。得られた微小引張り接着強さの測定値はystatの方法を用いて有意水準5%にて統計処理を行った。SEM観察: 接着界面の観察は、接着試験と同様に、非着面を処理し、レジンセメントで接着した試料を作製し、低速切断機を用いて切断した。その後、15%EDTA, 10%NaOClに10分間、グルタルアルデヒドに浸漬し、金蒸着を施した後、SEMにて観察したS-700(日立製作所)。

【結果】 剪断試験により、NaOCl処置群では象牙質に対する4-META/MMA-TBBレジンの接着強さは、他の群と比較して有意に低かった($P<0.05$) HEWによる処理群は、コントロールと比較して有意差は認められなかった。NaOCl処理を行ってない群では、レジンセメントにおいて明瞭なレジニングが観察された。NaOClでは接着界面に空隙が観察されたが、HEWでは認められなかった。

【考察および結論】 剪断試験による接着強さを検討した結果、HEWによる処理群は、超純水で洗浄したコントロール群と同程度か、さらに接着強さが向上するという結果となった。HEWによる処理では、NaOClのような象牙質面の脆弱化や樹脂含浸層への影響はなかったものと考えられる。HEWは、中性(pH 7.2程度)であり、NaOClのような有機質溶解作用を持たない。根管内に残存した感染性の有機物質を除去することは、抜髄根管や感染根管においても利点である。HEWには、NaOClと異なり有機質溶解作用への期待は低いと考えられている。一方で、根管充填後や支台築造処置前の処置として、HEWによる洗浄を十分に行っても、4-META/MMA-TBBレジンの接着強さへ影響しないことが示唆された。しかし、歯質への影響の詳細に関しては、さらなる検討が必要である。

模擬根管におけるパルスレーザーの洗浄効果の評価

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野
○松本妃可, 吉嶺嘉人, 牛島 寛, 佐藤浩美, 坂田篤信, 磯辺量子, 赤峰昭文

The evaluation of pulse laser-activated irrigation in simulated root canals

Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University
○MATSUMOTO Himeka, YOSHIMINE Yoshito, USHIJIMA Kan, SATO Hiromi,
SAKATA Atsunobu, ISOBE Ryoko, AKAMINE Akifumi

【研究目的】

根管治療を成功に導くには、根管系から細菌などの為害性物質を除去することが重要である。リーマー・ファイルなどの機械的器具による根管の拡大・形成のみでは、これを達成することは困難であり、化学的薬剤を用いた洗浄操作の併用が必須である。現在、化学的洗浄法として洗浄用シリンジによる方法や超音波・音波を応用した振動に基づく方法が用いられているが、新たな方法としてパルスレーザーによる洗浄法(LAI: Laser-activated irrigation)の可能性が報告されている。

本研究では、模擬根管内における Er:YAG レーザーを用いた洗浄効果を、通常行われているシリンジ法または超音波法と比較した。

【材料および方法】

J字状の湾曲根管(長さ15mm)を有する透明根管模型(Thermafil training bloc: Dentsply)を模擬根管として用いた。この模型は、根尖相当部から上方6mmと11mmの位置に、水平に走行する側枝状の構造を備えており、側枝内部に根管内残渣を想定して歯磨き用ペーストを注入した。次に、Er:YAG レーザー(ErwinAdvErl:モリタ)にコア径200 μ mの円錐型チップ(R200T)を装着し、蒸留水を満たした根管に挿入してゆっくりと引き上げる操作を4回繰り返した。照射条件は、出力30mJ・20pps、注水・エア無しで行った。また、コントロールとしてシリンジ法(5mL)または超音波法(中等度の強度で30秒間)を用いた。各洗浄後に側枝を実体顕微鏡で観察し、ペーストが除去された範囲を比較することで洗浄効果の評価基準とした。

【成績】

レーザーによる洗浄法では、上部および下部の側枝において、根管壁から各々約1.3mm、1.0mmの位置までペーストが除去されていた。

上部と下部それぞれの側枝において、レーザー法によって除去された距離を100%として比較すると、シリンジ法では上部側枝で0%、下部側枝で38%であり、超音波法では各々11%と83%であった。

【考察】

LAIの洗浄メカニズムは、チップ先端に生じるレーザー誘発気泡およびその後発生するキャビテーション気泡の影響で高速の流体が生じることよると考えられている。今回のレーザー法の観察結果では、上部・下部ともに側枝内の清掃性は高いと判断されたが、これにはチップを移動しながら使用したことが寄与していると考えられる。シリンジ法による洗浄では、洗浄針の先端よりも下方ではある程度清掃されるものの、上方では清掃効果は期待しにくいと考えられる。また、超音波による清掃性が低かった理由としては、湾曲根管で超音波チップの一部が根管壁に接触したために、十分なPUI効果が得られなかったことも影響していると思われる。

【結論】

Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄法では、シリンジ法および超音波法に比べて、良好な清掃効果が得られる可能性が示唆された。

垂直破折歯根の破折間隙における インピーダンス値と超音波チップの歯根表面までの距離

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
○川端伸也, 菅谷 勉, 川浪雅光

Distance from ultrasonic tip to root surface in relation to the impedance ratio in the fracture gap of vertically fractured root

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido University
Graduate School of Dental Medicine

○KAWABATA Shinya, SUGAYA Tsutomu, KAWANAMI Masamitsu

【研究目的】

垂直破折歯根をスーパーボンド C&B®で接着する治療法は、近年治療成績が向上してきた。非外科的に根管内から破折間隙を接着するには、まず破折間隙に増殖した細菌を除去することが重要である。そのためには、電氣的根管長測定を行いながら、破折間隙を根管内から歯根表面に達するまで切削する方法が良いと考えられる。そこで本研究の目的は、破折間隙の超音波チップ先端から歯根表面までの距離と、インピーダンス値との関係を明らかにすることである。

【材料および方法】

ヒト抜去歯 30 本を歯根歯軸方向に半切し、さらにマイセルとマレットで破折させ、破折間隙に樹脂を挟んで歯冠側端と根尖側端をスーパーボンド C&B®で接着固定して、様々な破折間隙を作製した。さらにアルジネート印象材を歯根表面側に圧接して、垂直破折歯根モデルとした。電極をアルジネート印象材に接続し、Solffy ZX に U ファイル #25 を装着して、400Hz と 8000Hz のインピーダンス値を確認しながら、破折間隙の一箇所を根管側から歯根表面方向に向かって切削した。切削途中で振動を止めて U ファイルをスーパーボンド C&B で固定し、インピーダンス値を記録した。スーパーボンド C&B 硬化後、歯根を歯軸に垂直方向 (U ファイルと平行方向) に研削し、U ファイル露出させた。実態顕微鏡下で U ファイルの先端から歯根表面までの距離、破折間隙幅を計測した。計測は合計 90 箇所で行った。

【結果】

破折間隙幅が $300\mu\text{m}$ を超えるとファイル先端の位置とインピーダンスの比との関係はバラつきが大きくなったが、 $300\mu\text{m}$ 以下であれば、ファイル先端から歯根表面までの距離とインピーダンス比との間に正の相関がみられ、破折間隙幅の影響はなかった。また、ファイル先端の歯根表面までの距離は、間隙幅が $300\mu\text{m}$ 以下の場合、インピーダンス比が 0.9 で歯根表面までの距離が約 0.2mm となり、ファイルが歯根表面に突き出すこともなかった。

【考察】

破折間隙が $300\mu\text{m}$ 以下の垂直歯根破折であれば、超音波チップ先端と歯根膜とのインピーダンス比を基準にして破折線の切削を行うことで、過剰に切削せずにほぼ適切な位置まで行うことが可能と考えられた。

Effect of Protamine on Bone Sialoprotein Gene Transcription

Department of Periodontology¹, Research Institute of Oral Science², Nihon University School of Dentistry at Matsudo

Anhui Medical University of Stomatology Hospital, Anhui, China³

○Liming Zhou^{1,3}, Hiroyoshi Matsumura¹, Yoko Sasaki¹, Masaru Mezawa^{1,2},

Hideki Takai^{1,2}, Yorimasa Ogata^{1,2}

【Aims】 Protamines are arginine rich nuclear proteins that replace histones late in the haploid phase of spermatogenesis. Protamine sulfate is a drug that reverses the anticoagulant effects of heparin by binding to it. Protamine was originally isolated from the sperm of salmon and other species of fish. Protamine is used in cardiopulmonary bypass surgery to neutralize the anti-clotting effects of heparin as well as to increase pulmonary artery pressure and decrease peripheral blood pressure, myocardial oxygen consumption. DNA/protamine complex could be a useful biodegradable biomaterial with antibacterial effect. Bone sialoprotein (BSP) is one of the major noncollagenous proteins of the extracellular matrix in bone. BSP is highly sulfated, phosphorylated protein which is expressed almost exclusively in mineralizing connective tissues. BSP has a high affinity for the apatite crystal, and has been implicated in the nucleation of hydroxyapatite during bone formation. It was reported that BSP is also expressed in breast, prostate and lung cancers. The purpose of this study is to examine the transcriptional regulation of BSP gene by protamine.

【Materials and methods】 We conducted Northern hybridization, real-time PCR, transient transfection analyses with chimeric constructs of the rat BSP gene promoter linked to a luciferase reporter gene, and gel mobility shift assay. Total RNA was extracted from rat osteoblast-like ROS 17/2.8 cells which were treated with protamine for 3 h to 24 h. Quantitative real-time PCR was performed using BSP, Runx2 and GAPDH primers. Gel mobility shift assays were performed using radiolabeled double stranded oligonucleotides such as, inverted CCAAT box, cAMP response element (CRE), FGF2 response element (FRE), pituitary-specific transcription factor-1 (Pit-1) and homeodomain protein binding site (HOX).

【Results】 Northern hybridization showed protamine (71.35 ng/ml) increased BSP mRNA levels at 12 h. To determine the site of protamine regulated transcription in the promoter region of the rat BSP gene, various sized promoter sequences ligated to a luciferase reporter gene were transiently transfected into ROS17/2.8 cells, and their transcriptional activities were determined in the presence or absence of protamine (71.35 ng/ml 12 h). The transcriptional activities of pLUC3 and pLUC4 were increased by protamine. The effects of protamine were partially inhibited by H7, and almost completely inhibited by KT5720 and HA. Includes within the DNA sequence that is unique to pLUC3 construct (nts -116 to +60) is an inverted CCAAT box (nts -50 to -46), a CRE (nts -75 to -68), a FRE (nts -92 to -85) and a Pit-1 motif (nts -111 to -105). Transcriptional activities of the M-CCAAT, M-CRE, M-FRE, M-Pit-1 and M-HOX were lower than the basal level of pLUC3. The transcriptional stimulation by protamine was abrogated in the M-FRE and M-HOX. Double-stranded oligonucleotides were end-labeled and incubated with equal amounts (3 µg) of nuclear proteins extracted from confluent ROS17/2.8 cells. The formations of FRE and HOX protein complexes were increased by protamine at 6 h. To further characterize the proteins in the complexes formed with the FRE and HOX, we used antibodies to several transcription factors. The addition of antibodies (Runx2, Dlx5, Msx2, and Smad1) disrupted the formation of the FRE-protein complexes. However the HOX-protein complexes did not change by anti-Runx2.

【Conclusion】 These studies indicated that protamine increased BSP gene transcription through PKC and PKA dependent pathways and that the protamine effects were mediated through FRE and HOX elements in the rat BSP gene promoter.

ヒト BSP 遺伝子発現に対するインターロイキン 11 の影響

日本大学松戸歯学部歯周治療学¹, 口腔科学研究所²,
○松村浩禎¹, 佐々木庸子¹, 目澤 優^{1,2}, 高井英樹^{1,2}, 小方頼昌^{1,2}

Effects of IL-11 on Human Bone Sialoprotein Transcription

Department of Periodontology¹, Research Institute of Oral Science²,
Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○MATSUMURA Hiroyoshi¹, SASAKI Yoko¹, MEZAWA Masaru^{1,2},
TAKAI Hideki^{1,2}, OGATA Yorimasa^{1,2}

【目的】骨シアロタンパク質 (bone sialoprotein; BSP) は、リン酸化および硫酸化をうけた糖タンパク質で、石灰化初期に石灰化結合組織特異的に発現する非コラーゲン性タンパク質である。BSP は、そのアミノ酸配列中のグルタミン酸連続配列部分でアパタイトおよびカルシウムに結合し、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸 (RGD) 細胞接着配列を介して細胞に接着する。本研究では、骨芽細胞と脂肪細胞の分化に重要な役割を果たし、造血および骨代謝に関与すると考えられるインターロイキン 11 (IL-11) を、ヒト骨芽細胞様細胞 (Saos2 細胞) およびヒト骨髄由来細胞に作用させ、ヒト BSP 遺伝子プロモーター中の IL-11 応答配列の同定および BSP の転写に対する影響を解析した。

【方法】ヒト骨芽細胞様細胞である Saos2 細胞およびヒト骨髄由来細胞を用いて、BSP、Runx2 および Osterix mRNA の発現に対する IL-11 (20 ng/ml、12 時間) 刺激の影響をノーザンブロットおよび real-time PCR 法にて検索した。ヒト BSP 遺伝子プロモーターを挿入したルシフェラーゼコンストラクトを Saos2 細胞に導入し、IL-11 (20 ng/ml) にて 12 時間刺激後、BSP の転写に対する IL-11 の効果をルシフェラーゼアッセイにて検索した。IL-11 応答配列を同定するために、ヒト BSP 遺伝子プロモーター中の転写因子結合配列に 2 塩基対のミューテーションを導入したプラスミドを作成し、ルシフェラーゼアッセイを行った。さらに、各種リン酸化阻害剤を用いて IL-11 刺激後の細胞内情報伝達系を検索した。

【結果】各種濃度の IL-11 (1、5、20、100 ng/ml) で Saos2 細胞を刺激すると、BSP mRNA の発現量は 20 ng/ml の IL-11 刺激で最大となった。次に、20 ng/ml の IL-11 で Saos2 細胞を経時的 (3、6、12、24 時間) に刺激すると、BSP、Runx2 および Osterix mRNA 量は 12 時間後に最大となった。ヒト BSP 遺伝子プロモーターの-927 塩基対上流までの配列を様々な長さに調節し、IL-11 (20 ng/ml、12 時間) で刺激した結果、-184 塩基対上流から-868 塩基対上流までを含むルシフェラーゼコンストラクトの転写活性が上昇した。-184 塩基対上流および-868 塩基対上流までのプロモーター配列中に存在する逆方向の CCAAT 配列 (-54~-50 塩基対上流)、cAMP 応答配列 1 (CRE1; -79~-72 塩基対上流)、FGF2 応答配列 (FRE; -96~-89 塩基対上流)、アクチベータプロテイン 1 (AP-1) 配列 (AP-1(1); -148~-142 塩基対上流)、ホメオボックス応答配列 (HOX; -200~-191 塩基対上流)、cAMP 応答配列 2 (CRE2; -673~-666 塩基対上流) に 2 塩基対の変異を挿入してルシフェラーゼアッセイ法を行った結果、CRE1 および CRE2 配列が IL-11 刺激後の転写活性の上昇に関与すると考えられた。各種リン酸化阻害剤を用いてルシフェラーゼアッセイを行った結果、プロテインキナーゼ A 阻害剤の KT5720 (100 nM)、チロシンキナーゼ阻害剤のハービマイシン A (1 μM)、MEK1/2 阻害剤の U0126 (5 μM) で IL-11 の効果が抑制された。

【結論】本研究の結果、IL-11 (20ng/ml、12 時間) は BSP の遺伝子発現を促進した。その効果は、ヒト BSP 遺伝子プロモーター中の-75 塩基対上流および-670 塩基対上流に存在する CRE1 および CRE2 配列を介すると考えられた。今後は、IL-11 に応答すると考えられる DNA 配列のオリゴヌクレオチドを合成し、IL-11 刺激前後の Saos2 細胞から核内タンパク質を抽出し、プロモーター配列と核内タンパク質の結合をゲルシフトアッセイにて検索し、またクロマチン免疫沈降法を用いて CRE1 および CRE2 に *in vivo* で結合する転写因子の検索を行う予定である。

EGF がヒト歯根膜細胞に及ぼす影響について

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野¹, 九州大学病院歯内治療科²,
九州大学病院油症ダイオキシン研究診療センター³, 大阪大学大学院医学系研究科分子病態生化学⁴

○寺松陽子¹, 前田英史², 友清 淳², 門野内 聡³, 山本直秀¹, 和田尚久²,
藤井慎介⁴, 河野清美¹, 郡 勝明¹, 赤峰昭文^{1,2}

Effects of Epidermal Growth Factor on Human Periodontal Ligament Cells

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

Department of Endodontology and Operative Dentistry¹

Kyushu University Hospital, Department of Endodontology²

Kyushu University Hospital, Research and Clinical Center for Yusho and Dioxin³

Osaka University, Graduate School of Medicine, Department of Molecular Biology and Biochemistry⁴

○TERAMATSU Yoko¹, MAEDA Hidefumi², TOMOKIYO Atsushi², MONNOUCHI Satoshi³, YAMAMOTO Naohide¹

WADA Naohisa², FUJII Shinsuke⁴, KONO Kiyomi¹, KOORI Katsuaki¹, AKAMINE Akifumi^{1,2}

【目的】

epidermal growth factor (EGF)は、上皮細胞の増殖を促す働きだけではなく、様々な細胞に対して走化性の誘導や分化の促進作用など多様な生物学的活性を持つことが知られている。しかしながら、現在のところ歯根膜細胞に対する EGF の作用については十分には解明されていない。

そこで今回の研究では歯根膜組織における EGF ならびに EGF Receptor (EGFR)の発現、さらに EGF がヒト歯根膜細胞 human periodontal ligament cell (HPDLC)の走化性ならびに、生理活性に与える影響について検討した。

【材料および方法】

(1)免疫組織学的解析: SD ラット(5 週齢、♂)の右側下顎第一臼歯部の頬側歯槽骨上より、歯根膜組織に達する深さ 1mm、幅 1mm および高さ 1.5mm の欠損部位を作り、傷害側とした。傷害を与えなかった左側を健全側とした。施術後 2-3 日目に 4%パラホルムアルデヒドにて灌流固定後、通法に従いパラフィン切片を作製し、抗 EGF 抗体および抗 EGFR 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。

(2)遺伝子解析: 矯正治療を目的として本院を受診した 2 名の患者(22 歳女性および 26 歳男性)より除去された歯牙の歯根膜組織を採取し、5-8 継代培養した細胞を HPDLC として本研究に供した。これらの HPDLC を用いて、RT-PCR 法にて EGF、EGFR、bone morphogenetic protein 2 (BMP2)および vascular endothelial growth factor (VEGF)の遺伝子発現について解析を行った。

(3)走化性試験: トランスウェル法にて EGF が HPDLC の走化性に及ぼす影響について検討した。なお本研究は九州大学院歯学研究院倫理委員会の許可を得て、患者の同意の上で行われた。

【結果】

(1)抗 EGF 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った結果、健全側の歯根膜組織は全体にわたり陽性反応を示し、傷害側では、健全側と比較してさらに強い陽性反応が観察された。一方、抗 EGFR 抗体を用いた免疫組織化学的染色では、健全側ならびに傷害側においてほぼ同等の陽性反応が認められた。(2) HPDLC は、EGF および EGFR の遺伝子を発現し、さらに抗 EGF 抗体および抗 EGFR 抗体に対して陽性反応を示した。また EGF にて 3 時間刺激した HPDLC において、BMP2 および VEGF の mRNA 発現が有意に上昇した。(3) HPDLC の走化性は、EGF 刺激後 12 時間で非刺激群と比較して約 2~3 倍に亢進した。

【考察】

歯根膜細胞は、EGF を恒常的に発現しており、傷害によってその発現が促進することが明らかになった。また歯根膜細胞は EGF ならびに EGFR を発現し、EGF 刺激による走化性の亢進と、BMP2 ならびに VEGF 発現の促進が認められたことから、EGF は autocrine あるいは paracrine に歯根膜細胞に働き、歯根膜組織の創傷治癒に関与する可能性が示唆された。

【結論】

①歯根膜組織は EGF および EGFR を発現する。②ヒト歯根膜細胞への EGF 刺激は、走化性を亢進し、BMP2 ならびに VEGF の遺伝子発現を促進する。

骨吸収に対するペプチドグリカンとリポ多糖の協調作用に関する研究

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 医療科学専攻 展開医療科学講座 歯周病学分野
○岸本隆明, 金子高士, 鶴飼 孝, 横山美穂, 吉永泰周, 佐藤佳昌, 長野史子, 山下泰徳,
吉村篤利, 原 宜興

Synergistic Effects of peptidoglycan and lipopolysaccharide on bone resorption
Department of Periodontology, Unit of Translational Medicine, Course of Medical and Dental Sciences,
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
○KISHIMOTO Takaaki, KANEKO Takashi, UKAI Takashi, YOKOYAMA Miho, YOSHINAGA Yasunori,
SATO Kayo, NAGANO Fumiko, YAMASHITA Yasunori, YOSHIMURA Atsutoshi, HARA Yoshitaka

【研究目的】 当講座では、リポ多糖 (LPS)がマウス歯槽骨吸収を Toll-like receptor (TLR) 4 依存的に誘導することや低濃度 RANKL 存在下で破骨細胞形成を促進することを報告してきた。一方、ペプチドグリカン (PGN)は TLR2 を介して、そしてその分解産物の γ -D-Glu-DAP (iE-DAP), ムラムルジペプチド (MDP) はそれぞれ Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) 1, NOD2 を介して、炎症反応を誘導する。PGN の構造はグラム陽性菌と陰性菌で異なっており、TLR, NOD1, NOD2 活性化能に差があることが知られている。そして、TLR4 と TLR2, NOD1, NOD2 の共刺激は互いのシグナル伝達を増強することが報告されている。歯周ポケット内では LPS と PGN が存在し、歯槽骨吸収に対して相乗的な影響を与え合っている可能性があり、この点を明らかにすることは重要と考えられる。そこで、今回我々は骨吸収を指標として、グラム陽性菌 PGN とグラム陰性菌 PGN それぞれの生物学的活性と両 PGN と LPS が共存した際の相互作用について検討した。

【材料と方法】 マウスの歯肉にグラム陰性菌の *Escherichia coli* (*E. c*) PGN, グラム陽性菌の *Staphylococcus aureus* (*S. a*) PGN, *E. c* LPS をそれぞれ $5\mu\text{g}/3\mu\text{l}$, $50\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ の濃度で単独投与もしくは両 PGN と LPS が同濃度になるように混合して 13 回隔日投与した。屠殺後、組織切片を作製し、Hematoxylin-Eosin (HE) 染色、酒石酸耐性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色を行い病理組織学的に炎症状態や歯槽骨吸収について解析した。また、対照群には PBS を投与した。次に、マウス骨髄細胞をマクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF) と低濃度の Receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) 刺激により誘導した破骨細胞前駆細胞に PGN, LPS 単独刺激もしくは PGN と LPS 共刺激を行い破骨細胞数の計測を行った。また、破骨細胞形成に関与することで知られているサイトカインである Tumor necrosis factor- α (TNF- α) の量は ELISA で計測した。さらに合成リガンド (A-iE-DAP, NOD1 リガンド; MDP, NOD2 リガンド; Pam₃CSK₄, TLR2 リガンド) による刺激も行った。

【結果】 *in vivo*において、PBS投与群では弱い炎症性細胞浸潤のみられたものの骨吸収は認めなかった。また、 $5\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ の濃度以下では *E. c* PGN, *S. a* PGN, LPS投与群ともに結合組織内に中程度の炎症性細胞浸潤がみられたが、骨吸収窩に接する TRAP陽性多核細胞はほとんど認めなかった。 $50\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ の濃度の *S. a* PGN, LPS投与群では強い炎症性細胞浸潤と骨吸収が観察されたが、*E. c* PGN投与群では観察されなかった。さらに、単独投与で骨吸収の観察されなかった $5\mu\text{g}/3\mu\text{l}$ の濃度の PGN と LPS を混合して投与した結果、両 PGN とともに LPS 共刺激によって歯槽骨周囲の結合組織に強い炎症性細胞浸潤と骨吸収を認めた。次に、*in vitro*における PGN の破骨細胞誘導能を検討した結果、両 PGN とともに破骨細胞形成を誘導し、LPS との共刺激は破骨細胞形成を相乗的に誘導した。また、この時 *S. a* PGN は、*E. c* PGN に比べて低い濃度で破骨細胞形成を誘導した。さらに、培養上清中の TNF- α 濃度も破骨細胞数に伴って上昇していた。それぞれ TLR2, NOD1, NOD2 の合成リガンドを用いて刺激をした結果、すべてのリガンドは単独で破骨細胞形成を誘導し、それぞれのリガンドと TLR4 リガンドの共刺激は共に破骨細胞形成を相乗的に促進した。

【考察】 本実験の結果は *in vivo*, *in vitro* においても PGN と LPS が協調的に作用することによってマウス歯槽骨吸収や破骨細胞形成の促進がおきることを示している。*S. a* PGN と *E. c* PGN で、その誘導能に相違が認められたことは、グラム陽性 PGN とグラム陰性 PGN の TLR2 刺激能や NOD 刺激能の差と関係しているかもしれない。また、破骨細胞形成に伴って TNF- α 産生が増加していたことも破骨細胞形成の増強に関与しているかもしれない。今後、*in vitro* においてこれらの相乗的な破骨細胞形成の促進メカニズムを解明するために破骨細胞前駆細胞のレセプター発現の変化やシグナル経路についても検討していく予定である。

歯周炎関連遺伝子多型は白血球の FcγRIIB 陽性率を変化させる

新潟大学大学院 歯学総合研究科 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野
○岩永璃子, 杉田典子, 王 燕銘, 吉江弘正

A periodontitis-associated polymorphism increased the rate of FcγRIIB positive leukocytes

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan
○IWANAGA Ruriko, SUGITA Noriko, WANG Yan Ming, YOSHIE Hiromasa

【目的】

FcγRIIB は抑制性の IgG レセプターであり、白血球、血管内皮細胞などに分布する。B 細胞においては免疫複合体を介して活性化型 FcγR や B 細胞受容体による抗体産生活活性に対して抑制性の調節機能を有する。我々は以前 FcγRIIB 遺伝子多型の一つとしてイントロン部位に存在する FcγRIIB-nt645+25A/G を発見した。また妊婦を対象とした検索の結果、FcγRIIB-nt645+25A/G 遺伝子型と早産および軽度歯周炎との間に有意な関連性を認めた。さらに慢性歯周炎患者において、この遺伝子多型は *Porphyromonas gingivalis* 特異的 IgG 抗体レベルおよび歯周炎重症度に関連を示した。歯周炎病巣においては B 細胞優位に免疫応答が行われていることは広く知られている。しかし唯一の抑制性 FcγR である FcγRIIB が慢性炎症の免疫応答に関与する種々の細胞レベルでどのような機能を果たしているかは未だ明らかになっていない。そこで今回、末梢血中の各白血球画分における細胞表面 FcγRIIB 発現を FcγRIIB-nt645+25A/G 遺伝子型間で比較し、歯周炎における FcγRIIB の役割を考察した。

【材料及び方法】

健常者 52 名の末梢血からゲノム DNA を抽出し、FcγRIIB 遺伝子型を nested-PCR 産物のダイレクトシーケンシングにて同定した。FcγRIIB 検出に用いるマウス抗ヒト FcγRIIB モノクローナル抗体 41H.16 は FcγRIIA の一部アレル R131 にも特異性を有するため、FcγRIIA-131R/H 遺伝子型をアレル特異的 PCR にて決定し、対象者は FcγRIIA-131H/H 遺伝子型の保有者に限定した。最終的な対象者となった 20 名から EDTA 加採血した末梢血について、塩化アンモニウムにて溶血後、白血球を PBS に浮遊した。T 細胞、B 細胞、NK 細胞のマーカーとして CD3, CD19, CD56 を用い、単球および多形核白血球は FSC-SSC にて同定した。これらの細胞表面における FcγRIIB 発現を 41H.16 と FITC 標識 2 次抗体で染色し、FACSscan にて解析した。死細胞は 7-AAD 染色にて除外した。全白血球および各白血球画分の FcγRIIB 発現を FcγRIIB-nt645+25A/G 遺伝子型間で統計学的に比較した。

【結果】

末梢血白血球全体における FcγRIIB 発現に関して、FcγRIIB-nt645+25AA 遺伝子型保有者またはアレル A 保有者 (AA+AG) は、GG 遺伝子型保有者に比較して有意に高い FcγRIIB 陽性率を示した (AA 69.3±6.6%, GG 53.1±9.7%, $p=0.034$, Mann-Whitney *U* test)。また、B 細胞表面の FcγRIIB 発現量に関しても同様に、AA 保有者またはアレル A 保有者が GG 保有者と比較して有意に高い平均蛍光強度を示した (AA 560.3±87.8%, GG 411.7±82.3%, $p=0.028$)。それ以外の CD3+細胞、CD56+細胞、単球、多形核白血球において、FcγRIIB 陽性率、発現量に有意な差は認められなかった。対象を女性に限定 (N=11) した場合も同様の結果であった。

【考察】

上記の結果により、FcγRIIB-nt645+25A/G 遺伝子多型によって、FcγRIIB 陽性細胞率および細胞表面の FcγRIIB 発現量が有意に変化することが判明した。FcγRIIB-nt645+25AA 保有者の B 細胞発現量が GG 保有者と比較して有意に高い値を示したことは、我々の以前の歯周炎患者についての報告と一致している。このことから、FcγRIIB-nt645+25AA 保有者は活性化型と抑制型の FcγR ユニット内の相互作用において、抑制性の機能を持つ FcγRIIB 側にシフトし、歯周病原細菌の暴露に対して抗体産生が十分に行われず、ひいては歯周炎が重症化しやすい可能性が考えられる。

【結論】

以上から、FcγRIIB-nt645+25AA 保有者は、GG 保有者と比較して免疫応答が抑制的にシフトしている可能性が示唆された。

メカニカルストレスがヒト歯根膜由来細胞の成長因子産生に与える影響

京都府立医科大学大学院医学研究科 歯科口腔科学¹, 京都府立医科大学大学院医学研究科 免疫学²
○市岡宏顕^{1,2}, 山本俊郎¹, 山本健太^{1,2}, 本城賢一^{1,2}, 赤松佑紀¹,
大迫文重¹, 喜多正和², 金村成智¹

Effects of mechanical stress on production of growth factor
in periodontal ligament-derived cells.

Department of Dental Medicine¹, Department of Immunology², Kyoto Prefectural University of Medicine
Graduate School of Medical Science

○ICHIOKA Hiroaki^{1,2}, YAMAMOTO Toshiro¹, YAMAMOTO Kenta^{1,2}, HONJO Kenichi^{1,2}, AKAMATSU Yuki¹,
OSEKO Fumishige¹, KITA Masakazu², KANAMURA Narisato¹

【研究目的】

歯根膜は、歯槽骨とセメント質の間に介在する線維性結合組織であり、歯槽骨内に歯牙を固定するとともに、顎骨・歯槽骨への咬合圧をはじめとしたメカニカルストレスを緩衝している組織である。歯根膜を構成するヒト歯根膜由来細胞(以下 hPDL 細胞)は、多種多様なメカニカルストレスに対し様々な成長因子(growth factor)を産生することが知られている。これまでに我々は、生理的咬合圧に近似したメカニカルストレスが hPDL 細胞の炎症性サイトカイン産生を誘導することを報告している。そこで本研究では、歯根膜の恒常性維持に成長因子が関与しているとの予測を立て、生理的咬合圧に近似したメカニカルストレスに対する hPDL 細胞の成長因子産生について検討を行った。

【材料および方法】

歯根膜は、健康な患者(19-41 歳)から矯正学的理由に便宜抜去された健全な第一小臼歯または第三大臼歯から採取した。採取した歯根膜は、37°C、5% CO₂条件下で 10% FBS/DMEM にて初代培養後、3-4 代継代培養したものを hPDL 細胞とした。方法としては、hPDL 細胞を 1×10⁵ cells/dish 播種し、コンフルエントに達した後、メカニカルストレス(6 MPa、60 分)を与えた。その後、RNA 抽出し、real-time RT-PCR 法を用いて Nerve growth factor (NGF)、Vascular endothelial growth factor (VEGF)、Fibroblast growth factor (FGF)の発現に関して免疫学的検討を加えた。また hPDL 細胞の形態学的変化は、位相差顕微鏡を用いて評価した。なお、同培養条件でメカニカルストレスを与えない hPDL 細胞を control とした。本研究は、京都府立医科大学における人間を対象とする医学研究審査委員会より承認済みである。

【成績】

hPDL 細胞において、生理的咬合圧に近似したメカニカルストレスに対して、control と比較して NGF、VEGF、FGF mRNA 発現量の有意な増加を認めた。また、hPDL 細胞の形態学的変化はほとんど認めなかった。

【考察】

これまでに、生理的咬合圧に近似するメカニカルストレスは、hPDL 細胞の炎症性サイトカイン産生を誘導することがわかっている。本結果では、hPDL 細胞が生理的咬合圧に近似するメカニカルストレスに対して NGF、VEGF、FGF mRNA を発現、かつ、これらの growth factor には、NGF に細胞修復促進作用、VEGF に血管新生作用、FGF に細胞増殖や組織修復作用を有することから、歯根膜局所においては生理的咬合圧によって歯根膜由来細胞から炎症性サイトカインが誘導されるとともに、これらの成長因子が同時に誘導されることで歯根膜の恒常性維持に関与する可能性が示唆された。また NGF の作用は、組織修復における重要な因子の一つであるが、メカニカルストレスに対する歯根膜細胞と NGF に対する報告はこれまでにみられず、その他成長因子も含め、今後さらなる検討が必要である。

【結論】

生理的咬合圧に近似したメカニカルストレスは、hPDL 細胞において組織修復に関連した成長因子を誘導し、それらは歯根膜の恒常性維持に関与する可能性が示唆された。

羊膜を基質とした培養歯髓由来細胞シートの作成

京都府立医科大学大学院医学研究科 歯科口腔科学¹, 京都府立医科大学大学院医学研究科 免疫学²

○山本俊郎¹, 本城賢一^{1,2}, 市岡宏顕^{1,2}, 山本健太^{1,2}, 赤松佑紀¹,
足立圭司¹, 雨宮 傑¹, 喜多正和², 金村成智¹

Tissue engineering with using Human Dental Pulp Cells
Cultured on Human Amniotic Membrane

Department of Dental Medicine¹, Department of Immunology², Kyoto Prefectural University of Medicine
Graduate School of Medical Science

○YAMAMOTO Toshiro¹, HONJO Kenichi^{1,2}, ICHIOKA Hiroaki^{1,2}, YAMAMOTO Kenta^{1,2}, AKAMATSU Yuki¹,
ADACHI Keiji^{1,2}, AMEMIYA Takeshi¹, KITA Masakazu², KANAMURA Narisato¹

【研究目的】

我々は、羊膜の有用性に注目、羊膜を細胞培養基質として用いた再生医療の研究を実施している。これまでに、羊膜を基質とした培養口腔粘膜上皮細胞シートの作成方法を確立、各種口腔粘膜上皮欠損患者に対して臨床応用を行い、拒絶反応等の異常なく良好な結果を得たことから、羊膜が細胞培養の基質として適し、また新たな再生医療的な治療法として有用かつ有効であることを報告した。さらに、この細胞培養系を歯根膜由来細胞の培養に応用したところ、歯根膜由来細胞が羊膜上で増殖し、デスモゾームやタイト結合といった強固な細胞間接着装置が存在、培養歯根膜シートの作成に成功するとともに、*in vivo* で自家移植を行う技術を開発した。そこで今回は、この培養歯根膜シート作成技術を応用し、歯髓由来細胞に注目し、培養歯髓シートを作成することを立案した。

【材料および方法】

智歯の便宜抜歯により抜去された歯をセメントエナメル境で横断、歯髓組織のみを無菌的に採取した。歯髓組織を細分し、感染症フリーの10%ウシ胎仔血清 (FBS) と抗菌薬を添加した α -MEMを用い初代培養を行った。その後3~4継代培養、羊膜上にこれら歯髓由来細胞を播種し、培養、ヘマトキシリン・エオジン染色を用いて組織学的に検討した。なお、当研究の実施および歯髓組織と羊膜の利用については、該当患者に対して本研究の内容ならびに安全性の説明を行い、同意を得た上で実施した。また、京都府立医科大学医学倫理審査委員会の許可を得ている (RBMR-C-772)。

【成績】

歯髓由来細胞は、羊膜上で層状構造を示し、シート状の培養が可能であった。

【考察】

歯髓由来細胞は、発生学的に歯根膜と同じ間葉系組織で分化能と表面抗原が類似する。歯の内部に位置するため放射線などの有害刺激が少なく、酸素濃度が低いために遺伝子への影響が少なく、従来、抜歯後に医療廃棄物として処理されていた乳歯、智歯などの永久歯から比較的簡便に入手が可能で、かつ、歯根膜と比べて細胞増殖能が高く、細菌感染の機会が少ないためにシート作成の再現性が高い。また再生医療の領域では、歯髓由来細胞を用いた骨再生に関する報告は数多く存在するが、培養シートに関する報告はみられない。本結果から、羊膜は歯髓由来細胞の培養に適当な足場 (基質) を形成し、また歯髓由来細胞は個々の細胞ではなく、羊膜上にて一枚の細胞シートを形成しているものと考えられた。今後、さらなる検討が必要であると思われるが、羊膜を用いた培養歯髓由来細胞シートの作成が可能であることが示唆された。

【結論】

羊膜を用いた培養歯髓由来細胞シートの作成が可能であった。

p53 誘導新規化合物の同定とその作用機序の解析

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)
○北垣次郎太, 村上伸也

Identification and analysis on the novel compounds that selectively induce p53

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○KITAGAKI Jirouta, MURAKAMI Shinya

【研究目的】近年、慢性炎症性疾患である歯周病とアポトーシスの関与を示す報告がなされている。アポトーシスを誘導する代表的な遺伝子のひとつに、細胞の恒常性を制御するセルサイクル調節因子 p53 が挙げられる。興味深いことに、p53 が骨代謝に影響を及ぼす可能性がノックアウトマウスを用いた実験により示唆されている。しかしながら、その詳細なメカニズムは十分に検討されていない。ひとつの要因として、p53 を選択的に誘導する化合物が少ないため、*in vitro* での実験が困難なことが挙げられる。そこで本研究では、p53 を選択的に誘導する新規膜透過性化合物の同定を行った。

【材料および方法】新規化合物の同定を目的として、化合物ライブラリー IGEN library を用いた高処理スクリーニングを行った。そこで得られた化合物を、ヒト骨肉腫細胞の p53 プロモーター安定発現株ならびにヒト網膜色素上皮細胞にそれぞれ 8 時間、18 時間添加し、p53 誘導能およびアポトーシス誘導能を、luciferase assay ならびに western blot 法を用いて検討した。

【結果】化合物のスクリーニングを行った結果、deazaflavin の派生体 HLI98C、D、E (以下 HLI98s) を同定した。次にこれらの化合物の、p53 の転写活性ならびにタンパク発現への影響を確認したところ、これらの化合物は細胞内での p53 の転写活性を濃度依存的に誘導させ、p53 のタンパク量を選択的に上昇させた。さらに HLI98s は caspase-3 による PARP の分解を促進させることから、p53 依存性のアポトーシスを誘導させることが明らかとなった。しかしながら、HLI98s は水溶性ではないことから、今後 *in vivo* での実験に用いることは困難と考えられる。そこで HLI98s とホモロジーの高い化合物を検索し、その作用機序を検討したところ、新たな deazaflavin の派生体 HLI373 を同定した。HLI98s と同様に、HLI373 は *in vitro* において p53 の転写活性を濃度依存的に誘導させ、そのタンパク量を選択的に上昇させ、さらに p53 依存性のアポトーシスを誘導させた。

【考察】以上の結果より、新規膜透過性化合物 HLI98s および HLI373 が、p53 の転写活性およびタンパク発現を上昇させ、p53 依存性のアポトーシスを誘導させることが明らかとなった。近年、p53 を用いた遺伝子治療において、ガン細胞の増殖が抑制されることが報告されており、p53 タンパクの調節は既に臨床応用へとつながっていると考えられる。今後は、これらの化合物を *in vitro* ならびに *in vivo* における、歯周組織での p53 の作用機序の検討に応用するのみならず、歯周治療への応用ができると期待される。

【結論】p53 を選択的に誘導する新規膜透過性化合物 HLI98s ならびに HLI373 の同定に成功した。さらにこれらの化合物が *in vitro* で p53 の転写活性、タンパク発現ならびにアポトーシスを誘導させることが明らかとなった。

光誘導蛍光システムによるプラークの質的評価について

昭和大学歯学部歯学教育研修センター
○伊佐津克彦, 高島英利, 長谷川篤司

A qualitative evaluation of the plaque by a light-induced fluorescence system

Dept. of Comprehensive Dentistry, Showa University School of Dentistry
○ISATSU Katsuhiko, TAKASHIMA Hidetoshi, HASEGAWA Tokuji

【目的】

近年、デンタルプラークに起因する歯周病と糖尿病や動脈硬化などの全身疾患との関連や、デンタルプラークを構成している細菌を誤嚥することによる肺炎についての報告が多く認められている。デンタルプラークは複数の細菌が形成するバイオフィルムの典型で、この中に存在している細菌に抗菌薬はほとんど効果を発揮することができないため、物理的にバイオフィルムを破壊することが必要である。したがって、デンタルプラーク除去の基本は本人あるいは介助者などによる機械的関与が必要で、プラーク付着部位を視覚的に正しく認識することは、治療効果を最大限に引き出すカギとなる。言い換えるなら、口腔および全身の健康維持のためにはプラークの量、付着部位、そして活動性を定期的に正しく認識することが必須である。

従来、付着しているプラークの評価は染めだし液などを用いて行うのが一般的であるが、高齢者や在宅看護の受診者では染色後の清掃が決して容易ではない。そこで、近年、染め出しなしにプラークの蛍光特性を利用するプラーク認識システムが開発、市販に至っている。我々は第132回大会で、この光誘導蛍光システムによるプラークの検出は、プラーク染めだし液に比較し鋭敏でないものの、質的評価の可能性について発表した。

本研究では、これらの臨床での質的評価の可能性を検討する目的で、励起蛍光を利用して CCD カメラで口腔内プラークの認識範囲を記録し、染めだし液によるプラーク認識範囲との比較検討をおよび口腔内細菌に占める歯周病原性細菌の比率を検討した。

【材料と方法】

対象：口腔衛生指導を目的に来院した患者を対象として、上顎、下顎の前歯部唇側面

光誘導蛍光システムを利用した口腔内プラークの認識：

ビスタカム P システムは計測専用準備した PC (Intel®Core™2Duo CPU P8600 2.4GHz RAM 2.0GB) にハンドピース、フットスイッチを USB 接続して構成され、染めだし前の上顎、下顎の前歯部唇側面を CCD カメラで撮影し、得られた画像データを画像管理ソフト DB SW I N 上で蛍光部分をその面積で評価した。

染めだし液による口腔内プラーク認識：

染めだし液には、DENT リキッド プラークテスターを用い口腔内を染色し、上顎、下顎の前歯部唇側面をデジタル・カメラで撮影し、染色部位をその面積で評価した。

口腔内細菌の検討：対象者に採唾用ロートを付けたスピッツを持たせて、5 分間刺激唾液採取用補助剤を嚙ませながら唾液を採取する。採取した唾液を検体とし、総口腔内菌数に対する歯周疾患関連細菌の存在比を算出し、プラークの評価と併せて比較検討した。

【結果および考察】

1) 光誘導蛍光システムを利用した口腔内プラークの評価と染めだし液によるプラーク評価は、各々の評価の中でのばらつきはほとんど認められなかった。

2) 光誘導蛍光システムを利用した評価と染めだし液による評価に近い時に、*P.gingivalis*、*P.intermedia* の存在比が高い傾向が見られた。また、*P.gingivalis*、*P.intermedia* の存在比が低い時に、光誘導蛍光システムを利用した評価と染めだし液による評価の差が大きかった。

以上より、ビスタカム P を利用したプラーク認識システムを口腔内のプラークの質的評価に利用する可能性を示したが、今後、各種口腔内細菌に対する *in vitro* での詳細な検討や、細菌の量的評価への検討が必要であると考えられた。

Haptic Device を用いた適正プロービング圧トレーニングシステムの開発

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座¹
大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座²
○吉田能得^{1,2}, 山口 哲¹, 村上伸也², 今里 聡¹

Development of haptic dental training system to acquire a correct probing pressure

Department of Biomaterials Science, Osaka University Graduate School of Dentistry¹
Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry²
○YOSHIDA Yoshinori^{1,2}, YAMAGUCHI Satoshi¹, MURAKAMI Shinya², IMAZATO Satoshi¹

【研究目的】

プロービングは歯周組織検査の中で最も重要で、歯科医師にとって習得が不可欠なスキルである。しかしながら、既存の模型実習では、適正プロービング圧の習得は非常に困難であった。そこで本研究では、プロービング時の触力覚を仮想空間内で感じられる Haptic Device を用いたトレーニングシステムを構築し、そのトレーニング効果の検証を行うことを目的とする。

【材料および方法】

われわれが開発した HAP-DENT (Haptic Dental Training System) は、ワークステーション : xw4600 (Hewlett-Packard), 立体視ディスプレイ : ZM-M220W (Zalman Tech) および Haptic Device : PHANTOM Omni (SensAble Technologies) から構成され、触力覚を感じながらトレーニングが可能なシステムである。本研究では、CAD ソフトウェア : FreeFormModeling (SensAble Technologies) で顎模型 : D51FE-500A-QF (ニッシン) を 3 次元データ化し、適正プロービング圧習得用のトレーニングモデルとした。

本システムを用いて、大阪大学歯学部平成 21 年度 4 年次学生 20 名 (A 群) を対象に、プロービング圧をリアルタイムに表示しながら歯周ポケット深さを測定する実習を実施し、トレーニング前後のプロービング圧を比較してトレーニングの効果について検証した。また大阪大学歯学部平成 22 年度 4 年次学生 26 名 (B 群) を対象に、同様の実習を 3 回繰り返して行い、各トレーニング間のプロービング圧を比較することにより、反復トレーニングの効果について検証した。

【結果】

A 群におけるプロービング圧は、トレーニング前後で 78.0 ± 43.3 g から 45.0 ± 18.3 g と有意に減少した (Paired *t*-test, $p < 0.01$)。また B 群においても、 98.9 ± 33.1 g から 57.1 ± 15.3 g と有意な低下が認められた (Paired *t*-test, $p < 0.01$)。一方、A 群と B 群間には有意差は認められず (Repeated measure ANOVA, $p > 0.05$)、スキル習得の効果に実習年度による差がないことが確認された。

B 群における反復トレーニングの結果、プロービング圧は、 57.1 ± 15.3 g から 49.3 ± 14.9 g (2 回目)、 44.0 ± 16.8 g (3 回目) と減少し、1 回目と 2 回目のトレーニング後、2 回目と 3 回目のトレーニング後のいずれにおいても有意差が認められた (Paired *t*-test, $p < 0.05$)。

【考察】

適正プロービング圧に近づいた学生数は、2 回目のトレーニング後で 1 人、3 回目のトレーニング後で 7 人であり、本システムを用いた繰り返しトレーニングによってプロービングスキルが向上することが示唆された。

【結論】

本研究で構築した Haptic Device を用いた適正プロービング圧トレーニングシステムにより、従来の模型実習では困難であった適正プロービング圧習得トレーニングがオンデマンドで可能となった。

SIRT1 による歯根膜細胞の石灰化制御

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)
○中村友美, 山下元三, 河原貴展, 橋本悠平, 梶川哲宏, 森 健太, 前田憲一郎, 北垣次郎太,
柳田 学, 山田 聡, 北村正博, 村上伸也

SIRT1 ameliorates ossification of human periodontal ligament cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○NAKAMURA Tomomi, YAMASHITA Motozo, KAWAHARA Takanobu, HASHIMOTO Yuhei, KAJIKAWA Tetsuhiro,
MORI Kenta, MAEDA Kenichiro, KITAGAKI Jirota, YANAGITA Manabu,
YAMADA Satoru, KITAMURA Masahiro, MURAKAMI Shinya

【研究目的】

Sirtuin protein family である SIRT1 は、真核細胞におけるエネルギー代謝の主要な制御因子として機能する脱アセチル化酵素である。環境ストレスや栄養飢餓などの細胞外刺激によって SIRT1 は活性化され、細胞の自律的な適応応答を誘導することによって、細胞寿命の延伸や抗老化に機能することが明らかとされている。

加齢と成人性歯周炎の発症頻度並びに病態の重篤化の間には正の相関が存在することが疫学的に証明されている。しかしながら、加齢に伴い進行する病的な歯周組織老化の細胞性機構の全容は未だ明らかとなっていない。歯周組織の恒常性の維持には、歯根膜細胞並びに未分化間葉系幹細胞の増殖能や多能性の維持が必須であり、加齢に伴う機能変異が、老化による病態進行や組織修復再生能力に与える影響は大である。

本研究では、“長寿遺伝子” SIRT1 の活性化が歯根膜細胞の硬組織形成能に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】

ポリフェノールの一種である、レスベラトロールが“長寿遺伝子”として知られている SIRT1 を活性化し、寿命の延伸をもたらすことが注目されている。そこで本研究ではレスベラトロール (sigma) が、ヒト歯根膜細胞 (HPDL) とヒト骨髄間質細胞 (BMSC) に及ぼす様々な影響を検討した。

1. レスベラトロールが歯周組織構成細胞の石灰化物形成に与える影響ならびに、石灰化物形成時に誘導される遺伝子発現に与える影響
レスベラトロール (10 μ M) を添加した石灰化誘導培地 (10%FCS 含有 α -MEM に、5mM ascorbic acid ならびに 50 μ g/ml β -glycerophosphate を添加) にて HPDL と BMSC を長期培養し、石灰化ノジュール形成をアリザリン染色で、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性を ALP 染色で検討した。同時に石灰化物形成時に誘導される各種遺伝子を real-time PCR 法を用いて検討した。
2. レスベラトロール添加が HPDL の SIRT1 遺伝子ならびにタンパクの発現に与える影響
HPDL のレスベラトロール (50 μ M) による刺激が、SIRT1 遺伝子発現に及ぼす影響を real-time PCR 法にて、SIRT1 タンパク発現に与える影響を Western blot 法にて検討した。
3. HPDL における mTOR シグナルの解析
HPDL へのレスベラトロール刺激 (50 μ M) が、mTOR リン酸化ならびにその下流分子である p70S6K のリン酸化に与える影響を Western blot 法にて検討した。

【結果】

HPDL のレスベラトロール刺激により、SIRT1 の mRNA ならびにタンパクの発現上昇を認め、その際に、mTOR や p70S6K のリン酸化の抑制を認めた。

石灰化誘導培地における HPDL の長期培養系へのレスベラトロール添加により、ALP 活性の上昇を認める一方、石灰化物形成の濃度依存的な抑制を認めた。一方、BMSC においてはレスベラトロール添加により、ALP 活性の低下と石灰化物形成の亢進が認められた。

【結論】

歯根膜細胞において、SIRT1 の活性化によって誘導される老化や栄養の制御シグナルがエネルギー代謝を調節し、細胞外マトリックスや硬組織産生に関与すると考えられる。また、HPDL と BMSC がレスベラトロール添加に際して異なる表現系を示したことから、SIRT1 遺伝子の機能は細胞種によって異なることが示唆された。

最終糖化産物はマクロファージ様細胞の炎症関連因子の発現を調節する

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

○村田裕美, 木戸淳一, 板東美香, 廣島佑香, 稲垣裕司, 永田俊彦

Advanced Glycation End-products regulate the expression of inflammation-related factors in macrophage-like cells
Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Health Biosciences,
The University of Tokushima Graduate School

○MURATA Hiromi, KIDO Jun-ichi, BANDO Mika, HIROSHIMA Yuka, INAGAKI Yuji, NAGATA Toshihiko

【研究目的】

歯周病は糖尿病の6番目の合併症であり、糖尿病関連歯周炎の病態の検討は、両疾患の相互関係の解明や糖尿病関連歯周炎の治療戦略を考えるために重要である。通常、糖尿病が進行すると、生体内の高血糖状態によりタンパク質の糖化が起こり最終糖化産物 (Advanced Glycation End-products: AGEs) が生成される。AGEs はマクロファージなどの細胞膜レセプターに結合し、多くの糖尿病合併症の進展に関与する。一方、最近、我々は歯肉溝滲出液 (GCF) 中にレジスチンなどの糖尿病関連因子が存在し、これらが歯周病罹患部位の GCF 中に高濃度に存在することを見出した。そこで本研究では、糖尿病関連歯周炎組織における AGEs の影響を検討するために、歯周組織への浸潤細胞であるマクロファージを AGEs で刺激したときの各種炎症性サイトカインおよび抗菌ペプチドの発現について検討した。

【材料および方法】

1. AGE-BSA の調製: AGE-BSA は Okamoto (*FASEB J.* 2002) らの方法に従って調製した。すなわち、ウシ血清アルブミン (50 mg/ml) と D-グリセルアルデヒド (0.1 M) を 0.2 M のリン酸緩衝液に溶解し、37°C で 7 日間反応後、4°C の PBS 中で 3 日間透析を行い AGE-BSA を調製した。
2. 細胞培養: 単球系細胞株 U937 (ATCC 社より購入) を 10% ウシ胎児血清を含む RPMI1640 で培養し、phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA: 200 nM) を含む培地で 24 時間培養してマクロファージ様に分化させた後、AGE-BSA (0.3 ~ 5 mg/ml) を添加し 2~24 時間培養を行った。
3. 全 RNA 抽出と Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR): 培養を行った細胞から通法に従って全 RNA を抽出し、オリゴ dT プライマーを用いて逆転写反応を行い cDNA を調製した。各 cDNA を鋳型として RT-PCR を行い、AGE 受容体 (Receptor for AGE: RAGE), 炎症性サイトカインと炎症関連因子 (Interleukin-1 β : IL-1 β , IL-6, IL-8, tumor necrosis factor- α : TNF- α , resistin, Monocyte chemoattractant protein-1: MCP-1) および抗菌ペプチド (S100A8, S100A9) の mRNA 発現について検出を行った。

【結果】

マクロファージ様に分化させた U937 細胞は IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α などの炎症性サイトカイン、レジスチンや MCP-1 などの炎症関連因子、および S100A8 や S100A9 の抗菌ペプチドなどの遺伝子を発現していた。AGE 添加により、そのレセプターである RAGE mRNA の発現増加がみられた。AGE 添加後、短時間で IL-1 β , IL-6, TNF- α およびレジスチンの遺伝子発現の増加が見られたが、逆に 24 時間後では減少を示した。また、MCP-1 の発現は、高濃度の AGE (12 時間処理) により増加した。さらに、低濃度の AGE (24 時間処理) では、S100A8 および S100A9 遺伝子の発現が減少したが、高濃度の AGE では逆に発現の上昇傾向が認められた。

【考察と結論】

糖尿病における末梢組織為害性因子である AGEs は、マクロファージ様分化 U937 細胞において、RAGE 発現を介して IL-1 β , IL-6, TNF- α などの炎症性サイトカイン、およびレジスチンや MCP-1 などの炎症関連因子の発現を増加させることが示唆された。また AGEs は、抗菌ペプチドである S100A8/S100A9 の発現にも影響を及ぼし、その濃度に依存した効果を示した。AGEs は、これらの炎症関連因子の発現調節を介して糖尿病関連歯周炎の歯周組織で炎症の増悪に関与している可能性が考えられる。

ドキシサイクリンによる歯周病原細菌感染を伴う腹部大動脈瘤拡張の抑制

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野¹、循環制御内科学分野²、グローバル COE プログラム³
東京大学 先端臨床医学開発講座⁴
○青山典生¹、鈴木淳一^{2,4}、磯部光章²、和泉雄一^{1,3}

Doxycycline suppresses the development of abdominal aortic aneurysm with periodontal bacteria
Department of Periodontology¹, Department of Cardiovascular Medicine², Global Center of Excellence Program³,
Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, Department of Advanced Clinical Science and Therapeutics,
University of Tokyo⁴
○AOYAMA Norio¹, SUZUKI Jun-ichi^{2,4}, ISOBE Mitsuaki², IZUMI Yuichi^{1,3}

【研究目的】

腹部大動脈瘤の形成と促進には炎症が関与し、特に matrix metalloproteinase (MMP) が重要な役割を果たすことが明らかとなっている。腹部大動脈瘤病変から、複数の歯周病原細菌が検出されていることから、両者の関連が注目されてきている。抗菌薬の一種であるドキシサイクリン(Dox)は、抗菌作用だけでなく、MMP 抑制などの複数の作用を有していることが認められている。しかしながら、歯周病原細菌感染を伴う腹部大動脈瘤における MMP 制御に関し、Dox がどのように働くかはいまだ示されていない。

そこで、本研究の目的は、歯周病原細菌感染を伴った腹部大動脈瘤の進展に対し、Dox がどのような影響を与えるかを解析することである。

【材料および方法】

全身麻酔下でマウスを開腹して腹部大動脈を露出させ、動脈外壁に塩化カルシウム水溶液を塗布することにより実験的に腹部大動脈瘤を誘導した。背部皮下にあらかじめ埋入しておいたチャンバー内に、主要な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* の懸濁液 (10^8 CFU/mL, 0.1mL) を週に 1 回の割合で注入した。Dox 投与をする実験群では、Dox (30mg/kg/day) を毎日口腔経由で投与した。大動脈瘤誘導手術の 28 日後、再び全身麻酔下で開腹して腹部大動脈の直径を計測し、薬物投与群と未投与群で比較検討を行い、また術前径との比較を行った。さらに腹部大動脈サンプルから病理学的解析や免疫組織学的解析を行った。

【成績】

術前の腹部大動脈直径は、Dox 未投与群で 0.53 ± 0.03 mm、Dox 投与群で 0.50 ± 0.03 mm と差がなかったのに対し、術後の腹部大動脈直径は Dox 未投与群で 0.80 ± 0.03 mm、Dox 投与群で 0.59 ± 0.02 mm であった。すなわち、術後の腹部大動脈拡張量は、Dox 未投与群に比べ、Dox 投与群で有意に抑制されていた (Dox 未投与群 1.51 \pm 0.06 倍、Dox 投与群 1.16 \pm 0.05 倍、 $p < 0.05$)。組織学的解析から、Dox 未投与群では血管周囲の線維の破壊と平坦化を強く認めたのに対し、Dox 投与群では線維破壊が抑制されていることが観察された。また、免疫組織学的解析から、Dox 未投与群に対し Dox 投与群では MMP-2 の発現が抑えられていた。

【考察】

腹部大動脈瘤の拡張や進展において MMP が主要な役割を担っていることから、MMP を抑制することで大動脈瘤拡張を制御しようとするのは、大動脈瘤の予防や治療への戦略となり得る。本研究結果から、Dox 投与により大動脈瘤拡張が抑制されることが明らかになった。Dox 投与群では腹部大動脈での MMP 発現が低下していたことから、Dox による MMP 抑制効果が、腹部大動脈瘤拡張を抑えたことが示唆された。

【結論】

ドキシサイクリンの投与により歯周病原細菌感染を伴う腹部大動脈瘤の進行を抑制した。このことから、ドキシサイクリン低用量での持続的投与が歯周病原細菌保持者での腹部大動脈瘤の進展を防ぐための有効な薬理的アプローチとなる可能性があることが示唆された。

血清アミロイド A による動脈硬化症発症の検討

松本歯科大学歯科保存学第一講座¹

松本歯科大学歯科放射線学講座²

○窪川恵太¹, 海瀬聖仁¹, 西田英作¹, 武藤昭紀¹, 田口 明², 吉成伸夫¹

The effect of serum amyloid A on atherosclerosis in ApoE deficient mice
Department of Periodontology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University¹,
Department of Oral-Radiology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University²
○KUBOKAWA Keita¹, KAISE Kiyohito¹, NISHIDA Eisaku¹, MUTO Akinori¹, TAGUCHI Akira², YOSHINARI Nobuo¹

【研究目的】

近年、動脈硬化症は炎症応答であり、遠隔部位でも潜在的で持続的な慢性炎症が存在すると、動脈硬化症のリスクが高まることが示唆されている。我々は、局所慢性炎症としての歯周病を想定して、マウスの腹腔内にインターロイキン-6 (IL-6) を注入し、肝臓における血清アミロイド A (SAA) 遺伝子の発現上昇と、末梢血における SAA タンパク濃度の上昇を確認した。しかし、SAA によるアテローム性動脈硬化症発症との機序は未だ不明である。そこで今回、IL-6 刺激した動脈硬化症易形成 (ApoE^{-/-}) マウスを使用し、SAA のアテローム性動脈硬化症に対する影響について免疫組織学的に検討した。

【材料および方法】

実験には生後 8 週齢の ApoE^{-/-} マウス 50 匹を使用し、IL-6 (500 ng) 投与群と PBS 投与群 (コントロール) の 2 群に分け、それぞれ腹腔内へ 3 日間連続投与した。1 日、1 週、4 週、8 週、12 週経過後に肝臓摘出、末梢血採取、心臓から鼠頸部までの大動脈摘出を各々 5 匹行い、肝細胞の SAAMRNA はリアルタイム PCR 法により解析、血清 SAA 濃度は ELISA 法により測定した。大動脈は縦断試料を作成し、Sudan IV 染色後、画像解析により脂肪沈着の定量測定を行った。さらに、大動脈の横断切片から、SAA による直接的作用を解析するために SAA 受容体 (CD36) を免疫組織学的に染色し、検討した。

【結果および考察】

IL-6 投与群では 1 日後に SAAMRNA が著明に上昇し、その後の 1 週、4 週、8 週、12 週経過時にはほとんど発現は見られなかった。PBS 投与群では全期間を通して発現は認められなかった。SAA タンパク量においても同様に、IL-6 投与群で、1 日経過後に著明な上昇を示し、その後、1 週、4 週、8 週、12 週経過時にはほとんど見られなかった。PBS 投与群では全期間を通して SAA タンパク量の上昇は認められなかった。また、大動脈弓から鼠頸部までの大動脈縦断内膜面の Sudan IV 染色結果は、IL-6 投与群では、経時的に脂肪沈着部位が増加していた。脂肪沈着面積率を算出すると、IL-6 投与群では PBS 投与群と比較し、4 週経過後で脂肪沈着率が有意に増加し、動脈硬化病変部が増大していることが認められた。さらに、大動脈の横断試料による、HE 染色においても、4 週経過後から血管壁の肥厚が認められ、SAA 受容体である CD36 による免疫組織染色において病変部に SAA 受容体を多く検出した。

【考察】

IL-6 を投与することで、ApoE^{-/-} マウスの SAA は、mRNA、タンパク量ともに 1 日後に著明に増加した。さらに、経時的に血管内膜への脂肪沈着量も増加した。免疫組織学的検討において、大動脈の横断試料では内皮細胞に SAA レセプターである CD36 発現の著明な増加を認めた。すなわち、局所の炎症性疾患である歯周炎部位で産生される IL-6 が、肝臓を刺激して SAA が産生され、内皮細胞に作用して動脈硬化症を誘導している可能性が示唆された。今後、血管内腔における SAA の作用機序をさらに詳細に解析していくことにより歯周病による動脈硬化症発症のメカニズムを解明していく予定である。

エリックプライマーを用いた *S. mutans* と *S. sobrinus* のバンディングパターンの差異

日本大学松戸歯学部保存修復講座
○岡田珠美, 鈴木英明, 藤田 光, 池見宅司

The differentiations of banding patterns form *S. mutans* and *S. sobrinus* with Eric primers

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo.
○OKADA Tamami, SUZUKI Hideaki, FUJITA Kou, IKEMI Takuji

【研究目的】

演者らは初期う蝕の発症に深い関わりを持っている *S. mutans* (血清型 *c, e & f*) と *S. sobrinus* (血清型 *d & g*) の遺伝子型の差異を Repetitive extragenic palindromic PCR (rep-PCR) 法を用いて調べる研究を行っている。この技術は将来において高う蝕罹患患者を識別する上での重要な技術となりえる可能性がある。本法の特徴は特別な機械を必要とせず、安価であり、他の方法と比較して簡単な技術で短期間に結果が得られるという利点がある。この rep-PCR 法に市販プライマーを用いて *S. mutans* と *S. sobrinus* の標準株および *S. mutans* (血清型 *c*) のヒト口腔分離株に応用したところ種々のバンドを得ることができ、*S. mutans* と *S. sobrinus* の標準株ではそのバンディングパターンに差異が認められることを報告した (第 134 回)。今回は *S. sobrinus* の標準株 (血清型 *d & g*) および臨床分離株数菌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する。

【材料および方法】

S. sobrinus 標準株数菌株 (血清型 *d & g*) とヒト口腔より分離した *S. sobrinus* 数菌株を本実験に供した。BHI 液体培地を用いた一夜、ローソク培養液 (37°C) より遠心機を利用して菌体を回収した。市販 DNA 抽出キット (kit (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen) を用いて DNA を抽出、濁度計を用いて純度を確認し濃度を調節した。市販プライマー ERIC1R (5' -ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3') と ERIC 2 (5' -AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3') (Intergrated DNA Technologies)、およびバッファーコンポーネント (EPICENTER Technologies) を用い通法に従い rep-PCR を行った。すべての PCR は Gene Amp 9700 thermal cycler (Applied Biosystems) を使用して行った。イニシャルディネーターリング 95°C 5 分間を行った後、95°C を 2 分間、48°C を 3 分間、72°C を 3 分間のサーマルサイクルを 30 回行い、ファイナルイクステンション 72°C を 5 分間行った。得られた増幅産物は 2% のアガロースゲルを使用した 100V、30 分間の電気泳動により分離し、エチジウムブロマイド (10 μg/ml) 染色後、Image Saver AE-6905C (ATTO, Tokyo) を用いて写真撮影した。得られたバンディングパターンの多様性を各ベースペア (bp) におけるバンドの有無やその本数を基に標準株間および臨床分離株間で比較検討した。

【結果および考察】

- 1) すべての標準株および分離株の DNA から得られたバンディングパターンは数種のバンドを有していた。
- 2) *S. sobrinus* 標準株および分離株のパターンは若干の差異は認められるが 1800bp, 1100bp, 900bp, 800bp に強く染色されるバンドが認められた。
- 3) 1100bp に強く染色されるバンドは *S. mutans* 標準株にも認められ両菌株共通のバンドの可能性が考えられる。
- 4) 口腔分離株のなかにはバンドが欠損しているものも認められその多様性が確認出来た。

【結論】

以上の結果は、本 rep-PCR 法が *S. sobrinus* 標準株や分離株にも応用出来る事が認められた。この事は本方法が将来において両菌株を遺伝子学的に分離する有用な技術となる可能性や、高う蝕罹患患者を識別する技術にも応用される可能性が示唆された。

イヌ歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞の抜髄後根管内移植による歯髄再生能比較

国立長寿医療研究センター 歯科口腔先進医療開発センター 再生歯科医療研究部¹,
愛知学院大学 歯学部 小児歯科学講座², 愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座³
○石坂 亮^{1,2}, 庵原耕一郎¹, 村上真史¹, 中村 洋³, 福田 理², 中島美砂子¹

Pulp Regeneration Induced by Canine Pulp CD31⁺ SP Cells Compared with Bone Marrow and Adipose CD31⁺ SP Cells

Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute¹, Department of Pediatric Dentistry²,
Department of Endodontics³, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○ISHIZAKA Ryo^{1,2}, IOHARA Koichiro¹, MURAKAMI Masashi¹, NAKAMURA Hiroshi³,
FUKUTA Osamu², NAKASHIMA Misako¹

【目的】 私どもは歯髄幹細胞を用いた歯髄再生による新しい歯髄炎治療法の開発を行ってきた。その中で血管新生・神経再生能に優れた歯髄幹細胞CD31⁺SP細胞を分取し、イヌ抜髄後の根管内に自家移植して、完全に歯髄を再生することに成功した。しかし、不要歯からの自家歯髄組織の供給は高齢になるにつれ限界が生じる。そこで、新たな細胞供給源を模索するために、ブタ歯髄・骨髄・脂肪CD31⁺SP細胞をブタ歯根に注入し、異所性にマウス皮下に移植したところ、骨髄・脂肪でも歯髄と同様に歯髄様組織が再生した。本研究では、ヒト臨床モデルに近いイヌ抜髄後の根管内に骨髄・脂肪CD31⁺SP細胞を自家移植し、歯髄CD31⁺SP細胞を移植したものと同様に歯髄様組織が再生するか検討した。

【材料と方法】

- 1 イヌ歯髄・骨髄および脂肪より細胞を酵素分離後、フローサイトメーターにて Hoechst 33342 を強く排出する画分 (SP) 中の CD31⁺ 細胞を分取し、幹細胞の含有率を比較した。
- 2 フローサイトメーターにてイヌ歯髄・骨髄および脂肪 CD31⁺SP 細胞の細胞表面マーカーを比較した。
- 3 各細胞の幹細胞マーカー、血管誘導因子、神経栄養因子の mRNA 発現を Real-time RT-PCR にて比較した。
- 4 in vitro における血管誘導: matrigel 上で三次元培養し 6 時間後、管腔形成能を比較した。
- 5 in vitro における神経誘導: 通法に従い neurosphere 形成能および神経分化能を比較した。
- 6 TAXIScan-FL にて歯髄・骨髄および脂肪 CD31⁺SP 細胞の SDF1 に対する遊走能を比較した。
- 7 イヌ抜髄後の根管内に各細胞を SDF1 とコラーゲン TE と共に自家移植し、14 日および 28 日後解析を行った。
 - A. HE 染色し、再生歯髄を形態的に検討。さらに再生歯髄面積を統計学的に比較。
 - B. マッソン染色し、基質形成を検討。
 - C. BS1-lectin 染色、PGP 9.5 染色し、血管新生・神経再生能を免疫組織学的に検討。
- 8 再生歯髄様組織の分子生物学的解析: 各細胞を移植して再生した組織における歯髄マーカーおよび歯根膜マーカーの mRNA 発現を Real-time RT-PCR にて比較した。

【結果】

- 1 歯髄・骨髄および脂肪細胞共に、幹細胞画分である CD31⁺SP が存在していた(歯髄 0.8%, 骨髄 0.3%, 脂肪 0.1%)。
- 2 歯髄・骨髄および脂肪 CD31⁺SP 細胞共に幹細胞マーカー (CD29, CD44, CD73, CD90, CD105) の発現が高かった。
- 3 歯髄・骨髄および脂肪 CD31⁺SP 細胞共に同程度の幹細胞マーカーを発現していた。さらに、歯髄は他の細胞より血管誘導因子・神経栄養因子の発現が高かった。
- 4 in vitro において、各細胞共に血管および神経に誘導できたが、歯髄 CD31⁺SP 細胞はより高い血管誘導能を有していた。
- 5 各細胞共に SDF1 に対して遊走能を有していたが、歯髄 CD31⁺SP 細胞の遊走能は、より高かった。
- 6 イヌ抜髄後の根管内に骨髄および脂肪 CD31⁺SP 細胞を移植すると、歯髄 CD31⁺SP 細胞の移植と同様に歯髄様組織が形成された。
- 7 歯髄に強く発現していると知られているマーカー (Syndecan, Tenascin, TRHDE) の発現は、歯髄・骨髄および脂肪 CD31⁺SP 細胞を移植して再生した組織間で差が無かった。

【結論】 骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞は、歯髄に比べて血管誘導能および遊走能が低く、血管誘導・神経栄養因子発現が低い、歯髄様組織が再生されたことから、歯髄再生のための第二の細胞源として有用であることが示唆された。

乳酸菌配合歯磨剤の口腔衛生改善効果についての臨床研究

福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野

○畑野優子, 鈴木奈央, 米田雅裕, 山田和彦, 岩元知之, 榊尾陽介, 藤本暁江, 伊波幸作, 廣藤卓雄

Clinical trial concerning the improvement of oral health by the toothpaste containing lactic acid bacterium

Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College
OHATANO Yuko, SUZUKI Nao, YONEDA Masahiro, YAMADA Kazuhiko, IWAMOTO Tomoyuki, MASUO Yosuke,
FUJIMOTO Akie, IHA Kosaku, HIROFUJI Takao

【研究目的】

乳酸菌は、腸管免疫の活性化による感染症に対する抵抗性の強化、腸内細菌叢のバランス改善など、さまざまなプロバイオティクス機能を有することが知られる。近年、歯科領域においても、乳酸菌のプロバイオティクス機能によるう蝕および歯周疾患に対する予防効果への有効性が注目され、さまざまな *in vitro* 研究ならびに臨床応用研究が行われている。我々はこれまでに、*in vitro* 実験において、乳酸球菌 *Enterococcus faecium* WB2000 株がう蝕原因菌のバイオフィルム形成抑制能を有することを見いだした (日本歯科保存学会第 134 回春季学術大会にて発表)。そこで本研究では、*E. faecium* WB2000 株を配合した歯磨剤の口腔衛生改善効果を、二重盲検ランダム化比較試験を用いて臨床的に評価することにした。

【方法】

試験薬剤として乳酸菌配合歯磨剤 (アバンビーズ[®], わかもと製薬株式会社)、対照試験薬剤として乳酸菌無配合歯磨剤 (アバンビーズ[®]から *E. faecium* WB2000 を除いたもの) を用いた。参加者の適格基準を満たした 68 名を被験者とし両群にランダムに割付け、試験期間中に歯科医院で専門的口腔清掃を受けた場合や薬物を服用した場合はランダム化後の除外対象とした。口腔清掃習慣を変えることによるプラークコントロールの向上や被験者のストレスを回避するために、本研究では歯磨き方法を個人の習慣通りとした。歯磨剤の一回の使用量を 1 cm と定め、歯磨き時間と回数については日誌に記入することで歯磨剤使用量を計算できるようにした。歯ブラシは指定したものを使用するように指示した。実験開始前日、2 週間後、4 週間後に、口腔内診査と唾液採取を行った。診査当日の歯磨きは禁止し、口腔内診査は午後から随時、各被験者が 3 回の診査を同時刻帯に受診するスケジュールで行った。口腔内診査の内容は、歯数、う蝕、修復物、プラーク付着状態 (PHP)、歯肉の炎症 (PMA)、歯周組織検査 (CPI)、唾液検査の内容は、3 分間の刺激唾液量、唾液 pH、唾液緩衝能である。また、回収した唾液より細菌 DNA を調製し、定量 PCR を用いて口腔内細菌数を定量した。

【結果と考察】

分析対象者は 59 名 (除外対象者 9 名) であり、乳酸球菌 *E. faecium* WB2000 配合歯磨剤を使用した実験群が 30 名、プラセボ群が 29 名であった。試験期間中に両群とも唾液量は増加し、実験群で 4 週間目に統計学的に有意な唾液増加が認められた。唾液 pH については、実験群で 2 週間後に統計学的に有意な減少がみられたが、pH7 を下回ることはなく、乳酸菌投与による口腔内の酸性化はないことがわかった。唾液緩衝能については、実験群で 4 週間後に統計学的に有意な改善がみられ、唾液の耐う蝕性の向上が認められた。代表歯のプラーク付着スコア (PHP) は、両群共に有意な改善を示した。唾液中の総菌数は両群共に増加傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。*E. faecium* の割合は、実験群で 2 週間後に統計学的に有意に減少し、4 週間後には両群共に減少した。う蝕原因菌である *Streptococcus sobrinus* は実験群で 4 週間後に有意に減少し、プラセボ群では有意に増加した。ただし検出率が低いため、対象者数を増やして検討する必要がある。歯周病原細菌については、菌種によって変動が多様であり、今後長期の観察が必要だと思われた。

【結論】

E. faecium WB2000 配合歯磨剤の利用によって唾液量の増加、唾液緩衝能の改善、プラーク付着の減少がみられ、プラセボ群と比較しても唾液に関するパラメータが有意に改善したことから、*E. faecium* WB2000 にはう蝕になりにくい口腔内環境への改善効果が期待できる。

大規模災害における保存系診療の役割

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, 歯周歯内治療学分野²

○泉川昌宣¹, 半田慶介¹, 小池俊之¹, 油尾俊也¹, 衣笠裕紀², 古市保志², 斎藤隆史¹

The Role of Conservative Dentistry in Large-Scale Disasters.

Division of Clinical Cariology and Endodontology¹, Division of Periodontology and Endodontology², Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

○IZUMIKAWA Masanobu¹, HANDA Keisuke¹, KOIKE Toshiyuki¹, ABURAO Syunya¹, KINUGASA Hironori², FURUICHI Yasushi², SAITO Takashi¹

【目的】

本学では、2011年3月11日に発生した東日本大震災に対して、厚生労働省発令の下、災害支援本部を設置し、4月11日から5月22日までの6週（七ヶ浜地区1週間、女川地区5週間）にわたり3名1チームの歯科診療チームを宮城県沿岸部の被災地に派遣した。

今回は、この歯科診療チームの実施した歯科救護活動の内、歯科保存領域に係わる診療に特化し、その治療に必要性と特徴を分析することを目的とした。

【方法】

東日本大震災における北海道医療大学災害支援本部派遣の歯科救護活動実績を対象として、歯科保存領域の診療内容を分析対象とした。

【結果および考察】

本学歯科診療チームは1班が七ヶ浜地区（七ヶ浜町、多賀城市、塩釜市）を、2～6班は女川地区（女川町、石巻市雄勝町の一部）を対象地域として歯科治療支援活動を行った。

七ヶ浜地区には稼働できる歯科医院は1軒あったが、避難所から遠方で交通手段が喪失した状況では通院は困難であった。同地域で最も必要とされた治療は歯周治療の35件で全治療件数の47%を占めていた。次いで義歯関連治療の15件で20%を占めていた。

女川地区は被災前に2軒の歯科医院があったが、2軒とも完全に流失し、再開の目処が立っていない状況であった。必要とされた歯周治療は74件であり、全治療件数296件の25%を占めていた。一方、義歯補綴治療は103件（35%）であった。次いでう蝕治療が48件、修復物脱離は10件であり、その多くは前半部（1班から3班）に集中していた。義歯調整（56件）は、全期間を通じて特に偏りは認められなかった。

七ヶ浜、女川両地域で行った義歯清掃、ブラッシング指導、口腔衛生用品や義歯清掃用品の配布と使用説明などの口腔ケア件数は1000件を超えていた。水の供給事情が劣悪な状況に加え、口腔清掃用品が避難所によっては顕著な不足状態であり、誤嚥性肺炎の多発が懸念されていたが、今回の活動によりかなりの改善がなされたものと考えられる。また、炭水化物中心の食事は、食渣の口腔内への滞留を促進し、歯周疾患の既往があった患者の増悪化の要因となつたと推測された。さらに救援物資のお菓子が日常的に摂取できるという環境から、今後小児を中心としたう蝕の好発も懸念される。そのため、ブラッシング指導や口腔清掃用品の供給のみならず、積極的なフッ素塗布も有効であると推測された。

【結論】

東日本大震災の被災者において、保存系治療、特に歯周治療の必要性が高いことが示された。また、歯ブラシや義歯清掃剤などの口腔清掃用品の継続的な供給の必要性が示唆された。

大規模災害における歯科救護活動への北海道医療大学の取り組み
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, 歯周歯内治療学分野²
○半田慶介¹, 小池俊之¹, 泉川昌宣¹, 油尾俊也¹, 衣笠裕紀², 古市保志², 斎藤隆史¹

Dental Relief Activity of Health Sciences University of Hokkaido in a Large-Scale Disaster
Division of Clinical Cariology and Endodontology¹, Division of Periodontology and Endodontology², Department of Oral
Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
○HANDA Keisuke¹, KOIKE Toshiyuki¹, IZUMIKAWA Masanobu¹, ABURAO Syunya¹, KINUGASA Hironori²,
FURUICHI Yasushi², SAITO Takashi¹

【目的】

2011年3月11日14時46分に宮城県牡鹿半島沖を震源として発生した東日本大震災は、広範囲に渡って甚大な被害を及ぼした。厚生労働省発令の下、大規模歯科救護活動が実施され、本学は宮城県七ヶ浜町および女川町にて4月11日から5月22日までの6週間にわたって歯科医療を行い、一定の成果をもたらした。本学では、災害発生1週後に災害支援本部設置し、全学をあげての協力体制を構築した。

本発表では、本学が過去に経験した北海道南西沖地震（1993年）の歯科救護活動実績と災害発生状況から、必要とされる歯科救護活動の内容を予測することの可能性を検討するとともに、それに対する効果的な人的・物質的準備を行った。

【方法】

本発表では、東日本大震災における本学が実施した歯科救護活動において、地震災害の特徴とそれらの分析および救護活動について報告する。

【結果および考察】

本学の派遣先である七ヶ浜町及び女川町における災害の特徴は、高齢化の進んだ漁業を主幹産業とする地域であり、災害の大部分は地震そのものではなく津波災害であること、集落全体が被災し稼働できる歯科医療機関が無くなったこと、交通路が遮断され物資の供給が困難であることなどが挙げられる。これらのことから、被災者には有床義歯を必要とする高齢者が多いこと、外傷患者は少ないこと、失われた歯科医療体制の補完が求められることが推測できた。東日本大震災においてはそのライフラインや物流の崩壊が長期化していることから、口腔衛生状況の悪化が懸念された。また災害の発生時刻（14時46分）から、義歯装着者は、義歯を装着していると考えられ紛失者の発生頻度は少ないと予想される。実際、本学が実施した歯科救護活動において、歯周疾患や義歯性口内炎等への対応が主となっていた。

また、本歯科救護活動において、過去の救護活動の経験から支援者自身のPTSDを懸念し、支援者のこころのケアについても重要視した。今回こころのケアとして、適正な事前情報の提供、対処法の周知、バックアップ体制の構築、グループ内・間の負担共有、無理のないスケジュールの実施に配慮を行うことによって対応を行った。結果、2次受傷者を出すことなく救護活動を終えられた。

さらに、本学では訪問歯科診療や災害地歯科診療へ対応する地域支援歯科医療科を常設しており、今回地域支援歯科医療科を中心として歯科支援チームを結成して、被災者への歯科支援を行い、一定の成果をあげることができた。医科における災害派遣医療チーム(Disaster Medical Assistance Team:DMAT)や日本医師会災害医療チーム(Japan Medical Association Team:JMAT)などが整備されているが、歯科においてはそれらの組織の整備が遅れているのが現状である。将来的には、大学や歯科医師会が災害時の歯科支援の活動基盤となり、支援者への研修プログラムの策定人材育成も含めて来る災害に備える必要性が示唆された。

【結論】

本研究の結果から、災害発生時の状況を考慮して必要とされる歯科救護活動の内容をある程度推測できることが示唆された。また、日頃から大規模災害に対する備蓄や準備を行い、俊敏に対応することの重要性が認識された。

新規デンタルユニット連動型自律神経活動モニターシステムの開発

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¹
長田電機工業株式会社²

○下地伸司¹, 菅谷 勉¹, 根岸 淳¹, 田中佐織¹, 伊藤 豊¹, 小田島朝臣¹,
宮治裕史¹, 齋藤恵美子¹, 川村直人¹, 元木洋史¹, 臼井 薫², 川浪雅光¹

Development of a novel system monitoring autonomic response allied with a dental unit

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine.¹
Osada Electric Co., Ltd.²

○SHIMOJI Shinji¹, SUGAYA Tsutomu¹, NEGISHI Jun¹, TANAKA Saori¹, ITO Yutaka¹, ODAJIMA Tomoomi¹,
MIYAJI Hirofumi¹, SAITO Emiko¹, KAWAMURA Naoto¹, MOTOKI Yoji¹, USUI Kaoru², KAWANAMI Masamitsu¹

【緒言】

我が国は欧米先進諸国よりも20年早いペースで超高齢化社会を迎えている。その高齢者の多くは代謝系や循環器系機能の低下、あるいは糖尿病や循環器系疾患などの全身的基礎疾患を有している。歯の健康が全身の健康に重要であることは、多くの研究で明らかになっているが、高齢者に対する歯科治療は血圧の上昇、心拍数の増加などによって、脳血管や心臓血管などの循環障害を起こす危険性があるため、一般歯科医での治療が消極的になっているのが現状である。それらの患者に対して安全・安心に歯科治療を行うためには、歯科治療が全身状態に及ぼす影響を解明することが必要だが、現在までに行われている臨床研究の多くは高侵襲の歯科治療に限定されており、歯科治療全般を評価した研究は未だ少ない。

そこで我々は多岐に渡る歯科治療が全身状態に及ぼす影響を評価するために新規デンタルユニット連動型自律神経活動モニターシステムを開発した。従来のモニターは血圧、心拍数、血中酸素濃度を測定するのが一般的だが、本モニターシステムではそれらの情報に加えてストレスの指標となる自律神経活動についても評価が可能である。さらにデンタルユニットと連動させることにより歯科治療情報をモニター上に反映させることができるシステムを開発したのでその構成、評価可能項目、特徴について報告する。

【本モニターシステムの構成・評価可能項目】

本モニターシステムは生体情報モニター、データ解析ソフトウェア内蔵パーソナルコンピュータおよびデンタルユニットが連動している。モニターとパーソナルコンピュータが連動することにより測定データを簡便に電子ファイル化し、保存することができ、データの収集・解析が容易に行える。さらにデンタルユニットと連動させることによりタービン、エンジン、超音波スケーラーの使用は自動的にモニターに記録され、その他99項目までの歯科治療情報をモニター上に反映させることができる。

【本モニターシステムの特徴と意義】

本モニターシステムは心拍の間隔(R-R間隔)をスペクトル分析し、HF(高周波)成分とLF(低周波)成分に分けることで交感神経および副交感神経活動を評価している。これらの変動は心拍や血圧の変動よりも俊敏な反応を示すことから、本モニターシステムを用いることで歯科治療が患者に与えるストレス及び全身状態への影響を従来のモニターよりもリアルタイムかつ、見落としが少なく検出できると考えられる。更にパーソナルコンピュータおよびデンタルユニットと連動した本モニターシステムを用いることで保存、補綴、口腔外科、矯正などの多岐に渡る歯科治療が全身疾患に及ぼす影響を簡便に記録、評価することが可能になると考えられる。

今後、どのような歯科治療が自律神経に影響を及ぼし、それが全身状態にどのような影響を及ぼすかについて検討を行っていく。高齢者及び有病者も対象にし、それらに対する影響を統計解析し、歯科治療が患者の全身状態に及ぼす科学的根拠としたい。このシステムを歯科医療現場に広く普及し、エビデンスを蓄積していくことが超高齢者社会において安全・安心に歯科治療を行うために重要であると考えている。

EMD 由来合成ペプチドのヒト歯髓細胞の増殖, 接着, 遊走に及ぼす影響

大阪歯科大学 歯周病学講座¹, 大阪歯科大学 口腔病理学講座²

○高橋幸達¹, 田口洋一郎¹, 安井菜津希¹, 奥田麻貴子¹, 富永和也², 田中昭男², 上田雅俊¹

Effect of oligopeptide derived from enamel matrix derivative
in human dental pulp cells from the viewpoint of cell growth, adhesion and migration.

Osaka Dental University, Department of Periodontology¹, Oral Pathology²

○TAKAHASHI Saitatsu¹, TAGUCHI Yoichiro¹, YASUI Natsuki¹, OKUDA Makiko¹, TOMINAGA Kazuya²,
TANAKA Akio², UEDA Masatoshi¹

【目的】

幼若ブタの歯胚から抽出されたエムドゲイン® (以下, EMD と略す) は, 歯槽骨吸収の著しい歯周炎患者の歯周組織再生, とくにセメント質を誘導し歯周組織の再生を促す薬剤として現在広く臨床応用されている。しかし, 現在市場に流通している EMD は生物由来材料のため, 未知の病原体の問題点を払拭できず患者からの拒否感があるのも事実であり, 生物に由来しない合成ペプチドの開発が望まれている。

また, EMD に関しては, in vivo, in vitro の両面において歯髓保護のための覆髓剤としての臨床応用について研究が進められている。歯髓細胞には未分化な間葉系の細胞が多く含まれており, EMD による硬組織への分化誘導が期待されている。

今回, EMD の基礎研究から得た成果 (*J Periodontol* 2005;76:1934-1941) をもとに作製した新規合成ペプチドに対する影響について, 未分化なヒト歯髓細胞に及ぼす影響について至適濃度の策定という観点から検討した。

【材料および方法】

ヒト歯髓細胞 HPFC を実験に使用した。新規合成ペプチドのヒト歯髓細胞に対する影響は, 細胞増殖, 細胞接着および細胞遊走について検討した。

ヒト歯髓細胞を, 和光純薬社製 Dulbecco's modified Eagle medium を用いて継代培養し 3 代目を実験に供した。合成ペプチドを 5, 20, 100, 500, 1000 ng/mL の各濃度で培地に溶解させヒト歯髓細胞に応用した。合成ペプチドを含まない培地で培養した群を対照群とした。細胞増殖に関しては, 96well プレートに 4×10^4 個/mL ずつ播種し 1, 3, 6, 24, 72 時間培養し, Promega 社製 CellTiter-Blue™ Cell Viability Assay kit を用いて測定した。細胞接着に関しては, 96well プレートに 20×10^4 個/mL ずつ播種し 1 時間後の細胞接着を Invitrogen 社製 PicoGreen® dsDNA Quantitation Assay Reagent Kit を用いて測定した。細胞遊走に関しては Boyden chamber 法を改良して行った。すなわち, 細胞を Molecular Probes 社製 Calcein^{AM} にて染色し Beckton Dickson 社製 FALCON™ Fluoroblok Insert System を用いて, 1, 4, 8 時間後の細胞遊走を測定した。

【結果】

細胞増殖および細胞接着に関しては, 刺激時間に応じて全ての濃度刺激群と対照群において増殖反応を示したが, 刺激時間にかかわらず 100 ng/mL 濃度の刺激群において他の濃度刺激群および対照群に比べて有意に高かった。

逆に細胞遊走に関しては, 全ての刺激時間で 100 ng/mL 濃度の刺激群において他の濃度刺激群および対照群に比べて有意に高かった。

【考察】

これらの結果から, EMD 由来の合成ペプチドに対するヒト歯髓細胞の細胞増殖, 細胞接着および細胞遊走は濃度依存的に比例しているわけではなく, 至適濃度が存在するということが示唆された。硬組織の誘導の過程の中で, ヒト歯髓細胞は至適濃度の策定は必要であり, 今後至適濃度におけるヒト歯髓細胞からの硬組織誘導能についても検討したいと考えている。

天然多糖プルランのリン酸化合物と塩化セチルピリジニウム混合液の ラットへの反復経口投与毒性試験と細胞へ与える影響

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 病態制御学専攻病態機構学講座 歯周病態学分野¹

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 機能再生再建学専攻 生体材料学分野²

○河田有祐¹, 難波尚子¹, 峯柴 史¹, 吉田靖弘², 前田博史¹, 高柴正悟¹

Repeated oral dose toxicity study for rat and cytotoxicity of phosphorylated natural polysaccharide pullulan and mixture with cetylpyridinium chloride

Department of Pathophysiology - Periodontal Science¹, Department of Biomaterials²,

Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science

○KAWATA Yusuke¹, NAMBA Naoko¹, MINESHIRA Fumi¹, YOSHIDA Yasuhiro², MAEDA Hiroshi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【目的】

齲蝕や歯周病を予防するには、原因となる菌の増殖を抑える必要がある。塩化セチルピリジニウム (CPC) は、優れた抗菌作用をもつ陽イオン性の物質で歯磨剤や洗口剤の成分として多く使用されているが、歯面への付着性が十分でないために抗菌効果の持続性に問題点がある。そこで、われわれは黒色酵母によって生成される天然多糖のプルランのリン酸化合物 (PP) を新規に合成し、その化合物の歯面および陽イオン性の物質との結合力を利用することで、CPC を持続的に歯面に停滞させて抗菌効果を維持することを報告している。本研究では、新規の材料である PP の単独溶液と PP-CPC 混合液の、細胞と生体へ与える影響を検証した。

【材料および方法】

1. ヒト由来細胞 (HeLa 細胞, KB 細胞, ヒト歯肉線維芽細胞) への影響: 細胞を培養後, PP 溶液もしくは PP-CPC 混合液を PBS (-) にて 0.0001%~0.1% に段階的に希釈し, 細胞に 3 分間作用させ, 24 時間後の細胞の状態を以下の 1) ~3) の方法で調べた。対照には CPC 溶液のみと PBS (-) の群を設定した。1) MTT assay にて細胞の活性を測定; 2) DAPI にて蛍光染色した核の数を Array Scan (Thermo Scientific) を用いて計測; 3) 位相差顕微鏡にて細胞形態を観察
2. ラットへ反復経口投与させたときの生体への影響: ラットに 0.01%PP 水溶液もしくは 0.01%PP-0.01%CPC 混合液を与えて, 最長 2 ヶ月間飼育した。対照には 0.01%CPC 溶液のみと蒸留水を用い, 以下の項目に関して調べた。1) 飼育期間中, 定期的に摂水量, 摂食量, そして体重を測定; 2) 投与期間終了後, 血液を採取して一般性状と生化学的性状を検査; 3) 各臓器 (肝臓, 腎臓, 脾臓, 下顎歯肉) を採取して, 組織学的に検討
3. ラットへ反復経口投与させたときの口腔内細菌へ及ぼす影響: 反復経口投与期間中, 口腔内細菌を 2 週間ごとに採取し, 口腔内細菌の量的および質的变化を以下の方法で調べた。1) リアルタイム PCR 法を用いて 16S rRNA 遺伝子を増幅し, 口腔内細菌量を定量; 2) T-RFLP 法を用いて, 口腔内細菌叢の変化を検討

【結果と考察】

1. 培養細胞の活性は, PP 単独溶液では濃度にかかわらず低下しなかったが, PP-CPC 混合液では濃度依存的に低下し, 0.001%と 0.01%間では大きく低下した。これは, CPC 溶液の場合と同じであった。また, 細胞数計測による比較では, 細胞活性と同様の傾向であった。さらに, 細胞形態の観察から, 細胞への障害性は, CPC によって細胞膜が変性して細胞質が溶出するためと考えられた。
2. 反復経口投与において, 飼育期間中は各群のラットの摂水量, 摂食量, そして体重変化には性差があったが, 性別群内では差はなかった。また飼育期間中の死亡例はなかった。血液像では, 尿素窒素においては CPC 群および PP-CPC 群が, ALT においては PP-CPC 群がそれぞれコントロール群と比較して有意に高い値を示した。その他の検査項目については, 各群間に有意差はなかった。各臓器の病理組織像では差異はみられなかった。
3. 口腔内細菌に対する影響については, ばらつきが多く一定の傾向はなかった。

以上から, PP 単独溶液には細胞障害性と生体毒性がともになく, PP-CPC 混合液は, 濃度依存的に細胞障害性があるが, 摂取に伴うラットに対する生体毒性は低いことが示唆された。今後は, 臨床試験を行い, ヒトに対する安全性と抗菌効果を検証していく予定である。 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科動物実験承認番号: OKU-2010105)

平成 23 年 9 月 20 日 発 行

編集兼発行者

制 作 者

印 刷 所

発 行 所

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会理事長
勝 海 一 郎
財団法人 口腔保健協会
<http://www.kokuhoken.or.jp/>
三報社印刷株式会社

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会
〒 170-0003 東京都豊島区駒込1-43-9
(財)口腔保健協会内
電 話 03 (3947) 8891
F A X 03 (3947) 8341

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会賛助会員名簿

賛助会員名	郵便番号	所在地	電話番号
アグサジャパン株式会社	540-0004	大阪市中央区玉造 1-2-34	(06)6762-8022
医歯薬出版株式会社	113-8612	東京都文京区本駒込 1-7-10	(03)5395-7638
イボクラールピバデント株式会社	113-0033	東京都文京区本郷 1-28-24 4F	(03)6903-3535
株式会社エイコー	110-0005	東京都台東区上野 3-17-10	(03)3834-5777
長田電機工業株式会社	141-8517	東京都品川区西五反田 5-17-5	(03)3492-7651
株式会社東洋化学研究所	173-0004	東京都板橋区板橋 4-25-12	(03)3962-8811
クラレメディカル株式会社	100-0004	東京都千代田区大手町 1-1-3 大手センタービル	(03)6701-1730
小林製薬株式会社	567-0057	大阪府茨木市豊川 1-30-3	(072)640-0117
サイブロン・デンタル株式会社	113-0021	東京都文京区本駒込 2-29-24 千石パシフィックスクエアビル	(03)5977-3126
サンメディカル株式会社	524-0044	滋賀県守山市古高町 571-2	(077)582-9981
株式会社ジーシー	113-0033	東京都文京区本郷 3-2-14	(03)3815-1511
株式会社松風	605-0983	京都市東山区福稲上高松町 11	(075)561-1112
昭和薬品化工株式会社	104-0031	東京都中央区京橋 2-17-11	(03)3567-9573
スリーエムヘルスケア株式会社	158-8583	東京都世田谷区玉川台 2-33-1	(03)3709-8233
タカラベルモント株式会社	542-0083	大阪市中央区東心斎橋 2-1-1	(06)6212-3619
デンツプライ三金株式会社	106-0041	東京都港区麻布台 1-8-10	(03)5114-1005
株式会社トクヤマデンタル	110-0016	東京都台東区台東 1-38-9 イトーピア青洲橋通ビル 7F	(03)3835-2261
株式会社ナカニシ	322-8666	栃木県鹿沼市下日向 700	(0289)64-3380
株式会社ナルコム製作所	270-0023	千葉県松戸市日暮 2-3-15	(047)367-7272
株式会社ニッシン	601-8469	京都市南区唐橋平垣町 8	(075)681-5719
日本歯科薬品株式会社	750-0015	山口県下関市西入江町 2 番 5 号	(0832)22-2221
株式会社スマートプラクティスジャパン	227-0043	横浜市青葉区藤が丘 1-9-6 日機装 藤が丘ビル 4F	(045)972-9081
ネオ製薬工業株式会社	150-0012	東京都渋谷区広尾 3-1-3	(03)3400-3768
白水貿易株式会社	532-0033	大阪市淀川区新高 1-1-15	(06)6396-4455
パナソニックヘルスケア株式会社	793-8510	愛媛県西条市福武甲 247	(0897)56-1210
ピヤス株式会社	132-0035	東京都江戸川区平井 6-73-9	(03)3619-1441
ヘレウスクルツァージャパン株式会社	113-0033	東京都文京区本郷 4-8-13 TSK ビル 2F	(03)5803-2151
マニ 株式会社	321-3231	宇都宮市清原工業団地 8-3	(028)667-1811
株式会社茂久田商会	650-0047	神戸市中央区港島南町 4-7-5	(078)303-8246
株式会社モリタ	564-8650	大阪府吹田市垂水町 3-33-18	(06)6388-8103
株式会社ヨシダ	110-0005	東京都台東区上野 7-6-9	(03)3845-2931

(五十音順)

謝 辞

日本歯科保存学会 2011 年度秋季学術大会（第 135 回）を開催するにあたり、下記の企業から多大なご協力を賜りました。ここに記し御礼申し上げます。

日本歯科保存学会 2011 年度秋季学術大会（第 135 回）

大会長 村上 伸也

協賛企業等一覧（五十音順）

(株)アズバイオ	シロナデンタルシステムズ(株)
Ivoclar Vivadent(株)	スリーエムヘルスケア(株)
(有)イポナコロジー	タカラベルモント(株)
ウェルテック(株)	ティアーアンドケー(株)
ULTRADENT JAPAN(株)	デンツプライ三金(株)
(株)エイコー	(株)トクヤマデンタル
(株)オーラルケア	(株)ナカニシ
長田電機工業(株)	(株)ニッシン
(有)オルソネット	日本歯科薬品(株)
科研製薬(株)	ネオ製薬工業(株)
キング工業(株)	白水貿易(株)
クラレメディカル(株)	パナソニック(株)
グラクソ・スミスクライン(株)	(株)ビーブランド・メディコーデンタル
(株)コムネット	ペントロンジャパン(株)
サイブロン・デンタル(株)	マニー(株)
サンスター(株)	(株)茂久田商会
サンメディカル(株)	(株)モリタ
(株)松風	八洲薬品(株)
昭和薬品化工(株)	(株)ヨシダ
ジョンソン・エンド・ジョンソン(株)	ライオン(株)
コンシューマーカンパニー	ライオン歯科材(株)
(株)ジーシー	(株)YD
(株)ジャックス	

発行所
東京都豊島区駒込一丁目四三十九
財団法人 口腔保健協会内
特定非営利活動法人 日本歯科保存学会

編集発行人
作

勝海一郎
財団法人 口腔保健協会

