

## ラット歯髄刺激による歯肉血管拡張および血漿漏出について

東北大学大学院歯学研究科口腔診断学分野  
○飯久保正弘、下里 舞、佐藤しづ子、笹野高嗣

**Vasodilatation and extravasation in the rat gingiva evoked by tooth-pulp stimulation**  
Division of Oral Diagnosis, Tohoku University Graduate School of Dentistry  
○Masahiro Iikubo, Mai Shimosato, Shizuko Satoh, Takashi Sasano

### 「目的」

歯髄の痛みは、歯痛錯誤や放散痛を引き起こすことがあり、痛みの原因を発見することは必ずしも容易ではないことが知られている。この原因の一つとして、歯髄の痛みが歯肉などの周囲組織の血管反応を引き起こすことが考えられている。すなわち、歯髄に対する痛み刺激は、刺激部と同側同顎および同側反対顎の歯肉に血管拡張を惹起することが報告され、神経原性炎症の関与が示唆されている。しかしながら、組織の発赤や浮腫性変化などの炎症反応に重要な役割を果たす血漿漏出が生じるか否かは不明である。そこで本研究では歯髄の痛みが周囲組織に与える病態生理学的変化について明らかとすることを目的に、歯髄刺激による歯肉の血漿漏出に着目して研究を行った。

### 「方法」

実験動物は、wistar 系雄リタイラット 79 匹を用い、全身麻酔下にて実験を行った。歯髄に対する痛み刺激として、下顎左側第一臼歯の近遠心小窩部を露髄し、電極を双極的に挿入し電気刺激を行った。歯肉の血管拡張および血漿漏出の観察部位として、下顎左右側頬舌側歯肉および上顎左側頬舌側歯肉を選択した。血流測定にはレーザードブラー血流計を、歯肉血漿漏出についてはエバンスブルー法を用いた。また、電気刺激が周囲歯肉に current spread を引き起こしていないことの確認として、エピネフリンを含有していない局所麻酔剤を露髄部より注入後、同様に電気刺激を行い比較検討した。

### 「結果」

電気刺激により、刺激側である下顎左側第一臼歯頬側および舌側歯肉に歯肉血流の増加反応がみられた。血漿漏出についても、刺激側である下顎左側第一臼歯頬側および舌側歯肉に反対側と比較して有意なエバンスブルーの組織沈着がみられた。一方、反対顎歯肉および局所麻酔注入後では、歯肉血流も血漿漏出も反対側と比較して有意差はみられなかった。

### 「考察」

ラット歯髄と歯肉には神経軸索が存在し、軸索反射性の血管拡張に加えて血漿漏出が引き起こされた可能性があると考えられる。また、周囲歯肉へのエバンスブルーの沈着が広範囲に見られたことは、軸索反射性により漏出した血漿が組織間隙に沿って広く波及した可能性や、三叉神経節内での cross excitation が引き起こされた可能性が考えられる。

### 「結論」

歯髄の痛みは、周囲歯肉に広範囲に血管拡張および血漿漏出を引き起こす可能性が示された。今回の実験では組織学的な変化については調べていないが、歯髄の痛みは、神経軸索を介して近傍の歯肉に神経原性炎症を引き起こす可能性を示唆すると思われる。したがって、臨床においては速やかに痛みを除去することが重要であると考えられた。

## 動水力学説の理論的根拠となる象牙細管内腔の逆向きテーパリング

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

**Contribution of retrograde tapering of space for fluid movement to the hydrodynamic mechanism**  
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】

動水力学説は象牙質痛を説明する理論として広く受け入れられている。すなわち、象牙質に及んだ各種刺激が、象牙細管内容液の外向きあるいは内向きの流れを引き起こし、その水流による圧力（動水力学的水圧）が、象牙細管歯髄側に局在する伝導速度の大きい感覚神経の終末を機械的に変形させ、膜が脱分極して神経発射が生じるというものである。しかし、この象牙細管内容液が実際に移動する機能的スペースの計測は為されていない。

本研究の目的は象牙細管内容液が動水力学的に移動するスペースを計測することである。

### 【材料および方法】

12匹のラットの84歯を用いた。歯冠部エナメル質(0.2-0.3 μm)を注水下で除去し、象牙質を露出させた。直径(0.02-4.0 μm)と励起波長(365-605 nm)がそれぞれ異なる蛍光小球の混和液を、露出象牙質に15分間作用させた。ラットを灌流固定後、顎を摘出し、切片を作製成した。小球の局在と数を共焦点レーザー顕微鏡で観察し、蛍光強度と密度を画像解析ソフトを用いて解析し、データをANOVA, Student Newman-Kuel's testで解析した。

### 【成績】

- ①2.0-4.0 μm径の小球は露出象牙質表面のみで観察された。
- ②少数の1.0 μm径の小球は外側1/3象牙質に集積していた。
- ③0.2-0.5 μm径の小球も外側1/3の象牙質に認められ、かつ少数が中央1/3でも認められた。
- ④0.02-0.1 μm径の小球は内側1/3に集積しており、時々中央1/3でも認められた。

このように、小球は径が小さくなるほど象牙質深部まで進入していた。

### 【考察】

象牙細管はエナメル方向に先細りしているにもかかわらず、機能的スペースのテーパは逆向きであることがわかった。ラット歯冠部象牙質の内側1/3は0.04-0.1 μmの機能的スペースを有しており、このスペースを象牙細管内容液が移動できるものと考えられる。このスペースは歯髄・象牙質境近傍の動水力学的水圧を上昇させることに働いていると思われる。

この増加した水圧が象牙質痛を司る感覚神経終末の変形を引き起こすことができると考えられる。さらに、この局所的動水力学的水圧の上昇は、神経線維と並走している、象牙芽細胞突起の細胞膜の機械的歪みに寄与していると考えられる。

### 【結論】

象牙細管は本来の外向きテーパとは異なり、内向きの機能的テーパを有することで、動水力学的水圧を上昇させると考えられる。

### ラット臼歯窩洞形成後の光重合型歯面コーティング材に対する歯髄反応について

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 歯内療法学分野<sup>1</sup>  
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<sup>2</sup>  
○武藤徳子<sup>1</sup>, 渡部弘隆<sup>1</sup>, 佐藤武則<sup>1</sup>, 大島勇人<sup>2</sup>, 石井信之<sup>1</sup>

Pulpal responses to light-cure protection coating material in the process of pulpal healing after cavity preparation in rat molars

Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental College  
Division of Anatomy and Cell Biology of the Hard Tissue, Department of Tissue Regeneration and Reconstruction, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
○MUTOH Noriko, WATABE Hiroataka, SATO Takenori, OHSHIMA Hayato, TANI-ISHII Nobuyuki

研究目的：我々はこれまで、ラット臼歯窩洞形成後に窩底部を仮封処置しない場合、開放創（象牙細管の開口状態）であるのに拘わらず歯髄が治癒することを示してきた。さらに、窩洞形成後に窩底部をリン酸エッチングした場合、象牙細管経由の口腔常在菌歯髄感染により膿瘍形成が惹起されることを示し、開放創の場合にスメア・レイヤーが歯髄感染に対して抵抗性をもつこと、スメア・レイヤーを除去することで仮封剤が直接歯髄に作用する可能性を示唆してきた。今回我々は、窩洞形成後に窩底部をエッチングした動物モデルを用いて、光重合型歯面コーティング剤に対する歯髄反応を検証した。

材料および方法：8週令のWistar系ラット雌の上顎第一臼歯近心面に溝状の窩洞を形成し、リン酸エッチング後にPRGバリアコート（松風株式会社）（Coat群）を通法に従い塗布後、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。1、3、5、7日後にアルデヒド系固定液で灌流固定・EDTA脱灰後、通法に従いパラフィン切片を作製し、H&E染色、象牙芽細胞の分化マーカーであるネスチン免疫組織化学を施した。

成績：エッチング処理群では切削面の象牙細管内に細菌の侵入が認められ、術後3日には細菌感染が歯髄に到達し、変性象牙芽細胞層に膿瘍形成が観察されたが、術後7日後には膿瘍を足場にネスチン陽性細胞の配列が開始していた。未処理群では、スメア・レイヤーが窩底面を覆い歯髄感染は観察されず、術後3日にはネスチン陽性象牙芽細胞の配列が観察された。Coat群では、未処置群同様歯髄感染は観察されず、術後3日には未処置群と同様にネスチン陽性象牙芽細胞の配列が完了し、標本によっては、未処置群よりも歯髄治癒が良いものも観察された。

考察：エッチング処置と同様にスメア・レイヤーが形成されないYAGレーザーを用いたラット臼歯窩洞形成モデルでは、ガラスイオノマー・セメント充填により歯髄治癒が遅れることが報告されており、窩底部をエッチングした場合、仮封に用いる材料の選択は歯髄治癒に影響を及ぼすことが示唆されている。本実験に用いた光重合型歯面コーティング材は歯髄治癒に促進的に働く可能性が示された。

結論：窩洞形成後に窩底部をリン酸エッチング後に光重合型歯面コーティング材を充填する処置は歯髄治癒促進効果がある可能性が示唆された。

## ワンステップ接着性レジンシステムによるラット露髄面の直接歯髄覆罩効果

<sup>1</sup>日本歯科大学新潟病院 総合診療科

<sup>2</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座

<sup>3</sup>日本歯科大学 名誉教授

○平 賢久<sup>1</sup>, 鈴木雅也<sup>2</sup>, 加藤千景<sup>2</sup>, 加藤喜郎<sup>3</sup>, 新海航一<sup>2</sup>

### Direct Pulp Capping Effect with One Step Adhesive Resin Systems on Rat Pulp

<sup>1</sup>Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

<sup>2</sup>Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

<sup>3</sup>Professor Emeritus, Nippon Dental University

○TAIRA Yoshihisa<sup>1</sup>, SUZUKI Masaya<sup>2</sup>, KATO Chikage<sup>2</sup>, KATOH Yoshiroh<sup>3</sup>, SHINKAI Koichi<sup>2</sup>

#### 【研究目的】

近年、コンポジットレジン修復における術式簡略化と操作時間の短縮を求め、ワンステップボンディングシステムが開発されてきた。開発当初のワンステップボンディングシステムは、従来の2ステップボンディングシステムと比較すると歯質への接着強さが劣るという報告がみられたが、最近では2ステップと同等の接着性能を示すワンステップボンディングシステムが開発、市販され、臨床において使用されている。

しかし、ワンステップボンディングシステムの歯髄刺激性、細胞毒性に関する研究報告は少ないのが現状である。そこで本研究では、各種ワンステップボンディングシステムならびにMTA (Control)を用いてラット露髄面に直接歯髄覆罩を施し、それらの歯髄創傷治癒形態について比較検討した。

#### 【材料と方法】

8～9週齢の雄性SD系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭頂部付近で露髄させ、創面をAD Gel (クラレメディカル)にて5分間処理、6%NaClOと3%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>による交互洗浄を行った後、表1に示すワンステップボンディングシステムにて直接歯髄覆罩を行った。各メーカー指示通りにボンディング塗布およびエアブロー操作を行い、光照射を10秒間行った。ControlとしてPro root MTAを用いた。

【表1】

実験群	製品名	製造会社
Group1	MTB-200	クラレメディカル
Group2	Clearfil Tri-S Bond ND	クラレメディカル
Group3	G-Bond Plus	GC
Group4	Bond Force	トクヤマデンタル
Group5	Adper Easy Bond	3M
Group6	Xeno V	デンツプライ三金
Control	Pro root MTA	デンツプライ三金

窩洞はClearfil Majesty (クラレメディカル)を用いて修復し、Candelux (モリタ)を用いて光重合を行った。14日後に屠殺、4%PFA溶液で固定した。摘出試料は10%EDTA溶液にて脱灰、通常にてパラフィン連続薄切片を作製し、H-E染色、Hucker-Conn組織細菌染色、鍍銀染色、免疫染色を行った。光学顕微鏡にて歯髄組織の形態変化、炎症性細胞浸潤、修復性象牙質の形成および細菌侵入の4項目に関して観察を行い、病理組織学的に露髄面の創傷治癒形態を評価した。

#### 【結果ならびに考察】

Group 1～6、すなわちワンステップボンディングシステムを用いた実験群では、顕著な修復性象牙質の形成は認められなかった。これらの実験群では、比較的多くの試料において露髄部付近に炎症性細胞浸潤が認められた。また、一部の試料において露髄部より比較的深層に象牙質粒状の刺激象牙質が観察された。

一方、Controlではほとんどの試料で修復性象牙質の形成により不完全もしくは完全象牙質橋が観察された。また、修復性象牙質直下では象牙芽細胞の再配列が観察され、露髄面は良好な創傷治癒形態を示した。

## ラット海馬における歯髄刺激時の ATP 遊離動態について

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

**Release of ATP during tooth pulp stimulation in the hippocampus of rats**  
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、歯髄刺激によって海馬血流に増加反応を生じることを報告した。それ以来、歯髄刺激による海馬血流増加反応にアデノシンが関与すること (Hasegawa et al., *J. Neurosci. Res.*, 2009)、さらにシクロオキシゲナーゼ 2 が関与すること (Hasegawa et al., *Neurosci. & Med.*, 2011) を明らかにした。第 131 回本学会では、マイクロダイアリシスによる歯髄刺激時の海馬内アデノシン遊離について分析し、極めて短時間のピークで微量の遊離であることを考察した。そして、第 132、133、134、135 回本学会で、歯髄刺激は海馬血流増加反応を惹起する侵害性を有すると同時に、繰り返し与えることで内因性オピオイドが関与した下行性疼痛抑制も生じ、ストレスホルモンの遊離を抑制することも明らかにした。そこで、今回は歯髄刺激に対する海馬の応答について明らかにする目的で、アデノシンと密接に関係する ATP に着目し、歯髄刺激時の海馬内 ATP 遊離をリアルタイムに測定した。

### 【実験材料と方法】

実験には、10 週齢雄性ウイスター系ラット (280~300 g) 20 匹を用いた。ラットは全て、20%ウレタンによる全身麻酔を施して、実験に供した。ラット下顎両切歯の歯冠部を切断除去後、両歯髄腔内にステンレス針電極を挿入し、電極固定用レジンで固定し、歯髄刺激電極とした。その後、ラットを能定位固定装置に固定し、右側海馬内に ATP バイオセンサー対側海馬内に Null センサー (Sarrisa 社製) を挿入した。歯髄刺激電極には本実験専用開発した歯髄刺激装置 PSS-410 (ユニークメディカル社製)、バイオセンサーにはマルチチャンネルポテンシオスタット・脳内生理活性物質測定装置 (プライムテック社製) を接続した。歯髄刺激パラメーターは、従来報告と同様に確実に海馬血流増加反応を惹起する intensity 3.3 mA (歯髄刺激に対する海馬血流増加反応閾値の 5 倍)、duration 0.5 ms、interval 10 ms からなる pulse train 10 s とし、刺激は 20 s 毎に 30 回連続して与えた。ATP の測定は、同一ラットの海馬内で 2 箇所測定部位 (脳表面から 2.5mm および 3.5mm の深さの測定、またそれぞれ刺激極性を代えて行った)。

### 【結果】

歯髄刺激を 30 回繰り返した中で、ATP 遊離が測定されたのは全例 1 回目の刺激に対してのみであった。2 回目以後の刺激で ATP 遊離を認めたものはなかった。測定部位の違いでは、同一個体であっても ATP 遊離を認めた部位と認めなかった部位が存在した。刺激極性による違いはなかった。

### 【考察】

今回の結果から、ATP は歯髄刺激直後にのみ微量遊離することが分かった。この結果は、第 131 回の本学会で報告した、アデノシンは歯髄刺激に対して、短時間のピークで微量遊離であるとした結果と合致した。歯髄刺激直後の微量の ATP 遊離は、分解されてアデノシンとなり、脳血管の平滑筋の A2 受容体を介して、血管拡張し、その結果、海馬血流増加を引き起こしたと考えられる (Burnstock, 2008)。

本研究は日本学術振興会科学研究費助成金 (基盤研究 (C) : 21592438) により行われた。  
会員外協力者: 社会福祉法人 枚方療育園 秦 順一

## 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 第二報

<sup>1)</sup> 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究所 硬組織機能治療学

<sup>2)</sup> 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座

○山田理絵<sup>1)</sup>、新井恭子<sup>2)</sup>、北島佳代子<sup>2)</sup>、松田浩一郎<sup>1)</sup>、五十嵐 勝<sup>2)</sup>

### Immunohistochemical observations of engrafted three-dimensional culture using epithelial cells and fibroblasts derived from porcine PDL part2

<sup>1)</sup> Advanced Operative Dentistry · Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata,  
The Nippon Dental University

<sup>2)</sup> Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University

○YAMADA Rie<sup>1)</sup>, ARAI Kyoko<sup>2)</sup>, KITAJIMA Kayoko<sup>2)</sup>, MATSUDA Koichiro<sup>1)</sup> and IGARASHI Masaru<sup>2)</sup>

#### 【緒言】

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。抜去歯の歯根膜組織を採取して初代培養を行うと、歯根膜由来の上皮細胞と線維芽細胞を得ることができる。第135回本大会では、ブタ乳歯歯根膜から得た上皮細胞と線維芽細胞を用いた三次元再構成組織をヌードマウスの背部皮下組織に移植すると、経時的に上皮構造に類似した上皮形成が観察されることを報告した。

今回われわれは、ブタ乳歯歯根膜由来の上皮細胞に生細胞蛍光マーカーを標識し移植後の細胞の局在を検索し、免疫組織学的観察を行ったので報告する。

#### 【材料および方法】

生後6か月のブタ下顎骨を入手し、下顎乳歯の前臼歯2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中央部の歯根膜組織を採取した。DMEMとHam's F12 (Sigma)を3:1で混合した自製上皮細胞培養液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。また、コラーゲン溶液に2~3代継代した線維芽細胞 $1.0 \times 10^5$ 個/wellを加えてコラーゲンゲル内培養を行った。37°C CO<sub>2</sub>環境下で20分間インキュベートしたゲル表面に、2~3代継代した上皮細胞 $8 \times 10^5$ 個/wellを播種し、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=6) (日本SLC) にエーテルで全身麻酔を施し、背部にφ1 cmの開窓を作製した。露出した皮下組織に気相培養後1週の三次元再構成組織を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で滅菌をしたφ14.5 cm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後、縫合糸で固定し移植群とした。また、組織の変化を観察する目的で、PKH26 (Sigma) で生細胞染色したブタ乳歯歯根膜由来の上皮細胞を用いた三次元再構成組織をヌードマウス3匹に移植し、生細胞染色群とした。移植1、7、14日後に移植片と皮下組織とその周囲の正常組織を含めて一塊として取り出し、移植群は10%中性ホルマリンで浸漬固定後、厚さ6 μmの連続パラフィン切片を作製した。パラフィン切片はImmunosaver (日新EM社) で抗原賦活処理後、2.5%ウマ血清にてインキュベートし、PAN Cytokeratin (PAN-CK)、Cytokeratin 19 (CK19)、Involcrin (InV)、Integrin α6、Integrin β4を一次抗体としてマイクロウェーブ迅速試料処理装置 (MI-77、東屋医科器械) を用いて免疫染色を行い、併せてHE染色も行い顕微鏡にて観察した。生細胞染色群はOCTコンパウンドで包埋後厚さ5 μmの凍結切片を作製し、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM710、ZEISS) で観察した。

#### 【結果および考察】

ブタ乳歯歯根膜の初代培養では、14日後に線維芽細胞が外生し、30日後に上皮細胞の敷石状を示す外生細胞がみられた。移植群は、1日後では有棘層から基底層にかけて上皮細胞が均一に存在しており、表層の角化はみられなかった。7日後で表層に2~3層から成る角化層が認められ、14日後で基底層に均一に配列された上皮細胞が存在した。免疫染色所見では、1日後で移植した上皮細胞全層にPAN-CKが発現していたが14日後では上皮組織の表層で特に強い発現が観察され、CK19は7日後に顆粒層から角質層にかけて弱い発現がみられた。また表皮上皮細胞の分化、成熟に伴って現れるInVが1日後で有棘層から顆粒層にかけて発現がわずかに観察され、接着分子であるIntegrin α6およびIntegrin β4も同様に14日後で基底層にわずかな発現が観察された。

PKH26による生細胞染色所見では、移植した上皮細胞は経時的に厚みが増し、移植後も増殖していることが示唆され移植細胞由来であることが確認された。

#### 【結論】

移植したブタ乳歯歯根膜由来上皮細胞を用いた三次元再構成組織は経時的に皮膚と類似した構造を示す一方、接着分子であるIntegrin α6、Integrin β4の発現はわずかであったことから、歯根膜由来の上皮細胞は表皮細胞とは異なる分化をすることが示唆された。

本研究の一部は科学研究費基盤研究 (C) (21592434) の助成を受けたものである。

根管吸引洗浄法における根管洗浄液の挙動分析: 数値流体解析による研究  
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<sup>1</sup>  
東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 摂食機能回復学講座 部分床義歯補綴学分野<sup>2</sup>  
○古畑和人<sup>1</sup> 和達礼子<sup>1</sup> 小林千尋<sup>1</sup> 若林則幸<sup>2</sup> 須田英明<sup>1</sup>

**Behavior Analysis of Root Canal Irrigant with Intracanal Aspiration Technique (IAT)  
Using Computational Fluid Dynamics(CFD)**

Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences<sup>1</sup>  
Removable Partial Prosthodontics, Department of Masticatory Function Rehabilitation<sup>2</sup>  
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University  
○FURUHATA Kazuto<sup>1</sup>, WADACHI Reiko<sup>1</sup>, KOBAYASHI Chihiro<sup>1</sup>, WAKABAYASHI Noriyuki<sup>2</sup>, SUDA Hideaki<sup>1</sup>

**【目的】**

根管洗浄は根管治療を成功に導く重要な要素の一つである。しかし根尖部まで根管洗浄液を供給することは容易ではない。その一方で、洗浄液が根尖孔外へ溢出し、根尖歯周組織を傷害するリスクも伴う。根管吸引洗浄法 (Intracanal Aspiration Technique: IAT)は、根尖付近に設置した吸引針により根尖付近を陰圧とし、根管洗浄液を根管口部から吸引針先端まで誘導する根管洗浄法である。しかし、IATにおける根尖付近での根管洗浄液の挙動の詳細は明らかでない。本研究の目的は、数値流体力学 (Computational Fluid Dynamics : CFD)を用い、根管洗浄液の根管内での流速の分布、単位時間あたりの流量、根尖孔に加わる圧力をコンピューターによりシミュレーションし、IATにおける洗浄液の挙動を従来法(Conventional Irrigation Technique: CIT)と比較し、検討を行うことである。

**【材料と方法】**

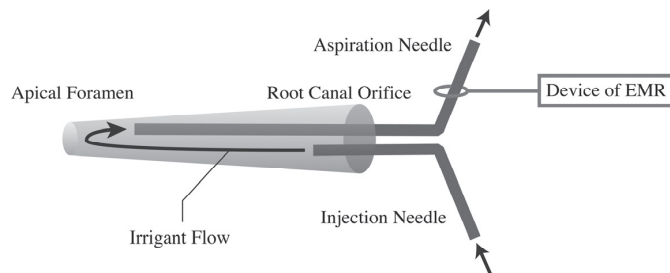
三次元根管モデルとして、根尖孔の直径0.4 mm、テーパ0.06で断面が円形で直線的な根管を作製した。吸引針ならびに洗浄針としては、iNP-40ニードル(みくに工業、長野)の三次元モデルを作製した。CFDソフトウェアパッケージOpenFOAM(SGI, US)を用いて、これらのモデルから得られる根管洗浄液の流れる空間の六面体メッシュを作成した。針先端の位置は根尖孔から1、2、4 mm根管口側に設定した。この3種のモデルに対して初期条件および境界条件を与えて計算を行った。初期条件として、流入口と流出口の差圧を15KPa、根管洗浄液の動粘性係数を27°Cの水を想定して設定した。境界条件としては、根管壁と針の表面における洗浄液の速度を0とし、根尖孔は摩擦無しのスリップ壁に設定した。計算は、根管洗浄液の流れが定常状態と判定されるまで繰り返し行った。計算終了後、単位時間あたりの流量、流速の分布、根尖孔に加わる圧力をサンプリングした。

**【結果と考察】**

IATでは、根尖孔へ加わる圧力は常に陰圧で、根管洗浄液の動きは吸引針先端から根尖方向に0.5mmの範囲で認められた。IATの吸引圧は、臨床ではユニットのコンプレッサーに依存し一定の値が得られるため、根管洗浄液の挙動は安定すると予想される。従って、IATでは根管洗浄液が根尖孔外へ溢出するリスクは低く、根尖孔の近傍に吸引針を設置することが可能であれば根尖孔部まで安全かつ確実に洗浄液が到達すると推測される。一方、CITでは根尖孔へ加わる圧力は常に陽圧であり、洗浄針先端から約2.5 mmまで洗浄液の動きが観察された。CITでは根管洗浄液を供給する圧力が手動であり、流体のコントロールが困難であることから、根管洗浄液が根尖孔外へ溢出するリスクは高いと考えられる。流量はIAT、CITともに同程度であり、針先端が根尖孔に近づくにつれ減少した。これは、根尖部では吸引針、洗浄針と根管壁の間の空間が狭くなることから、根管洗浄液の粘性の影響が増大するためと思われる。多くの流量を確保するためには、外径が小さかつ内径が大きな針の開発が求められる。

**【結論】**

IATは、CITと比較して根尖付近において安定した根管洗浄液の挙動が得られ、安全かつ確実な根管洗浄法であることが示唆された。



根管吸引洗浄法のシエーマ

## Er:YAG レーザー照射による逆根管充填窩洞のスマヤー層除去

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

○渡辺 聡, 東 春生, 石澤 千鶴子, 安生 智郎, 海老原 新, 須田 英明

Smear layer removal on the root-end cavity surface using Er:YAG laser irradiation

OWATANABE Satoshi, AZUMA Haruo, KOKUZAWA Chizuko, ANJO Tomoo, EBIHARA Arata and SUDA Hideaki

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

Tokyo Medical and Dental University

### 【緒言】

歯根端切除術における逆根管充填窩洞形成の際、象牙質の表面は微生物や歯髄残渣等を含むスマヤー層が形成される。細菌はこのスマヤー層の中で生存し、増殖することができる。歯内療法では EDTA 溶液を用いて化学的にスマヤー層を除去する方法が行われているが、外科治療では薬剤の骨組織への影響の点から、その除去に EDTA ゲル等が使用されている。他方、Er:YAG レーザーは、被照射象牙質にスマヤー層を形成しないことや殺菌作用を期待できることから、逆根管充填窩洞の清掃において有用と考えられる。本研究は、超音波によって形成された逆根管充填窩洞におけるスマヤー層の除去方法を検討することを目的とした。

### 【材料および方法】

東京医科歯科大学倫理委員会の承認のもと(承認番号:第 518 号)、20 本のヒト抜去単根歯を歯根長 9 mm になるように切断し、6%NaClO にて湿潤させた状態で、#40K ファイルを MAF として通法通りに根管のステップバック形成を行った。形成終了後、14.3%EDTA 溶液(モルホニン歯科用液, 昭和薬品化工)および 6%NaClO にて洗浄後、ペーパーポイントにて乾燥、ガッタパーチャポイントとシーラーを用い、側方加圧法にて根管充填した。根管充填後、根尖部 3 mm を切除し、超音波(Piezon Master400, 松風, 出力:中等度) および超音波チップ(CT2, EMS)を用いて逆根管充填窩洞を 3 mm の深さまで形成した。

その後、試料を 4 群に分け、対照(CNT)群、レーザー20 秒間照射(L20)群、レーザー80 秒間照射(L80)群、EDTA ゲル(EG)群とした。CNT 群は無処理とし、L20、L80 群は注水(3.0 ml/min)下で Er:YAG レーザー(Erwin AdvErL, モリタ製作所, 100 mJ 10 pps, CF600 チップ)をそれぞれ 20 秒間、80 秒間照射した。EG 群は 19%EDTA ゲル(ファイリーズ J, Ultradent)にて 2 分間処理し、蒸留水にて 1 分間洗浄した。試料を切断後、走査電子顕微鏡(S-4500, 日立)を用いて、下記のスコアに基づき、根管壁に残存するスマヤー層を評価した。スコア1;象牙細管が完全に開いている。スコア2;50%以上の象牙細管が開いている。スコア3;50%以下の象牙細管が開いている。スコア4;ほとんど全ての象牙細管がスマヤー層で覆われている。また統計学的解析には Kruskal-Wallis test を用い、有意水準を 5%とした。

### 【結果】

CNT 群は超音波切削面がスマヤー層に覆われ、象牙細管の開口は認められなかった。L20 群においても象牙細管の開口が認められなかった。L80 群ではすべての試料において象牙細管の開口を認めた。EDTA ゲル群の象牙細管はスマヤー層で覆われており、象牙細管が開いている部位はわずかであった。L80 群と CNT、L20、EG 群との間に統計学的有意差を認めた( $p < 0.05$ )。

### 【考察および結論】

歯根端切除術における逆根管充填窩洞の、化学的清掃方法については、臨床での応用が進んでいない。超音波で形成した逆根管充填窩洞の表面は厚いスマヤー層に覆われていた。また本研究では外科処置時に窩洞に適用しやすいゲル状の EDTA を用いたが、ゲル状にするとスマヤー層除去作用が低下するものと推察された。Er:YAG レーザーを適切な照射時間で用いるとスマヤー層の除去が可能であることが示唆された。



## 超音波チップによる破折ファイルの除去法

1) 日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座<sup>1)</sup>

2) 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門<sup>2)</sup>

○明石俊和 勝呂 尚 武市 収 小木曾文内

Removal of Fractured endodontic Instruments using An ultrasonic tip

Department of Endodontics Nihon University School of Dentistry<sup>1)</sup>

Divisions of Advanced Dental Treatment Nihon University School of Dentistry<sup>2)</sup>

○Toshikazu Akashi Hisashi Suguro Osamu Takeichi Bunnani Ogiso

### 【はじめに】

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。そのためには髄腔開拓、髄角部、側壁除去、根管口の漏斗状拡大を十分に行い根管を直線的に拡大し、超音波チップが破折ファイルの破折部に接触できる根管形体にすることが重要である。

また、破折ファイルの破折先端部までの根管拡大を行うには手用ファイル、ニッケルチタンファイルで根管拡大を行うが、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拡大するには超音波チップ V-S51D (エンドチップ) を使用してエンドチップの先端部が破折ファイル破折部に到着できるまで根管拡大を行う。次にエンドチップ先端を破折ファイルの破折部に接触させ、振動を破折ファイルに伝達する必要がある。

すなわち破折ファイルの破折部にエンドチップが接触しエンドチップの振動が伝達されれば根管に喰い込んでいた破折ファイルが徐々に緩み、噛み込みが解除され、根管口部に移動する。またエンドチップの振動によるキャビテーションとアコースティック・マイクロストリーミング現象や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除去されたと考えられる。

この事よりエンドチップの振動を破折ファイルに伝えるとともに超音波振動により発生する2種類の現象ならびに注水が破折ファイル除去の効果的な除去手段であった。

### 【材料および方法】

超音波振動装置にはバリオス 970 使用し、V-30 をチップホルダーとして感染歯質除去、髄腔開拓には V-G71、根管口明示には V-G77、根管拡大・形成には V-S51D、根管洗浄、破折ファイルの除去には V-S51 を使用した。

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た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 970x と各種超音波エンドチップの使用により効率的な破折ファイル除去が可能である。

## RECIPROC®を用いた根管拡大時の荷重と作業時間および根管形態変化に関する研究

<sup>1)</sup> 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

<sup>2)</sup> 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座

○松田浩一郎<sup>1)</sup>、新井恭子<sup>2)</sup>、北島佳代子<sup>2)</sup>、山田理絵<sup>1)</sup>、五十嵐 勝<sup>2)</sup>

### A study of preparation forces, times, and changes of root canal shapes after using RECIPROC®

<sup>1)</sup> Advanced Operative Dentistry・Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata,  
The Nippon Dental University

<sup>2)</sup> Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University  
○MATSUDA Koichiro<sup>1)</sup>, ARAI Kyoko<sup>2)</sup>, KITAJIMA Kayoko<sup>2)</sup>, YAMADA Rie<sup>1)</sup> and IGARASHI Masaru<sup>2)</sup>

#### 【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。現在まで多くの改良がなされ、RECIPROC® (VDW GmbH, Munich, Germany) は、専用モーター独自の往復動作 (reciprocating motion) により、シングルファイルのみで大きなテーパの拡大を可能としている。今回われわれは、RECIPROC®を用いて湾曲根管模型を拡大し、拡大時の荷重、作業時間、根管形態変化について検討したので報告する。

#### 【材料および方法】

RECIPROC® 21mm、R25 (#25) を専用モーターのVDW SILVER® RECIPROC® (VDW GmbH, Munich, Germany) に装着した。拡大に用いた模型は30度の湾曲根管を有する透明樹脂製根管模型 (ENDO-TRAINING-BLOC A0177, DENTSPLY) で、RECIPROC®の使用前にステンレス製手用Kファイル (21 mm, Zipperer, Germany) の#10で作業長の確認を行った。拡大は上下の挿入操作で行い、トルクの限界値となり警告音が鳴るか、術者が強い抵抗を感じたら引き抜き、3回動作を繰り返した後に蒸留水で洗浄を行った。ファイルが作業長に達するまで同じサイクルを繰り返して行い、術者3名が3ブロックずつ拡大した。根管洗浄に要した時間を除いた各ファイルでの作業時間を合計し、総拡大形成時間とした。作業中は模型を荷重簡易試験スタンド (FGS-50X-L、日本電産シンボ (株)、京都) に取り付け、最大測定荷重が ± 1000 g のデジタルフォースゲージ (FGC-18、日本電産シンボ (株)、京都) を用いて 100 ms 間隔で経時的に垂直荷重測定を行い、切削圧ソフト (NKS-162、日本海計測特機 (株)、富山) で記録した。実験終了後、総拡大形成時間、押し込み時と引き抜き時の最大荷重の平均値を求めた。拡大前後にメチレンブルー水溶液を根管内に注入し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成し、WinROOF (三谷商事 (株)、福井、東京) を用いて拡大された外湾と内湾の面積を測定した。また、各結果の数値を Pearson の相関係数を用いて統計分析を行った。

#### 【結果】

総拡大形成時間は最長で 51.5 秒、最短で 34.3 秒、平均±SD は 42.8±6.4 秒であった。最大押し込み荷重は 728g で9ブロックの最大値の平均±SD は 553±108 g、最大引き抜き荷重は 1025g で9ブロックの最大値の平均±SD は 904±117gであった。作業長に達するまでに要した上下挿入回数は最大で 12 回、最小は 6 回で9ブロックの平均は 9 回であった。また、拡大された面積は、外湾で最大 3.61 mm<sup>2</sup>、最小 2.95 mm<sup>2</sup>、平均±SD は 3.27±0.19 mm<sup>2</sup>、内湾で最大 7.98 mm<sup>2</sup>、最小 3.81 mm<sup>2</sup>、平均±SD は 4.88±1.31 mm<sup>2</sup>であった。総拡大形成時間が長い、または最大押し込み荷重が大きいほど最大引き抜き荷重が大きくなり、内湾が大きく拡大されることがわかった。また、挿入回数が多いほど総拡大形成時間が短く、最大押し込み荷重と引き抜き荷重が小さく、内湾と外湾の拡大面積が小さくなった。

#### 【考察】

総拡大形成時間は最長と最短で 15 秒以上の差がみられたが、これは拡大時に強い抵抗を感じファイルを引き抜くタイミングが術者毎に異なることや、上下挿入回数に差があることが原因であると考えられる。ただし、総拡大形成時間が長くなるほど挿入回数は少なくなることから、ファイルを根管内に長く留めるほど根管に荷重がかかり易くなり、結果的に拡大面積も大きくなる。このことから根管の切削量を最小限にするためには、挿入回数を増やし拡大時間が短くなるように努める必要があると考えられる。また、強い荷重がかかった場合は速やかに引き抜き動作を行い、過度な拡大形成を避けなければならない。また、外湾に比べ内湾で拡大面積が大きかったため、内側にストレスがかかり易いことが推察される。拡大面積や荷重は他の NiTi ローターファイルより大きい値となった。

【結論】湾曲根管模型を RECIPROC®を用いて拡大形成した結果、短時間で良好な根管拡大形成が可能であることが示された。

## Deflecting Load Change of Nickel Titanium Rotary Instruments During Cyclic Fatigue Test

○JAMLEH Ahmed\*, KOBAYASHI Chihiro\*, YAHATA Yoshio<sup>^</sup>, EBIHARA Arata\*, and SUDA Hideaki\*

\*Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan  
<sup>^</sup>Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Showa University, Tokyo, Japan

**Introduction:** The purpose of this study was to investigate the deflecting load (DL) changes of ProFile (PF) NiTi instruments during cyclic fatigue.

**Methods:** A total of 120 PF NiTi instruments (size 30, taper 0.06; Dentsply Maillefer, Switzerland) were tested using a specially designed cyclic fatigue testing apparatus with 3 stainless steel pins. The instrument was fixed by the #1 and #2 pins, and protruded from the #3 pin by 3 mm. It was then deflected 2 mm horizontally to give a curvature of 10 mm radius and 30 degrees (Figure 1). The instrument was rotated at 300 rpm with a Dentaport (J Morita, Kyoto, Japan) until fracture occurred. DL was recorded using a load cell attached to the central pin, which was close to the most curvature area, during the experiment. For each sample, the number of cycles to fracture (NCF) and the mean DL ( $DL_m$ ) was calculated. In addition, the mean DL of each consecutive 5 seconds was calculated to evaluate the sequential change in DL. Statistical significance was set at a confidence level of 95%.

**Results:** The averages of NCF and  $DL_m$  of 120 samples were  $584.3 \pm 180.5$  cycles (minimum: 270) and  $6.44 \pm 0.91$  N, respectively. All samples showed a sequential decrease in DL during rotation (Figure 2). When the instrument rotation showed 5%-decrease in DL, the average remaining lifetime and the risk for instrument breakage during preparation were 55.9% and 2.5%, respectively. While 6, 7 and 8%-DL decrease showed lower average remaining lifetimes of 49.7, 42.8 and 36.7%, respectively, and the risk for breakage to be greater (4.2, 9.2 and 11.7%, respectively).

**Conclusions:** Based on the present study, the change in DL could be an alternative criterion to determine the remaining lifetime.

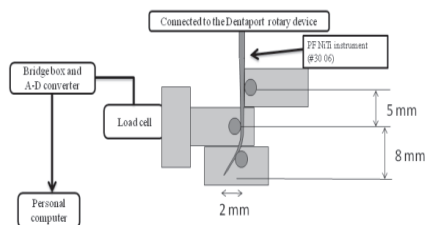


Figure 1. Schematic drawing of the cyclic fatigue test device

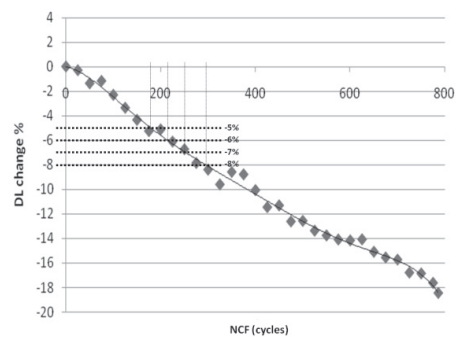


Figure 2. Representative data from one sample showing DL change percentage along the working time.

ニッケルチタン合金線材の繰り返し疲労特性に及ぼす熱処理効果

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  
昭和大学歯学部 歯内治療学講座\*

東京医科歯科大学生体材料工学研究所 素材研究部門金属材料分野\*\*

○宮良香菜, 八幡祥生\*, 海老原新, 埴隆夫\*\*, 須田英明

**Effect of heat treatment on the cyclic fatigue properties of Ni-Ti file materials**

Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences  
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University  
Department of Endodontics, Showa University School of Dentistry\*

\*\*Department of Metals, Division of Biomaterials

Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

○MIYARA Kana, YAHATA Yoshio\*, EBIHARA Arata, HANAWA Takao\*\*, SUDA Hideaki

【研究目的】ニッケルチタン (Ni-Ti)合金は、基本的性質として優れた耐食性、超弾性、そして形状記憶効果を有し、特に Ni-Ti ファイルは超弾性が注目され改良が進められている。この特性はマルテンサイト変態により発揮され、また、相変態挙動は、組成、加工、そして熱処理に大きく影響を受ける。しかし、Ni-Ti ファイルの熱処理効果についての研究はあまり多くない。そこで、本研究は Ni-Ti ファイルの疲労特性に及ぼす熱処理効果について明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】試料として、市販 Ni-Ti ファイル製品にみられる、組成、形態、製造工程などの相違を排除するため、直径 1 mm, Ti-50.95 at% Ni の Ni-Ti 合金線材 (NT-N, 古河テクノマテリアル)を用いた。この線材を先端径 0.3mm、0.06 テーパーに加工し、300°C, 400°C, 450°C, 500°Cおよび 600°C (以下 300, 400, 450, 500, 600) で各 30 分熱処理を加えた。また、対照として無処理の試料 (以下 control)を使用した。

1) 曲げ試験 自作の片持ち梁式曲げ試験装置を使用した。試験温度 37°Cにおいて、試料を先端から 9.5 mm の部位で把持し、先端から 3.0 mm の部位に荷重を与え、3.0 mm 変位させた。

2) 示差走査熱量分析 (以下 DSC) Ni-Ti 合金の相変態挙動を定量的に解析するため、DSC 装置 (DSC-60, 島津製作所)を用いて示差走査熱量測定を行った。DSC 曲線より、各相変態温度である  $M_s$ ,  $M_f$ ,  $A_s$ および  $A_f$ を算出した。

3) 回転曲げ疲労試験 自作の回転曲げ疲労試験装置を使用した。試験温度 37°C, 回転速度 300rpm と設定し、潤滑材としてジメチルシリコーンオイル (KF-96, 信越化学)を用いた。曲率半径 5 および 10 mm の各条件下で、試料が破折するまでの回転数 (以下 NCF)を計測した。

4) 統計学的解析 曲げ試験における 0.5 および 2.0 mm 変位時の曲げ荷重、DSC における各相変態温度および回転曲げ疲労試験における曲率半径 5 および 10 mm の NCF について、それぞれ有意水準 5%で、一元配置分散分析および Tukey 法を用いて解析を行った。

【結果】1) 曲げ試験 0.5 mm 変位時の曲げ荷重では、400 と 450 が、他群と比較して有意に小さかった ( $p < 0.05$ )。2.0 mm 変位時の曲げ荷重では、400, 450, 500 および 600 が、control と比較して有意に小さかった ( $p < 0.05$ )。

2) DSC  $M_s$ において、400 と 450 は他群と比較して有意に高い温度を示した ( $p < 0.05$ )。  $A_s$ においては 400, 450 および 500 において、他群と比較して有意に高い温度を示した ( $p < 0.05$ )。  $M_f$ と  $A_f$ は、400, 450 および 500 において 600 および control と比較して有意に高い温度を示した ( $p < 0.05$ )。

3) 回転曲げ疲労試験 曲率半径 5 mm の NCF において 400, 450 および 500 は 600 と control に比較して有意に高い値を示した ( $p < 0.05$ )。曲率半径 10 mm の NCF において、400, 450 および 500 は 600 に比して有意に高く、500 は control に比して有意に高い値を示した ( $p < 0.05$ )。

【考察】Ni-Ti 合金の機械的特性は相変態挙動に影響を受けることが知られており、特に  $M_s$ ,  $A_f$ が高いとき、高い柔軟性を示す。400 と 450 の  $M_s$ および  $A_f$ は、control と比較して高い温度を示し、0.5 および 2.0 mm 変位時の曲げ荷重は、有意に小さかった。同様に、曲率半径 5 および 10 mm で 400, 450 および 500 は、600 と比較して有意に高い疲労特性を示した。これらより、Ni-Ti 合金線材は、熱処理により内部応力が解放され、柔軟性が向上するため疲労特性も向上すると示唆される。一方、300 では加工硬化が十分に消失せず、また 600 では再結晶がおこるため疲労特性は向上しないと推察できる。

【結論】熱処理により Ni-Ti 合金線材の繰り返し疲労特性が改善され、熱処理条件によりその挙動および特性は変化することが示唆された。

オーラルケアに関する研究  
-とくに介護施設利用者の全身状態と口腔環境との関連について-

医療法人社団譽会  
○山田 満憲

**A Study on Oral Care**  
**Association between general health condition and oral environment in the institutionalized elderly**  
Homare-kai medical corporation  
○YAMADA Mitsunori

【研究目的】

医療法人社団譽会では、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そ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。現在のような医療保険による歯科訪問診療が確立する前より、医療機関への距離が遠くまた全身疾患から通院困難な患者を中心に往診を行ってきた。このような経緯から、伊達郡内の特別養護老人ホーム（以下介護施設）より施設利用者の口腔健康維持管理を目的とした歯科検診およびオーラルケアの依頼があった。そこで今回、介護施設という環境における患者ニーズを把握するとともに、全身状態と口腔環境との関係について調査したのでその概要を報告する。

【方法】

歯科医療従事者による専門的オーラルケアが実施されたことのない介護施設において年齢層、主訴、全身状態および口腔環境について調査した。全身状態は、全身疾患を原因として洗口の可否、経口摂取の可否を評価し、洗口および経口摂取が可能な群（以下A群）、洗口が困難ではあるが調整を行った上で経口摂取が可能な群（以下B群）、および洗口および経口摂取が不可能な群（以下C群）とした。口腔環境は、口腔全体のプラークの付着状態、舌苔の状態、口腔乾燥の状態を各5段階（良い状態をスコア5とする）にて評価し、これらのスコアの合計を求めた。全身状態と口腔環境の関係についてはクラスカル・ウォリス検定により統計学的解析を行った。

【結果および考察】

歯科検診を受診した施設利用者は58人で、男女比は1:3であった。平均年齢は83.4歳で、80歳代が46.6%と最も多く、次いで90歳代と70歳代が20.7%、60歳代が8.6%、100歳代が3.4%であった。主訴では、歯の動揺や歯ぐきの腫れによる歯周治療希望が48.3%と最も多く、次いで、口腔清掃不良による口腔ケア希望が37.9%、義歯破折や歯の自然脱落による義歯修理希望が8.6%、カリエス治療希望が5.2%であった。今回の調査から、最後の歯科受診から相当な時間が経過しており、再治療が必要なケースが高い割合で認められた。また、不良義歯の使用による誤嚥なども介護職員から多数報告された。全身状態と口腔環境との関係については、A群、B群、C群の順に口腔環境のスコアが低下し、有意な差が認められた。

【結論】

全身疾患を原因とした口腔領域の廃用症候群の有無がオーラルケアをすすめていく上での一つの指標になる可能性が示唆された。今後、廃用症候群に応じた使用器具の選択およびリハビリテーションの実施について検討する必要性が考えられた。

### *Treponema denticola* の solute-binding protein の解析

東京歯科大学歯科保存学講座<sup>1</sup> 東京歯科大学微生物学講座<sup>2</sup>  
○浅井知宏<sup>1</sup> 藤井理絵<sup>1</sup> 堀内章<sup>1</sup> 額賀智之<sup>1</sup> 森永一喜<sup>1</sup> 石原和幸<sup>2</sup>

#### Identification and characterization of potential solute-binding protein of *Treponema denticola*

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College<sup>1</sup>  
Department of Microbiology, Tokyo Dental College<sup>2</sup>

○ASAI Tomohiro<sup>1</sup> FUJII Rie<sup>1</sup> HORIUCHI Akira<sup>1</sup> NUKAGA Tomoyuki<sup>1</sup> MORINAGA Kazuki<sup>1</sup> ISHIIHARA Kazuyuki<sup>2</sup>

**目的:** *Treponema denticola* は、口腔内に認められるらせん型の運動性菌である。

本菌は *Porphyromonas gingivalis* や *Tannerella forsythia* とともに慢性歯周炎局所から高頻度で検出される慢性歯周炎の発症と進行に重要な役割を果たす菌種としてこれら 2 菌種と共に "Red complex" と呼ばれている。

本菌は outer sheath という膜様構造によって囲まれており、ここには major outer sheath protein (Msp), dentilisin などの病原因子が認められる。Outer sheath の一部は vesicle として遊離されることが報告されているが、その成分については十分に明らかにされていない。

本実験では、歯肉溝内の状態をシミュレーションし、vesicle 中に含まれる *P. gingivalis* に付着性を持つ表層タンパクに焦点を当て解析を行った。

**方法:** 菌種として *T.denticola* ATCC35405, *Porphyromonas gingivalis* ATCC33277 を供試した。予備培養を行い、two compartment system を用いて *T.denticola* ATCC35405 と *P. gingivalis* ATCC33277 の共培養を行い、嫌気条件下 48 時間培養後、*P. gingivalis* を集菌し、タンパクプロファイルを行うために 10-20% SDS-PAGE を用いて単独培養と共培養の電気泳動を行った。泳動で変化の認められたタンパクのうち *T. denticola* のタンパクを検出するため immunoblot を行い、変化の認められた *T.denticola* のタンパクを検出した。SDS-PAGE 後、ゲルからそのタンパクバンドを取り出し、トリブシン消化後、LC-MS/MS により分子の同定を行った。LC-MS/MS により得られたタンパクの欠損株 (*T. denticola* I-1) の作製は、PCR based overlap extension method により行った。*T.denticola* 欠損株の増殖能の変化に関しては ATCC35405 と欠損株を TYGVS 液体培地で 37°C 嫌気環境下にて培養し、その増殖を比較した。また、得られた *T.denticola* のタンパクの付着への関りを ELISA 法にて解析した。

**結果:** 単独培養の *P.gingivalis* と比較し *T.denticola* ATCC35405 と two-compartment system により共培養を行ったものでは 10-20% SDS-PAGE より 89KDa にバンドが認められた。LC-MS/MS により、89 kDa のバンドに含まれるタンパクの同定の結果、この中で最もスコアが高く検出されたのは *T. denticola* ATCC 35405 の open reading frame TDE1072 によってコードされている solute-binding protein であることが明らかになった。また、Immunoblot によって、共培養で認められた 89KDa のタンパクバンドに対する *T.denticola* 抗体の反応が認められ、*T.denticola* 由来のタンパクであることが確認された。*T.denticola* ATCC35405 と I-1 の増殖曲線を比較すると、*T.denticola* I-1 の発育速度が低下し、静止期まで差が認められた。89 kDa タンパクが *T.denticola* の *P.gingivalis* への付着に果たす役割を ELISA 法を用いて解析した結果、*T.denticola* I-1 の *P.gingivalis* との共凝集能は、*T.denticola* ATCC35405 に比べて差が認められなかった。

**考察:** 本タンパクは *T.denticola* の表層の solute-binding protein であり、菌体外物質の取り込みを介し、*T.denticola* の増殖に重要な役割を果たしていると考えられた。

## *Streptococcus mutans* の酸化ストレス耐性機構の解析

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  
○藤島慶 徳田雅行 鳥居光男

### Analysis of resistance mechanism of *Streptococcus mutans* against oxidative stress

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences  
○Fujishima Kei, Tokuda Masayuki and Torii Mitsuo

【目的】 腐敗性菌である *Streptococcus mutans* は、口腔内という過酷な環境に適応し、常在化をはたしている。申請者は、*S. mutans* の常在化機構の解明を目指し、口腔細菌間の共存・拮抗において重要な因子の一つとして考えられる、細菌が産生する抗菌性の物質、バクテリオシンに着目した。口腔細菌は、自己の生存領域確保のためにバクテリオシンを産生し、また他菌の産生するバクテリオシンに耐性機構を持つことが非常に重要である。そこで他菌の産生するバクテリオシンに対する耐性に、細菌特有の情報伝達系である二成分制御系 (two-component system, TCS) が重要な役割を担うのではないかと考えた。細菌は、さまざまな外環境の変化の情報伝達を二成分制御系 (TCS) を介して行う。二成分制御系 (TCS) とは、外環境の変化を感知する、センサーとしての役割を持つヒスチジキナーゼ (HK) と、HK からのシグナルを受け取り、種々の遺伝子の発現を制御するレスポンスレギュレーター (RR) の2成分からなる細菌特有の情報伝達系である。申請者は、これまでに *S. mutans* UA159 野生株において必須の遺伝子を除くすべての TCS 完全欠損株を用いて、*S. mutans* の他菌の産生するバクテリオシン感受性、及びバクテリオシン産生に関与する TCS を網羅的に検証を行った。その中で、*Streptococcus sanguinis* の産生するバクテリオシンにより、*S. mutans* が増殖阻害を受けていたこと、さらに *S. sanguinis* の産生するバクテリオシンは酸化ストレスの一つである過酸化水素であることに着目した。本研究は、*S. mutans* が *S. sanguinis* の産生する過酸化水素に対してどのような感受性を示し、どのような機序で耐性を担っているのかを解明することを通じて、*S. mutans* の酸化ストレスへの耐性機構の解明を目指している。

【方法】*S. sanguinis* の産生するバクテリオシンに対する *S. mutans* の TCS 欠損株を用いた感受性検証を competition assay にて検証する。competition assay では、まず、pioneer cell として *S. sanguinis* を 50% TSB 寒天培地上に 10 $\mu$ l 滴下後、37 $^{\circ}$ C で一晚培養し、その後、一定の中心間距離において、compete cell である *S. mutans* を 10 $\mu$ l 滴下し、さらに一晚培養し、増殖阻害度にて検証を行うものである。*S. sanguinis* は、過酸化水素を産生することが報告されていることから、寒天培地にカタラーゼ添加、非添加時の増殖阻害度の検証もあわせて行った。

また、*S. mutans* は、AhpCF (過酸化水素分解)、Dpr (ヒドロキシラジカル合成阻害)、SOD (スーパーオキシドアニオンラジカル分解) などの酸化ストレス耐性因子をもつことが報告されている。そこで、*S. mutans* UA159 野生株における、酸化ストレス耐性因子である、*dpr*、*ahpC*、*ahpF* の遺伝子発現の検証を行った。方法として、液体培地と寒天培地にて培養した菌体を回収し、RNA を抽出後、cDNA を作製し、*S. mutans* UA159 野生株の酸化ストレス耐性因子の遺伝子発現量を定量性 PCR にて検証した。さらに、酸化ストレス耐性因子である、*dpr*、*ahpC*、*ahpF* の欠損株を作製し、*S. sanguinis* と competition assay を行い、感受性検証を行った。

【結果】 competition assay より、*S. sanguinis* の産生するバクテリオシンはカタラーゼにより活性を失うことから過酸化水素であること、さらに、TCS 欠損株を用いた網羅解析の結果、TCS9 欠損株での感受性の上昇が認められた。酸化ストレスの強くなる寒天培地では、液体培地に比較して、酸化ストレス耐性因子である、*dpr*、*ahpC*、*ahpF* の遺伝子発現量は増加した。*dpr*、*ahpC*、*ahpF* の欠損株を用いた、*S. sanguinis* との competition assay の結果、*S. mutans* UA159 野生株と比較して、全ての欠損株において増殖阻害は認められたが、特に *dpr* 欠損株での増殖阻害は広汎に認められた。

【考察】*S. mutans* の TCS9 は、*S. sanguinis* の産生する酸化ストレスの一種である過酸化水素への耐性に関与する今回の検証結果をもとに、今後は TCS9 と酸化ストレス耐性因子との相関関係について検証を進める予定である。

## テーパリング プレパレーションの細菌学的研究

くればやし歯科医院 ○紅林 尚樹

### Oral Microbiological Study of Tapering Preparation

Kurebayashi Dental Clinic ○Naoki KUREBAYASHI

#### 【研究目的】

今般、根管の追従性に優れた Ni-Ti 製ファイルが臨床に頻用され始めた。今回は、手用 Ni-Ti 製ファイル プロテーパーハンドタイプ<sup>®</sup> (Densply 社製) を使用し、クラウンダウン法にてテーパリング プレパレーションにて形成した根管と、ステンレス製手用ファイル (マニー社製) を用い、従来法によるアピカルストップ プレパレーションにて形成した根管の細菌検出頻度について比較検討した。

#### 【材料および方法】

不可逆性歯髄炎と診断された歯髄疾患歯 94 症例に対し以下の処置を行った。

46 症例はステンレス製手用ファイルにて、作業液に 3%オキシドールを使用し、通法に従いアピカルストップ プレパレーションにて根管形成を行った。最終拡大号数は 25 号もしくは 30 号とした。続いて、超音波洗浄を 6%NaClO 下で 30 秒、15%EDTA にて根管を環流させるように 2 分間洗浄、再度 6%NaClO にて洗浄後メトコール<sup>®</sup> (ネオ製薬工業社製) を貼薬しキャビトン E X<sup>®</sup> (ジーシー社製) にて仮封した (アピカルストップ プレパレーション群 以下 A S P 群)。49 症例は、プロテーパー<sup>®</sup>を使用し RC-Prep<sup>™</sup> (Premier 社製) 下で業者指示により 25 号もしくは 30 号まで拡大、6%NaClO にて 5 分間洗浄し、以下 A S P 群と同様に貼薬後仮封した (テーパリング プレパレーション群 以下 T P 群)。

一週間後再来院時に、滅菌ペーパーポイントを用い貼薬一週間後の試料を採取した。試料は滅菌綿棒を用いて、ブルセラ HK 寒天培地 (極東製薬) に 5%羊脱線維素血液、ヘミンとメナディオンを添加した培地に分離塗抹し、培地はそれぞれ速やかにチェアサイド嫌気培養装置内に入れ、72 時間嫌気培養をした。観察された細菌はコロニー数により分類し、加えて細菌検出頻度に関して、Fisher の直接確率計算法で統計学的検定を行った。

#### 【結果および考察】

今回は、根管形成の差による根管内残留細菌の比較検討を試みた。A S P 群は 45 症例中 9 例 (20.0%) に培養陽性、T P 群は 49 症例中 3 例 (6.1%) に培養陽性となった。統計学的に 2 群間には、危険率 5%で統計的有意差がみられた。また、残留した細菌数についても差が見られ、T P 群のコロニー数は A S P 群よりも少なかった。培養結果の差は、主に根管洗浄効果の差によると推察される。手用ファイル群はその形態上根尖部におけるテーパーは 02 となり、NaClO や EDTA が到達しにくく効果が不十分になったと考えられる。今回の研究でテーパリング プレパレーションを施した根管形成、いわゆるグレートテーパーに根管形成することは、根尖部における根管洗浄効果を高め、根管内残量細菌数を減少させることに繋がることが示唆された。

#### 【結論】

テーパリング プレパレーションにて形成した根管とアピカルストップ プレパレーションにて形成した根管の細菌検出頻度について比較検討したところ、テーパリング プレパレーションにて形成した根管は残留細菌量が有意に少なく、残留細菌量が予後に影響を与えることを考慮すると、テーパリング プレパレーションは臨床に応用されるべき施術であることが示唆された。



## カリオテスターによる初期エナメル質う蝕の評価

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座  
○清水明彦

**Performance of Cariotester for detection of early enamel caries**  
Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine  
○Akihiko Shimizu

### 【緒言】

初期エナメル質う蝕病変は、視診では「不透過性の白色（白斑）」あるいは「褐色」に見える。しかし、白色や褐色を呈しているエナメル質が、健全エナメル質と比べ、どの程度軟化しているかを客観的に調べる方法はない。もし、初期エナメル質う蝕病変の軟化の程度を調べることができれば、う蝕の病態を正確に診断することができ、根拠に基づいた治療方針を患者に提示することが可能となろう。

本研究の目的は、初期エナメル質う蝕病変の軟化の程度を、「カリオテスター」（三栄エムイー社）で調べることができるかどうか検討することである。

### 【材料と方法】

カリオテスターは、圧子に塗料を塗布し試料に押し付けると、圧子が押込まれた範囲の塗料が消失するという原理を利用し、う蝕象牙質のヌープ硬さを測定する診断システムである。本実験は、エナメル質を測定対象とするため、圧子を先端部曲率半径  $5\ \mu\text{m}$  のものに交換し、測定荷重を 150gf、パソコン画面上での総合倍率を 750 倍に設定した。塗料はポスターカラーを使用し、圧子先端から塗料消失ラインまでの距離（塗料消失距離： $L\ \mu\text{m}$ ）を計測した。

肉眼的に「不透過性の白色（白斑）」あるいは「褐色」が認められるヒト抜去歯の初期エナメル質う蝕病変部（白色部  $n=8$ 、褐色部  $n=8$ ）について、カリオテスターで一カ所につき 5 回測定しその平均値を求め、その部の  $L$  値とした。健全エナメル質（ $n=9$ ）についても同様に測定した。

### 【結果】

健全エナメル質の塗料消失距離  $L$  は  $11\sim 14\ \mu\text{m}$ （平均値  $12.2\pm 0.9$ ）であった。一方不透過性の白色（白斑）を呈するう蝕病変の  $L$  は  $17\sim 35\ \mu\text{m}$ （平均値  $23.2\pm 6.2$ ）、褐色のう蝕病変の  $L$  は  $15\sim 28\ \mu\text{m}$ （平均値  $20.4\pm 4.4$ ）であった。なお、チョーク様の白色を呈するう蝕病変の  $L$  は  $39\sim 68\ \mu\text{m}$ （平均値  $55.6\pm 14.3$ 、 $n=4$ ）であった。

### 【考察】

カリオテスターの測定原理は基本的に押し込み硬さ試験法であり、測定結果の信頼性は高い。塗料消失距離（ $L\ \mu\text{m}$ ）は、圧子の押し込み深さ、即ち硬さと対応する量であり、 $L$  値が大きければ軟らかく、 $L$  値が小さければ硬いと判定される。本実験により、肉眼的に白色や褐色を呈するエナメル質う蝕は、健全エナメル質に比べ明らかに軟化していた。そして、肉眼的に白色や褐色を呈する初期エナメル質う蝕病変であっても、カリオテスターを使って  $L$  値を測定すれば白色部が  $17\sim 35\ \mu\text{m}$ 、褐色部が  $15\sim 28\ \mu\text{m}$  であり、個々の病変がどの程度軟化しているかを数値で評価できることが分かった。

今回の結果は、臨床でカリオテスターを使って経時的にエナメル質う蝕の  $L$  値を測定すれば、そのう蝕が進行状態にあるのか、停止状態にあるのか、あるいは再石灰化しているのかを、硬さを指標に評価することができることを示唆している。

### 【結論】

視診では単に白色や褐色を呈する初期エナメル質う蝕として診断される病変であっても、カリオテスターの  $L$  値で評価すれば、それらう蝕病変の軟化の程度を、数値で客観的に評価できることが分かった。

### 【参考文献】

清水明彦：世界初のう蝕象牙質硬さ測定システム「カリオテスター」の紹介とその応用について．日歯理工誌，30：29-32，2011．

## 新開発の高解像度 QLF 装置の緑色蛍光測定特性

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

Aspects of Green Fluorescence Measurements of Newly Developed High-resolution QLF in vitro  
Division of Oral Health, Department of Oral Health and Development Sciences  
Iwate Medical University School of Dentistry  
○Daisuke Inaba

### 目的

初期齲蝕(脱灰性白斑)の診断装置である従来型の光励起蛍光定量装置(QLF; Inspektor Pro, オランダ Inspektor 社)の撮像装置と光源を 18M ピクセル一眼レフデジタルカメラ(EOS 55D, Canon)および高輝度 LED に換装することにより、高解像度の新型 QLF 装置(QLF-D, Inspektor Pro, オランダ Inspektor 社)を製作した。本研究の目的は、QLF-D で検出されるエナメル質初期齲蝕の緑色蛍光の特性を旧機種である Inspektor Pro のそれと比較することにより、両者の互換性を検討することにある。

### 材料および方法

ヒト抜去大臼歯の頬側面または舌側面よりエナメル質ブロック(N=17)を切り出し、その表層を研磨して新鮮エナメル質を露出させた。ついで、約 2x2mm のウインドウ以外を試験歯面として残して、それ以外の歯面を透明ネイルバーニッシュで被覆した。この試料を 0.1M 乳酸溶液(pH4.5)に 48 時間浸漬して、人工初期脱灰部を形成したのち、脱灰程度の指標である蛍光減少率  $\Delta F$  (%) を標準化した光学条件およびカメラ設定のもとで Inspektor Pro と QLF-D で測定した。また、システム全体の測定誤差を評価するため、ランダムに抽出した 3 試料について、QLF-D による画像撮影から測定までの全行程を独立して各 10 回繰り返した。また、測定の誤差を検討するため、ランダムに抽出した 3 つの QLF-D 蛍光画像を対象に、プログラムによる測定のみを各 10 回反復した。

### 成績

QLF-D で測定された 17 試料の  $\Delta F$  値は  $-9.5 \pm 4.3\%$  (平均  $\pm$  SD) で、これは同一試料の Inspektor Pro による測定値 ( $-8.5 \pm 2.9\%$ ) と統計的に等価であった ( $p = 0.433$ , unpaired t test)。また、Inspektor Pro と QLF-D の測定値には有意な高い相関が認められた ( $r = 0.98$ ,  $p < 0.001$ )。一方、3 試料で 10 回反復測定した  $\Delta F$  値は  $-10.5 \pm 0.25\%$  (CV = 2.4%)、 $-7.18 \pm 0.25\%$  (CV = 3.5%) および  $-6.08 \pm 0.17\%$  (2.8%) で、QLF-D による測定誤差は 3.5% 以下であった。一方、測定操作のみの誤差 (CV) は最大 2.7% であった。

### 考察

今回の改良では、光学系(レンズ群)、撮像素子、光源など、測定に関与する要素をすべてを変更したが、照射光のピーク波長を新旧機種で同一に維持したこと、ならびに測定プログラムの蛍光測定アルゴリズムの原理を共通化させたことで、ほぼ同等の緑色蛍光測定が再現されたと考えられる。なお、撮像条件を一定とした場合、測定誤差の主要因は、脱灰部周辺にマニュアルで設定する対照健全部の領域設定であるが、反復測定でそれを任意に設定しても、QLF-D の測定誤差は 3.5% 程度であり、実用的に高い精度が確保されていると考えられた。

### 結論

新たに開発した高解像度の光励起蛍光定量装置 QLF-D システムは緑色蛍光に基づく初期齲蝕評価について従来機種 Inspektor Pro と互換性が確保されており、また QLF-D の測定は実用的に十分な精度と再現性有することが明らかとなった。

## 紫外線照射による象牙質強化効果メカニズムの化学的解析

<sup>1)</sup>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)

<sup>2)</sup>日本大学松戸歯学部歯内療法学講座

○古谷 優<sup>1</sup>, 武田 侑子<sup>1</sup>, 和田 陽子<sup>2</sup>, 辻本 恭久<sup>2</sup>, 林 美加子<sup>1</sup>, 恵比須 繁之<sup>1</sup>

### Analyses of Chemical Changes in Human Dentin Strengthened by UV Irradiation.

<sup>1)</sup>Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology. <sup>2)</sup>Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Department of Endodontology.

○Yu Furuya<sup>1</sup>, Yuko Takeda<sup>1</sup>, Yoko Wada<sup>2</sup>, Yasuhisa Tsujimoto<sup>2</sup>, Mikako Hayashi<sup>1</sup>, Shigeyuki Ebisu<sup>1</sup>

**【研究目的】**日常臨床で遭遇する失活歯の歯根破折を防ぐために、様々な観点から検討がなされてきており、象牙質の強化もその一つに挙げられる。我々は、ヒト象牙質の機械的強度が紫外線照射により著しく増加すること、そして紫外線による強化効果はタイプ I コラーゲンの化学変化によるものであることを発見し、本学会第 131, 132 回学術大会にて報告した。今回、その化学変化の詳細を明らかにするために、紫外線照射による象牙質コラーゲンからのラジカルの発生と、コラーゲン構成主要アミノ酸の構造変化を検索したところ、興味ある知見を得たので報告する。

**【材料および方法】**う蝕および破折のないヒト抜去第三大臼歯の歯冠部象牙質を 0.5M EDTA にて脱灰後、液体窒素にて凍結粉碎処理を行って得た脱灰象牙質試料と、タイプ I コラーゲンの代表的なアミノ酸である L-プロリン (Wako) およびグリシン (Wako) を分析に用いた。紫外線照射は、LED 紫外線照射装置 (ZUV-C30H, オムロン) を用いて、波長 365nm, 出力 1600mW/cm<sup>2</sup> の条件で行った。紫外線照射によるラジカル発生を測定するために、脱灰象牙質では 1, 3, 5, 10, 15 分の条件で、そしてプロリンとグリシンに対しては 30 秒, 5 分, 10 分の条件で紫外線を照射した後、電磁スピン共鳴装置 (JES FA300, 日本電子) にてそれぞれの試料から発生するラジカルを測定した。実験条件は、マイクロ周波数 8.0mW, 磁場 335.4±5mT, 掃引時間 0.5 分, 変調周波数 100kHz, 時定数 0.03s, スピントラッピング剤として 5,5-Dimethyl-1-pyrroline *N*-oxide (同仁化学) を用いた。また、ギ酸 (Wako) および Dimethyl sulfoxide (DMSO, Wako) を用いて、発生したラジカルの種類を確定した。次に、核磁気共鳴装置 (EX-270, JEOL) を用いて、紫外線照射によるタイプ I コラーゲン構成アミノ酸の構造変化を分析した。Pro-Pro-Gly の 5 量体 (タンパク研究所) を重水に温度 40°C, pH7.0 の条件で溶解させ、紫外線を出力 1600mW/cm<sup>2</sup> にて 30 秒および 15 分間それぞれ照射して、五量体の炭素原子の変化を分析した。なお、全ての実験は大阪大学大学院歯学研究科倫理審査会の承認を得て実施した (承認番号 H21-E29)。

**【結果および考察】**電磁スピン共鳴法の結果より、象牙質コラーゲン試料からは、全ての紫外線照射条件において OH ラジカルの発生を確認し、プロリンへの 5 分および 10 分の紫外線照射によっても OH ラジカルが発生していることが確認された。一方、グリシンへの紫外線照射ではラジカル発生を示すピークは確認できなかった。プロリンへの紫外線 30 秒照射では OH ラジカルのピーク以外にもピークが認められる複合波形を検出した。その複合波形を解析するためにギ酸のピークと比較した結果、C00 ラジカルが発生していることが分かった。また、OH ラジカルの消去剤である DMSO を添加すると OH ラジカル相当部のピークが下がり、OH ラジカルも同時に発生していることが確認できたことより、紫外線 30 秒照射では 2 種類以上のラジカルが複合して発生することが証明された。また、核磁気共鳴法の結果より、紫外線照射前後で 170ppm 部のピークに変化が認められ、プロリンの C=O 結合に変化が生じていることが分かった。以上の結果より、紫外線照射による象牙質強化効果は、C00 ラジカルが象牙質コラーゲンに作用し、プロリンの C=O 部に新たな水素結合や分子間架橋を形成したことにより起こる可能性が示唆された。

(本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金 (基礎研究 (B) 22390358, 挑戦的萌芽 23659888) の補助の下に行われた)

## 新規知覚過敏抑制材の象牙質接合界面の観察と臨床的考察

虎の門病院歯科

○杉崎順平、陶山雄司、森上 誠、宇野 滋、山田敏元

### FE-SEM observation on the resin/dentin interface and clinical implication of a newly designed desensitizing material

Toranomon Hospital, Department of Dentistry

○Jumpei Sugizaki, Yuji Suyama, Makoto Morigami, Shigeru Uno, Toshimoto Yamada

#### 【緒言】

象牙質知覚過敏症とは歯が存在しないものの歯がしみるという一定の臨床症状に基づく病名であるが、患歯のおかれている状況はさまざまで、すべての症例に即効性かつ持続性のある抑制効果をもつ治療法がないのが現状である。これまでも露出象牙質を機械的に封鎖しようとするコーティング材や象牙細管内に結晶を生成させ刺激を遮断しようとする材料など多くの製品が市販され、患者や術者らを悩ませてきた知覚過敏症の治療に一役を担ってきた。このたびナノフィラー技術を踏襲し、簡便かつ即効性のある知覚過敏抑制効果を期待されるコーティング材“G-ガード”が市販された。われわれはこのG-ガードを用いて象牙質との接合界面の様相を観察するとともに臨床的な考察を加えることによってこの材料の臨床的有用性について検討を行なったので報告する。

#### 【材料と方法】

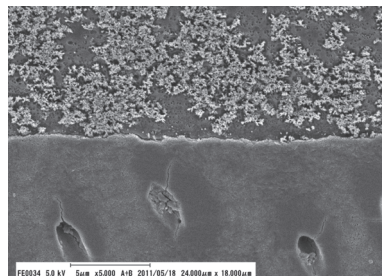
1. 切削象牙質接合界面のFE-SEM観察・・・健全なヒト抜去臼歯を用いて、歯冠を歯軸に垂直に切断し、健全な象牙質を含む平坦面を露出させ、#600の耐水研磨紙で研削した面を被着面とした。被着面を綿球にて清掃し水洗・乾燥したのちにG-ガードを薄く塗布、エアブローすることなく光硬化した。その後接合界面に垂直になるように歯軸方向に半切された試料の一部はエポキシ樹脂に包埋することなく、また他は通法に従ってレジンと歯質との接合界面が露出するようにエポキシ樹脂に包埋、研磨、アルゴンイオンエッチングを35秒間行った後にG-ガードと象牙質との接合界面の様相についてFE-SEMを用いて観察を行った。

2. 臨床的考察・・・虎の門病院歯科に来院された患者に対しG-ガードを用いて知覚過敏処置を行い、短期的ながらG-ガードの歯面への残存率ならびに知覚過敏症状の推移を調べると同時に、G-ガードの塗布方法や本材料が臨床的にどのような症例に適応可能であるかについての考察を行った。

#### 【結果及び考察】

1. 切削象牙質との接合界面像・・・塗布されたG-ガードの厚みは約100 $\mu$ m程度であり、細かなフィラーが比較的均一に分散して観察された。また未包埋試料、包埋試料ともにG-ガードと象牙質との界面は良好な接合状態を示していた。

2. 臨床的考察・・・G-ガードは臨床的には比較的早期に脱落する症例も見られたが、知覚過敏症状の推移とは必ずしも一致していなかった。またG-ガードの塗布はメーカー指示のマイクロチックアプリケーションナーを用いるより、平筆(No.1B)、丸筆(No.1B)(ジーシー社製)を用いた方が細かい範囲で均一な厚みで塗布しやすかった。知覚過敏症状を示す歯の状況は修復物の有無、歯頸部欠損の有無やその深さ、露出根面の有無、咬耗・摩耗の程度などによって様々であり、これら多くのパラメーターを考慮した臨床試験によつて知覚過敏治療の評価を比較・検討することは非常に困難なことであると考えられる。



#### 【結論】

今回市販された知覚過敏抑制材G-ガードは短期的には歯質に対して良好な接着性が得られることから、特にフロアブルレジンなどによる充填処置を必要としない歯頸部欠損を有さない症例や知覚過敏部位が特定できないような症例に対しては臨床的に有効な材料であると考えられた。