

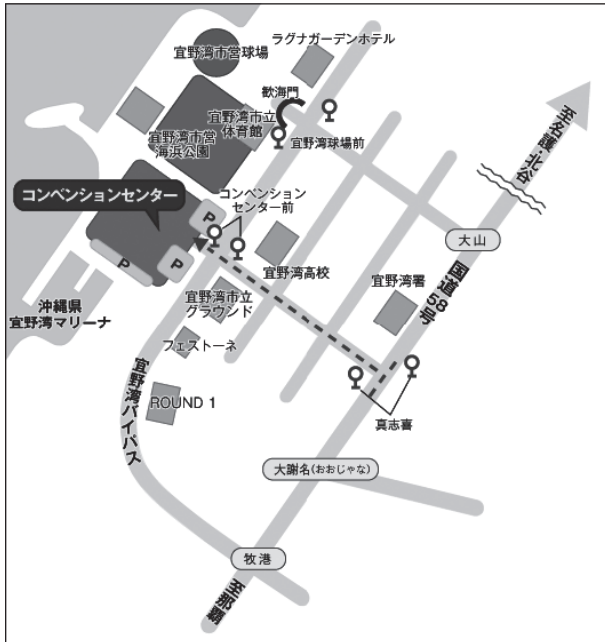
特定非営利活動法人 日本歯科保存学会
2012年度春季学術大会（第136回）
プログラムおよび講演抄録集

Program and Abstracts, the 136th Meeting
of the Japanese Society of Conservative Dentistry,
June 28-29, 2012, Okinawa

2012年6月28日（木），6月29日（金）
宜野湾市 沖縄コンベンションセンター



■ 会場へのご案内 ■



モノレール/路線バスをご利用の場合

那覇空港よりモノレールで旭橋駅（那覇バスターミナル）まで行き、そこからコンベンションセンター行きのバスに乗り換える方法がおすすめです。

「モノレール」那覇空港駅⇒旭橋駅（那覇バスターミナル）

所要時間：11分 料金：260円

「路線バス」 那覇バスターミナル⇒

コンベンションセンター前（または真志喜）

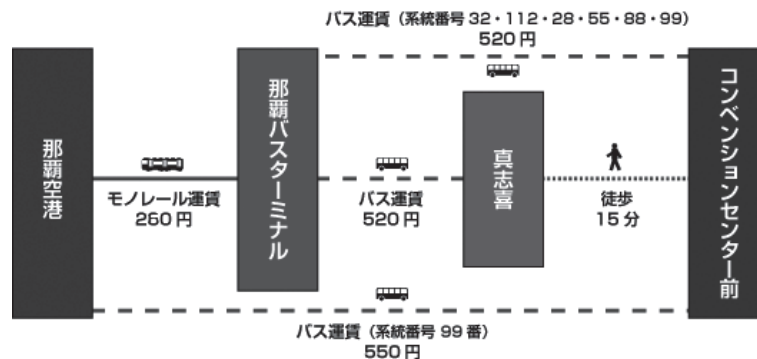
系統番号：32・112・28・55・88・99

所要時間：約40～60分 料金：520円

※系統番号99番は那覇空港より乗車可能

那覇空港⇒コンベンションセンター前

所要時間：約70～80分 料金：550円



※参考：沖縄本島の路線バスは、那覇空港と各地域のバスターミナルを中心に運行されています。沖縄では、同じバス停に行き先の異なる複数の路線バスが停車いたしますのでご注意ください。

また、タクシーと同じように手をあげて意思表示し、バスを停める習慣があります。路線バスであっても、交通事情により時間通りに運行されないことがあります。

空港シャトルバスをご利用の場合

那覇空港発のリムジンバス“花号”にご乗車いただき、「ラグナガーデンホテル前」にて下車、会場まで徒歩7～8分。

所要時間：約45分 料金：600円 那覇空港発時間（13：00、14：30、16：00）

空港リムジンバス案内センター TEL 098-869-3301

タクシーをご利用の場合

那覇空港⇒沖縄コンベンションセンターの所要時間：約35分 料金：約4,000円

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会

2012 年度 春季学術大会 (第 136 回)

プログラムおよび講演抄録集

Program and Abstracts, the 136th Meeting
of the Japanese Society of Conservative Dentistry,
June 28-29, 2012, Okinawa

会 期：2012 年 6 月 28 日 (木) 8：50～19：30
2012 年 6 月 29 日 (金) 9：00～18：00

学会会場：沖縄コンベンションセンター
〒901-2224 宜野湾市真志喜 4-3-1
TEL：098-898-3000 FAX：098-898-2202

日本歯科保存学会 HP：<http://www.hozon.or.jp>

学術大会 HP：<http://www.jscd136.com>

- A 会 場：劇場
- B 会 場：会議棟 A (会議室 A1)
- C 会 場：会議棟 B (会議室 B1)
- D 会 場：会議棟 B (会議室 B2)
- E 会 場：会議棟 B (会議室 B3,4)
- F 会 場：会議棟 B (会議室 B5～7)

ポスター会場：展示場

企業展示会場：展示場

学術大会に参加される方へ、お知らせとお願い

◆今回の学術大会では、講演会場がA会場（劇場）、B会場（会議棟A・会議室A1）、C会場（会議棟B・会議室B1）、D会場（会議棟B・会議室B2）、E会場（会議棟B・会議室B3,4）、F会場（会議棟B・会議室B5～7）の6会場、またポスター会場は展示場となっております。

◆会場のご案内

6月27日（水）

イブニングセミナー1 : E会場（19：00～21：00）
イブニングセミナー2 : F会場（19：00～21：00）

6月28日（木）

開会の辞 : A会場（8：50～9：00）
評議員会・総会・授賞式 : A会場（9：00～10：00）
研究発表（口演）：A1～5 : A会場（10：10～11：00）
 B1～5 : B会場（10：10～11：00）
特別講演I : A会場（11：10～12：10）
ランチョンセミナー1 : F会場（12：30～13：30）
ランチョンセミナー2 : C会場（12：30～13：30）
ランチョンセミナー3 : E会場（12：30～13：30）
ランチョンセミナー4 : B会場（12：30～13：30）
ランチョンセミナー5 : D会場（12：30～13：30）
特別講演II : A会場（13：50～15：20）
認定研修会 : A会場（15：30～17：00）
企業展示 : 企業展示会場（8：30～17：00）
会員懇親会 : B会場（17：30～19：30）

6月29日（金）

研究発表（ポスター）：P1～186 : ポスター会場（9：00～10：20）
特別講演III : A会場（10：30～12：00）
シンポジウム : A会場（12：10～13：00）
編集連絡委員会 : B会場（12：30～13：30）
研究発表（口演）：A6～25 : A会場（14：00～17：50）
 ：B6～25 : B会場（14：00～17：50）
 ：C1～16 : C会場（14：00～17：00）
企業展示 : 企業展示会場（8：30～13：00）
閉会の辞 : B会場（17：50～18：00）

6月28日、29日の両日

クローク、ドリンクサービス、弁当販売、物産コーナー：展示場

◆受付は6月28日は7：30から、29日は8：00から沖縄コンベンションセンター展示場の学術大会総合受付にて行います。事前登録がお済みの方は、事前に送付した参加章をご持参のうえ、事前登録受付にお立ち寄りください。当日登録の方は、受付に用意されている当日参加登録用紙に必要事項をご記入のうえ、当日受付にて登録を行ってください。

（当日参加登録費：13,000円）

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：

6月28日（木） 7：30～16：30

6月29日（金） 8：00～13：00

※A会場、B会場、C会場ともに、展示場のPC受付にお越しくください。

ポスター発表者へのお願い

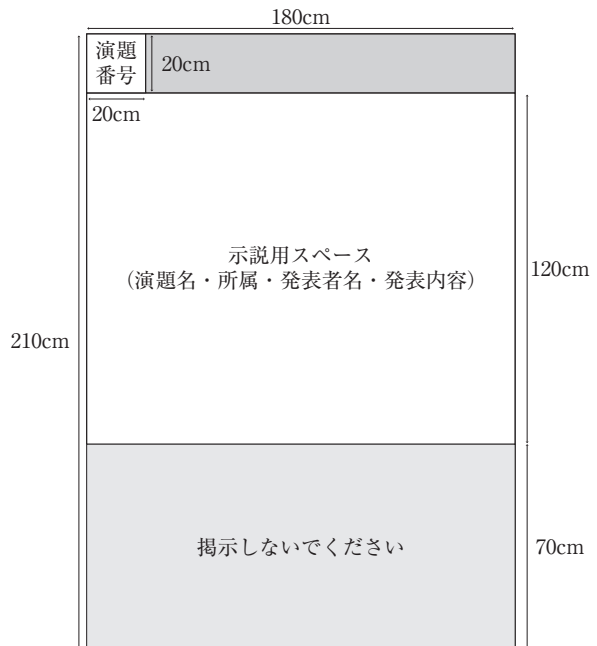
- ◆ポスター発表は、6月28日（木）、29日（金）の両日、ポスター会場（展示場）にて行います。なお、すべてのポスターを2日間連続で掲示します。
- ◆ポスターパネルは、1演題につき縦210cm、横180cmのスペースを用意いたします。ポスター掲示用の押しピンは各自でご用意ください。
- ◆最上段左側の縦20cm、横20cmは演題番号用スペースで、演題番号は担当校が用意します。
- ◆演題番号の下の部分より、ポスターを提示してください。なお、パネルの下方部分は参加者から見づらいケースもございますので、縦210cmの内、下70cm程度は提示しないでください（おおよその目安として、縦120cm、横180cm以内のポスターをご用意ください）。また、ポスターの上部には、演題名・所属・発表者名を明示してください。なお演題名の文字は、1文字4cm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105mm、横80mm）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。3m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。

6月28日（木） 8：00～9：00
- ◆ポスター発表および質疑応答の日は以下のとおりです。

6月29日（金） 9：00～10：20

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。

6月29日（金） 13：00～14：00



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。

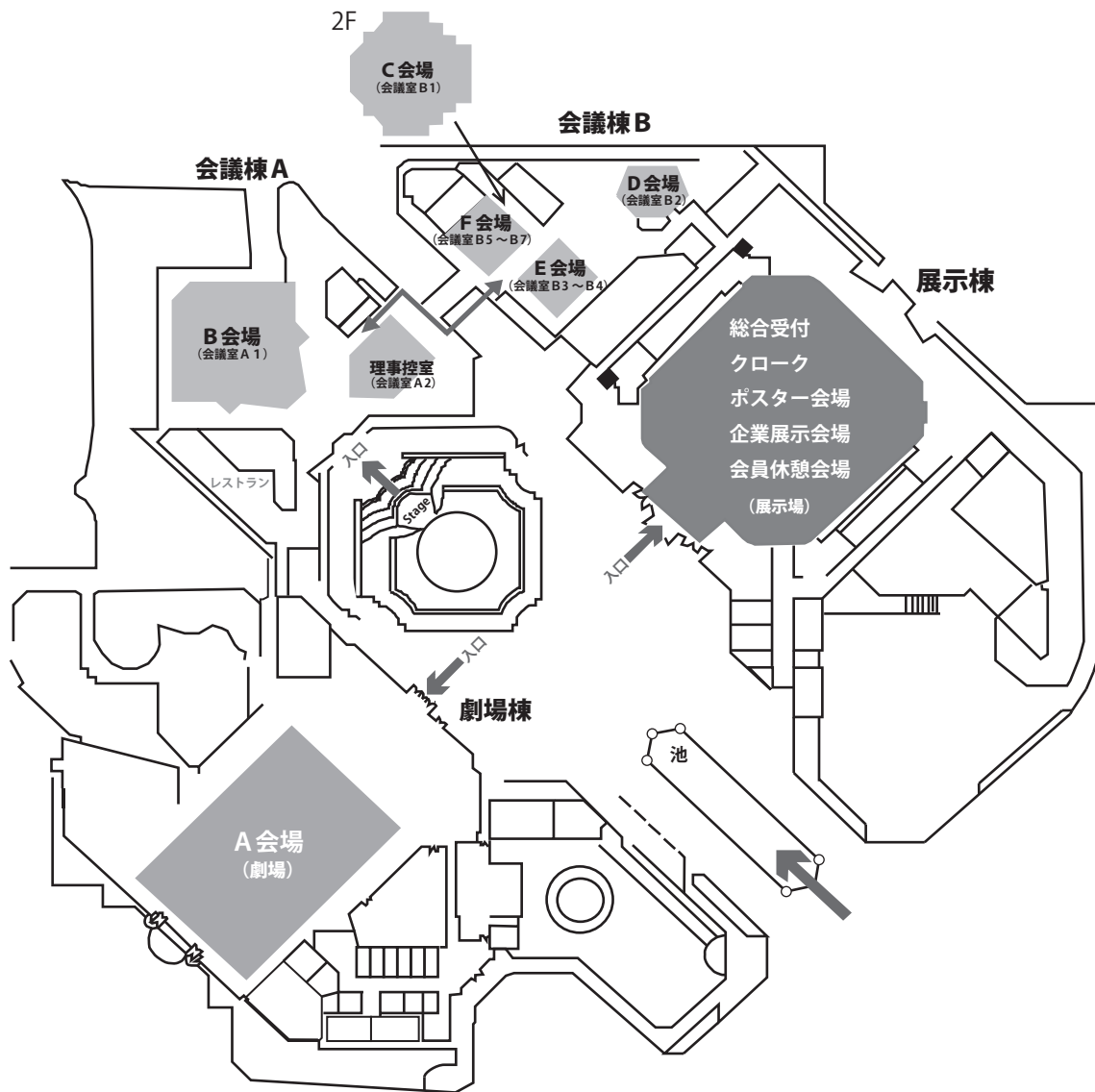
理事，編集連絡委員，一般会員へのお知らせ

- ◆評議員会・総会・授賞式は、6月28日（木）9：00～10：00にA会場（劇場）にて行います。
- ◆編集連絡委員会は、6月29日（金）12：30～13：30 B会場（会議棟A・会議室A1）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（展示場）にて行います。展示時間は以下をご参照ください。
6月28日（木） 8：30～17：00
6月29日（金） 8：30～13：00

【会場案内図】



劇場棟

A会場 (劇場)

6月28日 (木)

- 開会式
 - 評議員会・総会・授賞式
 - 研究発表 (口演)
 - 特別講演 I
 - 特別講演 II
 - 認定研修会
- 6月29日 (金)
- 特別講演 III
 - シンポジウム
 - 研究発表 (口演)

会議棟 A

B会場 (会議室 A1)

6月28日 (木)

- 研究発表 (口演)

ランチョンセミナー 4

会員懇親会

6月29日 (金)

- 編集連絡委員会
- 研究発表 (口演)
- 閉会式

会議棟 B

C会場 (会議室 B1)

6月28日 (木)

- ランチョンセミナー 2

6月29日 (金)

- 研究発表 (口演)

D会場 (会議室 B2)

6月28日 (木)

- ランチョンセミナー 5

E会場 (会議室 B3,4)

6月27日 (水)

- イブニングセミナー 1

6月28日 (木)

- ランチョンセミナー 3

F会場 (会議室 B5~7)

6月27日 (水)

- イブニングセミナー 2

6月28日 (木)

- ランチョンセミナー 1

展示棟 (展示場)

- 総合受付
- クローク
- ポスター会場
- 企業展示会場
- 会員休憩会場

学術大会スケジュール 前日 6月27日 (水)

時間	C会場 (会議棟 B・会議室 B1)	E会場 (会議棟 B)		F会場 (会議棟 B)	
		会議室 B3	会議室 B4	会議室 B5	会議室 B6
10:00					
11:00		10:30~11:30 学会のあり方委員会		10:30~11:30 認定委員会	
12:00			11:30~12:30 国際交流委員会		11:30~12:30 定款委員会
13:00		12:30~13:30 医療合理化委員会		12:30~13:30 表彰委員会	
14:00		13:30~14:30 学術用語委員会	13:30~14:30 広報委員会	13:30~14:30 教育問題委員会	13:30~14:30 研究活性化委員会
15:00	15:00~18:00 理事会				
16:00					
17:00					
18:00					
19:00		19:00~21:00 イブニングセミナー 1		19:00~21:00 イブニングセミナー 2 (会議室 B5~7 まで使用)	
20:00					

学術大会スケジュール 第1日目 6月28日 (木)

時間	総合受付 (展示場)	A会場 (劇場)	B会場 (会議棟A・会議室A1)	C会場 (会議棟B・会議室B1)	D会場 (会議棟B・会議室B2)	E会場 (会議棟B・会議室B3,4)	F会場 (会議棟B・会議室B5~7)	ポスター会場 (展示場)	企業展示会場 (展示場)
7:30	受付開始								
8:00								8:00~ 9:00 ポスター準備	
		開会の辞							
9:00		9:00~ 10:00 評議員会・ 総会・授賞式							
10:00		休憩 A1 A2 A3 A4 A5	B1 B2 B3 B4 B5						
11:00		休憩							
		11:10~ 12:10 特別講演 I							
12:00									
			12:30~ 13:30 ランチョン セミナー4	12:30~ 13:30 ランチョン セミナー2	12:30~ 13:30 ランチョン セミナー5	12:30~ 13:30 ランチョン セミナー3	12:30~ 13:30 ランチョン セミナー1	9:00~ 17:00 ポスター掲示	8:30~ 17:00 企業展示
13:00									
14:00		13:50~ 15:20 特別講演 II							
15:00		休憩							
16:00		15:30~ 17:00 認定研修会							
17:00	受付終了								
18:00			17:30~ 19:30 会員懇親会						
19:00									

学術大会スケジュール 第2日目 6月29日 (金)

時間	総合受付 (展示場)	A会場 (劇場)	B会場 (会議棟A・会議室A1)	C会場 (会議棟B・会議室B1)	D会場 (会議棟B・会議室B2)	E会場 (会議棟B・会議室B3,4)	F会場 (会議棟B・会議室B5~7)	ポスター会場 (展示場)	企業展示会場 (展示場)
7:30									
8:00	受付開始							8:00~ 9:00 ポスター掲示	
9:00								9:00~ 10:20 ポスター発表	
10:00									
11:00		10:30~ 12:00 特別講演Ⅲ						10:20~ 13:00 ポスター掲示	8:30~ 13:00 企業展示
12:00		休憩							
		12:10~ 13:00 シンポジウム							
13:00			12:30~ 13:30 編集連絡 委員会					13:00~ 14:00 ポスター撤去	
14:00	受付終了	A6 A7 A8 A9 A10 A11	B6 B7 B8 B9 B10 B11	C1 C2 C3 C4 C5 C6					
15:00		休憩 A12 A13 A14 A15 A16	休憩 B12 B13 B14 B15 B16	休憩 C7 C8 C9 C10 C11					
16:00		休憩 A17 A18 A19 A20 A21	休憩 B17 B18 B19 B20 B21	休憩 C12 C13 C14 C15 C16					
17:00		休憩 A22 A23 A24 A25	休憩 B22 B23 B24 B25						
18:00			閉会の辞						

特別講演 I

研修コード【3001】

講演名：齲蝕と健康をめぐる栄養学・細菌学の現在

日時：2012年6月28日（木）11時10分～12時10分

会場：A会場（劇場）

座長：桃井保子 教授
（鶴見大学歯学部保存修復学講座）

演者：花田信弘 教授
（鶴見大学歯学部探索歯学講座）

演者略歴

1981年 九州歯科大学卒業
1985年 九州歯科大学大学院修了
1987年 Northwestern 大学医歯学部博士研究員
1990年 岩手医科大学歯学部助教授
1993年 厚生省 国立予防衛生研究所部長
1997年 厚生労働省 国立感染症研究所部長
2002年 厚生労働省 国立保健医療科学院部長
2008年 鶴見大学歯学部探索歯学講座教授



学会等活動

内閣府消費者庁消費者委員会分科会委員，経済産業省（NEDO）再生医療評価分科会委員（会長代理），日本口腔衛生学会常任理事・指導医

特別講演 II

研修コード【2499】

講演名：なぜ高い骨密度でも骨折するのか？
—骨基質劣化型骨粗鬆症の概念と疾患バイオマーカーのエビデンス—

日時：2012年6月28日（木）13時50分～15時20分

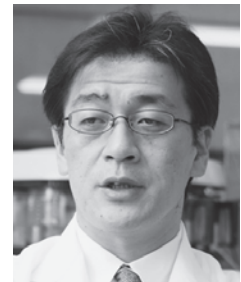
会場：A会場（劇場）

座長：林 美加子 教授
（大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座）

演者：斎藤 充 准教授
（東京慈恵会医科大学整形外科）

演者略歴

1992年 東京慈恵会医科大学卒業，東京慈恵会医科大学病院研修医
2000年 東京慈恵会医科大学大学院卒業，同年大学病院助手
2007年 東京慈恵会医科大学整形外科講師
2011年 東京慈恵会医科大学整形外科准教授（専門：関節外科，コラーゲン代謝）



学会等活動

日本骨代謝学会，日本骨粗鬆症学会，日本骨形態計測学会評議員，日本ビタミン学会，日本抗加齢医学会評議員

診療ガイドライン委員

骨粗鬆症の予防と治療のガイドライン，生活習慣病における骨折リスク評価委員，変形性股関節症ガイドライン，独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）専門委員

受賞

2004年以降，日本結合組織学会（大高賞），日本骨粗鬆症学会（研究奨励賞3回，森井賞），日本骨代謝学会（学術賞，研究奨励賞），雑誌 *Osteoporos International* 2008-2010 最多引用論文賞など，14受賞

特別講演 III

研修コード【3104】

講演名：自然治癒力からみた再生治療と再生医療の将来

日時：2012年6月29日（金）10時30分～12時00分

会場：A会場（劇場）

座長：齋藤正寛 准教授
（東京理科大学基礎工学部生物工学科）

演者：田畑泰彦 教授
（京都大学再生医科学研究所 生体組織工学研究部門 生体材料学分野）

演者略歴

1988年 京都大学大学院工学研究科高分子化学科修了，工学博士（京都大学）
1988年 京都大学医用高分子研究センター助手
1990年 京都大学生体医療工学研究センター助手
1991～1992年 米国マサチューセッツ工科大学，ハーバード大学医学部外科客員研究員
1996年 京都大学生体医療工学研究センター助教授
2000年 京都大学再生医科学研究所生体組織工学研究部門生体材料学分野教授
2002年 医学博士（京都大学）
2003年 薬学博士（京都大学）



学会等活動

日本炎症再生学会理事，日本バイオマテリアル学会理事，日本DDS学会理事，日本再生医学会理事，硬組織再生生物学会副理事長，世界Tissue Engineering & Regenerative Medicine学会理事，日本創傷治癒学会評議員，日本人工臓器学会評議員，内閣府日本学術会議連携委員，American Institute for Medical and Biological Engineering (AIMBE) フェロー，Biomaterials Science and Engineering フェロー，工学，医学，歯学，薬学の14大学の非常勤講師と客員教授，6つの国際学術雑誌 Editor

受賞

日本バイオマテリアル学会科学奨励賞受賞（1990），日本バイオマテリアル学会学会賞受賞（2002），American Institute for Medical and Biological Engineering (AIMBE) award（2007），Biomaterials Science and Engineering award（2008），日本DDS学会水島賞受賞（2011），Chandra P. Sharma award of the International Society of Biomaterials & Artificial Organs（2011）

シンポジウム

日本歯科医学会プロジェクト研究 確かなエックス線診断と接着技法が破折歯を救う

日時：2012年6月29日（金）12時10分～13時00分

会場：A会場（劇場）

コーディネーター：吉山昌宏 教授
（日本歯科保存学会）
佐野 司 教授
（日本歯科放射線学会）

講演1：医科用CTおよび歯科用コーンビームCTの歯根破折診断での活躍の可能性

演者：佐野 司 教授
（東京歯科大学歯科放射線学講座）

演者略歴

1987年 昭和大学歯学部卒業
1991年 昭和大学大学院歯学研究科修了（歯学博士），昭和大学歯学部助手（歯科放射線学教室）
1993年 米国・ロチェスター大学医学部客員講師
1995年 昭和大学歯学部講師（歯科放射線学教室）
2004年 東京歯科大学教授（歯科放射線学講座）



学会等活動

日本歯科放射線学会常任理事・専門医・指導医，国際歯顎顔面放射線学会（IADMFR）Senior Vice President，日本顎関節学会理事・専門医・指導医，日本歯科医学教育学会理事，国際歯科研究学会日本部会（JADR）前理事，日本歯科医学会学術研究委員会副委員長，日本口腔科学会評議員，日本顎顔面インプラント学会評議員，日本画像医学会評議員

講演2：歯根破折の画像診断法の見直しと新たな展開

演者：飯久保正弘 講師
（東北大学大学院歯学研究科 口腔病態外科学講座 口腔診断学分野）

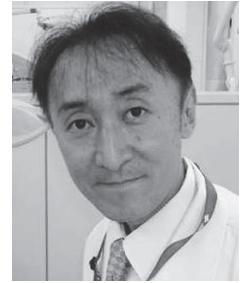
第2日目 A会場

演者略歴

1994年 東北大学歯学部卒業，東北大学歯学部附属病院口腔診断・放射線科（現：東北大学大学院歯学研究科口腔診断学分野）研修医，医員
1998年 東北大学歯学部口腔診断・放射線学講座助手
2006年 東北大学大学院歯学研究科口腔診断学分野講師

学会等活動

日本歯科放射線学会代議員・専門医，日本口腔診断学会評議員・認定医・指導医，日本口腔顔面痛学会暫定専門医，日本歯科保存学会会員



講演3：歯根縦破折歯の接着再建のポイント

演者：山本一世 教授
（大阪歯科大学歯科保存学講座）

演者略歴

1987年 大阪歯科大学卒業
1991年 大阪歯科大学大学院歯学研究科修了（歯学博士）
1992年 ドイツ・バイエル歯科研究所留学（1年間）
1996年 大阪歯科大学助手（歯科保存学講座）
1998年 大阪歯科大学講師（歯科保存学講座）
2005年 大阪歯科大学教授（歯科保存学講座）

学会等活動

日本歯科保存学会専門医・指導医，日本接着歯学会認定医，日本外傷歯学会認定医，日本歯科審美学会認定医，日本歯科理工学会 Dental Materials Senior Adviser（歯科接着器材）



講演4：破折歯の治療の現状とその展望

演者：吉山昌宏 教授
（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）

演者略歴

1982年 徳島大学歯学部卒業
1986年 徳島大学大学院歯学研究科修了，徳島大学歯学部助手（歯科保存第一）
1988年 徳島大学歯学部附属病院講師
1994年 ジョージア医科大学歯学部客員講師
2000年 徳島大学歯学部助教授，岡山大学歯学部教授（歯科保存修復学分野）
2001年 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科教授
2003年 岡山大学歯学部附属病院副院長
2006年 岡山大学病院総合歯科治療部部長

学会等活動

日本歯科保存学会常任理事・評議員，日本接着歯学会理事・評議員，日本歯科審美学会理事・評議員，日本歯科理工学会理事・評議員，日本再生歯科医学会会長，日本バイオマテリアル学会評議員



認定研修会

日 時：2012年6月28日（木）15時30分～17時00分

会 場：A会場（劇場）

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）

講演1：象牙質齲蝕の診断とコンポジットレジン修復

研修コード【2501】

演 者：猪越重久 先生

（東京都台東区・イノコシ歯科医院）

演者略歴

1977年 東京医科歯科大学歯学部卒業

1981年 東京医科歯科大学大学院歯学研究科修了，東京医科歯科大学歯学部歯科保存学第一講座助手

1984年 東京医科歯科大学歯学部歯科保存学第一講座講師

1990～1991年 ベルギー王国ルーベンカソリック大学客員教授

1997年 東京医科歯科大学歯学部歯科保存学第一講座助教授

1997年 イノコシ歯科医院開設



学会等活動

日本接着歯学会理事・認定医

講演2：効率的な感染根管の攻略法—感染源はどこにある？—

研修コード【2503】

演 者：木ノ本喜史 先生

（大阪府開業，大阪大学歯学部臨床教授）

演者略歴

1987年 大阪大学歯学部卒業

1992年 大阪大学大学院歯学研究科修了，博士（歯学）取得

1997～1999年 米国テキサス大学サンアントニオ校歯学部

歯内療法学講座客員研究員

2001年 大阪大学歯学部附属病院講師

2005年 大阪府吹田市にて開業

2009年 大阪大学歯学部臨床教授



学会等活動

日本歯内療法学会常任理事，日本歯科保存学会評議員・指導医・認定医，日本顕微鏡歯科学会理事，American Association of Endodontists，他

ランチョンセミナー 1

研修コード【2501】

う蝕治療ガイドラインを実践する
—スプーンエキスカベータによる感染歯質の選択的除去の実際—

日 時：2012年6月28日（木）12時30分～13時30分

会 場：F会場（会議棟B・会議室B5～7）

座 長：石崎裕子 講師
（新潟大学医歯学総合病院総合診療部）

演 者：清水明彦 非常勤講師
（兵庫医科大学歯科口腔外科学講座）

演者略歴

1970年 大阪大学歯学部卒業
1974年 大阪大学大学院歯学研究科修了，大阪大学歯学部歯科保存学講座助手
1982年 大阪大学歯学部附属病院講師
1988年 兵庫医科大学歯科口腔外科学講座助教授
2002年 兵庫医科大学歯科口腔外科学講座臨床教授
2009年 兵庫医科大学歯科口腔外科学講座教授
現在 兵庫医科大学歯科口腔外科学講座非常勤講師



学会等活動

日本歯科保存学会（認定医，指導医，う蝕治療ガイドライン作成委員），日本歯科理工学会，日本医用歯科機器学会，IADR（International Association for Dental Research）

（協賛：株式会社 YDM）

ランチオンセミナー 2
接着を活かした垂直破折歯根の治療

日時：2012年6月28日（木）12時30分～13時30分

会場：C会場（会議棟B・会議室B1）

座長：小倉陽子 講師
（日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座）

演者：菅谷 勉 准教授
（北海道大学大学院歯学研究科 歯周・歯内療法学教室）

演者略歴

1985年 北海道大学歯学部卒業，北海道大学歯学部附属病院第2保存科医員
1988年 北海道大学歯学部附属病院第2保存科助手
1998年 北海道大学歯学部附属病院第2保存科講師
2002年 北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室助教授
2007年 北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室准教授



学会等活動

日本歯周病学会指導医，日本歯科保存学会専門医

（協賛：サンメディカル株式会社）

ランチョンセミナー 3

研修コード【2504】

バイオフィーム制御における洗口液の意義

日時：2012年6月28日（木）12時30分～13時30分

会場：E会場（会議棟B・会議室B3, 4）

座長：玉澤かほる 講師
（東北大学病院口腔回復系診療科歯周病科）

演者：竹中彰治 助教
（新潟大学大学院医歯学総合研究科 う蝕学分野）

演者略歴

1994年 新潟大学歯学部卒業
1998年 新潟大学大学院歯学研究科博士課程修了，新潟大学歯学部附属病院医員
1999年 新潟大学歯学部助手
2001年 新潟大学大学院医歯学総合研究科助手
2005年 アメリカ合衆国モンタナ州立大学バイオフィームセンター留学
2007年 新潟大学大学院医歯学総合研究科助教
2012年 アメリカ合衆国モンタナ州立大学バイオフィームセンター短期留学



（協賛：株式会社松風
ジョンソン・エンド・ジョンソン株式会社）

ランチョンセミナー 4
Single File Root Canal Preparation

日時：2012年6月28日（木）12時30分～13時30分

会場：B会場（会議棟A・会議室A1）

座長：小澤寿子 講師
（鶴見大学歯学部歯内療法学講座）

演者：石井信之 教授
（神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野）

演者略歴

- 1983年 神奈川歯科大学歯学部卒業，神奈川歯科大学歯内療法学講座助手
- 1992年 フォーサイス歯学研究所免疫学教室に留学（～1993年）
- 1997～2007年 広島大学歯科保存学第二講座兼任講師
- 2004年 神奈川歯科大学大学院口腔治療学講座講師
- 2007年 神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野教授，PIO エンドセンター代表・DUBOIS 歯学研究所所長
- 2009年 東北大学歯内歯周治療学分野兼任講師，神奈川歯科大学附属病院副院長（～2010年）
- 2011年 広島大学歯科保存学第二講座兼任講師，神奈川歯科大学副学長



（協賛：デンツプライ三金株式会社
株式会社茂久田商会）

ランチョンセミナー 5

研修コード【2199】

インパクトファクターは研究者を評価できるか —その成り立ち，考え方と仕組み—

日 時：2012年6月28日（木）12時30分～13時30分

会 場：D会場（会議棟B・会議室B2）

座 長：中島美砂子 部長
（国立長寿医療研究センター再生歯科医療研究部）

演 者：広瀬容子 シニアマネージャー
（トムソン・ロイター 学術情報ソリューション ソリューションマネージメント）

演者略歴

1988年 慶應義塾大学文学部図書館・情報学科卒業

2003年 上は13歳から下は4歳の4人の子供を連れ、米国に母子留学

2005年 University of Pittsburgh, School of Information SciencesにてMaster of Library and Information Science取得。同年8月トムソン・サイエンティフィック（現・トムソン・ロイター）に入社。営業を経て現在、学術情報ソリューションチーム・シニアマネージャー。情報検索，研究評価分析等に関するセミナー，シンポジウムの企画・提案を手がけるほか，同テーマに関する講習会，セミナー等での講演も多数。目下の個人的関心事は女性研究者のキャリア向上について。



（協賛：トムソン・ロイター・プロフェッショナル株式会社）

イブニングセミナー 1

研修コード【2105】

歯科の情報管理とレセプトオンライン請求について

日 時：2012年6月27日（水）19時00分～21時00分

会 場：E会場（会議棟B・会議室B3, 4）

座 長：細矢哲康 教授
（鶴見大学歯学部歯内療法学講座）

演 者：瀧川智義 准教授
（日本大学歯学部保存学教室修復学講座，日本大学歯学部附属歯科病院歯科医療情報管理部医療情報科）

演者略歴

1977年 日本大学歯学部卒業
1980年 日本大学助手
1984年 日本大学講師
2004年 日本大学助教授，日本大学歯学部附属歯科病院医科医療情報管理部医療情報科科长（併任）
2007年 日本大学准教授



学会等活動

日本歯科保存学会認定医・指導医，日本歯科理工学会，日本接着歯学会，日本歯周病学会，日大歯学会，IADR，日本医療情報学会，日本歯科医療管理学会，日本診療情報管理学会，日本病院管理学会，日本クリニカルパス学会

演 者：松見秀之 先生
（埼玉県歯科医師会）

演者略歴

1993年 明海大学歯学部卒業
1995年 明海大学大学院歯学研究科修了，明海大学歯学部講師（歯内療法学・非常勤講師）
1994年 埼玉県日高市にて開業
2004年 埼玉県歯科医師会学術担当理事
2005年 埼玉県社会保険診療報酬支払基金審査委員
2007年 社会保険診療報酬支払基金研修センター講師，埼玉県社会保険診療報酬支払基金主任審査委員
2009年 日本歯科医師会情報管理担当理事



学会等活動

日本歯科保存学会指導医・専門医，日本レーザー歯学会指導医・認定医

前日 F会場

イブニングセミナー 2

研修コード【2605】

ホワイトニングと口腔健康管理のコンビネーションを考える

日時：2012年6月27日（水）19時00分～21時00分

会場：F会場（会議棟B・会議室B5～7）

座長：向井義晴 准教授
（神奈川歯科大学口腔医歯学系口腔治療学講座）

演者：大森かをる 助教
（鶴見大学歯学部保存修復学講座，鶴見大学歯学部附属病院口腔機能診療科
白くて美しい歯の外来）

演者略歴

- 1988年 鶴見大学歯学部卒業
- 1989年 鶴見大学歯学部第一歯科保存学教室助手（現 保存修復学講座）
- 1998年 英国ニューカッスル大学歯学部口腔細菌学講座客員研究員
- 2005年 鶴見大学歯学部附属病院専門外来白くて美しい歯の外来主任兼務（現 口腔機能診療科）
- 2006年 鶴見大学歯学部保存修復学講座助教（役職名変更）



学会等活動

日本歯科保存学会，日本歯科理工学会，日本接着歯学会，日本歯科審美学会認定医，IADR，JADR

特定非営利活動法人

日本歯科保存学会 2012 年度春季学術大会（第 136 回）一般発表プログラム

演題の読み方：上段；A は A 会場（劇場），B は B 会場（会議棟 A・会議室 A1），C は C 会場（会議棟 B・会議室 B1），P はポスター会場（展示場）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【2501】→ 研修項目 V-1）齲蝕病巣の対応

第 1 日目 6 月 28 日（木）A 会場（劇場）

8：50～9：00 開会の辞……………特定非営利活動法人 日本歯科保存学会春季学術大会
大会長 桃井保子
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
9：00～10：00 評議員会・総会・授賞式
10：10～11：00 研究発表

座長 野田 守（岩医大歯）

A1-1010.（修復） ムタナーゼとデキストラナーゼからなるキメラ酵素作製とその性状
【3104】 ……………○大塚良子，桃井保子（鶴大歯・保存修復）
今井 奨，花田信弘（鶴大歯・探索歯学）
A2-1020.（歯内） *Porphyromonas gingivalis* のバイオフィルム形成におけるプロテアーゼの役割
【2503】 ……………○山口幹代，野杵由一郎，朝日陽子，前菌葉月，山本れいこ，呉本勝隆，
林 美加子，恵比須繁之（阪大院歯・感染制御（保存））
A3-1030.（修復） マイクロコスモバイオフィルムによる *in vitro* 表層下脱灰病巣モデルの確立
【2501】 ……………○富山 潔，向井義晴，椎谷 亨，寺中敏夫（神歯大・保存）
熊田秀文，渡辺清子，浜田信城（神歯大・微生物）

座長 寺中敏夫（神歯大）

A4-1040.（修復） 再石灰化されたエナメル質表層下脱灰層を再度脱灰したときの性状変化に関する研究
【2501】 ……………○林 真希，村上景子，堀江 卓，富士谷盛興，千田 彰（愛院大歯・保存修復）
A5-1050.（修復） クロルヘキシジン配合セルフエッチングアドヒーズの *Streptococcus mutans* に
【2603】 対する抗菌性
……………○森本紗也子，西谷佳浩，星加知宏，吉山昌宏（岡大院医歯薬・保存修復）

11：00～11：10 休憩

11：10～12：10 特別講演 I

12：10～12：30 休憩

12：30～13：30 ランチョンセミナー 1（F 会場にて）

12：30～13：30 ランチョンセミナー 2（C 会場にて）

12：30～13：30 ランチョンセミナー 3（E 会場にて）

12：30～13：30 ランチョンセミナー 4（B 会場にて）

12：30～13：30 ランチョンセミナー 5（D 会場にて）

第1日目 A会場

- 13：30～13：50 休憩
- 13：50～15：20 特別講演Ⅱ
- 15：20～15：30 休憩
- 15：30～17：00 認定研修会
- 17：00～17：30 休憩
- 17：30～19：30 会員懇親会（B会場にて）

第1日目 6月28日(木) B会場(会議棟A・会議室A1)

9:00~10:00 評議員会・総会・授賞式(A会場にて)

10:10~11:00 研究発表

座長 須田英明(東医歯大院)

- B1-1010. (その他) ルシフェラーゼレポーターアッセイによるレジンモノマー解毒代謝応答の評価
 【3102】○折本 愛, 中村 洋(愛院大歯・歯内治療)
 鈴木崇弘, 金森孝雄(愛院大歯・生化学)
 上野温子(愛院大歯・高齢者歯科)
 河合達志(愛院大歯・歯科理工)
- B2-1020. (修復) ラット歯髄細胞における β -cateninによるectodin発現と象牙芽細胞分化について
 【2201】○門倉弘志, 横瀬敏志(奥羽大歯・修復)
- B3-1030. (歯内) FGF-2によるKN-3細胞の象牙芽細胞分化メカニズムの解析
 【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)

座長 石井信之(神歯大)

- B4-1040. (歯内) ヒト歯髄細胞培養系においてアナンダマイドはCannabinoid-1 receptor, Transient
 【2503】 Receptor Potential Vanilloid-1を介してMMP-2産生を誘導する
○宮下桂子, 小山 徹, 作田哲也, 森元陽子, 藤澤真理,
 徳田雅行, 鳥居光男(鹿大院医歯・修復歯内)
- B5-1050. (歯内) 骨芽細胞培養系におけるフィッシュコラーゲンペプチドのコラーゲンの質と
 【2503】 石灰化に及ぼす影響
○山田志津香(長大院医歯薬・齶蝕, NC Oral Health Institute, School of Dentistry,
 University of North Carolina at Chapel Hill)
 長岡秀明, 寺嶋雅彦, 山内三男(NC Oral Health Institute, School of Dentistry,
 University of North Carolina at Chapel Hill)
 津田信明(長大・産学官連携戦略本部共同研究支援部門先端科学支援室)
 林 善彦(長大院医歯薬・齶蝕)

- 11:10~12:10 特別講演I(A会場にて)
- 12:30~13:30 ランチョンセミナー1(F会場にて)
- 12:30~13:30 ランチョンセミナー2(C会場にて)
- 12:30~13:30 ランチョンセミナー3(E会場にて)
- 12:30~13:30 ランチョンセミナー4
- 12:30~13:30 ランチョンセミナー5(D会場にて)
- 13:50~15:20 特別講演II(A会場にて)
- 15:30~17:00 認定研修会(A会場にて)
- 17:30~19:30 会員懇親会

第2日目 A会場

第2日目 6月29日(金) A会場(劇場)

- 9:00~10:20 ポスター発表(ポスター会場にて)
10:20~10:30 休憩
10:30~12:00 特別講演Ⅲ
12:00~12:10 休憩
12:10~13:00 シンポジウム
13:00~14:00 休憩
14:00~17:50 研究発表

座長 川浪雅光(北大院歯)

- A6-1400. (歯内) 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
【2503】○飯久保正弘, 下里 舞, 佐藤しづ子, 笹野高嗣(東北大院歯・診断)
- A7-1410. (歯内) 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
【2205】○池田英治, 李 穎, 須田英明(東医歯大院・歯髄生物)
- A8-1420. (歯内) 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
【2503】○武藤徳子, 渡部弘隆, 佐藤武則, 石井信之(神歯大・歯内)
大島勇人(新大院医歯・硬組織形態)

座長 荒木孝二(東医歯大院)

- A9-1430. (修復) 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
【2603】○平 賢久(日歯大新潟・総合診療)
鈴木雅也, 加藤千景, 新海航一(日歯大新潟・保存Ⅱ)
加藤喜郎(日歯大)
- A10-1440. (歯内) ラット海馬における歯髄刺激時のATP遊離動態について
【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)
- A11-1450. (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 第二報
.....○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)

15:00~15:10 休憩

座長 五十嵐 勝(日歯大新潟)

- A12-1510. (歯内) 根管内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
【2503】○古畑和人, 和達礼子, 小林千尋, 須田英明(東医歯大院・歯髄生物)
若林則幸(東医歯大院・部分床義歯補綴)
- A13-1520. (歯内) Er:YAGレーザー照射による逆根管充填窩洞のスミヤー層除去
【2503】○渡辺 聡, 東 春生, 石澤千鶴子, 安生智郎, 海老原 新,
須田英明(東医歯大院・歯髄生物)
- A14-1530. (歯内) 超音波チップによる破折ファイルの除去法
【2503】○明石俊和, 勝呂 尚, 小木曾文内(日大歯・歯内療法)
武市 収(日大歯・総合歯学研究所・高度先端医療)

座長 北村知昭 (九歯大)

- A15-1540. (歯内) 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
 【2503】○松田浩一郎, 山田理絵 (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)
- A16-1550. (歯内) Deflecting Load Change of Nickel Titanium Rotary Instruments During Cyclic Fatigue Test
 【2503】○Jamleh Ahmed, Kobayashi Chihiro, Ebihara Arata, Suda Hideaki
 (Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
 Tokyo Medical and Dental University)
 Yahata Yoshio (Department of Endodontics, Faculty of Dentistry, Showa University)
- A17-1600. (歯内) 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
 【2503】○宮良香菜, 海老原 新, 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
 八幡祥生 (昭歯大・歯内)
 塙 隆夫 (東医歯大・生体材料工学研究所・金属材料)

16:10~16:20 休憩

座長 中村 洋 (愛院歯大)

- A18-1620. (その他) 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—
 【3002】○山田満憲 (譽会)
- A19-1630. (歯内) *Treponema denticola* の solute-binding protein の解析
 【2203】○浅井知宏, 藤井理絵, 堀内 章, 額賀智之, 森永一喜 (東歯大・保存)
 石原和幸 (東歯大・微生物)
- A20-1640. (その他) *Streptococcus mutans* の酸化ストレス耐性機構の解析
 【2203】○藤島 慶, 徳田雅行, 鳥居光男 (鹿大院医歯・修復歯内)

座長 西谷佳浩 (岡大院医歯薬)

- A21-1650. (歯内) テーパーリング プレパレーションの細菌学的研究
 【2503】○紅林尚樹 (くればやし歯科医院)
- A22-1700. (修復) カリオテスターによる初期エナメル質う蝕の評価
 【2501】○清水明彦 (兵医大・歯科口腔外科)
- A23-1710. (その他) 新開発の高解像度 QLF 装置の緑色蛍光測定特性
 【3101】○稲葉大輔 (岩医歯大・口腔保健)

17:20~17:30 休憩

座長 斎藤隆史 (北医歯大)

- A24-1730. (修復) 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
 【2299】○古谷 優, 武田侑子, 林 美加子, 恵比須繁之 (阪大院歯・感染制御 (保存))
 和田陽子, 辻本恭久 (日大松戸歯・歯内)
- A25-1740. (修復) 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
 【2502】○杉崎順平, 陶山雄司, 森上 誠, 宇野 滋, 山田敏元 (虎の門病院・歯科)
- 17:50 閉会の辞 (B会場にて)

第2日目 B会場

第2日目 6月29日(金) B会場(会議棟A・会議室A1)

- 9:00~10:20 ポスター発表(ポスター会場にて)
10:30~12:00 特別講演Ⅲ(A会場にて)
12:10~13:00 シンポジウム(A会場にて)
14:00~17:50 研究発表

座長 興地隆史(新大院医歯)

- B6-1400. (修復) エナメル質表層部の POs-Ca ならびに POs-Ca+F による再石灰化:
【3001】 ナノインデンテーション及び SS-OCT による評価
.....○マンドウラ モナ(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE, サウジアラビア衛生省)
サダル アリレザ, 田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
北迫勇一, 中嶋省志, 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)
田中智子(江崎グリコ(株)・健康科学研究所)
- B7-1410. (修復) PRG バリアコートの人工齲蝕乳歯エナメル質に対する齲蝕抑制効果
【3102】○細矢由美子(長大院医歯薬・小児歯科)
安藤 進, 古宅真由美, 宮崎真至(日大歯・保存修復)
- B8-1420. (修復) フッ化物含有コート材の象牙質における根面う蝕の抑制効果について
【3001】○太嶋恵美, 矢作智花, 二階堂 徹(東医歯大院・う蝕制御)
半場秀典, 田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)

座長 千田 彰(愛院大歯)

- B9-1430. (修復) 非う蝕性歯頸部欠損の SS-OCT による断層画像観察
【2501】○和田郁美, 島田康史, 中嶋省志(東医歯大院・う蝕制御)
サダル アリレザ, 田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
角 保徳(国立長寿医療研究センター)
- B10-1440. (修復) 象牙細管の走行が OCT イメージ像に及ぼす影響
【2304】○島村 穰, 飯野正義, 村山良介, 鈴木英梨子(日大歯・保存修復)
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)
釜口昌平, 三畑幸則((株)モリタ東京製作所)
青島 裕(青島歯科医院)
- B11-1450. (修復) OCT を用いた二級コンポジットレジン修復の適合性の評価
【2604】○バクシュ ターキ, トルクスタニ アラー(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE,
キングアブドゥル・アズィーズ大)
サダル アリレザ, 田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
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)

15:00~15:10 休憩

座長 松尾敬志 (徳大院)

- B12-1510. (修復) OCTを用いたレジンインレーの適合性とレジンコーティングの有効性の評価
【3102】
.....○トルキスタニ アラー (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE,
キングアブドゥル・アズィーズ大)
サダル アリレザ, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
島田康史 (東医歯大院・う蝕制御)
マンドウラ モナ (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE, サウジアラビア衛生省)
角 保徳 (国立長寿医療研究センター)

- B13-1520. (修復) S-PRG フィラー含有率の変化によるコンポジットレジンへの各種唾液タンパク吸着と
【2603】 抗菌活性
.....○田村大輔, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))

- B14-1530. (修復) コンポジットレジンの研磨法がその表面自由エネルギーと着色性に及ぼす影響
【2603】
.....○大塚詠一朗, 清水裕亮, 辻本暁正, 利根川雅佳, 砂田識敦 (日大歯・保存修復)
高見澤俊樹, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
宮 直利 (横須賀共済病院)

座長 真鍋厚史 (昭大歯)

- B15-1540. (修復) セラミックスの表面処理が表面自由エネルギーおよびレジンセメントとの接着性に及ぼす影響
【0413】
.....○辻本暁正, 川本 諒, 市野 翔, 生形奈緒子 (日大歯・保存修復)
高見澤俊樹, 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)
藤井清一 (日大歯・保存修復, 愛誠病院)

- B16-1550. (修復) コンポジットレジン修復物のカメレオン効果に及ぼす歯牙の加齢変化による影響について
【2605】
.....○田中 梓, 中島正俊 (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)

- B17-1600. (修復) 複合ストレス負荷・非負荷条件下における新規汎用性オールインワン接着システムの
【2604】 歯頸部接着信頼性
.....○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・修復学生体材料)

16:10~16:20 休憩

座長 池見宅司 (日大松戸歯)

- B18-1620. (修復) 2ステップセルフエッチング接着システムにおけるボンド中のMDPの役割
【2604】
.....○松井七生子, 高垣智博, 二階堂 徹 (東医歯大院・う蝕制御)
池田正臣 (東医歯大歯・口腔臨床科学)
田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)

- B19-1630. (修復) セルフエッチングプライマーおよびリン酸エッチングを採用したシーラント材の
【2604】 牛歯エナメル質への接着性
.....○糸田俊之 (いとた歯科医院)
大前正範 (北歯科医院)
中塚稔之 ((株)松風)

第2日目 B会場

B20-1640. (修復) ワンボトルワンステップボンディングシステムに関する研究
【2604】 —ボンディング材の塗布量が接着強さに与える影響—
.....○松田有之, 谷本啓彰, 野津繁生, 吉原正晃, 大前正範,
岩本圭司, 吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)

座長 福島正義 (新大院医歯)

B21-1650. (修復) 象牙質に対するセルフアドヒーシブセメントの接着耐久性
【2604】○陶山雄司 (虎の門病院・歯科, Leuven BIOMAT Research Cluster,
Catholic University of Leuven)
森上 誠, 杉崎順平, 宇野 滋, 山田敏元 (虎の門病院・歯科)
Van Meerbeek Bart (Leuven BIOMAT Research Cluster, Catholic University of Leuven)

B22-1700. (修復) 動的荷重因子が被根管処置レジンコア併用コンポジットレジン2級修復歯の
【2603】 象牙質接着強さに及ぼす影響
.....○小川信太郎, 前野雅彦, 秋山沙絵子, 原 学, 山田 正,
柵木寿男, 奈良陽一郎, 勝海一郎 (日歯大・保存)

B23-1710. (修復) 各種レジンセメントを応用したポストの維持力
【2604】○副島寛貴, 河田英司, 小田 豊 (東歯大・歯科理工)

17:20~17:30 休憩

座長 寺下正道 (九歯大)

B24-1730. (修復) S-PRG フィラー配合試作レジンセメントの機械的性質
【2604】○塩出信太郎, 山路公造, 西谷佳浩, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
入江正郎 (岡大院医歯薬・生体材料)

B25-1740. (修復) 各種自己接着性レジンセメントのCAD/CAM マシーナブルセラミック介在下における
【2604】 硬化度の検討
.....○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)
風間龍之輔 (東医歯大院・部分床義歯補綴)
石崎裕子 (新大歯・総合診療)
渡邊孝一 (新大院医歯・生体材料)
福島正義 (新大院医歯・口腔保健)

17:50 閉会の辞

第2日目 6月29日(金) C会場(会議棟B・会議室B1)

9:00~10:20 ポスター発表(ポスター会場にて)

10:30~12:00 特別講演Ⅲ(A会場にて)

12:10~13:00 シンポジウム(A会場にて)

14:00~17:00 研究発表

座長 栗原英見(広大院医歯薬)

C1-1400. (その他) マウス顎下腺上皮細胞の細胞外液性因子がiPS細胞に与える影響
 【3199】○池田淳史, 山口知子, 峯柴 史, 前田博史, 高柴正悟(岡大院医歯薬・歯周病態)

峯柴淳二(岡大病院・歯周科)

C2-1410. (その他) マウスiPS細胞の低酸素下培養におけるHIF(Hypoxia Inducible Factor)の役割
 【2599】○杉本浩司, 吉澤 祐, 石崎秀隆, 林 善彦(長大院医歯薬・齲蝕)

C3-1420. (歯周) Toll-Like Receptor 4発現におけるTLR4遺伝子3'側非翻訳領域の
 【2504】 一塩基多型rs11536889の役割

.....○佐藤佳昌, 吉村篤利, 金子高士, 岸本隆明, 原 宜興(長大院医歯薬・歯周)
 松村浩禎, 小方頼昌(日大松戸歯・歯周治療学)

座長 吉成伸夫(松歯大)

C4-1430. (歯周) TNF- α とIL-4刺激が誘導するヒト歯肉線維芽細胞のCCL11産生に及ぼす
 【2504】 緑茶カテキンの影響

.....○細川義隆, 中西 正, 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)

C5-1440. (歯周) ヒト歯肉線維芽細胞におけるカベオリン-1を標的としたIL-6誘導性の
 【2504】 リソソーム酵素カテプシンBとL分泌の抑制制御

.....○後藤絢香, 山口知子, 大森一弘, 小林寛也, 前田博史,
 高柴正悟(岡大院医歯薬・歯周病態)

成石浩司(岩医大歯・口腔機能保存)

C6-1450. (歯周) 誘電体バリア放電低温大気圧マイクロプラズマ照射がヒト歯肉線維芽細胞に与える影響
 【3199】○高橋亮一, 沼部幸博(日歯大・歯周病)

15:00~15:10 休憩

座長 佐藤 聡(日歯大新潟)

C7-1510. (歯周) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*のouter membrane protein-29は
 【2504】 ヒト歯肉上皮細胞においてsmad2を介してアポトーシスシグナルを誘導し,
 E-cadherinの発現を減少させる

.....○吉本哲也, 藤田 剛, 應原一久, 内田雄士, 松田真司, 宮川剛史, 今井遙香,
 柴 秀樹, 河口浩之, 栗原英見(広大院医歯薬・歯周病態)

C8-1520. (その他) 歯髓細胞のマーカー遺伝子の探索
 【2206】○藤井紗貴子, 尾田 良, 西村英紀(広大院医歯薬・健康増進)

第2日目 C会場

C9-1530. (歯周) Sema 3A がヒト歯根膜細胞の幹細胞/未分化細胞誘導に及ぼす影響
【2504】○和田尚久, 前田英史 (九大病院・歯内)
長谷川大学, 山本直秀, 友清 淳, 門野内 聡 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存))
藤井慎介 (阪大院医・分子病態生化学)
赤峰昭文 (九大病院・歯内, 九大院歯・口腔機能 (歯科保存))

座長 伊藤公一 (日大歯)

C10-1540. (歯周) 低出力半導体レーザー照射が培養ヒト歯肉上皮細胞に及ぼす効果
【2504】○江尻健一郎, 青木 章 (東医歯大院・歯周病)
山口洋子 (日大歯・生化学)
大島光宏 (奥羽大薬・生化学)
和泉雄一 (東医歯大院・歯周病, 歯と骨の GCOE)

C11-1550. (歯周) 断眠による疲労はラットの実験的歯周炎による骨吸収量を増加させる
【2504】○中田智之, 沼部幸博 (日歯大・歯周病)

C12-1600. (歯周) β -TCP 含有ゼラチンハイドロゲルを用いた歯周組織再生イヌ上顎根分岐部骨欠損における
【2504】 組織学的評価—a pilot study—
.....○星 嵩, 秋月達也, 松浦孝典, 今村亮祐 (東医歯大院・歯周病)
小田 茂 (東医歯大院・総合診療部)
松井 誠, 田畑泰彦 (京大・再生医科学研究所・生体材料)
和泉雄一 (東医歯大院・歯周病, 歯と骨の GCOE)

16:10~16:20 休憩

座長 高柴正悟 (岡大院医歯薬)

C13-1620. (歯周) ランダムトンネル型 β -TCP を用いた歯周組織再生
【2504】 —イヌ下顎 1 壁性骨欠損における組織学的評価—
.....○松浦孝典, 秋月達也, 星 嵩, 井川貴博 (東医歯大院・歯周病)
木下淳博, 須永昌代 (東医歯大・図書館情報メディア機構・教育メディア開発)
木村満利子 ((株)パイロットコーポレーション)
久保木芳徳 (北大院歯)
和泉雄一 (東医歯大院・歯周病, 歯と骨の GCOE)

C14-1630. (歯周) スフィンゴシン-1-リン酸は骨芽細胞において Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を
【2504】 活性化する
.....○松崎英津子, 平塚俊志, 濱地貴文, 小林茉莉, 橋本陽子,
前田勝正 (九大院歯・口腔機能 (歯周))

C15-1640. (歯周) ダイオキシン関連物質がヒト歯根膜細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響
【2504】○門野内 聡, 友清 淳, 郡 勝明, 山本直秀,
寺松陽子 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存))
前田英史, 和田尚久, 河野清美 (九大病院・歯内)
赤峰昭文 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存), 九大病院・歯内)

C16-1650. (歯周) ラット骨芽細胞の分化発現に及ぼす最終糖化産物及びリポ多糖の影響
【2404】 ...○坂本英次郎, 美原智恵, 生田貴久, 稲垣裕司, 木戸淳一, 永田俊彦 (徳大院・歯周歯内)
17:50 閉会の辞 (B会場にて)

第1日目 6月28日(木), 第2日目 29日(金) ポスター会場(展示場)

6月28日 8:00~9:00 ポスター準備
 9:00~17:00 ポスター掲示
 6月29日 8:00~9:00 ポスター掲示
 9:00~10:20 ポスター発表
 10:20~13:00 ポスター掲示
 13:00~14:00 ポスター撤去

- P1. (歯周) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* および抗菌薬添加がヒト歯肉上皮細胞の
 【2206】 細胞接着因子に及ぼす影響
○高知信介, 山城圭介, 山本直史, 本郷昌一, 下江正幸, 鶴川祐樹,
 前田博史, 高柴正悟(岡大院医歯薬・歯周病態)
 富川和哉(岡大院医歯薬・歯周病態, 九大病院・口腔総合診療科)
- P2. (歯周) 塩化亜鉛曝露による口腔細菌構成の変化
 【3001】○鈴木奈央, 畑野優子, 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)
 米田雅裕(福歯大・口腔医療センター)
- P3. (歯周) 光誘導蛍光システムによる口腔内細菌の評価
 【2002】○伊佐津克彦, 國井麻依子, 高島英利, 長谷川篤司(昭大歯・総合診療歯科)
- P4. (歯周) *Lactobacillus salivarius* WB21 株配合錠菓の口臭抑制効果についての臨床研究
 【3001】 -ランダム化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験-
○藤本暁江, 鈴木奈央, 山田和彦, 岩元知之, 梶尾陽介,
 伊波幸作, 廣藤卓雄(福歯大・総合歯科)
 米田雅裕(福歯大・口腔医療センター)
 田邊一成(たなべ保存歯科)
- P5. (歯周) 口臭関連細菌に対する銀コロイドの効果
 【2203】○織田洋武, 坪川瑞樹, 佐藤 聡(日歯大新潟・歯周病)
 玉澤 賢(玉澤歯科医院)
 堀内健次(アサヒバイオフーズ(株))
 鴨井久博(日医大千葉北総病院・歯科)
 中島 茂(中島歯科医院)
- P6. (歯周) 口腔内歯周病原細菌および病的口臭に対する
 【3002】 BFR(ブラッシング+フロッシング+リンス)の効果
○藤岡陽介, 両角俊哉, 久保田健彦, 吉江弘正(新大院医歯・歯周)
- P7. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* によるヒト歯肉上皮細胞からの interleukin-33 発現誘導
 【2203】○多田浩之, 松下健二(国立長寿医療研究センター・口腔疾患研究部)
 島内英俊(東北大院歯・歯内歯周)
- P8. (歯周) ニコチンが破骨細胞の分化と無機質溶解に及ぼす影響について
 【2206】○田中秀樹(日大歯・衛生)
 田邊奈津子, 川戸貴行, 前野正夫(日大歯・衛生, 総合歯学研究所・機能形態)
 中井久美子(日大院歯)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P9. (歯周) スフィンゴシン-1-リン酸がヒト歯肉上皮細胞の炎症反応に及ぼす影響
 【2504】○三木康史, 柳田 学, 森 健太, 久保田実木子, 伊山舜吉, 竹立匡秀,
 山下元三, 山田 聡, 北村正博, 村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P10. (歯周) 培養歯根膜由来上皮-間葉間相互作用によるマラッセの上皮遺残細胞のアポトーシス誘導
 【2504】○王 鋭, 下西 充, 遠藤直樹, 高橋 健, 渡辺弘淳,
 齊藤 修 (東北大病院・総合歯科診療部)
- P11. (歯周) 羊膜上培養歯髓由来細胞シートの免疫組織化学的検討
 【2299】○山本俊郎, 赤松佑紀, 足立圭司, 大迫文重, 雨宮 傑,
 金村成智 (京府医大院医・歯科口腔科学)
 本城賢一, 市岡宏顕, 山本健太 (京府医大院医・歯科口腔科学, 免疫学)
 喜多正和 (京府医大院医・免疫学)
- P12. (歯周) ヒト歯肉上皮細胞における interleukin (IL)-17 と IL-17 受容体の発現
 【2504】○宮内小百合 (新大研究推進機構超域学術院, 新大院医歯・歯周, 口腔保健)
 本田朋之, 奥井隆文 (新大研究推進機構超域学術院, 新大院医歯・歯周)
 中島貴子 (新大研究推進機構超域学術院, 新大歯・総合診療)
 多部田康一 (新大研究推進機構超域学術院)
 山崎和久 (新大研究推進機構超域学術院, 新大院医歯・口腔保健)
- P13. (歯周) ヒト歯肉線維芽細胞における TNF- α 誘導性の MMP-1 産生に対するインクレチン関連薬の
 【2402】 影響
○徳田雅行, 作田哲也, 小山 徹, 梶原武弘, 達山祥子, 川上克子, 森元陽子,
 江本真規子, 藤澤真理, 宮下桂子, 藤島 慶, 鳥居光男 (鹿大院医歯・修復歯内)
- P14. (歯周) TNF- α は歯肉上皮細胞において TNF I 型受容体-PKA シグナリングを介して
 【2206】 RANKL 発現を誘導する
○藤原亮一, 白井通彦, 西井浩介, 塚本康巳, 山本松男 (昭大歯・歯周病)
- P15. (歯周) 歯根膜細胞の石灰化過程における TGF- β 誘導性の I 型コラーゲン代謝機構
 【2504】○河原貴展, 山下元三, 梶川哲宏, 前田憲一郎, 北垣次郎太, 山田 聡,
 北村正博, 村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P16. (歯周) ヒト歯根膜細胞の増殖, 接着, 遊走能に対する EMD 由来合成ペプチドの影響
 【2504】○高橋宰達, 田口洋一郎, 安井菜津希, 奥田麻貴子, 梅田 誠 (大歯大・歯周病)
 富永和也, 田中昭男 (大歯大・口腔病理)
 小正 聡 (大歯大)
- P17. (歯周) 羊膜上培養ヒト歯根膜由来細胞による歯周組織再生に関する検討
 【2504】○熊本園子, 雨宮 傑, 本城賢一, 足立圭司, 西垣 勝, 大迫文重, 山本俊郎,
 金村成智 (京府医大院医・歯科口腔科学)
- P18. (歯周) ラット白歯根発生過程における, 咬合によるヘルトヴィッヒの上皮鞘細胞数の変化
 【2201】○中曽根直弘, 石田光平, 横山智子, 岡田 萌, 小松康高, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
- P19. (歯周) 歯周骨欠損部に移植した培養ヒト歯髓細胞の組織学的評価
 【2504】○保母浩児, 金指幹元, 五味一博 (鶴大歯・歯周病)

- P20. (歯周) 内側性骨欠損の血管新生および骨再生に対する bFGF の効果
 【2504】○木上理紗, 宇田川麻美, 土屋紀子, 吉巻友裕 (日大院歯・応用口腔科学)
 佐藤秀一, 伊藤公一 (日大歯・歯周病, 総合歯学研究所・高度先端医療)
 汐見 登 (日大歯・歯周病)
 新井嘉則 (日大歯)
- P21. (歯周) ヒト歯根膜由来細胞群および FGF-2 と BMP-2 との併用による組織再生
 【2504】○上與那原朝秀, 日高竜宏, 白井 要, 門 貴司,
 長澤敏行, 古市保志 (北医大歯・歯周歯内)
- P22. (歯周) 凍結乾燥多血小板血漿を含む創傷被覆材による創傷治癒促進効果
 【2504】○中島 悠 (新大院医歯・歯科基礎移植・再生, 歯周)
 川瀬知之 (新大院医歯・歯科基礎移植・再生)
 奥田一博, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
- P23. (歯周) Platelet-rich fibrin との複合化によるヒト培養骨膜シートの機能向上
 【2504】○堀水 慎, 久保田健彦, 奥田一博, 富田尊志, 両角俊哉, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
 川瀬知之 (新大院医歯・歯科基礎移植・再生)
- P24. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* 口腔感染マウスモデルにおける小胞体ストレスの誘導
 【2299】○土門久哲, 多部田康一 (新大研究推進機構超域学術院)
 宮内小百合, 宮沢春菜 (新大研究推進機構超域学術院, 新大院医歯・口腔保健, 歯周)
 中島貴子 (新大研究推進機構超域学術院, 新大歯・総合診療)
 山崎和久 (新大研究推進機構超域学術院, 新大院医歯・口腔保健)
- P25. (歯周) LPS の全身的な感作後の LPS 歯肉溝内投与はアタッチメントロスを誘導する
 【2504】○吉永泰周, 藏本明子, 鶴飼 孝, 金子高士, 原 宜興 (長大院医歯薬・歯周)
 中津 晋 (長大院医歯薬・歯周, 花王 (株)・パーソナルヘルスケア研究所)
 市村育久, 押野一志, 矢納義高 (花王 (株)・パーソナルヘルスケア研究所)
- P26. (歯周) 咬合性外傷は実験的歯周炎におけるアタッチメントロスを促進する
 【2202】○中津 晋 (長大院医歯薬・歯周, 花王 (株)・パーソナルヘルスケア研究所)
 吉永泰周, 吉永美穂, 白石千秋, 原 宜興 (長大院医歯薬・歯周)
 市村育久, 押野一志, 矢納義高 (花王 (株)・パーソナルヘルスケア研究所)
- P27. (歯周) 東日本大震災被災者の血圧および唾液アミラーゼ活性の変動
 【2402】○佐々木大輔, 村井 治, 藤原英明, 金澤智美, 大川義人, 伊東俊太郎, 諏訪 渚,
 阿部公人, 須和部京介, 成石浩司, 八重柏 隆 (岩医大歯・歯周・歯内)
- P28. (歯周) 電子スピン共鳴法を応用した唾液抗酸化作用による歯周病評価法の可能性
 【2302】○吉野文彦, 吉田彩佳, 李 昌一 (神歯大・薬理)
- P29. (歯周) 歯周炎罹患部位歯肉組織における toll-like receptor signaling pathway 関連遺伝子の上昇
 【2504】○阿部大輔, 久保田健彦, 両角俊哉, 中曾根直弘,
 清水太郎, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
- P30. (歯周) シリコンゴム歯間ブラシのプラーク除去効果
 【3002】○両角祐子, 佐藤 聡 (日歯大新潟・歯周病)
 宮崎晶子, 土田智子, 筒井紀子, 原田志保, 菊地ひとみ (日歯大新潟短大)
 高塩智子 (日歯大新潟・総合診療)
 今出昌一, 佐野 晃 ((株) ジャックス)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P31. (歯周) 航空自衛隊大滝根山分屯基地における口腔衛生指導
【3302】○車田文雄, 長岡正博, 廣瀬公治 (奥羽大歯・口腔衛生)
- P32. (歯周) 培養骨膜シートを用いた歯周組織再生療法の5年予後
【2504】○奥田一博, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
川瀬知之 (新大院医歯・歯科基礎移植・再生)
- P33. (歯周) 骨縁下欠損に対するエナメルマトリックスタンパク質を応用した
【2504】 歯周組織再生療法5年経過症例の臨床的検討
.....○三谷章雄, 高須英成, 伊藤正満, 川瀬仁史, 相野 誠, 林 潤一郎, 稲垣幸司,
黒須康成, 三輪晃資, 石原裕一, 福田光男, 野口俊英 (愛院大歯・歯周病)
吉成伸夫 (松歯大・保存I)
- P34. (歯周) 上顎洞底に近接した部位における歯の移植症例
【2505】○武藤昭紀, 窪川恵太, 海瀬聖仁, 三木 学, 佐藤徳志, 吉成伸夫 (松歯大・保存I)
内山真紀子, 山本昭夫 (松歯大・保存II)
内田啓一, 田口 明 (松歯大・歯科放射線)
- P35. (歯周) 糖尿病患者の歯周病罹患状態と糖尿病合併症との関係
【2402】○太田淳也, 深谷千絵, 笠井俊輔, 赤松真也子, 森川 暁,
穂坂康朗, 中川種昭 (慶應大医・歯科・口腔外科)
田子森順子, 江口 徹 (サンスター (株))
- P36. (歯内) α -TCP/Te-CP セメントの覆髄剤への応用
【2503】 2) セメント硬化体のエックス線回析及びSEMによる評価
.....○武田進平, 河野 哲, 神山智佳子, 長谷川智哉,
吉田隆一 (朝日大歯・口腔機能 (保存))
土井 豊 (朝日大歯・口腔機能 (歯科理工))
- P37. (歯内) ラット白歯における Mineral Trioxide Aggregate による直接覆髄後の
【2503】 マクロファージ系細胞の動態解析
.....○武井絵梨花, 重谷佳見, 吉羽邦彦, 日向 剛, 吉羽永子, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P38. (歯内) Mineral Trioxide Aggregate に多血小板血漿を併用した直接覆髄法による歯髄組織反応と
【2503】 早期治癒の可能性
.....○山田麻衣子, 関根源太, 森 春菜, 堀 雅晴, 長谷川智哉,
吉田隆一 (朝日大歯・口腔機能 (保存))
- P39. (歯内) MTA の硬化と裏層剤と接着について
【2503】○大塚玲美, 増田宜子, 山田嘉重, 高林正行 (昭大歯病院・歯内治療科)
宮崎 隆 (昭大歯・歯科理工)
- P40. (歯内) MTA と各種ボンディング剤を用いたコンポジットレジンとの接着について
【2503】○高林正行, 増田宜子, 山田嘉重, 大塚玲美 (昭大歯病院・歯内治療科)
宮崎 隆 (昭大歯・歯科理工)
- P41. (歯内) 試作 MTA とフロアブルコンポジットとの接合性
【2503】○辻本真規, 林 善彦 (長大院医歯薬・齶蝕)
エイド・アシュラフ, 渡邊郁哉 (長大院医歯薬・生体材料)
- P42. (歯内) 強化型酸化亜鉛ユーージノールセメントの粉液比が逆根管充填の封鎖性に及ぼす影響
【2503】○湯本琴美, 吉田拓正, 鈴木一範, 堀井皓典, 森戸亮行,
甲田 智, 細矢哲康 (鶴大歯・歯内療法)

- P43. (歯内) 酸化亜鉛ユージノール系シーラーのレジン重合阻害に関する研究
 【2503】 —未重合レジンの分子構造解析—
○鈴木二郎, 石井信之 (神歯大・歯内)
 岡田周策, 田中隆博, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
- P44. (歯内) 粉液比がオレイン酸, ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした
 【2503】 新規根管充填用シーラーの物性に及ぼす影響
○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)
- P45. (歯内) 酸化マグネシウムを基材とする根管シーラーに対する生物学的検討
 【2503】○山村啓介, 齋藤健介, 小林鉄也, 森永一喜 (東歯大・保存)
- P46. (歯内) 化学的表面処理後の根管象牙質とスーパーボンド根充シーラーの接着
 【2503】○本間啓史, 菅谷 勉, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
- P47. (歯内) 生理食塩水による各種根管充填シーラーの表面形態変化の観察
 【2503】○川島 正, 馬場俊晃, 上田幾大, 富田 敬, 三浦孝司,
 辻本恭久, 松島 潔 (日大松戸歯・歯内)
- P48. (歯内) 形状記憶ポリマーの根管充填材への応用—2次元軸対称有限要素法による応力解析—
 【2503】○金丸憲一, 塚田岳司, 徳田雅行, 鳥居光男 (鹿大医・歯病院・保存科)
 久保翔平, 川崎俊明, 加藤龍蔵 (鹿大院理工・情報生体システム工学)
- P49. (歯内) 根管形成用ファイル試験機を使用した GT Series X Rotary File の使用回数による比較
 【2503】○吉澤佑世, 月野和 隆, 山田雅司, 間 奈津子, 森永一喜 (東歯大・保存)
- P50. (歯内) GT Series X Rotary File を用いた根管形成用ファイル試験機の評価
 【2503】○月野和 隆, 吉澤佑世, 山田雅司, 森永一喜 (東歯大・保存)
- P51. (歯内) バイオフィルム形成 *Streptococcus intermedius* のゲノム解析
 【2203】○山根一芳, 山中武志, 真下千穂, 南部隆之, 円山由郷, 福島久典 (大歯大・細菌)
 吉田匡宏, 林 宏行 (大歯大・口腔治療)
- P52. (歯内) 難治性根尖性歯周炎に関わるバイオフィルム構成細菌種と臨床症状との関係
 【2503】○藪根敏晃, 野村由一郎, 山本れいこ, 山口幹代, 朝日陽子, 前菌葉月, 永山智崇,
 呉本勝隆, 騎馬和歌子, 林 美加子, 恵比須繁之 (阪大院歯・感染制御 (保存))
- P53. (その他) 根尖性歯周炎病巣に認められる細菌の菌種間相互作用
 【2203】○堀内 章, 額賀智之, 浅井知宏 (東歯大・保存)
 石原和幸 (東歯大・微生物)
- P54. (歯内) イオン導入法における薬剤の抗菌効果と通電性に関する検討
 【2503】○加藤大輔, 小山隆夫, 前田伸子 (鶴大歯・口腔微生物)
- P55. (歯内) 次亜塩素酸電解水の細胞傷害性とその作用機序の解析
 【2503】○井出祐樹, 中村裕子, 小林健二, 小谷依子, 高橋哲哉 (明海大歯・歯内療法)
 梅村直己, 坂上 宏 (明海大歯・薬理)
 申 基喆 (明海大歯・歯内療法, 歯周病)
- P56. (歯内) 微酸性電解水の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果
 【2503】○池野正典, 中野雅子, 小澤寿子, 細矢哲康 (鶴大歯・歯内療法)
 高尾亜由子, 前田伸子 (鶴大歯・口腔微生物)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P57. (歯内) 生体に安全な薬剤と超音波洗浄を併用した時のスメア層除去効果の検討
 【2503】○鈴木重紀, 山田嘉重, 増田宜子 (昭大歯・歯内治療)
 宮崎 隆 (昭大歯・歯科理工)
- P58. (歯内) ウォータジェットポンプを用いたスミア層除去に関する検討
 【2503】○小倉陽子, 前田宗宏, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P59. (歯内) 薬液を応用した NiTi ファイル破折片の除去に関する研究
 【0410】 一薬液への間欠的な浸漬が腐食に及ぼす影響一
○高橋哲哉, 小林健二, 牛込瑛子, 小谷依子, 中村裕子 (明海大歯・歯内療法)
 申 基喆 (明海大歯・歯内療法, 歯周病)
- P60. (歯内) クエン酸溶液による超音波根管洗浄が水酸化カルシウム除去と根管充填シーラーの
 【2503】 接着に及ぼす影響
○鷺巣太郎, 菅谷 勉, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
- P61. (歯内) 歯科用マイクロスコープ光源が視覚機能に及ぼす影響
 【3102】○三橋 晃, 石井信之 (神歯大・歯内)
 小泉忠彦, 原 めぐみ (神歯大・横浜クリニック総合歯科)
 原 直人 (神歯大・横浜クリニック眼科)
- P62. (歯内) 東京歯科大学水道橋病院における歯科用マイクロスコープ使用の現状
 【2503】 一特に歯内療法処置について一
○古澤成博, 吉田 隆, 細川壮平 (東歯大・口健・総歯, 埼玉県立大・口腔保健科学)
 早川裕記, 大田 恵, 河野誠之 (東歯大・口健・総歯)
- P63. (歯内) OCT を用いた歯髄腔の観察
 【2304】○吉岡俊彦, 白金由紀子, 小松 恵, 石村 瞳, 海老原 新,
 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
- P64. (歯内) マイクロフォーカス X 線 CT 装置による下顎切歯根管形態の評価 (第 1 報)
 【2503】○西田太郎, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P65. (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 3 報)
 【2503】○天野亮子, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P66. (歯内) 歯科用コーンビーム CT 画像診断に苦慮した難治性根尖性歯周炎の一症例: 下顎骨隆起の影響
 【2503】○石塚恭子, 中田和彦, 柴田直樹, 今泉一郎, 中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
 内藤宗孝, 有地榮一郎 (愛院大歯・歯科放射線)
- P67. (その他) 歯科保存領域における Cone-Beam-CT による活用
 【2304】 一診断治療に有用であった 3 症例一
○河瀬雄治, 永沢 栄 (松歯大・歯科理工)
 内田啓一, 田口 明 (松歯大・歯科放射線)
 佐藤将洋, 山本昭夫, 笠原悦男 (松歯大・保存 II)
 西田英作, 窪川恵太, 武藤昭紀, 三木 学, 海瀬聖仁, 河合 悠,
 吉成伸夫 (松歯大・保存 I)
- P68. (歯内) 上顎洞底に大きな膨隆を伴う第一大臼歯の根尖病巣の一症例
 【2503】○塩沢恵美, 横山剛之, 江面 晃 (日歯大新潟病院)
 水沼秀樹 (水沼歯科医院)
- P69. (歯内) 下顎前歯部の広範囲に認められた歯根嚢胞の一症例
 【2705】○二宮雅美, 生田貴久, 永田俊彦 (徳大院・歯周歯内)

- P70. (歯内) 歯内歯 (Oehlers の分類 Type 3) と根末完成外傷歯にロールポイント法を応用した2症例
 【1199】○池永英彰, 三宅将太, 藤平智広, 畠 銀一郎, 林 宏行 (大歯大・口腔治療)
- P71. (歯内) 根管穿孔の処置に関する研究
 【2503】○山口博康, 矢作保澄, 市古敬史, 高水正明 (鶴大歯病院・総合歯科2)
 小林一行, 八島章博 (鶴大歯・歯周病)
- P72. (歯内) 歯内療法と三叉神経痛
 【2503】○磯田浩太, 北村和夫, 石井隆資, 山崎孝子, 阿川透久,
 清水章矢, 山添悠貴 (日歯大・総合診療)
 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P73. (歯内) 慢性根尖性歯周炎に起因した口腔顔面領域における疼痛異常の神経機構
 【2503】○清水康平, 林 誠, 小森規雄,
 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)
 矢崎直香 (日大歯・歯内療法)
- P74. (その他) ガッタパーチャ漏出液が好中球機能に及ぼす影響
 【2203】○葛城啓彰 (日歯大新潟・微生物)
 貝津 徹, 塩沢恵美, 江面 晃 (日歯大新潟・総合診療)
- P75. (歯内) CFA 誘導性歯髄炎により発症する舌の機械痛覚過敏に対する Toll-like Receptor 4 の関与
 【2503】○大原絹代, 清水康平, 武市 収, 鶴町 保,
 小木曾文内 (日大歯・歯内療法, 総合歯学研究所・機能形態)
 會田泰代 (日大歯・歯内療法)
- P76. (歯内) ブタ下顎第1後臼歯歯根形成初期の免疫組織学的観察
 【2503】○新井恭子, 北島佳代子, 五十嵐 勝 (日歯大新潟・保存I)
 山田理絵, 松田浩一郎 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)
- P77. (歯内) Dentin Sialophosphoprotein 機能領域同定を目的とした改変型組み換えタンパクの作製
 【3104】○小武家誠司, 鈴木茂樹, 西村英紀 (広大院医歯薬・健康増進)
- P78. (歯内) Expression of p38 MAP kinase family in the rat central nervous system is
 【2503】 regulated by signals from the tooth pulp
○ Chokechanachaisakul Uraivan (Pulp Biology and Endodontics, Graduate
 School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University)
 Kaneko Tomoatsu, Okiji Takashi (Division of Cariology, Operative Dentistry and
 Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences)
 Sunakawa Mitsuhiro (Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of
 Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,
 Clean Room, University Hospital, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical
 and Dental University)
 Suda Hideaki (Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical
 and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Global
 Center of Excellence (GCOE) Program ; International Research Center
 for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P79. (歯内)
【2503】 骨芽細胞様細胞の炎症応答において MTI-II が示す抗炎症作用の検討
.....○平田-土屋志津, 北村知昭 (九歯大・齲蝕制御)
岡本一起 (聖マリアンナ医大院・疾患プロテアソーム・分子病態治療学)
寺下正道 (九歯大・総合診療)
- P80. (歯内)
【2503】 キトサンの血管内皮細胞に及ぼす影響について
.....○亀田 歩, 増田宜子, 鈴木重紀 (昭大歯病院・歯内治療)
- P81. (歯内)
【2503】 歯根膜から得た上皮様細胞の幹細胞マーカー陽性 SP 分画細胞を用いた三次元培養の
免疫組織学的解析
.....○北島佳代子, 新井恭子, 五十嵐 勝 (日歯大新潟・保存 I)
山田理絵, 松田浩一郎 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)
- P82. (歯内)
【3103】 アルギン酸ナトリウム/リン酸カルシウム複合スポンジ状担体での骨髄幹細胞による
硬組織形成
.....○薮内崇督, 柿木栄幸, 辻 則正, 好川正孝, 林 宏行 (大歯大・口腔治療)
- P83. (歯内)
【2503】 アメロブラスチンの上皮細胞増殖に対する影響
.....○西藤法子, 鷺尾絢子, 北村知昭 (九歯大・齲蝕制御)
寺下正道 (九歯大・総合診療)
- P84. (歯内)
【3102】 実験的歯間分離によりマウスの歯髄に発現する硬組織関連因子
.....○佐藤将洋, 鍋山篤史, 山本昭夫, 笠原悦男 (松歯大・保存 II)
- P85. (歯内)
【2503】 ヒト歯髄培養細胞の Smads リン酸化における PGE₂ の影響
.....○安達泰佑, 岡部 達, 喜多詰規雄, 五味博之, 酒井きよ美 (日大松戸歯・歯内)
松島 潔 (日大松戸歯・歯内, 日大・口腔科学研究所)
- P86. (歯内)
【2503】 Prostaglandin F_{2α} は歯髄細胞における炎症メディエーター発現を調節する
.....○中西 正, 武川大輔, 平尾功治, 湯本浩通, 高橋加奈子, 松尾敬志 (徳大院・保存)
- P87. (歯内)
【2201】 象牙芽細胞分化過程における SUMO 化修飾因子と Osterix の局在
.....○細矢明宏, 中村浩彰 (松歯大・口腔解剖 2)
吉羽邦彦, 吉羽永子 (新大院医歯・う蝕)
笠原悦男 (松歯大・保存 II)
- P88. (歯内)
【2503】 熱刺激後に生存する象牙芽細胞様細胞は増殖能と基質形成能が亢進する
.....○諸富孝彦, 阿南 壽 (福歯大・修復・歯内)
北村知昭 (九歯大・齲蝕制御)
寺下正道 (九歯大・総合診療)
- P89. (歯内)
【2503】 血管内皮細胞と歯髄細胞の共培養がラット培養歯髄細胞の石灰化へ与える影響について
.....○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)
- P90. (歯内)
【2503】 イヌ抜髄モデルにおける歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療法の有効性試験
.....○庵原耕一郎, 中島美砂子 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部)
石坂 亮, 林 勇輝 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部,
愛院大歯・小児歯科)
堀部宏茂 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・顎口腔外科)
竹内教雄 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・歯内治療)
宮下俊郎 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 東北大院歯・顎口腔矯正)

- P91. (その他)
【3199】 シリコーン膜を用いた加圧刺激によるヒト歯髄細胞の象牙芽細胞への分化誘導
 …○宮下俊郎 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 東北大院歯・顎口腔矯正)
 村上真史, 庵原耕一郎, 中島美砂子 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部)
 山本照子 (東北大院歯・顎口腔矯正)
- P92. (その他)
【3199】 新規幹細胞分取法を用いたヒト歯髄幹細胞の特徴化と歯髄再生能
 …○村上真史, 庵原耕一郎, 中島美砂子 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部)
 堀部宏茂 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・顎口腔外科)
 石坂 亮, 林 勇輝 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部,
 愛院大歯・小児歯科)
 竹内教雄 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・歯内治療)
 栗田賢一 (愛院大歯・顎口腔外科)
 中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
- P93. (その他)
【3199】 新規幹細胞分取法を用いたイヌ歯髄幹細胞の特徴化
 ………○竹内教雄 (愛院大歯・歯内治療, 国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部)
 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・再生歯科医療研究部)
 堀部宏茂 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・顎口腔外科)
 中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
- P94. (その他)
【3199】 中高齢イヌにおける自家歯髄幹細胞移植による抜髄後歯髄再生
 …○堀部宏茂 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 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・再生歯科医療研究部)
 竹内教雄 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・歯内治療)
 石坂 亮, 林 勇輝 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部,
 愛院大歯・小児歯科)
 栗田賢一 (愛院大歯・顎口腔外科)
- P95. (その他)
【3199】 ブタ歯髄・骨髄・脂肪 CD31-SP 細胞異所性移植による再生歯髄組織の解析および
 歯髄再生に及ぼす根管内微小環境の影響
 ……………○林 勇輝, 石坂 亮 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部,
 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・再生歯科医療研究部)
 中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
 福田 理 (愛院大歯・小児歯科)
- P96. (歯内)
【2503】 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
 第2報: 細胞内小器官への分布状況
 ……………○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)
- P97. (その他)
【2901】 肝細胞による代謝活性を試みた *in vitro* 発生毒性試験法の開発
 ……………○今井弘一, 武田昭二 (大歯大・歯科理工)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P98. (その他) ヒト歯髄幹細胞の安全性試験
【3199】○山本 翼, 堀部宏茂 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・顎口腔外科)
庵原耕一郎, 大迫洋平, 中島美砂子 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部)
林 勇輝 (国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・小児歯科)
武井佳史 (名大院医・神経疾患・腫瘍分子医学研究センター)
栗田賢一 (愛院大歯・顎口腔外科)
中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
- P99. (その他) 心電図 R-R 間隔の周波数分析を用いたストレスモニタの有用性
【2401】○梅森 幸, 礪波健一 (東医歯大病院・歯科総合診療部)
新田 浩, 俣木志朗 (東医歯大院・歯科医療行動科学)
荒木孝二 (東医歯大・医歯学教育システム研究センター)
- P100. (その他) 局所通電ブラシ毛と抗菌性歯磨剤とによる歯垢成長阻止に関する研究
【3002】○埴岡 隆 (福歯大)
松尾忠行 (福岡医療短大)
永山正仁, 大塚理沙 (パナソニック (株)・アプライアンス社)
- P101. (その他) 口腔内カメラシステムと HMD の応用による DH 視覚強化の試み
【3101】○堀田理恵, 岩崎直子, 岩村康代, 中西久人, 中川寛一 (ホワイト歯科グループ熊本)
- P102. (その他) 他科入院患者の歯科口腔外科に対する院内紹介調査
【2599】○川北真貴子, 後藤由佳 (宇治徳洲会病院・歯科口腔外科)
松下雄亮, 大迫文重, 山本俊郎, 金村成智, 中村 亨 (宇治徳洲会病院・歯科口腔外科, 京府医大院医・歯科口腔科学)
- P103. (その他) 京都大学霊長類研究所のチンパンジー 11 個体の口腔健康状態について
【3099】○齋藤 渉, 菅原豊太郎, 山口貴央, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
小川 匠 (鶴大歯・クラウンブリッジ補綴)
花田信弘 (鶴大歯・探索歯学)
- P104. (修復) う蝕象牙質硬さ測定システムを用いた学生教育の試み
【2598】○日下部修介, 藤井和夫, 下出 輝, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
清水明彦 (兵医大・歯科口腔外科)
- P105. (修復) 保存修復学基礎実習における問題志向型教材の開発—教材の効果的な利用法の検討—
【2598】○泉川昌宣, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
小竹宏朋, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
谷本啓彰, 山本一世 (大歯大・保存)
高瀬保晶 (東歯大・総診)
米田雅裕 (福歯大・口腔医療センター)
泉 利雄 (福歯大・修復・歯内)
廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)
谷岡正行 ((株) ニッシン)
新谷英章 (広島歯科技術専門学校)

- P106. (修復)
【2598】 保存修復学基礎実習における問題志向型教材の開発
—1級コンポジットレジン・2級メタルインレー修復のトライアル—
.....○小竹宏朋, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
谷本啓彰, 山本一世 (大歯大・保存)
泉川昌宣, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
高瀬保晶 (東歯大・総診)
米田雅裕 (福歯大・口腔医療センター)
泉 利雄 (福歯大・修復・歯内)
廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)
谷岡正行 ((株) ニッシン)
新谷英章 (広島歯科技術専門学校)
- P107. (修復)
【2598】 保存修復学基礎実習における問題志向型教材の開発
—2級・3級・5級コンポジットレジン修復のトライアル—
.....○谷本啓彰, 山本一世 (大歯大・保存)
小竹宏朋, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
泉川昌宣, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
高瀬保晶 (東歯大・総診)
米田雅裕 (福歯大・口腔医療センター)
泉 利雄 (福歯大・修復・歯内)
廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)
谷岡正行 ((株) ニッシン)
新谷英章 (広島歯科技術専門学校)
- P108. (その他)
【2399】 鶴見大学歯学部における臨床シミュレーション実習の評価
.....○中村善治, 井川知子, 小川 匠 (鶴大歯・クラウンブリッジ補綴)
三浦英司, 大久保力廣 (鶴大歯・有床義歯補綴)
秋本尚武, 坂本富則, 山本雄嗣, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
佐藤 徹 (鶴大歯・口腔内科)
細矢哲康 (鶴大歯・歯内療法)
- P109. (歯内)
【2503】 大阪歯科大学歯内治療学基礎実習における側方加圧充填後の根尖部根管の充塞状態
.....○高橋 郁, 西川郁夫, 畠 銀一郎, 林 宏行 (大歯大・口腔治療)
- P110. (その他)
【2108】 う蝕リスク診査を取り入れた学校歯科健診—う蝕原性細菌数と生活習慣の関係—
.....○深谷芽吏, 近藤愛恵, 仲宗根史子, 大森かをる, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
石原容子 ((株) ジーシー研究所)
花田信弘 (鶴大歯・探索歯学)
- P111. (その他)
【3001】 唾液による総合的な口腔検査法の開発
(第1報) 多項目唾液検査システム (AL-55) の有用性の検討
.....○牧 利一, 西永英司, 斎藤浩一, 山本高司, 村越倫明, 大寺基靖 (ライオン (株))
福田 功, 大久保章男 (アークレイ (株))
富士谷盛興, 千田 彰 (愛院大歯・保存修復)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P112. (その他) 唾液による総合的な口腔検査法の開発
 【3001】 (第2報) 多項目唾液検査システム (AL-55) の測定値の妥当性について
○西永英司, 牧 利一, 深澤 哲, 鈴木苗穂, 内山千代子, 山本高司,
 村越倫明, 大寺基靖 (ライオン (株))
 福田 功, 大久保章男 (アークレイ (株))
 富士谷盛興, 千田 彰 (愛院大歯・保存修復)
- P113. (その他) 唾液による総合的な口腔検査法の開発
 【3001】 (第3報) 多項目唾液検査システム (AL-55) 検査項目の妥当性について
○内山千代子, 牧 利一, 西永英司, 深澤 哲, 鈴木苗穂, 山本高司,
 村越倫明, 大寺基靖 (ライオン (株))
 福田 功, 大久保章男 (アークレイ (株))
 富士谷盛興, 千田 彰 (愛院大歯・保存修復)
- P114. (その他) カリオテスター™を用いた根面う蝕の再石灰化程度の評価についてのインビトロ研究
 【2304】 —TMR法による評価との比較—
○中嶋省志, 二階堂 徹 (東医歯大院・う蝕制御)
 清水明彦 (兵医大・歯科口腔外科)
 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨のGCOE)
- P115. (その他) カリオテスター™を用いた根面う蝕の脱灰程度の評価についてのインビトロ研究
 【2304】 —TMR法による評価との比較—
○中嶋省志, 二階堂 徹 (東医歯大院・う蝕制御)
 清水明彦 (兵医大・歯科口腔外科)
 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨のGCOE)
- P116. (修復) PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果
 【2501】○椎谷 亨, 向井義晴, 富山 潔, 飯塚純子, 長谷川晴彦,
 倉持江里香, 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・歯科衛生学科)
- P117. (修復) フッ化物徐放性材料の象牙質表面への塗布による脱灰抑制効果
 【3102】○大木彩子, 松田康裕, 橋本直樹, 小松久憲, 佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
- P118. (修復) 歯髄温存療法覆髄材が象牙質石灰化に及ぼす影響
 【3102】○伊藤修一, 甕 富美子, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
- P119. (修復) ナノ化ハイドロキシアパタイト応用による軟化根管象牙質の再硬化
 【3102】 —感染根管象牙質におけるレジンの接着性強さ—
○菊地信之, 横田容子, 村山 優, 染井千佳子, 牧村英樹, 木村 功,
 長濱文雄, 和田守康 (日大松戸歯・再生歯科治療)
 平田亮太郎 (日大松戸歯・感染・免疫学)
 谷本安浩 (日大松戸歯・歯科生体材料)
- P120. (修復) 象牙質知覚過敏抑制材の歯ブラシ摩耗と耐着色性の評価
 【2502】○高橋 圭, 西谷佳浩, 星加知宏, 山路公造, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P121. (修復) 引っ掻き硬度試験 (鉛筆法) JIS K5600-5-4 を用いた歯面コート材の硬さについて
 【2605】○亀井千瑛, 山口麻衣, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)
 中塚稔之 ((株) 松風)

- P122. (修復) SEMを用いた象牙質知覚過敏抑制材塗布による象牙質表面性状変化の観察
 【2502】○高見澤俊樹, 色川敦士, 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)
 遠藤 肇, 渡邊孝行, 角野奈津 (日大歯・保存修復)
 福本敬一 (福本歯科医院)
- P123. (修復) フッ素含有知覚過敏抑制材の象牙質透過性の検討
 【2502】○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)
- P124. (修復) リン酸カルシウム系新規知覚過敏抑制材 CPD-100 の象牙細管封鎖性
 【2502】○石原周明, 靄田拓大, 畑中憲司 (クラレノリタケデンタル (株))
- P125. (歯内) ステアリン酸亜鉛ならびに乳酸アルミニウムの象牙細管内における挙動
 【2502】○甲田 智, 森戸亮行, 吉田拓正, 鈴木一範, 湯本琴美,
 堀井皓典, 細矢哲康 (鶴大歯・歯内療法)
- P126. (修復) 新規フッ化物含有ナノシール材から歯質への元素の移行
 【2502】○韓 臨麟, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P127. (修復) 修復済みヒト抜去歯でのコンポジットレジン修復下歯質の形態学的観察
 【2201】○山本雄嗣, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
 千葉敏江, 下田信治 (鶴大歯・口腔解剖)
- P128. (修復) 象牙質の構成成分および微細構造が機械的性質に及ぼす影響
 【2599】○武田侑子, 古谷 優, 林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))
 石本卓也, 中野貴由 (阪大院工・マテリアル生産科学)
- P129. (修復) Effect of smear produced with a resin fiber bur on *in vitro* permeability of human dentin
 【2502】○石幡浩志, ボレイク ネザール, 島内英俊 (東北大院歯・歯内歯周)
 兼平正史, Finger WJ, 小松正志 (東北大院歯・保存)
- P130. (修復) 人工エナメル質裂溝に対する S-PRG フィラー含有シーラント材の脱灰抑制効果
 【2501】○長谷川晴彦, 向井義晴, 飯塚純子, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
- P131. (修復) エナメル質に成膜したシリカ薄膜の耐久性
 【2501】○田中隆博, 山口益司, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
 進藤豊彦 (コンタミネーション・コントロール・サービス)
- P132. (修復) 10%ウルトラリン酸ナトリウム水溶液の着色除去効果
 【2605】○小安正洋, 真鍋厚史, 久光 久 (昭大歯・保存・美容歯科)
 柴 肇一 (リジェンティス (株))
- P133. (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】 ー顕微ラマン分光法による表層下脱灰病巣へ侵入した唾液構成成分の解析ー
○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)
- P134. (修復) 低濃度過酸化水素剤での髓腔内漂白による漂白効果
 【2605】○春山亜貴子, 浅見政子, 亀山敦史, 高瀬保晶 (東歯大・総診)
 小田 豊 (東歯大・歯科理工)
- P135. (修復) 漂白処置が既存のコンポジットレジン修復物の象牙質接着強さに与える影響
 【2604】○関 秀明, 平 賢久, 海老原 隆 (日歯大新潟・総合診療)
 鈴木雅也, 加藤千景, 新海航一 (日歯大新潟・保存II)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P136. (その他) 極薄フレキシブルアパタイトシートによるエナメル質の修復と審美
 【3102】○本津茂樹, 松田太陽, 岩城有晃, 西川博昭 (近畿大院・生物理工)
 吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)
- P137. (その他) アナターゼ型二酸化チタンの光触媒作用の解析 (第6報)
 【3102】○大石真太郎, 佐藤将洋, 安西正明, 山本昭夫, 笠原悦男 (松歯大・保存II)
 内田啓一 (松歯大・歯科放射線)
 音琴淳一 (松歯大院・健康増進口腔科学)
- P138. (修復) 可視光応答型アパタイト光触媒の創製
 【3102】 —Ca₈X₂(PO₄)₆O₂の光触媒能—
○亀水秀男, 駒田裕子, 土井 豊 (朝日大歯・口腔機能 (歯科理工))
- P139. (修復) 新規LED照射器についての研究
 【3101】 —コンポジットレジンの光重合性に与える影響—
○黄地智子, 初岡昌憲, 恩田康平, 藤田昌弘, 白石 充,
 津谷佳代, 山本一世 (大歯大・保存)
- P140. (修復) 各種光照射器用ラジオメーター間の測定値の比較
 【3101】○亀山敦史, 春山亜貴子, 浅見政子, 杉山利子, 野呂明夫,
 近藤祥弘, 杉戸博記, 高瀬保晶 (東歯大・総診)
- P141. (修復) 歯科用可視光線照射器の青色光が血管平滑筋へおよぼす影響
 【3101】○吉田彩佳, 吉野文彦, 李 昌一 (神歯大・薬理)
- P142. (その他) 光干渉断層画像装置を用いたコンポジットレジンの摩耗痕下の状態の観察
 【3102】○クッタテープ ナタフット, 浅川裕也, 塩沢真穂 (東医歯大院・先端材料評価)
 高橋英和, 岩崎直彦 (東医歯大歯・生体材料加工)
 島田康史, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御)
- P143. (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— (第2報)
○京泉秀明, 山田純嗣, 鈴木敏光, 久光 久 (昭大歯・保存)
 Finger WJ, 兼平正史, 小松正志 (東北大院歯・保存)
- P144. (修復) Three-body-wear test による修復用コンポジットレジンの摩耗性について (第2報)
 【3102】 —新規レジンモノマーを含む市販コンポジットレジンの摩耗性—
○二瓶智太郎, 大橋 桂, 三宅 香, 大橋崇明, 寺中文子, 芹田枝里,
 原 健一郎, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
 クンツェルマン・カール・ハインツ (ミュンヘン大・保存修復)
- P145. (修復) コンポジットレジンの表面性状におよぼす仕上げ研磨法の影響
 【2603】○安藤 進, 吉田武史, 田久保周子, 大山幸治, 浅野和正,
 宮崎真至, 岩崎圭祐 (日大歯・保存修復)
 細矢由美子 (長大院医歯薬・小児歯科)
- P146. (修復) ジーシー MI フィリングマテリアルの物理的特性
 【2603】○中山瑞樹, 熊谷知弘, 佐久間徹郎 ((株) ジーシー)
- P147. (修復) 合着用グラスアイオノマーセメントの硬化初期の動向:
 【2604】 歯質接着性と曲げ特性からの検討
○入江正郎, 田仲持郎, 松本卓也 (岡大院医歯薬・生体材料)
 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)

- P148. (修復) 1年間の水中浸漬による成形修復用ガラスアイオノマーセメントのフッ化物徐放量と
 【2603】 機械的強さの変化
○塩沢真穂, 浅川裕也, クッタテープ ナタフット (東医歯大院・先端材料評価)
 高橋英和, 岩崎直彦 (東医歯大歯・生体材料加工)
- P149. (修復) 各種フロアブルレジンの重合収縮と窩壁適合性 (第5報)
 【2603】 - μ CTを用いた窩洞内の重合収縮評価-
○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)
- P150. (修復) コンポジットレジン窩洞適合性評価における試作 SS-OCT の有用性について
 【2304】○水上英子, 後閑由香, 谷 千尋 (昭大歯・保存)
 橋本絵美, 荒木和之, 岡野友宏 (昭大歯・歯科放射線)
 千田真弓, 鹿熊秀雄 ((株) 吉田製作所)
- P151. (修復) 光干渉断層装置を用いたエナメル質表層の検討
 【2605】 -ホワイトニング前後の観察-
○松尾涼子, 岩崎之克, 守田宏子, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)
 千田真弓, 鹿熊秀雄 ((株) 吉田製作所)
 宮崎 隆 (昭大歯・歯科理工)
 岡野友宏 (昭大歯・歯科放射線)
- P152. (歯内) エナメル質切削時のマイクロクラック発生に関する基礎的研究
 【3102】○下出真道, 三橋 晃, 石井信之 (神歯大・歯内)
 平田哲也 (平田歯科, 阪大院歯・顎口腔機能再建)
- P153. (修復) FG用ダイヤモンドバーの品質管理
 【3101】○塚田洋之 ((株) 日向和田精密製作所)
 白井エミ, 山本雄嗣, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
- P154. (歯内) Er:YAGレーザーと知覚過敏抑制剤を併用した象牙細管封鎖効果
 【2503】○佐藤浩美, 吉嶺嘉人, 新井裕基, 磯辺量子, 後藤康治,
 赤峰昭文 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存))
 松本妃可 (九大病院・歯内治療)
- P155. (修復) CO₂レーザー照射後のフッ化物塗布が歯根面の耐酸性に及ぼす影響
 【3001】○新海航一, 鈴木雅也, 加藤千景 (日歯大新潟・保存II)
- P156. (修復) Er:YAGレーザーのエネルギー密度と象牙細管の走向が蒸散深度と変性層の厚みに与える影響
 【2601】○福田隆光, 山本敦彦, 日下部修介, 小竹宏朋, 渡辺茂文,
 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
- P157. (修復) 軟化象牙質除去後の残存細菌に対して Er:YAGレーザーが与える影響
 【2501】○吉岡靖介, 野杵由一郎, 高橋雄介, 薮根敏晃, 朝日陽子, 永山智崇, 古谷 優,
 栗本絵里子, 北川蘭奈, 武田侑子, 大嶋 淳, 山本由美子, 住岡龍一, 永井真澄,
 板東秀典, 林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))

第1日目, 第2日目 ポスター

- P158. (修復) 噴霧注水における Er:YAG レーザー照射の除去効率について
 【3101】 —試作レーザーチップの検討—
○吉川一志, 岩田有弘, 保尾謙三, 魯 灵, 林原久盛, 畑下芳史,
 山本一世 (大歯大・保存)
- P159. (修復) マウス脛骨における炭酸ガスレーザーのエネルギー密度と骨形成能について
 【2201】○和田康弘, 横瀬敏志 (奥羽大歯・修復)
- P160. (修復) 修復用ガラスアイオノマーセメントの色調に関する研究
 【2605】○中村芳章, 志賀華絵, 岡田伸男, 千葉史子, 山本慎子, 熊谷啓二, 工藤義之,
 野田 守 (岩医大歯・保存修復)
- P161. (修復) 歯冠色色弁別能訓練教材の開発とその効果
 【2698】○木暮ミカ, 飛田 滋 (明倫短大・歯科技工士学科)
- P162. (修復) 有彩色上でのフロアブルコンポジットレジンの色について
 【2605】○小澤有美, 岩坂憲助, 市村 葉, 石原祥世, 片山 直 (明海大歯・保存修復)
- P163. (修復) S-PRG フィラー含有コンポジットレジンの抗菌性
 【3102】○三木彩希, 騎馬和歌子, 北川蘭奈, 林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))
 今里 聡 (阪大院歯・歯科理工)
- P164. (修復) 抗菌性表面処理剤の歯科への応用 (II)
 【3102】 —抗菌性シランカップリング剤の抗菌効果—
○三宅 香, 二瓶智太郎, 大橋 桂, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
 熊田秀文, 浜田信城 (神歯大・微生物)
 清水統太 (神歯大・有床義歯補綴)
 原 めぐみ (神歯大・総合歯科)
 近藤行成, 好野則夫 (東理大工・工業化学)
- P165. (修復) 殺菌処理後のバイオフィーム構造への *Streptococcus mutans* の初期付着について
 【2203】○大墨竜也, 竹中彰治, 若松里佳, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P166. (修復) Rep-PCR を用いた *S. mutans* 血清型 *f* のバンディングパターンの差異について
 【2203】○岡田珠美, 鈴木英明, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
- P167. (修復) 音波振動式電動歯ブラシおよびリステリン®併用時の
 【2203】 *Streptococcus mutans* 人工バイオフィームの剥離効果について
○浪岡奈保子, 竹中彰治, 大墨竜也, 若松里佳, 福田 敬,
 富田文仁, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
 成澤直規, 泉福英信 (国立感染研究所・細菌第一部第六室)
- P168. (修復) 新規2ステップセルフエッチシステムの基本的接着性能
 【2604】○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)
 白玉康司, 田村ゆきえ, 古賀賢策 (日大歯・保存修復)
 佐藤幹武 (佐藤歯科)
- P169. (修復) 新規多用途型プライマーの歯面処理効果
 【2604】○山路公造, 塩出信太郎, 西谷佳浩, 高橋 圭, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P170. (その他) エッチング材の違いによるシーラントのヒトエナメル質への微小引張強さ
 【2902】○王 穎, 加我正行, 八若保孝 (北大院歯・小児・障害者)
 角田晋一, 付 佳楽, 佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)

- P171. (修復) 積層充填におけるコンポジットレジンの流動性が接着性能へ及ぼす影響
 【2604】○千葉史子, 岡田伸男, 志賀華絵, 山本槇子, 中村芳章, 熊谷啓二, 工藤義之,
 野田 守 (岩医大歯・保存修復)
- P172. (修復) 新しく開発された“Bulk Fill”型コンポジットレジンの接着性能
 【2603】 第1報 辺縁封鎖性と窩壁適合性について
○大下尚克, 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)
- P173. (修復) メチルメルカプタンがコンポジットレジンの補修修復に及ぼす影響
 【2603】○小倉由佳理, 石山智恵美, 井上直樹 (日大歯・保存修復)
 陸田明智, 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)
 浅野和正 (日大歯・保存修復, 浅野歯科クリニック)
 市石芳博 (市石歯科クリニック)
- P174. (修復) フロアブルコンポジットレジンを用いたコンポジットレジン補修修復の研究
 【2604】 ー破壊形態による比較検討ー
○小林幹宏, 岩崎友美, 小川弘美, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)
 藤島昭宏, 宮崎 隆 (昭大歯・歯科理工)
- P175. (修復) コンポジットレジンによる補修修復の7年間の臨床評価
 【2501】○石崎裕子 (新大歯・総合診療)
 福島正義 (新大院医歯・口腔保健)
- P176. (修復) TBB 系充填材と光重合レジンを併用する充填法
 【2603】○首藤 実 (首藤歯科医院, 長大院医歯葉・齲蝕)
 久保至誠 (長大病院・臨床教育研修)
 林 善彦 (長大院医歯葉・齲蝕)
- P177. (修復) 隔壁法が側室部歯肉壁の光照射に及ぼす影響
 【3101】○小松首人, 黄地智子, 西田尚敬, 宮地秀彦, 藤原秀樹, 井上昌孝,
 廣田陽平, 吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)
- P178. (修復) 新規支台築造用セルフエッチングボンド「i-TFC ボンド」の根管象牙質への接着性
 【2599】○井波智鶴 (サンメディカル (株)・研究開発部)
 小里達也 (サンメディカル (株)・研究開発部, 日大松戸歯・保存修復)
 山本憲廣 (そよかぜ歯科医院, 日大松戸歯・保存修復)
 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)
- P179. (修復) 光透過型ファイバーポスト修復の根部における接着状態の評価
 【2603】○熊 宇 (阪大院歯・歯科理工, 感染制御 (保存))
 古谷 優, 武田侑子, 林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))
 今里 聡 (阪大院歯・歯科理工)
- P180. (修復) TMPT 配合レジンコーティング材の開発研究
 【2604】○周 秦, 逢 宜 (中国西安交通大・口腔医院修復科)
 関根哲子, 藤田 光, 岩井仁寿, 神谷直孝, 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)
- P181. (修復) 紫外線照射したファイバーポストのコンポジットレジンとの接着強さの耐久性
 【3102】○浅川裕也, 塩沢真穂 (東医歯大院・先端材料評価)
 高橋英和, 岩崎直彦 (東医歯大歯・生体材料加工)

第1日目, 第2日目 ポスター

- P182. (修復)
【2603】 デュアルキュア型レジンセメントの研究
—光照射の有無が機械的強度に与える影響—
.....○横田啓太, 鈴木康一郎, 服部泰直, 河村昌哲, 砂田和久, 廣瀬沙耶佳,
吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)
- P183. (修復)
【3102】 接着性レジンセメントの歯髄刺激性について
—練和後の pH 変化—
.....○小正玲子, 吉川一志, 竹内 摂, 野村雄司, 三木秀治, 妻野純朗,
廣瀬泰明, 山本一世 (大歯大・保存)
- P184. (修復)
【2604】 セラミックスの唾液汚染がレジンセメントの接着性に及ぼす影響
.....○石井 亮, 古宅真由美, 瀧本正行, 岩佐美香, 坪田圭司 (日大歯・保存修復)
高見澤俊樹, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)
植原俊雄 (日大歯・保存修復, 植原歯科)
- P185. (修復)
【3102】 フッ素系シランと芳香族系シランの細胞毒性について
.....○大橋 桂, 二瓶智太郎, 三宅 香, 芹田枝里, 原 健一郎, 寺中文字子,
大橋崇明, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
清水統太 (神歯大・顎口腔修復)
小泉忠彦 (神歯大・総合歯科)
近藤行成, 好野則夫 (東理大・工業化学)
- P186. (歯内)
【2503】 根管治療歯の CEREC システムによるオーバーレイ修復の内面適合性評価
.....○間 奈津子, 手銭親良, 呉 明憲, 吉澤佑世, 森永一喜 (東歯大・保存)

講演抄録

特別講演Ⅰ	2
特別講演Ⅱ	3
特別講演Ⅲ	4
シンポジウム	5
認定研修会	7
ランチョンセミナー 1	9
ランチョンセミナー 2	10
ランチョンセミナー 3	11
ランチョンセミナー 4	12
ランチョンセミナー 5	13
イブニングセミナー 1	14
イブニングセミナー 2	16

一般研究発表

□演発表 (A, B, C) ・ポスター発表 (P)

第1日目 A 会場：A1～5	17～21
第1日目 B 会場：B1～5	22～26
第2日目 A 会場：A6～25	27～46
第2日目 B 会場：B6～25	47～66
第2日目 C 会場：C1～16	67～82
ポスター発表：P1～186	83～268

齲蝕と健康をめぐる栄養学・細菌学の現在

鶴見大学歯学部探索歯学講座

花田信弘

日本では弥生時代から本格的な稲の水耕栽培が始まり、同時にコメによる齲蝕が増加している。コメなどの穀物による齲蝕の特徴は、第二、第三大臼歯に多く見られ、隣接面から根面部に広がる齲蝕である。古代のコメによる齲蝕と近代の砂糖による齲蝕との大きな違いは、前者が主に成人の疾患であり、後者が主に小児の疾患である点である。砂糖による齲蝕は咬合面の小窩裂溝や隣接面のエナメル質に初発するが、コメによる齲蝕はセメント-エナメル境付近に初発することが多い（「う蝕学」永末書店）。

各時代の平均寿命の違いはあるが、北方騎馬民族が支配したと考えられる古墳時代（紀元250～600年）の支配層はコメ文化が始まった弥生時代よりも齲蝕が少なく、一人平均齲蝕数は0.9、齲蝕率はわずか3.3%（小金井1934）であった。ところが、それ以降の日本人は成人の齲蝕と低栄養に苦しんできた。これは、天武天皇が675年に狩猟（魚や動物の捕獲）を禁じ、動物性タンパク質不足（低栄養）が生じたことが関係していると考えられる。肉食禁止令の結果、主食が穀物（租）になり、租庸調という穀物を基本とする国家体制の確立が図られたが、穀物が主要なエネルギー源になり齲蝕が増加した。鎌倉時代の一人平均齲蝕数は2.5、齲蝕率は9.3%（井上ら1981）、古墳時代の約3倍である。コメを国家体制の基本に据える封建制度は最終的に徳川幕府が完成させる。江戸では精米が普及し、保存性は良いが味の薄い白米と高塩分のおかずの組み合わせが定着した。その結果、引き起こされた疾患はセメント-エナメル境付近に初発する永久歯齲蝕と脚気および低栄養による低身長である。江戸時代の一人平均齲蝕数は5.2、齲蝕率は20.4%（佐倉1964）と鎌倉時代の約2倍である。脚気は「江戸患い」と呼ばれ、大量の白米とわずかなおかずの摂取によるビタミンB1の不足で多くの死亡者を出した。コメの偏重は明治時代になっても続き、日清・日露戦争では脚気による大量の死者が記録されている。ビタミンB群の不足は体内でのエネルギー代謝の不調を招き、神経系にも支障が生じるので、兵士であれば戦闘を続けられない。コメを主食にすることでビタミンCが不足すると、アミノ酸合成が阻害されるのでコラーゲンが合成できず、血管と歯周組織が破壊される。

以上のように、天武天皇の肉食禁止令から第二次世界大戦まで約1300年にわたって低栄養が続き、日本人に齲蝕と歯周病、脚気、低身長などさまざまな影響を及ぼしてきた。

現在の日本人は白米と沢山のおかずで齲蝕と2型糖尿病で苦しんでいる。アジアにおける2型糖尿病の主要な原因は白米の過剰摂取であることは明らかである（「BMJ」2012）。

本学会の大会長、桃井保子教授らによる中学・高等学校の調査によるとミュータンスレンサ球菌が検出されない生徒が近年増加している。この菌の定着・増殖に関与する因子は砂糖の頻回摂取である。母と子の砂糖の摂取制限により、ミュータンスレンサ球菌の定着・増殖が抑えられる。また、個別トレーを用いる3DSのような新しい技術の普及が始まり、砂糖による小児の齲蝕はこれから減少していくことが予想される。しかし、人間が食事の穀物と口腔常在菌を排除できない以上、超高齢社会でコメなどの穀物と口腔常在菌の組み合わせによる成人の齲蝕が増加することは避けられない。一方、糖尿病はHbA1c 5.6%以上の予備軍を含めると2,210万人に達している（平成19年国民生活基礎調査）。齲蝕と2型糖尿病にとって砂糖や白米など精製された炭水化物をどう制御するかがこれからの課題である。

歯科医師法はその第一条で「歯科医師は保健指導を掌る」ことを明記しているが、口腔細菌叢と炭水化物の制御を基軸にして、齲蝕と2型糖尿病を防ぐ歯科医師の新たな保健指導が求められる時代が既に始まっているのである。

なぜ高い骨密度でも骨折するのか？ —骨基質劣化型骨粗鬆症の概念と疾患バイオマーカーのエビデンス—

東京慈恵会医科大学整形外科

齋藤 充

骨粗鬆症は骨吸収優位の骨代謝回転の亢進により骨密度と骨質が低下し、骨折リスクが高まる疾患である。骨質を規定する因子の中で、骨微細構造、骨石灰化度は骨の代謝回転に依存する。しかし、骨の材質特性を規定するコラーゲンの量的・質的特性は、骨の代謝回転には必ずしも依存しない。骨は「鉄筋コンクリート」の建造物によく似た構造をもっており、鉄筋に相当するのがコラーゲンで、コンクリートに相当するのがカルシウムからなるハイドロキシアパタイトである。そして、隣り合うコラーゲン同士をつなぎ止める架橋構造（建造物に例えるならば鉄筋同士をつなぎ止める梁やビスのような役割）が骨質・骨強度に影響を規定することを明らかにしてきた。鉄筋に相当するコラーゲンの梁に相当する架橋の善し悪しが、骨の強さを規定する重要な因子であることを初めて明らかにした。骨のコラーゲンに悪玉の架橋が多いと骨は脆弱化する。骨に悪玉架橋の多い症例では、尿中や血中に悪玉架橋が排泄されるため、骨質を評価するマーカーとなることが明らかとなった。悪玉架橋の正体は「ペントシジン」という物質であり、骨密度測定では評価しきれない骨折リスクを知る手立てとなる。生活習慣病を患っている方は、骨密度が高くても（コンクリートが正常）、コラーゲン架橋の異常（鉄筋の異常）により骨脆弱化が生じることを見出した。骨コラーゲンの架橋異常による骨脆弱化を誘導する生活習慣病因子は、持続的高血糖、動脈硬化・心血管イベントの危険因子である血中ホモシステイン高値といった酸化ストレス・糖化ストレス・カルボニルストレスを高める要因である。これらの因子は骨や血管のコラーゲンを同時に劣化させる。また、閉経後女性 502 名の検討から原発性骨粗鬆症は、骨密度と骨質の善し悪しにより、1) 低骨密度型（骨折リスク 3.6 倍）、2) 骨質劣化型（1.5 倍）、3) 低骨密度+骨質劣化型（7.2 倍）の 3 タイプに病型分類できることを明らかにした。骨質劣化型骨粗鬆症の頻度は 20% である。骨質劣化型を見つけ出すマーカーとして、血中ホモシステイン、血・尿中悪玉架橋ペントシジン測定が有用である。骨吸収の亢進を伴う低骨密度型骨粗鬆症には、ビスフォスフォネート（BP）剤で一網打尽の治療が必要であるが、骨質劣化型を伴う症例は、ビスフォスフォネートで骨密度を高めても、新規骨折を生じるリスクが 1.6 倍高いことを見出している。こうした観点から、今後は、骨密度測定と骨質マーカー測定を同時に行うことによって、多様な患者集団における骨折リスクを個別に評価して、テーラーメイド治療を行う必要があると考えられる。骨質劣化型には、ホモシステイン低下作用および抗酸化作用のある塩酸ラロキシフェン [SERMs] や善玉架橋増加作用のある活性型ビタミン D3 や K2 が有効である。低骨密度+骨質劣化型には、BP 剤+Vit. D3/K2、もしくは PTH 製剤テリパラチドが有効である。われわれは、骨強度に及ぼす骨密度や骨質（コラーゲン）の制御機構を、細胞レベル・動物モデル・ヒト骨生検・コホート研究から網羅的に解明してきた。今後は、多様なリスクを個別に評価し治療法を選択することが重要と考えている。こうしたわが国発の世界初の概念は、Nature 関連雑誌にコメントが出された後、多くの追試を受け、その妥当性が報告されている。昨年、改訂された「骨粗鬆症の予防と治療のガイドライン改訂版」「生活習慣病骨折リスクに関する診療ガイド」が発刊され、骨質評価、骨質治療の重要性を明記した。さらに骨密度および骨質からみたテーラーメイド治療が可能か否かについて、3,500 人をエントリーする予定の大規模臨床研究が日本骨粗鬆症学会主導で開始されている。（参考論文：Saito M, Osteoporos Int, (REVIEW) 21 : 195-214, 2010）

自然治癒力からみた再生治療と再生医療の将来

京都大学再生医科学研究所 生体組織工学研究部門 生体材料学分野

田畑泰彦

細胞の増殖，分化ポテンシャルを介した生体のもつ自然治癒力を活用することによって，生体組織の再生修復あるいは臓器機能の代替を行う治療の試みが再生治療（その基本概念は自然治癒力による再生治療である）である。最近の再生現象にかかわる細胞の基礎生物医学研究の進歩はめざましく，増殖分化ポテンシャルの高い幹細胞の利用が可能となり，それらの細胞を移植することによる再生治療が行われている。しかし，期待したほどに細胞移植の治療効果が認められているとはいえない。一般に，体内では，細胞が単独で生存，機能していることはほとんどなく，細胞は，その周辺環境と相互作用しながら，その生物機能を発揮していることが知られている。そこで，細胞のポテンシャルを最大限に利用して，生体組織の再生治療の効率を上げるためには，細胞の増殖，分化を促す適切な局所周辺環境を作り与える工夫が不可欠となる。現在，細胞の周辺環境を作り与えるバイオマテリアル技術・方法論（組織工学）が進んできている。その基盤技術は，1) 体内での細胞の増殖・分化を促す足場，2) 宿主タンパク質や細胞の侵入から再生誘導環境を守るための隔離，3) 移植細胞を単離，増殖させる培養基材と装置，4) 細胞の生物機能の改変，増強，5) 生体シグナル因子（タンパク質や遺伝子）を働かせるドラッグデリバリーシステム（Drug Delivery System, DDS）などである。

たとえば，生体吸収性のハイドロゲルを用いることによって，体内で不安定な細胞増殖因子の再生修復を期待する部位近傍で，必要な量，必要な期間にわたって，徐々に放出（徐放）させ，細胞増殖因子の組織再生効果を最大限に発揮させることができる。この徐放化 DDS 技術を活用することで，血管，骨，軟骨，皮膚，脂肪，半月板，歯周組織などのさまざまな生体組織の再生治療が現実になっている。その一部については，すでに臨床研究が始まり，よい結果が報告されている。加えて，血管新生因子の徐放化は，移植された細胞の生着率とその治療機能を高め，細胞移植治療効果を向上させることもわかっている。

次世代の再生治療を科学的に支える再生研究（幹細胞の生物医学研究や創薬研究）にもバイオマテリアル技術は重要である。バイオマテリアルを活用することで，プラスチックではなく，細胞外マトリクスに近い性質をもつ細胞培養基材を創製する。これらの基材によって体内環境に近い状態で細胞の培養が可能となり，細胞の増殖，分化の研究は進むであろう。また，細胞毒性の低い遺伝子導入バイオマテリアルを利用することで，幹細胞の遺伝子機能改変も可能となる。バイオマテリアルは幹細胞の基礎生物医学研究のためのツールとしても有効である。

再生医療は再生治療とそれを科学的に支える再生研究からなる。この両者にバイオマテリアル技術は必要不可欠である。生体シグナル因子の DDS 技術や足場技術，およびそれらの技術と細胞との組み合わせによる生体組織の再生治療，バイオマテリアル技術の再生研究への応用を紹介しながら，「自然治癒力からみた再生治療と再生医療の将来」について議論したい。

田畑泰彦 編「再生医療のためのバイオマテリアル」(株)コロナ社 2006, 「細胞増殖因子と再生医療」(株)メディカルレビュー社 2006, 「ウイルスを用いない遺伝子導入法」(株)メディカルドゥ 2008, 「進みつつける細胞移植治療の実際，上巻，下巻」(株)メディカルドゥ 2008, 「患者までとどいている再生誘導治療」(株)メディカルドゥ 2009, 「ますます重要になる細胞周辺環境（細胞ニッチ）の最新科学技術」(株)メディカルドゥ 2009, 「ものづくり技術からみる再生医療—細胞研究・創薬・治療—」(株)シーエムシー出版 2011

日本歯科医学会プロジェクト研究

確かなエックス線診断と接着技法が破折歯を救う

講演1：医科用CTおよび歯科用コーンビームCTの歯根破折診断での活躍の可能性

東京歯科大学歯科放射線学講座

佐野 司

平成23年度日本歯科医学会「歯の破折の診断・治療に関するプロジェクト研究」に日本歯科保存学会（代表研究者：吉山昌宏教授）とともに日本歯科放射線学会の申請（歯根破折歯の画像診断ガイドライン作成のためのプロジェクト研究：佐野 司，飯久保正弘講師，有地榮一郎教授，岡野友宏教授，小林 馨教授，笹野高嗣教授，勝又明敏教授）が採択され，桃井保子大会長および会員各位のご厚意により本シンポジウムを開催して頂くこととなった。

さて，歯科用コーンビームCT（以下，CBCT）の登場により，高い解像度の断面像や三次元画像が得られるようになった。10種類を優に超すCBCT装置が販売されている現状で，CBCTで歯根破折が見えるか？ どのように利用できるか？ 特徴は？ といったご質問が多くある。本講演では，CBCTと医科用CTの特徴を述べたうえで，両装置の歯根破折診断での有用性についてその概要を述べる予定でいる。

講演2：歯根破折の画像診断法の見直しと新たな展開

東北大学大学院歯学研究科 口腔病態外科学講座 口腔診断学分野

飯久保正弘

近年，永久歯抜歯の原因として，齲蝕や歯周病に比較して歯根破折の占める割合が増加しており，歯根破折の診断は今日の重要課題とされている。歯根破折の診断には，これまで口内法エックス線撮影が頻用されている。しかしながら，口内法によって破折線が明らかでない症例において，抜歯後に初めて破折が確認される例も少なくない。近年，各種CTの発達に伴い，歯の三次元画像検査が可能となり，歯根破折の診断にも応用されている（講演1で佐野先生が説明）。私は講演2として，「歯根破折の画像診断法の見直しと新たな展開」と題し，各種画像診断法の歯根破折検出精度について，これまでの研究結果を述べることにする。本シンポジウムにて，歯根破折に対する画像診断法の問題点を明らかにすることにより，日本歯科保存学会と日本歯科放射線学会が「より診断精度の高い画像診断」について共に考えるきっかけとなればと考えている。

講演3：歯根縦破折歯の接着再建のポイント

大阪歯科大学歯科保存学講座

山本一世

従来、歯を喪失する要因であった齲蝕と歯周病においては、治療法や予防法の発達により保存できるケースが増えてきた。一方、失活歯に多い歯根の縦破折は依然として抜歯に至るケースが多く、臨床家を悩ませる難問題である。そのため眞坂らによって報告された、破折した歯根を接着して歯を保存する方法は、これからますます重要度が高くなるものと思われる。歯根縦破折歯の接着再建には口内法と口外法があるが、いったん抜歯して接着再建後に再植する口外法においては、歯根膜の損傷を極力小さくすることが予後にとって重要とされている。しかし、接着の観点からは被着面や処理面をしっかりと乾燥させることが望ましい等、口外法において歯根膜の状態を良好に維持することと象牙質接着を確実に行うこととは両立が困難な面を伴っている。本講演ではこれまでの研究結果に基づき、歯根膜のダメージ軽減に配慮した破折歯根の接着再建法について述べてみたい。

演題4：破折歯の治療の現状とその展望

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

吉山昌宏

われわれ、歯科医師が日々行っている歯冠修復のトラブルのうち、最も頻度が高いのが修復物の築造体ごとの脱落と歯根破折である。特に歯根破折はその後の転帰として抜歯となる可能性が高く、歯根破折に対する早急な対応が不可欠である。

破折歯を口腔内外で接着材を用いて補修し可及的に保存する治療が長年試みられてきたが、破折歯の確実な接着が困難なうえに、咬合力に対する接着修復歯の耐久性が低く、有効な術式が確立されていない。日本歯科保存学会研究活性化委員会では日本歯科理工学会の協力のもと接着技法を応用し、破折した歯根を接着・再植する治療方法の確立を目指しており、平成23年度の日本歯科医学会プロジェクト研究に採択された。このシンポジウムでは、破折歯の治療の現状とその展望についてまとめてみたい。またファイバー強化型レジンポストを用いた支台製造法についても考察してみたい。

象牙質齲蝕の診断とコンポジットレジン修復

東京都台東区・イノコシ歯科医院

猪越重久

接着修復の基本は、健全な歯質をいかに残せるかにあると思います。口腔内の操作には技術的な制約があり、接着材料もテクニックセンシティブといわれるように扱ひ方に制限があります。技術的に難しい修復はうまくいかないことが多いものです。接着修復を成功させるためには、歯科医師がやりやすい時期に行えるよう心がけることです。

結論からいうと、象牙質齲蝕のコンポジットレジン修復のポイントは、

- ①充填しやすい時期に充填する。そのためには、象牙質齲蝕の診断が大切。
- ②健全象牙質には削り込まない。そのためには、齲蝕検知液を使いこなす。
- ③信頼できる接着性レジンを実際に使う。そのためには、各ステップを確認する。

以上の3点です。

1. 充填に適した齲蝕は見つけにくい

無麻酔・無裏層で安心して充填ができるのは、象牙質内1/3までの象牙質齲蝕と考えます。X線写真で象牙質内1/2まで影が到達した症例では、感染歯質を削除しているときに非常に深く感じ、不顕性露髄の心配もあり、ダイカルなどで覆髄する場合があります。

しかしながら、象牙質内1/3までのような初期の齲蝕は患者が気付くことは少なく、歯科医師が積極的に見つけていく必要があります。

2. 象牙質齲蝕の診断

そのためには、象牙質齲蝕の診断が大切です。前歯部ではデンタルX-Pと透過光による診査が有効です。臼歯部では、隣接面はバイトウイングX-P、小窩裂溝部はDファインダー #10（須貝昭弘：日歯会誌、2007年9月号）による触診が有効です。自覚症状のない段階で積極的に見つける努力をする必要があります。

3. 象牙質齲蝕の構造と削除法

象牙質齲蝕病巣の硬さは象牙細管の走行に影響され、側壁では軟化した部分と健全部の境界が比較的明瞭であるのに対し、窩底部では歯髄方向に向かって硬さが徐々に増加し、軟化部の境界が不明瞭です。従って、境界明瞭な側壁部では、赤染される軟化部を削除して不染状態にすることは容易です。

これに対して窩底部では、硬さが徐々に増加し、しかも齲蝕象牙質の染色状態が、赤、ピンク、淡いピンクと段階的に不規則な形態をとって変化し、これに髄色の透明層の色が重なるため、どこで削除を終了するかを判断するのは困難です。窩底部に関しては、生体防御層である透明象牙質を最大限に残すことを第一に考え、齲蝕検知液に全く染まらなくなるまで削除することにとらわれすぎず、過剰切削にならないように注意する必要があります。

4. 接着・充填操作

歯質接着性レジンには、複雑窩洞ではエアブローに非常に敏感な1ステップ製品ではなく、プライマー処理とボンディング処理が別個の2ステップセルフエッチングシステムを使用します。

セルフエッチングプライマーを窩洞にたっぷり塗布し、歯面を脱灰して接着性レジンに浸透させます。プライマーには水分が含まれており、この水分は重合を妨げるので、強圧で十分にエアブローしてプライマーを飛ばします。次いで、ボンドレジンに窩洞全面に塗布し、エアで薄層化します。その後、十分に光重合します。

壁面にフロアブルコンポジットレジンに1層塗布して光重合します。このフロアブルコンポジットレジンでのライニングは、酸素を遮断し壁面のボンドレジンにしっかり硬化させ、接着を確実にします。その後、コンポジットレジンペーストを填入して、付形・光重合します。

忘れられがちなのが、光照射器の管理です。特に照射チップの汚れは性能を大きく落としますから、必ず汚染防止のカバーをかける必要があります。

効率的な感染根管の攻略法—感染源はどこにある？—

大阪府開業
大阪大学歯学部臨床教授
木ノ本喜史

感染根管治療はその言葉のとおり、感染した根管から感染源を除去して、根尖病変の発生を予防したり、治癒に導いたりする治療法である。治療方法は機械的、化学的な原因除去療法が中心となるが、やはり機械的除去が主であり、機械的に除去が困難な部分に対して化学的な効果を期待することになる。

感染根管治療においては根管内のすべての感染源の除去が理想であるが、現実にはイスマスやフィン、象牙細管や側枝などをはじめとするさまざまな要因により、一度感染した象牙質から感染源を100%除去することは困難である。根管内の感染源の量の多寡と臨床症状との相関についてはいまだ明らかではないが、一般的には除去率が高ければ高いほど治癒の確率も高くなると考えるのが妥当である。つまり感染源の除去率90%と99%、99.9%を比べると、後者ほど感染根管治療が成功する確率が高いと考えられる。

一方、日常臨床においては、限られた時間の中で効率的に診療を行うことが求められる。診療の効率化は、器具の選択や使用方法だけでなく、正確な治療目標の設定や無駄のない手順の確立も重要な要素である。感染根管治療においては、根管内の感染源を素早く探し出し、効果的な除去をめざすことが重要となる。また、主な感染源は細菌であるため、取り残した部分に残存する細菌が増殖する可能性も考慮する必要がある。したがって、感染源の効率的な除去を達成するためには、感染源の量が多い部位から除去を始めるのがよい。

以上のように、治癒の原理から考えても診療の効率から考えても、感染根管においては感染源の存在が疑われる部位を量の多寡により順序づけして、感染源の多い部位から除去に着手することが有効である。根管治療において根尖付近の確実な拡大・形成・充填が重要であることは間違いないが、やみくもに根尖部の拡大を行うことは賢明な感染根管治療ではない。明確なビジョンに基づき、感染源を着実に減少させることを念頭においた治療手順が重要であり、毎日の臨床において常に心がけなければならない基本である。

筆者はマイクロスコープを用いて以上の点に着眼して根管を精査していくと、日常の臨床において難治性と思われていた感染根管症例も次第に臨床症状が消失し良好な結果が得られることを経験している。発表においては、症例を呈示しながら効率的な感染根管の攻略法について解説を加えたい。

う蝕治療ガイドラインを实践する —スプーンエキスカベータによる感染歯質の選択的除去の実際—

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

清水明彦

う蝕の治療に際し、う蝕象牙質はラウンドバーやスプーンエキスカベータ（以後エキスカと略す）を使って削除される。「う蝕治療ガイドライン」（永末書店，2009年）では、歯質の硬さ、色、そしてう蝕検知液の染色性から、削除する範囲を判定することを推奨している。このガイドラインを实践すれば、「感染う蝕象牙質」が除去され、軟化はしているが細菌感染のない「う蝕影響象牙質」は保存される。本セミナーでは、ガイドラインが推奨する選択的除去を实践するためには、エキスカがいかに有用であるかをお話しし、あわせてラウンドバーの問題点についても考察したい。

1. なぜエキスカを推奨するのか？

ここで言うエキスカは、仮封材の除去などに使用され、刃部が焼かれ黒変したいわゆる“雑用エキスカ”ではない。刃部は洋ナシ形～円形で、う蝕象牙質の削除を目的に設計されたシャープな刃先を持つものである（エキスカベーター CDR, YDM 社；LM エキスカベーター, LM インストゥルメント社など）。

エキスカには以下の4つの大きな特長がある。①刃先の切れ味をチェック・確認することができる。切れ味が低下したときは、小型のシャープナー“リボン”（YDM 社）を使って簡単にシャープニングすることができるので、エキスカは常に一定の切れ味を維持することができる。②「感染象牙質」が削除され銑色ないし亜麻色の透明層（う蝕影響象牙質）に達すると、象牙質は滑らかな感触となり、刃先は上滑りし、エキスカではほとんど削れなくなる。この“刃先が滑って削れない！”という手指感覚こそ、ラウンドバーにはないエキスカ独特のものである。③操作時にエキスカの刃部に付着した削片や汚物は、ガーゼで1～2回清拭すればきれいに除去されるので、切削操作に関連して感染のない象牙質に感染源を持ち込む危険性は少ない。④エキスカはラウンドバーと比べると遥かに強い力で操作されるが、不思議なことに、患者は不安感も恐怖感も覚えない。

2. ラウンドバーにはどのような問題があるか？

①ラウンドバーは、新品と多用したものでは切削性能に大きな違いがある。しかし個々のバーの使用履歴は分からず、一定の切れ味が保証されない。②新しいラウンドバーは健全象牙質も切削できるが、何度も使用したバーではどの程度の切削性能を持っているかはわからない。そのためラウンドバーでは、過剰切削や過少切削になりやすい。③ラウンドバーの刃と刃の狭いスキ間に入り込んだ細菌性汚物や削粉は、ガーゼで清拭しても完全に除去することは難しい。この細菌が付着したバーは、感染のない象牙質に細菌を撒き散らす危険性がある。④ラウンドバーを使用する歯科医師は、低速回転にして軽い力で操作しているので、患者に不快感を与えないと思っている。しかし患者は、頭に削岩機を当てられているほどの不快振動と恐怖感を覚える。

3. まとめ

う蝕象牙質の削除にエキスカを使用することの最大のメリットは、感染う蝕象牙質が選択的に削除され、感染のないう蝕影響象牙質が保存されることである。その結果、過剰切削が回避され、MIを理念とするガイドラインに沿ったう蝕治療を实践することができる。さらにエキスカは、患者に不快感や恐怖感のない安心でやさしいう蝕治療を提供する。（なお今回のセミナーでは、実際のう蝕治療のビデオ映像もまじえて、わかりやすく説明いたします）

接着を活かした垂直破折歯根の治療

北海道大学大学院歯学研究科 歯周・歯内療法学教室

菅谷 勉

歯根破折は永久歯抜歯原因の11%を占め、メンテナンス中の患者では抜歯原因の1位とも報告されており、歯根破折の治療は重要な課題となっている。

垂直破折した歯根は抜歯の適応とされてきたが、接着により保存可能となる症例は多く、歯周組織の破壊状態や破折片の分離状態、破折間隙の汚染状態を診査して、それらに応じて適切な治療法を選択すれば、良好な予後を得ることも可能となってきた。2009年日本歯科保存学会春季大会（札幌）のランチョンセミナーでは、歯根破折による歯周組織破壊のメカニズム、接着に使用するレジンの種類と使用法、各種接着治療法の治癒状態、臨床成績などについて述べた。今回は、各治療法の技術的要点を中心に解説する。

破折歯根の接着方法は、大きく分けると、①根管から破折線を接着する方法、②ポストを接着後に破折線を歯根表面側から接着する方法、③破折歯根を抜歯して接着後に再植する方法、の3つがある。①破折間隙を根管側から封鎖する方法は、超音波スケーラーで破折線を切削して感染源を除去するとともに、レジンの侵入スペースを形成すること、接着時に根管壁や破折線への確実な歯面処理、乾燥が重要である。②ポスト接着後に再植またはフラップ手術で、歯根表面側から破折間隙を封鎖する方法は、ポストが入っているため抜歯や接着操作が容易であるが、レジンの幅が広がると術後にポケットになりやすいので、破折線を切削する際に幅を広げないように注意が必要である。③いったん抜歯して分離した破折片を接着後に再植する方法は、破折線の汚染除去や接着は確実に行えるが、抜歯時に歯根が破折して接着不能になる危険性がある。また、歯根膜の喪失範囲が広く、術後に深いポケットの残存が予想される症例では、再植時に90～180°捻転して再植する方法やエムドゲインを併用する方法もあるが、過大な期待をすべきではない。

垂直破折歯根の治療では補綴処置もきわめて重要で、特に長いポストを確実に接着することが再破折の防止には大切と考えている。歯根膜がすでに一部失われている症例では、歯根膜の残存面積に応じて連結固定を行ったり、メンテナンス時に早期接触の診査と咬合調整を繰り返したりすることも必要である。深いポケットが局所的に残存した場合は、歯周病と同様にメンテナンスが予後を大きく左右する。特に破折部ではプロービングでポケット上皮の最根尖側をとらえることは難しく、プロービングデプスが浅くてもポケット上皮はポケット探針先端より根尖側まで増殖している場合があるので、ポケットが浅くても慎重にメンテナンスを行ったほうがよいと考えている。

垂直歯根破折は抜歯という時代は終焉を迎えようとしているが、歯周組織破壊が著しい症例は保存が困難なため、早期に診断して治療を開始すること、さらに接着、歯内、歯周の知識と技術を総合的に発揮することが、成功率を向上させるためには重要である。

バイオフィーム制御における洗口液の意義

新潟大学大学院医歯学総合研究科 う蝕学分野

竹中彰治

「バイオフィーム」という言葉は歯科界においても定着し、新聞やCMでも用いられることから、患者さんから逆に質問を受けることも多くなってきました。とかく悪者にされ、除去すべき、殺菌すべきとされるバイオフィームですが、口腔は常在菌が絶えず存在し外界と交通する特殊な器官という点で、歯内治療を除いて無菌化を理想とする他の生体内バイオフィームとは違った特徴を持っています。

私達は例外なくバイオフィームと共存しており、バイオフィーム対策の理想は「無菌化」ではなく、「質的量的コントロール」であり、「殺菌」ではなく「制御」であると考えています。

バイオフィーム制御は、どのバイオフィーム形成過程にフォーカスを当てるかによって対策は変わってきます。たとえば、第一段階の付着そのものを抑制する微生物低付着性素材の開発、第二段階の細菌凝集を抑制する阻害剤の開発、第三段階のクオラムセンシングを抑制する阻害剤の開発、第四段階のできてしまったバイオフィームを制御する機械的・化学的コントロールによる殺菌・分散・剥離材の開発が挙げられますが、各ステージで対象となるバイオフィーム構成要素、それに対する制御物質も変化します。

今回取り上げる洗口液は、セルフケアの中の化学的コントロールに位置づけられ、歯ブラシによる機械的コントロールを基本として相補的に用いることで「質的量的コントロール」の相乗効果が得られます。今回は特にリステリン®を中心に洗口液のバイオフィーム制御における意義についてお話しさせていただきます。

リステリン®のプラーク形成抑制、歯肉炎予防のエビデンスは周知のことと思われまので、今回は視点を換え、下記の内容に加え、特に患者さん、歯科医師からいただく洗口液に関する否定的意見をひとつずつ考察しながら、洗口液の存在意義、セルフケアにおける位置づけについて考えてみたいと思います。

1. 洗口液のバイオフィームへの効果
2. 最近2年間の洗口液に関する発表論文のレビュー
3. 洗口液に関する患者さんへのアンケート調査から
4. 音波振動式電動歯ブラシとの併用効果
5. アルコール含有洗口液は口腔がんの発症リスクを増加させる？
6. リステリン®の今後の展開

Single File Root Canal Preparation

神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野

石井信之

歯内療法に大きな変革期が訪れている。疾患原因が直視できずに手探りの治療を続けていた歯内療法は、歯科用マイクロスコープによる直視下のビジュアル歯内療法に変化し、Ni-Ti ファイルによる迅速で正確な根管形成および三次元根管封鎖が可能な根管充填は従来のアートとサイエンスを完全に融合させるユニバーサルデザイン(文化、言語、国籍の違い、年齢や男女の差異、障害や能力の如何を問わずに利用することが可能な製品と情報)として世界で共通した医療として完成しつつある。

根管形成に変革を起こした Ni-Ti ロータリー・ファイルシステムは 2007 年に開発された M-Wire によってさらに発展し、1本のファイルで根管形成を終了することが可能になった。M-Wire は Ni-Ti 合金の熱処理工程を変化させることによって、破折抵抗性を向上させたことが最大の特徴である。2010 年に欧米で発表された Wave One と Reciproc は、M-Wire と往復運動(時計回りに 70 度、反時計回りに 150 度)機能エンジンの開発によって 1本のファイルで根管形成の終了を可能にした。さらに、従来の回転切削器具による根管形成の発想を転換させた SAF(セルフアジャストファイル)も同時期に開発された。SAF は根管洗浄と根管形成(500 回/分の上下運動)を同時に行うことを特徴としたファイルで Wave One, Reciproc と同様に 1本のファイルで根管形成を終了可能にした。

本講演ではシングルファイル・テクニックとして総称される Wave One, Reciproc および SAF による根管形成を紹介し、ユニバーサルデザイン化された歯内療法の現状を概説する。

インパクトファクターは研究者を評価できるか —その成り立ち，考え方と仕組み—

トムソン・ロイター 学術情報ソリューション ソリューションマネージメント

広瀬容子

インパクトファクターは一言でいえば「ある学術雑誌の一論文あたりの平均被引用数」である。「研究者を評価する」指標として耳にする場合があるとすれば、それは誤りである。しかしインパクトファクターの実態をきちんと理解している人は意外に少ない。「私のインパクトファクターはいくつですか」「この論文のインパクトファクターは〇〇です」「インパクトファクターの合計値が100を超えた」など、こういった表現でインパクトファクターという言葉を使ったことがある人はいないだろうか。これらは皆、インパクトファクターに対する誤解から生じている。では、インパクトファクターとは一体どういう数値で、何を根拠にしているのだろうか。

本講演ではインパクトファクターの計算根拠となるデータソース引用索引データベース Web of Science® の概要からはじまり、インパクトファクターの成り立ち、その考え方と仕組み、学術雑誌を評価するためのさまざまな指標について紹介し、研究者の評価により適切なデータの読み取り方とその注意点について解説する。

歯科の情報管理とレセプトオンライン請求について

日本大学歯学部保存学教室修復学講座

日本大学歯学部付属歯科病院歯科医療情報管理部医療情報科

瀧川智義

近年、診療記録の電子化，すなわち，電子カルテシステムが推進され，患者情報を含む医療情報の管理に関して，「医療情報の電子化に係る保存について（通知）（平成 11 年 4 月 22 日）（厚生労働省）」，「個人情報の保護に関する法律（最終改正平成 21 年 6 月 5 日）」および「医療情報システムの安全管理に関するガイドライン Ver. 4.1（平成 22 年 2 月）（厚生労働省）」など多くの関係法規等が告示・通知，そして施行されてきている。

しかし，歯科においては，電子カルテシステムの普及率は医科，調剤薬局に比較して低く，多くの歯科診療所および病院においては紙診療録で運用されている。歯科診療所あるいは病院においては日頃の診療において作成される診療録等の帳票は，歯科診療関係のみならず，租税法あるいは労働基準法などによって保存が義務付けられているものなど数多い。また，歯科エックス線画像，口腔内写真および歯周組織検査等のデジタル化されたものとアナログデータがあり，これらのデータの管理についても同様である。

歯科診療所あるいは病院には，患者情報のほかに診療医およびスタッフの情報がある。それらのすべての管理あるいは情報提供に関しては，その基本は「医療法」にあり，その保存管理については「歯科医師法（昭和 23 年法律 202 号）」第 23 条に規定される診療録は 5 年間保存しなければならないなど診療を行った際に作成される診療録等については一定期間の保存管理義務が課せられているが，保存場所については明確に示されていなかった。しかし，診療録等の電子化が推進されてきた状況を鑑みて，「医療情報の電子化に係る保存について（通知）（平成 11 年 4 月 22 日）（厚生労働省）」，平成 14 年 3 月 29 日に通知「診療録等の保存について（厚生労働省）」が発せられ，電子媒体診療録等の保存のみならず紙媒体診療録等も同様に条件はあるが外部保存が認められた。次いで，平成 17 年 3 月 31 日に通知「診療録を保存する場所についての一部改正について（厚生労働省）」，平成 22 年 2 月 1 日に通知「診療録の保存を行う場所について（厚生労働省）」と発せられ，診療録等の外部保存に関しての指針が示された。しかし，歯科診療所あるいは病院において紙診療録を外部に保存することは，なかなか経済的，物理的にも難しく，実際行われているところはあるのだろうか。また，電子カルテシステムを運用し電子媒体保存を行っている歯科診療所あるいは病院においても，外部保存となるとやはり経済的，物理的にも現在の歯科医療状況では困難であると考えられる。

そして，すでに 1 年が過ぎる想定外とされる東日本大震災においては北関東，東北地域を中心にいままで地域歯科医療に貢献されてきた歯科診療所あるいは病院の多くが地震および津波により大きな被害を受け，多くの器材等および診療録等の各種帳票が消失したと報じられた。そこで，厚生労働省はいままで診療録等の保存は，診療を行った診療所あるいは病院の管理者が，施設基準の届けられた場所に適切に保存するという従来からの通知に追加し，事務連絡「文書保存に係る取り扱いについて（医療分野）（平成 23 年 3 月 31 日）（厚生労働省）」において，震災で滅失した文書に関して，適切な管理下で保存していた診療録等が滅失した場合でも保存義務違反にならないと発した。

今回，その数多くの帳票類の中で歯科診療録を含めた医療情報の保存および個人情報の管理に限定してわかりやすく知見を紹介する。

歯科の情報管理とレセプトオンライン請求について

埼玉県歯科医師会

松見秀之

「レセプトオンライン」という言葉を耳にしてから何年が経過したのでしょうか？

2006年4月に省令が施行され、法的には2007年度から開始されたシステムです。そして今や、その普及率は医科や調剤ではほぼ100%に近くまで電算化率が上がり、歯科も遅ればせながら今年度中には50%を超える状態にまで来ています。

当時からそのメリットは大々的に謳われていました。レセプト管理の効率化・迅速化・自動化・ペーパーレス化・人的ミスの排除など、いわゆるEDI (Electric Data Interchange) を適用することにより得られるメリットそのものであり、大病院であるならまだしも、われわれのような個人立の診療所にとってはそれほどメリットのある話ではなかったように感じていました。その完全義務化には紆余曲折があり、タイムリミット目前の一昨年、政権交代まで起こり、その結果、例外付き完全義務化が昨年4月から始まったわけです。したがって、それ以降の新規開業医療機関やレセコンを入れ替えた医療機関は、例外なく電算レセプトでの請求になりました。2012年1月末で、歯科レセプトの電算率は件数ベースで、43.6% (オンライン8.2%・媒体35.3%) まで進み、今年度中には50%を超えてきます。ちなみに沖縄県は件数ベースで、もうすでに52.9%と半数を超える先進県の一つです。

ではいったいこの一年間で何がどう変化したのでしょうか？ 審査会は大きく変化を遂げようとしています。紙審査から画面審査へ、単科審査から突合点検、単月審査から縦覧審査へと、さらには、単純な事務点検は機械点検に移り、事務共助も機械的背反事例点検や算定回数点検後に行われるようになりました。また、保険者への紙レセプトの送付も激減しています。さらに基金においては「CSV情報以外の付加的なデータの提供を希望する保険者に対し、電子レセプトおよび紙レセプト双方について同一の形式で記録した画像データおよびテキストデータを提供する」といったサービスまで展開しています。つまり、医療機関がどのような形態で請求しようと、審査会から先はもうすでに全てが電子レセプト化され、付加データとともに保険者へ提供されているのです。このことは、保険者にとって資格確認や高額療養費の支給等保険者業務の迅速化および効率化、紙レセプトを保管するためのスペースやコストの軽減、データを活用した保険者事業の展開など、全てが利便性向上に該当します。では診療側はどうでしょうか？ 電算レセプトで請求すると、診療内容のわかる領収書を患者に出すことで再診時1点の加算点数と、国保連合会審査分の支払いが早まる(予定)程度でしかなく、この4月からは逆に診療日データがレセプトに載ることでデメリット(紙レセプトと比較)すら生じてしまっています。患者さんサイドにとってもまだまだ不要な紙資料を医療機関から受け取っていると感じる方が多いようです。

これから国は、これらの医療情報を集約して、政策作りを始めることでしょう。国民全てが本当に良かったと実感できる医療を皆保険制度の下で提供するためには、ある程度の負担をそれぞれの立場で負うことは必要と誰もが考えます。その医療政策のこれからを皆さんと一緒に考え、少しでも具現化すべく学会もこのようなイベントを通じて情報提供していますので、ぜひ皆さんと一緒にディスカッションしましょう。

ホワイトニングと口腔健康管理のコンビネーションを考える

鶴見大学歯学部保存修復学講座

鶴見大学歯学部附属病院口腔機能診療科 白くて美しい歯の外來

大森かをる

ホワイトニングは、歯質に対して最小の侵襲で歯の色調を改善する方法として日常臨床に取り入れている歯科医院が増えている。日本では1998年に(株)松風から松風ハイライトが発売されて以来、オフィスホワイトニング材としては、MGCピレーネ(三菱ガス化学/モリタ)、ティオンオフィス(ジーシー)が新たに認可され、ホームホワイトニング材としては、NITEホワイトエクセル(アストラテック)、松風ハイライトシェードアップ(松風)、オパールエッセンス10%(ウルトラデントジャパン)、ティオンホーム(ジーシー)の4製品が市販されるようになった。また、広義のホワイトニング製品である、歯面コーティング材のデンタルコスメ ホワイトコート(クラレノリタケデンタル)やティースメイクアップシステム ビューティコート(松風)は、ホワイトニングよりも気軽に歯の色調改善を可能とする材料として発売され、審美治療のシミュレーションなどにも利用されている。

ホワイトニングについての講習会は、15年程前は歯科医師対象のものが多くを占めていたが、5年ぐらい前からは歯科衛生士対象の講習に移行し、基本的な知識はかなり浸透したと思われる。特に、歯科衛生士の意識は高く、日本歯科審美学会のホワイトニングコーディネーター制度が2007年に設立されて以来、5年間で資格取得のために8,000人を超す歯科衛生士が講習会を受講し認定試験を受けている。合格した多くのホワイトニングコーディネーターは、全国各地の歯科医療機関で、歯科医師の管理のもとホワイトニングに携わっていると思われる。

ホワイトニングの復習になるが、基本的な流れは、カウンセリングから始まり、問診および口腔内診査の結果により歯科医師が診断、処置方法を決定し、患者の同意が得られた時点でホワイトニングが開始される。期間や回数には、個人差があるが、患者の希望に近い効果が得られた時点で終了することがほとんどで、メンテナンスに移行する。しかし、ホワイトニングだけを希望して来院する患者は、あまり多くないことから、この基本的な流れに沿った処置だけでは、ホワイトニングのメリットを十分に活かしているとはいえない。それにもかかわらず、ホワイトニングの需要が増加しているということは、歯冠色の補綴物やインプラント治療を行う前処置として隣在歯を明るくする場合や、矯正治療後にホワイトニングを希望する患者の増加など、さまざまな処置と組み合わせる症例の増加が考えられる。また、ホワイトニングや歯面コーティングを行うことによって、患者自身が自分の口腔内への関心を高め、セルフケアにも積極的になるため、歯周病に関してもモチベーションの向上が期待される。このホワイトニングの流れの中で、常に重要な鍵となるのが歯科衛生士の業務である。処置中のカウンセリングは、歯科衛生士が行うことがほとんどで、患者の不安を取り除くなど心理的な配慮にも携わらなければならないだけでなく、歯科医師と患者との架け橋になる必要もある。

そこで今回は、ホワイトニングの進め方について改めて紹介するとともに、患者に定期的な来院を促し、口腔内の健康を維持するための方法について、主に歯科衛生士業務を中心に紹介する。

ムタナーゼとデキストラナーゼからなるキメラ酵素作製とその性状

鶴見大学歯学部 保存修復学講座¹ 探索歯学講座²
○大塚 良子¹ 今井 奨² 花田 信弘² 桃井 保子¹

Production and characterization of chimeric enzyme composed of mutanase and dextranase

Department of Operative Dentistry¹, Department of Translational Research²,
Tsurumi University school of Dental Medicine
○OTSUKA Ryoko¹, IMAI Susumu², HANADA Nobuhiro², MOMOI Yasuko¹

【背景】

う蝕の原因菌であるミュータンスレンサ球菌のバイオフィーム形成には、 α -1,3-グルコシド結合と α -1,6-グルコシド結合をともに有する非水溶性グルカンが関与している。このグルカンはミュータンスレンサ球菌の歯面への付着、定着に関与し、う蝕原性バイオフィームの成熟を促す。 α -1,3-グルコシド結合主体の非水溶性グルカンと α -1,6-グルコシド結合主体の水溶性グルカンを同時に分解することができれば、バイオフィーム形成を阻止し、う蝕の発症を抑制することが期待できる。

【目的】

α -1,3-グルコシド結合の分解酵素であるムタナーゼと α -1,6-グルコシド結合の分解酵素であるデキストラナーゼからなるキメラ酵素を作製し、その性状を検討する。

【方法】

Paenibacillus humicus からムタナーゼ遺伝子、*Streptococcus mutans* UA159 株からデキストラナーゼ A (dexA) 遺伝子を、それぞれクローニングし、両遺伝子を同一ベクター内で連結して Lac Z プロモーターの下流に組み込み、大腸菌に導入した。大腸菌を振盪培養して増殖させた後 ($OD_{640}=0.5\sim 0.7$)、IPTG により遺伝子発現誘導を 4~5 時間行った。遠心分離により上清と沈渣に分画し、沈渣をクラッシュャーで機械的に破壊したのち、遠心分離した (上清を Lysate-1 とする)。この沈渣に Qproteome[®]Bacterial Protein Prep Kit (QIAGEN) を用い、タンパク質を可溶化させ遠心分離した (上清を Lysate-2 とする)。さらに、沈渣に Inclusion Body Solubilization Reagent を加え、封入体の破壊を行い遠心分離した (上清を Lysate-3 とする)。

キメラ酵素の活性を基質グルカンからの還元糖の遊離によって測定した。還元糖の定量には Somogyi-Nelson 法を用いた。650nm の吸光度を測定し、標準曲線からグルコース量に換算した。培養上清、Lysate-1、Lysate-2、Lysate-3、最終沈渣をキメラ酵素画分とした。デキストラナーゼに対して 1% デキストラン (Dextran grade C)、ムタナーゼに対して 2% ムタン (防衛医科大学校化学教室 津守秀明先生より供与) をキメラ酵素の基質として用いた。

【結果】

各酵素画分をムタンおよびデキストランと反応させ、それぞれの基質が分解したことを確認した。各画分の酵素活性を比較すると、培養上清、Lysate-1、Lysate-2 で活性が認められ、細胞内に可溶性タンパクとして存在するものが一番多いことがわかった。デキストラナーゼの至適 pH は 5 をピークに 4~5.5 で、ムタナーゼのそれは pH4~6.5 の広いピークであった。キメラ化したことで、ムタナーゼ活性、デキストラナーゼ活性を消失することなく、両酵素の性質を保つことが確認できた。

【今後の展望】

本研究により開発した酵素を用いて、より効果的なバイオフィームの分解と、う蝕発症予防に貢献できる可能性についてさらに検討する。

【会員外研究協力者】

津守 秀明 (防衛医科大学校 化学教室)
野村 義明, 角田 衣理加 (鶴見大学歯学部 探索歯学講座)

Porphyromonas gingivalis のバイオフィルム形成におけるプロテアーゼの役割

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)

○山口幹代, 野村由一郎, 朝日陽子, 前園葉月, 山本れいこ, 呉本勝隆, 林 美加子, 恵比須繁之

The Role for Protease in the Biofilm Formation of *Porphyromonas gingivalis*

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

○Mikiyo Yamaguchi, Yuichiro Noiri, Yoko Asahi, Hazuki Maezono, Reiko Yamamoto, Katsutaka Kuremoto, Mikako Hayashi,
Shigeyuki Ebisu

【研究目的】

Porphyromonas gingivalis は、辺縁性歯周炎や根尖性歯周炎の主要な病原細菌であり、プロテアーゼ、線毛ならびにリボ多糖などの病原因子を有する。また、*P. gingivalis* はバイオフィルムを形成することで、抗菌剤や宿主の免疫機構に対して抵抗性を獲得するため、疾患を難治化・慢性化に導くとともに、バイオフィルムが細菌のリザーバーとなり、遊離した細菌が感染の拡大や急性症状の原因になると考えられる。*Staphylococcus aureus* では、バイオフィルムからの細菌の遊離、すなわちデタッチメントにプロテアーゼが関与していることが報告されている。*P. gingivalis* においても、主要なプロテアーゼであるジンジパインの欠損株およびジンジパインの活性化に関与する遺伝子の欠損株で、野生株と比較してバイオフィルム形成の亢進が認められ、プロテアーゼとデタッチメントの関連が示唆されている。本研究では、プロテアーゼ阻害剤を添加することにより、プロテアーゼのバイオフィルム形成に対する役割を検討した。

【材料および方法】

1. 使用菌株およびプロテアーゼ阻害剤

菌株は、*P. gingivalis* ATCC 33277 を使用した。また、プロテアーゼ阻害剤として、Leupeptin および N-alpha-Tosyl-L-lysine chloromethyl ketone (TLCK) を使用した。

2. バイオフィルムの形成

5 μ g/ml ヘミンと 1 μ g/ml メナジオンを添加した Trypticase Soy Broth (TSB) 培地にて一晩培養した *P. gingivalis* を phosphate-buffered saline (PBS) にて 5×10^8 CFU/ml に懸濁後、唾液処理を施したカバーガラスチャンバー内で 37°C、嫌気条件下にて 24 時間培養し、バイオフィルムを形成した。

3. デタッチメントの検討

上記 2 項の方法で形成したバイオフィルムを洗浄後、サンプルの一部は PBS にて懸濁し、吸光度(OD₅₅₀)を測定した。一方、他のサンプルは、各ウェルに PBS あるいは TSB を添加し、嫌気的条件下にて、4°C あるいは 37°C で 90 分静置し、上清を除去し洗浄後、同一の方法で吸光度(OD₅₅₀)を測定した。両者の量を比較することにより、デタッチメントしたバイオフィルム量を検討した。

4. デタッチメントに対するプロテアーゼ阻害剤の影響

上記 2 項の方法で形成したバイオフィルムを洗浄後、各ウェルに TSB またはプロテアーゼ阻害剤添加 TSB を添加し、嫌気的条件下にて、4°C または 37°C で 90 分静置後、3 項と同一の方法で定量した。

5. バイオフィルム形成に対するプロテアーゼ阻害剤の影響

5 μ g/ml ヘミンと 1 μ g/ml メナジオンを添加した TSB 培地にて一晩培養した *P. gingivalis* を TSB またはプロテアーゼ阻害剤添加 TSB にて 5×10^8 CFU/ml に懸濁後、唾液処理を施したカバーガラスチャンバー内で 37°C、嫌気条件下にて 24 時間培養した。上清を除去し、PBS にて洗浄後、吸光度(OD₅₅₀)を測定した。

6. 統計学的解析

得られた結果は Student's *t*-test にて有意差検定を行った。

【成績】

1. 形成したバイオフィルムに TSB を添加したサンプルは、4°C および 37°C の両方において、PBS を添加したサンプルと比較して残存するバイオフィルムの量が有意に減少した ($p < 0.05$)。

2. 形成したバイオフィルムに TSB を添加した後、37°C で静置したサンプルは、4°C で静置したサンプルと比較して、残存するバイオフィルムの量が有意に減少した ($p < 0.01$)。

3. 形成したバイオフィルムに TSB を添加する際、プロテアーゼ阻害剤を加えたサンプルは、加えなかったサンプルと比較して、37°C で静置した場合は残存するバイオフィルムの量が有意に増加した ($p < 0.05$) が、4°C で静置した場合には有意差はなかった。

4. バイオフィルム形成の際にプロテアーゼ阻害剤を添加したサンプルでは、添加しなかったサンプルと比較して、バイオフィルム形成量が増加した ($p < 0.01$)。

【考察】

TSB を添加したサンプルでは PBS を添加したサンプルと比較して、また 37°C で静置したサンプルでは 4°C で静置したサンプルと比較してデタッチメント量が有意に増加した。また、プロテアーゼ阻害剤を添加することで、デタッチメントが阻害され、バイオフィルム形成が増加した。これらの結果より、バイオフィルム形成細菌は栄養に富んだ条件下または至適温度下でプロテアーゼの発現が増加し、デタッチメントが誘導されることが示唆された。

【結論】

P. gingivalis のバイオフィルム形成において、プロテアーゼはその成長やデタッチメントを制御する一因であることが示唆された。

(本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金(若手研究(B)23792171)の補助の下に行われた。)

マイクロコスモバイオフィームによる *in vitro* 表層下脱灰病巣モデルの確立

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 感染防御学講座 微生物学分野²,
○富山 潔¹, 向井義晴¹, 熊田秀文², 椎谷 亨¹, 渡辺清子², 浜田信城²,
寺中敏夫¹

Establishment of the microcosm biofilm model inducing subsurface dentin lesions *in vitro*

¹Div. of Restorative Dent, Dept. of Oral Medicine, ²Div. of Microbiology, Dept. of Infection Control,
Kanagawa Dental College

OTOMIYAMA Kiyoshi¹, MUKAI Yoshiharu¹, KUMADA Hidefumi², SHIYA Toru¹,
WATANABE Kiyoko², HAMADA Nobushiro²,
TERANAKA Toshio¹

【研究目的】現在までに、バイオフィームの性質の解明および齲蝕予防を目的としたコーティング材、充填材料、抗菌薬などの開発を目的として様々なバイオフィームモデルが開発されている。しかしながら、口腔内プラークの基質への強固な附着および基質の違いによるプラーク代謝の相違を再現すると共に、さらには抗菌薬の濃度、処理回数を正確に反映できる実験モデルは Exterkate らが報告するまで報告されていなかった (Caries Res, 2010)。我々は、マイクロコスモバイオフィームの長期培養モデルを確立し第 133 回本学会において報告した。本研究では、この長期モデルを応用し、バイオフィームが歯質の脱灰に関与する新しい *in vitro* 表層下脱灰病巣モデルを確立することを目的として、バイオフィームの糖代謝および総細菌数と象牙質の脱灰様相との関係についての検討を行なった。

【材料および方法】ウシ下顎中切歯の歯根部の歯頸部直下から 8 mm 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、さらに直径 6 mm 厚さ 1 mm の円盤状象牙質試料を切り出した。試料 2 枚の表面が両側となるように貼りわせ、バイオフィーム形成用試片とした。実験群は、①ガラス群 (G), ②対照群 (F 非含有: 0F), ③0.2 ppm F 含有培養液群 (0.2F), ④2.5 ppm F 含有培養液群 (2.5F) の 4 群とした (n=6)。バイオフィームの培養には、1 被験者から採取した刺激唾液を用い、バイオフィームモデルとして Amsterdam active attachment model (Exterkate RAM ら, 2010) に従い、培養は McBain 2005 (0.2% スクロース含有) を用い、培養液の交換を 10 時間、14 時間の間隔で 1 日 2 回行なう連続嫌気培養を 8 日間行なった。交換済みの培養液に対して pH の測定 (9618-10D, F-71, Horiba) を行なった。その後、実験終了時に血液寒天培地を用いて生菌数測定を行なった。さらに培養終了後の象牙質試片より厚さ 300 μm の薄切切片を作製し、Transversal Microradiography (TMR) を撮影後 (PW3830, Spectris, UK), ミネラル喪失量 (IML) を測定し (TMR2000, Inspector, The Netherlands) した後、One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5% にて統計学的分析を行ない、各群の脱灰様相を比較検討した。

【結果】0.2 F 群および 2.5 F 群では、明瞭な表層を伴った表層下脱灰病巣の形成が確認され、2.5 F 群の表層ミネラル密度は 0.2 F 群に比較して上昇していたが、対照の 0 F 群では表層が不明瞭な脱灰病巣が形成されていた。0.2 F 群および 2.5 F 群の表層には、ラミネーション構造が認められた。各群の平均 IML (vol%×μm) は、他群に比較して 0 F 群が有意に大きく、0.2 F 群と 2.5 F 群間に有意差は認められなかった。バイオフィーム実験終了時の pH は、G 群 (4.15), 0 F 群 (5.6), 0.2 F 群 (5.6), 2.5 F (5.5) であり、G 群の pH が最も低かった。また象牙質上で培養した 3 群の総細菌数は G 群に比較して有意に多かった。

【考察】口腔内唾液に含まれるフッ化物濃度であるとされる 0.2 ppm F を含有させたマイクロコスモバイオフィームモデルは表層を伴う象牙質脱灰病巣を形成した。象牙質で培養を行なった 3 群の pH は、G 群に比較して顕著に高い値を示し、象牙質から溶出した成分が緩衝作用を生じさせている可能性が示唆された。さらに培養の終了時点においては 3 群 (0 F, 0.2 F, 2.5 F) の pH 値間には有意差が認められなかったが、0.2 ppm F および 2.5 ppm F は、バイオフィームによる象牙質の脱灰過程において表層形成の役割を担うとともに脱灰抑制を促すが、総細菌数やバイオフィーム中の細菌の糖代謝には大きな影響を及ぼさない可能性があることが判明した。これらの結果より、本モデルはバイオフィームの性質、細菌叢の多様性の分析、各種抗菌薬の効能、齲蝕の予防効果を期待したコーティング材および充填材料の評価など、様々な分野への応用が期待できることが示唆された。

【結論】マイクロコスモバイオフィームを用いた *in vitro* モデルは、口腔内を模した、表層下脱灰病巣を誘発できることが確認された。したがって本モデルは、実際の口腔内におけるバイオフィーム形成過程を再現しており、齲蝕のメカニズム解析およびその予防法・治療法を検討するための最も効果的な手法と思われる。

再石灰化されたエナメル質表層下脱灰層を再度脱灰したときの性状変化に関する研究

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○林 真希, 村上景子, 堀江 卓, 富士谷盛興, 千田 彰

Changes in characteristics of demineralized enamel subsurface lesion treated with remineralization

Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○HAYASHI Maki, MURAKAMI Keiko, HORIE Taku, FUJITANI Morioki, SENDA Akira

【研究目的】

エナメル質表層下脱灰層には、再石灰化によりミネラル量の回復や結晶構造の変化などが起こり、ある程度の耐酸性が獲得されるといわれている。しかしながら、再びエナメル質表層で脱灰と再石灰化の平衡関係が崩れ脱灰に傾くと、耐酸性を獲得した初期エナメル質う蝕と同様に窩を形成する可能性がある。

再石灰化した表層下脱灰層を再度脱灰したときのミネラル量の変化については、いくつかの報告がある。しかし、これらのほとんどは再石灰化した表層下脱灰層の表層のみについて検討したものであり、表層下脱灰層の深層を含めて検討した報告はほとんど見受けられない。

本研究は、再石灰化したエナメル質表層下脱灰層を再度脱灰した場合、脱灰層の深層も含めて脱灰された部分の性状変化や結晶構造について検証することとした。そこでまずミネラルの挙動を検索することを目的に、表層下脱灰層をフッ化物あるいは CPP-ACP (カゼインホスホペプチド-非結晶性リン酸カルシウム複合体) で再石灰化し、再度脱灰したときのミネラル量の変化、ならびに再石灰化層のミネラルの耐酸性を検討した。

【材料および方法】

新鮮ウシ抜去前歯唇側エナメル質から 5×4×3 mm のブロックを切り出し、唇側面 (#2000 仕上げ) に設けた 3×2 mm の矩形面以外をネイルバーニッシュでマスキングし、試片とした。試片全体を脱灰ゲル (0.1M 乳酸, 8 % methylcellulose, pH 4.6, 37 °C) に 10 日間浸漬して表層下脱灰層を作製した。次に、CPP-ACP ペースト (MI Paste, ジーシー, 以下 MI (群) と略す) およびリン酸酸性フッ化ナトリウムゼリー (フルオール・ゼリー, 東洋製薬, 以下 F (群) と略す) を再石灰化促進物質として用いて再石灰化した。すなわち、MI 群は 1 日 2 回 (1 回: 30 分), F 群は 1 日 1 回 (30 分) それぞれ定時に 7 日間塗布し、処理時間以外は唾液基準ミネラル溶液 (1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 20 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7.0, 37 °C) に保管した。再石灰化後、再び人工脱灰液* (50 mM 酢酸, 1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, pH 4.6, 37 °C) に 6 日間浸漬した。なお、健全エナメル質も同様に脱灰し、これをコントロールとした。表層下脱灰層作製時、再石灰化時、および再脱灰時の各試片からそれぞれ調製したスライス標本 (100 μm 厚) を用いて、Contact Microradiography (管電圧 10 kV, 管電流 2 mA, 照射時間 5 分) を撮影し、分析用ソフト (Win ROOF, 三谷) を用いて脱灰層の表層側および深層側のミネラルプロファイルを作製した。

【結果および考察】

本実験の条件下では、MI 群、F 群いずれの実験群においても表層下脱灰層を再石灰化した場合のミネラルの取り込み量は、表層下脱灰層の表層側の方が深層側より多かった。しかしながら、再石灰化後のミネラルの総量は表層側の方が深層側よりも少なく、また、健全エナメル質のミネラル量と同程度までには回復しなかった。ところが再石灰化した表層下脱灰層を再度脱灰した場合の脱灰量は、深層側の方が表層側より多かった。このことから、表層下脱灰層を再石灰化した場合、表層側の方が深層側に比べ耐酸性が向上することが判明した。したがって、健全エナメル質、表層下脱灰層、あるいは再沈着したミネラルの結晶構造の変化など、さらに検討する必要があると思われた。

【結論】

再石灰化したエナメル質表層下脱灰層を再度脱灰したときの表層側および深層側のミネラルの挙動について検討し、以下の知見が得られた。

- 1) 表層下脱灰層を再石灰化した場合のミネラルの取り込み量は、表層下脱灰層の表層側の方が深層側より多かった。
- 2) 再石灰化した表層下脱灰層を再度脱灰した場合の脱灰量は、深層側の方が表層側より多かった。
- 3) 再石灰化した表層下脱灰層の表層側は、深層側に比べ耐酸性が向上した。

【参考文献】

* 富永貴俊, 他: エナメル質再石灰化病巣の物理的・化学的安定性; 日歯保存誌 51, 226-234, 2008.

クロルヘキシジン配合セルフエッチングアドヒーシブの *Streptococcus mutans* に対する抗菌性

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
○森本 紗也子、西谷 佳浩、星加 知宏、吉山 昌宏

Antibacterial effects of an experimental self-etching adhesive incorporated chlorhexidine against *Streptococcus mutans*

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○MORIMOTO Sayako, NISHITANI Yoshihiro, YOSHIYAMA Masahiro

【研究目的】コンポジットレジンによる接着修復材料の進歩はめざましく、接着力・耐久性・審美性においても優れることから現在の臨床において広範囲に使用されている。しかしながら接着界面からの二次う蝕の発現は依然として多い。このことから接着界面での抗菌作用を持つ修復材料が二次う蝕の発現抑制につながるのではないかと考えた。数ある修復材料の中ではグラスアイオノマーセメントが細菌に対し発育抑制があることが報告されているが、接着性コンポジットレジン修復と比較すると審美性、耐久性が劣るとされている。そこで本研究では接着界面での二次う蝕の発現抑制を目的とし、クロルヘキシジンを配合した試作セルフエッチングアドヒーシブを用いて抗菌性について検討を行った。

【材料および方法】供試菌として *Streptococcus mutans* (以下 *S. mutans*) を使用し、TSBY 培地を用いて培養した。試作アドヒーシブに 0%、1%、2%、3%、4%、5% のクロルヘキシジン (SIGMA 社) を配合したクロルヘキシジン配合セルフエッチングアドヒーシブ (以下 CHSEA) をそれぞれに作製し、実験に供した。

1. 未重合における CHSEA の抗菌作用をディスク拡散法にて検討した。620nm における OD 値 (濁度) 0.1 の *S. mutans* 菌液 100 μ l を TSBY 寒天培地上に播種し、その培地上に各試作 CHSEA を 5 μ l ずつ吸収させた直径 6 ミリの円形ろ紙を置いた。その後 36.5°C で 24 時間培養させた後の阻止円を検討した。コントロールとして、クロルヘキシジンそのものの抗菌性を CHSEA と比較するため同様にクロルヘキシジンを配合した PBS についても検討を行った。

2. 重合後の CHSEA の抗菌作用を以下の方法により検討した。各試作 CHSEA 1g を重合させた後、それぞれ室温にて 3 週間滅菌水 3 ml に浸漬させた (以下 CHSEA 水とする)。この CHSEA 水 900 μ l に 10 倍濃度の TSBY 培地 100 μ l を混合し、さらに OD 値 (濁度) 10^{-5} の菌液 10 μ l を添加した。36.5°C で 24 時間反応させた後、100 μ l を TSBY 寒天培地に播種し、さらに 24 時間培養後に生じた集落数を計測した。

【結果】未重合 CHSEA の抗菌作用をディスク拡散法にて検討した結果、クロルヘキシジン配合 PBS ではいずれにおいても阻止円がみられたが濃度間の差はみられず、CHSEA においても同様であった。クロルヘキシジンを配合しない CHSEA 及び PBS では全く阻止円はみられなかった。重合後の CHSEA を使用した実験においては、3% 以上の CHSEA 水を用いた場合において細菌集落数の減少が認められた。

【考察】未重合における CHSEA の抗菌作用は、1~5% のクロルヘキシジンを配合した場合には濃度による差がみられなかった。このことからクロルヘキシジン配合 1% 以下についても抗菌性があると期待される。さらに CHSEA 中のクロルヘキシジンが寒天培地に拡散することによって阻止円が形成されたと思われる。

また CHSEA 水を使用した実験では 3~5% のクロルヘキシジン配合濃度では細菌集落数の減少がみられた。これは硬化した CHSEA からクロルヘキシジンが徐放され *S. mutans* の細菌集落を減少させたと思われる。以上のことからセルフエッチングアドヒーシブにクロルヘキシジンを配合した場合には、未重合でも重合後でも *S. mutans* の発育抑制を行い、接着界面における二次う蝕発現を抑制する可能性が示唆された。

ルシフェラーゼレポーターアッセイによるレジンモノマー解毒代謝応答の評価

¹愛知学院大学歯学部歯内治療学講座, ²愛知学院大学歯学部生化学講座,
³愛知学院大学歯学部高齢者歯科学講座, ⁴愛知学院大学歯学部歯科理工学講座
○折本 愛¹, 鈴木崇弘², 上野温子³, 河合達志⁴, 中村 洋¹, 金森孝雄²

Detoxification responses to resin monomers estimated with a luciferase reporter assay

¹Department of Endodontics, ²Department of Biochemistry, ³Department of Gerodontology,
and ⁴Department of Dental Material Science, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Ai Orimoto¹, Takahiro Suzuki², Atuko Ueno³, Tatushi Kawai⁴, Hiroshi Nakamura¹, Takao Kanamori²

【研究目的】

アクリル系レジンの未重合モノマーは細胞障害性を有する。レジンモノマーの毒性に対する細胞応答を明らかにすることは、レジンの安全な使用法を考え、また新規レジンの開発を行う上で重要である。我々はこれまでに、ルシフェラーゼを用いたレポーターアッセイにより、メチルメタクリレート(MMA)が、抗酸化剤応答配列 (Anti-oxidant Responsive Element:ARE) を介した転写活性化によりグルタチオン-S-トランスフェラーゼ alpha 1 (*GSTa1*) 遺伝子の発現誘導を行うことを明らかにしている (Hattori et al. J. Dent. Res. 87(12):1117-1121, 2008)。しかしながら、他のモノマーに関しては解毒代謝遺伝子発現に関する報告は未だに無い。今回、我々は、ARE を有するレポーターベクターの改良を行い、ジヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)の ARE を介した転写活性への作用について、MMA との比較解析を行った。

【材料と方法】

TATA box を含む最小プロモーター (minP) を有するホタルルシフェラーゼベクター (pGL4. 23, Promega) を用いて、*GSTa1* 遺伝子 (ENSMUSG00000074181) の 5' 上流領域に存在する ARE (-729/-689, 41 bp; 8 bp のコンセンサス配列を 2 個含む) を 1-3 個有するレポーターベクターを構築した。また、応答率向上の目的で、hPEST または hPEST/hCL1 タンパク質分解配列を含む不安定化ホタルルシフェラーゼベクター (pGL4. 24 と pGL4. 25, Promega) も用いた。*GSTa1* プロモーター活性は、*GSTa1* 遺伝子の 5' 上流領域 990 bp を有するベクター (pGL4. 10-mGSTa1pro990) を用いて評価した。また、モデル細胞としては、解毒応答に優れるヒト肝がん細胞株 HepG2 を用いた。ARE を有するレポーターベクターをトランスフェクションして 24 時間培養した HepG2 細胞に対して、MMA、HEMA を添加し一定時間培養した。その後、細胞溶解液を回収し、ルシフェラーゼ活性をルミノメーターにより測定した。内部標準としては、CMV プロモーターを有するレニラルシフェラーゼベクター (pRL-CMV) を共導入し、相対的な発光活性を算出した。

【結果および考察】

ARE を 1-3 個有するレポーターベクターについて、MMA (10 mM) の作用を比較検討した結果、ARE を 2 個タンデムに有する minP ベクター (pGL4. 23-2xARE) の応答率が最大 (3.9 倍) であり、pGL4. 10-mGSTa1pro990 と同等であったことから、ARE を介した転写活性を調べる上では、*GSTa1* の ARE を 2 個有するベクターが最適と考えられた。そこで次に、ARE を 2 個タンデムに有する不安定化ホタルルシフェラーゼベクター (pGL4. 24-2xARE と pGL4. 25-2xARE) を作出して MMA の作用を調べた結果、hPEST タンパク質分解配列のみを有する pGL4. 24-2xARE では、無刺激時の発光活性が pGL4. 23-2xARE に対して 1/10 になるものの、10 mM MMA に対する応答率が 8 倍へと上昇した (刺激後 6 時間で最大)。タンパク質分解配列として hPEST と hCL1 の両方を有するベクター pGL4. 25-2xARE を用いてもこれ以上の応答率の改善は認められなかった。次に、MMA に対して最大の応答率を示した pGL4. 24-2xARE をレポーターベクターを用いて、HEMA の作用を検討したところ、MMA と比較して HEMA は低濃度 (0.1 mM) から有意に作用を示し、10 mM で 22 倍という強い作用を示した。

【結論】

応答率の高いレポーターベクターを作出することで、HEMA は MMA と比較して、ARE を介した転写活性に対して低濃度から高い作用を示すことが明らかとなった。我々の構築した解毒代謝応答についての細胞評価系は、レジンモノマーの生体有害作用を解析する上で有用と考えられる。

ラット歯髄細胞における β -catenin による ectodin 発現と象牙芽細胞分化について

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、横瀬敏志

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

Division of operative dentistry, Department of conservative dentistry, Ohu university school of dentistry
○ Hiroshi Kadokura and Yokose Satoshi

【研究目的】

Wnt シグナル経路は個体発生や形態形成において重要な働きをしている。歯の発生過程にも Wnt は発現し、細胞の運命付けや増殖と分化に大きく関わっていることが知られている。一方、DAN/cerberus に属する ectodin は Wnt および BMP のアンタゴニストと考えられており、ectodin のノックアウトマウスでは歯数の異常や咬頭形態の異常が認められる。しかし、象牙芽細胞分化における Wnt シグナル経路の役割および ectodin 発現については不明な点が多い。本研究は象牙芽細胞分化における Wnt シグナルと ectodin の関わり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、各群の ectodin mRNA の発現についてリアルタイム 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 ALP 陽性の細胞に囲まれた石灰化結節が認められたが、LiCl 添加群では石灰化結節の形成は減少した。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。また、LiCl 添加群では対照群に比較して ectodin の発現が亢進した。骨芽細胞は象牙芽細胞と同様の石灰化基質を分泌することが知られている。これまでに canonical Wnt/ β -catenin シグナルは骨芽細胞の分化を促進することが報告されている。また、BMP は象牙芽細胞の石灰化結節形成を促進させることが報告されている。これらの事から canonical Wnt/ β -catenin シグナルにより Wnt および BMP のアンタゴニストである ectodin の発現が亢進し、その結果として象牙芽細胞の分化が抑制されたことが示唆された。

【結論】

Canonical Wnt/ β -catenin シグナルはラットの象牙芽細胞の ectodin 発現を誘導し、象牙芽細胞分化を調節していることが示唆された。

FGF-2 による KN-3 細胞の象牙芽細胞分化メカニズムの解析

九州歯科大学口腔治療学講座齲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

○鷺尾絢子¹、寺下正道²、北村知昭¹

Mechanism of odontoblast differentiation of KN-3 cells by FGF-2.

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>

我々はこれまでに樹立した、Runx-2、Dentin sialophosphoprotein (DSPP) および collagen type I の発現や石灰化能 (象牙質形成能) といった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) を用い、歯髄創傷治療および再生メカニズムを詳細に検討している。その成果のひとつとして、Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) による刺激が KN-3 細胞の Smad シグナル伝達経路を活性化し、Dentin sialoprotein (DSP) および Dentin matrix protein-1 (DMP-1) の発現を誘導することを明らかにした。さらに第 134 回 日本歯科保存学会春季学術大会において、我々は Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) 刺激により KN-3 細胞の細胞突起伸長が誘導されること、石灰化能は抑制されること、神経細胞分化マーカーである Neurofilament 68 (NF68) の発現は認められない一方で象牙芽細胞分化マーカーの発現に変化が認められたことを報告した。以上の結果は、FGF-2 刺激による KN-3 細胞の突起伸長は、神経細胞分化による形態変化ではなく象牙芽細胞分化における形態変化であることを示唆している。今回、FGF-2 による KN-3 細胞の細胞突起伸長と象牙芽細胞分化との関連性を明らかにするため、FGF-2 刺激後の KN-3 細胞における細胞内シグナル伝達経路の解析をおこなった。

<材料と方法>

FBS 含有 α -MEM に各種濃度 (5~100 ng/ml) の FGF-2 を添加することにより KN-3 細胞を刺激した。一定時間培養後にタンパク質を抽出し、ウエスタンブロット法により FGF-2 シグナル経路に関与する PI3 kinase/Akt 経路および MAP kinase 経路上で機能する各種情報伝達分子の FGF-2 濃度依存性・刺激時間依存性のタンパク質発現およびリン酸化の状態を解析した。

<結果>

FGF-2 で KN-3 細胞を刺激することにより、Akt、p38 および ERK のリン酸化が認められた。Akt および p38 は FGF-2 濃度に依存しないリン酸化を示したが、ERK リン酸化は FGF-2 濃度 5 ng/ml において発現が強く認められた。次に、FGF-2 濃度 5 ng/ml で KN-3 細胞を刺激し、各シグナル伝達分子リン酸化への経時的影響を検討した。その結果、刺激時間 30 分において Akt、p38 および ERK のリン酸化が強く認められた。

<考察>

今回、FGF-2 刺激により KN-3 細胞の PI3 kinase/Akt 経路および MAP kinase 経路ともに活性化されることが明らかとなった。以上の結果は、FGF-2 刺激による KN-3 細胞の突起伸長が PI3 kinase/Akt 経路および MAP kinase 経路を介して誘導されることを示唆している。

<結論>

象牙芽細胞の特徴を有する KN-3 細胞は FGF-2 の刺激により PI3 kinase/Akt 経路および MAP kinase 経路を介して象牙芽細胞へと分化していることが示唆された。

ヒト歯髄細胞培養系においてアナンダマイドは Cannabinoid-1 receptor、Transient Receptor Potential Vanilloid-1 を介して MMP-2 産生を誘導する

鹿児島大学大学院医学総合研究科顎顔面機能再建学講座歯科保存学分野
○宮下桂子、小山徹、作田哲也、森元陽子、藤澤真理、徳田雅行、鳥居光男

Anandamide Induces Matrix Metalloproteinases-2 Production Through Cannabinoid-1 Receptor and Transient Receptor Potential Vanilloid-1 in Human Dental Pulp Cells in Culture

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

○MIYASHITA Keiko, OYAMA Tohru, SAKUTA Tetsuya, MORIMOTO Yoko, FUJISAWA Mari, TOKUDA Masayuki, TORII Mitsuo

[研究目的]

マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) は細胞外マトリックスを分解する酵素で、様々な炎症性の疾患において重要な役割を果たすと考えられている。歯髄炎においては、MMP-2, -8, -9 の発現が上昇することが、また根尖病変においては MMP-1, -2, -8 および -9 のポジティブ細胞の割合の増加が報告されている。これらのことより MMP-2 を含む MMPs が、歯髄炎や根尖病変の発症に影響を及ぼしている可能性が示唆されている。

アナンダマイド (AEA) は生体内脂質メディエーターである内因性カンナビノイドのひとつであり、鎮痛作用のみならず、免疫調節、炎症、細胞浸潤など様々な作用を持つことが知られている。AEA のレセプターとしては、カンナビノイド (CB) レセプター (CB1, CB2) と TRPV1 が知られており、これまで歯髄組織の神経線維に CB1 と TRPV1 の発現が、さらにヒト培養歯髄細胞では TRPV1 の発現が報告されている。

種々の細胞において AEA やそのアナログが MMP-2 の産生を誘導すること、もしくは抑制することが知られている。我々の研究室では、第 130 回日本歯科保存学会春季学術大会で、歯髄細胞においては、AEA は、主として JNK 活性化を介して MMP-2 産生を誘導することを報告した。そこで本研究では、ヒト培養歯髄細胞における AEA レセプターの発現と MMP-2 産生への関与を検討した。

[材料および方法]

1. ヒト歯髄細胞の培養

矯正学的理由により抜去された第一小臼歯より歯髄細胞を採取し、10%FBS 添加 D-MEM で培養した。実験には 5~10 代までの細胞を用いた。

2. ヒト培養歯髄細胞における CB1, CB2, TRPV1 の発現をウェスタンブロット法にて検討した。

3. ヒト培養歯髄細胞を CB1, CB2, TRPV1 のアンタゴニストを用いて前処理した後 AEA で刺激し、MMP-2 産生の阻害の有無をウェスタンブロット法にて検討した。

4. さらに AEA 刺激時の MMP-2 産生への関与が示唆された CB1, TRPV1 については siRNA にて knockdown し、その影響を確認した。

[結果]

1. ヒト培養歯髄細胞において CB1, CB2, TRPV1 の発現を確認した。

2. ヒト培養歯髄細胞において AEA が誘導する MMP-2 産生は CB1 および TRPV1 のアンタゴニストにより抑制された。

3. ヒト培養歯髄細胞において AEA が誘導する MMP-2 産生は CB1 siRNA, TRPV1 siRNA による knockdown 実験でもレセプターアンタゴニストの結果と同様に抑制された。

[考察]

ヒト培養歯髄細胞における AEA の MMP-2 産生の誘導は CB1, TRPV1 を介したものであることが示された。

骨芽細胞培養系におけるフィッシュコラーゲンペプチドのコラーゲンの質と石灰化に及ぼす影響

¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野,²NC Oral Health Institute, School of Dentistry, University of North Carolina at Chapel Hill,³長崎大学産学官連携戦略本部共同研究支援部門先端科学支援室
○山田 志津香^{1,2}, 長岡 秀明², 寺嶋 雅彦², 津田 信明³, 林 善彦¹, 山内 三男²

Effects of Fish Collagen Peptides on Collagen Quality and Mineralization in Osteoblastic Cell Culture System

¹Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, ²NC Oral Health Institute, School of Dentistry, University of North Carolina at Chapel Hill, ³Center for Industry, University and Government Cooperation, Nagasaki University
○Shizuka Yamada^{1,2}, Hideaki Nagaoka², Masahiko Terajima², Nobuaki Tsuda³, Yoshihiko Hayashi¹, Mitsuo Yamauchi²

【研究目的】

コラーゲンは、組織工学や再生医療において最も広く利用されている生体材料の一つである。口蹄疫や牛海綿状脳症などの人畜共通感染症の問題から、最近では魚の骨、皮、鱗から抽出したコラーゲンが健康補助食品、食品および化粧品の添加材として利用されている。しかし、魚コラーゲンの細胞機能への影響に関する EBM は殆どない。そこで、本研究では、マウス頭蓋骨由来前骨芽細胞(MC3T3-E1 細胞)を用いて、コラーゲンの質と石灰化に関するフィッシュコラーゲンペプチド(FCP)の影響を検討した。

【材料および方法】

実験に用いた FCP は焼津水産化学工業(静岡)から供与された。まず、FCP を α -MEM に溶解し、5% (w/v)溶液を作製した。次に MC3T3-E1 細胞を 6 穴皿に 2×10^5 cells/well 播種し FCP 不含培地で培養した。コンフルエント後、5% FCP 溶液を総濃度 0.05, 0.1, 0.2, 0.5%となるよう培地に添加し、48 時間培養後、コラーゲン翻訳後修飾に関連する酵素[リシルヒドロキシラーゼ(LH)1-3, リシルオキシダーゼ(LOX), リシルオキシダーゼ類似(LOXL)1-4, グリコシルトランスフェラーゼ 25 ドメインコンテイング 1(GLT25D1)]の遺伝子発現をリアルタイム PCR 法により検討した。FCP 溶液を含有しない培地で培養した細胞を対照群とした。その後、至適濃度の FCP 溶液を含有する培地で培養を行い、2, 5, 7, 10, 14 日目に血球計算盤を用いて細胞数を計測した。培地は 3 日ごとに交換された。さらに、上記条件で培養を行い、培養 14 日目に細胞/基質を回収し、洗浄、凍結乾燥後、 NaB^3H_4 で還元し、6N 塩酸で加水分解した。その後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて、対照群と FCP 実験群のアミノ酸分析ならびにコラーゲン架橋測定を行った。最後に、同条件で細胞を播種、培養して、コンフルエント後、FCP に加えて 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のアスコルビン酸と 2mM の β グリセロリン酸含有の培地に置換した。培養 21 日目に 100%メタノールで細胞を固定して、1%アリザリンレッド S で染色を行った。染色された細胞は、Gregory らの方法 (*Analytical Biochemistry*, 329, pp. 77-84, 2004) を用いて評価した。

【結果】

飛行時間型質量分析法により、今回使用した FCP は分子量約 2,351~8,028 のペプチドであることが判明した。MC3T3-E1 細胞が、0.2%(w/v) FCP 含有培地で培養されたとき、LOX と LOXL1 を除く LH 1-3、LOXL 2-4、GLT25D1 の遺伝子発現が有意に増加した。よって、至適濃度を 0.2%(w/v)と決定した。そして、細胞増殖実験では、培養 5 日目を除いて、0.2% FCP 実験群と対照群間では細胞数に有意差はなかった。さらに培養 14 日目、細胞が産生したコラーゲン量を分析した結果、0.2% FC 実験群が対照群より有意に多かった。また、コラーゲン架橋に由来するヒドロキシリシン(Hyl)ならびに Hyl アルデヒド型が、0.2% FCP 実験群において有意に高いレベルを示した。さらに、石灰化誘導培地での 21 日間培養後のアリザリンレッド S 染色では、FCP を添加することにより、多くの石灰化塊を観察することができた。

【考察】

コラーゲンの糖鎖形成の役割についてはまだ十分に明らかではないが、GLT25D1 が I 型コラーゲンの Hyl にガラクトースを付加することが最近の研究で明らかとなっている。架橋部位の糖鎖形成の量と様式はコラーゲン架橋形成と成熟に重要な役割を果たす。本研究の結果、FCP は GLT25D1 の遺伝子発現を増加させ、アルデヒド型の総量には影響を及ぼさなかったが、Hyl アルデヒド型由来架橋経路に変化をもたらした。また、基質性石灰化が亢進したのは、コラーゲン産生量が増加したこと、ならびに上記経路の変化によりコラーゲン架橋の成熟が促進したことによるものと考えられる。これらのことから、FCP は、骨芽細胞培養系においてコラーゲン翻訳後修飾に関連する酵素の遺伝子発現を上方制御することでコラーゲン合成、質および基質性石灰化にポジティブな影響を及ぼしていることが示唆された。

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ピング

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ー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ーとは異なり、内向きの機能的テーパーを有することで、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¹
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²
○武藤徳子¹, 渡部弘隆¹, 佐藤武則¹, 大島勇人², 石井信之¹

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）を適法に従い塗布後、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、適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

¹日本歯科大学新潟病院 総合診療科

²日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座

³日本歯科大学 名誉教授

○平 賢久¹, 鈴木雅也², 加藤千景², 加藤喜郎³, 新海航一²

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

¹Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

²Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

³Professor Emeritus, Nippon Dental University

○TAIRA Yoshihisa¹, SUZUKI Masaya², KATO Chikage², KATOH Yoshiroh³, SHINKAI Koichi²

【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%H₂O₂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

¹⁾ 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

²⁾ 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 part2

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

²⁾ Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
○YAMADA Rie¹⁾, ARAI Kyoko²⁾, KITAJIMA Kayoko²⁾, MATSUDA Koichiro¹⁾ and IGARASHI Masaru²⁾

【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のと同時に、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 1.0×10^5 個/wellを加えてコラーゲンゲル内培養を行った。37°C CO₂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 8×10^5 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染色も行い光顕にて観察した。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¹
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²
○古畑和人¹ 和達礼子¹ 小林千尋¹ 若林則幸² 須田英明¹

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

Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences¹
Removable Partial Prosthodontics, Department of Masticatory Function Rehabilitation²
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○FURUHATA Kazuto¹, WADACHI Reiko¹, KOBAYASHI Chihiro¹, WAKABAYASHI Noriyuki², SUDA Hideaki¹

【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】

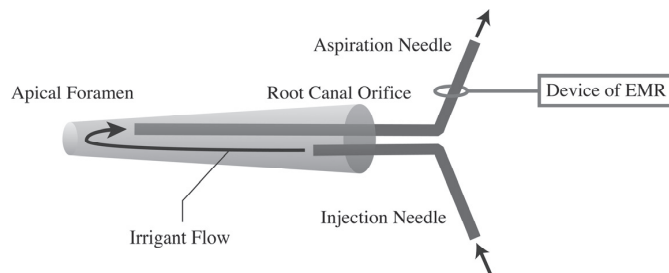
三次元根管モデルとして、根尖孔の直径0.4 mm、テーパ0.06で断面が円形で直線的な根管を作製した。吸引針ならびに洗浄針としては、iNP-40ニードル(みくに工業、長野)の三次元モデルを作製した。CFDソフトウェアパッケージOpenFOAM(SGI, US)を用いて、これらのモデルから得られる根管洗浄液の流れる空間の六面体メッシュを作成した。針先端の位置は根尖孔から1、2、4 mm根管口側に設定した。この3種のモデルに対して初期条件および境界条件を与えて計算を行った。初期条件として、流入口と流出口の差圧を15KPa、根管洗浄液の動粘性係数を27°Cの水を想定して設定した。境界条件としては、根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¹⁾

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²⁾

○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 Dentistry¹⁾

Divisions of Advanced Dental Treatment Nihon University School of Dentistry²⁾

○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。そのためには髓腔開拓、髓角部、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、髓腔開拓には 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

¹⁾ 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

²⁾ 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¹⁾、新井恭子²⁾、北島佳代子²⁾、山田理絵¹⁾、五十嵐 勝²⁾

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

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

²⁾ Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
○MATSUDA Koichiro¹⁾, ARAI Kyoko²⁾, KITAJIMA Kayoko²⁾, YAMADA Rie¹⁾ and 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。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 mm²、最小 2.95 mm²、平均±SD は 3.27±0.19 mm²、内湾で最大 7.98 mm²、最小 3.81 mm²、平均±SD は 4.88±1.31 mm² 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[^], EBIHARA Arata*, and SUDA Hideaki*

*Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

[^]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 ± 180.5 cycles (minimum: 270) and 6.44 ± 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.

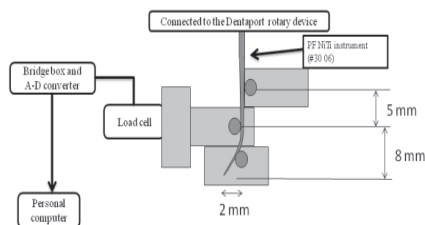


Figure 1. Schematic drawing of the cyclic fatigue test device

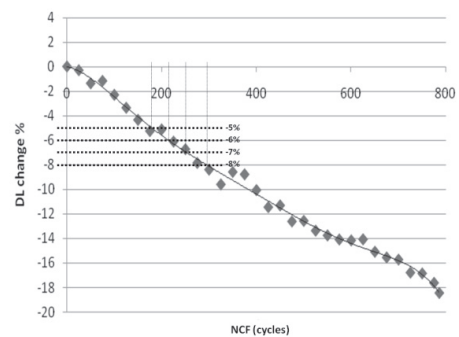


Figure 2. Representative data from one sample showing DL change percentage along the working time.

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¹ 東京歯科大学微生物学講座²
○浅井知宏¹ 藤井理絵¹ 堀内章¹ 額賀智之¹ 森永一喜¹ 石原和幸²

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

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College¹
Department of Microbiology, Tokyo Dental College²

○ASAI Tomohiro¹ FUJII Rie¹ HORIUCHI Akira¹ NUKAGA Tomoyuki¹ MORINAGA Kazuki¹ ISHIIHARA Kazuyuki²

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、トリプシン消化後、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ンキナーゼ (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 μ 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 μ 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[®] (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[®] (ネオ製薬工業社製) を貼薬しキャビトン E X[®] (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[®]を使用し RC-PrepTM (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 ± 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 ± 6.2 ）、褐色のう蝕病変の L は $15\sim 28\ \mu\text{m}$ （平均値 20.4 ± 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 ± 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 ΔF (%) 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 ΔF 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 ($-8.5 \pm 2.9\%$) と統計学的に等価であった ($p = 0.433$, 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 ΔF 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

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⁾日本大学松戸歯学部歯内療法学講座

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

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

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

○Yu Furuya¹, Yuko Takeda¹, Yoko Wada², Yasuhisa Tsujimoto², Mikako Hayashi¹, Shigeyuki Ebisu¹

【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/cm² 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/cm² 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】

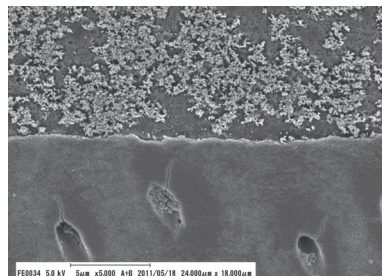
1. 切削象牙質接合界面のFE-SEM観察・・・健全なヒト抜去臼歯を用いて、歯冠を歯軸に垂直に切断し、健全な象牙質を含む平坦面を露出させ、#600の耐水研磨紙で研削した面を被着面とした。被着面を綿球にて清掃し水洗・乾燥したのちにG-ガードを薄く塗布、エアブローすることなく光硬化した。その後接合界面に垂直になるように歯軸方向に半切された試料の一部はエポキシ樹脂に包埋することなく、また他は通法に従ってレジンと歯質との接合界面が露出するようにエポキシ樹脂に包埋、研磨、アルゴンイオンエッチングを35秒間行った後にG-ガードと象牙質との接合界面の様相についてFE-SEMを用いて観察を行った。

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 μ 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ャーを用いるより、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。

エナメル質表層部の POs-Ca ならびに POs-Ca+F による再石灰化：ナノインデンテーション 及び SS-OCT による評価

¹東医歯大院・歯と骨の GCOE・う蝕制御 ²東医歯大院・う蝕制御

³サウジアラビアの衛生省 ⁴国立長寿医療センター ⁵江崎グリコ株式会社健康科学研究所

○マンドウラ モナ^{1,2,3}、サダル アリレザ¹、北迫勇一²、中嶋 省志²、島田康史²、
田上順次^{1,2}、角保徳⁴、田中智子⁵

Remineralization of Enamel Subsurface Lesion by POs-Ca and POs-Ca+F: Evaluation by Nanoindentation and SS-OCT

¹Global COE Program; IRCMSTBD, TMDU ²Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

³Ministry of Health, Saudi Arabia, ⁴National Center for Geriatrics and Gerontology, Japan.

⁵Institute of Health Sciences, Ezaki Glico Co., Ltd.

○Mona MANDURAH^{1,2,3}, Alireza SADR¹, Yuichi KITASAKO², Syozi NAKASHIMA², Yasushi SHIMADA²,
Junji TAGAMI^{1,2}, Yasunori SUMI⁴, Tomoko TANAKA⁴

[Background and Objectives] Human enamel is under a natural balanced dynamic process of demineralization and remineralization, if demineralization continuously dominates, it may lead to caries. Swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) is a non-invasive method for clinical imaging of the tooth. On the other hand, early lesions can be reverted if there are sufficient bioavailable calcium and phosphate in a buffered oral environment. The addition of calcium and phosphate in the form of phosphoryl oligosaccharide of calcium (POs-Ca) or that with fluoride (POs-Ca+F) to a chewing gum (Ezaki Glico) enhanced enamel remineralization of subsurface enamel lesions in vivo. The aim of this study was to characterize the changes of subsurface demineralized enamel lesions subjected to POs-Ca and POs-Ca+F solutions in vitro by SS-OCT, and to confirm the changes with cross-sectional nanoindentation hardness and transverse microradiography (TMR) techniques.

[Materials and Methods] Twelve blocks of bovine anterior teeth imbedded in resin cube were divided into 3 groups in this study; first 2/3 of the enamel surface was demineralized, and then 1/3 of the demineralized surface was subjected to 10 ml of one of the three solutions; deionized water (control), POs-Ca and POs-Ca+F at 37°C up to 14 days. B-scan images were recorded after 4, 7, and 14 days of treatment using SS-OCT (IVS-2000, Santec) to monitor changes in lesion. Then, the specimens were cross-sectioned, fine polished and subjected to nanoindentation at 2 mN force (ENT-1100a, Elionix) to plot the hardness at each 1 μm or 10 μm depth in two consecutive 20w × 10d indentation matrices, and TMR to measure mineral density at each area.

[Results] On SS-OCT images in DEM area, reflectivity from superficial enamel increased and lesions appeared to be brighter than sound enamel. A boundary was observed suggesting the lesion front; which corresponded to the TMR lesion depth of approximately 120 ± 20 μm. Unlike control, both POs-Ca and POs-Ca+F resulted in decreased reflectivity, suggesting mineral deposition and recovery through the lesion, with POs-Ca+F exhibiting an appearance close to that of sound enamel (Fig. 1). Nanoindentation and TMR showed that both POs-Ca+F and POs-Ca resulted in significant remineralization of the whole lesion (Fig. 2), while there was no significant difference in recovery rates between them (p>0.05, Mann-Whitney U test). The hardness in the 10 μm region below the surface was 27 ± 5% of sound enamel in DEM but reached 64 ± 7% and 55 ± 8% in POs-Ca+F and POs-Ca respectively, affirming that POs-Ca+F was superior in the superficial zone (p<0.05, one-way ANOVA with Tukey HSD).

[Conclusion] POs-Ca+F enhanced reinforcement of the surface layer while similar to POs-Ca, it could still remineralize the lesion body in vitro. SS-OCT images demonstrated a potential for monitoring demineralization and remineralization and lesion depth measurements of early enamel lesions, paving the way for clinical use of this modality for monitoring of enamel white spots and evaluating efficacy of non-surgical interventions such as remineralization agents and gums. Further study on signal analysis is needed to establish correlations between SS-OCT and destructive quantitative measurements. This study was supported by Global COE at TMDU, JSPS grants-in-aid no 22791924, and research grant for longevity sciences (21A-8).

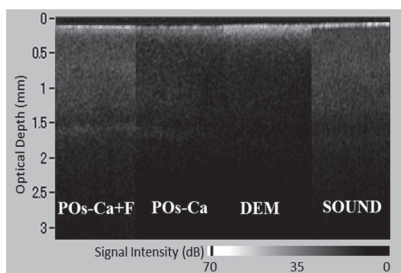


Fig. 1- SS-OCT images at day 14.

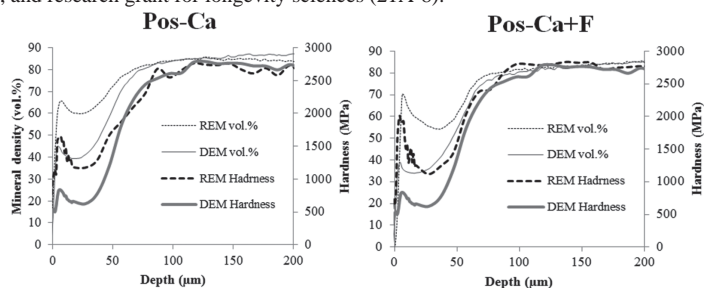


Fig. 2- Mineral density and hardness plots (DEM: demineralized, REM=remineralized zone)

PRG バリアコート的人工齲蝕乳歯エナメル質に対する齲蝕抑制効果

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科小児歯科学¹、

日本大学歯学部保存修復学講座²

○ 細矢由美子¹、安藤 進²、古宅真由美²、宮崎眞至²

Effect of PRG Barrier Coat application on arresting caries treatment for artificial caries enamel of primary teeth

Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Medical and Dental Sciences, Department of Pediatric Dentistry¹, Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry²

○ Yumiko Hosoya¹, Susumu Ando², Mayumi Kotaku², Masashi Miyazaki²

【研究目的】

本邦では、齲蝕進行抑制を目的にフッ化ジアンミン銀塗布が行われる場合がある。本材による変色は、感染歯質のみならず、再石灰化可能な健全歯質の一部にまで及び、切削以外に変色を除去する方法はない。審美性の破壊は、患者の精神衛生上問題であり、切削不要な部位にまで及ぶ広範囲な切削は、minimal intervention の概念に反する。

そこで、S-PRG フィラー含有の coating 材を人工脱灰乳歯エナメル質に塗布し、塗布面の組織/物性変化を測定し、本材の人工齲蝕部への影響を観察した。

【材料および方法】

抜歯後に生理食塩水中に冷凍保存した健全乳歯（長崎大学歯学部倫理委員会認証）8 歯を使用した。乳前歯の唇面と乳臼歯の頬舌面以外のエナメル質をマニキュアで coating 後（コントロール部）、塩化カリウムとリン酸二水素カリウムを含む pH 4.75 の乳酸緩衝液中で 5 日間脱灰した。唇・頬・舌面を中央部で 2 分し、PRG バリアコート（松風）塗布面（PRG）と非塗布面（non-PRG）とした。浸漬液の種類により 2 群を設け（1 群：蒸留水、2 群：人工唾液）、1 週間浸漬した。歯軸に垂直に切片を切り出し、鏡面研磨した。

<Nano-indentation test>: Nano-indentation tester ENT-1100（エリオニクス）により、超微小硬さ（H）とヤング率（Y）を測定した。測定は 10 μm 間隔にエナメル質表面から歯髄方向に行った。

<SEM/EDX 分析>: PRG 塗布もしくは非塗布エナメル質表面（計測点 0）、表面直下（計測点 1）、表面から 5 μm（計測点 2）ならびに 10 μm（計測点 3）下方の部位に対して、SEM/EDX 分析と SEM 撮影を行った。

統計処理には ANOVA Fisher's PLSD ($\alpha=0.05$)を用いた。

【成績ならびに考察】

<Nano-indentation test>: 1). エナメル質表面部の超微小硬さ(H)とヤング率(Y)を、コントロール部、non-PRG 部、PRG 部間で比較すると、H については、1 群では non-PRG 部がコントロール部と PRG 部より有意に低く、2 群では PRG 部がコントロール部より有意に高かった。Y については、1 群ではコントロール部が他の 2 部位より有意に高く、2 群では 3 部位間に有意差がなかった。2). エナメル質表面部と表面直下の H と Y は、1 群の non-PRG 部のみについて、表面付近の値が下方部と比較すると有意に低かった。

<SEM/EDX 分析>: [元素分析 wt %]; 1). 1 群では、non-PRG 部と PRG 部について、計測点 0 の P と Ca が計測点 1-3 より有意に低かった。Ca/P は、コントロール部、non-PRG 部ならびに PRG 部ともに、計測点間に有意差が見られなかった。2). 2 群では、コントロール部のみで計測点 0 と 1 の P と Ca は計測点 2 と 3 より有意に低かった。Ca/P については、コントロール部では、計測点 1 が計測点 0 と 2 より有意に高く、non-PRG 部は、計測点間に有意差がなく、PRG 部は、計測点 0 が計測点 1-3 より有意に高かった。

Nano-indentation test と SEM/EDX 分析の結果、PRG 塗布により脱灰エナメル質の硬さと弾性率は回復せず、また、コントロール部ならびに non-PRG 部よりも PRG 塗布部の再石灰化効果が高いという結果は得られなかった。さらに、PRG 塗布部から材料成分が溶出し、non-PRG 部に作用したというような結果も観察されなかった。他の材料使用時と同様に、一度脱灰された部位の再石灰化は難しい。また、実験歯の脱灰・再石灰化程度の差（個体差）による影響と思われるデータのばらつきがみられた。2 群の人工唾液中への浸漬群において、PRG 塗布面の Ca/P が下方のエナメル質の Ca/P よりも有意に高かったのは、脱灰により生じたエナメル質表面の凹凸に coating 材が残存していた可能性も考えられる。S-PRG フィラー含有 coating 材の乳歯エナメル質に対する齲蝕抑制効果の有無を確認する為には、実験歯を脱灰溶液中に浸漬して抗脱灰作用を観察するなど、さらなる研究が必要である。

【結論】

今回の結果からは、PRG 材で脱灰部を被った場合の人工唾液による再石灰化効果は観察できなかった。

【文献】

- 1) Han L *et al*: Evaluation of the ions release/ incorporation of the prototype S-PRG filler-containing endodontic sealer. *Dent Mater J* 30(6): 898-903, 2011.

フッ化物含有コート材の象牙質における根面う蝕の抑制効果について

¹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

²東京医科歯科大学 歯と骨の GCOE 拠点

○太嶋恵美¹, 半場秀典^{1,2}, 矢作智花¹, 二階堂徹¹, 田上順次^{1,2}

Preventive effect of root caries by a new coating material containing sodium fluoride

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

²Global COE program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone
Diseases, Tokyo Medical and Dental University

○OSHIMA Megumi¹, HAMBА Hidenori^{1,2}, YAHAGI Chika¹, NIKAIIDO Toru¹, TAGAMI Junji^{1,2}

【研究目的】

超高齢社会においては根面う蝕を予防して歯の喪失を防ぐことが急務である。我々は、露出根面をコーティングしてこれを保護し、根面う蝕を抑制することを検討してきた。本研究では、フッ化物を含有する新規知覚過敏抑制コート材 (MS Coat F) に着目し、その根面塗布による象牙質の脱灰抑制効果について、非破壊でミネラル量を測定可能なマイクロ CT 装置を用いて検討した。

【材料および方法】

ウシ歯根を抜髄し、歯根膜を除去後、唇側及び舌側歯根面を耐水研磨紙を用いて#1500 まで順次研削して試験面とした。次にダイヤモンドバー (D4010f) を用いてマイクロ CT 観察時の基準溝を作製した後、精密低速切断機 (Isomet, Buehler) にて歯軸と平行に唇舌方向に分割して 1 歯根から作製した試料を 3 群に分け、根面象牙質表面に対してフッ化物配合コート材である MS Coat F または無配合のコート材である MS Coat One (サンメディカル社製) を用いて業者指示に従って専用のチップで 30 秒間擦り塗り、10 秒間強エア乾燥を行った。また、コート処理なしを Control 群とした。試料はネイルバーニッシュで試験面を規定した後、人工脱灰液 (pH4.5) に 5 時間浸漬した後、24 時間蒸留水に保管した。その後、高解像度マイクロ CT 装置 (SMX-100CT, 島津製作所) を用いて試料の撮影を行った。根面象牙質表層の脱灰部の 3D 解析には、3D 骨梁構造計測ソフト (TRI/3D-BON, RATOC) を用い、得られた CT スケール値は基準濃度の水酸化アルミニウム体を用いて、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。得られた脱灰部の 3D 画像の測定および脱灰深さの解析には 3D 骨梁構造計測ソフト (TRI/3DBON, RATOC) を用いた。

【結果および考察】

各群の典型的なミネラル密度プロファイルを図に示す。MS coat F はウシ歯根象牙質の表層部約 50 μm においてコントロール群よりも有意に脱灰抑制効果を示した。一方、MS Coat One においてはその有意な効果は認められなかった。MS Coat F の組成は、MS Coat One と同様な組成に加えて NaF を 3000 ppmF 含む。従って MS Coat F の脱灰抑制効果はこのフッ化物イオンによるものと考えられる。

【結論】

マイクロ CT によるミネラル密度プロファイルの解析の結果、フッ化物配合コート材である MS Coat F の歯根象牙質への塗布は、表層部の脱灰抑制効果を示すことが明らかとなった。

本研究の一部は、東京医科歯科大学 歯と骨のグローバル COE プログラムによって遂行された。

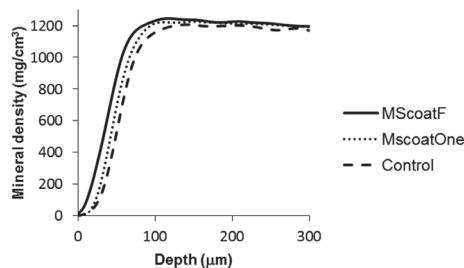


図 1 マイクロ CT により得られた典型的なミネラル密度プロファイル

非う蝕性歯頸部欠損の SS-OCT による断層画像観察

1)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, 2)東京医科歯科大学歯と骨の GCOE, 3)国立長寿医療研究センター病院

○和田郁美¹, 島田康史¹, サダルアリレザ^{1,2}, 中嶋省志¹, 田上順次^{1,2}, 角保徳³

Cross-sectional assessment of Non Carious Cervical Lesion using SS-OCT

Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Global Center of Excellence Program, IRCMSTBD at TMDU, National Center for Geriatrics and Gerontology
○Wada Ikumi, Shimada Yasushi, Sadr Alireza, Nakashima Syozi, Tagami Junji, Sumi Yasunori

【諸言】非う蝕性歯頸部欠損 (noncarious cervical lesion: NCCL) の成因として、過度の機械的刺激 (abrasion) やアブフラクション (abfraction) 等が指摘されている。特にアブフラクションは、咬合ストレスによって歯頸部エナメル質に亀裂が生じ、そこから欠損を形成するといわれている。しかしながら、NCCL の発症メカニズムは不明な点が多く、その予防も困難である。波長走査型光干渉断層計 (SS-OCT) は非破壊で組織の断層画像を得ることができ、NCCL の定量的な評価に利用できることを第 3 回接着歯学会において報告した。本研究では、NCCL におけるアブフラクションの可能性に焦点をあて、咬合面エナメル質の咬耗ならびに NCCL 部のエナメル質剥離との関連性を調査し、SS-OCT の有用性を検討することを目的とした。

【材料及び方法】NCCL を有するヒト抜去歯 9 1 本を本実験に使用した。まず SS-OCT (Dental OCT System Prototype 2, パナソニックヘルスケア) を用い、咬合面における最大咬耗部の断層画像を非破壊で観察し、残存エナメル質の厚さ (RET) を計測した。次に、NCCL 部を SS-OCT 観察し、NCCL の深さ (d) と幅 (w)、ならびに EDJ におけるエナメル質の剥離の長さ (EC) を画像上で計測した。咬合部位の RET、ならびに NCCL の深さ×幅 (d×w) と EC について、それぞれ次の 4 グループに分け、RET における NCCL の分布を比較した。

RET; E0: 象牙質まで露出、E1: RET 1~1000 μm 、E2: RET 1001~2000 μm 、E3: RET 2001 μm 以上
d×w; dw1: 1~20000 μm^2 、dw2: 20001~40000 μm^2 、dw3: 40001~60000 μm^2 、dw4: 60001 μm^2 以上
EC; EC0: 剥離なし、EC1: EC 1~200 μm 、EC2: EC 201~400 μm 、EC3: EC 400 μm 以上
また、SS-OCT 画像で EDJ にエナメル質剥離のみられた歯を選別し、隣接面部を削除し研磨後、走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) によりエナメル質の状態を観察した。

【結果】SS-OCT を用いることにより、RET と NCCL の非破壊計測が可能であった。また、NCCL の EDJ においてエナメル質の剥離を観察することができた (図 1)。RET の減少により、d×w の程度が著しくなる傾向がみられる (図 2a)、また EC も増加していた (図 2b) (図中、実線・破線参照)。また CLSM 観察から、SS-OCT 画像における EDJ のエナメル質剥離は、実際に剥離が生じていることが確認できた (図 1)。

【考察】SS-OCT 画像から、咬耗の進行によって NCCL の欠損量 (d×w) が増加しており、また歯頸部エナメル質の剥離 (EC) も増加する傾向がみられた。このことより、NCCL 形成における歯頸部の破壊に咬合ストレスが関与している可能性が示唆された。

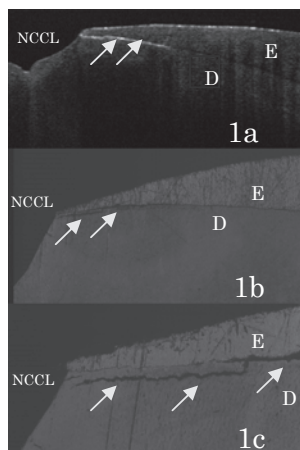
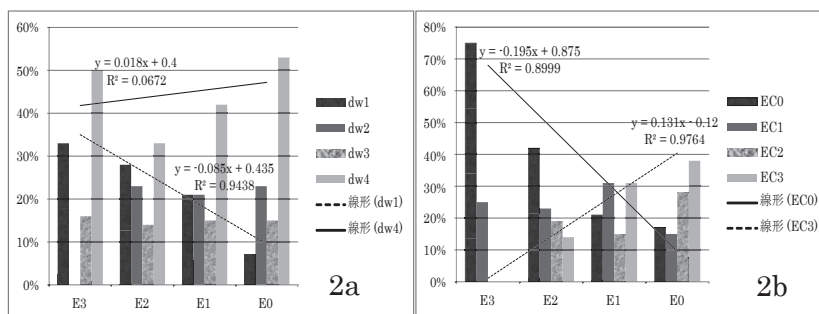


図 1a: NCCL の SS-OCT 画像、E: エナメル質、D: 象牙質。図 1b: CLSM 画像、図 1c: 1b の拡大像。EDJ 付近に剥離が確認できる (矢印)

図 2a: RET における dw の分布、図 2b: RET における EC の分布



象牙細管の走行が OCT イメージ像に及ぼす影響

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,
モリタ東京製作所³, 青島歯科医院⁴

○島村 穰¹, 飯野正義¹, 村山良介¹, 鈴木英梨子¹, 黒川弘康^{1,2},
安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 釜口昌平³, 三畑幸則³, 青島 裕⁴

Influence of dentinal tubular orientation on OCT images

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, J. Morita Tokyo Mfg. Corp.³, AOSHIMA Dental Clinic⁴
○SHIMAMURA Yutaka¹, IINO Masayoshi¹, MURAYAMA Ryosuke¹, SUZUKI Eriko¹, KUROKAWA Hiroyasu^{1,2},
ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, KAMAGUCHI Syohei³, MIHATA Yukinori³ and AOSHIMA Yutaka⁴

【緒言】

光干渉断層画像化法 (Optical Coherence Tomography, 以後, 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特徴とする画像診断システムである。これまで演者らは, OCT イメージ像に及ぼす影響因子を検討するとともに, エナメル質病変に対する診査の有効性を報告している。一方, 象牙質においてはエナメル質とは異なり, 細管構造を有するとともに水分を多く含むことから, その読像法に違いがみられる可能性が考えられるものの, 不明な点が多いのが現状である。

そこで演者らは, OCT の効果的な臨床使用術式を確立するための基礎的研究の一環として, 象牙質の観察において, OCT イメージ像に影響を及ぼす可能性のある象牙細管の走行について検討した。

【材料および方法】

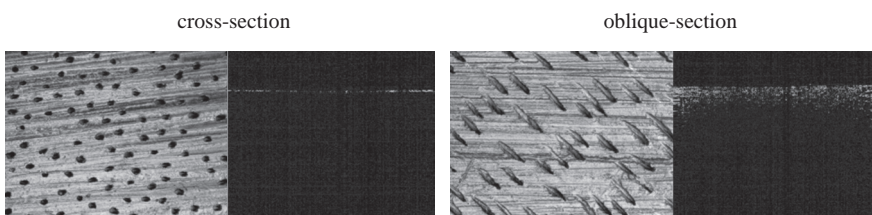
ウシ抜去下顎前歯を縦断および横断し, これらの断面を耐水性 SiC ペーパーを用いて平坦面が露出するように調整し, これを測定用試片とした。これらの測定用試片を, 実験期間を通じて 37°C 人工唾液あるいは精製水に保管する 2 条件を設定し, OCT を用いて経時的に観察した。

イメージ像の観察には, OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用いた。本装置は, Super Luminescent Diode (SLD) 光源の低コヒーレンス性を応用したものであり, SLD 光源からの光を光分割器により 2 束に分割し, 1 束を参照鏡に, 他方を対象物に入射し, それぞれから反射してきた光を干渉させるものである。これによって, 測定対象物の表層から深層にわたる反射光分布を測定することでイメージ像を得ることを可能としている。

OCT を用いて各試片のイメージ像を観察するとともに, 形状測定レーザマイクロスコープ (VK-9710, キーエンス) を用いて撮影し比較, 検討した。なお, OCT および形状測定レーザマイクロスコープによる観察時期としては, 実験開始前および実験開始 1, 7, 14 および 28 日経過後とした。

【成績および考察】

OCT を用いてウシ抜去下顎前歯象牙質の観察を行ったところ, cross-section 試片において象牙質表面を示す 1 本の高輝度のラインが観察



LSM 像および OCT イメージ像比較 (実験開始前, 精製水保管)

された。一方, oblique-section 試片においては象牙質表面から深部に向かう帯状のシグナルが観察され, cross-section 試片とは異なる OCT イメージ像を示した。このように, 象牙細管の走行方向が得られる OCT イメージ像に影響を及ぼした理由としては, 象牙細管の走行および OCT の照射光線の侵入方向の一致度の違いによって, 象牙質内部における光線の反射, 散乱状態が変化したためと考えられた。すなわち cross-section 試片では内部からの反射光が減じたために試片歯面でのシグナルが強くなり, oblique-section 試片では内部からの反射光が反映されて帯状のイメージ像を形成したものと考えられた。

【結論】

ウシ抜去下顎前歯象牙質において OCT を用いて観察した場合, 象牙細管の走行方向によって得られる OCT イメージ像には変化が認められた。したがって, OCT を用いて歯質を観察する場合, 測定する部位によって象牙細管の走行を考慮した読像を行う必要があることが示唆された。

OCT を用いた二級コンポジットレジン修復の適合性の評価

¹東医歯大院・歯と骨の GCOE・う蝕制御 ²東医歯大院・う蝕制御

³キングアブドゥル・アズィーズ大サウジアラビア ⁴国立長寿医療センター

○バクシュ ターキ^{1, 2, 3}、サダル アリレザ¹、島田康史²、トルキスタニ アラー^{1, 2, 3}、
田上順次^{1, 2}、角保徳⁴

Optical Evaluation of Composite Adaption in Class-II Cavity Restoration using SS-OCT

¹Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases, Japan

²Cariology and Operative Dentistry, Graduate school, Tokyo Medical and Dental University, Japan

³King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia, ⁴National Center for Geriatrics and Gerontology, Japan.

○Turki BAKHSH^{1,2,3}, Alireza SADR¹, Yasushi SHIMADA², Alaa TURKISTANI^{1,2,3}, Junji TAGAMI^{1,2}, Yasunori SUMI⁴

[Background and Objectives] Micro-leakage and loss of adaption between tooth and resin considered as one of the causes of recurrent caries and subsequent composite restoration failure. In class-II restorations, the failure is commonly located at gingival floor. Therefore, the objective of this study is to assess the cavity adaptation of different adhesive systems in combination with flowable and universal composites in class-II restoration using swept source optical coherence tomography (SS-OCT).

[Materials and Methods] Three restorative systems were used in this study; (1) PrimeFil with Estelite Posterior composite (PF; Tokuyama Dental) (2) Tokuyama Bond Force all-in-one adhesive with Estelite Flow Quick flowable and Estelite Posterior composites (BF; Tokuyama Dental), and (3) Clearfil SE-One newly introduced all-in-one adhesive with Majesty LV flowable and Majesty Posterior composite (SO; Kuraray Medical). PrimeFil is a new class of restorative with a single-bottle self-etching agent which is chemically cured when its light-cured flowable composite is applied. Box shaped proximal class-II cavities were prepared on 18 human, non-carious third molar teeth. (5 mm height × 4 mm width × 1.5 mm depth). The specimens were divided into three groups according to the restorative system used. The entire preparation of each group (pulpal, axial walls and gingival floor) was lined with flowable composite and then restored using bulk filling technique. After 48 hours, the coronal part of the restoration (3.5 mm occluso-gingival) was reduced and serial B-scan images were obtained throughout each cavity (pulpal wall and gingival floor) by a hand-held SS-OCT probe (Dental SS-OCT Prototype II, Panasonic Healthcare Co., Ltd.) for each specimen at a center wavelength of 1330 nm to evaluate adaptation (Bakhsh et al., Dent Mater 2011). Confirmatory images were obtained for the bonded/debonded tooth-resin interfaces using confocal laser microscopy (CLSM) after cross-sectioning of the specimens.

[Results] Representative B-scan images in all groups (presented in figure with binarized interfaces) demonstrated significant increase in signal intensity confirmed as interfacial micro-gaps by CLSM. Kruskal-Wallis test with Mann-Whitney U multiple comparisons with Bonferroni correction showed significant differences among groups ($p < 0.05$). There was no significant difference in adaptation between PF and SO at both gingival and pulpal locations ($p > 0.05$). For pulpal wall, PF and SO showed better adaptation compared to BF; while in gingival floor only PF showed superior results compared to BF. In case of BF, the gaps were frequently observed at the adhesive/composite interface.

[Conclusion] Success of flowable lining for class-II restoration relies on interactions of resin-dentin and resin-resin interfaces, and the SS-OCT evaluation is sensitive to gaps formed at both interfaces. The newly introduced PrimeFil system showed improved adaptation and promising results for lining a large class-II cavity. Study supported by Global COE and longevity sciences grant 21-8A. Also, the support from King Abdulaziz University was appreciated.

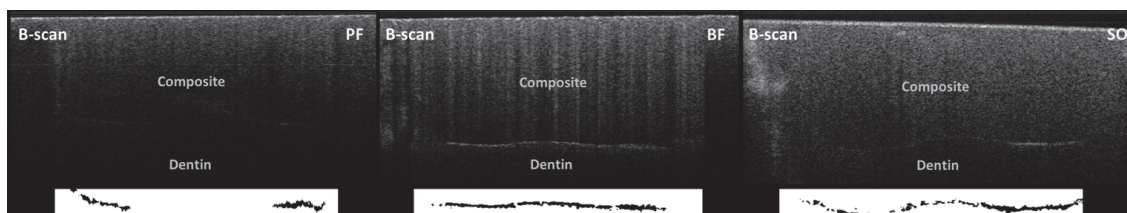


Figure: SS-OCT scans of composite restorations, with corresponding binarized images of the interface indicating gaps.

OCT を用いたレジンインレーの適合性とレジンコーティングの有効性の評価

¹東医歯大院・歯と骨の GCOE・う蝕制御 ²東医歯大院・う蝕制御
³キングアブドゥル・アズィーズ大サウジアラビア ⁴サウジアラビアの衛生省 ⁵国立長寿医療センター
○トルキスタニ アラー^{1, 2, 3}、サダル アリレザ¹、島田康史²、
マンドウラ モナ^{1, 2, 4}、田上順次^{1, 2}、角保徳⁵

Effect of resin coating on sealing of indirect composite inlays using SS-OCT

¹Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases, TMDU,
²Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University,
³King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia, ⁴Ministry of Health, Saudi Arabia
⁵National Center for Geriatrics and Gerontology, Japan
○Alaa TURKISTANI^{1,2,3}, Alireza SADR¹, Yasushi SHIMADA², Mona MANDURAH^{1,2,4}, Junji TAGAMI^{1,2}, Yasunori SUMI⁵

[Objectives]:

Several resin cements have been recently introduced for bonding of indirect composites. It was previously suggested that the resin-coating technique improved the performance of resin cements. The aim of this study is to use swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) to investigate the effect of resin coating technique on the adaptation of indirect composite inlays luted with resin cements and to confirm the results with conventional microscopy.

[Materials and Methods]:

Round class-I cavities (4 mm diameter × 2 mm depth) were prepared on flat occlusal surfaces of human third molars divided into three groups according to the resin cement used; self-etching dual-cured Bistite II (BST; Tokuyama Dental), self-etching auto-polymerizing MMA-based Multibond-II (MLB; Tokuyama Dental), and dual-curing self-adhesive Clearfil SA Luting (CSA, Kuraray Medical). Each group was divided into two subgroups, an experimental group that received resin coating and a control group without the resin coating. In the resin coated group, the cavity surface was prepared using a two-step self-etching system (Clearfil SE Bond, Kuraray Medical) and low viscosity microfilled resin (Protect Liner F, Kuraray Medical). After 24 hour temporarization, indirect composite inlays (Majesty Posterior, Kuraray Medical) were cemented to the cavities using one of the resin cements according to the manufacturer's instructions. After 24 hours water storage, 3D optical evaluation of the restoration interface was conducted using SS-OCT on all groups. Interfacial dentin seal was measured along the cavity floor on B-scans obtained through the restorations at 500 μm intervals. Afterwards, the cavities were sectioned and interfacial examination was carried out under confocal laser scanning microscopy (CLSM) to confirm the gap location. SS-OCT results were compared using two-way ANOVA with multiple t-test comparisons and Bonferroni correction at significance level of 0.05. The factors investigated were resin cement and resin coating.

[Results]:

The optical sealing was affected by both the material and resin coating, and the interaction was also significant ($p < 0.05$). Without resin coating, CSA and MLB significantly showed better sealing compared to BST. Resin coating improved the cavity floor sealing of BST, so that there was no significant difference among the resin coated groups (figure below).

[Conclusion]:

Resin coating using a bonding agent and flowable composite prior to taking impression benefits the adaptation of indirect restorations placed with resin cements, and ensures sealing of the dentin, which is the key interface within a restoration. SS-OCT is a quick 3D imaging technique to study the interface without the difficulties of common leakage tests. This study was supported by the Global COE program at TMDU and and research grant for longevity sciences (21A-8).

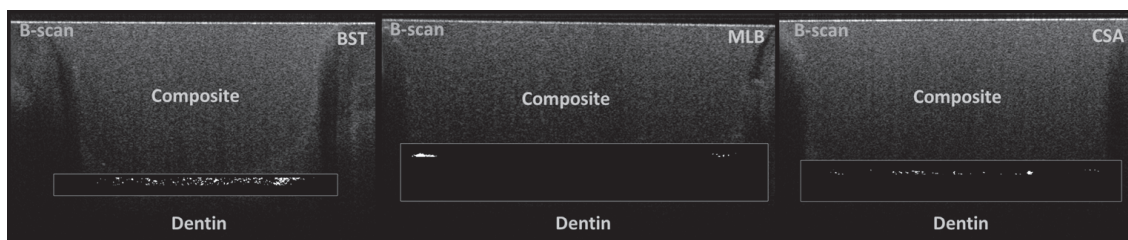


Figure shows adaptation of indirect resin inlays in the non-coated group. Interfacial area is binarized to highlight gaps.

S-PRG フィラー含有率の変化によるコンポジットレジンへの各種唾液タンパク吸着と抗菌活性

朝日大学歯学部 口腔機能修復学講座 歯科保存学分野 歯冠修復学

○田村大輔 堀田正人

Anti-bacterium Revitalization and Saliva Protein Adsorptions to Resin Composite by Change S-PRG Filler Mixing Rate

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

Asahi University School of Dentistry

○Tamura Daisuke Hotta Masato

【研究目的】

当研究室ではこれまでの一連の研究で、S-PRG フィラーを含むコンポジットレジンが抗ブラーク性を有しており、そのレジン表面には抗菌性タンパクを含んだペリクル様構造物が形成され、さらにS-PRG フィラーの各種無機イオンがレジン表面から溶出することで、付着する細菌になんらかの影響を及ぼしている可能性を報告してきた。

口腔内において、エナメル質表面に対して唾液タンパクの特異的吸着によりペリクルが形成されるのと同様に、修復材料表面にもタンパクの吸着による被膜が形成されるが、そのタンパク組成は吸着面の材質などで異なることが示唆されている。そこで本研究ではこれらの事実を詳細に検討するために、S-PRG フィラー未含有および含有率の異なるレジンを試験し、*in vitro* 条件下にてコンポジットレジンへの各種唾液タンパクの吸着量を測定し、さらに各種唾液タンパクにコートされたコンポジットレジンの抗菌活性を比較検討した。

【材料と方法】

1. 供試材料:S-PRG フィラー未含有のものおよびS-PRG フィラーを30wt%, 60wt%含有したものを供試レジンとした。
2. 各種唾液タンパクの調整:唾液タンパク吸着試験に用いたのは①ムチン1, ②ラクトフェリン, ③IgA, ④シスタチンC, ⑤リゾチームの5種類であり、おのおのヒト全唾液中での濃度の範囲に近似するようPBSにて希釈し調整した。
3. 唾液タンパク吸着試験:各供試レジンに前述の条件にて調整された各種唾液タンパク溶液に入れ37°Cでインキュベートし、2, 8 および 24 時間後の吸光度測定 (OD₂₈₀) を行った。また吸光度の減少より各種唾液タンパクの吸着量を算出した。
4. 細菌付着試験:前述の各種唾液タンパクで2時間コートした供試レジンに、RI (3H) にてラベルした *S.mutans* 溶液中に2時間浸漬し、付着した菌数を放射活性値 (DPM 値) により比較定量した。
5. 電子顕微鏡観察:前述の細菌付着性試験の各供試レジンに SEM 観察し、*S.mutans* の付着状態を観察した。

【成績及び考察】

各種唾液タンパク吸着試験の結果、いずれの唾液タンパクにおいても時間の経過に伴い吸光度は減少した。また、各種唾液タンパクの吸着量を算出した結果、最も多量に吸着したのはムチン1であった。さらに、S-PRG フィラーの含有率上昇に伴い吸着量が増加傾向を示したのはリゾチームであった。次にRIを用いて細菌付着数を定量した結果、最も付着を抑制した唾液タンパクはムチン1、ついでリゾチームであったが、S-PRG フィラー含有率の変化における有意差は認めなかった。さらに、これらの試料をSEM観察した結果、ムチン1はS-PRG フィラーの含有率に関係なく相対的に細菌付着数が少ない傾向を示した。またS-PRG フィラーの含有率上昇に伴い、細菌付着数が減少傾向を示したのはリゾチームであった。

【結論】

本実験において、S-PRG フィラーの含有率に関係なく吸着量が多かった唾液タンパクはムチン1であり、相対的に細菌付着数は少ない傾向を示した。またS-PRG フィラーの含有率上昇に伴い吸着量が増加傾向を示した唾液タンパクはリゾチームであり、その細菌付着数を検討した結果、有意差は認めなかったが減少傾向を示した。

コンポジットレジン研磨法がその表面自由エネルギーと着色性に及ぼす影響

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, 横須賀共済病院³

○大塚詠一朗¹, 清水裕亮¹, 辻本暁正¹, 利根川雅佳¹, 砂田識敦¹,

高見澤俊樹^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 宮直利³

Influence of Polishing Procedures on Surface Free Energy and Staining Susceptibility of Resin Composites

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

Nihon University School of Dentistry, Yokosuka Kyosai Hospital³

○OTSUKA Eiichiro¹, SHIMIZU Yusuke¹, TSUJIMOTO Akimasa¹, TONEGAWA Motoka¹, SUNADA Noriatu¹,
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, MIYA Naotoshi^{1,3}

【研究目的】

優れた審美性を有する光重合型コンポジットレジンとは、歯冠修復処置において欠くことのできない材料のひとつである。とくに、コンポジットレジン修復処置における形態修正および研磨は、審美性の獲得のみならずメンテナンスビリティを高めるためにも重要である。これまで、最終研磨がなされた研磨表面の評価は、その粗さ、光沢度あるいは走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた形態観察などによって行ってきた。

演者らは、研磨したコンポジットレジン表面について、表面粗さおよびSEM観察に加え、表面自由エネルギーを指標とした界面化学的観点から検討することを試みた。すなわち、研磨法を変更した際のコンポジットレジン表面の自由エネルギーを測定するとともに、コーヒー浸漬後の着色性についても検討した。

【材料および方法】

供試したコンポジットレジンには、Clearfil AP-X (Kuraray Medical, 以後 AP) および Estelite Σ Quick (Tokuyama Dental, 以後 EQ) の2製品とした。

1. 表面自由エネルギーの測定

重合硬化させたコンポジットレジンを用いて、37°C精製水中に24時間保管後、ダイヤモンドポイント102R (Shofu, 以後 DP), SF102R (Shofu, 以後 SF) あるいはコンポジット・フィニッシングカーバイドバーFG7714 (sds/Kerr, 以後 CB) を用いて形態修正した試片に対して、研磨システムのSuper Snap (Shofu, 以後 SS) およびCompomaster (Shofu, 以後 CP) を用いて、研磨した試片を表面自由エネルギー測定用試片とした。これらの試片を、全自動接触角計 (DM500, Kyowa Interface Science) に静置し、プロモナフタレン、ジヨードメタンおよび蒸留水を用い、セシルドロップ法でそれぞれの液滴を1 μ L 滴下し、被着面との接触角を $\theta/2$ 法で測定した。得られた接触角から拡張Fowkesの理論式を用いて、各条件における表面自由エネルギーを算出した。

2. 表面粗さ(Ra)およびSEM観察

表面自由エネルギー測定用試片と同様に製作した試片についてレーザー顕微鏡 (VK-9710, KEYENCE) および付属のソフトを用いて、その表面粗さ (Ra) を求めた。また、通法に従って試片を製作し、各条件の表面性状についてSEM (ERA-8800FE, Elionix) 観察を行った。

3. 着色性

形態修正および研磨が終了した試片について精製水あるいはコーヒー希釈液に浸漬し、着色性についてその色差から検討した。測色は、高速分光光度計 (Spectro-Photo Meter CMS-35FS/c, 村上色彩技術研究所) を使用し、浸漬前後の測色から色差 ΔE^*_{ab} を求めた。なお、測定時期として1, 3 および7日とした。

【成績および考察】

各条件の表面自由エネルギーは、いずれのコンポジットレジンにおいても、最終研磨面で形態修正面より有意に低い値を示した。とくに、CP研磨面は最も低い値を示した。このことは、形態修正および最終研磨によりコンポジットレジンの表面性状に変化が生じ、その結果として表面自由エネルギーが低くなった可能性が考えられた。一方、最終研磨法における表面粗さには、有意差は認められないものの、形態修正面で比較するとDPは他の条件に比較して有意に高く、CBでは有意に低い値を示した。また、コンポジットレジンの着色性については形態修正および研磨法によって異なる傾向を示した。

【結論】

コンポジットレジンの形態修正および研磨法の違いは、表面自由エネルギーおよび着色性に影響を及ぼすことが判明した。

セラミックスの表面処理が表面自由エネルギーおよびレジンセメントとの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，
公益財団法人愛世会 愛誠病院³

○辻本暁正¹，川本 諒¹，市野 翔¹，生形奈緒子¹，
高見澤俊樹^{1,2}，安藤 進^{1,2}，宮崎真至^{1,2}，藤井清一^{1,3}

Influence of Ceramic Surface Treatment on Surface Free-energy and Bonding of Resin Cement

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

Nihon University School of Dentistry，Aisei Hospital³

○TSUJIMOTO Akimasa¹，KAWAMOTO Ryo¹，ICHINO Syo¹，UBUKATA Naoko¹，
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}，ANDO Susumu^{1,2}，MIYAZAKI Masashi^{1,2}，FUJII Seiichi^{1,3}

【研究目的】

近年，CAD/CAM を用いたオールセラミックス修復材は，安定した機械的性質が得られるとともに，技工操作に関する時間も短縮されることから，その臨床応用については期待がもたれている。これら修復物の装着に際しては，修復物内面の前処理後の化学的結合を伴った接着の獲得が必要不可欠とされている。一方，セラミックスの表面処理法についての検討が進められているものの，その詳細については不明な点も多い。

そこで演者らは，表面処理法が CAD/CAM 用セラミックスブロックのレジンセメントとの接着に及ぼす影響について検討した。また，セラミックスブロックに対する表面処理後の SEM 観察を行い，その考察資料とした。

【材料および方法】

供試した CAD/CAM 用セラミックスブロックは，IPS Empress CAD (Ivoclar Vivadent，以後 EP) および IPS e.max CAD (Ivoclar Vivadent，以後 EM) の 2 製品を，製造者指示に従って焼成したものを用いた。

また，供試したレジンセメントは，Multilink Automix (Ivoclar Vivadent，以後 MA) および RelyX Unicem 2 (3M ESPE，以後 RU) の 2 製品である。

1. 表面自由エネルギーの測定

供試したセラミックスブロックを，SiC ペーパーの#600 まで研削し，被着面とした。被着面の表面処理法は，シランカップリング剤を塗布，フッ酸処理，フッ酸処理後シランカップリング剤を塗布，アルミナサンドブラスト処理およびアルミナサンドブラスト処理後シランカップリング剤を塗布の，合計 5 条件とした。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，ジヨードメタンおよび蒸留水の接触角を測定し，得られた接触角から拡張 Fowkes の理論式を用いて，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未処理面とした。

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た試片にテフロン型を静置し，供試したレジンセメントを充填し，接着試片を製作した。これらの試片は，37 °C 精製水中に 24 時間保管後，万能試験機 (Type 5500R，Instron) を用いて，クロスヘッドスピード 1 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。

3. SEM 観察

セラミックスブロックに対する表面処理後の形態的な検討を行うため，通法に従って試片を製作し，FE-SEM (ERA-8800FE，Elionix) を用いて，その処理面を加速電圧 10 kV の条件で観察した。

【成績および考察】

EP および EM における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条件においても有意に高い値を示し，また，表面処理法の違いによって異なる傾向を示した。これは，各種表面処理によるセラミックス表面の改質効果によって，その表面自由エネルギーが影響を受けたことを示すものと考えられた。また，表面処理後の EP および EM に対するレジンセメントの接着は，未処理面に対するものと比較していずれの条件においても有意に高い値を示した。これは，被着面の表面処理による表面自由エネルギーの上昇により，レジンセメントの接着強さも向上したと考えられた。

【結論】

セラミックスブロックの表面自由エネルギーは，被着面に対する表面処理により上昇することが判明した。また，セラミックスブロックに対するレジンセメントの接着強さは，被着面に対する表面処理により向上した。

コンポジットレジン修復物のカメレオン効果に及ぼす歯牙の加齢変化による影響について

¹東京医科歯科大学大学院 摂食機能保存学講座 う蝕制御学分野

²歯と骨の GCOE

○田中梓¹ 中島正俊¹ 田上順次^{1,2}

The chameleon effect of resin composites restored in young and old teeth

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate school, Tokyo Medical and Dental University

²Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

○Azusa Tanaka¹, Masatoshi Nakajima¹, Junji Tagami^{1,2}

【目的】

コンポジットレジンとは半透明色であるため、背景色の影響を受けることが知られており、充填時にコンポジットレジンと周囲歯質の色調とが反映し、カラーシフトすることをカメレオン効果と呼んでいる。しかしながら、ヒト抜去歯を用いてカメレオン効果を評価した報告はあまり多くない。象牙質は加齢によりその光学的特徴は変化すると考えられ、カメレオン効果の発現に影響を及ぼすものと予想される。そこで、矯正治療により便宜抜去された歯牙と歯周病により抜去された歯牙を用いて 5 種類の光重合型コンポジットレジンを用いて充填・測色し、カメレオン効果について検討を行った。

【材料および方法】

実験材料として、5 種の光重合型コンポジットレジン KALORE (GC USA), SORALE (GC), CLEARFIL MAJESTY (KURARAY), BEAUTIFIL II (SHOFU), ESTELITE Σ QUICK (TOKUYAMA) の A2 シェードを用いた。矯正抜去小白歯と歯周抜去小白歯のうち A2 シェードの歯牙 20 本の類側歯冠部中央に、直径 2 mm、深さ 3 mm の窩洞を形成した。無作為に抽出したコンポジットレジン接着システムを使用せずに窩洞に充填し、恒温水中にて 24 時間保存・研磨後、分光測色器 (Crystal eye, OLYMPUS) を用いて 0.4 mm × 0.4 mm の範囲で L*a*b* を 4 箇所測色した。測色箇所は①歯牙部、②レジンに接する歯牙部、③歯牙に接するレジン部、④レジン中央部の 4 点とした。測色後、充填したコンポジットレジン除去し、残りのコンポジットレジンの中から無作為に 1 種を選び、同様の手順で充填・測色を繰り返し行った。各 2 点間の色差 ΔE 、さらにマージン部におけるカラーシフトを示す比 ($\Delta E_{23}/\Delta E_{14}$)、歯のカラーシフトを示す比 ($\Delta E_{24}/\Delta E_{14}$)、コンポジットレジンカラーシフトを示す比 ($\Delta E_{13}/\Delta E_{14}$) を算出した。得られた値は、二元配置分散、Tukey's test および t-test を用いて統計学的検定を行った。また、上記 5 種の光重合型コンポジットレジン及び矯正抜去歯と歯周抜去歯の歯冠部象牙質より、厚さ 0.5 mm の板状試片を作成し、自動変角光度計 (GP-200, 村上色彩) を用いて、透過光特性についても併せて評価した。

【結果および考察】

ΔE_{14} は、矯正抜去歯の方が歯周抜去歯よりも小さかったが、 $\Delta E_{23}/\Delta E_{14}$ は矯正抜去歯の方が歯周抜去歯より小さく、すなわちマージン部におけるカラーシフトは矯正抜去歯の方が歯周抜去歯よりも大きい傾向を示した。 $\Delta E_{24}/\Delta E_{14}$ は矯正抜去歯の方が歯周抜去歯より小さく、すなわち歯のカラーシフトは矯正抜去歯の方が歯周抜去歯より大きい傾向を示した。一方で、 $\Delta E_{13}/\Delta E_{14}$ は矯正抜去歯の方が大きく、すなわちコンポジットレジンカラーシフトは矯正抜去歯の方が歯周抜去歯より小さい傾向を示した。矯正抜去歯においては、どの材料も歯のカラーシフトの方がコンポジットレジンカラーシフトより大きかったが、歯周抜去歯においては、その傾向は材料によって様々であった。また、矯正抜去歯、歯周抜去歯ともに、 $\Delta E_{23}/\Delta E_{14}$ 、 $\Delta E_{24}/\Delta E_{14}$ 、 $\Delta E_{13}/\Delta E_{14}$ それぞれにおいて、材料間に有意差は認められなかった。

【結論】

カメレオン効果は、コンポジットレジン及び歯の色調変化により発現していることが明らかとなった。その発現は、歯の加齢による光学的特徴の影響を受けることが示唆された。

複合ストレス負荷・非負荷条件下における 新規汎用性オールインワン接着システムの歯頸部接着信頼性

¹日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座、²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

Cervical bonding reliability of new multiple-use all-in-one adhesive systems with / without combination stress

¹Dept. of Endodontics and Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo¹

²Dept. of Restorative Dentistry and Biomaterials Sciences, Harvard School of Dental Medicine

○MAENO Masahiko¹, AKIYAMA Saeko¹, OGAWA Shintaro¹, YAMADA Tadashi¹, HARA Manabu¹,

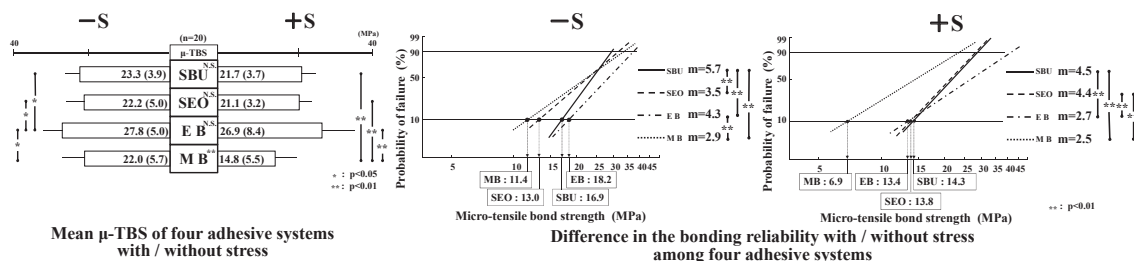
MASEKI Toshio¹, NARA Yoichiro¹, KATSUUMI Ichiroh¹, I.L.Dogon²

【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が臨床において広く活用されている。しかし、それらシステムを活用したコンポジットレジン修復の口腔内環境下における接着の実態や信頼性は不明な点が多い。そこで本研究では、新たに市販された汎用性オールインワン接着システムの接着信頼性を明らかにすることを目的に、口腔内環境想定複合ストレス負荷の有無条件下における歯頸部修復窩洞内の象牙質窩壁に対する微小引張接着強さ(μ-TBS)を測定し、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臼歯 80 本を用いた。新規に開発市販された汎用性オールインワン接着システムとして、Scotchbond Universal (SBU: EXL759, 3M ESPE)ならびに Clearfil Bond SE ONE(SEO,クラレメディカル)を選択した。また、優れた歯質接着性を有しているとの国内外評価を得ている先行市販のオールインワン接着システム: Adper Easy Bond (EB, 3M ESPE)および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。試料調整は、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、5℃/55℃間 2,000 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。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、最狭窄部幅・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 Tukey の q 検定ならびに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】 4 種システムの -S/+S 条件下における μ-TBS 値(s.d.)ならびに[ワイブル係数 : m 値] は SBU : 23.3(3.9)[5.7] / 21.7(3.7)[4.5]、SEO : 22.2(5.0)[3.5] / 21.1(3.2)[4.4]、EB : 27.8(5.0)[4.3] / 26.9(8.4)[2.7]、MB : 22.0(5.7)[2.9] / 14.8(5.5)[2.5] であった。分析の結果、新規汎用性オールインワン接着システムである SBU と SEO の μ-TBS 値は複合ストレス負荷の有無による影響を受けていなかった。また、-S 条件下における SBU 値と SEO 値は MB 値と同等の値を示したが、+S 条件下の両システム値は MB より高度に有意(p<0.01)な大きい値を示した。一方、信頼性の指標となる m 値に関して、-S 条件下における新規汎用性システムの値は MB と同等または有意に大きい値を示し、さらに+S 条件下の両システムの m 値は EB ならびに MB より高度に有意(p<0.01)な大きい値を示した。更に、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について、新規汎用性システムと EB の値は MB 値よりも有意(p<0.05)に大きい値を示した。

【考察ならびに結論】 新規汎用性オールインワン接着システムである SBU と SEO は、ポリアクリル酸コポリマーの配合、シラン剤の添加、接着機能性モノマーMDPの活用、新規光重合触媒・多官能親水性モノマーの導入などによって、口腔内環境想定苛酷なストレス条件下においても安定かつ高いレベルでの歯頸部接着信頼性を示し、臨床においても良好な予後獲得に寄与することが考えられた。



2 ステップセルフエッチング接着システムにおけるボンド中の MDP の役割

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学系専攻摂食機能保存学講座う蝕制御学分野

²東京医科歯科大学歯学部口腔保健学科口腔臨床科学分野

³歯と骨の GCOE

○松井 七生子¹、高垣 智博¹、二階堂 徹¹、池田 正臣²、田上 順次^{1,3}

The role of MDP in a bonding resin of a 2-step self-etching adhesive system

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

²Clinical Oral Science, Department of Oral Health Care Sciences, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

³Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

○Naoko Matsui¹, Tomohiro Takagaki¹, Toru Nikaido¹, Masaomi Ikeda², Junji Tagami^{1,3}

[研究目的]

レジン-象牙質接着界面の酸-塩基処理後に観察される Acid-base resistant zone (ABRZ) の形成には、機能性モノマーと HAp との化学的な相互作用が重要な役割を果たすことが示唆されている。現在、臨床で使用されている 2 ステップセルフエッチング接着システムは、セルフエッチングプライマーとボンドの両者に機能性モノマーが配合されており、それらの役割については未だ不明な点が多い。本研究の目的は、リン酸エステル系モノマーである MDP に着目し、ボンド中の MDP の有無が、象牙質に対する接着強さと ABRZ の形成に及ぼす影響について検討し、ボンドにおける MDP の役割について明らかにすることである。

[材料及び方法]

ヒト第三大臼歯を歯軸に垂直に切断して象牙質を露出させ、#600 耐水研磨紙にて研削した。クリアフィルメガボンド (クラレメディカル) 付属で MDP 配合のプライマーを 20 秒処理後、MDP を配合した付属のボンド (MM)、または MDP 無配合の試作ボンド (M0) を塗布し、それぞれ 10 秒間光照射を行った。その後、クリアフィル AP-X (クラレメディカル) を充填し、37°C 水中に 24 時間保管して接着試料とした。接着試験においては、接着界面を含む 1 mm 角のビーム状に試料を調整後、サーマルサイクル試験 (5 °C-55 °C) 0, 5000, 10000 回 (TC0, TC5000, TC10000) 後にクロスヘッドスピード 1.0 mm/min にて微小引張り接着試験を行った。また、接着界面の ABRZ の観察には、Inoue ら (Oper Dent, 2006) の方法に準じて酸-塩基処理を施した後、SEM 観察 (JEOL JSM-5310LV) を行った。

[結果および考察]

2way - ANOVA の結果、交互作用が認められ、MM ではサーマルサイクルにより接着強さが減少する傾向を示した。一方、M0 では接着強さの減少は認められなかった (表 1)。一方、SEM 観察においては、MM、M0 とともに約 1 μm の厚みの ABRZ が観察されたが、M0 では ABRZ 直下に漏斗状の erosion が観察された (図 1)。以上よりボンドへの MDP の添加は、初期接着強さの向上には寄与するが、接着耐久性の低下要因となる可能性が示唆された。一方、ボンド中の MDP の有無は ABRZ 直下の Erosion 形成に影響し、MDP 無配合のボンドでは、ABRZ 直下にモノマーが十分に浸透せず、脱灰抵抗性が低下する可能性が示唆された。

表 1 各群の微小引張り接着強さ (MPa)

	TC 0	TC 5000	TC10000
MM	84.5±10.1 a	59.8±10.0	54.5±16.7 b
M0	68.8±12.6 a	66.3±12.5	67.2±9.4 b

統計: 2way - ANOVA a: p<0.05 b: p<0.05, n=35

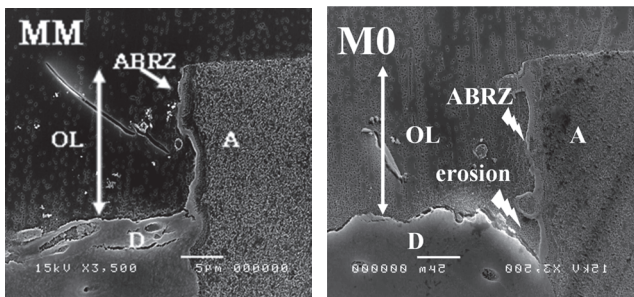


図 1 各群の Acid-base resistant zone SEM 像 (3500 倍)

セルフエッチングプライマーおよびリン酸エッチングを採用した シーラント材の牛歯エナメル質への接着性

いとた歯科医院¹, 北歯科医院², 株式会社松風³
○糸田俊之¹, 大前正範², 中塚稔之³

Shear bond strength of fissure sealants employed self-etching adhesive and phosphoric acid to bovine enamel
Itota Dental Clinic¹, Kita Dental Clinic², Shofu Inc.³
○ITOTA Toshiyuki¹, OMAE Masanori², NAKATSUKA Toshiyuki³

【目的】 フィッシャーシーラントは、エナメル質を酸処理することによってエナメル質との機械的嵌合力および辺縁封鎖性を向上させる。しかし、リン酸による酸処理はシーラント充填部位に近接したエナメル質に対しても脱灰を生じさせ、過度に脱灰されたエナメル質が口腔内に露出することによって二次齲蝕の誘因となる可能性がある。

コンポジットレジン¹の歯質への接着に用いられるセルフエッチングプライマーは、歯質脱灰作用がマイルドである上に処理時間の短縮と優れた接着性が発揮できる。それゆえ、シーラント材においてもセルフエッチングプライマーを導入した製品が **BeutiSealant** として松風社から市販され、臨床での優れた操作性と歯質接着性が期待されている。

本研究では、セルフエッチングプライマーおよびリン酸エッチングを採用したシーラント材のエナメル質接着性について検討を行った。

【材料と方法】 セルフエッチングプライマーのシーラント材として **BeutiSealant** (松風) と **Clinpro Sealant** (3M Espe)、リン酸エッチングのシーラント材として **Fluorosealant** (松風) と **TeethmateF-1_{2.0}** (クラレメディカル) を使用した。牛下顎前歯の唇側面にモデルトリマーと #600 耐水研磨紙でエナメル質平坦面を作製した。平坦面はプレサージュ研磨材 (松風) で 15 秒間研磨後水洗した。研磨面に直径 4 mm の被着面を規定後、業者指示に従いセルフエッチングプライマーまたはリン酸エッチング処理を行い、内径 4 mm のテフロンモールドを設置後にモールド内に各シーラント材を充填して照射を行った。試料体は 37°C で 24 時間水中浸漬後にインストロン試験機を用いて剪断接着強さを測定した。試料は各群で 10 個として測定値は ANOVA と Fisher's PLSD test を用いて有意水準 5% で統計処理を行った。また、各種エッチング処理後のエナメル質面の SEM 観察も行った。

【成績】 各群の剪断接着強さの値 (MPa±SD) を以下に示す。

BeutiSealant	Clinpro Sealant	Fluorosealant	TeethmateF-1 _{2.0}
17.9±2.0	18.1±2.2	16.7±3.3	12.6±1.7

BeutiSealant を含むセルフエッチングプライマー群はリン酸エッチング群より接着強さは高い傾向を示した。リン酸エッチングの **TeethmateF-1_{2.0}** は他のシーラント材より有意に接着強さが低く、他の 3 種シーラント材間で有意差は認められなかった。SEM 観察では、リン酸エッチング群のエナメル質表面に微細凹凸構造が観察されたが、セルフエッチングプライマー群では微細凹凸構造は明瞭には観察されなかった。

【考察】 リン酸エッチング群ではプライマーを使用していない為、リン酸エッチングによって形成された微細凹凸構造内へのレジンの浸透不足が生じ、接着界面に脆弱層が形成されたと考えられる。特に **TeethmateF-1_{2.0}** では他よりも長いエッチング時間が接着強さに影響を与えたと考えられた。一方、**BeutiSealant** や **Clinpro Sealant** などのセルフエッチングプライマー群では、使用したプライマーがエッチングとともにエナメル質へ浸透して硬化するため、脆弱層の形成が生じなかったと考えられた。また、使用したセルフエッチングプライマーは歯質表面で化学的に結合している可能性があり、このような特性によって高い接着性を示したと考えられた。

【結論】 セルフエッチングのシステムを導入した **BeutiSealant** や **Clinpro Sealant** は、リン酸エッチングを用いたシーラント材よりも優れたエナメル質接着性を有することが示唆された。

【謝辞】 本研究にご協力いただいた株式会社松風 研究開発部 信野和也氏ならびに立石新悟氏に感謝の意を表す。

ワンボトルワンステップボンディングシステムに関する研究
—ボンディング材の塗布量が接着強さに与える影響—

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○松田有之, 谷本啓彰, 野津繁生, 吉原正晃, 大前正範, 岩本圭司, 吉川一志, 山本一世

A Study of One-Bottle One-step Bonding Systems
—Influence of The Amount of Bonding Material on Dentin Bond Strength—

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University.

○Matsuda Tomoyuki, Tanimoto Hiroaki, Nodu Shigeo, Yoshihara Masaaki, Omae Masanori,
Iwamoto Keiji, Yoshikawa Kazushi, Yamamoto Kazuyo.

【目的】

近年 MI の概念に基づいた治療が一般的になり, コンポジットレジン修復が増加している. それに伴い, 歯質接着システムの性能は著しく向上し, さらにワンボトルワンステップタイプのボンディングシステムが広く普及している. しかし, 臨床ステップ数の少ないこれらのボンディングシステムはテクニックセンシティブであると言われており, 操作方法によっては期待される接着性能が発揮されない可能性も存在する. 本研究では, コンポジットレジン修復時のワンボトルワンステップタイプのボンディング材の塗布量に着目し, 塗布量が接着強さに与える影響について検討した.

【材料および方法】

冷凍保存された抜去牛歯を試験直前に解凍し, モデルトリマーで象牙質平坦面を作製し, 耐水研磨紙を用いて #600 まで研磨して象牙質被着面とした. 被着面積を直径 3mm の円形に両面テープで規定し, 内径 3mm, 高さ 2mm の金属製円筒形モールドを固定した. 次に, アドバー™ イージーボンド (3M ESPE) を用いて製造者指示に従って歯面処理を行った. 塗布するボンディング材の量を 2 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 30 μ l, 40 μ l の 5 条件で歯面処理を行い, 高出力 LED 照射器 Elipar™ S10 (3M ESPE 以下, S10) を用いてライトガイド先端をモールドに密着させた状態で 10 秒間照射を行った. その後, クリアフィル AP-X (クラレメディカル, シェード A3) を充填し, S10 にて硬化した. 37℃ 水中で 24 時間保管した後, 引張試験機 (IM-20 INTESCO) を用いて CHS=0.3mm/min にて接着強さを測定した. また引張試験後の被着面の破壊形態を SEM にて観察した. 試料数は各条件につき 8 試料とし, 統計処理は一元配置分散分析および Tukey の検定を行った ($p < 0.05$).

【結果】

引張試験の結果を Fig. 1 に, 被着面の破断形態を Table. 1 に示す. 各条件の引張接着強さにおいて, 20 μ l で最大値 13.1MPa となった. 40 μ l で最小値 8.8MPa となったが, すべての条件間で有意差は認められなかった. また, 破断面の破壊形態を観察すると大部分は混合破壊であった. 塗布量が多くなるとボンディング材凝集破壊が多くなる傾向が認められた.

【考察】

30 μ l と 40 μ l でボンディング材凝集破壊が多く認められたのは, ボンディング材の塗布量が多くなるとボンディング層が厚くなり, 応力が集中しやすくなったためと考えられる. また, 20 μ l で接着強さが高く, 象牙質凝集破壊が認められたのはボンディング材の塗布量が適量であったためと考えられる.

【結論】

ワンボトルワンステップタイプのボンディング材の塗布量には至適量がある可能性が示唆された.

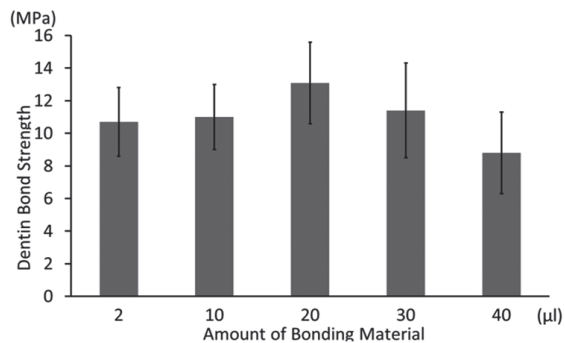


Fig. 1 引張接着強さ

Table. 1 被着面の破壊形態

	2 μ l	10 μ l	20 μ l	30 μ l	40 μ l
象牙質凝集破壊	0	0	3	0	0
界面破壊	3	0	0	3	2
ボンディング凝集破壊	0	1	1	2	2
混合破壊	5	7	4	3	4

象牙質に対するセルフアドヒーズセメントの接着耐久性

¹⁾ 虎の門病院歯科,

²⁾ Leuven BIOMAT Research Cluster, Catholic University of Leuven

○陶山雄司^{1), 2)}, 森上 誠¹⁾, 杉崎順平¹⁾, 宇野 滋¹⁾, 山田敏元¹⁾, Van Meerbeek Bart²⁾

Bond durability of self-adhesive composite cements to dentin

¹⁾ Department of Dentistry, Toranomon Hospital,

²⁾ Leuven BIOMAT Research Cluster, Catholic University of Leuven

○Yuji Suyama^{1), 2)}, Makoto Morigami¹⁾, Jumpei Sugizaki¹⁾, Shigeru Uno¹⁾, Toshimoto Yamada¹⁾,
Bart Van Meerbeek B²⁾

【研究目的】 本研究の目的はセルフアドヒーズセメントの象牙質に対する接着性および、スマイヤー層の有無が接着耐久性に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】 人抜去臼歯 60 本の咬合面に、ダイヤモンドポイントによる切削面 (平均粒径 100 μm)、割断面を形成した。これらの被着面に 4 種のセルフアドヒーズセメント (Clearfil SA Cement, Kuraray; G-Cem, GC; SmartCem2, Dentsply; Unicem 3M ESPE)、エッチアンドリンスシステムセメント (VariolinkII, Icoclar-vivadent) およびセルフエッチングシステムセメント (Esthetic Cement, Kuraray) を使用し、セラミックブロック (Vita Mark II, Vita) を接着、37°C 水中に静置保管した。7 日経過後に接着面積 1mm² の棒状接着試片を作製した。各歯牙から作製した試片のうち半数についてはただちに、残りの半数については 37°C 水中に半年間保管した後、微小引張り接着強さの測定を行なった (クロスヘッドスピード 1 mm/min)。また接着試験後の破断面を実体顕微鏡および走査電子顕微鏡で観察し、更に接合界面を透過電子顕微鏡にて観察した。

【成績および考察】

μTBS to dentin
(MPa)

	Clearfil SA Cement		G-CEM		SmartCem2	
	control (1 week)	6 month	control (1 week)	6 month	control (1 week)	6 month
Fractured	8.6 ± 7.9 ^{AC}	8.2 ± 7.1 ^{ABCD}	4.5 ± 5.5 ^{ACD}	4.5 ± 5.2 ^{ACDE}	1.2 ± 3.3 ^{CD}	2.7 ± 5.6 ^{CE}
Diamond bur	10.2 ± 5.5 ^{ACD}	9.8 ± 3.8 ^{AD}	14.9 ± 4.9 ^{AB}	15.0 ± 6.5 ^{AB}	8.7 ± 6.2 ^{ACD}	2.6 ± 2.7 ^{BE}
	Unicem		VariolinkII		Clearfil Esthetic Cement	
	control (1 week)	6 month	control (1 week)	6 month	control (1 week)	6 month
Fractured	17.0 ± 6.2 ^B	14.7 ± 4.7 ^{ABF}	9.4 ± 8.0 ^{AC}	9.1 ± 6.4 ^{ABCD}	16.6 ± 9.0 ^B	11.4 ± 7.1 ^{ABDF}
Diamond bur	8.2 ± 4.7 ^{CD}	8.0 ± 3.2 ^{ABD}	13.0 ± 7.5 ^{ABC}	8.6 ± 7.4 ^{AD}	12.8 ± 9.3 ^{ABC}	5.0 ± 4.6 ^{ABE}

Same superscripts indicate absence of significant difference (Tukey HSD, p<0.05)

三要因分散分析の結果、接着システム間、被着象牙質間、および保管条件間のいずれにも統計学的有意差を認めなかった (p<0.05)。Unicem を除くすべてのセルフアドヒーズセメントが割断象牙質に対して低い接着強さを示した。また、透過電子顕微鏡による接合界面の観察においてバー切削象牙質、割断象牙質の間には異なる微細構造が観察された。

【結論】 セルフアドヒーズセメントは従来のエッチアンドリンスシステム、セルフエッチングシステムのセメントと同等の象牙質接着性能を有することが示唆され、スマイヤー層の有無すなわち被着面の性状が接着性能に影響を及ぼすことが明らかになった。

動的荷重因子が被根管処置レジンコア併用コンポジットレジン 2 級修復歯の象牙質接着強さに及ぼす影響

日本歯科大学 生命歯学部 歯科保存学講座

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

Effect of dynamic load factor on dentin bond strength of class 2 direct resin composite restoration to endodontically treated case with resin core system

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

○OGAWA Shintaro, MAENO Masahiko, AKIYAMA Saeko, HARA Manabu, YAMADA Tadashi,

MASEKI Toshio, NARA Yoichiro, KATSUUMI Ichiroh

【目的】 近年、レジン接着システムの性能や修復材料の物性・審美性などの向上に伴い、患歯の生死にかかわらず、歯質補強と歯質保存を両立させたメタルフリー直接修復が可能となっている。特に、根管治療を施した歯冠部広範囲実質欠損症例においても、レジン接着システムとレジンコアシステムとの併用によって低侵襲性の審美的直接修復が行える時代を迎えている。しかし、これら C-factor による影響を強く受ける症例の接着挙動は未知となっている。そこで本研究では、髄床底を窩底とする 2 級 MO 直接修復を想定し、動的荷重因子がレジンコア併用例の窩壁象牙質接着強さに及ぼす影響を明らかにすることを目的に評価検討を行った。

【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第一大臼歯 32 本を用いた。はじめに、被験歯に対し透明レジンによる咬合面再現用コアの作製を行った後、通法に従い髄腔開拡、根管充填を行った。湿ボックス 24 時間保管後、被験歯の近心頬・舌側咬頭頂と遠心頬側咬頭頂とによって決定される平面が植立用規格化円筒モールド底面と平行になるよう被験歯を植立した。ついで、規格化窩洞形成器と基準窩洞模型の併用により、Fig.1 に示す髄床底を窩底とする規格化 2 級窩洞を形成した。その後、2 種レジンコアシステム、すなわち Clearfil DC Bond と Clearfil DC Core Automix (以後 DC, Kuraray Medical 社製)、ならびに Clearfil Bond SE ONE と Clearfil DC Core Automix ONE (以後 SE, Kuraray Medical 社製) を用いて製造者指定の歯面処理、髄腔内窩底部から 5 mm 上縁までのコア材一層塗布を経た 2 層の分割充填を行った。そして、咬合面再現用コア併用の Clearfil AP-X (Kuraray Medical 社製) による 2 層の分割充填を施した。試料は湿ボックス 24 時間保管後に形態修正・研磨を行い、動的荷重負荷(S+)群と非負荷(S-)群に区分し、S+群に対しては複合機能試験機を用いて 37°C 水中、16kgf × 30 万回(90 回/分)の繰り返し動的荷重を負荷した。両試料群は、歯冠部歯肉側象牙質(G 壁)、髄床底象牙質(P 壁)、歯冠部軸側象牙質(CA 壁)、側側軸側象牙質(PA 壁)を含む断面 1.0×1.0mm の角柱状試料(n=8)に調整後、微小引張接着強さ(μ-TBS)値を測定し、平均値の差の検定により評価を行った。

【成績ならびに考察】 Fig. 2, 3 に得られた μ-TBS 値(s.d.)を示す。分析の結果、S-条件下ではコアシステムにかかわらず、G 壁値は他の窩壁値より有意に高かった。また、髄腔内象牙質である P 壁と PA 壁との μ-TBS 値間に有意差は認められなかった。一方、S+条件下においてもコアシステムにかかわらず G 壁値が他の窩壁値より有意に高く、P 壁値と PA 壁値との有意差は SE のみで認められた。さらに、同一窩壁における S-値と S+値との比較では、コアシステムにかかわらず P 壁のみにおいて動的荷重負荷による有意な影響が確認された。被根管治療歯に代表される C-factor によって強い影響を受ける症例では、重合収縮に配慮したコア材の充填法が不可欠であることを、当教室の報告¹⁾で確認しており、本研究においても髄腔内窩壁に対するコア材一層塗布法を施した。その結果、S-条件下においてコアシステムを問わず P 壁と PA 壁は同等の接着強さ獲得が可能となったものの、S+条件下では P 壁における接着が著しい影響を受けることが明らかとなった。また、歯冠部窩壁である G 壁と CA 壁には動的荷重因子による影響が認められないものの、CA 壁値は G 壁値より有意に小さかった。CA 壁の開放自由面積は G 壁に比べ少なく、レジンのフローによる重合収縮応力緩和が十分に働かず、接着への侵襲が強いことが考えられた。本研究で検討した髄床底を窩底とする 2 級症例は、臨床における遭遇機会が多く、包括的なコアシステムの改良のみならず、術者による治療法の工夫の大切さが示唆された。

1)小川ら, 日本歯科保存学会 2011 春季大会プログラムおよび抄録集, B8, 26, 2011.

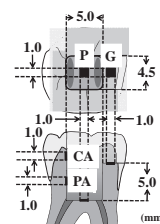


Fig. 1 Dimension of standardized core cavity and μ-TBS measuring area

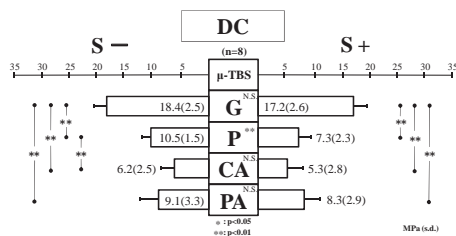


Fig. 2 Mean μ-TBS to gingival and pulpal and two axial dentin wall of DC Bond with DC Core Automix

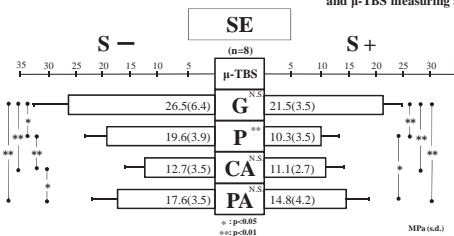


Fig. 3 Mean μ-TBS to gingival and pulpal and two axial dentin wall of Bond SE ONE with DC Core Automix ONE

各種レジンセメントを応用したポストの維持力

東京歯科大学歯科理工学講座
○副島寛貴、河田英司、小田豊

Retention force of post adhered by various adhesive resin cements
Department of Dental Materials Science, Tokyo Dental College
○Soejima Hirotaka, Kawada Eiji, Oda Yutaka

[研究目的]

根管処置歯に対してファイバー強化型コンポジットレジンポスト (FRC ポスト) とレジンでポストにて支台築造する方法が広く応用されている。しかし、ポストの維持力に及ぼす各種接着性レジンセメントの影響は不明な点も多い。本研究では牛歯根管処置歯に対して各種接着性レジンセメントでポストを合着し、セメントの種類と合着後の保管期間が維持力に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

[材料と方法]

冷凍保存した未処置の牛前歯を解凍後、歯根と歯冠を分割し、根管径が 3mm 以下の歯根を用いた。この歯根にガッタパーチャとシーラーにて根管充填した。ポストスペースは直径 3mm のドリルにて深さ 4 mm になるようにガッタパーチャを除去し、18% EDTA にて洗浄した。これらの根管処置歯に対して FRC ポスト (Fibrekleer Post, ペントロンジャパン: $\phi 1.5\text{mm}$) とポストレジン (PostResin, サンメディカル) を用いて、直接間接法にてポストを作製した。硬化したポストは、スーパーボンド C&B (SB: サンメディカル)、パナビア F2.0 (PA: クラレメディカル)、SA ルーティング (SA: クラレメディカル) および G-ルーティング (GL: ジーシー) を用い、水洗乾燥した根管処置歯に各メーカーの指示通りに合着した。試料は 37°C の水中に 1 日または 14 日間静置した (1day, 14days と表記)。試料は各条件で 7 個ずつとした。

各種セメントにてポストを合着した根管処置歯はアクリルリング (高さ 30mm、直径 17mm) に常温重合レジン (Tray Resin, 松風) で固定した後に、万能材料試験機 (Autograph AG-I 20kN, 島津) を用いクロスヘッドスピード 0.5 mm/min でポストの引抜き試験を行い、その最大荷重を維持力とした。引抜き試験後のポスト表面を光学顕微鏡 (VH-5000, Keyence) で観察し、FRC ポストとポストレジンの界面で破壊した試料 (P/R)、ポストレジンと象牙質の間で破壊した試料 (R/D)、P/R および R/D の混合で破壊した試料 (Mix) に分類した。保管期間およびセメント間のポストの維持力は、一元配置分散分析および Tukey の多重比較検定により統計処理を行った ($\alpha=0.05$)。

[結果および考察]

ポストの維持力は 1day が SB ; 301.2 \pm 112.5 N、PA ; 290.0 \pm 46.9 N、SA ; 134.5 \pm 40.3 N、GL ; 171.9 \pm 71.4 N であった。SB と PA 間および SA と GL 間には統計学的な有意差は認められなかったが、SB と PA は SA と GL よりも維持力が大きかった。14days では SB ; 296.2 \pm 97.0 N、PA ; 286.3 \pm 44.3 N、SA ; 239.8 \pm 31.9 N、GL ; 237.7 \pm 20.8 N となり、すべてのセメント間で統計学的な有意差は認められなかった。引抜き試験後のポスト表面を観察した結果、半数以上が R/D および Mix にて破壊し、ポスト表面にはセメント層が観察された。このことからほとんどのポストの破断はレジンセメントの凝集破壊かセメントと象牙質の界面破壊であったと推測された。

SB および PA は、エッチング&リンスまたはセルフエッチングプライマーによる表面処理を行っているため接着初期から十分な接着力が得られたと考える。一方、SA および GL はセルフアドヒーシブタイプのデュアルキュア型接着性レジンセメントであり、照射による接着性レジンセメントの硬化後、化学重合によるレジンセメントの重合が進行する。この化学重合による後重合が接着性レジンセメントの重合度を高め、セメントの強度が増加したため、接着 1 日後より接着 14 日後においてポストの維持力が大きくなったものと考えられる。

[結論]

接着 1 日においてはセメントの種類、前処理方法の違いでポストの維持力に差を示したが、接着 14 日後には各種セメント間でポストの維持力に差異は認められなかった。

S-PRG フィラー配合試作レジンセメントの機械的性質

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、生体材料学分野²

○塩出信太郎¹、山路公造¹、西谷佳浩¹、入江正郎²、吉山昌宏¹

A mechanical property of experimental resin cement incorporated S-PRG filler

Department of Operative Dentistry¹, Department of Biomaterials², Field of study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science

○Shintaro Shiode¹, Kozo Yamaji¹, Yoshihiro Nishitani¹, Masao Irie² and Masahiro Yoshiyama¹

【研究目的】

接着技術は歯科臨床において重要なものとなっており、間接法での修復において合着用セメントの機械的性質は修復物の予後を決める大きな要因である。歯質との接着が弱い場合やセメントの機械的性質が低い場合は修復物が脱離したり、歯質の二次う蝕の発生の原因となりうる。二次う蝕の抑制のために合着用セメントへフッ素を添加することが注目されている。松風より修復材料へのフッ素添加のためにガラス粒子表面にガラスアイオノマー相が形成された Surface reaction type Pre-Reacted Glass-ionomer filler (S-PRG フィラー) を添加することが試みられている。S-PRG フィラーはフッ素のリリースおよびリチャージ能に優れていることが知られている。しかしながら S-PRG フィラーは機械的性質がレジンに比べ弱いガラスアイオノマー相を含んでいることから、S-PRG フィラーを添加するとレジン系材料の機械的性質が低下する可能性が考えられる。そこで本研究では S-PRG フィラーを添加した新規レジンセメントを試作し、S-PRG フィラー増加に伴う機械的性質の変化を 3 点曲げ試験、圧縮試験を行うことにより評価することとした。

【材料および方法】

試作レジンセメントとしてフルオロアルミノシリケートガラス (FASG) フィラーを 68.5wt% 含有した UDMA ベースのレジンセメント及び FASG フィラーを S-PRG フィラーで 5wt%、10wt%、15wt%、20wt%、25wt%、30wt% ずつ置換したものを作製し、S-PRG フィラーが含まれていないものを RCPRG-0、以降添加量が少ないものから RCPRG-1, 2, 3, 4, 5, 6 と名付けた。3 点曲げ試験片は長さ 25mm、幅 2.5mm、高さ 2.5mm のテフロンモールドにセメントを充填後光照射 (blue shot, shofu) し各 10 個の試料を作製した。24 時間 37°C で水中保管した後、支点間距離 20mm、クロスヘッドスピード 1.0mm/min の条件でオートグラフ (AGS-10kND, SHIMADZU) を用いて 3 点曲げ試験を行うとともにサーマルサイクル (TC) 20,000 回の影響についても評価した。一方、圧縮試験片は、高さ 6mm、直径 4mm のステンレスモールドにセメントを充填後光照射しそれぞれ 10 個の試料を作製した。作製した試料を 24 時間 37°C で水中保管した後、クロスヘッドスピード 1.0mm/min の条件でオートグラフを用いて圧縮試験を行うとともに TC20,000 回の影響についても評価した。統計は one way ANOVA および t 検定を用い、有意水準は 5% とした。

【成績および考察】

3 点曲げ試験において 24 時間水中保管群は RCPRG-0 から RCPRG-6 の各群いずれも曲げ強さに有意差が認められなかった。また、圧縮試験は RCPRG-5 及び RCPRG-6 で圧縮強さが有意に低下した。TC20,000 回負荷後の 3 点曲げ試験の結果、いずれの群間でも有意差は認められなかったが、24 時間水中保管後と比較して曲げ強さは有意に低下していた。TC20,000 回負荷後の圧縮強さは、RCPRG-5 及び RCPRG-6 で圧縮強さが有意に低下した。24 時間水中保管群に対して TC 負荷による圧縮強さの低下を示したのは RCPRG-6 のみであった。これは、圧縮強さは内部強度に依存する試験であると考えられており、S-PRG フィラーが増加することによって内部強度が低下し、圧縮強さが低下したと推察した。一方曲げ強さは表面性状の影響を受ける試験方法であると考えられており、曲げ強さに各群の変化が認められないのは、表面性状に差がないと考えられ、TC20,000 回負荷後において曲げ強さが各群有意に低下したのは TC によって表面から劣化が生じたためであると推察した。圧縮強さに TC の影響が RCPRG-6 のみに認められたのは、RCPRG-0 から 5 では表面のみに限局して劣化が生じているが RCPRG-6 では内部まで劣化が生じている可能性があるかと推察した。以上の結果 S-PRG フィラーの添加が 20wt% 以下の場合、圧縮強さ、曲げ強さに影響を及ぼさない可能性が示唆された。

各種自己接着性レジンセメントの CAD/CAM マシーナブルセラミック介在下における硬化度の検討

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

Microhardness of self-adhesive resin cements polymerized through CAD/CAM machinable ceramics

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Graduate School, Niigata University,
²Kitashiro Dental Office, ³Removable Partial Denture Prosthodontics, Graduate School, Tokyo Medical and
Dental University, ⁴General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University, ⁵Division of Biomaterial
Science, Niigata University ⁶Division of Oral Science for Health Promotion, Niigata University
○ WATANABE Heima^{1,2}, ASAI Tetsuya¹, 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。近年ではこの目的で、接着前処理を簡略化した自己接着性レジンセメントが開発・使用されているが、これらのセメントのセラミック修復物下での硬化度は十分に検証されていない。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各種自己接着性レジンセメントに光照射を行い、セメントの種類および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】

自己接着性レジンセメントとしてクリアフィル SA ルーティング (クラレメディカル, 以下 SC), RelyX Unicem 2 (3M, 以下 UC) およびビューティセム SA (松風, 以下 BC) を、また接着操作に歯面前処理を要するデュアルキュア型レジンセメントとしてクリアフィルエステティックセメント (クラレメディカル, 以下 EC) 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 のセラミック板を作製した。次いで、各種レジンセメントを内寸 12.0×2.0×2.0mm のステンレス金型に填塞し、透明ポリエチレンフィルムおよびセラミック板の介在下あるいは非介在下で、LED 照射器 (Demi, Kerr) を密着させて光照射を行った。照射時間はセラミック板非介在下では 20 秒 (デュアルキュア型レジンセメントに対するメーカー指定照射時間)、セラミック板介在下では 20 秒あるいは 40 秒とした。また、光照射を行わずに硬化させたものを対照群とした。全ての試料は暗室中で 37°C 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。得られたデータはそれぞれのセメントについて AVOVA および Bonferroni の多重検定により統計処理を行った ($\alpha = 0.05$)。

【結果および考察】メーカー指定照射時間 (20 秒) では、UC および EC でヌーブ硬さはセラミック板介在下で有意に低下した ($p < 0.05$)。一方、照射時間を 40 秒とした場合は、各セメントともセラミック板非介在下と同等のヌーブ硬さを示した ($p > 0.05$)。また、光照射を行わない場合は、セラミック板非介在下で光照射した場合と比較して、全被験セメントでヌーブ硬さは有意に低下したが ($p < 0.05$)、その減少率は自己接着性レジンセメントでは 14-15%であったのに対して、EC では 49%と顕著であった。

以上の結果から、オールセラミック修復物を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種類によっては硬化度が低下するものの、照射時間を 2 倍とすることにより硬化度の低下が回避されることが示唆された。また、自己接着性レジンセメントでは、デュアルキュア型レジンセメントと比較して光照射を行わない場合の硬化度の低下が軽度であり、光の到達が困難な窩洞に対して接着操作を行う場合に有用であることが示唆された。

【結論】本実験条件においては、自己接着性レジンセメントの一部の製品ではセラミック板介在下で硬化度が低下すること、および、光照射時間の延長により硬化度の低下を回避できることが示された。

マウス顎下腺上皮細胞の細胞外液性因子が iPS 細胞に与える影響

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
岡山大学病院 歯周科²

○池田淳史¹, 峯柴淳二², 山口知子¹, 峯柴史¹, 前田博史¹, 高柴正悟¹

Effect of Environmental Factors of Mouse Submandibular Gland Cells on Mouse iPS cells

¹Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science

²Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital

○IKEDA Atsushi¹, MINESHIBA Junji², YAMAGUCHI Tomoko¹, MINESHIBA Fumi¹,
MAEDA Hiroshi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【目的】

唾液は、口腔内を湿潤状態に保つことで口腔感染症の発生を抑制し、口腔環境を保つ重要な働きを担っている。しかし、唾液腺は通常自己再生能を持たず、一度障害を受けると機能回復は難しい。近年、唾液腺上皮細胞の中で CD49f を発現している細胞は、内胚葉系の多臓器の細胞へと分化する能力を持つことが報告されている (Okumura *et al.*, *Hepatology*, 2003)。また再生医療の分野では、ES 細胞と同程度の多能性を有する誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞) が注目を浴びている。さらに、組織幹細胞周囲の微小環境からのシグナルによる制御が組織の修復に重要であることが報告されている (Scadden, *Nature*, 2006)。そこで我々は唾液腺前駆細胞の可能性のある CD49f 陽性マウス顎下腺上皮細胞 (CD49f⁺細胞) とマウス iPS 細胞の共培養による微少環境を作り、分化のメカニズムを解明することが可能であると考えた。本研究では、CD49f⁺細胞の細胞外液性因子がマウス iPS 細胞へ与える影響を調べることを目的とした。

【材料および方法】

1. マウス iPS 細胞の内胚葉系細胞への分化：マウス胚線維芽細胞をフィーダー細胞として iPS 細胞 (理化学研究所バイオリソースセンター) を継代・培養後、基礎培地として Advanced Roswell Park Memorial Institute (A-RPMI) を用いて、ウシ胎児血清 (FBS), Wntless-type 3A (WNT3A), Activin A, Fibroblast growth factor 10 (FGF10), あるいは KAAD-cyclopamine (KAAD-CYC) を添加し作製した Mesendoderm (ME) 培地, Definitive endoderm (DE) 培地, あるいは Posterior gut tube endoderm (PG) 培地で培養し分化させた。添加するタンパク因子を段階希釈し、その濃度と培養日数を変化させた。逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) 法で各分化段階に発現する分化指標因子の mRNA の発現を確認し、分化状態を比較検討した。
2. CD49f⁺細胞の細胞外液性因子のマウス iPS 細胞へ与える影響：マウス顎下腺を摘出後、単一の細胞へ分離し、磁気ビーズ法を用いて CD49f⁺細胞を分離した。上述の分化用培地で培養した各分化段階の iPS 細胞と CD49f⁺細胞をトランスウェル内で共培養を行い、唾液腺関連因子を含む上皮系細胞に高発現するタンパク因子の mRNA 量を定量 RT-PCR 法を用いて比較検討した。

【結果】

1. 基礎培地に添加するタンパク因子の種類と濃度、そして分化培地での培養日数の適切な組合せを決定した。
 - ①基礎培地 + 12.5 ng/ml WNT3A + 50 ng/ml Activin A (ME 培地) で 1 日
 - ②基礎培地 + 0.2% FBS + 50 ng/ml Activin A (DE 培地) で 1 日
 - ③基礎培地 + 2% FBS + 25 ng/ml FGF10 + 0.125 μM KAAD-CYC (PG 培地) で 2 日
2. CD49f⁺細胞を種々に分化した iPS 細胞と共培養を行うと、PG に分化した iPS 細胞において、非角化扁平上皮細胞と増殖期の扁平上皮細胞に発現する Cytokeratin 6a の mRNA 発現量は増加した。さらに、腺房・導管細胞に発現する Claudin 3 の mRNA は CD49f⁺細胞と共培養していない対照と比較すると発現量を維持した。しかし、ME と DE に分化した iPS 細胞では、CD49f⁺細胞と共培養していない対照と比較して変化がなかった。

【結論と考察】

以上の結果から、唾液線由来の CD49f⁺細胞の細胞外液性因子は、PG に分化した iPS 細胞を唾液腺上皮細胞へと分化誘導できる可能性がある。しかし、本研究は細胞間の接触による相互作用の影響を考慮しておらず、それを加味することができれば、唾液腺上皮細胞様細胞にもっと近い性質を持つ細胞へと分化が可能であると考えられる。

(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-2011559)

マウス iPS 細胞の低酸素下培養における HIF (Hypoxia Inducible Factor) の役割
Function of HIF(Hypoxia Inducible Factor) in hypoxic cultivation of mouse iPS cells

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野

○杉本 浩司、吉澤 祐、石崎 秀隆、林 善彦

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Sugimoto Koji, Yuu Yoshizawa, Ishizaki Hidetaka, Hayashi Yoshihiko

[研究目的]

近年、医学領域では心筋細胞の再生などの臨床研究も進んでいるが、歯科領域においても幹細胞を応用し失われた歯の再生療法が注目されている。

我々の教室では4因子と3因子導入マウス iPS 細胞を用いた低酸素培養下での増殖・分化、骨芽細胞誘導時における影響について検討し、低酸素培養(5%O₂)では通常培養(20%O₂)より未分化状態を維持していることがわかった。

低酸素環境下で、幹細胞や ES 細胞は HIF(hypoxia inducible factor)の働きにより未分化状態が維持されていることが報告されており、iPS 細胞でも HIF の働きによることが推察される。本研究では低酸素環境下での HIF の働きについて検討した。

[材料および方法]

実験には理研 CELL BANK より購入したマウス iPS 細胞 (iPS-MEF-Ng-178B-5)を用いた。MEF を播種した Dish 上に、マウス iPS 細胞を5日間 FBS、2-Mercaptoethanol、NEAA、mouseLIF、penicillin/streptomycin、bFGF 添加 DMEM で培養。継代時に siRNA をトランスフェクションした3因子導入マウス iPS 細胞を60mmDish 上に1.0×10⁵ cell/cm²の密度で播種し、5%O₂下で48時間培養した。それぞれの Dish には50nM siRNAs {Product Names: Mm_Hif1a_4FlexiTube siRNA, Mm_Epas1 (Hif2a)_5FlexiTube siRNA, Mm_Hif3a_5FlexiTube siRNA, QIAGEN} に HiPerfect transfection reagent (QIAGEN)を添加しており、siRNA 導入48時間後に細胞を回収し、細胞形態、Nanog, Sox2, Oct4 の mRNA 発現量を比較した。対照群は、AllStars Negative Controls (QIAGEN) をトランスフェクションしたものをを用いた。

[結果]

siRNA を導入し、HIFs をノックダウンしたときの iPS 細胞のコロニーの形態学的観察を行った。HIF1a をノックダウンしたものでは、対照群と同様に iPS 細胞のコロニーを形成した。しかし、HIF2a をノックダウンしたものでは、コロニーは形成するもののコロニーサイズが減少していた。HIF3a をノックダウンしたものでは、HIF1a をノックダウンしたときと同様に、対照群と同じように iPS 細胞のコロニーを形成した。

HIF1a をノックダウンしたものでは、未分化マーカーである Nanog, Sox2, Oct4 の発現量は対照群と有意差はなかった。HIF2a をノックダウンしたものでは、対照群と比較して、Nanog, Sox2, Oct4 の発現量は有意に減少していた。また、HIF3a をノックダウンしたのも、対照群と比較して、Nanog, Sox2, Oct4 の発現量は有意に減少していた。

[まとめ]

今回の結果から、iPS 細胞の低酸素環境下では、HIF(hypoxia inducible factor)の働きにより未分化状態が維持されていることが推察される。特に、コロニー形成に関しては、HIF2a の関与が明確となった。未分化マーカーの発現に関しては、HIF2a, HIF3a の働き、特に HIF2a によって iPS 細胞の多能性が調節されていると考えられる。

Toll-Like Receptor 4 発現における *TLR4* 遺伝子 3' 側非翻訳領域の 一塩基多型 rs11536889 の役割

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病学分野¹, 日本大学松戸歯学部 歯周治療学講座²

○佐藤佳昌¹, 吉村篤利¹, 金子高士¹, 岸本隆明¹, 松村浩禎², 小方頼昌², 原 宜興¹

Role of a Single Nucleotide Polymorphism rs11536889 at 3' -UTR of *TLR4* Gene in Toll-Like Receptor 4 Expression

Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences¹,

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo²

○Kayo Sato¹, Atsutoshi Yoshimura¹, Takashi Kaneko¹, Takaaki Kishimoto¹, Hiroyoshi Matsumura²,
Yorimasa Ogata², Yoshitaka Hara¹

【目的】

我々は、*TLR4* 遺伝子における一塩基多型 (SNP) rs11536889 のマイナーアレルホモ接合 C/C の頻度は歯周病患者に多く、さらに重度患者に多いことを報告した。rs11536889 は *TLR4* 遺伝子の 3' 側非翻訳領域 (3' -UTR) に存在することから、Toll-Like Receptor (TLR4) 発現量の調節に関与していることが予想された。本研究では、この SNP が *TLR4* の転写および翻訳に与える影響について解析した。

【材料および方法】

1. rs11536889 における遺伝子型 C/C および G/C、G/G の被験者 (それぞれ C/C、G/C、G/G 群) 各 12 名から末梢血を採取し、単球膜表面における *TLR4* 発現量をフローサイトメトリー法で比較した。また、対照として、*TLR2* 発現量についても同様な方法で比較した。
2. C/C および G/C、G/G 群各 19 名の単核球を *TLR4* リガンドであるリポ多糖 (LPS) 1 ng/ml または *TLR2* リガンドである合成リポペプチド Pam₃CSK₄ 100 ng/ml で 20 時間刺激し、上清中のサイトカイン産生量を ELISA 法で測定した。
3. C/C および G/C、G/G 群各 18~19 名の単核球における *TLR4*mRNA の発現量を定量的 PCR (real-time PCR) を用いて比較した。
4. G/G および C/C 群各 4 名の単核球を Pam₃CSK₄ 100 ng/ml で刺激し、*TLR4*mRNA と *TLR4* 蛋白の発現量の経時的変化を、それぞれ real-time PCR とフローサイトメトリー法で解析した。
5. ルシフェラーゼ遺伝子上流に *TLR4* 遺伝子のプロモーター領域を、下流に G アレルまたは C アレルの rs11536889 を含む 3' -UTR 断片を挿入したコンストラクトを作製し、THP-1 細胞に発現させた。この細胞を LPS 1 μg/ml で刺激し、ルシフェラーゼ活性を測定した。

【結果】

1. C/C 群の単球は、G/G および G/C 群の単球よりも細胞膜表面における *TLR4* 発現量は多かった。*TLR2* 発現量については、各遺伝子型群間での違いは認められなかった。
2. C/C および G/C 群の単核球における LPS 刺激後の IL-8 産生量は、G/G 群よりも多かった。また、IL-6 および TNF-α の産生量も C/C 群で高い傾向がみられた。Pam₃CSK₄ で刺激後のこれらのサイトカイン産生量に各遺伝子型群間での違いは認められなかった。
3. 末梢血単核球における *TLR4*mRNA の発現量に各遺伝子型群間での違いは認められなかった。
4. 単核球を Pam₃CSK₄ で刺激すると、G/G、C/C 群ともに *TLR4*mRNA の発現量は増加したが、*TLR4* 蛋白の発現は C/C 群においてのみ増加し、G/G 群では増加しなかった。
5. rs11536889 における G アレルの *TLR4* 遺伝子 3' -UTR 断片をルシフェラーゼ遺伝子下流に挿入すると、THP-1 細胞におけるルシフェラーゼ活性が抑制されたが、C アレルの断片では抑制されなかった。

【考察および結論】

rs11536889 における遺伝子多型の C アレルは *TLR4* 遺伝子の翻訳を抑制することで *TLR4* の発現量を調節し、LPS 応答性に影響を及ぼしていることが示唆された。

TNF- α と IL-4 刺激が誘導するヒト歯肉線維芽細胞の CCL11 産生に及ぼす緑茶カテキンの影響

¹⁾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 ²⁾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 PD ³⁾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

○ 細川義隆¹⁾、細川育子²⁾、尾崎和美³⁾、中西正¹⁾、中江英明¹⁾、松尾敬志¹⁾

The effect of catechin on CCL11 production from TNF- α and IL-4-stimulated human gingival fibroblasts

¹⁾Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School, ²⁾Department of Oral Microbiology, The University of Tokushima Graduate School, JSPS Research Fellow ³⁾Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School

○Yoshitaka Hosokawa¹⁾, Ikuko Hosokawa^{1) 2)}, Kazumi Ozaki³⁾, Tadashi Nakanishi¹⁾, Hideaki Nakae¹⁾ Takashi Matsuo¹⁾

【研究目的】

CC chemokine ligand 11 (CCL11)はCC chemokineに属するケモカインであり、CC chemokine receptor 3 (CCR3)を介してTh2細胞浸潤に関与している事が明らかとなっている。近年、Th2細胞が歯周炎のマウスモデルにおいて歯槽骨吸収に関与している事が報告され注目されている (J Immunol. 187, 501-509, 2011)。また、catechinは緑茶に多く含まれるポリフェノールであり、抗酸化作用、抗癌作用、抗炎症作用などがあることが報告されているが、CCL11産生に与える影響に関しては報告がなく不明な点が多い。本研究では、炎症性サイトカインであるTNF- α とTh2サイトカインであるIL-4がヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) のCCL11産生に与える影響ならびにcatechinがTNF- α およびIL-4刺激HGFsのCCL11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TNF- α およびIL-4で刺激しCCL11産生をELISA法により解析した。さらにcatechinの主な成分であるEpigallocatechin gallate (EGCG)にてHGFsを1時間前処理後TNF- α とIL-4刺激を行い、CCL11産生をELISA法にて、細胞内シグナル伝達分子 (MAPKs) のリン酸化をwestern blot法にて解析を行った。また、TNF- α とIL-4誘導CCL11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、TNF- α とIL-4刺激を行いCCL11産生を確認した。

【成績】

HGFsはTNF- α とIL-4単独刺激でもCCL11を産生したが、TNF- α とIL-4の共刺激において単独刺激と比較し相乗的にHGFsのCCL11産生が誘導された。EGCGはTNF- α とIL-4が誘導したCCL11産生を濃度依存的に抑制した。また、p38 MAPK inhibitor, ERK inhibitor およびJNK inhibitorは有意にTNF- α とIL-4が誘導したCCL11産生を抑制した。さらに、TNF- α とIL-4刺激が誘導したERKならびにJNKのリン酸化をEGCGは抑制した。

【考察および結論】

今回の結果より、TNF- α とIL-4刺激によりCCL11産生がHGFsに誘導されることより、歯周炎病変局所へのTh2細胞浸潤にHGFsは積極的に関与している事が示唆された。また、EGCGはTNF- α とIL-4刺激HGFsのERKとJNKを介したシグナル伝達経路を抑制することにより、HGFsのCCL11産生を減少させる事が示された。この結果より、緑茶カテキンは歯周炎においてTh2ケモカインであるCCL11産生を抑制する事により、Th2細胞の歯周炎病変局所への浸潤・集積を減少させ、歯周炎の進行を抑制できる可能性が示唆された。

ヒト歯肉線維芽細胞におけるカベオリン-1 を標的とした IL-6 誘導性のリソソーム酵素カテプシン B と L 分泌の抑制制御

¹⁾岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野, ²⁾岩手医科大学歯学部 口腔機能保存学講座
○後藤絢香¹, 山口知子¹, 大森一弘¹, 小林寛也¹, 成石浩司², 前田博史¹, 高柴正悟¹

Inhibitory effects of IL-6/sIL-6R-induced cathepsin-B, -L secretion by targeting caveolin-1 in human gingival fibroblasts

¹Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of
Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Science, Okayama, Japan,

²Department of Conservative Dentistry and Oral Rehabilitation, Division of Endodontology,
Iwate Medical University, Iwate, Japan

○GOTO Ayaka¹, YAMAGUCHI Tomoko¹, OMORI Kazuhiro¹, KOBAYASHI Hiroya¹,
NARUISHI Koji², MAEDA Hiroshi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【諸言】

歯周病は結合組織が破壊される慢性炎症性疾患であり、組織内ではインターロイキン 6 (IL-6) などの炎症性サイトカインが多様に作用し合っている。カテプシンは主にリソソーム内で作用する酵素であるが、これは前駆体型として細胞外へ分泌され、細胞外基質の分解にも関与していることが知られている。これまで我々は、IL-6 がカベオリン-1 (Cav-1) および c-Jun N-terminal kinase (JNK) を介してヒト歯肉線維芽細胞内のカテプシン B と L 活性を亢進することを報告してきた (Yamaguchi *et al.*, *J Cell Physiol*, 2008)。さらに我々は、IL-6 がカテプシン分泌を亢進するという知見を得ていることから、その亢進においても Cav-1 が関与していると考えた。本研究では、ヒト歯肉線維芽細胞における IL-6 誘導性カテプシン B と L 分泌への Cav-1 の関与およびその刺激伝達系を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】

1. ヒト歯肉線維芽細胞の培養：細胞は、臨床的に健康なヒト歯肉から分離・培養した線維芽細胞様細胞を、ヒト歯肉線維芽細胞として用いた。培養は、ウシ胎児血清を 10% の割合に含む DMEM (Invitrogen) を用い、37°C、5% CO₂ 存在下、95% 湿潤下で行った。なお、5 - 8 代継代培養した細胞を実験に用いた。(倫理委員会承認：No. 661)
2. Cav-1 発現抑制細胞の樹立：Cav-1 の発現を抑制した細胞は、通法に従って Cav-1 を標的とする small interfering RNA (siRNA：100 nM, Santa Cruz) を細胞に導入して樹立した。なお、Cav-1 の発現抑制は、遺伝子導入した 24 時間毎に細胞の全細胞蛋白を回収し、ウエスタンブロット法によって Cav-1 の発現量を調べ、確認した。
3. 細胞の IL-6 による刺激：上記 1 と 2 のヒト歯肉線維芽細胞を、ヒトの組み換え型 IL-6 および可溶性 IL-6 受容体 (sIL-6R) (ともに R&D, 50 ng/ml) で刺激した。そして、24 時間毎に培養上清と細胞質を回収した。
4. mitogen-activated protein kinase (MAPK) 系の抑制：p44/42 MAPK および c-Jun N-terminal kinase (JNK) は、阻害剤である PD98059 および SP600125 (各 50 μM) を、IL-6/sIL-6R 添加の 30 分前に、添加して抑制した。
5. IL-6 誘導性カテプシン B と L の検出：前駆体型と成熟型の総カテプシンの B と L は、抗カテプシン B あるいは L 抗体を一次抗体としたウエスタンブロット法によって検出した。各バンドのシグナルは、内部コントロールである Lamp-1 および総蛋白量を対照として相対黒化度を測定し、比較した。
6. 統計解析：ANOVA / Sheffe's test を用いて検定し、P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありと判定した。

【結果】

1. IL-6/sIL-6R で刺激すると、総カテプシン B と L の細胞内の蓄積量および培養上清への分泌量が増加した (p<0.05)。
2. Cav-1 の発現を抑制すると、総カテプシン B と L の蓄積量と分泌量が減少した (p<0.05)。
3. p44/42 MAPK を阻害すると、総カテプシン B と L の蓄積量は減少せず、総カテプシン B の分泌量のみ減少した (p<0.05)。JNK を阻害すると、総カテプシン B と L の両方の蓄積量および分泌量が減少した (p<0.05)。

【考察および結論】

ヒト歯肉線維芽細胞における IL-6 誘導性カテプシン B と L の産生には Cav-1 が関与しており、総カテプシン B と L の細胞内蓄積における刺激伝達系にはこれまでの報告と同様に JNK が、分泌には JNK のみならず p44/42MAPK も関与していることが明らかとなった。このことは、IL-6 がもたらす結合組織での炎症メカニズムの解明につながることに、将来の Cav-1 を標的とした IL-6 による歯周病悪化を抑制制御し得る可能性を示唆する。

誘電体バリア放電低温大気圧マイクロプラズマ照射がヒト歯肉線維芽細胞に与える影響

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座
○高橋亮一, 沼部幸博

The influence that dielectric barrier electric discharge low temperature atmospheric pressure microplasma irradiation gives to a human gingival fibroblast

Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Tokyo, Nippon Dental University

○Ryoichi Takahashi, Yukihiro Numabe

【背景および目的】

プラズマ技術は半導体や物質表面の改質などの工業分野や血液凝固や滅菌処理などの医療分野など様々な分野で応用されている。技術の発展に伴い、安定的に微小ギャップ間でのマイクロプラズマを生成できるようになった。マイクロプラズマの大きな特徴の一つとしては大気圧下で低温度、低電圧で微小な規模のプラズマを生成できる点がある。近年の研究ではヒトの皮膚潰瘍にプラズマ照射をする事で創傷治癒を促進させた報告や、細胞へ照射する事で代謝活性が上昇した報告があり、細胞や組織などの生体を対象にプラズマ照射がもたらす影響の分析が行われている。しかしながらマイクロプラズマ照射における研究報告は少なく、細胞レベルでの基礎的な研究においてはわずかしき報告がない。

今回、誘電体バリア放電低温大気圧マイクロプラズマ発生装置を用いてプラズマ照射後のヒト歯肉線維芽細胞に対する影響について分析し、新たな知見を得たので報告する。

【材料と方法】

株化されたヒト歯肉線維芽細胞(株式会社DSファーマバイオメディカル, 以下 Gin-1 と省略)を用いた。マイクロプラズマ発生装置は静岡大学イノベーション共同研究センターおよびパルステック工業社の共同開発したものでパルス波を電源として電極に誘導体バリア材料を使用した誘電体バリア放電低温大気圧マイクロプラズマ発生装置を用いた。

実験では Gin-1 を 500cells/well に調整後、96well plate に播種し 24 時間培養後、マイクロプラズマ照射を行った。照射条件はパルス周期 40 μ s、パルス幅 1.0 μ s、照射距離 10mm、気体流量 10L/min、照射時間は 10、30、60、90 秒とし 1 日 1 回の照射を 7 日間行った。電圧は 600 v ~ 950 v の範囲内の様々な電圧条件で培養細胞へマイクロプラズマ照射を行った。

細胞の評価として細胞増殖比を分析した。マイクロプラズマ照射後の経時的な細胞増殖数の測定として、MTT 改良法 (WST-8) を用いて 7 日間の細胞増殖数を測定した。

【結果および考察】

誘電体バリア放電低温大気圧マイクロプラズマを電圧 600V の低出力で Gin-1 に照射したものは作用させていないものと比較して統計学的有意に細胞増殖を認めた (P<0.01)。この結果はマイクロプラズマの発生により生成された各種ラジカルが、細胞に対して刺激を与えることが活性化に関与している事が推測された。今後は細胞増殖活性に関連する代謝経路や遺伝子レベルでの細胞活性の分析、また影響を与えたラジカルの分析など更なる追加実験が必要と考えられる。

【参考文献】

パルス駆動大気圧マイクロプラズマの特性とその応用 Introduction and application of pulse driven atmospheric microplasma. 清水一男. 電気学会研究会資料パルスパワー/放電合同研究会, PPT-11-049, ED-11-097, pp. 43-50, 2011.

【会員外研究協力者】 静岡大学イノベーション共同研究センター 清水一男

Aggregatibacter actinomycetemcomitans の outer membrane protein-29 はヒト歯肉上皮細胞において smad2 を介してアポトーシスシグナルを誘導し、E-cadherin の発現を減少させる

広島大学大学院医歯薬総合研究科 先進医療開発科学講座歯周病態学分野

○吉本 哲也 藤田 剛 應原 一久 内田 雄士 松田 真司 宮川 剛史 今井 遙香 柴 秀樹 河口 浩之
栗原 英見

Outer membrane protein-29 from *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* induces apoptosis and decrease the expression of E-cadherin in human gingival epithelial cells
Department of Periodontal Medicine, Division of Frontier Medical Science, Hiroshima University
Graduate School of Biomedical Sciences

○Tetsuya Yoshimoto, Tsuyoshi Fujita, Kazuhisa Ouhara, Yuushi Uchida, Shinji Matsuda, Tsuyoshi Miyagawa, Haruka Imai, Hideki Shiba, Hiroyuki Kawaguchi, Hidemi Kurihara

【目的】

歯肉上皮細胞は細菌の侵入に対して物理的バリアーとして機能する一方、炎症性サイトカインを産生するなど歯周病の発症、進行に深く関与すると考えられる。細胞間接着は上皮細胞の機能を制御する重要な因子であり、歯肉接合上皮においては E-cadherin を始めとする細胞間接着因子の存在が知られている。歯周病に罹患した接合上皮では、E-cadherin の発現が低下している。E-cadherin 発現の調節には、caspase を介したアポトーシスシグナルの関与が種々の細胞で報告されている。歯周病原細菌刺激によって引き起こされるアポトーシスシグナルを介した上皮細胞間接着破壊のメカニズムを解明することは、歯周病の発症機序の解明につながると考えられる。そこで本研究では、ヒト歯肉上皮細胞培養系を用い、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*) の 29 kDa 外膜タンパクである outer membrane protein-29 (omp-29) 存在下におけるアポトーシス関連タンパク質の発現、及び E-cadherin の発現について検討した。

【材料と方法】

不死化したヒト歯肉上皮細胞 OBA9 (大阪大学, 村上伸也教授より供与) を実験に使用した。Hu-mediaKB2 に insulin, human epidermal growth factor, gentamicin, amphotericin, hydrocortisone hemisuccinate を添加した培地を用いて、OBA9 をサブコンフルエントになるまで培養し、omp-29(1 µg/ml) を 0, 0.5, 1, 3, 6, 12, 24, 48 時間作用させた後、細胞を SDS buffer で溶解しサンプルをとした。ミトコンドリアに存在するアポトーシス促進因子である bim, リン酸化 bad, アポトーシス抑制因子である bcl2, bcl-xL, アポトーシスのマーカーとして考えられている cleaved caspase-9, cleaved caspase-3, cleaved-PARP, および E-cadherin をウェスタンブロット法によって評価した。さらに、アポトーシスシグナルを誘導するリン酸化 smad2 発現についても検討した。

【結果および考察】

OBA9 において、omp-29 刺激 1 時間後に bax, bim, リン酸化 bad の発現は顕著に増加し、3 時間後には bcl2, bcl-xL の発現は減少した。また、cleaved caspase-9, cleaved caspase-3, cleaved-PARP の発現も omp-29 刺激によって増加する傾向を示した。さらに、リン酸化 smad2 の発現は omp-29 刺激後、0.5~1 時間で増加した。一方で、omp-29 刺激 12, 24 時間後では E-cadherin の発現は顕著に減少していた。以上のことから、omp-29 は smad2 を介してアポトーシスシグナルを誘導すること、また歯肉上皮細胞接着を破壊することが示唆された。

歯髄細胞のマーカー遺伝子の探索

広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻 顎口腔医科学講座 健康増進歯学分野
○藤井 紗貴子, 尾田 良, 西村 英紀

Research for marker genes of dental pulp cells
Graduate School of Biomedical Sciences Division of Cervico-Gnathostomatology
Department of Dental Science for Health Promotion
○Sakiko Fujii, Ryo Oda, and Fusanori Nishimura

【背景】

各臓器の機能不全のうち肝臓、腎臓や骨髄などは移植による治療法が確立している。しかし、問題は臓器ドナーの数が少なく、また、臓器移植には多大な費用が必要なことである。そこで、臓器移植に代わる新たな治療法として、近年、様々な細胞に分化する間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell : MSC) の移植が注目されている。MSC は骨髄、脂肪および滑膜などから採取することができ、*in vitro* で未分化な状態を維持したまま増殖し、また、骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞、心筋細胞、神経細胞に分化できると報告されている。

歯科では、歯髄組織から分離された歯髄細胞 (Dental Pulp Cells : DPCs) は強い増殖能と石灰化誘導能、脂肪分化能などの多分化能を有するため、DPCs の移植による再生医療が期待されている。しかし、DPCs は、部分的に MSC と共通した分化能を持つものの、MSC との関係は不明である。また、歯髄細胞の遺伝子発現の特徴や、特異的マーカーは未だ不明である。そこで、本研究は DNA マイクロアレイを用いて、歯髄細胞と骨髄、脂肪、滑膜由来の間葉系幹細胞および線維芽細胞の遺伝子発現プロファイルを比較することにより、歯髄細胞のマーカー遺伝子を追求した。

【材料と方法】

歯髄細胞は、健全な上顎第三大臼歯の歯髄組織から Explant 法で分離した。3 株の歯髄細胞を 10% ウシ胎児血清含有 DMEM (10% FBS 含有 DMEM) で培養し、total RNA を回収した。そして Affymetrix 社の GeneChip (HG-U133_Plus_2) を用いて、歯髄細胞、線維芽細胞、骨髄由来間葉系幹細胞、脂肪組織由来幹細胞、炎症性関節滑膜由来間葉系幹細胞、骨芽細胞、脂肪細胞および軟骨細胞 (各 3 株) の遺伝子発現プロファイルを解析し、歯髄細胞に特異的に高発現している遺伝子を抽出した。また、mRNA レベルは、Real Time RT-PCR にて測定した。

【結果】

1. 歯髄細胞に対して各間葉系幹細胞および線維芽細胞の遺伝子発現プロファイルは高い相関係数 (0.91~0.94) を示した。なお、歯髄細胞株間では相関係数はさらに高く (0.97~0.98)、細胞株間の個体差が少ないことを示した。クラスター解析では、骨髄、脂肪、滑膜由来間葉系幹細胞は相互に近接していたが、歯髄細胞はこれらの間葉系幹細胞や線維芽細胞から遠い関係に位置していた。
2. 歯髄細胞に特異的に発現する遺伝子として、Growth factor の MSX1、MSX2 および TBX2、Growth factor の SFRP1 および TGFB2、Signal protein の PDE5A、Membrane protein の ENTPD1 を見出した。

【考察および結論】

本研究の結果から、歯髄細胞に特異的に高発現するマーカー遺伝子が見出された。これらのマーカー遺伝子は、歯牙発生、歯髄組織の恒常性の維持機構や歯髄細胞の分化メカニズム等の解析に役立つと考えられる。さらに、移植用細胞の品質管理にも有用であると期待される。

Sema3A がヒト歯根膜細胞の幹細胞/未分化細胞誘導に及ぼす影響

¹九州大学病院 歯内治療科、²九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、
³大阪大学大学院医学系研究科 分子病態生化学研究分野、
○和田尚久¹、前田英史¹、長谷川大学²、藤井慎介³、山本直秀²、友清淳²、門野内聡²、赤峰昭文^{1,2}

The effects of Sema3A on stemness induction of human periodontal ligament cells

¹Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, ²Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ³Department of Molecular Biology and Biochemistry, Graduate School of Medicine, Osaka University
○Naohisa Wada¹, Hidefumi Maeda¹, Daigaku Hasegawa², Shinsuke Fujii³, Naohide Yamamoto², Atsushi Tomokiyo², Satoshi Monnouchi², Akifumi Akamine^{1,2}

【研究目的】

近年、歯根膜組織中に幹細胞集団が存在することが報告され、歯周組織再生において歯根膜幹細胞の有用性が期待されている。しかしながら、歯根膜幹細胞はその分化および増殖能に個人差があることから安定して単離することが難しい現状がある。そこで本研究では、より効率よく安定して幹細胞を誘導する方法を確立することを目的に、発生の過程で神経や血管系のガイダンス因子として同定され、その構築に関与していることが知られている Semaphorin 3A (Sema3A) に注目し、本因子がヒト歯根膜細胞の幹細胞/未分化細胞誘導に及ぼす効果を検討した。

【材料および方法】

1. 歯根膜における Sema3A 発現の解析：BALB/c マウス（胎生期）第一臼歯歯胚およびSD ラット（5 週齢）下顎臼歯部の組織切片を作製し、ヤギ抗 Sema3A 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。矯正治療を目的として抜去された歯より得られたヒト歯根膜細胞（HPDLC）における Sema3a 発現を定量的 RT-PCR 法にて解析した。
2. Sema3A 高発現ヒト歯根膜細胞株を用いた解析：当研究室にて樹立した未分化なヒト歯根膜細胞株（1-11 細胞株：J Cell Physiol 2008, 1-17 細胞株：Differentiation 2008）および分化能を持たない歯根膜細胞株（2-52 細胞株：未発表）に Sema3A 発現プラスミドベクターを導入して Sema3A 高発現ヒト歯根膜細胞株（1-11_Sema3A、1-17_Sema3A および 2-52_Sema3A 細胞株）を樹立した。3 細胞株における幹細胞マーカーの発現を定量的 RT-PCR 法および蛍光抗体染色法にて、間葉系幹細胞（MSC）表面抗原マーカーの発現をフローサイトメトリー分析法にて解析した。また、MSC が示す分化能の一つである骨芽細胞分化能に関して、誘導培地を用いたアッセイにて検討した。

【結果と考察】

1. 抗 Sema3A 抗体を用いた免疫組織化学的染色の結果、マウス第一臼歯歯胚発生過程において歯小嚢に強い陽性反応を認め、歯根完成後のラット第一臼歯においては歯根膜組織中の一部の細胞群に陽性反応を認めた。
2. in vitro における定量的 RT-PCR 解析の結果、分化能（骨芽細胞分化および脂肪細胞分化）を示す HPDLC 群における Sema3A 発現量は、分化能を持たない HPDLC 群における発現量と比較して有意に高かった。以上の結果から Sema3A が未分化な歯根膜細胞において重要な役割を担う因子であることが推察された。
3. 定量的 RT-PCR 法および蛍光抗体染色法による解析にて、1-11_Sema3A、1-17_Sema3A および 2-52_Sema3A 細胞株における幹細胞マーカー（Oct4, nanog, E-cadherin, Sox2）の発現が empty vector 導入細胞株（1-11_e、1-17_e および 2-52_e 細胞株）と比較して上昇していた。また、フローサイトメトリー分析法にて、Sema3A 高発現ヒト歯根膜細胞株（2-52_Sema3A 細胞株）における MSC 表面抗原マーカー（CD90, CD105, CD146, CD166）の発現強度が上昇していた。以上の結果から、歯根膜細胞が Sema3A 発現によって未分化なステージに誘導されることが示唆された。
4. 2-52_Sema3A 細胞株および 2-52_e 細胞株を用いて骨芽細胞分化誘導アッセイを行ったところ、2-52_e 細胞株は石灰化を認めなかったが、2-52_Sema3A は石灰化が誘導され、骨関連遺伝子（Runx2, osteocalcin, osteopontin, type I Co1）の発現が上昇していた。一方で、Sema3A の発現は培養 1 日目をピークに 4 週目までに減少していた。以上の結果から、骨芽細胞分化能を持たない 2-52 細胞株が Sema3A の強制発現により分化能を獲得したことが示唆された。

【結論】

Sema3A は歯根膜細胞における幹細胞マーカーおよび MSC マーカーの発現ならびに分化能を誘導する。

共同研究者：高知愛（山口大学大学院医学系研究科 眼科学研究分野）、和田裕子（九州大学大学院歯学研究院 口腔病理学研究分野）

低出力半導体レーザー照射が培養ヒト歯肉上皮細胞に及ぼす効果

¹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
²日本大学歯学部生化学教室, ³奥羽大学薬学部生化学分野
⁴東京医科歯科大学グローバル COE プログラム歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点
○江尻健一郎¹, 青木章¹, 山口洋子², 大島光宏³, 和泉雄一^{1,4}

Effect of Low-level Diode Laser Irradiation on Cultured Human Gingival Epithelial Cells

¹Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

² Department of Biochemistry, Nihon University School of Dentistry

³Department of Biochemistry, Ohu University School of Pharmaceutical Sciences

⁴Global Center of Excellence Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

○Kenichiro Ejiri¹, Akira Aoki¹, Yoko Yamaguchi², Mitsuhiro Ohshima³, Yuichi Izumi^{1,4}

【研究目的】

組織を破壊あるいは変性しない低出力レベルのレーザー光には付加的な生物学的効果があり、細胞の増殖促進、石灰化の促進、炎症や疼痛の緩和、創傷治癒促進など様々な効果が報告されている。半導体レーザーは組織深達性の高い近赤外波長を発振し、低出力で組織細胞の活性化、治癒および再生の促進が期待されるため、口腔の軟組織および硬組織の創傷部に応用されている。しかし、その生物学的効果に関する研究は十分ではなく、特にヒト歯肉上皮細胞への影響を調べた報告は見当たらない。そこで本研究は、低出力半導体レーザー照射が培養ヒト歯肉上皮細胞の増殖に及ぼす効果について検討した。

【材料および方法】

細胞培養：被験者の同意のもと、歯周外科手術時に切除した余剰な歯肉から、Ohshimaら(2008)の方法にてヒト歯肉上皮由来細胞(HGE)を初代培養した(東京医科歯科大学歯学部倫理委員会承認済み)。I型コラーゲンコートフラスコおよび増殖添加剤を加えたEpi Life(Gibco)を用いて継代培養した後、継代数3~4の細胞を実験に用いた。

レーザー装置：創傷治癒促進および疼痛緩和用に開発された低出力半導体レーザー装置 Lumix 2 HFPL (Fisioline s. n. c. 社)を用いた。本装置は波長 904-910 nm、パルス幅 200 ns で、33 W の高いピークパワーと 30 kHz の高い繰り返し周波数のパルスレーザーを発振する。レーザー照射時には、細胞への均等な照射を行うために、ハンドピースを固定し、24 穴プレートのウェル底部より 3.5 cm 垂直上方から照射した(パワー密度 94.4 mW/cm²)。

WST-8 Assay および [³H]-thymidine の取り込み：24 穴 I 型コラーゲンコートプレートに HGE をサブコンフルエントに培養し、増殖添加剤飢餓を施した後、低出力半導体レーザーを 1 および 5 分照射した。照射 1 日後に WST-8 Assay および [³H]-thymidine の取り込みによる細胞増殖の評価を行った。

Western blot analysis：上記と同様に培養した後、低出力半導体レーザーを 5 分照射し、照射後の MAPK 経路における ERK、p38、JNK のリン酸化を Western blot にて解析した。

Wound healing assay：24 穴 I 型コラーゲンコートプレートに HGE をコンフルエントに培養し、シリコンチップにて幅 2 mm の scratch wound を作製後、増殖添加剤未添加の培地に交換した。次に低出力半導体レーザーを 1 および 5 分照射し、照射 1 および 2 日後に細胞をクリスタルバイオレットにて染色後、細胞遊走の評価を行った。

【結果】

WST-8 Assay および [³H]-thymidine の取り込みによる細胞増殖の評価では、照射 1 日後に照射群で細胞増殖促進傾向または有意な促進が認められた。1 分照射と 5 分照射との比較では、増殖に有意な差は認められなかった。レーザー照射により ERK のリン酸化が認められたが、p38、JNK のリン酸化は認められなかった。wound healing assay による評価では、照射 2 日後に照射群で細胞の遊走促進が認められた。

【考察および結論】

歯肉切除後に低出力半導体レーザーの照射を行い未照射群と比較した臨床研究では、レーザー照射側で歯肉の再上皮化が促進したとの報告がある。本研究の結果は、低出力半導体レーザー照射がヒト歯肉上皮細胞の増殖および遊走を促進することを示しており、MAPK/ERK の活性化の関与が示唆された。本レーザー照射は歯肉の創傷治癒促進に有効であろうと推察される。

断眠による疲労はラットの実験的歯周炎による骨吸収量を増加させる

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座
○中田 智之, 沼部 幸博

The fatigue by partial sleep division increases the amount of bone resorption by the experimental periodontitis of a rat.

Department of Periodontology, Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo
○NAKADA Tomoyuki, NUMABE Yukihiko

【研究目的】

断眠による疲労状態は、サイトカインやホルモンの変調をきたし、心血管疾患や白血球数の減少を引き起こす。歯科領域では、疲労の自覚が歯の喪失と関係し、労働が強度である群で歯肉の炎症が強くなると報告されている。しかし、疲労が歯周疾患のリスク因子であるかは明らかになっていない。本研究では、疲労は歯周疾患を進行させるリスク因子かを検討する。

【材料および方法】

3週齢、雄性の Sprague-Dawley 系列ラット 24 匹を、1 群 6 匹として以下の 4 群に無作為に分けた。Control-Native 群、Fatigue-Native 群、Control-Inflammation 群、Fatigue-Inflammation 群。飼育期間中は週に 1 度の体重測定を行った。感染実験に供する *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 株は、brain heart infusion 液体培地に hemin(5ug/ml)、menadione(0.5ul/ml)を添加した培地を用い嫌気条件下、37°C で 48 時間培養した。培養後、遠心分離 (3500rpm、15 分間) により集菌した。Inflammation 群は抗菌薬投与より 2 日の緩衝期間を経た 6 日目より 1 週間に 3 度、1 日以上の間隔を空けて口腔内に *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 株 1.5×10^{10} cells/ml を含む 5% Carboxymethyl Cellulose を投与した。Native 群は同じ日程で口腔内に 5% Carboxymethyl Cellulose のみを投与した。以上の感染実験を 4 週間行った。Fatigue 群では 36 日目より 7 日間、ケージに深さ約 1.5cm、水温 23°C の水を張り、筋弛緩を伴う深睡眠を妨害した。Control 群は同じ期間通常のケージにて飼育した。断眠疲労実験後、その影響が歯槽骨に反映される期間として、2 週間の観察を行った。57 日目に、全てのラットをペントバルビタール (300mg/kg) の腹腔内投与にて安楽死させ、上顎歯肉・歯槽骨・血液を採取した。評価はマイクロフォーカス X 線 CT 画像解析、病理組織解析、歯肉における炎症性サイトカイン関連 mRNA 発現解析、血中蛋白解析にて行った。

【結果】

マイクロフォーカス X 線 CT 画像解析の結果、上顎第二臼歯近心根周囲歯槽骨について、Control-Native 群に比べて Control-Inflammation 群・Fatigue-Inflammation 群で CEJ-ABC 距離が有意に増加し、Fatigue-Inflammation 群で最大となった。病理組織解析の結果、Control-Native 群が正常な歯肉溝の組織像を示すのに対し、Control-Inflammation 群・Fatigue-Inflammation 群では上皮細胞層の肥厚・細胞間隙の拡大・角化層の剥離が認められた。Fatigue-Inflammation ではこれらの変化が最も顕著であった。リアルタイム PCR による炎症性サイトカイン関連 mRNA 発現解析では、IL-1 β 関連 mRNA 発現量は Control-Native 群と比べ、Control-Inflammation 群・Fatigue-Inflammation 群で有意に増加した。TNF- α 関連 mRNA 発現量は、Fatigue-Inflammation 群で有意に増加した。IFN- γ 関連 mRNA 発現量は有意な変化は見られなかった。血中蛋白測定において、血清中 Corticosterone は Control-Native 群と比べ、Fatigue-Native 群・Fatigue-Inflammation 群で増加傾向が見られた。

【考察および結論】

本実験では断眠疲労によって、実験的歯周炎による骨吸収量・歯肉溝上皮の変化・炎症性サイトカイン関連 mRNA 発現量の増加がみられた。以上より、断眠疲労は歯周疾患のリスク因子である可能性が示された。

**β -TCP 含有ゼラチンハイドロゲルを用いた歯周組織再生
イヌ上顎根分岐部骨欠損における組織学的評価—a pilot study—**

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¹,

東京医科歯科大学 歯学部附属病院 歯科総合診療部²,

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

京都大学 再生医科学研究所 生体組織工学部門 生体材料学分野⁴

○星 嵩¹, 秋月 達也¹, 松浦 孝典¹, 今村 亮祐¹, 小田 茂²,

松井 誠⁴, 田畑 泰彦⁴, 和泉 雄一^{1,3}

**Periodontal regeneration using β -TCP gelatin gel in the treatment of class II
furcation defects: a pilot study in dogs**

Department of Periodontology, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University¹

Oral Diagnosis and General Dentistry, University Hospital of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University²

GCOE program “International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases” at TMDU³

Department of Biomaterials, Field of Tissue Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University⁴

○Hoshi S¹, Akizuki T¹, Matsuura T¹, Imamura R¹, Oda S², Matsui M⁴, Tabata Y⁴, Izumi Y^{1,3}

【研究目的】

歯周組織の再生には細胞、細胞増殖因子、スキャフォールドの三つの要素が必要とされる。過去の研究では、スキャフォールドとして自家骨、他家骨、人工骨、生物由来材料が開発・応用されてきたが、細胞、細胞増殖因子を保持し、その場にとどまる材料としてはまだ開発の余地がある。中でも β -Tricalcium phosphate (TCP)は吸収性の合成材料として研究が進んでいるが、従来のものは顆粒状もしくはセメント状のものが多く、それぞれ形態を保持しづらく、細胞が入りづらいという欠点があった。この度、新規材料として、従来の研究で使われてきた β -TCP にゼラチンを組み合わせたスポンジ状に加工することにより細胞、細胞増殖因子が入り込めるスペースを持たせたゼラチンハイドロゲルを開発した。本研究では外科的に作成したビーグル犬 2 度根分岐部骨欠損にゼラチンハイドロゲルを応用した際における歯周組織の治癒について病理組織学的に評価した。

【材料および方法】

〈ゼラチンハイドロゲル〉

ゼラチン水溶液（新田ゼラチン社製、最終濃度 3 wt%）と β -TCP 懸濁液（太平化学工業社製、最終濃度 3 wt%）の混合物を攪拌後、グルタルアルデヒドにて化学架橋を行いポアサイズ約 150-200 μm のスポンジ状に加工した。

〈実験方法〉

ビーグル成犬 2 頭（オス）を使用した。上顎第三前臼歯に根分岐部歯周組織欠損を外科的に作成した。全身麻酔および局所麻酔下にて、粘膜骨膜弁を剥離翻転し、垂直的に根分岐部より 5mm、頬舌的な深さは 2mm の欠損を作製した（2 度根分岐部骨欠損）。実験側ではゼラチンハイドロゲルを欠損部に補填し、対照側では何も補填せず縫合を行った。術後 4 週で屠殺・還流固定し、標本ブロックを採取した。得られた標本ブロックから通法に従い脱灰切片を作製し、H. E. 染色および Azan 染色を行い、光学顕微鏡下で病理組織学的に評価を行った。

本研究は、東京医科歯科大学動物実験委員会の承認を得た上で行った。

【結果】

口腔内所見では実験側、対照側で術後一ヶ月では炎症は認められず良好な治癒が認められた。病理組織所見では実験側で根分岐部骨欠損中央部に β -TCP 様構造物が認められた。根面においては新生セメント質様組織像が認められた。

【考察と結論】

実験側に臨床的に良好な治癒が認められたことより、移植した材料の生体為害性は低いと考えられる。術後 4 週で β -TCP 様構造物が欠損内にとどまっていることが確認でき、スキャフォールドとしての役割を果たしていると考えられる。本材料は再生のスキャフォールドとなる可能性が認められたため、今後、隙間に細胞や細胞増殖因子を組み込むことでさらなる再生を期待した実験を計画中である。

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金#23792465、歯と骨のグローバル COE プログラムにより行われた。

ランダムトンネル型β-TCPを用いた歯周組織再生 —イヌ下顎1壁性骨欠損における組織学的評価—

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,
東京医科歯科大学 図書館情報メディア機構 教育メディア開発部²,
東京医科歯科大学 グローバルCOEプログラム 歯と骨の分子疾患科学の国際教育拠点³
北海道大学 大学院歯学研究科⁴, 株式会社 パイロットコーポレーション⁵
○松浦孝典¹, 秋月達也¹, 星嵩¹, 木下淳博², 須永昌代², 井川貴博¹, 木村満利子⁵,
久保木芳徳⁴, 和泉雄一^{1,3}

Periodontal tissue regeneration using random tunnels-shaped beta-TCP ceramics in dogs :histological evaluations of 1-wall infrabony defect

Department of Periodontology, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University¹
Department of Educational Media Development, Tokyo Medical and Dental University²
GCOE program “International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases” at TMDU³
Graduate School of Dental Medicine⁴, Hokkaido University, PILOT Corporation⁵
○MATSUURA Takanori¹, AKIZUKI Tatsuya¹, HOSHI Shu¹, KINOSHITA Atsuhiko², SUNAGA Masayo²,
IKAWA Takahiro¹, KIMURA Mariko⁵, KUBOKI Yoshinori⁴, IZUMI Yuichi^{1,3}

【研究目的】

組織再生の3要素が細胞、増殖因子、スキャフォールドであることはよく知られている。その中でスキャフォールドの幾何学的な構造が細胞増殖と分化、および組織再生に重要であり、これまでの研究で貫通構造(孔径 300-400 μm)をもトンネル型の骨補填材は血管新生および骨新生に有用であることが示唆されている。しかし骨形成方向が一定なため、補填材間の骨形成が不足することが懸念されている。そこで補填材の構造をランダムトンネル型とし、その方向を任意とした骨補填材を新たに作製した。この材料はβ-Tri Calcium Phosphate (TCP)からなり、ランダムトンネル型にすることで骨形成の効率を増大できると考えられている。本研究では、外科的に作製したイヌ下顎1壁性骨欠損にランダムトンネル型β-TCPを応用することで歯周組織再生が得られるかを組織学的に評価した。

【材料および方法】

ビーグル成犬2頭(オス)を使用した。術前12週に全身麻酔および局所麻酔下にて、下顎2、第3前歯の抜歯を行った。12週後、粘膜骨膜弁を剥離し、左右下顎犬歯近心に近遠心幅4mm深さ8mmの1壁性骨欠損を外科的に作製し、露出した歯根面のルートプレーニングを行った。実験側ではランダムトンネル型β-TCPを欠損部に補填し、対照側では何も補填せず縫合閉鎖を行った。今回用いたランダムトンネル型β-TCPは気孔率69%、パイプ長0.9mm、パイプ外径0.5mm、パイプ内径0.3mmの構造のものを使用した。術後4週および8週にデンタルX線写真を撮影した。術後12週に屠殺、還流固定し、標本ブロックを採取した。得られた標本をmicroCTで撮影した。その後、脱灰切片を作製し、H.E.染色およびAzan染色を行い、光学顕微鏡下で組織学的に評価を行った。

本研究は東京医科歯科大学動物実験委員会の承認を得た上で行った。

【結果】

術後の経過において、実験側、対照側ともに臨床的に炎症所見は認められなかった。組織学的評価では、実験側では歯冠側においても骨様硬組織の新生を認めた。また歯根象牙質表面には新生セメント質様硬組織を認めた。術後12週において、補填材は完全には吸収されず残存しており、管腔構造の内壁には骨様硬組織の新生を認め、その中心部では血管の新生を認めた。

【考察と結論】

臨床所見、組織学的観察から、本材料には生体為害性はなく、生体親和性の良い材料と考えられる。実験側では正常な歯周組織様の組織が認められ、術後12週でも完全に吸収されないため、1壁性骨欠損における歯周組織再生において、スペースメイキング材として有効であると示唆される。今回の実験は2頭の結果であり、現在頭数を増やし更なる検討を行っている。

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金#23792465、歯と骨のグローバルCOEプログラムにより行われた。

スフィンゴシン-1-リン酸は骨芽細胞において Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を活性化する

九州大学大学院歯学研究院 歯周病学分野

○松崎 英津子、平塚 俊志、濱地 貴文、小林 茉莉、橋本 陽子、前田 勝正

Sphingosine-1-phosphate activates the Wnt/beta-catenin signaling pathway in osteoblast-like cells

Department of Periodontology, Faculty of Dental Sciences, Kyushu University

○Etsuko Matsuzaki, Shunji Hiratsuka, Takafumi Hamachi, Mari Kobayashi, Yoko Hashimoto,
Katsumasa Maeda

<目的>

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、細胞膜上のGタンパク質共役受容体 (S1P₁~S1P₅) に結合することにより、種々の細胞に対して、増殖・運動・形態調節、分化など多彩な作用を及ぼす脂質メディエーターとして注目されている。近年、S1P が破骨細胞前駆細胞から破骨細胞への成熟を阻止し、骨吸収を抑制することが報告されている。しかしながら、S1P が骨芽細胞に及ぼす影響についての知見は少ない。

一方、Wnt シグナル伝達経路は、初期発生、形態形成、出生後の細胞の増殖・分化・運動、がんなどを制御する。中でも、DNA 結合タンパク質の T-cell factor (TCF)ファミリーと結合して転写を活性化する β -カテニンの細胞内への蓄積を介する β -カテニン経路が標準経路として知られている。骨芽細胞の分化・遺伝子発現には、この Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路が重要である。

そこで今回、S1P が骨芽細胞の遺伝子発現に及ぼす影響について、特に Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路との関わりについて検討した。

<材料および方法>

実験には、ヒト骨肉腫由来骨芽細胞様細胞株 SaOS-2 及びマウス頭蓋冠由来の骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を用いた。試薬として、S1P (100-2000 nM、BIOMOL)、または Wnt-3a (50-100 ng/ml、R&D systems)、LY294002 (50 μ M、Sigma)を用いた。

mRNA 発現については real-time RT-PCR 法を、タンパク質発現についてはウエスタンブロット法を用いて検討した。また、 β -カテニンの核移行については、蛍光免疫染色法を用いて検討した。TCF 転写活性は、TOPflash (TCF レポータープラスミド) または FOPflash (TOPflash のネガティブコントロール)を用いて検討した。

<結果および考察>

SaOS-2 および MC3T3-E1 細胞において、S1P は、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路において重要な役割を果たす GSK-3 β の活性を阻害し、この経路の転写因子である TCF7L2 のタンパク質発現、TCF 転写活性を増加させた。また、S1P の添加により、 β -カテニンの細胞質から核内への移行が認められた。すなわち、S1P は、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を活性化した。この作用は、S1P シグナル伝達経路 (PI3K/Akt/GSK-3 β 経路) において、GSK-3 β の上流に存在する PI3K の特異的阻害剤である LY294002 の添加により抑制された。さらに、S1P は、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路の標的遺伝子である Axin2 および Osteoprotegerin (破骨細胞抑制因子) の mRNA 発現を増加させた。

以上の結果から、骨芽細胞において、S1P は S1P シグナル伝達経路を介して、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を活性化することが示唆された。

<結論>

S1P は、骨芽細胞において Wnt/ β -カテニンシグナル伝達経路を活性化し、骨形成に重要な役割を果たす可能性が考えられる。

ダイオキシン関連物質がヒト歯根膜細胞の骨芽細胞分化に及ぼす影響

¹九州大学歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野

²九州大学病院歯内治療科

○門野内聡¹, 前田英史², 友清淳¹, 和田尚久², 河野清美², 郡勝明¹, 山本直秀¹, 寺松陽子¹, 赤峰昭文^{1,2}

The effect of Dioxins on osteoblast differentiation in human periodontal ligament cells

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of

Dental Science, Kyushu University, ²Department of Endodontology, Kyushu University Hospital

○¹Satoshi Monnouchi, ²Hidefumi Maeda, ¹Atsushi Tomokiyo, ²Naohisa Wada, ²Kiyomi Kono,

¹Katsuaki Koori, ¹Naohide Yamamoto, ¹Yoko Teramatsu, and ^{1,2}Akifumi Akamine

【研究目的】

我々は、ダイオキシンを原因とする中毒症であるカネミ油症の患者において、歯周病進行の指標である歯周ポケットの深化傾向が認められることを報告した(Hashiguchi et al. Fukuoka Igaku Zasshi 102: 75-80, 2011)。また、ダイオキシン関連物質の一つである benzo(a)pyrene (BaP) で刺激したヒト歯根膜細胞(HPDLC)において、ダイオキシンの毒性シグナルである arylhydrocarbon receptor (AhR)シグナルが活性化し、MMP-1 の発現上昇及び Col I の発現減少が認められたことを第 128 回本大会にて報告した。そこで本研究では、歯周ポケットの深化へ BaP が及ぼす影響についてさらなる解析を行うため、BaP が HPDLC の骨芽細胞分化に与える影響を検討することを目的とした。

【材料及び方法】

(1)HPDLC における BaP 添加後の骨関連遺伝子発現解析: 矯正治療を目的に本院を受診した患者(26 歳女性)より抜去歯を得たのち歯根膜を採取し、4-6 継代培養した細胞を HPDLC として本研究に供した。細胞は、10%Fetal Bovine Serum 含有の α -MEM 中に、石灰化誘導因子 (beta-glycerophosphate, ascorbic acid, dexamethasone) を添加して培養を行った。ダイオキシン関連物質として BaP を HPDLC に添加し、定量的 RT-PCR 法にて骨関連遺伝子 (alkaline phosphatase (ALP), bone sialoprotein (BSP), osteopontin (OPN)) の mRNA 発現を解析した。なお、本研究は九州大学歯学研究院倫理委員会規定の認可を得て、患者様の同意の上で行われた。

(2)HPDLC における BaP 添加後の石灰化機能解析: BaP を添加した HPDLC における ALP 活性を、ALP Assay Kit (Takara)を用いて測定した。さらに、Arizarin red 染色および von Kossa 染色を行い、BaP 添加後の HPDLC における石灰化結節の形成能を評価した。

(3)BaP で刺激された HPDLC におけるシグナリング解析: BaP の細胞内レセプターである AhR の inhibitor (Resveratrol (Res)) にて前処理した HPDLC に BaP を添加し、定量的 RT-PCR 法にて代謝酵素の mRNA 発現を解析した。

【結果および考察】

BaP が添加された HPDLC における遺伝子発現を解析した結果、ALP, BSP および OPN の遺伝子発現が BaP 添加群で有意に抑制された。また、ALP の活性および石灰化結節の形成も、BaP 添加群で有意に抑制された。これらの結果から、BaP 刺激は、HPDLC における骨芽細胞分化および石灰化を抑制することが示唆された。さらに、Res にて HPDLC を前処理した結果、代謝酵素である Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) の BaP で誘導された遺伝子発現が抑制される傾向が認められた。したがって、HPDLC において BaP による AhR シグナルの活性には CYP1B1 が関与していることが推察された。以上の結果から、ヒト歯根膜細胞において CYP1B1 を介した AhR シグナルは骨芽細胞分化および石灰化を抑制し、骨代謝に影響を与えることで歯周ポケットの深化に関与することが示唆された。

【結論】

ダイオキシン関連物質の一つである BaP が、ヒト歯根膜細胞における骨芽細胞分化および石灰化の抑制を誘導する。

ラット骨芽細胞の分化発現に及ぼす最終糖化産物及びリポ多糖の影響

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
○坂本英次郎, 美原智恵, 生田貴久, 稲垣裕司, 木戸淳一, 永田俊彦

Effect of advanced glycation end-product and lipopolysaccharide on the differentiation of rat osteoblastic cells

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

○SAKAMOTO Eijiro, MIHARA Chie, IKUTA Takahisa, INAGAKI Yuji, KIDO Jun-ichi, NAGATA Toshihiko

【研究目的】

歯周病は糖尿病の合併症であり、糖尿病患者は歯周病になりやすく重症化しやすい。糖尿病患者では、骨組織中のコラーゲン構造の変化により骨が脆くなることが知られているが、骨代謝における糖尿病因子の影響については未知の部分が多く、また糖尿病関連歯周炎における歯槽骨の分子レベルでの病態変化はほとんど不明である。一方、糖尿病合併症の主要な原因物質として最終糖化産物 (advanced glycation end-product: AGE) が注目されている。本研究では、糖尿病関連歯周炎における歯槽骨代謝の病態解明研究の手始めとして、培養ラット骨髄由来骨芽細胞の分化発現に及ぼす AGE および歯周病原細菌由来リポ多糖 (lipopolysaccharide: LPS) の影響を検討した。

【材料と方法】

1. AGE の調製: AGE は Ogawa らの方法に従って、ウシ血清アルブミン (BSA, 50 mg/ml) と D-グルセルアルデヒド (0.1 M) をリン酸緩衝液に溶解し、37°C で 7 日間反応させた後、透析を行い調製した。
2. 細胞の分離と培養: 5 週齢雄性 Wister ラットの大腿骨から Maniatiopoulos らの方法に従って骨髄由来細胞を採取し、15% ウシ胎児血清を含む α -MEM 培地ににて培養を行い、継代 3 代目の細胞を以下の実験に用いた。細胞はサブコン플レント後、アスコルビン酸 (50 μ g/ml)、 β グリセロリン酸 (10 mM) およびデキサメタゾン (0.1 mM) を含む骨芽細胞分化誘導培地に交換し、AGE (50-500 μ g/ml)、*P. gingivalis* 由来 LPS (P-LPS: 1-1000 ng/ml, InvivoGen) および BSA (500 μ g/ml) を培地に添加し、一定期間培養した。
3. 細胞増殖および骨芽細胞分化発現への影響: AGE および P-LPS による細胞生存率への影響は Cell counting kit® を用いて検討した。骨芽細胞分化発現への影響は、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性および von Kossa 染色による石灰化骨様結節 (bone nodule: BN) 数の測定により検討した。
4. 遺伝子発現分析: AGE および P-LPS を作用させた骨髄由来細胞から全 RNA を分離し、通法に従って cDNA を作製し、RT-PCR 法にて骨基質蛋白および骨代謝関連因子の遺伝子発現に及ぼす AGE および P-LPS の影響を検討した。

【結果】

使用した濃度の AGE および P-LPS は細胞生存率に有意な影響を与えなかった。AGE と P-LPS による ALP 活性への影響を検討した結果、添加 4 日目で有意な抑制効果が現れ、AGE (50-500 μ g/ml) および P-LPS (1-1000 ng/ml) で濃度に依存した抑制傾向がみられた。500 μ g/ml AGE と 1000 ng/ml P-LPS で、それぞれ有意な ALP 活性の抑制効果が認められたが、AGE+P-LPS 群では有意な相加的抑制効果は認められなかった。一方、BN 形成については 250 μ g/ml 以上の AGE と 100 ng/ml 以上の P-LPS によって有意な BN 形成の抑制が認められた。また、AGE 群と P-LPS+AGE 群を比較すると、P-LPS+AGE 群の方がより抑制される傾向がみられた。遺伝子発現については AGE によりオステオポンチンおよび *cbfa1* の発現抑制がみられ、さらに AGE+P-LPS 群ではより強い抑制が認められた。一方、I 型コラーゲンの発現には影響が認められなかった。

【考察と結論】

糖尿病合併症の主要な原因物質である AGE は骨髄由来細胞培養系における骨芽細胞分化発現を抑制し、ALP 活性、骨代謝関連因子の発現および BN 形成を減少させた。その効果は P-LPS により増強される傾向があった。これらの結果から、糖尿病関連歯周炎では、AGE と歯周病原細菌が骨芽細胞の分化発現抑制因子となって、歯周組織において為害作用を発揮している可能性が考えられる。

Aggregatibacter actinomycetemcomitans および抗菌薬添加が ヒト歯肉上皮細胞の細胞接着因子に及ぼす影響

¹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
²現 九州大学病院 口腔総合診療科

○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,
富川 和哉^{1,2}, 鶴川 祐樹¹, 前田 博史¹, 高柴 正悟¹

Aggregatibacter actinomycetemcomitans infection and administration of antibiotic affects cell adhesion molecules in human gingival epithelial cells

¹Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Okayama University
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

²Current: General Oral Care, Kyushu University Hospital

○KOCHI Shinsuke¹, YAMASHIRO Keisuke¹, YAMAMOTO Tadashi¹, HONGO Shoichi¹, SHIMOE Masayuki¹,
TOMIKAWA Kazuya^{1,2}, UGAWA Yuki¹, MAEDA Hiroshi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【緒言】

歯肉上皮は、歯面とヘミデスマゾーム結合で接着しており、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。しかし、ひとたび歯周炎に感染すると、歯肉上皮と歯面の接着は破壊され、さらなる歯周病の進行につながる。その一方で、感染源が除去されると、歯肉上皮と歯面は再び接着してバリアー機能を回復する。

これまでに我々は、歯肉上皮細胞と、歯周病原細菌である *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Y4 (Aa) との共培養を行い、サイトカイン、接着因子、および細胞外基質の遺伝子発現量について比較検討をした。その結果、Aa との共培養によって複数の接着因子の遺伝子発現量は減少し、歯肉上皮細胞の接着能が低下したことを示した。

本研究では、歯肉上皮細胞と Aa との共培養時に遺伝子発現量が減少した接着因子および細胞外基質が、細菌を除去した後に変化する状況を観察することで、歯周治療後の歯肉上皮の接着が変化する機序を考察した。

【材料及び方法】

1. 歯肉上皮細胞と AaY4 との共培養：健康なドナーから歯肉上皮細胞を採取後、継代培養した。コンフルエントに達した後に、multiplicity of infection (MOI) が 10 となるように Aa を添加し、12 および 24 時間培養したものを共培養群とした。そして、Aa を添加していないものを対象群とした。また、Aa を添加して 12 時間後にペニシリン/ストレプトマイシンの入った培地に交換して、12 時間培養したものを抗菌薬添加群とした。
2. 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 12 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- β 1), Transforming growth factor-beta 3 (TGF- β 3), Interleukin-8 (IL-8)；接着因子：Integrin α 2, Integrin α 3, Integrin α 5, Integrin β 4, Integrin β 6；細胞外基質：Tenascin C, Fibronectin-1, Versican；増殖関連：Proliferation cell nuclear antigen (PCNA)

【結果】

1. IL-8, TGF- β 1, および Integrin α 5 の遺伝子発現量は、共培養群では増加したが、共培養後に抗菌薬を添加するとその発現は減少した。一方、TGF- β 3, および PCNA の遺伝子発現量の変動は、その逆であった。
2. Integrin β 4, Integrin β 6, および Fibronectin-1 の遺伝子発現量は、共培養群と抗菌薬添加群でともに減少した。
3. Integrin α 2, Integrin α 3, Tenascin C, および Versican の遺伝子発現量は、ほとんど変動しなかった。

【考察及び結論】

本研究の実験結果を俯瞰的に見ると、IL-8, TGF- β 1, TGF- β 3, Integrin α 5, および PCNA は、歯肉上皮細胞と Aa を共培養すると、それぞれの遺伝子発現量は変動した。そして、培養の途中から抗菌薬を添加すると、これらの遺伝子発現量は回復して対照群のものに近づいた。しかし、抗菌薬を添加しても、Integrin β 4 と Integrin β 6 などの接着因子と細胞外基質である Fibronectin-1 の遺伝子発現量は変化しなかった。既知の報告によると、TGF- β 類は炎症や細胞外基質の制御に関与しており、Integrin α 5 は細菌感染後の細胞内シグナル伝達の役割に関与している。以上のことから、歯周組織の感染源を除去すると、TGF- β 1, TGF- β 3, そして Integrin α 5 の遺伝子発現量が変化して組織の修復が開始され、これらに遅れて Integrin β 4 と Integrin β 6 などの接着因子と細胞外基質である Fibronectin-1 が変化してくると考えられる。今後は、もっと長時間でのこれらの変化と接着能の回復とを合わせた検討が必要である。

塩化亜鉛曝露による口腔細菌構成の変化

¹⁾福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野

²⁾日本大学歯学部 化学

³⁾福岡歯科大学 口腔医療センター

○鈴木奈央¹⁾、中野善夫²⁾、畑野優子¹⁾、米田雅裕³⁾、横瀬勝美²⁾、桑田文幸²⁾、廣藤卓雄¹⁾

Change of oral microbiota by zinc chloride-exposure

¹⁾Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

²⁾Department of Chemistry, Nihon University School of Dentistry

³⁾Center for Oral Diseases, Fukuoka Dental College

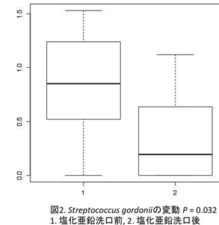
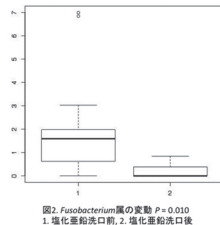
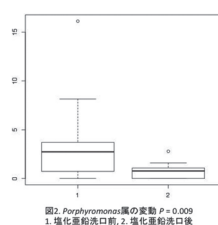
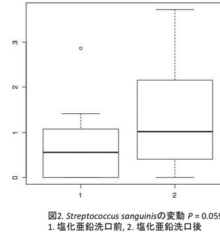
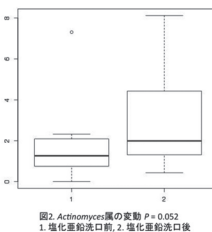
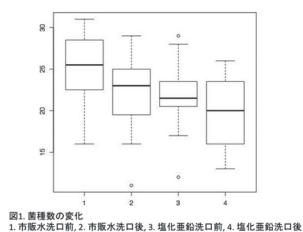
○Suzuki N¹⁾, Nakano Y²⁾, Hatano Y¹⁾, Yoneda M³⁾, Yokose K²⁾, Kuwata F²⁾, Hirofuji T¹⁾

【研究目的】塩化亜鉛は洗口剤の口臭抑制成分として利用され、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 産生を阻害すると考えられている。またこれまでに、亜鉛イオンが *Porphyromonas gingivalis* や *Fusobacterium nucleatum* 等の歯周病原細菌に対してすぐれた抗菌作用を示すことが確認されており、これらの VSC 産生菌を抑制することによっても塩化亜鉛は口臭のコントロールに寄与すると考えられる。しかしながら、塩化亜鉛による連続的な洗口が口腔細菌の構成にどのような影響をもたらす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、次世代シーケンサーを用いて唾液中の口腔細菌構成の網羅的解析を行い、亜鉛洗口の口腔内細菌叢への影響を調べた。

【方 法】福岡歯科大学歯学部学生 21 名を対象に、市販水で 3 日間洗口、続いて 3 日間のウォッシュアウト期間を挟んで、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 を抽出し 16S rRNA 遺伝子を利用した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。分析では検出率 0.3%未満の菌種を解析対象外とした。

【結果と考察】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、塩化亜鉛溶液による洗口前後の構成菌種数を調べたところ (図 1)、市販水洗口で統計学的に有意な減少がみられ (1→2, $p = 0.000$)、インターバル前後では変化がなく (2→3, $p = 0.352$)、塩化亜鉛溶液による洗口で統計学的に有意な減少がみられた (3→4, $p = 0.009$)。市販水洗口での菌種数減少の理由として、臨床実験参加にともなう口腔清掃習慣などの行動変容が考えられる。その後菌叢は安定したため、塩化亜鉛溶液による洗口での有意な菌叢の単純化は亜鉛単独の影響であると考えた。次に塩化亜鉛溶液による洗口前後の菌の変動を調べたところ、18 菌種が増加、18 菌種が減少した。顕著に増加した菌種は *Actinomyces* 属や *Streptococcus* 属などであり、細菌構成の単純化に伴ってこれらの口腔常在菌が増加したと考えられる (図 2)。 *Porphyromonas* 属や *Fusobacterium* 属などの VSC 産生菌は統計学的に有意に減少し、塩化亜鉛洗口が口臭のコントロールに有用であることが示された。また *P. gingivalis* との凝集関係が知られる *S. gordonii* も有意に減少した。亜鉛イオンは *P. gingivalis* のタンパクと結合することによって *P. gingivalis* と *S. gordonii* の共凝集を阻害するという研究報告があり、亜鉛イオンが菌叢変動に間接的にも作用している可能性が示唆された。

【結論】塩化亜鉛溶液による連続した洗口によって口腔細菌の構成が単純化し、口腔常在菌の増加や歯周病原細菌の減少などの菌種の変動が起こることが示唆された。



光誘導蛍光システムによる口腔内細菌の評価

昭和大学歯学部総合診療歯科

○伊佐津克彦、國井 麻依子、高島 英利、長谷川篤司

Evaluation of Oral Microbacteria by a light-induced fluorescence system

Dept. of Comprehensive Dentistry, Showa University School of Dentistry

○Katsuhiko Isatsu, Maiko Kunii, Hidetoshi Takashima, Tokuji Hasegawa

【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。したがって、デンタルプラーク除去の基本である本人あるいは介助者などによる機械的関与のためには、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、第 135 回大会では、光誘導蛍光システムによるプラークの質的評価の可能性について発表した。

本研究では、光誘導蛍光システムによるプラークの質的評価の基礎的データを確立する目的で、光誘導蛍光システムを利用して各種口腔内細菌の蛍光部分を画像管理ソフト DB SW I N 上で評価した。

【材料と方法】

対象細菌：通法に従い血液寒天培地上で下記の細菌を培養し、その菌体を試料とした。

Streptococcus mutans, *Streptococcus sobrins*, *Streptococcus gordonii*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*

光誘導蛍光システムを利用した細菌の評価：

光誘導蛍光システムとしてビスタカム P (Dürr 社) を採用した。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 接続して構成される。寒天培地上で培養した各細菌のコロニーを採取しレジブロック上に静置し、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 上で蛍光部分を評価した。

【結果および考察】

1) 歯周病原性細菌である *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis* では、ビスタカム P システムにより、プラークで見られたのと同様の赤色蛍光が認められた。

2) 細菌の培養期間により、蛍光の強度に差が見られた。

以上より、ビスタカム P を利用して口腔内細菌を単独での評価したところ、数種の細菌より蛍光を検出し、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、多種の細菌で形成されたバイオフィーム形成時の各種口腔内細菌に対する *in vitro* での詳細な検討が必要であると考えられた。

Lactobacillus salivarius WB21 株配合錠菓の口臭抑制効果についての臨床研究 ～ランダム化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験～

¹⁾福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野

²⁾福岡歯科大学 口腔医療センター

³⁾たなべ保存歯科

○藤本暁江¹⁾, 鈴木奈央¹⁾, 米田雅裕²⁾, 田邊一成³⁾, 山田和彦¹⁾, 岩元知之¹⁾, 榊尾陽介¹⁾, 伊波幸作¹⁾, 廣藤卓雄¹⁾

Effect of *Lactobacillus salivarius* WB21-containing Tablet on Oral Malodor -A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Crossover Clinical Trial-

¹⁾Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

²⁾Center for Oral Diseases, Fukuoka Dental College

³⁾Tanabe Clinic for Preservative Dentistry

○Fujimoto A¹⁾, Suzuki N¹⁾, Yoneda M²⁾, Tanabe K³⁾, Yamada K¹⁾, Iwamoto T¹⁾, Masuo Y¹⁾, Iha K¹⁾, Hirofujii T¹⁾

【研究目的】乳酸桿菌 *Lactobacillus salivarius* WB21 株 (Ls WB21) は、口腔環境を改善するプロバイオティクスとしての有用性が期待されている。これまでに、ボランティアを対象にした Ls WB21 配合錠菓 (販売元: わかもと製菓株式会社) の摂取試験で、喫煙者における歯周病の症状改善、歯肉縁下プラークの全菌数と歯周病原細菌 *Tannerella forsythensis* の減少が確認されている^{1,2)}。我々は Ls WB21 配合オイルを作製し、歯周病患者を対象にランダム化二重盲検プラセボ比較試験を実施し、Ls WB21 単独の歯周組織に対する作用を評価した³⁾。その結果、実験群ではプラセボ群に比較して、プロービング時出血 (bleeding on probing: BOP) と唾液中の全菌数が有意に減少した。口臭に関しては、Ls WB21 配合錠菓を用いた非盲検試験を行ったところ、Ls WB21 摂取によって口臭の改善、BOP の減少、唾液量の増加がもたらされた⁴⁾。そこで本研究では、Ls WB21 配合錠菓が口臭と口臭関連因子にもたらす影響を明らかにする目的でランダム化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験を実施した。

【対象および方法】本研究は、福岡歯科大学・福岡医療短期大学倫理委員会承認を得て実施した。口臭を主訴として福岡歯科大学医科歯科総合病院口臭クリニック科を受診した真性口臭症患者 26 名に対して、ランダム化二重盲検プラセボ対照クロスオーバー試験を行った。被験者を 2 群 (A 群および B 群) に無作為に割り付けし、第 1 期として A 群には Ls WB21 配合錠菓 (2×10^9 CFU/day) を B 群には無配合錠菓を連続して 2 週間 1 日 3 粒摂取した。その後 2 週間の休薬期間を経て、第 2 期として、A 群にはプラセボを、B 群には Ls WB21 配合錠菓を 2 週間摂取した。錠菓は口腔内に行き渡るよう噛まずに舐めるように指示した。両摂取期間の前後に、口臭検査と口腔内診査を実施し、検査当日は、起床時より飲食、歯面清掃、喫煙などの口腔活動を禁止した。

【結果と考察】実験期間中に脱落した者 1 名と抗菌薬を服用した者 2 名を分析対象外とし、23 名 (男性 4 名、女性 19 名、平均年齢 44.3 ± 11.6 歳) について比較分析を行った。両群ともに Ls WB21 配合錠菓摂取期間はプラセボ摂取期間と比較して、揮発性硫黄化合物濃度 (volatile sulfur compound: VSC) と歯周ポケット平均値に有意な減少を認めた。VSC を 3 成分に分類し Ls WB21 摂取期間とプラセボ摂取期間を比較した結果、硫化ジメチル濃度に違いはみられなかったが、Ls WB21 摂取期間のほうが硫化水素濃度とメチルメルカプタン濃度において有意な減少が観察された。硫化水素とメチルメルカプタンは口腔由来の主要な口臭成分であり、硫化ジメチルは全身由来の口臭と関係があると云われており、Ls WB21 が口腔由来の口臭に対して抑制作用を示すことが示唆された。次に、歯周ポケットを 4 ミリ以上、5 ミリ以上、6 ミリ以上の部位数にわけて Ls WB21 摂取期間とプラセボ摂取期間を比較した結果、Ls WB21 摂取期間では 6 ミリ以上のポケット数において有意な減少、5 ミリ以上のポケット数においても減少傾向を示した。一方、4 ミリ以上のポケット数においては両期間ともに改善がみられた。プラセボ摂取期間における浅いポケットの改善の理由として、試験参加に伴う口腔清掃習慣などの行動変容や錠菓中のキシリトールの影響などが考えられる。官能検査、BOP、舌苔付着量、唾液流出量においても両期間ともに改善し、両者間に統計学的な違いがみられなかった。La WB21 摂取で深いポケットの改善と口臭の抑制がみられたことから、今後 VSC を産生する歯周病原細菌への作用について検討を重ねたい。

【結論】乳酸菌 Ls WB21 配合錠菓の摂取は、VSC レベルの減少、特に口腔由来の口臭として重要な硫化水素とメチルメルカプタンの減少、5 ミリ以上の歯周ポケットの減少をもたらす、口臭予防や口臭治療の一助となる可能性が示唆された。

参考文献

1. Shimauchi H et al. J Clin Periodontol 2008;35:897-905.
2. Mayanagi G et al. J Clin Periodontol 2009;36:506-513.
3. Suzuki N et al. J Breath Res 2012;6:017106.
4. Iwamoto T et al. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2010;110:201-208.

口臭関連細菌に対する銀コロイドの効果

1) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯周病学講座, 2) 医療法人社団 玉翔会 玉澤歯科医院,
3) アサヒバイオフーズ株式会社, 4) 日本医科大学千葉北総病院歯科, 5) 医療法人 社団 潤泉会 中島歯科医院
○織田洋武¹⁾, 坪川瑞樹¹⁾, 玉澤賢²⁾, 堀内健次³⁾, 鴨井久博⁴⁾, 中島茂⁵⁾ 佐藤聡¹⁾

Effect of Colloidal Silver on relation microbiology of oral malodor

1) Department of Periodontology School of Life Dentistry at Niigata The Nippon Dental University,
2) Gyokushoukai Medical Juridical Person Tamazawa Dental Office, 3) ASAHI Bio Foods Ltd,
4) Nippon Medical School Chiba Hokusoh Hospital, 5) Iryouhoujin Syadan Junsenkai Nakajima Dental Clinic
○Hirotake Oda¹⁾, Mizuki Tsubokawa¹⁾, Ken Tamazawa²⁾, Kenji Horiuchi³⁾, Hisahiro Kamoi⁴⁾, Shigeru Nakajima⁵⁾, Soh Sato¹⁾

【目的】

口腔内の主要な疾患であるう蝕と歯周病は、歯の周囲に沈着するデンタルプラークが原因である。プラークは形成される部位により、歯肉縁上に形成される歯肉縁上プラークと歯周ポケット内に形成される歯肉縁下プラークに分けられ、細菌叢はプラークの形成される部位により大きく異なる。特に歯肉縁下プラークは歯周病と口臭に大きく関与し、プラークの除去により歯周病の病態と口臭が改善することがわかっている。

銀は一般家庭において除菌、抗菌、脱臭などの目的で高頻度で使用されている。銀コロイド溶液は、銀を電気分解して精製される無色透明の溶液であり、銀イオンよりも安定した状態で殺菌力を持つことで注目されている。また、銀コロイドは、特殊イオン交換体の相乗作用により殺菌、抗菌、脱臭の効果が増強することが報告され、食品の消毒や医療分野への転用が期待されている。本研究は銀コロイド溶液の口臭関連細菌に対する殺菌効果について *in vitro* にて検証した。

【方法】

殺菌試験は、*Porphyromonas gingivalis* (W83, ATCC33277)、*Prevotella intermedia* (ATCC25611) *Fusobacterium nucleatum* (ATCC25586) の4菌種を使用した。各細菌を洗浄後、滅菌蒸留水で希釈した銀コロイド溶液 (1.5ppm, 3ppm, 30ppm) にて1分間処理した。その後連続段階希釈を行い、寒天培地に塗抹後、*P.gingivalis*、*P.intermedia*、*F. nucleatum* は72時間嫌気培養を行い、評価は Colony Forming Units (CFU)で行った。

【結果】

30ppmの銀コロイド溶液は *P. gingivalis* (W83, ATCC33277)、*P. intermedia* (ATCC25611)、*F. nucleatum* (ATCC25586) の4菌種に対して完全な殺菌効果を示した。3ppmの銀コロイド溶液は *P. gingivalis* (W83, ATCC33277)、*F. nucleatum* に対して完全な殺菌効果を示し、*P. intermedia* においても有意な殺菌効果を示した。また、1.5ppmの濃度においては4菌種共に有意な細菌の殺菌効果を示した。

【結論】

本研究において、銀コロイド溶液は1.5ppm以上で口腔内細菌に対する強力な殺菌能が認められ、*F. nucleatum* に対する強い殺菌効果も認められた。*F. nucleatum* は口臭と関連が報告されており、銀コロイド溶液を用いた口腔含嗽は歯周病、さらには口臭も含めた化学的プラークコントロールの有効性が示唆された。

口腔内歯周病原細菌および病的口臭に対する BFR(ブラッシング+フロッシング+リンス)の効果

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野
○藤岡陽介、両角俊哉、久保田健彦、吉江弘正

Effect of BFR (Brushing, Flossing and Rinsing) for periodontopathic bacteria in oral cavity and halitosis

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Course for Oral Life Science, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Yosuke Fujioka, Toshiya Morozumi, Takehiko Kubota, Hiromasa Yoshie

【背景・目的】

近年、従来の機械的歯面清掃法であるブラッシングやフロッシングにマウスリンスを組み合わせることで臨床効果が増大することが報告されている(Sharma et al. 2004)。また、Zimmerら(2006)はブラッシングとマウスリンスの組み合わせが歯間部の歯垢減少に効果的であることを明らかにしている。これらエビデンスに基づき、ADA(米国歯科医師会)はこれからの口腔ケア法として BFR(ブラッシング+フロッシング+リンス)を推奨している。この方法は歯面や歯周ポケットのみならず、口腔内全体のケアとしてもその有効性が期待される。

歯周病患者においては、多くの歯周病原細菌、とりわけ *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*)や *Prevotella intermedia* (*P.intermedia*), *Tannerella forsythia* (*T.forsythia*)といった主要細菌が、歯周ポケット以外の様々なニッチ(舌、粘膜)に定着していることが報告されている(Danser et al. 1994, Cortelli et al. 2008)。舌苔は舌背表面に堆積する細菌性バイオフィルムの一つであり、その付着量の変化は口腔内の総細菌数の変動を反映すると考えられている(Danser et al. 2003)。また、口臭の主要原因成分である揮発性硫黄化合物(VSCs)濃度は舌苔付着量との関連が強く、その発生には嫌気性菌が深く関与していることが示唆されている(Roldán et al. 2003)。

そこで、本研究において我々は、BFR が舌や口蓋扁桃部といったニッチ部分を含めた口腔内各部位の細菌数や口臭値に及ぼす影響を調べ、比較検討した。

【材料と方法】

藤の丘歯科医院(富山県砺波市)に来院した中等度～重度の広汎型慢性歯周炎患者 40 名を無作為に 2 群(対照群: N=20、実験群: N=20)に分けた。縁上スケーリングの 2 週後、口臭測定および専用器具による試料採取(口蓋扁桃拭い液、舌苔、歯周ポケット内プラーク)を行った(ベースライン)。その後、対照群は通常の口腔清掃(ブラッシングのみ)を、実験群は BFR 清掃(ブラッシング+フロッシング+リンス)を 4 週間継続した。清掃器具や洗口液は特定のもの支給して頂いた(リーチ®歯周病対策アルファ、リーチ®デンタルフロスワックス、薬用リステリン®、フレッシュミント)。4 週後、再び口臭測定および試料採取を行った。得られた試料から PCR-インベーター法により、総細菌数及び *P.gingivalis* 数、*P.intermedia* 数、*T.forsythia* 数を定量した。口臭はガスクロマトグラフィー(オーラルクロマ)により硫化水素、メチルメルカプタン、ジメチルサルファイドのガス濃度を測定した。これら結果より、口腔内各部位における細菌量および VSCs 濃度の変化を評価した。統計解析にはウィルコクソン符号付順位和検定(群内比較)およびマン・ホイットニー検定(群間比較)を用いた。

【結果】

1. 群内比較: 実験群では口蓋扁桃拭い液中細菌の総菌数($p<0.05$)および *P.intermedia* 数($p<0.01$)、*T.forsythia* 数($p<0.05$)が有意に減少した。また、歯周ポケット内細菌の総菌数および *T.forsythia* 数も有意に減少した($p<0.05$)。口臭測定ではメチルメルカプタン値が有意に減少した($p<0.01$)。対照群ではいずれの項目においても有意な変化は示さなかった。
2. 群間比較: メチルメルカプタン値は 4 週後の実験群において有意に低かった($p<0.01$)。

【結論】

BFR は口蓋扁桃や歯周ポケット内の細菌数や口臭値を有意に減らすことが示唆された。とりわけ、口臭値の減少に有用である可能性が高い。

Porphyromonas gingivalis によるヒト歯肉上皮細胞からの interleukin-33 発現誘導

国立長寿医療研究センター 口腔疾患研究部¹⁾、東北大学 大学院歯学研究科 歯内歯周治療学分野²⁾
○多田 浩之¹⁾、島内 英俊²⁾、松下 健二¹⁾

Expression of interleukin-33 induced by *Porphyromonas gingivalis* in human gingival epithelial cells

¹Department of Oral Disease Research, National Center for Geriatrics and Gerontology

²Department of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○Hiroyuki Tada¹⁾, Hidetoshi Shimauchi²⁾, Kenji Matsushita¹⁾

【緒言】 粘膜組織において、上皮細胞は細菌、アレルゲンや寄生虫に対して物理的バリアとして機能するだけでなく、これらの刺激に応答して interleukin (IL)-33, IL-25 ならびに thymic stromal lymphopoietin (TSLP)などを生産することが近年明らかにされている。これら上皮性サイトカインは、肥満細胞、好塩基球や Th2 細胞などの標的細胞を刺激することによりアレルギー性炎症の誘導に係わることが注目されている。IL-33 は IL-1 や IL-18 と相同性の高い IL-1 ファミリーに属するサイトカインであり、IL-33 により眼、鼻や気道などの粘膜上皮に炎症が誘導されアレルギーの増悪に係わる可能性が示唆されているが、歯周炎の病態形成における IL-33 の関わりについては明らかにされていない。

歯周炎関連細菌 *Porphyromonas gingivalis* (以下、*P. g*)から生産されるトリプシン様システインプロテアーゼ (ジンジパイン)は、同細菌の歯周組織への感染や宿主防御機構の回避に重要な役割を果たすと考えられている。本研究では、ジンジパインにより歯肉上皮細胞から IL-33 が誘導される可能性について検討した。

【材料と方法】

- (1) 供試細胞：ヒト歯肉扁平上皮癌細胞株である Ca9-22 細胞を 10% FBS 添加 E-MEM 培地にて継代培養し供試した。
- (2) *P. gingivalis* および菌体成分: *P. g* W83 株凍結乾燥全菌体、同培養上清、*P. g* 381 株精製 fimbriae、*P. g* 合成リポペプチド (PGTP-2)および *P. g* LPS を実験に供試した。
- (3) IL-33, IL-25 および TSLP mRNA 発現: 各種菌体成分にて刺激した Ca9-22 細胞の IL-33, IL-25 および TSLP mRNA 発現について、定量性 RT-PCR 法により測定した。また、IL-33 mRNA 発現誘導がジンジパインにより担われる可能性について、*P. g* 全菌体を FPR-cmk (アルギニン特異的ジンジパイン阻害剤)ならびに KYT-36 (リジン特異的ジンジパイン阻害剤)で前処理し細胞に刺激した。*P. g* による IL-33 亢進作用が mitogen-activated protein (MAP) kinase によるシグナル伝達を介する可能性について、PD98059 (ERK 阻害剤)、SP600125 (JNK 阻害剤)、SB203580 (p38 阻害剤)をそれぞれ前処理した細胞により検討した。
- (4) 細胞内 IL-33 蛋白発現: *P. g* 全菌体による Ca9-22 細胞の細胞内 IL-33 蛋白発現について、抗ヒト IL-33 モノクローナル抗体にてウェスタンブロット法および免疫染色法により検討した。

【結果と考察】 1. Ca9-22 細胞を *P. g* 全菌体で刺激すると、刺激 48-72 時間後において IL-33, IL-25 および TSLP mRNA 発現が著明に亢進した。また、*P. g* 全菌体により刺激 4 日後をピークとして細胞内 IL-33 蛋白発現が亢進した。2. IL-33 誘導活性を示す菌体成分について、同細胞を全菌体、培養上清、fimbriae、PGTP-2 ならびに *P. g* LPS で刺激した結果、全菌体と培養上清の刺激により IL-33 mRNA 発現が著明に亢進されたのに対して、fimbriae、PGTP および *P. g* LPS 刺激による IL-33 亢進作用はみられなかった。3. *P. g* による IL-33 mRNA 亢進作用は、全菌体を FPR-cmk ならびに KYT-36 で前処理することにより抑制されたことから、同活性はジンジパインにより担われる可能性が示唆された。4. Ca9-22 細胞を全菌体で刺激すると p38 のリン酸化が検出され、同細胞を p38 阻害剤で前処理すると *P. g* による IL-33 mRNA 発現誘導は著明に抑制された。

【結論】 *P. g* により歯肉上皮細胞から IL-33, IL-25 および TSLP 発現が亢進されることが示された。本細菌による IL-33 亢進活性はジンジパインによって担われ、MAP キナーゼ p38 を介することが明らかにされた。成人性歯周炎において、歯肉上皮細胞から生産される IL-33, IL-25 および TSLP などの作用により、歯周組織にアレルギー性炎症が誘導されることが病態形成に関与する可能性が示唆される。(会員外研究協力者) 小川知彦

ニコチンが破骨細胞の分化と無機質溶解に及ぼす影響について

日本大学歯学部衛生学教室¹⁾, 日本大学総合歯学研究機能形態部門²⁾, 日本大学大学院歯学研究科³⁾
○田中秀樹¹⁾, 田邊奈津子^{1), 2)}, 川戸貴行^{1), 2)}, 中井久美子³⁾, 前野正夫^{1), 2)}

**The effect of nicotine on osteoclast differentiation and bone resorption
in RAW264.7 cells.**

Department of Oral Health Sciences, Nihon University School of Dentistry¹⁾, Division of Functional Morphology,
Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry²⁾, Nihon University Graduate School of Dentistry³⁾
○Hideki Tanaka¹⁾, Natsuko Tanabe^{1), 2)}, Takayuki Kawato^{1), 2)}, Kumiko Nakai³⁾, Masao Maeno^{1), 2)}

【目的】

喫煙は、歯周病の進行および治療効果の低下に深く関与している。当教室では、喫煙が歯槽骨代謝に及ぼす影響を *in vitro* で検討し、煙草の主要成分であるニコチンが、骨芽細胞のアルカリフォスファターゼ活性と骨基質タンパク発現の低下を介して石灰化物形成を抑制することを報告した (Tanaka et al. Life Sci, 2005)。そこで本研究では、破骨細胞前駆細胞 (RAW264.7: RAW 細胞) をニコチンで刺激し、破骨細胞への分化、ニコチン受容体、プロトン (H⁺) 産生を担う炭酸脱水酵素 II 型 (CA II), H⁺の細胞外放出を担う vacuolar-type H⁺-ATPase (V-ATPase), 骨基質タンパク分解を担う cathepsin K と matrix metalloproteinase (MMP)-9 発現, 骨吸収領域の低 pH 維持に関与する actin belt 形成および無機質溶解に及ぼすニコチンの影響を調べた。

【方法】

RAW 細胞は 50 ng/mL RANKL 存在下で培養した。細胞を刺激する際のニコチン濃度は 0 (コントロール), 10⁻⁵, 10⁻⁴ および 10⁻³ M とした。ニコチン受容体アンタゴニストには 10⁻³ M D-tubocurarine を用いた。破骨細胞への分化は TRAP 染色法, ニコチン受容体 (α 1-5, 7, 9, 10), CA II, V-ATPase, cathepsin K および MMP-9 の遺伝子発現は real-time PCR 法, タンパク発現は Western blotting 法で調べた。また, actin belt 形成は免疫染色法, 無機質溶解は骨吸収活性評価キットを用いてリン酸カルシウム溶解量を測定して調べた。

【結果】

RAW 細胞は、上記のすべてのタイプのニコチン受容体を発現し、このうち α 7 受容体発現はニコチンの濃度依存的に増加した。破骨細胞数はコントロールに比べて 10⁻⁴ および 10⁻³ M ニコチン添加で有意に増加したが、細胞の面積は 10⁻³ M ニコチン添加で有意に減少した。CA II 発現は、10⁻⁴ および 10⁻³ M ニコチン添加で有意に増加した。一方、V-ATPase, cathepsin K および MMP-9 発現, 総破骨細胞数に占める actin belt 陽性細胞の割合は、10⁻⁴ および 10⁻³ M ニコチン添加で有意に減少した。D-tubocurarine は、ニコチン添加による CA II 発現増加, V-ATPase, cathepsin K および MMP-9 の発現低下を完全にブロックした。リン酸カルシウム溶解量にはニコチンの影響は認められなかった。

【考察および結論】

ニコチンが骨芽細胞による石灰化物形成を抑制したという上記の Tanaka らの報告と本研究結果から、ニコチンは骨形成と骨吸収の両方を抑制し、歯槽骨の turnover を低下させる可能性が示唆された。

結論として、ニコチンは破骨細胞分化と CA II 発現を誘導して H⁺産生を増加させるが、V-ATPase 発現と actin belt 形成を低下させることで H⁺の細胞外への放出と波状縁形成を抑制するため、破骨細胞による無機質溶解には影響を及ぼさないことが明らかになった。またニコチンは、cathepsin K と MMP-9 発現を低下させて破骨細胞による骨基質タンパク分解を抑制することが示唆された。

スフィンゴシン-1-リン酸がヒト歯肉上皮細胞の炎症反応に及ぼす影響

大阪大学大学院歯学研究科 分子病態口腔科学専攻 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)
○三木康史、柳田 学、森 健太、久保田実木子、伊山舜吉、
竹立匡秀、山下元三、山田 聡、北村正博、村上伸也

Effects of sphingosine-1-phosphate on inflammatory responses of human gingival epithelial cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○Koji Miki, Manabu Yanagita, Kenta Mori, Mikiko Kubota, Mitsuyoshi Iyama,
Masahide Takedachi, Motozo Yamashita, Satoru Yamada, Masahiro Kitamura, Shinya Murakami

【目的】

上皮細胞は生体の最前線に位置しており外来刺激からの物理的防御壁として機能しているだけでなく、immuno-modulator として免疫反応に積極的に関与している事が明らかにされている。歯周病の発症進行過程においても歯肉上皮細胞が重要な役割を担っていると考えられる。一方、歯周炎病変部における様々な炎症メディエーターの関与が解析されているが、脂質に関する研究について十分にはなされていない。血小板から産生される生理活性リゾリン脂質の一つであるスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は免疫系・血管系において、その生物学的活性の重要性が認識されている。

また近年、壊死細胞から放出される内因性分子群：ダメージ関連分子パターン (DAMPs) は、周囲組織に影響を及ぼすことが明らかとなっている。そのパターン認識受容体の一つである Toll 様受容体 3 (TLR3) は細胞損傷や壊死により細胞外に放出される mRNA をはじめとする内在性分子に対する受容体であることが報告されている。そこで本研究では、炎症メディエーターとしての S1P と、細胞損傷により放出される内在性分子の刺激により、歯肉上皮細胞がどのような炎症免疫反応を惹起するか検討した。なお、本研究では TLR3 によって認識される分子として二本鎖 RNA ウィルス類似構造体 Poly(I:C) を用いた。

【材料及び方法】

1. ヒト歯肉上皮不死化細胞株 epi4 より RNA を抽出し、リアルタイム-PCR 法を用いて S1P 受容体の発現について、これまで特に報告の多いサブユニットである S1P1/S1P2/S1P3 に注目して検討した。
2. S1P 単独あるいは Poly(I:C) との共刺激により epi4 から産生される IL-8 産生量を ELISA 法にて測定した。
3. S1P1 特異的アゴニストである SEW2871 存在下で産生される IL-8 産生量を ELISA 法にて測定した。
4. S1P 刺激により誘導される IL-8 発現に対する S1P 受容体の関与を検討するため、S1P1/S1P2/S1P3 特異的 siRNA を用いて epi4 における S1P 受容体 mRNA 発現を knockdown した。その後、各 S1P 受容体 knockdown-epi4 を用いて、2. と同様の実験を行った。

【結果】

1. epi4 における今回検討した S1P 受容体サブセットである S1P1・S1P2・S1P3 全ての mRNA 発現を認めた。しかしながら、S1P2、S1P3 と比較し S1P1 mRNA は低発現であった。
2. S1P あるいは Poly(I:C) 刺激により epi4 から IL-8 産生が誘導された。さらに、S1P・Poly(I:C) 共刺激により IL-8 産生量は相乗的に増加した。
3. S1P1 特異的アゴニストである SEW2871 存在下での Poly(I:C) 刺激による epi4 からの IL-8 産生は、Poly(I:C) 単独刺激した実験群と比較して、特に変化を認めなかった。
4. S1P 単独あるいは S1P・Poly(I:C) 共刺激によって誘導される IL-8 産生は、S1P2/S1P3 knockdown-epi4 において抑制された。しかしながら、S1P1 knockdown-epi4 においては control 群と比較して IL-8 発現抑制効果は認めなかった。

【考察及び結論】

S1P・Poly(I:C) の共刺激によりヒト歯肉上皮細胞は炎症性サイトカインの発現を増加することから、炎症時に血小板から産生される生理活性脂質 S1P や DAMPs は歯肉上皮細胞に対して起炎因子として機能する可能性が示唆された。また S1P 存在下で増強される IL-8 発現には S1P2/S1P3 が関与していることが示唆された。

培養歯根膜由来上皮-間葉間相互作用によるマラッセの上皮遺残細胞のアポトーシス誘導

東北大学病院 総合歯科診療部

○王 鋭、 下西 充、遠藤 直樹、 高橋 健、 渡辺 弘淳、 斉藤 修

Epithelial-mesenchymal interactions induce apoptosis in the epithelial cells of Malassez *in vitro*

Division of Comprehensive Dentistry, Tohoku University Hospital,

○WANG Rui, SHIMONISHI Mitsuru, ENDOU Naoki, TAKAHASHI Ken, WATANABE Hiroatsu, SAITO Shu

(研究目的)

これまで、当教室ではヒト歯根膜組織片から上皮細胞および同由来線維芽細胞を同一シャーレ内で培養し、その細胞間相互作用に関する研究を行ってきた。線維芽細胞と上皮細胞を混培養すると、線維芽細胞の増殖能が上がり、最終的に上皮細胞は排除されてしまう。この過程で、上皮細胞はエナメルマトリックスプロテインのアメロゲン、アメロプラスチンおよびそれらを分解するエナメルマトリックスプロテアーゼの MMP-20、KLK 4 の誘導がみられることが確認されている (第 135 回日本保存学会にて発表)。アポトーシスはプログラム細胞死の一種で、遺伝的に細胞の自殺を引き起こす。現在、アポトーシスは様々な分野で研究され、生物個体において発生や恒常性の維持のみならず疾患の予防にも重要な役割を果たしていることがわかってきた。歯科分野でもマラッセの上皮遺残のアポトーシスは数例報告されていることから、アポトーシスがセメント質の石灰化に関与し、マラッセの上皮遺残はアポトーシスによって歯根膜の恒常性を保っている可能性があると考えられる。

本研究では、混培養した上皮細胞のアポトーシスを確認するため、アポトーシスの促進因子である Bax と抑制因子である Bcl-2 の発現に関する検討を行った。

(材料及び方法)

東北大学病院口腔外科外来で抜去した第三大臼歯より歯根膜組織を採取し、無血清混合培地により同一組織片から上皮細胞および線維芽細胞の初代培養を行った。プロナーゼ溶液により細胞を回収し、再度、上皮細胞および線維芽細胞を同一ディッシュに播種し、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 (以下 Co-culture cells)。TUNEL 法にて上皮細胞のアポトーシス発生の有無、BrdU の取り込みにより増殖細胞の同定、および免疫染色法、半定量的 RT-PCR 法にて Bax、Bcl-2 の発現を解析した。また、コントロールとして、上皮細胞のみのサンプル (以下 Control cells) を用いた。

(結果)

位相差顕微鏡像にて Co-culture cells は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。TUNEL 法では、Co-culture cells の上皮細胞に強い陽性を示した。また同時に、Co-culture cells の上皮細胞に BrdU の取り込みが観察され、細胞増殖が確認された。免疫染色法では、Co-culture cells は Bax に関しては上皮細胞に強く観察されたが、線維芽細胞には観察されなかった。Bcl-2 は上皮細胞、線維芽細胞両方に観察された。Control cells では Bax、Bcl-2 両方とも観察された。半定量的 RT-PCR 法では、Bax に関しては Co-culture cells の mRNA が Control cells に比較して有意的に強く発現した ($p < 0.01$)。Bcl-2 に関しては Co-culture cells と Control cells の間に有意的な差は認められなかった。

(考察)

当教室はこれまで細胞間相互作用によって歯の石灰化に関与するアメロゲン、アメロプラスチン、MMP-20 および KLK4 を報告してきた。今回、TUNEL 法では混培養した上皮細胞に強い陽性を示したことから、アポトーシスの関与が確認された。また、Co-culture cells は Bax、Bcl-2 共に発現がみられたが、Bax の方が上皮細胞で強く発現したことから、混培養した細胞間相互作用により上皮細胞のアポトーシスが誘導されたと考えられる。また、一方、BrdU の取り込みが上皮細胞に強く確認されたことにより、上皮細胞の cell turnover が活性化し、石灰化を強く誘導することが示唆された。

羊膜上培養歯髓由来細胞シートの免疫組織化学的検討

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, 大迫文重¹, 雨宮傑¹, 喜多正和², 金村成智¹

Immunohistochemical analysis of a pulp-derived cells cultured on human amniotic membrane sheet

Department of ¹Dental Medicine and ²Immunology, 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 Keiji¹, Oseko Fumishige¹, Amemiya Takeshi¹, Kita Masakazu², Kanamura Narisato¹

【研究目的】

我々は、抗炎症作用・感染抑制作用等を有した羊膜に注目、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、当科において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ている。これより羊膜が細胞培養の基質として適し、また新たな再生医療として有用かつ有効であることを報告している。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、デスマ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。次に、第135回秋季学術大会にて我々は幹細胞ソースとしても近年着目されている歯髓細胞に注目し、羊膜を基質とした培養歯髓由来細胞シートの作成が可能であることを報告した。そこで今回、我々は羊膜上培養歯髓由来細胞シートに免疫組織化学的検討を加えたので報告する。

【材料および方法】

便宜抜歯により抜去された智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。歯髓組織を細分した後、10%ウシ胎仔血清(FBS)と抗菌薬を添加したDMEM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。約2週間培養後、vimentin、Ki-67、Zo-1、CD44、CD105、CD146について免疫組織化学的検討を行った。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。また、羊膜上歯髓由来細胞は間葉系細胞マーカーであるvimentin、細胞増殖マーカーであるKi-67陽性であり、細胞間には細胞間接着マーカーであるZo-1が発現していた。さらに、間葉系幹細胞マーカーであるCD44、CD105、CD146陽性細胞の局在も認めた。

【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に有害刺激が少なく、酸素濃度が低いために遺伝子への影響が少ない。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。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、歯髓由来細胞は羊膜上で増殖し、タイト結合といった強固な細胞間接着装置が存在しており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。さらにシート中に幹細胞の存在が確認され、これら幹細胞の多分化能・自己複製能による新たな歯周組織再生療法の開発へと繋がる可能性が示唆された。

【結論】

羊膜は歯髓由来細胞の培養に適当な足場として機能しており、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た。さらにシート中に幹細胞が存在している可能性が示された。

ヒト歯肉上皮細胞における interleukin (IL)-17 と IL-17 受容体の発現

新潟大学研究推進機構超域学術院¹, 新潟大学医歯学総合研究科 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
○宮内 小百合^{1,2,3}, 本田 朋之^{1,2}, 奥井 隆文^{1,2}, 中島 貴子^{1,4}, 多部田 康一¹, 山崎 和久^{1,3}

Gene expressions of IL-17 and IL-17 receptor family in human gingival epithelial cells

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
○Miyauchi S^{1,2,3}, Honda T^{1,2}, Okui T^{1,2}, Nakajima T^{1,4}, Tabeta K¹, Yamazaki K^{1,3}

【背景および目的】

Interleukin (IL)-17 は歯周炎の病態形成に関連していることが示唆されている。我々もこれまでに T helper 17 cell (Th17) に関連するサイトカインの遺伝子発現は歯肉炎組織に比較して歯周炎組織で上昇していることを報告した (Honda T *et al.*, Clin Chim Acta. 2008)。また、ヒト歯肉上皮細胞において IL-17A/F は MAPK 依存的に NF- κ B を活性化して IL-8 の産生を誘導することを報告した (Takahashi N *et al.*, Eur J Oral Sci. 2011)。

IL-17 は A, B, C, D, E, F のファミリー、IL-17 受容体 (IL-17R) は A, B, C, D, E のファミリーから構成される。近年、細菌感染によって腸管粘膜上皮より IL-17C が産生され、自然免疫の活性化および炎症応答の増強に働くことが報告された。歯肉上皮における IL-17C を含む IL-17 ファミリーの産生に関してはこれまでに報告されておらず、また、IL-17C のレセプターとされる IL-17RE の発現やそれにより誘導される応答について明らかでない。本研究の目的は、歯肉上皮細胞における IL-17 および IL-17R ファミリーの遺伝子発現およびその機能について解析することである。

【材料および方法】

歯肉上皮細胞はヒト歯肉不死化細胞株 epi4 (大阪大学大学院歯学研究科口腔治療学教室 村上伸也教授より供与) を Supplement S7 添加 Eplife 培地にて培養し、以下の実験に供した。

(1) IL-17R ファミリーの発現解析

epi4 における未刺激時の IL-17R ファミリーの遺伝子発現を RT-PCR 法により確認した。

(2) IL-17 ファミリーの発現解析

epi4 における未刺激時の IL-17 ファミリーの遺伝子発現を RT-PCR 法により確認した。

(3) 各種抗原刺激による IL-17 ファミリー発現誘導の解析

epi4 を各種抗原 (*P. gingivalis* 菌体 (live or heat-killed), *P. gingivalis* LPS, *E. coli* LPS, Pam3CSK4, IL-1 β , TNF- α) で刺激を行い、4, 8 時間後の IL-17 ファミリーの遺伝子発現変動を real-time PCR 法にて解析した。

(4) Recombinant IL-17 (A, C) に対する応答性の解析

epi4 を recombinant IL-17A, IL-17C で刺激し、4, 8, 12 時間後の IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, HBD2 の遺伝子発現変動を real-time PCR 法にて解析した。

【結果】

RT-PCR 解析により、ヒト歯肉上皮細胞においてすべての IL-17 受容体 (IL-17RA, IL-17RB, IL-17RC, IL-17RD, IL-17RE) が恒常的に発現していることが確認された。また、IL-17C, IL-17D, IL-17E は恒常的な発現レベルが高いが、IL-17A は恒常的には発現していないことが明らかとなった。*E. coli* LPS, Pam3CSK4, IL-1 β , TNF- α 刺激により IL-17C の遺伝子発現が上昇したが、IL-17A, B, D, E, F の遺伝子発現はいずれの抗原刺激においても変動しなかった。Recombinant IL-17A 刺激により IL-1 β , IL-6, IL-8, MCP-1, HBD2 の遺伝子発現が増加し、IL-17C 刺激では IL-6, MCP-1 の遺伝子発現が増加した。

【考察】

抗原刺激により IL-17C の遺伝子発現が増加したことから、歯肉上皮において細菌等の感染により IL-17C が産生され、歯周炎の病態形成に関与することが示唆された。IL-17A および IL-17C 刺激により IL-6, MCP-1 の遺伝子発現は共通して増加したことから、IL-17C には IL-17A と共通するシグナリング経路が存在することが考えられる。しかし異なる挙動を示す点は、それぞれの異なる役割を示唆する。ヒト歯肉上皮における IL-17C の働き、およびその受容体である IL-17RE 下流のシグナリングの解明を含め、さらなる検討が必要であると考えられる。

ヒト歯肉線維芽細胞における TNF- α 誘導性の MMP-1 産生に対するインクレチン関連薬の影響

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面再建学講座 歯科保存学分野

○徳田 雅行, 作田 哲也, 小山 徹, 梶原 武弘, 達山 祥子, 川上 克子, 森元 陽子, 江本 真規子, 藤澤 真理, 宮下 桂子, 藤島 慶, 鳥居 光男

Effects of incretin related-drugs on TNF- α -induced MMP-1 production in human gingival fibroblasts

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, field of Oral and Maxillofacial Rehabilitation, Kagoshima University
Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Masayuki TOKUDA, Tetsuya Sakuta, Tohru Oyama, Takehiro Kajihara, Syouko Tatsuyama, Yoshiko Kawakami, Yoko Morimoto, Makiko Emoto, Mari Fujisawa, Keiko Miyashita, Kei Fujishima, Mitsuo Torii

【研究目的】

Matrix Metalloproteinase (MMP)-1 は線維芽細胞や軟骨細胞から分泌され、I 型、II 型、III 型や X 型コラーゲン等の細胞外マトリックスを分解し、組織破壊や組織の再構築に関与している。歯肉炎や成人性歯周炎の患者では健常人と比べて歯肉組織における MMP-1 の発現が亢進し、また、MMP-1 プロモーター領域の polymorphism が重症の慢性歯周炎のリスクファクターとなることが報告されている。

インクレチンは腸管由来のインスリン分泌刺激因子であり、主として、Glucose-dependent insulintropic polypeptide (GIP) と glucagon-like peptide-1 (GLP-1) があり、それぞれ、十二指腸に存在する K 細胞と下部小腸や大腸に存在する L 細胞から分泌される。インクレチンは食事摂取により分泌が促進され、膵臓の β 細胞に作用しインスリンの分泌を促進する。また、インクレチンは血中の dipeptidyl peptide-4 (DPP-4) および中性エンドペプチダーゼによって速やかに分解される。現在、インクレチン関連薬として、DPP 阻害薬と GLP-1 受容体作動薬が糖尿病治療薬として使用されている。インクレチン関連薬は膵臓に対する作用以外に、1) 食欲抑制作用 2) 心保護作用 3) 血管拡張作用 4) マクロファージにおける抗炎症作用 5) 骨吸収抑制作用など多彩な膵外作用を示すが、歯肉線維芽細胞における役割については十分には明らかになっていない。そこで本研究ではヒト歯肉線維芽細胞において腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor- α ; TNF- α) の誘導する MMP-1 産生に GLP-1 受容体作動薬が与える影響について検討した。

【実験方法】

- ①GLP-1 受容体作動薬: liraglutide (Victoza®, Novo Nordisk Pharma), exenatide (Byetta®, Eli Lilly Japan)
②リコンビナントヒト TNF- α (Wako)、培地は 10% FBS を含む D-MEM を用いた。
- MMP-1 産生量の測定:ヒト歯肉線維芽細胞を、24 穴プレートに 2.8×10^4 個播種した。GLP-1 受容体作動薬 and/or TNF- α を含む培地で 24 時間もしくは 48 時間刺激し、培養上清を回収した。培養上清中の MMP-1 の濃度は ELISA (Quantikine)を用いて測定した。
- ヒト歯肉線維芽細胞の生存能の測定:ヒト歯肉線維芽細胞を 96 穴プレートに 3.5×10^3 個播種した。種々の濃度の GLP-1 受容体作動薬を含む培地で刺激し、MTT アッセイ法により生存能の評価を行なった。
測定結果に対して Mann-Whitney U-test を用いて危険率 5%で統計処理を行なった。

【結果】

- ヒト歯肉線維芽細胞において TNF- α は MMP-1 の産生を誘導した。
- TNF- α が誘導する MMP-1 の産生に対して、exenatide は影響を与えなかったが、liraglutide は MMP-1 の産生を有意に増強した。
- GLP-1 受容体作動薬はヒト歯肉線維芽細胞の生存能に影響を与えなかった。

【考察】

本研究では、同じ GLP-1 受容体作動薬である liraglutide と exenatide が、TNF- α の誘導する MMP-1 産生において異なった作用を示した。2者の血中における半減期を比較すると、liraglutide の方が約8倍ほど半減期が長い。このことから培地中における2つの作動薬の安定性の違いが、MMP-1 産生の誘導において影響を与えたのかもしれない。

TNF- α は歯肉上皮細胞において TNF I 型受容体-PKA シグナリングを介して RANKL 発現を誘導する

昭和大学歯学部歯周病学教室

○藤原亮一 白井通彦 西井浩介 塚本康巳 山本松男

TNF- α induces RANKL expression in gingival epithelial cells through PKA signaling
○Ryoichi Fujihara, Michihiko Usui, Kousuke Nishii, Yasumi Tsukamoto, Matsuo Yamamoto

【目的】

歯周炎において歯周病原菌の侵襲により TNF- α や IL-1 などの炎症性サイトカインが産生され、歯周組織が破壊される。歯槽骨の吸収は破骨細胞によって引き起こされ、その分化には RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand) が必須である。近年、歯周炎に罹患した患者の歯肉溝内浸出液中で RANKL の量が増加し、その decoy 受容体である osteoprotegerin の量は減少していることが明らかとなった。歯肉溝は歯肉上皮組織で構成されているにも関わらず、歯肉上皮細胞における RANKL の発現については十分に知られていない。本研究では、歯肉上皮組織における RANKL の発現と歯肉上皮細胞においてどのような因子が RANKL 発現を制御しているのかを検討した。

【方法】

ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 は DMEM(FBS10%)、HO1- μ -1 は RPMI/MEM(FBS10%)、初代培養ヒト口腔内上皮細胞 (HOK) は OKM(FBS10%)にて培養し、各種 assay に使用した。遺伝子発現は RT-PCR 法ならびにリアルタイム PCR 法、タンパク質発現は western blot 法を用いて検出した。また、生後 4 週齢の雌の ICR マウスを用いて免疫組織化学染色を行い、歯肉上皮組織における TNF- α 、RANKL 発現を検証した。

【結果】

Ca9-22、HO1- μ -1、HOK 細胞から RNA を抽出し RT-PCR 法にて RANKL mRNA 発現の有無を調べたところ、全ての上皮細胞から RANKL の発現を確認することができた。western blot 法を用いたタンパク質発現においても全ての上皮細胞において、RANKL タンパクの発現を確認することができた。次に、マウス歯肉上皮組織に免疫染色を行い RANKL タンパクの発現を調べた結果、骨芽細胞や歯根膜細胞だけではなく付着上皮、歯肉溝内上皮、口腔歯肉上皮にもその発現を観察することができた。TNF- α は歯根膜細胞において RANKL の発現を増加させる炎症性サイトカインとして知られている。そこで TNF- α の歯肉上皮組織における発現を免疫染色によって検証したところ、付着上皮および口腔歯肉上皮に TNF- α の発現が確認できた。さらに、歯肉上皮細胞を TNF- α で刺激したところ、Ca9-22 と HOK において RANKL の発現が対象群と比較して有意に増加した。TNF- α に TNF 受容体 I 型および II 型に対する中和抗体を加え 24 時間培養したところ、TNF 受容体 I 型中和抗体を加えた群において RANKL の発現が有意に減少した。最後に、TNF- α が RANKL の発現を誘導する経路を調べるために、PKA シグナルの役割を検証した。その結果、TNF- α によって増強された RANKL mRNA および RANKL タンパクの発現は PKA シグナル阻害剤 (H89, PKI) によって有意に減少し、PKA シグナル活性化因子 (Forskolin) はその発現を有意に増加させた。

【考察】

本研究の結果より、TNF- α は歯肉上皮細胞において TNF I 型受容体-PKA シグナルを介して RANKL の発現を誘導することが示された。このシグナル経路を介して歯肉上皮細胞から産生された RANKL が破骨細胞形成および、歯槽骨破壊に関与する可能性が示唆された。

歯根膜細胞の石灰化過程における TGF- β 誘導性の I 型コラーゲン代謝機構
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)
○河原貴展、山下元三、梶川哲宏、前田憲一郎、北垣次郎太、山田 聡、北村正博、村上伸也

TGF- β regulates collagen synthesis in the course of periodontal ligamental cell calcification

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○Takanobu Kawahara, Motozo Yamashita, Tetsuhiro Kajikawa, Kenichiro Maeda,
Jirota Kitagaki, Satoru Yamada, Masahiro Kitamura and Shinya Murakami

【研究目的】

TGF- β (Transforming Growth Factor beta) は広汎な組織で発現が認められ、細胞の増殖分化、遊走、接着、アポトーシス、細胞外基質産生といった多様な高次機能発現を通じて組織の発生のみならず、再生、創傷治癒を制御することが明らかにされているサイトカインである。歯周組織においては歯胚の発生や分化誘導に際し TGF- β を介した細胞内シグナルが発生・分化にとって重要であることが明らかにされている。しかしながら、歯根膜細胞に対して TGF- β シグナルが果たす役割は未だ十分に解明されていない。そこで本研究においては、歯周組織再生の中心を担う歯根膜細胞の恒常性維持に果たす TGF- β シグナルの生理的意義を解明する為に、TGF- β I 型受容体阻害剤を用いて内在性 TGF- β シグナルを遮断し、歯根膜細胞の硬組織形成過程に与える影響に注目して解析を行った。

【材料と方法】

マウス歯根膜細胞株 (MPDL22) およびヒト初代培養歯根膜細胞をアスコルビン酸および β -グリセロリン酸を含む石灰化誘導培地中で長期培養を行った。その際、BMP-2、TGF- β として FGF-2 としたサイトカインおよび TGF- β I 型受容体阻害剤 (SB431542、LY364947、Inhibitor II) を時期特異的に添加し、石灰化物形成に及ぼす影響をアルカリフォスファターゼ活性の測定およびアリザリン染色で、また骨芽細胞分化遺伝子の発現を real-time PCR 法により検討した。歯根膜細胞におけるコラーゲン代謝は *van Gieson* 染色を行い、細胞増殖については *BrdU* (5-bromo-2'-deoxyuridine) 取り込み試験にて検討を行った。

【結果と考察】

TGF- β I 型受容体阻害剤 SB431542 を用いて内在性 TGF- β シグナルを遮断することで、MPDL22 の増殖は抑制された。MPDL22 の石灰化誘導長期培養下に SB431542 を添加すると、BMP-2 誘導性のアルカリフォスファターゼ活性および石灰化物形成の著しい亢進を認め、骨芽細胞分化遺伝子である *Runx2* や *osterix* の mRNA 発現上昇が認められた。また、歯根膜細胞の石灰化誘導長期培養モデルにおいて SB431542 処理を培養期間の初期のみに行った際、石灰化物形成は増強された。一方、SB431542 処理によりコラーゲン産生の低下が認められた。当教室において樹立した 3 種類の初代培養ヒト歯根膜細胞株においても、SB431542 を用いて TGF- β シグナルを遮断することで、BMP-2 誘導性の石灰化物形成の亢進が認められた。また異なる化学構造の小分子化合物である TGF- β I 型受容体阻害剤 LY364947 や Inhibitor II を石灰化誘導培地中で長期培養に添加した場合においても、BMP-2 誘導性の石灰化物形成の亢進を認めた。

以上より、TGF- β シグナルは歯根膜細胞において初期の分化段階では抑制的に作用する一方、石灰化成熟過程においては誘導している可能性が示唆された。これは TGF- β が歯根膜細胞の硬組織形成細胞への各分化過程に特異的に作用しており、TGF- β により誘導されるコラーゲンの代謝産生は歯根膜細胞の硬組織形成能を有する前駆細胞への分化過程ではなく、硬組織形成細胞の成熟過程における細胞外基質産生にとり重要であることを意味する。本研究で得られた知見は歯周組織再生過程における歯根膜細胞の特性を理解するうえで重要な情報であり、時期特異的な TGF- β シグナルの遮断に基づいたコラーゲン代謝産生の調節が歯周組織再生治療へと応用できる可能性を示唆するものと考えられる。

ヒト歯根膜細胞の増殖，接着，遊走能に対する EMD 由来合成ペプチドの影響

¹大阪歯科大学 歯周病学講座, ²大阪歯科大学, ³大阪歯科大学 口腔病理学講座
○高橋幸達¹, 田口洋一郎¹, 富永和也³, 小正聡², 安井菜津希¹, 奥田麻貴子¹, 田中昭男³,
梅田誠¹

Effects of oligopeptides derived from enamel matrix derivatives
on proliferation, adhesion and migration of human periodontal ligament cells
Osaka Dental University, ¹Department of Periodontology, ³Oral Pathology
○Saitatsu Takahashi¹, Yoichiro Taguchi¹, Kazuya Tominaga³, Satoshi Komasa², Natsuki Yasui¹, Makiko Okuda¹, Akio Tanaka³
Makoto Umeda¹

【目的】

近年，歯周組織再生療法の普及によって，幼若ブタの歯胚から抽出されたエナメルマトリックスデリバティブ（以下，EMD と略す）が現在広く臨床応用され，先進医療として認知されている．しかし，EMD は生物由来材料であるため，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ことから，EMD の基礎研究から得た成果を基に新規合成ペプチドを作製した．我々はこの新規合成ペプチドを用い，SD 系ラットの骨髄細胞の硬組織分化誘導に対する評価，同ラットに対する動物実験での評価から，新規合成ペプチドが骨形成を促進し，セメント質様の硬組織を形成する知見を得た．

今回，ヒト歯根膜細胞（HPLFC）を実験に使用し，歯周組織再生療法に不可欠である未分化間葉細胞の一つである歯根膜細胞に対する新規合成ペプチドの影響について，細胞の増殖，接着および遊走の観点から比較・検討した．

【材料と方法】

ヒト歯根膜細胞として，HPLFC を実験に使用した．HPLFC の増殖，接着および遊走に対する新規合成ペプチドの影響を検討するために，HPLFC を，10%FBS と抗菌薬を含む 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 100 ng/mL の各濃度の合成ペプチドを培地に溶解させ HPLFC に応用したものを，実験群とした．また，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，96 well プレートに 4×10^4 個/mL ずつ播種し 1, 3, 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，96 well プレートに 4×10^4 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} にて蛍光染色を施し 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．対照群として合成ペプチドを作用させない培養細胞を用いた．各々の実験について 3 回行い，student の t 検定を用いて統計分析を行い，有意水準を 5% 以下にした．

【結果】

細胞増殖は，培養開始 1, 3, 72 時間における実験群では対照群に比べて有意に高かった．培養開始 24 時間では，統計学的有意差は認めなかったものの，実験群で対照群と比較して高い値を示した．また，増殖は経時的に増殖傾向を示した．細胞接着，遊走ともに実験群では対照群と比較して各側定時で有意に高い値を示した．

【考察】

今回の実験結果から EMD 由来の合成ペプチドは，HPLFC の細胞増殖，接着および遊走を促進させたので，歯周組織の再生をもたらす可能性の一端を示したことになり，歯周組織再生療法に有用であることが示唆された．

羊膜上培養ヒト歯根膜由来細胞による歯周組織再生に関する検討

京都府立医科大学大学院医学研究科 歯科口腔科学
○熊本園子, 雨宮 傑, 本城賢一, 足立圭司, 西垣 勝, 大迫文重, 山本俊郎, 金村成智

Tissue engineering by Transplantation of Periodontal Ligament-derived Cells Sheet Cultivated on Amniotic Membrane.

Dental Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine
○KUMAMOTO Sonoko, AMEMIYA Takeshi, HONZYO Ken-Ichi, ADACHI Keiji, NISHIGAKI Masaru,
OSEKO Fumishige, YAMAMOTO Toshiro, and KANAMURA Narisato.

【研究目的】

歯周組織の再生には新生歯根膜が重要とされる。近年、歯根膜組織を採取し *in vivo* にて培養・増殖し得られた歯根膜由来細胞を移植することで、有意に歯周組織が再生するとの報告を散見する。羊膜は抗炎症・感染抑制作用等を有し、様々な細胞の培養基質として適していることがわかっている。これまでにわれわれは、羊膜上に歯根膜由来細胞の培養を行ったところ、歯根膜としての性質を保持し、強固な細胞間接着装置と基底膜を有した1枚の羊膜上培養歯根膜由来細胞シートが作成可能であることを報告した(2010年度秋季学術大会(133回))。

今回われわれは、臨床応用可能な羊膜上培養ヒト歯根膜由来細胞の作成を念頭に、上記にて得られた培養シートの *in vivo* における細胞動態について検討を加え、歯周組織再生の可能性について若干の知見が得られたので報告する。

【材料および方法】

羊膜は、帝王切開時の胎盤より採取し、洗浄後、羊膜上皮細胞を除去したものを研究に供した。また歯根膜組織は、抜去した智歯より採取し初代培養後、3~4代継代して得られた歯根膜由来細胞を羊膜上にて約3週間の培養を行った。作成した羊膜上培養歯根膜由来細胞は、クエン酸処理した象牙質切片上に羊膜ごと静置し、実験動物(BALB/cヌードマウス)の腎被膜下への移植を行った。移植2週間にて培養シートと象牙質切片を摘出、H-E染色ならびに間葉系細胞マーカーの vimentin に対する抗体を用いて免疫染色を行った。

なお、当研究の実施および歯根膜組織、象牙質片、羊膜の利用については、該当患者に対し本研究内容、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(RBMR-R-21)ならびに、京都府立医科大学動物実験委員会(M22-152)の承認を得た上で実施した。

【結果】

歯根膜由来細胞は象牙質片上に付着しており、4~5層の紡錘形の歯根膜様細胞が層状に認められた。象牙質切片周囲に vimentin 陽性細胞の局在が認められた。

【考察および結論】

歯周組織欠損の再生に重要な要素として、増殖因子・細胞・基質が必要とされ、これまでに歯根膜由来細胞の培養にさまざまな基質を用いた報告されているが、理想的な歯周組織の再生のための基質はまだ開発されていない。われわれが渉猟した限り、歯根膜由来細胞の培養基質に羊膜を用いた研究報告はこれまでになく、また羊膜上歯根膜由来細胞の *in vivo* の環境下での細胞動態については未知の部分が多い。よって今回われわれは、羊膜上培養歯根膜由来細胞の実験動物への移植を行い、細胞の遊走増殖についての検討を行った。培養細胞の移植方法としては、実験動物の歯周欠損モデルへの移植が散見されるが、生着組織の均一化や特定が困難であること、また極めて狭小な部位への細胞移植であり、安定した再現性が得られないことが予測されたため、培養細胞を一箇所に着床させることが可能であり免疫寛容が高い腎被膜下への細胞移植を実施した。

結果、羊膜上培養歯根膜由来細胞は、羊膜を基質とすることで細胞の足場を形成され、象牙質切片と接着し歯根膜様細胞の新生が見られたものと考えられた。また、間葉系細胞マーカー(vimentin陽性細胞)が確認され、移植後においても、歯根膜としての性質を保持していることが示された。今後さらなる検討が必要と思われるが、羊膜上培養歯根膜由来細胞は、歯周組織を再生する可能性が示唆された。

本研究は、日本学術振興会・科学研究費補助金(No.22792000)の助成を受けたものである。

ラット臼歯歯根発生過程における、 咬合によるヘルトヴィッヒの上皮鞘細胞数の変化

新潟大学大学院 医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野
○中曽根 直弘、石田 光平、横山 智子、岡田 萌、小松 康高、吉江 弘正

Changes of the number of Hertwig's epithelial root sheath cells by occlusion during root development in rat molars

Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○Naohiro Nakasone, Kohei Ishida, Tomoko Yokoyama, Moe Okada, Yasutaka Komatsu, Hiromasa Yoshie

【背景】

これまで我々は、ラット臼歯発生過程における増殖細胞分布を解析し(Nakasone N et al, 2006)、歯根形成期に起こる急激な増殖活性の低下は咬合の影響が大きいと推測した。そこで我々は萌出前の臼歯の対合歯を抜去することで、咬合を完全に排除する実験系を確立した。その研究において、ラット臼歯歯根発生過程において開始される咬合が、根尖部歯髄および歯周組織の細胞増殖活性を減少させ、歯根長に影響を与えることが明らかとなった(Nakasone N and Yoshie H, 2011)。

ヘルトヴィッヒの上皮鞘(Hertwig's epithelial root sheath: HERS)は、歯冠形成後に内外エナメル上皮により構成され、歯根発生において主役を演じる。これまで、正常発生した臼歯の HERS 細胞数や HERS 長の計測といった形態学的解析が行われてきたが、まだ不明な点も多い。咬合が歯根長に影響を与えることを考えると、咬合の有無により HERS に形態的变化が生じている可能性は高い。そこで本研究では、咬合が HERS の形態にどのような変化をもたらすかを HERS 細胞数に着目して解析した。

【材料と方法】

15 日齢 Wistar 系ラットの未萌出下顎第一臼歯を深麻酔下にて抜去した。10 日および 15 日後にアルデヒド系固定液にて灌流固定した。尚、無処置歯をコントロール群とした。また、正常歯根発生過程での HERS の形態を観察するために、15、18、21 日齢の無処置歯もサンプルとした。EDTA 脱灰後、パラフィン切片を作製し、H-E 染色を行った。H-E 切片上で HERS 細胞数を計測した。

【結果】

15 日齢群(P15)から咬合開始前の 21 日齢群(P21)まで、HERS を構成する内層および外層の細胞数は経時的に減少した。咬合開始直後の 25 日齢群では、コントロール群(P25)は HERS の内層および外層細胞数は P21 よりも有意に減少したが、実験群(E25)では有意な減少は見られなかった。また P25 と E25 間では HERS の内層、外層細胞数に有意な差が認められた。30 日齢になると、実験群(E30)およびコントロール群(P30)共に、HERS の内層および外層細胞数に有意な差は認められなかった。

【考察】

本研究により、咬合開始直後(25 日齢)に HERS の内層、外層共に細胞数が有意に減少することが明らかとなった。したがって、初期咬合が発生過程の歯根における HERS に重要な影響を与えることが示唆された。

歯周骨欠損部に移植した培養ヒト歯髄細胞の組織学的評価

鶴見大学歯学部歯周病学講座
○保母浩児, 金指幹元, 五味一博

Histological study of cultured dental pulp cells transplanted in the periodontal bone defect

Tsurumi University, School of Dental Medicine, Department of Periodontology
○Koji Hobo, Mikimoto Kanazashi, Kazuhiro Gomi

【研究目的】

最近、新たな歯周組織再生療法として組織工学的手法を用いた臨床研究が行われており、再生に用いる細胞源として歯根膜細胞や骨髄由来間葉系幹細胞を用いた臨床研究が開始されている。しかしながら細胞の採取には問題が残る。そこで我々は口腔内から採取でき歯根膜細胞あるいは骨髄細胞に代わる歯周組織再生に有効な細胞源として歯髄細胞に着目した。これまで研究よりヒト歯髄組織中に幹細胞が存在することが示している。今回、我々はヒト歯髄細胞 (HDPC) を basic Fibroblast Growth factor (b-FGF) 添加培地で培養し、細胞の基本特性を確認した上でアテロコラーゲンゲルを担体として歯髄細胞との複合体を作製し、ヌードラットに形成した人工骨欠損部へ移植し歯周組織の再生の可能性について組織学的に検討した。

【材料および方法】

本実験は鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認 (第 103 号) をうけ、鶴見大学歯学部実験動物指針に従って行った。本実験の目的と内容を説明し同意が得られた患者 (25 歳、女性) の矯正治療上の必要性から抜歯された小臼歯より HDPC を得た。実験には継代 4 代目の細胞を用いた。これまでの我々の研究より b-FGF を 50ng/ml 濃度で添加することで STR01 の比率が高くなることを示していることから、本研究においても b-FGF をこの濃度で添加した。得られた HDPC を用い alkaline phosphatase (ALP) 活性および骨系の遺伝子マーカーとして osteopontin (OPN), osteocalcin (OC), bone sialoprotein (BSP) を、象牙質のマーカーとして dentin sialoprotein (DSPP) の遺伝子発現を用いて評価した。また、表面抗原を造血幹細胞マーカーである CD34, CD45 および間葉系幹細胞マーカーである CD44 と CD90 の発現をフローサイトメーターにより各抗体の発現解析を行った。次いでアテロコラーゲンゲルを担体として培養 HDPC との複合体を作製し、ヌードラット第 1 臼歯口蓋側に形成した人工骨欠損部に移植し組織学的に評価した。

【結果】

b-FGF 添加において ALP 活性が上昇し、骨の分子マーカーである OPN, OC, BSP および象牙質の分子マーカーである DSPP の遺伝子発現が上昇することを示した。さらに、b-FGF 添加下で培養した HDPC の表面抗原を CD34, 45, 44, 90 について調べたところ造血細胞マーカーである CD34, CD45 はネガティブであり、間葉系幹細胞マーカーである CD44 と CD90 はポジティブであった。この培養 HDPC を、コラーゲンゲルを担体としてヌードラットに形成した人工歯周骨欠損部に移植したところ、コラーゲンゲルのみの移植を行ったコントロール群では結合組織性の付着および骨の再生を認めなかったが、細胞を含む実験群では結合組織性の付着が認められた。

【考察】

HDPC を b-FGF 添加下で培養することにより、ALP 活性の上昇と骨系遺伝子の発現が上昇した。また、間葉系幹細胞マーカーである CD44 と CD90 がポジティブであった。以上のことから今回移植に用いた HDPC は間葉系細胞を含むと考えられる。本細胞の人工骨欠損部への移植により歯根との間に結合組織性の付着は認められたが、明らかなセメント質および骨の新生は認められなかった。これは今回用いたヌードラットは免疫不全ラットであるが、HDPC に対しては免疫反応を示したことが考えられる。しかし、コントロールでは結合組織性付着が認められないこと、炎症反応等が認められないことから HDPC の歯周組織再生の可能性が示されたと考えた。

【結論】

b-FGF 添加下で培養した HDPC は歯周組織を再生する可能性があると考えられる。

なお、実験の遂行に際し、終始ご指導頂いた鶴見大学歯学部 RI 研究センター川本忠文先生に感謝申し上げます。

内側性骨欠損の血管新生および骨再生に対する bFGF の効果

1) 日本大学大学院歯学研究科 歯学専攻応用口腔科学分野 2) 日本大学歯学部 保存学教室歯周病学講座

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

○木上理紗¹, 佐藤秀一^{2, 3}, 宇田川麻美¹, 土屋紀子¹, 吉巻友裕¹, 汐見登², 新井嘉則⁴, 伊藤公一^{2, 3}

Effect of bFGF on bone regeneration and angiogenesis in rat calvarial bone defect

1) Division of Applied Oral Science, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan

2) Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

3) Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

4) Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Risa Kigami¹, Shuichi Sato^{2, 3}, Asami Udagawa¹, Noriko Tsuchiya¹, Tomohiro Yoshimaki¹, Noboru Shiomi²,
Yoshinori Arai⁴, Koichi Ito^{2, 3}

【目的】

細胞増殖因子である塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor: 以下 bFGF と略す) は, 細胞増殖を促進するだけでなく, 強力な血管新生作用をもつサイトカインである。近年, bFGF の血管新生作用や骨形成促進作用に着目し, 歯周組織再生に関する研究が行われている。そこで, 本研究ではラット頭蓋骨に内側性骨欠損を作製し bFGF を含浸させたコラーゲンスポンジを設置し, 血管新生と骨再生に対する影響について, 血管造影およびマイクロ CT を用いて観察した。

【材料および方法】

F344/jcl 7 週齢のラット 40 匹にイソフルランによる吸入ガス麻酔後, ペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) を腹腔内に注射し, 全身麻酔を行った。ついで, 頭蓋骨に 2% 塩酸リドカイン (1: 80,000 アドレナリン含有歯科用キシロカインカートリッジ) 約 0.5ml を用いて局所麻酔を施し, 頭部皮下に切開を加えた。皮膚骨膜弁を作製し, 頭頂骨を露出させた。そして, 矢状縫合を避けるように, 両側に直径 5.0 mm の臨界内側性骨欠損をトレファインバーにて作製した。実験側には, 0.1% および 0.3% に調整した bFGF を含浸させたコラーゲンスポンジを内側性骨欠損部に設置し, それぞれ 0.1% bFGF 群と 0.3% bFGF 群とした。一方, 対照側には, 生理食塩水を含浸させたコラーゲンスポンジを設置し, 皮膚骨膜弁を復位し縫合した。in vivo マイクロ CT (R_mCT, 理学メカトロニクス, 東京) を用いて, 術直後を 0 週とし, CT 撮影を行った。ついで, 1 週から 4 週まで毎週 5 匹ずつ CT 撮影および血管造影を行った。血管造影法は, 全身麻酔後に CT 撮影を行った後, ラットの腹部に 2% 塩酸リドカイン約 1.0ml を用いて局所麻酔を施し, ラットの心臓を剖出させた。還流固定と同じ方法を用いて, 生理食塩水で脱血させ安楽死させた後, 10% 中性緩衝ホルマリン溶液を使用して固定した。ついで, 血管造影剤 (イオパニロン注 370 バイエル薬品株式会社, 大阪) 20 ml を自動注入機を用いて毎分 1.25 μ l の速度で全身に注入した後, 2 度目の CT 撮影を行い, 血管新生と骨再生を評価した。

【結果】

マイクロ CT 観察から実験側と対照側ともに, 術後 2 週から 4 週まで継続的に新生血管の増加を認めた。また, 実験側で有意に新生血管の増加を認め, とくに, 0.1% bFGF 群よりも 0.3% bFGF 群の方が有意に多くなった。一方, 新生骨様組織は, 実験側で術後 3 週以降から内側性骨欠損の辺縁に認められ, 0.3% bFGF 群では辺縁の全周に認められた。

【考察および結論】

血管造影法を用いたマイクロ CT 撮影により, 血管新生を認めた部位に, 骨再生が認められた。このことから, 骨再生において血管新生が先行し, それに続いて骨が形成されることが示された。

ヒト歯根膜由来細胞群および FGF-2 と BMP-2 との併用による組織再生

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,
○上與那原 朝秀, 日高 竜宏, 白井 要, 門 貴司, 長澤 敏行, 古市 保志

Potential of periodontal ligament derived cells implanted with FGF-2 and BMP-2 in tissue regeneration

Health Sciences University of Hokkaido, School of Dentistry,
Division of Periodontology and Endodontology,

○Tomohide Ueyonahara, Tatsuhiro Hidaka, Kaname Shirai, Takashi Kado,
Toshiyuki Nagasawa, Yasushi Furuichi

歯周病は成人が歯を喪失する主な原因となる疾患であり、一度損傷を受け失われた歯周組織の再生能は限られている。歯周病により失われた歯周組織の再構築には歯根膜細胞の存在が有用であると報告されている。また近年、塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) や骨形成タンパク (BMP-2) などのサイトカインが歯周組織再生療法において注目されている。FGF-2 の局所応用は歯周病により破壊された歯周組織の再生に有効であると、臨床応用が期待されている。一方、BMP-2 は、欧米でサイナスリフトやインプラントのための骨増大に臨床応用されている。FGF-2 や BMP-2 は動物実験において歯根膜中の細胞増殖と分化を促進し、歯周組織の再生に関与することが報告されている。しかし、ヒト歯根膜細胞群 (HPDL 細胞群) において FGF-2 及び BMP-2 の相互作用に関する知見は少ない。そこで本研究では FGF-2、BMP-2 及びその併用が HPDL 細胞群において異所性の組織再生、特に血管組織形成や骨様組織形成にどのような影響を及ぼすのかを検討した。

北海道医療大学歯科内科クリニックを受診した患者において、治療上抜歯が必要と判断し抜去した 3 本の歯の歯根膜組織から outgrowth 法にて増殖させ、3 細胞群を採取し、それぞれ HPDL1、HPDL2、HPDL3 とした。この実験計画は北海道医療大学歯学部・大学院歯学研究科倫理委員会の承認を得ている。採取した HPDL 細胞群および無細胞群、ヒト抜去歯を粉砕して得られたヒト凍結乾燥脱灰象牙質顆粒 (DeminerIALIZED Dentin Matrix : DDM) からなる埋植体それぞれに成長因子として①無添加群、②FGF-2 群、③BMP-2 群、④FGF-2+BMP-2 併用群の 4 条件を添加し、ヌードマウス背部皮下に埋植した。埋植 4 週後に屠殺し、摘出物から通法に従い切片を作製し、H-E 染色を施し、光学顕微鏡で組織学的に観察し、血管数と新生骨形成割合を計測した。また、新生組織の由来を確認するために免疫組織化学染色として、抗ヒト vWF ポリクローナル抗体を用いて血管内皮細胞の観察を行い、さらに移植した HPDL 細胞群が生着しているか検討するために摘出した組織の一部を用いた RT-PCR によってヒト GAPDH mRNA の発現の確認を行った。

ヒト GAPDH mRNA の発現を調べた結果、HPDL1、HPDL2、HPDL3 の成長因子無添加群から摘出した組織の全てから、ヒト GAPDH mRNA の発現がみられた。しかし DDM のみからなる無細胞無添加群では、ヒト GAPDH mRNA の発現はみられなかった。同様に、免疫組織化学染色の結果、HPDL1、HPDL2、HPDL3 の成長因子無添加群から摘出した組織の全てから、ヒト由来の血管内皮細胞がみられたが、DDM のみからなる無細胞無添加群では、ヒト由来の血管内皮細胞がみられなかった。このことより、ヌードマウス背部皮下に移植した HPDL 細胞群を含む埋植体中には HPDL 細胞群は生着しており、HPDL 細胞群に由来する血管新生が生じる可能性が示唆された。また、摘出した埋植体の組織学的所見および分析観察から、HPDL 細胞群を含む FGF-2 群では無添加群と比較して有意に血管数が増加していた。また、HPDL 細胞群を含む BMP-2 群では有意に新生骨形成割合が増加していた。さらに、HPDL 細胞群を含む FGF-2+BMP-2 併用群では、血管数は無添加群や BMP-2 群と比較して有意に増加した。また FGF-2 群と比較しても同程度の血管数であった。一方、同様の条件において、新生骨形成割合は BMP-2 群と比較して有意に減少したものの、HPDL 細胞群を含む無添加群と比較すると有意に増加した。HPDL1、HPDL2 を含む FGF-2+BMP-2 併用群では血管を取り囲むように新生骨の形成がみられた。

以上のことから、ヒト歯根膜細胞および FGF-2 と BMP-2 との併用が歯周組織再生に有用である可能性が示された。

凍結乾燥多血小板血漿を含む創傷被覆材による創傷治癒促進効果

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯科基礎移植・再生学分野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
○中島悠^{1,2}, 川瀬知之¹, 奥田一博², 吉江弘正²

A WOUND-DRESSING COATED WITH FREEZE-DRIED PLATELET-RICH PLASMA: ITS POTENT POSITIVE EFFECTS ON WOUND-HEALING

¹ Division of Oral Bioengineering, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University,
² Division of Periodontology, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University,
○Yu Nakajima^{1,2}, Tomoyuki Kawase¹, Kazuhiro Okuda², Hiromasa Yoshie²

【背景・目的】

歯周再生治療のみならず広範囲の創傷治療や再生治療において、PRPの有効性は証明されている。しかし、PRPが液体であることから、局所適用において、速やかな拡散・吸収・分解や低い操作性が課題とされてきた。ウシトロロンビンやカルシウムを添加することによってゲル化させる方法が広く採用されてきたが、最近では遠心力だけでゲル化させた Platelet-rich fibrin (PRF)に注目が集まっている。しかし、このPRFにも血小板の濃縮度や偏在という点で欠点が指摘されるようになってきている。われわれは、これらの課題を解決すると同時に、緊急時への対応も可能とする「第3のPRP」を開発した。生分解性 Polyglactin 910 mesh (Johnson & Johnson)をPRPの担体として採用し、この複合体を凍結乾燥して創傷被覆材とした。本研究では、この複合化被覆材の有効性を *in vitro* および *in vivo* で検証した。

【方法】

- 1) PRPメッシュの作製と基本性状解析：本学倫理委員会で承認されたプロトコールにしたがって、同意のもと健康なボランティアから採血を行い、通法に従って作製したPRPに生分解性メッシュ (Vicryl Mesh)を室温で3分間浸漬した後、-75°Cにて30分間急速凍結した。凍結サンプルを凍結乾燥してPRPメッシュを作製した。表面微細構造はSEMにて観察した。PRPメッシュに含まれる増殖因子の検出には抗体アレイ (Ray Biotech)を用いた。
- 2) *in vitro*細胞増殖試験：C57BL/6Jclマウス皮膚より採取した初代培養線維芽細胞を用い、Cell-culture insertにより非接触状態でPRPメッシュ(4°Cにて3-4週間保存、5 x 5 mm大にトリミング)を作用させ、WST-8により細胞数を評価した。
- 3) *in vivo*創傷治癒実験：糖尿病モデルマウス(BKS.Cg-*Leprdb*/*Leprdb*Jcl, 雌, 6週齢)の背部に作成した10×10 mmの全層欠損にPRPメッシュを貼付し、その治癒過程を病理組織学的・免疫組織学的に観察した。

【結果】

- 1) 構造的には、担体の線維表面には多数の血小板が偏在することなく吸着し、それを血漿が覆った状態で凍結乾燥されていた。
- 2) PRPメッシュには多数の増殖因子が検出され、単位タンパク量で比較する限り凍結PRPに含まれる増殖因子と有意差は認められなかった。
- 3) *in vitro*において、PRPメッシュは添加枚数に依存してマウス線維芽細胞の増殖を促進した。
- 4) *in vivo*において、PRPメッシュは、12日目において創傷部のαSMA陽性の線維芽細胞の増殖とコラーゲン産生・沈着を促進し、さらに血管新生(CD146陽性)も促進したことから、結果的に肉芽組織形成を顕著に促進した。また、これを追うようにして上皮組織の再生も進み、20日目において有意な開放創の縮小が認められた。逆に、肉芽組織内のαSMA陽性細胞の数は顕著に減少した。
- 5) *in vitro* および *in vivo* のいずれの実験においても、未処理メッシュは有意な効果を示さなかった。

【考察】

*in vitro*での細胞増殖試験および*in vivo*での創傷治癒試験を通して、われわれが開発したPRPメッシュの有効性が証明された。これは、PRPメッシュ中に多数の血小板と血漿成分が保存されていることによるものと思われる。また、本研究では、作製後から使用まで3-4週間の冷蔵保存期間を設けた。この状態でも、PRPメッシュの生理活性が良好に維持されていたことから、緊急時への対応も可能であることが示唆された。現在、さらに高密度に血小板を吸着保持できる担体に代えて、より高い生理活性を維持したPRPメッシュを試作中である。

Platelet-rich fibrin との複合化によるヒト培養骨膜シートの機能向上

新潟大学 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 医歯学総合研究科 顎顔面再建学講座 歯科基礎移植・再生学分野²,
○堀水慎¹, 久保田健彦¹, 川瀬知之², 奥田一博¹, 富田尊志¹, 両角俊哉¹, 吉江弘正¹

The potential of human alveolar bone-derived periosteal sheet as an osteogenic grafting material : Complex with platelet-rich fibrin

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate school of Medical and Dental Sciences, Niigata, JAPAN¹,

Division of Pharmacology and Oral Bioengineering, Department of Tissue Regeneration and Reconstruction, Niigata University Graduate school of Medical and Dental Sciences, Niigata, JAPAN²

○Horimizu Makoto, Kubota Takehiko, Kawase Tomoyuki, Nagata Masaki, Okuda Kazuhro,
Tomita Takayuki, Morozumi Toshiya, Yoshie Hiromasa

【背景と目的】

我々は、過去5年間において、歯周再生治療に自家培養骨膜シートを応用し顕著な治療成績を残してきた。しかし、6週間という長い培養期間と検体ごとの *in vitro* での石灰化活性のばらつきが課題である。この問題を解決するため、我々はヒト末梢血由来の Platelet-rich fibrin (PRF) との複合化を着想した。PRF は第二世代の PRP とも呼ばれるもので、高密度の血小板と高濃度の血小板由来の増殖因子を含んだフィブリンゲルといわれている。したがって、骨膜シート形成において、増殖・分化を促進する液性因子の提供のみならず、良好なスキャホールドとしての役割を果たすことが期待される。本研究では、骨膜シートを PRF 上で培養し、その増殖と分化が受ける影響について検討した。なお本研究は新潟大学倫理審査委員会の承認を得て行われた。

【材料および方法】

- 1) 本研究について十分な説明の上インフォームドコンセントを得て、下顎埋伏智歯抜歯の患者の下顎骨頬側部から骨膜を採取し 2×2 mm 大にトリミングし、Medium199 培地 (10% FBS, 25µg/ml アスコルビン酸含む) で 14 日間組織片培養した。
- 2) 同じく同意を得たうえで、採血した末梢静脈血 10 mL を 2,400~3,000 rpm で 13 分間遠心し、PRF を調製し、血小板が局在している傍赤血球層側を 8×8 mm 大にトリミングした。
- 3) 直径~10 mm に成長した骨膜シートをスクレーパーで剥離し PRF 上に移植した。さらに 14 日間培養した後、組織標本作製し、細胞密度、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性、コラーゲン沈着、石灰化の程度を評価した。
- 4) 28 日間培養した培養骨膜シートを PRF とともにヌードマウス背部皮下、あるいは頭蓋骨に作製した骨欠損に移植した。28 日後に摘出し、µCT による石灰化量の評価、さらに病理組織学的な新生骨量、細胞密度、コラーゲン沈着の評価に供した。

【結果】

- 1) PRF 上に移植した骨膜片と PRF との界面領域は、細胞密度が高く、ALP 陽性を呈した。
- 2) PRF 内部には骨膜細胞がフィブリン線維を分解しながら浸潤・増殖しており、細胞周囲にはコラーゲン線維沈着が認められた。局所的に細胞が高密度に集積した箇所もあり、そこには石灰化物の沈着が認められた。
- 3) ヌードマウス背部皮下への移植では、分解・吸収により PRF の断片化が進んでいた。また移植した複合体の周囲には顕著なコラーゲンの沈着を認めた。
- 4) 頭蓋骨骨欠損部への移植では、培養骨膜と PRF 複合体移植した群で、有意な新生骨の形成を認めた。

【考察】

骨膜細胞の遊走と三次元的な細胞の重層化において、PRF は有効なスキャホールドとして機能していることが証明された。また、特に骨膜片と PRF との界面領域において、骨膜細胞の濃縮化と骨芽細胞への分化を示唆する所見が得られたが、これは骨膜二層のうちの骨形成層(cambium layer)の発生・形成過程によく似た現象ではないかと考えている。この可能性については、さらに深く検討を進めていきたい。以上の結果から、PRF との複合化は、骨膜シートの細胞増殖と分化の両方にとって有効に機能しており、技術的な改良を加えることによって、比較的短期間のうちに厚みがあり、機能的に向上した骨膜シートを形成できる可能性が示唆された。

***Porphyromonas gingivalis* 口腔感染マウスモデルにおける小胞体ストレスの誘導**

新潟大学研究推進機構超域学術院¹, 新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔保健学講座²,
新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野³, 新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部⁴
○土門久哲¹ 宮内小百合^{1,2,3} 宮沢春菜^{1,2,3} 中島貴子^{1,4} 多部田康一¹ 山崎和久^{1,2}

Up-regulation of endoplasmic reticulum stress in orally *Porphyromonas gingivalis*-infected mice

Center for Transdisciplinary Research, Niigata University¹
Division of Oral Science for Health Promotion, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences²
Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences³
General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital⁴
○Domon H¹, Miyauchi S^{1,2,3}, Miyazawa H^{1,2,3}, Nakajima T^{1,4}, Tabeta K¹ and Yamazaki K^{1,2}

【研究目的】

小胞体は新規に合成された分泌タンパクおよび膜タンパクの修飾や立体構造を整える場である一方、異常な高次構造をもったタンパクの分解機構も存在する。このバランスに変化が生じ、小胞体内に高次構造の異常なタンパクが蓄積した状況は小胞体ストレスと呼ばれる。それに対し細胞は翻訳の抑制、小胞体シャペロンの誘導、異常タンパクの分解等の小胞体ストレス応答により小胞体の機能を維持する。小胞体ストレスは神経変性疾患、糖尿病、虚血性脳疾患、動脈硬化など、様々な疾患の病態に深く関与していることが報告されている。近年、歯周炎も上記の疾患の一部を含む様々な全身疾患との関連が報告されている。我々はこれまで小胞体ストレス関連遺伝子発現が、歯周炎罹患者の歯肉組織において有意に上昇していることを報告したが、そのメカニズムについての詳細は不明である。そこで今回我々は、歯周炎の病態形成における小胞体ストレス応答の役割を解明する第一段階として、*Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) 口腔感染マウスモデル歯肉における小胞体ストレス関連遺伝子の発現を比較検討した。また、小胞体ストレス応答の観点から歯周病と全身疾患との関連の可能性を検討するため、同マウス肝臓における小胞体ストレス関連遺伝子発現を解析した。

【材料および方法】

6週齢のC57BL/6マウスに10⁹ CFUの*P. gingivalis* W83株を週2回、計6回口腔感染させた。その後上顎臼歯部周囲歯肉と肝臓を採取して全RNAを抽出し、逆転写酵素にてcDNAを合成した。BiP, XBP1, ATF4, CHOPの各小胞体ストレス関連遺伝子発現についてReal-time PCR法にて遺伝子発現定量解析を行った。

【成績】

歯肉組織中におけるBiP, ATF4, CHOPの遺伝子発現が*P. gingivalis*口腔感染群において有意に上昇していた。全XBP1遺伝子発現は減少したが、活性型XBP1遺伝子発現に有意差はみられなかった。一方、肝臓におけるBiPとCHOPの遺伝子発現が*P. gingivalis*口腔感染群において有意に上昇した。

【考察と結論】

*P. gingivalis*口腔感染により歯肉組織中における小胞体ストレス関連遺伝子発現が有意に上昇することがマウスモデルにおいても確認された。ATF4の遺伝子発現が上昇した一方でXBP1に有意差がなかったことから、これまで3種類報告されている小胞体ストレスセンサーのうち、PERKを介した経路の活性化が考えられる。小胞体ストレスが歯周炎の病態形成に与える影響は今後さらに解析していく予定である。また近年、肝臓での小胞体ストレスがインスリン抵抗性や脂質代謝の変化をもたらすと報告されており、*P. gingivalis*口腔感染による肝臓での小胞体ストレス関連遺伝子発現の上昇が歯周炎と全身疾患とを関連付ける因子となる可能性もあるが、詳細なメカニズムについては今後さらなる解析が必要である。

LPS の全身的な感作後の LPS 歯肉溝内投与はアタッチメントロスを誘導する

1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病学分野

2) 花王株式会社 パーソナルヘルスケア研究所

○吉永泰周¹⁾, 中津 晋¹⁾²⁾, 藏本明子¹⁾, 鶴飼 孝¹⁾, 金子高士¹⁾, 市村育久²⁾,
押野一志²⁾, 矢納義高²⁾, 原 宜興¹⁾

Topical application of lipopolysaccharide into gingival sulcus induces periodontal attachment loss in rats immunized with LPS

1) Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

2) Global R&D - Personal Health Care, Kao Corporation

○Yasunori Yoshinaga¹⁾, Susumu Nakatsu¹⁾²⁾, Akiko Kuramoto¹⁾, Takashi Ukai¹⁾, Takashi Kaneko¹⁾,
Ikuhisa Ichimura²⁾, Kazushi Oshino²⁾, Yoshitaka Yano²⁾, Yoshitaka Hara¹⁾

【研究目的】

歯周炎は細菌と宿主免疫系の相互作用によって生じると考えられているが、歯周炎の発症や進行に宿主免疫系がどのように関与しているかについてはよくわかっていない。以前の研究で我々は、抗原 (LPS) とその特異抗体を歯肉溝内へ投与して、歯肉溝内における免疫複合体形成が歯周組織破壊を誘導することを示した。今回は、LPS 感作により血清抗体産生を誘導し、抗原のみを歯肉溝内へ投与した場合の歯周組織破壊について病理組織学的に調べた。

【材料および方法】

- 1) **実験スケジュール**: 36 匹の雄性 Lewis 系ラットを 2 つのグループに分けた。一方の群は、*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った (感作群)。もう一方の群には、PBS と adjuvant を混合したものを感作群と同じスケジュールで腹腔内に投与した (非感作群)。両群ともに 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 (50mg/ml) を 30 分間 (5 分おきに 3ul ずつ)、24 時間毎に滴下した。0、5、10 回滴下した 24 時間後に、両群のラットを屠殺して上顎骨を摘出し、脱灰後 AMeX 法を用いてパラフィン包埋を行い、病理組織標本を作製した。
- 2) **血清抗体レベルの測定**: LPS 感作の状態を確認するために、LPS を 0、5、10 回滴下した 24 時間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 抗体レベルを測定した。
- 3) **形態学的評価および病理組織学的観察**: HE 染色を行った切片を用いて、セメント・エナメル境 (CEJ) から根面に接した接合上皮 (JE) 歯冠側端までの距離 (アタッチメントロス) を、さらに歯槽骨吸収の状態を確認するために CEJ から歯槽骨頂部までの距離 (ABL) を PC ソフト Image J にて測定した。また RANKL と免疫複合体の存在を確認するために C1qB を、抗 RANKL 抗体および抗 C1qB 抗体を用いた免疫組織学的染色を行った。

【結果】

抗 LPS 血清抗体レベルは、非感作群では実験期間中に上昇を認めなかった。しかし感作群では 5 日目すでに上昇しており、10 日目でも高い値を維持していた。

両群 0 日目では、JE 内および上皮下結合組織にほとんど炎症性細胞浸潤を認めず、JE も CEJ に位置していた。5 日目では両群ともに JE の根尖側移動を認めたが、アタッチメントロスは観察されなかった。10 日目では、非感作群にはアタッチメントロスを認めなかったが、感作群ではアタッチメントロスを認め、歯槽骨頂部骨表面は不規則な形態となっていた。そして感作群の JE 内および上皮下結合組織に C1qB が検出された。

ABL は、10 日目で非感作群と比べて感作群で有意な増加を認めた。さらに歯槽骨頂部周囲の RANKL 陽性細胞数は、5 日、10 日目に感作群で有意に増加していた。

【考察および結論】

血清抗体レベルが上昇している感作群における LPS 歯肉溝内投与は、アタッチメントロスを誘導した。感作群の JE 内および上皮下結合組織における C1qB の発現から、LPS 感作によって血清および歯肉溝浸出液中に出現した特異抗体と LPS とが免疫複合体を形成したことが、アタッチメントロス誘導に促進的に関与したと考えた。

咬合性外傷は実験的歯周炎におけるアタッチメントロスを促進する

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯周病学分野¹⁾
花王株式会社 パーソナルヘルスケア研究所²⁾

○中津晋^{1,2)}, 吉永泰周¹⁾, 吉永美穂¹⁾, 白石千秋¹⁾, 市村育久²⁾, 押野一志²⁾, 矢納義高²⁾, 原宜興¹⁾

Occlusal trauma accelerates attachment loss in experimental periodontitis in rats
Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences¹⁾
Global R&D – Personal Health Care, Kao Corporation²⁾

○Susumu Nakatsu^{1,2)}, Yasunori Yoshinaga¹⁾, Miho Yoshinaga¹⁾, Chiaki Shirashi¹⁾, Ikuhisa Ichimura²⁾,
Kazushi Oshino²⁾, Yoshitaka Yano²⁾, Yoshitaka Hara¹⁾

【目的】

歯周炎は部位特異的な歯周ポケット形成および歯槽骨吸収を特徴とし、発症と進行には細菌と宿主免疫系が関与すると考えられている。我々はこれまでに、LPS 感作により免疫系を活性化したラットの歯肉溝に高濃度 LPS を滴下することによって、部位特異的な歯周ポケット形成および歯槽骨吸収を示す実験的歯周炎モデルを確立した。また、ラットの歯肉溝に LPS および抗 LPS IgG を交互滴下することにより、免疫複合体の形成が歯周組織破壊を誘導することを報告した。一方、咬合性外傷は歯周炎を増悪させる修飾因子と考えられているが、炎症が存在する場合に咬合性外傷が歯周炎活動期の組織破壊、特に歯周ポケット形成に関してどのように影響するのかわからない。本研究の目的は、実験的歯周炎モデルに外傷性咬合を加えた時の歯周組織の変化について明らかにすることである。

【材料および方法】

48 匹の 9 週齢 Lewis 系雄性ラットに *E.coli* 由来 LPS (150 μ g/0.3 mL) を Complete Freund's adjuvant とともに腹腔内投与し、28 日後に再度 LPS を Incomplete Freund's adjuvant とともに腹腔内投与した。ラットを歯周炎の誘発と咬合性外傷の組み合わせにより、炎症誘発群 (I 群)、外傷誘発群 (T 群)、外傷・炎症併発群 (T+I 群) および対照群 (Cont 群) に割付け、以下の処置を施した。T 群および T+I 群には外傷力を与えるため、2 回目の LPS 腹腔内投与の 1 日後、下顎右側第一臼歯咬合面に 1 mm 径のインレーを接着性レジンにて装着した。I 群および T+I 群には歯周炎を誘発させるため、2 回目の LPS 腹腔内投与の 1 日後、上顎右側第一臼歯口蓋側歯肉溝に LPS(50 μ g/ μ L)を 3 μ L \times 6 回 (5 分毎に 30 分間) 滴下投与した。一方、Cont 群および T 群には PBS を同様に滴下投与した。この滴下投与を 24 時間毎に繰り返し行い、5 日目または 10 日目の滴下 1 時間後にラットを屠殺し右側上顎骨を摘出した。固定・脱灰後にパラフィン包埋したのち病理組織学的検討を行った。また、免疫複合体の局在を調べるために補体成分 C1qB の免疫染色を行った。

【結果】

- ・滴下 5 日目において、Cont 群および T 群では上皮性付着が正常に保たれており、炎症性細胞浸潤はほとんど認めなかった。I 群は僅かなアタッチメントロスを認めるブロックと全く認めないものがある一方で、T+I 群では全ての標本にアタッチメントロスを認め、平均ポケット深さは I 群と比較して有意に大きかった。
- ・滴下 10 日目において、Cont 群および T 群ではやはり上皮性付着が正常に保たれており、炎症性細胞浸潤はほとんど認められなかった。I 群および T+I 群にアタッチメントロスを認め、両群を比較すると T+I 群の方が有意に大きかった。また、T+I 群においてのみ口蓋側歯槽骨表面が粗造となり多数の TRAP 陽性破骨細胞が認められた。
- ・C1qB は Cont 群および T 群ではほとんど検出されなかったが、I 群において接合上皮および近接した結合組織に局限して検出された。T+I 群においては接合上皮および結合組織において広範囲にわたり C1qB が検出された。

【結論および考察】

本結果より、外傷単独では歯周ポケット形成を認めなかったが、炎症と外傷を併発させると歯周ポケット形成は促進した。また、I 群と比較して T+I 群で C1qB が広範囲に検出される傾向がみられたことから、外傷により接合上皮や骨縁上の結合組織に変化が生じ、LPS が深部へ浸透して免疫複合体形成の範囲が広がった可能性が考えられる。したがって、外傷によって抗原の歯周組織への浸透および免疫複合体形成が生じやすい環境となり、炎症が共存する場合には急速かつ重篤な歯周ポケット形成および歯槽骨吸収が誘導される可能性が示唆された。

東日本大震災被災者の血圧および唾液アミラーゼ活性の変動

岩手医科大学歯学部口腔機能保存学講座 歯周・歯内治療学分野
○佐々木大輔, 村井治, 藤原英明, 金澤智美, 大川義人, 伊東俊太郎,
諏訪渚, 阿部公人, 須和部京介, 成石浩司, 八重柏隆

Changes of blood pressure and salivary amylase in the Great East Japan Earthquake victims
Department of Conservative Dentistry and Oral Rehabilitation, Division of Periodontics and Endodontics,
School of Dentistry, Iwate Medical University

○Daisuke Sasaki, Osamu Murai, Hideaki Fujiwara, Satomi Kanazawa, Yoshito Okawa, Shuntaro Ito,
Nagisa Suwa, Kimito Abe, Kyosuke Suwabe, Koji Naruishi and Takashi Yaegashi

【研究目的】

2011年3月11日に発生した東日本大震災の被災者は、強いストレス環境に置かれていた。そのため被災者は高血圧などの慢性疾患が悪化しているとの報告が多い。被害規模が大きい岩手県内の5市町で住民の約6割の人の収縮期血圧が140 mmHgを超えていたとの報告がある。また他の同様な調査では、ストレスを要因とする胃潰瘍、十二指腸潰瘍の患者発生数が増大していることが報告されている。被災者の置かれた環境とストレスの状況について、実態を把握し対策を講じることが現時点での急務とされている。今回我々は、東日本大震災で被災し、当科を受診した歯周病患者について、震災前後の血圧、唾液アミラーゼ活性測定によるストレス調査を実施したので報告する。

【検索対象と方法】

本研究は岩手医科大学歯学部倫理委員会の承認後、実施した。調査研究目的と内容を説明し、同意が得られた東日本大震災被災者10名(男性5名, 女性5名: 平均年齢53.3歳)を検索対象とし、岩手医科大学附属病院歯科医療センター保存科歯周病診療室を受診時に、血圧と唾液アミラーゼ活性について測定した。被験者は東日本大震災発生以前より当科に通院しており、被災前の血圧データを把握している者を検索対象とした。検索項目の血圧、唾液アミラーゼは共に日内変動が見られるため、来院日はなるべく同一の時間帯とし、治療開始前にそれぞれ測定を実施した。

【結果】

全ての被験者において震災後の収縮期血圧の値は、震災前と比較して有意に上昇していた。唾液アミラーゼ活性を震災前に測定した被験者4名は、震災前後で比較すると、両者共に震災後に唾液アミラーゼ活性は有意に上昇していた。その内1名は、震災11ヶ月後の時点で血圧、唾液アミラーゼ活性ともに震災前のレベルに低下したが、残り3名は、約1年経過した現在も血圧、唾液アミラーゼ共に高値のまま、低下しない状態が継続していた。

【考察および結論】

東日本大震災による被災者への身体的影響はマスコミ報道で広く知られている。またこれまでに、被災者の血圧の上昇について多くの報告がなされている。その要因として、避難生活による塩分摂取量の増加、栄養価の高い支援物資による肥満、運動不足等が挙げられているが、今回、我々が行った被災者を対象とした震災前後の血圧および唾液アミラーゼ活性の変動についての調査より、被災者の血圧の上昇は身体的影響に加え、心理的ストレスによる影響も強く関与していることが示唆された。また口腔内においては、急性歯周炎、ブラキシズムといった具体的な口腔内所見として認められる場合もあったが、歯肉の違和感等の不定愁訴として訴える患者も多く認められた。今回調査した被災者の多くは、震災後の時間の経過とともに血圧および唾液アミラーゼ活性において改善傾向が認められたが、降圧剤服用にもかかわらず高血圧の改善が認められない、また全身疾患(腸内ポリープ、メニエール病)の発症を認められた患者も存在することから、震災後の継続的な心理的ストレスの影響が強く認められることより、今後とも継続的な調査の必要性が示唆された。

電子スピン共鳴法を応用した唾液抗酸化作用による歯周病評価法の可能性

神奈川歯科大学学生体管理医学講座薬理学分野
○吉野文彦, 吉田彩佳, 李 昌一

Possibility of periodontal assessment with salivary antioxidant activity using electron spin resonance spectroscopy

Division of Pharmacology, Department of Clinical Care Medicine, Kanagawa Dental College
○YOSHINO Fumihiko, YOSHIDA Ayaka, Lee Masaichi-Chang il

【研究目的】近年全身の状態評価のため唾液の機能性に注目が集まってきており、さらに、口腔状態と唾液との関連性についていくつかの報告がされてきている。Chappleらは歯周病の患者は唾液の総抗酸化活性が高いことを示しているが、このデータは活性酸素種 (ROS) に対する特異的な抗酸化作用を測定したのではない。したがって、この実験の目的は、ROS を特異的に測定可能な電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いて、歯周病とさまざまな ROS に対する抗酸化能との関係を解析し、歯周病の状態評価に応用可能かを検討するものである。

【方法】Wistar rat (♂, 4週令) に対し、培養した *Porphyromonas gingivalis* (Pg: ATCC 33277) を5%カルボキシメチルセルロースに懸濁し、口腔内に3回播種し、歯周病モデル動物を作成した。32週令において、イソプロテレノールおよびピロカルピンを腹腔内投与し、刺激唾液を回収後、1,500g, 5分間遠心分離し、上澄みを唾液試料とした。また、神奈川歯科大学倫理委員会により承認されたプロトコールを用いインフォームドコンセントが得られた、全身疾患を有さないヒトボランティア (男性10名, 女性10名, 平均年齢39.6±5.5) より安静時唾液を採取し、同様に唾液試料とした。なお、安静時唾液回収時に、歯周病検査として、probing pocket depth (PPD), およびbleeding on probing (BOP) を測定した。これら唾液試料を ESR 法により ROS である、スーパーオキシド ($O_2^{\cdot-}$) およびヒドロキシルラジカル (HO^{\cdot}) に対する抗酸化作用を測定し、PPD および BOP と唾液抗酸化作用の相関性について検討を行った。加えて、ESR 法により $O_2^{\cdot-}$ の抗酸化酵素である superoxide dismutase (SOD) 活性 との相関性についても検討を行った。

【成績】歯周病モデル動物の $O_2^{\cdot-}$ に対する唾液抗酸化作用は、Pg 感染により有意に増加したが、 HO^{\cdot} に対する唾液抗酸化作用に変化は認められなかった。また、ヒト唾液を用いた場合も、動物実験と同様に、歯周病罹患程度が重篤な程 $O_2^{\cdot-}$ に対する唾液抗酸化作用の増加が観察された。しかしながら、 HO^{\cdot} に対する唾液抗酸化作用と歯周病の各パラメータとの相関性は認められなかった。またこの増加は、PPD に対しとくに強い相関 ($r=0.88$) が認められた。加えて、唾液 SOD 活性と PPD とおよび $O_2^{\cdot-}$ に対する抗酸化作用との相関性には弱い相関 ($r=0.46, r=0.37$) が認められた。

【考察】今回の研究において我々は、唾液の $O_2^{\cdot-}$ に対する消去作用は歯周病に罹患することで有意に増加することを示した。また、 $O_2^{\cdot-}$ に対する消去作用と PPD には強い相関が認められた。この結果は、長期間歯周原因菌の感染により $O_2^{\cdot-}$ に対する抗酸化作用の亢進を誘導する可能性を示唆する。さらに、SOD 活性と PPD または $O_2^{\cdot-}$ 消去にも相関が認められた。これらの結果は、 $O_2^{\cdot-}$ に対する抗酸化作用の主役は SOD であり、SOD 活性レベルの増加は炎症により誘導されたスーパーオキシドや TNF- α や IL-1 β の様なサイトカインの関与の可能性を示唆した。

【結論】これまで、唾液を用いた歯周病検査、とくに抗酸化作用に注目したものは報告されているが、ROS 特異的に評価したものはない。したがって、ESR 法を応用し、ROS を選別して唾液抗酸化能を測定することで、従来見られない客観的な歯周病評価が可能になるかもしれない。また、唾液は血液由来であり、全身状態を評価するため現在も様々な研究が行われている。今後、歯周病の非侵襲的で客観的な評価法の確立のため歯周治療による評価を行いさらなるデータの蓄積をする必要があるであろう。

歯周炎罹患部位歯肉組織における toll-like receptor signaling pathway 関連遺伝子の上昇

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野
○阿部大輔、久保田健彦、両角俊哉、中曾根直弘、清水太郎、吉江弘正

Upregulated toll-like receptor (TLR) signaling pathway genes in periodontitis-affected gingival tissues
Division of Periodontology, Department of Oral Biological Sciences, Course for Oral Life Science, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Daisuke Abe, Takehiko Kubota, Toshiya Morozumi, Naohiro Nakasone, Taro Shimizu, Hiromasa Yoshie

【背景・目的】

歯周炎罹患部位歯肉局所における遺伝子発現はその病因に関連しており、組織破壊と歯周炎感受性において極めて重要な役割を果たす。我々はこれまで、歯周炎の病態を解明するため、歯周炎罹患部位歯肉組織においてマイクロアレイを用いて網羅的遺伝子発現解析を行い、leukocyte transendothelial migration pathway の発現上昇と cell communication pathway の発現低下を報告してきた (Abe et al. *J Periodont Res*, 2011)。この度、Pathway 解析によって歯周炎罹患部位歯肉組織において有意に上昇した生物学的経路の一つとして、Toll-like receptor (TLR) signaling pathway に着目した。本研究の目的は、TLR signaling pathway に含まれる 5 個の遺伝子に関して quantitative reverse transcription real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) 解析を行い、Pathway 解析の結果を検証する事を目的とする。

【材料と方法】

重度慢性歯周炎患者 3 名より歯周炎罹患部位歯肉組織及び健常部位歯肉組織を採取した。各サンプルより Total RNA を抽出し、GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array® (Affymetrix) を用いて、マイクロアレイ解析を行った。Comparison, Gene Ontology 及び Pathway 解析を含むデータマイニング解析を行い、歯周炎に関連すると考えられる生物学的経路を同定した。その中で、TLR signaling pathway に含まれる 5 個の遺伝子 Cluster of differentiation 14 (CD14), Lymphocyte antigen 96 (MD-2), Interleukin-1 beta (IL-1β), Interleukin 8 (IL-8), Chemokine ligand 9 (CXCL-9) に関して qRT-PCR 解析を行い、Mann-Whitney U-test を行い、 $p < 0.05$ を有意差とみなした。qRT-PCR 解析のサンプルは 14 名の慢性歯周炎患者、14 名の健常者より採取された。

【結果】

Comparison 解析によって歯周炎罹患部位歯肉組織において遺伝子発現が 2 倍以上有意に上昇した 15 個の遺伝子、2 倍以上有意に低下した 13 個の遺伝子を同定した。Pathway 解析では、歯周炎罹患部位歯肉組織において遺伝子発現が 2 倍以上有意に上昇した leukocyte transendothelial migration pathway を含む 15 個の Pathway 及び、2 倍以上有意に低下した cell communication pathway を含む 5 個の pathway が同定された。qRT-PCR 解析によって TLR signaling pathway に含まれる 5 個の遺伝子 MD-2 $P > 0.0082$, CD14 $P > 0.0322$, IL-1β $P > 0.0126$, IL-8 $P > 0.0438$, CXCL-9 $P > 0.0325$ の遺伝子発現が有意に上昇を示した。この結果は Pathway 解析の結果と一致していた。

【結論】

本研究は、Comparison, Gene Ontology, Pathway 解析を含むマイクロアレイ解析にて歯周組織における遺伝子発現を網羅的に解析、qRT-PCR 解析にて検証した研究である。我々は、健常部位歯肉組織と比較して歯周炎罹患部位歯肉組織において TLR signaling pathway 中の MD-2 の遺伝子発現が上昇していることを初めて同定した。CD14 は微生物の LPS を認識するレセプターとして働き、TLR-4 と MD-2 が結合することにより、Interleukins や Chemokine などを産生、免疫反応を促進・調節し、結果として歯周組織破壊をもたらすと考えられる。よって、これらの遺伝子群は TLR signaling pathway を活性化することにより、歯周病の病因に関連するかもしれない。

シリコンゴム歯間ブラシのプラーク除去効果

¹日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座 ²日本歯科大学新潟短期大学

³日本歯科大学新潟病院総合診療科 ⁴株式会社ジャックス

○両角祐子¹ 宮崎晶子² 高塩智子³ 土田智子² 筒井紀子²

原田志保² 菊地ひとみ² 今出昌一⁴ 佐野 晃⁴ 佐藤 聡¹

Plaque Removal Efficacy of Silicon Interdental Toothbrush

¹Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of life Dentistry at Niigata

²The Nippon Dental University College at Niigata

³Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital, ⁴Jacks Co.,Ltd

○Yuko Morozumi¹, Akiko Miyazaki², Tomoko Takashio³, Satoko Tsuchida², Noriko Tsutsui²,

Shiho Harada², Hitomi Kikuchi², Shoichi Imade⁴, Akira Sano⁴ and Soh Sato¹

【緒言】

歯周病の予防、治療にプラークコントロールは最も重要である。しかし、歯ブラシのみで歯間隣接面のプラークを除去することは困難であり、歯間ブラシ、デンタルフロスなどの歯間隣接面清掃用具が必要となる。歯間ブラシは、種々の大きさの歯間に対応できるようなサイズも豊富で、使用方法も比較的簡便なため、歯間部清掃用具では使用される頻度が高い。しかし、歯間ブラシの誤用は、歯肉の損傷、歯質の摩耗をきたす可能性がある。本研究は、ワイヤーに刷毛を巻きつけ製作される従来の歯間ブラシとは異なり、シリコンゴムで製作したシリコンゴム歯間ブラシを使用し、プラーク除去効果を検討した。

【材料および方法】

1 使用歯ブラシ

最小通過径 0.9 mm のシリコンゴム歯間ブラシ (株式会社ジャックス) を使用した。対照として、シリコンゴム歯間ブラシと同等の最小通過径の刷毛タイプの歯間ブラシ (株式会社ジャックス) を使用した。

2 刷掃試験機を用いたプラーク除去効果

実験には、歯列模型 (500H-1, 株式会社ニッシン) を用いた。被験歯面に人工プラーク (株式会社ニッシン) を塗布した後に実験を行った。部位は、下顎両中切歯、下顎左右側切歯と犬歯の 3 歯間 6 歯面とした。刷掃条件はストローク 10 mm, 1 歯間 5 回とし、刷掃試験機に歯列模型を固定し、歯間ブラシを被験歯の隣接面に歯軸に対して垂直方向から挿入した。刷掃試験前後の歯面を撮影し、画像解析により、プラーク除去率を算出した。

3 臨床効果

対象は、日本歯科大学新潟短期大学 1 年生 12 名とし、対象部位は下顎前歯部 5 歯間部 10 歯面とした。試験開始 24 時間前から口腔清掃を中止し、刷掃前後に口腔内写真を撮影し、プラーク除去率をプラニメーター (Ushikata) で測定した。刷掃回数は 1 歯間 5 回とした。使用後に、アンケート調査を行った。

本研究は、日本歯科大学新潟短期大学倫理審査委員会の承認を得て行った。

【結果】

1 刷掃試験機を用いたプラーク除去効果

平均のプラーク除去率は、シリコンゴム歯間ブラシ 16.4±2.7%、刷毛タイプの歯間ブラシ 15.7±3.9% であり、両歯間ブラシに有意な差は認められなかった。

2 臨床効果

平均のプラーク除去率は、シリコンゴム歯間ブラシ 23.5±9.1%、刷毛タイプの歯間ブラシ 21.6±3.6% であり、両歯間ブラシに有意な差は認められなかった。

アンケート結果においては、シリコン歯間ブラシの方が使用感がよいと回答したものが多かった。

【考察】

本研究において、シリコンゴム歯間ブラシは、従来の刷毛タイプの歯間ブラシと同等のプラーク除去効果が模型試験、臨床試験において示された。また、アンケート結果においては、シリコンゴム歯間ブラシの使用感がよく、歯間ブラシを使用した経験の少ない場合でも、抵抗なく使用されることが示された。

航空自衛隊大滝根山分屯基地における口腔衛生指導

奥羽大学口腔衛生学講座
○車田文雄、長岡正博、廣瀬公治

Oral Hygien guidance for JASDF Ohtakineyama Sub Base

Dept. Preventive Dentistry OHU University School of Dentistry

○Fumio KURUMADA、Masahiro NAGAOKA、Kimi haru HIROSE

【 緒 言 】

現在、演者は陸上自衛隊歯科医官のOBであり、福島県内駐屯地の部外カウンセラーとして、当該隊員および技官・事務官のカウンセリングをおこなっている。一連の部隊衛生、特に健康管理について「防衛衛生学会」にて発表してきた。そこで今回、航空自衛隊第27警戒群大滝根山分屯基地の隊員等の職場における集団口腔健康管理の目的で、齶蝕活動性を調べる機会を得たので、その知見を報告する。

【 方 法 】

先ず、今回の上記主旨に賛同して頂ける隊員等のインフォームドコンセントを取った後、以下のとおりの齶蝕活動性試験を実施した。

1. カリオスタット (検体:歯垢) …歯垢の酸産生能テスト

① 綿棒にて被験者の上顎歯頸部全体を4~5回拭き、歯垢を採取。② 歯垢採取綿棒をカルオスタットアンプルに投入後、インキュベーター (37±2℃) で保温。③ 48時間後、カルオスタットアンプルの色と色見本を比較し判定。

2. CAT 21バフ (検体:唾液) …唾液リスクテスト

① チューイングペレットを3分間噛みながら、唾液を採取用カップに採取し、分泌量をカップの目盛りから読み取る。② 唾液採取のカップの中から唾液を1ml テストチューブに入れ蓋をして、底の試薬 (赤) が完全に溶けるまで良く振る。③ 試薬が完全に溶け気泡がなくなりしだい、判定色見本とチューブ内の液色を比べ、結果を判定表にチェック。

3. ミューカウント (検体:唾液) …ストレプトコッカスミュータンス簡易菌測定テスト

① MSB broth (培地) の調整。② 上記唾液採取カップより適量取り、良く攪拌後、直ちに使用。③ スポイトで採取した唾液1mlを取り、MSB brothに接種後、ゴムキャップをする。④ 本培地を反復倒立させ、唾液を均一に混合。その後、インキュベーター (37±2℃) にて、18~24時間、斜面培養する。⑤ 培養後、判定写真により判定。

【 成績判定 】

1. カリオスタット … 青 (-): 口腔清掃は従来とおり。緑 (+): 間食後の口腔清掃の必要性。黄緑 (++) : 間食における糖分摂取の制限要指導。黄 (+++) : 食生活全体から糖分摂取の制限要指導。

2. CAT 21バフ … ① 唾液流出量 5ml以上: 口腔内は齶蝕になりにくい状態。2~5ml未満: 口腔内は齶蝕になりやすい状態。2ml未満: 非常に齶蝕になりやすい状態。② 唾液緩衝能 (指導は上記同様) 赤 (安全-)、橙 (注意+)、黄 (危険++)。

3. ミューカウント … (-): 管壁付着が認められないもの。(+) : 1~10のコロニー様付着確認。(++) : 10以上のコロニー様付着確認。(+++): 管壁一面に細かなコロニー様付着確認。同時に大きなコロニー様付着も確認。

【 考察および結論 】

現在、最終データ処理中のため、3種類の齶蝕活動性試験における本人の口腔衛生に対する意識 (動機づけ) 等の詳細は当日の学会にて発表する。

培養骨膜シートを用いた歯周組織再生療法の5年予後

新潟大学大学院医歯学総合研究科、¹⁾摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野、
²⁾顎顔面再建学講座 歯科基礎移植・再生学分野
○奥田一博¹⁾、川瀬知之²⁾、吉江弘正¹⁾

Five-year results of tissue engineered cultured periosteal sheet application to periodontal regeneration

¹⁾Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science and ²⁾Division of Oral Bioengineering,
Department of Tissue Regeneration and Reconstruction,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences.
○Kazuhiro Okuda¹⁾, Tomoyuki Kawase²⁾ and Hiromasa Yoshie¹⁾

【目的】

これまで、培養骨膜(CP)シート+多血小板血漿(PRP)+ハイドロキシアパタイト(HA) 顆粒複合体の移植が、歯周骨内欠損の治療に有効であること (*J Periodontol*, May 2008)、およびその3年予後について良好な状態が維持されていることを報告した。今回5年の予後が得られた症例についてその成績を報告する。尚、本研究は新潟大学歯学部倫理委員会の承認済みで患者には書面をもって説明し、自発的同意を得た。

【材料と方法】

(1)対象：新潟大学医歯学総合病院に通院する慢性歯周炎患者のうち、歯周基本治療を完了して同意の得られた22名を被験者とした。6mm以上のポケット(PD)と6mm以上の付着レベル(CAL)、規格エックス写真より3mm以上の骨内欠損を示す22部位を被験部位とした。

(2)CPシートおよびPRP+HA顆粒複合体作製法：CPシートについては、患者の下顎大白歯頬側部の付着歯肉下の骨表面より、骨膜小片を採取後、直ちにウシ胎児血清、抗生物質、アスコルビン酸を含むMedium199にて培養シャーレ上で6週間培養してシート状構造物を得た。PRP+HA顆粒複合体の調整については、患者末梢血8.5mlから2回の遠心分離により、0.6mlのPRPを調整し、このうちPRP0.3mlにつき、0.1gのアルギン酸ナトリウムを添加して活性化し、0.5mgのHA顆粒と混和させた。

(3)評価項目：炎症評価としてブラーク指数(PI)、歯肉炎指数(GI)、プロービング時の出血(BOP)を測定し、臨床評価としてPD、CAL、エックス線写真から計測した骨欠損深さ(IBD)を計測した。評価は、ステントおよびバイトブロックを用いて半規格化して測定した。

(4)術式：歯肉溝切開による全層弁を形成・剥離後、徹底して病巣を搔爬して骨欠損を明示した。骨欠損部にPRP+HA顆粒複合体を填入しその上からCPシートを被覆するように設置して緊密に縫合した。

(5)予後：術後10日目に抜糸を行い3か月までは2週ごとに専門的清掃を行い、6か月目以降は1か月に1回のメインテナンス治療を継続した。術後1年目と3年目、5年目に炎症評価および臨床評価を行った。評価ポイント間で統計学的に比較を行った。危険率5%未満をもって有意差ありと判定した。

【結果】

炎症評価によると観察期間中を通して良好なブラークコントロールレベルが維持されていた。GIおよびBOPに関してはベースラインと1年後で有意に改善を示し、その状態が5年目まで継続された。

臨床評価について、ベースラインではPDは平均7.6mm、CALは平均8.0mm、IBDは平均4.6mmであった。1年目では、PDは平均2.9mm、CALは平均4.8mm、IBDは平均1.4mmと統計学的に有意に改善した。3年目ではPDは平均3.0mm、CALは平均4.7mm、IBDは平均0.5mmで、PDとCALについては1年目で得られた値を維持しており、IBDは更なる改善が認められた。5年目においてPDは平均2.9mm、CALは平均4.6mm、IBDは平均0.2mmで、PDとCALについては1年目および3年目で得られた値を維持しており、IBDは3年目で得られた値より更なる改善が認められた。

【結論と考察】

術後1年目で得られた効果は5年経過しても安定して維持されていた。とくに1年目から5年目にかけて骨欠損深さが改善しているのは、Heijl(1997)らの言う機能的な付着のあとに生じる“真の再生”であることを示している。CPシートはアルカリホスファターゼ活性が陽性で、その発現部位と一致して石灰化物の沈着がみられること、マウス背部皮下への移植で異所性の石灰化がみられること、骨髄幹細胞に発現している分子マーカーと一致した表面抗原が認められることから骨原性能力を有しており、この性状がPRPとHAの複合体の効果に相乗的に作用したと思われる。

骨縁下欠損に対するエナメルマトリックスタンパク質を応用した歯周組織再生療法 5年経過症例の臨床的検討

¹⁾愛知学院大学歯学部歯周病学講座, ²⁾松本歯科大学歯科保存学第一講座

○三谷章雄¹⁾, 高須英成¹⁾, 吉成伸夫²⁾, 伊藤正満¹⁾, 川瀬仁史¹⁾, 相野誠¹⁾, 林潤一郎¹⁾, 稲垣幸司¹⁾, 黒須康成¹⁾, 三輪晃資¹⁾, 石原裕一¹⁾, 福田光男¹⁾, 野口俊英¹⁾

Five-year clinical results following treatment of intrabony defects with an enamel matrix derivative.

¹⁾Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University,
and ²⁾Department of Periodontology, Matsumoto Dental University

○Akio MITANI,¹⁾ Hidenari TAKASU,¹⁾ Nobuo YOSHINARI,¹⁾ Masamitsu ITO,¹⁾ Hitoshi KAWASE,¹⁾ Makoto AINO,¹⁾ Junichiro HAYASHI,¹⁾ Koji INAGAKI,¹⁾ Yasunari KUROSU, Koji MIWA,¹⁾ Yuichi ISHIHARA,¹⁾ Mitsuo FUKUDA¹⁾ and Toshihide NOGUCHI¹⁾

【目的】エナメルマトリックスタンパク質(EMD)の応用は1990年代より、予知性のある歯周組織再生療法として国内外で認知されている。フラップ手術(FOP)とEMDの比較は、現在まで数多く報告されているが、その多くは術後1年以内の報告であり、長期経過の報告はわずかしかない。そこで本研究では、FOPとEMDについて手術施行後5年経過時における臨床評価を行った。

【被験者および方法】本研究では、愛知学院大学歯学部附属病院歯周病科を受診し、以下の条件を満たした歯周炎患者16名を対象に、後ろ向き研究を行った。

- ①歯周基本治療後において5mm以上のProbing Depth (PD)を有する患者。
- ②臨床検査とデンタルX線写真により骨縁下欠損を有すると診断される患者(根分岐部病変は除く)。
- ③侵襲性歯周炎、および中等度から高度の慢性歯周炎の患者。

これらのうち8名8部位はFOPのみの歯周外科療法、その他の8名10部位はEMDを適応した歯周組織再生療法を施行した。臨床パラメーターとして、術前と比較した術後5年経過時での、PDの減少量、付着の獲得量、および歯肉退縮量([術後CAL-術後PD]-[術前CAL-術前PD])について比較検討した。また、両群間の有意差の統計解析には、Mann-Whitney U-testを用いた。なお本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認を受けて行った(承認番号:230)。

【結果】術前のCALおよびPDは、それぞれFOP群7.0±1.1mm, 5.9±1.2mm, EMD群7.6±2.7mm, 5.9±1.1mmであり、両群に有意な差は認められなかった。各歯周外科処置後5年経過した状態において、PDの減少量はFOP群1.0±1.6mm, EMD群1.8±1.6mmであり、両群に有意な差を認めなかった。しかしながら、歯周外科処置後5年経過した状態における付着獲得量は、FOP群-0.3±1.8mm, EMD群2.9±3.4mmであり、EMD群が有意な($P<0.05$)付着獲得量を示した。また、歯周外科処置後5年経過時の歯肉退縮量はFOP群1.3±1.2mm, EMD群-1.1±3.1mmであった。すなわち、EMD群はFOP群に比べ有意に($P<0.05$)小さく、術前に比べ歯肉退縮の改善傾向が見られた。

【考察】術後5年時において、臨床的付着の獲得と歯肉退縮量で、EMD群がFOP群に比べ有意に良好な結果であった。PD減少量には両群間に有意な差は認められなかった。2005年のコクラン・レビューでは、術後1年においてEMDはコントロールに比べ、臨床的付着の獲得量とPD減少量について有意に良好であると報告されているが、長期経過については検討されていない。Sculeanらは、5年経過症例に関する検討を行い、EMDはFOPに比べて、術後1年においては、臨床的付着の獲得量とPD減少量が良好であるが、術後5年では両群に有意な差はなかったと報告している[§]。本研究の結果は、異なるものであるが、対象患者の術前CALやPDがSculeanらの報告よりも小さいなどの条件の違いによるものと考えられる。本研究においては、EMDによる歯周組織再生療法において、長期予後においても、優れた臨床的な付着獲得および歯肉退縮抑制を示す可能性が示唆された。しかしながら、被験者数および被験歯数が少なく、今後、さらなる検討を行う必要がある。

[§] Sculean A. et. al, *J Clin Periodontol.* 2004, 31: 545-549.

上顎洞底に近接した部位における歯の移植症例

松本歯科大学歯科保存学第一講座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⁾

○武藤昭紀¹⁾, 窪川恵太¹⁾, 海瀬聖仁¹⁾, 三木 学¹⁾, 佐藤徳志¹⁾, 内山真紀子²⁾, 内田啓一³⁾,
山本昭夫²⁾, 田口 明³⁾, 吉成伸夫¹⁾

A Case of teeth transplantation in the area in proximity to the maxillary sinus.

Department of Periodontology¹⁾, Department of Endodontics and Operative Dentistry²⁾, Department of
Oral and Maxillofacial Radiology³⁾, School of Dentistry, Matsumoto Dental University
○Muto Akinori¹⁾, Kubokawa Keita¹⁾, Kaise Kiyohito¹⁾, Miki Manabu¹⁾, Sato Noriyuki¹⁾, Uchiyama Makiko²⁾,
Uchida Keichi³⁾, Yamamoto Akio²⁾, Taguchi Akira³⁾, Yoshinari Nobuo¹⁾

緒 言：歯の移植は、非機能歯を活用でき、義歯を回避できる等の利点がある。さらに、移植後に歯根膜組織を維持できれば、移植歯は正常な歯周組織をもつ歯として機能し、周囲組織との調和もとれることから、欠損部を補う方法として有用な治療法の一つとして適用されてきた。このような歯の移植術は、良好な経過の症例報告が多いが、受容側の残存骨量から制限を受け、下顎に移植した報告が多く、上顎への移植症例は少ない。そこで今回、上顎洞底と近接した両側第一大臼歯部に対して、下顎第三大臼歯を移植することにより義歯の使用を回避できた症例を報告する。

症 例：患者は61歳の女性。上顎右側第一大臼歯の咬合痛、および上顎左側第一大臼歯の動揺を主訴に来院した。全身状態として2型糖尿病（HbA1c：6.5）に罹患しており、インシュリンの自己注射により維持、管理している。初診時に上顎右側第一大臼歯は高度の歯周病進行により保存不可能と診断、抜歯処置を受けた。歯周組織検査の結果、上顎左側第一大臼歯も歯根破折のため保存不可能と判断したが、患者は義歯の使用に対して強い嫌悪感を示したため、インプラント治療を視野に入れた術前検査を行なった。その結果、上顎洞底までの距離が短く、インプラント埋入のためには上顎洞底挙上術が必要と診断したが、患者は慢性上顎洞炎に罹患しており、洞底粘膜の肥厚が認められることから、上顎洞底挙上術を伴うインプラント治療の選択を断念した。そこで、歯周基本治療終了後、上顎両側第一大臼歯部に下顎両側第三大臼歯の自家移植術を行うことを計画した。通法の歯周基本治療後、48歯を16歯部に移植した。歯槽骨頂部より切開を加え、トレフィンバーにて移植窩を切削後、歯根膜を傷つけないように鉗子のみにて48歯を抜き、上顎洞底までの距離と歯根形態を考慮して、近遠心方向を逆に埋入し、縫合した。歯髄が失活した3週間後より根管治療を開始、移植後3ヶ月で暫間被覆冠を作製した。上顎右側移植歯6ヶ月後に移植歯の安定を確認後、38歯を26歯部に移植した。移植後2週間後より根管治療を開始し、根管治療終了後、暫間被覆冠を作製した。上顎右側部移植後2年5ヶ月、上顎左側部移植1年10ヶ月、歯周組織の安定を確認した後、最終補綴物の作製に移行した。

考 察：歯の自家移植は、移植後の骨性癒着や、歯根の炎症性吸収などの問題が報告されている。しかし、歯根膜を保存したまま移植する現在の術式では、長期にわたり良好な経過をたどることが報告されている。本症例では高度の歯槽骨吸収をきたした部位への移植のため、歯槽骨の高さが懸念されが、コーンビームCTにより、上顎洞底までの距離や歯槽骨の厚みを三次元的に診断することにより可能であると判断した。近年、あらゆる部位に対してインプラントを埋入することができるようになった。しかし、インプライトが歯根膜様組織の機能を保持するには至っておらず、あくまで、骨との嵌合により固定される。本症例では、上顎洞底挙上を行うのが困難な症例に対して、骨造成を行わず自家移植を行なった。通法では、インプラント埋入が困難な骨量部に対して、移植が成功した要因としては、歯根膜の存在が大きいと考えられる。移植の成否を決める要因として、移植時に歯根膜の損傷による歯髄の感染、骨性癒着の有無が決まることは明らかである。また、埋入位置を歯根膜付着部位にまで留めたことも、最小限の移植窩の切削で成功した点であると考えられる。現在移植後2年以上経過しているが、炎症性吸収などは認められず良好な経過を経ており、今後も経過を追っていく予定である。

結 論：今回の症例により、上顎洞底挙上を行うのが困難な症例に対しても、義歯による欠損補綴を回避することができる可能性を示した。

糖尿病患者の歯周病罹患状態と糖尿病合併症との関係

慶應義塾大学医学部 歯科・口腔外科学教室¹⁾

サンスター株式会社²⁾

○太田 淳也¹⁾・深谷 千絵¹⁾・笠井 俊輔¹⁾・赤松真也子¹⁾・森川 暁¹⁾・穂坂 康朗¹⁾・

田子森 順子²⁾・江口 徹²⁾・中川 種昭¹⁾

Relationship between periodontal disease and diabetic complications

Department of Dentistry and Oral Surgery, School of Medicine, Keio University¹⁾

Sunstar Inc.²⁾

○Junya Ota¹⁾・Chie Fukaya¹⁾・Shunsuke Kasai¹⁾・Mayako Akamatsu¹⁾・Satoru Morikawa¹⁾・Yasuo Hosaka¹⁾・
Junko Tagomori²⁾・Toru Eguchi²⁾・Taneaki Nakagawa¹⁾

【研究目的】

現在、日本では糖尿病患者あるいは境界型が増加しており、平成19年糖尿病実態調査にて、糖尿病が強く疑われる人は、約890万人、糖尿病の可能性を否定できない人を合わせると約2210万人にのぼると報告されている。糖尿病は、喫煙と並んで歯周病の2大危険因子であり、また歯周病は腎症、網膜症、神経障害、末梢血管障害、大血管障害に次いで、第6番目の糖尿病合併症とされています。

従来の報告より、糖尿病患者には歯周病罹患者が多く、血糖コントロールの不良な場合には、重篤な骨吸収を伴う歯周病を示す例が認められる。一方では、歯周炎部位に多く存在する歯周病原細菌由来の内毒素がTNF- α などのインスリン抵抗性を惹起させるサイトカインを増加させることも報告され、歯周治療を行うことで血糖コントロールが改善された報告もある。これまで、糖尿病による合併症と歯周病罹患状態との関連性についての報告は散見されるものの、いまだ一定の見解が得られていない。

そこで、今回われわれは糖尿病患者の歯周病罹患状態と糖尿病合併症の関係を検討した。

【被験者および方法】

被験者は、2010年7月から2011年12月までに慶應義塾大学病院腎臓・内分泌・代謝内科に入院した糖尿病患者85名と、外来患者9名(平均年齢54.3 \pm 11.8歳、男性56名、女性34名)とした。

本研究では、糖尿病関連検査として、年齢、体格指数(BMI)、糖尿病罹患期間、グリコヘモグロビン(HbA1c)、随時血糖値、血中CPR、総コレステロール、中性脂肪などの血液検査を測定した。口腔内診査は現在歯数、プロービングポケット深さ(PD)、およびプロービング時の出血(BOP)歯率を測定した。また、比較対照として平成19年歯科疾患実態調査報告を用いた。

【結果】

本研究の被験者のHbA1cは平均9.1 \pm 1.8%、血糖値は平均214.7 \pm 115mg/dl、BMIの平均は27.3 \pm 7.1と標準値よりかなり高い値を示した。また、合併症は94名中44名(46.8%)に認められた。その中で単純網膜症は12名(12.8%)、前増殖網膜症は7名(7.4%)、増殖網膜症は5名(5.3%)、腎症は20名(21.3%)、神経障害は26名(27.7%)に認められた。その中で増殖性網膜症を有する患者の4mm以上のPDが30%以上は30%以上と高い値を示した。

また本研究では、4mm以上の歯周ポケットを有する患者は93.5%であり、歯科実態調査報告では38.8%と比較して有意に高かった。また、25.5%ではより本格的な歯周治療を必要としていることがわかった。

【結論】

以上のことにより、今回の結果から糖尿病患者の歯周病罹患度は高く、スケーリング・ルートプレーニング以上の本格的な歯周治療の必要性も高いことが改めて確認された。また、糖尿病合併症である網膜症の進行と平行して歯周病の病態が悪化していると考えられたが、その他の合併症とは有意な差はなく、現在のところ関連性は認められない。今後はさらに内科主治医らと緊密に情報を交換し、患者の糖尿病と歯周疾患に関する情報を共有しながら治療を行っていく必要があると考えられる。

α-TCP/Te-CP セメントの覆髄剤への応用

2) セメント硬化体のエックス線回析及び SEM による評価

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⁾、神山智佳子¹⁾、長谷川智哉¹⁾、土井 豊²⁾、吉田隆一¹⁾

Application of α-TCP/Te-CP Cement to Pulp Capping Materials

2) Evaluation of Set Cement with X-Ray Diffraction and SEM

Department of Endodontics¹⁾, Department of Dental Materials Science²⁾,
Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

○TAKEDA Shinpei¹⁾, KAWANO Satoshi¹⁾, KAMIYAMA Chikako¹⁾, HASEGAWA Tomoya¹⁾, 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。我々は第 135 回日本歯科保存学会において、α-TCP/Te-CP セメントの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結果、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出来ることを報告した。今回は、α-TCP/Te-CP セメントの更なる工学的性質を明らかにするため、エックス線回析 (XRD)、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察を行い、覆髄剤としての有用性について検討した。

【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°C 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. XRD 解析

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 37°C、相対湿度 100% の恒温器中に移した。練和開始から 60 分後に恒温器から取り出し、37°C の疑似体液中に 24 時間および 72 時間浸漬した。その後凍結乾燥し、粉砕して XRD 解析した。

4. SEM 観察

3 と同様にして作製した凍結乾燥試料を割断し、オスミウムコーティング後、その破断面を SEM 観察した。

【結果および考察】

XRD 解析では、いずれの条件においても練和開始から 72 時間まででは原材料としての α-TCP 及び Te-CP 由来の回析ピークを認めるものの、練和条件①②③④⑤ではそれら回折ピーク強度は経日的に低下し、一部アパタイトに移行 (条件①では第二リン酸カルシウム二水塩も生成) する様相を呈した。一方、条件⑥⑦⑧では殆ど変化は認められなかった。SEM 観察では、①②③④⑤は練和開始から 24 時間後、72 時間後ともに薄片状の結晶構造が観察された。⑥⑦は練和開始から 24 時間後では α-TCP/Te-CP セメント粉末の粒子がほぼ原形のまま凝集しているような像を呈し、72 時間後ではその表面に微細な結晶の析出が観察された。⑧は練和開始から 24 時間後、72 時間後ともに α-TCP/Te-CP セメント粉末の粒子は原形を留めず、一塊の平滑な像が観察された。

今回の結果から、α-TCP/Te-CP セメントは弱酸性溶液で練和するとアパタイト単相を形成しながら硬化することが示唆された。今後は、動物実験により α-TCP/Te-CP セメントの覆髄剤としての有用性を検討していく予定である。

ラット臼歯における Mineral Trioxide Aggregate による直接覆髄後の
マクロファージ系細胞の動態解析

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座 歯学分野
○武井絵梨花、重谷佳見、吉羽邦彦、日向 剛、吉羽永子、興地隆史

Distributional changes of macrophage subpopulations after direct pulp capping
with mineral trioxide aggregate in rat molars

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

○TAKEI Erika, SHIGETANI Yoshimi, YOSHIBA Kunihiko, HINATA Go, YOSHIBA Nagako, OKIJI Takashi

【研究目的】

歯髄を可及的に保存することが歯の保存のためには有利とされており、従来より水酸化カルシウムなどさまざまな材料が覆髄材として用いられている。Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は直接覆髄材として近年使用されている材料であり、硬組織形成を誘導することが報告されているが、その機序は未だ十分解明されていない。一方、マクロファージは創傷治癒の初期過程で壊死組織の貪食や成長因子の産生などの役割を演じることが知られているが、歯髄の創傷治癒過程におけるマクロファージの挙動については知見に乏しい。

そこで本研究では、MTA 適用後の歯髄創傷治癒過程におけるマクロファージの関与の可能性を追究することを目的として、MTA で直接覆髄されたラット臼歯歯髄における各種マクロファージ系細胞の経時的動態を、免疫組織化学的に観察した。

【材料および方法】

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 0.8 mm) で咬合面より露髄させ、洗浄、止血後、MTA による直接覆髄を施した。窩洞はフロアブルレジン (FiltekFlow、3M) で被覆した。観察期間は術後 1、2、3、5、7、14 日とし、所定期間経過後に PLP 溶液にて灌流固定を行い、摘出した試料を 10%EDTA にて脱灰後、凍結切片を作成し、H-E 染色ならびにモノクローナル抗体 ED1 (抗ラットマクロファージ、樹状細胞)、ED2 (抗ラット常在性マクロファージ) および OX6 (抗 MHC class II 分子) を用いた酵素抗体染色による観察を行った。

【成績】

術後 1、2 日では覆髄部直下に変性層の形成が認められた。術後 3 日には覆髄部近傍の一部に円柱状の細胞が配列し、術後 5 日には覆髄部直下に線維性基質の形成が観察された。術後 7 日には薄い被蓋組織が形成され、術後 14 日には一部細管構造を示す象牙質様基質が認められた。

ED1 陽性細胞および ED2 陽性細胞は、術後 1 日より変性層直下に集積し始め、術後 2 日では顕著な集積像を呈した。術後 3 日では ED1 陽性細胞の集積は著明であったが、ED2 陽性細胞の集積は不明瞭となる傾向を示した。以後、ED1 陽性細胞も集積像が徐々に不明瞭となり、術後 2 週では、ED1 陽性細胞、ED2 陽性細胞とも歯髄内に概ね均一に分布しており、集積像は観察されなかった。一方、OX6 陽性細胞は、術後 3 日以降、歯髄内に若干の増加傾向を示したが、観察期間中、覆髄部への明らかな集積像は認められなかった。

【考察】

ED1 は常在性マクロファージと滲出性マクロファージの両者が発現するが、ED2 の発現は常在性マクロファージに限定されることが知られている。従って、本研究の結果から、MTA による直接覆髄後の歯髄創傷部では、術後早期にいち早く常在性マクロファージが集積したのち、徐々に滲出性マクロファージが優位となることが示唆された。一方、OX6 陽性細胞の覆髄部直下への集積像が観察されなかったことから、MTA の封鎖性により直接覆髄後の抗原侵襲が微弱に保たれていること、あるいは MTA との接触により形成された変性層の抗原性は低いことが示唆された。

【結論】

MTA による直接覆髄後、早期に覆髄部変性層直下へのマクロファージ系細胞の集積が観察され、その後被蓋硬組織が形成されることが示された。

Mineral Trioxide Aggregate に多血小板血漿を併用した 直接覆髄法による歯髄組織反応と早期治癒の可能性

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座 歯科保存学分野

○山田 麻衣子, 関根 源太, 森 春菜, 堀 雅晴, 長谷川 智哉, 吉田 隆一

Possibility of Application of Mineral Trioxide Aggregate with Platelet Rich Plasma in Direct Pulp Capping of Rat Molars

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

○YAMADA Maiko, SEKINE Genta, MORI Haruna, HORI Masaharu, HASEGAWA Tomoya, YOSHIDA Takakazu

[緒言]

Mineral Trioxide Aggregate (MTA)は、封鎖性と強度が高く、また硬化反応過程で生成する水酸化カルシウム徐放作用が抗菌効果や歯髄再生を示すことが知られている。そこで、本研究ではラットで直接覆髄後に残存した歯髄細胞を組織幹細胞として扱えるかどうか、MTAを足場に多血小板血漿 (Platelet rich plasma, PRP) を加えた治癒促進の可能性を試みた。

[材料と方法]

生後8週齢のWistar系雄ラット48匹の左右上顎第一臼歯咬合面にラバーダム防湿下で露髄させ、別の健全な同系ラット全採血から得たPRPとMTA PRO ROOT® (三金) の混和したもの (MTA+PRP)、滅菌精製水とMTAを混和したもの (MTA)、Dycal (三金, CH) の3種類を用いて直接覆髄を行った。実験期間は1時間、3日、7日、ならびに14日とし、歯髄再生の評価を行った。Dentin bridge (DB) の石灰化密度はマイクロフォーカスCT (μ CT, Scan Xmate RX-series, Comscan Techno) を用いTriBon 3D (Ratoc System Engineering) で解析した。さらに、未分化間葉細胞の増殖をKi-67による免疫染色で、象牙芽細胞分化とDBの構造をHE染色ならびにNestinとDMP1による免疫染色で組織学的に検索した。また、早期におけるDMP1のmRNA発現をReal time PCR法で測定した。

[結果と考察]

①BMD μ CT ならびにVBMD 値からみたDB形成

3日では、いずれの材料でもBMD μ CTで明らかな硬組織形成とみなすVBMD値はみられず、7日、14日では、CH < MTA < MTA+PRPの密度差を示した。また、CHの材料中には不均一性を示した。

②形態学的ならびに免疫組織化学的にみた歯髄再生とDB形成

CHでは3日、7日、14日とも壊死層を認めたが象牙芽細胞の分化は認められなかった。MTAでは3日で壊死層直下に歯髄細胞層を認め、7日では細顆粒状の層とこれに移行する細管構造とこれを象牙芽細胞が裏打ちする様相を認めたが歯髄全面を覆うことはなかったが、14日では、明瞭な細管構造を示すDB形成を認めた。MTA+PRPでは、3日でMTAと同様の所見を呈し、7日で細顆粒状層が厚く、これに移行するように歯髄全面を覆う明瞭な細管構造と裏打ちする象牙芽細胞を認め、14日でも同様の所見であった。免疫染色では、CHではKi-67の陽性数が少なく、MTA、MTA+PRPでは多くのKi-67陽性を認めた。CHではNestinで、実験期間全てNestin陽性の象牙芽細胞を認めず、MTA、MTA+PRPでは7日、14日ともDB直下の象牙芽細胞にNestin陽性を認めた。MTAの7日、14日ともDBと裏打ちする象牙芽細胞にDMP1陽性を認めたが、MTA+PRPでは7日、14日ともDBには陽性を示し、象牙芽細胞には陰性を示した。

③処置1日後と3日後におけるDMP1 mRNA 発現量の変化

いずれの覆髄剤でも、覆髄処置による歯髄傷害により1時間後のDMP1 mRNA 発現量は正常の歯より少なく、また3日後ではCHに比べてMTA単独が高く、さらにMTA+PRPではMTA単独よりも高い発現を示した。

以上の結果からMTAやMTA+PRPがCHよりも優れた歯髄再生能を有することが得られた。

[結論]

MTAは、CHよりも優れた露髄面封鎖性と歯髄再生能を促し、さらにMTAにPRPを加えると、早期における象牙芽細胞の分化を促進し、DBの形成に貢献できる。

MTAの硬化と裏層剤と接着について

昭和大学歯科病院・歯内治療科¹⁾、昭和大学 歯学部 歯科理工学講座²⁾
○大塚 玲美¹⁾、増田 宜子¹⁾、山田 嘉重¹⁾、高林 正行¹⁾、宮崎 隆²⁾

Effect of hardening MTA on adhesive of lining matering

Showa University, Dental Hospital, Endodontics¹⁾.

Showa University, School of Dentistry, Department of Oral Technology²⁾.

○OTSUKA Reimi¹⁾, MASUDA Yoshiko¹⁾, YAMADA Yoshishige¹⁾, TAKABAYASHI Masayuki¹⁾, MIYAZAKI Takashi²⁾

【緒言】 Miral trioxide aggregate (MTA)は直接覆髄剤として、大変有用であると報告されているが、裏層剤との接着や辺縁漏洩についての報告はあまりされていない。

【目的】 今回我々は、MTAの硬化と一般的な裏層剤である、グラスアイオノマーセメント及びグラスアイオノマー系セメントとの接着や辺縁漏洩について検討することにした。

【方法】 試料には、MTA (ProRoot MTA[®], デンツプライ三金), レジン強化型グラスアイオノマーセメント イオノタイト F[®](トクヤマデンタル), グラスアイオノマーセメント CX(松風), Fuji IX GI (GC)を用いた。直径7 mm、高さ3 mmのチューブに、下から1.5mmまで試料を指示書に従って練和し挿入した。それぞれの試料はMTAを4時間以上硬化、MTAにCaCl₂を10%添加し練和後4時間以上硬化、MTAを10分硬化、MTAに10%CaCl₂を添加し練和後10分硬化したもの それぞれの上に、グラスアイオノマーセメント及び、グラスアイオノマー系セメントを接着させた。常温にて硬化を確認後、接着した試料は1%ローダミン B 液に半日漬け 辺縁漏洩のレベルを観察し、ストレートのハンドピースに円形状のディスクを用いて接着面を縦に切断した。得られた試料は70、80、90、100%エタノール上昇系列で脱水・乾燥し、t-ブタノール凍結乾燥装置 (VFD-21S、真空デバイス) を用い凍結乾燥を行った。15mA、60秒の条件下でイオンスパッター(E-1030、日立)にて白金パラジウム蒸着した後、SEM (走査電顕) (JSM-T220A、日本電子) で試料表面の形状を500倍、3000倍で観察した。

【成績】 試料硬化後、接着をしていたのは、MTAに10%CaCl₂を添加し練和後4時間以上硬化したものとイオノタイト、MTAに10%CaCl₂を添加し練和後10分硬化したものとイオノタイト、CX、Fuji IX GIであった。その他のものは接着せず分離した。又接着した試料もディスクにて切断の際に分離した。

【結果】 MTAとグラスアイオノマーセメント及び、グラスアイオノマー系セメントは接着しなかった。しかし、SEMにて表面を観察した結果、MTAを4時間以上硬化させたものとイオノタイト、Fuji IX GI、MTAを10分硬化させたものとイオノタイト、CX、Fuji IX GI、MTAに10%CaCl₂を添加し練和後10分硬化したものとイオノタイト、CX、Fuji IX GIの表面にはMTAの結晶構造が認められた。

【考察】 直接覆髄剤にMTAを用いて裏層剤にグラスアイオノマーセメント及び、グラスアイオノマー系のセメントを用いる際には接着しない為、辺縁漏洩を考慮しなければならない。又、根管の穿孔部にMTAを充填し根管洗浄剤からの影響を減らす為充填剤でMTAを被覆する際もグラスアイオノマーセメント及び、グラスアイオノマー系のセメントを用いると辺縁漏洩が生じるので根管洗浄剤による影響を考慮していかなければならない。

MTAと各種ボンディング剤を用いたコンポジットレジンとの接着について

昭和大学歯科病院・歯内治療科¹⁾、昭和大学 歯学部 歯科理工学講座²⁾
○高林 正行¹⁾、増田 宜子¹⁾、山田 嘉重¹⁾、大塚 玲美¹⁾、宮崎 隆²⁾

The effect of MTA on adhesion of composite resin

Showa University, Dental Hospital, Endodontics¹⁾.

Showa University, School of Dentistry, Department of Oral Technology²⁾.

○TAKABAYASHI Masayuki¹⁾, MASUDA Yoshiko¹⁾, YAMADA Yoshishige¹⁾, OTSUKA Reimi¹⁾, MIYAZAKI Takashi²⁾

【目的】 Miral trioxide aggregate (MTA)は直接覆髄剤として、大変有用であると報告されているが、コンポジットレジンとの接着や辺縁漏洩についての報告はあまりされていない。今回我々は、MTAと各種ボンディング剤を用いた際のコンポジットレジンとの接着や辺縁漏洩について検討することにした。

【材料と方法】 試料には、MTA (ProRoot MTA[®], デンツプライ三金), コンポジットレジンにはエステライトフロー クイック ハイフロー (トクヤマ)、ボンディング剤として2ステップセルフエッチング剤のメガボンドFA (クラレ)、1ステップセルフエッチング剤のボンドフォース (トクヤマ) およびウェットボンディング法として2種類のボンディング剤 (アブソリュート2:デンツプライ、フルオロボンドシェイクワン:松風)を用いた。直径7mm、高さ3mmのチューブに、下から1.5mmまで試料を指示書に従って練和し挿入した。試料はMTAを4時間以上硬化、MTAにCaCl₂を10%添加し練和後4時間以上硬化、MTAを10分硬化、MTAに10%CaCl₂を添加し練和後10分硬化したもの さらにそれぞれの上に4種類のボンディング処理をそれぞれ施しコンポジットレジン接着させた。常温にて硬化を確認後、接着した試料は1%ローダミンB液に半日漬け 辺縁漏洩を観察し、ストレートのハンドピースに円形状のディスクを用いて接着面を縦に切断した。得られた試料は70、80、90、100%エタノール上昇系列で脱水・乾燥し、t-ブタノール凍結乾燥装置 (VFD-21S、真空デバイス)を用い凍結乾燥を行った。15mA、60秒の条件下でイオンスパッター(E-1030、日立)にて白金パラジウム蒸着した後、SEM (走査電顕) (JSM-T220A、日本電子)で試料表面の形状を300倍、1000倍、3000倍で観察した。

【成績】 試料硬化後、剥がれてしまったものは、MTA練和後4時間以上硬化したものとメガボンドFA、MTA練和後10分硬化したものとメガボンドFA、フルオロボンドシェイクワン、アブソリュート2、MTAに10%CaCl₂添加したものを練和後10分硬化したものとメガボンドFA、ボンドフォースであった。その他のものは切断の際も分離しなかった。辺縁漏洩試験はMTAに10%CaCl₂添加したものを練和後4時間以上硬化させたものの群が一番漏洩が少なかった。MTAとCRはボンディング剤により接着するものと接着しないものが見られた。接着せず剥がれてしまった物もSEMにて表面を観察した結果CRの表面にはMTAの結晶、もしくは切削片と思われる粒子が観察された。

辺縁漏洩試験においてはMTAに10%CaCl₂添加したものを練和後4時間以上硬化させたものが一番漏洩が少なかった。

【考察および結論】 MTA練和後10分硬化させたもの、MTAに10%CaCl₂添加したものを練和後10分硬化したものに関してはウェットボンディング法の2種が接着の成績がよかった。それに対しメガボンドFAが接着していたのはMTAに10%CaCl₂添加したものを練和後4時間以上硬化させた物のみだった。これは硬化促進剤を添加していないものや、添加しても初期硬化 (硬化10分で表面処理)のものに対しては、処理面の水分の存在が接着の阻害を起こしたのではないかと推測される。直接覆髄や、穿孔部の封鎖にMTAを用いた後CRを充填する際は硬化促進剤を添加するしないにかかわらず、4時間以上硬化させた上でウェットボンディング法のボンディング処理を行いCRを用いるのが適切と思われる。さらに低速精密切削装置 (Isomet, Buehler, USA)を用い接着面の状態を検討する予定である。

試作 MTA とフロアブルコンポジットとの接合性

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野¹
長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野²,
○辻本 真規¹, エイド・アシュラフ², 林 善彦¹, 渡邊 郁哉²

Evaluation of the bonding between flowable resin composite and experimental mineral trioxide aggregate at different application times

Department of Cariology, Course of Medical and Dental Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences¹
Department of Biomaterial, Course of Medical and Dental Science, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences²
○Masaki Tsujimoto¹, Ashraf A. Eid², Yoshihiko Hayashi¹, Ikuya Watanabe²

Objective

The purpose of this study was to evaluate the effect of the time of application of resin composite on the shear bond strength between resin composite and experimental root repair material.

Materials and Methods

-MTA Plus root repair material (Prevest DenPro, Jammu, India) was mixed according to the manufacturer's instructions and applied to 30 acrylic rings 6 mm in diameter and 2 mm in depth. Clearfil Majesty LV flowable composite resin (Kuraray, Tokyo, Japan) was applied either immediately (group 1), 24 hrs (group 2) or 7 days (group 3) after application of the root repair material as follows:

- 1- Clearfil primer (Kuraray, Tokyo, Japan) was applied on the MTA surface, left for 20 seconds, then air dried. Clearfil Bond was applied next and cured for 10 seconds.
- 2- The bonding area was standardized using double-stick tape with a 4 mm hole positioned at the center of MTA surface.
- 3- 4 mm wide x 2 mm long cylindrical plastic rings were attached over MTA-filled blocks and Clearfil Majesty LV flowable composite was applied to the rings and cured for 20 seconds.

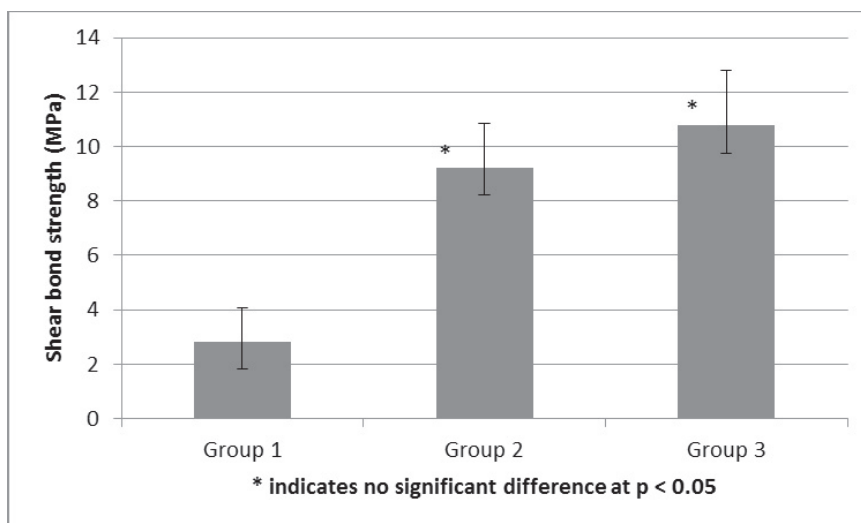
-After 24 hours of composite application, the samples were embedded in acrylic blocks, secured in a holder placed on the platen of universal testing machine (Instron, Norwood, MA) and then sheared at a cross-head speed of 1.0 mm/min until the bond between the composite and MTA failed. Shear bond strength in was calculated from the peak load at failure divided by the designated bonding area. The mean bond strengths of the experimental groups were compared using one way ANOVA and Tukey's post hoc test (significance level ≤ 0.05).

Results

The lowest bond strength values were that of group 1, and were significantly lower than groups 2 and 3 ($p < 0.001$). Group 3 had the highest bond strength values, but the differences between groups 2 and 3 were insignificant.

Conclusion

The bond strength between MTA Plus and resin composite is affected by the time of resin composite application.



強化型酸化亜鉛ユージノールセメントの粉液比が逆根管充填の封鎖性に及ぼす影響

鶴見大学歯学部歯内療法学講座

○湯本琴美、吉田拓正、鈴木一範、堀井皓典、森戸亮行、甲田 智、細矢哲康

Effects of the powder liquid ratio of reinforced zinc oxide eugenol cement
on the sealing ability of retrograde filling
Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine
○YUMOTO Kotomi, YOSHIDA Takumasa, SUZUKI Kazunori, HORII Akinori,
MORITO Akiyuki, KODA Satoshi, HOSOYA Noriyasu

【目的】

根尖切除術はマイクロスコープの応用や確実な逆根管充填により極めて良好な成績を収めるようになった。これまで、専用材料のない逆根管充填には、アマルガム合金や酸化亜鉛ユージノールセメントなどの様々な材料が流用されてきたが、近年では、アマルガム合金の組織為害性や歯肉変色などの理由から、臨床成績に優れる強化型酸化亜鉛ユージノールセメント (EBA セメント) が使用される頻度が増加している。しかしながら、暫間充填や合着用に開発された EBA セメントを逆根管充填材料として流用した場合の材料学的な報告は少なく、操作性を重視した粉液比で使用されることが多いようである。

本研究の目的は、EBA セメントを逆根管充填材料として使用した場合の至適粉液比を検索するために、種々の粉液比で練和した EBA セメントをヒト抜去歯に形成した逆根管充填窩洞へ充填し、色素侵入試験によって辺縁封鎖性に関して観察し比較検討を加えた。

【材料及び方法】

被験歯として、生理食塩水中に保管された根管未処置のヒト抜去前歯 40 本を用いた。歯頸部で歯冠を切除後、根管の拡大形成を行い、#50 ガッターパーチャーポイント (GC) ならびに酸化亜鉛ユージノール系シーラー (日本歯科薬品) を併用してシングルポイント法にて根管充填を行った。その後、被験歯は 37°C、相対湿度 100% で 7 日間保管した。根面ならびに歯頸部切除面にネイルパーニッシュを塗布後、歯軸に垂直に根尖部 3mm を切除した。続いて、切除面より歯軸に平行に 2~3 mm の深さの逆根管充填用窩洞を形成し、窩洞を生理食塩水で十分に洗浄後、ペーパーポイントを 5 秒間挿入して窩洞内を乾燥した。被験試料には、Super EBA® (Bosworth) の Fast set (F 群) ならびに Regular set (R 群) を使用した。両群をさらに 4 群に分け以下のような粉液比を設定した。1 群 0.20 (L/P)、2 群 0.15 (L/P)、3 群 0.12 (L/P)、4 群 0.10 (L/P)。各条件 5 本ずつ練和開始から 5 分間で逆根管充填を行い、練和開始から 5 分後にフィッシャーバーでセメントの形態修正を行った。被験試料を直ちに 37°C、6% ローダミン B 水溶液中に浸漬し 7 日間保管した。色素液から取出した試料は、逆根管充填材の中心部から歯軸に平行に歯根を近遠的に分割した。実体顕微鏡を用いて被験試料と根管壁間に侵入した色素液の状態を観察し、切除面からの侵入距離を計測した。得られた結果から、各条件間において Student-*t* test を用いて統計学的検索を行った。

【結果】

Fast set 群においては、1 群と 2 群間ならびに 3 群間に統計学的有意差が認められたが、Regular set 群においては、粉液比による差は認められなかった ($p < 0.05$)。また、粉液比 2 群ならびに 3 群においては Fast set 群が有意に優れた封鎖性を示した ($p < 0.05$)。

【考察】

本研究では、硬練和群と軟練和群との間での差は少なかったが、これは臨床で頻繁に行われる充填後のパニッシングをせずに切削による形態修正を行ったためと考えられる。また、軟練和の状態では色素液浸漬直前の形態修正時に十分な硬化が得られていなかった群もあり、封鎖性を低下した理由と考えられる。今後、臨床実態を十分に反映した状態での比較を追加する予定である。

【結論】

本研究により、逆根管充填材として Super EBA® を応用する場合は、Fast set を粉液比 0.10~0.15 (L/P) で使用することで良好な辺縁封鎖性が得られることが示唆された。

酸化亜鉛ユージノール系シーラーのレジン重合阻害に関する研究

— 未重合レジンの分子構造解析 —

神奈川歯科大学歯学部 口腔治療学講座 歯内療法学分野¹

神奈川歯科大学歯学部 口腔治療学講座 保存修復学分野²

○鈴木二郎¹, 岡田周策², 田中隆博², 寺中敏夫², 石井信之¹

A Study on Polymerization Inhibition of Zinc Oxide-Eugenol Root Canal Sealers on Resin Materials

—Molecular Structure Analysis of Non-polymerization Resin—

Department of Oral Medicine, Division of Endodontics¹, Division of Restorative Dentistry²,
Kanagawa Dental College

OSUZUKI Jiro¹, OKADA Shusaku², TANAKA Takahiro², TERANAKA Toshio², TANI-ISHII Nobuyuki¹

【研究目的】

酸化亜鉛ユージノール系 (ZOE) シーラーは国内外で多用され、根管充填後の支台築造には Minimal Intervention 治療概念により接着性レジンセメントやコア用レジンを用いる症例が増加している。われわれは ZOE シーラーの完全硬化 (24 時間) 後、製造業者指示に従って光照射して作製したコア用レジンの表面ブリネル硬さは、非 ZOE シーラーと有意差が認められないことを報告したが、支台築造に使用するレジンに対し ZOE シーラーによるラジカル重合阻害の可能性を解析するため、ZOE シーラーと接触したレジン材料表面の分子構造解析を FT-IR 法にて解析することを目的とした。

【材料および方法】

実験には、市販の各種 ZOE シーラー (キャナルス 昭和薬品化工, ニシカキャナルシーラー 日本歯科薬品) および対照として非 ZOE シーラー (キャナルス N 昭和薬品化工) を用い、レジン材料としてコア用レジン (クリアフィル DC コア オートミックス ONE クラレメディカル, ユニフィルコア EM ジーシー) および接着性レジンセメント (リライエックス ユニセム 2 オートミックス 3M ESPE, レジセム 松風) を供試した。試料作製はガラス板上に PET フィルムを敷き、シーラーを直径 12mm, 高さ 3mm 型枠内に充填、37°C 100%RH で 24 時間経過後、シーラー硬化体表面の PET フィルムを除去、ボンディング処理や光照射の必要な材料は製造者指示に従いレジン材料を充填、37°C 100%RH で 24 時間放置した。対照群はシーラー硬化体を使用せず PET フィルムに直接型枠を載せ上記と同様に作製し、各レジン硬化体表面をフーリエ変換赤外分光光度計 (AIM-8800) 顕微反射法にてスペクトル測定を行い、残存二重結合量 [RDB (%)] を求めた。また重合前の試料における二重結合のピークを求め、これを RDB100%とした。

【成績】

ZOE シーラーに接触したレジン硬化体表面の RDB は、コントロールに近似した値となりキャナルスが最も高値を示した。

【考察および結論】

ZOE シーラーを用い、シーラーの完全硬化 (24 時間) 後、製造者指示に従い作製したレジン表面低重合層中の残存二重結合量は、ZOE シーラーと接触することなく作製したコントロールに近似した値となった。根管充填後の根管内にレジン材料を用いて支台築造を行う場合、使用材料あるいは ZOE シーラーの硬化時間に比例して、レジン重合硬化に及ぼす影響は減少する可能性が示された。

粉液比がオレイン酸、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及ぼす影響

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座, 共同利用研究センターRI 研究室*

○前田宗宏, 橋本修一*, 石塚克巳, 勝海一郎

Influence of powder/liquid ratio on physical properties of the new root canal sealer contained with oleic acid, eugenol and zinc oxide

Department of Endodontics & Operative Dentistry,
Section of Radioisotope Research, Research Center for Odontology*,
Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo

○Maeda M, Hashimoto S*, Ishitsuka K and Katsuumi I

【はじめに】

第132～135回の本学会において、従来の酸化亜鉛ユージノール系シーラーに比べて含有ユージノール量を低減させた試作根管充填用シーラーの物性、シーラーからのユージノール遊離などについて報告した。今回は、臨床応用時に想定される粉液比 (g/ml) の違いがシーラーの物性に及ぼす影響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 (堺化学工業) 0.4g、ロジン (荒川化学工業) 0.4g、その他 0.2g

液 剤 (1ml 中) : オレイン酸 (日油) 0.75ml、ユージノール (日本粉末薬品) 0.15ml、その他 0.1ml

2. 新規根管充填用シーラーの粉液比

粉剤 1g に対して液剤を 0.45ml、0.50ml、0.55ml、0.60ml (粉液比 ; 2.22、2.00、1.82、1.67) の割合に変化させ、ガラス練板上で 30 秒間練和した。

3. 硬化開始時間

23℃の室内で練和直後のシーラーを練板上で観察し、稠度に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。

4. 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℃、100%湿度の恒温恒湿器に 24 時間静置した。試料を取り出し、重量を電子天秤で計測した。ビーカーに蒸留水を 50ml 加え、試料を懸垂し 24 時間 37℃で保管した。試料をビーカーから取り出し、ビーカー内の水を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。測定は各シーラーにつき 3 練和物ずつ行った。

5. 色素浸透試験

内径 5mm、長さ 50mm のガラス管に練和直後の練和物を 20mm 填塞後、37℃、100%湿度の恒温恒湿器に 24 時間静置後、1%メチレンブルー水溶液中に浸漬した。24 時間後のガラス辺縁への色素浸透距離をノギスで測定し、辺縁封鎖性を比較した。測定は各シーラーにつき 3 練和物ずつ行った。

6. シーラー硬化度の測定

内面を粗造にした内径 8 mm、長さ 5 mm のガラス管をガラス板上に置き、練和したシーラーを填塞後、37℃、100%湿度の恒温恒湿器に 24 時間静置した。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) の試料台上に、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) で記録した。なお、測定は各条件につき 3 試料ずつ行った。

【結果および考察】

- 硬化開始時間は粉液比の違いによりほとんど変化しなかった。
- 崩壊度は粉液比が小さくなるにつれてわずかに増加する傾向がみられた (0.27 → 0.36%)。
- 辺縁封鎖性は良好であり、粉液比の違いによる影響を受けなかった。
- 硬化度は粉液比が小さくなるにつれ低下する傾向が認められた (12.5 → 16.6N)。

臨床応用時のシーラーの粉液比には一定の基準があり本研究では粉液比 2.00 に相当するが、2.22～1.67 の粉液比変化においては、シーラーの物性に大きな影響を及ぼすことはなかった。

酸化マグネシウムを基材とする根管シーラーに対する生物学的検討

東京歯科大学歯科保存講座

○ 山村啓介, 齋藤健介, 小林鉄也, 森永一喜

Biological evaluation of magnesium oxide-based root canal sealer in vitro

○ Keisuke Yamaura, Kensuke Saito, Tetsuya Kobayashi, Kazuki Morinaga

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

【研究目的】: 根管シーラーは硬化後も根尖周囲組織に接触し、根尖部の封鎖や周囲組織の治癒に影響を及ぼすことから、優れた組織親和性が求められる。なかでも近年臨床応用されているレジン系シーラーは特に生体親和性が高いとされている。当講座では生体親和性を重視し、かつ操作性に優れた根管シーラーの開発を企画し、酸化マグネシウムを基材とする硬化型根管充填用シーラーを処方した。本研究ではヒト培養歯根膜細胞に対するシーラーの組織親和性を、細胞生存率と形態変化から比較検討した。

【材料と方法】

①根管シーラー・細胞

培養細胞としてヒト歯根膜線維芽細胞 (HPDL) を用いた (3~5 継代)。培養液には α -MEM (10%FBS, 1%ペニシリン、ストレプトマイシン添加) を使用した。また実験には試作根管シーラー (以下 MGO 群) の他に AHplus (以下 AH 群)、エンドシーラー (以下 ES 群) を用いた。

②シーラー抽出液の濃度の調整

練和直後のシーラー3gを α -MEM15ml中に添加し、70℃にて24時間静置した。その後 Millipore Filter (0.22 μ m) を用いて濾過滅菌を行った。抽出液原液と α -MEMにて10%に希釈したものをシーラー抽出液として使用した。対照群には α -MEMを用いた。

③細胞生存率

HPDLを96well plate中に 5×10^3 個/well播種し24時間培養後、それぞれのシーラー抽出液と交換した。1, 2, 3日後にWST-1 (Roche社)を用いて呈色反応を行いその後、波長450nmにて吸光度を測定し、細胞生存率を算定した (n=8)。

④形態観察

ヒト培養歯根膜細胞を6well plate中に 1×10^5 個/well播種し37℃、5%CO₂下にて24時間培養した。シーラー抽出液と交換後、1, 2, 3日までの形態変化を観察した。

【結果】

- 1) 対照群のWST-1の値は経時的に増加し、形態観察からは細胞の増殖と細胞突起の伸張が確認された。
- 2) 希釈濃度100%: MGO群, ES群のWST-1の値は最も低く観察期間中の変化は認められなかった。また細胞形態も円形を呈しており、ほとんどの細胞がプレートから剥離していた。一方AH群では1日目には他の実験群より有意に高い値を示したが2日目以降からは他群と同様の低い結果となった。
- 3) 希釈濃度10%: MGO群は全ての計測時間において対照群と近似した結果を示した。ES, AH群のWST-1の値は対照群およびMGO群と比較し有意に低い値を示した。細胞形態は対照群と比較しES群では明らかな変化は認められなかったが、AH群では細胞突起の伸張が弱く細胞間にもわずかな間隙が認められた。

以上のことから低濃度の酸化マグネシウムを基材とした根管シーラーは培養歯根膜細胞に対し生体親和性を有すると考えられた。

化学的表面処理後の根管象牙質とスーパーボンド根充シーラーの接着

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
○本間啓史, 菅谷勉, 川浪雅光

Adhesion between root canal dentin and Super-Bond SEALER after chemical surface treatment

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

○HOMMA Keishi, SUGAYA Tsutomu, KAWANAMI Masamitsu

【研究目的】

根管治療では、まず根管を機械的に拡大して感染歯質を除去するとともに、根管充填に必要なスペースを形成することが重要である。しかし扁平な根管や種状根、イスマスを有する根管などでは機械的に根管を拡大することが難しい。このような根管では薬剤により化学的に根管壁を溶解して拡大する方法が有効ではないかと考えた。

本研究は、酸と次亜塩素酸ナトリウムによる根管拡大を検討する目的で、象牙質面の脱灰速度、表面形態、接着性シーラーの接着性を評価した。

【材料と方法】

実験 1. 38%リン酸および 10%クエン酸/3%塩化第二鉄水溶液による象牙質脱灰深度の測定：ヒト抜去歯の象牙質面を次の 4 つの条件で処理し、SEM で脱灰深度を測定した。①38%リン酸 5 分、②38%リン酸 5 分、10%NaOCl (以下 NC) 2 分、③10-3 溶液 (10%クエン酸 3%塩化第二鉄：表面処理剤グリーン) 5 分、④10-3 溶液 5 分、NC 2 分。

実験 2. 38%リン酸あるいは 10%クエン酸/3%塩化第二鉄水溶液処理後の次亜塩素酸ナトリウム処理時間と象牙質面の形態変化：被験面をリン酸または 10-3 溶液を用いてそれぞれ次の 6 つの条件で処理を行った。

①38%リン酸または 10-3 溶液 5 分、NC0 秒 ②38%リン酸または 10-3 溶液 5 分、NC60 秒 ③38%リン酸または 10-3 溶液 5 分、NC90 秒 ④38%リン酸または 10-3 溶液 5 分、NC120 秒 ⑤38%リン酸または 10-3 溶液 5 分、NC2 分、芳香族スルフィン酸塩 (アクセル) 10 秒、10-3 溶液 10 秒、⑥38%リン酸または 10-3 溶液 10 秒

各処理終了後、SEM 観察を行った。

実験 3. 象牙質片による色素侵入試験と微小引張試験：ヒト抜去歯の象牙質面を次の 2 つの条件で処理し、接着性を評価した。化学的処理群：10-3 溶液 5 分、NC 2 分、アクセル 10 秒、10-3 溶液 10 秒。対照群：10-3 溶液 10 秒のみ。両群とも水洗、乾燥後、SBS (スーパーボンド根充シーラー) を塗布、硬化後に色素侵入試験と微小引張り試験を行った。

【結果】

実験 1. 脱灰深度は① $29.7 \pm 6.5 \mu\text{m}$ ② $31.4 \pm 4.9 \mu\text{m}$ ③ $22.8 \pm 4.7 \mu\text{m}$ ④ $22.7 \pm 4.0 \mu\text{m}$ で、象牙質表面構造の変化は 10-3 溶液よりリン酸の方が著しかった。

実験 2. リン酸処理後に NC 処理を行なった場合、象牙細管は大きく開口し著しい凹凸が生じたが、10-3 溶液処理後に NC 処理を行なうと、リン酸を用いた場合より象牙質面の凹凸は少なかった。

実験 3. 化学的処理群の色素侵入率は、 $25.5 \pm 7.3\%$ 、対照群は、 $23.0 \pm 6.7\%$ 、微小引張り強さは、それぞれ $17.5 \pm 2.7\text{MPa}$ 、 $20.4 \pm 4.7\text{MPa}$ で両群間に有意差はなかった。

【考察】

38%リン酸と 10-3 溶液では、象牙質の脱灰深度に大きな差はなく、5 分でファイル約 1 サイズ分 (0.05 mm) の拡大が可能であり、象牙質表面の構造変化から、化学的拡大には 10-3 溶液の方が適していると考えられた。また、象牙質面を 10-3 溶液と NaOCl で化学的拡大後の象牙質面と SBS との接着は、対照群と有意差のない色素侵入率や接着強さを示したことから、機械的拡大が困難な根管では、酸および次亜塩素酸ナトリウム、芳香族スルフィン酸塩、10%クエン酸 3%塩化第二鉄溶液によって化学的拡大と表面処理して接着性シーラーを用いることにより、高い封鎖性が得られる可能性が示唆された。

【結論】

10-3 溶液と NaOCl で根管壁を溶解後、アクセルを併用することで、対照群と有意差のない色素侵入率や接着強さが得られた。

生理食塩水による各種根管充填シーラーの表面形態変化の観察

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座

○ 川島 正、馬場俊晃、上田幾大、富田 敬、三浦孝司、辻本恭久、松島 潔

Observation of surface form of each root canal sealer by interaction with physiologic saline

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○ KAWASHIMA Tadashi, BABA Toshiaki, UEDA Ikuo, TOMITA Takashi,
MIURA Takashi, TSUJIMOTO Yasuhisa, MATSUSHIMA Kiyoshi

【研究目的】

根管充填は通常ガッタパーチャポイントとシーラーを用いて行っている。シーラーの目的はガッタパーチャと根管壁を接着または合着させること、ガッタパーチャとガッタパーチャの隙間を埋めること、さらにガッタパーチャとともに根尖孔を封鎖することによって根尖周囲病変の治癒を促進することなどがあげられる。根管充填後のエックス線写真においてシーラーが根尖孔外に溢出したり、側枝、分岐から周囲組織に溢出しているのがよくみられる。このシーラーは根尖周囲組織または組織液に直接接しており、その状態で硬化するのを待つことになり、その後も組織液の影響を受け続けることになる。演者らは根周囲に溢出したシーラーが組織液の影響によりどのような変化を受けるかを形態学的に観察した。

【材料および方法】

実験に用いたシーラーは ZOE シーラーのキャナルス (CA)、非 ZOE シーラーのキャナルス N (CN)、4-META/MMA-TBB レジン系シーラーのスーパーボンド根充シーラー (SB)、4-META を含むデュアルキュアタイプのセルフエッチングシーラーの MetaSEAL を用いた。製造業者指示通りに練和し、練和直後に生理的食塩水に 1 週間浸漬した。MetaSEAL は光照射を行わなかったもの (MS) と、20 秒照射したもの (MSL) とした。コントロールは空気中で硬化させた。試料を蒸着後、表面形態を走査型電子顕微鏡 (日立社製 S-2700 : SEM) にて観察した。

【成績】

CA : 表面の溶解がみられ、約 1μ の不定形の粒子が観察された。

CN : 表面の溶解がみられ、直径 $3\text{-}5\mu$ の小穴が観察された。

SB : 球状フィラーとみられる構造物以外の部分に $3\text{-}4\mu$ の球状粒子が沈着し、互いに癒合し表面を覆っているのが観察された。

MS : $2\text{-}3\mu$ の球状粒子が互いに癒合して表面を覆っているのが観察された。

MSL : 結晶物等の沈着物はなく、粒子形態に変化が認められなかった。

【考察】

今回は組織液として細胞外液と同じ浸透圧の生理食塩水を用いた。シーラーは生体内で組織液と接しながら硬化し、その後も組織液と接している環境で生体内に存在するので形態的に影響を受けると考えられる。CA、CN では表面の溶解がみられたがこれは硬化前にすでに溶解したものと思われた。またレジン系の SB、MS では組織液に溶解しないことがわかり、さらにシーラー成分との結晶構造物の沈着が観察された。A,E,Kaplan らや Reza B.Kazemi らは水中でのシーラーの崩壊、吸水を報告しており、今回の実験により、光重合で硬化した MSL 以外のシーラーが生理食塩水に影響を受けることがわかった。今後、浸漬液を変え、経時的变化や沈着物の分析、溶出物の分析を行っていく。

【結論】

CA、CN は表面の溶解がみられ、SB、MS は表面に球状の結晶構造物が癒合して沈着していたのが観察された。MSL は沈着物はなく、粒子形態に変化が認められなかった。

形状記憶ポリマーの根管充填材への応用 —2次元軸対称有限要素法による応力解析—

鹿児島大学 医学部・歯学部附属病院 成人系歯科センター 保存科¹

鹿児島大学 理工学研究科 情報生体システム工学専攻²

○金丸憲一¹ 塚田岳司¹ 久保翔平² 川崎俊明² 徳田雅行¹ 鳥居光男¹ 加藤龍蔵²

Application of shape memory polymer to root canal filling material

- Stress analysis by the two-dimensional axial symmetry finite element method -

Kagoshima University Medical and Dental Hospital Restorative Dentistry and Endodontology¹

Kagoshima University Graduate school of Science and Engineering Department of Information Science and Biomedical Engineering²

○Norikazu KANEMARU, Gakuji TSUKADA, Syohei KUBO, Toshiaki KAWASAKI, Masayuki TOKUDA, Mitsuo TORII, Ryuzo KATO

【研究目的】

我々は、形状記憶ポリマーを用いて根管充填用ポイントを試作し、新しい根管充填法の開発を試みている。この根管充填法は、ポイントに備わった形状記憶機能の働きによりポイントの形状を根管の形状へと適合させて根管の封鎖を図ろうというものであるが、その際には、根管充填材～歯牙～歯周組織に発生する応力が相互に複雑に影響し合うと予想され、それらを考慮したより緻密な材料設計を行うことが必要となる。そこで、今回は、これらの一連の系を軸対称として2次元系でモデル化し、有限要素法を用いてシミュレーションを行い、実際の口腔内で起こりうる現象の予測を行ったので報告する。

【研究方法】

解析に使用する2次元軸対称歯牙・歯周モデルは、根管拡大後、形状記憶ポリマーを用いて根管充填した上顎中切歯の歯根とその周囲の歯周組織を図1のようにモデル化した。軸対称モデルでは、材料の変形が軸方向(Z方向)と動径方向(R方向)になるので変形の自由度はR-Z面内の2次元となり、軸対称という制約はあるが、立体の変形を2次元系の解析として求めることができる。このモデルでは、3角形要素で要素分割し、節点数 31736 個、要素数 62624 個である。歯牙については、中心軸から外側に10層に分割し、象牙質のヤング率を根管側から外側に向かって大きくなるよう段階的に変化させた。境界条件として、Z軸(中心軸)上の節点をR(動径)方向に固定して変位拘束した。R軸上の接点は、Z軸方向に固定し、皮質骨、海面骨の最外面上の接点は、R方向に固定し変位拘束した。荷重条件は、根管の内側から動径方向に均一な外力を負荷した。負荷する外力は、人工根管を用いた封鎖性試験の結果において、良好な封鎖が得られた試料の実測値より近似的に求めた値の0.80 MPaを用いた。有限要素法による解析は、Fortran90を用いてプログラムを作成してシミュレーションした。

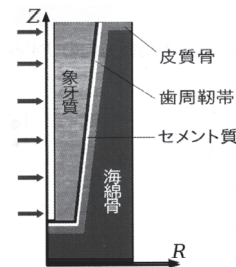


図1 解析モデルの構造

【結果と考察】

動径方向のひずみは、根管充填材の最下部の接する根尖部の象牙質に集中した。図2のように、根尖部の象牙質には応力の集中がみられ、象牙質 - セメント質の境界で 0.06 MPa を示すが、歯周靭帯 - 皮質骨の境界では 0.02 MPa に減少し、歯周靭帯による応力の緩和がみられた。今回、構築したモデルに基づいた解析では、歯牙は、根管側から外側に向かう応力に対して強い耐性をもつ構造であることが分かった。また、Z軸方向へ向かう応力も、象牙質の外側へむかうにつれて減少した。以上の結果から、形状記憶ポリマー製の根管充填材が歯牙に与える応力は、根管近傍における象牙質の破壊応力を大きく下回り、安全に使用できる可能性が高いことを明らかにした。今後は3次元、あるいは非線形モデルの構築を行い、欠陥も考慮した応力解析を行っていく予定である。

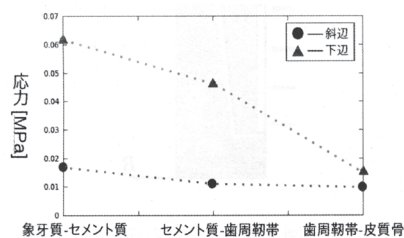


図2 動径方向の応力

根管形成用ファイル試験機を使用した GT Series X Rotary File の使用回数による比較

東京歯科大学歯科保存学講座

○吉澤 佑世、月野和 隆、山田 雅司、間 奈津子、森永 一喜

Comparison of Repeatedly Used GT Series X Rotary Files Using Torque Testing Device

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○Yuusei Yoshizawa, Takashi Tsukinowa, Masashi Yamada, Natsuko Aida and Kazuki Morinaga

【目的】

GT Series X Rotary File (DENTSPLY SANKIN、東京) は、M-Wire を用いた新世代の NiTi ロータリーファイルシステムであり、M-Wire を用いたことにより従来の材料に比較して周期性疲労に強く、破折抵抗性の向上が一つの特徴として挙げられる。そこで今回、GT Series X Rotary File (以下、GTX) を用いて、30 度の湾曲根管模型 (ENDO-TRAINING-BLOC A0177、DENTSPLY SANKIN、東京) を拡大、形成するために根管形成用ファイル試験機 (シー・アイ・エス、神奈川) を用い、GTX を繰り返し使用した際の最終形成時のトルク値の変化、形成前後の根管模型の形態変化、ならびにファイル表面の状態について検討した。

【材料および方法】

30 個の湾曲根管模型を用意し、作業長を 16.0 mm とし、GTX 使用前にステンレス製手用 K ファイル (25 mm、Zipperer、Germany) にて #15 まで拡大した。さらに模型をあらかじめ GTX.08/#30、.06/#30 の順で根管上部をクラウンダウン法にて拡大しておき、それぞれの最終形成を GTX.06/#20 とし 1 回目使用、2 回目、3 回目、4 回目、5 回目、6 回目 (以下、1~6 群) と繰り返し使用して形成した根管模型を 6 つの群とし、各群 5 本ずつ形成した (n=5)。形成時には RC-Prep (Medical Products Laboratories、アメリカ) を満たした状態で使用し、形成ごとに洗浄用シリンジ (Endo-Eze Irrigator Tips、ULTRADENT、東京) を用いて洗浄した。最終形成は 21 mm GTX.06/#20 を根管形成用ファイル試験機に装着して 300rpm にて行い、この時に発生した最大トルクの平均値を求めた。また、形成後に根管を染色し、デジタル画像撮影を行い形成前後の形態変化を観察、比較した。未使用、1、3、4、6 群のファイル表面の状態を走査型電子顕微鏡 (SU6600、日立、東京) にて観察した。統計処理には Tukey 法を用い、有意水準は 5% とした。

【結果】

最終形成時の最大トルクの平均値は 1 群で 4.01 ± 1.20 N/cm、2 群で 4.81 ± 3.29 N/cm、3 群で 4.90 ± 1.70 N/cm、4 群で 6.37 ± 2.02 N/cm、5 群で 4.47 ± 0.65 N/cm、6 群で 3.11 ± 1.70 N/cm であった。1 群から 6 群までファイルの破折は認められなかった。形成前後の重ね合わせ画像では、すべての群において根尖部付近の拡大形態はいずれも根管の変位は認められず、拡大・形成において大きな相違点は認められなかった。走査型電子顕微鏡 (以下、SEM) によるファイル表面の観察では、未使用のものと比較して 1 群はラジアルランド上に微小な損傷が認められ、3 群ではラジアルランド上にカッティングエッジに直行した亀裂が認められ、4 群では亀裂がさらに拡大していた。6 群ではカッティングエッジ自体の欠損が認められた。

【考察および結論】

最終形成時の最大トルクの平均値において、すべての群間で有意差は認められなかった。このことは 6 回目の使用まではファイルの切削能力に大きな低下は認められず、それがトルク値に反映されたと考えられる。また、形成前後の根管模型の形態変化の観察結果から、6 回目までの使用では外、内湾側の根管形成、拡大において大きな相違点が認められなかったのは、顕著な切削能力の低下がおきていないということを示している。しかし、SEM での観察結果からは使用回数を重ねることによりファイル自体の劣化が観察され、破折のリスクが増加していることが示唆された。

今回、根管形成用ファイル試験機を使用し同一条件でのファイルを使用することにより、ファイルの自体の切削効率等、機能的な変化は認められないが繰り返し使用によるファイル表面の疲労を確認することができた。

GT Series X Rotary File を用いた根管形成用ファイル試験機の評価

東京歯科大学歯科保存学講座

○月野和 隆、吉澤 佑世、山田 雅司、森永 一喜

Evaluation of Torque Testing Device Using GT Series X Rotary Files

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○Takashi Tsukinowa, Yuusei Yoshizawa, Masashi Yamada, Kazuki Morinaga

【目的】

NiTi ロータリーファイルは柔軟性に優れるとともに根管追従能力が日々進化しており、主に湾曲根管における拡大・形成に臨床応用されている。そこでわれわれは、NiTi ロータリーファイルの性能の比較を規格化して行うために、根管形成用ファイル試験機（シー・アイ・エス、神奈川）を作製した。今回、NiTi ロータリーファイルによる根管拡大、形成時の条件の違いによるトルク値の変化、ならびに形成前後の根管模型の形態変化の結果から、本機器の有用性を検討した。

【材料および方法】

18 個の湾曲根管模型（ENDO-TRAINING-BLOC A0177、湾曲度 30°、DENTSPLY SANKIN、東京）を用意し、作業長を 16.0 mm として、ステンレス製手用 K ファイル（Zipperer, Germany）にて #15 までガイドパスを行った。さらに模型をあらかじめ GT Series X Rotary Files（DENTSPLY SANKIN、東京、以下 GTX）.08/#30、.06/#30 の順で根管上部を拡大した群（Crown down 群、以下 CD 群）と拡大していない群（Single Preparation 群、以下 SP 群）の 2 群に分け、各群 9 本ずつとした（n=9）。各群ともに最終形成は GTX.06/#20 を根管形成用ファイル試験機に装着し、モーター回転数 300rpm に設定して行い、この時発生した最大トルクの平均値を求めた。形成時には RC-Prep（Medical Products Laboratories、アメリカ）を満たした状態で行い、形成ごとに洗浄用シリンジ（Endo-Eze Irrigator Tips、ULTRADENT、東京）を用いて 5% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液と蒸留水で洗浄した。また、形成後に根管内を染色しデジタル画像撮影を行い、形成前後の根管模型の形態変化を観察、比較した。統計処理には Mann-Whitney の U 検定を用い、有意水準は 1% とした。

【結果】

最終形成時の最大トルクの平均値は CD 群で 8.42 ± 2.15 N/cm、SP 群で 20.42 ± 1.50 N/cm であった。CD 群においてファイルの破折は認められなかったが、SP 群では 2 本認められた。拡大前後の重ね合わせ画像では、CD 群の根尖部付近の拡大形態はいずれも外湾側、内湾側共に拡大され、根管の変位は認められなかったが、SP 群においてすべての模型で根管口部から中央部にかけて切断面に荒れが認められ、根尖部付近においては外湾側を多く切削していた。

【考察および結論】

最終形成時の最大トルクの平均値において、CD 群は有意に SP 群よりも小さな値を示した（ $p < 0.01$ ）。このことは根管上部の規制を減らし、歯冠側から順に根尖側に向かってクラウンダウン法にすることで、M-Wire を用いた NiTi ロータリーファイルにおいても破折のリスクとなりうる負荷を減弱することができたと考えられる。SP 群でのみファイルの破折が認められたことから、ファイルにとって過度な負荷がかかっていたと考えられる。また、形成前後の根管模型の観察結果から、根管上部を拡大することで形成後も本来の解剖学的形態から逸脱しない、良好な根管形成が行うことが可能であると考えられる。

各群における形成前後の形態に大きな差は認められないことから、本機器により形成方法に左右されない規格形成が可能であることが示された。今回、根管形成用ファイル試験機を使用することで回転数、形成速度、位置関係などを規格化することができ、異なる条件の 2 群間のトルク値の計測とその比較が行えるという本機器の有用性が示された。

バイオフィルム形成 *Streptococcus intermedius* のゲノム解析

大阪歯科大学 細菌学講座¹
大阪歯科大学 口腔治療学講座²

○山根一芳¹、山中武志¹、真下千穂¹、吉田匡宏²、林 宏行²、南部隆之¹、円山由郷¹、福島久典¹

Genome sequencing and analysis of biofilm-forming *Streptococcus intermedius*

Department of Bacteriology¹ and Department of Endodontics², Osaka Dental University
○YAMANE Kazuyoshi¹, YAMANAKA Takeshi¹, MASHIMO Chiho¹, YOSHIDA Masahiro, HAYASHI Hiroyuki², NAMBU Takayuki¹, MARUYAMA Hugo¹, FUKUSHIMA Hisanori¹

【背景】細菌はバイオフィルムを形成することで周囲の環境から自身を保護し、長期に生き残ることができる。歯科領域においても細菌感染症の慢性化、難治化がしばしば問題となっており、原因の1つとして原因菌のバイオフィルム形成性の関与が示唆されている。我々はこれまでに、難治性の根尖性歯周炎病巣より分離した *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Rothia mucilaginosa*, 閉鎖性の骨膜下膿瘍から分離した *Streptococcus intermedius* (*S. intermedius*) に著明なバイオフィルム構造をもつ菌株が存在し、これらの菌株が形成するバイオフィルムが病巣での細菌残存因子になっていることを報告してきた。*S. intermedius* はアングイノサス群に属するレンサ球菌で、口腔内の常在細菌叢に存在するアングイノサス群レンサ球菌は日和見感染症の原因菌として口腔や深部臓器に化膿性疾患を引き起こすことが知られている。また、慢性歯周炎や上部消化器癌との関連性も疑われるなど、臨床的に重要な細菌であることが再認識されている。

【目的】本研究では *S. intermedius* のバイオフィルム形成に関与する遺伝子を明らかにすることを目的に、口腔膿瘍から分離した *S. intermedius* のゲノムをシーケンシングし、遺伝子解析した。

【材料および方法】

1. 供試菌

バイオフィルムを形成する *S. intermedius* 臨床分離株 (H39 株) を供試した。

2. ゲノムシーケンシング

MagExtractor (TOYOBO) で H39 株のゲノム DNA を抽出、精製した。精製したゲノム DNA から GS Rapid Library Prep Kit (Roche Diagnostics) を用いてライブラリーを作成した。GS Junior Titanium emPCR Kit を用いてライブラリー DNA を鋳型として、ビーズ上に DNA を増幅したのち GS Junior Titanium Sequencing Kit を用いて GS Junior System でパイロシーケンスした。

3. 遺伝子解析

得られたシーケンシングデータを GS *de novo* Assembler を用いてアセンブルし、contig を構築した。Contig 内の塩基配列から the Gene Locator and Interpolated Markov ModelER (Glimmer) を用いて CDSs を予測し、データベース上で相同性の高い配列を検索した。

【結果と考察】ゲノム遺伝子をパイロシーケンス法で解析した結果、35,026,349bp の塩基をシーケンシングできた。また、平均リード長は 457bp であった。アセンブルの結果、55 の contig を構築することができ、その内 500bp 以上の長さの contig が 44 得られた。遺伝子予測の結果、バイオフィルム形成に関与すると考えられている多糖の新生経路、分泌輸送経路の遺伝子、バイオフィルム形成調節に関与すると考えられているストレス応答系の遺伝子と相同性の高い領域が観察された。H39 株のバイオフィルム形成は glucose によって増強されることが分かっており、ゲノム内には *B. subtilis* でバイオフィルム形成に重要な働きをしている α -phosphoglucomutase のホモログが存在することが明らかになっている。今回の解析でこの遺伝子の周囲には *Pseudomonas aeruginosa* でバイオフィルム形成時に発現が増加する遺伝子のホモログも存在することが分かり、これらの遺伝子群がバイオフィルム形成に関わっていることが示唆された。

本研究は科学研究費補助金 基盤研究 (C) (23592724)、若手研究 (B) (23792118) の助成を受けたものである。

難治性根尖性歯周炎に関わるバイオフィーム構成細菌種と臨床症状との関係

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)

○ 藪根敏晃、野杵由一郎、山本れいこ、山口幹代、朝日陽子、前菌葉月、永山智崇、呉本勝隆、
騎馬和歌子、林 美加子、恵比須繁之

The relationship between Extraradicular Biofilm-forming Bacteria and Clinical Symptoms Associated with Refractory Periapical Periodontitis

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○YABUNE Toshiaki, NOIRI Yuichiro, YAMAMOTO Reiko, YAMAGUCHI Mikiyo, ASAHY Yoko, MAEZONO Hazuki,
NAGAYAMA Tomotaka, KUREMOTO Katsutaka, KIBA Wakako, HAYASHI Mikako, EBISU Shigeyuki

【研究目的】

我々は、根尖孔外に形成されたバイオフィームが根尖性歯周炎の難治化の一因であることを報告してきた^{1),2)}。根尖孔外バイオフィームの構成細菌に関し、これまでに培養法による細菌種の同定の報告はあるが、口腔内には VNC (Viable but Non-Cultivable) 細菌を含め、これまでに同定されていない細菌あるいは培養が困難な細菌種が存在する可能性が示唆されており、根尖孔外バイオフィームの構成細菌に関してもこれまでに検出されていない細菌が存在すると思われる。そして、難治性根尖性歯周炎患者より採取した試料から 16S rRNA 遺伝子解析による分子生物学的手法を用いて、根尖孔外の細菌バイオフィームを構成する細菌種を同定した²⁾。そこで本研究では、根管内外および根尖孔外バイオフィーム構成細菌種を以前と同一の方法で同定するとともに、各種臨床症状との関連性を検討した。

【材料および方法】

大阪大学歯学部附属病院保存科を受診した根尖性歯周炎罹患患者のうち、本研究に関して同意の得られた患者に術前診査を行い、バイオフィーム試料を採取した。難治性根尖性歯周炎と診断された 15 歯の抜去歯、歯根端切除術により切断された 13 歯片、ならびに根尖孔外に溢出したガッタパーチャポイント 2 本から採取したバイオフィームを根尖孔外のバイオフィーム試料 (計 30 試料) とした。これらのバイオフィーム試料は、採取後直ちに生理食塩水にて洗浄し、キュレットにて根尖孔外相当部を搔爬して採取した。難治性根尖性歯周炎の診断基準は、再感染根管治療を行っても臨床症状の改善、あるいは X 線的に根尖病巣の縮小傾向が認められないものとし、歯根破折あるいは根尖に至る歯周ポケットを有する歯は本研究から除外した。一方、通常の感染根管治療を行い、K-file のファイリング操作により根管内から採取し、最終的に非難治性根尖性歯周炎と診断された 27 歯の試料を根管内バイオフィーム試料とした。

得られたバイオフィーム試料から、InstaGene Matrix を用いて細菌 DNA を抽出し、PCR にて 16S rRNA 遺伝子を増幅した。得られた PCR 産物を pDrive cloning vector にサブクローニングし、*Escherichia coli* DH5 α に形質転換した。各試料につき 96 クロオンを無作為に選択し、ミニプレップにてプラスミドを精製し、BigDye Terminator cycle sequence kit を用いてシーケンスを行った。BLAST program にて得られた塩基配列を解析し、細菌種を同定した。98~100%の相同性を示したものを同一細菌種とし、90~98%の相同性を示したものは同一細菌属、90%未満のものは除外した。また、試料採取した歯の臨床所見についても記録した。

【結果および考察】

難治性根尖性歯周炎罹患歯から得られた 30 試料の根尖孔外バイオフィームから検出された細菌は、頻度の高いものから順に *Uncultured bacterium* (30 試料)、*Porphyromonas gingivalis* (18 試料)、*Prevotella sp.* (17 試料)、*Bacteroides sp.* (17 試料)、*Tannerella forsythia* (16 試料)、*Fusobacterium nucleatum* (14 試料)、*Peptostreptococcus sp.* (11 試料)、*Eubacterium sp.* (10 試料) であった。また、13 試料からは *P. gingivalis* と *T. forsythia* が共に検出された。*Prevotella sp.* が根尖孔外から検出された症例では、自発痛の既往、発赤・腫脹の既往、打診痛が平均より高い頻度で発現した。また、*Bacteroides sp.* では自発痛の既往が比較的高い頻度でみられた。

また、非難治性根尖性歯周炎歯の根管試料 (計 27 試料) から検出された細菌は、頻度の高いものから順に *Uncultured bacterium* (27 試料)、*Prevotella sp.* (13 試料)、*Eubacterium sp.* (12 試料)、*P. gingivalis* (11 試料)、*Slackia exigua* (旧 *Eubacterium exiguum*) (11 試料)、*Bacteroides sp.* (10 試料) であった。

本研究で用いた 16S rRNA 遺伝子解析による細菌同定法により、従来の培養法では培養困難であった糖非分解性偏性嫌気性グラム陽性細菌の *Eubacterium sp.*、*Slackia exigua* ならびに *Uncultured bacterium* が検出された。

難治症例では非難治症例に比べて、排膿の既往、腫脹・発赤の既往、瘻孔と発赤・腫脹の出現頻度が高かった。*P. gingivalis* と *T. forsythia* は根尖孔外から同時に高頻度 (13/30) で検出され、この 2 細菌種の共存が、根尖性歯周炎の難治化に密接に関連していることが明らかとなった。

【参考文献】

- 1) Noiri Y *et al.* *J Endod* 28: 679-683, 2002.
- 2) Noguchi N *et al.* *Appl Environ Microbiol* 71: 8738-8743, 2005.

根尖性歯周炎病巣に認められる細菌の菌種間相互作用

¹⁾東京歯科大学歯科保存学講座 ²⁾東京歯科大学微生物学講座
○堀内 章¹⁾ 額賀智之¹⁾ 浅井知宏¹⁾ 石原和幸²⁾

Synergistic effect among periodontopathic bacteria in apical periodontitis

¹⁾ Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College
²⁾ Department of Microbiology, Tokyo Dental College
○Akira Horiuchi¹⁾ Tomoyuki Nukaga¹⁾ Tomohiro Asai¹⁾ Kazuyuki Ishihara²⁾

研究目的

根尖性歯周組織炎の主要な原因は、根管内細菌である。根尖の病巣から認められている菌は多種にわたるが、病巣部からの検出率の高いものとして、*Streptococcus*, *Parvimonas*, *Fusobacterium*, *Prevotella/Porphyromonas* 等がある。これらの細菌により根尖部に形成されたバイオフィームは、難治性の根尖性歯周炎の原因の 1 つと考えられている。慢性歯周炎のバイオフィーム構成細菌とその形成についての研究は多いが、根尖部においてはまだ少なく、明らかにされていない点が多い。*Parvimonas micra* は、根尖性歯周炎病巣および難治性歯周炎病巣に認められる嫌気性グラム陽性球菌である。本菌は根尖病巣からの検出率が高いものの、その病原性および根尖病巣でのバイオフィーム形成性に関しては明らかにされていない。本研究は、*P. micra* に焦点を当て、他菌種との間での共培養による *P. micra* の増殖の変化および共凝集を検討することにより、本菌のバイオフィーム形成能について解析することを目的とした。

方法

菌種として *P. micra* JCM 12970, *Fusobacterium nucleatum* TDC 100, *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *Streptococcus mutans* Ingbritt, *Prevotella intermedia* TDC 19B, *Capnocytophaga ochracea* ATCC 33596, *Staphyrococcus epidermidis* TDC 86 を供試した。培養はヘミン (5 μg/ml) およびメナジオン (0.5 μg/ml) を添加した Brain heart infusion broth (BHI) を用いた。菌を液体培地に摂取し 37°C にて 2 日間嫌気下にて予備培養した。Type1 collagen でコートされた 12 ウェルプレート各 well (outer well) に予備培養した *P. micra* 菌液を接種した。さらに、底部が 0.4 μm の孔径の membrane より構成されている well (inner well) を outer well 内にセットし、そこに前培養した partner strain を接種した。対象としては、*P. micra* を単独で培養したものを作製した。それぞれの菌と共培養した *P. micra* の増殖を、660 nm の吸光度により 4 日間測定し、共培養による増殖速度の変化を解析した。菌種間の共凝集は、2 種の菌をそれぞれ coaggregation buffer に懸濁し 660 nm の吸光度を 2.0 にあわせた後に混合し 1 時間後まで静置し、凝集程度を Cisar らの visual scale によって判定した。

結果および考察

供試した菌株のうち *P. gingivalis* ATCC 33277, *F. nucleatum* TDC 100, *S. epidermidis* TDC 86, *P. intermedia* TDC 19B, *C. ochracea* ATCC 33596 が *P. micra* JCM 12970 の増殖を促進した。*S. mutans* Ingbritt は *P. micra* の増殖に影響を与えなかった。促進効果が認められた菌種の組み合わせのうち *P. gingivalis* では *P. micra* の増殖が単独培養に比べ 2 日目に 2.18 倍、*F. nucleatum* と *P. micra* の共培養では、4 日目に 1.92 倍、*P. intermedia* では 3 日目 1.64 倍、*S. epidermidis* では 4 日目に 1.49 倍であった。また、共凝集については、供試菌株のうち *P. micra* JCM 12970 と共凝集したものは *P. gingivalis* ATCC 33277, *F. nucleatum* TDC 100 の 2 菌種であった。

これらの結果より、*P. micra* は、*P. gingivalis*, *F. nucleatum* との共凝集と増殖促進作用により根尖部でのバイオフィーム形成に関与することが示唆された。

イオン導入法における薬剤の抗菌効果と通電性に関する検討

鶴見大学歯学部・口腔微生物学講座
○加藤大輔、小山隆夫、前田伸子

In-vitro Evaluation for Microbicidal Effects of Iontophoresis, and a Relationship with electrical resistance.

Department of Oral bacteriology, Tsurumi Univ. School of Dental Medicine

○Daisuke Kato, Takao Oyama, Nobuko Maeda

【目的】根尖部における微生物の残存が、難治性根尖性歯周炎の原因であることは周知の事実であり、今までに多くの種類の微生物の検出が報告されている。今まで我々は、根尖性歯周炎実験モデルを用いて、いくつかの微生物に対する根管消毒剤やイオン導入法の抗菌効果について検討し、薬剤への反応は微生物種によって多種多様であることを、これまでの日本歯科保存学会で報告した。今回我々は根管模型を用いて、イオン導入法における各薬剤の抗菌効果と、さらに薬剤の通電性について検討した。

【方法】被検菌株として *Candida albicans* ATCC18804 株、*Staphylococcus aureus* 209P 株を用いた。また比較対象として *Escherichia coli* ATCC25922 株を使用した。被検菌株は Tryptic Soy 寒天培地上で培養後、およそ 10^6 cfu/ml となるよう調整した。根管模型を用いた根尖部病巣モデルは、根尖部病巣に相当する腔に、滅菌生食寒天 $30\mu\text{l}$ 、被検微生物含有羊脱繊維血添加寒天 $30\mu\text{l}$ 、滅菌生食寒天 $70\mu\text{l}$ の順に重層し、実験的根尖部病巣とした。イオン導入はカントップ・ジュニアを用いて、通電した場合と貼薬のみの場合で、それぞれの薬剤を比較検討した。イオン導入には、薬剤は 38% フッ化ジアンミン銀溶液 (DSF)、アンモニア銀溶液 (ASH)、カントップ用ヨード・ヨード亜鉛液 (IZI) を用いて、それぞれ 1mA の定電流で一定時間 (5分・10分・25分・50分) 作用させた。イオン導入後、あるいは貼薬後に根尖部病巣モデルから被検細菌を回収し、適宜希釈後コロニー数 (log CFU/ml) を測定した。また通電性については、電圧計にて 1 分間隔で電圧を測定し、抵抗値 (Ω) を算出した。

【結果と考察】どの微生物に対しても、DSF は通電した方が、全体的に高い抗菌効果が得られた。また、通電時の抵抗値も低い値で一定であった。これは、薬剤が通電により高い抗菌性を保持したまま、迅速に病巣局所に到達するためであると考察される。一方で、同じ銀系薬剤である ASH は、十分な抗菌性が得られなかった。また、通電開始から数分で抵抗値が上昇し始めた。そのために薬剤が病巣に十分に行き渡らず、抗菌性が得られなかった可能性が示唆された。また抵抗値の上昇は、根尖局所の温度上昇に繋がり、それが術中の疼痛発生の原因になるかもしれない。IZI 使用時では、抵抗値は低く安定しているものの、これも十分な抗菌性検を發揮することはなかったことから、薬剤自体の抗菌性が弱いことが示唆された。以上のことから、イオン導入法における根管消毒剤の選択は、過去の我々の実験結果からも、抗菌性が高くかつ抵抗値の低い DSF を用いるのが最も有効であると思われる。イオン導入法は、複雑な根管形状の歯牙などに対しても、確実に薬剤を病巣に到達させることが可能であると考察され、難治症例においても非常に有用な手段の一つであると考えられる。

【結論】イオン導入法において、優れた抗菌性と通電性を併せ持つ薬剤は DSF であった。

次亜塩素酸電解水の細胞傷害性とその作用機序の解析

明海大学 歯学部 機能保存回復学講座 歯内療法学分野¹, 病態診断治療学講座 薬理学分野²,
口腔生物再生医学講座 歯周病学分野³
○井出祐樹¹, 中村裕子¹, 梅村直己², 小林健二¹, 小谷依子¹, 高橋哲哉¹, 坂上 宏², 申 基喆^{1,3}

Analysis of Cytotoxic Mechanism of Hypochlorous-acid Electrolyzed Water
Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences¹,
Division of Pharmacology, Department of Diagnostic and Therapeutic Sciences²,
Division of periodontology, Department of Oral Biology and Tissue Engineering³,
Meikai University School of Dentistry

○ Ide Yuki¹, Nakamura Yuko¹, Umemura Naoki², Kobayashi Kenji¹, Kotani Yoriko¹, Takahashi Tetsuya¹,
Sakagami Hiroshi² and Shin Kitetsu^{1,3}.

【目的】

次亜塩素酸電解機能水(Hypochlorous-acid Electrolyzed Water:HEW)は、炭酸(H₂CO₃)と塩化ナトリウム(NaCl)溶液を電気分解することによって生成される中性(pH:7.2)で高濃度の有効塩素濃度(650ppm)を有する電解水である。その殺菌効果は、陰イオンの活性酸素と次亜塩素酸(HClO)によるものと考えられている。近年、その高い殺菌作用とバイオフィーム除去効果、環境および生体への安全性から次亜塩素酸ナトリウム溶液に代わる根管洗浄剤として期待されている。これまで我々が行った研究においても、*E. faecalis*のバイオフィーム形成細菌に対して高いバイオフィーム除去効果および抗菌効果が認められた。一方で、本溶液は宿主細胞に対する傷害性を有することも認められている。しかし、傷害性に関する詳細な検討は行われていない。そこで、安全かつ有効に使用することを目的に、本研究では、HEWによる細胞死の様態をウェスタンブロット、フローサイトメトリーを用いて解析した。また、メカニズムを解明するため、抗酸化剤による細胞死の抑制について検討を行った。

【材料および方法】

HEWは、パーフェクトペリオ生成装置(パーフェクトペリオ株式会社)により、実験直前に生成したものをを用いた。標的細胞としてヒト歯髄線維芽細胞(HPC)および末梢血好中球(PMN)を用いた。本研究の遂行は、明海大学倫理委員会の承認を得た後(承認番号A0209, A0210)、ガイドラインに従って行った。HPCは、4~6継代の細胞を実験に用いた。PMNは、全身的に特記すべき既往歴のない健康な研究員の末梢血よりMono-Poly resolving medium(Flow Laboratories Inc, USA)を用いた密度遠心勾配法によって分離・調製した。

(細胞死の様態)HPCでは、各濃度のHEWにより刺激し、cPARPの検出によるアポトーシス誘導性の有無をウェスタンブロット法により解析した。PMNでは、各濃度のHEWで処理した細胞をAnnexin V-fluorescein isothiocyanate(FITC)およびpropidium iodide(PI)で染色し、フローサイトメトリーにより解析した。

(細胞死のメカニズム)抗酸化剤として、EDTA, NACおよびGSHを用い、HEWによる細胞傷害性に対する抑制効果を検討した。対象にはPMNを用いた。細胞傷害性は、cell counting Kit-8およびトリパンブルー色素排除試験にて算出した。さらに、フローサイトメトリーを用いて解析を行った。

【結果】

HEWで刺激されたHPCのウェスタンブロット解析による結果、cPARPは検出されなかった。フローサイトメトリー解析による結果、PMNはHEWの濃度に依存して、FITCとPIの両方に染色されることが認められた。抗酸化剤による影響を検討した結果、NACおよびGSHなどSH基を有する抗酸化剤は、HEWによるPMNの細胞傷害作用を有意に抑制することが認められた。

【考察および結論】

本研究における結果から、HEWのHPCに対する細胞死の様態はアポトーシスによるものではなく、ネクロシスの様態を呈する可能性が高いことが示された。一方、PMNでは、FITCとPIの両方に染色される細胞が多く認められたことから、細胞膜の内側に局在するフォスファチジルセリン(PS)とAnnexin-Vが結合し、アポトーシス性の細胞死が誘導された後、アポトーシスの進行に伴い細胞膜の構造が崩壊して二次的な細胞壊死の状態に至った可能性がある。根尖周囲に浸潤した好中球のネクロシスによる細胞死は、各種酵素や活性酸素の放出を招き、炎症を増悪させる可能性があり、アポトーシスへ誘導されることが望ましいと考えられる。抗酸化剤により細胞死が抑制されたことから、HEWに含まれる活性酸素が細胞死に強く関わっている可能性が高い。今後、細胞死に関する詳細な検討を加え、HEWの生体に対する安全性を確立していきたいと考えている。

微酸性電解水の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果

鶴見大学歯学部歯内療法学講座、* 口腔微生物学講座

○池野正典、中野雅子、小澤寿子、高尾亜由子*、前田伸子*、細矢哲康

Effects of slightly acidic electrolyzed functional water on *Enterococcus faecalis*

Department of Endodontology, Tsurumi University, School of Dental Medicine

○Ikeno Masanori, Nakano Masako, Ozawa Toshiko, Takao Ayuko, Maeda Nobuko, Hosoya Noriyasu

目的

2~6%の希塩酸の電気分解により生成する微酸性電解水は、生体や環境への安全性と高い殺菌消毒効果で注目されている。鶴見大学歯学部附属病院では、2010年7月水回路のバイオフィーム汚染の防止を目的として、微酸性電解水を供給する歯科用チェアユニットを設置した。ユニット水の微生物学的検査を継続しているが、現時点まで水回路汚染は認められていない。また、水道水を供給している水回路から検出された従属栄養細菌に対し微酸性電解水は殺菌効果を示すことを、第134回日本歯科保存学会春季学術大会にて発表した。今回は、さらに歯科診療時の治療部位への消毒効果を検証する目的で、感染根管から分離される細菌の一つである *Enterococcus faecalis* (ATCC19433)(以下 *E.f.*) を使用し、本ユニットより採水した微酸性電解水の *in vitro* での殺菌効果を検討した。

材料と方法

微酸性電解水(有効塩素濃度:10~30ppm、pH6.3~6.8)は、生成装置(3%希塩酸を電気分解)を搭載した歯科用チェアユニット(SPACELINE EMCIA 3型、モリタ製作所)のコップ給水部より採取直後のものを用いた。

<浮遊菌に対する殺菌作用> *E.f.* 浮遊懸濁液(10⁷ CFU/ml)に滅菌水または微酸性電解水を1分間接触、0.5%チオ硫酸ナトリウム液で中和した。試料を適宜希釈後、Tryptic-Soy (TS)寒天培地に塗抹、37°Cで培養し生残菌コロニー数を算定した。

<バイオフィームに対する殺菌作用> 96穴平底マイクロプレートにTS培地または1%ウサギプラズマ添加TS培地を分注し、*E.f.*懸濁液(5×10⁵CFU/ウェル)を接種、37°Cで好気または嫌気培養した。5日後、ウェルから培養上清を除去、PBS洗浄後、滅菌水または微酸性電解水を作用させた。作用時間は1分間とし、液を交換しない場合と1分間に4回液を交換する条件で比較した。作用時間終了後、中和とPBS洗浄を行い、Alamar Blue (Invitrogen)・TS混合液をウェルに添加し37°Cで培養、蛍光強度変化(励起波長:530nm, 蛍光検出波長590nm)により生残菌の代謝活性を評価した。

結果

(1) *E.f.* 浮遊菌は、微酸性電解水を1分間作用させることにより生菌数が検出限界以下になった。

(2) バイオフィームへの殺菌効果では、液を交換しない群では滅菌水処理に比べ、微酸性電解水処理で代謝活性が10~30%に低下した。しかし、プラズマ添加培養群においては効果が減弱した。微酸性電解水の交換を4回行った群では、代謝活性は滅菌水処理時の3%以下となり、プラズマ添加培養群に対しても同程度の有効性が維持された。

考察・結論

微酸性電解水は *E.f.* 浮遊菌に対して1分で殺菌効果を示したがこれまでの報告を考慮すると、より短時間で殺菌効果を示すと思われる。プラズマ添加条件で形成されたバイオフィームには作用が不十分であり、頻繁に液を交換した場合にのみ強い殺菌効果が得られた。したがって臨床での使用を想定した場合は多量の微酸性電解水による局所洗浄が必要である。また、超音波洗浄機器を介して水流とともに根管洗浄を行う場合には、根管内の消毒に微酸性電解水をユニット水として使用するメリットが期待される他、微酸性電解水は歯周病菌や齲蝕菌への殺菌効果を示すことから広範囲な治療効果が期待できる。一方で、有機質成分存在下での効果の減弱は考慮すべきであり、現在作用時間など、条件の至適化を検討中である。

生体に安全な薬剤と超音波洗浄を併用した時のスメア一層除去効果の検討

昭和大学歯学部歯内治療学講座¹

昭和大学歯学部歯科理工学講座²

○鈴木重紀¹ 山田嘉重¹ 増田宜子¹ 宮崎隆²

Effect of removing the smear layer by using of a ultrasonic irrigation with several safety medicines

The Department of Endodontology, Dentistry of Showa University¹

The Department of Dental Materials and Devices, Dentistry of Showa University²

○Shigenori Suzuki¹ Yoshishige Yamada¹ Yoshiko Masuda¹ Takashi Miyazaki²

<研究目的>

リーマー・ファイルなどによる機械的拡大により根管壁にスメア一層が付着することが知られており、スメア一層を除去することが根管洗浄の目的の一つとして考えられている。現在、根管洗浄は一般的に次亜塩素酸ナトリウム水溶液単独あるいは、EDTAとの併用で用いられることが多い。次亜塩素酸ナトリウム水溶液は非常に優れた有機質溶解作用、殺菌作用を持つことから広く用いられている。一方、腐食作用が強く危険性が生じることが報告されている。そこで、本研究では、生体に安全と思われる薬剤と超音波洗浄を組み合わせることで効果的な根管洗浄結果が得られるかを検討した。

<材料および方法>

11本の根管未処置のヒト永久抜去歯(単根)をセメント・エナメル境にて歯冠を切断し、歯冠側1/3をGates-Glidden drillにて根管口の明示を行った。その後K-Fileを用いて#60まで根管拡大を行い、Fileの拡大号数を上げるごとに5%NaOClにて根管洗浄を行った。5秒ごとに薬液を補充しながらOSADA ENACを用い、超音波洗浄(US)を60秒行った。観察試片作製にあたり、歯根を頬舌的に分割し根管壁面を露出させた。脱水および蒸着後、走査型電子顕微鏡を用いて各試料の中央部および根尖部の根管壁面を中心に3000倍の倍率で観察した。スメア一層の残存状態をHulsmannら(1997)のスコアで判定した。実験グループは、対照群 生理食塩水+US、Group A オゾンナノバブル水(AQUA NANO DENTAL)+US、Group B キトサン水溶液(スーパーグリーン)+US、Group C 10%クエン酸溶液+US、Group D 重曹水溶液+USとした。

<成績>

対照群：根中央部・根尖部ともにスメア一層が広範囲にあり、象牙細管の開口をほとんど確認されなかった。

Group A：根中央部においてまばらにスメア一層が認められるが象牙細管が部分的に開口していた。

根尖部は密なスメア一層で覆われていた。

Group B：根中央部・根尖部ともにスメア一層が広範囲にあり、象牙細管の開口をほとんど確認されなかった。

Group C：根中央部・根尖部ともにスメア一層が少量散在していたが、広範囲で象牙細管の開口を確認された。

Group D：根中央部・根尖部ともにスメア一層がまばらに存在し、象牙細管が部分的に開口していた。

<考察>

根中央部の洗浄効果に対して、Group A,C,Dでは、チップ中央部に相対する壁面のスメア一層の除去が顕著であった。これはファイルの振動の腹部から発生したAcoustic streamingが壁に衝突した部位に相当することから洗浄の機序にAcoustic streamingが大きく関与しているのではないかとと思われる。

根尖部の洗浄効果に対して、Group A,Bでは、ほとんどスメア一層を除去することができなかったが、チップが接したと思われる壁面のみスメア一層の除去が確認できた。Group Cでは、クエン酸によるスメア一層の溶解も加わったため、根尖部までスメア一層がある程度除去できたものと考えられる。Group Dでは、スメア一層の除去は認められたがGroup Cより顕著でなかった。

<結論>

クエン酸水溶液では超音波洗浄と併用することで効果的な洗浄効果を得ることが確認された。しかし、それ以外の水溶液では期待しうる洗浄効果は得られなかった。今後は生体への安全性を考慮し、さらなる検討を予定している。

ウォータージェットポンプを用いたスミア層除去に関する検討

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座

○小倉陽子 前田宗宏 勝海一郎

Removal of Smear Layer by Water Jet Pump

Department of Endodontics and Operative Dentistry

Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo.

○Ogura Y., Maeda M. and Katsuumi I.

【目的】

この実験の目的は、ウォータージェットポンプを用いた切削象牙質面のスミア層除去の効果を検討したものである。

【材料および方法】

実験には、象牙質にう蝕のないヒト単根抜去歯9本を使用した。咬合面にダイヤモンドバーを用いて縦2mm×横2mm×深さ2mmの窩洞を形成したのち、歯を3本ずつ3群に分け、以下の条件で窩洞内の処理を行った。

Gr1：直径0.1mmの噴出口を持つ試作ウォータージェットポンプ装置による3分間の洗浄（水圧5MPa, 蒸留水噴出量120ml）

Gr2：27Gの洗浄針を装着したシリンジによる3分間の洗浄（蒸留水120ml）

Gr3：洗浄なし（コントロール）

各群とも、洗浄は噴射口またはシリンジの先端が象牙質窩底部から垂直的に10mmの位置になるよう固定して行った。洗浄後、走査電子顕微鏡（SEM）で窩底の象牙質の状態を試料ごとに任意の点（3カ所）を1000倍で撮影し、得られた観察画像から象牙細管の開口状態の判定を行った。判定は、歯内療法を専門とする研究者5名が以下の判定基準に基づき行った。

判定基準

0：スミア層なし。細管は開口し、スミア層は完全に除去されている。

1：部分的なスミア層の除去。象牙細管の輪郭が観察可能である。

2：薄いスミア層による表面の被覆。象牙細管の位置はクラックにより示されるが、輪郭の確認は困難である。

3：分厚いスミア層による被覆。象牙細管の輪郭の確認は不可能である。

統計学的解析は、判定結果をもとにKendallの検定により5名の評価者間の一致度で評価した。

【結果および考察】

いずれの群においてもスミア層が完全に除去されたものはなかった。Gr1では、窩底面の切削片やデブリスが除去され、象牙細管の開口が認められるもの、もしくは細管の存在が確認できる状態まで洗浄されたものが多く、判定値の平均は1.84であった。Gr2, Gr3では切削片やデブリスが多く残存し、象牙細管を確認することが困難なものが多かった。判定値の平均はGr2が2.80, Gr3が2.64であった。なお、評価者間には一貫性が確認された（ $W=0.288$ ）。

今回の結果から、象牙質表面のスミア層除去の一法としてウォータージェット技法の応用の可能性が示唆された。今後、さらに検討を行う予定である。

薬液を応用した NiTi ファイル破折片の除去に関する研究
—薬液への間欠的な浸漬が腐食に及ぼす影響—

¹明海大学歯学部 機能保存回復学講座 歯内療法学分野
²明海大学歯学部 口腔生物再生医工学講座 歯周病学分野
○高橋哲哉¹, 小林健二¹, 牛込瑛子¹, 小谷依子¹, 中村裕子¹, 申 基詰^{1,2}

A Study on Removing Broken NiTi Files by Using Solution
— Effect of Intermittent Immersion to Solution on the Corrosion of NiTi Files —

¹Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences,
²Division of Periodontology, Department of Oral Biology and Tissue Engineering,
Meikai University School of Dentistry
○TAKAHASHI Tetsuya¹, KOBAYASHI Kenji¹, USHIGOME Eiko¹,
KOTANI Yoriko¹, NAKAMURA Yuko¹ and SHIN Kitetsu^{1,2}

【緒言】 根管内で破折した NiTi ファイルの除去に関する報告は少なく、除去方法は確立されていない。そのため我々は、根管内から NiTi ファイル破折片を容易に除去する方法の確立を目的とし、薬液の応用により破折片を腐食させる基礎的研究を行ってきた。これまでに、2種類の薬液を NiTi ファイル破折片に作用させた場合、3~24時間の浸漬によって破折片は腐食溶解を示し、薬液温度の上昇により腐食溶解に要する時間は短縮することを報告した (the 15th Biennial Congress of the ESE in Rome, 2011)。今回、NiTi ファイル破折片を薬液に連続的および間欠的に浸漬して、経時的な重量変化を測定し、X線マイクロアナライザーによる表面構造の観察を行った。そして薬液への間欠的な浸漬が NiTi ファイル破折片の腐食に及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】 NiTi ファイルは、ProTaper®(Dentsply Maillefer) #25/F2を使用した。ファイルは全て未使用のものを用い、それぞれ先端から5mmの部位をバイスで固定し、回転して破断させたものを試料とした。浸漬薬液には、10%次亜塩素酸ナトリウム溶液に19%塩化ナトリウムを加えて調製した薬液(以下NCN)、pH4.5に調整したリン酸酸性2%フッ化ナトリウム溶液(以下APF)および脱イオン水(以下control)を、1試料当たり5ml用いた。
<連続的な浸漬>試料は各薬液にそれぞれ浸漬し、37°Cに設定した恒温槽中で保存した。そして、1、3および6時間後の重量を測定した。また、X線マイクロアナライザー(JCMA-733, JEOL)を使用して、3時間浸漬した試料の形態学的変化を観察した。

<間欠的な浸漬>試料は各薬液にそれぞれ浸漬し、37°Cに設定した恒温槽中で1時間保存した後取り出し、重量を測定した。そして23時間後、新たに調製した薬液に浸漬し、37°Cに設定した恒温槽中でさらに1時間保存して取り出し、重量を測定した。以上の操作を総浸漬時間が6時間となるまで行った。また、X線マイクロアナライザーを使用して、総浸漬時間が3時間となった試料の形態学的変化を観察した。

【結果および考察】 NCNに連続的に浸漬した場合、重量は1時間後より急速に減少し、SEMによる観察ではファイル破断側から先端側に向かって進行する崩壊像が認められた。また、間欠的に浸漬した場合、重量は連続的な浸漬と同様の傾向で減少し、SEMによる観察でも同様の崩壊像を示した。一方、APFに連続的に浸漬した場合、重量は緩やかに減少し、SEMによる観察ではファイル全体の表面に小孔が認められた。また間欠的に浸漬した場合も、重量の緩やかな減少と、ファイル全体の表面に小孔が認められた。またcontrolではいずれの浸漬方法でも腐食は認められなかった。以上より、間欠的な浸漬を行った場合においても、連続的に浸漬した場合と同様の腐食溶解が認められた。このことから、長時間薬液に浸漬しないでも数回にわたる浸漬で同様の効果が得られることが確認され、臨床における1回の治療時間を考慮した場合でも、NiTi ファイル破折片の腐食溶解が可能であると思われた。実際の臨床応用として考えた場合、さらなる時間短縮が必要となるが、使用薬液の温度上昇によりこの腐食溶解の反応速度は促進することを、これまでの研究で確認しているため、今後はこの点を踏まえて条件設定を考慮していく予定である。

【結論】 NiTi ファイル破折片はNCNおよびAPFへの間欠的な浸漬においても、腐食溶解を示した。このことから、臨床における1回の治療時間を考慮した場合でも、NiTi ファイル破折片の腐食溶解が可能であり、臨床応用の可能性があることが示唆された。今後、さらに臨床応用に適した条件を模索していく必要があると考えている。

クエン酸溶液による超音波根管洗浄が水酸化カルシウム除去と 根管充填シーラーの接着に及ぼす影響

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
○鷲巣 太郎, 菅谷 勉, 川浪 雅光

Effect of ultrasonic irrigation with citric acid on removing calcium hydroxide and adhesion to root canal sealer.

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

○Taro Washizu, Tsutomu Sugaya, Masamitsu Kawanami

【目的】水酸化カルシウムは良好な殺菌作用や生体親和性により、根管貼薬に広く用いられている。一方、水酸化カルシウムが根管内に残存すると、接着性レジンシーラーを用いた根管充填では封鎖性が大きく低下する。本研究の目的は、水酸化カルシウム貼薬後の根管に接着性レジンシーラーが接着可能となる除去方法を検討することである。

【材料と方法】

実験1 根管貼薬した水酸化カルシウムの効果的な除去方法の検討

牛歯を根管形成後、長軸方向に2分割し、破折部の間隙幅が300 μ mとなるようにして復位、固定し、機械的洗浄器具が直接到達できないモデルを作製した。水酸化カルシウム貼薬後、超音波スケーラー(ソルフィー、モリタ)に#50Uファイル(マニー)を接続し、次の方法で超音波洗浄を行った(各群n=4)。①W群:注水下で30秒または60秒(W30秒群・W60秒群)、②G群:10%クエン酸-3%塩化第二鉄溶液(表面処理剤グリーン、サンメディカル)を根管に満たして30秒または60秒(G30秒群・G60秒群)、③G+N群:②の後に10%次亜塩素酸ナトリウム(ネオクリーナー、ネオ製薬、以下NC)を根管に満たして30秒(G30秒+N群・G60秒+N群)、④CA群:20%クエン酸(ウルトラデントクエン酸20%、ウルトラデント)を根管に満たして30秒または60秒(CA30秒群・CA60秒群)、⑤CA+N群:④の後にNCを根管に満たして30秒(CA30秒+N群・CA60秒+N群)。

洗浄後、歯根を再分割して光学顕微鏡による水酸化カルシウム残存率の計測とSEM観察を行った。水酸化カルシウム残存率の計測は、根管壁では根尖部および根尖から1、2、4、6、8mmの6部位、間隙部は根尖から1、2、4、6、8mmの部位をさらに根管壁から根表面側に0~0.5mm、0.5~1.0mm、1.0~1.5mmにわたって15部位、合計21部位で行った。

実験2 水酸化カルシウム除去後の象牙質面の被接着性の検討

実験1と同様に根管貼薬した水酸化カルシウムを次の方法で超音波洗浄した。①W60秒群、②G60秒群、③G60秒+N群、④C群:水酸化カルシウム貼薬も超音波洗浄を行わない。洗浄後、歯根を再分割して、G60秒+N群とC群は芳香族スルフィン酸塩(アクセル、サンメディカル)処理10秒を行い、4群ともグリーン処理5秒後、間隙部にスーパーボンド根充シーラー(サンメディカル)を塗布、24時間後に、微小引張試験(各群n=50)と色素侵入試験(各群n=10)を行った。

【結果】実験1の結果、G60秒+N群の水酸化カルシウムの残存量は他群と比較して有意に少なく残存率は1%以下であった。実験2の結果、微小引張強さはW60秒群 6.9 ± 3.2 MPa、G60秒群 9.7 ± 2.8 MPa、G60秒+N群 16.2 ± 3.8 MPa、C群 18.9 ± 7.1 MPaで、G60秒+N群はW群、G60秒群と比較して有意に高く($p < 0.05$)、C群との間に有意差は認められなかった($p > 0.05$)。色素侵入距離はW60秒群 1409.2 ± 62.7 μ m、G60秒群 1133.9 ± 83.7 μ m、G60秒+N群 442.6 ± 79.1 μ m、C群 376.7 ± 106.2 μ mで、G60秒+N群はC群との間に有意差はなく($p > 0.05$)、W60秒群およびG60秒群より有意に小さかった($p < 0.05$)。

【考察】この結果は表面処理剤グリーンがpHがウルトラデントクエン酸20%と比較して低いこと、基材を含まないため流動性に優れているためと考えられた。さらにNCを併用したことで、過脱灰になった象牙質面では有機質を除去し、接着可能な象牙質面を得ることができたと考えられた。

【結論】歯面処理材グリーン60秒とネオクリーナー30秒の超音波洗浄により効果的な水酸化カルシウムの除去が可能であり、水酸化カルシウムを貼薬しない場合と有意差がない色素侵入率と微小引張強さが得られる。

歯科用マイクロスコープ光源が視覚機能に及ぼす影響

神奈川県立歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野¹、神奈川県立歯科大学附属横浜クリニック総合歯科学講座²、
神奈川県立歯科大学附属横浜クリニック眼科³
○三橋 晃¹、小泉忠彦²、原 めぐみ²、原 直人³、石井信之¹

The Effect of Optical Function under the Microscopic Dental Treatment.

Kanagawa Dental College Department of Oral Medicine Division of Endodontics¹,
Yokohama Dental and Medical Clinic,

Department of Comprehensive Dentistry², Department of Ophthalmology³

○Akira Mitsuhashi¹, Tadahiko Koizumi², Megumi Hara², Naoto Hara³, Nobuyuki Tani-Ishii¹

[研究目的]

歯科用マイクロスコープの普及に伴い、精度と予知性の高い歯科診療が可能になってきた。マイクロスコープに使用する光源はハロゲン、キセノンそしてLEDランプがある。現在、ハロゲンランプが一般的に使用されているが、キセノンランプによる術野の明視化は、高倍率における精密歯科診療に極めて有用である。光源量が高いキセノンランプはハロゲンランプと比較して眼精疲労が生じやすいと考えられている。しかしながら、マイクロスコープ光源が術者の視覚機能に影響を示した報告はない。本研究では、マイクロスコープを使用した歯科診療条件下で使用前後の視覚機能を評価するために、視力、焦点調節機構の変化を解析した。

[材料および方法]

実験には、歯科用マイクロスコープ使用経験者1名と未使用経験者5名の合計6名(年齢21歳~44歳)を被験者とした。被験者は、眼科外来にて術前の焦点調節機能検査、および明度を評価するコントラスト視力検査を測定した。被験者は抜去歯を用いた30分間のマイクロスコープ下での歯内療法を行い、術直後、30分後、1時間後に視力検査を行った。1週間後にマイクロスコープ光源をキセノンランプからハロゲンランプに交換し、光源の視覚機能への変化を各検査項目にて比較検討した。また、ハロゲンランプとキセノンランプの射出光照度を、ライトガイド射出光および顕微鏡下射出光の条件下で測定した。

[成績]

光源量の高いキセノンランプおよび通常診療に使用するハロゲンランプを用いて歯内療法後の視覚機能検査結果を解析した。焦点調節機能検査は焦点調節反応時間(潜時)は、緊張時および弛緩時でキセノンランプとハロゲンランプの光源量による変化は認められなかった。焦点調節反応量(利得)は、マイクロスコープによる歯内療法直後に遅延反応が認められ、作業1時間後に回復する傾向を示したが光源間の変化はなかった。コントラスト視力検査結果はマイクロスコープ作業直後に測定値が有意に変動した。視力検査結果は時間の経過と共に回復傾向が認められたが光源間の差は認められなかった。各光源の照度測定結果はライトガイド射出光測定で、キセノンランプはハロゲンランプの11.2倍の照度を示し、顕微鏡下射出光においても6.9倍の照度を示した。

[考察および結論]

マイクロスコープによる歯科診療は診療直後に焦点調節機能と明度調節機能が遅延したが、一時的な変化で時間の経過と共に回復した。キセノンランプはハロゲンランプに比較し、11.2倍の照度を示したが、視覚機能はキセノンランプとハロゲンランプ光源間の差はなく、時間経過とともに回復傾向が認められた。すなわち、マイクロスコープによる歯科診療は視覚機能に影響を与えないことが示唆された。

会員外研究協力者; 中平賢吾(神奈川県立歯科大学4年生)、応藤光浩(同4年生)、村田陽太郎(同4年生)、西村 孔(同4年生)、若菜 裕(同4年生)、桂田祐慎(同1年生)

東京歯科大学水道橋病院における歯科用マイクロスコープ使用の現状
—特に歯内療法処置について—

東京歯科大学 口腔健康臨床科学講座¹⁾

埼玉県立大学保健医療福祉学部健康開発学科口腔保健科学専攻²⁾

○古澤成博¹⁾²⁾ 吉田 隆¹⁾²⁾ 早川裕記¹⁾ 大田 恵¹⁾ 細川壮平¹⁾²⁾ 河野誠之¹⁾

Uses of Dental Operating Microscope in Endodontics at TokyoDentalCollege Suidoubashi Hospital

1) Department of Clinical Oral Health Science, Tokyo Dental College

2) Division of Oral Health Sciences, Department of Health Sciences, Saitama Prefectural University

○FURUSAWA Masahiro, YOSHIDA Takashi, HAYAKAWA Hiroki, OOTA Kei, HOSOKAWA Sohei, Kouno Masayuki

目 的

我が国において日常臨床、特に歯内療法処置に歯科用マイクロスコープが応用されるようになってから既に約20年が経過している。当病院においても紹介患者を中心にマイクロスコープを応用した治療が行われており、殊に歯内療法処置においては、なくてはならない器材のひとつになりつつある。そこで今回我々は、当病院での歯内療法領域における歯科用マイクロスコープの使用状況について調査し、検討を行ったので報告する。

方 法

東京歯科大学水道橋病院総合歯科における平成21年から平成23年までの3年間の歯科用マイクロスコープの使用状況について、特に微小外科的歯内療法処置を除いた処置、すなわち一般的な歯内療法処置である髓室内からの処置についての症例数を調査し、その使用状況について検討した。

結 果

3年間のマイクロスコープを用いた歯内療法処置数は、平均316症例であった。それらの内訳の3年間の平均は、狭窄根管や槌状根の処置などの感染根管処置が208.3例と最も多く、続いて破折小機器の除去が26.0例、穿孔部封鎖処置が24.3例、歯牙破折の処置が15.3例、根管充填材の除去が14.5例でその他メタルコアの除去などが27.7例であった。

考 察

歯科用マイクロスコープを通常の歯内療法処置に用いた場合、未処置根管の探索、根管口の探索、根管内の清掃状態の確認、根尖孔の確認、槌状根の処置などに有効とされている。今回は大多数例が紹介医からの処置依頼による難治性根尖性歯周炎の症例であったため、当然のことながら再治療が大多数を占めていた。感染根管処置の症例では、根管口の探索を依頼された症例は少数例に止まり、未処置根管の探索や根管内の清掃状態の確認、さらには槌状根の処置が多く認められていた。狭窄根管における根管の穿通を依頼されたケースも散見されたが、マイクロスコープ下での根管の穿通は偶発症発生の危険性もあることから、断念した症例が若干例認められた。一方、根管内小機器の破折、歯牙の亀裂、破折や穿孔部の確認などの偶発症に対するものが比較的多く認められた。また、根管充填材の除去に関しては14.5例と症例数が少なかった。以上から、再治療を行う際の根管の穿通に関してはマイクロスコープが必ずしも有効ではない点、および根管充填材の除去におけるマイクロスコープによる有効性が、未だ紹介医に浸透していないものと思われた。なお、破折小機器の除去や穿孔部の封鎖、さらには歯牙破折の処置が多く認められたことから、これらの症例にはマイクロスコープの有用性が高いとの認識が周知されていることが確認された。

OCT を用いた歯髄腔の観察

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
○吉岡俊彦 白金由紀子 小松恵 石村瞳 海老原新 須田英明

Observation of the pulp chamber using OCT

Pulp Biology and Endodontics, Department of Restorative Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○YOSHIOKA Toshihiko, SHIRAKANE Yukiko, KOMATSU Kei, ISHIMURA Hitomi,
EBIHARA Arata, SUDA Hideaki

【緒言】

根管治療時の髄腔開拓は、レントゲン写真上での歯髄腔の位置を参考にしながら行われる。しかし、歯髄腔の狭窄、歯軸の類舌的な傾斜、補綴物の存在等により歯髄腔の三次元的な方向の把握が困難な症例に遭遇することがある。その結果、髄腔開拓を誤った方向に進めてしまった場合に穿孔が起きてしまう恐れがある。

また、歯髄に近接するう蝕治療の際、歯髄保存の成否は露髄の有無に大きく左右される。事前にう蝕除去による露髄が予測される場合には暫間的間接覆髄処置 (AIPC) を選択することも可能となる。しかしながら術中に歯髄腔までの象牙質の厚みを把握することは困難で、偶発的に露髄し、抜髄適応となる症例もある。

Optical coherence tomography(OCT)は、非侵襲的に組織の精密断層像を得ることが可能な医療撮像用新技術である。本研究ではヒト抜去下顎前歯を用い、象牙質内の歯髄腔が OCT 撮像で観察が可能であるかを検討した。

【材料および方法】

実験には、ヒト抜去下顎前歯 30 本を用いた。予め歯科用コーンビーム CT(Finecube®, 吉田製作所)撮像を行い、切縁から歯髄腔までの距離が 4 mm 以下となるように低速切断機(Isomet®, Buehler)にて歯冠切除を行った。次いで、マイクロ CT(SMX-100CT, 島津製作所)撮像を行い、切断面から歯髄腔までの距離を測定し、SL とした。その後、切断面を OCT(Santec OCT-2000®, Santec)にて撮像を行った。OCT 像による判定は、象牙質内部に歯髄腔が観察できない場合には「観察不可」、歯髄腔が観察できた場合には「観察可」とし、切断面から歯髄腔までの距離の測定を行い、OL とした。なお、切断面に歯髄腔が観察できる場合には「露髄」と判定した。OCT 撮像後、歯科用実体顕微鏡(OPMI® pico, Zeiss)を用い、切断面を拡大し、観察しながら 10 号 K ファイル(Zipperer)を用いて「ファイル挿入不可」「ファイル挿入可」を判定した。「ファイル挿入不可」と判定された場合には、切断面をさらに約 1mm 削除し、上記と同様にマイクロ CT・OCT・ファイル挿入判定を行った。これを各歯「ファイル挿入可」と判定されるまで繰り返し行った。

【結果】

根管までの距離 SL が 2mm 以上では 33 本中 30 本が観察不可、3 本が観察可、SL が 1mm 以上 2mm 未満では 25 本中 11 本が観察不可、14 本が観察可、SL が 1mm 未満では 30 本中 30 本が観察可、SL が 0mm では 29 本中 29 本が露髄と判定された。観察可と判定された SL の最大値は 2.39、観察不可と判定された SL の最小値は 1.33 であった。SL が 0.1mm であった試料 1 本でファイル挿入可と判定された、それ以外の試料では SL が正の数るときファイル挿入不可、SL が 0 のときファイル挿入可と判定された。SL と OL の相関係数は 0.65 となり、正の相関関係が認められた。

【考察】

OCT 撮像により、象牙質内部の歯髄腔の位置が正確に把握できれば、髄腔開拓時の穿孔や不必要な歯質切削を予防できるだけでなく、石灰化している根管口や、上顎大臼歯近心頬側根の 2 根管性など臨床的に発見が困難な根管探索への応用も期待できる。また、う蝕治療の際に偶発的な露髄を防ぐことができたり、AIPC 処置へ移行したり、歯髄保存の応用症例を広げることが期待される。

【結論】

OCT を用いることで象牙質内に覆われた歯髄腔を観察できることが示唆された。

マイクロフォーカスX線CT装置による下顎切歯根管形態の評価 (第1報)

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座
○西田太郎、勝海一郎

Evaluation of Root Canal Morphology in Mandibular Incisor by Micro-focus X-ray Device
Department of Endodontics & Operative Dentistry, The Nippon Dental University, School of Life
Dentistry at Tokyo
○Nishida Taro, Katsuumi Ichiroh

【研究目的】

下顎切歯は単根歯であるが、歯根が強度に偏平しており、唇舌的な根管の分岐や湾曲、さらには根尖分岐などが認められ、治療難度の高い歯種とされる。

本研究は、マイクロフォーカスX線CT装置を用い、連続的な断層撮影を行い、三次元像を構築後、下顎切歯の根管形態の詳細な分析を行った。

【材料及び方法】

実験にはヒト抜去下顎前歯 50 本を用いた。歯根外形を肉眼的に観察後、マイクロフォーカスX線CT装置 (ELE-SCAN, 日鉄エレックス) を用い、管電圧 80kV、管電流 70 μ A、スライス厚 52.9 μ m の条件にて、根尖から歯冠部までを連続的に断層撮影を行った。また、根尖部の詳細な画像を得るためにスライス厚 21.1 μ m、他同条件にて根尖部約 6 mm について追加撮影を行った。得られた断層像は画像処理ソフト (TRI/3D-BON, ラトックシステムエンジニアリング) により三次元構築を行い、根管の走行、分岐などの分析を行った。

根管の走行は、三次元構築した全体像を基に Weine の分類法により区分した。根管の湾曲度は、根管の長軸と根尖-根管湾曲点を結んだ線がなす角度から求めた。三次元構築した根尖部の断層像から、根尖孔の開口位置を尖端、頬側、舌側、近遠心側に分類した。根管は、唇舌方向と近遠心方向の最大幅径を根尖孔開口部、開口部から 1、2、3、4、5mm の各位置で計測した。根管の偏平度は最大近遠心径を最大唇舌径で除して、根尖孔開口部、開口部から 1、2、3、4、5mm の各位置で求めた。

【結果とまとめ】

根管の走行は、Weine の分類で I 型は 88% (n=44)、II 型は 10% (n=5)、III 型は 2% (n=1) 認めた。なお、III 型を示した試料は網状根管を呈していた。また、根尖分岐は 22% (n=11) で認められた。根尖分岐は 2 分岐が 7 歯、3 分岐が 3 歯、5 分岐が 1 歯認められた。

唇舌的に、湾曲が認められない根管が 15% (n=8)、湾曲度 10 度以下の弱い湾曲根管が 36% (n=19)、10 度から 30 度の中程度の湾曲根管が 48% (n=25) で、30 度以上の強度の湾曲根管はみられなかった。なお唇舌的に 2 か所で湾曲する根管を 2 歯認めた。近遠心的には、湾曲が認められない根管が 38% (n=20)、湾曲度 10 度以下の弱い湾曲根管が 38% (n=20)、10 度から 30 度の中程度の湾曲根管が 23% (n=12) で、30 度以上の強度の湾曲根管はみられなかった。なお、近遠心的に 2 か所で湾曲する根管を 2 歯認めた。

根尖孔の開口位置は、唇舌的に、歯根の先端付近に開口する歯が 30% (n=15)、唇側が 58% (n=29)、舌側が 12% (n=6) であった。また、近遠心的には、歯根の先端付近に開口する歯が 60% (n=30)、近遠心側が 40% (n=20) であった。

唇舌的根管幅径は根尖孔開口部で 0.40mm、開口部から 1mm : 0.44mm、2mm : 0.49mm、3mm : 0.60mm、4mm : 0.75mm、5mm : 0.90mm であった。また、近遠心的根管幅径は根尖孔開口部で 0.28mm、開口部から 1mm : 0.25mm、2mm : 0.27mm、3mm : 0.29mm、4mm : 0.32mm、5mm : 0.34mm であった。

根管の偏平度は根尖孔開口部で 0.78、開口部から 1mm : 0.64、2mm : 0.61、3mm : 0.56、4mm : 0.49、5mm : 0.43 であった。

本研究により下顎切歯根管形態の複雑性がうかがわれたが、今後、根尖孔の開口位置や分岐などについて詳細な検討を行う予定である。

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3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, Part3

Department of Endodontics & Operative Dentistry, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo

○Amano R, Katsuumi I

【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・第2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や湾曲度、根管の扁平度について分析を行った。その結果、根管は近遠心的に圧平され、側枝やS字状湾曲根管の存在など、上顎側切歯歯髓腔形態の複雑さが窺われた。今回は、根尖部の根管形態についてさらなる詳細な観察と分析を行った。

【材料および方法】

実験には、第1報・第2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、日鉄エレクトクス)を用い、管電圧80kV、管電流60 μ A、スライス厚16.9 μ mの条件で根尖側5mmの連続的な断層撮影を行った。得られた断層像は画像処理ソフト(TRI/3D-BON、ラトックシステムエンジニアリング)により三次元構築を行い、側枝・根尖分岐の分岐位置、根尖孔の位置と径、根尖狭窄部の形態について分析した。

1. 分岐位置については、根管の軸が垂直になるよう角度を調節し、側枝・根尖分岐ともに、分岐地点から根尖端までの垂直的な距離を求めた。また、根尖5mm以降の側枝については、第1報で構築した三次元画像を用いて観察を行った。

2. 三次元画像を頬舌・近遠心方向から観察し、根尖端から解剖学的根尖孔中央までの距離・根尖孔径・根管の軸と垂直に交わる根尖孔-根管径を測定し、さらに根尖側3mmの根管形態を観察し、〈はっきりした狭窄部が存在〉〈微弱的ながら狭窄部が存在〉〈狭窄部なし〉の3種に分類した。その際、根尖分岐している根管については、ファイルが最も挿入しやすいと思われる根管を用いて測定を行った。

【結果とまとめ】

1. 根尖端から分岐部までの距離

20歯中11歯、計22か所で分岐が見られ、その内根尖側1mm以内で分岐したものは9.1%、1~2mmでは50.0%、以下2~3mm(13.6%)、3~4mm(4.5%)、4~5mm(22.7%)となり、5mmより歯冠側では認められなかった。

2. 根尖孔の位置と直径、根尖狭窄部の形態

解剖学的根尖孔が根尖端から頬舌的に変位している歯は7歯で、変位した距離の平均は0.64mmであった。近遠心的に変位していた歯は19歯、変位した距離の平均は0.38mmであり、ほぼ根尖端付近で開口していた。

また、解剖学的根尖孔径の平均は頬舌径が0.50mm・近遠心径が0.45mm、根管の軸と垂直な根尖孔-根管径は頬舌径が0.43mm・近遠心径0.34mmとなり、ISO規格ファイルの35番・40番に相当することがわかった。

頬舌・近遠心方向から見た合計40の根管のうち、はっきりとした狭窄部が見られたのは15、微弱的な狭窄部が見られたのが12、狭窄部が見られなかったのが13根管であった。また頬舌・近遠心両方に狭窄部がみられた歯は8本(40%)、片方に見られたのは11本(55%)、狭窄部が見られなかったのは1本(5%)となり、作業長基準点の設定の難しさが窺われた。

歯科用コーンビーム CT 画像診断に苦慮した難治性根尖性歯周炎の一症例： 下顎骨隆起の影響

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座¹， 歯科放射線学講座²

○石塚恭子¹， 中田和彦¹， 内藤宗孝²， 柴田直樹¹， 今泉一郎¹， 有地榮一郎²， 中村 洋¹

A case report of difficulty in diagnostic imaging using dental cone-beam computed tomography for persistent apical periodontitis: Influence of mandibular bone torus.

Departments of Endodontics¹, Oral and Maxillofacial Radiology², School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○ Kyoko Ishizuka¹, Kazuhiko Nakata¹, Munetaka Naitoh², Naoki Shibata¹, Ichiro Imaizumi¹, Eiichiro Ariji², Hiroshi Nakamura¹

[緒言]

顎口腔顔面領域の様々な疾患に対する診断および治療における歯科用コーンビーム CT の有用性が数多く報告されている。歯科用コーンビーム CT は、3 次元的画像の撮影が可能であり、患部の精査が可能となるが、歯科用コーンビーム CT 画像の解析に際しては、正確な読影を必要とすることは言うまでもない。今回、患歯の周囲に大きな骨隆起が存在していたことから、歯科用コーンビーム CT 画像診断に苦慮した難治性根尖性歯周炎の症例を経験したので報告する。

[症例]

患者は 43 歳の女性。2012 年 1 月 21～22 日にかけて眠れない程の強い疼痛を下顎左側第一大臼歯部に自覚した。翌日、近在の歯科医院にて下顎左側第一大臼歯の全部鑄造冠を除去され、抗菌剤および解熱鎮痛消炎剤を処方された。しかし、症状の改善が認められず、1 月 24 日に精査加療を希望し本学歯学部附属病院口腔外科を受診した。口内法およびパノラマ X 線撮影および口腔内診査により左側下顎骨骨膜炎と診断を受け、3 日間抗菌剤を静脈点滴注射され、消炎処置を施された。その後、自発痛は治まったが同部に違和感が残っていたため、同歯の急性根尖性歯周炎に対する感染根管治療を当科にて開始した。垂直打診、頬側根尖部圧痛および頬側歯頸部歯肉の腫脹を認めた。頬側根分岐部のポケットは 5mm であった。メタルコアを除去しマイクロスコープ下にて破折の有無を確認したが、破折の特定には至らなかったため根管治療を続けた。根管治療を 4 回繰り返したが、頬側根尖部腫脹および頬側根尖部圧痛の改善は全く認められなかった。そこで、病変の広がり、根管数、根管の形態および根管の走行などの精査のために、歯科用コーンビーム CT (3DX マルチイメージマイクロ CT、モリタ社) を撮影した。その結果、近心根頬側に破折を疑う骨吸収像を認め、さらに、歯根嚢胞を疑う骨吸収像を認めた。同時に、患歯に隣接した歯牙様の不透過像を確認した。そこで、歯科放射線科医に助言を受けたところ、骨との連続性が不鮮明な歯牙様の形態を呈した不透過像との見解を得た。今後の治療方針について口腔外科医と協議したところ、2004 年～2007 年にかけて下顎左側第二大臼歯を原因歯とする左側下顎骨骨膜炎の既往もあるため、数年にわたる強い炎症による骨の分離が起きている可能性が高く、水平埋伏過剰歯では無いとの見解を得た。最終的に、根管治療での治癒の見込みは無く、患歯の抜歯および骨の搔爬が必要と判断して、患者に説明し同意を得た。骨への侵襲を最小限に抑えるために、分割抜歯を選択した。頬側歯肉を剥離したところ、下顎左側第二小臼歯の遠心部から下顎左側第二大臼歯の近心部にかけて大きな骨隆起が確認できた。患歯の近心根頬側からは歯冠大の歯根嚢胞を摘出した。舌側歯肉を剥離したが、舌側歯槽骨には異常所見は認められなかった。

[考察および結論]

今回の症例では、大きな骨隆起が歯科用コーンビーム CT 画像上において歯牙様の不透過像もしくは分離骨様に読影されることがわかった。抜歯後、実際の歯および骨の状態を確認してから改めて歯科用コーンビーム CT 画像を解析すると、骨の連続性をわずかに認める部分を確認できた。ハレーションによる歯科用コーンビーム CT のアーチファクトの影響は体表近くの硬組織で強く受けやすいため、本症例においても頬側皮質骨の位置の特定が困難となった。本症例のように下顎に大きな骨隆起を認める際には、患歯およびその周囲全体を十分に精査する必要があることが示唆された。

歯科保存領域におけるCone-Beam-CTによる活用—診断治療に有用であった3症例—
松本歯科大学歯科理工学講座¹ 松本歯科大学歯科放射線学講座² 松本歯科大学歯科保存学第2講座³
松本歯科大学歯科保存学第1講座⁴

○河瀬雄治¹, 内田啓一², 田口 明², 永沢 栄¹, 佐藤将洋³, 西田英作⁴, 窪川恵太⁴, 武藤昭紀⁴,
三木 学⁴, 海瀬聖仁⁴, 河合 悠⁴, 吉成伸夫⁴, 山本昭夫³, 笠原悦男³

**Application of Cone-Beam-CT in Conservative Dentistry
-Three cases useful for diagnostic treatment-**

Department of Dental Materials, Matsumoto Dental University¹

Department of Oral and Maxillofacial Radiology, Matsumoto Dental University²

Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University³

Department of Periodontology, Matsumoto Dental University⁴

○Yuji Kawase¹, Keiichi uchida², Akira Taguchi², Sakae Nagasawa¹, Masahiro Sato³, Eisaku Nishida⁴,
Keita Kubokawa⁴, Akinori Mutou⁴, Manabu Miki⁴, Kiyohito Kaise⁴, Yuu Kawai⁴, Nobuo Yoshinari⁴,
Akio Yamamoto³, Etsuo Kasahara³

【緒言】

一般の歯科診療における口内法エックス線写真やパノラマエックス線写真は撮影の投影方向が限定されており、像の重なりがおこり詳細な歯の形態や根管形態を検討することが困難なことが多く、口内法やパノラマ撮影法などの画像検査では矢状断面、水平断面における解剖学的位置関係や形態の検討は行えることができない。しかしながら Cone-Beam-CT (以下 CB-CT とする。)での画像検査では高解像度による3次元画像が得ることができ、歯科保存領域においてもその有用性は非常に高く、診断効果を発揮することから広く活用されてきている。今回われわれは、診断治療において CB-CT 有用であった3症例について画像と共に報告する。

【症例】

症例1：内部吸収の診断

55歳の女性。下顎左側第一大臼歯部の頰側の腫脹を主訴に来院。パノラマエックス線写真では、下顎左側第一大臼歯部の歯根膜腔拡大と近心根尖部に透過像と骨硬化像を認めた。CB-CT画像では、近心根に顕著な内部吸収と根尖部周囲に骨硬化を伴う根尖病変を認めた。保存不可能と判断し抜去を行い経過観察中である。

症例2：下顎管の診断

歳の女性。下顎左側臼歯部の咬合時疼痛を主訴に来院。口内法エックス線写真では、下顎左側第二大臼歯では歯根膜腔拡大を認め、近心根の遠心方向への湾曲を認めた。CB-CT画像では、下顎左側第二大臼歯部近心根は舌側方向へ湾曲しており根尖病変を認める。下顎管は分枝を認め、さらに分枝しており下顎左側第二大臼歯部の根尖病変との連続性を認めた。マイクロスコープによる根管拡大・形成を行い経過観察中である。

症例3：根管形態の診断

12歳の男児。上顎前歯部の口蓋裂部および齶蝕の精査目的にて来院。咬合法エックス線写真では、側切歯は矮小歯であり、上顎左側中切歯、側切歯部に骨欠損を認めた。隣接面部には齶蝕による透過像は認めなかった。CB-CT画像では、上顎左側中切歯部では2根2根管の形態を認めた。また齶蝕や根尖病変を思わせる所見は認めなかった。唇顎口蓋裂による顎口腔機能の治療を優先するため、定期的な経過観察中である。

【考察・まとめ】

歯内療法領域においても CB-CT による歯内保存治療や歯周治療における診断や治療方針の決定あるいは経過観察などの広く使用されようになってきている。CB-CT を活用することは、被曝線量も少なく高解像度の画像を得られることや二次元的な口内法エックス線写真やパノラマエックス線写真からは得られなかった、歯の状態や形態あるいは位置関係や解剖学的な構造物の三次元的な関係を把握できるため、歯内療法や歯周療法においても重要な検査法であると考えられた。

上顎洞底に大きな膨隆を伴う第一大臼歯の根尖病巣の一症例

日本歯科大学新潟病院 1), 水沼歯科医院 2)
○塩沢恵美 1), 横山剛之 1), 水沼秀樹 2), 江面 晃 1)

A Treatment Case of First Molar Periapical Lesion with a Large Swelling at the Bottom of Maxillary Sinus.

The Nippon Dental Univ. Niigata Hospital, Mizunuma Dental Clinic
○SHIOZAWA Megumi, YOKOYAMA Goshi, MIZUNUMA Hideki, EZURA Akira

< 緒言 >

慢性の根尖性歯周疾患は口腔内の自覚症状は少なく、鼻症状や頬部の違和感で受診し、判明することがある。また感冒などで一時増悪した際に頭痛・頭重感などの症状から他科医療機関を受診して歯性上顎洞炎を疑われることが多い。

我々は平成 22 年度第 132 回春季保存学会にて下顎の著明な根尖病巣を有した大臼歯の保存症例について報告した。今回、無症状で経過していたが全部鑄造冠脱離を主訴に受診した際に上顎洞底が挙上する大きな根尖病巣が認められた左上顎第一大臼歯の根管治療を経験したので報告する。

< 患者情報 >

患者：20 歳代 女性

主訴：左側上顎第一大臼歯の全部鑄造冠脱離

経過：14 歳頃、う蝕のため根管処置行い、歯冠修復を全部鑄造冠で行った。

咬合時の違和感や鼻症状などはなく、日常生活に支障となる症状はみとめなかった。

X 線所見：左上顎第二小臼歯部から第二大臼歯部までの広範囲な上顎洞底の挙上がみられ、上顎洞内にアスリガラス状の陰影を認める。CT 所見では、左上顎洞内に母指頭大の不透過像を認める。

診断名：左側上顎第一大臼歯起因歯根嚢胞

治療経過：初回に根管充填剤除去を行ったところ、口蓋根より大量の排膿を認めた。通法に従い K ファイルにて穿通、55 号まで拡大後 CP 貼薬とし、ペニシリン系抗菌薬を 3 日分処方した。2 回目(1 週間後)に疼痛などは消失したが、口蓋根より拍動性の大量の漿液性滲出液を認めたため CP を貼薬した。3 回目(3 週間後)、4 回目(4 週間後)では少量の漿液性滲出液を認めたため引き続き CP 貼薬とした。しかし、その他の自覚的、他覚的症候は認められなかった。

5 回目(6 週間後)には漿液性滲出液が微量であったため貼薬を FC に変更し、6 回目(8 週間後)に根管内最近嫌気培養試験(以下 S-培)を行った。7 回目(9 週間後)の S-培結果は陽性であったため、再度 S-培を行うこととし、FC 貼薬とした。8 回目(10 週間後)には S-培結果で根管の無菌性を確認したため G ポイントとキャナルス N にて側方加圧充填を行った。

約 1 年後、経過観察のため CT 撮影おこなったところ、嚢胞の縮小と骨の造成を認め経過良好である。

< 考察 >

本症例は根尖病巣により著明な膨隆を有するにもかかわらず、歯性上顎洞炎を疑う一般的な鼻症状や頭痛といった所見が認められなかった。上顎第一大臼歯口蓋根の場合、約 24.0%の割合で上顎洞内に根の突出がみられるといわれており、歯性上顎洞炎の起因歯になりやすいとされている。今回の歯根嚢胞の原因は根尖部の再感染だと考えられる。本症例のような上顎洞内に著明な膨隆を示す根尖病巣を有する大臼歯では、歯科的にも耳鼻科的にも外科処置が第一選択となることが多いが、本症例のように通法に従った根管治療で保存可能なことが示唆された。

下顎前歯部の広範囲に認められた歯根嚢胞の一症例

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

○ 二宮雅美, 生田貴久, 永田俊彦

A Case Report of Expanded Radicular Cyst in Mandible Anterior Teeth

Department of Periodontology and Endodontology,

Institute of Health Biosciences, University of Tokushima Graduate School

○ NINOMIYA Masami, IKUTA Takahisa, NAGATA Toshihiko

【緒言】

歯根嚢胞は、慢性根尖性歯周炎に続発して発症する歯源性嚢胞の一種であり、顎骨内に生じる嚢胞として発症頻度が一番高い。そのほとんどが無症状で経過するため、局所の歯肉腫脹や感染による疼痛が出てはじめて自覚されることが多い。一方、画像診断で歯根嚢胞と診断された症例のうち、約1%は歯源性腫瘍であったという報告(日本口腔検査学会雑誌, 2(1), 50-53, 2010)があることから、病理検査と併せて確定診断することが重要である。

今回我々は、徳島大学病院歯科第二保存科を受診した患者で、右側下顎中切歯の慢性根尖性歯周炎が原因となり、下顎正中部の広範囲にわたって歯根嚢胞が形成されている症例に遭遇した。その治療経過を含めて報告する。

【症例】

患者は50歳女性。2011年3月に下顎前歯部の歯肉腫脹、圧痛を自覚して本院を受診した。口腔内所見より、42~32根尖相当部の唇側歯肉に弾性硬の腫脹が認められ、波動、圧痛も認められた。患部を穿刺すると、褐色の漿液性内容物が吸引できた。X線写真より、下顎歯槽部を中心に43近心部から32遠心部までの広範囲に及ぶ境界明瞭な拇指頭大のX線透過像が認められた。また、41は根充歯であったが、43、42、31、32は根管治療の痕跡はなかった。CT画像では、病巣により唇舌側皮質骨が菲薄化し、特に唇側皮質骨は42遠心部から32遠心部まで広く欠損している像が認められた。しかし、歯髄診断の結果では、失活していたのは41、31の2歯だけであった。患部に外傷などの既往はない。全身既往歴は、2003年から高血圧と甲状腺機能低下症で投薬治療を受けており、2005年に子宮頸部嚢胞の手術歴(現在は経過観察中)がある。

【治療経過】

術前に病巣部の部分生検を行った結果、変性した重層扁平上皮と上皮下にリンパ球などの炎症性細胞浸潤や肉芽組織、線維性組織が認められたことから、歯根嚢胞の診断を得た。そのため、失活歯である41、31の根管治療後に嚢胞摘出術を行うこととした。41、31の根管治療時に、31からの排膿は認められなかったが、41から褐色の漿液性の排膿が毎回、多量に認められた。2011年5月に41、31の根管充填を行い、同日に鎮静麻酔下にて嚢胞摘出術を行った。歯肉弁を剥離すると、42~32部にかけて唇側皮質骨は欠損しており、鶏卵大より少し大きめの嚢胞が認められた。骨面と嚢胞との境界を剥離子にて確認しながら注意深く嚢胞を摘出し、病巣に接していた41、31の根尖を切除して接着性レジンで封鎖した後、歯肉弁を復位に戻して縫合した。術後数日は患部の軽度疼痛や腫脹感があったが、1週間後には症状は消失した。その後の術後経過は良好であり、術後3か月目のX線写真では、術部周辺より歯槽骨の再生像が認められ病巣の縮小傾向が確認された。現在、術後9か月以上経過するが、歯槽骨の再生と病巣の縮小傾向はさらに進み、再発所見は確認されていない。

【まとめ】

本症例は、当初、病巣部の大きさが下顎正中部の広範囲に及んでいたため、歯源性腫瘍の可能性も考えられたが、X線写真と病理検査の結果から、41の慢性根尖性歯周炎が進展して生じた歯根嚢胞の症例と診断した。問診から、41の根管治療を受けた時期が3年前とのことから、自覚症状がないまま数年で病巣が大きく進行していったものと推測された。嚢胞摘出術と歯根端切除により原因歯である41を抜歯しないで保存処置を図ったため、再発の可能性もあり、今後も引き続き長期的経過観察を行っていく予定である。

歯内歯 (Oehlers の分類 Type3) と根未完成外傷歯にロールポイント法を応用した 2 症例

大阪歯科大学 口腔治療学講座

○池永英彰、三宅将太、藤平智広、島銀一郎、林宏行

Dens in dente and immature tooth obturated by rolled gutta-percha cone technique

Department of Endodontics, Osaka Dental University

○IKENAGA Hideaki, MIYAKE Syota, FUJIHIRA Tomohiro, HATA Gin-ichiro, HAYASHI Hiroyuki

【緒言】

太い根管を緊密に充填する目的で、これまでさまざまな方法が考えられてきた。近年各種の根管充填用器材や装置の開発に伴い、専用のガッタパーチャ材を用いた新たな根管充填法が行われている。その中でロールポイント法は、ガッタパーチャを寄り合わせて根管の太さにあうポイントを作製し太い根管に応用する充填法であり、あまり一般的な方法ではないとされてきた。今回我々は、太い根管を有する歯内歯および外傷歯の根管にロールポイント法で作製したポイントをさらに火炎上で軟化しそれぞれの根管に適合させた自作のポイントを用い、根管充填を行った結果、臨床的に良好な結果を得たので、ここに報告する。

【症例】

(症例 1) 患者は 38 歳女性。10 年前に歯根嚢胞の診断で根尖部の外科的処置を受けた。平成 22 年 4 月に頬側歯肉に腫脹を認め、再度上顎左側側切歯と犬歯の根尖搔爬および歯根端切除を行ったが頬側歯肉の腫脹が消失せず、同年 10 月紹介され当科に依頼された。エックス線検査の結果、上顎左側犬歯が原因歯であり、歯内歯 (Oehlers の分類 Type3) であることが明らかとなった。根管と陥入部の立体的構造および陥入部の封鎖を確認するために 3DX 撮影を行った結果、根管の形態は複雑であり根尖が大きく開いていること、根管と陥入部は完全に分離しており、陥入部の根尖側の開口部は緊密に封鎖されていることが確認された。3DX の診断結果に基づいて、根管は根尖の緊密な封鎖を考慮した感染根管治療を行うこととし、陥入部は開口部の緊密な封鎖が確認されたため、再治療は行わないと決定した。感染根管治療を開始、根管充填材を除去、根管通過法を行うと瘻孔から薬液の溢出が確認された。練板上で加熱したスパチュラを用い加熱軟化させながら No. 140 のポイントを 3 本より合わせ作製したポイントを用い、再度加熱し適度に軟化し根管に挿入・除去を 2、3 度行い、根管形態に合わせて調整した自作のポイントと水酸化カルシウム系シーラーを用いた側方加圧法にて根管充填を行った。2 年後の経過観察では、臨床症状はなく、経過良好であった。

(症例 2) 患者は 19 歳女性。上顎左側中切歯の根尖部歯肉の腫脹・圧痛を主訴に当科に依頼され来院した。患者は、小学 6 年生の時てんかんの発作で転倒、上顎左側中切歯を打撲、近医にて歯冠形態修正を受けた。当科来院 1 か月前に上顎左側中切歯の根尖部歯肉の腫脹を自覚し開業医を受診、エックス線検査によって根未完成歯と診断、専門医による根管治療が必要ため、髄室開拓・根管開放し、以後の治療を当科に依頼された。紹介医における初診時エックス線検査では、根管は太く、根管壁も極薄の根未完成歯で、根尖部には直径約 10mm の透過像が認められた。症例 1 と同様の方法で作製した自家製メインポイントと水酸化カルシウム系シーラーを用いて側方加圧法にて、根管充填を行った。エックス線検査の結果、作業長は適正であったが、根尖 1/4 部の遠心根管壁に死腔と思われる空隙の存在が疑われたが概ね良好な根管充填であった。1 年 6 か月後の経過観察では、病変内に歯槽骨の添加が確認でき、臨床症状はなく、経過良好であった。

【まとめ】

今回、太い根管を有する歯内歯と打撲歯の根管充填に、ロールポイント法で作製したポイントを軟化させて根管に適合させた適合性の良い調整したポイントを使用して緊密な根管充填を行い、臨床的に良好な結果を得た。症例 2 では、3DX によって 3 次元的構造を把握したうえで治療法を決定し、経過観察には症例 1、2 ともに 3DX 撮影を行い、根尖病変の治癒状況とともに根管充填の緊密性を再確認した。近年熱可塑性ガッタパーチャやMTAを用いた新たな根管充填法が行われており、太い根管にもそれら根管充填法が応用されている中で、今回行ったロールポイント法で作製したポイントを軟化させ根管に適合させ使用する方法は、今後根管充填用シーラーの選択、根管充填法の改良を再考する余地はあるが、臨床的には、良好な結果が得られ、有効な方法であることが示唆された。

根管穿孔の処置に関する研究

鶴見大学歯学部 附属病院総合歯科 2、歯周病学講座*
○山口博康、矢作保澄、市古敬史、小林一行*、八島章博*、高水正明
A study about treatment of root perforation

Tsurumi University School of Dental Medicine
Department of General Dentistry and Clinical Education.
Department of Periodontics*

○YAMAGUCHI Hiroyasu, YAHAGI Hozumi, ICHIKO Takashi, KOBAYASHI Kazuyuki*, YASHIMA Akihiro*,
TAKAMIZU Masaaki.

感染根管治療中の穿孔は、髓床底部の石灰化した根管口の探索中あるいは根管内の残存歯質の厚さが把握できず感染象牙質除去中に生じ、これらの確実な診断および修復法については構築されていない。

穿孔部は、臨床的に直視が困難であり、陈旧性の症例では肉芽が根管内に入り込むため、処置には出血が伴い確実な閉鎖操作が困難である。近年、マイクロスコープ観察下による診療精度が向上し、レーザー治療による穿孔部の止血、組織蒸散、さらに修復操作が可能となった。そこで本調査では穿孔の診断、治療術式およびその予後についての評価規準を構築する目的で、鶴見大学歯学部附属病院総合歯科 2 において認められた症例についてその結果を報告する。

術式

髓床底、根管壁穿孔部位は山口らのクラス 1 に従って分類した¹⁾。穿孔部の診断および処置について、拡大鏡またはマイクロスコープを使用した。出血、肉芽の認められる症例については高出力レーザー (Nd:YAG、半導体) を使用し止血、肉芽を蒸散した。

接着操作における処置法および使用した材料については各症例ごとに記録した。

<クラス 1>: 髓床底または根管壁でクラックおよび穿孔が認められ、周囲組織の交通が生じている症例

a: 髓床底もしくは歯冠部のみが原因となっている症例

b: 根管壁のみが原因となっている症例

c: 髓床底と根管壁が連続して原因となっている症例

結果

26 症例中、大白歯が 18 歯、小臼歯 5 歯、前歯 3 歯であった。クラス 1-a (n=6)、クラス 1-b (n=16)、クラス 1-c (n=4) であった。出血、肉芽が伴う症例においては高出力レーザーを用いて肉芽の蒸散、止血後、21 症例ではスーパーボンド、3 症例においては低粘性レジン、1 症例で MT A、1 症例で垂直加圧根管充填を使用した。

考察

根管穿孔部の封鎖法ではマイクロスコープを使用することで確実なマージンの設定、止血、修復が可能となることから有効と考えられる。肉芽組織除去には、高出力レーザーによる確実な止血、封鎖操作が得られることが分った。根管穿孔の処置では、マイクロスコープおよびレーザー照射により良好に経過すると考えられ、今後術後経過について報告する。

参考文献:

- 1) 山口ら 8020 研究報告書 105-115, 2010.

本研究は科学技術研究費 基礎研究 (A): 課題番号 21249091 に基づいて行われた。

歯内療法と三叉神経痛

日本歯科大学附属病院総合診療科、生命歯学部歯科保存学講座*
○磯田浩太、北村和夫、石井隆資、山崎孝子、阿川透久、清水章矢、山添悠貴、勝海一郎*

Endodontics and trigeminal neuralgia

Division of General Dentistry, The Nippon Dental Univ. Hospital, Department of Endodontics & Operative Dentistry*, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○ISODA K, KITAMURA K, ISHII T, YAMAZAKI T, AGAWA T, SHIMIZU F, YAMAZOE Y, KATSUUMI I*

【はじめに】

三叉神経痛は電撃痛様発作や瞬間的疼痛、トリガーポイントの存在など特徴的な所見を示すことが知られている。しかしながら、なかには明らかな所見を示さず、適切な診断・治療を受けていない症例が多数存在する。今回我々は、歯内疾患の症状が優先されて診断に苦渋した三叉神経痛の一例に遭遇し、興味ある知見を得たので報告する。

【症例】

患者：54歳女性

主訴：上顎右側小臼歯部の違和感

現病歴：数ヶ月前より上顎右側小臼歯部の違和感及び右顔面部の痺れを自覚し、X-5年、当科受診となった。当院口腔外科へ三叉神経痛疑いにて対診を行うも、典型的症状でないため否定された。再度口腔内を精査し、保存不可と判断された上顎右側第二小臼歯の抜歯後、上顎右側第一小臼歯の抜髄処置を施行するも疼痛は消失せず、X-4年、患者は受診を中断した。中断時に大きな症状の変化はみられなかったが、X年、同部に自発痛及び咬合痛が出現したため、当科再受診となった。

既往歴：特記事項なし

家族歴：特記事項なし

現症：上顎右側小臼歯部に強い自発痛を訴え、上顎右側第一小臼歯に顕著な打診痛及び咬合痛を認める。患歯は、仮封用セメントで封鎖されており、根管には汚染された綿栓が認められた。また、X線検査の結果、同歯根尖部に境界明瞭な透過像を認める。

診断：上顎右側第一小臼歯の急性化膿性根尖性歯周炎

【治療及び経過】

X年4月より通法どおり感染根管治療を開始し、X年6月、打診痛(－)咬合痛(－)根管感染所見(－)となり側方加圧充填法により根管充填を施行した。

その後、強い自発痛は消退したものの、5年前から自覚している右顔面部の軽度の痺れは依然自覚していたが、根管治療後の違和感として数か月間経過観察を行った。しかしながら、右側頬部接触時の瞬間的疼痛(VAS30/100)を認めため、再考察を行い右側三叉神経痛第Ⅱ枝と診断しカルバマゼピン100mg/day投与を開始したところ疼痛症状は消退した。現在100mg/dayにてコントロール良好である。

【考察】

本症例においては、急性化膿性根尖性歯周炎と三叉神経痛が併発したものと考えられる。急性化膿性根尖性歯周炎により三叉神経痛症状がマスクされ、さらに症状の原因は歯科疾患であるとの先入観が強かったことから三叉神経痛の発見が遅くなってしまったものと考えられる。三叉神経痛患者の多くは最初に歯科を受診することが多いとの報告があり、それは歯科的原因を除外するために適切なことであると考えられる。しかし、口腔顔面部疼痛の原因を歯のみに照準を合わせ、原因が特定できないまま不用意な歯科治療を施行してしまうケースも少なくないとの報告もある。初期の段階において、特徴的所見がみられない三叉神経痛も存在するため、より注意深い診査と継続した経過観察の必要性が再認識された。今後、歯内療法と三叉神経痛の関わり方についてさらに検討を加える予定である。

慢性根尖性歯周炎に起因した口腔顔面領域における疼痛異常の神経機構

¹⁾ 日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座

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

○清水 康平^{1,2)}, 林 誠^{1,2)}, 小森 規雄^{1,2)}, 矢崎 直香¹⁾, 小木曾 文内^{1,2)}

Mechanisms of orofacial hyperalgesia in periapical periodontitis

¹⁾ Departments of Endodontics, Nihon University School of Dentistry,

²⁾ Divisions of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○Kohei Shimizu^{1,2)}, Makoto Hayashi^{1,2)}, Norio Komori^{1,2)}, Naoka Yazaki¹⁾ and Bunnai Ogiso^{1,2)}

【研究目的】 歯髄炎や慢性根尖性歯周炎を発症した患者は様々な疼痛表現を示すが、しばしば鈍痛や口腔顔面の違和感などの異常感覚を訴える。また治療終了後、病因が取り除かれたにもかかわらず、症状が完全に消失しない症例も存在する。このような症例は、これまで患者の心因的要因、あるいは不十分な治療によるものと考えられてきた。しかしながら、最近の疼痛研究からこのような症状を誘導する一つの要因として、末梢あるいは中枢神経系の興奮性異常があると考えられるようになった。すなわち、末梢神経が感作されて神経の活動性増強が長時間持続すると、中枢神経系の活動性亢進が起こり、ついで中枢神経系が感作されて結果的に異常疼痛が発症すると考えられているが、この発症機構に関しては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、慢性根尖性歯周炎発症時における顎顔面組織の侵害刺激に対する疼痛変化を検索することにより、異所性疼痛異常の発現機構の一端を解明し、異所性疼痛発症の中枢処理機構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】 SD系雄性ラット(8~9w)をisoflurane(1.0~2.0%)で麻酔した後、右側上顎第一臼歯歯髄をカーバイトパーにて露髄後、Complete Freund's adjuvant(CFA)に浸漬したデンタルペーパーポイントの先端2mmを歯髄腔に刺入し、グラスアイオノマーセメントにて仮封を行った(CFA群)。同様にsalineを浸漬したポイントを刺入した群をVehicle群とした。その後、同部位を*in vivo* Micro X-ray CT System R_mCT(R_mCT, Rigaku)にて断層撮影を行い、根尖部骨欠損の拡大状態における経時的変化を三次元的に観察した。また、歯髄腔内CFA投与後、同歯相当部の顔面領域における機械あるいは熱刺激に対する逃避閾値の経時的変化を検索した。さらに、歯髄腔内CFA投与後3日と6週において、化学的刺激による顔面領域の痛覚過敏の変化を検索するため、3mM カプサイシン100 μ lを、CFAポイントを刺入した歯髄と同側の咬筋に投与し、同側顎二腹筋前腹から筋放電量を記録し、顎反射の亢進を判定した。

【結果】 断層撮影像から根尖部における骨欠損の拡大はCFA投与後6週付近でピークに達していることが確認された。機械刺激に対する逃避閾値は、歯髄腔内CFA投与後1日から3日において、CFA群でVehicle群と比較して有意な低下を示していたが、投与後7日目でどの群も同程度の値まで回復した。熱刺激に対する逃避閾値は、歯髄腔内CFA投与後3日から6週以上にわたって有意な低下を示し、その回復は認められなかった。同側咬筋へのカプサイシン投与により反射的に誘発される顎二腹筋活動は、歯髄腔投与後3日あるいは6週ともに、CFA群においてVehicle群と比較して有意に大きい値を示していた。また、その筋放電の持続時間は歯髄腔CFA投与後3日では約1分間程度であったのに対し、6週では約5分間の持続時間の延長が認められた。

【考察および結論】 以上より、ラット臼歯CFA投与によって歯髄炎から根尖性歯周炎が誘導される過程で、CFA投与後1日から3日において顔面領域の機械および熱刺激に対する逃避閾値の有意な低下が認められたことから、この時期には同領域に異所性のmechanical allodyniaおよびhyperalgesiaが発症した可能性があると考えられた。一方、根尖部骨欠損が顕著であった時期、すなわち歯髄腔内CFAポイント刺入後6週では、同側咬筋へのカプサイシン投与によって誘導される反射性顎二腹筋活動の有意な亢進が認められたことから、根尖性歯周炎が発症することにより、顔面領域に異所性のhyperalgesiaが引き起こされた可能性があると考えられた。以上より、歯髄炎から根尖性歯周炎が誘導される過程では異所性疼痛発症には異なる中枢処理機構が存在していると考えられた。

ガッタパーチャ漏出液が好中球機能に及ぼす影響

日本歯科大学新潟生命歯学部 微生物学講座¹、新潟病院総合診療科²
○葛城啓彰¹、貝津 徹²、塩沢恵美²、江面晃²

The effect of Gutta-percha leakage fluid on PMN function
Dept. of Microbiology¹, Comprehensive Dental Care Unit²
Nippon Dental University, school at Niigata
○KATSURAGI Hiroaki, KAIZU Tooru, SHIOZAWA Emi, EZURA Akira

【目的】 ガッタパーチャポイントのチェアサイドでの滅菌法の検討過程でガッタパーチャ自身からの溶出成分が周囲組織に影響を及ぼす可能性が示唆されたため、その細胞刺激作用について好中球を用いて検討することを目的とした。

【方法】

1. ガッタパーチャポイントには、現在、日本で流通している代表的5種類のガッタパーチャポイント#50を用い、37°C超純水中に各1本/ml、24時間静置し、ガッタパーチャ漏出液とした。
2. 細胞毒性試験
ガッタパーチャ漏出液の細胞毒性を継代培養した3種類の株化細胞(L929細胞、3T3細胞、KB細胞)について、Almar blue(Invitrogen, CO.Carlsbad CA)法を用いて行いFluoroskan Ascent F1(大日本製薬、大阪)で計測した。
3. 好中球の分離
実験へのインフォームドコンセントを得た健康者ヒト末梢血より静脈血を採取し、ポリモルフオペレップ(コスモバイオ、東京)を用い比重遠心法にて好中球を分離し、リン酸緩衝液(PBS)にて3回洗浄後、ハンクス緩衝液(HBSS、Sigma)にて細胞数を 1×10^7 /ml調整し好中球の機能測定実験に用いた。
4. 好中球機能の測定
好中球機能の測定には、食細胞機能検査用マイクロビーズ(TORAY, 東京)を用いた。計測はルミホトメーターTD4000およびFluoroskan Ascent C1を用いて行った。好中球の食細胞機能反応系にガッタパーチャ漏出液を1~25w/w%になるように添加し、コントロール群(ガッタパーチャ漏出液無添加群)と比較検討した。活性酸素産生測定後、塗沫標本を作製し、乾燥・固定後、ギムザ染色を行い好中球の貪食率・貪食数を計測した。
5. ガッタパーチャ漏出液のICPS-7500分析
本学先端研究センターにてガッタパーチャ漏出液の誘導結合プラズマ(Inductively Coupled Plasma)分析をICPS-7500(島津製作所、東京)にて実行した。

【結果】

1. 細胞毒性効果
ガッタパーチャ抽出液は1~50w/w%の範囲で細胞毒性を示さなかった。この結果に基づき、好中球の機能測定実験に用いるガッタパーチャ抽出液の濃度を1~25w/w%とした。
2. 好中球機能に及ぼす影響
ガッタパーチャ抽出液は、1~25%で濃度依存的に好中球からの活性酸素産生を増加させた。一方、好中球の貪食率・貪食数には影響を与えなかった。
3. ICP分析結果
ICPS分析の結果、ガッタパーチャ漏出液中に1.6~1.8ppmの亜鉛を検出した。

【考察】

ガッタパーチャは生物学的安定性が高い材料ではあるが、その漏出液は、細胞毒性はないと考えられるが、細胞刺激効果があり好中球からの活性酸素産生を増強する効果が認められた。この結果は、根管充填後の術後疼痛や炎症発現に関与しているものと考えられる。

CFA 誘導性歯髄炎により発症する舌の機械痛覚過敏に対する Toll-like Receptor4の関与

¹⁾日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座

²⁾日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門

○大原 絹代^{1),2)}, 清水 康平^{1),2)}, 武市 収^{1),2)}, 鶴町 保^{1),2)}, 會田 泰代¹⁾, 小木曾 文内^{1),2)}

Toll-like receptor 4 in the trigeminal sensory neurons is involved in tongue-referred pain following tooth pulp inflammation

¹⁾Departments of Endodontics, Nihon University School of Dentistry,

²⁾Divisions of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○Kinuyo Ohara¹⁾²⁾, Kohei Shimizu¹⁾²⁾, Osamu Takeichi¹⁾²⁾, Tamotsu Tsurumachi¹⁾²⁾,
Yasuyo Aida¹⁾ and Bunnai Ogiso¹⁾²⁾

【研究目的】歯髄に炎症が引き起こされると、歯痛だけでなく顔面や舌の痛みを発症する症例に遭遇することがあるがそのメカニズムは明らかでない。近年、三叉神経節(TG)の衛星細胞や神経細胞に発現する Toll-like receptor(TLR)が神経の興奮性変調に重要な役割を果たしていることがわかってきたが、その神経機構に関しては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、歯髄炎によって舌に引き起こされる異所性疼痛に対する TLR4 の役割を解明することを目的とした。

【材料及び方法】SD 系雄性ラット(9w)の左側下顎第一臼歯を露髄させ、歯髄を Complete Freund's adjuvant (CFA)にて刺激後仮封し、CFA 誘導性歯髄炎モデルを作製した。歯髄処置前から処置後 21 日目まで、浅麻酔下にて左側舌背部に熱あるいは機械刺激を与え、頭部引っ込み反射閾値を測定した。歯髄処置後 3 日目に同モデルラットを灌流固定した後、TG における TLR4 発現を免疫組織学的手法にて解析した。さらに、歯髄処置後 TLR4 アンタゴニスト(LPS-RS)を 3 日間 TG 内へ持続投与し、舌への熱刺激あるいは機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値および TG における TLR4 発現を解析した。また、舌外側部に逆行性トレーサーである FluoroGold(FG)を 0.5 μ l 投与し、舌を支配する TG 細胞における TLR4 発現についても解析した。

【結果】CFA 処置後、舌への機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値が低下したが、熱刺激に対する頭部引っ込み反射閾値に変化は認められなかった。また、免疫組織化学的に TG 細胞において TLR4 発現が観察され、CFA 処置後 LPS-RS の三叉神経節内への持続投与により、舌への機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値の低下が抑制された。また、FG によってラベルされた TG 細胞および FG 非陽性細胞において TLR4 発現が認められた。

【考察及び結論】以上の結果から、歯髄の炎症により活動性を増した TG 細胞は、舌を支配する TG 細胞に対して直接的に、あるいは衛星細胞を介して興奮性の亢進を誘導する可能性が示された。さらに、TG 内における興奮性の伝播においては、TG 細胞に発現した TLR4 が関与することが明らかになった。

ブタ下顎第1後臼歯歯根形成初期の免疫組織学的観察

1) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座
2) 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学
○新井恭子、山田理絵、北島佳代子、松田浩一郎、五十嵐 勝
Immunohistochemical observation of the initial formation

of the porcine mandibular first molar tooth

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

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

○ARAI Kyoko¹⁾, YAMADA Rie²⁾, KITAJIMA Kayoko¹⁾, MATSUDA Koichiro²⁾ and IGARASHI Masaru¹⁾

【緒言】

歯は、外胚葉性間葉組織由来の細胞から成る歯胚によって形成される。歯胚はエナメル器、歯乳頭、歯小囊の3つに分けられ、エナメル器由来のヘルトウィッチ上皮鞘(HES)が歯根形成に大きく関与している。上皮鞘は内外エナメル上皮が重なった二重構造を呈しており、その上皮層の内層に接する歯乳頭由来の間葉細胞は、上皮の誘導によって象牙芽細胞に分化し歯根象牙質の形成が始まる。歯根象牙質の形成が進行するに伴い象牙質を誘導する役割の終了したHESの上皮細胞は離散し、一部は網目状に残存して歯根膜の中に小さな細胞塊となり、この構造はMalassezの上皮残遺と呼ばれる。第133回本大会において、五十嵐らは、生後6か月のブタ下顎第1後臼歯のHESから得られた上皮様細胞を用いて三次元培養を行い、上皮細胞の分化に伴う変化について検討し、ブタ歯肉の上皮細胞と比較して組織構造や免疫応答において異なることを発表した。今回われわれは、同時期のブタ下顎第1後臼歯の歯胚を用いて厚さ2μmのパラフィン連続切片を作製し、HESを含む歯根形成部の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、骨削後に顎骨内に埋伏している下顎第1後臼歯を摘出した。直ちに10%中性ホルマリン液で固定し、EDTA溶液で脱灰後にパラフィン包埋を行った。川本法によるパラフィン切片用の専用粘着フィルムを用いて厚さ2μmの連続切片を作製し、HE染色、アザン染色および免疫染色を行った。免疫染色に用いた切片は、パラフィン切片の抗体活性を高めるためにImmunosaver(日新EM社)で抗原賦活処理をした後、2.5%ウマ血清にてインキュベートし、Cytokeratin19(CK19)、Involcrin(InV)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施した後、ヘマトキシリンにて対比染色を行った。

【結果および考察】

薄切切片を作製する際に川本法を用いることで、形態が正確に保たれた薄い2μmの切片を作製することができ、HES部の形態をHE染色にて確認した。アザン染色では、HESは赤く染色され、歯根部歯髓の外胚葉性間葉細胞がHESに集まり象牙芽細胞へ分化し、歯根象牙質形成が始まる像が観察できた。免疫染色では、HES部のCK19の発現はわずかでInVの発現は明らかではなかったが、HESへ移行する部分のエナメル上皮では、歯根象牙質が形成している部位にCK19の発現が認められInVの発現はわずかにみられた。象牙質形成が開始している部位の象牙芽細胞では、InVの発現がみられた。

【結論】

ブタ下顎第1後臼歯の歯根形成部では、CK19の発現がHESではわずかに、HESへ移行する部位のエナメル上皮では明らかに発現が認められた。今後は、更に細胞の特性を明らかにするとともに、歯根部の上皮細胞が歯肉組織の三次元培養と比較し分化機構の解明に役立てていくつもりである。

Dentin Sialophosphoprotein 機能領域同定を目的とした改変型組み換えタンパクの作製

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, 西村 英紀

The generation of modified recombinant DSPP proteins for exploring the functional domains.

Department of Dental Science for Health Promotion Division of Cervico-Gnathostomatology

Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences

○Seiji Kobuke, Shigeki Suzuki, Fusanori Nishimura

<研究目的>象牙質や骨組織を構成する有機質は主にI型を主とするコラーゲンと種々の非コラーゲン性タンパク質よりなり、これらタンパク質が協調的に作用することにより石灰化が惹起される。Dentin sialophosphoprotein (DSPP) は象牙質に最も多量に存在する非コラーゲン性タンパク質で、骨組織にも発現を認める。ヒト DSPP 遺伝子異常がヒト象牙質形成不全症を引き起こすこと、更に Dspp 遺伝子欠損マウスにおいても同様の表現型を示すことから DSPP が硬組織形成において重要な役割を果たすことが明らかとなっている。また、DSPP はその高いカルシウム結合能から細胞外基質の石灰化に重要な因子であることが知られている。興味深いことに、近年の報告において DSPP は単に基質の石灰化に寄与する細胞外因子ではなく、積極的に細胞に働きかけ、細胞分化や形質転換を誘導する因子であることが明らかとなってきている。DSPP の C 末端開裂産物である Dentin phosphoprotein (DPP) は、我々の生体に存在するタンパク質の中で最も酸性度の高いタンパク質の一つであるとされる。その特徴として、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸 (RGD) からなるインテグリン結合配列を持つこと、また、そのアミノ酸配列中心に高度にリン酸化された約 200 の連続したセリン-セリン-アスパラギン酸繰り返し配列 (SSD repeat sequence) を持つことが挙げられる。また、DPP はその強い酸性度のために、哺乳類細胞でのリコンビナントタンパクの作製が非常に困難とされている。そこで本研究では、組み換えタンパクの効率良い作製方法を樹立し、インテグリン結合配列を類似アミノ酸で置換した非インテグリン結合型 DPP、SSD repeat sequence を短縮させた DPP などの改変型組み換えタンパクを作製し、DSPP の機能領域の同定を目的とした。

<材料および方法>1. 293EBNA 細胞 Epstein Barr Nuclear Antigen (EBNA) を導入したヒト胎児腎臓由来 293 細胞株を組み換えタンパク作製に使用した。2. DPP vector の作製: マウス切歯 cDNA から得た通常型 DPP 配列を pCEPpur Δ vector に組み込み、N 末端 6xHis タグ付き DPP 組み換えタンパク作製用 vector を樹立した。3. インテグリン結合領域改変型 DPP vector の作製: Mutagenesis kit を使用し、インテグリン結合領域である RGD 配列を RGE (アルギニン-グリシン-グルタミン酸) に置換した。4. 繰り返し配列改変型 DPP vector の作製: SSD repeat sequence を含む vector をコンピテントセルに導入し形質転換を行うと、一部コンピテントセルでは repeat sequence が配列からはじき出されるという特性を利用して作製した。5. 293EBNA 細胞への導入並びに培養上清の回収: 上記の vector をそれぞれ細胞に遺伝子導入後、puromycin (5 μ g/ml) にて選択培養を行い、得られた安定発現株から無血清培養上清を回収した。6. 組み換えタンパクの精製: Ni-NTA Agarose を用いた 6xHis タグを利用した粗精製の後に Sepharose Q Column を用いた分画を行った。目的分画を透析後、タンパク濃度を BCA 法にて測定し実験に供した。

<結果>通常型 DPP vector のコンピテントセル形質転換を行い、核酸配列を解析した結果、繰り返し配列が約 75%、50%、10% に短縮された改変型 DPP vector の作製に成功した。RGD 配列を含む繰り返し配列以外は完全に通常型 DPP vector と一致していた。これら改変型 DPP vector を導入した 293EBNA 細胞より DPP タンパクを精製した。DPP タンパクのサイズを抗 DPP 抗体によるウェスタンブロッティングで解析した結果、通常型 DPP タンパクでは約 66kDa に陽性バンドを認めたのに対して、約 75% 短縮型 DPP では 51kDa、約 50% 短縮型 DPP では 40kDa、約 10% 短縮型 DPP では 22kDa 付近にバンドを認めた。作製した組み換え DPP タンパクは Stains-all 染色で青紫色を呈し、りん酸化タンパク特異的染色である ProQ Diamond 染色にて陽性を示したことから、高度にりん酸化修飾を受けた組み換えタンパク作製に成功した。現在、これら得られた組み換えタンパクを用いて、骨芽細胞、象牙芽細胞や間葉系幹細胞の分化に与える影響について、更にはこれら組み換えタンパク質の in vitro における石灰化物形成能の評価を行っている。

**Expression of p38 MAP kinase family in the rat central nervous system is
regulated by signals from the tooth pulp**

○CHOKECHANACHAISAKUL Uraiwan^{*1}, KANEKO Tomoatsu², SUNAKAWA Mitsuhiro^{1,3},
OKIJI Takashi², SUDA Hideaki^{1,4}

1 Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, 2 Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 3 Clean Room, University Hospital, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, 4 Global Center of Excellence (GCOE) Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

Objectives

We have recently reported that the bacterial infection and subsequent inflammation of the rat dental pulp may not only trigger neuro-immune interactions in the dental pulp, but also stimulate the thalamic tissues by activation of pulpal afferents via central nociceptive neurons. Most notably, we have detected an increased mRNA expression of p38 MAP kinase family, such as MAPK 13 and MAPK 14, in the thalamus following unsealed exposure of the pulp. The mechanism of this upregulation is, however, still unclear. Thus, in this study, we performed quantitative gene expression analysis of MAPK 13 and MAPK 14 in the rat thalamus after pulp exposure with or without pretreatment of local anesthetic injection.

Materials & Methods

Five-week-old Wistar rats (n = 6) were used. A local anesthetic (2% lidocaine with epinephrine (1:80,000); 0.3 ml) or normal saline (control) was infiltrated into the soft tissue surrounding the left mandibular first molar using a 1 ml-syringe with a 30-gauge ultra-fine needle. The left mandibular first molar was then pulp-exposed with no. 1/2 round bur. After 24 hours, the right side thalamus was retrieved, and total RNAs were extracted. Then, gene expression levels of MAPK 13 and MAPK 14 mRNAs were analyzed by using real-time PCR.

Results

Expression of both MAPK 13 and MAPK 14 mRNAs in the lidocaine-pretreated animals showed significantly lower levels than that in the normal saline-pretreated animals (P < 0.05, t-test).

Conclusion

In the thalamus, the upregulation of MAPK 13 and 14 mRNAs induced by tooth pulp exposure was abolished by the preinjection of lidocaine in the tooth surrounding tissue. This suggests that the expression of p38 MAP kinase family in the thalamus is regulated by signals from the tooth pulp.

骨芽細胞様細胞の炎症応答において MTI-II が示す抗炎症作用の検討

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

聖マリアンナ医科大学 大学院 疾患プロテオーム・分子病態治療学³

○平田-土屋志津¹、岡本一起³、寺下正道²、北村知昭¹

Effects of MTI-II on anti-inflammatory in osteoblastic cells

Division of Pulp Biology, Operative Dentistry, and Endodontics¹,

Division of Comprehensive Dentistry², Kyushu Dental College

Clinical Proteomics and Molecular Medicine, St. Marianna University Graduate School of Medicine³

○HIRATA-TSUCHIYA Shizu¹, OKAMOTO Kazuki, TERASHITA Masamichi², KITAMURA Chiaki¹

【目的】 難治性根尖歯周組織疾患の要因として特定細菌の関与が示唆される一方で、細菌の検出されない難治症例に歯科医師はしばしば遭遇する。このような臨床結果から、難治症例では十分にコントロールされていない「慢性炎症」が根尖部に持続していることが想像できる。根尖歯周組織に生じた骨欠損の再生を確実にするためには、感染制御と再生療法技術に加え、慢性炎症制御が重要と言える。これまでに我々は、骨組織再生療法の確立を目的として、炎症反応時の主たるシグナル伝達経路である NF- κ B シグナルと BMP シグナルの相互作用に着目し、それらの相互作用について報告してきた。今回、ステロイドコアクチベーターである Macromolecular Translocation Inhibitor II (MTI-II) に着目し、骨芽細胞様細胞における炎症応答抑制効果について検討した。

【材料と方法】 骨芽細胞様細胞であるヒト骨肉腫細胞 MG63 に MTI-II 発現プラスミドを遺伝子導入後、位相差顕微鏡下で細胞形態を観察するとともに WST アッセイにより細胞増殖能を測定し遺伝子導入による影響を検討した。次に、MTI-II 発現プラスミドおよび NF- κ B ルシフェラーゼ発現プラスミドを同時に遺伝子導入し、炎症性サイトカイン TNF α (10 ng/ml) で 12 時間刺激後にルシフェラーゼ活性を測定し、NF- κ B の転写活性を分析した。さらに、MTI-II 発現プラスミド導入細胞を TNF α で刺激後、全 RNA を調整し、逆転写酵素を用いて cDNA を合成し、NF- κ B 標的遺伝子として Matrix metalloproteinase (MMP-9) のプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い、MMP-9 の発現を分析した。

【結果】 MG63 細胞に MTI-II 発現プラスミドを遺伝子導入し、位相差顕微鏡で観察したところ、コントロールの細胞と比べて、形態的特徴や細胞増殖能に有為差は認められなかった。一方、MG63 細胞を TNF α で刺激すると、NF- κ B の転写活性が著しく上昇した。しかし、MTI-II を過剰発現させると MTI-II 濃度依存的に NF- κ B の転写活性の上昇が解除・抑制された。また、細胞を TNF α で刺激すると、MMP-9 の発現の増加が認められたが、MTI-II を過剰発現させた細胞では、MMP-9 の発現増加が解除・抑制された。

【考察】

今回の結果は、ステロイドコアクチベーター MTI-II が MG63 細胞の形態や増殖能に影響を及ぼすことなく、TNF α 刺激に対する MG63 細胞の炎症応答を抑制することを示している。以上の結果は、MTI-II が難治性根尖性歯周炎等に対する抗炎症剤としての可能性を示唆している。

【結論】

ステロイドコアクチベーター MTI-II は、骨芽細胞様細胞 MG63 が示す TNF α 刺激に対する炎症応答を抑制する。

特許番号：4874798 (日本、査定済)、US 7932226 (米国、査定済)、05755776.1 (EU、査定中)

キトサンの血管内皮細胞に及ぼす影響について

昭和大学歯科病院・歯内治療科
○亀田 歩、増田 宜子、鈴木 重紀

Effect of chitosan on endothelial cells.

Showa University, Dental Hospital, Endodontics
○Ayumi Kameda, Yoshiko Masuda, Shigenori Suzuki

(目的) キチンは甲殻類、昆虫類の外骨格や、多くの真菌類の細胞壁に含まれている。N-アセチル-D-グルコサミンを基本構成単位とする生体内高分子のアミノ多糖体である。このキチンを濃アルカリ中での煮沸処理等により脱アセチル化して得られたものがキトサンである。キトサンは抗菌作用、マクロファージ活性化作用、創傷治癒促進能力を有する生理活性物質として知られている。このような特性を利用して医学領域では既に火傷治療用の創傷保護材、組織再生材など様々な成形体として臨床応用されている。

第125回の日本歯科保存学会において我々はMTAによる組織親和性への影響を培養ラット歯髄細胞の形態変化について報告した。第127回日本歯科保存学会において培養ラット歯髄細胞のMTAによる象牙芽細胞様細胞分化への影響を共焦点レーザー顕微鏡を用いて水酸化カルシウム製剤と比較し免疫組織化学的に調べ、検討した。

同様にして血管内皮細胞を用いてキトサンによる組織親和性への影響をMTAと比較し共焦点レーザー顕微鏡を用いて免疫組織化学的に調べることにした。

(材料と方法) ラット血管内皮細胞(旭硝子)を5%CO₂条件下にて α -MEM培地に10%FBSを加え、コラーゲンコートedのフラスコ75cm²で培養し、サブコンフルエントに達したら1x10⁴ cells/cm²の濃度でコラーゲンコートedの6well plate (Transwell®, Corning Inc.)に継代した。培養液は2日ごとに交換した。敷石状を呈したところで、直径7mm、高さ3mmのキトサンブロックを37℃湿潤下24時間硬化させた後、培養ウェル中央に静置した。6well plateは、静置後5、14日後に10%ホルマリン固定を行った。免疫組織染色には、1次抗体として400倍希釈のウサギ抗ヒトTGF- β 1抗体(Santa Cruz Bio., Inc.)、400倍希釈のヤギ抗ヒトActin抗体(Santa Cruz Bio., Inc.)を用いた。2次抗体として、1000倍希釈のCy-3抗ヤギIgG抗体(Vector Lab., Inc.)、1000倍希釈のFITC抗ウサギIgG抗体(ROCKLAND, Inc.)を用い共焦点レーザー顕微鏡にて観察を行った。

(結果) MTAでは5日後試料に近接したところでは細胞の数の減少が見られた。14日後では、細胞の増殖を認めたが、委縮したような細胞の変形が見られた。一方キトサンでは、5日後試料に近接したところでもMTAより細胞数は多かった。14日後ではさらに増殖が見られ、血管内皮細胞本来の紡錘形の形状をしていた。

(考察及び結論) 血管内皮細胞ではキトサンがMTA以上に組織親和性が高いことが示唆された。今後は、TGF- β -1遺伝子の発現をRT-PCR等で調べ、キトサンの歯髄細胞への影響についても検討していく予定である。

歯根膜から得た上皮様細胞の幹細胞マーカー陽性 SP 分画細胞を用いた三次元培養の免疫組織学的解析

¹⁾日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座

○北島佳代子¹⁾、山田理絵²⁾、新井恭子¹⁾、

²⁾日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学

松田浩一郎²⁾、五十嵐 勝¹⁾

Immunohistochemical analysis after three dimensional culture using SP fraction cells of stem cell marker positive epithelial like cells derived from PDL

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

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

OKITAJIMA Kayoko¹⁾, YAMADA Rie²⁾, ARAI Kyoko¹⁾, MATSUDA Koichiro²⁾ and IGARASHI Masaru¹⁾

【研究目的】歯冠部のエナメル質と象牙質の形成が終了する頃、エナメル器の自由縁から内・外エナメル上皮が密接しながら伸長し、ヘルトウィッチ上皮鞘(HES)が形成される。この上皮鞘に接する歯乳頭の間葉細胞は上皮の誘導によって象牙芽細胞に分化し、HES は歯根形成の誘導的役割を果たす。歯根象牙質の形成が終了すると上皮細胞は離散消失するが、一部は Malassez の上皮残遺(ERM)となって歯根膜中に小さな細胞塊として残留する。慢性根尖性歯周炎において根尖歯周組織に持続的に刺激が加わるとこの上皮残遺は増殖を開始し、歯根嚢胞の嚢胞壁上皮を形成すると考えられている。このように ERM は静止状態にあるものではなく増殖能を残しており、最近の研究では ERM における幹細胞様特性の有無が注目されている。嚢胞壁の上皮の存在は、歯根嚢胞に対する根管治療を困難にする要因の 1 つとなっていることから、これらの細胞を分離し、その細胞特性を知ることは歯根嚢胞の発現機序の解明や予防、治療法の確立のための関連研究の推進に重要である。そこで PDL から得られた上皮様細胞を Flow cytometry(FCM)にてソートし、得られた SP 分画細胞を三次元培養(3DC)し、その増殖所見と免疫染色後の所見について検討することを目的とする。

【材料および方法】生後6か月のブタ下顎乳歯前臼歯(2、3)を抜去し、Penicillin、Streptomycin、Amphotericin B を通常の2倍量含む PBS で洗浄し、実体顕微鏡下で歯根中央 1/3 の歯根膜組織を収集した。上皮細胞培養液 FAD を使用し、Mitomycin 処理を施した 3T3(ATCC、#CCL92)を feeder として添加し、初代培養を行った。派生した細胞から Trypsin を用いて線維芽細胞様細胞を除去した後、trypsin-EDTA を用いて上皮様細胞のコロニーを剥離、回収し、継代培養を行った。幹細胞マーカーとして CD44、ならびに血管内皮細胞マーカーとして CD31 を用い、BD Vantage™ SE(日本 BD)を用いて FCM 解析を行った。CD31-/CD44+ population から SP 分画の細胞を回収した。3DC には、コラーゲン溶液に 10 倍濃度の DMEM を添加後 1N-NaOH で中和し、6well plate に 10%(V/V)FBS と 2~3 代継代した線維芽細胞 1.0×10⁵ cells/well を加えてコラーゲンゲル内培養を行い、37℃ CO₂ 下で 20 分間インキュベートし、ゲル表面に FCM 解析で得られた SP 分画細胞を播種し、24 時間後にナイロンシート上に移して、気相培養を行った。1、2、3 週後に 10%中性ホルマリンに浸漬固定後、厚さ 6 μ m の連続パラフィン切片を作製した。Immunosaver(日新 EM 社)で抗原賦活処理後、PAN Cytokeratin(PAN-CK)、Cytokeratin19(CK19)、Involcrin(InV)、integrin α 6、integrin β 4 を用いて免疫染色を行った。

【成績】歯根中央 1/3 の PDL から得た上皮様細胞に幹細胞マーカー CD44 と血管内皮細胞を除外するために CD31 を用いて FCM にてソートしたところ、CD31-/CD44+ population から高い幹細胞活性をもつ Side Population(SP)分画細胞が確認された。得られた SP 分画細胞の三次元気相培養では、数層の細胞からなる上皮様構造が確認され、表層部では細胞は扁平化し、角化傾向が認められた。基底部から表層におよぶ上皮組織全体に PAN-CK の強い発現が認められた。InV は、1 週例で細胞質内に点状に散在もしくは局在して発現し、経時的に細胞質内全体に広く発現が認められるようになった。CK19 は弱い発現がみられたが、integrin α 6 と integrin β 4 の特徴的な明らかな発現は確認できなかった。

【考察ならびに結論】歯根膜組織から得られた上皮様細胞の Flow cytometry 分析の結果、幹細胞活性を持つとされる SP 分画細胞が確認されたことから、歯根膜組織中に上皮幹細胞が存在することが確認された。SP 分画細胞は三次元培養によりそれ自体で角化層を伴う上皮様構造を形成し、上皮組織全体に cytokeratin を強く発現し、細胞質内には InV を発現することが示された。今後 Integrin の発現等をさらに詳細に検討する必要があるが、これらの細胞やこれらの細胞を用いた三次元気相培養は上皮組織に関する実験的研究に有用であ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)(21592435)の助成を受けたものである。

アルギン酸ナトリウム/リン酸カルシウム複合スポンジ状担体 での骨髄幹細胞による硬組織形成

大阪歯科大学 口腔治療学講座
○薮内 崇督、柿木 栄幸、辻 則正、好川 正孝、林 宏行

Hard tissue formation by bone marrow cells in alginate/calcium phosphate composite sponge scaffolds
Department of Endodontics, Osaka Dental University
○YABUCHI Takayoshi, KAKIGI Hideyuki, TSUJI Norimasa, YOSHIKAWA Masataka, HAYASHI Hiroyuki

【研究目的】

硬組織の再生には主にハイドロキシアパタイトが担体に用いられている。しかし、ハイドロキシアパタイトは極めて硬く、歯の硬組織の部分的欠損の形状に合わせることは難しく、このような歯の欠損部の修復に使用するには適当ではない。臨床で歯の部分的欠損の再生を試みるにはその欠損部に容易に適合させ得る担体が望まれる。そこで、生体適合性に優れ、幹細胞の培養に使用されているアルギン酸ナトリウム(AL)を基材とする AL ゲルから容易に歯の様々な形状の欠損に合わせて成型が可能なスポンジ状担体を作製し、その担体内における硬組織形成を評価する目的で本研究を行った。また、構造強化を図るために α -リン酸三カルシウム(TCP)、あるいは β -TCP を添加して複合スポンジ状担体 (TCP/AL 担体) を作製した。そして、これらの微細構造を走査型電子顕微鏡で観察した。さらに、アルギン酸ゲルから作製したこれらのスポンジ状担体における硬組織形成を評価するために、これらのスポンジ状担体内に骨髄細胞を播種して *in vitro* で硬組織を誘導し、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性とオステオカルシン量を測定した。

【材料および方法】

アルギン酸ナトリウム(AL)を超純水に混和・溶解し、4% (w/n)AL ゲルを調整した。さらに、AL ゲルに10% (w/n)濃度の α -TCP あるいは β -TCP を添加して、10% α -TCP/4%AL 複合ゲルおよび10% β -TCP/4%AL 複合ゲルを調整した。これらを外径8mm、内径6mm、高さ10mmの円柱状の金属リングに填入し凍結した後、0.5% (w/n)塩化カルシウム水溶液に浸漬して架橋した。架橋後、真空凍結乾燥によって3種類の担体(4%AL スポンジ状担体、10% α -TCP/4%AL 複合スポンジ状担体、10% β -TCP/4%AL 複合スポンジ状担体)を作製した。担体の超微細構造を走査型電子顕微鏡で、また培養液中での担体の形状の変化を肉眼的に観察した。

6週齢の雄性Fischer344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/200 μ lの骨髄細胞を播種して3週間培養を行った。培養後、担体内のALP活性を生化学的に、オステオカルシン量を免疫化学的に測定した。

【結果と考察】

2種類のTCP/4%AL複合スポンジ状担体におけるALP活性は4%ALスポンジ状担体よりも有意に高い値を示した。とくに、10% α -TCP/4%AL複合スポンジ状担体のALP活性は有意に高かった。また、オステオカルシン量も4%ALスポンジ状担体よりも有意に高い値を示し、10% α -TCP/4%AL複合スポンジ状担体は最も高い値を示した。真空凍結乾燥によってALゲルから作製されたALスポンジ状担体は培養液中で膨潤し、形状が維持できなかった。培養液中でのAL担体の形状維持のためには、ALゲルへのTCPの添加、または化学架橋が有効であった。それぞれの担体には硬組織形成のために必要な形状の気孔が存在しており、TCPを含むALゲルから作製したTCP/AL複合スポンジ状担体ではTCPが細胞の付着を増加させ、さらに、細胞の分化および硬組織形成に有効であったと考えられる。とくに、 β -TCPより易溶性である α -TCPは無機イオンの溶出によって、担体内での硬組織形成を促進したものと考えられる。

【結論】

TCP/AL複合ゲルから作製した複合スポンジ状担体は硬組織形成に有効であった。とくに、10% α -TCP/4%AL複合スポンジ状担体はその気孔内で硬組織を効果的に形成したことが免疫化学的に示された。

アメロブラスチンの上皮細胞増殖に対する影響

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
○西藤法子¹, 鷲尾絢子¹, 寺下正道², 北村知昭¹

The influence and mechanism of ameloblastin in epithelial cells

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

○SAITO Noriko¹, WASHIO Ayako¹, TERASHITA Masamichi², KITAMURA Chiaki¹

【研究目的】 歯根肉芽腫や歯根嚢胞を含む難治性根尖病変成立過程に上皮細胞が重要な役割を果たすことから、歯周疾患治療同様、根尖性歯周疾患治療においても上皮細胞制御は重要なステップと言える。ブタ歯胚由来エナメルマトリックスタンパクであるエナメルマトリックスデリバティブ (エムドゲイン) は歯周治療における歯周組織再生誘導材料として用いられており、その臨床的有効性が広く知られている。エムドゲインの作用メカニズムとして、歯根膜に存在する未分化間葉細胞をセメント芽細胞に分化させることが報告されているが、詳細な検討は十分に行われていない。これまでに我々は、エムドゲインを逆相高速液体クロマトグラフィーにて分画化し、破骨細胞分化活性を持つ画分と上皮細胞の増殖抑制活性を有する画分をそれぞれ確認するとともに、上皮細胞の抑制活性を有する画分についてプロテオーム解析を行った結果、同画分にはアメロブラスチンが多く存在していることを明らかにしてきた。アメロブラスチンは歯の発生においてエナメル芽細胞で産生されるタンパク質であり、欠損マウスの観察結果からエナメル質形成やエナメル芽細胞の極性決定に関与していることが知られている。さらに近年の研究から、アメロブラスチンはエナメル質形成のみならず、細胞の分化維持、細胞極性、および増殖制御に積極的に関与していることが報告され、その生理機能に注目が集められている。

今回、われわれは上皮細胞増殖に対するアメロブラスチンの作用に注目し、リコンビナントのアメロブラスチンを精製し、*in vitro*での解析を行った。

【材料と方法】 アメロブラスチン発現プラスミド (pcDNA3.1-FLAG AMBN) を African green monkey の腎上皮細胞 (cos7 細胞) に導入後、抽出タンパク質に対して、Anti-FLAG M2 Affinity Gel Column を用いたカラム精製を行い、アメロブラスチンを単離精製した。精製の各ステップで得られた画分については、Anti-FLAG 抗体を用いた Western blotting 法でタンパク質発現を確認した。

次に、精製したリコンビナント・アメロブラスチンをマウス歯肉上皮細胞株 (GE-1 細胞) とヒト扁平上皮癌細胞株 (SCC-25 細胞) に添加後 48 時間培養し、Water soluble tetrazolium salt (WST) assay を用いて細胞増殖能に対するリコンビナント・アメロブラスチンの影響を分析した。

【結果】 pcDNA3.1-FLAG AMBN を導入した cos7 細胞より抽出・精製したリコンビナント・アメロブラスチンは、GE-1 細胞および、SCC-25 細胞に対して増殖抑制効果を示した。この増殖抑制活性は濃度依存的であり、アメロブラスチン 50 μ g/ml で 86 % (GE-1 細胞)、56 % (SCC-25 細胞) の細胞増殖抑制率を示した。

【考察】 今回、アメロブラスチンが上皮細胞の増殖に対する強い抑制活性を有することが明らかとなった。以上の結果は、歯周組織再生過程で用いられたエムドゲインが、セメント芽細胞分化誘導とともに、その成分であるアメロブラスチンにより歯根膜面に対する上皮細胞の侵入を阻害することで、歯槽骨や結合組織の再生を誘導する可能性を示唆している。今後、歯根肉芽腫や歯根嚢胞を含む難治性根尖病変成立過程における上皮細胞機能への影響を検討していく予定である。

【結論】 精製リコンビナント・アメロブラスチンは、*in vitro*実験系において上皮細胞の増殖抑制効果を示した。

実験的歯間分離によりマウスの歯髄に発現する硬組織関連因子

松本歯科大学歯科保存学第2講座
○佐藤将洋 鍋山篤史 山本昭夫 笠原悦男

Expression of hard tissue related factors in the mouse dental pulp after immediate teeth separation

Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University
○Sato Masahiro, Nabeyama Atsushi, Yamamoto Akio, Kasahara Etsuo

【目的】

実験的歯間分離のメカニカルストレスが歯髄に及ぼす影響を、病理組織学的に検討するとともに、代表的な硬組織関連因子である Runx2 と ALP の免疫組織化学的発現状況を明らかにすることによって追究した。

【方法】

- 1) 実験動物： 8 週齢で、体重 35 ± 5 g (30~40g) の ddY 系雄性マウス計 36 匹を日本 SLC 株式会社 (浜松、日本) にて購入し、1 週間の経過観察の後、健康と考えられるもののみを使用した。
- 2) 実験方法： マウスはイソフルの吸入麻酔下にて実験を行った。開口状態下にて、マウスの歯間分離を行うために上顎右側の第一臼歯 (M1) と第二臼歯 (M2) の間に口蓋側からウェッジ (Anatomical WIZARD WEDGES: Water Pik, Inc. Ft. Collins, Colorado, U.S.A.) を挿入した。実験群はまず、歯間分離の時間を 30 分群 (18匹) と 3 時間群 (18匹) の 2 群に分け、その時間が経過した段階でウェッジを取り除いた。その直後、3 時間、9 時間、24 時間、3 日および 1 週間経過する毎に各3匹の試料採取を行った。試料採取には、前記と同様にイソフルの吸入麻酔下にて行い、当該部のマウス上顎右側臼歯部歯周組織を一塊にして摘出した。なお、対照群としては同じ実験動物の反対側の同部位を用い同様に検討した。
- 3) 病理組織学的検討および免疫組織化学的検討： 4%パラホルムアルデヒド0.05 M リン酸緩衝固定液にて4℃、24時間の浸漬固定を行った。その後、10% EDTA脱灰液にて3週間後、パラフィンにて包埋した。当該歯根の歯髄の横断像を得るように厚さ4 μ mの水平連続切片を作製し、病理組織学的ならびに免疫組織化学的検索を行った。免疫染色に先立ち、60℃のインキュベーターにて30分間の前処置後、キシレンにて脱パラフィンを行った。免疫組織学的検討には Dako Envision + Kit-K4006 (Dako, Glostrup, Denmark) を用いて行った。免疫染色では、一次抗体として Rabbit polyclonal Runx2 antibody (Runx2 [M-70]: SC-10758, 1:5000, Santa Cruz Biotechnology, Inc, CA, USA)、Mouse monoclonal ALP antibody (ALP [B4-78]: MAB1448, 1:5000, R&D Systems, Inc, MN, USA) を用いた。免疫染色後の試料はヘマトキシリンにて対比染色を行った。また、陰性対照としては同じ実験プロトコールにて一次抗体の代わりに PBS を用いて染色した。

【結果および考察】

今回の実験において、病理組織学的検討では、対照群と実験群の間に顕著な差異を認めることが出来なかった。

免疫組織化学的に、対照群の歯髄では血管内皮細胞や歯髄固有細胞に Runx2 と ALP の弱い発現があり、これは咀嚼や舌圧などの生理的メカニカルストレスに対して発現していると推察された。

実験群において、Runx2 では、歯間分離 30 分群、同 3 時間群の両群ともに Runx2 の発現は 24 時間後にほぼ最大を呈し、以後その発現は徐々に消退し、1 週間で対照群と同レベルになっていた。また、ALP においても、歯間分離 30 分群、同 3 時間群の両群ともに ALP の発現は 24 時間後にほぼ最大を呈し、その後発現は弱まり、1 週間で対照群と同レベルにまで低下していた。今回の実験系では、観察した部位は歯根部歯髄で、この部は高齢者では第3象牙質の増殖などによって根管狭窄が惹起される。この変化は一般的に加齢変化によるとされているが、その原因のひとつとして外部から歯根に作用するメカニカルストレスがある事が伺えた。しかし、今回の実験データ、すなわち Runx2 および ALP の免疫組織化学的発現を指標とするものでは、1 週以内に対照群レベルに発現低下していたので、臨床的なウェッジ挿入によって大きな傷害作用は起こさないと考えられた。

【会員外共同研究者】 川上敏行、中野敬介 (松本歯科大学 総合歯科医学研究所 硬組織疾患病態解析学ユニット)
斎藤進之介 (松本歯科大学 歯科保存学第2講座)

ヒト歯髄培養細胞の Smads リン酸化における PGE₂ の影響

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座¹⁾

日本大学口腔科学研究所²⁾

○安達 泰佑¹⁾ 岡部 達¹⁾ 喜多詰 規雄¹⁾ 五味博之¹⁾ 酒井 きよ美¹⁾ 松島 潔^{1,2)}

Effect of PGE₂ on Smads phosphorylation in human dental pulp cells

¹⁾Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba 271-8587, Japan

²⁾Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba 271-8587, Japan

○Taisuke ADACHI¹⁾, Tatsu OKABE¹⁾, Norio KITADUME¹⁾, Hiroyuki GOMI¹⁾, Kiyomi SAKAI¹⁾,

Kiyoshi MATSUSHIMA^{1,2)}

緒言

歯髄は慢性う蝕や摩耗症、咬耗症などの軽度の外来刺激を受けると硬組織形成を促進し修復象牙質を形成する。坂本らはヒト歯髄培養細胞において低濃度のプロスタグランジン E₂ (PGE₂) 刺激で硬組織形成能が促進され、高濃度 PGE₂ 刺激により抑制すると報告している (日本歯科保存学雑誌 第 46 巻 第 3 号)。このことから歯髄の硬組織形成と炎症は密接にかかわり合うものと考えられている。近年、歯髄における硬組織形成を促すため再生医療の研究多くがなされているが、臨床において覆髄処置が必要となる歯髄はすでに炎症が起きていることを考慮しなければならず、歯髄における炎症と硬組織形成メカニズムを解明することは、象牙質再生医療に必須と考えられる。

再生医療において Bone Morphogenetic Protein (BMP) は歯髄の硬組織形成を促進させると報告されており象牙質再生医療への応用に期待されており BMP のシグナル伝達は細胞膜に存在する BMP 受容体を介し、細胞内に存在する Smad により核内に伝達されている。しかし歯髄炎症時において Smad の発現に関する報告は少ない。そこで我々はヒト歯髄細胞において PGE₂ 刺激により歯髄炎を想定し Smad 発現におよぼす影響を検討した。

材料および方法

1.細胞培養

試料は日本大学松戸歯学部付属病院に治療のために来院し、矯正学的理由により抜去された第三大臼歯から歯髄を無菌的に取り出し、10%牛胎児血清 (10%FCS) , 100 µg/ml penicillin G, 100 µg/ml kanamycin sulfate (明治製菓社製) , 0.3 µg/ml fungizone (Gibco 社製) を含む α -minimum essential medium (α -MEM, Gibco 社製) を用いて、37°C, 5%CO₂, 95%気相下にて out growth し 5~9 代継代したものを実験に用いた。

2.ヒト歯髄細胞の処理

炎症時の影響を検討するために、0.01, 0.1, 1 µM の濃度の PGE₂ (Cayman CHEMICAL 社製) を添加し、無刺激のものを control とした。

上記培養条件にて 10 cm culture dish にて培養を行い、6 時間後に CelLytic M Lysis Reagent (SIGMA 社製) を用いてタンパク質を回収を行い、3×SDS sample buffer および 30×DTT を用いて、100°C で 5 分間処理した細胞をサンプルとし、Western Blot 法により Smad の発現の変化を検索した。

結果および考察

6 時間値において特異型 Smad (以下 R-Smad) である Smad 1, 5, 8 の発現に変化は認められないものの、Smad 1, 5, 8 が BMP レセプターによりリン酸化された P-Smad 1, 5, 8 の発現が PGE₂ 濃度 0.1 µM 刺激にてピークを示し、1 µM にて減少を認めた。

R-Smad である Smad 1, 5, 8 は BMP 受容体によりリン酸化され、共有型 Smad (Co-Smad) である Smad 4 と R-Smad のいずれかが複合体を形成し、核内へと移行することによりシグナル伝達を行う。

抑制型 Smad (以下 I-Smad) である Smad 7 は R-Smad のレセプターによるリン酸化に競合したり、R-Smad に結合することによって R-Smad と Co-Smad の複合体形成を阻害することによってその作用を抑制する。

これらのことから高濃度の PGE₂ 刺激における硬組織形成抑制には細胞内における Smad のリン酸化の調節が深くかかわるものと考えられた。

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ は歯髄細胞における炎症メディエーター発現を調節する

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 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

○中西 正、武川大輔、平尾功治、湯本浩通、高橋加奈子、松尾敬志

Regulatory effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on inflammatory mediator expression in dental pulp cells

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

○Tadashi NAKANISHI, Daisuke TAKEGAWA, Kouji HIRAO, Hiromichi YUMOTO,
Kanako TAKAHASHI and Takashi MATSUO

【研究目的】

プロスタグランディン(PG) $F_{2\alpha}$ は、脂質メディエーターであるPG類の一つであり、シクロオキシゲナーゼ(COX)の作用により産生されたPGH₂にPGF合成酵素が働くことで産生され、全身の組織や臓器において多彩な生理活性作用を発揮する。歯髄においても、誘導型COXであるCOX-2やPGF $F_{2\alpha}$ の発現・産生が炎症歯髄組織で亢進していることが報告されており(Nakanishiら2001, Cohenら1985, Miyuchiら1996)、歯髄炎の病態形成に深く関与することが示唆されている。演者らはこれまでにToll-like receptor(TLR)に代表される自然免疫に関与するレセプター群の歯髄炎における役割について解析し、TLR2を介したシグナルが歯髄細胞において優位に作動していることを明らかにしてきた(Hiraoら2009)。さらに、TLR2シグナルにより活性化された歯髄細胞に対するPGF $F_{2\alpha}$ の影響について検討し、PGF $F_{2\alpha}$ がvascular endothelial growth factorならびにinterleukin-6の産生を亢進させることを本学会2010年度秋季学術大会(第133回)において報告した。

今回、歯髄炎の病態形成において炎症性細胞浸潤に関与すると考えられている炎症メディエーター(interleukin-8(IL-8), CXCL10, CCL20)に着目し、歯髄細胞におけるそれらの発現に対するPGF $F_{2\alpha}$ の影響について検討を行った。

【材料と方法】

1. 歯髄細胞の培養

徳島大学病院歯科を受診し、う蝕および歯周炎を有さず矯正治療目的のために抜去された健全智歯より歯髄を採取し、細切後outgrowthした細胞を歯髄細胞とし、5~10代継代したものを実験に供した。

2. 炎症メディエーター発現に対するPGF $F_{2\alpha}$ の影響の解析

歯髄細胞を24穴プレートに播種し、サブコンフルエントまで培養した後、TLR2リガンドであるPam3CSK4(Invivogen)ならびにPGF $F_{2\alpha}$ (Cayman Chemical)にて一定時間刺激し、培養上清中のIL-8, CXCL10ならびにCCL20濃度をELISA kit(R&D systems)を用いて測定した。また、PGF $F_{2\alpha}$ 受容体(FP receptor)の発現についても検討を加え、付着細胞からタンパクを回収し、特異抗体(Santa Cruz)を用いたWestern blot法にてその発現を解析した。

【結果および考察】

歯髄細胞にPGF $F_{2\alpha}$ を単独に作用させたところ、IL-8の産生が僅かながら亢進したが、CXCL10およびCCL20の産生亢進は認められなかった。また、TLR2リガンドを単独作用させると、これらすべての炎症メディエーター産生が上昇した。さらに、TLR2リガンド刺激した歯髄細胞にPGF $F_{2\alpha}$ を共刺激させたところ、CCL20産生は相乗的に増強された。一方、CXCL10産生はPGF $F_{2\alpha}$ 濃度依存的に抑制され、IL-8産生は影響を受けなかった。なお、歯髄細胞におけるFP receptor発現については、Western blot解析により一定の発現量が維持されていた。これらの結果より、PGF $F_{2\alpha}$ は歯髄細胞における炎症メディエーター産生を調節している可能性が示唆された。

【結論】

PGF $F_{2\alpha}$ は、TLR2リガンド刺激により歯髄細胞から誘導されるCCL20産生を増加させるが、CXCL10産生を減少させる。

象牙芽細胞分化過程における SUMO 化修飾因子と Osterix の局在

¹松本歯科大学 口腔解剖学第2講座, ²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, ³松本歯科大学 歯科保存学第2講座
○細矢明宏¹, 吉羽邦彦², 吉羽永子², 笠原悦男³, 中村浩彰¹

Localizations of SUMO Proteins, Ubc9 and Osterix during Odontoblast Differentiation

¹Department of Oral Histology, Matsumoto Dental University; ²Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences; ³Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University
○HOSOYA Akihiro¹, YOSHIBA Kunihiko², YOSHIBA Nagako², Kasahara Etsuo³, NAKAMURA Hiroaki¹

【研究目的】

象牙芽細胞の分化には、骨芽細胞分化と共通する Runx2, Osterix を始め多くの転写因子が関与していると考えられているが、象牙芽細胞特異的な分化調節機構は未だ不明である。一方、Small ubiquitin related modifier (SUMO) 化修飾は、ユビキチン化に類似したタンパク質翻訳後修飾であり、多くの転写因子に対して転写を調節することが報告されている。そこで本研究では、SUMO 化修飾の象牙芽細胞分化における機能を検討する目的で、歯の発生ならびに象牙質再生過程における SUMO タンパク質 (SUMO1, SUMO2/3) および SUMO 化修飾に必須の酵素である ubiquitin conjugating enzyme 9 (Ubc9) の局在を免疫組織化学的に観察した。また、これらの SUMO 化修飾因子と Osterix 局在の関連も併せて検討した。

【材料および方法】

胎生 (E) 15 日～生後 (P) 4 週齢 Lewis 系ラット下顎第一臼歯を 4%パラホルムアルデヒドにて固定し、通法に従いパラフィン切片を作製後、SUMO1, SUMO2/3, Ubc9 及び Osterix の免疫局在を観察した。また、4 週齢ラット下顎第一臼歯近心面に深さ約 400 マイクロメートルの象牙質窩洞を形成し、形成 1 日～8 週後の歯髄組織における各因子の局在を検討した。

【結果】

蕾状期 (E15) 歯胚において、SUMO タンパク質、Ubc9 及び Osterix の特異的な反応は認められなかった。帽状期 (E17) 歯胚では、SUMO タンパク質および Ubc9 はいずれもエナメル器と歯乳頭の一部の細胞において陽性反応を示したが、Osterix は陰性であった。象牙質形成が始まる鐘状期 (E20) になると、象牙芽細胞で SUMO タンパク質、Ubc9 および Osterix の陽性反応が認められたが、前象牙芽細胞ならびに歯髄細胞は陰性であった。歯根形成期 (P7-28) では、これらの因子は根尖部の象牙芽細胞で陽性反応を示したが、歯冠部の象牙芽細胞では反応がみられなかった。また、鐘状期と同様に、前象牙芽細胞及び歯髄細胞は陰性であった。次に、窩洞形成後の象牙質再生過程における SUMO 化修飾因子と Osterix の局在を検討した。形成 1 日後、窩洞直下の象牙芽細胞層とその近傍の歯髄組織に壊死がみられ、各因子の陽性細胞は認められなかった。4 日後、壊死組織の修復とともに、窩洞直下の歯髄組織に SUMO タンパク質、Ubc9 及び Osterix 陽性細胞の集積が観察された。7 日後、円柱状の象牙芽細胞が再生し修復象牙質が形成されるようになると、再生象牙芽細胞で各因子の陽性反応が認められた。再生象牙芽細胞におけるこれらの陽性反応は 4 週後まで観察されたが、8 週以降、再生象牙芽細胞の数が低くなると反応は消失した。

【考察】

SUMO タンパク質、Ubc9 および Osterix は、歯の発生及び象牙質再生過程において分化直後の象牙芽細胞で局在が認められるが、象牙芽細胞の成熟化に伴い反応が消失することが明らかとなった。従って、SUMO 化修飾因子は幼若な象牙芽細胞において Osterix の転写を調節し、象牙芽細胞分化に重要な役割を担うことが示唆された。

熱刺激後に生存する象牙芽細胞様細胞は増殖能と基質形成能が亢進する

¹福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野, ²九州歯科大学齶蝕歯髓疾患制御学分野, ³総合診療学分野

○諸富孝彦¹, 北村知昭², 寺下正道³, 阿南 壽¹

Heat stimulation activates ability to proliferate and matrix production on surviving odontoblasts-like cells

¹Section of Operative Dentistry and Endodontology, Fukuoka Dental College.

²Division of Pulp Biology, Operative Dentistry, and Endodontics,

³Division of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College.

○Takahiko Morotomi¹, Chiaki Kitamura², Masamichi Terashita³ and Hisashi Anan¹

【研究目的】 歯髄は歯の知覚, 栄養, 免疫および修復を司る組織であり, 歯を保存する上で重要な役割を担う。一方, 歯髄は周囲を硬組織で囲まれた特殊な環境に存在する応諾性の低い組織であるため, 物理的, 化学的, そして細菌学的な刺激により重篤な炎症が引き起こされ, その結果壊死へ陥ることも少なくない。よって, 長期にわたる健康な歯の保存を可能とするために, 各種刺激の歯髄への影響を研究することは有意義である。

回転切削器具の使用により生じる発熱は, 窩洞形成時に歯髄を障害する重要な刺激因子のひとつである。これまでに我々は, 熱刺激によって歯髄由来細胞にアポトーシスが誘導されることを報告している。一方, 熱刺激後にも生存する細胞は増殖能と石灰化能を有し続けることや, 歯髄の障害後にも生き残った象牙芽細胞は, 活性化され反応性象牙質を形成することも報告されている。

今回我々は, ラット下顎切歯歯髄由来する象牙芽細胞様の特徴を有する細胞株 KN-3 を用いて, 熱刺激が象牙芽細胞様細胞に与える影響について詳細に検討した。

【材料と方法】 ラット下顎切歯歯髄由来細胞株 (KN-3) を細胞培養用ディッシュ (直径 60 mm) に播種し, 10% FBS 添加培地 (α -MEM) で 37°C, 5% CO₂ 環境下にて 24 時間培養した。その後, 43°C, 45 分間の熱刺激を加えた。熱刺激直後, 12 時間, 1 日, 2 日および 3 日後に細胞を 0.5% トリパンブルーで染色し, 生細胞数を計測した。また熱刺激後 3 時間, 6 時間および 24 時間の時点でセルスクレーパーを用いて細胞を回収し, ウェスタンブロッティング法により各種のタンパク質発現量を確認した。サンプルバッファーでサンプルを懸濁後 SDS-PAGE によりタンパク質を分離し, PVDF メンブレンに転写した。メンブレンは室温にて 60 分間ブロッキングした後, 各種の 1 次抗体 (4°C, 12 時間) および 2 次抗体 (室温, 1 時間) と反応させた。メンブレンの洗浄には PBS-0.5% Tween20 を用いた。抗体反応後, シグナルを ECL Plus (GE Healthcare) で化学発光させ検出した。

【結果】 43°C, 45 分間の熱刺激直後より死細胞が確認され, 12 時間後には細胞数の減少が確認されたが, その後増殖に転じた。この間培養容器底面に付着した細胞には, 形態的な変化は認められなかった。細胞周期の進行に関与する Cyclin D1 および Cyclin E は, 熱刺激後 3 時間では減少傾向にあったものの 6 時間後には増加が確認された。熱刺激後の熱ショックタンパク (HSP) の発現量について, 代表的な HSP である HSP25, HSP70 そして HSP90 の発現を確認した。その結果, 3 種の HSP とも熱刺激後 3 時間から発現量が増加していた。特に HSP70 は熱刺激後顕著に発現量が増加し, 6 時間後をピークとして減少に転じた。一方, HSP25 および HSP90 は HSP70 ほどの強い増加は認められなかった。代表的な象牙芽細胞マーカーである象牙質シアロタンパク (DSP) の発現量は, 熱刺激後 3 時間の時点で減少が認められたが, その後 24 時間後まで増加していた。

【考察】 熱刺激後 12 時間では細胞数は減少していたが, 24 時間後には増殖が確認された。細胞周期を進行させる Cyclin D1 および Cyclin E の発現は, 熱刺激後 6 時間から増加した。このことから, 象牙芽細胞様細胞は熱刺激により強い傷害を受けるものの, 生存細胞においては増殖能が活性化されることが示唆された。また, 熱刺激後に各 HSPs の量が増加していたが, 特に HSP70 の増加が顕著であったことから, 熱刺激による障害から象牙芽細胞様細胞を保護する上で HSP70 の果たす役割の重要性が示唆された。DSP の発現は熱刺激後一時的に減少した後, 6 時間後からは刺激前よりも発現量が増加したことから, 熱刺激は象牙芽細胞の細胞外基質産生能を活性化することが確認された。歯科临床上, 各種の刺激が修復象牙質の形成を促すことは広く知られているが, 本研究結果より, 傷害を受けた象牙芽細胞や歯髄細胞は増殖能や基質産生能を向上させることによって, 積極的に反応性象牙質の形成を図る可能性が示唆された。

【結論】 熱刺激後にも生存した象牙芽細胞様細胞 (KN-3 細胞) は, 細胞増殖能や細胞外基質産生能が亢進した。

血管内皮細胞と歯髄細胞の共培養がラット培養歯髄細胞の石灰化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

Effects of the co-culture of the endothelial cells and pulp cells on calcification of rat cultured dental pulp cells

Showa University, School of Dentistry, Dept of Endodontics¹, Showa University, School of Dentistry, Dept of Biochemistry²

○MASUDA Yoshiko¹, YAMADA Yoshishige¹, MIYAMOTO Yoichi², KAMIJO Ryutarō²

(目的) 第 133、135 回の本学会において我々は、血管内皮細胞と歯髄細胞の膜を介した共培養において TGF- β 1 遺伝子の発現について発表した。今回、膜を介さずに直接血管内皮細胞と歯髄細胞とを共培養した場合と膜を介した共培養とで石灰化培地による TGF- β 1、Osteocalcin 遺伝子の発現への影響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 x 10⁴ 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 1mM β -glycerophosphate とアスコルビン酸 (50 μ g/ml) を添加した石灰化培地にて培養し 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、Osteocalcin 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。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。コントロールとして石灰化培地を用いない培養も同様に行った。

(結果) 7 日後の RT-PCR の結果、石灰化培地を用いたものとコントロールとで TGF- β 1 遺伝子の発現に顕著な変化はなかったが、14 日後において膜を介した歯髄細胞において TGF- β 1 遺伝子の発現が減少し下段に血管内皮細胞を培養しない上段の歯髄細胞において増加が認められた。Osteocalcin 遺伝子の発現においては、石灰化培地を用い直接共培養するとコントロールと比較して発現が増加した。

(考察及び結論) 血管内皮細胞と歯髄細胞との膜を介した共培養と直接接した共培養とで石灰化培地にて石灰化を促進させた場合、TGF- β 1、Osteocalcin 遺伝子の発現に時期や発現量においてそれぞれ異なる影響が認められた。細胞間の距離によって遺伝子発現に相違があることがわかった。TGF- β 1、Osteocalcin 遺伝子の定量化と他の遺伝子発現についても石灰化培地を用いた場合と用いない場合において検討していく予定である。

イヌ抜髄モデルにおける歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療法の有効性試験

¹⁾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

²⁾愛知学院大学歯学部 小児歯科学講座、³⁾愛知学院大学歯学部 顎口腔外科学講座

⁴⁾愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座、⁵⁾東北大学大学院歯学研究科 口腔保健発育学講座 顎口腔矯正学分野
○庵原 耕一郎¹⁾、石坂 亮^{1,2)}、林 勇樹^{1,2)}、堀部 宏茂^{1,3)}、竹内 教雄^{1,4)}、宮下 俊郎^{1,5)}、中島 美砂子¹⁾

Preclinical efficacy evaluation of the pulp stem cell therapy following pulpectomy in dog mature teeth

¹⁾Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute ²⁾Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, ³⁾Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, ⁴⁾Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, ⁵⁾Division of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Department of Oral Health and Development Sciences, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○Koichiro Iohara¹⁾, Ryo Ishizaka^{1,2)}, Yuki Hayashi^{1,2)}, Hiroshi Horibe^{1,3)}, Norio Takeuchi^{1,4)}, Syunro Miyashita^{1,5)}, Misako Nakashima¹⁾

【研究目的】

私共はイヌの歯髄 CD105⁺細胞あるいは CD31⁺SP 細胞と SDF1 を抜髄後の根管内に自家移植すると歯髄が再生されることを発表した (第 132、134 回日本歯科保存学会)。しかし、歯髄 CD105⁺細胞や CD31⁺SP 細胞は抗体やフローサイトメトリーを用いるため、実際の臨床においては安全性やコストの面で問題が生じる。したがって、私共は幹細胞を分取する安全で高効率の新規の方法を開発した (本学会ポスター発表: 竹内教雄)。今回、臨床研究を行うための非臨床試験として、イヌの抜髄モデルを用いた歯髄再生に対するこの歯髄幹細胞の有効性を検討した。

【材料と方法】

1. 歯髄幹細胞の分取: イヌ上顎犬歯を抜去し、安定かつ安全に細胞加工施設に輸送後、アイソレータ内で歯髄細胞を分離、培養した。2代目において、新規幹細胞分取法により歯髄幹細胞を分取し、増幅後凍結した。
2. 品質検査: フローサイトメトリーによる細胞表面抗原測定 (CD29, CD31, CD44), 細胞の生存率、細胞増殖を検討
3. 安全性検査: 各種細菌、マイコプラズマ、ウイルス、エンドトキシン検査
4. イヌ抜髄モデルにおける歯髄再生能の検索: 安定、安全に輸送した凍結した歯髄幹細胞を処置室にて融解した後、 5×10^5 cells をコラーゲンに混合して遊走因子と共に根管内に自家移植した。
 - A. 形態学的解析: H-E、免疫染色 (BS-1 lectin, neurofilament, CD68, MHC class II)、in situ hybridization (*Dspp*, *enamelysin*)
 - B. X線解析: 移植後 3 ヶ月後における 根尖部閉鎖状態、根管石灰化状態の検討
 - C. 分子生物学的解析: Real-time RT PCR (*syndecan 3*, *Tenascin C*, *TRH-DE*, *periostin*)
 - D. in situ hybridization: 血管誘導因子、神経栄養因子 (*VEGF*, *GM-CSF*, *MMP*, *BDNF*, *GDNF*, *NGF*)

【結果】

イヌ歯髄細胞から 2 代目で幹細胞を分取すると、約 5~6% が幹細胞として分取できた。この細胞をさらに増幅し凍結した後に検査すると、品質や安全性に異常はみられなかった。次に、イヌの歯の抜髄後の根管内にコラーゲン、遊走因子とともに歯髄幹細胞を移植すると、14 日において炎症性細胞や内部吸収がほとんどみられず、血管、神経を伴う歯髄組織の再生がみられた。また象牙質側壁には分化した象牙芽細胞がみられた。3 ヶ月後の X 線像では、根尖部の閉鎖と象牙質側壁への象牙質添加がみられた。歯髄幹細胞と遊走因子を共に移植したものはコラーゲンのみ、遊走因子のみ、歯髄幹細胞のみ、歯髄 total 細胞と遊走因子を移植した対照群と比べて、有意に歯髄再生量が増加した。再生された歯髄を Real-time RT-PCR にて解析すると、正常歯髄に高発現している *syndecan 3*, *Tenascin C*, および *TRH-DE* の発現が強くみられた。また移植した細胞は、血管誘導因子や神経誘導因子を発現していることが確認された。

【考察】

これらの結果より抜髄後歯髄再生治療法において、新規分取法による歯髄幹細胞の有効性が示唆された。

シリコーン膜を用いた加圧刺激によるヒト歯髄細胞の象牙芽細胞への分化誘導

- 1.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
- 2.東北大学大学院歯学研究科口腔保健発育学講座顎口腔矯正学分野
○宮下俊郎^{1,2}, 村上真史¹, 庵原耕一郎¹, 山本照子², 中島美砂子¹

Odontoblastic differentiation of human dental pulp cells by mechanical pressure on silicone membrane

1. Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute
2. Division of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, Department of Oral Health and Development Sciences, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○Shunro Miyashita^{1,2}, Masashi Murakami¹, Koichiro Iohara¹, Teruko Yamamoto², Misako Nakashima¹

【研究目的】

近年、間葉系幹細胞に機械的刺激を加えると、骨や軟骨あるいは軟骨などへの分化誘導が促進される報告がされている。しかしながら、歯髄幹細胞に対する機械的刺激の効果に関する報告は少ない。これまでに私共は、歯髄細胞を用いた象牙質再生の研究を行って来た。しかしながら、再生した象牙質は骨様象牙質であり、細管構造を有するものではなかった。そこで本研究では、表面に象牙細管類似の細孔加工を施したシリコーン膜上でヒト歯髄細胞を培養し、偏側性加圧刺激を加えることにより、並列した象牙芽細胞へ分化誘導を促進する最適な条件の決定を行った。

【材料および方法】

1. ヒト歯髄細胞の分離および培養
2. シリコーン膜への細胞播種：
象牙細管の構造に類似した細孔（直径 5 μ m、深さ 10 μ m、ピッチ 10 μ m）を有するシリコーン膜(Poly dimethylsiloxane) にプラズマ処理およびコラーゲンコートをし、チャンバーに取り付けヒト歯髄細胞を播種し 16 時間培養を行った。
3. 加圧の条件：
象牙芽細胞分化誘導培地に変え、押し圧測定用ロードセルを組み込んだステージ上にチャンバーを設置し、偏側性加圧装置(外部コントローラーによりインキュベータ内で駆動部装置が使用でき、加圧強さや加圧間隔が可変)を用いて下記のように加圧条件を変え、一定時間加圧刺激を加えた後に 6 日間培養を行った。
 - A. 加圧強さ (17.0, 19.6, 22.2kPa)
 - B. 播種細胞数 (2.0, 4.0, 7.5 $\times 10^5$ cells/cm²)
 - C. 加圧時間 (6, 9, 12 時間)
4. 分子生物学的解析：Real-time RT-PCR による象牙芽細胞マーカー (*DSPP*、*Enamelysin*)の解析。
5. 形態学的解析：共焦点レーザー顕微鏡により、シリコーン膜の細孔への象牙芽細胞の突起の伸長を確認。
これにより、象牙芽細胞分化誘導のための最適条件を決定した。

【結果】

Real-time RT PCR において、加圧強さ 19.6kPa、播種細胞数 4.0 $\times 10^5$ cells/cm²、加圧時間 9 時間で象牙芽細胞マーカー (*DSPP* および *Enamelysin*) の mRNA 発現が最も高かった。また、上記の条件下においては、シリコーン膜のほぼ 90% 以上の細孔に細胞が突起を伸長させていることを観察した。

以上のことから、加圧刺激によるヒト歯髄細胞の象牙芽細胞への分化誘導には、加圧強さ 19.6kPa、播種細胞数 4.0 $\times 10^5$ cells/cm²、および加圧時間 9 時間が最適であることが明らかとなった。

【考察】

象牙細管の構造に類似した細孔を有するシリコーン膜を用いて、適切な条件でヒト歯髄細胞に加圧刺激を加えることにより、短時間で並列した象牙芽細胞への分化誘導が可能であった。今後、象牙質再生研究あるいは象牙芽細胞分化研究において、短時間にかつ効率よく並列した象牙芽細胞へ分化させる方法として有用である可能性が示唆された。

新規幹細胞分取法を用いたヒト歯髄幹細胞の特徴化と歯髄再生能

¹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、²愛知学院大学歯学部 顎口腔外科学講座、³愛知学院大学歯学部 小児歯科学講座、⁴愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座
○村上 真史¹、堀部 宏茂^{1,2}、庵原 耕一郎¹、石坂 亮^{1,3}、林 勇輝^{1,3}、竹内 教雄^{1,4}、
栗田 賢一²、中村 洋⁴、中島 美砂子¹

Characterization and pulp regeneration potential of pulp stem cells isolated by novel method

¹Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, ²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, ³Department of Pediatric Dentistry, ⁴Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Masashi Murakami¹, Hiroshi Horibe^{1,2}, Koichiro Iohara¹, Ryo Ishizaka^{1,3}, Yuki Hayashi^{1,3},
Norio Takeuchi^{1,4}, Kenichi Kurita², Hiroshi Nakamura⁴, Misako Nakashima¹

【研究目的】

我々は、これまで、イヌを用いて、血管新生能、神経再生能に優れた歯髄幹細胞/前駆細胞である、CD31⁻SP及びCD105⁺細胞を分取し、イヌ抜髄後の根管内に移植することで、歯髄組織が再生することを明らかにしてきた。しかし、歯髄再生療法を臨床応用するためには、いずれもフローサイトメトリーで分取しなければならないため、安全性に問題がある。また、臨床応用可能なGMPレベルのCD105抗体ビーズは、非常に高価である。よって、これらの方法に替わる安全で効率的、しかも安価に幹細胞を分取・増幅する方法が必要である。そこで、我々は、臨床研究に向けて、GMP準拠の新規幹細胞分取法を開発している。本研究では、新規幹細胞分取法を用いたヒト歯髄幹細胞の特徴をヒト歯髄CD105⁺細胞および、未分取の歯髄total細胞と比較し、また、in vivoにおける歯髄再生能を比較検討した。

【材料および方法】

1. 歯髄幹細胞分取：患者から文書で同意を得た後、抜去歯の歯髄組織からtotal歯髄細胞を分離し、2代目で新規分取法により、歯髄幹細胞を分取した。CD105⁺細胞については、total歯髄細胞からフローサイトメトリーにて分取した。
2. 歯髄幹細胞の特徴化
 - (1) 幹細胞表面マーカーの発現：フローサイトメトリーにてCD29, 44, 73, 90, 105, CXCR4陽性率を解析した。
 - (2) 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mRNA発現を解析した。
 - (3) in vitroにおける多分化能の解析：血管、神経、骨・象牙質および、脂肪誘導能を比較した。
 - (4) 細胞増殖能：ヒト血清及び遊走因子に対する細胞増殖能を比較した。
 - (5) 遊走能：TAXIScan-FLにて遊走因子に対する遊走能を比較した。
3. in vivoにおける血管新生能：マウス下肢虚血モデルに各種細胞を移植し、2週間後にレーザードップラー解析およびBS1-lectin染色による免疫組織学的解析を行った。
4. SCIDマウスを用いた歯髄再生能の評価：ヒト抜去歯をスライス後、一端をセメントで封鎖し、歯髄幹細胞をscaffoldとしてコラーゲンと共に注入し、SCIDマウスの皮下に移植して、3週間後、歯髄再生能を比較した。形態をHE染色にて、神経再生能および、血管新生能を各々、PGP9.5, BS1 lectin染色により免疫組織学的に解析した。また、象牙質形成をin situ hybridization (DSPP, enamelysin)にて解析した。

【結果】

新規幹細胞分取法を用いた歯髄幹細胞は、未分取の歯髄細胞と比較して、幹細胞マーカーの発現が高く、血管誘導能、神経誘導能、増殖能、遊走能が高かった。よって、新規幹細胞分取法によりCD105⁺細胞と類似した、幹細胞の形質を保持した細胞を分取できることがわかった。この歯髄幹細胞を下肢虚血モデルマウスに移植すると、血管新生を促進し、血流の回復が認められた。さらに、ヒト抜去歯に注入してSCIDマウスの皮下に移植すると、CD105⁺細胞と類似して歯髄が再生された。

【結論】

GMP準拠の新規幹細胞分取法の歯髄再生に対する有効性が示唆された。

新規幹細胞分取法を用いたイヌ歯髄幹細胞の特徴化

¹愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座、²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、
³愛知学院大学歯学部 顎口腔外科学講座

○竹内 教雄^{1,2}、庵原 耕一郎²、村上 真史²、堀部 宏茂^{2,3}、中村 洋¹、中島 美砂子²

Characterization of canine pulp stem cells isolated by novel method

¹Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University ²Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, ³Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○Norio Takeuchi^{1,2}, Koichiro Iohara², Masashi Murakami², Hiroshi Horibe^{2,3}, Hiroshi Nakamura¹, Misako Nakashima²

【研究目的】

私共はこれまで歯髄組織から分取した CD31⁺SP 細胞あるいは CD105⁺細胞は血管、神経再生能に優れ、イヌ抜歯後の根管内に移植することで、歯髄組織が再生することを明らかにした(第132回春季歯科保存学会)。しかし、幹細胞分取に使用するフローサイトメトリーや CD105 抗体ビーズは臨床応用にはコンタミネーションやコストの問題で困難である。そこで、これらの方法に替わる GMP 準拠の安全で効率的、しかも安価に幹細胞を分取・増幅する方法を開発している。本研究では、新規幹細胞分取法を用いた歯髄幹細胞と未分取の歯髄細胞の *in vitro* における各種形質を比較し、本方法の歯髄幹細胞分取における有用性を検討した。

【材料および方法】

1. イヌ歯髄幹細胞の分取：イヌ抜去歯より歯髄組織を採取後、酵素処理にて歯髄細胞を分離培養した。2代目にて新規分取法によって歯髄幹細胞を分取し、培養・増幅した。
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, 146, CXCR4 の陽性率を比較した。
3. 分子生物学的解析：Real-time RT-PCR において、幹細胞マーカー(*Sox2*, *Stat3*, *Bmi1*, *Rex1*, *CXCR4*)、血管誘導因子(*VEGF*, *GM-CSF*, *E-selectin*, *MMP3*)、神経栄養因子(*BDNF*, *GDNF*, *NGF*, *NPY*, *NT3*)の mRNA 発現を比較した。
4. *in 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 形成誘導及び神経誘導を行い、28日後免疫組織学的及び分子生物学的に比較した。
 - ③象牙質・骨誘導能：BMP2 添加培地にて28日培養後、Arizarin Red 染色にて比較した。
 - ④脂肪誘導能：脂肪誘導用培地にて28日培養後、Oil Red O 染色にて比較した。
5. 遊走能：TAXIScan-FL を用いて FBS に対する遊走能を比較した。
6. 増殖能：Tetra Color One を用いて FBS に対する細胞増殖能を比較した。

【結果】

フローサイトメトリーでは、分取した歯髄幹細胞と未分取の歯髄total細胞は同様にCD29, 44, 90を発現していたが、CD105は歯髄幹細胞がより高い値を示した。さらに、歯髄幹細胞は歯髄細胞より幹細胞マーカー、血管誘導因子、神経誘導因子の発現が高いものが多かった。また、歯髄幹細胞は歯髄細胞に比べ高い多分化能を有していた。歯髄幹細胞は歯髄細胞と比べ、遊走能および増殖能が高い傾向が示された。

【結論】

新規幹細胞分取法により分取された歯髄幹細胞は、未分取の歯髄 total 細胞よりも高い遊走能、増殖能および多分化能を示し、高効率な幹細胞分取法として有用であることが示された。

中高年齢イヌにおける自家歯髄幹細胞移植による抜髄後歯髄再生

1)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、²⁾愛知学院大学歯学部 顎口腔外科学講座、³⁾愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座、⁴⁾愛知学院大学歯学部 小児歯科学講座
○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)}、林 勇輝^{1,4)}、
栗田 賢一²⁾、中島 美砂子¹⁾

Dental pulp regeneration by autologous transplantation of pulp stem cells from middle and old age after pulpectomy in dogs

¹⁾Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, ²⁾Department of Oral and Maxillofacial Surgery, ³⁾Department of Endodontics, ⁴⁾Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Horibe Hiroshi^{1,2)}, Iohara Koichiro¹⁾, Murakami Masashi¹⁾, Takeuchi Norio^{1,3)}, Ishizaka Ryo^{1,4)}, Hayashi Yuuki^{1,4)}, Kurita Kenichi²⁾, Nakashima Misako¹⁾

【研究目的】私どもは、これまで、若齢のイヌの歯髄より幹細胞を分取し、根完成後の歯の完全抜髄後の根管に自家移植し、歯髄を再生させることに成功した。しかしながら、ヒトにおいては、抜髄処置は中高年齢者に多く、中高年齢者での歯髄再生治療が必要となる。一方、高齢の幹細胞は数が減少し、分化能・再生能および遊走能が低下するという報告がある。また、高齢の歯髄組織からは、得られる組織量および幹細胞のコロニー数が減少し、継代するにつれ分化能を失うという報告もある。さらに、幹細胞の分取法が分化能、細胞老化および増殖停止に影響を及ぼすともいわれている。私どもは、前回第135回学会にて、フローサイトメトリーにより分取した中高年齢由来のCD105⁺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を発表した。本研究では、さらに、中高年齢の歯髄幹細胞を私どもが新規に開発した方法により分取し（本学会竹内らポスター発表）、その細胞形質を若齢と比較した。ついで、若齢と同様に、5歳のイヌの歯において、抜髄後の根管に自家移植による歯髄再生を検討し、中高年齢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. 8ヵ月齢、5歳齢のイヌ抜去歯から total 歯髄細胞を分離し、2代目で新規法により歯髄幹細胞の分取を行った。
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。
4. *in vitro*における多分化能の解析（血管誘導、神経誘導、象牙質誘導、脂肪誘導）
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：イヌ血清および遊走因子に対する細胞増殖能を比較した。
7. 抜髄後歯髄再生
A 抜髄処置 7~14 日後歯髄幹細胞 5×10^5 個を遊走因子とともに根管に注入
B 移植 14 日後抜歯 5 μ m パラフィン切片作製
C 形態学的解析（H-E 染色、免疫染色、*in situ* hybridization）

【結果】若齢の total 歯髄細胞 2代目では CD105 陽性率は約 10%であったが、中高年齢の 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、中高年齢歯髄幹細胞は若齢と同様に、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、中高年齢歯髄幹細胞は若齢歯髄幹細胞と同様に、中高年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。中高年齢のイヌに歯髄幹細胞を移植すると、若齢と同様に、血管新生、歯髄再生がみられ、象牙質側壁には象牙芽細胞がみられた。

【考察・結論】中高年齢のイヌ歯髄組織は幹細胞含有量が低い、得られた歯髄幹細胞は若年と同様の幹細胞形質を示すことが明らかとなった。また中高年齢のイヌの歯髄幹細胞を用いて、若年と同様に抜髄後根管に自家移植すると、若年と同様に血管新生、歯髄再生が生じることが明らかとなった。よってこれらの結果より、中高年齢においても、自家移植による歯髄再生治療が可能であることが示唆された。

ブタ歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞異所性移植による再生歯髄組織の解析 および歯髄再生に及ぼす根管内微小環境の影響

¹⁾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、

²⁾愛知学院大学 歯学部 小児歯科学講座、³⁾愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座

○林 勇輝^{1,2)}、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 after ectopic transplantation of porcine pulp and bone marrow and adipose CD31⁺ SP cells, and potential effect of microenvironment of the root canal

¹⁾Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, ²⁾Department of Pediatric Dentistry,

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

○Hayashi Yuki^{1,2)}, Ishizaka Ryo^{1,2)}, Iohara Koichiro¹⁾, Murakami Masashi¹⁾, Nakamura Hiroshi³⁾, Fukuta Osamu²⁾, Nakashima Misako¹⁾

【目的】

我々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、ブタ同一個体由来の歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞をブタ歯根に注入し、異所性に SCID マウスに移植することで、骨髄・脂肪でも歯髄と同様に歯髄様組織が再生することを報告した（第 134 回日本歯科保存学会発表）。本研究では、さらに、骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞移植により再生した組織を分子生物学および免疫組織学的に詳細に解析し、歯髄組織であることを同定した。また、骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞移植でも歯髄組織が再生する機序を明らかにするため、各種処理を加えたブタ歯根を用いて歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞の異所性移植を行い、歯髄再生に及ぼす根管内微小環境の影響を検討した。

【材料と方法】

1. 歯根内に歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞を注入し、異所性移植後の再生歯髄様組織解析
 - 1) 歯髄再生量：HE 染色後、統計学的解析
 - 2) 血管新生量：RECA1 染色後、統計学的解析
 - 3) 神経再生量：PGP9.5 染色後、統計学的解析
 - 4) 移植細胞の血管誘導・神経栄養因子発現：in situ hybridization および GOT2 免疫染色の二重染色
 - 5) 移植細胞の増殖：Ki67 および GOT2 免疫染色の二重染色
2. 再生組織が歯髄であることの証明：Real-time RT-PCR あるいは in situ hybridization (歯髄マーカー mRNA 発現)
3. 各種処理後の歯根内に歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞を注入し、異所性移植後の再生歯髄様組織解析
各種処理法：①0.6N 塩酸脱灰処理、②①をさらに 4.0M グアニジン塩酸処理、③湿潤下オートクレーブ処理(蛋白質完全失活)
1 および 2 と同様に検討

【結果・考察】

歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞移植による再生歯髄様組織において、再生量は歯髄が最も多く、ついで脂肪、骨髄の順であった。また血管・神経では歯髄が最も多く、ついで骨髄、脂肪の順であった。骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞移植による再生組織中の歯髄マーカーの mRNA 発現は歯髄 CD31⁺SP 細胞移植による発現と類似していた。また、GOT2 との二重染色により、移植細胞は RECA1 や PGP9.5 陽性ではなく、血管誘導因子あるいは神経栄養因子を発現していることが明らかとなった。また、移植細胞は Ki67 陽性細胞と重ならなかった。したがって、これらの結果より、移植細胞は血管・神経に直接分化するのではなく、これらの細胞から分泌された因子がパラクリン的に作用して、歯根外の宿主の細胞を歯根内に遊走させ、増殖、分化を誘導する可能性が示唆された。

塩酸処理およびグアニジン塩酸処理した根管内には、血管・神経を有し、歯髄マーカーを発現している歯髄組織が再生されたが、オートクレーブ処理した根管内には再生しなかった。このことから、微小環境のなかでも、歯髄再生には根管内の物理的因子は関与せず、根管内の Growth/Differentiation factors あるいは遊走因子が重要であることが示唆された。

【結論】

歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞移植による再生組織は再生量に差がみられたが、形態学的および分子生物学的に差はなく、完全に歯髄であることが証明された。また、歯髄再生には BMP 以外の根管内微小環境が必要である。

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 第2報：細胞内小器官への分布状況

1 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野、2 (株) ケア・フォー バイオ事業部、3 産業技術総合研究所 生産計測技術研究センター

○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 The second report: The distribution into cell organelles

1Department of Cariology, Nagasaki University Graduate school of Biomedical Sciences, 2Biotechnology Division of Care Four Company Ltd., 3Measurement Solution Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

○Igawa Kazunari1, Xie Ming-Fang2, Ohba Hideki2,3, 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。そのため健康食品としてのキトサンの中でも、最も販売量が多いとされている。当教室では、キチン/キトサンに関して 12 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、かつ種々な生理活性作用を有する D-グルコサミンに注目している。現在、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を解明する研究に着手している。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) の細胞内動態の検討に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するものである。今回、その第2報として、量子ドットの細胞内小器官への分布状況を検討したので報告する。

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℃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 [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 [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 2×10^5 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、CO₂(5%)培養器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 0.2%となるよう調整した培地で継代直後から培養した。培地は3日目に交換した。

4)細胞小器官の染色: Organelle-ID™ RGB reagent (EMZ-53007) にてリソゾーム、ミトコンドリアを生体染色した。

5)観察: 量子ドットの観察は、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。細胞播種後 1, 2, 5, 7 日目に細胞は、顕微鏡ステージ CO₂(5%)培養器 (okalab) 内で培養しながら共焦点レーザー顕微鏡 (ライカ TCS SL) にて観察・撮影を行った。細胞小器官の蛍光観察条件は、ミトコンドリア及びリソゾームについてそれぞれ Excitation: 488nm, 543nm, Emission: 560nm, 667nm の波長を参考とした。

結果 量子ドットは輝度の極めて強い黄緑色の蛍光 (FITC に近似) として細胞内に明瞭に観察できた。量子ドットの NOS-1 細胞内での残留は、培養 7 日目においても頻度は少ないが認められた。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がみられた。また、培養 5 日、7 日後においても、核内への移行は観察できなかった。量子ドットと細胞小器官と関係は、ほぼリソゾームの分布と一致していた。

まとめ 今回、初めて量子ドットに結合した D-グルコサミンの培養芽細胞への長時間にわたる取り込み状況と細胞小器官への分布状況を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と考えられるので、今回の観察は D-グルコサミンの細胞膜内及び細胞小器官への移行を示していることとなる。今後は、膜内通過時間、さらには細胞外への排出状況 (細胞への有害性を含めて) などを検討する必要がある。さらに、細胞内での単糖の代謝による変化を観察するために、細胞が培養皿上で増殖ののち量子ドットを取り込ませるなど実験系の工夫も必要である。

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.

肝細胞による代謝活性を試みた *in vitro* 発生毒性試験法の開発

大阪歯科大学 歯科理工学講座
○今井 弘一, 武田 昭二

An Attempt to development of *in vitro* embryotoxicity test with the metabolic activity by hepatic cells
Department of Biomaterials, Osaka Dental University
○Koichi IMAI, Shoji TAKEDA

【緒言】 歯科生体材料がヒトの正常な発生に及ぼす影響は重要なチェック項目である。 *In vitro* 発生毒性試験法の Embryonic Stem Cell Test 法がドイツ連邦で 1997 年に開発された。 この方法はすでに欧米を中心とした国際バリデーショで正確な予知性も確認されているが、マウス由来の ES 細胞には化学物質におけるヒトの代謝活性の影響を結果に反映できないことが最大の欠点とされている。 これを解決するため、演者らは、ヒトおよびマウスの浮遊肝細胞を用いて代謝活性による *in vitro* 発生毒性試験への影響を調べた。 また、樹立株細胞のヒト肝癌由来の HepG2 細胞についても調べた。

【実験材料・方法】

マウス由来の ES-D3 細胞が安定した細胞分化が可能な 3 次元培養を行った。 肝由来浮遊細胞はヒト由来およびマウス由来の細胞(Celsis IVT 社)を用いた。 対照群は肝細胞を用いなかった。 ES-D3 細胞を懸滴培養法で Embryoid Bodies (EBs) を製作した。 使用した培地は ES-D3 細胞用培地に肝細胞用培地を等量加え血清をさらに加えて最終血清濃度を容積比 20% とした。 試験液はヒトへの生殖・発生毒性がすでに知られている thalidomide を用いた。 以下, thalidomide 添加群を S 群, 無添加群を NS 群とした。 7 日間静置培養後に EB が分化してテラトーマ状となった中で心筋に分化し鼓動が鏡見下で認められた well 数を全体の well 数の百分率とした。 また培養液の LDH 量を測定した。

【結果と考察】

鼓動率は対照群と比べて、ヒトおよびマウス由来浮遊肝細胞で NS 群より S 群がやや低い値を示した。 また、HepG2 細胞では NS 群と S 群で差が認められなかった。 なお、LDH 量はいずれも対照群と有意差が認められなかった。

Thalidomide は、1960 年代に動物実験によって一般の細胞毒性レベルが低い安全な睡眠薬として販売されたが、四肢欠損やアザラシ症などが多発したため大きな社会問題となったことは有名である。 血管新生阻害作用がその原因とされているが、催奇形性の可能性がある化学物質を未然に予知できる生殖・発生毒性試験が当時は存在しなかったことが大きな原因と考えられる。 従来、生殖・発生毒性試験は動物実験が主体であったが、数多く合成される新規化学物質の安全性試験をすべて動物実験で行うことは EU における REACH(Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals)法でも不可能とされ、ヒトでの生殖・発生毒性リスクを正確かつ簡単にスクリーニングできる *in vitro* 発生毒性試験を開発については社会的要請が大きい。 生殖・発生毒性は全身毒性であることから代謝活性が無視できない。 最近、ヒト肝細胞の培養技術が進んだことから、肝臓をホモジネートした従来の S-9 MIX の利用より生細胞を使用した方が利点が大いと考えられる。

今回の結果から、浮遊肝細胞で代謝活性因子が反映された *in vitro* 発生毒性試験が可能であることが判明した。 しかし、S 群と NS 群の差はヒト由来、マウス由来共に約 10% 程度の差が認められたのみであり、EB 形成後の細胞分化段階にのみ代謝活性因子を加えたことが原因と考えられた。 実験のすべての段階において肝細胞による代謝活性の影響が反映できるような実験系の構築も必要であると考えられる。

今後、この方法の確立によって、安心・安全な歯科修復材料開発に向けて、生殖・発生毒性面についても十分なアプローチが必要であり、歯科修復用材料についても原料化学物質の embryotoxicity を開発段階でチェックすることができる可能性が大きい。

ヒト歯髄幹細胞の安全性試験

¹⁾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
²⁾愛知学院大学歯学部 顎口腔外科学講座、³⁾愛知学院大学歯学部 小児歯科学講座
⁴⁾名古屋大学大学院医学系研究科附属神経疾患・腫瘍分子医学研究センター、⁵⁾愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座
○山本 翼^{1,2)}、庵原耕一郎¹⁾、林 勇輝^{1,3)}、武井佳史⁴⁾、堀部宏茂^{1,2)}、大迫洋平¹⁾、栗田賢一²⁾、
中村 洋⁵⁾、中島美砂子¹⁾

Preclinical safety evaluation of dental pulp stem cells

¹⁾Department of Dental Regenerative Medicine, Center for Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute

²⁾Department of Oral and Maxillofacial Surgery, ³⁾Department of Pediatric Dentistry

⁴⁾Center for Neurological Diseases and Cancer, Nagoya University Graduate School of Medicine, ⁵⁾Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University,

○Tsubasa Yamamoto^{1,2)}, Koichiro Iohara¹⁾, Yuki Hayashi^{1,3)}, Yoshifumi Takei⁴⁾, Hiroshi Horibe^{1,2)}, Yohei Osako¹⁾, Kenichi Kurita²⁾, Hiroshi Nakamura⁵⁾, Misako Nakashima¹⁾

【研究目的】

当研究室ではフローサイトメトリーやマグネットビーズ法に代わる新規歯髄幹細胞分取法を開発し、本法を用いて分取した歯髄幹細胞のイヌ抜髄後根管内への自家移植による歯髄再生に成功した。本研究ではヒト臨床研究を行う前の非臨床試験として、ヒト培養自己歯髄幹細胞 SOP(Standard Operational Procedure)に則り、愛知学院大学 GMP (Good Manufacturing Practice) 準拠の細胞加工施設で分離、培養した歯髄幹細胞の安全性を検討した。

【材料および方法】

1. ヒト歯髄幹細胞の分取：ヒトの歯を抜髄後、安定かつ安全に細胞加工施設に輸送後、アイソレーター内で歯髄細胞を分離、培養した。2代目で新規幹細胞分取法により歯髄幹細胞を分取し、7代目まで培養した。
2. 細菌、真菌、エンドトキシン、マイコプラズマの否定試験、ウイルス・マイコプラズマの否定試験：歯輸送液、新鮮培地、および7代目細胞培養液上清、凍結用培地と細胞洗浄用生理食塩水の混合液の細菌、真菌、エンドトキシン、マイコプラズマ否定試験、また凍結細胞のウイルス・マイコプラズマ否定試験を行った。
3. がん化試験：全身麻酔下で免疫不全マウス(NOD/SCID マウス、KSN nude マウス)の精巣にヒト歯髄幹細胞を移植した。また、KSN nude マウスにおいては、右鼠径部皮下に同細胞を移植した。移植 16 週間後のパラフィン切片を作成し、HE 染色を行った。
4. 染色体異常・核型異常試験：Q バンド解析法で作成したヒト歯髄幹細胞の染色体標本について、Hoechst33758 液で処理し、次いでキナクリンマスタード液で染色後、蛍光顕微鏡にて染色体画像を取得した。

【結果】

今回検討した条件において、ヒト歯髄幹細胞は細胞の出荷時、移植前において細菌、マイコプラズマ、ウイルスの検出はみられなかった。また、ヒト歯髄幹細胞は精巣および皮下において腫瘍形成の所見は全くみられなかった。M 期細胞に対する Q バンド核型解析を施行したところ、染色体異常・核型異常は見られなかった。

【結論】

新規幹細胞分取法にて分取した歯髄幹細胞の安全性が確認された。

心電図 R-R 間隔の周波数分析を用いたストレスモニタの有用性

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

The possibility of stress monitor using R-R interval of ECG

○Sachi Umemori¹, Ken-ichi Tonami¹, Hiroshi Nitta², Kouji Araki³, Shiro Mataka²

1) Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital, 2) Behavioral Dentistry, Department of Comprehensive Oral Health Care, Division of Comprehensive Patient Care, Graduate School, 3) Center for Education Research in Medicine and Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

【目的】安全・安心の医療の実践のためには、歯科治療中の患者のストレスを軽減することが望ましい。我々は歯科治療中の患者のストレスを、交感神経の興奮を反映しているとされる皮膚電位水準を用いてモニタし、分析を行ってきた。既報の結果より、患者への処置直前に何を行うかの説明をする「声かけ」の有無が患者のストレスに及ぼす影響は、心理テストによって求められるその患者のストレス対処様式に関係することが明らかになっている¹⁾。しかしながら、皮膚電位水準は個体差や測定環境の影響を受けやすく、調整に時間がかかり、測定条件の簡便化が課題として残された。近年、心電図の R-R 間隔(心拍周期)を周波数分析することにより生理的ストレスのモニタリングを行う、生体管理情報モニタ(Relax 名人, クロスウェル)が開発された。このモニタは、両手首にクリップ式の電極を装着するだけで自律神経の状態を測定できるため、歯科治療中のストレスモニタリングに簡便に用いることができる。そこで本研究では、皮膚電位水準を用いた既報と同様の方法で、模擬治療下の被験者の生理的ストレスを生体管理情報モニタにより計測し、本装置における生理的ストレスの検出能力を検討した。

【材料および方法】年齢 23~79 歳の、歯科医療従事者ではない男性 4 人、女性 13 人、合計 17 人を被験者とした。事前に被験者のストレス対処様式(問題解決型もしくは情動中心型)を、ラザルス式ストレスコーピングインベントリーの心理テストを用いて調査した。次に、生体管理情報モニタを用い、模擬治療下で心電図の R-R 間隔を測定した。被験者に与える刺激の種類は、「打診」、「歯肉へのエア」、 「口腔内でのタービンの空回し」の 3 種類とし、さらに、刺激直前の「声かけ」ありとなしの 2 条件を設定した。模擬治療では、刺激の種類と声かけの条件を組み合わせた合計 6 つの刺激条件を均等に無作為な順番で、被験者に連続して 12 回刺激を与え、R-R 間隔を逐次周波数分析した。低周波成分(0.04~0.15Hz, 以下 LF)と高周波成分(>0.15Hz, 以下 HF)を記録し、各刺激に対応する LF、HF の変化量の絶対値を求めた。統計解析には一般化推定方程式を用い、LF、HF、LF/HF(緊張度)、LF+HF(不安度)と、ストレス対処様式、声かけの有無、ストレス対処様式と声かけの有無の交互作用との相関を検討した。

【結果および考察】心電図の R-R 間隔の周波数分析によって得られる LF は、頸動脈洞等の圧受容器を介した血圧性変動に関係する交感、副交感神経の興奮を反映し、HF は肺の圧受容器を介した呼吸性変動に関係する副交感神経の興奮を反映するとされる²⁾。本研究で用いた生体管理情報モニタでは、相対的な交感神経の興奮を示す LF/HF を緊張度、交感神経、副交感神経双方の興奮を示す LF+HF を不安度と定義し、モニタしている。得られた結果では、HF はいずれの項とも統計的に有意な相関を認めなかったが、LF、緊張度、および不安度は、ストレス対処様式が問題解決型の被験者では声かけにより低く、情動中心型の被験者では声かけにより高くなった($P < 0.01$)。これは、皮膚電位水準を用いた既報の傾向と一致するものである。皮膚電位水準は手掌の精神性発汗を反映するものであるが、精神性発汗は局所の末梢血流量と密接に関連することが知られている²⁾。末梢血流量は血圧変動と関連するため、血圧調整に関連する自律神経の働きを反映した LF、LF を用いて導き出される緊張度、不安度と皮膚電位水準との間に同様の傾向を認めたと思われる。

【結論】心電図の R-R 間隔の周波数分析を用いた生体管理情報モニタは、被験者の心理特性と生理反応との関連を検出する能力をもち、歯科治療中の患者のストレスモニタリングに有用である可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) 尾崎 卓. 歯科治療時の処置内容の予告は患者のストレスに影響する: 口腔病学会誌 77 巻 1 号, 59-66, 2010 年
- 2) 日本自律神経学会 編, 自律神経機能検査, 文光堂, 164-168, 2007 年

局所通電ブラシ毛と抗菌性歯磨剤とによる歯垢成長阻止に関する研究

福岡歯科大学¹、福岡医療短期大学²、パナソニック株式会社アプライアンス社³
○¹埴岡 隆、²松尾忠行、³永山正仁、³大塚理沙

Electrified toothbrush-bristles with antibacterial dentifrice may inhibit growth of dental plaque.

Fukuoka Dental College¹, Fukuoka College of Health Sciences²,
Appliances Company, Panasonic Corporation³
○¹Takashi Hanioka, ²Tadayuki Matsuo, ³Masayoshi Nagayama, ³Risa Otsuka

【背景・目的】イオン化した薬物の輸送を促進するため電場をかけるイオントフォレシスが実用化されている。抗菌性を有する塩化セチルピリジニウムは歯磨剤中ではイオン状態で存在するため、口腔に低電流を供給する機能を有するイオン式音波振動歯ブラシの使用は歯磨剤中の塩化セチルピリジニウムの輸送に影響を及ぼすと考えられる。本研究では、局所通電ブラシ毛を装備し低電流供給機能を強化した改良型音波振動歯ブラシを塩化セチルピリジニウム含有歯磨剤とともに使用した場合の歯垢成長阻止効果を調べることを目的とした。

【対象・方法】研究説明に対し参加の同意を得た被験者 20 名(歯科衛生士学生)のうち 16 名が最終的に研究に参加した。上下左右前歯の各ブロックの修復物のない 2 歯の健全な唇面を対象歯面とした。研究計画は倫理委員会の承認を受けた。実験デザインは局所通電ブラシ毛を採用し改良型音波振動歯ブラシと従来型イオン式音波振動歯ブラシの 2 種類の歯ブラシ使用によるクロスオーバーデザインとした。被験者を歯ブラシ使用順の 2 群に無作為に割り振った。各セッションでは、抗菌剤を含有した歯磨剤を用いイオン式音波振動歯ブラシによるブラッシングを 5 日間継続した後、ブラッシングを中止し、24 時間、歯垢を成長させた。両セッションの後の歯垢付着状況(OHI)が著しく異なる者は歯垢成長評価の対象外とした。デジタル写真画像上で、染色された歯垢を計測し、標準化した歯垢成長レベルを比較した。中切歯と側切歯の歯頸部中央を基準として歯肉辺縁部からの歯垢の成長の高さをデジタル画像上で画像処理ソフトを用いてピクセル単位で計測した。次いで、被験歯の歯冠長を絶対的な基準として歯垢の成長量を規格化し、評価した。各代表歯について歯垢成長量を算出し、8 歯の平均値を個人の代表値とした。実験群と対照群の個人の歯垢成長の差の検定には、一変量分散分析モデルを用い、個人識別番号の他、セッション回数、歯磨剤重量を独立変数として解析モデル投入した。有意水準は 5%とした。

【結果】16 名全ての被験者が 2 回のセッションを終了した。2 回の OHI の歯垢スコアの差が 2.13 だった 1 名を除く 15 名(OHI の差は 0.4 未満、平均年齢 19.5±0.5 歳)の歯垢成長を評価した。ブラッシング中止後の歯垢の成長は、対照歯ブラシを使用した場合は歯冠長に対する割合は 4.072%であったが、一方、実験歯ブラシを使用した場合の歯垢成長は 1.313%だった。セッションの順序および使用歯磨剤量を調整しても、実験歯ブラシを使用した場合の歯垢成長は対照歯ブラシの使用後の歯垢成長と比べて有意に少なかった ($P < 0.05$)。実験歯ブラシを使用した後の 24 時間後の歯頸部の歯垢の成長は、対照歯ブラシの使用と比べて約 68%成長が抑制された。1 回目と 2 回目のセッションにおける歯垢の成長程度を比較したところ、1 回目は 1.840%であり、2 回目は 3.546%と約 2 倍に歯垢の成長は増加したが、この差は有意ではなかった ($P > 0.05$)。また、歯垢の成長程度の個人差および歯磨剤の使用量はともに有意ではなかった ($P > 0.05$)。

【考察】実験歯ブラシと対照歯ブラシの違いは、低電流供給機能の違いのみであることから低電流供給機能の違いが、歯垢の付着に影響を及ぼしたと考えられる。また、本研究では、歯垢清掃を中止してからの歯垢の成長を比較しているので、歯垢の付着状況の違いは歯垢の成長の違いを反映している。したがって、低電流供給機能の強化により、塩化セチルピリジニウムの定着が促進され、辺縁歯肉部歯面の歯垢の成長を阻止する効果が得られたと言える。本研究は探索的研究であるため、歯垢の評価者は評価前にとの写真が実験群の歯ブラシ使用後のものか対照群の歯ブラシ使用後のものかわかっていた点は、本研究の結果の解釈の限界として挙げられる。被験者はどの歯ブラシかは知らされなかったが、評価者も使用した歯ブラシがわからないようなダブルブラインド試験を実施する必要がある。

【結論】本研究により従来製品に比して歯垢の成長阻止効果が認められたことから、元来音波振動歯ブラシのもつ優れた歯垢除去効果に加えて歯垢成長を阻止する効果が加わり、局所通電ブラシ毛を装備し低電流供給機能を強化した改良型音波振動歯ブラシの使用は、口腔の健康保持増進に寄与するものと期待される。

口腔内カメラシステムと HMD の応用による DH 視覚強化の試み

ホワイト歯科グループ熊本
○堀田理恵 岩崎直子 岩村康代 中西久人 中川寛一

Visual Enhancement of Dental Hyginist using Intra Oral Camera and HMD

White Dental Group KUMAMOTO

○Hotta Rie, Iwasaki Naoko, Iwamura Yasuyo, Nakanishi Hisato, Nakagawa Kan-Ichi

研究目的：

手術用顕微鏡をはじめとする種々の視覚強化機器が紹介され、様々な歯科領域で治療の精密化や精度・予知性の向上に寄与している。これらの視覚機器に共通して要求される仕様は顕微鏡3要素に関連し、拡大・照明・記録である。口腔内カメラシステム(Intra Oral Camera)はカメラヘッドを直接口腔内に挿入し、視覚情報を得るもので昨今の光学システムの進歩や撮像素子の高精度化、高輝度LEDによる照明の強化を背景に新たな展開が期待されている。口腔内カメラシステムを単なる撮影機器としてでなく治療用機器として積極的に応用しようとする試みは藤江(2010)によって報告されている。今回我々は本機器をさらに治療用システムとして応用することを目的としてカメラに HMD (Head mount display) を組み合わせた機器を考案し、歯内療法・歯周治療に応用した結果について、特に歯科衛生士業務に係わる領域への応用を検討した結果を報告する。

方法：

口腔内カメラシステムとして(株)ヨシダ社製 Wave Pict plus を使用した。搭載されている撮像素子は80万画素でカメラ自体も小型軽量化されている。無線操作タイプでは操作ケーブルの取り回しの煩わしさもなく、コンソールにて各種の情報の入出力が可能となっている。なおHMDとしてVUZIX社製Wrap920 Video Eyewearを採用した。検討にあたっては歯科衛生士がその業務内容についてシステムを応用し実際の使用感や機器の効果について検討をおこなった。

成績および考察：

Wave Pict からの映像はHMDのディスプレイ上に”3m先に約67インチスクリーン”の状態に表示される。映像は比較的鮮明で強力な照明により根管深部まで確認可能であった。また従来の固定焦点カメラと異なり任意の倍率でのオートフォーカス機能が生かせること、映像が眼前に投影されるため診療姿勢が安定する。信号の分配によっても輝度や画質の低下が生じないことにより患者や歯科衛生士での同時表示が可能で、かつ記録が可能であった。口腔内情報の視認の観点からすると口腔内カメラでは強力な照明を観察軸にそって直接的に利用でき、実際の歯科衛生士業務においてTBIにおける染め出しと確認、う触の確認、スケーリング等において患者の体位にかかわらずカメラ位置を変更することによって画像を得ることが可能であった。また、HMDではPCモニターと比較し、open spaceの診療所で患者のプライベート情報の表示等、個人情報の管理への配慮が可能であった。

一方、カメラの防湿・防水や口腔内カメラ本体と被写体との間にバキューム等が介在した場合に、フルオート機能によって一時的に輝度やピントに乱れが生じることなど改善の余地も認められ、クローズタイプのHMDではゴーグル外の視覚に制限があり、術野以外の状況を把握しにくいこと、また実際の操作では顕微鏡と比較し空間認識が難しくトレーニングの必要性も示された。

結論：

歯科衛生士の行う業務において、口腔内カメラシステム+HMDの組み合わせは新たな視覚強化機器として応用価値を有することが確認された。

他科入院患者の歯科口腔外科に対する院内紹介調査

¹宇治徳洲会病院 歯科口腔外科

²京都府立医科大学大学院 医学研究科歯科口腔科学

○川北真貴子¹、後藤由佳¹、松下雄亮^{1, 2}、大迫文重^{1, 2}、山本俊郎^{1, 2}、金村成智^{1, 2}、中村 亨^{1, 2}

The analysis of consultative inpatient from another department inside hospital

¹Ujitokushukai hospital department of oralsurgery and dentistry

²Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

○Makiko Kawakita¹, Yuka Goto¹, Yusuke Matsushita^{1, 2}, Fumishige Oseko^{1, 2}, Toshiro Yamamoto^{1, 2},
Narisato Kanamura², Toru Nakamura^{1, 2}

【研究目的】誤嚥性肺炎の予防をはじめとして、周術期や化学療法前後の口腔機能維持の重要性が周知されるに伴い、口腔疾患と医科領域疾患の関連性が取り沙汰されている。日常臨床の場において、病院に設置された歯科口腔外科に期待される役割は、従来の院外の歯科診療所から紹介される口腔外科疾患の対応にとどまらず、自院内他科、とりわけ入院患者の歯科全ての領域に対する診断及び治療についての紹介が増加している。そこで、当院他科入院中の紹介患者のプロフィールや紹介内容を分類・調査し、歯科保存治療領域の割合を調査することで院内紹介の実態を把握、今後の病院歯科の役割、歯科保存治療専門医の配置の重要性について検討を加えたので報告する。

【調査対象および方法】調査対象患者は平成23年4月から平成24年2月までの11ヶ月間の他科から歯科口腔外科に院内紹介された初診入院患者とし、入院期間と入院から紹介までの日数、紹介目的を調査した。紹介元診療科の調査に関しては、併せて歯科保存治療領域の占める割合についても調査した。なお紹介元診療科は、主治医の在籍する標榜科とした。紹介目的について、1名の患者で複数の異なる治療目的の場合では各々1件、複数部位にわたる紹介でも同一目的の場合では1件に分類した。歯牙外傷のうち、抜歯症例は口腔外科治療領域の外傷に、歯の保存を選択した症例は歯科保存治療領域の歯牙外傷に分類した。そして口腔ケアは、プラーク及び口腔老廃物のコントロールという観点から歯科保存治療領域に分類した。また、目的が明確でなかった精査依頼は、その他の精査依頼として分類した。

【成績】紹介総数は219人、平均入院期間は59日、入院から紹介までに要した日数は平均25日であった。紹介目的件数は(1)口腔外科治療領域38件—内訳：抜歯23件、外傷8件、炎症4件、口腔粘膜疾患2件、その他1件。(2)歯科保存治療領域109件—内訳：口腔ケア53件、歯周療法29件、保存修復療法13件、歯牙外傷10件、歯内療法4件(3)その他領域76件—内訳：補綴処置53、精査依頼23件であった。紹介元診療科と各科の歯科保存治療領域の紹介数は救急総合診療科58人(うち、歯科保存治療領域紹介数-以後、略21人)、心臓血管外科35人(29人)、整形外科31人(15人)、脳神経外科25人(8人)内科21人(10人)、外科20人(8人)、呼吸器内科10人(3人)、心臓血管内科9人(3人)、泌尿器科5人(3人)、小児科2人(2人)、麻酔科2人(2人)、消化器内科1人(1人)であった。

【考察および結論】本調査の対象病院は、病床数400床の二次医療機関である。所属医療圏に二次医療機関は14施設存在し、2施設に歯科口腔外科が配置されている。常勤歯科医は臨床研修歯科医を含め5名で、うち1名が歯科保存治療専門医で所属長である。この当院入院中の院内紹介患者の平均入院期間は、59日であった。当院の平均在院日数が13日であることを考えると極めて長い。また入院後、平均25日で紹介されていることと併せて考えると紹介目的疾患が入院時に既に存在していた場合、あるいは入院後新たに発生した場合、いずれも口腔機能の維持管理において院内の連携に課題がある現状が示唆された。紹介目的の内容は、歯科保存治療領域が109件と多数を占め、口腔ケアがその半分近くを占めた。診療科別紹介数は救急総合診療科からが最も多く、外傷や炎症の感染源精査が多くを占めた。これは、予定された入院患者が少なく、救急入院時に診断が確定していないことが多い救急総合診療科の特性も関係していると考えた。そして、紹介のうち保存治療領域の紹介数は心臓血管外科が最も多かった。これは、心臓血管外科主治医が周術期の口腔機能の維持の重要性に関心が高く、歯科受診をクリティカルパスに組み込んでいるためと考えた。本調査から、当院入院中患者では歯科保存治療領域の治療に対するニーズがかなりみられることから、病院歯科口腔外科においても、歯科保存治療専門医の積極的な治療参画や歯科受診のクリティカルパスの組み込みに対する働きかけ、歯科保存治療の重要性について啓発する必要性が示唆された。

京都大学霊長類研究所のチンパンジー11 個体の口腔健康状態について

¹⁾鶴見大学歯学部保存修復学講座

²⁾鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座 ³⁾鶴見大学歯学部探索歯学講座
○齋藤 渉¹⁾, 菅原豊太郎¹⁾, 山口貴央¹⁾, 小川 匠²⁾, 花田信弘³⁾, 桃井保子¹⁾

Oral Health of 11 Chimpanzees in Primate Research Institute Kyoto University

¹⁾Department of Operative Dentistry,

²⁾Department of Fixed Prosthodontics and ³⁾Department of Translational Research
Tsurumi University School of Dental Medicine

○SAITO Wataru¹⁾, SUGAWARA Toyotaro¹⁾, Yamaguchi Takao¹⁾, OGAWA Takumi²⁾, HANADA Nobuhiro³⁾, MOMOI Yasuko¹⁾

【目的】 チンパンジー (Pan troglodytes) は、その遺伝子塩基配列の約 98 % がヒトと一致し、私たちに最も近い動物である。チンパンジーは高い知性を有する霊長類であり、その肉体的、行動的特徴の多くがヒトと一致するため、私たちが口腔保健に関する研究を進めていく上で興味深い対象である。しかし、チンパンジーの口腔状態に関するデータは少ない。

我々は、日本歯科保存学会 2011 年度春季学術大会 (第 134 回 [P88.]) で、京都大学霊長類研究所で飼育されているチンパンジー 9 個体におけるう蝕および歯周疾患の罹患状態を報告した。本研究では、新たに 2 個体を検診した結果を合わせて報告する。

【方法】 本研究は、京都大学霊長類研究所 (愛知県犬山市) の共同利用・共同研究として実施された。研究所で飼育されているチンパンジー 14 個体のうち 11 個体、9 Y (years old) /F (female), 9 Y/F, 10 Y/M (male), 25 Y/F, 28 Y/F, 32 Y/F, 33 Y/F, 34 Y/M, 34 Y/M, 42 Y/F and 43 Y/M に対して、全身麻酔下で全身的検診が行われる中、事前に手法を統一した 2 名の検査者による歯科検診を実施した。検査内容は、視診による口腔内検査、歯周ポケット検査、動揺度検査とした。検診は所内獣医師の指導のもとに行われた。

【結果】 検査対象となった部位は、萌出歯 342 歯である。その内う蝕歯は 16 歯であり、処置歯はなかった。喪失歯は 3 歯であった。したがって、DMF 歯は 19 歯、DMF 指数は 1.45 であった。歯肉溝の深さは、342 歯中、10 mm が 1 歯、9 mm が 0 歯、8 mm が 1 歯、7 mm が 1 歯、6 mm が 4 歯、5 mm が 18 歯、その他の歯は 4mm 以下であった。歯周ポケット測定時に出血が全く認められなかったのは 6 個体、動揺歯が認められなかったのは 8 個体であった。

著しいプラークの蓄積と歯石の沈着が 9 個体に認められた。また、年齢に応じて全顎的に顕著な咬耗を認めた。

【考察】 16 歯を数えたう蝕歯は、そのほぼ全てに破折を認めた。そのうち大臼歯は 1 歯、小臼歯は 4 歯、前歯は 11 歯であり、破折・う蝕歯は前歯部に集中している。よって、う蝕の原因は外傷に起因すると考えられる。本来、DMF 歯はう蝕経験歯を指すものだが、本研究ではチンパンジーの口腔健康状態を数値化するために、外傷に起因すると思われるものも DMF 歯とした。前報での DMF 歯は 10 歯、DMF 指数は 1.11 であったが、新たに 2 個体の検診結果を合わせたところ、DMF 歯は 1.9 倍、DMF 指数は 1.3 倍の増加となった。これは、新たに診査した 2 個体の年齢が 29 Y および 34 Y であり、40~50 年生きるといわれるチンパンジーの中では高齢であること、さらに、2 個体とも高齢の雄であるため、喧嘩や転落等の外傷による歯の破折の頻度が多かったためと考えられる。

歯肉溝の深さが 4 mm 以下である歯は全体の 92.7 % であり、そのほとんどが測定時の出血を認めなかった。ヒトと比べ、歯および顎口腔が大きいチンパンジーにとって、深さ 4 mm の歯肉溝は健康な歯肉であると推察する。

予備的な段階の見解ではあるが、現在までに検診したチンパンジーのう蝕と歯周疾患から見る口腔健康状態は、口腔衛生に関する介入は皆無であり、プラークと歯石の多量の沈着を散見するにもかかわらず極めて良好ということが出来る。我々はこの理由として、本研究所におけるチンパンジーが 100 品目を超える無加工のバランスの良い食餌を取っている事に着目している。また、考察をより深めるために、現在プラークと歯肉溝内の細菌の網羅的解析も同時進行させている。

【結論】 京都大学霊長類研究所で飼育されているチンパンジー 11 個体の歯科検診の結果から、歯科的介入がないにもかかわらず、彼らの口腔健康状態が、う蝕と歯周疾患に関しては極めて良好であることがわかった。

会員外共同研究者: 宮部貴子¹⁾, 友永雅己¹⁾, 渡辺朗野¹⁾, 兼子明久¹⁾, 渡辺祥平¹⁾, 井川知子²⁾, 野村義明³⁾, 今井 奨³⁾, 宮之原真由³⁾, 岡本公彰⁴⁾, 阿保備子⁵⁾ ¹⁾京都大学霊長類研究所 ²⁾鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座 ³⁾鶴見大学歯学部探索歯学講座 ⁴⁾鶴見大学歯学部微生物学講座 ⁵⁾鶴見大学歯学部教育探索歯学寄付講座

う蝕象牙質硬さ測定システムを用いた学生教育の試み

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¹⁾

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座²⁾

○日下部修介¹⁾, 藤井和夫¹⁾, 下出 輝¹⁾, 清水明彦²⁾, 堀田正人¹⁾

Trial for Student Education on Hardness Testing System for Carious Dentin

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

Asahi University School of Dentistry¹⁾

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine²⁾

○KUSAKABE Shusuke¹⁾, Fujii Kazuo¹⁾, SHIMODE Akira¹⁾, SHIMIZU Akihiko²⁾, HOTTA Masato¹⁾

【研究目的】

現在のう蝕治療は、エアータービンにてう窩を開拓した後、硬さ、着色、う蝕検知液による染色性を基準としてう蝕象牙質を低速のラウンドバーやスプーンエキスカベータで削除している。しかし、削除時の硬さや着色からの情報だけでは、術者の主観や臨床経験で判断することが多く客観性に欠ける。う蝕象牙質硬さ測定システム・カリオテスター（三栄エムイー）は圧子を一定の荷重でう蝕象牙質に押し込み、その距離(μm)を計測し、距離をスラブ硬さに換算するものであり、う蝕象牙質の硬さを数値として表し、測定することができるシステムである。

当大学では学生の授業の一環として、研究の一端を経験し歯科医師として備えるべく研究者としての気質を養うことを目的に「歯科医学研究入門」が開設されている。当研究室では2学年の学生に対し、「カリオテスターを用いたう蝕象牙質の硬さの検討」をテーマに教育・研究を行っている。今回の研究では学生に対し、う蝕象牙質の除去をエキスカベータで行ってもらい、カリオテスターを用いてう蝕象牙質の硬さの測定とう蝕検知液とエキスカベータの併用後のう蝕象牙質の硬さを測定し、保存可能なう蝕象牙質の硬さについて検討することを指導したので報告する。

【材料および方法】

1. 実験前準備

学生7人に対し、実験を行う前に、う蝕の概要について講義を行った。その後カリオテスターについての説明を行い、適切に使用できるよう練習を行った。

2. 実験方法

試料として予めエアータービンにてう窩の開拓が行われているヒト新鮮う蝕抜去歯を用いた。う蝕象牙質の硬さの測定にはカリオテスターを使用した。

まずう窩の開拓後のう蝕象牙質の硬さを測定し、その後エキスカベータでう蝕象牙質を術者（学生）の主観により除去しその時の硬さを測定し、さらにう蝕検知液（カリエスチェック、ニシカ）を用いて染色し、メーカーの指示通り検知液が染まらなくなるまでエキスカベータを用いて除去し硬さを測定した。この操作を10か所のう蝕象牙質に対して行い、各々の平均値を求め、さらに学生7人の平均値も求めた。カリオテスターの測定方法はメーカーの指示通り、まず圧子に塗料を塗布し、150gfの力でう蝕象牙質に押し込み、圧子先端部の塗料消失距離を計測ソフトにて測定し、スラブ硬さとした。

なお、う蝕象牙質の硬さは計測ソフトにおいて15μm (64KHN) ~70μm (6KHN) までしか測定できないため、まず得られた距離(μm)について検討した。得られた値は一元配置分散分析と多重比較検定schefféを用いて有意差検定 (p<0.05) を行った。

【結果および考察】

カリオテスターによって測定された距離の平均値およびその値に対するスラブ硬さは、う窩開拓後は224.0μm (6KHN 以下)、エキスカベータ使用後は66.7μm (6.5KHN)、う蝕検知液使用後は35.3μm (17KHN) であった。う窩開拓後とエキスカベータ使用后、う窩開拓後とう蝕検知液使用后、エキスカベータ使用后とう蝕検知液使用後のう蝕象牙質の測定距離に有意差が認められた。

以上よりう蝕検知液を用いた方がエキスカベータのみの場合より硬さが大きいことから、エキスカベータのみではう蝕象牙質が残存してしまっていたが、う蝕検知液を使用することにより多くのう蝕象牙質が除去されることが分かった。またカリオテスターにおけるう蝕象牙質の除去の指標は硬さ20KHN以上とされているが、学生にとって保存可能なう蝕象牙質の硬さを自分の判断で除去することは極めて困難であり、う蝕検知液を用いてもエキスカベータでは完全にう蝕象牙質の除去を行うことも困難であることが示唆された。また術者によってカリオテスター使用時の圧子を押し込む際の力加減、スピードに差があるなどの影響もあると推測できるため、カリオテスターの使用に対する訓練も必要であると考えられた。しかし、カリオテスターは学生にとってう蝕象牙質に対する保存可能な硬さを理解、経験するのに適した機器であり、指導した学生からう蝕象牙質について様々なことを知ることができ、良い経験ができたなどの感想を得た。

今後歯科医師（臨床研修医）を対象に同様の実験を行い、学生の結果と比較検討したいと考えている。またラウンドバーなどエキスカベータ以外の切削器具についても同様の実験を行うことを検討している。

保存修復学基礎実習における問題志向型教材の開発 —教材の効果的な利用法の検討—

北海道医療大学歯学部う蝕制御治療学分野¹⁾、朝日大学歯学部歯科保存学分野歯冠修復学²⁾、大阪歯科大学歯科保存学講座³⁾、東京歯科大学千葉病院総合診療科⁴⁾、福岡歯科大学口腔医療センター⁵⁾、福岡歯科大学歯科保存学分野⁶⁾、福岡歯科大学総合歯科学分野⁷⁾、(株)ニッシン⁸⁾、広島歯科技術専門学校⁹⁾
○泉川 昌宣¹⁾、斎藤 隆史¹⁾、小竹 宏朋²⁾、堀田 正人²⁾、谷本 啓彰³⁾、山本 一世³⁾、高瀬 保晶⁴⁾、米田 雅裕⁵⁾、泉 利雄⁶⁾、廣藤 卓雄⁷⁾、谷岡 正行⁸⁾、新谷 英章⁹⁾

Developing Problem-Oriented Learning Tools for Basic Training in Operative Dentistry — Study on Effective Utilization Methods of Educational Materials —

Health Sciences University of Hokkaido¹⁾、Asahi University²⁾、Osaka Dental University³⁾、Tokyo Dental College Chiba Hospital⁴⁾、Fukuoka Dental College⁵⁾⁶⁾⁷⁾、Nissin Dental Products Inc.⁸⁾、Hiroshima Dental Technical College⁹⁾

○Masanobu Izumikawa¹⁾、Takashi Saito¹⁾、Hiroto Kotake²⁾、Masato Hotta²⁾、Hiroaki Tanimoto³⁾、Kazuyo Yamamoto³⁾、Yasuaki Takase⁴⁾、Masahiro Yoneda⁵⁾、Toshio Izumi⁶⁾、Takao Hirofuji⁷⁾、Masayuki Tanioka⁸⁾、Hideaki Shintani⁹⁾

【目的】保存修復学基礎実習は、歯の硬組織疾患に対する検査・診断・治療計画の立案・治療といった一連の基本的技能を習得することを目的としており、卒前臨床実習および卒業後臨床研修の基礎をなす重要な過程である。しかし、従来の実習では「決められた通りに歯を削り、修復する」ことに終始し、初診時の医療面接から始まり検査・診断・治療計画の立案といった臨床における治療プロセスは加味されていない。そこで今回我々は、北海道医療大学、東京歯科大学、朝日大学、大阪歯科大学、福岡歯科大学、(株)ニッシンと合同でプロジェクトチームを結成し問題志向型教材の開発を行った。今回、完成した教材の一部を実習にトライアル導入し、教材の効果的な利用法についての検討を行ったので報告する。

【方法】上記5大学における保存修復学基礎実習内容を精査した後、術式や文言の統一を図り、臨床所見等(口腔内写真、エックス線写真およびその他の検査)の患者情報を付与した術者視点による新教材を作成した。同時に実習用人工歯の開発も行った。平成23年度歯学部第3学年の保存修復学基礎実習「くさび状欠損に対する光硬化型ガラスアイオノマーセメント修復」「2級コンポジットレジン修復」において開発した教材を用いて実習を行った。PowerPoint (PP)教材はPDF形式に変換後、CD-Rに保存し事前に学生に配布した。実習当日はPP教材、動画教材を各実習台に備付けのPCで個々の学生が適宜閲覧可能な状態とした。従来用いていた実習書は補助教材として使用した。実習終了後、学生61名、教員12名に対してアンケート調査を行った。

【結果】学生を対象にしたアンケート調査では、PCを所有している学生は90%であり、その64%がPDFの閲覧が可能、97%がPPの閲覧が可能であった。最も使用しやすい教材として46%が動画教材と回答した。PP教材の使用感について86%が分かりやすいと回答し、実習ステップ、文章、術者視点の画像についての高評価が得られた。内容量については80%が適当と回答した。また85%が理解の助けになったと回答した。動画教材の使用感について90%が分かりやすいと回答し、術者視点、実習ステップ、画質についての高評価が得られた。内容量については82%が適当と回答し、85%が理解の助けになったと回答した。また、今後の実習での教材の配布方法については、65%がCDと紙媒体による実習書の両方を希望し、紙媒体のみ配布を希望する学生は26%、CDのみを希望する学生は7%であった。

教員を対象にしたアンケート調査では、83%が開発した人工歯が良好であると評価した。また教材のその他の活用法についてはPP教材、動画教材共に、臨床前実習、共用試験対策、卒業後研修での活用が可能であると回答した。

【考察】今回開発した教材は、学生、教員両者から高評価が得られた。しかし、全学生がPCを所有しているわけではなく、事前配布した教材を自宅で閲覧できない学生への対応を考慮する必要がある。また、多くの学生がCDと紙媒体両方の配布または紙媒体のみの配布を希望し、CDのみ配布を希望する学生はごく少数であった。その要因としては、PDFまたはPPの使用法に慣れていないことや、学内において実習室以外での閲覧可能な場所が限られ、実習前の予習などに支障をきたすためと考えられる。したがって本教材の正式導入にあたり、より学生が利用しやすい環境の整備を図る必要があると考えられた。

保存修復学基礎実習における問題志向型教材の開発

－1級コンポジットレジン・2級メタルインレー修復のトライアル－

朝日大学歯学部歯科保存学分野歯冠修復学¹⁾、大阪歯科大学歯科保存学講座²⁾、北海道医療大学歯学部う蝕制御治療学分野³⁾、東京歯科大学千葉病院総合診療科⁴⁾、福岡歯科大学口腔医療センター⁵⁾、福岡歯科大学歯科保存学分野⁶⁾、福岡歯科大学総合歯科学分野⁷⁾、(株)ニッシン⁸⁾、広島歯科技術専門学校⁹⁾

○小竹 宏朋¹⁾、堀田 正人¹⁾、谷本 啓彰²⁾、山本 一世²⁾、泉川 昌宣³⁾、齋藤 隆史³⁾、高瀬 保晶⁴⁾、米田 雅裕⁵⁾、泉 利雄⁶⁾、廣藤 卓雄⁷⁾、谷岡 正行⁸⁾、新谷 英章⁹⁾

Developing Problem-Oriented Learning Tools for Basic Training in Operative Dentistry

－ Class I Composite Resin / Class II Metal Inlay Restoration Trial －

Asahi University¹⁾、Osaka Dental University²⁾、Health Sciences University of Hokkaido³⁾、Tokyo Dental College⁴⁾、Fukuoka Dental College⁵⁾⁶⁾⁷⁾、Nissin Dental Products Inc.⁸⁾、Hiroshima Dental Technical College⁹⁾

○Hiroto Kotake¹⁾、Masato Hotta¹⁾、Hiroaki Tanimoto²⁾、Kazuyo Yamamoto²⁾、Masanobu Izumikawa³⁾、Takashi Saito³⁾、Yasuaki Takase⁴⁾、Masahiro Yoneda⁵⁾、Toshio Izumi⁶⁾、Takao Hirofuji⁷⁾、Masayuki Tanioka⁸⁾、Hideaki Shintani⁹⁾

【目的】保存修復学基礎実習は、歯の硬組織疾患に対する検査・診断・治療計画の立案・治療といった一連の基本的技能を習得することを目的としており、卒前臨床実習および卒業後臨床研修の基礎をなす重要な過程である。しかし、従来の実習では「決められた通りに歯を削り、修復する」ことに終始し、初診時の医療面接から始まり検査・診断・治療計画の立案といった臨床における治療プロセスは加味されていない。そこで今回我々は、北海道医療大学、東京歯科大学、朝日大学、大阪歯科大学、福岡歯科大学、(株)ニッシンと合同でプロジェクトチームを結成し問題志向型教材の開発を行った。今回、本学第2学年の基礎実習に完成した教材の一部をトライアル導入し、教員ならびに学生へアンケート調査を行ったので報告する。

【方法】平成23年度2学年学生136名と教員16名を対象とした。1級コンポジットレジン修復および2級メタルインレー修復（窩洞形成まで）の基礎実習において、新たに開発した問題志向型教材（PowerPoint（PP）教材と動画教材）を用いて行い、無記名のアンケート調査を行った。

【結果】136名の学生から、129名の有効な回答を得た。以下、学生および教員のアンケート結果の要旨を示す。

1. 学生対象アンケート結果（1級コンポジットレジン修復）

	PP教材	動画教材
基礎実習に役に立ったか	役立った：91.5%、役立たなかった：5.4%	役立った：76.9%、役立たなかった：2.6%
役に立ったと思われる点	術者視点の画像：40.0% ステップごとの構成：31.7%	術者視点の動画：35.1% ステップごとの構成：28.5%
スライドの数、動画の長さ	適当：67.4%、多い：14.5%	適当：65.0%、長い：9.9%
他の活用法	共用試験対策：19.6%、臨床実習：15.8%	共用試験対策：17.7%、臨床実習：15.0%
その他	大学のサーバーにアップしてほしい 紙媒体での教材もほしい 従来の実習書よりわかりやすい PP教材の内容説明をゆっくり行ってほしい 接着システムを2ステップにしてほしい	BGMはなくてもよい 従来の動画教材よりわかりやすい

2. 教員対象アンケート結果（1級コンポジットレジン修復・2級メタルインレー修復）

	PP教材	動画教材
基礎実習に役に立ったか	役立った：93.7%、役立たなかった：6.3%	役立った：100%
役に立ったと思われる点	ステップごとの構成：43.5% 術者視点の画像：30.5%	術者視点の動画：47.9% ステップごとの構成：43.5%
スライドの数、動画の長さ	適当：62.5%、多い：31.2%	適当：87.5%、長い12.5%
他の活用法	臨床前実習：34.3%、卒業後研修：17.2% 実習の予習・復習：17.2%	臨床前実習：32.4%、卒業後研修：17.2% 実習の予習・復習：17.2%
その他	紙媒体での配布が必要	再生時間が長すぎる印象 学生の集中力が持たない

【考察】学生からPP教材、動画教材ともに役立ったとの回答を得たが、BGMをなくしアナウンスを入れるなど改善すべき点が指摘された。また、これらの教材を共用試験や臨床実習に役立てたいとの回答を得たことから、単年度の実習教育のみならず、卒業後臨床研修まで幅広く運用できる可能性があると思われる。教員の評価はPP教材、動画教材ともに役立つとの評価であったが、PP教材のスライド数が多く、動画再生時間が長いと感じている教員が数名いた。

保存修復学基礎実習における問題志向型教材の開発 -2級・3級・5級コンポジットレジン修復のトライアル-

大阪歯科大学歯科保存学講座¹⁾，朝日大学歯学部歯科保存学分野歯冠修復学²⁾，北海道医療大学歯学部う蝕制御治療学分野³⁾，東京歯科大学千葉病院総合診療科⁴⁾，福岡歯科大学口腔医療センター⁵⁾，福岡歯科大学歯科保存学分野⁶⁾，福岡歯科大学総合歯科学分野⁷⁾，(株)ニッシン⁸⁾，広島歯科技術専門学校⁹⁾
○谷本 啓彰¹⁾，山本 一世¹⁾，小竹 宏朋²⁾，堀田 正人²⁾，泉川 昌宣³⁾，斎藤 隆史³⁾，高瀬 保晶⁴⁾，
米田 雅裕⁵⁾，泉 利雄⁶⁾，廣藤 卓雄⁷⁾，谷岡 正行⁸⁾，新谷 英章⁹⁾

Developing Problem-Oriented Learning Tools for Basic Training in Operative Dentistry - Class II, Class III, Class V Composite Resin Restoration Trial -

Osaka Dental University¹⁾，Asahi University²⁾，Health Sciences University of Hokkaido³⁾，Tokyo Dental College⁴⁾，Fukuoka Dental College⁵⁾⁶⁾⁷⁾，Nissin Dental Products Inc.⁸⁾，Hiroshima Dental Technical College⁹⁾

○Hiroaki Tanimoto¹⁾，Kazuyo Yamamoto¹⁾，Hiroto Kotake²⁾，Masato Hotta²⁾，Masanobu Izumikawa³⁾，Takashi Saito³⁾，Yasuaki Takase⁴⁾，Masahiro Yoneda⁵⁾，Toshio Izumi⁶⁾，Takao Hirofujii⁷⁾，Masayuki Tanioka⁸⁾，Hideaki Shintani⁹⁾

【目的】保存修復学基礎実習は、歯の硬組織疾患に対する検査・診断・治療計画の立案・治療といった一連の基本的技能を習得することを目的としており、卒前臨床実習および卒後臨床研修の基礎をなす重要な過程である。しかし、従来の実習では「決められた通りに歯を削り、修復する」ことに終始し、初診時の医療面接から始まり検査・診断・治療計画の立案といった臨床における治療プロセスは加味されていない。そこで今回我々は、北海道医療大学、東京歯科大学、朝日大学、大阪歯科大学、福岡歯科大学、(株)ニッシンと合同でプロジェクトチームを結成し問題志向型教材の開発を行った。今回、本学第3学年の基礎実習に完成した教材の一部をトライアル導入し、教員ならびに学生へアンケート調査を行ったので報告する。

【方法】平成23年度第3学年122名および教員7名を対象とした。2級・3級・5級コンポジットレジン修復課題の基礎実習において、新たに開発した問題志向型教材（動画教材・う蝕付き人工歯）を用いて行い、無記名のアンケート調査を行った。実習時、まず全員に動画を見せ、その後各教員によるデモを行った。

【結果】3級コンポジットレジン修復課題についての結果を報告する。学生を対象にしたアンケート結果（114名、回収率93.4%）では、本動画教材が役立ったと96.5%が、役立たなかったと3.5%が回答した。役立ったと回答した110名に対して役立った点について（複数回答可）、術者視点の映像が61.8%、ステップごとの構成が59.1%、注釈（文言）が20.9%であり、その他は、1つ1つの動作がゆっくり見られた、レストの位置や口腔内が見やすくなったと回答した。一方では、全体的に速くポイント等を読み切れなかったとも回答した。役立たなかったと回答した4名に理由を聞くと、音楽が気になった、動画を見たあとに、デモがあるので意味がないなどと回答した。他の活用法について（複数回答可）は、実習の予習・復習：49.1%、臨床実習：47.4%、臨床直前実習：41.2%、共用試験対策：34.2%、講義：28.9%、国家試験対策：21.9%、卒後臨床研修21.9%と回答した。

教員を対象にしたアンケート結果では、全員が役立ったと回答した。役立った点については、ステップごとの構成、術者視点の映像、注釈（文言）と回答した。他の活用法について（複数回答可）は、卒後臨床研修、共用試験対策、臨床直前実習、講義、臨床実習と回答した。また使用したう蝕人工歯について、歯種は適切であるが、う蝕の位置・大きさについては少し問題があり、さらに隣接面にう窩が欲しいといった意見を得た。

【考察】学生・教員とも動画教材が役立ったとの高い評価を得た。しかし、学生から動画のスピード等については、改善が必要であると指摘された。さらに、本教材の活用法については、学生・教員とも基礎実習終了後の共用試験対策、臨床実習や卒後臨床研修に至るまで幅広い活用が期待できると高く評価された。人工歯については、改善の必要性があると思われた。

鶴見大学歯学部における臨床シミュレーション実習の評価

¹⁾鶴見大学歯学部クラウンブリッジ補綴学講座、²⁾鶴見大学歯学部有床義歯補綴学講座、
³⁾鶴見大学歯学部保存修復学講座、⁴⁾鶴見大学歯学部口腔内科学(口腔外科学第二)講座
⁵⁾鶴見大学歯学部歯内療法学講座、

○中村善治¹⁾、井川知子¹⁾、三浦英司²⁾、秋本尚武³⁾、坂本富則³⁾、山本雄嗣³⁾、佐藤 徹⁴⁾、
細矢哲康⁵⁾、小川 匠¹⁾、大久保力廣²⁾、桃井保子³⁾

Evaluation of clinical simulation training in Tsurumi University School of Dental Medicine

¹⁾Department of Fixed Prosthodontics, ²⁾Department of Removable Prosthodontics, ³⁾Department of Operative Dentistry, ⁴⁾Department of Oral Medicine, ⁵⁾Department of Endodontology

○Yoshiharu Nakamura¹⁾, Tomoko Ikawa¹⁾, Eiji Miura²⁾, Naotake Akimoto³⁾, Tominori Sakamoto³⁾, Takatsugu Yamamoto³⁾, Toru Satou⁴⁾, Noriyasu Hosoya⁵⁾, Takumi Ogawa¹⁾, Chikahiro Ohkubo²⁾, Yasuko Momoi³⁾

【研究目的】

歯科医師として必要な臨床能力の確保を目指し、診療参加型臨床実習の充実が求められている。平成 22 年度にはモデルコアカリキュラムに臨床実習が単独領域として新設された。鶴見大学では臨床実習にスムーズに移行できるよう、登院前の学生に対して平成 21 年度より臨床シミュレーション実習を実施している。ここでは平成 23 年度の臨床シミュレーション実習の評価を報告する。

【方 法】

治療計画の異なる 4 種類のシナリオを製作し、これを患者と想定した。学生はシナリオを読み、全身疾患を考慮しながら主訴に対する応急処置を行う。次に治療計画の立案を行い、教員とのディスカッションを経て顎模型を使用して実習を行う。処置内容は、プラークコントロール、スケーリング、咬合調整、レジン充填、レジン支台築造、プロビジョナルレストレーションの製作、部分床義歯の設計とした。シミュレーション実習を行うに際し、鶴見大学の臨床実習で使用しているプロトコールに、シナリオから読み取った口腔内所見、治療計画、その日に行った実習内容の詳細を記録した。

最終日には、学生がシナリオの概要説明、治療計画、処置内容、部分床義歯設計の要点、全身状態との関わりについてプレゼンテーションを行った。プレゼンテーション後には質疑応答を行い、必要に応じて教員が臨床に則した説明を行った。臨床シミュレーション実習の評価は臨床実習終了時に行うアンケート調査に準じた。

【成 績】

アンケート項目の概要とそれに対する回答数を示す。

1. 充実度-----極めて充実・充実 105、 どちらともいえない 5、 充実していない・全く充実していない 0
2. 実習課題の数-----多すぎる・多い 10、 適当 95、 少ない・少なすぎる 6
3. 講義などの導入を希望するか。
非常にそう思う・そう思う 44、 どちらともいえない 38、 思わない・全くそうは思わない 29
4. 保存の指導教員の指導-----非常に適切・適切 93、 どちらともいえない 17、 不適切・非常に不適切 1
5. 補綴の指導教員の指導-----非常に適切・適切 88、 どちらともいえない 21、 不適切・非常に不適切 2
6. 技工室の環境-----非常に良い・良い 44、 中程度 49、 不良・非常に不良 18
7. 臨床実習へスムーズに移行できるか。
できる・おそらくできる 17、 どちらともいえない 60、 おそらくできない・できない 34
8. やり甲斐-----大変ある・ある 94、 どちらともいえない 17名、 ない・全くない 0
9. 必要性-----実に必要・必要 107、 どちらともいえない 4、 あまり必要でない・必要でない 0

【考 察】

保存・補綴の処置内容が臨床に則して行われるシミュレーション実習は本年度で 4 回目となるが、毎年のアンケート結果の傾向は同じで、学生は実際に臨床に出ることを不安に感じつつ、このような臨床に近似した設定の実習はやり甲斐があり、必要と感じていた。現在、シナリオの口腔内所見に相当するパノラマ X 線写真を導入するなど更なる充実を目指している。

【結 論】

臨床シミュレーション実習は登院前の学生に対して、臨床の流れを疑似体験できる有効な臨床直前教育であった。また、治療計画の立て方、プロトコール記載を、身を以て経験する上でも有効であった。

大阪歯科大学歯内治療学基礎実習における側方加圧充填後の根尖部根管の充塞状態

大阪歯科大学口腔治療学講座
○高橋 郁、西川 郁夫、畠 銀一郎、林 宏行

The Apical Sealing Quality with Lateral Condensation in Endodontic Practice at Osaka Dental University
Department of Endodontics, Osaka Dental University
○TAKAHASHI Kaoru, NISHIKAWA Ikuo, HATA Gin-ichiro and HAYASHI Hiroyuki

【研究目的】

歯内治療後の歯の予後を左右する因子の一つに緊密な根管充填（以下、根充）が挙げられる。この目的を達成するために、側方加圧根充法が一般的に広く応用されている。大阪歯科大学において第3学年の歯内治療学基礎実習では側方加圧根充法を導入・実施している。本実習では、根充はヒト抜去上顎前歯および大白歯の根管拡大・形成後に行い、根充後のエックス線写真検査によって根管充塞度を評価している。しかし、学生にとっては初めて天然歯を使用した実習であり、実習時間数も限られているため、根充後の根管充塞度に関する認識の程度は低いと思われる。本研究では、学生の基礎実習における根充後の根尖部根管での根管充塞度を、根管横断面における根充材の占有状態によって評価した。

【材料および方法】

材料には大阪歯科大学2010年度第3学年歯内治療学基礎実習において根充まで行ったヒト上顎前歯86本を使用した。これら既根充歯に対してエックス線写真撮影を行い、写真上で根尖端と根尖部の根充材先端との距離を万能投影機にて計測した。ただし、過剰根充は0とした。

根尖端からの距離を目安に、根充材先端の位置で歯の長軸方向に垂直にエアによる冷却下でセパレートディスクにて歯根を切断した。その後、実験歯の横断面を実体顕微鏡にて観察し、CCDカメラにて歯根横断面画像として保存した。次に根充材先端部から1, 2, 3mm歯冠側の部位で同様に歯根を切断し、横断面を各々画像として保存した。

保存した横断面画像において、1) 根管断面積、2) ガッターチャポイント（以下、GP）および根充用シーラーを含む根充材（以下、根充材）断面積、3) GPのみの断面積、の3種類について画像処理システム（WinRoof、三谷商事）を使用して測定し、根管充填後における根充材の充塞状態について評価した。

【結果】

根尖端と根充材先端との距離は平均1.73mmであり、4例に過剰根充が認められた。

根管、GPおよび根充用シーラーを含む根充材、GPのみの各断面積（mm²）は図1に、根管断面積に対する根充材断面積およびGP断面積の占める割合（充塞率；%）は図2に示す。

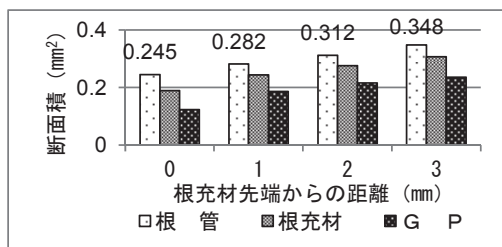


図1 各測定部位における断面積の比較

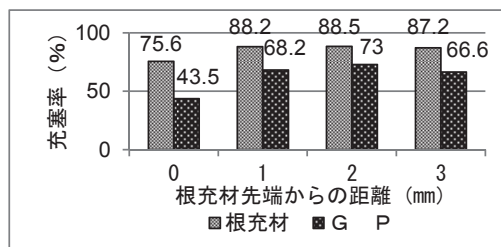


図2 各測定部位における充塞率の比較

【まとめ】

根尖付近におけるGP充塞率が全体に比較的低い値を示したのは、最終形成された根管に対して十分な加圧充填が行われていないことを示していると思われる。先端部のGP充塞率がさらに低い値となったのは、充填時にGPに先行するシーラーの存在が影響していると思われる。

今回の方法は、比較的簡便に実際の根管充填状態を直接視覚的に捉えることが可能であり、歯内治療学の学生実習教育で行うことは非常に有意義であると考えられる。

う蝕リスク診査を取り入れた学校歯科健診 —う蝕原性細菌数と生活習慣の関係—

鶴見大学歯学部保存修復学講座¹, ジーシー研究所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, 仲宗根史子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 number of cariogenic microorganism in the oral cavity-**
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, NAKASONE Ayako¹, 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 23 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, 1.2 本と報告され, 10 年前の 2.9 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. 私たちは 135 回本学術大会にて, 健診結果と生活習慣との関係について報告した. 本研究では, 唾液中のう蝕原性細菌数と生活習慣の関係から, う蝕リスクを高める因子について検討したので報告する.

【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: 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 1 年生, 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: 生徒に対し, 生活習慣に関する質問 10 項目と口腔の健康に関する質問 11 項目についてのアンケート調査を実施した.
4. 唾液中の細菌検査: 中学 1 年生, 高校 1 年生を対象に, 刺激唾液を採取し, リアルタイム PCR にて唾液 1 mL 中の *S.mutans* の総数 (CFU/mL) を算出した.
5. 統計: データの分析は, 健診結果 (DMF 歯率) とアンケート結果, *S.mutans* の菌数, DMF 歯数の平均値と, 標準偏差を求め, 統計処理は t 検定, 一元配置分散分析およびカイ二乗検定 ($\alpha=0.05$) で行った.

【結果及び考察】

中学生・高校生全体で分析した場合, アンケート結果と *S.mutans* との平均値の差の検定では, 生活習慣に関する 2 項目 (就寝時間と習慣的に飲む飲み物) において有意な差が認められた (t 検定). また, *S.mutans* の数を 10 万未満と 10 万以上に分けた集団, DMF 歯数を 0 と 0 以上とに分けた集団, さらに, DMF 歯数が 0 で *S.mutans* が 10 万未満, DMF 歯数が 0 以上で *S.mutans* の数が 10 万以上に分けた集団を, それぞれアンケート結果と比較した場合は, *S.mutans* の数が少ない集団, DMF 歯数が 0 の集団の方が, 就寝時間が規則的な生徒が多く, 習慣的に飲んでいる飲み物がある生徒が多かった (カイ二乗検定). このことから, *S.mutans* の数が多いことと, 就寝時間と習慣的に飲んでいる飲み物の因子には明らかな相関があり, う蝕リスクを高めている可能性があることが示唆された.

唾液による総合的な口腔検査法の開発

(第1報) 多項目唾液検査システム (AL-55) の有用性の検討

¹ライオン株式会社、²アークレイ株式会社、³愛知学院大学歯学部保存修復学講座
○牧利一¹、西永英司¹、斉藤浩一¹、山本高司¹、村越倫明¹、大寺基靖¹、
福田功²、大久保章男²、富士谷盛興³、千田彰³

Development of comprehensive salivary test system

(1st report) Efficiency of a newly developed salivary multi-test system (AL-55)

¹Lion Corporation, ²ARKRAY, Inc., ³Department of Operative Dentistry, School of Dentistry,
Aichi Gakuin University

○MAKI Riichi¹, NISHINAGA Eiji¹, SAITO Koichi¹, YAMAMOTO Takashi¹, MURAKOSHI Michiaki¹,
ODERA Motoyasu¹, FUKUTA Isao², OKUBO Akio², FUJITANI Morioki³, SENDA Akira³

【背景・目的】

近年、非侵襲的に採取可能な唾液を試料とする口腔および全身疾患の検査が注目されている。特に歯科領域では、歯科医師による口腔内検査に、唾液検査による客観性を加えることで、患者の理解向上、あるいはリスク予見を含めた診断が可能になることが期待されている。

今回演者らは、複数の唾液因子の測定による総合的な口腔状態の検査技術の開発に着手し、う蝕、歯周病、口腔清潔度に関与する7項目の唾液因子を5分間で測定できる唾液検査システム (AL-55) を開発した。AL-55は、試験紙と測定機器から構成され、7項目の試験片 ([う蝕] う蝕原性菌数、pH、酸緩衝能、[歯周病] 潜血、白血球、蛋白質、[口腔清潔度] アンモニア) を貼付した1本のスティック状試験紙に洗口吐出液を点着し、その色調変化を反射率として検出するものである。

本研究では、AL-55で測定した7項目の検査結果と、う蝕、歯周病、口腔清潔度に関する口腔内の検査結果との相関を解析し、AL-55の有用性を検討した。

【対象および方法】

[対象] 東海地区において、同意を得られた成人231名 (40.3±12.8歳、男性93名、女性138名) を被験者とした。

[AL-55による検査] 蒸留水3mlを口に含み、10秒間含嗽した後の吐出液 (洗口吐出液) を試料とし、AL-55の試験紙に10μlずつ点着後、反射率を測定した (測定時間5分)。

[口腔内の検査] う蝕、歯周病の病態についてはDMFT、PD、BOP、GI、CPIを評価し、口腔清潔度については洗口吐出液中の総菌数 (培養法) を測定した。

[解析] AL-55の反射率と、口腔内の検査結果との相関について、Spearman相関解析を用いて評価した (有意水準5%)。

なお、本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認を受け遂行した (承認番号236)。

【結果と考察】

[う蝕] う蝕原性菌数は、DMFTとの有意な相関を認めた。pH、酸緩衝能は、DMFTとの相関が確認されなかった。これらの項目は、食生活、口腔清掃などの影響を受けた現在のう蝕発生リスクを示すものと考えられ、したがってう蝕経験の累積指数であるDMFTとの相関が低かったと推測される。う蝕原性菌、pH、酸緩衝能などは、う蝕の発生および進行に深く関与していることが知られており、今後更なる検討が必要である。

[歯周病] 潜血、白血球、蛋白質は、全ての口腔内の検査結果 (PD、BOP、GI、CPI) との有意な相関を認めた。したがってこれら3項目は、歯肉の炎症などの歯周病の病態を反映していることが明らかとなった。

[口腔清潔度] アンモニアは、総菌数との有意な相関を認めた。アンモニアは、多様な口腔細菌が産生するものと考えられており、口腔清潔度の指標として唾液中の総菌数を反映することが明らかとなった。

【結論】

新たに開発した多項目唾液検査システム (AL-55) による検査結果と、口腔内の検査結果に有意な相関を認め、AL-55の唾液検査法としての有用性が明らかとなった。

唾液による総合的な口腔検査法の開発
(第2報) 多項目唾液検査システム (AL-55) の測定値の妥当性について

¹ライオン株式会社、²アークレイ株式会社、³愛知学院大学歯学部保存修復学講座
○西永英司¹、牧利一¹、深澤哲¹、鈴木苗穂¹、内山千代子¹、山本高司¹、村越倫明¹、大寺基靖¹、
福田功²、大久保章男²、富士谷盛興³、千田彰³

Development of comprehensive salivary test system
(2nd report) Accuracy of a newly developed salivary multi-test system (AL-55)

¹Lion Corporation, ²ARKRAY, Inc., ³Department of Operative Dentistry, School of Dentistry,
Aichi Gakuin University
○NISHINAGA Eiji¹, MAKI Riichi¹, FUKASAWA Tetsu¹, SUZUKI Naho¹, UCHIYAMA Chiyoko¹, YAMAMOTO Takashi¹,
MURAKOSHI Michiaki¹, ODERA Motoyasu¹, FUKUTA Isao², OKUBO Akio², FUJITANI Morioki³, SENDA Akira³

【背景・目的】

簡便かつ非侵襲的に採取可能な唾液は、近年、様々な疾患の検査試料として注目されており、歯科領域においては、特に、短時間で実施可能な検査法としてチェアサイドへの応用が期待されている。

これまでに演者らは、唾液による口腔内の総合的な検査法として、う蝕、歯周病、口腔清潔度に関与する7項目の唾液因子（[う蝕] う蝕原性菌数、pH、酸緩衝能、[歯周病] 潜血、白血球、蛋白質、[口腔清潔度] アンモニア）を5分間で測定できる多項目唾液検査システム (AL-55) を開発し、第1報において、その有用性を明らかにした。

AL-55の特徴は、7項目の唾液因子を反射率として検出する点にあるが、一方これらの唾液因子においては、従来より培養法、電極法、酵素法などの一般的な分析法も確立されている。

本研究では、AL-55による検査結果と、従来法による分析結果との相関を解析し、AL-55の測定値の妥当性を検討した。

【対象および方法】

【対象】 東海地区において、同意を得られた成人231名（40.3±12.8歳、男性93名、女性138名）を被験者とした。

【試料】 蒸留水3mlを口に含み、10秒間含嗽した後の吐出液（洗口吐出液）を試料とした。

【AL-55による検査】 AL-55の試験紙に洗口吐出液を10μlずつ点着後、反射率を測定した（測定時間5分）。

【従来法による分析】 各唾液因子について、以下の分析法を用いた（[う蝕原性菌数] 培養法、[pH、酸緩衝能] 電極法、[潜血、白血球] ラテックス凝集免疫比濁法、[蛋白質] ピロガロールレッド法、[アンモニア] グルタミン酸脱水素酵素法）。

【解析】 AL-55の反射率と、従来法による分析結果との相関について、Pearson相関解析を用いて評価した（有意水準5%）。

なお、本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認を受け遂行した（承認番号236）。

【結果と考察】

全7項目の唾液因子について、AL-55による検査結果は、従来法による分析結果との有意な相関を認めた（う蝕原性菌数：r=0.59、pH：r=-0.73、酸緩衝能：r=-0.86、潜血：r=-0.74、白血球：r=-0.67、蛋白質：r=-0.85、アンモニア：r=-0.89）。試験紙の色調変化を反射率として検出するAL-55による検査と、従来法の間の高い相関が見出されたことから、AL-55の測定値の妥当性が確認された。

【結論】

新たに開発した多項目唾液検査システム (AL-55) による検査結果と、従来法による分析結果との相関を解析した結果、全7項目について有意な相関を認め、AL-55の測定値の妥当性が確認された。

唾液による総合的な口腔検査法の開発
(第3報) 多項目唾液検査システム (AL-55) 検査項目の妥当性について

¹ライオン株式会社、²アークレイ株式会社、³愛知学院大学歯学部保存修復学講座
○内山千代子¹、牧利一¹、西永英司¹、深澤哲¹、鈴木苗穂¹、山本高司¹、村越倫明¹、大寺基靖¹、
福田功²、大久保章男²、富士谷盛興³、千田彰³

Development of comprehensive salivary test system

(3rd report) Validation of factors evaluated in a newly developed salivary multi-test system (AL-55)

¹Lion Corporation, ²ARKRAY, Inc., ³Department of Operative Dentistry, School of Dentistry,
Aichi Gakuin University

○UCHIYAMA Chiyoko¹, MAKI Riichi¹, NISHINAGA Eiji¹, FUKASAWA Tetsu¹, SUZUKI Naho¹, YAMAMOTO Takashi¹,
MURAKOSHI Michiaki¹, ODERA Motoyasu¹, FUKUTA Isao², OKUBO Akio², FUJITANI Morioki³, SENDA Akira³

【背景・目的】

近年、歯科領域において、唾液因子と口腔状態との関連が報告されており、これら唾液因子の中から演者らは、う蝕、歯周病、口腔清潔度の検査項目として7項目の唾液因子（[う蝕] う蝕原性菌数、pH、酸緩衝能、[歯周病] 潜血、白血球、蛋白質、[口腔清潔度] アンモニア）に着目し、これらを同時に5分間で測定できる多項目唾液検査システム (AL-55) を開発した。

第1報では、AL-55による検査結果と口腔内の検査結果との相関解析により、その有用性を、第2報では、従来法による分析結果との相関解析により、AL-55の測定値の妥当性を明らかにした。

本研究では、AL-55検査項目の従来法による分析結果と、う蝕、歯周病、口腔清潔度に関する口腔内の検査結果との相関を解析し、AL-55検査項目の妥当性を検討した。

【対象および方法】

[対象] 東海地区において、同意を得られた成人231名（40.3±12.8歳、男性93名、女性138名）を被験者とした。

[従来法による分析] 蒸留水3mlを口に含み、10秒間含嗽した後の吐出液（洗口吐出液）を試料とし、以下の分析法を用いた（[う蝕原性菌数] 培養法、[pH、酸緩衝能] 電極法、[潜血、白血球] ラテックス凝集免疫比濁法、[蛋白質] ピロガロールレッド法、[アンモニア] グルタミン酸脱水素酵素法）。

[口腔内の検査] う蝕、歯周病の病態についてはDMFT、PD、BOP、GI、CPIを評価し、口腔清潔度については洗口吐出液中の総菌数（培養法）を測定した。

[解析] 従来法による分析結果と、口腔内の検査結果との相関については、Spearman相関解析を用いて評価した（有意水準5%）。

なお、本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認を受け遂行した（承認番号236）。

【結果と考察】

[う蝕] う蝕原性菌数は、DMFTとの有意な相関を認めた。pH、酸緩衝能は、DMFTとの相関が確認されなかった。

本結果は、第1報におけるAL-55を用いた場合と同様であった。これらの項目は、食生活、口腔清掃などの影響を受けた現在のう蝕発生リスクを示すものと考えられ、したがってう蝕経験の累積指数であるDMFTとの相関が低かったと推測される。

[歯周病] 潜血、白血球、蛋白質は、全ての口腔内の検査結果（PD、BOP、GI、CPI）との有意な相関を確認した。

[口腔清潔度] アンモニアは、総菌数との有意な相関を確認した。

歯周病、口腔清潔度の検査項目の相関解析結果も、第1報での検討結果と同様であり、これら検査項目が、歯周病の病態や口腔清潔度（総菌数）を反映していることが明らかとなった。

【結論】

新たに開発した多項目唾液検査システム (AL-55) の検査項目として採用した唾液因子について、従来法による分析結果と、口腔内の検査結果に有意な相関を認め、これら検査項目の妥当性が明らかとなった。

カリオテスター™を用いた根面う蝕の再石灰化程度の評価についてのインビトロ研究

-TMR 法による評価との比較-

¹⁾東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科摂食機能保存学講座う蝕制御学分野 ²⁾グローバル COE プログラム歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点 ³⁾兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○中嶋省志¹⁾ 二階堂 徹¹⁾ 清水明彦²⁾ 田上順次^{1,3)}

In vitro study on CarioTester™ as a diagnostic tool for root caries remineralization in comparison with TMR

Cariology and Operative Dentistry, School of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University¹⁾, Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine²⁾, GCOE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases^{1,3)}

○Syoz NAKASHIMA, Touro Nikaido, Akihiko Shimizu, Junji TAGAMI

根面う蝕が初期状態にある時、フッ化物などで再石灰化できることが最近の研究で明らかになった。しかしながら、その臨床的診断法は主観的な視診や探針による感触(硬さ)に頼っている。実際、この診断方法ではスコアリングは3つに分類されているにすぎず (soft lesion, leathery lesion, hard lesion)、精度にも難点が残されている。最近、カリオテスター (以下 CT) という名称で、臨床的に使用できるう蝕象牙質の硬さ (あるいは圧子の進入深さ) を測定できる装置が市販された。本研究では、この装置を根面う蝕の再石灰化の定量的評価に活用できるかどうか、基礎的研究を行った。

【目的】 人工的に作成したモデル初期根面う蝕を一定期間再石灰化させた試料について、CT の圧子の進入深さ (CT 深さ) との脱灰深さ (LD : μm) およびミネラル損失量 (ΔZ : $\text{vol}\% \cdot \mu\text{m}$) との関係を検討し、初期根面う蝕の再石灰化程度 of 定量的評価法としての可能性を検討すること。

【材料と方法】 脱灰した牛根部象牙質ブロックを 4 群 (4 試料/群) に分け、一定期間再石灰化させた (0, 2, 4, 6 週間)。各再石灰化期間後、CT にて圧子の進入深さを計測した。同時に、TMR 法にて各試料の LD と ΔZ を算出した。次いで、CT 深さと LD および ΔZ との相関性 (Pearson correlation) を検討した。

【結果】 再石灰化期間が長くなるに伴い LD が浅くなったが、その減少率は初期値と比べて 8.4%と小さく、一方 CT 深さでは 48%であった。また全般的に CT 深さの方が LD よりかなり小さい値を示し、再石灰化期間が長くなるほど両者の隔たりが増した (図 1)。そして、両者の間に有意な相関性を認めた ($r=0.616$, $p=0.014$; 図 2)。同様に、CT 深さと ΔZ との間にも有意な相関性を認めた ($r=0.860$, $p=0$; 図 3)。

【考察】 今回の結果より、初期根面う蝕が再石灰化傾向にある時、CT 深さの計測により、LD と ΔZ の推定が可能であることが示唆された。しかしながら、CT 深さと LD の相関性は高くはなかった。これは、LD の変化が 8.4%と小さかったことによると考えられた。むしろ、CT 深さと ΔZ との相関性が高かったことより、 ΔZ の推定に適していると推察された。

【結論】 再石灰化過程において、CT 深さを計測することにより LD と ΔZ の推定の可能性が示唆されたが、 ΔZ の推定に適していることが示された。

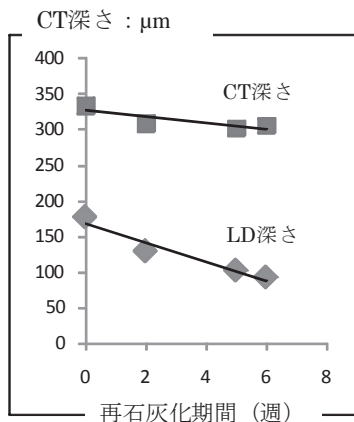


図1. LD/CT深さと再石灰化期間 (週) との関係

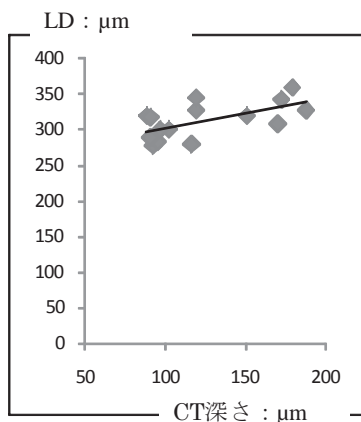


図2. CT深さとLDの関係

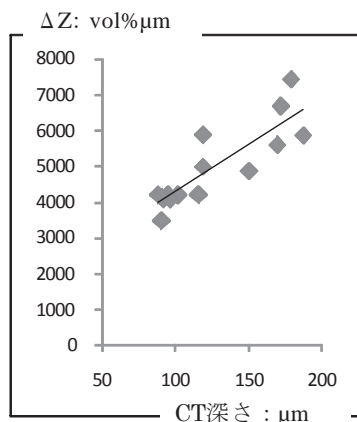


図3. CT深さと ΔZ との関係

カリオテスター™を用いた根面う蝕の脱灰程度の評価についてのインビトロ研究 -TMR法による評価との比較-

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科摂食機能保存学講座う蝕制御学分野 ²グローバルCOEプログラム歯と骨の分子疾患科学の国際教育研究拠点 ³兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○中嶋省志¹⁾ 二階堂 徹¹⁾ 清水明彦²⁾ 田上順次^{1,3)}

In vitro study on CarioTester™ as a diagnostic tool for root caries progression in comparison with TMR

Cariology and Operative Dentistry, School of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University¹⁾, Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine²⁾, GCOE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases^{1,3)}

○Syozji NAKASHIMA, Touru Nikaido, Akihiko Shimizu, Junji TAGAMI

根面う蝕がフッ化物などで予防できることは、広く知られている。しかしながら、その臨床的診断法は主観的な視診や探針による感触(硬さ)に頼っている。実際、この診断方法ではスコアリングは3つに分類されているにすぎず (soft lesion, leathery lesion, hard lesion)、精度にも難点が残されている。最近、カリオテスター(以下CT)という名称で、臨床的に使用できるう蝕象牙質の硬さ(あるいは圧子の進入深さ)を測定できる装置が市販された。本研究では、この装置を根面う蝕の進行程度の定量的評価に活用できるかどうか、基礎的研究を行った。

【目的】人工的に作成したモデル根面う蝕について、CTの圧子の進入深さ(CT深さ: μm)と脱灰深さ(LD: μm)、またはミネラル損失量(ΔZ : $\text{vol}\% \cdot \mu\text{m}$)との関係を検討し、根面う蝕の進行程度の定量的評価法としての可能性を検討すること。

【材料と方法】牛根部象牙質ブロックを4群(4試料/群)に分け、脱灰液にて一定期間脱灰して(1, 3, 7, 14日間)、表層のない脱灰象牙質を作成した。各脱灰期間後、CTにて圧子の進入深さを計測した。同時に、TMR法にて各試料のLDと ΔZ を算出した。次いで、CT深さとLDまたは ΔZ との相関性(Pearson correlation)を検討した。

【結果】脱灰期間が長くなるに伴いCT深さとLDが深くなった。また全般的にCT深さの方がLDより小さい値を示し、脱灰期間が長くなるほど両者の隔たりが増した(図1)。そして、両者の間に統計的に有意な相関性を認めた($r=0.969$, $p=0$; 図2)。同様に、CT深さと ΔZ との間にも有意な相関性を認めた($r=0.956$, $p=0$; 図3)。

【考察】今回の結果より、根面象牙質が脱灰傾向(活動性病変)にある時、CT深さを計測することにより、LDと ΔZ の推定が可能であることが示唆された。全般的にCT深さの方がLDより小さい値を示し、脱灰期間が長くなるに伴い両者の隔たりが増すのが観察された(CT深さは、真値に対して過小評価)。その理由の一つとして、LDの定義(健全より5%低いミネラル密度を示す深さ)に由来すると考えられる。すなわち、LDはかなり密度の高い領域までの深さを計測しているのに対し、CT深さは比較的低いミネラル密度が低い領域までの深さを計測していることによると推察された。

【結論】脱灰象牙質において、CT深さを計測することにより、脱灰深さとミネラル損失量を推定できることが示唆された。

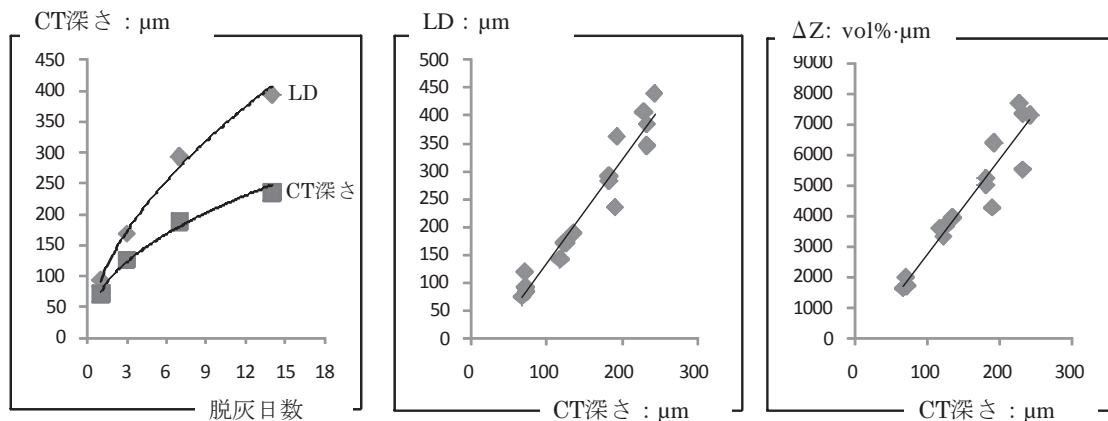


図1. LD/CT深さと脱灰日数の関係

図2. CT深さとLD深さの関係

図3. CT深さと ΔZ との関係

PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果

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総合歯科学講座²⁾

湘南短期大学歯科衛生学科³⁾

○椎谷 亨¹⁾、向井義晴¹⁾、富山 潔¹⁾、飯塚純子¹⁾、長谷川晴彦¹⁾、倉持江里香¹⁾、平林正道²⁾、
藤野富久江³⁾、寺中敏夫¹⁾

Effect of PRG barrier coat on root dentin remineralization *in vitro*

Dept. of Oral Medicine, Div. of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College¹⁾, Dept. of Comprehensive Dentistry, Kanagawa Dental College²⁾, Dept. of Dental Hygiene, Shonan College³⁾

○SHIYA Toru¹⁾、MUKAI Yoshiharu¹⁾、TOMIYAMA Kiyoshi¹⁾、IIZUKA Junko¹⁾、HASEGAWA Haruhiko¹⁾、
KURAMOCHI Erika¹⁾、HIRABAYASHI Masamichi²⁾、FUJINO Fukue³⁾、TERANAKA Toshio¹⁾

【研究目的】

露出歯根面はその解剖学的形態からプラークが停滞しやすく、効果的な脱灰抑制法あるいは再石灰化促進法の開発は急務である。松風社により開発された PRG バリアコートは、S-PRG フィラーから徐放されるフッ化物イオンを主体とした数種類のイオンによる脱灰抑制および再石灰化促進効果が注目されている材料である。今回、PRG バリアコート塗布面に隣接した根面表層下脱灰象牙質病巣ならびに塗布面直下の表層下脱灰象牙質病巣に対する再石灰化効果を *in vitro* にて検討した。

【材料および方法】

ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより 5mm 根尖側の位置で低速切断機を用いて水平断して円筒状象牙質歯片を作製後、ワイヤー式精密切断機にて歯軸方向に 2 分割し、象牙質試料とした。

1. 脱灰象牙質試料（基準病巣）の作製

耐酸性パーニッシュにより被験面を 2x3 mm に規定した後、50 mM acetic acid 脱灰液 (pH5.0) に 37°C で 1.5 日間浸漬した。

2. 材料の塗布

被験面 (2x3mm) の半側 (1x3mm) に対し、以下の 1) ~3) の材料塗布を行った。1) バリアコート (S-PRG フィラー含有フッ化物徐放性予防的歯面コーティング材) (S 群)。2) S-PRG フィラーを含まない以外はバリアコートと全く同じ成分のコーティング材 (S-PRG 非含有コート材) (N 群)。3) クリンプロ™ XT パーニッシュ (3M) (X 群)。また、塗布および再石灰化液浸漬を行わない群を基準病巣群 (D 群) とした。各群の試料数は 6 とした。

3. 再石灰化 (MC gel による二層法)、TMR 分析

D 群以外の 3 群は、円筒状プラスチック製容器の底部に象牙質試料を固定後、8% Methocel MC gel (Fluka)、およびその上に再石灰化溶液 (1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 130mM KCl, 20mM Hepes, pH6.7) を注入、37°C で 4 週間静置した。得られた試料から薄片を作製し、TMR 撮影 (PW3830、管電圧 25kV、管電流 15mA、照射時間 20 分) を行った。その後、分析用ソフト (TMR 2000) を用いて、D 群は被験面中央部を、また S、N および X 群では塗布面隣接部位ならびに塗布面直下を測定したミネラルプロファイルを作成し、平均ミネラル喪失量 (IML) を算定した。群間における比較には、One-way ANOVA および Games-Howell の検定により有意水準 5% にて統計分析を行った。

【成績】

ミネラルプロファイルの比較では、隣接部位および直下ともに、D 群に比較し 3 群ともにミネラル密度の上昇が確認され、S 群および X 群のミネラル密度の上昇は顕著であった。IML (vol% x μm) を比較したところ、隣接部位では D、N、S、X 各群でそれぞれ 3777.7、2635.2、1971.7 および 1840.1 であった。また直下では D、N、S、X 各群でそれぞれ 3777.7、2740.6、2180.9 および 1941.8 であった。両部位とも、D 群に比較しすべての群で有意差が認められ (p<0.05)、また、N 群と S 群および X 群間にも有意差が認められた (p<0.05)。一方、S 群と X 群の間には有意差は認められなかった (p>0.05)。

【考察】

PRG バリアコートが、塗布隣接面および直下の象牙質脱灰病巣に対してレジン添加型ガラスイオノマーセメントの範疇に分類される知覚過敏治療材であるクリンプロ XT とほぼ同程度の再石灰化能を示した本結果に加え、薄膜塗布が可能であること、および 1 ステップボンディング材と同様の使用勝手の良さを有することを考え合わせると、PRG バリアコート塗布隣接面および直下の脱灰象牙質病巣を効果的に再石灰化できる可能性が示唆された。

【結論】

PRG バリアコートは塗布した部位の隣接面および直下の脱灰象牙質病巣を効果的に再石灰化できる可能性がある。

フッ化物徐放性材料の象牙質表面への塗布による脱灰抑制効果
北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室

○大木彩子、松田康裕、橋本直樹、小松久憲、佐野英彦

The inhibitory effect of demineralization by applying fluoride-releasing materials to dentin surfaces

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

○OOKI Saiko, MATSUDA Yasuhiro, HASHIMOTO Naoki, KOMATSU Hisanori and SANO Hidehiko

【緒言】 歯面に塗布しフッ素を供給する材料として、欧米諸国で広く用いられているフッ化物バーニッシュがある。このフッ化物バーニッシュは 22,600ppmF という高濃度のフッ化物含有材料であり、齲蝕や酸蝕症の予防に用いられている。また、粘性があるため、切削することなく簡単に歯面に付着・保持させることが可能である。一方、本教室の自動 pH サイクル装置は、溶液が還流し、口腔内の pH の変化のシミュレーションが可能のため、これまでもフッ化物徐放性充填材料による齲蝕抑制効果について報告してきた。そこで、今回は自動 pH サイクル装置を用いて、フッ化物徐放性材料を塗布した象牙質の脱灰変化の観察およびフッ化物局所応用としてのフッ化物バーニッシュの有効性について検討した。

【材料と方法】 塗布材料として、従来型ガラスアイオノマーセメント(Fuji IX GP FAST CAPSULE、GC)(FN)と、フッ化物バーニッシュ (Fluoride Varnish® CariFree、CariFree) (FVC)、(FLUORIDE VARNISH® BUTLER、BUTLER) (FVB)2 種類を選択した。観察試料として、ヒト抜去大白歯を 8 本使用し(n=8)、それぞれ頬舌的、近遠心的に切断して 4 分割した。分割試料は歯面の CEJ を挟んで約 3mm の幅を残してスティッキーワックスで約 1mm の厚さになるように被覆した。各歯の 3 分割試料にそれぞれ各材料を塗布し、1 分割試料は材料を塗布しないコントロール(C)とした。材料の塗布は FN ではスティッキーワックスと同程度の厚さになるよう、また、FVB と FVC では十分に歯面に付着するように塗布した。37℃脱イオン水中に 24 時間浸漬後、塗布部位が含まれるように歯軸に平行に切断し、材料除去後、厚さ約 200 μ m に調整した。その後、材料を塗布 (除去) した面を除いて、すべての歯面をスティッキーワックスで被覆して、材料塗布歯面に溢れたスティッキーワックスを #1000 の耐水ペーパーで除去し、single-section 試料とした。pH サイクルの設定は、脱灰溶液 (0.2M 乳酸、3.0mM CaCl₂、1.8mM KH₂PO₄、pH4.5)、再石灰化溶液 (0.02M HEPES、3.0mM CaCl₂、1.8mM KH₂PO₄、130mM KCl、pH7.0) を用い、1 サイクルで初期の pH に戻るまでの時間 (回復時間) が平均 52.17 \pm 3.82 分とした。サイクル数は一日に 6 回で、各サイクル間のインターバルの間及び pH を稼働させない時間 (約 8 時間) は再石灰化溶液に浸漬した。各試料の Transverse Microradiography (TMR) を実験開始前、pH サイクル 2、4 週後に撮影し、得られた画像は Image J を用いた画像解析方法^[1]により解析し、CEJ に近接した象牙質の脱灰量 IML(integrated mineral loss) (Vol% x μ m) の変化を検討した。各週における IML の増加量 (Δ IML) を一元配置分散分析および Tukey の HSD を用いて統計解析を行った。

【結果】 結果を図 1 に示す (線で結ばれている群間には有意差なし)。2 週後では全ての材料群 (FN,FVB,FVC) の Δ IML はコントロールと比較して有意に低い値を認めた。また、4 週後では FVC とコントロールで有意差は認められなかったが、FN、FVB とコントロールでは有意差が認められた。

【考察】 今回の結果から、フッ化物バーニッシュ、ガラスアイオノマーセメントの歯面塗布によって象牙質の脱灰を抑制することが示され、フッ化物バーニッシュのフッ化物局所応用としての有効性が示唆された。また、各材料を塗布 24 時間後に除去したにも関わらず、象牙質の脱灰抑制が示されたのは、短期間フッ素に接触しただけで歯質の耐酸性が向上したためと考えられる。このことから、齲蝕予防のための新規フッ化物徐放性材料の開発が期待される。

【文献】 [1] Matsuda, Y.et al. (2007). Dent. Mater. J, 2007 26(3), 414-421

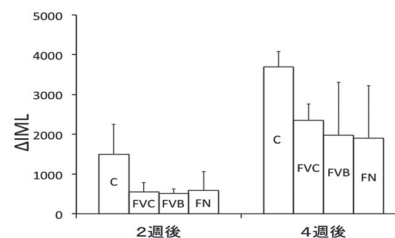


図 1

歯髄温存療法覆髄材が象牙質石灰化に及ぼす影響

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯制御治療学分野

○伊藤修一, 甕富美子, 斎藤隆史

Effect of atraumatic indirect pulp capping materials in dentin mineralization

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

○ITO Shuichi, MOTAI Fumoko, SAITO Takashi

【目的】

歯髄温存療法は、平成 20 年に新規医療技術として非侵襲性歯髄覆罩 (AIPC) という名称で保険収載され、平成 22 年、現在の名称に変更になった。また、保存修復学や歯内療法学の教科書には「暫間的間接覆髄 (IPC)」という名称で記載されてきた。これを受けて、2009 年 10 月に日本歯科保存学会が「う蝕治療のガイドライン」を発表した。その中で、歯髄温存療法に有効な覆髄剤として水酸化カルシウム製剤 (DY:ダイカル, デンツプライ), タンニン・フッ化物配合剤配合カルボキシレートセメント (HS:ハイボンドテンポラリーソフト, 松風) を推奨している。また、高強度硬化型グラスアイオノマーセメント (FujiIX, GC) を使用して行う MI 治療法として、1980 年代に Frencken により ART (Atraumatic Restorative Treatment) 法が考案された。報告によれば、最近の臨床成績の成功率は、90%を超えている。近年、接着修復材料の分野において S-PRG (酸反応性フルオロボロアルミノシリケートガラスとポリ酸の反応生成物) フィラーが開発され用いられている。各種イオンの徐放性を持っていることが大きな特徴であり現在まで抗プラーク性や耐酸性の向上などが報告されている。

本研究の目的は、再石灰化能、自己修復能を有する修復材の開発を最終目的として、アガロースビーズに不動化したリンタンパク質 (象牙質再石灰化をシミュレートした系) が石灰化を誘導する際、歯髄温存温存療法に用いる材料の象牙質再石灰化に対する影響について比較、検討を行った。

【材料と方法】

ビニルスルフォンを用いてアガロースビーズにホスピチン (Sigma Chem Co., U.S.A.) を架橋結合し、ホスピチン-アガロースビーズ複合体 (2.56 μ g ホスピチン/mg アガロースビーズ) を作製した。これを 37°C にてハイドロキシアパタイト (HAP) 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)。S-PRG フィラーを含有するセメントとして PRG セメント (PRG, 松風)、歯髄温存療法に用いる材料としてダイカル (DY, デンツプライ) ハイボンドテンポラリーソフト (HY, 松風)、ART 法に用いる材料として FujiIX GP (GP, GC) を用いた。材料の硬化物 (円盤状: 直径 15mm, 厚さ 2mm) を蒸留水 (30ml) 中に 3 日間浸漬して得られた溶液を用いて石灰化溶液を作製した。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測定した。走査型電子顕微鏡により形態学的な観察を行なった。同様に得られた試料を X 線回折法により分析を行なった。

【結果および考察】

石灰化溶液を作製する際、PRG, DY, HY は自発的な沈着を起こした。1 週間 37°C にて保管後の石灰化物の沈殿量は、PRG が最も多かった。in vitro 石灰化誘導実験系においてインキュベート 24 時間後の誘導されたカルシウム量は、PV, DY, GP が PRG, GP と比較して有意に高い値を示した。SEM 観察では、PV, DY, および GP は 24 時間後に板状の HAP 結晶が確認された。得られた石灰化物の X 線回折パターンから HAP に特徴的なピークが認められた。

これらの結果から、象牙質接着界面において、各種材料から放出されるイオンが脱灰象牙質再石灰化に影響を与える可能性が示唆された。

【結論】

歯髄温存療法に用いられる材料および S-PRG フィラー含有セメントが象牙質石灰化に有効であることが示唆された。

ナノ化ハイドロキシアパタイト応用による軟化根管象牙質の再硬化
—感染根管象牙質におけるレジンの接着性強さ—

日本大学松戸歯学部¹再生歯科治療学講座、²感染・免疫学、³歯科生体材料学、
○菊地信之¹、横田容子¹、村山優¹、平田亮太郎²、染井千佳子¹、牧村英樹¹、木村功¹、谷本安浩³、長濱文雄¹、和田守康¹

Reinforcement for softened root canal dentin using by nanometrical hydroxyapatite particles

—Bonding strength of the adhesive resin to infected root canal dentin—

Departments of ¹Reascent Dentistry, ²Microbiology and Immunology and ³Dental Biomaterials Nihon University
School of Dentistry at Matsudo

○OKIKUCHI Nobuyuki¹, YOKOTA Yoko¹, MURAYAMA Yu¹, HIRATA Ryountaro², SOMEI Chikako¹, MAKIMURA Hideki¹, KIMURA Koh¹,
TANIMOTO Yasuhiro², NAGAHAMA Fumio¹, WADA Moriyasu¹

【目的】

感染根管を処置する場合、機械的、化学的清掃により軟化象牙質（感染象牙質）の完全除去が原則である。取り残しは疾患の原因の放置であるとともに、補綴物の保持低下につながる。また、完全除去による歯質の菲薄化は補綴物装着後、歯質の亀裂や破折を起こす。

我々は、第125回日本歯科保存学会、第4回日本再生歯科医学会においてナノ化ハイドロキシアパタイト(HA)は人工軟化根管象牙質深部まで浸透した結果、ほぼ intact の象牙質の硬さまで再硬化することが判明し報告した。そして第128回日本歯科保存学会において、再硬化された人工軟化根管象牙質とコアレジンの接着性について検討した結果、intact 象牙質の約60%まで接着強さの回復が認められたことを報告した。また、第133回日本歯科保存学会において、細菌によって感染された人工軟化根管象牙質においてもナノ化HAを作用により、再硬化が認められたことも報告した。これは軟化根管象牙質が保存できる可能性があるということを示している。

しかし、ナノ化HAによって再硬化され、しかも細菌感染された人工軟化根管象牙質の接着強さについては報告がない。そこで、本実験は感染された再硬化した人工軟化根管象牙質の接着性について検討した。

【材料および方法】

ウシ下顎前歯を即時重合レジン（ユニファストII、GC）に包埋し、3種類のカーバイトバー（テーパー0°、テーパー5°、テーパー10°）を用いてそれぞれ根管内部面積が一定となるように根管形成をおこなった。スマー層を除去する目的で、根管をEDTAで5分間、NaClOで1分間清掃した。急速脱灰液K-CXを根管内に10時間作用させた。試料に唾液を根管内に作用させ、人工軟化根管象牙質を作製した。そして各30本ずつ4つの試料（A～D）に分けた。すなわち、脱灰のみの試料をA、ナノ化HAを作用させた試料をB、ナノ化HA作用後に35%HEMAを60秒間作用させた試料をC、作用させない intact の試料をDとしコントロールとした。それぞれの試料A～Dにデュアルキュア型コンポジットレジン（ユニフィルコア株式会社GC）を根管内に充填した。レジン充填前の表面処理として付属のセルフエッチングボンディング材をメーカー指示どおりの方法で用いた。レジン硬化後、直ちに試料を水中に入れ37℃の恒温層内に24時間放置した。接着強さの測定は試料を7mmの厚さに切断し、万能試験機（TG-5kN 株式会社ミネベア）を用い、クロスヘッドスピード1.0mm/mmの条件でおこなった。測定後、歯軸方向に切断し、電界放射走査電子顕微鏡（Field-emission scanning electron microscopy: FE-SEM, JSM-6340F, JEOL）で根管内部表面およびコアレジンの表面を観察した。

【結果および考察】

接着試験において試料Aではほとんど接着強さは認められなかった。ナノ化HAを作用させた試料Bおよび試料Cは試料Aと比較すると接着強さの回復が認められた。また、細菌が存在する場合の人工軟化根管象牙質と前回報告した細菌が存在しない場合の人工軟化根管象牙質の接着強さを比較した結果、ほとんど差は認められなかった。

電子顕微鏡の観察においてナノ化HAを作用させた試料BとCでは根管象牙質の基本構造は保たれており、レジントグの存在が認められ、細菌の表面および根管象牙質のコラーゲン線維には、数多くのナノ化HAが付着している像も認められた。このことから、ナノ化HAは細菌およびコラーゲン線維に対して吸着能力を有していることと思われる。

軟化象牙質が多量な残根状態の歯は通常抜歯を行なうが、実験結果より、抜歯せず軟化象牙質を保存し、支台築造そして歯冠補綴処置をおこなうことができることでより確実な治療ができる可能性が示唆された。

象牙質知覚過敏抑制材の歯ブラシ摩耗と耐着色性の評価

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
○高橋 圭, 西谷佳浩, 星加知宏, 山路公造, 吉山昌宏

Evaluation of the toothbrush abrasion and the resistance to staining of the anti dentin hyper sensitive drugs

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○TAKAHASHI Kei, NISHITANI Yoshihiro, HOSHIKA Tomohiro, YAMAJI Kozo, YOSHIYAMA Masahiro

【緒言】

近年、象牙質知覚過敏症例に対する処置には様々な方法が用いられているが、その中でも本研究では光照射することにより歯面をコーティングし、象牙質知覚過敏症を抑制する材料に着目し研究を行った。歯面コーティング法とは薄いコーティング層を形成することにより露出した象牙細管を封鎖する方法である。しかし、処置後のコーティング面には日常の歯面清掃によって歯ブラシ摩耗が起こることが考えられる。また、ボンディング材でコーティングするため、材料そのものに対して着色することが予想される。そこで本研究では、2種の象牙質知覚過敏抑制材を用いて歯ブラシ摩耗に対する耐久性と耐着色性について比較検討を行った。

【材料および方法】

2種の象牙質知覚過敏抑制材には、G-ガード（ジーシー）、シールドフォースプラス（トクヤマデンタル）を用いた。歯ブラシ摩耗試験では、牛歯の前歯の歯冠を研磨機で平坦に成形後、スプリントリテーナーレジンで包埋し、600番の耐水研磨紙で研磨後、30分間蒸留水中で超音波洗浄を行った。その後2種の象牙質知覚過敏抑制材を用いてメーカー指示に従いコーティングし、コーティング面の下方半分をMIフロー（ジーシー）で被覆して基準面を保護した。得られた試験片は、プロスペック・アダルト・かための歯ブラシ（ジーシー）を装備した歯ブラシ摩耗試験機を用いて、荷重200gfの条件下で10万回における歯ブラシ摩耗試験を行った。なお本実験では歯磨剤を使用せず蒸留水中に浸漬して行った。摩耗試験後にサンプルをアイソメットにて垂直方向に切断し、各側面を鏡面研磨後、MIフローで被覆した部分を基準面とし、各象牙質知覚過敏抑制材の厚みの変化をSEM観察により測定した。試料数は各群4個とした。

また、耐着色性を評価するために、2種の象牙質知覚過敏抑制材に対してコーヒー、赤ワイン、イソジンを用いた着色試験を行った。2種の象牙質知覚過敏抑制材を直径6mm、厚さ1mmに調整したモールドに填入し、20秒間光照射し重合させ円板試料を作製した。各試料は、24時間37℃水中保管後、コーヒー、赤ワイン、イソジンにそれぞれに1週間浸漬し、経時的な色調の変化をシェードアイNCC（松風）を用いて測定し比較検討を行った。浸漬材料の温度は37℃に保ち、浸漬前の色調を初期値とし、着色試験後の試料に対して初期値と同様に測色を行った。試料数は各群8個とし、各群について着色試験後の測色値と初期値との式差値（ ΔE ）を算出した。得られた式差値（ ΔE ）は、各群において有意水準5%にてTukeyの多重比較検定を行った。

【結果および考察】

2種の象牙質知覚過敏抑制材に対する10万回の歯ブラシ摩耗試験の結果は、4個の試料の平均がG-ガードは3.75 μm 、シールドフォースプラスは4.66 μm の摩耗深さであった。両材料間には有意差は認められなかった。

また、2種の象牙質知覚過敏抑制材に対するコーヒー、赤ワイン、イソジンを用いた着色試験の結果は、G-ガードよりシールドフォースプラスの方がすべての群で有意に高い式差値を示した。最も低い式差値を示したのが、コーヒーに浸漬したG-ガードで、最も高い式差値を示したのが、赤ワインに浸漬したシールドフォースプラスであった。G-ガードがシールドフォースプラスと比較して式差値が低かった原因として、G-ガードは硬化後の表層の未重合層がシールドフォースプラスに比べて少なかったことが考えられる。

【結論】

本研究において、2種の象牙質知覚過敏抑制材G-ガードおよびシールドフォースプラスの歯ブラシ摩耗深さは、材料間に差がなかった。また、耐着色性についてはG-ガードの方が着色しにくいことが示唆された。

引っ掻き硬度試験 (鉛筆法) JIS K5600-5-4 を用いた歯面コート材の硬さについて

昭和大学歯学部歯科保存学講座 美容歯科¹ 株式会社松風²
○亀井千瑛¹, 山口麻衣¹, 中塚稔之², 真鍋厚史¹

The evaluation of teeth coating materials by Scratch hardness test
Department of Clinical Cariology and Division of Aesthetic Dentistry, School of Dentistry, Showa
University¹, SHOFU INC.²

○KAMEI Chiaki¹, YAMAGUCHI Mai¹, NAKATSUKA Toshiyuki² and MANABE Atsufumi¹

[研究目的]

歯面コート材は、審美性の回復や、支台歯の保護、知覚過敏症の軽減などの目的で臨床応用されている。今回は5種の歯面コート材を使用して、歯面コート材に共通する物理的特性を引っ掻き硬度試験 (鉛筆法) JIS K5600-5-4 (ISO/DIN 15184) により比較検討した。

[材料および方法]

使用した歯面コート材	各種処理法
ビューティーコート (松風)	未重合層除去, 標準仕上げ, 即日仕上げ
ホワイトコート (クラレ)	トップコート塗布, トップコート塗布なし
ビスカバーLV (モリムラ)	
Gコート (GC)	
PRG バリアコート (松風)	

歯面コート材を直径10mm, 厚さ0.7mmの円板状試片として作成した。ビスカバーLV, Gコート, PRG バリアコートは被膜厚さが薄いため、先にフロアラブルレジジンにて試片を作成、準備し上述した試料を塗布した。またすべての試片は20℃蒸留水中に保管した。各試片を以下の3条件に分けて試験を行った。

- (1) 照射直後
- (2) 照射後24時間後
- (3) サーマルサイクル (5℃, 60℃) 10000回負荷後

すなわち8種類の歯面コート材塗布条件と3つの浸漬条件をそれぞれ2試片ずつ合計48枚調整した。

引っ掻き試験に使用する鉛筆は JIS 規格に基づき Uni (MITSU-BISHI) の 6B 5B 4B 3B 2B B HB F H 2H 3H 4H 5H 6H を使用し、試験装置は約1mm/sの速度で、試片表面を7mm滑走させた。また同一試験室内で同じ鉛筆及び試験体を用いて二人の試験者が試験を実施し、二人の結果が一致した時の鉛筆の硬さを決定値とした。このことから上記試験方法で得られた値の精度は ASTM D3363-92a に準拠した95%信頼水準の許容範囲内であると言える。

今回の試験は JIS K5600-5-4 (ISO/DIN 15184) に基づき、工業基準を満たした上で行った

[結果および考察]

- (1) 照射直後: ビスカバーLVが7Hと最も硬く、PRG バリアコートがHと最も軟らかい結果であった。
- (2) 24時間後: ビスカバーLVが7Hと最も硬く、PRG バリアコートが4Hと最も軟らかい結果であった。
- (3) サーマルサイクル後: ビスカバーLVが8Hと最も硬く、ホワイトコート (トップコート塗布なし) が3Hと最も軟らかい結果であった。

材料ごとに比較すると、ビューティーコート、ビスカバーLV、Gコート、PRG バリアコートそれぞれサーマルサイクル負荷により歯面コート材表面の硬度が増す結果となった。5種類全ての歯面コート材において、メーカー指示に従い使用した場合、サーマルサイクル負荷により表面の硬度は変化なし、または上昇することが明らかとなった。以上のことから口腔内で長期的に使用しても機械的擦過に影響を受けにくい安定した材料と考える。今回の研究は偏差を算定するのに適当な材質のものが得られていないので、統計処理は行わないものとした。

SEMを用いた象牙質知覚過敏抑制材塗布による象牙質表面性状変化の観察

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, 福本歯科医院³

○ 高見澤俊樹^{1,2}, 遠藤 肇¹, 渡邊孝行¹, 色川敦士^{1,2},
角野奈津¹, 安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 福本敬一³

SEM Observation of Desensitizer Applied Dentin

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

○ TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, ENDO Hajime¹, WATANABE Takayuki¹, IROKAWA Atsushi^{1,2},
SUMINO Natsu¹, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, FUKUMOTO Keiichi³

【目的】

象牙質知覚過敏症に対する処置として、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、多くの製品が臨床応用されている。現在臨床で用いられている知覚過敏抑制材の使用法あるいは作用機序は製品によって異なることから、その臨床使用にあっては少なからず混乱が生じている可能性がある。そこで演者らは、象牙質知覚過敏抑制材に関する研究の一環として、知覚過敏抑制材塗布後の象牙質表面の性状変化について検討することを目的とした。すなわち、ウシ歯象牙質を用いて象牙細管が開いた知覚過敏モデルを製作し、現在市販あるいは試作の知覚過敏抑制材を塗布した際の表面性状変化および細管封鎖性について走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行うとともに元素分析を行った。

【材料および方法】

1. 象牙質知覚過敏モデルの製作

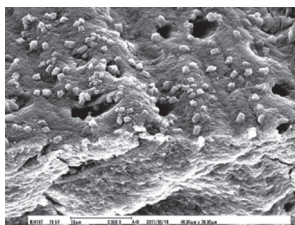
ウシ歯下顎前歯の唇側象牙質を4×4×1 mmのブロックとして切り出し、耐水性SiCペーパーの#2,000まで順次研磨した。これらの試片に対して超音波洗浄を30分間作用させることによって象牙細管の開口を伴う知覚過敏モデルとした。

2. SEM観察用試片の製作

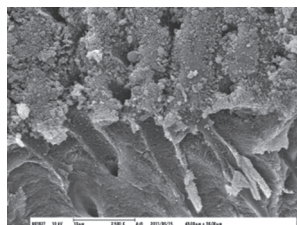
市販の象牙質知覚過敏抑制材9製品および試作知覚過敏抑制材(CPD-100)を製造者指示条件に従って象牙質面に塗布し、照射が必要な製品に関しては照射を行った。これらの試片を液体窒素下で縦断し、*tert-butyl alcohol* (50, 75, 90, 100%) 上昇系列に浸漬した後、臨界点乾燥(凍結乾燥機, Model ID-3, エリオニクス)を行った。後に金蒸着を施し、SEM観察用試片とした。これらの試片についてFE-SEM (ERA-8800 FE, エリオニクス)を用いて、加速電圧10 kVの条件で観察を行った。また、試片表面および縦断面の元素分析(EDAX Genesis, エリオニクス)を行った。

【結果および考察】

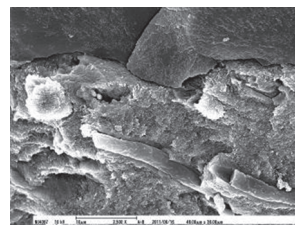
SEM観察の結果から、知覚過敏抑制材による象牙質処理面の様相は用いた製品によって異なるものであった。すなわち、象牙質表層に薄膜形成をする製品あるいは知覚過敏抑制材由来の結晶物の析出が見られる製品とその様相は多岐にわたっていた。また、レジン系知覚過敏抑制材のうちいくつかの製品は、象牙細管内にレジンの浸透が認められた。一方、元素分析の結果から、検出された元素も用いた製品によって異なるものであった。その中でも、F, Al, Mg, Si およびKなどの元素が検出されるとともにガラスイオノマー系製品からはSrなどの元素も検出された。



Smart Protect



MS coat



G-gard

【結論】

本実験の結果から、知覚過敏抑制材は用いる製品によって象牙細管封鎖性あるいは象牙質表面への皮膜形成も異なることから、それぞれの特徴を十分理解した臨床使用が望まれる。

フッ素含有知覚過敏抑制材の象牙質透過性の検討

¹サンメディカル株式会社 研究開発部

²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

○宮森沙耶香¹, 小里達也¹, 西谷佳浩², 吉山昌宏²

In vitro study of the dentin permeability of fluoride-containing desensitizer

¹Sun Medical Co., Ltd. Research and development department

²Department of Operative dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,

Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○MIYAMORI Sayaka¹, ORI Tatsuya¹, NISHITANI Yoshihiro², YOSHIYAMA Masahiro²

【緒言】

象牙質の摩耗や咬耗による象牙質知覚過敏症だけでなく、近年では楔状欠損や歯根露出による発症も増加してきた。このような状況の中、象牙細管内液の移動を抑制して対処するための材料が各メーカーから数多く販売されてきたが、それらを大きく分類すると歯質成分との反応から生成される析出物により開口した象牙細管を封鎖するタイプと、レジン硬化被膜を象牙質表面に形成・封鎖するタイプとに二分できる。これまでに我々は、前者に該当するMSコートF（サンメディカル）において成分中のMSポリマーとシュウ酸が効率的に開口した象牙細管を封鎖し、さらにフッ素を取り込んだポリマー被膜が耐酸性を有することを報告してきた。しかしながら、象牙細管封鎖性の評価は走査型電子顕微鏡による肉眼的観察のみであること、実臨床での適用環境を想定した場合には歯髄内圧によって象牙細管内液が滲み出ている状態であることを考慮する必要がある。

そこで本研究では、歯髄内圧を再現した圧力下での象牙質表面にMSコートFを適用して象牙質透過性を評価することで、より臨床に即したIn vitroの検討を行ったのでここに報告する。

【材料および方法】

1) 知覚過敏モデル象牙質の作製：健全なヒト抜去大白歯を用いて低速ダイヤモンドカッター（ISOMET, BUEHLER社）および耐水研磨紙（#600）にて咬合面から研磨し平坦な象牙質面を露出させ、その平坦面から歯根側へ厚さ3mmに切り出し象牙質板を作製した。象牙質表面のスミヤ層を30分間超音波洗浄にて除去し、得られた象牙質板を知覚過敏モデル象牙質とした。なお、歯髄側から圧力をかけるために残存する歯髄腔をガイドとして、深さ2mmの窩洞をエタービンにて注水下で形成した。その窩洞内のスミヤ層も表面処理材高粘度レッド（サンメディカル）にて30秒間処理することで除去した。

2) 象牙質透過性の測定：MSコートF（以下、MSF）の他、比較対象としてMSコートONE（以下、MSO）およびMSポリマーを含まないシュウ酸水溶液を用いて検討した。Pashleyらが報告している象牙質透過性測定装置を用い、処置を施していない象牙質面に歯髄側から歯冠側へ歯髄内圧を想定した静水圧20cmH₂Oをかけ、象牙細管内に水を通過させることで単位あたりの流量を測定した。次いで、静水圧がかかった状態で同一象牙質表面に上記材料を適用した後に同様の手順で流量を測定し、処置前後の流量から象牙質透過抑制率（%）を算出した。得られた結果は、one-way ANOVAおよび多重比較としてTukey法を用いて有意水準5%で統計処理を行った。

【結果および考察】

各材料の象牙質透過性を測定した結果、何れの材料においても象牙細管内液の移動を抑制していることが確認された。各材料間の透過抑制率では、MSFおよびMSOはシュウ酸水溶液と比較して有意に高い透過抑制率を示していることが確認された（ $p < 0.05$ ）。このことから、MSポリマーは歯質のカルシウムと反応することによってシュウ酸カルシウム結晶を含んだMSポリマーの保護被膜を形成し、より強固に象牙細管を封鎖したと考える。また、MSFとMSO間の透過抑制率には有意差はなく、フッ化ナトリウムの有無による相違は認められなかった。

【結論】

MSF、MSOおよびシュウ酸水溶液全ての材料において象牙細管内液の移動を抑制していることが確認され、歯髄内圧を再現した圧力下でも透過抑制能を有していることが明らかとなった。また、MSFやMSOがシュウ酸水溶液と比較して有意に高い透過抑制率を示したことから、MSポリマー被膜によってより緊密に象牙細管を封鎖していることが示唆された。

リン酸カルシウム系新規知覚過敏抑制材 CPD-100 の象牙細管封鎖性

クラレノリタケデンタル株式会社
○石原 周明、轟田 拓大、畑中 憲司

Evaluation of Sealing Ability of Newly Formulated Calcium Phosphates Desensitizing Material CPD-100

Kuraray Noritake Dental Inc.
○ISHIHARA Shumei, TSURUTA Takuo, HATANAKA Kenji

【研究目的】

当社が開発した知覚過敏抑制材 CPD-100 は、自己硬化性を有するリン酸カルシウム材料を配合した新しいタイプの知覚過敏抑制材である。本研究では、知覚過敏患部の歯髄内圧を考慮した実験系も含め、本製品の象牙細管封鎖性について形態学的な評価を行った。

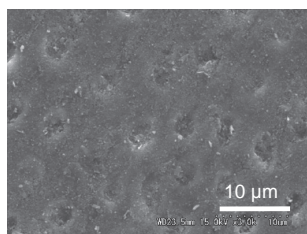
【材料および方法】

1. 材料及び処理方法：知覚過敏抑制材 CPD-100（クラレノリタケデンタル、以下、CPD）を用いた。混和皿に粉材及び液材を重量比（粉/液）で 1.2 となるように採取し、マイクロブラシで 15 秒間混和することで得られたペーストを知覚過敏症モデル象牙質に 30 秒間擦り塗り、その後に水洗した（以下、CPD 処理）。
2. 知覚過敏症モデル象牙質の作製：ウシ切歯の類側象牙質から象牙質プレートを切り出し、厚さが 0.5 mm になるよう耐水研磨紙で #8000 まで研磨した後、3% EDTA 溶液で 30 秒間処理することにより知覚過敏症モデル象牙質を作製した。
3. 歯髄内圧負荷方法：既報（Pashley D.H. et al., *Arch. Oral. Biol.*, **30**, 731-737(1985).）に準じ、歯髄内圧負荷装置を作製した。装置内を、歯髄内液を模倣した 0.2% のウシ血清アルブミンを含む PBS で満たした後、15 cmH₂O の静水圧を加えて歯髄内圧を負荷した。
4. SEM 観察（形態学的評価）：歯髄内圧が負荷されていない状態（内圧(-)）、または、歯髄内圧が負荷された状態（内圧(+)) において、CPD 処理した知覚過敏症モデル象牙質を SEM にて観察した。
5. 封鎖の持続性：CPD 処理後、人工唾液（以下、AS）に 3 日間浸漬させた象牙質について、SEM 観察を実施した。

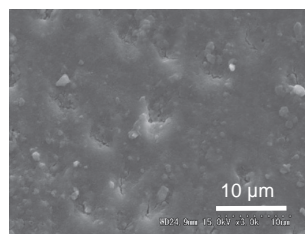
【結果および考察】

歯髄内圧の有無に関わらず、CPD 処理直後において象牙細管は緻密に封鎖されることが確認された (Figure)。また、AS 浸漬後においても封鎖物に変化は認められなかった。

自己硬化性を有するリン酸カルシウムを用い、さらに擦り塗りを採用したことにより、歯髄内圧の影響を受けることなく象牙細管の緻密な封鎖を達成したものと考えられる。



内圧(-)



内圧(+)

Figure CPD 処理直後の象牙質表面の SEM 像

【結論】

新規な知覚過敏抑制材 CPD-100 は象牙細管を緻密に封鎖し、その封鎖は持続性を有することが認められたことから、臨床的有用性が期待される。

ステアリン酸亜鉛ならびに乳酸アルミニウムの象牙細管内における挙動

鶴見大学歯学部歯内療法学講座

○甲田 智、森戸亮行、吉田拓正、鈴木一範、湯本琴美、堀井皓典、細矢哲康

Behavior of particles of zinc stearate and aluminum lactate in dentinal tubule
Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine
OKODA Satoshi, MORITO Akiyuki, YOSHIDA Takumasa, SUZUKI Kazunori
YUMOTO Kotomi, HORII Akinori, HOSOYA Noriyasu

【目的】

象牙質知覚過敏症は、開口した象牙細管内の組織液が移動して疼痛を引き起こすと言われ、処置には歯髄の興奮抑制や象牙細管の封鎖が有効とされ、種々の方法や材料が臨床に供給されている。また、象牙質知覚過敏の予防に有効成分を添加した歯磨剤なども広く市販されている。

本研究では、開口した象牙細管を封鎖する成分を歯磨剤に添加することを目的に、添加が可能なステアリン酸亜鉛、ならびにこれまで象牙細管を閉鎖する効果が報告されている乳酸アルミニウムの象牙細管内における挙動を観察し検討を加えた。

【材料と方法】

被験歯には、生理的食塩水中に保管したヒト抜去歯を用い、被験材料には、ステアリン酸亜鉛分散液ならびに乳酸アルミニウムとリン酸水素二ナトリウム、ソルビトールの混合液を用いた。被験歯の CEJ 部分から歯面 3 mm×3 mm で根管壁に達する象牙質試片を作成した。エナメル質ならびにセメント質を除去後、歯表面ならびに根管壁面を 0.5mol/l EDTA で 2 分間処理し、スマヤー層ならびにスマヤープラグを除去することで、象牙質知覚過敏症罹患部分の象牙細管開口部に類似した状態を得た。次に、象牙細管内の歯髄組織圧を再現するために象牙質試片をプラスチックケースに装着し、リング液を用いて根管壁面から象牙細管内へ 15 cm H₂O の圧力をかけた状態で、37°C、相対湿度 100% に 24 時間以上保管した。象牙質試片を無作為に 3 群に分け、実験群はステアリン酸亜鉛分散溶液、ポジティブコントロール群として乳酸アルミニウム混合溶液、ネガティブコントロール群として溶液基剤を適用した。各薬剤は、被験歯の歯面側の象牙細管開口部へ、一人の術者が歯ブラシにて圧力 250g で 2 分間、適用した。

【結果と考察】

ステアリン酸亜鉛分散溶液を、歯髄組織内圧を再現した象牙質に適用したところ、延性変形した液体によって象牙質表面が覆われている様子が観察された。また象牙細管内への侵入が確認された。これまでに、乳酸アルミニウムが象牙細管を閉鎖することで、象牙質知覚過敏症の疼痛を緩和することが報告されていることから、ステアリン酸亜鉛においても同様の効果が期待できると推察される。

【結論】

ステアリン酸亜鉛分散溶液は歯ブラシによる擦り込みで象牙質表面が覆われ、象牙細管内に侵入し物理的に封鎖する可能性が示唆された。

新規フッ化物含有ナノシール材から歯質への元素の移行

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

○ 韓 臨麟, 興地隆史

Elements uptake by tooth hard tissues from a fluoride-containing nanoseal material
Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan

○ HAN Linlin, OKIJI Takashi

【緒言】

近年、象牙細管開口部の封鎖による象牙質知覚過敏症への抑制効果、齲蝕予防、脱灰歯質の再石灰化誘導などが期待される新たなフッ化物含有ナノシール材(日本歯科薬品、以下ナノシール)が開発された。本材はフロオロアルミノカルシウムシリケート微粒子の混濁液とリン酸水溶液の2液からなり、これらを混和するとフロオロアルミノカルシウムシリケートがリン酸水溶液によって分解され、生成した微粒子(いわゆるナノ粒子)が歯面表層に浸透、沈着して歯面被覆が生じると考えられている。さらに、F, Si, Caなどの元素が歯質石灰化につながる化学的影響を及ぼす可能性も推定されている。

われわれは第134回本学会で、ナノシール塗布歯面にナノ粒子の沈着と耐酸性向上が生じることを報告した。本研究では、ナノシール塗布後の歯面における各種元素の取り込みの動態について検討を行った。

【材料および方法】

1. 被処理歯面試片の作成: ヒト抜去前歯唇面エナメル質表層部無構造層を削除したものをエナメル質試片とした。また、エナメル質層の全てを削除したものを象牙質試片とした。なお、ヒト抜去歯の使用については新潟大学歯学部倫理委員会の承認を得た(承認番号 22-P1-10-06)。
2. ナノシールの塗布: ナノシールの2液を採取、混和し、直ちに歯面に10秒間塗布した後、20秒間の水道水による水洗を行うという操作を2回繰り返したのち、リン酸緩衝液(pH7.2)に37°Cで24時間保管した。以上の処理を1サイクルとし、1, 2, 4サイクルの処理を施した試片を作製した。
3. ナノシール塗布歯面の元素分析: ナノシール塗布後のエナメル質、象牙質試片ともに、マイクロカッターを用いて試料を表層と直角方向に切断した後、電顕観察機能兼有波長分散型マイクロアナライザー(SEM-EPMA, EPMA1601, 島津)にて歯面表層部におけるCa, F, Siの濃度を分析した。

【結果及び考察】

元素分析の結果、FおよびSiでは、試片表層から10 μm程度の位置に元素濃度の増加ピークが観察された。Caについては、表層下数ミクロンの範囲で若干濃度の向上する層が検出された。塗布回数の増加により、各種元素の取り込み深さが増加する傾向が見られた。

以上の結果から、エナメル質および象牙質に対するナノシール塗布により、塗布歯面表層部に歯質石灰化に関連する元素の取り込みが生じることが確認された。すなわち、Fの取り込みによるフルオロアパタイトの形成、Caのリン酸カルシウムへの取り込みによるCa/P比の増加、さらにはSiの取り込みによる再石灰化誘導等の機構により、ナノシールが歯質耐酸性や石灰化度の向上につながる効果を備えることが推察される。

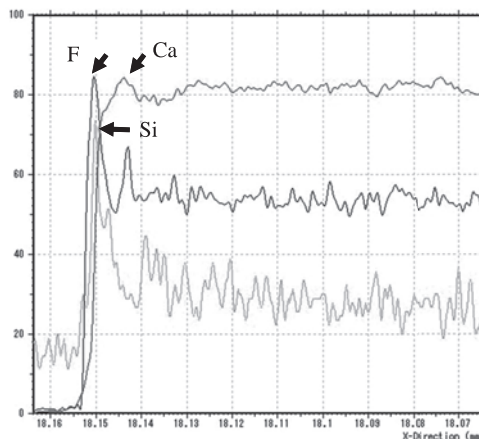


図1 ナノシール2サイクル塗布象牙質面への元素取り込み

修復済みヒト抜去歯でのコンポジットレジン修復下歯質の形態学的観察

鶴見大学歯学部保存修復学講座¹, 鶴見大学歯学部口腔解剖学講座²
○山本雄嗣¹, 千葉敏江², 桃井保子¹, 下田信治²

Morphological Observation of Tooth beneath Resin Composite Restoration in Extracted Human Tooth
Department of Operative Dentistry¹, Department of Oral Anatomy², Tsurumi University School of Dental Medicine
○YAMAMOTO Takatsugu¹, CHIBA Toshie², MOMOI Yasuko¹, SHIMODA Shinji²

【研究目的】

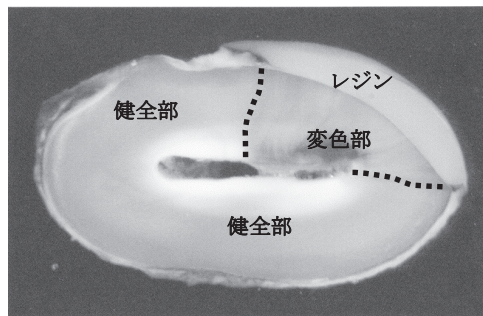
接着性コンポジットレジン修復の誕生から約 30 年が経過し、レジン修復は現在のう蝕治療の主流となるに至った。現在までにレジン修復後の歯髄反応や歯質変化に関して、大変多くの検討が成されてきた。歯髄反応は動物実験で検討されており、レジン修復は歯髄傷害を惹起しないと結論されている。一方、レジン修復直下の象牙質変化については、サル歯での象牙質再石灰化が報告され、また最近では、ヒト抜去歯にレジン充填を施し、その後の象牙質硬さの増加が確認されている。しかし、レジン修復後に抜去されたヒト歯を用いた歯質変化の検討は極めて少ない。そこで今回、レジン修復から長期を経て抜去されたと思われるヒト歯の観察を行い、レジン修復下象牙質の形態学的検討を行った。

【方法および結果】

保存修復学講座所有のヒト抜去歯から、歯頸部にレジン修復を有する上顎小白歯を観察試料とした。試料の修復・抜去時期や修復材料等は不明である。修復物中央を通るように、歯軸に対し垂直方向で切断研磨し、観察・分析に供した。試料研磨面全体像を右に示した。

1. 光学顕微鏡観察

- レジン-象牙質界面は円滑な曲線であり、歯頸部摩擦に対して修復がなされたものと思われた。
 - 充填不足によるレジンに被覆されていない摩擦面を認めた。
 - 修復物辺縁の着色は、歯面ではなくレジン側に認められた。
 - 界面は極めて緊密に接しており、接着は良好と思われた。
 - レジン下象牙質内には透明象牙質の形成を認めた。
 - レジン下髄腔内には第三象牙質の形成を認めた。
 - レジンの接着部位に一致して、象牙質の変色を認めた。
- 偏光下では、この変色部は明らかに周囲の健全象牙質と偏光特性が異なり、両者間の構造が異なることが示された。



このレジン下の変色部と、その周囲の健全部との比較を行なうこととした。

2. 電子顕微鏡観察

- 二次電子像および反射電子像での観察を行なった。両電子像で変色部の方が健全部より明度が低かった。これより変色部の平均原子番号が健全部より低いことが示された。

3. 硬さ測定

- 変色部のピッカース硬さは、健全部より約 20%低い値を示した。変色部より健全部の方が石灰化度が高いと考えられた。

4. EDS による含有元素の定性分析

- 変色部と健全部ともに、Ca および Si を含有していることが判明した。

5. Si 元素の定量分析

- 変色部に含有されている Si 元素は、僅かながら健全部より多かった。レジンからの Si 元素が変色部に沈着していると考えられた。

【まとめ】

以上より

- 摩擦面にレジン修復を施したことにより、象牙細管が封鎖され細管内液が停滞し、レジン下象牙質での生理的石灰化が抑制された、
- 細管が封鎖されていない健全象牙質では生理的石灰化が充進したために硬さが増加し、変色部よりも硬さが高くなった、
- 象牙質の変色は、レジン修復材料に含有される Si が遊離してレジン下の象牙質に沈着し、その Si の変色に起因する、と推測した。

象牙質の構成成分および微細構造が機械的性質に及ぼす影響

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⁾大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻

○武田 侑子¹, 古谷 優¹, 石本 卓也², 中野 貴由², 林 美加子¹

Effects of Micro Structures and Components of Human Dentin on the Mechanical Properties

¹⁾Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology

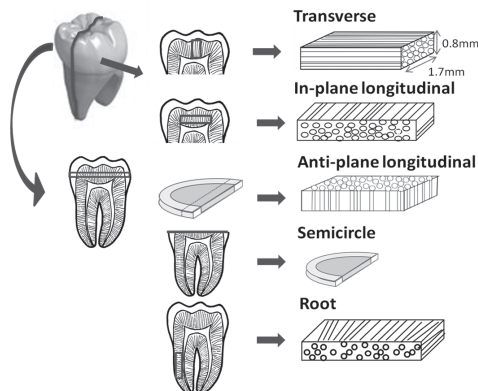
²⁾Osaka University Graduate School of Engineering, Division of Materials and Manufacturing Science

○Yuko TAKEDA¹, Yu FURUYA¹, Takuya ISHIMOTO², Takayoshi NAKANO², Mikako HAYASHI¹

【研究目的】日常の歯科臨床で遭遇する歯の破折は早急に解決すべき問題である。これまでに歯の機械的強度については象牙細管数や石灰化度、また象牙細管の走行方向や乾燥に代表される環境要因など、それぞれについて検討がなされてきたが、象牙質の構成成分や微細構造が機械的強度に及ぼす影響について詳細かつ包括的に分析した研究は見当たらない。本研究は、象牙質の構成成分および微細構造における個体差の検討、ならびにそれらが機械的強度に及ぼす影響を検討することを目的としている。

【材料および方法】

歯の履歴 (年齢, 性別, 歯種, 機能の有無) が明らかでない、う蝕および破折のないヒト抜去大臼歯 10 歯より低速精密切断器 (ISOMET, BUEHLER, IL, USA) および回転研磨器 (ECOMET III, BUEHLER) を用いて、1 歯につき歯冠部より棒状試料および半円状試料を、また歯根部より棒状試料を採取した (右図)。歯冠部棒状試料は、 $0.8 \times 1.7 \times 8.0 \text{ mm}$ で象牙細管の走行方向が異なるものを 3 種類作製し、歯根部棒状試料は、 $0.8 \times 1.4 \times 5.0 \text{ mm}$ で試料の長軸を歯軸方向とした。半円状試料の厚みは 0.8 mm とし、歯軸に垂直に切り出した。曲げ強さの評価では、棒状試料を万能機械強度試験機



(AUTOGRAPH AG-IS, 島津製作所, 京都) による 3 点曲げ試験に供した。微小領域での機械的強度はナノインデンテーションによって評価した。ベルコピッチチップを装着した微小押し込み強度試験器 (ENT-1100a, ELIONIX, 東京) を用いて、半円状試料の管間象牙質、管周象牙質のそれぞれの弾性係数を、室温大気中で押し込み加重 1 mN 、荷重保持時間 180 秒の条件で測定した。さらに、ハイドロキシアパタイトの密度の違いを、棒状試料を用いて末梢骨用定量的 CT (XCT Research SA, Stratec Medizintechnik GmbH, Germany, 以下 pQCT) で CT スピード 10.0 mm/sec 、ボクセルサイズ 0.08 mm の条件下で評価した。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】

3 点曲げ試験の結果より、歯冠部象牙質の曲げ強さは歯根部と比較して有意に大きいことが分かった。すべての棒状試料において、機能歯は非機能歯と比較して曲げ強さが大きくなる傾向にあった。ナノインデンテーションの結果より、管周象牙質の弾性係数は管間象牙質と比較して約 1.5 倍大きい値を示した。機能歯と非機能歯の間に明らかな違いは認められなかった。また、管間象牙質においては年齢による差異は認められなかった。pQCT の結果より、歯冠部象牙質におけるハイドロキシアパタイトの密度は平均 $1378 \pm 28 \text{ mg/cm}^3$ で年齢が大きくなるにつれ密度が高くなる傾向にあることがわかった。

以上の結果より、年齢や機能の有無などに代表される履歴、が象牙質の機械的強度に影響を及ぼす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 (基盤研究(B)22390358, 挑戦的萌芽 23659888) の補助の下に行われた。)

Effect of smear produced with a resin fiber bur on *in vitro* permeability of human dentin

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

口腔生物学講座歯内歯周治療学分野²

○石幡浩志²、兼平正史¹、ボレイク ネザール²、FINGER WJ¹、島内英俊²、小松正志¹

Effect of smear produced with a resin fiber bur on *in vitro* permeability of human dentin

Division of Operative Dentistry Department of Restorative Dentistry¹, Division of Periodontology and Endodontology², Tohoku University Graduate School of Dentistry

OISHIHATA Hiroshi², KANEHIRA Masafumi¹, BOREAK M Nezar², FINGER Werner J.¹, SHIMAUCHI Hidetoshi², KOMATSU Masashi¹

[Introduction]

Dentinal hypersensitivity (DH) is related to orally open dental tubules, resulting from enamel loss or root surface exposure. According to the hydrodynamic theory of Brännström (1967), DH is caused by rapid movement of dentinal fluid within the patent tubules upon stimulation, which exerts mechanoreceptor nerves, and thus elicits pain. Therefore, the logical treatment regimen is to obstruct the oral openings of tubules. Apart from many topical professional and OTC treatments described, another reasonable approach is to establish a dense smear layer on the dentin surface, that might serve as a mechanical barrier. Recently, new resin fiber burs (Stainbuster; STB) were introduced to the dental market with the primary purpose to remove superficial stains from enamel. Additionally, such instruments are suitable for removal of calculus from the root surface. Due to exposure of the burs' glass fiber ends on the working surface a slight sanding effect is obtained. Superficial dentin is abraded while simultaneously the burs are sharpened as the peripheral glass ends are fractured and new cutting edges are exposed.

The aim of the present *in vitro* permeability study was therefore to investigate the potential of resin fiber bur treatment to occlude tubules exposed on dentin slabs and thus to change permeability, using a chemiluminescence method (Ishihata et al. 2009).

[Material and Method]

The permeability of dentin slices, cut from crowns of human third molars, was determined using a split-chamber device. Activator fluid crossing through the dentin disc from the apical side produces a photochemical signal upon contact with the luminol-containing reagent at the opposite side of the specimen. This light signal is proportional to the liquid flow during pressurizing cycles with 2.5 kPa for 2 minutes and with 13 kPa for 1 minute, respectively. Twenty specimens were investigated after EDTA treatment for removal of cutting smear (Baseline; BAL), and after soaking in protein solution (Albumin; ALB). Then, 10 specimens were burnished with STB and the other 10 specimens remained untreated as control (CTR). Permeability was determined immediately and after 1 week of storage in PBS. Statistical data treatment: two-way ANOVA and post-hoc testing ($p < 0.05$).

[Results]

The permeability of the 20 specimens at BAL and after ALB soaking was not significantly different at the two pressurizing regimens, respectively. Dentin permeability determined immediately and after one week was significantly reduced in the STB group by approximately 90%; the CTR slabs' permeability at the two measuring stages was not significantly different from BAL and ALB soaking.

[Discussion]

Apparently the smear layer and the smear plugs produced by STB abrasion were very dense and stable even after storage in PBS for one week. Although the plugs did not entirely obstruct the tubules, as indicated by the small remaining permeability, clinically gross relief of hypersensitivity can be expected, since the fluid flow inside the tubules is reasonably described by Hagen-Poiseuille's law, whereby the volume of a fluid passing per unit time through a capillary tube is directly proportional to the pressure difference between its ends and to the fourth power of its internal radius, and inversely proportional to its length and to the viscosity of the fluid. Ongoing studies focus on the durability of smear plugs' sealing, simulating exposure to clinically encountered challenges. A clinical trial is in progress.

人工エナメル質裂溝に対する S-PRG フィラー含有シーラント材の脱灰抑制効果

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 保存修復学分野
○長谷川晴彦, 向井義晴, 飯塚純子, 寺中敏夫

Anti-demineralization effect of a S-PRG filler containing sealant on artificial enamel groove
Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine, Kanagawa Dental College
○HASEGAWA Haruhiko, MUKAI Yoshiharu, IIZUKA Junko, TERANAKA Toshio

【研究目的】 S-PRG (surface pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、フッ化物のリリース能とリチャージ能など様々な特徴を有しており、齲蝕予防を目的としてコンポジットレジンなどに広く使用され、脱灰抑制やフッ化物放出量など様々な研究が報告がされている。しかしながら、裂溝という特徴的な形態を有する部位に対しての脱灰抑制に関しては詳細な検討はなされていない。そこで今回我々は、S-PGR フィラー含有光重合型レジン系シーラントをウシエナメル質に作製した人工裂溝に充填し、*in vitro* で脱灰試験を行うことにより、近接裂溝に対する脱灰抑制能を検討した。

【材料及び方法】 試料の作製は Zaura らの報告 (Eur J Oral Sci, 455-460, 107, 1999) を参考に行った。すなわち、ウシのエナメル質を電動ドリルにて直径 5mm のディスク状に切り出し、耐水研磨紙(#1500)にて研磨後、裂溝以外の部位が脱灰されないようにするために表面をフッ化物非含有ボンディング材でコーティングした。その後、各試料面にワイヤー式精密切断機 (Well 3242, Walter Ebner, Germany) にて幅 250 μm 、深さ約 500 μm の人工裂溝を 1 mm 間隔で 3 本作製した。次いで 3 本の溝のうち、片端の溝に各フィッシャーシーラント材を充填し、光重合した。群は以下の 4 群とした。(1)Cont 群：パルフィークライトシーラント(フッ化物非含有, トクヤマデンタル), (2)BTS 群：ビューティシーラント (松風), (3)FL 群：Fuji III LC (GC), (4)TMT 群：ティースメイト F1 2.0 (クラレメディカル)。試料数は各群 n=6 とした。シーラントを充填したエナメル質試片を pH4.6 の 0.1mol/L 乳酸ゲル中に 37°C で 10 日間浸漬後、脱水、包埋し、厚さ 150 μm の薄片を切り出し、TMR 撮影(PW3830, 管電圧 25 kV, 管電流 15mA, 照射時間 20分)を行い、分析用ソフト(TMR2000)を用いてミネラルプロファイルを作製した。なお、充填裂溝に近い裂溝を groove-1、離れた裂溝を groove-2 とし、また試料表面から 200 μm の深度までの裂溝入り口付近を shallow エリア、それよりも深部 200 μm を deep エリアとしミネラル喪失量を測定した (図)。統計分析は Games-Howell ならびに Mann-Whitney 検定を用い有意水準 5%にて行った。

【結果】 各材料とも groove-1 と groove-2 の比較では shallow および deep エリアともにミネラル喪失量の有意な差は確認されなかった。一方、shallow エリアと deep エリアの比較では Cont 群と TMT 群において shallow エリアのミネラル喪失量は有意に大きくなった。groove-1, groove-2 ともに shallow エリアでは BTS 群が Cont 群, TMT 群に比較し有意に小さなミネラル喪失量を示したが、deep エリアではこれら 3 群間に有意差は確認できなかった。また deep エリアにおいては BTS 群と FL 群の間には有意差は確認できなかった。

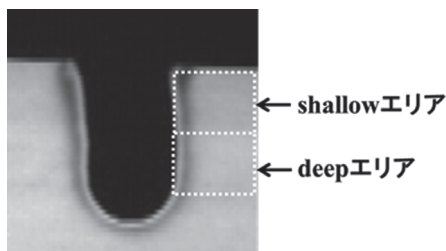


図. BTS 群の TMR 画像

【考察】 S-PRG フィラーを含んだビューティシーラントは人工エナメル質裂溝に対しグラスアイオノマー系である Fuji III LC とほぼ同様の脱灰抑制効果を示すことが確認された。本結果はフィラーから徐放されるフッ化物イオンおよびストロンチウムイオン等によりもたらされている可能性が考えられた。一方、裂溝深部では材料間で特徴的な差が認められなかったという結果は、裂溝深部までこれらイオンが届きにくい可能性も示唆している。さらに、すべての群で groove-1 と groove-2 の間で有意差が見られなかった。これは、本実験の groove-1 と 2 の距離の範囲ではフッ化物をはじめとするイオンが同濃度に拡散していることを意味していると考えられた。

【結論】

ビューティシーラントは比較的離れた裂溝に対しても十分な脱灰抑制効果が得られると考えられる。

エナメル質に成膜したシリカ薄膜の耐久性

神奈川県立歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野¹,
コンタミネーション・コントロール・サービス²

○田中隆博¹, 山口益司¹, 進藤豊彦², 寺中敏夫¹

Durability of silica film coating on enamel surface

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

Contamination Control Services²

○TANAKA Takahiro¹, YAMAGUCHI Masuji¹, SHINDO Toyohiko², TERANAKA Toshio¹

【研究目的】

エナメル質の抗蝕性を向上させることは蝕歯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することが可能であり、表面を単に被覆するだけでなく、優れた耐摩耗性や耐酸性を母材のウシエナメル質に付与できるような機能的シリカ薄膜コーティングが可能であると報告した。

本研究では、さらに口腔内の過酷な環境下での応用を想定し、基材の熱膨縮に追従可能とされるハイブリッドシリカ膜でウシエナメル質を被覆してサーマルストレス試験を行い、本シリカ薄膜の耐久性を評価した。

【材料および方法】

ウシ歯冠部エナメル質 (7×7 mm) をレジンに包埋後、#600～#2,000 耐水研磨紙および 0.5 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。

1) コーティング・シリカ転化方法: エナメル質をリン酸エッチング (Scotchbond™ Etchant, 3M ESPE) を 5 秒間行い、水洗、乾燥した。次いで表面に PHPS を塗布、5 分間自然乾燥後、3% H₂O₂ を 40 μl 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。24 時間 37°C 精製水中保管後試験に供した。

2) サーマルストレス試験: 5°C および 55°C, 保持時間 40 秒のサーマルストレスを 5,000 回与えた。試験後のコーティング膜の評価は、フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR; AIM-8800, 島津製作所) を用い、サーマルストレス試験前後の、エナメル質上に成膜したコーティング膜を分析した。測定条件は、顕微反射測定法にてアパーチャーサイズ: 30×30 μm, 分解能: 4cm⁻¹, 積算回数: 100 にて行った。得られたスペクトルからシリカ膜の Si 化合物に帰属する 1270cm⁻¹, 1,150cm⁻¹ および 800cm⁻¹ 付近のピークを、G-コートについてはベースレジン中の C=O 伸縮振動に帰属する 1,720cm⁻¹ 付近のピークの有無、ならびに下地であるエナメル質の P-O に帰属する 1,100cm⁻¹ および C-O に帰属する 1,400～1,500cm⁻¹ のピークを検出することより、サーマルストレス試験後のエナメル質上に成膜した各コーティング材の残存状態を分析した。

【結果および考察】

サーマルストレス 5,000 回後のエナメル質上コーティング膜の FT-IR 分析の結果、シリカコーティングでは 1,270cm⁻¹, 1,150cm⁻¹ および 800cm⁻¹ 付近の Si 化合物に帰属するピークが認められ、シリカ膜がサーマルストレス試験前と同様にエナメル質上に残存していることが示された。しかしながら、G-コートでは 1,720cm⁻¹ 付近の C=O に帰属するピークは認められず、下地のエナメル質に起因する 1,100cm⁻¹ の P-O および 1,400～1,500cm⁻¹ 付近の C-O のピークが認められ、サーマルストレスにより G-コートは完全に剥離していることが示された。

以上の結果から、エナメル質上に成膜されたシリカ薄膜はサーマルストレスに対して優れた耐久性を有することが示された。

10%ウルトラリン酸ナトリウム水溶液の着色除去効果

¹⁾昭和大学歯学部保存学講座美容歯科, ²⁾リジェンティス株式会社

○小安正洋, 真鍋厚史, 柴肇一, 久光久

Effect of 10%Ultraphosphates on Teeth Whitening

¹⁾Department of Clinical Cariology and Division of Aesthetic Dentistry, Showa University, School of Dentistry, ²⁾RegeneTiss Incorporation

○KOYASU Masahiro¹⁾, MANABE Atsufumi¹⁾, SHIBA Toshikazu²⁾, HISAMITSU Hisashi¹⁾

【目的】「歯のホワイトニング」という言葉は広義として一般の人々にも認知されており歯の審美性を向上させる為にいまや欠かせない治療となっている。漂白剤の濃度を低下させた製品も登場しているが、依然副作用として知覚過敏等の症状が認められる事が報告されている。近年、安全性が高い短鎖ポリリン酸を用いたホワイトニング法が注目されてきており、現在ポリリン酸を使用したオーラルケア製品も市販されている。ポリリン酸は(H_{n+2}P_{3n+1}O_{3n+1})という一般式をもつ化合物で、リン酸が数個から数千個直鎖状に重合し、あらゆる生物の細胞内および組織内に存在する生体分子である。さらに食品にも添加されており、その安全性が確保されている。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。今回、我々はポリリン酸の中でも、リン酸が網目状に重合した電荷密度の高いポリマーであるウルトラリン酸ナトリウムに注目し、優れたステイン除去、着色防止効果を期待している。

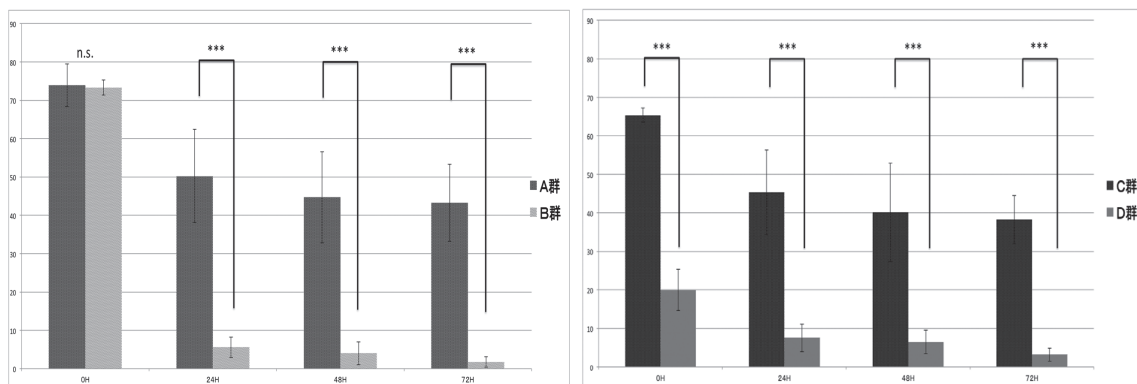
本実験の目的は、ガラスイオノマーセメントの試片を用い、人工的に着色させた時のウルトラリン酸ナトリウム水溶液(10%, pH6.8)による脱色効果および着色防止効果の比較検討することである。

【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。練板上にモールドを設置し、ガラス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秒練後、充填、プレパレートにて5分間圧接をし、硬化制作した。試片はモールドから外した後、蒸留水内に常温下(20°C)にて、24時間浸漬した。その後、分離剤除去の為中性洗剤にて洗浄後、#220の耐水ペーパーにて両面研磨、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、市販のインスタントコーヒー(NESCAFE GOLDBLEND/ネスレ日本株式会社)に粉1gに100°Cのお湯14mgにてコーヒー水溶液を完成させ、パーソナルインキュベーターPIC-100(株式会社アズワン)内で37°C、72時間着色させた後、乾燥させた。実験条件は常温下(20°C)において、以下の通りである。

- A群: ミネラルウォーター(HAWAII water/株式会社トール)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: 10%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: コーヒー着色後、10秒間水洗したのちミネラルウォーターに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
D群: 10%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、コーヒーに着色。10秒間水洗した後、ミネラルウォーターに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

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^*ab を算出し、A群とB群およびC群とD群の比較検討を行った。

【結果および考察】



A群とB群の色差 ΔE^*ab の比較において、0時間において優位差を認めなかったが(n.s.), 24時間、48時間、72時間において有意差を認めた。またC群とD群の ΔE^*ab の比較では全ての時間において有意差を認めた。(n=10, Student's t test, ***= $p < 0.001$)

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
— 顕微ラマン分光法による表層下脱灰病巣へ侵入した唾液構成成分の解析 —

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 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

- Analysis of the saliva components infiltrated in the enamel subsurface lesions by raman microscopy -

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材の有効性を検討してきた。135回本学術大会においては、表層下脱灰病巣には選択的に唾液タンパク質が結合し、代表的なオフィスブリーチング材である HiLite (松風) を作用させると、ハイドロキシアパタイトの結晶伸長が阻害されると報告される statherin 等のタンパク質が断片化されることを報告した。そこで本研究では非破壊的に微小な領域の分子や結晶の情報を得ることができる顕微ラマン分光法を用いて、表層下脱灰病巣に侵入した唾液構成成分を解析し検討した。

【材料および方法】

ウシ下顎中切歯よりエナメル質片を直径 5 mm の円柱状に切り出し、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 2×3 mm に規定し、エナメル質片を脱灰溶液 (0.1M lactic-acid, 8 % methylcellulose, pH 4.6) に 37°C で 10 日間浸漬し表層下脱灰病巣を作製した。試料は以下に示す 3 群に分けた。1) control 群: エナメル質表層下脱灰病巣作製のみ。2) Saliva 群: control 群と同様に病巣を作製した後、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。3) HiLite 群: 同様に病巣を作製後、安静時唾液に浸漬した。その後、HiLite を 3 回を 1 set とし 2 set 処理した。各群の試料は、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脱イオン水にて洗浄、自然乾燥の後、顕微ラマン分光光度計 (Nicolet Almega XR, Thermo Fisher scientific) を用いて比較検討した。測定条件は励起波長 780 nm, 露光時間 10 秒, 露光回数 10 回, 出力レベル 10 mW, アパーチャ 50 μm, グレーティング 360 lines/mm とした。

【結果】

表層方向から分析した結果、3 群全てにおいて PO₄³⁻ のラマン散乱ピークである ν₁ (960 cm⁻¹ 付近), ν₂ (433 cm⁻¹ 付近), ν₄ (588 cm⁻¹ 付近), のピークが検出された。control 群と HiLite 群では、これらはほぼ同じ強度であった。また CO₃²⁻ のピーク (1070 cm⁻¹ 付近) も検出された。有機質由来と考えられる CH₂ wag (1460 cm⁻¹ 付近) のピークは、control 群, HiLite 群と比較し、Saliva 群で強く検出された。

【考察】

PO₄³⁻ のピークにおいて control 群, HiLite 群がほぼ同強度を示したことから、本実験における HiLite 処理が表層下脱灰病巣表層に与えるダメージは軽微なものと考えられた。また、有機質の指標ともいえる CH₂ wag が control 群, HiLite 群と比較し Saliva 群で大きく検出されたことから、唾液に浸漬することで表層下脱灰病巣中に唾液由来の有機質が侵入し、さらに HiLite 処理を施すことによりそれら有機質とミネラルの結合が解離されることが示唆された。

【結論】

唾液由来の有機質が侵入した表層下脱灰病巣に、オフィスブリーチング材である HiLite を適用することにより、有機質とミネラルの結合が分解されることが示唆されたことから、本方法をブラウンスポット等の着色エナメル質表層下脱灰病巣面に適用した場合には、審美性の回復も兼ねた効果的な再石灰化誘導手段となるものと考えられた。

低濃度過酸化水素剤での髓腔内漂白による漂白効果

東京歯科大学千葉病院総合診療科¹ 東京歯科大学歯科理工学講座²
○春山亜貴子¹、浅見政子¹、亀山敦史¹、小田 豊²、高瀬保晶¹

The effects of a bleaching agent with low-concentration hydrogen peroxide to pulp chamber dentin

Division of General Dentistry, Tokyo Dental College Chiba Hospital¹

Department of Dental Materials Science, Tokyo Dental College²

○Akiko Haruyama¹, Masako Asami¹, Atsushi Kameyama¹, Yutaka Oda², Yasuaki Takase¹

[研究目的]

無髄変色歯に低濃度の過酸化水素と二酸化チタンを含有する漂白剤を応用すると、漂白効果が得られることが報告されている。しかし、その髓腔内漂白による歯質の着色状態の変化についての知見は少ない。本研究では、着色牛歯歯冠を用い、髓腔内から漂白剤を応用した際の漂白効果と着色状態の変化を明らかにすることを目的とした。

[材料および方法]

ウシ抜去前歯をセメントエナメル境付近で分割し、歯冠を使用した。分割した歯冠をエポキシ樹脂に包埋し、唇側面のエナメル質を耐水研磨紙#1200まで研削した。次に、長軸方向に髓腔が露出するよう歯冠を二分した。この髓腔が露出した歯冠を着色液としてのコーヒーに37°Cで7日間浸漬し、着色歯を作製した。着色歯の研削したエナメル質面を色彩計(MCR-A; ラックオフィス)で測色し、CIEL*a*b*を計測した(漂白処理前)。

髓腔内に応用する漂白剤として、二酸化チタン含有低濃度過酸化水素剤(ピレーネ; 三菱ガス化学)を使用した。漂白剤を歯髄側象牙質面に塗布し、5、10、15、30、45および60分間光照射した。光照射器にはG-Light PrimaII(ジーシー)のPHモード(波長400±10nmと465±10nm、パワー密度1250mW/cm²)を用いた。各照射時間後、漂白剤を水で洗浄し、エナメル質側から漂白処理前と同様に色彩計を用いて測色した。着色歯からの漂白効果は、各処置時間での色彩(L_t、a_t、b_t)と漂白処置前の色彩(L₀、a₀、b₀)から下記の式より色差(ΔE*ab)を算出し評価した。

$$\Delta E^*ab = ([L_t - L_0]^2 + [a_t - a_0]^2 + [b_t - b_0]^2)^{1/2} \quad (t: \text{漂白処置時間})$$

各漂白処置時間での色差は一元配置分散分析(ANOVA)およびFisherの多重比較により統計処理を行った(α=0.05)。漂白処置歯の断面観察は、漂白歯を切断し、光学顕微鏡(VH-5000; キーエンス)を用いて、エナメル象牙質境付近の着色状態を観察した。なお、対照試料として、着色歯に30%過酸化水素水を同様に髓腔内に塗布し、37°Cで7日間静置し、低濃度過酸化水素剤での漂白処置歯と同様に観察を行った。

[成績および考察]

二酸化チタン含有低濃度過酸化水素剤にて漂白した場合、光照射時間が長くなると、L*値は増加、a*値およびb*値に大きな変化はなかった。図に色差(ΔE*ab)の変化を示す。光照射時間が長くなるに従ってそのΔE*ab値は増加し、照射時間が45分および60分では照射時間5分と比較して有意に高い値となった。断面観察では、漂白前に観察された象牙質内の着色が60分後には象牙質の厚みの半分程度ではあるが軽減した。一方、30%過酸化水素にて漂白した場合、目視で明瞭に確認できるほど白くなった。断面観察においても、象牙質内の着色は認められず、低濃度過酸化水素剤での漂白とは異なっていた。

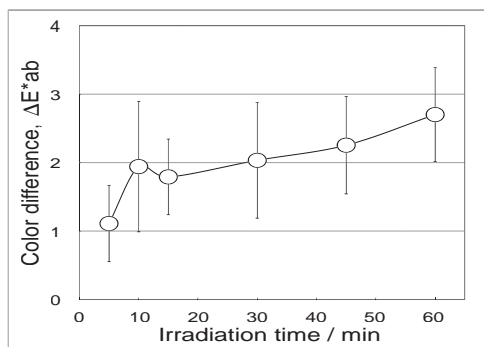


図 光照射時間と着色牛歯の色差(ΔE*ab)

本研究において、二酸化チタン含有低濃度過酸化水素剤では光照射時間による漂白効果に差が認められた。また、象牙質内の着色の軽減が色の変化として反映しているのではないかと推測された。

[結論]

二酸化チタン含有低濃度過酸化水素剤を着色歯に髓腔内から応用したところ、光照射時間が長くなるにつれて、経時的な漂白効果を認め、象牙質内の着色が軽減した。

漂白処置が既存のコンポジットレジン修復物の象牙質接着強さに与える影響

¹日本歯科大学新潟病院総合診療科

²日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

○関 秀明¹, 鈴木雅也², 加藤千景², 平 賢久¹, 海老原 隆¹, 新海航一²

Effect of bleaching on dentin bond strength of composite resin restoration

¹Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

²Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

○SEKI Hideaki¹, SUZUKI Masaya², KATO Chikage², TAIRA Yoshihisa¹,

EBIHARA Takashi¹, SHINKAI Koichi²

【研究目的】

近年、歯の色調改善を目的に漂白処置は日常の臨床で多く行われている。漂白処置後に既存のコンポジットレジン修復の色調が合わなくなった場合には、歯質の色調に合わせて再修復する必要が生まれる。その場合、審美的な部位のみの補修修復が選択されるケースも多い。漂白剤はエナメル質表面から象牙質に透過すると報告やコンポジットレジン修復物の表面の硬度を低下させるといった報告もあることから、修復物と歯質の界面（ボンディングレジンや樹脂含浸層）に何らかの影響を与えるものと推察される。これまで、漂白剤の歯質に及ぼす影響や漂白後の接着性レジンシステムの歯質接着性に関する研究は多数報告されているが、既存修復物に対する漂白剤の影響に関するものはほとんどない。本研究の目的は、コンポジットレジン修復歯を漂白した場合に、漂白剤が修復物の象牙質接着強さに及ぼす影響を明らかにすることである。

【材料および方法】

ヒト抜去大白歯の歯根を歯頸部で切断除去し、歯冠部を近遠心的に半切後、耐水研磨紙（#120~600）を用いて頬側面あるいは舌側面を平坦に研削し、象牙質被着面（各群につき5歯、n=10）を形成した。被着面にアクリルチューブ（内径3mm、高さ3mm）を固定後、クリアフィルムメガボンド（クラレメディカル）にてメーカー指示に従い接着処理を行い、クリアフィルマジスティLV（クラレメディカル）を約1mm充填し20秒間光照射、次いでクリアフィルマジスティ（クラレメディカル）を約2mm積層し40秒間光照射を行った。被着面以外の象牙質をプロテクトバーニッシュとネイルエナメルを塗布して封鎖した。試料を恒温恒湿器中（37℃、湿度95%）に24時間保管後アクリルチューブを撤去した。漂白処理は、Group 1：松風ハイライト（松風、2週間で3回/日を6日）、Group 2：ピレーネ（三菱ガス化学、2週間で3回/日を6日）、Group 3：オパールエッセンス（ウルトラドント、2時間/日を14日）、Group 3：オパールエッセンス（8時間/日を14日）、Control Group：漂白なしとした（各n=10）。小型卓上試験機EZ Test 500N（Shimadzu, Japan）にてクロスヘッドスピード1mm/minで剪断接着試験を行った。また接着試験測定後の破断試片について、その破断様式の観察を行った。結果はANOVAとTukey HSD検定による統計学的解析を行った（p<0.05）。（本学倫理審査委員会、許可番号ECNG-H-88）

【成績と考察】

剪断接着試験の各群のデータ：mean±SD（MPa）は、G1：21.7±6.0、G2：25.0±4.7、G3：24.1±2.7、G4：22.0±4.8、Cont：25.9±4.9であり、実験群間に統計学的有意差を認めなかった。破断様式はすべての実験群で象牙質の凝集破壊が多数を占めた。

統計学的有意差は認められなかったが、コントロールと比較してG1とG4は接着強さが低下する傾向がみられ、漂白剤が象牙質および接着界面に与える影響については今後も更なる検討が必要と思われる。

【まとめ】

剪断接着試験により検討した結果、本研究で使用した漂白剤は、既存コンポジットレジン修復物の象牙質接着強さに影響を与えなかった。

極薄フレキシブルアパタイトシートによるエナメル質の修復と審美

近畿大学大学院生物理工学研究科¹, 大阪歯科大学歯科保存学講座²
○本津茂樹¹, 松田太陽¹, 岩城有晃¹, 西川博昭¹, 吉川一志², 山本一世²

Regeneration and esthetics of enamel by the very thin flexible hydroxyapatite sheet

¹ Graduate School of Biology-Oriented Science and Technology, Kinki University

² Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○S. Hontsu¹, T. Matsuda¹, A. Iwaki¹, H. Nishikawa¹, K. Yoshikawa² and K. Yamamoto²

【緒言】

加齢による歯質の着色や、テトラサイクリン変色歯やその他の薬剤の服用による歯の変色、またエナメル質形成不全症でエナメル質形成に異常のある人や、過度の歯磨きや咬合による摩耗症や咬耗症によるエナメル質喪失の患者も多く見られる。このような中で、エナメル質を形成するエナメル芽細胞は歯の萌出時にはすでに存在しないため、一度失ったエナメル質は二度と再生されることはない。また、エナメル質の主成分であるハイドロキシアパタイト(以下 HAp)の粉末をエナメル質表面に固着させて修復しようとしても、面粗度が大きいために固着修復することは困難である。そのために、エナメル質の修復と審美にはレジン塗布法や、セラミックスまたは硬質レジンの厚い板(ラミネートベニア)を歯表面に貼り付ける方法に頼ってきた。しかしながら、これらの方法は HAp そのものによるエナメル質の再生ではなく、前者はレジンの剥離の問題や色調安定性の問題があり、後者では健康なエナメル質表層を厚く削除しなければならないこと、さらには接着耐久性に問題があった。そこで、本研究では我々が新しく開発したエナメル質と同じ素材の極薄フレキシブル審美 HAp シートを用いて、エナメル質の修復と同時に審美も可能とする新規な治療法を提案する。

【材料および方法】

レーザーアブレーション(PLD)法により、NaCl 単結晶基板にHAp膜を4 μ m成膜した。その後、試料を純水に浸漬してNaCl基板を溶解させることにより、HAp膜のみをシートとして回収した。このHApシートを500 $^{\circ}$ Cで4時間、ポストアニールすることにより着色と結晶化を行った。その後、エナメル質との固着を促進するため、PLD法によりHApシート上に非晶質TCP薄膜を400nm成膜してHAp/TCP複合シートとした。このHAp/TCP複合シートをpH5.5の第一リン酸カルシウム水溶液を用いて変色モデル抜去ヒト歯のエナメル質上に貼付し、複合シートとエナメル質の界面を一度溶解させた後、人工唾液を滴下してシートとエナメル質の界面を再石灰化することによりシートをエナメル質表面に固着させた。固着特性の評価はX線回折法を用いた。また、審美効果はHApシートのエナメル質貼付前後(重ね貼りも含む)の歯の色調を歯科用分光測色計(シェードアイ:松風)で測定し、Vita Shadeでの明度の変化から評価した。

【結果】

作製した審美極薄 HAp シートは、図1の光学写真に示すように乳濁色をしていた。このシートを歯科用分光測色計で測定した結果が V.Classical=A2*(Shade=+2.5, Value=+2, Huo=R1)の変色モデル抜去ヒト歯のエナメル質上[図 2(a)]に貼付した。この時の明度の測定結果は、V.Classical=A2*(Shade=+2.0, Value=+2, Huo=R1)であった。さらにその上にシート 1 枚を貼付した[図 2(b)]。この場合の明度の測定結果は、V.Classical=A1**(Shade=+1.5, Value=+2, Huo=R2)となった。また、X線回折パターンよりシートは約1日でエナメル質に固着することが分かった。

【考察】

極薄HApシートは全く新しい素材であり、柔軟性を持ち、エナメル質と同素材であるため安全で優れた生体適合性を備えている。本研究ではこのシートを結晶化する過程で着色し、これを審美シートとして用いることでエナメル質の修復と審美を同時に行うことを試みた。その結果、シートはエナメル質に約1日で固着し、同時にエナメル質の明度も改善できることを確認した。このような極薄フレキシブルHApシートによる審美修復は、レジンを使う治療と異なり低侵襲で早期から自己組織化の歯の再生を促すことから患者の負担を大幅に軽減できると考えられる。

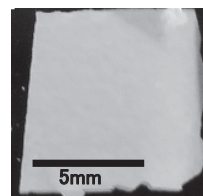


図1. 極薄審美 HAp シート

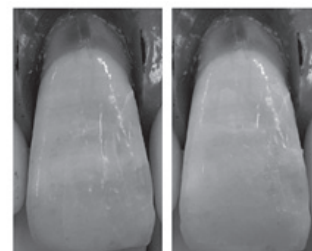


図2. HAp/TCP 複合シート貼付前後のエナメル質の光学写真
(a)貼付前 (b)複合シート 2枚貼付後

アナターゼ型二酸化チタンの光触媒作用の解析(第6報)

○大石真太郎¹ 佐藤将洋¹ 安西正明¹ 内田啓一² 音琴淳一³ 山本昭夫¹ 笠原悦男¹
松本歯科大学歯科保存学第2講座¹
松本歯科大学歯科放射線学講座²
松本歯科大学大学院健康増進口腔科学講座³

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

Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University

○Oishi Shintaro, Sato Masahiro, Annzai Masaaki, Keiichi Uchida, Junichi Otogoto, Yamamoto Akio,
Kasahara Etsuo

[目的]

光触媒作用を有する二酸化チタン(TiO₂)は、紫外線部波長の光を照射することにより活性酸素やOHラジカルなどが発生する。これらのラジカルは消毒や殺菌作用を示し、また、有機物を主体とした汚染物質や臭いの成分(主として有機化合物)を炭酸ガスと水などに酸化分解する作用を有する。

ST-01は、アナターゼ型TiO₂であり粒子径が非常に小さく、通常サイズのアナターゼ型TiO₂と比較して強力な光触媒作用を有する。我々は、ST-01の光触媒作用の解析を第130, 131, 132, 133, 134回の本学会で報告してきた。今回、ヒドロキシアパタイトのカルシウムの一部をチタンに置き換えた(Ca:Ti=9:1)PHOTOHAP PCAP-100(太平化学産業 大阪)の歯科領域での応用を踏まえて光触媒作用を解析した。

[方法]

材料は、太平化学産業株式会社のPHOTOHAP PCAP-100を使用した。一方、比較検討するため対照とし石原産業のSTシリーズであるST-01を用いた。

粒子形状を見るために透過型電子顕微鏡(TEM:H-7600)を用いた。原料や製法によって結晶構造や結晶性が異なるため、X線回折装置(XRD)を用いて結晶構造を調べた。光触媒作用の解析は、試料1mgを1.5mlセミマイクロキュベットに採取し、メチレンブルー(MB)溶液1mlを入れ、さらに1時間37°Cのインキュベーターに安置(遮光)後、パラフィルムでシールしトランスイルミネーター(transilluminator model TSL-20)を使用し365nm 10,000mW/cm²の光を照射しMBの退色変化を測定した。また、照射せずに経過時間を追ってMBの退色変化を測定した。MBの吸光度は、668nmを測定し、統計処理にStudent's t-testを用いて、有意水準0.5%と0.01%で検討した。

[結果および考察]

・透過型電子顕微鏡:ST-01は粒子径が約7nmである。また、比較的分散している。PHOTOHAP PCAP-100粒子径が小さいが、粒子一つ一つが凝集している。

・光触媒作用の解析:光照射後、PHOTOHAP PCAP-100は、ST-01と比較し有意にメチレンブルーの吸光度を低下させた。一方、PHOTOHAP PCAP-100は、光照射なしでも吸光度を低下させた。

以上の結果より、ST-01よりPHOTOHAP PCAP-100の方が、より強くメチレンブルーを脱色させることが示された。しかし光触媒作用による色素分解と化学的色素吸着の両方が作用している。PCAP-100は微粒子であるが、活性炭のような細孔が無いため、化学吸着によるものであると思われる。この化学的吸着能は歯科領域において、歯牙漂白以外にステイン除去、プラーク除去等に應用可能であると思われる。

[結論]

PHOTOHAP PCAP-100は、光触媒作用による色素分解能と化学的色素吸着能を有する。

可視光応答型アパタイト光触媒の創製

— $\text{Ca}_8\text{X}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$ の光触媒能—

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野

○亀水秀男, 駒田裕子, 土井 豊

Development of visible-light activated apatite photocatalyst

- Photocatalytic activity of $\text{Ca}_8\text{X}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$ -

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

○KAMEMIZU Hideo, KOMADA Yuko, DOI Yutaka

【研究目的】

ハイドロキシアパタイト (HAP) をはじめ、炭酸アパタイト (CAP), オキシアパタイト (OAP) などのリン酸カルシウム系化合物は生体適合性に優れた歯科・生体材料である。これらのアパタイトに活性酸素を発生または含有させることによって殺菌・抗菌性も期待できる。われわれは、活性酸素発生・含有アパタイトの開発を目的として研究を行ってきた。これまで、アパタイト中に活性酸素を取り込む合成法や処理法では、殺菌・抗菌性が発現しにくいことがわかっている。そこで、アパタイト自体に可視光でも応答する光触媒能を付加させ、光照射によって大量に活性酸素を発生させる、いわゆる新規アパタイト光触媒の創製を試みた。この研究では、オキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$) のカルシウムの一部をランタノイド系の元素に置換したオキシアパタイト ($\text{Ca}_8\text{X}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$) の合成を試み、合成物の可視光に対する光触媒能について検討した。

【材料および方法】

1. ランタノイド系オキシアパタイト ($\text{Ca}_8\text{X}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$) の合成

光触媒能を付加させる方法として、ランタノイド系の元素 (La: ランタン, Sm: サマリウム, Nd: ネオジウム, Yb: イッテリビウム) に着目し、それらの3価イオンでCa IIサイトの2価イオンを一部置換したオキシアパタイト ($\text{Ca}_8\text{X}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$) の合成を試みた。合成は乾式法により行った。すなわち、ピロリン酸カルシウム ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), 炭酸カルシウム (CaCO_3), 各ランタノイド系の酸化物 (La_2O_3 , Sm_2O_3 , Nd_2O_3 , Yb_2O_3) を混合し、大気中にて $1,000\sim 1,600^\circ\text{C}$, 4時間加熱して合成した。合成物の同定とキャラクタリゼーションは、粉末X線回折 (XRD), 電子スピン共鳴分析 (ESR) により行った。

2. 合成物の光触媒能

合成物の可視光に対する光触媒能を検討するために白色光 (ハロゲン光) による色素分解実験を行った。すなわち、250mg 合成粉末を10ml メチレンブルー水溶液 (濃度: 10ppm) の入ったガラス瓶に投入した後、ハロゲンランプ (PLH-75) により光照射を行った。各時間 (5~60 分間) 照射後、メチレンブルー水溶液の濃度を測定し、照射時間と色素分解能との関係を調べた。なお、濃度測定には、紫外可視分光光度計 (UV-1800) を用いた。各照射時間に対して5回測定し、各々の濃度の平均値を求めた。有意差検定は、一元配置分散分析と多重比較検定により行った。

【結果および考察】

今回の合成条件下で生成した化合物種は、加熱温度によって異なった。イッテリビウム元素を除いて適切な加熱温度でオキシアパタイト ($\text{Ca}_8\text{X}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$) が生成し、それらは光触媒能を示した。また、オキシアパタイト以外の生成化合物にも光触媒能を示すものがあった。図1にLa-OAP ($\text{Ca}_8\text{La}_2(\text{PO}_4)_6\text{O}_2$) のハロゲン光による色素分解能を示す。光照射25分間でメチレンブルー水溶液はほとんど透明になった。特に、La-OAPは、可視光に対して高度な光触媒能を示すことがわかった。今後は、オキシアパタイト光触媒の殺菌・抗菌性について検討していく。

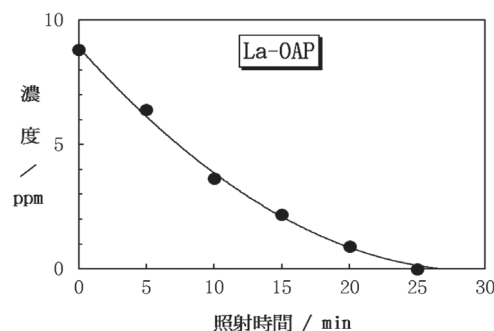


図1 La-OAP の色素分解能

新規 LED 光照射器についての研究
-コンポジットレジンの光重合性に与える影響-

大阪歯科大学歯科保存学講座

○黄地智子, 初岡昌憲, 恩田康平, 藤田昌弘, 白石充, 津谷佳代, 山本一世

Study on newly LED curing light unit

- Influence on photo polymerization of composite resin-

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○OUCHI Satoko, HATSUOKA Yoshinori, ONDA Kohei, FUJITA Masahiro,
SHIRAIISHI Mitsuru, TSUTANI Kayo, YAMAMOTO Kazuyo.

【目的】

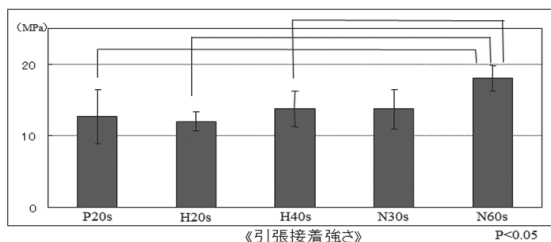
近年,MI という考えが歯科医師の間で浸透しつつあり,II 級窩洞であってもコンポジットレジン(以下 CR)修復を行う機会も増えている.しかし II 級窩洞となると,従来の光照射器ではヘッド部が大きく,窩底(特に歯肉壁)までヘッドを近接させることが困難であり,多少なりとも長くなってしまいう照射距離の影響は無視できない.今回,ヘッドが小さく(直径 2.1mm)窩洞の奥まで近接させて光照射を行うことができる新規 LED 光照射器(以下,MI ヘッド)がモリタから開発された.そこで,従来型 LED 光照射器のペンキュア(モリタ)と MI ヘッドを比較して,CR 修復における照射距離がどのような影響を与えるかについて検討を行った.

【材料及び方法】

抜去牛歯の象牙質被着面をモデルトリマー及び耐水研磨紙で作成し,被着面積を直径 3mm に規定した.その後被着面に直径 3mm,高さ 2mm の治具を取り付け,その周りを被着面から高さ 6mm となるよう金属性の治具で覆った.メガボンド(クラレメディカル)を用いて製造者指示に従い歯面処理後,6mm の治具上からペンキュアにて 10 秒光照射を行った.その後クリアフィルマジスティ LV(クラレメディカル,シェード A3)を治具の高さ 2mm まで充填し,6mm の高さから①ペンキュア 20 秒(以下 P20s), 6mm の治具内に MI ヘッドを挿入し充填面に近接させ②ハイパワー-20 秒(以下 H20s),③ハイパワー-40 秒(以下 H40s),④ノーマルパワー-30 秒(以下 N30s),⑤ノーマルパワー-60 秒(以下 N60s)の 5 条件で光照射を行った. 24 時間 37°C 水中保管した後,万能試験機 (IM-20 INTESCO) を用いて CHS0.3mm/min にて引張接着強さを測定し,走査型電子顕微鏡(JSM-5610LU, Jeol)を用いて引張破断面の観察をおこなった.各照射条件につき 8 試料とした.なお統計処理は,一元配置分散分析および Tukey の検定を行った.

【結果】

結果を図に示す.



	P20s	H20s	H40s	N30s	N60s
CR凝集破壊		5	2	5	3
ボンディング凝集破壊		3	3	3	
混合破壊	8		1		2
象牙質凝集破壊			2		3

《接着破断面》

【考察】

P20s と比較して N60s は有意に高い接着強さを認めた.これは照射時間が長くなったことにより CR が十分に重合されたと考えられる.また MI ヘッドの照射野よりも大きい直径 3mm の被着面では,光が被着面全体まで行き届かなく CR の重合不足が生じ,P20s と有意差が認められなかったと考えられる.接着破断面の観察で,MI ヘッドでは CR 凝集破壊が多く認められた.このことから CR の重合の不十分は示唆される.しかし照射時間が延びれば象牙質凝集破壊が認められるようになり,CR が十分に重合されたと考えられる.これらのことより,MI ヘッドは長い照射時間が必要と考えられる.

【結論】

先端が細く窩洞深くまで挿入できる MI ヘッドは,今後照射光の方向性を改良していく予定である.

各種光照射器用ラジオメーター間の測定値の比較

東京歯科大学千葉病院総合診療科

○亀山敦史, 春山亜貴子, 浅見政子, 杉山利子, 野呂明夫, 近藤祥弘, 杉戸博記, 高瀬保晶

Inter-brand discrepancy of the light intensity among five commercial dental radiometers

Division of General Dentistry, Tokyo Dental College Chiba Hospital

○Atsushi Kameyama, Akiko Haruyama, Masako Asami, Toshiko Sugiyama,
Akio Noro, Yoshihiro Kondoh, Hiroki Sugito, Yasuaki Takase

【研究目的】

光重合型歯科用材料を用いるにあたっては、十分な光強度を常に供給できる光源を準備しておくことが求められる。頻回の使用による光源の劣化やライトプローブの汚染は光強度を減弱させるため、術前に歯科用のラジオメーターで十分な光強度が得られているか否かをチェックすることが推奨されている。一般に、歯科用ラジオメーターは紫～青色の波長に反応するが、その感受波長域は各種製品によって若干異なる。またこれらの製品の多くはキャリブレーション機能を有していないため、同じ光源を用いた場合でもラジオメーターによって測定値が異なる可能性がある。

本研究では、各種市販歯科用ラジオメーターを用いて各製品間による光強度測定値の相違を調査した。

【材料および方法】

本研究に用いた歯科用ラジオメーターは、bluephase meter (BPM; Ivoclar Vivadent), Cure Rite (Cure Rite; Dentsply Caulk), Model 100 Optilux Radiometer (Dem-100; SDS Kerr), Demetron L.E.D. Radiometer (Dem-LED; SDS Kerr), Curing Lightmeter 105 (CL105; Rolence Enterprise) の5機種である。また、市販のハロゲン系光照射器2機種、LED系光照射器3機種を用い、合計10パターンの照射モードを光源として設定した。これらの光源のパワー密度を各種ラジオメーターで測定し、表示されたピーク値を記録した。なお、測定は各群で5回ずつ、ランダムに行った。

【結果および考察】

Dem-100とDem-LEDで測定した場合、ハロゲン系照射器であるD-Lux 2000(ターボガイド使用時)とJET LITE 3000との間に明らかな差を認めなかったが、BPMではJET LITE 3000でD-Lux 2000より20%以上低い表示値を示し、逆にCure Riteでは約20%程度高い表示値を示した。

Demi Plusでは、ストレートガイドを装着するとターボガイドを装着した場合に比べて約6割の減弱を示し、この減弱率はBPM, Cure Rite, Dem-LEDでほぼ同じ結果であった。また、G-Light Primaでは、いずれの照射モードの場合もBPMよりCure Riteの測定値が高く、他の照射器と異なる挙動を示した。

Dem-100とDem-LEDは同じ製造者のものであるが、測定上限値を超えた場合を除き、いずれもDem-LEDに比べてDem-100のほうが25～39%高い測定値を示した。

【結論】

市販可視光線重合器から照射された光の強度を測定した場合に得られる測定値は、ラジオメーターの種類によって大きくばらつくことが明らかとなった。

Table 1 Light intensity displayed in each radiometer (n = 5)

	BPM	Cure Rite	CL105	Dem-100	Dem-LED
D-Lux 2000 H-10 (Turbo guide)	940±52	453±30	390±22	650±35	520±27
D-Lux 2000 H-10 (Straight guide)	618±31	426±27	306±26	616±32	442±35
JET LITE 3000	730±25	543±42	456±13	688±48	526±37
Demi Plus (Turbo guide)	1756±83	1395±21	1680±45	1000±0*	1410±22
Demi Plus (Straight guide)	684±25	538±8	492±11	790±14	600±0
G-Light Prima (Normal 10 mode)	1702±72	2000±0*	880±27	1000±0*	1130±27
G-Light Prima (PH mode)	1496±23	2000±0*	800±0	1000±0*	1010±22
G-Light Prima (F5 mode)	2672±143	2000±0*	2500±0*	1000±0*	1950±50
Bluephase G2 (High)	1312±71	870±3	970±27	1000±0*	1038±16
Bluephase G2 (Low)	668±33	406±3	400±0	700±0	550±0

* Displayed value was exceeded the measurable emission range

歯科用可視光線照射器の青色光が血管平滑筋へおよぼす影響

神奈川歯科大学学生体管理医学講座薬理学分野

○吉田彩佳, 吉野文彦, 李 昌一

Effects on vascular smooth muscle caused by blue light from the dental curing unit

Division of Pharmacology, Department of Clinical Care Medicine, Kanagawa Dental College

○YOSHIDA Ayaka, YOSHINO Fumihiko, LEE Masaichi-Chang il

【研究目的】近年、青色光による活性酸素種 (ROS) の網膜への悪影響が広く知れ渡るようになり、青色光の波長をカットした機能性アイウェアが普及しつつある。また、歯科においてもレジン修復や漂白処置時に、遮光レンズによる青色光からの網膜保護を行っている。しかしながら、使用している青色光の口腔、とくに微小循環系を有する歯髄組織への影響の検討はこれまでほとんど行われてない。したがって、今回レジン照射器の光照射がおよぼす生体組織への影響を、摘出血管平滑筋および培養細胞を用いて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摘出した大動脈を、らせん状標本を作製し Krebs-Ringer 溶液に浸漬下にて光照射後、TBARS assay kit による脂質過酸化 (酸化ストレス) 評価を行った。加えて、ヒト大動脈血管平滑筋細胞 (ACBRI 716) を用い、レジン照射器による光照射時間依存性細胞増殖性への影響を MTS assay により解析した。また、光照射によるアポトーシスの関与を蛍光法にて確認し、同様の実験系に ROS 除去剤である *N*-acetyl-L-cysteine (NAC) を添加し、ROS による影響も検討した。

【成績】レジン照射器の光照射により、ラット大動脈組織の脂質過酸化は非照射群と比較し有意に増加した。また、ACBRI 716 への光照射は照射時間依存的に細胞増殖の低下を誘導し、さらにこの現象にはアポトーシスの関与が認められ、NAC の添加によりアポトーシスは有意に抑制された。

【考察】レジン照射器の光照射は歯髄血管平滑筋細胞内において光励起反応により ROS を産生し、この ROS による血管平滑筋細胞膜の酸化ストレスによる傷害に加え、産生された ROS が細胞のアポトーシスを誘導する可能性が示唆された。また、この ROS によるアポトーシスは抗酸化剤である NAC により抑制した。したがって、青色光による歯髄血管に対する ROS の悪影響は抗酸化剤にてコントロール可能であることが示唆された。

【結論】現在の使用方法では青色光照射は、歯髄組織に対する ROS に誘導された酸化ストレスによる悪影響を与える可能性を有するが、NAC の様な抗酸化剤を投与することで、ROS による影響をコントロールすることが可能となるため、歯科臨床における光照射器使用方法の安全性の確保に対するエビデンスの追求の検討を今後おこなう予定である。

光干渉断層画像装置を用いたコンポジットレジンの摩耗痕下の状態の観察

東京医科歯科大学大学院先端材料評価学分野¹, 同歯学部生体材料加工学分野², 同大学院う蝕制御学分野³

○クッタテープ ナタフット¹, 高橋英和², 岩崎直彦², 浅川裕也¹, 塩沢真穂¹, 島田康史³, 田上順次³

Optical coherence tomography observation on composite resins subsurface cracks of wear trace

Advanced Biomaterials, Tokyo Medical and Dental University¹, Department of Oral Materials Sciences and Technology, Faculty of

Dentistry, Tokyo Medical and Dental University², Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University³

○KOOTTATHAPE Natthavoot¹, TAKAHASHI Hidekazu², IWASAKI Naohiko², ASAKAWA Yuya¹, SHIOZAWA Maho¹, SHIMADA Yasushi³, TAGAMI Junji³

Introduction Mechanical failure of composite resins primarily occurs through fatigue mechanism of wear. A pre-existing flaw growing into a crack propagates under the influence of cyclic occlusal stresses. However, subsurface area beneath worn surface is still difficult to be observed. A swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) has been introduced as a dental diagnostic device which could illustrate non-invasive, non-destructive, and cross-sectional images of teeth and restorations. The purpose of this study was to evaluate subsurface cracks of the wear traces of composite resins by the SS-OCT. The relationship between subsurface crack formation and composite resins, and that between subsurface crack formation and third-body medium were investigated.

Materials & Methods Wear traces of 6 types of composite resins (DUR: Durafill VS, Heraeus Kulzer; Z250: Filtex Z250, 3M ESPE; APX: Clearfil AP-X, Kuraray Medical; FIL: Filtex Supreme XT, 3M ESPE; MFL: MI flow, GC; VED: Venus Diamond Heraeus Kulzer) were prepared in a ball-on-disc sliding device, using poppy seed slurry, polymethyl methacrylate (PMMA) suspension as third-body media, or distilled water as control. Three areas at initial, middle and final point through the wear traces according to the antagonist movement were observed with a SS-OCT (Santec OCT-2000, Santec). All images of wear traces were categorized into 4 categories according to the level of crack formation. (0: unobservable worn surface, 1: worn surface with subsurface homogeneity, 2: worn surface with subsurface inhomogeneity, 3: worn surface with projection lines). Then, the maximum wear depth of all specimens was quantified using a CCD microscope (VHX-1000, Keyence).

Results Typical images of 4 categories are shown in Figure below. Subsurface inhomogeneity was observed even though shallow wear trace specimens. Regarding DUR, APX, and VED, the number of specimens of Category 1 was a couple. No wear trace of Z250 was classified as Category 3. The wear traces using poppy seed except for DUR were Category 0, and those using PMMA were mainly classified as Category 2. Almost all wear traces of DUR using poppy seed were classified as Category 3. The maximum wear depth ranged from 11 to 263 μm . An obvious relationship could not be detected between Categories and maximum wear depths.

Discussion The results demonstrated the ability of the OCT technique to generate images of the crack initiation sites, crack propagation and regions surrounding the crack tips. The maximum wear depth and level of crack formation might be correlated, however no obvious relationship was detected. The reason of this finding was because the maximum wear depth was localized in different area depending composite resins and third-body media. The crack formation might be related with the amount and the size of filler of composite resins; therefore, some composite resins show a similar tendency of subsurface cracks of the wear traces. Moreover, the different third-body medium might also effect on the crack formation.

Conclusion The SS-OCT could generate cross-sectional images of wear traces of composite resins, in which subsurface cracks could be detected. The relationship between subsurface crack formation and composite resins, and that between subsurface crack formation and third-body medium were suggested.

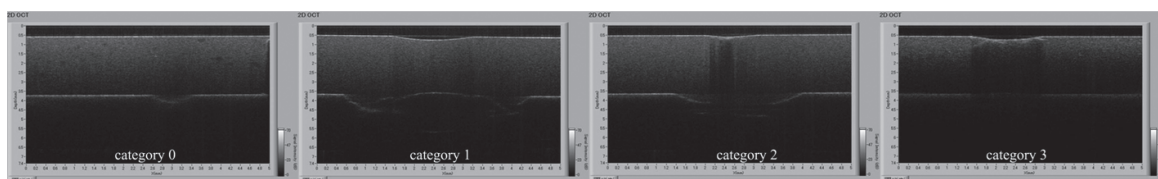


Figure Typical images of wear traces of 4 categories

コンポジットレジン of 歯ブラシ摩耗について—摩耗深さおよび表面性状— (第2報)

¹昭和大学歯学部 歯科保存学講座、²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
○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- (Part2)

¹Department of Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry

²Division of Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○KYOIZUMI Hideaki¹, YAMADA Junji¹, SUZUKI Toshimitsu¹, FINGER Werner J.², KANEHIRA Masafumi², KOMATSU Masashi² and 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、第135回日本歯科保存学会秋季学術大会において、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。その結果、摩耗深さは直線的に増加していき、また、表面粗さは摩耗試験後で高い値を示す材料があった。前回の摩耗試験では研磨剤として炭酸カルシウムを使用した。今回は研磨剤を使用しない場合の歯ブラシ摩耗について検討した。

【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。

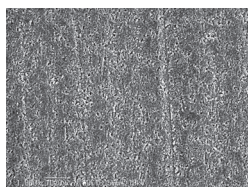
摩耗試験は歯ブラシ摩耗試験機(東京技研)を使用し、歯ブラシはプロスペックスリム(GC)を使用した。摩耗試験は毎分60回で、歯ブラシにかかる垂直荷重は500gfとした。研磨剤は使用せず水のみで行った。繰り返し回数は最大5万回とし、1万回ごとに表面粗さ輪郭形状測定機(SURFCOM 480A, 東京精密)で摩耗面の形状を記録し、水は新しいものと交換した。記録紙上でその最大の深さを計測し、歯ブラシ摩耗深さとした。試験開始前および各回ごとに摩耗面の表面粗さ(Ra)を測定した。5万回の摩耗試験後、それぞれグループの代表例でSEM観察(VE-8800, キーエンス)を行った。

【結果および考察】

歯ブラシ摩耗深さは、4種の材料において#600および#4000の研磨面とも5万回まで0μmであった。また、表面粗さについても、#600および#4000で摩耗前後でほとんど変化がなかった。

図に#600で研磨した4材料の5万回後のSEM写真を示す。

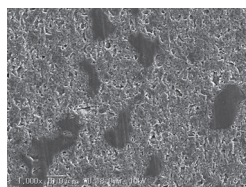
今回の結果から、研磨剤を使用しなければ使用材料にかかわらず歯ブラシ摩耗はおこらず、表面粗さもほとんど変わらないことがわかった。



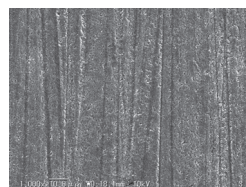
VEN



VED



VEP



MFI

図 歯ブラシ摩耗5万回後のSEM写真(×1000)

Three-body-wear test による修復用コンポジットレジンの摩耗性について (第2報) —新規レジンモノマーを含む市販コンポジットレジンの摩耗性—

¹ 神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野, ² ミュンヘン大学保存修復学講座
○二瓶智太郎¹, クンツェルマン・カール・ハインツ², 大橋 桂¹, 三宅 香¹, 大橋崇明¹,
寺中文字子¹, 芹田枝里¹, 原 健一郎¹, 寺中敏夫¹

The wear of restorative composites by three-body-wear test (Part 2)

¹ Div. of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College, ² Ludwig-Maximilians-University of Munich
○NIHEI Tomotaro¹, Kunzelmann KH², Ohashi Katsura¹, MIYAKE Kaori¹, OHASHI Takaaki¹,
TERANAKA Ayako¹, SERITA Eri¹, HARA Kenichiro¹, TERANAKA Toshio¹

【研究目的】

近年, 審美性を加味し操作性も簡便な修復処置として頻用されているコンポジットレジンに著しく進歩を遂げ, 前歯部用をはじめ臼歯部用または前臼歯共用と開発されている. しかしながら, 咬合面など咬合の負荷がかかる部位に対しての信頼性にはまだ疑問が残る. 本研究では, 近年市販されたコンポジットレジンの摩耗性を Three-body-wear test にて評価を行った.

【材料および方法】

研究に供した市販コンポジットレジンには, カテゴリーとして Microfilled hybrid type, Nano hybrid type,あるいは Hybrid type などの5社7種とした.

1. 摩耗試験; 各コンポジットレジンに長さ10mm, 幅7mm, 厚さ5mmのシリコンモールド内に, まず厚さ3mmを充填し, 光照射器 (Elipar Trilight, 3M-ESPE) にて20秒間光照射を行い, 残り2mmの厚さを積層充填し光照射20秒間にて重合し試料とした. その後モールドより試料を取り出し, Three-body-wear test の ACTA Wear machine 用の wheel に Bistite II (トクヤマデンタル) で装填した. Wheel を24時間室温大気中に保管した後, ACTA Wear machine (ACTA3, Willytec) に取り付け, 専用の研磨用ディスク (Ems Winter & Shon GmbH & Co.) No. 4, No. 3, No. 2, および No. 1 の順にて仕上げ研磨まで行った. 摩耗試験は, 同様に ACTA Wear machine を用いて, 研磨用ディスクを取り付けていた軸を Antagonist wheel に取り替え, 蒸留水 220ml に 150g の millet を入れた溶液を介して 200,000 回を行った. この時の Antagonist wheel の回転数は 127rpm, 試料を取り付けている wheel の回転数は 60rpm, 摩耗負荷は 15N とした. millet の交換は 50,000 回ごとに行った. 摩耗試験後, 試料を装填した wheel を 3D スキャナー (Laserscan 3D Pro, Willytec) に装着し, 各試料の摩耗部と未摩耗部の段差を計測し, PC 上で摩耗量を測定した. その後, 摩耗した表面を研磨用ディスク No. 1 にて一層削除を行い, 新鮮面を出し同時に研磨を施し, 37°C 蒸留水中に 180 日保管した後に前述と同様に摩耗試験を行った.
2. 表面硬さの測定; 各コンポジットレジンに直径 5mm, 厚さ 3mm に調整し, 表面を #15,000 まで研磨した後に Microhardness tester (Fischerscope H100C, Fischer GmbH) にて荷重 500mN, 保持時間 5 秒で表面硬さを測定した.

なお, 各試料は 10 個とし, 得られたデータは, それぞれの平均値と標準偏差を求め, 次いで, 一元配置分散分析を行い, 有意差が認められた場合にはさらに Post-Hoc Tukey multiple comparison tests の多重比較検定を行った.

【成績および考察】

Nano hybrid type や Hybrid type のフィラーと Bis-GMA 系で構成されたコンポジットレジンの摩耗量は 25~30 μ m と高くなる傾向であった. 一方, Supra nanometer type の球状型フィラーを含有するコンポジットレジンには, 他のコンポジットレジンと比較して水中保管後も有意に低い値であった ($p < 0.05$). また, 表面硬さは, 摩耗量の低いコンポジットレジンほど高くなる傾向であった.

したがって, Three-body-type である ACTA wear machine によるコンポジットレジンの摩耗量は, Supra nanometer hybrid type で構成されたコンポジットレジンの摩耗性が低く, しかも表面硬さも高い値となり, その相関性は高かった ($\gamma = 0.94$).

【結論】

今回供したコンポジットレジンの耐摩耗性には, 配合フィラーの充填率よりも, むしろフィラーのサイズや形状, マトリックスレジンの構成に関与していると示唆された.

コンポジットレジンの表面性状におよぼす仕上げ研磨法の影響

¹日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ²長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 小児歯科学
○安藤 進¹, 吉田武史¹, 田久保周子¹, 大山幸治¹, 浅野和正¹, 宮崎真至¹, 岩崎圭祐¹, 細矢由美子²

Influence of finishing and polishing system on surface texture of resin composites

¹Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

²Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Medical and Dental Sciences,
Department of Pediatric Dentistry

○ANDO Susumu¹, YOSHIDA Takeshi¹, TAKUBO Chikako¹, OYAMA Koji¹, ASANO Kazumasa¹,
MIYAZAKI Masashi¹, IWASAKI Keisuke¹, HOSOYA Yumiko².

【研究目的】

光重合型コンポジットレジン (CR) に対する効率の良い研磨システムとは、臨床での作業効率を向上するとともに、不適切な研磨に起因する不快事項を防止するものと考えられている。今回、種類の異なる CR と、新しく開発されたレジン研磨器材を用いた研磨システムを用いて、仕上げ研磨された CR の表面性状におよぼす影響について検討した。

【材料および方法】

研磨に使用した器具としては、仕上げ研磨用として試作シリコンポイント (M, F, GC), 形態修正用としてホワイトポイント (WP #60, 松風), ダイヤモンドポイント (DP #5236uf, sds Keer) およびカーバイドバー (CB #7205, sds Keer) を組合せた 9 条件である。また、供試した CR は、ソラーレ (A2, ジーシー), MI フィル (A2, ジーシー) およびビューティフィル II (A2, 松風) の 3 製品とした。

供試した CR を内径 8 mm, 高さ 3 mm のシリコン型に充填し、ポリストリップを介し光強度を 600mW/cm² に規定した Optilux 501 (sds Keer) で 30 秒間照射し、重合硬化した。これらのレジン試片を 23±1°C の大気中で 24 時間保管した後、仕上げ研磨荷重 (1~2N) および荷重時間 (30 秒) を規定したバーおよびポイントを用いて仕上げ研磨を行い測定用試片とした。

表面性状については、ヌープ硬さ、表面粗さおよび表面光沢を求め評価した。すなわち、ヌープ硬さは、微小硬さ測定器 (DMH-2, 松沢) を用いて測定した。表面あらさは、3D レーザー顕微鏡 (VK-9700, キーエンス) を用いてレーザーカラー画像 (LC 像), 3D レーザー画像 (3D 像), 表面粗さ (Ra, μm), 最大高さ (Rz, μm) および最大深さ (Rv, μm) を求めた。表面光沢の測定は、デジタル光度計 (GM-26 D 型, 村上色彩技術研究所) を用い 60° 光沢度を測定し評価した。測定は、5 試片につき試片の中央部付近の測定を行い、その平均値をもって表面粗さおよび光沢度とした。

【成績および考察】

バーとポイントを組み合わせた条件における表面粗さは、CB+M+F, DP+M+F および WP+M+F 条件の順で大きくなった。一方、表面光沢については、CB+M+F, WP+M+F および DP+M+F 条件の順で低下したことから、表面粗さと光沢度の相関性は低いことが判明した。3D 像から CB による切削面は、CR の表面硬さに関係なく刃物で削りと取られた様相を示した。一方、WP および DP による切削面は、磨り潰された様相を示し、仕上げ研磨法の違いとして観察された。さらに、WP および DP 条件では研削痕の残留が認められ研磨が不十分と判定された。これらの結果は、今回の研磨荷重および研磨時間での限定された条件で WP および DP の Rz および Rv が CB に比較し大きくなったことが研削痕の残留に影響したものと考えられた。

【結論】

フィルターの種類、形態および量の異なる 3 種の CR を 9 の異なる条件によって研磨したところ、その表面性状は条件によって違いが認められた。

仕上げ研磨器具として CB に試作シリコンポイントを組み合わせた研磨システムは、WP および DP を使用した研磨システムに比較し表面性状に優れていることが示唆された。

ジーシーMI フィリングマテリアルの物理的特性

株式会社ジーシー
○中山瑞樹、熊谷知弘、佐久間徹郎

Physical Properties of GC MI Filling Materials
GC Corporation
○Mizuki Nakayama, Tomohiro Kumagai, Tetsuro Sakuma

【研究目的】株式会社ジーシーではMI フィリングマテリアルとして3種の流動性の異なる低粘度コンポジットレジンを開発している。これら3製品は、ナノサイズフィラーのみで構成された前臼歯用ナノハイブリッド型コンポジットレジンであり、その物理的性質は従来型コンポジットレジンと異なるものと考えられる。そこで、市販されている前臼歯用コンポジットレジンとジーシーMI フィリングマテリアルの物理的特性の違いを明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】ナノハイブリッド型コンポジットレジンとしてMI フィル、MI ローフロー、MI フロー（ジーシー）を用い、従来のマイクロハイブリッド型として2製品（製品A、B）を、ナノフィル型として製品Sを用いた。それぞれの材料を三点曲げ試験（JIS T 6514に準拠）、三体摩耗試験（荷重；0.85MPa、上下左右滑走；100,000回、対合物；PMMA、疑似食物；PMMA：グリセリン=1：1）、歯ブラシ摩耗試験（荷重；200g、滑走回数；12,000回、歯ブラシ；プロスペック アダルト かため、スラリー；White & White：水=1：2、試料面；φ8mm、鏡面研磨仕上げ）に供した。三点曲げ試験では曲げ強度を、三体摩耗試験では各試料の摩耗量を、歯ブラシ摩耗試験では摩耗後の光沢度を測定した。

【結果】結果を以下にまとめた（括弧内は標準偏差）。

製品名	MI フィル	MI ローフロー	MI フロー	製品A	製品B	製品S
曲げ強度/ MPa	166.7 (4.4)	160.0 (14.5)	135.5 (3.9)	174.0 (1.6)	127.0 (7.3)	161.0 (5.9)
摩耗量/ μm	3.0 (3.0)	6.0 (1.0)	16.2 (4.5)	27.8 (11.7)	36.0 (10.4)	3.3 (1.9)
光沢度/ %	65.2 (1.3)	57.1 (4.7)	20.5 (2.4)	7.9 (0.5)	5.9 (1.6)	35.2 (0.8)

曲げ強度は製品Aが最も高く、次いでMI フィル、製品S、MI ローフローの順であった。MI フィルとMI ローフローは、シリンジから窩洞に直接充填できる比較的フィラー充填量の低い低粘度ペーストであるが、フィラーが高充填された高粘度ペーストであるマイクロハイブリッド型やナノフィル型と同等の強度を有していることが確認された。摩耗量はMI フィルが最も少なく、次いで製品S、MI ローフロー、MI フローの順であった。ナノハイブリッド型またはナノフィル型は、マイクロハイブリッド型より耐摩耗性に優れていることが確認された。光沢度はMI フィルが最も高く、次いでMI ローフロー、製品S、MI フローの順であった。マイクロハイブリッド型は歯ブラシ摩耗により完全に光沢が失われていた。

【考察】ジーシーMI フィリングマテリアルは、含有フィラーの重量こそ低め(69wt%)であるが、主フィラー平均粒径が200~700nmと非常に細かく、同重量のマイクロサイズのフィラーと比較した場合、フィラー粒子数が大幅に増加している。高い曲げ強度は、フィラーとレジンマトリックスの界面に欠陥が生じ難い表面処理を施した結果と考えられる。一方、耐摩耗性、艶の維持性の向上は、フィラー粒子数の増加がレジンマトリックスの摩耗を低減させたためと考えられる。

【結論】ジーシーMI フィリングマテリアルは、フィラーが高充填化された従来のコンポジットレジンと同等以上の強度・耐摩耗性、艶の維持性を示した。

合着用グラスアイオノマーセメントの硬化初期の動向 : 歯質接着性と曲げ特性からの検討

¹⁾岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野
²⁾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
○入江正郎¹⁾, 田仲持郎¹⁾, 松本卓也¹⁾, 吉山昌宏²⁾

Early Performance of Resin-modified Glass-ionomer Cements for Luting : Bonding Ability to Tooth Substrate and Flexural Properties.

¹⁾Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences. ²⁾Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.

○Masao Irie¹⁾, Jiro Tanaka¹⁾, Takuya Matsumoto¹⁾, Masahiro Yoshiyama²⁾

【 目的 】

歯冠修復に不可欠な合着用グラスアイオノマーセメントは、近年ペースト化され、高性能、多機能化をもたらしている。国内外の各社からペースト化の合着用グラスアイオノマーセメント (GIC) が新たに登場した。そこで、合着材としての可能性を探る目的から、硬化初期の挙動を検討しているが、今回は歯質接着強さを報告する。

【 材料と方法 】

材料は Table に示す GIC 5 種を使用した。方法は¹⁾、ヒトエナメル質および象牙質面を使用し、被着面を# 1,000 の耐水研磨紙で最終研磨し、多くは無処理だが、GC 社の場合は歯質処理も含めた両方を実施した。被着面上にテフロンモールド(内径 3.6 mm, 深さ 2.0 mm)を固定し、テフロンモールド内に GIC で CR inlay (Z 250, 3M ESPE)を合着後、37°C, 100 %R.H. 中で硬化させ、硬化直後、1 時間後および 1 日間 37°C 蒸留水中浸漬後の 3 条件でせん断接着強さを測定した。

【 結果と考察 】

接着強さの結果を Table に示した。エナメル質、象牙質共に硬化直後では 1 日後の半分以下の値を示し、統計的に有意差を生じた。1 時間後でも 1 日後の半分を少し上回る程度の値しか示さず、統計的にも有意差を生じ、まだ硬化途中と思われる。

Table Shear bond strength (MPa) between tooth surface and luting agent.

Luting agent (Manufacturer)	Mean (S.D., n=10)		
	Immediately	After one-hour storage	After one-day storage
ENAMEL			
Fuji Luting EX (GC)	3.5 (0.7) A	4.8 (1.7) A	8.1 (3.0) B*
Fuji Luting EX [#]	4.5 (1.0) C	6.6 (1.0) D	10.2 (2.5) E
Fuji Luting S (GC)	3.1 (0.4) F	4.9 (1.3) G	6.2 (1.5) H
Fuji Luting S [#]	4.8 (1.4) I	6.3 (2.0) I	8.7 (2.5) J
RelyX Luting Plus Automix (Foreign product, 3M ESPE)	1.1 (0.3) K	4.0 (0.8) L	6.1 (1.6) M
Vitremer Paste (3M ESPE)	1.3 (0.2) N	4.9 (0.9) O	10.1 (1.8) P
ResiGlass Paste (Shofu)	2.3 (0.5) Q	3.4 (1.1) Q	5.6 (1.8) R
DENTIN			
Fuji Luting EX	3.1 (0.8) a	5.0 (1.0) b	6.5 (1.5) c
Fuji Luting EX [#]	3.2 (0.6) d	6.8 (1.6) e	8.5 (2.0) e
Fuji Luting S	3.6 (1.0) f	4.8 (1.1) g	6.5 (1.4) h
Fuji Luting S [#]	4.5 (1.0) i	5.7 (1.9) i	7.5 (1.6) j
RelyX Luting Plus Automix	1.3 (0.4) k	3.6 (0.8) l	5.7 (1.5) m
Vitremer Paste	1.0 (0.2) n	4.3 (1.3) o	6.6 (1.0) p
ResiGlass Paste	2.3 (0.7) q	3.2 (0.8) q	4.9 (1.8) r

*: Means with the same letters were not significantly different by Duncan's Multiple-Range test (p>0.05). #: Pretreated by Fuji Lute Conditioner (20 sec)

【 まとめ 】

GIC 5 種を使用してエナメル質および象牙質に対する接着強さを測定した結果、1 時間後でも 1 日後の半分を少し上回る程度の値しか示さず、統計的にも有意差を生じたことから、合着後の臨床操作は慎重であることが求められる。

【 文献 】

1)M Irie *et al.* Dent Mater, 2010, 26, 608-615.

1年間の水中浸漬による成形修復用ガラスイオノマーセメントの フッ化物徐放量と機械的強さの変化

東京医科歯科大学大学院先端材料評価学分野¹, 東京医科歯科大学歯学部生体材料加工学分野²
○塩沢真穂¹, 高橋英和², 岩崎直彦², 浅川裕也¹, クッタテープナタフット¹

Fluoride release and mechanical properties of recent restorative glass ionomer cements after 1-year water storage

Advanced Biomaterials, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University¹,
Oral Biomaterials Engineering, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University²
○SHIOZAWA Maho¹, TAKAHASHI Hidekazu², IWASAKI Naohiko², ASAKAWA Yuya¹, KOOTTATHAPE Natthavoot¹

【研究目的】

ガラスイオノマーセメント (GIC) は, 生体親和性や歯質接着性, フッ化物徐放性などの特徴を有することから, 成形修復用や合着用材料として広く使用されている. 近年, 臼歯部の成形修復にも対応できる機械的強さを持った GIC が発売されているが, 長期水中浸漬後のフッ化物徐放量と機械的強さの変化は明らかになっていない. 本研究では長期水中浸漬による GIC への影響を明らかにするため, 1年間水中浸漬した時の GIC のフッ化物徐放量と圧縮強さ, 表面硬さの変化を測定した.

【材料および方法】

実験には, 5種類の成形修復用 GIC である Fuji IX GP EXTRA (GC, 以下 EHM), Fuji IX GP (GC, 以下 FIX), GlasIonomer FX-II (Shofu, 以下 GFX), Ketac Molar Easymix (3M-ESPE, 以下 KME), Riva Self Cure (SDI, 以下 RSC) を使用し, メーカー指定の粉液比にて練和して試験片を作製した. フッ化物徐放量の測定には直径 15 mm, 高さ 1 mm の円盤状試験片を用いた. セメント練和後, 試験片を 37°C の恒温器にて 1 時間硬化させた後, 37°C の脱イオン水 10 ml に 23 時間浸漬した. 試験片を取り出し, フッ素イオンメーター (IM-40S, TOA) を用いて浸漬溶液のフッ化物イオン濃度を測定した. 測定後試験片を新たな脱イオン水に浸漬し, セメント練和開始から 1 週間, 1 か月, 3 か月, 6 か月, 1 年後に同様に浸漬溶液のフッ化物イオン濃度を測定し, 積算フッ化物徐放量を算出した. 圧縮強さと表面硬さの測定には, 直径 4 mm, 高さ 6 mm の円柱状試験片を用いた. 圧縮強さは万能試験機 (1123, Instron) を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min の条件で測定し, 表面硬さ (ピッカーズ硬さ) は微小硬度計 (MVK-H2, 明石) を用いて荷重 50 gf, 保持時間 15 秒の条件で測定した. 試験はセメント練和開始から 1 日, 1 週間, 1 か月, 3 か月, 6 か月, 1 年後に行った. 試料数は各条件につき 5 個とした. 得られた値については, セメントの種類と浸漬期間を主要因とした 2 元配置分散分析を行った. ($\alpha=0.05$)

【結果および考察】

積算フッ化物徐放量は測定期間中すべての GIC で増加し, 1 年後の値は大きい方から RSC>EHM>GFX>FIX>KME の順であった. 1 日当たりのフッ化物徐放量はセメントの種類によって異なる値を示したが, いずれの GIC でも浸漬 1 日目に最も大きな値を示した. 浸漬 1 週間後には徐放量が急激に減少したが, その後 1 年後まで一定量のフッ化物が徐放され続けることが明らかになった. 圧縮強さは浸漬 1 週間後までに最も大きく増加し, 1 週間後から 1 年後までの値に有意差は認められなかった. 表面硬さも同様の傾向を示したが, 6 か月後以降わずかに減少する傾向が認められた. 水中浸漬 1 週間後まではセメントの硬化反応が進行しているために機械的強さの増加が認められたが, その期間に水に触れることでセメントの表面が感水し劣化したため, 1 年後の表面硬さが減少したと考えられた. 一方圧縮強さはほとんど変化しなかったことから, セメント内部への水の影響は少ないと考えられた.

【結論】

GIC は水中浸漬 1 年後までフッ化物を徐放し続けることが明らかになった. しかしながら, 機械的強さ, 特に圧縮強さは水中浸漬 1 年後まで大きく変化しなかった.

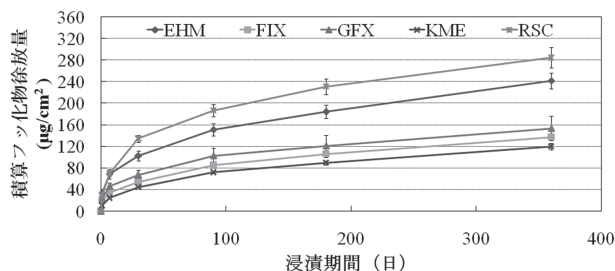


図. 水中浸漬した GIC の積算フッ化物徐放量

各種フロアブルレジンの重合収縮と窩壁適合性 (第5報) - μ CT を用いた窩洞内の重合収縮評価 -

¹ 神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野 ² 神奈川歯科大学顎顔面診断科学講座放射線学分野
³ 医療法人天馬会ベガサス歯科医院 ⁴ 神奈川歯科大学学生体材料器械学講座

○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 5)

- Evaluation of polymerization shrinkage with μ CT -

¹ Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine, KANAGAWA DENTAL COLLEGE

² Department of Oral and Maxillofacial Radiology, KANAGAWA DENTAL COLLEGE

³ Pegasus DENTAL CLINIC

⁴ Department of Biomaterials and Devices, KANAGAWA DENTAL COLLEGE

○TAKEMURA Yukihiko, HANAOKA Koji, KAWAMATA Ryota, EBIHARA Kei, OSHIKAWA Akihiro, KURATA Shigeaki, TERANAKA Toshio

【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、収縮応力によって生じるコントラクションギャップや、ホワイトマージンの問題は未だ解決していない。我々は第 134, 135 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がレジンの窩洞内の重合収縮挙動に影響を与えることを示唆した。今回、Flow の異なる 3 種フロアブルレジンをを用い、それぞれの窩洞内の収縮挙動を比較するとともに、低収縮性レジンの経時的窩壁適合性を評価した。

【材料と方法】

実験にはナノハイブリッドフィラー含有レジンの MI Flow (MIF ; GC), MI LowFlow (LF ; GC), MI Fil (FL ; GC) およびベース専用の低収縮レジンの SDR (SDR ; DENTSPL) を用いた。GN-I COMPOSITE BLOCK (GC0 : GC : 13×10×17mm) 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。窩壁全体にシランカップリング剤 (リライエックスマセラミックプライマー ; 3M) を塗布、乾燥後、各レジンを窩洞に充填し、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 の差分を求め、開放面での収縮量 (vol%) と側壁での間隙発生量 (vol%) を比較した。また、SDR では試料の位置を規定した状態で他群と同様に重合前後の他、1 時間後、6 時間後に μ CT 撮影を行い、経時的な開放面の収縮量および間隙形成量の変化を測定した。

【結果】

以下に、得られた結果 (表 1, 表 2, 図) を示す。

表 1 MIF, LF, FL の重合収縮量 (vol%)

	開放面収縮率	側壁収縮率	全体収縮率
MIF	3.23	0.52	3.79
LF	3.28	0.45	3.72
FL	3.44	0.17	3.61

表 2 SDR の経時的な重合収縮量 (vol%)

時間経過	開放面収縮率	側壁収縮率	全体収縮率
SDR 0h	3.24	0	3.24
SDR 1h	3.94	0.05	4.00
SDR 6h	4.02	0.11	4.13

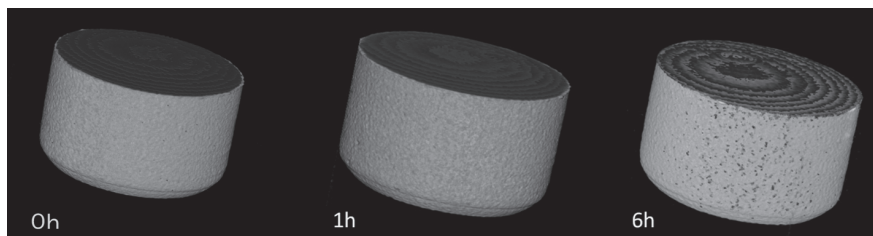


図 SDR の μ CT 画像

ナノハイブリッドフィラー含有フロアブルレジン MIF, LF, FL の間では、粘性の大きい材料の方が大きな開放面収縮 (Flow), 小さな側壁の収縮が示され、全体的な収縮量は小さいものとなった。一方、SDR では重合直後では開放面での下方向への収縮のみが明確に観察されたが、重合 6 時間後では開放面でのわずかな収縮の増加および側壁での剥離が認められた。

【結論】

今回用いたナノハイブリッドフィラー含有フロアブルレジンでは、粘性が低いものほど窩壁適合性が良好であることが示された。一方、低収縮性レジンの SDR においても窩壁適合性に経時的な変化があることが示された。

コンポジットレジン窩洞適合性評価における試作 SS-OCT の有用性について

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座¹⁾、歯科放射線学講座²⁾、株式会社 吉田製作所³⁾

○水上英子¹⁾、後閑由香¹⁾、橋本絵美²⁾、谷 千尋¹⁾、千田真弓³⁾、鹿熊秀雄³⁾、荒木和之²⁾、岡野友宏²⁾
Clinical Evaluation of Experimental swept-source Optical Coherence Tomography (SS-OCT) on Resin
Composite Restorations

Department of Clinical Cariology¹⁾ and Department of Clinical Radiology²⁾, Showa University School
of Dentistry,

The Yoshida Dental MFG. Co., LTD³⁾

○Eiko Mizukami¹⁾, Yuka Gokan¹⁾, Emi Hashimoto²⁾, Chihiro Tani¹⁾, Mayumi Chida³⁾, Hideo Kakuma³⁾,
Kazuyuki Araki²⁾ and Tomohiro Okano²⁾

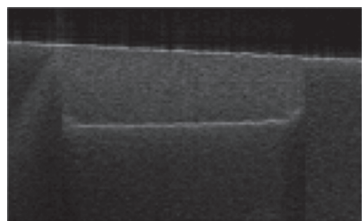
【研究目的】生体組織に対し透過性を持つ近赤外線を使用した光干渉断層画像装置 (Optical Coherence Tomography : OCT) は撮影対象物に侵襲を加えることなく断層画像を撮影することができる装置である。現在用いられているOCTは計測感度の向上、計測時間の短縮化が達成できるフーリエドメイン光干渉断層画像装置 (Fourier-domain optical coherence tomography : FD-OCT) が主流となっている。今回我々は、FD-OCT の中でもレーザー光源の発振波長を連続的に挿引しながら時間的にフーリエ分析する方法を採用する試作波長走査型光干渉断層画像装置 (swept-source Optical Coherence Tomography : SS-OCT) を用いて、象牙質円柱窩洞におけるコンポジットレジンの窩洞適合状態について μ -CTと光学顕微鏡下での観察と比較し評価を行った。

【材料および方法】本実験ではヒト抜去大臼歯を用いた (昭和大学 歯学部 医の倫理委員会 承認番号 ; 2011-016号)。コンポジットレジンの象牙質円柱窩洞 (直径約 2.0 mm、深さ約 1.5 mm) に対する複数の窩洞適合状態を異なった歯面処理を行うことで準備を行った。すなわち、1) 完全な窩洞適合性を有する試片、2) 窩縁にコントラクションギャップが認められる試片、3) 窩縁に明瞭なボンディング材層が認められる試片の3種類を作製した。調整の完了した試片は吉田製作所社製 試作光学的干渉性断層撮影装置 プロトタイプ(以下試作SS-OCT)を用いて中心波長1310nm、深さ方向の分解能 13 μ m の条件下で試片の断層撮影を行った。続いて、同部位を島津製作所社製 卓上型マイクロフォーカス X 線 CT システム inspeXio SMX-90CT を用いて 40 kV、60 μ A の条件で同じく断層撮影を行った。断層撮影の完了した試片は、撮影部位とほぼ一致する様に切断し、窩洞断面を露出させ、光学顕微鏡下で窩縁状態の観察を行い、各断層撮影像との比較検討を行った。

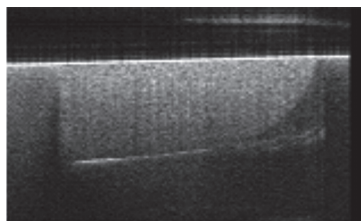
【成績および考察】光学顕微鏡を用いてコントラクションギャップが認められる試片の窩洞断面を観察した結果、窩底部に明瞭なコントラクションギャップが観察できた。試作 SS-OCT を用いて断層撮影を行うと、コントラクションギャップの発生部位と同じ部位に光の反射強度の高い像が確認できた。さらに、明瞭なボンディング材層を有する試片群を試作 SS-OCT を用いて断層撮影を行うと、ボンディング材層がほとんど見られない部位に比較して光の反射強度の低い像が確認できた。その一方で、完全な窩洞適合性を有する試片群では、窩底部および窩壁部での反射強度の明確な差は確認できなかった。 μ -CT を用いて試片の観察を行ったところ、ボンディング材層については明確に識別できたのに対し、コントラクションギャップの有無については識別することができなかった。

【結論】観察対象物を切削や破壊することなく断層像が得られる波長走査型光干渉断層画像装置を臨床に用いることで、内部に発生するコントラクションギャップの有無を診査することが可能となった。しかしながら、得られる画像については不鮮明な部分が多く、今後装置の改良が必要であることが示唆された。

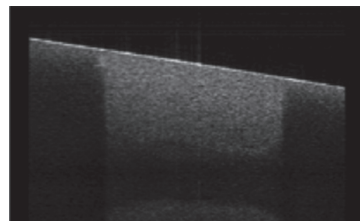
<試作 SS-OCT を用いた窩洞の断層撮影画像>



ギャップのある試片



ボンディング材層のある試片



完全な窩洞適合性を有する試片

光干渉断層装置を用いたエナメル質表層の検討 ～ホワイトニング前後の観察～

昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科¹,株式会社吉田製作所²

○松尾涼子¹,岩崎之克¹,守田宏子¹,千田真弓²,鹿熊秀雄²,宮崎隆³,岡野友宏⁴,真鍋厚史¹,

Enamel surface observation after bleaching by optical coherence tomography

Department of Clinical Cariology and Division of Aesthetic Dentistry, School of Dentistry, Showa University¹

The Yoshida Dental MFG.CO.,LTD²

Department of Oral Biomaterials and Technology, School of Dentistry, Showa University³

Department of Radiology, School of Dentistry, Showa University⁴

○MATSUO Ryoko¹,IWASAKI Yukikatsu¹,MORITA Hiroko¹,

CHIDA Mayumi²,KAKUMA Hideo²,MIYAZAKI Takashi³,OKANO Tomohiro⁴,MANABE Atsufumi¹

【研究目的】

近年、白くて美しい歯は人々の QOL の向上には欠かせない要因となり、審美歯科に対する関心の高まりとともにホワイトニングを希望する患者も増加してきている。ホワイトニングにおける歯牙の研究において、ホワイトニング処置後は歯質表層の無機質が溶出し脱灰様の現象を示し、エナメル質表層は粗造になっているとの報告が多数ある。また、ホワイトニング処置によりエナメル質表層性状が変化することにより表層に当たる光が乱反射し、深層の色をマスキングするために歯が白く見えるのではないかという説明もある。本研究は光干渉断層装置 (Optical Coherence Tomography : OCT 以下 OCT と略す) を用いてオフィスホワイトニング処置前と後とのエナメル質の表層変化を経時的に観察することを目的とした。OCT は従来から眼科領域で用いられている検査器具であり、生体組織を透過する近赤外線の反射光を利用した光干渉計の原理に基づき、非侵襲下に組織の精密断層像を得ることができる最先端の医療撮影技術である。本研究は株式会社吉田製作所製光学的干渉性断層撮影装置プロトタイプ OCT(以下吉田 OCT と略す)を用いた。

【材料および方法】

試料は歯冠部唇側面に齶蝕がなく修復充填物や亀裂のない変色ヒト抜去歯を合計 10 本用いた。なお、本研究で使用した抜去歯は本学歯学部医の倫理委員会の承認を得たものである (承認番号 2011-035 号)。抜歯後すみやかに歯石等の沈着物をスケーラーを用いて除去し、歯面清掃後ホワイトニング操作を行った。ShadeEyeNCC にて試片の測色を行った後、吉田 OCT を用いて歯の唇側から観察を行った。オフィスホワイトニング剤として 35% の過酸化水素を主成分とする Shofu Hi-lite を使用し、健全エナメル質唇面に設定した試験面を使用説明書に示されている術式に準じホワイトニング操作を行った。均一なペースト状のホワイトニング剤を歯面に 1~2 ミリの厚さに塗布し約 5 分経過後、光照射器で塗布面全体を 3 分間光照射、約 10 分後に拭き取りこれを 1 回の処置とした。同様の処置をその後 2 回繰り返し合計 3 回のホワイトニング処置を行い、その後処置を行った歯面を完全に水洗したものを 1 日の漂白操作とした。ホワイトニング操作は 7 日間ごとに行い 6 日間計 18 回のホワイトニング操作を行った後 ShadeEyeNCC にて試片の測色ならびに吉田 OCT を用いてホワイトニング処置前の同部位の観察を行った。そしてホワイトニング処置前後の測色変化と画像の変化を比較した。なお漂白処置以外の時間は 37℃人工唾液中にて保管した。

【結果および考察】

今回 OCT を用いてホワイトニング処置前後のエナメル質における変化を調べた結果、ホワイトニング処置後の光反射に若干の変化が認められた。このことはホワイトニング処置後のエナメル質表面に何らかの変化が生じた結果と考えられる。ホワイトニング処置後の抜去歯における ShadeEyeNCC の変化は L*, a*, b* とともに臨床における生活歯と同様の傾向を示し、これは肉眼所見の漂白後の色調と一致していた。今回の実験では試料数が 10 本と限られた条件のなかであり、また OCT の一般的特性から光の当て方によってはその反射が若干異なってくるため、仮説の検証や臨床への応用に関しては更なる検討を進める必要がある。

エナメル質切削時のマイクロクラック発生に関する基礎的研究

神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野¹⁾、平田歯科²⁾大阪大学歯学研究科顎口腔機能再建学講座³⁾

○下出真道¹⁾ 三橋晃¹⁾ 平田哲也^{2), 3)} 石井信之¹⁾

Identification of the enamel cracks under the cavity preparation

¹⁾ Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental College

²⁾ Osaka University Graduate School of Dentistry, Division of Oromaxillofacial Regeneration
○Masamichi Shimode¹⁾, Akira Mitsuhashi¹⁾, Tetsuya Hirata²⁾, Nobuyuki Tani-Ishii¹⁾

[研究目的]

近年、歯科用マイクロスコープの使用によって、エナメル質や象牙質に多数のマイクロクラックが存在することが明らかになっている。マイクロクラックは窩洞形成、咬合性外傷、外傷及び加齢等によってエナメル質や象牙質に発生し、細菌侵入経路になると同時に歯髄炎の原因になることが指摘されている。また、窩洞形成時に生じたエナメル質のマイクロクラックは、修復処置後の術後疼痛、修復物脱落、2次齲蝕および歯の破折要因になる可能性が示されている。本研究は、種々の歯牙切削器具で窩洞形成を行い、エナメル質に発生するマイクロクラックを解析した。

[材料および方法]

水中保管のヒト抜去天然歯エナメル質唇側面に窩洞形成し、形成後のエナメル質マイクロクラックを観察した。バーの素材・形態が亀裂発生に与える影響を評価するために、窩洞形成には、4種類の切削機器（エアータービン、マイクロモーター、レーザー、超音波）と2種類の素材（ダイヤモンド、カーバイド）、2種類の形態（フィッシャー、ラウンド）の切削器具を用いて各々組み合わせ、比較検討した。また、セメント築盛後に窩洞形成を行う場合を想定し、エナメル質との比較試料としてジーシー社製ベースセメントにより作製した円盤状ディスクにも同条件にて窩洞形成を施し、窩洞周囲のマイクロクラック発生を観察した。窩洞形成に使用したバーおよびチップを以下に示す。

- ・DIATEC 社製ダイヤモンド 835-012（シリンダー形態、直径：1.4mm）
- ・Marydia 日向和田精密製作所 ダイヤモンド F-012XL（ラウンド形態、直径：1.2mm）
- ・SS ホワイト社製カーバイドバー #4（ラウンド形態、直径：1.4mm）
- ・CEI 社製カーバイドバー #1557G（シリンダー形態、直径：1.4mm）
- ・BIOLASE 社製レーザーチップ S（シリンダー形態、直径：750 μ ）

各窩洞周囲のマイクロクラックの有無はオリンパス社製走査型共焦点レーザー顕微鏡にて観察し、発生頻度、および形態を解析した。

[成績]

回転切削器具と超音波機器によって形成された窩洞周囲エナメル質はマイクロクラックの発生を認めたが、レーザー機器による切削では認められなかった。ダイヤモンドシリンダー形態バーを用いた窩洞形成では、いずれの切削器具を用いてもマイクロクラックの発生は認められなかった。

[考察および結論]

窩洞形成に使用する切削器具によって、窩洞周囲エナメル質と象牙質にマイクロクラックが発生し、歯髄炎や歯の破折を引き起こす可能性が示された。本研究結果からダイヤモンドシリンダーバーの切削はマイクロクラックの発生を防止することが示された。

FG 用ダイヤモンドバーの品質管理

株式会社日向和田精密製作所¹, 鶴見大学歯学部保存修復学講座²
○塚田洋之¹, 臼井エミ², 山本雄嗣², 桃井保子²

Quality Control for FG Diamond Instruments
Hinatawada Seimitsu MFG Co., Ltd.¹,
Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine²
○TSUKADA Hiroyuki¹, USUI Emi², YAMAMOTO Takatsugu², MOMOI Yasuko²

【研究目的】

エアタービンハンドピースに装着されたダイヤモンドバーは、最高 40 万回転/毎分もの高速回転で使用するため、安全に使用できるための基本的要件を満たしていなければならず、ダイヤモンド砥粒を電着する前の母材の品質管理が重要な要素となる。そのため JIS T 5504-1 および JIS T 5505-1 にて、歯科用回転器具の要求事項が定められている。今回、現時点で国内販売されている各社ダイヤモンドバーの計測調査を行なった。

【材料および方法】

国内で販売されている外国製 5 社および日本製 5 社から、ラウンドエンドテーパードシリンダー型（半球端円錐形）の FG 用ダイヤモンドバーを選択し、各社で同じロット番号の 10 本ずつを計測対象とした。ハンドピースへの脱着に関わる以下の 4 項目を検査項目とした。（ ）内は JIS 規格値である。

1. 真円度：軸末端より 5 mm の位置での断面の真円度を測定
2. 表面粗さ：軸表面の中心線平均粗さ (Ra) 測定 ($< 0.5 \mu\text{m}$)
3. 軸径：軸末端より 5 mm の位置での軸径を測定 (1.59~1.6mm)
4. 偏心（軸ブレ）：ダイヤモンド粒子を剥離し、軸先端より 2 mm の位置での回転中の偏心量を測定

【結果】

1. 真円度

ほとんどの製品に軸加工後の工程で生じたと思われる傷が認められた。日本製 1 社では、断面が三角形に近い形状をしていた。他日本製 1 社では表面の無数の傷により、歪みが大きくなっていた。

2. 表面粗さ

日本製 1 社で、軸の傷が深すぎるために表面粗さが測定不可能となった製品が認められた。外国製 1 社の軸表面には無数の細かい傷が認められた。

3. 軸径

日本製 1 社に規格外の軸径を有する製品が認められた。

4. 偏心

偏心量は 1~65 μm であった。

【まとめ】

ダイヤモンドバーは、その精度が JIS 規格内であったとしても、より厳密な精度管理がバーのみならずエアタービンのチャックの耐久性にも影響をおよぼす。今回の調査で、規格外の数値を示すものや、規格内であっても品質のバラツキが大きいものは、バーの保持力低下を惹起する危険性がある。近年、エアタービンのトルクは向上しバーにかかる負荷はより大きくなっている。そのためバーに要求される性能は高くなっており、これらの要求を満たすためにはバーの性能の基本となる軸の高い精度が必要であり、一層の品質の向上が求められる。当製作所では、軸に高い強度が得られる真空熱処理法と高い精度が得られる研削法を、製造工程に組み入れている。また軸の研削工程終了後に軸径および偏心の計測検査を行い、軸径の公差を 1.6-0.004~0.006 mm、作業部先端の振れを 3 μm 以内に抑えている。

Er:YAG レーザーと知覚過敏抑制剤を併用した象牙細管封鎖効果

¹⁾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, ²⁾九州大学病院歯内治療科
○佐藤浩美¹⁾、吉嶺嘉人¹⁾、松本妃可²⁾、新井裕基¹⁾、磯辺量子¹⁾、後藤康治¹⁾、赤峰昭文¹⁾

The Combined Effects of an Er:YAG Laser and Oxalate-based Desensitizer on the Occlusion of Exposed Dentinal Tubules in Vitro

¹⁾Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University,

²⁾ Dept. of Endodontology, Kyushu University Hospital

○SATO Hiromi¹⁾, YOSHIMINE Yoshito¹⁾, MATSUMOTO Himeka²⁾, YUKI Arai¹⁾,

ISOBE Ryoko¹⁾, GOTO Yasuharu¹⁾, AKAMINE Akifumi¹⁾

【研究目的】

近年、象牙質知覚過敏症の改善にレーザーを応用する治療法が期待され、臨床における有効性も報告されている。その作用機序としては、象牙細管の封鎖や歯髄神経の鈍麻効果などが影響していると言われている。本研究では、象牙細管を開口させた象牙質プレートに、Er:YAG レーザーを低出力照射した場合、またはレーザー照射に知覚過敏抑制剤(シュウ酸製剤)を併用した場合の象牙質表層部の超微構造の変化と 3 次元的形態変化を走査型電子顕微鏡およびレーザー顕微鏡を用いて観察し、象牙質に対する形態学的影響を調べた。

【材料および方法】

被験材料として抜歯したウシ前歯から作製した象牙質プレートを使用した。象牙細管を開口させるために、15%EDTA で 2 分間の表面処理を行った。Er:YAG レーザー(Erwin AdvErl:モリタ)にチップを装着しない状態で、ハンドピース先端と被照射体との距離を 3 cm に固定して、照射出力 30 mJ、繰返し速度 10 pps、注水・エア無しでデフォーカス照射を行った。照射時間の違いと知覚過敏抑制剤(スーパーシール:フェニックスデンタル、以下 SS)の使用の有無により、①30 秒照射、②60 秒照射、③SS 塗布、④SS 塗布+30 秒照射、⑤SS 塗布+60 秒照射、⑥SS 塗布+60 秒照射+SS 塗布の 6 つの条件に分けた。通法に従って試料を処理した後、走査型電子顕微鏡による超微構造の観察、およびレーザー顕微鏡による表面形態の観察を行った。

【成績】

レーザー照射群において象牙細管内に不定形の物質が観察された。また、照射時間が長いほど象牙細管径は縮小し、閉塞された象牙細管の割合が多く認められ、象牙質表面は熔融(melting)している像を呈した。SS 塗布群では象牙細管内に結晶様構造物を認め、SS 塗布後、レーザー照射した条件では熔融層も観察された。一方、レーザー照射後、SS を再塗布した条件では、象牙質表面に熔融像はほとんど認められず、開口した象牙細管が観察された。

【考察】

レーザー照射によって象牙細管が封鎖された要因の一つとして、熱の影響が挙げられる。すなわち、象牙細管内の水分蒸散による有機質成分の付着・堆積、さらには象牙質表面の熔融に至ったと考えられる。また、レーザー照射の併用で熔融層が形成され、シュウ酸カルシウム結晶の象牙細管外への排出を防ぐことで、熔融層と結晶様構造物による 2 重の象牙細管封鎖効果が期待できる可能性がある。一方、レーザー照射後にシュウ酸製剤の再処理を行った場合、形成された熔融層は強酸性の影響で溶解・除去され、封鎖効果が減少すると考えられる。

今後、レーザー照射後の象牙質表層の分析を行い、低出力照射による組成と耐酸性の変化を明らかにする必要があると思われる。

【結論】

象牙細管が開口した象牙質表面に Er:YAG レーザーをデフォーカス照射すると、照射時間に応じて段階的に象牙細管が封鎖されることが明らかとなった。さらに、知覚過敏抑制剤(シュウ酸製剤)との併用で象牙細管の封鎖効果が増強される可能性が示唆された。

CO₂レーザー照射後のフッ化物塗布が歯根面の耐酸性に及ぼす影響

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座

○新海航一、鈴木雅也、加藤千景

Effect of fluoride application after CO₂ laser irradiation on inhibition of root surface demineralization

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

○SHINKAI Koichi, SUZUKI Masaya, KATO Chikage

【目的】

歯根面の臨界 pH はエナメル質より高く、歯肉退縮により根面が露出した場合、齲蝕に罹患しやすい。歯質へのフッ化物塗布、CO₂レーザー照射、あるいは両者の併用はエナメル質あるいは象牙質の脱灰を抑制することが報告されているが、セメント質で覆われた歯根面に対する脱灰抑制効果の詳細はほとんど知られていないのが現状である。フッ化物塗布と CO₂レーザー照射の併用は、根面歯質に対しても耐酸性を向上させるものと期待される。今回は CO₂レーザー照射後のフッ化物塗布が歯根面の耐酸性に及ぼす影響についてヒト抜去歯を用いて検討した。

【材料と方法】

実験にはヒト抜去小臼歯を使用した。グレーシー型スケーラーを用いてルートブリーニングを行った後、セメントエナメル境から約 1mm 根尖寄りの位置で頬舌方向に切断して歯冠部を除去した (30 歯)。歯根をさらに中央部で歯軸方向に半切し、1 歯から頬側歯片と舌側歯片を得た。歯根面に長方形のマスキングテープ (3×2mm) を切断面から約 1mm の位置に貼付し、歯根全体に Protect Varnish[®] (Kuraray Medical) を塗布、乾燥させてからさらにネイルバーニッシュを塗布した。乾燥後、注意深くテープを除去した。下表に示すように 6 実験群を設定した。まず CO₂レーザー (Opelaser 03SIISP, Yoshida) を用いて各レーザー強度 (被照射面のエネルギー密度: J/cm²) にて長方形窓内にレーザー照射 (ビーム径: 1.0mm、デフォーカス) を行った。なお、照射面に対して均一な照射エネルギーが得られるように、ムービングステージを用いて試料を移動させながら照射した (移動速度: 1mm/sec)。次に各濃度のフッ化物 (NaF) をレーザー照射面に応用した。なお、各 NaF 液の応用時間と方法は 2% : 5 分間塗布 (実験群 1 と 4)、0.2% : 50 分間の液中浸漬 (実験群 2 と 5)、0.05% : 200 分間の液中浸漬 (実験群 3 と 6) とした。試料に対する pH サイクリングは、pH4.7 に調整した脱灰溶液 (0.05M 酢酸、2.2mM CaCl₂、2.2mM KH₂PO₄) と pH7.0 に調整した再石灰化溶液 (0.02M HEPES、3.0mM CaCl₂、1.8mM KH₂PO₄) を用いて行い、「脱灰 18 時間⇒水洗 5 分間⇒再石灰化 6 時間⇒水洗 5 分間」のサイクルを 2 回繰り返した。pH サイクリング終了後、自動精密切断機 (Isomet[®], Buehler) にて試料を約 180μm の厚さで歯軸に対して垂直に切断して薄切切片を作製した。さらに砥石法にて #2000 まで研磨し、最終的に約 120μm の厚さに調整した。1 歯片から 2 枚の薄切切片を作製し、各実験群につき 20 枚の切片を得た (n=20)。偏光顕微鏡 (Eclipse LV100POL, Nikon) を用いて脱灰層を観察 (×200) しながら DS カメラコントロールユニット (DS-L2, Nikon) でデジタル情報を取得し、偏光画像上で脱灰深さ (μm) を測定した。二元配置分散分析と Tukey HSD 検定を用いて、レーザー強度あるいはフッ化物濃度が歯根面の脱灰深さに与える主効果ならびに両者の相乗効果に関して統計的に検定した (p<0.05)。

【結果ならびに考察】

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

実験群	1	2	3	4	5	6
レーザー強度 (J/cm ²)	17			25		
フッ化物 (NaF) 濃度 (%)	2.0	0.2	0.05	2.0	0.2	0.05
脱灰深さ (Mean ±SD, μm)	45.8 ±10.4	43.5 ±12.2	32.1 ±7.2	70.8 ±8.4	64.4 ±5.7	66.3 ±8.3

統計分析の結果、今回設定した実験条件では、レーザー強度あるいはフッ化物濃度の主効果、ならびに両者の相乗効果が認められた (p<0.01)。すなわち、レーザー強度では、エネルギー密度が小さい方が有意に脱灰深さは小さかった (p<0.01)。フッ化物濃度では、低濃度 NaF 溶液を長時間浸漬した方が有意に脱灰深さは小さかった (p<0.05)。また、CO₂レーザーの照射強度とフッ化物濃度の併用効果が認められたが、実験条件を追加して今後さらに検討する必要がある。【本研究の一部は、平成 22 年度日本学術振興会科学研究費補助金 (基盤研究 (A) : No.21249091) の助成を受けて行われた。】

Er:YAG レーザーのエネルギー密度と象牙細管の走向が 蒸散深度と変性層の厚みに与える影響

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学分野

○福田隆光, 山本敦彦, 日下部修介, 小竹宏朋, 渡辺茂文, 堀田正人

Morphological alteration of Er:YAG laser irradiated dentin surfaces with dentin tubule orientation

Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,

Asahi University School of Dentistry

○FUKUDA Takateru, YAMAMOTO Atsuhiko, KUSAKABAE Syusuke, KOTAKE Hiroto,

WATANABE Shigefumi, HOTTA Masato

【緒言】

Er:YAG レーザーは、歯質を効率よく蒸散できるレーザーとして保存修復の領域だけでなく様々な分野でその有用性が知られている。しかし、レーザーの臨床応用に際しては確実な照射条件や手技の確立が必要である。そこで、Er:YAG レーザーの照射出力、チップ径を変えることでエネルギー密度を変化させ、2種類の異なる方向で切断した象牙質照射面を作製し、象牙細管の走向により蒸散深度と変性層の厚さがどのように影響されるか検討した。

【材料および方法】

1. 試料の作製

試料は肉眼的にう蝕や修復、着色を認めないヒト新鮮抜去歯を用いた。抜去歯を歯軸に対し垂直、水平方向に切断し、象牙質を露出させ耐水研磨紙#800で研磨を行い照射面とした。

2. Er:YAG レーザーの照射条件

表1にエネルギー密度の条件A~Fを示す。レーザー装置はEr:YAG レーザー (ErwinAdver1, モリタ製作所) を用い、C400F, C600F, C800Fの3種のチップ径を用いた。照射エネルギーの設定はパネル値150mJ, 30mJ, 先端実測値90mJ, 18mJ, パルス値1ppsとした。各照射面には注水下(4ml/sec), エアーマックスにおいて垂直に接触させた状態で1発の照射を各照射面に対し行った。ただし、照射ごとにチップは毎回新品と交換し先端値を測定し照射を行った。各試料について5回測定した。

表1 エネルギー密度(J/cm²)の条件(A~F)

チップの種類	エネルギー密度=照射エネルギー(J)/チップ先端面積(cm ²)	
	実測エネルギー:90mJ	実測エネルギー:18mJ
C400F	A:52.5	D:10.5
C600F	B:19.6	E:3.9
C800F	C:13.8	F:2.8

3. 蒸散深度測定

電子線三次元粗さ解析装置(ERA-B900, エリオニクス社製)を用い、歯軸に対し垂直、水平方向へ切断された各照射面へのレーザー照射後の形状分析(等高線図, 断面曲線, 鳥瞰図, 表面粗さ)及びSEM像を観察した。等高線図より照射面の最高点部から最下点を計測し、蒸散深度(μm)とした(n=5)。

4. 変性層の厚さ測定

レーザー照射後の象牙質照射面をH-E染色, AZAN染色を行い、濃染部を変性層としてデジタルマイクロスコープにて測定した(n=3)。なお、3. 4. で得られた値はすべて二元配置分散分析(ANOVA)と多重比較検定(Sheffé, P<0.05)により有意差検定を行った。

【結果と考察】

蒸散深度は垂直方向では、Aが57.9±6.4(mean±SD), Bが41.7±5.5, Cが57.0±5.8, Dが22.5±4.9, Eが40.0±4.5, Fが18.1±7.4であった。水平方向では、Aが37.4±5.1, Bが18.7±2.9, Cが30.3±6.4, Dが12.0±2.4, Eが28.3±3.7, Fが9.1±2.1であった。二元配置分散分析の結果、切断方向、エネルギー密度に有意差を認め、両者間に交互作用は認めなかった。多重比較検定の結果、同一エネルギー密度では切断方向により、A, BおよびCにおいて蒸散深度に有意差が認められた。変性層の厚さは、H-E染色は0.9~6.0 μm, AZAN染色は0.8~6.5 μmを示した。二元配置分散分析の結果、H-E染色は、エネルギー密度に有意差を認め、AZAN染色は切断方向とエネルギー密度に有意差を認めた。多重比較検定の結果、H-EおよびAZANとも同一エネルギー密度間での切断方向による変性層の厚みには有意差は認められなかった。蒸散深度は象牙質の切断方向において深度が変わったことから、象牙細管の走行が関与する可能性が示唆された。また、エネルギー密度で変性層に差が無かったことから、象牙細管の走行は変性層には影響を及ぼさないことがわかった。

軟化象牙質除去後の残存細菌に対して Er:YAG レーザーが与える影響

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)

○ 吉岡 靖介、野杵 由一郎、高橋 雄介、藪根 敏晃、朝日 陽子、永山 智崇、
古谷 優、栗本 絵里子、北川 蘭奈、武田 侑子、大嶋 淳、山本 由美子、住岡 龍一、永井 真澄、
板東 秀典、林 美加子

Effect of Er:YAG laser on residual bacteria after removal of softened dentin

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

○ YOSHIOKA Seisuke, NOIRI Yuichiro, TAKAHASHI Yusuke, YABUNE Toshiaki, ASAHI Yoko,
NAGAYAMA Tomotaka, FURUYA Yu, KURIMOTO Eriko, KITAGAWA Ranna, TAKEDA Yuko,
OHSHIMA Jun, YAMAMOTO Yumiko, SUMIOKA Ryuichi, NAGAI Masumi, BANDO Hidenori,
HAYASHI Mikako

[目的]

う蝕治療において、窩洞内を可及的に無菌的にすることは、良好な予後を得るために重要である。従来からの軟化象牙質除去は、う蝕検知液による色差を指標に行われているが、より確実な無菌化を図ろうとすると、健全な象牙質の切削を伴うことが多く、現在の潮流である Minimal Intervention に反する。近年、歯科領域において種々の疾病に対する治療法として様々なレーザーが応用されている。その中で Er:YAG レーザーはその波長特性により水への高い吸収性を有し、照射部の表面にのみ反応するという性質を有する。その殺菌効果としては、水分を蒸散させ、バイオフィルムやマイクロコロニーを破砕させることによると考えられている。一方、我々のグループは、根管治療時における Er:YAG レーザーの予防的照射が、臨床的に有用であることを報告した¹⁾。そこで本研究では、象牙質を切削しない出力の Er:YAG レーザーが、軟化象牙質除去後の残存細菌の殺菌に有効ではないかと考え、臨床的評価を行った。

[材料および方法]

対象症例

大阪大学歯学部附属病院保存科診療室にて、う蝕治療が必要と診断された患歯のうち、X線写真よりう蝕が歯髄に到達していない症例を対象として、非照射群 (n=30) とレーザー照射群 (n=28) の2群に分類した。

術式

被験者にラバーダム防湿を行い、う蝕検知液 (Caries Detector、クラレメディカル) にて淡ピンク色になるまで軟化象牙質を除去した。その後、レーザー照射群では、Erwin AdvEri[®] にて淡ピンク染色部に Er:YAG レーザーを照射した。照射条件は 10 pps、出力 40 mJ、焦点距離 5 mm、照射時間 10 秒、非注水とした。照射後、滅菌スプーンエキスカベータにて淡ピンク染色部の象牙質削片を採取し、輸送培地 (ANA ポートTM、阪大微研) 中に浸漬した。非照射群では、照射の過程を除き同様の方法で試料採取を行った。臨床用チオグリコロート血液添加コロムビア寒天培地にて 37 °C、10 日間の増菌培養後、細菌種の同定と細菌数の定量を行った。細菌数については、Student's *t* 検定を用い、危険率 5% にて有意差検定を行った。

[結果]

複数の試料において検出された細菌は、非照射群では *Streptococcus mutans*、*Staphylococcus capitis*、*Streptococcus oralis*、*Streptococcus mitis*、レーザー照射群では *Staphylococcus capitis*、*Propionibacterium acnes* などであった。象牙質内に残存細菌が認められなかったものは非照射群では 9 試料 (n=30) であったのに対し、レーザー照射群では 16 試料 (n=28) であった。1 試料あたりの平均残存細菌数は非照射群で 350.3 CFU/ml、レーザー照射群で 32.9 CFU/ml であり、Er:YAG レーザーを窩洞内に照射することにより、象牙質に残存する細菌数は有意に減少した ($P<0.05$)。なお、両群の全ての症例において術後の臨床症状は認められなかった。

[考察および結論]

軟化象牙質除去後に Er:YAG レーザー照射を行うことにより、う蝕検知液にて淡ピンク染色された象牙質内の残存細菌数は、レーザー照射群において非照射群と比較して有意に減少した ($P<0.05$)。このことより軟化象牙質除去後の Er:YAG レーザー照射は象牙質内残存細菌の殺菌に有用である可能性が示唆され、Minimal Intervention の概念に基づいた治療をより確実なものへとつなげることが期待される。今後、レーザー照射に伴う歯髄や象牙質接着に及ぼす影響が実用に向けての課題となるであろう。

[参考文献]

1) 野杵 由一郎、他: Er:YAG レーザーが根尖部の感染根管に残存細菌に及ぼす影響、日歯保存誌 49 (4): 537~544, 2006

噴霧注水における Er:YAG レーザー照射の除去効率について —試作レーザーチップの検討—

大阪歯科大学歯科保存学講座

○吉川一志, 岩田有弘, 保尾謙三, 魯 灵, 林原久盛, 畑下芳史, 山本一世

Removal efficiency of Er:YAG laser irradiation with pouring water of fog-form

—Evaluation on Newly Developed laser chip—

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○YOSHIKAWA Kazushi, IWATA Naohiro, YASUO Kenzou, Lu Ling, HAYASHIHARA Hisamori,

HATASHITA Yoshihumi, YAMAMOTO Kazuyo

【緒言】

近年, 歯科用レーザーの応用が進み, 臨床においても様々な分野で使用されるようになってきた. 歯牙硬組織切削では, Er:YAG レーザーは特に優れた効果を示し, 臨床応用されている. しかしながら, 高速回転切削器具には除去効率では到底及ばず, 治療時間の超過など問題となっている. 除去効率を向上させるため, 先端出力や繰り返し速度(パルス数)を上げる試みがされてきているが, 歯髄への影響など様々な問題を抱えている.

我々の研究グループは注水装置に着眼し, より効率よく歯質除去を行うために従来の注水機構ではなく, 霧状に噴霧注水できる装置を利用し, 除去効率について実験を行い, 第 129 回秋季保存学会にて発表した.

今回, モリタ製作所の協力の下, 注水方式を霧状に改良した試作チップを作成し, 検討を行ったので報告する.

【材料および方法】

Er:YAG レーザー発振装置として Erwin[®] Adverl (モリタ製作所, 以下レーザー)を用いた. 照射条件を 100mJ とし, 繰り返し速度は 10pps とした. 照射チップは C600F と注水方式を霧状の改良した試作チップを使用した. また先端出力は出力測定器 LaserMate-P (COHERENT) にて計測し, 規定した.

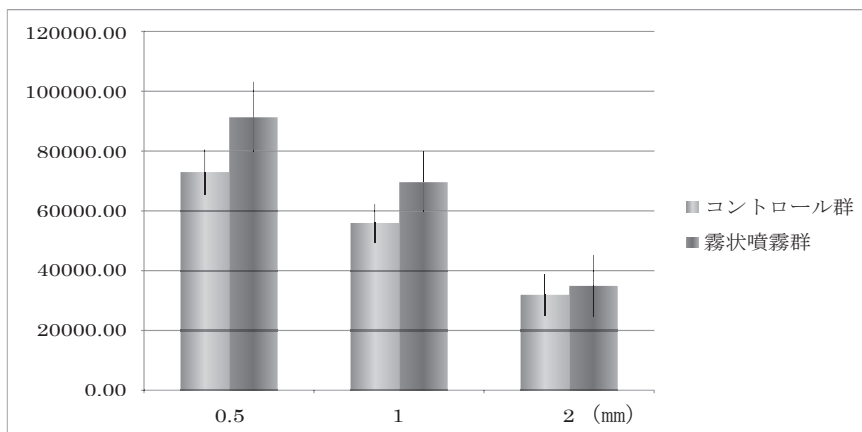
被験歯として牛歯を用い, 象牙質までモデルトリマーにて面出しを行い, 耐水紙 #2000 まで研磨を行った後, 1 cm/s でムービングステージを移動させ, レーザー照射を行った. レーザー照射は試料までの距離を 0.5, 1.0 および 2.0 mm に規定した. C600F にてレーザー照射を行った群をコントロール群, 試作チップにてレーザー照射を行った群を霧状噴霧群とした. 各試料はレーザーマイクロスコープ (KEYENCE, 倍率×100) にて観察を行い, 断面積量を計測した (n=5).

なお, 測定結果は一元配置分散処理および Tukey の検定により統計処理を行った (P<0.01).

【結果および考察】

断面積量の結果を下図に示す. 距離 0.5 および 1.0mm では霧状噴霧群はコントロール群よりも有意に高い値を示した. このことより, 霧状噴霧がレーザーによる除去効率の向上に有効であることが示唆された. 距離 2mm では有意な差は認められなかったが, チップ先端から試料までの距離が大きくなるにつれ照射エネルギーも減弱するため, 除去効率に大きな差が生じにくくなったためと考えられる.

今後は照射エネルギーや繰り返し速度を変化させるなど, 臨床における様々な状況においても研究を進めていく予定である.



マウス脛骨における炭酸ガスレーザーのエネルギー密度と骨形成能について

奥羽大学 歯学部 歯科保存学講座

○和田康弘、横瀬敏志

Bone formation induced by CO₂ laser irradiation depending on energy density in Mice Tibiae

Department of Conservative Dentistry School of Dentistry Ohu University

○Yasuhiro Wada, Yokose Satoshi

【目的】我々の教室では骨におけるレーザー応用について研究を行い、インプラントの初期固定や骨欠損部位での骨形成などについて報告を行ってきた。高齢化社会を迎えて来院患者の全身疾患や骨病変と歯科治療の関係を解析する上でも、各種病態動物として系が確立しているマウスを用いた実験を行うことは基礎的解析を行う上で有用である。しかしながら、マウスを実験に用いることは試料が小さく困難な点が多い。そこで、今回マウス脛骨へのレーザー照射条件（エネルギー密度）と骨形成の関係を調べるためにマウス脛骨に異なるエネルギー密度で CO₂ レーザーを照射し形態学的に比較検討した。

【方法】雌マウス 8 週齢を用い、ネンブタール 25 μ l/100g を投与し麻酔下にてマウス脛骨部を切開し骨膜を剥離し、炭酸ガスレーザー（ヨシダ社製）を用い、照射条件として 1.0W 0.1~0.8S の設定条件を用いて実験を行った。照射後、7 日にて屠殺し、通法により 10%パラホルムアルデヒド 4°Cで固定し、その後脱灰、パラフィン包埋を行った。4 μ m の切片を作製し、ヘマトキシリンエオジン染色を行いレーザー照射部位の炭酸ガスレーザー深部到達、骨形成について観察した。

【結果と考察】脱灰切片において、レーザー照射された皮質骨には炭化層の形成や骨細胞の空洞化などの器質的変化が認められた。また内骨面に接する骨芽細胞には骨の改造現象が確認された。このように、マウス脛骨への炭酸ガス照射が骨形成を誘導する効果があることが確認された。レーザーの深部到達では骨への穿孔が生じていることが確認された。深部到達の程度による骨形成の違いは骨への穿孔において骨形成が促進していることが確認された。炭酸ガスレーザーは深部到達が低いとされている、そのためエネルギー密度の差による組織の損傷と骨形成が及ぼすレーザー深部到達度の関係について更なる解析が必要であると考えられる。マウスを用いたレーザー照射実験は有用な骨解析実験動物となる事が示唆された。

【結論】炭酸ガスレーザーをマウス骨組織に照射した場合、骨組織の形成誘導がみられた。

修復用ガラスイオノマーセメントの色調に関する研究

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
○中村芳章 志賀華絵 岡田伸男 千葉史子 山本槇子 熊谷啓二 工藤義之 野田 守

A Study of Glass Ionomers for Restorative.

Division of Operative Dentistry and Education for General Practice Residency, Department of General Dentistry,
School of Dentistry, Iwate Medical University

○Nakamura Yoshiaki, Shiga Hanae, Okada Nobuo, Chiba Fumiko, Yamamoto Makiko,
Kumagai Keiji, Kudou Yoshiyuki and Noda Mamoru

【研究目的】

ガラスイオノマーセメントは歯質接着性や抗齶蝕性を有する審美修復材料であり、合着や充填などその用途は多岐にわたる。修復用材料は近年改良が進み、臼歯部の修復に使用可能な高強度充填用ガラスイオノマーセメントが市販されている。

ガラスイオノマーセメントの色調に関しては、コンポジットレジンと比較して透明性が劣ること、長時間の水中浸漬により色調の変化がみられることが報告されているが、高強度材料の色調変化や既存のシェードガイドとの比較を行った報告は少ない。

そこで本研究では、3種類の修復用ガラスイオノマーセメントの経時的な色調変化、材料の厚さによる背景色の透過性、シェードガイドの1つである VITAPAN ClassicalR との色調の違いについて調査を行った。

【材料および方法】

GC社製の修復用ガラスイオノマーセメント①FujiIXGP Extra Capsule (以下, EC) ② FujiIXGP (以下, GP) ③Fuji IILC Capsule (以下, LC) を使用し、シェードはすべて A3 とした。

各セメントを業者指示で練和し、厚さ 1.0, 1.5, 2.0, ならびに 2.5 mm の平板試料を作製した。硬化後の試料全面に Fuji varnish (GC) を塗布してエアード乾燥後、37°C 相対湿度 95±5% 下に静置した。練和直後、24, ならびに 48 時間後に測色計 (Crystaleye Ver1.5.0.0: OLYMPUS) にて L* 値, a* 値, b* 値を測定した。背景色は白色板 (L*: 96.91 a*: -0.31 b*: -0.04) と黒色板 (L*: 1.14 a*: -2.64 b*: -6.48) を使用した。

また、各試料から得られた計測値と VITAPAN Classical A3 (L*: 69.60 a*: 1.89 b*: 20.09) から ΔL^* , Δa^* , Δb^* および色差 ΔE を算出した。

得られたデータは Student t-test, One-way ANOVA, Student Newman-Kureus にて統計学的検討を行った ($p < 0.05$)。

【結果および考察】

練和後の時間経過と色調変化について、GP, LC で練和直後と練和後 24 時間の間で有意差を認めたが EC では有意差を認めなかった。GP では L*, LC では L* および b* の変化が著明であった。この変化については測色中のセメントの水分の蒸発および、硬化反応の進行による影響が考えられた。

背景色の違いによる色調の差は GP, LC で有意に大きく、L* 値の差が著明であったが、EC は背景色による有意差を認めなかった。GP および EC は屈折率が低下するよう改良されている製品であるが、EC は機械練和で均一に練和されていることでより安定した色調を示したものと考えられた。また試料の厚さの違いによる色調の差は 2.0 mm 以上で有意差を認めなかったことから、各材料とも厚さ 2.0 mm 以下では背景の色を透過し、セメント硬化体の色調に影響すると考えられた。

VITAPAN Classical A3 との色差 ΔE^*_{ab} 値は、試料の厚さが増加するにつれ値が小さくなる傾向を示したが、各条件においても $\Delta E^*_{ab} > 3$ であり、VITAPAN Classical とは肉眼で色調の違いが判別されたと考えられた。

以上のことから、ガラスイオノマーセメント修復においてより審美性の高い修復を行うためには、セメントの色調透過性から窩洞の形態や深さを考慮する必要があるが、併せて修復処置後の感水や離水を防止することが重要であると考えられた。

歯冠色色弁別能訓練教材の開発とその効果

明倫短期大学 歯科技工士学科

○木暮ミカ, 飛田 滋

Development of the educational material for ability of distinguish tooth-color and the effects

Department of Dental Technology, Meirin College, Niigata, Japan

○Kogure Mika, Tobita Shigeru

【目的】

審美歯科治療を成功させるためには、口腔内で精度の高いシェードテイキングを行い、模型上で正確に色調を再現するという工程がきわめて重要であることは言うまでもない。前報¹⁾²⁾では、加齢による眼光学系の基質変化が色弁別に与える影響は低く、色弁別能は弁別経験を蓄積することで向上しないしは維持することが可能であることが示唆された。そこで本研究では、歯冠色の再現に必要な色弁別能の向上を目的とした、明度、彩度、色相に関する色弁別能訓練教材を試作し、その効果を検証したので報告する。

【材料および方法】

1. 色刺激：ポーセレンパウダーはビタ VMK9 のデンティンを使用し、シェードシステムはビタパン 3D-マスターシェードを用いて明度群 (1-5)、彩度群 (1-3)、色相群 (L, M, R) において等間隔になるような直径 15mm×高さ 2.0mm の資料を作成した。(図 1)。



図 1. 色刺激

2. 被験者：色盲および色弱者でない 20 歳から 29 歳の本学学生男女 26 人とした。

3. 方法：

1) 色刺激を分光測色計 CM-700d (コニカミノルタ社) を用いて測色し、隣接する色刺激の色差を CIE2000 色差式と CMC2:1 色差式で算出した。

2) 歯冠色弁別能力検査：シルクグレーカード (反射率 18%標準反射板, 銀一社) 上で、あらかじめ各群内で色刺激の配列が不規則になるよう並び替えておき、被験者に 2 分間で正しい順序になるように再配列させる。これを 1 分の休憩をはさんで 2 度行った。なお、観測面照度は約 1,000Lx とし、照明光は D65 の蛍光灯を用いた。

【結果および考察】

色刺激の各群の色差を表 1 に、各回の正答率を表 2 に示す。1 回目と 2 回目の検査結果を Wilcoxon の符号順位検定を用いて検定したところ、有意に正答率の向上が見られた。正答率を色刺激群毎に見てみると、色相群の正答率が低く彩度群が高いが、これはもともと歯冠色が低彩度かつ色相が YR(黄赤)から Y(黄)の狭い範囲に位置していることに起因するものと思われる。

表 1. 色刺激の色差の平均値

	明度群	彩度群	色相群
色差 ΔE00	2.01±0.54	1.72±0.61	1.50±0.35
CMC2:1	1.45±0.29	1.76±0.56	1.06±0.08
ΔL*	2.14±0.77	0.97±0.58	0.21±1.75
Δa*	0.71±0.41	0.41±0.44	0.42±0.26
Δb*	0.41±1.16	2.63±0.72	0.41±0.78
ΔC*	0.56±1.16	2.66±0.79	0.32±0.78
ΔH*	0.67±0.50	0.26±0.17	0.49±0.26

表 2. 検査結果

	正答率 (n=26)			
	総合	明度群	彩度群	色相群
1回目	78.6±13.39	84.62±13.83	93.85±14.72	54.62±30.76
2回目	98.30±4.09	98.08±6.79	96.92±10.87	67.69±33.50

※ p<0.05
※※ p<0.01

謝辞：本研究にあたり、教材製作にご協力いただいた株式会社 GC 様、検証実験にご協力くださった被験者の皆様に感謝の意を表します。

【参考文献】

木暮ミカ, 飛田滋, 長谷部日：加齢に伴う視機能の低下と色弁別能との関連について, 日歯保誌 55(2), 151-157, 2012.

木暮ミカ：中心窩網膜の IS/OS-RPE ラインと色弁別能力との関連について, 歯科の色彩 18, 43-46, 2012.

有彩色上でのフロアブルコンポジットレジンの色について

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存修復学分野
○小澤有美 岩坂憲助 市村 葉 石原祥世 片山 直

A Colorimetric Basic Study on Flowable Resin Composit on Chromatic color Background

Division of Operative Dentistry Department of Restorative and Biomaterials Sciences
Meikai University School of Dentistry
○Ozawa Yumi Kensuke Iwasaka You Ichimura Ishihara Sachiyo Katayama Tadashi

【目的】 コンポジットレジンの修復は、齶蝕治療や Tooth wear などの実質欠損に対する修復において歯面に対する接着システムの発展にともない臨床の場においてなくてはならない歯科材料のひとつとなっている。また、MI に基づく治療で歯冠修復を行うと窩洞は小さく狭くなり複雑な窩洞形態になってきている。そこで、このような窩洞でも容易に充填できるフロアブルコンポジットレジンの市販されている。フロアブルコンポジットレジンは、操作性のみならず機械的性質も改良され向上し、ますます臨床の場で頻繁に使用される機会が増えてきた。今回、このフロアブルコンポジットレジンのスタンダードなコンポジットレジンの同様に、天然歯と調和したコンポジットレジンの修復が行うことができるのか、う蝕除去後の着色象牙質の色を参考にして、背景の有彩色がフロアブルコンポジットレジンの色にどのような影響を与えるのか基礎的実験を行ったので報告する。

【材料・方法】 1, 材料 フロアブルコンポジットレジン テトリック N-フロー(Ivoclar Vivadent, Liechtenstein)、プレミスフロアブル(Kerr, USA)、フィルテックTM シュープリームフローコンポジットレジ(3M ESPE, USA)、エステライトフロックイック(トクヤマデンタル)にて試料を作製した。使用したシェードは共通の A2、A3 である。試料は、内径 8mm のプラスチックリングに填入し、ハロゲンランプ重合器 (Astral) にて両面から 20 秒ずつ光重合を行い、耐水研磨紙 (BUEHLER) #600 で即日研磨し、24 時間後 #800、#1200 の順に 1.0mm と 0.5mm の厚さになるように研磨を行い各試料 5 個ずつ作製した。背景色板 白色板、黒色板、有彩色票(2 種)、を測色する時の背景とした。

2, 方法 各試料をそれぞれの背景色板上に置き、非接触式分光測色器 Spectra Scan PR650 (Photo Research, USA) にて D65 光源、照度 1000lx、45 度照明—0 度受光の条件下で各試料を 5 回ずつ測色した。測色したデータ CIELAB 値から Translucency parameter (TP 値)、有彩色票上での L^* 値と C^* 値を算出し比較検討を行った。

【結果および考察】 ①各フロアブルコンポジットレジンの透明性を調べるため TP 値を算出した。この値は、大きいほど透明性が高いことを示す。その結果、試料の厚さ 0.5mm の方が全ての試料において透明性が高かった。

② L^* 値：天然歯の平均的な明度に修復するにあたり、試料の厚さ 1.0mm の方が修復可能であることが示された。また、厚さ 0.5mm の場合は困難であると思われた。

③ C^*ab 値：有彩色票の C^*ab 値が高くなると必ずしもフロアブルコンポジットレジンの C^*ab 値が高くなるわけではなかった。

【結論】 各種フロアブルコンポジットレジンの有彩色上での色を比較検討すると

- 1) 厚さが 0.5mm の場合は、透明性が高く背景色の影響を受けやすく、今回の条件下においては理想的な色調に修復することは困難であると思われた。
- 2) 厚さが 1.0mm の場合は、厚さ 0.5mm よりも透明性が低く背景色の影響は受けにくい。よって、理想的な L^* 値に修復することは可能であるが、理想的な C^*ab 値に修復するには更なる検討が必要であると思われた。

S-PRG フィラー含有コンポジットレジンの抗菌性

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子制御学講座(歯科保存学教室)¹、顎口腔機能再建学講座(歯科理工学教室)²

○三木彩希¹、今里 聡²、騎馬和歌子¹、北川蘭奈¹、林 美加子¹

Antibacterial activity of composite resins containing S-PRG filler

Department of Restorative Dentistry and Endodontology¹,

Department of Biomaterials Science², Osaka University Graduate School of Dentistry

○Saeki Miki¹, Satoshi Imazato², Wakako Kiba¹, Ranna Kitagawa¹, Mikako Hayashi¹

【研究目的】

フルオロボロアルミノシリケートとポリアクリル酸の反応に基づいて合成された S-PRG フィラー (松風) は、Al³⁺、BO₃³⁻、Na⁺、SiO₃²⁻、Sr²⁺、F⁻といった多種のイオンを徐放する特性があり、石灰化促進 (Ito *et al.*, 2011) やプラーク付着抑制 (Hirose *et al.*, 2006) などの効果を発現することが報告されている。一方、これらのイオンのうち、BO₃³⁻ は、*Staphylococcus aureus* や *Escherichia coli* に対して抗菌性を示すホウ酸のイオン化状態のひとつであり、S-PRG フィラーからのイオン溶出によって口腔細菌に対する抑制効果がもたらされることも期待できる。しかしながら、現在までのところ、S-PRG フィラーを含有する修復材の抗菌性を詳細に検討した報告は見当たらない。

そこで本研究では、S-PRG フィラーを種々の濃度で配合したコンポジットレジン (CR) を試作し、その硬化体表面での細菌増殖抑制効果を評価するとともに、6 種の成分の溶出濃度測定を行った。

【材料および方法】

Bis-GMA/TEGDMA をモノマー組成とし、S-PRG フィラー:シリカフィラーを vol% で 0:100 (P0;control)、25:75 (P25)、50:50 (P50)、75:25 (P75)、100:0 (P100) の比率で混合したフィラーを含む 5 種の CR を調整した (最終フィラー配合率 55.9 vol%)。直径 9mm、深さ 2mm のモールドに各 CR ペーストを充填し、40 秒間の光照射を行って硬化ディスクを作製し、以下の実験に供した。

- 1) 抗菌性の評価: 硬化 CR 試料上に約 3×10^3 CFU/mL に調整した *Streptococcus mutans* NCTC10449 懸濁液 50 μ L を播種し、37°C、嫌気条件下で培養した。18 時間後に菌液を回収し、希釈後、plate 法により菌数測定を行った。
- 2) 溶出成分の濃度測定: 硬化 CR 試料 1 枚の上に蒸留水 50 μ L を滴下し、37°C 下で静置した。18 時間後、試料 5 個分の溶出液をまとめて回収し、蒸留水で希釈後、ICP 発光分光分析装置 (ICPS-8000, SHIMADZU) を用いて Al, B, Na, Si, Sr の濃度測定を行った。また、溶出液中の F 濃度をフッ素イオン電極 (Model 9609BN, Orion Research) を用いて測定した。

【結果】

- 1) P100, P75, P50 上で培養した場合には、P25, P0 と比較して有意に細菌数が少なく (ANOVA, Fisher's PLSD test, $p < 0.05$)、増殖抑制効果が認められた。
- 2) S-PRG フィラー含有率が高い CR ほど Al, B, Na, Si, Sr, F のすべてについて溶出液中の濃度が高くなる傾向がみられたが、とくに、P100, P75, P50 では P25 と比較して有意に高い溶出が認められた (ANOVA, Fisher's PLSD test, $p < 0.05$)。6 種の中では B の溶出が最も大きく、P100, P75, P50 は、それぞれ約 130ppm、約 90ppm、約 50ppm の濃度を示した。

【考察および結論】

試作 CR において、含有するフィラーの 50% 以上を S-PRG フィラーが占める場合には、有意な細菌増殖抑制効果が認められた。また、これらの試料では、Al, B, Na, Si, Sr, F のすべてについて、S-PRG フィラー比率が 25% のものよりも溶出濃度が高いという結果が得られ、S-PRG フィラーからのイオン溶出が細菌の増殖抑制に関与していることが推察された。とくに B は 6 種の溶出成分の中で最も濃度が高く、BO₃³⁻ の溶出が抗菌性発現の主因となっている可能性が考えられた。

抗菌性表面処理剤の歯科への応用 (II)

— 抗菌性シランカップリング剤の抗菌効果 —

神奈川県大学 口腔治療学講座 保存修復学分野¹,
神奈川県大学 感染制御学講座 微生物学分野², 神奈川県大学 顎口腔機能修復科学講座 有床義歯補綴学分野³,
神奈川県大学 総合歯科学講座⁴, 東京理科大学 工学部 工業化学科⁵
○三宅 香¹, 熊田秀文², 二瓶智太郎¹, 大橋 桂¹, 清水統太³, 原 めぐみ⁴, 近藤行成⁵, 好野則夫⁵, 浜田信城², 寺中敏夫¹

Application of surface modifier having antibacterial potency in dentistry (Part.2)

— antimicrobial effect of antimicrobial silane coupling agent —

Division of Restorative Dentistry, Department of Oral Medicine¹,
Division of Microbiology, Department of Infection Control², Department of Maxillofacial Rehabilitation Kanagawa Dental College³,
Department of Comprehensive Dentistry⁴ and Department of Industrial Chemistry, Tokyo University of Science⁵
○MIYAKE Kaori¹, KUMADA Hidefumi², NIHEI Tomotaro¹, OHASHI Katsura¹, SHIMIZU Tota³, HARA Megumi⁴,
KONDO Yukishige⁵, YOSHINO Norio⁵, HAMADA Nobushiro² and TERANAKA Toshio¹

【研究目的】

近年、高齢者の口腔粘膜疾患が増加している。その中でも口腔カンジダ症の増加が注目され、予防・治療法における新規開発研究の必要性が示唆されている。我々は、材料表面への抗菌性の付与を目的として第4級アンモニウム塩の構造を有するシランカップリング剤 N-allyl-N-decyl-N-methyl-N-trimethoxysilylpropylammonium iodide (以下、10-I) を合成した。本研究では、合成シランカップリング剤の口腔常在細菌に対する抗菌活性を、カンジダ菌、歯周病原細菌および齲蝕病原細菌を含む8菌株を供試し、最小発育阻止濃度 (MIC) 測定および10-I被覆表面上の抗菌活性測定により検討した。

【材料および方法】

供試菌は *Actinomyces viscosus* (ATCC 15987), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586), *Lactobacillus casei* (ATCC 393), *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600) および *Streptococcus mutans* (Ingbritt) を用いた。

1. MIC 測定

20 mmol/l の10-I/EtOH 溶液を作製し、BHI-yeast 寒天培地 (好気性菌) および血液寒天培地 (嫌気性菌) に加え、培地に含有される10-Iの濃度が100, 200, 400, 600および800 ppmになるよう調製した。平板培地上に各供試菌懸濁液10 μ lを播種し、好気性菌は37 $^{\circ}$ C, 24時間、嫌気性菌は37 $^{\circ}$ C, 72時間培養し、発育が観察されなかった培地の最小化合物濃度をMIC値とした。

2. 10-I処理面の抗菌活性測定

1 mol/l NaOH と 1 mol/l HCl に各一昼夜浸漬して表面の汚染物質を除去した市販ガラス板 (20 \times 20 \times 3mm, 旭ガラス) を 400 ppm に調製した十分量の各改質剤溶媒中に1時間浸漬して表面改質を行い、自然乾燥後、エチレンオキサライドガスにより滅菌した。対照群は、溶媒である EtOH を使用し、実験に供した。

前培養した *C. albicans* を、6.2 \times 10⁷ CFU/ml, 1.1 \times 10⁵ CFU/ml, 1.1 \times 10⁴ CFU/ml に調製し、各菌液 4ml と表面改質したガラス板を各ウエルに1枚ずつ加え、一定振盪下で37 $^{\circ}$ C, 24 hr 好気的に培養した。培養後、各ウエルの生菌数を計測し、対照ウエルの菌数と実験ウエルの菌数の割合を比較して減少率を求め抗菌活性とした。

【結果】

1. MIC 測定

A. viscosus, *F. nucleatum*, *L. casei*, *P. gingivalis* および *P. intermedia* の5菌株に対するMIC値は各々200 ppm, 一方、*C. albicans*, *S. aureus* および *S. mutans* のMIC値は400 ppmであった。

2. 10-I処理面の抗菌活性

10-I 処理面の生菌数の減少率は、6.2 \times 10⁷ CFU/ml では56.5%, 1.1 \times 10⁵ CFU/ml では67.1%, 1.1 \times 10⁴ CFU/ml では92.5%であり、減少傾向を示した。

【考察】

以上の結果より、10-I およびその処理表面は、カンジダ菌を含む他の口腔細菌にも有益な抗菌作用を示すことから、高齢者や免疫機能低下者など、口腔固有の菌が起炎菌となる歯科疾患のみならず誤嚥性肺炎などの全身疾患の併発の抑制あるいは予防に繋がると考えられる。

殺菌処理後のバイオフィーム構造への *Streptococcus mutans* の初期付着について

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

Initial 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

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

【目的】 演者らは第 135 回本学術大会において、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を報告した。この結果から、残存した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る。そこで本研究では、殺菌処理後の *Streptococcus mutans* バイオフィームに対する同一浮遊細菌の初期付着に着目し、バイオフィーム量と付着細菌数との関連を検討した。

【材料及び方法】

(バイオフィームの形成) 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 *S. mutans* ATCC 25175 株培養液中に 75 rpm の速度で回転させながら 37°C、90 分浸漬することにより、ディスク表面に細菌を付着させた。90 分後、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 1 日または、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。

(細菌の再付着) ディスクを 70% イソプロピルアルコールに 90 分浸漬し殺菌処理したのち、再度 RDR 中で 10^6 /ml に調整した対数増殖期の *S. mutans* 培養液を 15 分間灌流させた。バイオフィーム未形成のレジンディスクを同様に処理したものをコントロール群とした。

(定量分析) 実験群、コントロール群の各ディスクを 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。また、殺菌処理後のバイオフィーム構造中の総菌数 (死菌数) を PCR-Invader 法により計測した。また、フェノール硫酸法によりバイオフィーム中の不溶性グルカン量を定量した。

【結果】 定量分析の結果、1 日、3 日培養後のバイオフィーム構造中の死菌数 (平均) は各 4.2 logCopies/ml、5.7 logCopies/ml、また不溶性グルカン量はそれぞれ、 $< 5.57 \mu\text{g}$ 、 $30.8 \pm 21.8 \mu\text{g}$ であり、いずれも 3 日培養で有意に多量であった (Mann-Whitney's U test, $p < 0.05$)。さらに、コントロールあるいは 1 日、3 日培養後のバイオフィーム死菌構造に 15 分間で再付着した生菌数 (平均) はそれぞれ 4.4 logCFU/ml、5.7 logCFU/ml、6.1 logCFU/ml、また総菌数 (平均) はそれぞれ 4.7 logCopies/ml、6.8 logCopies/ml、7.8 logCopies/ml であり、生菌数、総菌数ともコントロールより 1 日培養、また 1 日培養より 3 日培養で有意に多量であった (Steel-Dwass test, $p < 0.05$)。

【結論】 殺菌処理後の *S. mutans* バイオフィームにおける同一浮遊細菌の初期付着量は、残存バイオフィーム構造中の死菌数、およびその構成成分である不溶性グルカン量が多量となるに従い増加する傾向を示した。

Rep-PCR を用いた *S. mutans* 血清型 *f* のバンディングパターンの差異について

日本大学松戸歯学部保存修復学教室

○岡田珠美、鈴木英明、池見宅司

The differentiation of banding patterns of *S. mutans* serotype *f* in rep-PCR with ERIC primer

Department of Operative Dentistry Nihon University School Dentistry at Matsudo.

○Tamami Okada, Hideaki Suzuki and Takuji Ikemi

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 *o&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。遺伝子型の差異を見る方法として pulsed field gel electrophoresis (PFGE) は gold standard であるがこの方法は操作が複雑であることに加え特殊な器具が必要であり、時間もかかる。対して本法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 135 回)。また標準株において血清型 *f* は血清型 *o&e* と異なったバンディングパターンの認められることも報告した(第 134 回)。今回は異なったバンディングパターンの認められた *S. mutans* の標準株(血清型 *f*) 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. mutans 標準株 2 菌株(血清型 *h*) とヒト口腔より分離した数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、濁度計を用いて濃度を調節した。市販プライマー ERIC1R (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3') と ERIC 2 (5'-AAGTAAGTACTGGGGTGTAGCG-3') (Integrated DNA Technologies)・バッファーコンポーネント(EPICENTER Technologies)を用い通常に従い PCR を行った。得られた増幅産物は 2%のアガロースゲル使用の電気泳動により分離を行った後、エチジウムブロマイドにて染色した。得られたバンディングパターンの多様性を標準株間および臨床分離株間で比較検討した。

【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. mutans* 標準株(血清型 *c*)と比較して血清型 *f* の標準株および分離株のうちに数株のパターンは異なっていた。
- 3) 血清型 *f* の分離株のうちの 2 菌株では若干の差異は認められるが 2000bp, 1700bp, 1400bp, 1100bp, 800bp, 250bp に強く染色されるバンドが認められた。これは血清型 *c* に認められるバンディングパターンと同じであった。
- 4) これに対して血清型 *f* のうち標準株 2 菌株と分離株 4 菌株には 1700bp, 1400bp, 1100bp, 800bp, 250bp に強く染色されるバンドが認められたが、2000bp には強く染色されるバンドは認められなかった。若干の差は認められるが、この 6 菌株のバンディングパターンは類似していた。

以上の結果は、本 rep-PCR 法は *S. mutans* 血清型 *f* にも応用出来る事が認められた。また血清型 *f* のバンディングパターンは他の血清型と異なるパターンを有する株の割合が多い可能性が示唆された。今後より多くの血清型 *f* の分離菌株についてのバンディングパターンを調べて異なるパターンを有する株の割合を確認することとともに、この異なった血清型 *f* 株の WIG 合成能、試験管ガラス壁への固着能試験などの齲蝕原生を調べる試験等を行い本菌株群のもつ差異について追及する予定である。

音波振動式電動歯ブラシおよびリステリン®併用時の

Streptococcus mutans 人工バイオフィルムの剥離効果について

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野, ²国立感染研究所細菌第一部第六室
○¹浪岡奈保子, ¹竹中彰治, ¹大墨竜也, ¹若松里佳, ¹福田敬, ¹富田文仁、
²成澤直規, ²泉福英信, ¹興地隆史

Detachment of *Streptococcus mutans* biofilm by Listerine® in conjunction with an electric toothbrush

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○NAMIOKA Naoko, TAKENAKA Shoji, OSUMI Tatsuya, WAKAMATSU Rika, FUKUDA Takashi,
TOMITA Fumihito, NARISAWA Naoki, SENPUKU Hidenobu, OKIJI Takashi

【目的】 演者らはこれまで、洗口液でバイオフィルム中の細菌を殺菌した場合にその構造が付着界面に残存すること、残されたバイオフィルム構造が新たな細菌付着を促進する可能性があることを報告してきた。バイオフィルムを分散させる方法のひとつとして、機械的応力を併用することで相乗効果が期待できる可能性がある。そこで本研究では、音波式電動歯ブラシおよびリステリン併用時の *in vitro Streptococcus mutans* バイオフィルムの剥離効果について検討した。

【材料及び方法】

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 の *Streptococcus mutans* ATCC 25175 株を含む BHI 液体培地中で 75 rpm の速度で回転させながら 37°C、2 時間浸漬して表面に細菌を付着させたのち、さらに 3 日間、50 rpm の速度で回転させながら 0.05% スクロースを含む 1/10 濃度の BHI 液体培地中で好気培養することによりバイオフィルムを形成させた。培地は 12 時間ごとに交換した。次いで、ディスクを PBS にて洗浄のち、左上 5,6 人工歯 (ニッシン社製) の隣接面部 (頬側から 2mm、ディスク間距離 2mm の位置) に固定した。次に試料を PBS 浸漬群 (C 群)、リステリン (J&J 社製) 浸漬群 (L 群)、および各溶液と音波振動式電動歯ブラシ (ソニックアー, フィリップス社製; ET) との併用群 (C+ET 群、L+ET 群) の 4 群 (各 n = 7) にわけ、浸漬群では各溶液中に 5 秒間浸漬、また ET 併用群では浸漬した状態で ET をディスクから 2mm 離れた位置から 5 秒間作用させた。その後、ディスクを PBS にて洗浄し、残存バイオフィルム構造を SEM にて観察するとともに、超音波処理によりバイオフィルムを回収したのち、生菌数を Plate count 法により、総菌数を PCR-Invader 法により計測した。統計学的解析には、一元配置分散分析および Tukey test を行った。

【結果】 SEM 観察において、ディスクに残存したバイオフィルム構造は L+ET 群が少ない傾向にあった。生菌数 (LogCFU ± SD/ml) は、それぞれ 6.32 ± 0.51 (C 群)、 5.89 ± 0.89 (L 群)、 6.08 ± 0.3 (C+ET 群) および 4.61 ± 0.41 (L+ET 群) であり、L+ET 群は他のすべての群と比較して有意に少なかった (C, L 群に対し $p < 0.01$; C+ET 群に対し $p < 0.05$)。C, L および C+ET 群間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。総菌数 (LogCFU ± SD/ml) は、それぞれ 5.72 ± 0.11 (C 群)、 5.97 ± 0.19 (L 群)、 5.68 ± 0.18 (C+ET 群) および 4.79 ± 0.11 (L+ET 群) であり、L+ET 群は他のすべての群と比較して有意に少なかった ($p < 0.05$)。C, L および C+ET 群間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

【考察および結論】 今回の人工バイオフィルムモデルにおいては、リステリン単独および音波振動式電動歯ブラシ単独での 5 秒作用では有意なバイオフィルム剥離効果が得られなかったが、両者を併用することにより、ブラシでの機械的除去が困難な隣接面部におけるバイオフィルム剥離効果が増強した。洗口液に代表されるような化学的コントロールは、機械的コントロールとうまく組み合わせて使用することで、両者の欠点を補完するとともに相乗効果が期待できると思われる。

新規 2 ステップセルフエッチシステムの基本的接着性能

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 総合歯学研究所生体工学研究部門, ³ 佐藤歯科
○坪田圭司^{1,2}, 白土康司¹, 田村ゆきえ¹, 陸田明智^{1,2}, 古賀賢策¹, 安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 佐藤幹武³

Adhesive properties of two-step self-etching primer system

¹Department of Operative Dentistry, ²Division of Biomaterials Science, Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry, ³Sato Dental Clinic
○TSUBOTA Keishi^{1,2}, SHIRATSUCHI Koji¹, TAMURA Yukie¹, RIKUTA Akitomo^{1,2}, KOGA Kensaku¹,
ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, SATO Mikitake³

【研究目的】

今日の臨床において、光重合型レジン接着システムとしてセルフエッチシステムが汎用されている。セルフエッチシステムは、その脱灰メカニズムのよってさらに処理操作を簡略化したシングルステップシステムが開発、臨床応用されている。しかし、シングルステップシステムに関してはエナメル質に対する接着性が従来のシステムと比較して低いこと、アドヒーズに対するエアブロー条件がテクニクセンシティブ因子になること、あるいはアドヒーズの相分離などの問題点が指摘されている。したがって、2ステップのセルフエッチシステムの臨床応用頻度も高いのが現状である。

最近、SDS Kerr より新たに2ステップシステムのOptibond XTRが発売された。本システムの特徴は従来の2ステップセルフエッチシステムと比較して薄いアドヒーズ層とされており、審美的にも有用なものと考えられる。演者らは、この2ステップセルフエッチシステムの基本接着性を評価することを目的として、被着面積がエナメル質および象牙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2ステップシステムは、新規2ステップセルフエッチシステムのOptiBond XTRおよび対象としてClearfil Mega Bond (Kuraray Medical) の2製品とした。コンポジットレジンとしてはClearfil AP-Xを使用した。接着試験用試片の製作には、被着体としてウシ下顎前歯を用い、エナメル質および象牙質をSiCペーパー#600まで研磨した。被着面積は2.4 mmあるいは4.0 mmの2条件とし、歯面処理は各製造者指示条件で行った。製造者指示条件に従って歯面処理を行った後、テフロンモールドを固定してレジンペーストを填塞、照射を行ったもの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時間保管後に、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。得られた平均値および標準偏差から、有意水準0.05の条件で統計学検定を行った。

セルフエッチングプライマー塗布後のエナメル質および象牙質処理面、レジンとエナメル質および象牙質の接合界面に関しては、走査電子顕微鏡(SEM, ERA-8800 FE, Elionixp)を用いて、通法に従って観察を行った。

【成績および考察】

供試したいずれのシステムにおいても被着面積の小さい条件で接着強さは高い値を示した。この傾向はエナメル質および象牙質においても同様であり、接着システムの違いによる測地値は、ほとんどの条件で同程度であった。

SEM観察では、エナメル質および象牙質ともにOptiBond XTRの方がClearfil Mega Bondと比較して脱灰程度が高い像として観察された。接合界面の観察ではOptiBond XTRのアドヒーズ層は10 μm程度の厚みで観察され、1エナメル質および象牙質に対しても良好な接合界面を呈していた。また、象牙質に関しては、Clearfil Mega Bondと比較して厚い幅で樹脂含浸層が明瞭に確認され、接着システムによる形態学的な違いとして観察された。

【結論】

新規2ステップシステムのOptibond XTRの歯質に対する接着強さはClearfil Mega Bondと同様に、被着面積に影響を受けることが判明した。いずれの条件においてもClearfil Mega Bondと同等以上の接着強さであり、アドヒーズ層の厚さが薄く審美的な修復が可能となることから、Optibond XTRの有用性が示唆された。

新規多用途型プライマーの歯面処理効果

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

○山路公造, 塩出信太郎, 西谷佳浩, 高橋 圭, 吉山昌宏

Effect of a new self-cured multi-use primer on teeth surface treatments

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

Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○Yamaji Kozo, Shiode Shintaro, Nishitani Yoshihiro, Takahashi Kei and Yoshiyama Masahiro

【研究目的】

歯科臨床では、直接法によるコンポジットレジン修復やレジン支台築造、また間接法におけるレジンセメントを用いた合着等用途によって様々な歯面処理が必要となる。この度、直接法と間接法の歯面処理にいずれも使用可能であり、かつ歯面処理時の光照射が不要であることをコンセプトにトクヤマデンタルから新規にプライマーが開発された。当分野ではこれまでに、直接法としてコンポジットレジン修復に用いた場合の歯面処理効果について報告しているが、他の用途での報告はまだ行っていない。そこで本研究は、直接法としてコア用レジンに用いた場合の歯面処理効果を検討するとともに、間接法としてレジンセメントを用いた場合の効果について検討することを目的として行った。

【材料および方法】

実験材料には、新規プライマーとしてDBC-600(トクヤマデンタル)を用いた。コア用レジンには、試作レジンコアであるECG(トクヤマデンタル)を使用し、コントロールとしてクリアフィルDCコア(クラレメディカル)を用いた。また、レジンセメントは試作レジンセメントであるCP-89(トクヤマデンタル)を使用し、コントロールとしてレジセム(松風)を用いた。DBC-600は、ECGおよびCP-89の歯面処理に用いた。ヒト抜去大白歯を用いて歯軸に垂直な象牙質平坦面を作製し、#600耐水研磨紙で研磨したものを被着象牙質面とした。

DBC-600は歯面処理の際、ボンドA液、B液を等量採取し、2秒間混和後象牙質面に塗布し10秒間放置後弱圧5秒、中圧5秒でエアードライした。その後、ECGを築盛し光照射を行った。DCコアではメーカー指示に従いクリアフィルDCボンドA液、B液を等量採取後5秒間混和した。象牙質面に塗布後20秒間放置し、5秒間エアードライ後20秒間光照射を行った。その後、クリアフィルDCコアオートミックスを築盛し光照射を行った。

間接法では、あらかじめ重合したパールエステ(トクヤマデンタル)を使用し、被着面をアルミナにてサンドブラスト処理した。CP-89では、トクソーセラミックスプライマー(トクヤマデンタル)を用いてシランカップリング処理を行った。DBC-600による歯面処理後、CP-89を合着材としてパールエステと接着し光照射を行った。レジセムでは、メーカー指示に従いポーセレンプライマー(松風)を用いてシランカップリング処理を行った。歯面処理は、レジセムプライマーA液、B液を等量採取し混和後、象牙質面に塗布し20秒間放置後エアードライを行った。レジセムペーストを合着材としてパールエステと接着し光照射を行った。

37℃水中に24時間浸漬後、接着界面の断面 $1 \times 1 \text{ mm}^2$ の角柱に試料作製し、クロスヘッドスピード 1 mm/min にて微小引張試験(EZ Test, Shimadzu)を行った。得られた測定値はt検定を用いて統計学的分析を行った。

【成績および考察】

微小引張試験の結果、直接法では、ECGは $34.3 \pm 7.1 \text{ (MPa)}$ 、DCコアは $29.3 \pm 6.2 \text{ (MPa)}$ であり両者の間に有意差は認められなかった($p > 0.05$)。また、間接法では、CP-89は $33.5 \pm 6.5 \text{ (MPa)}$ 、レジセムは $23.2 \pm 5.2 \text{ (MPa)}$ であり、CP-89はレジセムより有意に高い値を示した($p < 0.05$)。DBC-600は、ECGおよびCP-89の歯面処理として用いており、コントロールと比べて十分な接着強さを示した。DBC-600には歯質から溶出したカルシウムイオンと結合して三次元架橋構造を形成する接着性モノマーを含有しており、十分な接着性が期待できると考えられる。また歯面処理時の光照射が不要であり臨床でのチェアタイムの短縮が図れると考えられる。

本研究の結果、DBC-600を歯面処理に用いることで、直接法および、レジンセメントを用いた間接法において十分な接着性を有する可能性が示唆された。

エッチング材の違いによるシーラントのヒトエナメル質への微小引張強さ

北海道大学大学院歯学研究科口腔機能科学講座小児・障害者歯科学教室¹,
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²
○王 穎¹, 角田晋一², 付 佳楽², 加我正行¹, 佐野英彦², 八若保孝¹

Microtensile bond strength of sealants to ground human enamel by self-etching adhesive and phosphoric acid

Department of pediatric Dentistry and Disable Person, Division of Oral Functional Science,
Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University¹
Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science,
Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University²

○WANG Ying¹, KAKUDA Shinichi², FU Jiale², KAGA Masayuki¹, SANO Hidehiko², YAWAKA Yasutaka¹

Purpose: The longevity of pit and fissure sealant was currently an area of great interest in pediatric dentistry. The aim of this study was to investigate the degradation of sealant-enamel bond structures *in vitro*.

Materials and Methods: Extracted third molars were stored at 4°C until use. On the buccal aspect of each tooth, a flat surface was created in enamel with a #600 grit polishing paper, rinsed with a water spray, and lightly dried. Then, enamel surface was prepared for adhesion following different procedures depending on the sealants. The chemical composition and handling steps on the sealants are shown in table below.

Sealant	Chemical compositions	Ethant name and etching application procedure	Manufacturers
BeatiSealant	UDMA, TEGDMA, S-PRG filler	BS Primer : Apply the primer solution, leave it undisturbed for 10s, gently air blow for 10s.	Shofu (Kyoto, Japan)
DELTON FS	Bis-GMA, Sodium fluoride, Triethylene glycol dimethacrylate, Barium alumino fluoroboro silicate glass	Gel Etchant : 37% H ₃ PO ₄ Apply etching for 20~40s, rinse and dry.	Dentsply (York, USA)
TEETHMATE F-1 2.0	TEGDMA, HEMA, MDP	Etchant : 37% H ₃ PO ₄ Apply etching for 30s, rinse and dry.	Kuraray (Tokyo, Japan)
Fuji III LC	Fluoroalmino silicate glass, Metacrylate polyacrylic acid, water	GC Cavity Conditioner : 20% Poly-acrylic acid Condition with 20% poly-acrylic acid for 10s, wash and gently dry.	GC (Tokyo, Japan)

After having prepared the enamel for bonding, the material for pit and fissure sealing, resin-based materials (BS, DELTON, Teethmate) and a resin modified glass-ionomer (Fuji III LC) were used to build up on the bonding surface a block of about 5mm in height. The build-up was created by progressively adding 1 to 2mm-thick increments of material, which were singularly cured for 20 seconds with curing unit (Blue shot, Shofu Ltd., Kyoto, Japan). After a 24h-storage in distilled water at 37°C. Each tooth was longitudinally cut into a series of 1 mm-thick slabs by means of a water-cooled diamond bade (Isomet, Buehler). The slab was sectioned it again lengthwise, 15-20 sticks about 1mm x 1mm in cross-section were obtained from 5 teeth.

Each microtensile specimen was then glued with cyanoacrylate to the two free-slide parts jig. The jig was mounted on a desk type loading machine (EZ test, Shimadzu, Kyoto, Japan). The tensile load was applied at a cross-head speed of 0.5mm/min, until specimen failure occurred. For each specimen the mode of failure was also defined as either adhesive, cohesive in enamel, or cohesive in sealant by examining the fractured stick by SEM (Hitachi, S-4000).

Results and Discussion: The bond strength data was performed for the application of kruskal Wallis Test for significance of differences among sealants (n=15)

The highest bond strength values to enamel was achieved by the DELTON FS (32.8±10.7MPa). BeatiSealant treated with self-etching primer showed adequate bonding strength to enamel (23.4±4.9MPa) and there is no significantly difference with TEETHMATE F-1 2.0 (24.1±4.9MPa). The weakest bonds were attained by Fuji III LC (15.5±7.0MPa). Significant difference was found between resin sealants and RM GiC sealant because of texture of materials or adhesion.

Conclusion: Self-etching primer showed strength between enamel and sealant with lower aggressive to enamel than phosphoric acid etching.

積層充填におけるコンポジットレジンの流動性が接着性能へ及ぼす影響

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

○千葉史子 岡田伸男 志賀華絵 山本慎子 中村芳章 熊谷啓二 工藤義之 野田 守

Effect of Resins Composite Fluidity on adhesion in incremental filling technique

Division of Operative Dentistry and Education for General Practice Residency, Department of General Dentistry, School of Dentistry, Iwate Medical University

○Chiba Fumiko, Okada Nobuo, Shiga Hanae, Yamamoto Makiko, Nakamura Yoshiaki,

Kumagai Keiji, kudou yosiyuki and Noda Mamoru

【緒言】

フロアブルレジンは流動性が高く窩壁に適合させやすい事から、Ⅱ級窩洞の側室部分の積層に有効な充填材であるが、重合収縮が大きく、歯質接着性への影響が指摘されている。近年、株式会社ジーシーより超微粒子高密度均一分散型コンポジットレジンのMI フィリングシリーズが市販されている。特徴として、(1)ダイレクトに充填できる操作性で、(2)フロアブルレジンのような流動性といくつかの流動性があることから症例に合わせて選択でき付形性もあり、(3)強度と耐磨耗性がある。本研究では、積層充填において、コンポジットレジンの流動性の違いが接着性能に及ぼす影響についてMI ローフローならびに各種コンポジットレジンを用いて検討した。

【材料および方法】

- (1) コンポジットレジン；GC社製のナノハイブリッドフロアブルレジンとしてMI ローフロー(以下、MLF)、MI フロー(以下、MF)、GC社製のフロアブルレジンとしてユニフィルフロー(以下、UF)、トクヤマ社製のプライムフィル(以下、PF)を使用した。
- (2) 被着体；抜去後冷凍および長期水中保存したウシ永久下顎前歯から採取したエナメル質および象牙質を耐水研磨紙#600まで研磨し使用した。
- (3) 接着処理；MLF、MF、UFをGボンドプラス(GC)で、PFは付属の処理剤を業者指示により表面処理し、各レジンの内径4mm高さ3.0mmのステンレスモールドに充填し、光照射を40秒間行ったものと各レジン1mmライナー後、ソラーレを積層充填したものの2試料とした。
- (4) 引張り接着試験；クロスヘッドスピード0.5mm/minにて測定した。各群の試料数は15本とし、得られた値はOne-way ANOVAとStudent-Newman-Keuls testとt-testを用いて有意水準5%で統計学的分析を行った。

【結果】

エナメル質接着力；積層しない場合はMLFが、有意に接着強さが強く、他の材料間に有意差は認められなかった。積層した場合はPFが他の材料より有意に低い値を示した。

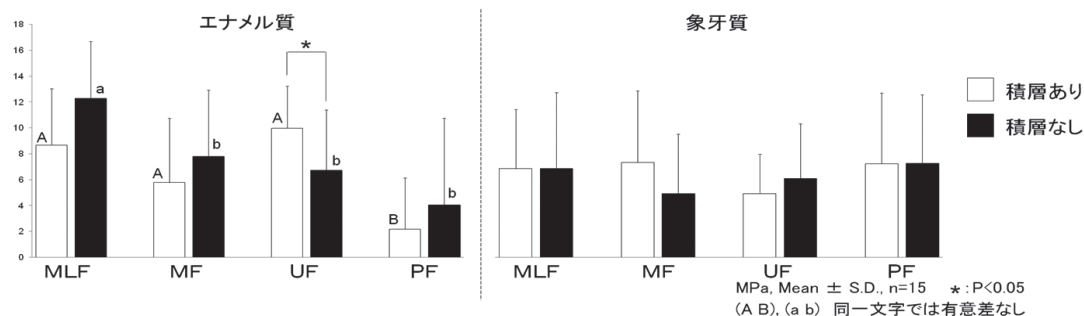
象牙質接着力；積層しない場合・積層した場合においても接着強さに有意差は認めなかった。

積層の有無で比較しところ、エナメル質におけるUFのみが有意差を認めた。

【考察】

結果より、積層することで一番流れがよいUFの接着力が増加したが、MLF、MFなどの超微粒子高密度均一分散型レジンでは差は認められなかった。UFの重合収縮が大きい事が一因と思われた。PFの接着力はエナメル質<象牙質であった。同材料の歯面処理条件が象牙質接着により適した条件であるためと考えられた。

図 引張り接着強さ



新しく開発された“Bulk Fill”型コンポジットレジンの接着性能 第1報 辺縁封鎖性と窩壁適合性について

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○大下尚克, 森田有香, 佐藤かおり, 富士谷盛興, 千田 彰

Adhesive Performance of New Resin Composites Developed for “Bulk Placement” Part 1 A Study of Marginal Sealing and Wall Adaptation

Department of Operative Dentistry, Aichi Gakuin University

○OSHITA Naoyoshi, MORITA Yuka, SATOH Kaori, FUJITANI Morioki, SENDA Akira

<目的>

接着修復およびこれらに用いられる材料については、より高い接着性能の獲得やテクニカルエラーの軽減などが図られ、またステップ簡略化や操作時間の短縮化も進められてきた。昨今、ワンボトルワンステップタイプのボンディング材が主流となってきているが、最近さらなるステップ簡略化を目指した、自己接着型、すなわちBulk Fill型コンポジットレジンが開発されて、一部は製品化されている。しかし、これらの接着性能については、いまだ十分に検討されておらず、その詳細は明らかになっていないのが現状である。

そこで本研究では、いわゆるBulk Fill型コンポジットレジンの接着性能、とくに辺縁封鎖性と窩壁適合性について色素浸透試験により評価した。

<材料および方法>

ウシ新鮮抜去前歯歯冠部をエポキシ樹脂に包埋し、エナメル質、あるいは象牙質平坦面を調製した(#800)。エナメル質平坦面の試料においては、全周エナメル質窩縁を有し窩洞が象牙質に及ぶ規格窩洞(EE群)を、あるいは象牙質平坦面の試料においては、歯頸部における窩洞を想定し、エナメル質および象牙質の両窩縁を有し窩洞が象牙質に及ぶ規格窩洞(ED群)を形成した。両群とも5分×3回の超音波洗浄を行い、各種接着修復材料を業者指示通りに填塞した。37℃蒸留水中に24時間保管後、サーマルサイクル試験(5℃, 60℃, 1000回)に供した。その後、2%メチレンブルー水溶液に10時間浸漬後、窩洞の中央で切断し、断面における色素侵入の様相を実体顕微鏡にて観察した。(これを辺縁封鎖性の評価とした)次いで、15%酸性フクシン水溶液で断面を再び染色し¹⁾、実体顕微鏡にて色素浸透の様相を観察した。(これを窩壁適合性の評価とした)いずれも実験をくり返し、数を20とした。

なお、使用した材料を表に、試料調製方法を図に示す。

表 使用材料

製品名	略号	製品名	略号
試作フロータイプ Bulk Fill (自己接着型)	MF	G-Bond Plus + MI Flow	GM
試作ペースタイプ Bulk Fill (自己接着型)	KF	BONDFORCE+ESTELITE FLOW QUICK	BE
Prime Fill™ (専用プライマー使用)	PF		

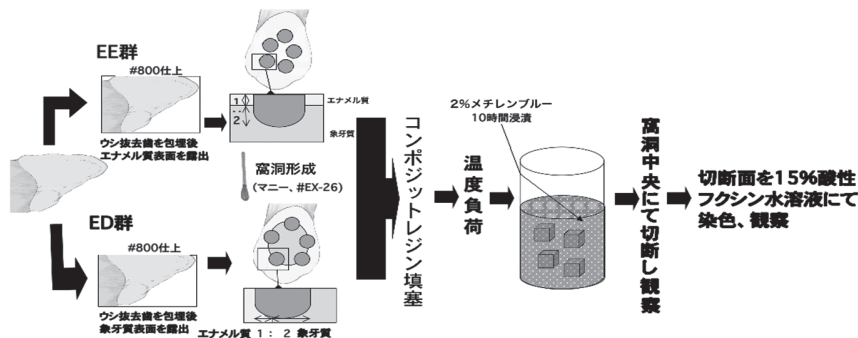


図 試料調製方法

<結果および考察>

両群(EE群、ED群)におけるGM群、BE群の辺縁封鎖性ならびに窩壁適合性は、重合収縮および温度負荷によると考えられるギャップが若干認められたが、概ね良好であった。全周エナメル質窩縁を有し窩洞が象牙質に及ぶような窩洞(EE群)におけるBulkFill型コンポジットレジンについては、1) 辺縁封鎖性: エナメル質内1/3から2/3に侵入を認めたもの(PF)から2/3以上侵入したもの(MF, KF)まで色素侵入の程度は材料によって異なっていた。2) 窩壁適合性: 象牙質はいずれも全周に色素浸透を認めた。一方、エナメル質および象牙質の両窩縁を有し窩洞が象牙質に及ぶような窩洞(ED群)におけるBulkFill型コンポジットレジンについては、サーマルサイクル試験時に多数のコンポジットレジン脱落を認めた。脱落しなかったものでも、1) 辺縁封鎖性: エナメル質ではEE群に比べ色素侵入の程度が高かった。2) 窩壁適合性: 象牙質では全周にわたる色素の侵入、浸透を認めた。

以上のことから、BulkFill型コンポジットレジンの接着性能はさらなる改良、改善が必要であることが示唆された。
<結論>

本研究に用いたBulk Fill型コンポジットレジンの辺縁封鎖性ならびに窩壁適合性は、ワンボトルワンステップタイプのボンディング材を用いてフロアブルコンポジットレジンで填塞した場合に比し不十分であることが判明した。

1) 富士谷盛興, 他: 複合レジンの窩壁適合状態検索のための色素浸透試験法の検討; 日歯保存誌 30 898-910, 1987.

メチルメルカプタンがコンポジットレジン¹の補修修復に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹，日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門²，
浅野歯科クリニック³，市石歯科クリニック⁴

○小倉由佳理¹，石山智恵美¹，井上直樹¹，陸田明智^{1,2}，瀧川智義^{1,2}，
浅野和正^{1,3}，宮崎真至^{1,2}，市石芳博⁴

Influence of Immersion in Methylmercaptan Solution on Resin Bonding.

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

Nihon University School of Dentistry²， Asano Dental Clinic³， Ichiishi Dental Clinic⁴

○OGURA Yukari¹， ISHIYAMA Chiemi¹， INOUE Naoki¹， RIKUTA Akitomo^{1,2}， TAKIGAWA Tomoyoshi^{1,2}，
ASANO Kazumasa^{1,3}， MIYAZAKI Masashi^{1,2}， ICHIISHI Yoshihiro⁴

【研究目的】

臨床においては，修復物の破折，表面磨耗あるいは一部が着色した症例に対して，これを全て除去することなく，問題のある部分のみを削除し修復するという補修修復が行われている。しかし，この補修修復は実験室環境では良好な成績を示すものの，実際の臨床では必ずしも良好な経過ばかりではないのが現状である。

そこで演者らは，口腔内に微量存在する揮発性硫黄化合物であるメチルメルカプタンに着目し，これがコンポジットレジン¹の補修修復における接着性に及ぼす影響について，剪断接着強さ試験および試験後の破壊形式の観察を行うとともに，走査電子顕微鏡(以後 SEM) 観察を行うことにより検討した。

【材料および方法】

供試したコンポジットレジンペーストおよびシングルステップアドヒーズの組み合わせは，Estelite Σ Quick/ Bond Force (トクヤマデンタル，以後 EQ) および Beautifil II/ BeautiBond (松風，以後 BII) の2製品とした。可視光線照射器としては，Optilux 501 (sds Kerr) を，その光強度が 600 mW/cm² 以上であることを確認して使用した。

1. 被着試料の製作

補修修復の対象となる旧修復物は，内径 6 mm，高さ 2 mm の円筒形テフロン型にレジンペーストを充填，光照射を行い，硬化させた。この試片を 0.01 M，0.1 M，1.0 M の濃度に調整したメチルメルカプタン溶液に，4 週間浸漬した。また，精製水に浸漬したものをコントロールとした。

2. 接着試験用試片の製作

製造者指示条件にしたがって接着操作を行い，内径 4 mm，高さ 2 mm の円筒型テフロン型を静置して，同一レジンペーストを充填，ストリップスを介して光線照射を行い，接着試片とした。

これらの試片は，37℃精製水に 24 時間保管後，万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用い，クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件でその剪断接着強さの測定を行った。なお，接着試験用試片の数は各条件につき 10 個とし，その製作は 23±1℃，相対湿度 50±5% の恒温恒湿室で赤色ランプ照明下にて行った。得られた接着強さの測定値については，各濃度間の有意差の検定を有意水準 5% の条件で行った。

3. SEM 観察

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

【成績および考察】

供試したコンポジットレジンにおける補修修復の接着強さは，コントロールと比較して，EQ においてはすべての濃度条件で有意に低下した。一方，BII においては 0.01M 群および 0.1M 群では有意差は認められなかったが，1.0M 群においては有意に低下した。また，1.0 M 群では，EQ および BII ともに他の濃度条件と比較して有意に低い接着強さを示した。接着試験後の破壊形式は，EQ および BII ともに 0.01M 群および 0.1M 群においては旧レジンの凝集破壊が大勢を占めたが，1.0M 群において界面破壊が大勢を占めた。

この接着強さの低下は，旧レジン表層に一定以上の濃度のメチルメルカプタンが連鎖移動剤として作用することによって，アドヒーズの重合が阻害され，接着性に影響を及ぼした可能性が考えられた。

【結論】

供試したコンポジットレジン¹の補修修復において，メチルメルカプタンは接着阻害因子となる可能性が示唆された。

フロアブルコンポジットレジンを用いたコンポジットレジン補修修復の研究 -破壊形態による比較検討-

昭和大学歯学部歯科保存学講座 美容歯科¹⁾ 昭和大学歯学部歯科理工学教室²⁾

○小林幹宏¹⁾, 藤島昭宏²⁾, 岩崎友美¹⁾, 小川弘美¹⁾, 宮崎隆²⁾, 真鍋厚史¹⁾

Repair of composite resin restoration using a flowable composite resin

- Comparison examination in fracture morphology -

Department of Clinical Cariology, Showa University, School of Dentistry
(Esthetic Dentistry Division)¹⁾

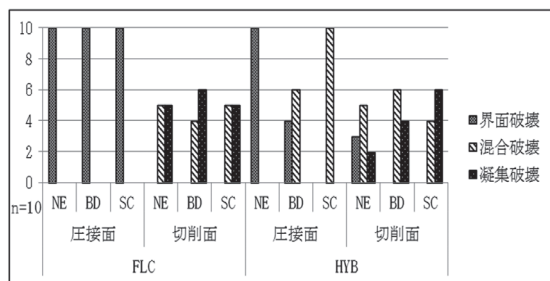
Department of Oral Biomaterials and Technology, Showa University, School of Dentistry²⁾

○KOBAYASHI M¹⁾, FUJISHIMA A²⁾, IWASAKI T¹⁾, OGAWA H¹⁾, MIYAZAKI T²⁾, MANABE A¹⁾

研究目的：本研究では、口腔内でのコンポジットレジン補修修復にフロアブルコンポジットレジンを用いることを想定し、被着面すなわちすでに硬化しているコンポジットレジンの表面粗さならびにプライマー処理などの前処理条件の相違がコンポジットレジンの補修接着修復に及ぼす影響をせん断後の接着界面の破壊形態を用いて比較、検討を行った。

材料および方法：光重合型コンポジットレジンとして Clearfil®AP-X (クラレメディカル, 以下, HYB) および Beautiful Flow F02 (松風, 以下, FLC) を使用した。ボンディング材として, Clearfil® Photo Bond Bonding Agent (クラレメディカル), シランカップリング剤として Clearfil® Porcelain Bond Activator (クラレメディカル) を使用した。補修するコンポジットレジンには 2 種類 (HYB, FLC) のコンポジットレジンを使用。補修に用いるコンポジットレジン は FLC のみとした。直径 10mm, 厚さ 2mm の試験片を製作し, その後一週間 37°C 水中保管した。被着体の表面性状の条件として圧接面及びダイヤモンドポイント切削面とし臨床的な補修修復の被着面とした。ダイヤモンドポイントにて試料の被着面に対して並行になるように 5 回走査し切削痕を作製した。圧接し硬化させた状態の被着体表面および、ダイヤモンドポイントで切削した被着体表面の表面粗さ (Ra) を切削条痕と直角方向で測定した。測定は 10 回行い, 10 回の平均を表面粗さとした。また, 同様の表面の表面処理を行った試料を製作し表面を走査電子顕微鏡を用いて観察した。テフロン製のモールドを固定し接着処理(未処理(NE), ボンディング処理(BD), シランカップリング処理(SC))の3条件を行い FLC を充填し上方より 60 秒間照射し臨床的補修修復を再現した。その後, 一週間 37°C 水中保管した。各試料に対して万能材料試験機 (インストロン) を用いてクロスヘッドスピード毎分 1.0mm の条件でせん断試験を行った後, 破壊形態の判定を行った。

成績：FLC の圧接面ではすべての条件において界面破壊であった。切削面ではすべての条件でコンポジットレジンの凝集破壊および混合破壊であったが, 被着面の処理条件では大きな差はなかった。HYB の圧接面では混合破壊は観察されるがコンポジットレジンの凝集破壊は観察されなかった。圧接面に比べると切削面ではコンポジットレジンの凝集破壊および混合破壊が増加する傾向にあり, ボンディング処理, シランカップリング処理と順に凝集破壊が増す傾向にあった。



結果および考察：フロアブルコンポジットレジンで補修する場合, 被着面の表面粗さが大きくなるにつれて接着性が増す傾向にあった。これは, 補修に用いたコンポジットレジンがフロアブルコンポジットレジンを用いたため機械的嵌合力が増加したためと考えられる。被着面に対して未処理に比べてボンディング処理およびシランカップリング処理では接着性が増す傾向にあるがボンディング処理と比較するとシランカップリング処理効果は著明ではなかった。

フロアブルコンポジットレジンで補修する場合, 被着面に対してのシランカップリング処理効果より表面性状に大きく影響されることが示唆された。

コンポジットレジンによる補修修復の7年間の臨床評価

新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部、*新潟大学大学院 医歯学総合研究科 口腔保健学分野
○石崎裕子, 福島正義*

7-year clinical evaluation of restorations repaired by composite resin.

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital,
*Division of Oral Science for Health Promotion, Department of Oral Health and Welfare,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○ISHIZAKI Hiroko, FUKUSHIMA Masayoshi*

【研究目的】 日常臨床において歯冠修復物の再治療の頻度は高く、旧修復物の完全除去を繰り返すたびに歯質を失うという現実がある。しかし、修復物の再治療が必要となった場合、欠陥部のみを部分的に補修できることも少なくない。FDI が提唱している Minimal Intervention Dentistry の基本概念にも修復物の補修が含まれている。しかし、補修修復物の臨床評価についてはほとんど報告がない。我々は本学会第 124 回大会においてコンポジットレジンによる補修修復の短期臨床経過を報告した。今回は長期臨床経過を観察した。

【材料および方法】 平成 15～16 年に新潟大学医歯学総合病院歯科総合診療部および歯の診療室に通院している患者に対し、補修修復の意義を説明し同意を得て、補修修復を行った。修復材料は Filtek™ Supreme (3M ESPE)、クリアフィル AP-X®、クリアフィル ST® (クラレメディカル)、パルフィークエステライト (トクヤマデンタル)、Filtek Flow™ (3M ESPE) を用い、接着システムはメガボンド® (クラレメディカル) またはエナメル窩縁部や旧修復材料面にリン酸 (K-エッチャント®, クラレメディカル) 処理後にメガボンドを使用し、症例によっては前処理 (メタルプライマー II, GC、ポーセレンボンド®, クラレメディカル)、オペカー (クリアフィルオペカー®, クラレメディカル) を使用した。研磨時 (ベースライン) およびメンテナンス来院時に USPHS 評価法に準じた評価と写真撮影記録を行った。7 年後にリコールされた 13 名・32 歯 (リコール率 84.2%) (無髄歯 16 歯含む)・33 窩洞について集計を行った。

【成績および考察】 術前の診断は、2 次う蝕 21 例、摩耗 5 例、新生う蝕 3 例、その他 4 例で、旧修復物の内訳はレジン 17 例、全部鑄造冠 7 例、メタルボンドクラウン 8 例、メタルインレー 1 例であった。補修窩洞の内訳は根面 19 例、5 級 6 例、WSD 5 例、3 級 3 例であった。リコールされたうち 1 例は歯根破折により抜歯になったため評価対象から除外した。7 年間で再修復に至ったのは 7 例 (再修復歯率 22.6%) であった。その内訳は補修部位の事故 2 例 (2 次う蝕 1 例、体部破折 1 例)、周囲歯質の新生う蝕 2 例、旧修復部位の事故 2 例 (2 次う蝕 1 例、脱落 1 例)、その他 1 例であった。この 7 年間で発生した事故に対しては、すべてコンポジットレジンで再補修を行なった。なお 7 例のうち、う蝕発生の 4 例はう蝕ハイリスク患者であった。

補修修復が選択された理由は患者毎に異なり、補修修復のメリットとリスクの観点および患者の事情に合わせて選択されていた。補修修復の長期的予後は、患者のう蝕リスクによって影響を受けており、メンテナンスの重要性が示唆された。

【結論】 修復歯の繰り返し治療サイクル (repeated restoration cycle) における歯質損失を最小限にとどめるために、補修修復は治療の選択肢の 1 つとして有効であることが示唆された。

TBB系充填材と光重合レジンを用いる充填法

^{1,3} 首藤歯科医院、² 長崎大学病院臨床教育・研修センター、³ 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齲蝕学分野
○首藤 実^{1,3}、久保至誠²、林 善彦³

Filling method of TBB system resin in combination with photo-polymerized resin
^{1,3} Syudo dental Clinic, ² Center for Clinical Education and Training, Nagasaki University Hospital,
³ Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
○Syudo Minoru^{1,3}, Kubo Shisei², Hayashi Yoshihiko³

緒言

光重合型のボンディング材を塗布後、充填された光重合型コンポジットレジン（以下光重合レジン）は光照射面より重合を開始するため、充填されたレジンが表層へと引っ張られ、重合収縮歪は接着界面に集中して発生し、同部位の破壊が起こることが想定される。この問題を解決するには、歯質サイドより重合を開始しその重合収縮歪がレジン表層に発生する TBB 系充填材の使用が考えられるが、現在発売されている唯一の TBB 系充填材であるボンドフィル SB 単独の充填では症例によっては耐摩耗性が不足することもある。さらに、歯質サイドより重合を開始するため、表層部のレジンの重合は遅れ当日の研磨は適さないとも考える。

TBB 系充填材と耐摩耗性の高い光重合レジンを用いる充填法では、重合の時間差を利用し、重合収縮歪をボンドフィル SB と光重合レジンの混ざり合った所に集約することが出来ると考える。さらには充填が終了した重合体の表層は窩洞辺縁部の接着領域以外は光重合レジンであるため、耐摩耗性は光重合レジンの性質に依存するし当日研磨も可能と考える。

今回、ボンドフィル SB と光重合レジンを用いたレジン充填の具体的な術式について報告する。

材料と方法

齲蝕象牙質除去後、ボンドフィル SB 付属のティースプライマーを 20 秒塗布し軽いエアブローという前処理を行うか、もしくは表面処理材グリーン塗布 10 秒、水洗、乾燥という前処理を行った後、ボンドフィル液材 3～4 滴にキャタリスト V 1 滴を加えた液に、微量の粉材を加え調整した液状の混和泥を付属のディスプレイ筆を用い窩洞全面に塗布する。つぎにその筆先を粉材に接触させレジンビーズを作成しそれを窩洞内へ移送する。この時窩洞内部に塗布した混和泥は液状なので、移送されたレジンビーズは混和泥と直ぐに馴染んで窩洞内部へと拡散していく（Ⅲ級歯冠側のアンダーカット部でも容易にレジンビーズは拡散する）。窩洞は前処理が施されているため、はじめに樹脂含浸層が形成される。重合は歯質サイドより開始され、ボンドフィル SB は歯質方向へと引っ張られる。次いで、ボンドフィル SB の重合がある程度進み表面の透明性が失われた時期に、光重合レジンを押接充填する。（光重合レジンの押接方向は MMA を主体とするボンドフィル SB の重合方向と一致するので押接充填は大変に重要なことである。充填するレジンを引き戻すような動きは、決してしてはいけない）その後光を照射し充填を完了する。

極端に大きな窩洞では光照射後にボンドフィル SB の混和泥を再度塗布し、レジンビーズを移送し、その後に光重合レジンを押接充填し、光を照射する一連の動作を繰り返すことになる。充填終了後光を照射し、充填を完了した後、ハンドスケーラー、カーバイドバー、研磨用ストリップスを用い形態修正・研磨を行う。

まとめ

移送後すぐに歯質より重合を開始するボンドフィル SB と光照射後に表層より重合を開始する光重合レジンの、重合の時間差を利用する本術式ではボンドフィル SB と光重合レジンが混ざり合う重合体中心部の重合は最後となり、当該部位に重合収縮歪が集中すると考える。本術式では、光重合レジンでは充填しづらい場所の充填もボンドフィル SB にて簡単に充填でき、また充填後に不足箇所を発見した場合、ボンドフィル SB 混和泥の塗布、レジンビーズの移送、光重合レジンの押接、光照射を繰り返すことにより簡単に修正出来る。さらには、窩洞外にはみ出し、歯質、歯肉に接した過剰充填部の下層は重合が完了していない柔らかいボンドフィル SB なので過剰充填の大半はハンドスケーラー等で簡単に除去できる。この後形態修正を行うが、この時過剰充填の大半は除去されているので、形態修正とこれに引き続く研磨は簡単に行える。これらのことから、本術式は精密で簡単なレジン充填法であると考えられる。

隔壁法が側室部歯肉壁の光照射に及ぼす影響

大阪歯科大学歯科保存学講座

○小松首人、黄地智子、西田尚敬、宮地秀彦、藤原秀樹、井上昌孝、廣田陽平、吉川一志、山本一世

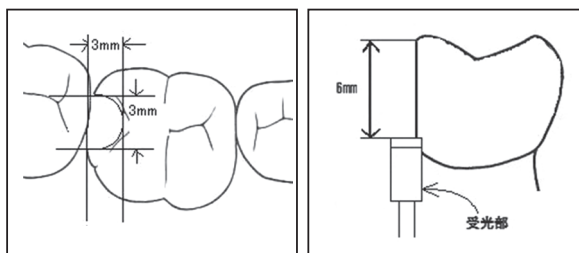
Effects of the matrix techniques for light irradiation on gingival wall in class 2 cavity

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○Komatsu Obito, Ouchi Satoko, Nishida Hisataka, Miyaji Hidehiko, Fujiwara Hideki
Inoue Masataka, Hirota Youhei, Yoshikawa Kazushi, Yamamoto Kazuyo

【研究目的】 臨床において、Minimal Intervention (MI) の考えに基づき、歯質削除量を少なくし、窩洞をできるだけ小さく形成して直接接着修復を行う傾向が強くなっている。また、コンポジットレジンに性能向上に伴い、2級窩洞の修復においてもコンポジットレジンが使用されるようになってきた。その場合、2級窩洞修復時に使用する隔壁のための補助器具が側室部歯肉壁の光強度に影響を及ぼすと考えられるが、その詳細は明らかではない。本研究では、隔壁のための補助器具が、光強度に及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】 エポキシ模型下顎右側第一大臼歯遠心部に2級窩洞 (3 mm X 3 mm X 6 mm) を作成し、側室部歯肉壁に相当するように光強度測定用受光部を設定した。光強度測定には分光器 (Quest U/コニカミノルタ) を使用した。窩洞形成を行った模型歯に隔壁のための補助器具としてマトリックスバンド、セクショナルマトリックスを使用し、それぞれについて咬合面



から側室部歯肉壁に光照射を行い、光強度の測定を行った。補助器具なしで測定したものをコントロールとした。光照射には LED 照射器 (PENCURE/モリタ) を用いた。また、照射部位により、口腔内では咬合面へ垂直に照射できない可能性も考慮し、咬合面への照射角度 (30 度、90 度) を変え測定を行った。

【結果と考察】 LED 照射器は波長 470nm 付近において光強度のピークを示した。側室部歯肉壁での光強度はコントロールにおいて、咬合面に対し 90 度で照射したときに比べ、30 度で照射したときは約 75% に光強度が低下した。セクショナルマトリックスの使用時において、咬合面に対し 90 度で照射したときに比べ、30 度で照射したときは約 30% に光強度が低下した。マトリックスバンドの使用時において、咬合面に対して 90 度で照射したときにくらべ、30 度で照射したときは約 25% に光強度が低下した。コントロールと、セクショナルマトリックスを使用したときの光強度を比較すると、コントロールに比べセクショナルマトリックスを使用したときは、咬合面に対し 90 度で照射したときは約 80% に光強度が低下し、咬合面に対し 30 度で照射したときは約 30% に光強度が低下した。コントロールと、マトリックスバンドを使用したときの光強度を比較すると、コントロールに比べマトリックスバンドを使用したときは咬合面に対し 90 度で照射したときの光強度はほぼ同数値、咬合面に対し 30 度で照射したときは約 30% に低下した。

セクショナルマトリックスを使用したときに光強度が低下しやすいのは、マトリックスの固定に使用したリングが窩洞との距離を伸ばすためと考えられる。また、マトリックスバンド、セクショナルマトリックス使用時に、咬合面に対し 30 度で照射した場合に大きく光強度が低下するのは、金属のマトリックスが側方から入射する光を防ぐためと考えられる。このことから、隔壁を行うことで入射する光の量が角度により大きく変化することが示され、光照射を行うときには、可能な限り咬合面に対し垂直に照射することが望ましい。また、光強度の減衰が大きいことから、側室部歯肉壁に十分な光強度を与えるためには出力の大きな照射器を使用することが良いのではないと思われる。本研究から隔壁のための補助器具が側室部歯肉壁への光強度に影響を与えることが示されたが、他の種類の照射器、補助器具、窩洞の大きさについても検討の必要があると考えられた。

新規支台築造用セルフエッチングボンド「i-TFC ボンド」の根管象牙質への接着性

¹サンメディカル株式会社 研究開発部

²そよかぜ歯科医院

³日本大学松戸歯学部 保存修復学講座

○井波智鶴¹, 小里達也^{1, 3}, 山本憲廣^{2, 3}, 池見宅司³

Bonding efficacy of newly developed self-etching adhesive “i-TFC Bond” to root canal dentin

¹Sun Medical Co., Ltd. Research and development department

²Soyokaze Dental Clinic

³School of Dentistry, Nihon University at Matsudo, Department of Operative dentistry

○INAMI Chidzuru¹, ORI Tatsuya^{1, 3}, YAMAMOTO Norihiro^{2, 3}, IKEMI Takuji²

【緒言】

近年、審美的要求の高まりや、歯根破折の防止や金属アレルギーの問題などから、ファイバーポストを併用したレジン支台築造法が急速に普及してきた。i-TFC システム (サンメディカル) は光ファイバーポストとスリーブ、光重合型のポストレジンとコアレジンからなる支台築造材料であり、最大の特長は円筒状の FRP (ガラス繊維強化プラスチック) チューブ「スリーブ」による種々の根管形態への対応を可能としたことである。また、光ファイバーポスト/光重合型ポストレジンの組み合わせにより、デュアルキュア型レジンにありがちな根尖周辺部におけるレジンの重合の不確実さと操作時間の短かさを払拭できる利点も有する。

i-TFC ボンドは、i-TFC システムによる支台築造直接法に特化した専用の 1 液性セルフエッチングボンドである。付属のブラシには独自の親水性化学重合開始剤が担持されていることから、水分除去が困難な根管内においてもボンディング材への光照射を実施せずに高い接着強さが得られることが期待できる。そこで本研究では、i-TFC ボンドを用いた i-TFC システム直接法による歯根部歯髄側の象牙質への接着性について、微小引張接着試験並びに走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いた接合界面の形態学的評価を行ったので報告する。

【材料および方法】

冷蔵保管したヒト抜去前歯根根をリーマー#80 (MANI) および回転駆動切削具 RTP リーマー#3 (DENTECH) を用いて直径 2mm まで根管を拡大した。根管内に i-TFC ボンドを 20 秒間適用した後にエアブローを行い、ボンドへの光照射を実施せずに i-TFC ポストレジンを充填した。次いで光ファイバーポストを挿入してその上部から BlueLEX (YOSHIDA) にて 30 秒間光照射を行った。なお、ハイブリッドコート II (サンメディカル) を用いて通法に従って同様の材料にて接着した試料をコントロールとした。調製した試料をそれぞれ 37°C 水中に 24 時間浸漬させた後に低速回転ダイヤモンドカッター ISOMET (BUEHLER) にて歯根を長軸方向に切断した。切断した試験片を包埋後、露出した根管中央部にアクリルブロックを接着させて ISOMET にて接着面積が 1mm² になるように短冊状に連続切片を切り出し、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 にて微小引張接着試験を行った。SEM サンプルは観察面に 6N HCl および 1% NaClO にてそれぞれ処理し、洗浄乾燥後に白金蒸着を施して接合界面の観察を行った。

【結果と考察】

歯根部象牙質は部位により構造が異なることが報告されていることから、本実験では歯根部を 3 分割 (根管上部、中央部、根尖部) した場合における各歯根部位に対する接着性を比較評価した。微小引張接着試験の結果、i-TFC ボンドの平均接着強さは根管上部、中央部、根尖部の何れにおいても 31~36MPa の値を示し、部位間における接着強さの相違は認められなかった ($p > 0.05$)。また、何れの部位間においてもコントロールであるハイブリッドコート II の接着強さと統計学的有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。SEM 観察では i-TFC ボンドは歯根部象牙質の部位に関わらず全て緊密な接合状態であった。歯根部における象牙細管の密度は根管上部の歯冠側が根尖側より高く、その直径は歯冠から根尖に向かって小さくなっているため接着には不利な点が多い。しかしながら、光ファイバーポストと高い光透過性を有するポストレジンとの組合せにより根尖部のレジンまで確実に重合することができ、且つ i-TFC ボンドの歯根部象牙質への浸透・拡散性と重合性が高いことから優れた接着性能を示したと考える。

【結論】

i-TFC ボンドの歯根部歯髄側象牙質に対する接着性を評価した結果、何れの部位においてもボンドへの光照射を実施しなくとも優れた接着性能を有することが示唆された。

光透過型ファイバーポスト修復の根部における接着状態の評価

大阪大学大学院歯学研究科¹ 歯科理工学教室² 歯科保存学教室
○熊 宇^{1,2}, 古谷 優², 武田 侑子², 林 美加子², 今里 聡¹

Analyses of Interfacial Integrity in the Root Restored with a Light Transmittable Fiber Post

¹ Department of Biomaterials Science, ² Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, Japan

OXIONG Yu^{1,2}, FURUYA Yu², TAKEDA Yuko², HAYASHI Mikako², IMAZATO Satoshi¹

Objective: Reliable adhesion of a post to root dentin is an essential to reinforce an endodontically treated tooth. However, high C-factor and compromised light transmission in a root canal make it difficult. The interface with imperfect adhesion, which can be deteriorated from the weakest part under occlusal loading with time, may induce debonding of a post. The objective of this study was to investigate the interfacial integrity of resin-dentin and resin-post interfaces in a root canal restored with a light transmittable fiber post in conjunction with resinous materials.

Materials and Methods: A total of eight freshly extracted single-rooted human premolars were decoronated at 2 mm coronal to the cemento-enamel junction followed by root canal preparation. Normal and flared-sized post spaces were individually prepared after root canal obturation. For the preparation of the flared canal, preset reference points were marked to standardize the thickness of remaining dentin wall as 1.0 mm. The depth of the post space was 2/3 of the full length of the root canal. A light transmittable fiber post (i-TFC optical fiber post, Sun Medical) was luted in the post space with Hybrid Bond and i-TFC Post Resin (Sun Medical) according to the manufacturer's instruction, and then a core was built-up with 2mm high. After storage in water for 24 hours, the specimens were sectioned into slices perpendicular to their long axes with a low-speed diamond saw. The slices were distributed as cervical, middle, and apical groups according to their locations. Consequently, each group had two slices from one root. The slices were stained with Caries Detector (Kuraray Medical) for 5 seconds, and the adhesive interfaces were observed under a stereomicroscope. The ratio of gaps expressed as the percentage to the entire interface was evaluated for both resin-post and resin-dentin interfaces. Three-factor ANOVA and paired *t*-test were used for statistical analyses.

Results: Three-factor ANOVA showed the interfaces (resin-post vs. resin-dentin), the size of post spaces (normal vs. flared), and the levels in a root (cervical, middle, and apical) significantly affected the interfacial integrity. The ratios of gaps in each interface at the three locations were shown in Table. The resin-dentin interface showed inferior integrity compared with resin-post interface at all the locations in both normal and flared-sized roots ($p < 0.05$). For the resin-dentin interfaces, the lowest ratio of gaps was obtained at cervical level in normal-sized preparation group ($p < 0.05$).

Conclusion: Within the limitations of the materials used, the interface of resin and root dentin was inferior to that of resin and post in the premolar restored with a fiber post. Further studies are needed to improve the interfacial integrity in the deeper region, especially in a flared root.

Acknowledgement: This study was supported in part by Japan China Sasakawa Medical Fellowship and Grants-in-Aid for Scientific Research (22390358, 23659888, and 23390434) from the Japan Society for the Promotion of Science.

Table. Ratios of gaps at resin-dentin (R-D) and resin-post (R-P) interfaces at different locations in a post space

	Normal			Flared		
	R-D Interface	R-P Interface	<i>p</i> value	R-D Interface	R-P Interface	<i>p</i> value
Locations	Cervical	14.9 (10.88)	0.376	46.0 (13.90)	21.3 (20.42)	0.001
	Middle	33.0 (14.34)		7.1 (13.67)	47.7 (16.20)	
	Apical	43.9 (8.90)	30.1 (28.48)	0.252	53.6 (27.39)	20.8 (17.45)
Over-all	30.6 (16.47)	15.1 (22.21)	0.004	49.1 (19.44)	21.1 (16.86)	0.000

1. The data were expressed as Mean (SD), $n = 8$.

2. Data connected with segment showed no statistical difference among the 3 groups in the same column ($p > 0.05$).

3. The results of paired *t*-test between resin-dentin and resin-post interfaces at the same location were presented as *p* value.

TMPT 配合レジンコーティング材の開発研究

中国西安交通大学 口腔医院 修復科¹
日本大学松戸歯学部 保存修復学講座² 歯科生体材料学講座³
○周 秦¹, 関根哲子², 藤田 光², 岩井仁寿², 神谷直孝², 西山典宏³, 遠 宜¹, 池見宅司²

A Study on the Development of Resin Coating Materials Containing TMPT

Department of Prosthodontics, Stomatological Hospital, Xi'an Jiaotong University¹

Department of Operative Dentistry², Department of Dental Biomaterials³, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○ZHOU Qin¹, SEKINE Satoko², FUJITA Kou², IWAI Hitoshi², KAMIYA Naotaka², NISHIYAMA Norihiro³, LU Yi¹, IKEMI² Takuji

【緒言】

コンポジットレジン接着システムの応用としてレジンコーティング法が挙げられ、最近では、1ステップ型のレジンコート材を主目的としたハイブリッドコート (HyC) が市販されるようになった。演者らは、HyCの象牙質接着強さの向上を目的として、トリメチロールプロパントリメタクリレート (TMPT) を HyC 液剤に添加したレジンコーティング材を試作し、ウシ象牙質に対する剪断接着強さを調べて報告した。その結果、HyC 液剤のアクリレート成分に TMPT を 67wt% : 33wt% の比率で配合した試作レジンコーティング材 (T33) において、剪断接着強さが最も高くなる傾向が示された。しかし、その剪断接着強さは市販の HyC と比較して有意差が得られるほどの改善は認められなかった。市販 HyC においては、本材を歯面に塗布する際に必然的に使用しなければならないアプリケーションターとして、N-フェニルグリシン (NPG) 等が吸着されているコートスポンジを用いている。このようなアプリケーションターシステムを利用すると、重合に関与する添加剤を混入することが可能である。本実験では T33 液剤中のカンファーキノン (CQ) 量を 1~15 倍にした場合の象牙質に対する剪断接着強さを調べ、その結果を基に、CQ 量を 3 倍とした新規試作レジンコーティング材 (NC コート材) を作製した。さらに、NPG 添加量を変化させたコートスポンジを作製し、NC 試料から採取した 1 滴の液剤で混和した試験試料について象牙質剪断接着強さ試験と重合率について検討し、液剤中に含まれる CQ とコートスポンジの NPG の適切なモル比について検討した。

【材料および方法】

被着体象牙質試料としてウシ前歯を使用した。T33 コート材中の CQ (和光純薬) の添加量が接着強さに及ぼす影響を調べるために、重量で 1~15 倍にしたコート材 (CQ コート材) を試作した。なお、T33 の CQ 添加量は 0.1% である。CQ コート材を HyC 付属のコートスポンジで混和したものを被着体表面に塗布し、10 秒間光照射した後、ユニフィルローフロー (GC) を充填して 20 秒間の光照射を行い、剪断接着強さ試験に供した。その結果を基に、CQ を 3 倍量とした NC コート材中の CQ に対して NPG の重量をモル比で 1.5~14.7 まで変化させたコートスポンジを試作し、それらのコートスポンジを使用して混和後、剪断接着強さ試験に供した。剪断接着強さは、試験体を 37°C 水中に 24 時間保管後、万能試験機 (TG-5kN, ミネベア) に設置し、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min で測定した。試料数は各々 10 とし、有意差検定は Tukey-Kramer ($p < 0.05$) にて行った。重合率の測定は、フーリエ変換赤外分光光度計 (Spectrum100, Perkin Elmer, USA) を使用し、Attenuated Total Reflection (ATR 法) で求めた。

【結果と考察】

T33 コート材中の CQ 量を重量で 3 倍とした CQ3 コート材が最も高い平均値を示したが、HyC コート材を含めた全ての試料間で有意差は認められず、それ以上 CQ 量を増加すると剪断接着強さは低下する傾向を示した。NC コート材の CQ 量とコートスポンジに含有した NPG のモル比を 1 : 1.5~14.7 とした試料では、モル比が 4.4 と 7.3 において、市販 HyC コート材よりも有意に高い剪断接着強さが得られ、NPG のモル比が 11.7、14.7 と多くなると剪断接着強さは低下した。次に、レジンコーティング材の象牙質接着強さは重合率に影響されるものと考え、NC コート材について、NPG のモル比が重合率に及ぼす影響を調べた。その結果、CQ に対する NPG のモル比が 4.4 と 7.3 において高い重合率が得られ、そのコート材の重合率と剪断接着強さとの間に相関が認められた。

【結論】

T33 コート材中の CQ 量を重量で 3 倍にした NC コート材においては、CQ に対する NPG のモル比が 4.4 あるいは 7.3 のコートスポンジを使用することによって、象牙質剪断接着強さと重合率は向上することが明らかになった。

紫外線照射したファイバーポスのコンポジットレジンとの接着強さの耐久性

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科先端材料評価学分野¹, 同歯学部生体材料加工学分野²
○浅川裕也¹, 高橋英和², 岩崎直彦², 塩沢真穂¹

Durability of bond strengths between composite resin and ultraviolet irradiated fiber-reinforced composite posts

Advanced Biomaterials, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹,
Department of Oral Materials Sciences and Technology, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University²
○ASAKAWA Yuya¹, TAKAHASHI Hidekazu², IWASAKI Naohiko², SHIOZAWA Maho¹

【研究目的】市販ファイバーポスはガラス長繊維とマトリックスレジンで構成されている。そのマトリックスレジンの大半が熱硬化性樹脂であり、コンポジットレジンとの接着が懸念されている。ポスにサンドブラスト処理やプライマー処理などを行うことでコンポジットレジンとの接着強さが向上すると報告されている。また、紫外線照射により接着強さは改善し、有効な照射条件はレジンにより異なることが明らかとなった。しかしながら、紫外線照射したファイバーポストとコンポジットレジンとの接着強さの耐久性は十分に明らかではない。本研究では紫外線照射したファイバーポストとコンポジットレジンとの接着強さの耐久性をサーマルサイクル前後の接着強さを比較することで評価した。

【材料および方法】実験に用いた試作ファイバーポスト(直径 1.5 mm, 長さ 20 mm)は 2 種類のマトリックスレジン(ポリメチルメタクリレート(PMMA), エポキシ樹脂(EP))と E ガラス繊維(40 vol%)を組み合わせることで作製した。紫外線の光源は低圧水銀ランプ(253.7 nm, 10 W)を用いてポストとの距離を 15 mm とした。照射時間は未照射群(NT)で 0 秒, 照射群(UV)で PMMA は 120 秒, EP は 15 秒とした。ポストの周囲にアクリルパイプ(内径 8 mm, 高さ 2 mm)を取り付け、内側にコンポジットレジン(クリアフィル DC コア オートミックス)を充填して光重合により接着した。同試験片を 37°C 脱イオン水中に 24 時間浸漬後、接着部の厚さを 1.0±0.1 mm に加工した。試験片はそれぞれ 16 個作製した。引抜せん断試験は万能試験機(1123, Instron)を用いて、試験片の半数はそのまま試験を行い(TC0), 残りはサーマルサイクル(5-55°C, 10,000 回; TC10000)後に試験を行った。得られた最大引張荷重を接着面積で除したものを接着強さとして算出した。破壊様相は実体顕微鏡を用いて観察した。得られた接着強さは紫外線照射の有無とサーマルサイクル前後を主要因とする二元配置分散分析と Tukey の多重比較を行った(p<0.05)。

【結果および考察】サーマルサイクル前後の PMMA, EP とコンポジットレジンの接着強さの結果を図に示す。接着強さは PMMA で 4.2~30.8 MPa, EP で 1.4~15.7 MPa となった。二元配置分散分析の結果, PMMA では交互作用が有意であり NT ではサーマルサイクルの前後の値に有意差が認められなかったが、UV の接着強さはサーマルサイクル後に有意に減少した。EP では紫外線照射による有意差が認められたが、サーマルサイクルと交互作用には有意差が認められなかった。破壊様相を観察したところ, PMMA の UV を除いて界面破壊であった。PMMA の UV ではサーマルサイクル前では全て混合破壊であったものがサーマルサイクル後では一部界面破壊が観察された。このことより UV 照射により PMMA, EP のいずれでも NT より接着強さが向上した。しかしながら, PMMA ではサーマルサイクル後に接着強さが大きく減少したが、これはコンポジットレジンとの界面に水が浸透したことで界面強度が低下したためと考えられる。

【結論】紫外線照射した PMMA はサーマルサイクル後の接着強さの減少量が大きいものの未照射よりも有意に大きく、EP ではサーマルサイクル後の接着強さは維持されていた。以上より、紫外線照射したファイバーポストとコンポジットレジンとの接着強さの耐久性はあるものと予想される。

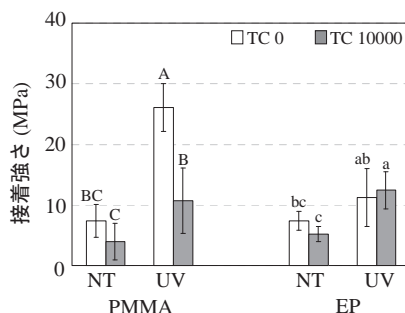


図 サーマルサイクル前後の試作ファイバーポストとコンポジットレジンの接着強さ p<0.05

デュアルキュア型レジンセメントの研究 — 光照射の有無が機械的強度に与える影響 —

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○横田啓太, 鈴木康一郎, 服部泰直, 河村昌哲, 砂田和久, 廣瀬沙耶佳, 吉川一志, 山本一世

Study on dual cured resin cement

— Effect of light exposure on mechanical properties —

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University.

○YOKOTA Keita, SUZUKI Koichiro, HATTORI Yasunao, KAWAMURA Masaaki,
SUNADA Kazuhisa, HIROSE Sayaka, YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

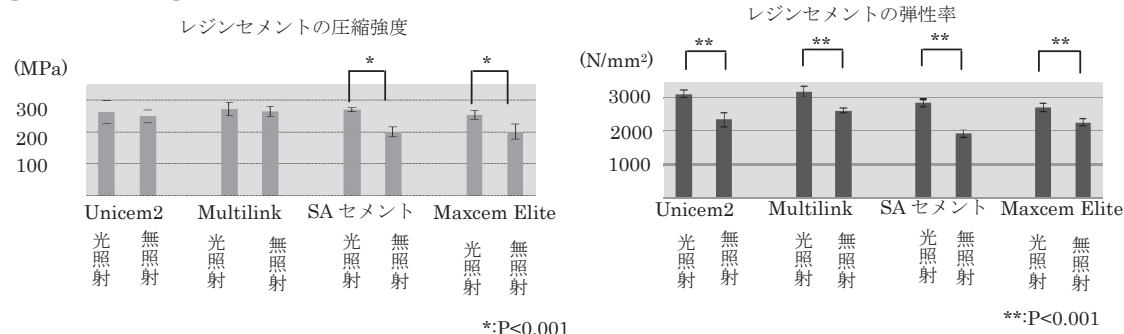
【目的】

近年、歯の修復における審美的な要求が高まり、歯冠色間接修復の普及とともにレジンセメントが用いられる機会が増加している。中でもデュアルキュア型レジンセメントは重合様式の特徴が修復物のセメンティングに有利であることから臨床で多用されているが、メタルインレーやクラウンのように光が透過しない症例でも用いることも考えられる。そこで本研究では、光照射がデュアルキュア型レジンセメントの機械的強度に与える影響を考察するため、光照射を行った場合と無照射の場合の圧縮強度および弾性率を測定し、比較、検討を行った。

【材料および方法】

デュアルキュア型レジンセメントとして、全てオートミックスタイプの Unicem2 (3M ESPE), Multilink (Ivoclar Vivadent), クリアフィル SA セメント (kuraray), Maxcem Elite (Kerr) を使用した。光照射を行う群は各種デュアルキュア型レジンセメントを直径 3mm, 高さ 6mm のテフロンモールドに填入後、セルロイドストリップにて圧接し、上下面から 20 秒ずつ XL3000 にて光照射を行い硬化させ、37°C 水中に 24 時間浸漬させて保管したものを試料とした。光照射を行わない群は遮光状態の暗室で、同様の手順で各種デュアルキュア型レジンセメントをテフロンモールドに填入、圧接後、遮光状態にて 24 時間保管したものを試料とした。24 時間保管した後、万能試験機 AUTOGRAPH AGS-10kNX (島津製作所) を用いて CHS 1.0mm/min にて、圧縮強度および弾性率の測定を行った。各条件における試料数は 8 試料とし、統計処理は一元配置分散分析および Tukey の検定を行った。

【結果および考察】



結果を上図に示す。圧縮強度においては、Unicem2 および Multilink では光照射の有無における有意差は認められなかったが、クリアフィル SA セメントおよび Maxcem Elite では有意差が認められた。弾性率においては、4 種ともに光照射の有無における有意差が認められた。このことから、無照射の場合、レジンセメントの重合が完全でない可能性があると考えられた。

【結論】

今回実験に使用したデュアルキュア型レジンセメントでは光が届かない環境下で使用した場合に機械的強度が低下する傾向があり、弾性率が低下することから重合が完全でない可能性が示唆された。この結果より、デュアルキュア型レジンセメントを用いる際には可能な限り光照射を行う方が望ましいと考えられる。

接着性レジンセメントの歯髄刺激性について
—練和後の pH 変化—
大阪歯科大学 歯科保存学講座

○小正 玲子、吉川 一志、竹内 撰、野村 雄司、三木 秀治、妻野 純朗、廣瀬 泰明、山本一世

Pulpal response to adhesive resin-based luting cements
—pH determinations of adhesive resin-based luting cements—
Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○Reiko KOMASA, Kazushi YOSHIKAWA, Osamu TAKEUCHI, Yuji NOMURA, Hideji MIKI, Sumio TUMANO,
Yasuaki HIROSE, Kazuyo YAMAMOTO

【研究目的】

審美歯科の発展に伴い、コンポジットレジンインレーおよびセラミックインレー修復が増加している。これらの修復の増加に伴い、接着性レジンセメントの使用は欠かすことができないものとなっている。近年、前処理を必要としないセルフアドヒーシブセメントが開発、市販され始めた。セルフアドヒーシブセメントは、本セメント中に含有されている接着性モノマーがエナメル質や象牙質をセルフエッチングし、レジン成分が浸透、拡散し樹脂含浸層を形成することにより接着している。

また、一方インレー修復の術後疼痛の原因の一つとして、歯科用セメントが練和直後に酸性を示すことが原因といわれている。接着性レジンセメントについては、接着に必要な接着性モノマーが酸性であるため、硬化中の酸性度が歯髄に影響を与える可能性がある。そこで、今回われわれは、接着性レジンセメントの pH 値を測定し、練和後の pH の変化について検討した。

【材料および方法】

被験材料として Maxcem Elite(Kerr)、Clearfil SA セメント Automix(Kuraray)、RelyX Unicem2 Automix(3M ESPE)を使用し、各材料の練和方法はメーカーの指示に従った。

各試料の pH 測定にはブック pH 試験紙(ADVANTEC)を使用した。蒸留水にて湿潤した pH 試験紙を 3 分間反応させ、STANDARD COLOR CHART を参考にし、各試料の練和直後、練和後 5、10 分、24 時間、48 時間後および 72 時間後の pH 値を測定した。試料は各群 3 個とし、Tukey の検定を用い統計解析を行った。

【成績】

Maxcem Elite についての pH 値は練和直後から 72 時間後まであまり変化がみられず、硬化後も pH は 3.0 と強い酸性の値を示した。Clearfil SA セメント Automix については、練和直後の pH は 2.5 と高い酸性を示し、72 時間後になると 6.2 へと上昇した。最後に、RelyX Unicem2 Automix については、練和直後の pH は 2.8 と強い酸性の値を示すが、72 時間後には 7.4 に上昇した。

【考察】

Maxcem Elite は硬化後の pH はその他のセメントに比べ高いものの、酸性の状態を示し中性を示すまでには時間が必要で、歯髄に対して刺激性を与える可能性があると考えられる。Clearfil SA セメント Automix は練和直後の pH は最も低いが、24 時間で 5.5 へと上昇していき 72 時間後には 6.2 と中性に近い状態を示した。また、RelyX Unicem2 Automix も練和直後の pH は 2.8 と低いが、練和後 72 時間の pH の値が最も中性に近い値を示すことから歯髄に対する刺激性が少ないと考察できる。

【結論】

以上の結果より、練和後の pH から見て、Clearfil SA セメント Automix、RelyX Unicem2 Automix が歯髄刺激性の小さいセメントであると考えられる。

セラミックスの唾液汚染がレジンセメントの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，
医療法人社団参歯会 植原歯科³

○石井 亮¹，古宅真由美¹，瀧本正行¹，岩佐美香¹，坪田圭司¹，
高見澤俊樹^{1,2}，宮崎真至^{1,2}，植原俊雄^{1,3}

Influence of Saliva Contamination on Ceramics Bonding

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

○ISHII Ryo¹，KOTAKU Mayumi¹，TAKIMOTO Masayuki¹，IWASA Mika¹，TSUBOTA Keishi¹，
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}，MIYAZAKI Masashi^{1,2}，UEHARA Toshio^{1,3}

【研究目的】

セラミックス修復材は、機械的強度とともに化学的にも安定なところから、その臨床応用範囲が拡大している。これらセラミックス修復物の装着にはレジンセメントが使用され、修復物内面には良好な接着を獲得するための前処理が行われている。しかし、修復物を口腔内で試適する際に生じる唾液汚染によって、レジンセメントとの接着性が低下する可能性があるものの、その詳細については不明な点が多い。

そこで演者らは、セラミックスにおける唾液汚染がレジンセメントの接着性に及ぼす影響について検討した。また、唾液汚染後に表面処理を行ったセラミックスの SEM 観察を行い、その考察資料とした。

【材料および方法】

供試したセラミックスブロックは、IPS Empress CAD (Ivoclar Vivadent, 以後 EP) および IPS e.max CAD (Ivoclar Vivadent, 以後 EM) の 2 製品を、製造者指示に従って焼成したものをを用いた。

また、供試したレジンセメントは Multilink Automix (Ivoclar Vivadent, 以後 MA) および Rely X Unicem 2 (3M ESPE, 以後 RU) の 2 製品とした。

1. 表面自由エネルギーの測定

供試したセラミックスブロックを、SiC ペーパーの #600 まで研削し、被着面とした。被着面に対し、5 %フッ酸水溶液を 30 秒間塗布後、水洗し、ヒト唾液を 10 μ l 滴下してこれを汚染面とした。汚染面の表面処理法は、Ivoclean (Ivoclar Vivadent, 以後 IV) 処理、リン酸エッチングあるいはフッ酸処理の、合計 3 条件とした。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、測定によって、得られた接触角から拡張 Fowkes の理論式を用いて、表面自由エネルギーを算出した。また、汚染面に表面処理を施すことなく測定を行ったものを未処理面とした。

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た試片にテフロン型を静置し、供試したレジンセメントを充填し、接着試片を製作した。これらの試片は、37 $^{\circ}$ C 精製水中に 24 時間保管後、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いて、クロスヘッドスピード 1 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。

3. SEM 観察

セラミックスブロックに対する表面処理後の形態的な検討を行うため、通法に従って試片を製作し、FE-SEM (ERA-8800FE, Elionix) を用いて、その処理面を加速電圧 10 kV の条件で観察した。

【成績および考察】

EP および EM における表面処理後の表面自由エネルギーは、唾液汚染面と比較していずれの条件においても有意に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傾向を示した。これは、各種表面処理法のセラミックス表面における唾液成分の除去効果およびその改質効果の違いにより、その表面自由エネルギーが影響を受けたことを示すものと考えられた。また、表面処理後の EP および EM に対するレジンセメントの接着強さは、汚染面に対するものと比較して、いずれの条件においても有意に高い値を示した。これは、汚染面の表面処理によって表面自由エネルギーが上昇にしたために、その接着強さも向上したものと考えられた。

【結論】

唾液の汚染が生じたセラミックスの表面自由エネルギーは、汚染面に対する表面処理により上昇することが判明した。また、唾液汚染が生じたセラミックスに対するレジンセメントの接着強さは、汚染面に対する表面処理によって向上した。

フッ素系シランと芳香族系シランの細胞毒性について

¹ 神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野, ² 神奈川歯科大学顎口腔修復科学講座

³ 神奈川歯科大学総合歯科学講座, ⁴ 東京理科大学工業化学科

○大橋 桂¹, 二瓶智太郎¹, 三宅 香¹, 清水統太², 芹田枝里¹, 原 健一郎¹, 寺中文字¹,
大橋崇明¹, 小泉忠彦³, 近藤行成⁴, 好野則夫⁴, 寺中敏夫¹

Cytotoxicities of Silane Coupling Agents containing Fluorocarbon Chain and Aromatic Hydrocarbon

¹Div. of Restorative Dentistry, Dept. of Oral Medicine, ²Dept. of Oral Maxillofacial Rehabilitation,

³Dept. of Comprehensive Dentistry, Kanagawa Dental College,

⁴Dept. of Industrial Chemistry, Tokyo University of Science

○OHASHI Katsura¹, NIHEI Tomotaro¹, MIYAKE Kaori¹, SHIMIZU Tota², SERITA Eri¹, HARA Kenichiro¹,

TERANAKA Ayako¹, OHASHI Takaaki¹, KOIZUMI Tadahiko³, KONDO Yukishige⁴, YOSHINO Norio⁴, TERANAKA Toshio¹

【研究目的】

我々はシランカップリング層の耐水性を向上させる目的で, 種々の疎水性シランカップリング剤を用いて処理したガラス面に対するコンポジットレジン接着剤の接着耐水性を検討したところ, 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) 単独で処理したものと比較し, 有意に接着力と耐水性が向上することを報告した¹⁻⁵⁾. 今回はこれらのシランカップリング剤の中でも特に優れた接着耐水性を有していたノナフルオロヘキシルトリメトキシシラン (4F) と 3-(4-メタクリロイルオキシフェニル) プロピルトリメトキシシラン (*p*-MBS) の生体有害作用の有無を細胞毒性試験により検討した.

【材料および方法】

実験に供したシランカップリング剤は, 4F および *p*-MBS で, コントロールとして 3-MPS を用いた. 各々のシランカップリング剤はエタノールを溶媒に用いて 2wt% に調製し, 1mol/l の水酸化ナトリウム (和光純薬) と塩酸 (和光純薬) で洗浄, 乾燥させた市販並板ガラス (旭硝子) の表面すべてをシラン処理し, 風乾させた. その後, エチレンオキサイドガスにて滅菌し細胞毒性試験に用いた. 細胞毒性試験の試験方法は, 「生物学的安全性試験の基本的な考え方に関する参考資料について」(平成 15 年事務連絡医療機器審査 No.36) の別添「医療機器の生物学的安全性評価のための試験法について」に従いコロニー形成阻害試験を行った. シラン処理し滅菌した並板ガラスの表面積 6cm² に対し MO5 培地を 1ml の割合で加えて 37°C の 5%CO₂ インキュベーター中で 24 時間抽出し, これを 100% 抽出液とした. 100% 抽出液は, MO5 培地を用いて希釈し, 0.5, 1.0, 5.0, 10 および 50% の濃度の試験液を調製した. 単層に増殖した V79 細胞をトリプシン処理により剥離させ, MO5 培地を用いて 100 個/ml の細胞浮遊液を調製し, 24well マルチウェルプレートに 0.5ml/well ずつ播種, 37°C の 5%CO₂ インキュベーター中で 6 時間培養した. 培養後, 培地のみ吸引し, 各濃度の試験液を 0.5ml/well ずつ滴下し, 37°C の 5%CO₂ インキュベーター中でさらに 6 日間培養した (n=4). 培養終了後, 各 well を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定し, 0.1% メチレンブルー溶液で染色して, 細胞数が 50 個以上のコロニーを計数した. またブランクコントロールは, MO5 培地のみで同様の培養を行ったものとした.

【結果および考察】

実験に供したすべてのシランカップリング剤の試験液におけるコロニー形成率は, ブランクコントロールと比較して低下は見られなかった. 以上の結果より, 本試験条件下において, 各シランカップリング剤で得られた抽出液は細胞毒性を示さないものと考えられ, 臨床応用が可能であると示された.

【参考文献】

- 1) 山中ら: 日歯保存誌 39, 218-226, 1996.
- 2) 二瓶ら: 歯材器 19, 509-518, 2000.
- 3) 二瓶ら: 歯材器 21, 104-115, 2002.
- 4) 二瓶ら: 歯材器 24, 1-8, 2005.
- 5) 鈴木ら: 歯材器 28, 8-17, 2009.

根管治療歯の CEREC システムによるオーバーレイ修復の内面適合性評価

東京歯科大学歯科保存学講座
○間 奈津子 手銭親良 呉 明憲 吉澤佑世 森永一喜

Evaluation of the inner compatibility of the overlay restorations with CEREC AC systems on endodontically treated teeth

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College
○Natsuko Aida, Chikara Tezen, Akinori Kure, Yuusei Yoshizawa and Kazuki Morinaga

【目的】

近年、CAD/CAM システムの歯科領域への応用により歯冠修復の臨床的選択基準が拡大された。またソフトウェアの改良により修復物の適合精度や操作性が向上し、より適合精度の高い修復物を作製することが可能となっている。根管治療後の歯冠修復において、従来の修復法ではコロナルリーケージによる根管内への細菌の再侵入により経過不良という結果を招く恐れがある。根管充填後の良好な予後を得るために、適合精度の高い適切な修復を速やかに行うことが望ましい。本実験では CEREC システムの最新ソフトウェアである CEREC AC を用いて、根管充填後の歯冠内接着修復を想定し、髄腔内形態と使用セラミックが修復物内面適合性に与える影響を、3D レーザー顕微鏡で計測し、比較検討した。

【材料および方法】

試料は、下顎右側第一大臼歯レジン製根管模型(楸ニッシン)とセレックブロック (S4-0 14mm, Sirona Dental Systems, Inc.: Germany)、e-max (C14 LT, Ivoclar) を用いた。レジン歯は頬側歯頸部から高さ 4 mm、舌側 4.5 mm、歯髄腔までの歯質の厚さを 3 mm に設定した。また髄腔中央部を深さ 5 mm、3 mm (以下 C3、C5、E3、E5 グループ)、髄腔幅を近遠心径 5 mm、頬舌径 4.5 mm に設定し支台歯を作製した。光学印象採得を行うにあたり、形成済み人工歯へ酸化チタン噴霧した。CEREC AC のマニュアルに従って設計を行い、修復物を作製後、エステティックセメント (クラレメディカル) にて支台歯に接着した。辺縁部及び内面適合性の測定は、ミナラボカッター (楸マルトー: 東京) を用いて試料を頬舌的に切断し、辺縁及び内面の 3 計測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、頬側辺縁、頬側軸角、髄腔中央の 3 点とし、得られたデータは一元配置分散分析及び Bonferroni の多重比較検定を用い、髄腔内形態と使用セラミックが根管処置歯に対する CAD/CAM オーバーレイ修復物の内面適合性に及ぼす影響を検討した。

【結果および考察】

頬側辺縁部における平均セメント厚さは、C3 グループで 51.39 μ m、C5 グループで 73.07 μ m、E3 グループで 53.6 μ m、E5 グループで 62.58 μ m であった。軸角部では、C3 で 146.68 μ m、C5 で 163.12 μ m、E3 で 88.8 μ m、E5 で 110.36 μ m であった。髄腔中央部では、C3 で 209.08 μ m、C5 で 212.3 μ m、E3 で 194.36 μ m、E5 で 177.54 μ m であった。

辺縁部において異なる中央部深さによる有意差は認められず、またセラミックブロックによる有意差も認められなかった。軸角部において、同一種類では異なる中央部深さによる有意差は認められなかったが、セレックブロックに比較し e-max では有意にセメント厚さが小さいことが認められた。また髄腔中央部では、深さやセラミックブロックの種類による有意差は認められなかった。しかし、中央部深さの違いによる有意差は各部位で認められなかったが、深さ 5 mm より 3 mm でセメント厚さが小さい傾向が見られ、またセレックブロックに比較し e-max でのセメント厚さが小さい傾向が認められた。

【結論】

このことから、軸角部ではセラミックブロックの種類による内面適合性に影響を及ぼすことが示唆された。また辺縁部ではセラミックブロックの種類や内面の形態 (深さ) に影響することなく適合精度が高く、修復物適合性の臨床許容範囲内であることを確認した。

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	大阪市中央区東心齋橋 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 イトーピア清洲橋通ビル 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)

平成 24 年 5 月 28 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

一般財団法人 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

(一財) 口腔保健協会内

電 話 03 (3947) 8891

F A X 03 (3947) 8341

謝 辞

日本歯科保存学会 2012 年度春季学術大会（第 136 回）を開催するにあたり、下記の団体・企業等から多大なご協力を賜りました。ここに記し、厚く御礼申し上げます。

日本歯科保存学会 2012 年度春季学術大会（第 136 回）
大会長 桃井 保子

後援団体等一覧（五十音順）

社団法人 沖縄県歯科医師会

鶴見大学

協賛企業等一覧（五十音順）

Ivoclar Vivadent(株)	Inspektor Research Systems bv	(株)ウィルアンドデンターフェイス
(有)ウェイブレンダス	ウエルテック(株)	ULTRADENT JAPAN(株)
(株)エイコー	江崎グリコ(株)	(株)エフ・アール・エス
M&M imports	(株)オーラルケア	長田電機工業(株)
花王(株)	カボデンタルシステムズジャパン(株)	(株)キクタニ
グラクソ・スミスクライン(株)	クラレノリタケデンタル(株)	小林製薬(株)
(株)コムネット	ザイコア・インターナショナル・インク	サイブロン・デンタル(株)
サンメディカル(株)	(株)サンギ	サンスター(株)
(株)ジーシー	ジェット(株)	(株)ジャックス
ジャパンライム(株)	(株)松風	昭和薬品化工(株)
ジョンソン・エンド・ジョンソン(株)	コンシューマーカンパニー	スリーエムヘルスケア(株)
タカラベルモント(株)	ティーアンドケー(株)	デンツプライ三金(株)
(株)トクヤマデンタル	トムソン・ロイター・プロフェッショナル(株)	
(株)ナカニシ	(株)ニッシン	日本歯科薬品(株)
日本ゼトック(株)	日本メディカルテクノロジー(株)	ネオ製薬工業(株)
パナソニック(株)	(株)ビーブランド・メディコーデンタル	
(株)日向和田精密製作所	(株)ヒョーロン・パブリッシャーズ	(株)フィール
プロクター・アンド・ギャンブル・ジャパン(株)		マニー(株)
(株)みくに工業	(株)茂久田商会	(株)モリタ
(株)ヤマト	(株)ヨシダ	ライオン歯科材(株)
(株)りゅうせき	(株)YDM	

発行所
東京都豊島区駒込一丁目四三十九番
一般財団法人 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
一般財団法人 口腔保健協会

