

ジルコニア/陶材傾斜機能材料の歯冠修復への応用

-ジルコニア/陶材傾斜機能材料の曲げ強さ-

¹鹿児島大学医学部・歯学部附属病院保存科

²鹿児島大学大学院理工学研究科

○塚田岳司¹、末吉秀一²、金丸憲一¹、上林洋樹²、徳田雅行¹、鳥居光男¹

Application of Functionally Graded Materials to Crown Restorations

-Bending Strength of Zirconia/Porcelain Functionally Graded Materials-

Kagoshima University Medical and Dental Hospital Restorative Dentistry and Endodontology¹

Kagoshima University Graduate School of Science and Engineering²

○TSUKADA Gakuji¹, SUEYOSHI Hidekazu², KANEMARU Norikazu¹, KAMIBAYASHI Hiroki²,

TOKUDA Masayuki¹, TORII Mitsuo¹

【研究目的】最近、CAD/CAM システムの発達に伴い、歯冠修復材料としてにわかにジルコニアが注目を浴びてきているが、そのあまりにも高い機械的強度のために、技工操作が非常に複雑で手間と時間がかかり、一般的な普及への大きな妨げとなっている。また、硬すぎて削れず除去が非常に困難であるということや、ジルコニア/陶材界面での剥離が起こるといった問題点も指摘され始めている。そのため、それらの問題点の改善を目的とし、ジルコニアと陶材の複合化を試みたが、それだけでは切削性は改善されたものの、機械的性質に大幅な減少がみられた。そこで、ジルコニアと陶材を複合化し、さらに組成傾斜させてジルコニア/陶材の傾斜機能材料 (FGM) を作製したところ、興味ある結果が得られたので報告する。

【材料および方法】

1. 材料: ジルコニア粉末は、粒径 40 nm の 3 mol% のイットリアを含む部分安定化ジルコニア粉末 (東ソー株式会社、TZ-3Y-E) を、陶材には高溶陶材 (株式会社松風、SI-HF10901) を使用した。入手時の陶材粉末は、平均粒径が 12.23 μm とジルコニア粉末と比較して大きかったため、300 rpm、9 時間の遊星型ボールミリング処理を行い、平均粒径 0.53 μm と細かくしたものを使用した。ジルコニアと陶材を複合化する場合は、それぞれの粉末を体積比でジルコニア:陶材=100:0、90:10、80:20、70:30 となるように計量し、それらを十分に混和し、実験に供した。
2. 試料作製: 粉末の焼結には放電プラズマ焼結機 (富士電波工機株式会社、SPS-515S) を使用した。まず、内径 20 mm の円筒状の黒鉛製ダイに粉末を填入した。FGM の場合は図 1 に示すように配合率の異なる粉末を順次填入した。次に 2 MPa の単軸加圧を施した。焼結は、真空中、加圧力 10 MPa 下で、15 分で 1350 $^{\circ}\text{C}$ まで加熱した後、4 分間保持する方法で行い、直径 20 mm、厚さ 1 mm の円盤状の試験片を作製した。
3. 曲げ試験: 円盤状の焼結体の中央部を、幅 4 mm となるようにダイヤモンドポイントで切り出し、曲げ試験用の試験片とした。曲げ試験には、引張圧縮試験機 (ミネベア株式会社、TG-1kN) を使用した。支点間距離 15 mm、クロスヘッドスピード 0.1 mm/min で 3 点曲げ試験を行った。FGM の場合は、100 % ジルコニアの層が下側 (引張応力側) となるようにして曲げ試験を行った。それぞれについて 5~7 回の試験を行った。

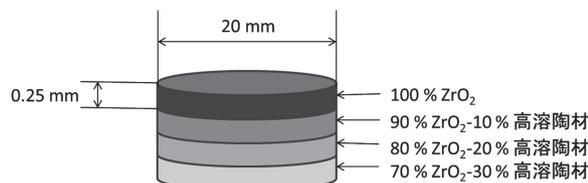


図1. FGMの体積比

【成績】曲げ試験の結果を図 2 に示す。100 % ジルコニア試料の曲げ強さは 503 MPa であったが、70 % ジルコニアと 30 % 高溶陶材を複合化した試料の曲げ強さは 202 MPa と約 40 % に低下した。しかしながら、FGM 試料の曲げ強さは 586 MPa と 100 % ジルコニア試料と比較しても全く低下はみられず、破面においても層間の界面破壊はみられなかった。

【考察】ジルコニアと陶材を複合化し、更に FGM とすることは曲げ強さを高めるために非常に有効であった。この方法を歯冠修復材料に取り入れることにより、現行のジルコニアにおける諸問題点が改善された新規の修復法の開発が期待できる。

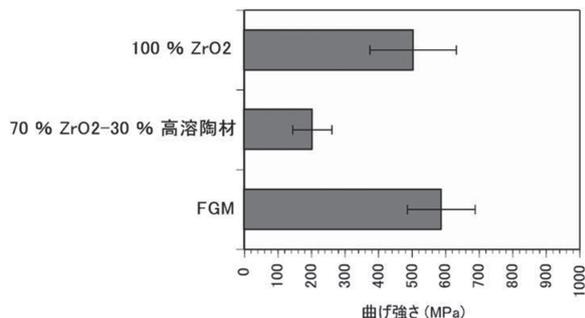


図2. 3種類の焼結体の曲げ強さ

フッ化物塗布はウシ歯根象牙質の脱灰を抑制した

¹⁾鶴見大学歯学部保存修復学講座, ²⁾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, 兵庫医科大学歯科口腔外科学講座 ³⁾

○菅原豊太郎 ¹⁾, 中嶋省志 ²⁾, 清水明彦 ³⁾, 田上順次 ²⁾, 桃井保子 ¹⁾

Fluoride application suppressed demineralization of bovine root dentin

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine, Cariology and Operative Dentistry, School of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Department of Dentistry and Oral Surgery

○SUGAWARA Toyotaro, NAKASHIMA Syozi, SHIMIZU Akihiko, TAGAMI Junji, MOMOI Yasuko

【背景・目的】 根面う蝕は、歯冠部象牙質に見られるう蝕の病態とは様相が異なり、いったん窩を形成すると従来の歯冠修復法では対応し切れないことがしばしばである。このことから、根面う蝕においては、予防もさることながらう蝕発症後にその進行を抑制する治療技術の確立が急務と思われた。う蝕治療ガイドライン¹⁾は、初期活動性根面う蝕に対して、患者のフッ化物洗口や歯磨剤の常用がう蝕の進行抑制に有効であると推奨している。今回われわれは、各種フッ化物の応用がウシ歯根面象牙質の脱灰を抑制するか、硬さを経時的に評価することで検証した。

【材料および方法】 セメント質を除去したウシ歯根面を、被験象牙質面(1.5×3.0 mm)を除外しマニキュアで覆覆した。フッ化物として、フッ化ナトリウム(フッ化ナトリウム液ネオ、ナムコール)、リン酸酸性フッ化ナトリウム(フルオール液歯科用2%、ピーブランドメディコ)、フッ化ジアミン銀(サホライド、ピーブランドメディコ)をメーカー指示を参考に用いた。硬さの測定には押し込み硬さ試験機(カリオテスター、三栄エムイー社)²⁾を用い、硬さは測定機の圧子が象牙質に押し込まれた深さで表示した(CT値, μm)。硬さ測定を終えた全サンプルを4(3種のフッ化物応用群+フッ化物非応用群)×5(脱灰液浸漬1, 3, 7, 14, 21日間)の20群に分け、各群10サンプルとした。各フッ化物応用群における、脱灰期間とCT値の変化($\Delta\text{CT} = \text{浸漬後のCT値} - \text{浸漬前のCT値}$)との相関は決定係数(r^2)で検討した。また、21日後のCT値をボンフェローニ多重比較($\alpha = 0.01, 0.05$)で分析した。

【結果および考察】

Fig.1 に結果を示す。全ての条件で脱灰時間と ΔCT の変化との関係には正の相関($r^2 = 0.7656 \sim 0.9866$)が認められた。21日後のCT値は、コントロール>フッ化ナトリウム>リン酸酸性フッ化ナトリウム>フッ化ジアミン銀の順で統計的有意差をもって小さくなった。これには各フッ化物中のフッ化物イオン濃度が

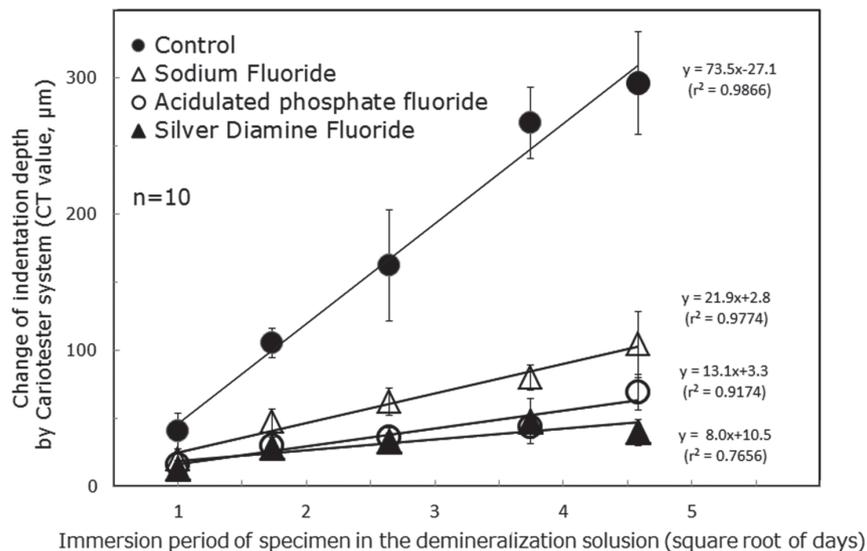


Fig.1 Demineralization period vs. CT value

関与するものと思われた。現在、本実験で得られた結果を確認するために、TMR (Transversal Microradiography) を用いて全てのサンプルの脱灰深さとミネラル損失量を測定している。

【結論】 フッ化ナトリウム、リン酸酸性フッ化ナトリウム、フッ化ジアミン銀の塗布は、歯根象牙質の脱灰を抑制した。フッ化ジアミン銀の抑制効果が最も高かった。

参考文献: ¹⁾日本歯科保存学会編: う蝕治療ガイドライン 永末書店 京都 2009

²⁾カリオテスターによる初期エナメル質う蝕の評価 清水明彦, 第136回日本歯科保存学会抄録集 p43

ナノ HAP と CO₂ レーザーを応用した歯根象牙質のアパタイトコーティングに関する基礎的研究
第 3 報 至適照射条件の策定

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○成橋昌剛、小川直寛、鶴田あゆみ、福田秀光、中野健二郎、山田三良、富士谷盛興、千田 彰
Fundamental Study of Hydroxyapatite Coating on Root Dentin Surface by Nano-hydroxyapatite
Application and CO₂ Laser Irradiation

Part3 Establishment of conditions for optimal irradiation condition

Aichi Gakuin University, Department of Operative Dentistry

○Naruhashi Masayoshi, Ogawa Naohiro, Tsuruta Ayumi, Hukuda Hidemitsu, Nakano Kenjiro
Yamada Mitsuyoshi, Fujitani Morioki, Senda Akira

【緒言】

近年、高齢社会に伴い増加傾向にある露出根面には、根面う蝕や侵蝕症などが発症するリスクは極めて高い。したがって、これらの発症の制御と露出根面の保護は急務の課題である。そこで演者らは、ナノハイドロキシアパタイトを塗布した象牙質面を CO₂ レーザー (波長 10.6 μm) 照射することにより、象牙質表面をアパタイトコーティングして、結晶性の高い層へ改質する試みを行ってきた。すなわち、ナノハイドロキシアパタイトはハイドロキシアパタイトよりも低エネルギー照射で象牙質に熔着可能であること (第 11 回日本歯科用レーザー学会, 2009)、また、ナノハイドロキシアパタイトと低エネルギー照射との組み合わせは、象牙質への熱影響はほとんどないもののナノハイドロキシアパタイトの熔着耐久性についてはさらなる検討が必要であること (第 22 回日本レーザー歯学会, 2011) を明らかにした。

そこで本研究では、象牙質に対する熱影響を可能な限り少なくし、ナノハイドロキシアパタイトを強固かつ効果的に熔着させる照射条件の策定を試みた。

【材料および方法】

ヒト抜去小白歯の類側歯根面に #2000 仕上げの平坦面を調製し、10%クエン酸水溶液で 10 秒間処理後、十分な水洗乾燥を行った。次いで、試作ナノハイドロキシアパタイト (PENTAX NEWCERAMICS, 以下ナノ HAP)、またはハイドロキシアパタイト (和光純薬, 以下 HAP) を塗布し、CO₂ レーザー (PanalaseC05Σ: パナソニックデンタルケア株式会社) を用いて RPT モード、0.5 sec、3 パルス、距離 0.5 mm の条件下で、1W (エネルギー密度: 14.1 J/cm²)、2W (エネルギー密度: 24.2 J/cm²)、3W (エネルギー密度: 34.3 J/cm²) の異なるエネルギーで各々照射した。また、クエン酸処理のみ (C 群)、クエン酸+レーザー照射のみ (L 群)、および無処理象牙質 (Cont 群) の試料も作製し、赤外分光分析装置 (以下 FT-IR) を用いて表層の組成分析を行った。さらに、熔着耐久性を検討するため、30 分間超音波洗浄をした各試料を走査電子顕微鏡 (以下 SEM) にてその表面の熔着状態を観察した。

【結果および考察】

FT-IR での PO₄ のピーク強度は、ナノ HAP 群、HAP 群は L 群と比べて高い傾向にあり、さらにエネルギー密度が高いほどそのピークは鮮明に分岐していた。一方、アミド結合のスペクトルは、ナノ HAP 群では 2W、3W で消失し、HAP 群と L 群では 3W で消失していた。これらのことから、ナノ HAP の方が低エネルギー照射で効率的に象牙質に熔着していることが判明した。

一方、超音波洗浄を施すと、ナノ HAP 群、HAP 群ともに熔着したアパタイト粒子は 1W ではほぼ脱落しており、3W ではいずれも熔着していたが歯質に亀裂や炭化が著明に観察された。しかし、2W では、HAP 粒子は脱落していたがナノ HAP 粒子は歯質にほとんど影響を与えずに熔融、熔着していた。これは、ナノ HAP が HAP に比し、CO₂ レーザーのエネルギー吸収効率が高いため、歯質に影響を及ぼすことなく熔融、熔着したものと考えられる。

以上のことより、ナノハイドロキシアパタイトをヒト抜去小白歯歯根面に塗布し、本照射条件での CO₂ レーザー照射を行なうことにより、歯面に亀裂や炭化などの熱影響をあまり及ぼすことなく、アパタイトを比較的強固に熔着させることが可能であることが判明した。

【結論】

ナノハイドロキシアパタイトを歯根面に塗布し、CO₂ レーザーを RPT モード、0.5 sec、3 パルス、距離 0.5 mm、2W (エネルギー密度 24.2 J/cm²) の条件で照射すると、アパタイト粒子を比較的効果的に熔融熔着させることができることが明らかになった。

新規バイオガラス配合セメントの物理化学的特性と細胞に及ぼす影響

九州歯科大学口腔治療学講座齶蝕歯髄疾患制御学分野¹

医療人間形成学講座総合診療学分野²

○鷲尾絢子¹、中川愛加¹、寺下正道²、北村知昭¹

Physicochemical Properties of New Bioglass Cement and its Effects on Cell Responses

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, NAKAGAWA Aika¹, TERASHITA Masamichi², KITAMURA Chiaki¹

【研究目的】

歯髄保護処置、穿孔部封鎖および根管充填での使用を目的としたセメントは、象牙質・歯髄あるいは歯根膜・骨組織と直接接触するため、良好な封鎖性や生体親和性・再生誘導能などの性質を有することが求められる。現在注目されている Mineral trioxide aggregate (MTA) は、良好な封鎖性、抗菌性、生体適合性、硬組織誘導能を有することが報告されている一方、工業用セメントのポルトランドセメント以外の組成は不明であること、操作性が悪いこと、高価であることなどの問題点も報告されている。これらの問題点を改善し、生体材料として明確な組成や硬化メカニズムを示すセメントの開発を最終目標として、我々は、関連企業と共同研究を行っている。その成果として整形外科領域で汎用されているバイオガラスを配合したセメント（開発コード：NSY-222）を開発した。今回、NSY-222 とバイオガラスではなくフッ素非含有アルミノシリケートガラスが配合されたセメント（NSK-12）とを比較し、NSY-222 の物理化学的特性や細胞に及ぼす影響とバイオガラスとの関連性を検討した。さらに、MTA と比較することで、NSY-222 のセメントとしての有用性を検討した。

【材料および方法】

<試験片の作成> NSY-222 および NSK-12 は2つのペーストを、MTA は精製水と練和することにより作成した。練和後に定型の鋳型内（内径 3.5 mm、高さ 6 mm）に埋入し、擬似体液（SBF）内に4日間および7日間浸漬して硬化させ、PBS で洗浄後に試験片として用いた。

<物理化学的特性および細胞への影響>

電界放射型電子顕微鏡（FE-SEM）を用いて試験片の表面性状を観察し、粉末エックス線回折装置（XRD）を用いて結晶構造の解析・同定を行った。また、試験片を精製水中に静置し経時的な pH の変化を測定した。培養用ディッシュ中央に試験片を静置後、象牙芽細胞様細胞である KN-3 細胞あるいは NGF 誘導性神経細胞分化を示す PC12 細胞を播種し、試験片が浸漬されるまで培養液を追加した。播種後3日間、位相差顕微鏡下で細胞形態を観察するとともにトリパンブルー染色による細胞生存率を測定した。PC12 細胞の神経細胞への分化は細胞突起伸長の測定により検討した。

【成績】

FE-SEM および XRD の解析結果から、NSY-222 試験片表面に認められた網状の結晶構造はハイドロキシアパタイト（HAP）と同等のものであることが明らかとなった。一方、NSK-12 では同等の結晶構造は認められなかった。pH については、NSY-222、NSK-12 ともに、練和直後のペーストを精製水に浸漬すると pH10.1 と高アルカリ性を示すものの、経時的に低下し、pH9.0 で安定した。さらに、KN-3 細胞および PC12 細胞へのセメントの影響を位相差顕微鏡で観察したところ、NSK-12 では多くの細胞死が観察されたが、NSY-222 および MTA は試験片に直接接触する位置まで細胞が増殖しているのが観察され、高い細胞生存率を示していた。また、NSY-222 は、NGF 非存在下にも関わらず PC12 細胞の神経細胞への分化を誘導した。

【考察】

バイオガラスを含まない NSK-12 との比較の結果、NSY-222 が示す HAP 結晶の析出、セメント硬化後に見られる pH 安定性、および生体（細胞）親和性はバイオガラスによる影響であることが示唆された。また、NSY-222 のセメントとしての性質は MTA と同等であることが示された。さらに、NSY-222 は神経細胞分化を誘導することも明らかとなった。

【結論】

新しく開発されたバイオガラス配合セメントは、生体親和性の高いセメントであり、今後、覆髄や歯内療法などに応用されるセメントとして期待される。

最終糖化産物(AGE)はラット歯髄における石灰化物形成と炎症反応を進展させる

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 歯周歯内治療学分野

○中島由紀子, 稲垣裕司, 廣島佑香, 木戸淳一, 永田俊彦

Advanced Glycation End-product Affects Calcification and Inflammation in Rat Dental Pulp Tissues

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

○Yukiko Nakajima, Yuji Inagaki, Yuka Hiroshima, Jun-ichi Kido and Toshihiko Nagata

【研究目的】 糖尿病患者では動脈硬化を合併し、血管壁に粥状石灰化物を形成する 경우가多く、近年、最終糖化産物(AGE)の蓄積が血管の石灰化に促進的に作用していることが明らかにされている。一方、糖尿病患者の歯髄では高頻度で歯髄腔の狭窄や歯髄結石の形成が認められる。我々の研究室では現在までに、糖尿病ラットの歯髄で病的石灰化物の増加やその周囲で骨基質タンパク質のひとつであるオステオポンチン(OPN)の発現が上昇していることを報告した(*J Endod* 36, 1014-20, 2010)。本研究では、AGEが歯髄の病的石灰化に影響を及ぼすかどうかを検証するために、糖尿病ラットと健常ラットの歯髄組織を用いてAGE受容体(RAGE)や石灰化関連マーカーの発現を*in vivo*で比較するとともに、ラット培養歯髄細胞の石灰化誘導能に及ぼすAGEの影響を*in vitro*で調べた。一方、動脈硬化部位では炎症の亢進に伴いカルシウム結合能を有するS100タンパクの発現の増加が報告されている。そこで糖尿病ラットの歯髄組織におけるS100タンパクやIL-6などの炎症性マーカーの発現を*in vivo*で調べ、さらに培養歯髄細胞の炎症性マーカー発現に及ぼすAGEの影響についても*in vitro*で検討した。また、対照細胞として歯肉線維芽細胞を培養し同様の実験を行い、歯髄細胞の結果と比較した。

【材料および方法】 2型糖尿病を自然発症するOtsuka Long-Evans Tokushima Fattyラット(糖尿病ラット)と、正常対照としてLong-Evans Tokushima Otsukaラット(健常ラット)を用いて*in vivo*の実験を行った。糖尿病の発症を確認した後、上顎切歯より歯髄を採取しRNA抽出を行った。引き続きRAGE、石灰化関連マーカーとしてOPNとオステオカルシン(OCN)、炎症性マーカーとしてS100A8、S100A9、IL-6、IL-1 α 、IL-1 β およびTNF- α についてreal-time PCRを行い、mRNAの発現量について比較した。次に6~9週齢の雄性Wistar系ラットを用いて*in vitro*の実験を行った。すなわち歯髄細胞は上顎切歯より、歯肉線維芽細胞は下顎臼歯部の歯肉よりそれぞれ採取し、各細胞をコンフルエントになるまで培養した後、50 μ g/mlアスコルビン酸、2mM β -グリセロリン酸および10%ウシ胎児血清含有EMEM培地に、AGEを50~1000 μ g/mlの濃度で添加して細胞培養を行った。AGEはTakeuchiらの方法に従いBSAとグリセルアルデヒドを用いて作製した。また炎症性マーカーの発現は培地に1 μ g/mlリポ多糖(LPS)を添加して検討した。AGEやLPSの添加開始後、48時間まで経時的にRNAを採取・抽出し、各種マーカーについてRT-PCR、real-time PCRおよびELISA分析を行い、発現の変化について調べた。また最長21日まで細胞培養を継続し、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性測定およびプレートに形成された石灰化骨様結節に対してvon Kossa染色を行い、石灰化物形成の変化を調べた。

【結果】 糖尿病ラット歯髄では健常ラットと比較してRAGE、石灰化関連マーカーおよび炎症性マーカーのmRNA発現が高かった。また培養歯髄細胞にAGEを添加すると、ALP活性、石灰化骨様結節形成量、石灰化関連マーカーの有意な増加が認められた。しかし培養歯肉線維芽細胞ではこれらのマーカーの発現の増加は認められず、AGE添加による石灰化亢進が歯髄細胞に特徴的な反応であることが示された。さらに培養歯髄細胞にAGEとLPSを添加するとLPS単独添加に比べ炎症性マーカーの発現が増強した。

【結論】 糖尿病ラットの歯髄では石灰化関連マーカーおよび炎症性マーカーの発現亢進が認められ、さらにAGEが培養歯髄細胞の各種マーカーを上昇させることから、歯髄の病的石灰化の進展、炎症反応亢進にAGEが直接的に作用している可能性が示唆された。

歯髄・骨髄・脂肪由来幹細胞の培養上清移植による歯髄再生

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 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 transplantation by conditioned medium of porcine pulp and bone marrow and adipose CD31⁺ SP cells

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】

当研究部では歯髄幹細胞を用いた歯髄再生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 マウスに移植すると、骨髄・脂肪は歯髄よりも再生量が少ないものの、歯髄様組織が再生されることを明らかにした(第 134 回日本歯科保存学会発表)。また、歯髄再生には根管内の微小環境が重要であり、由来が異なる細胞を移植した場合、再生量に差があるものの、質的には同様の歯髄が再生されることを明らかにした(第 136 回)。移植した細胞は歯髄固有の細胞に分化せず、血管新生・神経栄養因子などの種々のタンパクを分泌していた。よって trophic 効果により再生に関与していることが示唆された。そこで本研究では、*in vitro* において細胞培養上清の作用を解析することにより、細胞の分泌タンパクが歯髄再生にどのように関わっているかを検討した。また異所性歯根移植モデルにおいて、細胞の分泌タンパクのみでも歯髄が再生するかを検討した。

【材料と方法】

1. 上清の作製：ブタ歯髄・骨髄・脂肪 CD31⁺SP 細胞を無血清下で 24 時間培養した後、培養上清を回収し 3,000 カットのフィルターにて遠心濃縮した。
2. 上清の作用：マウス線維芽細胞 (NIH3T3) に各培養上清 5µg/ml を添加した。
 - 1) 増殖促進作用解析：Tetra Color ONE[®]による吸光度測定
 - 2) 遊走促進作用解析：TAXIScan-FL
 - 3) 抗アポトーシス作用解析：staurosporine 500nM 添加 6 時間後、フローサイトにてアポトーシス細胞数の測定
 - 4) 分化誘導作用解析：①血管内皮細胞：28 日間培養後、VE-cadherin (血管内皮細胞マーカー) にて染色
②神経細胞：神経芽腫細胞 (TGW cells) を用い、48 時間後神経突起伸長の測定
3. 上清による再生歯髄様組織解析：歯根内に 1. の上清および歯髄 CD31⁺SP 細胞を注入し、異所性移植後 28 日で解析
 - 1) 歯髄再生量：HE 染色
 - 2) 血管新生密度：RECA1 染色
 - 3) 神経再生密度：PGP9.5 染色 n=4 にて統計学的解析
 - 4) 移植細胞の血管新生・神経栄養因子発現：ISH (*VEGF*, *GM-CSF*, *MMP3*, *BDNF*, *NPY*)および GOT2 免疫染色二重染色
 - 5) 象牙芽細胞：DSPP, Enamelysin による ISH
 - 6) 再生組織が歯髄であることの証明：TRH-DE による免疫染色、Real-time RT-PCR (歯髄マーカー：*Syndecan3*, *TRH-DE* の mRNA 発現)

【結果】

各培養上清間に増殖促進作用の差は見られなかったが、遊走促進作用および抗アポトーシス作用は歯髄 CD31⁺SP 細胞上清は骨髄・脂肪上清よりも高く、有意な差が認められた。また、血管内皮細胞への分化促進作用は歯髄・骨髄・脂肪由来の上清添加群すべてにおいて確認された。TGW cells に各培養上清を添加すると、48 時間後に神経突起が伸長し、神経細胞への分化促進が見られた。歯髄・骨髄・脂肪細胞培養上清移植による再生組織量は、歯髄の上清を移植したものが最も高く、次いで脂肪・骨髄の順であった。また再生された血管・神経密度は歯髄上清を移植したものが最も高く、次いで骨髄、脂肪の順であった。歯髄・骨髄・脂肪細胞培養上清移植による歯髄マーカーの mRNA 発現量は、歯髄 CD31⁺SP 細胞移植による発現量とほぼ同様であった。

【結論】

これらの結果より、培養上清は増殖促進、遊走促進、抗アポトーシス、血管内皮細胞および神経細胞分化への誘導作用を有し、細胞から分泌されるタンパクのみでも歯髄が再生されることが明らかになった。

IL-6 遺伝子プロモーター領域メチル化と慢性歯周炎および関節リウマチ感受性との関連

新潟大学大学院医歯学総合研究科歯周診断・再建学分野¹

新潟大学医歯学総合病院歯科総合診療部²

○石田光平¹、小林哲夫^{1,2}、小松康高¹、
横山智子¹、岡田 萌¹、吉江弘正¹

Association of interleukin-6 gene promoter methylation with susceptibility to chronic periodontitis and rheumatoid arthritis

Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital²

○Kohei Ishida¹, Tetsuo Kobayashi^{1,2}, Yasutaka Komatsu¹,
Tomoko Yokoyama¹, Moe Okada¹, Hiromasa Yoshie¹

【目的】

インターロイキン 6 (IL-6) は慢性歯周炎 (CP) および関節リウマチ (RA) の共通病因の 1 つであり、IL-6 遺伝子多型の一部は疾患感受性に関与していることが知られている。近年、IL-6 遺伝子プロモーター領域のゲノムメチル化が遺伝子情報発現に影響する可能性が示唆されている。そこで、CP および RA 患者由来の末梢血細胞 DNA を対象に、メチル化状態と疾患感受性との関連性について解析した。更に、CP 患者および健常者由来の歯周組織におけるメチル化状態についても併せて解析した。

【材料および方法】

インフォームドコンセントが得られた CP 患者 30 名 (CP 群)、RA 患者 30 名 (RA 群)、ならびに健常者 30 名 (H 群) より末梢血を採取、ゲノム DNA を抽出後にバイサルファイト処理を行い、IL-6 遺伝子プロモーター領域のプライマーを用いて PCR 増幅後、ダイレクトシーケンス法により同領域のメチル化部位を特定して、メチル化頻度を算定した。その後、3 群間のメチル化頻度について比較・解析を行った。また、メチル化状態の機能的検証として、血清中の IL-6 濃度、ならびに健常者由来 CD14 陽性単核球細胞の *Porphyromonas gingivalis* LPS 刺激後の IL-6 産生量について、ELISA 法にて測定した。更に、CP 群 11 名ならびに H 群 5 名より歯周外科処置時ならびに抜歯時に歯肉組織を採取し、ゲノム DNA を抽出後に、同様の方法にてメチル化解析を行い、末梢血細胞の場合との比較解析を行った。

【結果および考察】

末梢血ゲノム DNA を対象に、IL-6 遺伝子プロモーター全領域にて CpG 19 部位におけるメチル化頻度を測定した結果、-74bp および+19bp 部位のメチル化頻度について 3 群間に有意差が認められた。すなわち、-74bp 部位のメチル化頻度は、H 群と比べて CP 群および RA 群で有意に低かった (共に、 $P=0.0001$)。また、+19bp 部位のメチル化頻度は、H 群と比べて CP 群で有意に高かった ($P=0.0005$)。また、血清中の IL-6 濃度は-74bp のメチル化状態に有意な影響を受けた。すなわち、全対象者でも、年齢・性別・喫煙状態をマッチした健常者でも、-74bp メチル化群と比べて-74bp 非メチル化群で血清 IL-6 濃度は有意に高かった ($P=0.043$, $P=0.03$)。更に、H 群由来の CD14 陽性単核球細胞における *P. gingivalis* LPS 刺激後の IL-6 産生量は、-74bp メチル化群と比べて-74bp 非メチル化群で有意に高い値が認められた ($P=0.03$)。CpG 部位の非メチル化により遺伝子発現活性が高まることや-74bp が転写因子 NF- κ B の結合部位であることから、-74bp CpG 部位のメチル化は IL-6 産生を制御することによって、CP ならびに RA の感受性に関与している可能性が示唆された。また、CP 群および H 群由来歯周組織におけるメチル化頻度を測定した結果、CP 群で 3 例、H 群で 2 例について、それぞれ-1099bp~-1001bp 領域の CpG 部位で低メチル化の傾向が認められた。歯周局所では IL-6 遺伝子プロモーター-1099bp~-1001bp 内で脱メチル化が起こり、IL-6 産生が高まる傾向にある可能性も示唆された。今後は、歯周組織におけるメチル化状態と機能との関連性を解明していく予定である。

会員外共同研究者：村澤 章博士、阿部 麻美博士 (新潟県立リウマチセンター)

歯根膜線維芽細胞において Smad2 は FGF2 遺伝子発現を促進する

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⁾九州大学病院 口腔総合診療科

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

Overexpression of Smad2 Enhances FGF2 Gene Expression in Periodontal Ligament Fibroblasts

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

²⁾ Division of General Oral Care, Kyushu University Hospital

○ Yuki UGAWA¹⁾, Tadashi YAMAMOTO¹⁾, Keisuke YAMASHIRO¹⁾, Masayuki SHIMOE¹⁾, Kazuya TOMIKAWA²⁾,
Shoichi HONGO¹⁾, Shinsuke KOCHI¹⁾, Hiroshi MAEDA¹⁾, Shogo TAKASHIBA¹⁾

【緒言】

歯根膜は歯周組織の恒常性維持や再生に重要であると考えられ、現在まで歯根膜線維芽細胞を標的とした歯周組織再生療法が行われてきた。しかし、歯根膜線維芽細胞の増殖や分化を制御するメカニズムは未だ不明な点が多い。歯周組織の再生を促進するためには、歯根膜線維芽細胞などの間葉系細胞の制御に加えて、歯肉上皮細胞の接合深部への増殖抑制が必要であり、これら発生由来が異なる細胞群を分子生物学的に制御することが望まれている。

Transforming growth factor-beta (TGF-β) は細胞の分化、増殖制御、アポトーシス、および細胞外マトリックスの産生など多様な細胞生物学的作用を有している。その作用には組織や細胞特異性があり、間葉系細胞に対しては増殖を促進する一方、上皮細胞に対しては多くの場合に増殖を抑制することが知られている。

我々は最近、TGF-βのシグナル伝達分子 Smad2 が歯肉上皮細胞の増殖および遊走を抑制し、さらに創傷治癒における再上皮化を抑制することを明らかにした (Tomikawa, *J Dent Res*, 2012)。そこで本研究では、Smad2 が歯根膜線維芽細胞の分化や増殖にどのような影響を及ぼすのかを調べるために網羅的な遺伝子発現解析を行った。

【材料および方法】

1. 歯根膜線維芽細胞の分離・培養：健康な歯周組織を有するドナーの智歯を抜去し、歯根膜組織を採取した (倫理委員会承認番号 975)。歯根膜線維芽細胞は既報 (Seo, *Lancet*, 2004) に従い分離・培養した。
2. Smad2 過剰発現細胞の確立：歯根膜線維芽細胞 Smad2 発現ベクター (Nakao, *J Biol Chem*, 1997) を Lipofectamine LTX (Invitrogen) を用いて導入して、Smad2 を過剰発現させた。24 時間後に全 RNA を抽出し、Smad2, Smad3, および Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) の発現量をリアルタイム RT-PCR 法にて調べた。
3. 細胞分化を制御する遺伝子発現の網羅的解析：上記の全 RNA を用いて細胞分化を制御する遺伝子発現のプロファイルを 84 種類の骨分化関連遺伝子を含む RT² Profiler Osteogenesis PCR Array (QIAGEN) で解析した。

【結果】

1. Smad2 を導入した細胞では、mock 細胞に比較して Smad2 発現が顕著に発現し、さらに PCNA も発現が増加した。一方、Smad3 発現には著明な変化はなかった。
2. array 解析によって、Smad2 を導入した細胞において 12 種類の遺伝子発現が 2 倍以上増加し、9 種類の遺伝子発現が 2 倍以上減少することが分かった。特に Fibroblast growth factor 2 (FGF2) および Platelet-derived growth factor alpha (PDGFA) の遺伝子発現は、それぞれ約 6.4 および 2.0 倍に増加したが、Bone morphogenetic protein 2 および Alkaline phosphatase などの骨形成に関連する因子の遺伝子発現には、顕著な変化はなかった。

【考察および結論】

歯周組織を再生するためには、骨欠損部への間葉系幹細胞の増殖および分化による歯根膜、歯槽骨、およびセメント質の再生と、歯肉上皮の深部増殖の抑制が必要である。本研究では、歯肉上皮細胞の増殖抑制作用を有する Smad2 を歯根膜線維芽細胞において過剰発現させることによって、FGF-2 および PDGF という成長因子の遺伝子発現が促進されることが明らかになった。これらの成長因子は、歯周組織の創傷治癒の初期段階において歯根膜線維芽細胞の増殖を促進することによって、歯周組織再生に寄与すると考えられる。すなわち、歯根膜線維芽細胞における Smad2 シグナルの活性化は、歯周組織再生療法の効率化に繋がる可能性がある。

口腔粘膜上細菌と心内膜炎原因菌の同一性を遺伝子レベルで検討した一症例

¹岡山大学病院 中央診療施設 医療支援歯科治療部

²岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 社会環境生命科学専攻 国際環境科学講座 口腔微生物学分野

○奥井明美¹, 曾我賢彦¹, 山中玲子¹, 苔口進², 森田学¹

Investigation of genetic identity between infective endocarditis pathogen and oral bacteria –A case report

¹Division of Hospital Dentistry, Central Clinical Department, Okayama University Hospital

²Department of Oral Microbiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○Akemi Okui¹, Yoshihiko Soga¹, Reiko Yamanaka¹, Susumu Kokeguchi², Manabu Morita¹

【目的】

口腔内感染巣と感染性心内膜炎の関連は昔から論じられており、American Heart Association をはじめとし多くのガイドライン等が歯科処置による菌血症と心内膜炎との関連を指摘している。しかしながら、この根拠は心内膜炎の原因菌として口腔内常在菌種が検出されることが多いため、意外にも、心内膜炎発症患者を対象に、原因菌とその患者の口腔内細菌との同一性を厳密に証明した報告は少ない。

私たちは、感染性心内膜炎の一症例を対象に、その原因菌が口腔内に存在するか、さらに遺伝子レベルでその同一性を検討した。本症例を提示するとともに、口腔内感染巣と感染性心内膜炎の関連について考察する。

【対象および方法】

患者：67才、男性

現病歴：抗生剤治療にもかかわらず4か月間増悪、寛解を繰り返す発熱のため本院循環器内科を受診した。心エコー検査で大動脈弁に疣贅があり、血液培養検査でグラム陽性球菌を検出したことから、当初 *Streptococcus* による心内膜炎が疑われ、口腔内の精査を目的に当治療部に紹介となった。独立した3回の血液培養検査の最終結果はいずれも *Glanuliacatella elegans* であり、同菌が原因の感染性心内膜炎と診断された。

口腔内所見：プラークコントロールは非常に良好であった。全顎的にPPDは3mm以下であり、BOPは0%であった。レントゲン写真からも感染病巣を疑う像はなかった。

方法：心内膜炎の原因菌と口腔内との関連を精査するため、口腔粘膜上の細菌を採取し、さらに中央検査部から血液培養検出菌の供与を受け、16S ribosomal RNA 遺伝子解析による菌種同定を行うとともに、random amplification of polymorphic DNA (RAPD) 法を用いて同一性を検討した。

【結果】

16S ribosomal RNA 遺伝子解析による菌種同定により、血液培養検査で生化学的手法により *Glanuliacatella elegans* と同定されていた菌は *Enterococcus faecalis* であることが明らかになった。

口腔内から採取した菌株でコロニーの性状から *E. faecalis* であることが疑わしい菌を発見し、16S ribosomal RNA 遺伝子解析で確定した。

血液培養および口腔内から採取した *E. faecalis* について、RAPD 法で同一性を確認したところ、遺伝子レベルで一致した。

【考察】

心内膜炎の原因菌と遺伝子レベルで同一な菌を口腔粘膜上で検出した。このことは、何らかの原因で創等が形成されることにより口腔粘膜が心内膜炎の感染経路となった可能性を示唆する一方、血液培養で原因菌を検出している時期であり、口腔粘膜が感染源ではないにもかかわらず、血液由来により逆行性に口腔内で検出した可能性もある。*E. faecalis* は、腸管内、尿道口、外性器などにも常在しており、感染源を口腔内と断定はできない。しかし、少なくとも遺伝子レベルで心内膜炎の原因菌が口腔粘膜上にも存在することを示した結果は、口腔が心内膜炎の感染経路となり得ることを示唆するものと考えられた。

【結論】

心内膜炎発症患者の一例を対象として、口腔粘膜上に心内膜炎原因菌と遺伝子レベルで同一な菌が存在することを示した。

(会員外協力：岡山大学病院中央検査部 能勢資子, 岡山大学病院医療支援歯科治療部 吉富愛子)

象牙質接着界面評価における電子線トモグラフィー用切片加工法の検討

大阪大学歯学部附属病院口腔総合診療部

○三浦治郎 久保美寿穂 清水真人 長島 正 竹重文雄

Comparison with specimen fabrication methods for ultra-high voltage electron-tomography in calcified tissues
Osaka University Dental Hospital Division for Interdisciplinary dentistry

○Jiro Miura Mizuho Kubo Masato Shimizu Tadashi Nagashima Fumio Takesige

【研究目的】接着界面の立体情報を得る手法は多数存在するが、超微細構造（サブミクロンスケール）といわれるレベルで立体像を得るには現段階で電子線トモグラフィー法が唯一の現実的な手法である。トモグラフィー用の未脱灰薄切試料は、ウルトラマイクロトームや集束イオンビームを使った薄切加工法により作成されている。しかし、ダイヤモンドナイフによる薄切は、コンプレッションによる界面の損傷が起こりやすいといった欠点が指摘されている。一方、集束イオンビームを用いた加工では、ガリウムイオンを用いて高真空、高温という特殊環境下で加工するため試料の損傷が起こりやすいといわれている。我々は、多くの情報を含み様々な界面様相が観察できる超高压電子線トモグラフィー法の有効性を第 131 回大会で報告したが、本研究では超高压電子線トモグラフィー法を行うための試料作製における様々な問題に対して、集束イオンビーム法とウルトラマイクロトーム法の比較検討を行うことを目的とした。

【材料および方法】集束イオンビーム法・ウルトラマイクロトーム法における超薄切片試料の作製

本研究の趣旨に同意した患者から除去された歯の象牙質に対して、セルフエッチングプライマーボンディングシステムとしてクリアフィルメガボンド（クラレメディカル）を用いメーカーの指示通りに処理後、コンポジットレジンで充填した。界面を含むようにダイヤモンドカッターにて厚さ 50 μm ほどに薄切した試料を、2.5%のパラフォルムアルデヒド、2%グルタルアルデヒドおよび2%四酸化オスミウムを用いて二重固定を行った。

①ウルトラマイクロトーム法においては、試料を電子顕微鏡用エポキシレジン（Queto1812）に包埋後、ダイヤモンドナイフ（nanotome 酒井電子顕微鏡応用研究所製）を Ultratome (LKB Sweden)にて使用して 2 μm の切片作成を行った。

②集束イオンビーム法においては集束イオンビーム加工装置（FB2000A, HITACHI）を用いて切削加工を行い、厚さ 2 μm の象牙質-コンポジットレジン界面を含む切片を作製した。

両者とも薄切後に、酢酸ウランとクエン酸鉛により電子染色を行った。試料は、超高压電子顕微鏡 H-3000（HITACHI）を用いて加速電圧 2081kV にて傾斜角 -60° ~ 60° の範囲においてトモグラフィー撮影を行った。撮影後の画像は、再構築ソフトウェア IMOD (colorado Univ.) および Tomography (JEOL ToKyo) にて 3 次元構築を行った。

【結果】両手法において修復材料と象牙質の界面が剥離のない状態で切り出されている状態が確認できた。ウルトラマイクロトーム法は、コンプレッションによる亀裂やチャターが観察され、集束イオンビーム法は、断層像の表層にアモルファスな層の形成が見られることや、コラーゲン線維に対する熱損傷の影響が見られた。

【考察および結論】以上の結果は、どちらの手法においても未脱灰状態での象牙質および内部に存在するコラーゲン線維までの三次元観察を行うことが可能であり、電子線の透過度が低く、薄切が困難な硬組織における界面観察においては、どちらも有効な作成手法であるということが示された。両者の試料作製法を使い分けて超高压電子線トモグラフィー法と組み合わせることにより、これまでは困難であった比較的厚みのある未脱灰試料においても透過観察にて界面の状態を観察できるということが分かった。

本研究の一部は、平成 24 年度文部科学省科学研究補助金若手研究 (B) 22791831 の補助および「文部科学省ナノテクノロジーネットワークプロジェクト(阪大複合機能ナノファウンダリ)」の支援を受けて実施されました。

象牙質の湿潤状態が OCT イメージに及ぼす影響

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, 福石歯科医院⁴, 愛誠病院⁵
○島村 穰¹, 飯野正義¹, 村山良介¹, 白土康司¹, 野尻貴絵¹,
黒川弘康^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 三畑幸則³, 福石弘三⁴, 藤井清一⁵

Influence of dentine surface hydration conditions 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, Fukuishi Dental Clinic⁴, Aisei Hospital⁵
○SHIMAMURA Yutaka¹, IINO Masayoshi¹, MURAYAMA Ryosuke¹, SHIRATSUCHI Kouji¹, NOJIRI Kie¹,
KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, MIHATA Yukinori³, FUKUISHI Kozo⁴ and FUJII Seiichi⁵

【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イメージ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検査の有効性を報告してきた。しかし, 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いう特徴があるため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, 象牙質表層の湿潤状態が OCT イメージに及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

ウシ抜去下顎前歯歯冠唇側面に, 直径 4~5 mm の象牙質面が得られるような歯軸に沿ったトリミングを行った。この後, 耐水性 SiC ペーパーを用いて研削した後, 超音波洗浄を 30 分間行い, 形状測定レーザマイクロスコプを用いて, 横断面では象牙細管の開口が, 縦断面では象牙細管の走向が確認されたものを測定用試片とした。

実験に使用した OCT 装置 (モリタ東京製作所) 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, 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た装置である。

象牙質試片の観察条件としては,

1. 水中から取り出した直後の, 測定用試片表層を十分に湿潤させたもの
2. 水中から取り出した測定用試片表面の水分を拭き取った直後および 1, 5 および 10 分経過させたもの

の 2 条件とした。

各試片の OCT イメージを観察するとともに, 得られた OCT イメージを客観的に把握するために, 測定範囲内の任意の 20 ヶ所における歯質の表層から深層にわたる反射光分布の信号強度グラフを得ることで信号強度を解析し, ピーク値を算出するとともに $1/e^2$ 幅を求めた。

【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, 象牙質表層の湿潤状態の程度により OCT イメージに変化が認められ, 乾燥が進むにつれて象牙質表層におけるシグナルは強くなり, また, 象牙質内部のシグナルは深部へ拡大する傾向を示した。信号強度の解析においては, 乾燥が進むにつれて象牙質表層のピーク値は高くなり, $1/e^2$ 幅の拡大が認められ, OCT イメージの変化との関連性が認められた。

以上のように, 象牙質表層の湿潤状態の程度によって, OCT イメージに変化が認められた理由としては, OCT から照射された近赤外線が象牙質表層に存在する水分によって散乱光成分が増加し, 反射光成分が減少したためと考えられた。一方, 経過時間の延長に伴い乾燥が進行することで, 象牙細管内に含まれる水分が減少し, 反射光分布が変化した可能性もある。このように, 象牙質表層だけではなく, 内部における水分量への配慮が OCT 観察においては必要となることが示唆された。

【結論】

ウシ抜去下顎前歯象牙質を OCT を用いて観察すると, 象牙質表層の湿潤状態によって得られる OCT イメージに変化が認められた。したがって, OCT を用いて口腔内において健全, 齲蝕および齲蝕影響象牙質を観察する場合, 象牙質表層の湿潤状態を考慮する必要があることが示唆された。

保存修復学基礎実習における三次元窩洞計測装置利用の検討

北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野¹⁾, (株)ニッシン²⁾

○泉川昌宣¹⁾ 半田慶介¹⁾ 伊藤修一¹⁾ 大福亮介²⁾ 斎藤隆史¹⁾

Employment of 3D Cavity-Evaluation Device in Basic Training of Operative Dentistry

¹⁾ Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, ²⁾ Nissin Dental Products Inc.

○ Masanobu Izumikawa¹⁾, Keisuke Handa¹⁾, Shuichi Ito¹⁾, Ryosuke Ofuku²⁾ and Takashi Saito¹⁾

【目的】

保存修復学基礎実習においてう蝕をはじめとする歯の硬組織疾患に対する一連の基本的技能である窩洞形成法を習得させることは、重要な課題の一つである。従来、学生による窩洞形成の評価は教員の主観的評価に頼るところが大きかった。しかし教員によって評価が異なることもあり、客観性に乏しく、学生自身による形成窩洞の問題点の把握が困難であるという欠点があった。そこで我々は、項目別窩洞形成評価法の開発をはじめとして様々な窩洞評価支援システムの開発を行ってきた。今回、三次元画像構築可能な窩洞計測装置を開発し、その適性評価を行ったので報告する。

【方法】

今回開発した窩洞計測装置では、半導体レーザー照射装置と模型歯を回転させながら窩洞に投射し、反射光を CMOS イメージセンサーによる受光とロータリーエンコーダによって位置、角度、高さ検出を行い、三次元画像構築を行う。窩洞の採点は、基準窩洞の外側および内側のエリア(オフセット値)を設定し、さらにオフセット値内での切削不足、切削過剰の許容値を超えて切削している場合の減点率を設定することによって行う。また、三次元画像抽出を行うことにより基準窩洞との重ね合わせを行い、切削不足、切削過剰部位を視覚的に捉えることが可能である。本装置の適性を評価するにあたって、平成 23 年度歯学部第 3 学年(80 名)の保存修復学基礎実習にて、下顎左側第一大臼歯の 2 級 Box 式インレー窩洞形成実習を行った。形成された窩洞を今回開発した窩洞計測装置で評価し、その結果を、教育経験 10 年以上の教員 3 名で行った項目別窩洞形成評価と比較した。

【結果および考察】

教員 3 名での評価では、各評価項目での評価のばらつきがみられ、特に「隣接面開放の幅」「側室の深さおよび幅」については全試験歯の 10%以上で教員間の評価が大きく異なっていた。教員 3 名の評価と窩洞計測装置での評価を比較したところ、重相関係数 0.73、決定係数 0.54 であった。点数差が大きく異なる 8 窩洞について三次元画像構築データを分析したところ、窩洞計測装置での評価と比較して教員による評価では、「裂溝の追求」は比較的正確に行われていたが、「窩洞の深さ」「側室の深さおよび幅」において高い点数を付ける傾向がみられた。これは教員による評価が、窩洞外形バランスの評価を重視しており、窩洞の深さおよび幅に関して減点率が低いことがわかった。

一方、窩洞計測装置では、基準窩洞に対する位置ズレを体積差として採点することで、教員の評価より客観的に評価しているためであると考えられる。今後、窩洞の外形差のみを評価する機能や、窩洞の部位により評価の重みを付けるような機能等を付与する必要があると考える。

【結論】

今回開発した窩洞計測装置は、窩洞の客観的評価が可能であり、さらに三次元画像構築を行うことによって学生への客観的フィードバックが可能であることが示唆された。

ファイバーポスト支台築造体が示す曲げ強さと耐久性の検討

¹九州歯科大学齶蝕歯髓疾患制御学分野、²サンメディカル株式会社、
³九州歯科大学総合診療学分野
○山田卓弥¹、西野宇信¹、田中隆行²、三浦善広²、寺下正道³、北村知昭¹

The Bending Strength and Durability of Fiber Post-Core Constructions
¹Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, Kyushu Dental College
²Sun Medical Co., Ltd, ³Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College
○ YAMADA Takuya¹, NISHINO Takanobu¹, TANAKA Takayuki², MIURA Yoshihiro², TERASHITA Masamichi³,
KITAMURA Chiaki¹

【研究目的】

ファイバーポスト支台築造システムは、金属材料には無い審美性と象牙質に近似した弾性率を有することから、その優位性が注目されている。一方で、臨床におけるファイバーポスト自体の破折も報告されており、最適なファイバーポスト支台築造法の確立が望まれている。ファイバーポスト支台築造システムのひとつである i-TFC システム (Sun Medical Co., Ltd : 以下 i-TFC) は他のシステムとは異なる特徴 (ファイバーポスト、スリーブ、ポスト用とコア用 2 種の光重合型レジン等) を有しており、ファイバーポスト自体の破折に対し、特性を生かしたファイバーアレンジメントと呼ばれる補強法も報告されている。今回、i-TFC 支台築造体の構造に由来する強度特性を明らかにするため、2 点曲げ強さおよび繰り返し衝撃試験を行い、他のファイバーポスト支台築造システムとの比較を行った。

【材料および方法】

試験体は、ファイバーポスト築造体および全部鋳造冠による修復を想定し、即時重合レジン (プロビスタ:Sun Medical Co., Ltd) ブロックに窩洞形成後、メーカー指示によりファイバーポスト築造体を作製し金属チューブで被覆したものとした。試験体は 24 時間水中浸漬を行った後に実験に用いた。使用材料は、i-TFC (φ 1.3 mm ファイバーポスト、スリーブ) と他社 4 種のファイバーポスト (φ 1.2、1.25、1.5、および 1.6 mm) とした。2 点曲げ強さ試験は、曲げ強さ試験機を用いて金属チューブの歯頸相当側辺縁より 4 mm の位置に負荷をかけた曲げ強さを測定した。繰り返し衝撃試験は、曲げ強さ試験と同様の位置に繰り返し衝撃を与え耐久性を分析した。

【結果】

曲げ強さ試験では、①i-TFC φ 1.3 mm +スリーブ、②他社 φ 1.5 mm、他社 φ 1.6 mm および i-TFC スリーブのみ (3 者はほぼ同等)、③他社 φ 1.25 mm、i-TFC φ 1.3 mm および他社 φ 1.2 mm (3 者はほぼ同等) と、i-TFC スリーブのみを除きファイバーポスト直径の太い順に曲げ強さが大きい傾向を示した。繰り返し衝撃試験では、①i-TFC φ 1.3mm +スリーブ、②i-TFC スリーブのみ、および他社 φ 1.5mm (両者はほぼ同等)、③他社 φ 1.25 mm、他社 φ 1.6 mm (両者はほぼ同等)、④i-TFC φ 1.3mm、⑤他社 φ 1.2mm の順で耐久性が高い傾向を示した。特に i-TFC φ 1.3 mm +スリーブの組み合わせは、他試験体と比較して著しく高い耐久性を示した。

【考察】

曲げ強さでは i-TFC ファイバーポスト φ 1.3 mm +スリーブの試験体が最も大きく他試験体はほぼファイバーポスト径の大きい順に強い傾向を示したが、各々に著しい差を認められなかった。一方、繰り返し衝撃試験では i-TFC ファイバーポスト φ 1.3 mm +スリーブが他試験体と比較して顕著に高い耐久性を示した。以上の結果により、各システムが示す曲げ強さと繰り返し衝撃試験における耐久性との間には関連性は高くはないことが示唆された。また、i-TFC ファイバーポスト φ 1.3mm の耐久性は他と比較して大きな差はないが、スリーブと組み合わせることで耐久性が飛躍的に向上することから、スリーブが効果的な補強となっていることが示唆された。

【結論】

今回実施したファイバーポスト支台築造システムの比較試験において、i-TFC ファイバーポスト φ 1.3mm+スリーブが最も高い曲げ強さと耐久性を示した。また、各システムが示す曲げ強さと耐久性の間には、関連性は低いことが示唆された。

ファイバーポスト支台築造時にみられる応力分布の三次元有限要素解析

¹九州歯科大学齶蝕歯髄疾患制御学分野

²九州工業大学生命体工学研究科

³九州歯科大学総合診療学分野

○西野宇信¹、山田 宏²、寺下正道³、北村知昭¹

3D-FEA of Stress Distribution in Post-Core Materials against Stress Load

¹Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, Kyushu Dental College

²Grad. Sch. of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology

³Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College

○NISHINO Takanobu¹, YAMADA Hiroshi², TERASHITA Masamichi², KITAMURA Chiaki¹

【目的】

支台築造後に生じる歯根破折の原因として天然歯と支台築造体の弾性率の違いによる応力集中が推測されている。近年、築造体としての使用が増えているファイバーポストは物性が天然歯に近似しており、金属ポストと比較して歯根破折を抑制すると考えられている。一方で、コンポジットレジンを使用することで力学的強度が落ち、作製した築造体自体の破壊が生じるという問題点も報告されている。本研究では歯および歯周組織の単純モデルを用いて、三次元有限要素解析によりファイバーポストにおける応力分布の検討を行った。

【方法】

1. 解析モデル (図1) の作成

解析モデルは、骨組織 (皮質骨・海綿骨) と歯根膜に支持された上顎小白歯で歯冠部歯質欠損と根管充填剤・築造窩洞を設定した歯根モデル、φ1.3mmのファイバーポスト、コンポジットレジンによる支台築造体モデル、および金合金による歯冠補綴物モデルで構成した。各形状を三次元モデリングソフトウェア (Rhino, Robert McNeel & Associates 社) を用いて作成し有限要素解析ソフトウェアに入力した。

2. 解析条件

全体の半分のモデルに対し、咬頭頂に対して歯軸と 30° と 45° をなす角度で 100N 相当の静的集中荷重 50N を対称面に沿って負荷した。解析に用いた各モデルの材料物性値はこれまでの報告に準じて設定した。

3. 応力解析

有限要素解析ソフトウェア (Abaqus, SIMULIA 社) を用い、最大主応力、最小主応力等について解析した。

【結果】

30°、45° の両荷重条件において、荷重の水平方向成分の作用によって荷重側とは反対側への歯の傾斜が認められた。また、コンポジットレジンと象牙質の間の接着が剥がれると、ファイバーポストとコンポジットレジンによる築造体の荷重側に比較的広い範囲にわたって引張り応力の分布が認められた。荷重負荷の反対側では、歯根象牙質と築造体の接合部付近 (歯頸部) に広い範囲で圧縮応力の分布が認められた。以上の結果は、30° の条件において特に顕著であった。

【考察】

荷重側に生じた引張り応力と反対側に生じた圧縮応力はコンポジットレジンとファイバーポストの受けた曲げの結果と考えられる。これらの大きな応力の発生により築造体を破壊する可能性が示唆された。また、30° の条件において曲げ変形による応力が顕著であったことから、荷重の水平方向成分が大きくなるにつれて築造体が破壊されやすくなることが予想された。

【結論】

三次元有限要素解析において、ファイバーポストとコンポジットレジンによる支台築造体の破壊はコンポジットレジンと象牙質の間の接着力の低下が引き起こす可能性が示された。

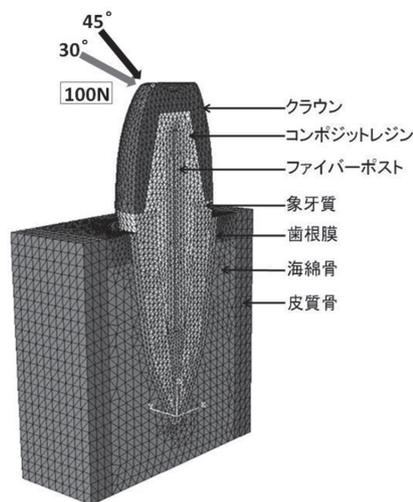


図1 解析モデル

表面滑沢硬化材の歯ブラシ摩耗について

昭和大学歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門
○京泉秀明、山田純嗣、鈴木敏光、真鍋厚史

Toothbrush abrasion of surface sealants

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology,
Showa University School of Dentistry

○KYOIZUMI Hideaki, YAMADA Junji, SUZUKI Toshimitsu, MANABE Atsufumi

【緒言】

現在、歯科用レジン系材料に対する表面滑沢性の付与、表面の硬化、着色・変色の防止、接着界面辺縁部の封鎖、耐磨耗性の向上を目的として各種表面滑沢硬化材が市販されている。そこで、第129回および第130回日本歯科保存学会学術大会において表面滑沢硬化材の歯ブラシ摩耗性について検討した。ここでは、試料作製においてできるだけ臨床に近い形を想定して、荒研磨したコンポジットレジンに表面滑沢硬化材を塗布し、実験用試料を作製した。したがって、硬化材自体の厚みが薄いため、歯ブラシ摩耗しやすい材料ではすぐに材料が摩滅し、その後はコンポジットレジン本体の摩耗を測定する結果となった。そこで、今回は表面滑沢硬化材自体の歯ブラシ摩耗性を検討することを目的として実験を行った。

【材料および方法】

歯ブラシ摩耗試験において表面滑沢硬化材としては、G-コート（ジーシー）、サーフィスコート*（クラレメディカル）、バルフィール ブライトナーⅢ（睦化学工業）、オプチガード（Kerr）、フォーティファイ（Bisco）の5種類を使用した。

3mm厚のステンレスモールドの1/2までバルフィークエストライトペースト（トクヤマデンタル）を充填し、照射器キュアマスター（ヨシダ）を使用して60秒間照射した後、5種類の表面滑沢硬化材をそれぞれ追加充填し、60秒間照射することで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。摩耗試験直前にシリコンカーバイトペーパーを使用し最終的に#4000まで研磨を行った。

摩耗試験は歯ブラシ摩耗試験機（東京技研）を使用した。歯ブラシはプロスペックスリム（ジーシー）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、炭酸カルシウム飽和水溶液を使用した。繰り返し回数は最大5万回とし、1万回ごとに表面粗さ輪郭形状測定機（SURFCOM 480A, 東京精密）で摩耗面の形状を記録し、研磨剤は新しいものと交換した。記録紙上でその最大の深さを計測し、歯ブラシ摩耗深さとした。試験開始前および各回ごとに摩耗面の表面粗さ（Ra）を測定した。試料数は各群10個とした。

各材料について、歯ブラシ摩耗深さの比較には一元配置分散分析を使用して行い、多重比較検定にはTukey-Kramerを使用した。有意水準は5%とした。

【結果および考察】

歯ブラシ摩耗深さは、5種類の材料とも経時的に深さが直線的に増加していく傾向を示した。摩耗回数5万回後に最大の深さを示したのがオプチガード（407±11 μm）で、続いてG-コート（381±10 μm）、フォーティファイ（261±14 μm）、バルフィール ブライトナーⅢ（56±3 μm）、サーフィスコート（2.1±0.2 μm）の順であった。各材料の歯ブラシ摩耗性は前回の結果と同じような傾向を示した。

表面粗さは、5種類の材料とも試験開始前に比較して、全ての材料で値が大きくなった。摩耗回数5万回後の表面粗さはバルフィール ブライトナーⅢが最も粗く、続いてサーフィスコート、オプチガード、G-コート、フォーティファイの順で小さくなった。

製造者指示に従えば、表面滑沢硬化材の厚みは10～50 μmほどであるため、耐磨耗性を考えて使用する場合には材料を選ぶか、あるいは一定期間ごとに補修する必要があると思われる。

知覚過敏抑制材塗布がシングルステップシステムの歯質接着性に及ぼす影響

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

○古市哲也¹，竹中宏隆¹，大塚詠一朗¹，石井 亮¹，清水裕亮¹
山路 歩¹，陸田明智^{1,2}，宮崎真至^{1,2}，金丸壽良^{1,3}

Influence of Dentin Desensitizer Treatment on Bond Strength of Single-Step Adhesives
Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science Dental Research Center²,
Kanamaru Dental Clinic³, Nihon University School of Dentistry
○FURUICHI Tetsuya¹, TAKENAKA Hiroataka¹, OTSUKA Eiichiro¹, ISHII Ryo¹, SHIMIZU Yusuke¹
YAMAJI Ayumi¹, RIKUTA Akitomo^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, KANAMARU Toshiro^{1,3}

【緒言】

象牙質知覚過敏症に対する処置には、これまで様々な方法が提案されてきた。とくに、患部に塗布することで象牙質細管を封鎖し外来刺激の遮断を目的とする象牙質知覚過敏抑制材は、操作性も良好なところから、修復処置に先立って選択されることも少なくない。しかし、これら象牙質知覚過敏抑制材の使用が、コンポジットレジン修復における歯質接着性に及ぼす影響については不明な点が多い。

そこで演者らは、口腔内での環境を想定した研究の一環として、フルオロアルミノシリケート含有歯面コート材（ナノシール、日本歯科薬品）を用い、知覚過敏抑制材の塗布がシングルステップシステムの象牙質接着性に及ぼす影響について、剪断接着強さ試験および試験後の破壊形式を観察するとともに、走査型電子顕微鏡（SEM）観察を行うことにより検討した。

【材料および方法】

1. 供試接着システム

供試したシングルステップシステムは、ビューティボンドマルチ（松風）、ボンドフォース（トクヤマデンタル）およびG-ボンドプラス（ジーシー）の3製品であり、2ステップシステムのシングルボンドプラス（3M ESPE）およびメガボンド（クラレノリタケデンタル）も実験に加えた。可視光線照射器としては、Optilux 501（sds Kerr）を、その光強度を確認して使用した。

2. 象牙質知覚過敏抑制材の塗布条件

象牙質知覚過敏抑制材としてナノシールを用い、これを被着歯面に塗布、水洗した。なお、塗布条件としては、塗布直後に接着操作を行うもの（直接群）、および0.1M 乳酸緩衝液を10分間作用させ脱灰、ナノシールを塗布、水洗した後、37℃精製水中に1日あるいは7日間保管した後に接着操作を行うもの（脱灰群）の2条件とした。また、無処理のものをコントロールとした。

3. 接着試験用試片の製作

被着体としては、ウシ下顎前歯の唇面象牙質をSiCペーパーの#600まで仕上げ、超音波洗浄を行ったものを用いた。次いで、各条件に従ってナノシールを塗布後、被着面積を規定し、各製造者指示条件にしたがって歯面処理を行い、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、接着試験用試片とした。これらの試片は、37℃精製水中に24時間保管後、万能試験機（Type 5500R, Instron）を用いてその剪断接着強さの測定を行った。

4. 破壊形式の判定

接着強さ測定後の破断試片については、実体顕微鏡を用いて歯質側破断面を観察、併せて、SEM（ERA-8800FE, エリオニクス）観察を行った。

【成績および考察】

供試した接着システムの直接群における象牙質接着強さは、コントロール群と比較して有意に低下あるいは変化が認められないものに分けられた。脱灰1日および7日群においてはいずれの製品においても接着強さは低下する傾向が認められた。また、接着強さが低下した製品においては、接着試験後の破壊形式は、界面破壊例が増加する傾向を示した。これら接着強さの低下は、アドヒーズの象牙質への浸透性が影響されたことによるものと考えられた。

【結論】

供試した接着システムにおいて、象牙質への知覚過敏抑制材の塗布によって、接着強さは製品によって異なるものであった。

ユニバーサルボンディング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 若松歯科医院, ⁴ 日野浦歯科医院
○坪田圭司^{1,2}, 井上直樹¹, 砂田識教¹, 川本 諒¹, 角野奈津¹,
安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 若松英輝³, 日野浦 光⁴

A Study on the Adhesive Performance of a Universal Adhesive System

¹Department of Operative Dentistry, ²Division of Biomaterials Science, Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry, ³Wakamatsu Dental Clinic, ⁴Hinoura Dental Office
TSUBOTA Keishi^{1,2}, INOUE Naoki¹, SUNADA Noriatsu¹, KAWAMOTO Ryo¹, SUMINO Natsu¹,
ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, WAKAMATSU Hideki³, HINOURA Ko⁴

【研究目的】

近年, 接着システムの進歩によって, 歯質のみならず歯科用合金およびセラミックスに対する接着性が飛躍的に向上した. この接着性の向上と MI の治療概念によって, 金属およびセラミックス歯冠修復物の辺縁部付近に生じたギャップあるいは齶蝕に対し, 修復物を全て除去することなく病変部のみを除去し, 光重合型コンポジットレジンで修復を行う補修復を行う頻度も増加している. 補修復を成功に導くためには, 複数の被着体とコンポジットレジンとの間に確実な接着を得る必要があり, 歯質, 金属あるいはセラミックスのいずれかに適した前処理が必要とされてきた. しかし, 臨床でこれらを厳密に区別して処理することは困難であり, 操作ステップ数の増加によるテクニックセンシティブになる可能性がある. このような背景のもと, 歯質, セラミックスあるいは歯科用合金などの様々な被着体に対し, 最小限のステップによって接着を可能とする多目的接着システムである Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE) が開発された. そこで, 演者らは多目的接着システムの基本接着性能についてセラミックス, 金属および歯質に対する基本的接着性能について, 剪断接着試験および走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行うことによって検討した.

【材料および方法】

供試した接着システムは, 多目的セルフエッチシステムの Scotchbond Universal Adhesive (SUA) であり, 比較として RelyX Ceramic Primer+Adper Easy Bond Self-Etch Adhesive (AEB, 3M ESPE) を用いた. コンポジットレジンとしては Clearfil AP-X (クラレ ノリタケ デンタル) を使用した. 接着試験用試片の製作には, 被着体に歯質としてウシ下顎前歯を用い, 金属としては 12%金銀パラジウム合金およびプレシャスメタルを, セラミックスとしてはポーセレン, ジルコニア, 酸化アルミナおよび二ケイ酸リチウムを用いた. これらを常温重合型レジンに包埋し, 表面を SiC ペーパー #600 まで研磨した. 金属およびセラミックスに対しては, さらにサンドブラスト処理を 5 秒間行った. 被着面積を 4.0 mm に規定し, 製造者指示条件に従って表面処理を行った後, テフロンモールドを固定してレジンペーストを充填, 照射を行ったものを接着試験用試片とした. 次に, 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, 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.

また, 各条件における処理面, エナメル質および象牙質の接合界面に関しては, 通法に従って SEM 観察を行った.

【成績および考察】

歯質に対する接着強さは, SUA が AEB に比較してエナメル質および象牙質において高い接着強さを示し, 象牙質では有意差を認めた. また, 両接着システムのいずれの金属における接着強さに有意差は認められなかった. セラミックスに対する接着強さは, 二ケイ酸リチウムにおいて SUA の接着強さは AEB に比較して低かったものの, アルミナにおいては SUA の接着強さは高い傾向を示した. 他のセラミックスに関しては両者に有意差は認められなかった.

SEM 観察では, 接合界面の観察ではエナメル質および象牙質に対してギャップの形成は認められず良好な接合状態を呈した像として観察された.

【結論】

本実験の結果から, 多目的接着システム Scotchbond Universal Adhesive は, エナメル質および象牙質とともに, 多くの被着体に対しての補修復を含めた臨床応用に十分に期待できることが示された.

合着用グラスアイオノマーセメントの硬化初期の動向： ジルコニア系セラミックスと金属に対する接着性からの検討

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-ionomer Cements for Luting: Bonding Ability to Zirconia Ceramics and Metal.

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、今回はジルコニア系セラミックス (ジルコニア) と金合金に対する接着強さを報告する。

【 材料と方法 】

材料は Table に示す GIC 6 種を使用した。方法は、ジルコニア (Lava, 3M ESPE) および金合金 (Casting Gold, ADA Type IV, GC) を使用し、被着面をサンドブラスト処理 (アルミナ、粒径 50 μm, 松風)、蒸留水で洗浄し、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、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。ジルコニアおよび金合金共に硬化直後では 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 日後の半分を上回る程度の値しか示さず、統計的にも過半数で有意差を生じ、まだ硬化途中と思われる。

Table Shear bond strength (MPa) of luting agent to zirconia and gold alloy.

Luting agent (Manufacturer)	Mean (S.D., n=10)		
	Immediately	After one-hour storage	After one-day storage
To Zirconia			
Fuji Luting EX (GC)	6.5 (1.7) A	10.2 (2.0) B	17.3 (5.4) C*
Fuji Luting S (GC)	6.8 (2.3) D	10.7 (1.5) E	11.7 (3.8) E
RelyX Luting Plus Automix (Foreign product, 3M ESPE)	5.5 (1.5) F	10.5 (2.4) G	15.3 (5.0) H
Vitremer Paste (3M ESPE)	5.2 (1.6) I	7.0 (1.4) J	9.3 (2.2) K
SI-R21202 (Shofu)	3.1 (0.6) L	5.6 (0.7) M	8.2 (1.6) N
ResiGlass Paste (Shofu)	2.3 (1.0) O	5.8 (2.6) P	9.8 (3.6) Q
To Gold alloy			
Fuji Luting EX	3.7 (1.4) a	5.5 (1.6) b	8.3 (1.5) c
Fuji Luting S	3.9 (0.6) d	6.8 (1.3) e	7.7 (1.5) e
RelyX Luting Plus Automix	1.3 (0.4) f	4.7 (1.2) g	4.5 (1.4) g
Vitremer Paste	1.5 (0.5) h	4.0 (1.1) i	5.4 (1.4) j
SI-R21202	3.9 (0.8) k	3.8 (0.5) k	5.9 (1.0) l
ResiGlass Paste	2.1 (0.7) m	4.3 (1.2) n	5.6 (1.2) o

*: Means with the same letters were not significantly different by Duncan's Multiple-Range test (p>0.05).

【 まとめ 】

GIC 6 種を使用してジルコニアと金合金に対する接着強さを測定した結果、1 時間後でも 1 日後の半分を上回る程度の値しか示さず、統計的にも過半数で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。

フロアブルコンポジットレジン修復物の色調変化

¹⁾ 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座、²⁾ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科
硬組織機能治療学専攻、³⁾ 日本歯科大学新潟病院総合診療科
○新海航一¹⁾、高田真代²⁾、川嶋里貴²⁾、有田祥子²⁾、加藤千景¹⁾、鈴木雅也¹⁾、平賢久³⁾、海老原隆³⁾

Color changes of flowable resin composite restorations

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

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

³⁾Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

○Shinkai Koichi¹⁾, Takada Mayo²⁾, Kawashima Satoki²⁾, Arita Syoko²⁾, Kato Chikage¹⁾, Suzuki Masaya¹⁾,
TAIRA Yoshihisa³⁾, Ebihara Takashi³⁾

【研究目的】

MI コンセプトに基づいた審美修復材料として光重合型コンポジットレジンが臨床で多用されている。最近では、フロアブルコンポジットレジンの物性が改善され、単にベース材としてではなく修復材としても使用されている。しかしながら、フロアブルコンポジットレジンには透明性が比較的高いため、とくに5級窩洞などではその背景となる窩底部の色調が修復物の色調に大きな影響を及ぼしている。また、コンポジットレジン修復物の色調が、光重合前後において若干異なることを臨床で経験している。そこで、今回我々はヒト抜去歯の唇側中央部に円形窩洞を形成して光重合型フロアブルコンポジットレジンで充填し、光重合前と比較しながら、光重合後の修復物の色調変化について色彩学的に検討した。

【材料および方法】

卓上研磨盤と耐水研磨紙 (#600) を用いてヒト抜去前歯の唇側に平坦なエナメル質面を形成し、平坦面の中央に FG#149 ダイヤモンドポイントで円形碗型窩洞 (直径約3mm、深さ約2mm) を形成した。下表に示す4種類の接着システムと対応するフロアブルコンポジットレジン (A3) を用いて碗型窩洞をレジン充填し、充填したレジン上面をカバーガラスで被覆した。光重合前に、シェードアイ NCC[®] (松風) を使用してカバーガラス上からレジン修復物の測色を行った後、キャンデラックス[®] (モリタ) を用いて40秒間光照射を行った (n=10)。同様にシェードアイを使用し、カバーガラスを除去してから光重合直後のレジン修復物を測色した。試料は蒸留水中に浸漬し、24時間後、さらに1週間後にレジン修復物の測色を行った。なお、測色チップの円形先端が円形窩洞の修復物中央部に位置するように接触させた状態で測色を行った。レジン修復物の重合前-重合直後、重合前-24時間後ならびに重合前-1週間後の各色差値に関して材料ごとに経時的変化の有意差を統計学的に検定した (ANOVA)。また、材料間における色差値の統計学的有意差に関しては、重合後の測色ステージごとに検定した (ANOVA, Tukey post hoc test)。

【結果ならびに考察】

重合後の各測色ステージにおける重合前との色差を下表に示す。

接着システム	フロアブルレジン	メーカー	重合前との色差値		
			重合直後	24時間後	1週間後
プライムフィル	プライムフィルフロー	トクヤマデンタル	2.84±0.93 ^a	4.37±1.57 ^A	6.12±1.71 ^a
ビューティボンド	ビューティフィルフロー	松風	3.98±1.90 ^a	5.09±1.28 ^{A, B}	6.10±1.73 ^a
クリアフィルメガボンド	マジェスティ LV	クラレノリタケデンタル	3.86±0.65 ^a	6.94±1.78 ^C	7.06±1.57 ^a
Gボンド	ユニフィルフロープラス	ジーシー	4.13±0.61 ^a	6.56±1.17 ^{B, C}	6.85±1.20 ^a

どの材料も重合前後で修復物の色調に変化が認められた。色差値の経時的変化の有意差を材料ごとに検定した結果、プライムフィルフロー以外の材料で重合前-重合直後と重合前-24時間後との間に有意差が認められた。また、すべての材料で重合前-重合直後と重合前-1週間後との間に有意差が認められたが、重合前-24時間後と重合前-1週間後との間には、プライムフィルフローを除き、有意差は認められなかった。一方、重合前-重合直後あるいは重合前-1週間後の色差値に関しては材料間に有意差は認められなかったが、重合前-重合24時間後の色差値に関しては、プライムフィルフローとマジェスティ LV あるいはユニフィルフロープラスとの間 (p<0.01) に、ビューティフィルフローとマジェスティ LV の間 (p<0.05) に各々有意差が認められた。

攪拌操作による試作ゼロステップコンポジットレジン接着システムの象牙質接着強さ

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学
○田沼哲也、小竹宏朋、岡 勇輝、東田一仁、堀田正人

Effect of Agitating on Dentin Bond Strength of Experimental Zero-Step Resin Composite Adhesive System
Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Department of Operative Dentistry, Asahi University, School of Dentistry

○TANUMA Tetsuya, KOTAKE Hiroto, OKA Yuki, HIGASHIDA Kazuhito, HOTTA Masato

【研究目的】

ボンディング材を用いないゼロステップコンポジットレジン接着システムが世界的に注目されている。しかし、現在市販されている自己接着コンポジットレジン充填時に攪拌など窩壁に needle tip などを機械的に作用をさせる必要がある。一方、振動するコンポジットレジン充填器が開発され、コンポジットレジンのチクソトロピー性を利用した充填が行われている。これらのことから、これまで開発した試作ゼロステップコンポジットレジン接着システム(試作レジン)に電動アジテーターを試作し(以下、試作アジテーター)、攪拌操作の違いによる象牙質引張接着強さを測定した。

【材料および方法】

供試材料:市販のワンステップボンディングシステムの溶媒を乾燥したのち、ガラスフィラー(50wt%)と混和したものを試作自己接着レジンとし、pH試験紙でpHを測定した。ワンステップボンディングシステムはビューティボンド(松風、試作レジン1、pH3.0)、イーザーボンド(スリーエム、試作レジン2、pH3.8)、トライエスボンド(クラレメディカル、試作レジン3、pH3.8)、ボンドフォース(トクヤマデンタル、試作レジン4、pH3.0)を用いた。また、市販されている Fusio™ Liquid Dentin (Pentron、Fusio、pH3.0)も用いた。接着条件として needle tip を象牙質に触れさせず攪拌しないで充填した群(無攪拌群)、象牙質に充填させる際に needle tip で20秒間攪拌する群(通常攪拌群)、試作アジテーターで10秒間攪拌した群(試作アジテーター群)の3つのグループに分け、引張接着強さ試験に供した。引張接着強さ試験:ヒト新鮮抜去歯の象牙質を用い、#600の耐水研磨紙で研磨し、平坦化した象牙質上に内径3.0mmのテフロンモールドを固定し、各試作レジンおよびFusioを填入し、各群の条件下で攪拌処理後、光照射を行い重合させた。作製した試料片は、37°C蒸留水中に24時間保管後、万能試験機(EZ Graph、SHIMADZU)により引張接着強さ(MPa)を測定した。測定は各試料について10回行い、二元配置分散分析と Scheffé の多重比較検定(p<0.05)を行った。

【結果および考察】

図1に引張接着強さ試験の結果を示す。試作レジン3の無攪拌群と試作アジテーター群で有意差を認めしたが、他の試料に無攪拌群、通常攪拌群、試作アジテーター群とに有意差は認めなかった。要因分析の結果を図2、3に示す。試作アジテーター群は無攪拌群、通常攪拌群より有意に高い値を示した。また、試料間ではFusioが最も高い値を示した。しかし、試作レジンにおいて攪拌操作の効果は一定でなく、試作レジン4では低下傾向を示した。

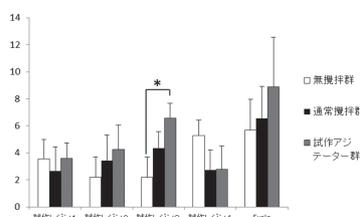


図1 引張接着強さ試験結果
(*: p>0.05)

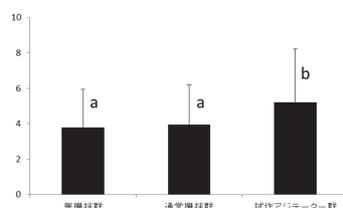


図2 要因分析(攪拌操作)
(a,b:同じ文字間で有意差を認めない,p>0.05)

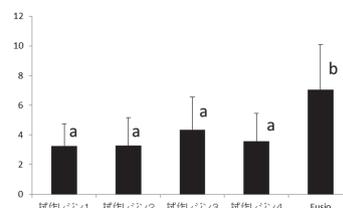


図3 要因分析(試料)
(a,b:同じ文字間で有意差を認めない,p>0.05)

【結論】

試作レジンに使用したワンステップボンディング材の種類により、攪拌操作による接着強さ向上効果に差があることが分かった。

異種溶媒を含有した市販 One-step ボンディングシステムの接着性能の比較検討

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門
○後閑由香、水上英子、谷 千尋、真鍋厚史

Bonding Efficacy of Commercial one-step Bonding Systems Contained Different Solvents
Department of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry
○Yuka Gokan, Eiko Mizukami, Chihiro Tani, Atsufumi Manabe

【研究目的】近年、臨床術式を簡略化する目的でボンディング処理までのすべての歯面処理を一括で行う All-in-one システムが多数市販されている。これら市販システムには水をはじめ、適切な歯面処理効果を発揮させる目的でアセトンやエタノールといった揮発性溶媒を用いていることでより高い接着性が期待できるとされている。これらの溶媒を用いることでレジンモノマーの歯質内への浸透やモノマー成分と歯質との親和性が向上する。今回我々は、異なった溶媒を含む4種類の市販 One-step システムの接着性能を、コントラクションギャップの計測および接着界面の微細構造の観察で評価を行った。

【材料および方法】ヒト抜去大白歯隣接面エナメル質を削除し象牙質平面を作成し、直径 3.0mm 深さ 1.5mm の円柱窩洞を形成した。窩洞に4種類のボンディングシステム (Xeno JP ; Dentsply-Sankin, Japan, Xeno V+ ; Dentsply-Sankin, Japan, BeautiBond Multi ; Shofu, Japan, Clearfil Bond SE ONE ; Kuraray Noritake Dental Inc., Japan) をメーカーの指示書通り使用し、市販光重合型コンポジットレジン (Palfique Estelite, Tokuyama Dental) を填塞硬化した。10 分間の水中保管後、窩縁を露出・研磨し、窩縁に生じるコントラクションギャップ幅を光学顕微鏡下で計測し窩洞直径に対する百分率で表した。試片は各群 10 個、合計 40 本調整した。得られた値は一元配置の分散分析および Fisher の PLSD テストを用いて統計学的検討を行った。計測の完了した試片はアルコール上昇系列による脱水後、臨界点乾燥、白金パラジウム蒸着を行い、走査型電子顕微鏡 (S-4700 ; HITACHI) を用いて接着界面の観察を行った。

Result of w-t-w Contraction gap Measurement

Brand	Manufacture	Solvent	w-t-w Contraction Gap
Beautibond Multi	Shofu	Water, Acetone	0 (10)
Clearfil Bond SE one	Kuraray Noritake Dental	Water, Ethanol	0.036 ± 0.049 (6)
Xeno JP	Dentsply-Sankin	Water, Ethanol	0.091 ± 0.062 (2)
Xeno V+	Dentsply-Sankin	Water, <i>tert</i> -butyl alcohol	0.066 ± 0.048 (3)

Mean±SD, N=10, Number of Gap free specimen were showed in ().

Values joined by the vertical line were not significantly different by one-way ANOVA and Fisher's PLSD test ($p > 0.05$).

【結果および考察】水とエタノールを溶媒とする Xeno JP のコントラクションギャップの値は、 $0.091 \pm 0.062\%$ 、水と *tert*-butyl alcohol を溶媒とする Xeno V+では $0.066 \pm 0.048\%$ 、水とエタノールを溶媒とする Clearfil Bond SE one では $0.036 \pm 0.049\%$ となり、完全な窩洞適合性を示す試片数は最大で6本であった。その一方で、水とアセトン溶媒として装備する Beautibond Multi を用いた試片群ではコントラクションギャップの形成が完全に抑制され、すべての試片で完全な窩洞適合性が確認できた。

走査型電子顕微鏡を用いた接着界面の微細構造の観察結果では、平均 $2 \sim 3 \mu\text{m}$ のボンディング材層が確認できた。今回用いた市販 One-step ボンディングシステムでは、水とアセトン溶媒とするボンディングシステムを用いることで被着面の水分の吸水が進行し、機能性モノマーと歯質との化学的な接着が発生するために有利な環境が獲得できたと考えられる。また今回用いた市販 One-step ボンディングシステムには、Clearfil Bond SE one を除き、重合後に加水分解を引き起こすといわれる 2-HEMA は含まれていないため口腔内での接着持続性については良好であるとされている。しかしながら、歯質内の水分を吸収した各種溶媒がエアブロー時に完全に除去できず、その結果、ボンディング材中に微少な空隙をつくるのが原因となり接着持続性に問題が生じる可能性が考えられる為、今後さらなる検討が必要であると示唆された。

各種歯面コート材の歯質脱灰抑制効果の超音波透過法による検討

日本大学歯学部保存学教室修復講座¹，総合歯学研究所生体工学研究部門²，近藤歯科医院³

○高橋史典¹，遠藤 肇¹，小倉由佳理¹，田村ゆきえ¹，
鈴木英梨子¹，辻本暁正¹，宮崎真至^{1,2}，近藤 貢³

Determination of Demineralization Effect of Various Coating Materials by Means of Ultrasonic Device.

¹Department of Operative Dentistry, ²Division of Biomaterials Science, Dental Research Center Nihon University
School of Dentistry, ³Kondo Dental Clinic

○Takahashi Fuminori¹， Endo Hajime¹， Ogura Yukari¹， Tamura Yuki¹，
Suzuki Eriko¹， Tsujimoto Akimasa¹， Miyazaki Masasi^{1,2}， Kondo Mitsugu³

【研究目的】

象牙質知覚過敏症のメカニズムは動水力学説によって説明され、知覚過敏症の処置として象牙細管の封鎖によって細管内の組織内液流動を抑えることでその疼痛の軽減化を図る方法が効果的と考えられている。しかし、口腔内環境は常に酸などの侵襲を受けるため、知覚過敏抑制効果も一時的なものとなる症例も多く、持続性を有する知覚過敏抑制材の開発が期待されている。演者らは、脱灰抑制効果を有する歯面コート材に着目し、フルオロアルミノシリケートガラス含有知覚過敏抑制コート材(ナノシール、日本歯科薬品株式会社、NS)、自己硬化性リン酸カルシウム系知覚過敏抑制コート材(ティースメイトディセンシタイザー、クラレメディカル、TMD)、および光重合型歯面コート材(PRGバリアコート、松風、PRG)の象牙細管封鎖性を比較し検討した。すなわち、非破壊的に歯質に生じている状態変化を測定可能な超音波透過法を用いるとともに、レーザー顕微鏡観察、走査電子顕微鏡(SEM)観察および元素分析を行った。

【材料および方法】

1. 象牙質知覚過敏試片の製作

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

2. 超音波伝播時間の測定

脱灰抑制効果の評価については超音波透過法を用いた。測定の際には超音波測定装置(Model 5900, Panametrics)を用いて、縦波で発せられる超音波の伝播時間を測定し、縦波音速を求めた。実験条件は以下に従った。

1) pH サイクル群

各象牙質知覚過敏抑制コート材を1度塗布し、水洗しpHサイクル試験を行う群(以後、NS群、TMD群、PRG群)なおpHサイクル試験は1日2回、28日間行った。なお、測定時期は1~7日までは1日毎、28日までは1週間毎に行った。

2) Control 群

各象牙質知覚過敏抑制コート材を塗布、水洗した後、実験期間を通じて人工唾液への浸漬のみを行う群(以後、Control-NS群、Control-TMD群およびControl-PRG群)

試片の保管は37℃人工唾液(pH 7.0)の浸漬保管を行った。

3. レーザー顕微鏡観察

所定期間の浸漬が終了した試片について、レーザー顕微鏡を用いて表面性状の経時的変化を観察した。

4. SEM 観察および元素組成分析

FE-SEM(ERA8800-FE, エリオニクス)を用いて、試片の切断面を観察し、象牙細管内への知覚過敏抑制コート材浸透性を評価した。また、代表例については元素分析を合わせて行った。

【成績および考察】

いずれの製品においても、Control群での音速は塗布直後に上昇し、経時的に顕著な変化は認められなかった。一方、pHサイクル群においては、製品ごとに音速の比較を行うと、PRG群およびNS群は音速が上昇する傾向にあったものの、TMD群では塗布直後には、その音速は上昇していたがその後、経時的に低下する傾向が認められた。PRG群の音速が上昇した理由として、PRGフィラーから放出された各種イオンの効果によって、脱灰の影響を受けにくいことが考えられた。またNS群では、象牙細管開口部にナノ粒子が沈着、吸着することで、安定した脱灰抑制効果を示したものと考えられた。一方、塗布直後に象牙細管開口部を完全に封鎖したTMD群は、pHサイクルによってわずかではあるが、象牙細管が開く傾向が認められた。

【結論】

ナノシール、ティースメイトディセンシタイザーおよびPRGバリアコートは、歯質の再石灰化効果および象牙細管の封鎖によって脱灰抑制効果に寄与する可能性が示唆された。

アパタイト光触媒を利用した歯の漂白 —過酸化水素水の濃度が HAP 焼結体の漂白におよぼす影響—

¹朝日大学歯学部歯冠修復学分野

²朝日大学歯学部歯科理工学分野

野田陽子¹, 亀水秀男², 玄 太裕¹, 尾池和樹¹, 藤井和夫¹, 小竹宏朋¹, 土井 豊², 堀田正人¹

Bleaching with apatite photocatalyst

- Bleaching effect of hydrogen peroxide concentration on sintered HAP ceramics -

¹Department of Operative Dentistry, Asahi University School of Dentistry

²Department of Dental Material Science, Asahi University School of Dentistry

○NODA Yoko¹, KAMEMIZU Hideo², GEN Taiyuu¹, OIKE Kazuki¹, FUJII Kazuo¹, KOTAKE Hirotomoo¹,
DOI Yutaka², HOTTA Masato¹

【研究目的】

新規アパタイト光触媒は、二酸化チタン同様、光照射下で活性酸素を発生し、強い酸化作用を示す。本研究では、アパタイト光触媒の応用として、歯の漂白への適用について検討する。通常、歯の漂白、特にオフィスブリーチングでは、過酸化水素水が利用されており、高濃度での処理ほどエナメル質への浸透が速く、強い漂白作用を示す。反面、硬組織の脱灰や軟組織の炎症を引き起こしたりする。また、知覚過敏の頻度も高く、色調の後戻りも早いことが知られている。光触媒との併用等によって、過酸化水素水の低濃度化が図られており、新規アパタイト光触媒も二酸化チタン同様、漂白助剤としての利用可能性があると考えられる。今回は、漂白剤/漂白助剤として過酸化水素水/アパタイト光触媒を調整し、アパタイト焼結体による着色モデルを用いて、過酸化水素水の濃度による漂白効果への影響について検討した。

【材料および方法】

1. アパタイト光触媒の調整: アパタイト光触媒は、La-OAP (ランタンオキシアパタイト) を使用した。La-OAP は、前回と同様の方法で合成した。すなわち、ピロリン酸カルシウム、酸化ランタン、炭酸カルシウムを湿式で混合し、電気炉にて 1,000~1,400°C、大気下で 4 時間加熱合成した。合成後、メノウ乳鉢で粉碎し、200 メッシュのふるいにかけて粒径を整え、アパタイト光触媒の粉末試料として使用した。2. アパタイト焼結体着色モデルの作製: 実験には、市販の HAP 焼結体 APP-100 (10×10×2mm, 相対密度 99%以上, PENTAX) を使用した。この HAP 焼結体を使用して、2 種類の着色モデルを作製した。すなわち、HAP 焼結体を MB 水溶液、テトラサイクリン水溶液中に浸漬して着色させた。3. 漂白剤 (過酸化水素水/アパタイト光触媒) の調整: 合成アパタイト光触媒 50wt% と各種濃度 (5, 15, 25, 35%) の過酸化水素 50wt% とをラバーカップ内で混合して泥状で使用した。4. 漂白方法と測色: 着色した各 HAP 焼結体表面に漂白剤を適量塗布し、直ちにハロゲンランプ (PLH-75, PHILIPS) により光照射した。焼結体と光源との距離は 5 mm に固定し、垂直に 1 分間照射した。焼結体表面の色調変化は、簡易測色計 Shade Eye NCC (松風) と色彩計 VSS-400 (日本電色) により測色した。色彩表示には CIE 1976 L*a*b* 表色系を用い、漂白の程度は色差 ΔE と L*, a*, b* 値で評価した。なお、漂白処理は 3 回行った。統計処理は、一元配置分散分析と多重比較検定 (Turkey-Kramer) で行った。

【結果】

MB 水溶液によって着色されたアパタイト焼結体は、低濃度 (5%) の過酸化水素水/アパタイト光触媒でも、3 回の漂白処理により、着色前の L* 値 (図 1, 3 回の漂白処理と着色前との間のみ有意差は見られなかった) と b* 値に戻った。また、漂白前後での色差も大きかった。漂白 1 回目は、過酸化水素水の濃度に関わらず、L* 値と b* 値の増加が大きく、漂白効果が高かった。

【考察】

過酸化水素水の濃度が高いほど、漂白効果の高い傾向がみられた。しかしながら、低濃度 (5%) の過酸化水素でも、良好な漂白効果が得られた。今回、アパタイト焼結体による着色モデルを使用して漂白効果を検討したが、着色歯に対しても同様な結果が期待できると思われる。今後は、さらに漂白処理によるアパタイト表面の構造的および物性的な変化について検討する。

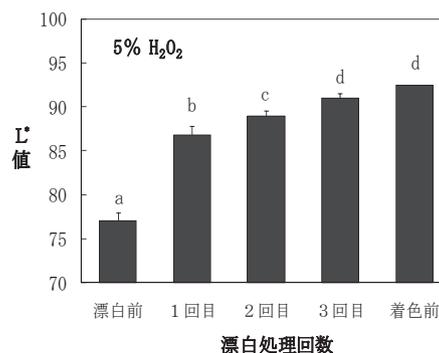


図 1 アパタイト光触媒による漂白効果
同じ文字間で有意差なし ($p > 0.05$)

フッ化物含有ホームブリーチング材のエナメル質脱灰抑制能

神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野¹、湘南短期大学歯科衛生学科²

○ 實吉安正¹、向井義晴¹、椎谷 亨¹、富山 潔¹、飯塚純子¹、岡田周策¹、
長谷川晴彦¹、倉持江里香¹、藤野富久江²、寺中敏夫¹

Prevention of enamel demineralization by fluoride-containing home bleaching agent *in vitro*

¹Dept. of Oral Medicine, Div. of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College,

²Dept. of Dental Hygiene, Shonan College

○ SANEYOSHI Yasumasa¹, MUKAI Yoshiharu¹, SHIYA Toru¹, TOMIYAMA Kiyoshi¹, IIZUKA Junko¹,
OKADA Shusaku¹, HASEGAWA Haruhiko¹, KURAMOCHI Erika¹, FUJINO Fukue²,
TERANAKA Toshio¹

【目的】

10%過酸化尿素を主成分とするホームブリーチング材 (HB 材) は国内外で広く使用されているが、エナメル質に少なからず影響を与えることも研究で明らかになってきている。これまでに、フッ化物含有 HB 材と非含有 HB 材、および、非漂白歯のエナメル質の脱灰程度を比較した報告はなく、フッ化物含有 HB 材適用エナメル質の耐酸性が非漂白エナメル質を上回るようであれば興味深い。

本実験では、フッ化物含有、非含有の HB 材をエナメル質に 2 時間適用した後、脱灰溶液に浸漬する方法を 4 日間にわたり適用し脱灰量を比較検討した。

【実験材料および方法】

ウシ歯冠部エナメル質より切り出した円盤上に直径 2×3 mm の被験面を作製、以下の 4 群に分けた。なお、各群の試料数は 5 とした。

1. コントロール (CONT、非処理)、2. ULTRADENT オパールエッセンス PF (OPF、10%過酸化尿素、1,100ppmF、硝酸カリウム)、3. ULTRADENT オパールエッセンスオリジナル (OOR、10%過酸化尿素、2.45ppmF)、4. 松風ハイライトシェードアップ (HSU、10%過酸化尿素)

被験面に各材料を塗布、100%湿度下で 2 時間静置後、脱イオン水で水洗し、脱灰溶液 (1.5mM Ca, 0.9mM PO₄, 50mM acetic acid, 0.1ppmF, pH4.6, 37°C) に浸漬した。本操作を 4 日間連続して行った後、試料を包埋、150μm に薄切後、PANalytical 3830 を用いて 25kv, 15mA, 20min の条件で、Transversal Microradiography (TMR) 撮影を行った。その後、専用分析ソフト (Inspektor TMR 2000) を用いてミネラル喪失量 (IML(vol%×μm)) を測定した。また、統計分析には Tukey の検定を用いて $p < 0.05$ で検討した。

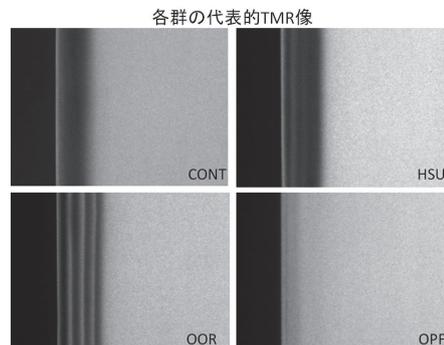
【結果】

TMR 像: CONT 群は表層と病巣部を有する典型的な表層下脱灰病巣が観察された。微量なフッ化物を含む OOR 群は層状の脱灰病巣を示し、HSU 群においても OOR ほどではないが層状のプロファイルが確認された。OPF 群は脱灰が極めて軽微な病巣状態を示した。各群の平均ミネラルプロファイル: CONT では、表層が約 50%、病巣部が約 18%の表層下脱灰病巣を示した。OOR では、ミネラル密度約 50%の位置で 4 つのピークを有する表層下脱灰病巣を示した。さらに、CONT と比較して約 100μm の深部に脱灰の進行が確認された。HSU では、ミネラル密度 25~45%間に 3 つのピークを有する表層脱灰病巣を示し、OOR と同様、約 100μm の位置に脱灰の進行が確認された。OPF では、ミネラル密度が 60%以上維持された軽微な脱灰であった。

IML はそれぞれ、HSU(9,547) > CONT(8,038) ≥ OOR(7,642) > OPF(3,215)であり、OPF が他の 3 群に比較し有意に低かった。OOR は HSU に比較し有意に低かったが、HSU と CONT 間には有意差は認められなかった。

【考察】

OOR には 2.45ppmF という微量のフッ化物が含まれているため、含有されるその他の成分と相まって興味深い 4 ピークの病巣形態を誘導したものと考えられた。また、OPF 処理をされたエナメル質の脱灰量は CONT を下回る良好な結果となった。これは含まれる 1,100ppmF のフッ化物が効果的な脱灰抑制効果をもたらしたものと考えられ、漂白と同時に齲蝕予防にも有効利用出来る可能性が考えられた。



穴あき極薄アパタイトシートによるエナメル質の修復

近畿大学生物理工学部医用工学科¹，大阪歯科大学歯科保存学講座²

○本津茂樹¹，以西新¹，山本衛¹，加藤暢宏¹，西川博昭¹，吉川一志²，山本一世²

Repair of enamel using the ultrathin perforated hydroxyapatite sheet

¹ Department of Biomedical Engineering, Faculty of Biology-Oriented Science and Technology, Kinki University

² Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○S. Hontsu¹, A. Isai¹, E. Yamamoto¹, N. Kato¹, H. Nishikawa¹, K. Yoshikawa² and K. Yamamoto¹

【緒言】

現在の喪失したエナメル質の修復や象牙質知覚過敏症の治療は、患部にレジンを塗布する方法が主に用いられている。しかしながら、ハイドロキシアパタイト(以下 HAp と記す)によるエナメル質との一体化による半永久的な修復ではないため、レジンの剥離の問題があるばかりでなく、使用する有機物によるアレルギー反応が生じる場合もある。そこで、HAp の粉体や微粒子をエナメル質表面に付着させて修復する方法が試みられてきたものの、これらをエナメル質表面に付着させようとしても、その表面粗度の相違のために、一体化することは非常に困難である。このような現状の中で、我々は新しく開発した歯質と同じ素材から成る極薄フレキシブル HAp シートをを用いたエナメル質の修復法を提案している。この方法では HAp シートを直接溶液で貼付するが、シートとエナメル質の界面に気泡が残り、この界面に残留した気泡が貼付時のシートひび割れや界面の再石灰化を妨げる原因となっていた。本報告では、貼付時の気泡の発生を抑え、かつシート-エナメル界面での再石灰化を促進する目的で、レーザー加工法を用いて穴あき極薄 HAp シートを作製し、そのエナメル質修復効果について調べたので報告する。

【材料および方法】

HAp 薄膜作製用基材として、石英ガラス基板上にレジストをスピコートしたものを用いた。この基材の上にレーザーアブレーション(PLD)法を用いて、HAp 薄膜を約 6 μm 成膜した。次に、HAp 薄膜を成膜した基材上に 150 μm の小孔が 450 μm の間隔で三角配列した構造を持つ金属マスクを配置し、これに KrF エキシマレーザー光を照射し、レーザー加工を行うことで薄膜に小孔を形成した。その後、基板と薄膜の間層となるレジストをアセトン溶液により溶解することで HAp シートを単離し、さらに洗浄後シートを乾燥させた。引き続き、

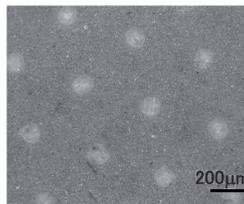


図1. 穴あき極薄 HAp シート



図2. エナメル質上に貼付した穴あき極薄 HAp シート

単離したシートを電気炉中で 450 $^{\circ}\text{C}$ - 10 時間の熱処理を行うことで結晶化した。穴あきシートをヒト抜去歯のエナメル質上に、pH5.5 の第一リン酸カルシウムを用いて貼付し、1 日ごとに人工唾液を滴下した。シートとエナメル質の界面状況の経時変化は X 線回折(XRD)パターンにより評価した。なお、ヒト抜去歯の使用については大阪歯科大学の倫理委員会の承認を得た。

【結果】

図1に穴あき HAp シートの光学顕微鏡写真を示す。約 150 μm の均一径の小孔が等間隔の三角配列に形成されており、設計通りの形状の小孔を HAp シートに付与できたことがわかる。このシートをヒト抜去歯のエナメル質上に貼付したところ、エナメル質表面に瞬時に付着した(図2)。また、穴あき HAp シートをエナメル

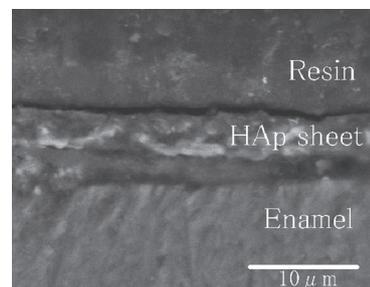


図3. 穴あき HAp シート-エナメル質界面の断面 SEM 写真

質上に貼付した後の XRD パターンの経時変化を測定した結果、HAp のピーク以外の HAp の前駆体に帰属するリン酸カルシウム水和物のピークは時間経過とともに減少したことから、再石灰化の促進を確認した。さらに、貼付 6 日目の HAp シート-エナメル質界面の断面走査電子顕微鏡(SEM)写真を図3に示す。図より界面に隙間なくシートは付着していることがわかる。

【考察】

HApシートに小孔を設けることで、貼付時の液抜き効果が高まり、従来問題であった界面の気泡の発生を抑えられることが明らかになった。また、XRDパターンの測定結果からシートとエナメル質界面での再石灰化の促進も見られ、さらにSEMによる界面の断面観察から、シートはエナメル質に隙間なく付着していることを確認した。

う蝕象牙質硬さ測定システムを用いた感染象牙質の除去について

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学¹⁾

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座²⁾

○向井 侑¹⁾, 日下部修介¹⁾, 大橋静江¹⁾, 清水明彦²⁾, 堀田正人¹⁾

Removal of Infected Dentin measured by 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⁾

○MUKAI Yuu¹⁾, KUSAKABE Shusuke¹⁾, OHASHI Shizue¹⁾, 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等を指標としてう蝕象牙質の感染層を低速のラウンドバーやスプーンエキスカバーターで削除している。う蝕治療の教育においても、学生にう蝕象牙質の感染層を残存させるべきではないことは周知徹底しているが、教育を受けている学生にとって理解することは難しく、歯科医師でも除去時の硬さや着色からだけで判断することがあり、客観性に欠ける。う蝕象牙質硬さ測定システム・カリオテスターは圧子を一定の荷重(150gf)でう蝕象牙質に押し込み、その距離(μm)を計測し、ヌーブ硬さに換算するものであり、う蝕象牙質の硬さを数値化し、チェアサイドでも応用できるシステムである。そこで今回、C₂程度のう蝕を有するヒト抜去歯を使用し、①エキスカバーターのみと②う蝕検知液とエキスカバーターを併用し、う蝕象牙質を除去した後の象牙質の硬さをカリオテスターにて測定し、歯学部学生と医員が行った場合を比較検討したので報告する。

【材料および方法】

1. 被験者

被験者は保存修復学基礎実習を終了した朝日大学歯学部3年生の学生7名と臨床経験が3年～5年の医員7名、合計14名である。

2. 実験前準備

実験を行う前に、医員および学生に対して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に、特に適切な荷重150gfをかけることができるように秤を用いて練習を行った。また、学生に対しては授業の復習としてう蝕の概要についての講義を行った。

3. 実験材料

予めエアータービンにてう窩の開拓を終了させたC₂程度のう蝕を有するヒト新鮮抜去歯を用いた。う蝕象牙質の硬さの測定にはカリオテスター(三栄エムイー)を使用した。

4. 実験方法

う窩の開拓後、すなわちう蝕象牙質除去前の硬さを測定した(コントロール)。その後、エキスカバーターで術者(学生および医員)の主観によりう蝕象牙質の感染層を除去し、その時の硬さを測定した(A群)。また、う蝕検知液(カリエスチェック、ニシカ)を用いてう蝕象牙質を染色し、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バーターを用いて感染層を除去し、硬さを測定した(B群)。この操作を1人の術者が10か所のう蝕象牙質に対して行った。なお、硬さの表示は70μm(6KHN)～15μm(64KHN)までしかできないため、押し込まれた距離(μm)で表した。得られた値から平均値を求め、二元配置分散分析(ANOVA)と多重比較検定(FisherのPLSD)を用いて有意差検定(p<0.05)を行った。また本実験で使用した抜去歯は、朝日大学歯学部倫理委員会の承諾(受付番号23112)を得たものである。

【結果および考察】

押し込み深さの平均値は、コントロールでは学生が224.0μm、医員が223.1μm、A群は学生が66.7μm、医員が34.2μm、B群は学生が35.3μm、医員が26.1μmであった。分散分析の結果、術者(医員と学生)間およびう蝕象牙質の感染層の除去方法の違いで有意差が認められた。また多重比較検定の結果、コントロールは学生と医員の間に有意差は認めなかった。学生ではA群とB群に有意差が認められたものの、医員ではA群とB群に有意差は認められなかった。さらに、学生と医員のA群には有意差が認められたが、学生と医員のB群には有意差は認められなかった。

なおカリオテスターにおけるう蝕象牙質の感染層の除去の指標は硬さ20KHN以上(距離30μm以下)とされているが、ヌーブ硬さに換算すると、A群の平均値は学生:6.5KHN、医員:18KHN、B群の平均値は:学生:17KHN、医員:27KHNであった。

以上のことから、医員の方が学生よりも有意に自分の主観で感染象牙質を多く除去できるものの、感染していないう蝕象牙質の硬さを自分の判断で除去することは学生だけでなく医員にとっても困難であり、う蝕検知液を使用することにより確実に感染象牙質が除去されることが確認された。しかし、う蝕検知液を用いても完全に感染う蝕象牙質の除去を行うことが困難である学生がかなり存在しており、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、スピード差などの影響もあるのではないかと推測している。また、カリオテスターはう蝕象牙質の感染していない軟化象牙質の硬さを理解、経験するのに有用な器械であり、今後の臨床実習や歯科治療の際に役立つと思われる。

今後、ラウンドバーなどエキスカバーター以外の切削器具についても同様の実験を行い、評価したいと考えている。

PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果 第2報：耐酸性試験

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

○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⁾、藤野富久江²⁾、寺中敏夫¹⁾

Effect of PRG barrier coat on root dentin remineralization *in vitro* 2nd report : acid resistance test

Dept. of Oral Medicine, Div. of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College¹⁾,

Dept. of Dental Hygiene, Shonan College²⁾

○SHIYA Toru¹⁾、MUKAI Yoshiharu¹⁾、TOMIYAMA Kiyoshi¹⁾、IIZUKA Junko¹⁾、HASEGAWA Haruhiko¹⁾、KURAMOCHI Erika¹⁾、FUJINO Fukue²⁾、TERANAKA Toshio¹⁾

【研究目的】

高齢者の残存歯には多くの露出歯根面が認められ、非常に根面齶蝕が生じやすい状況に置かれている。我々は前回第136回日本歯科保存学会学術大会において、松風社より販売された PRG バリアコートが、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ことを報告した。本研究の目的は、PRG バリアコート塗布隣接歯面再石灰化部位の耐酸性を評価することである。

【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、歯根象牙質試料とした (n=24)。

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、脱灰液 (1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 50mM acetic acid, 0.2ppmF, pH5.0) に 37°C で 36 時間浸漬した。

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) 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 フィラー非含有コート材) (N 群)。2) PRG 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)。および 3) レジン添加型ガラスアイオノマーセメント系のクリンプロTM XT パーニッシュ (3M) (X 群)。なお、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 n=6 とした。

3. 再石灰化 (MC gel による二層法) および耐酸性試験、TMR 分析: D 群以外の 3 群は、プラスチック製容器の底部に試料を固定後、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 (第 136 回本学会で報告済)。さらに、50 mM acetic acid 脱灰液 (0ppmF, pH5.0) の 3 日間浸漬を行い、耐酸性試験を行った。耐酸性試験後の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】

耐酸性試験後の 3 群のミネラルプロファイルでは、2 相性の特徴的なラミネーションが確認された。N 群は、80 μm 付近の深さまで D 群とほぼ同様なミネラルプロファイルであり、顕著な病巣体部が認められた。それに対し、S 群と X 群では 3 日間の耐酸性試験を行ったにもかかわらず、ミネラル密度の減少がわずかにとどまり、病巣体部も N 群と比較し非常に軽微であった。IML (vol% × μm) は、D、N、S、X 各群でそれぞれ 3777.7、4855.7、3581.0、3135.5 であり、S 群と X 群では、N 群に比較し有意に低い値が得られた (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 バリアコートは、含有 S-PRG フィラーの効果により、象牙質脱灰病巣に対してレジン添加型ガラスアイオノマーセメントの範疇に分類されるクリンプロ XT と、ほぼ近似した耐酸性を示す再石灰化能を示した。

【結論】

薄膜塗布も可能であり塗布手順が非常に簡便である PRG バリアコートの、象牙質脱灰病巣に対する再石灰化能には、レジン添加型ガラスアイオノマーセメントに匹敵する耐酸性が認められた。

各種フッ化物塗布剤による脱灰象牙質の再石灰化促進効果 —TMR とカリオテスター™によるインビトロ評価—

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、⁴兵庫医科大学歯科口腔外科学講座
○鶴鷹佐知子¹、中嶋省志¹、池田正臣³、二階堂 徹¹、清水明彦⁴、田上順次^{1,2}

Effect of higher concentrations of topical fluoride on dentin lesion remineralization assessed by TMR and Cariotester® *in vitro*

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

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

³Clinical Oral Science, Department of Oral Health Care Sciences, Faculty of Dentistry

⁴Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine

○Sachiko UTAKA¹, Syozi NAKASHIMA¹, Masaomi IKEDA³, Touru NIKAIIDO¹, Akihiko SHIMIZU⁴ and Junji TAGAMI^{1,2}

【研究目的】

比較的低濃度のフッ化物（歯磨剤など）を繰り返し使用することで、初期根面う蝕が再石灰化されることが報告されているが、高濃度のフッ化物での報告は限られている。そこで本研究では、高濃度のフッ化物（3種）による脱灰象牙質の再石灰化効果をインビトロで比較検討した。また、臨床的に根面う蝕の脱灰・再石灰化が評価できると期待される装置（カリオテスター™，う蝕象牙質の硬さを診断できる装置）の診査法としての有用性も検討した。

【材料および方法】

牛歯根部象牙質から約2×3mmのブロックを切り出し、これを即重合性レジンに包埋した。ついで象牙質表面を耐水研磨紙（最終#1200）にて研磨し、マニキュアにて約1.5×2.5mmを残しマスキングし、これをサンプルとした。ついでサンプルを37℃の脱灰液（CaCl₂: 1.5 mM, KH₂PO₄: 0.9 mM, 酢酸: 50 mM, NaN₃: 3.08 mM, pH 4.7）にて1週間脱灰した。その後、脱灰サンプルを4つの群（サホライド®群 F:45,000 ppm, APF群 F:9,048 ppm, NaF群 F:9,048 ppm, 無処置群）に分け、フッ化物群（F群）では通法に従って1回塗布を行った。ついで再石灰化液（CaCl₂: 1.0 mM, KH₂PO₄: 3.0 mM, NaCl: 100 mM, NaN₃: 3.08 mM, pH 6.5）にて、2及び4週間再石灰化させた。これらサンプルについて、脱灰直後および各期間の再石灰化後、カリオテスター™にて圧子の進入深さ（Cario深さ: μm）を測定した。その後、TMR法にて脱灰深さ（LD: μm）及びミネラル損失量（ΔZ: vol%×μm）を評価し、Cario深さとの相関性を検討した。またTMR値に関しては、初期値との減少率を再石灰化率（%）とし、Cario深さに関しては同様に減少率（%）を算出した。

【結果】

サホライド®群にて再石灰化促進効果を認めたが、APFとNaF群ではその傾向を示すにとどまった（図1）。CT深さに関し、F群にて高い減少率を認めたが、群間で大きな差はなかった（図2）。一方、ΔZとCario深さとの相関性については群によって異なった相関係数が認められ、サホライド®群にて最も高い相関性を認めた（図3: r=0.723）。

【考察および結論】

再石灰化促進効果に関し、F群で異なった傾向が見られたが、これはF濃度の違いが関係していると考えられる。また、Cario深さとΔZとの間に一定の相関性が認められたことから、高濃度フッ化物の臨床的有効性をカリオテスターにて評価できる可能性が示唆された。

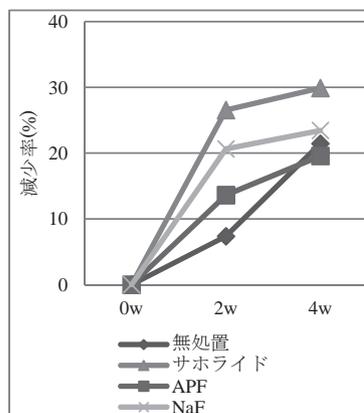


図 1: ΔZ に関する再石灰化率

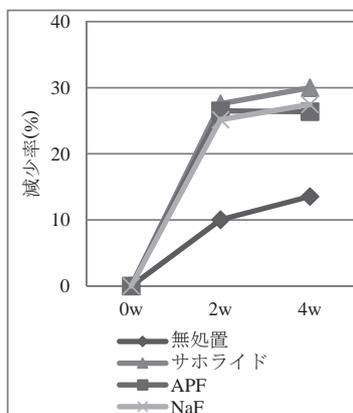


図 2: CT 深さに関する減少率

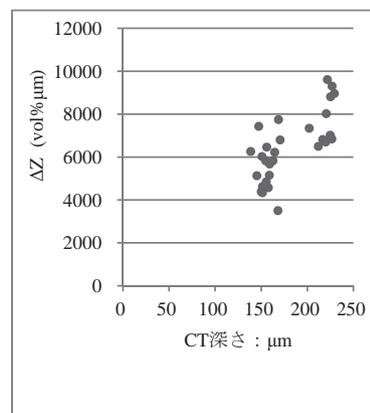


図 3: CT 深さと ΔZ の相関グラフ

r=0.723, P=0

象牙芽細胞様株化細胞への軽度熱刺激による熱耐性誘導機構の解析

¹福岡歯科大学歯科保存学分野, ²九州歯科大学齲蝕歯髄疾患制御学分野, ³九州歯科大学総合診療学分野
○諸富孝彦¹, 北村知昭², 寺下正道³, 阿南 壽¹

Analysis of Thermotolerant Mechanism induced by Mild Heat Stress on Odontoblast-like Cell

¹Section of Operative Dentistry and Endodontology, Fukuoka Dental College.

² Division of Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, ³ Division of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College.

○MOROTOMI Takahiko¹, KITAMURA Chiaki², TERASHITA Masamichi³, ANAN Hisashi¹

【研究目的】

生活歯の窩洞形成は歯科臨床で日常的に行われる処置であるが、窩洞形成時に生じる熱刺激は象牙質-歯髄複合体へと傷害を及ぼす。歯髄は傷害に対する組織修復能を有することが知られているが、過度の熱刺激は歯髄を壊死へと陥らせる代表的な外的刺激因子となる。そのため熱刺激に対する歯髄細胞の耐性を向上させることは、歯髄保存の観点から有意義である。われわれは第132回日本歯科保存学会学術大会において、41°C・12時間の熱刺激が象牙芽細胞様細胞株 KN-3 の熱耐性を向上させる現象について報告した。今回、われわれは歯髄細胞の熱耐性向上を誘導する手法の確立を目的として、軽度の熱刺激がもたらす致命的な熱刺激への耐性向上誘導機構について詳細な解析を行った。

【材料及び方法】

本研究には、象牙芽細胞様の特徴を有するラット下顎切歯由来細胞株 KN-3 を用いた。KN-3 細胞を播種後 37°C で 24 時間培養した後、41°C で 1, 3, 6, 12 時間培養し軽度の熱刺激を与えた (Pre-Heat)。その後、47°C・10 分間の高温度の熱刺激 (Severe-Heat) を加えた。また、Pre-Heat を与えずに Severe-Heat のみを加えた細胞を比較群とした。Severe-Heat 後には再度 37°C で培養を行った。Severe-Heat 直後、1 日および 3 日後に生存細胞数を計測した。細胞数の測定は 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-5-[3-carboxymethoxyphenyl]-2-[4-sulfophenyl]-2H-tetrazolium (MTS) assay により行った。また Pre-Heat および Severe-Heat 後の各種タンパク質の発現を、ウェスタンブロッティング法を用いて通常に従い確認した。さらに、フローサイトメトリー (FACS) を用いて Pre-Heat の際の細胞周期の変化についても分析を行った。

【結果】

KN-3 細胞に 47°C・10 分間の熱刺激 (Severe-Heat) を加えた比較群では、3 日目までに細胞が死滅した。また、41°C で 1 時間または 3 時間の Pre-Heat 後に Severe-Heat を加えた細胞群も、比較群と同様に 3 日後までに死滅した。一方、41°C・6 時間の Pre-Heat を与えた後に Severe-Heat を加えた群では、細胞数は減少し続けているものの 3 日目にも生存細胞が確認された。そして 41°C・12 時間の Pre-Heat を与えた群の KN-3 細胞では、Severe-Heat の 1 日後には一過性に細胞数が減少していたものの、3 日目には増殖が確認された。さらに、これらの生存細胞では dentin sialoprotein (DSP) および Dentin matrix protein-1 (DMP-1) の発現が維持されていた。FACS を用いた分析により、41°C・12 時間の Pre-Heat を与えた KN-3 細胞では G1 期の細胞が著しく増加しており、またウェスタンブロッティング法により細胞周期進行性タンパク質の発現量低下と抑制性タンパク質の増加が確認された。さらに、Heat shock protein (HSP) -25, -70, -90 の発現が Pre-Heat の期間中、12 時間後まで増加し続けていた。

【考察】

Pre-Heat を与えなかった細胞群や 1 時間または 3 時間与えた群ではその後の Severe-Heat により細胞は死滅したが、41°C・12 時間の Pre-Heat 与えた群では、一過性の減少の後に再び増殖することが確認された。また、これらの生存細胞では象牙芽細胞分化マーカーとして知られる DSP および DMP-1 の発現が確認され、象牙芽細胞様細胞としての性質が維持されていることが示唆された。本研究結果より、41°C・12 時間の Pre-Heat は、KN-3 細胞の致命的な熱刺激に対する耐性を向上させることが確認された。そして適切な軽度の熱刺激は歯髄細胞に細胞周期の停止と HSPs の細胞内蓄積量増加を誘導することによって、窩洞形成時に生じる致命的な熱刺激による歯髄への傷害を減弱させる可能性が示唆された。

【結論】

軽度の熱刺激は細胞周期の停止と HSPs の増加を促すことで象牙芽細胞様株化細胞の熱耐性を向上させる。

象牙質顆粒はヒト歯髄および骨髄由来幹細胞の増殖を促進する

1) 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

2) 朝日大学歯学部口腔構造機能発育学講座口腔生化学分野

○小栗健策¹⁾ 田中雅士¹⁾ 森 春菜¹⁾ 川木晴美²⁾ 近藤信夫²⁾ 吉田隆一¹⁾

Dentin particles promote proliferation of human dental pulp and bone marrow-derived stem cells

1) Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,
Asahi University School of Dentistry

2) Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure, Function and Development,
Asahi University School of Dentistry

○Oguri Kensaku¹⁾ Tanaka Masashi¹⁾ Mori Haruna¹⁾ Kawaki Harumi²⁾ Kondoh Nobuo²⁾ Yoshida Takakazu¹⁾

【研究目的】

今日、様々な組織由来の幹細胞が組織再生研究に用いられており、骨や象牙質再生の研究においても注目されている。また、足場となる材料として天然ポリマーや無機質のスキヤフォールドなどの研究が進んでおり、象牙質の応用も試みられつつある。我々は、様々な組織由来の幹細胞の培養基材あるいは足場としてヒト象牙質に着目し、顆粒状にしたヒト象牙質存在下でのヒト歯髄由来幹細胞およびヒト骨髄由来幹細胞の動態について検討を行った。

【材料および方法】

1. 抜去歯の保存：実験に用いた抜去歯は患者の同意のもと、朝日大学歯学部倫理委員会の承認（第 23111 号）を得て使用した。朝日大附属病院口腔外科を受診した患者の中から、矯正治療の為の便宜抜歯が必要とされたもの、智歯周囲炎のため抜歯が必要とされたもののうち、う蝕のない歯を選択し、抜歯直後に -80°C で凍結保存した。
2. ヒト象牙質の粉碎および顆粒の粒径を分別：抜去歯から根尖部 1/3 を切除、エナメル質、セメント質、歯髄を除去して象牙質を抽出した。その後象牙質を粉碎、顆粒にしたのち粒径別に分別し、直径 106~212 μm と直径 38 μm 以下の象牙質顆粒を実験に用いた。
3. 滅菌：2 で作製した顆粒をオートクレーブ (AC 群)、あるいはエチレンオキサライドガス (EOG 群) にて滅菌した。
4. ヒト歯髄由来幹細胞、ヒト骨髄由来幹細胞の培養：ヒト歯髄由来幹細胞とヒト骨髄由来幹細胞を、粒径と滅菌方法で分別したヒト象牙質顆粒 0.047mg/cm²、0.094 mg/cm²、0.184mg/cm²、0.368mg/cm²、0.735mg/cm²、1.471mg/cm²、2.941mg/cm²、5.882mg/cm²、11.765mg/cm² でコートした培養プレート上で 48 時間培養した。象牙質顆粒非存在下で培養した細胞群をコントロールとした。
5. 細胞増殖の検討：それぞれの細胞を Lysis buffer で回収した後、Hoechst 染色を行って蛍光輝度をプレートリーダー (infinite M200PRO, テカンジャパン社) で測定し、各群で比較した。なお、得られた結果は t 検定を用いて統計処理を行った。

【結果】

ヒト歯髄由来幹細胞では、コントロール群と比較して 1.471 mg/cm² 以上の象牙質顆粒存在下で有意に細胞増殖の促進が認められた。AC 群と EOG 群の比較では、2.941mg/cm² 以上の象牙質顆粒存在下で EOG 群の方が有意に細胞増殖の促進が認められた。象牙質顆粒の粒径の違いによる検討では、2.941 mg/cm² 以上の象牙質顆粒存在下において 38 μm 以下の群で有意に細胞増殖の促進が認められた。ヒト骨髄由来幹細胞では、コントロール群と比較して 0.368 mg/cm² 以上の象牙質顆粒存在下において有意に細胞増殖の促進が認められた。さらに滅菌方法では EOG 滅菌、粒径では直径 38 μm 以下の群で、0.368 mg/cm² 以上の象牙質顆粒存在下において有意に細胞増殖の促進が認められた。

【結論および考察】

ヒト歯髄由来幹細胞の増殖は、滅菌法では EOG 群、粒径では直径 38 μm 以下の群で細胞増殖が顕著であった。象牙質顆粒の量についての詳細は不明であるが、これは象牙質の表面積の差、象牙質内の有機成分の露出、滅菌法の違いによる有機成分の変性の程度等が考えられる。同様にヒト骨髄由来幹細胞でも EOG 滅菌で直径 38 μm 以下の象牙質顆粒上で細胞増殖が促進されことから、歯髄由来の細胞だけでなく骨髄由来の細胞にも象牙質が有効であることが明らかとなった。今後は細胞増殖促進の機序、さらには象牙質顆粒がヒト歯髄及び骨髄由来幹細胞を未分化な状態のままでの増殖促進に有用なのか、分化を誘導する基材として利用可能なのかを検討していく予定である。

ヒト歯髄細胞の無血清培養法の確立と培養法の違いが遺伝子発現・細胞増殖・石灰化能に及ぼす影響の検討

広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 展開医科学専攻 顎口腔頸部医科学講座 健康増進歯学分野
藤井紗貴子, 尾田 良, 西村英紀

Establishment of serum-free culture method for human dental pulp cells, and influences of different culture methods on gene expression profile, cell growth and mineralization.

Hiroshima University 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】

各臓器の機能不全に対して、臓器移植による治療が確立されてきたが、ドナーの数や多大な費用がかかるなど、依然として問題が残っている。そこで、臓器移植に代わる新たな治療法として、多分化能を有する間葉系幹細胞 (MSC) の移植が注目されている。MSC は主に骨髄や脂肪組織から分離培養されるが、歯髄組織にも存在すると報告されている。歯髄組織から分離された歯髄細胞 (Dental Pulp Cells : DPC) は、alkaline phosphatase (ALP) 活性の上昇と osteocalcin (OCN) 合成を伴う石灰化誘導能を有するため、歯髄細胞を利用した歯髄、象牙質修復の研究がこれまで多くの研究者により進められてきた。しかし、現在の移植用細胞の培養法は、通常ウシ胎児血清 (FBS) を使用するため、血清ロットの違いにより細胞増殖や分化能が変化して細胞の品質が一定しない。また、ウイルスやプリオンの感染、免疫拒絶反応のリスクがある。これらの問題を回避するため、無血清培地での細胞培養が必要であるが、歯髄細胞を無血清培地で長期間培養した報告はない。そこで、骨髄由来間葉系幹細胞の増殖用無血清培地として開発された STK2 を用いてヒト由来歯髄細胞の長期培養を試み、細胞増殖能、石灰化誘導能を検討した。

【方法】

(1) 遺伝子解析

STK2 および 10% FBS 含有 DMEM で 7 日間培養した DPC の total RNA を回収し、DNA microarray 解析を行った。

(2) 細胞増殖

6-well plate に播種した DPC を STK2 および 10% FBS 含有 DMEM で confluent まで培養し、細胞数を測定後、継代培養を繰り返した。

(3) 石灰化誘導

STK2 および 10% FBS 含有 DMEM で培養した DPC を、石灰化誘導培地で培養し、分化誘導を行った。

【結果】

1. STK2 および 10% FBS 含有 DMEM で培養した DPC の遺伝子発現の相関係数は 0.97 以上であり、STK2 は DPC の遺伝子発現プロファイルに大きな影響を及ぼさなかった。
2. DPC は、10% FBS 含有 DMEM と同様に、STK2 でも長期継代培養が可能であった。
3. STK2 で前培養した DPC は、10% FBS 含有 DMEM と比較して、高い ALP 活性と石灰化物の早期形成を示した。

【結論】

本研究により、分化能の高い歯髄細胞を安全に長期培養することが可能となり、歯髄細胞を用いた再生医療の発展に貢献できると期待できる。

万能性幹細胞の象牙芽細胞分化における歯髄脱細胞化マトリックスの役割

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○ 尾関伸明, 山口秀幸, 川合里絵, 中田和彦, 中村 洋

Roles of decellularized dental pulp matrix on odontoblast differentiation of pluripotent stem cells

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○ Nobuaki Ozeki, Hideyuki Yamaguchi, Rie Kawai, Kazuhiko Nakata, and Hiroshi Nakamura

【研究目的】

近年, 組織特異的な細胞外マトリックス (extracellular matrix : ECM) を培養系に応用して, 生体に近い培養・移植環境を構築する技術が, 組織の脱細胞化法として注目をあびている. この手法は, 組織から界面活性剤などにより生細胞を除去し, タンパク質のみを残存させるものであり, 得られた ECM は種々の細胞培養の基盤として応用されている. ECM は幹細胞の機能を制御する幹細胞ニッチの重要な組成であり, 幹細胞の組織分化や機能の制御に関与していると報告されている. 本研究では, 脱細胞化した歯髄の細胞外マトリックスを用いて, 万能性幹細胞の象牙芽細胞分化能を検討した.

【材料および方法】

万能性幹細胞として, マウス iPS 細胞 (iPS-MEF-Ng-20D-17) およびマウス ES 細胞 2 株 (E14Tg2a, B6G-2) とラット歯髄細胞を通常に従い培養し, 実験に用いた. 8 週齢の雄性 Wister 系ラットの前歯を顎骨ごと摘出し, 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) を用いて, 歯髄由来の脱細胞化マトリックス (decellularized dental pulp matrix; ddpm) の抽出・精製をおこなった. 精製した ddpm 上に各細胞を播種し, 経時的に total RNA を抽出し, 神経堤細胞マーカー (FoxD3, Sox10), 神経前駆細胞マーカー (Notch-1, Nestin), 象牙芽細胞分化マーカー (Dspp, Dmp-1, Enamelysin), 血管内皮細胞マーカー (Flk-1, VE-cadherin) の遺伝子発現動態を RT-PCR 法を用いて評価した. さらに, 精製した ddpm と collagen type I, fibronectin および laminin-1 といった ECM を用いて, 細胞増殖能, 細胞接着能および細胞運動能について比較検討をおこなった.

【結果および考察】

ddpm により iPS 細胞および ES 細胞 2 株には, 歯髄細胞と比較して, 象牙芽細胞分化関連マーカーの有意な遺伝子発現が認められた. さらに, collagen type I, fibronectin および laminin-1 と比較し, ddpm には有意な細胞増殖能, 細胞接着能および細胞運動能を有していることが明らかとなった.

【結論】

歯髄脱細胞化マトリックス (decellularized dental pulp matrix; ddpm) は, iPS 細胞および ES 細胞といった万能性幹細胞を用いた象牙芽細胞分化に有用な誘導因子あるいはスキャホールドとなる可能性を示した.

Effects of JNK on the Production of MMP-3 by Interleukin-1 beta-Stimulated Human Dental Pulp
Fibroblast Like Cells

大阪歯科大学 大学院歯学研究科歯内治療学専攻¹⁾
生化学講座²⁾ 口腔治療学講座³⁾

○加藤 侑¹⁾ 合田征司²⁾
池尾 隆²⁾ 林 宏行³⁾

Graduate School of Dentistry (Endodontics), Osaka Dental University¹⁾
Department. of Biochemistry, Osaka Dental University²⁾
Department. of Endodontics, Osaka Dental University³⁾

○Kato Yu¹⁾, Goda Seiji²⁾,
Ikeo Takashi²⁾, Hayashi Hiroyuki³⁾

【研究目的】

う蝕の進行に伴い歯髄組織では IL-1 β などの炎症性サイトカインが分泌され、続いて細胞外マトリックス分解酵素である MMP-3 などが産生され歯髄炎が惹起される事が知られている。近年、歯内治療の成功率は上昇しているが、やはり歯髄を保存することは重要である。

そこで今回我々は、歯髄炎の発症機序を解明するためにヒト歯髄由来線維芽細胞における IL-1 β 刺激時の MMP-3 の産生と MAP kinase である JNK について検討した。

【方法および結果】

1) 本研究に参加同意を得た患者 (大歯医倫 100505) の抜去歯から歯髄組織を採取・培養し、3~10 世代目をヒト歯髄由来線維芽細胞として本研究に使用した。2) ヒト歯髄由来線維芽細胞を IL-1 β 存在下で 24 時間培養後、上清中の MMPs の発現を Gelatin zymography, Western Blotting で確認した。MMP-3 の産生は IL-1 β 濃度依存的に増強したが、MMP-2 の産生には影響はなかった。3) IL-1 β 刺激による JNK のリン酸化について Western Blotting で検討した結果、JNK のリン酸化は経時的に変化した。4) JNK 刺激時の JNK 阻害剤 SP600125 及び AS601245 の影響について検討した結果、IL-1 β 刺激によって増強した MMP-3 の産生と JNK のリン酸化は SP600125 および AS601245 によって抑制された。

【結論】

ヒト歯髄由来線維芽細胞において、IL-1 β 刺激によってストロムライシン群である MMP-3 産生は濃度依存的に上昇した。JNK 阻害剤によって MMP-3 産生が阻害されていることから炎症機序において JNK 経路が関与することが示唆された。

歯髄細胞が産生する TNF- α 誘導因子の探索

- 1) 広島大学大学院 医歯薬保健学研究院統合健康科学部門 健康増進歯学分野
2) 日本大学松戸歯学部 生化学・分子生物学講座

○ 永安慎太郎¹⁾, 鈴木茂樹¹⁾, 小武家誠司¹⁾, 山下明子¹⁾, 安孫子宣光²⁾, 西村英紀¹⁾

Investigation of TNF- α inducing factor produced by dental pulp cells

1)Hiroshima University Institute of Biomedical & Health Sciences Integrated Health Sciences Dental
Science For Health Promotion

2) Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○ Nagayasu Shintaro¹⁾, Suzuki Shigeki¹⁾, Kobuke Seiji¹⁾, Yamashita akiko¹⁾, Abiko Yoshimitu²⁾,
Nishimura Fusanori¹⁾

<研究目的>

歯髄炎の初期反応では、歯髄において樹状細胞やマクロファージなどの炎症性細胞浸潤が認められ、歯髄炎の成立に重要な役割を果たしていると考えられている。我々はこれまで歯髄炎を想定した「歯髄細胞とマクロファージの共培養系」の確立に取り組み、液性因子のみが培養ウェルの上室と下室を移動できるようにした細胞非接着型共培養系において、LPS 刺激時に tumor necrosis factor (TNF)- α などの炎症性サイトカイン産生性が相乗的に亢進することを明らかにしてきた。しかし、歯肉線維芽細胞または歯根膜線維芽細胞を用いた同様の共培養系では、歯髄細胞使用時に見られるような相乗的サイトカイン産生性の亢進は見られなかった。つまり、マクロファージは歯髄細胞が産生する液性因子を介した相互作用により炎症を惹起すると考えられ、そこにはある種のサイトカインネットワークが存在すると想定される。そこで本研究では、マクロファージのサイトカイン産生性を誘導する歯髄細胞特異的液性因子の同定を目的として、培養歯髄細胞のゲノミクス解析を行い、さらに同定したタンパク質がマクロファージのサイトカイン産生性に与える影響を PCR 法, ELISA にて検討した。

<材料および方法>

本研究では以下の細胞を用いた。マクロファージ: ヒト単球様細胞株 THP-1 を PMA で分化させマクロファージ様細胞とした。歯肉線維芽細胞 (GF): 当院内の協力者から採取した歯肉組織を器官培養し outgrowth してきた細胞を用いた。歯根膜線維芽細胞 (PDL): 同様に当院内の協力者から採取した便宜抜歯による抜去歯牙から歯根膜組織を剥離し、培養皿上で outgrowth してきた細胞を用いた。歯髄細胞: ヒト歯髄細胞株 (DP-1) ヒトテロメラーヌ逆転写酵素 (hTERT) およびヒトパピローマウイルス (HPV) の E6, E7 遺伝子導入により不死化した細胞を用いた。培養歯髄細胞 (DPC) 広島大学病院において、矯正便宜抜歯による抜去歯牙から研究協力者の同意の上で歯髄組織を採取し、培養皿上で outgrowth してきた細胞とした。歯髄細胞が特異的に発現する遺伝子の網羅的解析: DP-1 と GF をサブコンフルエントになるまで培養したのちに総 RNA を回収後、DNA マイクロアレイ法を用い DP-1 に強く発現する遺伝子を解析した。候補分子の TNF- α 誘導性の確認と発現の確認: 候補分子をマクロファージに添加した場合の TNF- α 産生量と同候補分子の DP-1 および DPC 培養上清中の濃度を ELISA にて測定した。遺伝子発現は PCR 法で確認した。

<結果>

マイクロアレイ解析により DP-1 で強発現する分子群を多数同定した。多くはサイトカインやケモカインであった。発現比で DP-1 に強発現している遺伝子上位 9 種類を抽出後これらのリコンビナント蛋白を入手し、分化 THP-1 からの TNF- α 産生誘導能を検討した。その中で Interleukin-1 beta (IL-1 β) は THP-1 からの TNF- α 産生を強く誘導した。DP-1 および DPC は IL-1 β と caspase-1 遺伝子は発現しているものの、IL-1 β の培養上清中の濃度はごく微量であった。

<考察及び結論>

DP-1 歯髄細胞で強発現する遺伝子を多数同定した。その中でも IL-1 β は LPS 刺激を加えた場合とほぼ同程度の TNF- α 産生を誘導したが、DP-1 や DPC における産生量はごく微量であり、IL-1 β が候補分子である可能性は低いものとする。一方、近年 TNF- α を誘導することで注目されている HMGB-1 についてもマイクロアレイでその発現は確認されたが、GF との発現比は低く探索分子が HMGB-1 である可能性も薄いと考えられた。すなわち、歯髄細胞が発現する TNF- α 誘導因子は新規のサイトカインである可能性が示唆された。

ヒト歯髓由来線維芽細胞における IL-1 β 刺激による MMP-3 産生への影響

大阪歯科大学 1) 歯科保存学講座 2) 生化学講座

○竹内 摂¹, 合田征司², 小正玲子¹, 宮地秀彦¹, 松田有之¹,
小松首人¹, 藤原秀樹¹池尾 隆², 山本一世¹

For the production of MMPs derived from

human dental pulp fibroblasts like cells stimulated by IL-1 β .

Dept. of 1) Operative Dentistry, 2) Biochemistry Osaka Dental Univ.

○TAKEUCHI Osamu¹, GODA Seiji², KOMASA Reiko¹, MIYAJI Hidehiko¹,

MATSUDA Tomoyuki¹, KOMATSU Obito¹, FUJIWARA Hideki¹, IKEO Takashi², YAMAMOTO Kazuyo¹.

【 目的 】

う蝕の進行に伴い歯髓組織には炎症性サイトカインである Interleukin-1 β (IL-1 β) などが産生され, 免疫担当細胞が浸潤する. その過程で炎症が惹起され, さらに炎症が進行すると組織が破壊され歯髓壊死へと移行する. 歯髓炎の発症機序を解明することは歯髓保存のために重要である. β

また単球/マクロファージから産生される Interleukin-1 β (IL-1 β) は, 好中球や血管内皮細胞に作用し, 炎症反応を引き起こすサイトカインである. その機能はアポトーシス誘導や炎症反応亢進, 創傷治癒など働きは様々である.

Mitogen-activation protein kinase (MAPK) の1つである ERK1/2 は kinase cascade が活性化することにより ERK1/2 はリン酸化する. この結果細胞の増殖, 生存促進, アポトーシス誘導の働きを示す.

そこで我々は, ヒト歯髓由来線維芽細胞における IL-1 β 刺激による MAP kinase の1つである ERK1/2 の活性化と Matrix Metalloproteinase (MMPs) について検討した.

【方法および結果】

- 1) 本研究に参加同意を得た患者様の抜去歯より歯髓組織を採取・培養し, 継代培養の後 3~10 世代目をヒト歯髓由来線維芽細胞として本実験に使用した.
- 2) ヒト歯髓由来線維芽細胞を IL-1 β 存在下で 24 時間培養後, 上清中の MMPs の発現を Gelatin zymography, Western Blotting で確認した. 0, 1, 2, 5, 10ng/ml の IL-1 β 刺激において MMP-3 の産生は IL-1 β 濃度依存的に増強した.
- 3) IL-1 β 刺激による ERK1/2 MAP kinase のリン酸化について Western Blotting で検討した. ヒト歯髓由来線維芽細胞において ERK1/2 MAP kinase のリン酸化は濃度依存的・経時的に変化した.
- 4) IL-1 β 刺激時の MEK1/2 MAP kinase 阻害剤 U0126 の影響についても同様に Gelatin zymography, Western Blotting を用いて検討した. ヒト歯髓由来線維芽細胞において IL-1 β 刺激により増強した MMP-3 の産生と ERK1/2 MAP kinase のリン酸化の増強は U0126 により有意に抑制された.

【考察】

ヒト歯髓由来線維芽細胞において, IL-1 β 刺激により MMP-3 産生は濃度依存的に上昇した. またゼラチナーゼ群である MMP-2 の発現は無刺激時でも発現は確認され IL-1 β 刺激による影響はなかった.

ERK1/2 のリン酸化は, MEK 阻害剤である U0126 添加により ERK1/2 のリン酸化の阻害, MMP-3 の発現が阻害されていることにより IL-1 β 刺激によるヒト歯髓由来線維芽細胞の MMP-3 産生経路において MEK 経路が関与することが示唆された.

メカニカルストレスによりマウス歯髄組織に発現する Chromogranin A

松本歯科大学 歯科保存学第2講座
○佐藤将洋, 山本昭夫, 笠原悦男

Chromogranin A in the mouse dental pulp tissue elicited by mechanical stress
Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University School of Dentistry
○Masahiro Sato, Akio Yamamoto, Etsuo Kasahara

【目的】

我々はマウスの歯列にコンポジットレジン修復などの歯科保存治療で行う歯間分離を行い、このメカニカルストレスの負荷によりその後の歯髄に惹起される組織変化について検討し、第136回の本学会大会において特に象牙芽細胞の活性化、すなわち第三象牙質形成傾向へのシグナル因子として Runx2 に着目し、その結果を報告した¹⁾。今回は、我々の関連する研究データ²⁾によって歯髄への発現が明らかになっている Chromogranin A (ChgA) について検討した。

【方法】

8週齢 ddY 雄性マウス 15匹を用いて、イソフルランによる全身麻酔下にて臼歯間へのウエッジ挿入による3時間の歯間分離を行った。ウエッジ除去後の歯周組織を経時的に採取した。ウエッジ除去直後(0分)、3時間後、9時間後、24時間、3日後、およびウエッジを挿入しない対照群と、各群3匹の計18匹である。歯髄における Chromogranin A の発現状況を検索するために、脱パラフィンした標本を室温で5分間 Dako Proteinase K (Dako Japan, Tokyo) で前処理し、蛍光免疫染色のために Zenon® Alexa® Fluor labeling kit (Invitrogen, Carlsbad) を使い、1µg の1次抗体に対して 5µl の Zenon rabbit IgG labeling reagent を加え、抗体を蛍光色素で標識した。1次抗体には Rabbit polyclonal to Chromogranin A (ab15160, Abcam, Tokyo) を使い、Alexa Fluor®594 (z-25307, Invitrogen) で標識した。標識した1次抗体を PBS で希釈し、最終濃度 1µg/ml で60分間室温にて反応させた。反応終了後、PBS で洗浄し Fluorescent Mounting Medium® (Dako, Japan) で封入し蛍光顕微鏡 (BX61, Olympus, Tokyo) を用いて観察を行った。

【結果と考察】

ウエッジ挿入しない対照群の歯髄では一部の細胞に ChgA が弱く発現していた。これは、先に報告した Runx2 の発現状況と同じで、咬合圧や口唇圧などの生理的メカニカルストレスに対して恒常的に発現していると推察された。実験群では、ウエッジ除去直後(0分)群の歯髄組織に ChgA の若干強調された発現があった。発現している細胞は歯髄細胞のほか、毛細血管の内皮細胞である。これらは対照群よりも強かった。実験3時間群においては、0分群と同様な細胞に発現しているほか、象牙芽細胞層の細胞にも発現があった。しかし、この部の発現は9時間群ではかなり弱まっていた。実験3日群では、歯髄組織全域においてその発現が弱まり、ほぼ対照群と同レベルになっていた。以上の観察結果から、今回の ChgA の発現状況による検証においても先の Runx2 の時と同様に、ウエッジ挿入による一時的な発現状況があるが、その発現は比較的短時間の内に弱まる(実験3日群)ことが確認された。ウエッジ挿入の負荷によって誘発されたと考えられる当該部歯髄に発現増強した ChgA は、一過性のものであり歯髄細胞や象牙芽細胞などに致命的な傷害は与えないものと思われた。

【結論】

臨床時に使用するウエッジ挿入は、ChgA の発現状況を指標とする限り大きな問題ない事を示唆した。

【文献】

- 1) 佐藤将洋, 他: 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. 第136回日本歯科保存学会, P-84
- 2) 佐藤将洋, 他: Chromogranin A のマウス歯髄と歯周組織における発現. J Hard Tissue Biol 20: 295-300, 2011

【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)

ラット実験的歯髄炎により生じる視床における phospho-p38 MAPK の発現に関する免疫組織学的検索

1 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野

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 東京医科歯科大学歯学部附属病院 総合診療科 クリーンルーム歯科外来

4 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

○河村 隼¹, 金子友厚², チョックチャナチャイサクン ウライワン^{1,4}, 山中裕介², 伊藤崇史², 砂川光宏^{1,3}, 興地隆史², 須田英明^{1,4}

Immunohistological analysis of phospho-p38 MAPK expression in thalamus caused by experimental dental pulp inflammation of rats

1 Pulp Biology and Endodontics, Oral Health Sciences, Medical and Dental Sciences, 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 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

○KAWAMURA Jun¹, KANEKO Tomoatsu², CHOKECHANACHAISAKUL Uraivan^{1,4}, YAMANAKA Yusuke², ITO Takafumi², SUNAKAWA Mitsuhiro^{1,3}, OKIJI Takashi², SUDA Hideaki^{1,4}

(目的)

我々は、歯髄炎により惹起される中枢性感作に着目して検索を行っており、ラット臼歯に歯髄炎を誘発すると、グリア細胞の活性化が生じること (Kaneko et al., Journal of Endodontics, 2010)、および誘発側と対側の視床組織において MAPK 13 および MAPK14 mRNA の発現が亢進すること (第 136 回本学会) を報告した。

そこで本研究においては、実験的歯髄炎に継発するグリア細胞活性化機構をさらに詳細に検索することを目的とし、活性化 p38 MAPK のマーカーである phospho-p38 MAPK の発現を免疫組織化学的に検索した。

(方法)

実験には、5 週齢の雄性 Wistar ラットを 2 群に分け (各 n = 4)、抱水クロラルによる全身麻酔下で、下顎第一臼歯に対して以下の処置を行った。

- ・実験群 1 : エピネフリン (1:80 000) 含有 2% ドカイン (アストラゼネカ社, 0.3ml) で浸潤麻酔後、1/2 ラウンドバーを用いて咬合面より露髄させ、直ちにコンポジットレジン (ユニフィルフロー, GC 社) を用いて仮封。
- ・実験群 2 : 生理食塩液を注射した後、同様に露髄させ直ちにコンポジットレジンで仮封。

7 2 時間経過後に動物を抱水クロラル麻酔下において 2% パラホルムアルデヒド還流固定を行い安楽死させたのち対側視床を摘出、2% パラホルムアルデヒド固定後凍結包埋し、連続凍結切片を作製した。また、コントロール群として、正常ラット視床 (n = 4) を用いた。次いで、一次抗体として抗 phospho-p38 MAPK 抗体を用い、ABC 法を用いて免疫染色を行った後、画像解析ソフトウェア (ImageJ software, Version 1.37v; National Institutes of Health) を用いて単位面積当たりの phospho-p38 MAPK 陽性神経の密度を定量し、Mann-Whitney の U 検定により統計学的解析を行った。

(結果)

すべての群で phospho-p38 MAPK の陽性反応が認められ、その反応のほとんどが神経として確認された。

露髄仮封 7 2 時間後、phospho-p38 MAPK 陽性神経の密度は、実験群 1 および実験群 2 ともに、コントロール群の視床に比べて有意に増加した ($P < 0.05$)。しかし、その陽性神経の密度は、局所麻酔をした実験群 1 において、生理食塩液を注射した実験群 2 と比較して、有意に少なかった ($P < 0.05$)。

(考察)

実験群 1 において、実験群 2 と比較して phospho-p38 MAPK 陽性神経の密度が少なかったことは、局所麻酔により露髄時の痛みの神経シグナルが遮断されたことによると考えられる。また、局所麻酔の有無に関わらず、正常時の視床と比較して phospho-p38 MAPK 陽性神経の密度が増加したことは、局所麻酔により露髄時の痛みのシグナルは遮断できたものの、局所麻酔の効果が消失後、露髄後に生じた歯髄炎による神経シグナルが中枢神経系へ伝達されていたためと推定される。

(結論)

歯髄炎惹起後の視床組織では、神経系における phospho-p38 MAPK 免疫陽性反応が増強されることが確認された。

歯髄再生治療法に用いる最適な遊走因子の検討

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 歯内治療学講座、³⁾顎口腔外科学講座、⁴⁾小児歯科学講座

○竹内教雄^{1,2)}、庵原耕一郎¹⁾、村上真史¹⁾、堀部宏茂^{1,3)}、石坂 亮^{1,4)}、中村 洋²⁾、中島美砂子^{1,2)}

Most efficient migration factor for stem cell therapy for pulp regeneration

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 Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University,

³⁾ Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

⁴⁾ Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○Takeuchi Norio^{1,2)}, Iohara Koichiro¹⁾, Murakami Masashi¹⁾, Horibe Hiroshi³⁾, Ishizaka Ryo⁴⁾, Nakamura Hiroshi²⁾, Nakashima Misako^{1,2)}

【目的】

私共の研究室ではこれまで、歯髄再生治療法として、イヌの抜髄後の根管内に、歯髄幹細胞を遊走因子、SDF-1 あるいは G-CSF とともに移植することにより歯髄組織が再生されることを明らかにした(第 136 回春季歯科保存学会)。この際、遊走因子のみ、あるいは歯髄幹細胞のみを移植すると、再生される歯髄組織量は有意に減少した。G-CSF は、歯髄幹細胞から分泌される trophic factor とともに、周辺組織からの幹細胞の遊走および増殖を促進させ、アポトーシスを抑制し、血管再生、神経伸長、歯髄再生を促進することが示唆されるが、G-CSF の効果は明らかになっていない。一方、bFGF は *in vitro* および *in vivo* において細胞遊走促進作用を有することが知られている。したがって、本研究では、歯髄再生治療の臨床で用いる最適な遊走因子を検討するために、薬事認可されている bFGF と G-CSF の作用を *in vitro* および *in vivo* において比較検討した。

【材料と方法】

1. 細胞：ヒト歯髄幹細胞 (hDPSCs)、ヒト歯根膜細胞 (hPdLF, Lonza)、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC, Lonza)、ヒト骨髄細胞 (BM, ヒューマンサイエンス振興財団)、ヒト神経芽腫細胞 (TGW cells, JCRB)
2. *in vitro* における G-CSF (ノイトロジン[®])と bFGF (フィブラストスプレー[®]) の作用
 - 1) 遊走促進作用解析：TAXIScan-FL を用いて 5 種の細胞の遊走促進作用を比較
 - 2) 増殖促進作用解析：Tetra Color ONE[®]による吸光度を測定し、5 種の細胞の増殖促進作用を比較
 - 3) 抗アポトーシス作用解析：staurosporine 500nM 添加 6 時間後、フローサイトにてアポトーシス細胞数を測定
 - 4) MLR：培養上清を用いて混合リンパ球反応を行い、免疫抑制能を比較
 - 5) 分化誘導作用解析：①血管誘導能：HUVEC を用い、matrigel 上で三次元培養し、管腔形成能を比較
②神経細胞：TGW cells を用い、48 時間後神経突起伸長の測定
3. *in vivo* における歯髄再生能の比較：イヌ抜髄根管に、自己歯髄幹細胞と遊走因子を移植し、2 週間後に再生量を比較

【結果】

in vitro における遊走促進作用は、TGW cells 以外の細胞において、G-CSF の方が bFGF に比べて高かった。増殖促進作用はすべての細胞において bFGF の方が高かった。抗アポトーシス作用は G-CSF、bFGF ともに認められた。血管誘導能はほぼ同等であった。TGW cells における神経突起伸長を検討したところ、両者でほとんど差がみられなかった。*in vivo* において、歯髄幹細胞と遊走因子を移植したところ、ともに再生を促進した。

【結論】

これらの結果より、G-CSF と bFGF は、ともに、*in vitro* にて遊走促進、増殖促進、抗アポトーシス、血管誘導促進作用を有し、*in vivo* にて歯髄再生促進作用を有することから、歯髄再生治療法の臨床で用いる遊走因子として有意な差はない可能性が示唆された。

半導体レーザーが歯髄細胞におよぼす影響について

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○吉川一志, 竹内 撰, 田中芳人, 鈴木康一郎, 保尾謙三, 廣田陽平, 魯 灵, 畑下芳史, 三木秀治, 山本一世

Effect of irradiation by GaAlAs diode laser on the survival of dental pulp cell.

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○YOSHIKAWA Kazushi, TAKEUCHI Osamu, TANAKA Yoshihito, SUZUKI Kouichiro, YASUO Kenzo,
HIROTA Yohei, Lu Ling, HATASHITA Yoshihumi, MIKI Hideji, YAMAMOTO Kazuyo

【研究目的】

歯科における低出力レーザーの応用は、抜歯後の疼痛抑制や象牙質知覚過敏症の処置などを適応症として発展してきた。その中で象牙質知覚過敏症の処置については GaAlAs 半導体レーザーなどを用いた多くの臨床報告がある。しかし近年高出力レーザーが数多く市販され、照射エネルギーが適度な場合はレーザーが歯髄の活性化や疼痛緩和効果などを与えることができるが、過度のエネルギーを与えてしまうと不可逆的な変化、すなわち歯髄壊死をおこしてしまう可能性があると考えられる。今回、我々は GaAlAs 半導体レーザーのエネルギーを高出力にした場合の歯髄細胞に与える影響について検討した。

【材料および方法】

歯科矯正治療時の便宜抜歯により得たヒト健全抜去歯を分割し、歯髄組織を採取した。採取した歯髄組織片から細胞を剥離回収し、継代培養を行い 3~10 世代をヒト歯髄由来線維芽細胞として実験に使用した。細胞を播種しコンフルエントな状態まで培養し、trypsin-EDTA にて細胞を剥離回収し、各種条件下にてレーザー照射を行った。今回使用したレーザーは半導体レーザー発振装置の P-LASER®(パナソニックヘルスケア社)を実験に供し、レーザーの照射は CW モード、レーザー照射時間は 15, 30 秒, 1, 3, 5 分、照射出力を 0.5, 1, 2, 5, 10W の 25 サンプル、コントロールとして非照射群の計 26 サンプルとした。レーザー照射後、細胞を播種、培養し、72 時間までの細胞増殖を観察した。

【成績】

コントロールに対し 0.5, 1, 2, 5W レーザー照射群では各照射時間において細胞増殖への影響は認められず、コントロール、照射各群とも 48 時間培養でサブコンフルエントな状態になり、72 時間培養でコンフルエントな状態となった。一方、10W レーザー照射群では、照射時間 1 分までは細胞増殖に影響は認められず、コントロール同様に 48 時間培養でサブコンフルエントな状態になり、72 時間培養でコンフルエントな状態となった。しかし照射時間 3 分で細胞の死滅による細胞数の減少が認められ、照射後 24, 48 時間では細胞数は減少し、72 時間後にサブコンフルエントな状態となった。また照射時間 5 分ですべての歯髄細胞がレーザー照射により死滅し、照射後 24, 48, 72 時間後における顕微鏡下での観察で細胞の確認はできなかった。

【考察】

10W・3 分照射において死滅による細胞数の減少がみとめられ、24, 48 時間培養ではプレート上の細胞数は少なかった。しかし 72 時間培養ではサブコンフルエントな状態まで細胞が増殖していることから、生存した細胞における細胞増殖能に半導体レーザーによる影響は認められなかったと考えられる。10W・5 分照射群では細胞播種直後よりプレート表面に細胞接着が認められず、すべての細胞が高出力、長時間の照射により死滅したと考えられる。低出力半導体レーザーにおいては照射時間の限度を 180 秒とするなどの原則を守って使用すれば危険はないと報告されている。しかし 0.5~10W の高出力半導体レーザーについては今後、歯表面の温度上昇や歯髄に対する熱障害の危険についても検討すべきであると考えられる。

【結論】

今回の実験結果から高出力の GaAlAs 半導体レーザーを歯髄細胞に照射した場合、以下の結論を得た。

1. 歯髄細胞に照射した場合、10W 1 分では細胞増殖に影響は認められず、10W 3 分以上で細胞増殖の減少もしくは細胞の死滅が認められた。

以上のことから象牙質知覚過敏症の治療に高出力の GaAlAs 半導体レーザーを照射する場合、適正な照射出力、時間で照射する必要があることが判明した。

歯髄幹細胞がもたらす末梢神経麻痺細胞治療の新たな可能性

- 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

○山本 翼^{1,2)}、大迫洋平¹⁾、村上真史¹⁾、堀部宏茂^{1,2)}、林 勇輝^{1,3)}、庵原耕一郎¹⁾、栗田賢一²⁾、中島美砂子¹⁾

Effect of dental pulp stem cells for the peripheral nerve paralysis

- 1) Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute
2) Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
3) Department of Pediatric Dentistry, Aichi Gakuin University
○Tsubasa Yamamoto^{1,2)}, Yohei Osako¹⁾, Masashi Murakami¹⁾, Hiroshi Horibe^{1,2)}, Yuki Hayashi^{1,3)}, Koichiro Iohara¹⁾, Kenichi Kurita²⁾, Misako Nakashima¹⁾

【目的】

現在、末梢神経完全麻痺に対する外科的標準治療としては、神経自家移植術が主流である。しかしながら、神経採取の代償として神経移植片採取部位の神経障害を伴うため、神経自家移植術に代わる新たな末梢神経麻痺治療法の開発が期待されている。その中で、ラット坐骨神経麻痺モデルに骨髄、羊膜あるいは脂肪由来幹細胞などを同種移植すると、形態学的解析により神経線維の密度・直径、髄鞘の厚みなどが回復し、機能的解析（筋肉湿重量比）により3ヶ月で約60%の回復がみられることが知られている。そこで私どもの研究室では、歯髄幹細胞が骨髄、脂肪幹細胞に比べて高い神経・血管誘導能を有する（第136回日本歯科保存学会発表）ことに着目し、ラット坐骨神経麻痺治療における歯髄幹細胞の有用性を検討した。

【方法】

1. ヒト歯髄幹細胞の分取：ヒト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. 坐骨神経麻痺モデルの作製：10週齢Fischer 344ラットの左坐骨神経に5.0 mmの実質欠損を作製した。
3. 歯髄幹細胞の移植：内径1.3 mm、9.0 mm長の人工神経で2の欠損部を再建し、3群に分けた。
A群：ヒト歯髄幹細胞 3.0×10^5 cellsをDil染色後、希釈したコラーゲンに混ぜ、人工神経内に注入
B群：コラーゲンのみを人工神経内に注入
C群：自家移植（180°反転法）
いずれの群も移植前日より3週間、免疫抑制剤（0.05 mg/kg/day）を腹腔内投与した。
4. 形態学的解析：6週後、移植片を摘出して横断パラフィン切片（2 μm）を作製し、軸索をneurofilament抗体、髄鞘をmyelin basic protein抗体あるいはルクソール・ファースト青染色液を用いて染色し、神経線維の密度・直径、髄鞘の厚みなどから再生神経の比較検討を行った。また、凍結切片を作製し、シュワン細胞をGFAP抗体あるいはS-100抗体にて染色し、移植細胞との局在性を検討した。さらに、移植細胞からのtrophic factorの発現をin situ hybridizationにより検討した。
5. 機能的解析：患側の前頸骨筋の湿重量を対側と比較し、神経が支配する筋肉の萎縮の回復を検討した。

【結果】

A群では人工神経内で軸索再生が認められ、神経線維の密度・直径、髄鞘の厚みにおいて、C群とほぼ同様の神経再生が確認された。A群の人工神経内に局在する移植細胞は直接シュワン細胞に分化するのではなく、trophic effectであることが示唆された。A群とC群は、B群と比較して、筋肉湿重量比が有意に高く、A群とC群のほぼ同様の機能回復が示唆された。

【結論】

坐骨神経麻痺の細胞治療において、歯髄幹細胞は有用な細胞源である可能性が示唆された。

抜髄後疼痛を通じて、鎮痛薬による効果的な歯痛管理を考える

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座
○内田祐理、長谷川誠実、本田公亮

**Building effective strategies for the toothache management,
in two cases of postoperative pain after pulpectomy**
Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo college of medicine
OUCHIDA Yuri, HASEGAWA Makoto, HONDA Kousuke

【緒言】

2011年度版『The Merck Manual of Medical Information』に記載されている『It is common misconception that all NSAIDs are therapeutically equally efficacious』の一文は、まさに現在の歯内療法領域における鎮痛薬の問題点を考える上で、けだし至言と言わざるを得ない。一般的に、鎮痛薬は、使用経験と新薬の評価を総合して使用されているにすぎず、すなわち結果から鎮痛薬の使用適応を個々人のレベルで分類されているのが現状であろう。われわれは、歯痛の特性にあった鎮痛薬の使用適応分類の完成を計画している。そこで今回、それぞれ象徴的な転帰をとった抜髄後疼痛に関する2症例を通じて、歯痛の特性を考えた鎮痛薬処方および使用方法に関して考察したので報告する。

【症例】

症例1. 鎮痛薬を使用しなかった症例。

患者：40歳、女性。主訴：左側上顎犬歯の接触痛。

治療経過：抜髄処置を受ける2ヶ月前から、左側上顎犬歯に温水痛および冷水痛を認め、近医歯科において象牙質知覚過敏症の診断のもと知覚過敏処置を受けていたが、徐々に歯痛は明確なものになった。強い自発痛を生じたところで同歯科にて抜髄処置を受けた。しかし、一旦自発痛は軽減したものの、軽度の自発痛と強い接触痛を認めるようになった。抜髄後1年を経過した現在においても、同部位には日常生活に支障を来すほどの接触痛が認められる。

症例2. 鎮痛薬を使用した症例。

患者：47歳、女性。主訴：左側下顎第一大臼歯の自発痛。

治療経過：左側下顎第一大臼歯に冷水痛を自覚し、近医歯科受診し、2度の齶蝕をみとめるとのことでコンポジットレジンによる修復処置を受けた。その直後から強い自発痛と顔面痛を生じ、同側下顔面の腫脹を来した。当該歯科において抜髄処置に取り掛かるが、麻酔は奏効せず、局所麻酔下でも歯に触れることも出来ず、急遽当科紹介となった。当科では、2%キシロカインによる伝達麻酔とジクロフェナク座薬50mgにより疼痛閾値を上げておき、顔面腫脹はRegional sympathetic dystrophyとして、即座に星状神経節ブロックと下行性疼痛抑制薬処方を行った。激痛が軽快し、歯痛のみとなったところで、アセトアミノフェン500mg頓用処方し、服用時の効果を確認の後、800mg分2の5日間処方を行い、その間に抜髄処置を終了した。抜髄後翌日に軽度自発痛と打診痛を認めたことから、ロキソプロフェン180mg分3で3日分処方し、歯痛は完全に消失した。

【考察】

抜髄処置は、処置そのものが歯痛に対する最終的な除痛であるかのような誤った前提があり、抜髄時の鎮痛薬使用のガイドラインなどは全く考えられていない。しかし、抜髄後疼痛は、実際の臨床現場において決して少なくはなく、また抜髄後疼痛の原因は多岐にわたる。抜髄後疼痛は、慢性の顔面痛に匹敵するほどの歯痛に関する数多くの示唆に富んでいる疾患であるにもかかわらず、慢性痛の概念として論じられることはなかった。抜髄後疼痛の原因は、術前の歯髄痛の診断に始まり、患者の痛みに対する反応の要素、さらに術後疼痛の原因となる感作の要素もあり、この時点で抜髄後疼痛の予防治療の重要な問題が存在する。次に、術中にも痛みの感作の可能性は存在し、これも処置後の痛みの遷延化に関与する。そして、術直後からは炎症性の痛みが関与することになる。炎症性疼痛に関係する酵素も、その時期により異なり、また抜髄後疼痛が遷延化するとまた疼痛原因の要素も変化してくる。鎮痛薬には、それぞれの作用特性があり、その特性と、除痛を果たす上で現段階で最も重要な痛みの要素が何であるかを考えて鎮痛薬の処方を検討することが肝要である。さらに、中枢作用を有するアセトアミノフェンの使用のタイミングとNSAIDsとの併用方法を考えることで、抜髄後疼痛の抑制に効率的なバリエーションを与え得るものと考えている。

生活歯に生じた亀裂・破折に関する調査

¹九州歯科大学齶蝕歯髓疾患制御学分野

²九州歯科大学医療総合診療学分野

○市丸美希¹、永吉雅人¹、鷲尾絢子¹、平田-土屋志津¹、西野宇信¹、寺下正道²、北村知昭¹

A Survey about Cracks and Fractures of Vital Teeth.

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

○ICHIMARU Miki¹, NAGAYOSHI Masato¹, WASHIO Ayako¹, HIRATA-TSUCHIYA Shidu¹, NISHINO Takano¹

TERASHITA Masamichi², KITAMURA Chiaki¹

【研究目的】

近年、生活歯の亀裂・破折が注目されているが、発症要因は十分に解明されていない。一方、歯の保存的治療に対する患者の要望は増加しており、歯根に至る垂直破折であっても可及的に保存的治療を試みる機会が増加している。しかしながら、生活歯破折の発症要因を解明しなければ、エビデンスに基づいた亀裂・破折歯の保存治療とは言えない。今回、生活歯に亀裂・破折を起こす誘発因子・口腔内環境を明らかにし、エビデンスに基づいた亀裂歯および破折歯の治療法を確立するための基礎データを得るため、本学附属病院で対処した生活歯の亀裂・破折についての調査を行った。

【調査方法】

2009年4月から2012年3月までの3年間に本学附属病院保存治療科・総合診療科を受診した患者の中で、臨床経験5年以上の歯科医師(6名)によって生活歯および歯内治療の既往がない失活歯(未歯内治療失活歯)の亀裂・破折と診断された患者32名(39歯)を対象とした。歯種別の発症頻度、亀裂・破折の様相、歯髓・根尖性歯周組織疾患としての診断名、および患者要因(性差、年齢、残存歯数、およびDMFT指数)について調査・分析を行った。

【結果】

<生活歯破折の頻度ならびに破折様相>

歯種別の発症頻度では、上顎第一大臼歯および下顎第一大臼歯に亀裂・破折が最も多く生じていた。破折の種類は、亀裂:30.8%、歯冠破折:43.6%、歯冠-歯根破折:25.6%であり、咬合面に生じた近遠心方向の亀裂・破折が66.7%と最も多かった。診断名は、未歯内治療失活歯で歯髓壊死もしくは根尖性歯周炎と診断されたものが多かった。処置法は、保存処置が行われた症例は全体の87.2%(感染根管処置:33.3%、CR修復:30.8%、抜髄:23.1%)であり、拔牙などの外科的処置は12.8%であった。また、患歯の56.4%が未修復歯であった。

<患者の要因>

年齢構成は40代が28.2%と最多で、男女比=1:1であり性差は認められなかった。患者の平均残存歯数は27.8本と非常に多く、DMFT指数は6.8であった。

【考察】

男女の平均咬合力は男性:448N、女性:357Nと言われている。今回の調査では生活歯の亀裂・破折の発症に性差は見られず、咬合力と亀裂・破折の発生とは関連していないと言える。また、本調査における患者(平均年齢55.2歳)のDMFT指数が6.8と非常に小さいことから、有髓歯の亀裂・破折には咬合や修復の既往だけでなくその他の様々な要因が関係していることが予測される。さらに今回の対象の87.2%において保存治療が行われていた要因として歯科用マイクロクロスコープによる診断・治療精度の向上が考えられる。

【結論】

今回の調査結果より、亀裂・破折が生じた生活歯の歯種や患者要因に特徴があることが明らかとなった。

根管内視鏡のナビゲーションシステムにおける精度向上に関する研究

^a鶴見大学歯学部歯内療法学講座, ^b同保存修復学講座, ^c同クラウンブリッジ補綴学講座
○山崎泰志^a, 山本雄嗣^b, 井川知子^c, 重田優子^c, 小川 匠^c, 桃井保子^b, 細矢哲康^a

Improve the accuracy of dental fiberscope navigation system for endodontic treatments

^aDepartment of Endodontology, ^bDepartment of Operative Dentistry, ^cDepartment of Fixed Prosthodontics,
Tsurumi University School of Dental Medicine

○YAMAZAKI Yasushi^a, YAMAMOTO Takatsugu^b, IKAWA Tomoko^c, SHIGETA Yuko^c,
OGAWA Takumi^c, MOMOI Yasuko^b, HOSOYA Noriyasu^a

《緒言》

歯内治療において拡大視野あるいは明視下で診査および処置を行うために、マイクロスコープや歯科用ファイバースコープ(以下歯科用FS)が応用され、難治症例では必要不可欠となっている。とくに、歯科用FSの多目的チャンネルは洗浄、特製器具挿入およびレーザー照射等を可能とし、観察画面上で患部への到達を確認しながらの器具操作が可能であり、処置の確実性を向上できる。しかし、歯科用FSは距離感がつかみ難く、病変部との位置関係が把握しにくい。そこで歯科用FS先端の位置と歯の位置関係がリアルタイムにモニター上に表現され、両者の位置関係が容易に把握できる歯科用FSの根管内視鏡ナビゲーションシステムの開発を行った1)。根管内視鏡ナビゲーションシステムを臨床に応用するには医科用ナビゲーションシステムに優る精度が求められる。ナビゲーションシステムに影響を及ぼす因子としては3次元再構築画像のセグメンテーション誤差、位置情報統合誤差、位置センサー誤差、マーカーのずれ、内視鏡画像の歪みなどが考えられ、すでに内視鏡画像の歪みに対しては画像補正ソフトを製作し補正操作を加えた2)。

本研究では、位置情報統合誤差、位置センサー誤差、マーカーのずれの因子を含むナビゲーションシステムの総合精度に関して検証を加えたので報告する。

《材料と方法》

方法は、既知の移動を行う三軸テーブルをコントロールとしモニター上のファイバースコープVRモデルとの比較を行うことで総合精度の検証とした。まず、ナビゲーションシステムの設定を行い、3軸テーブルのVRモデルを作成、基準プレートと可動するスタイラスのそれぞれに位置測定マーカーを設置後、VRモデルと実際のプレートおよびスタイラスの位置情報を統合した。コントロールは原点からの3軸テーブル上の3×3×3mmの格子点とし運動経過を記録した。実際にナビゲーションしたスタイラス先端の位置とコントロールの格子点を比較し誤差を算出した。測定ごとに位置情報の統合を行い、7回の平均を代表値とした。

《結果および考察》

誤差は0.480mm±0.086mm(X方向:0.051mm±0.229mm, Y方向:0.088mm±0.202mm, Z方向:0.254mm±0.260mm)であった。本研究においては、VRモデルを統一しナビゲーション画像を使用していないことから、主にシステムにおける位置情報統合誤差、位置センサー誤差、マーカーのずれなどの要因による誤差であると考えられる。位置センサー誤差は、3軸テーブルの各軸の繰り返し精度が0.020mm±0.002mm、ナビゲーションシステムを構成する位置測定装置の最大誤差がXY軸で0.10mm, Z軸で0.15mmであることを考慮すると、実際の位置情報統合誤差ならびにマーカーのずれによるシステム誤差は、結果より小さいと思われる。

《結論》

本ナビゲーションシステムの総合精度の検証を行った結果、臨床応用可能であることが示唆された。今後、セグメンテーション誤差についても検討を行い、これらの誤差を補正することでより精度の高いシステムを構築できると思われる。

- [1]Y. Yamazaki, T. Ozawa, T. Ogawa, Y. Shigeta, T. Ikawa, S. Fukushima, T. Arai, A. Mishima, K. Kobayashi, Y. Otake, A. Hattori, N. Suzuki.: Dental fiberscope with navigation system for endodontic treatments, *Studies In Health Technology and Informatics* **132** (2008), 562-4.
[2]Y. Yamazaki, T. Ogawa*, Y. Shigeta*, T. Ikawa*, S. Kasama*, T. Ozawa, T. Arai. : Improvement of dental fiberscope navigation system for endodontic treatments, 8th World Endodontic Congress – IFEA, Athens Hilton Hotel, Athens-Greece, 08.October 2010.

歯根尖切除術後の骨創腔の治癒における吸収性膜の影響

東京歯科大学歯科保存学講座

○牛窪敏博、末原正崇、湯浅一洋、渡邊浩章、藤井理絵、森永一喜

Healing of surgical bone defect in Monkeys after apicoectomy with bioresorbable membranes

○USHIKUBO Toshihiro, SUEHARA Masataka, YUASA Kazuhiro, WATANABE Hiroaki, FUJII Rie, MORINAGA Kazuki

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

【研究目的】

根尖性歯周炎の外科的処置では、病態の摘出に伴って当該部に形成される骨創腔は、根尖部周囲の治癒と相俟ってその治癒を左右する。近年歯周外科の分野において遮断膜の応用が積極的におこなわれている。この方法は、歯根膜組織を根面に選択的に誘導することにより、歯周組織と歯との結合組織性付着の獲得を目的とするものである。

本研究の目的は、猿の歯根尖切除術後の骨創腔に吸収性膜の Resolute を用いた時の治癒を検索することである。

【材料および方法】

被験例としては体重 7～13 kg の健康なニホンザル 6 頭から得られた上顎左右側切歯、計 12 本を採用した。実験期間は、4、8、16 週間とし、片側 (6 本) を実験群 (mem 群) とし吸収性 GTR 膜ゴアテックス社製 Resolute を用い、残りの片側 (6 本) を対照群 (cont 群) とした。なお実験の遂行にあたっては東京歯科大学動物実験指針に従って実施した。

全ての被験歯に対し髓室開拓を行った後、根尖部病変を成立させるため通法に従い抜髄を行い、根管を 8 週間開放状態においた。根尖病巣の成立後、局所麻酔下に粘膜骨膜弁の剥離回転を行い、外径 7.0mm のトレフィンバー (京セラ) を用い滅菌生理食塩液注下しながら皮質骨の削去と同時に歯根端部を切除し、骨創腔の形成を行った。そして通法に従い側方加圧根管充填を行い、歯根切断端部に対し超音波チップを用いて深さ約 3mm の逆根管充填窩洞を形成し、ベースライナー (ニッシン) にて逆根管充填を施し、切断面をスーパーファインカットバー (松風) で研磨した。そして mem 群では、骨創腔の直径よりやや大きめにトリミングした Resolute 膜を応用し粘膜骨膜弁を旧位に復し縫合した。また cont 群は、骨創腔に対し膜を応用せず、粘膜骨膜弁を旧位に復し縫合した。

4、8 ならびに 16 週間の各期間経過後、通法に従いシオジリン包埋切片を作製し、ヘマトキシリンエオジン複染色を施し、光学顕微鏡下に病理組織学的検索を行った。また、mem 群 6 例、cont 群 6 例からそれぞれ 2 枚の標本を抽出し、同倍率にて撮影後骨創腔相当部に形成された新生骨の面積を算出した。面積の測定には Scion image を用い、density slice にて領域選択を行い、各骨梁の写真上におけるピクセル数を計測し合算した。計測値の統計処理には Mann-Whitney の U 検定を用いた。

【成績】

コントロール群：術後 4 週間経過例では、肉芽組織の形成と歯槽骨に接した新生骨の形成が観察された。術後 8 週間経過例では、手術による骨創腔はほとんど新生骨組織に置換されていた。16 週間経過例では、骨創腔は新生骨で置換されていた。しかし、置換された骨表面は陥凹していた。

実験群：術後 4 週間経過例では、歯槽骨に接した新生骨の形成と膜に接して異物巨細胞が観察された。術後 8 週間経過例では、骨創腔は新生骨組織に置換されており、膜の吸収が開始されているのが観察された。16 週間経過例では、膜組織に接した新生骨の形成と膜構造の消失が観察された。

創腔内の新生骨量：期間の延長とともに、骨量は増加する傾向を示し創腔内が新生骨によって補填修復される傾向が認められた。対照群と膜応用群とを比較した場合、術後 4 週間経過例にのみ統計的な有意差が認められたが、以降の群では差異が認められなかった。(p<0.05)

【結論】

今回の実験期間および骨創腔の大きさでは、対照と比較して吸収性膜応用の効果を明確に確認することが出来なかった。しかしながら、応用された膜は該部の治癒を阻害するものではなく、創腔内における新生骨の形成による修復が認められた。

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2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 CT Device, Part 2

Department of Endodontics, 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、歯根が強度に扁平しており、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 6mm 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、根管形態の分析を行った。

三次元構築した全体像を基に、近遠心面観と唇舌側面観の断面像を作成し、切端中央 (Ie) から歯髄中心部を通り根尖孔開口部 (Af) までの長さ (IeAf-L) を計測した。第 136 回春季学術大会にて報告した Weine の分類Ⅱ型とⅢ型に分類された 6 歯は、歯冠側の根管分岐点 (Cs) と Af の距離 (CsAf-L)、および根尖側の根管分岐点 (As) と Af の距離 (AsAf-L) を求めた。Af から髓角部まで 1mm 毎に根管断面像を作成し、1 型: 狭窄の認められないもの、2 型: 狭窄が近心壁か遠心壁の一方に認められるもの、3 型: 狭窄が近遠心壁の両方に認められるもの、4 型: 分離した根管間にフィンが認められるもの、5 型: 根管が完全に分離しているもの、の 5 種に分類した。また、三次元構築した根尖部の断層像から、X 線の根尖と根尖孔開口位置の偏位 (尖端、唇舌側、近遠心側) と距離を求めた。根尖分岐のあった 11 歯は根尖分岐点と X 線の根尖の距離を近遠心面観および唇舌側面観の断面で計測した。

【結果とまとめ】

IeAf-L の平均は近遠心面観では 19.25 mm、唇舌側面観では 19.05 mm であった。Weine の分類Ⅱ型を示した 5 歯の CsAf-L の平均は 8.27mm、AsAf-L の平均は 5.67 mm であった。また、Weine の分類Ⅲ型を示した歯の主根管では、CsAf-L の平均は 9.56 mm であった。根管の狭窄の分類結果は表 1 に示す。根尖孔開口部の偏位の平均は唇側方向に 0.34 mm、近遠心方向に 0.18 mm の偏位を認めた。根尖分岐点と X 線の根尖の距離の平均は近遠心面観では 1.03 mm、唇舌側面観では 1.01 mm であった。

本研究により下顎切歯根管形態の複雑さがうかがわれたが、今後さらに詳細な分析を行う予定である。

表 1 根管の狭窄の分類 (単位: %)

	根尖孔 開口部	→ 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17 (mm)	計
1型	96	94	96	92	88	76	62	70	76	86	88	93	87	98	97	100	92	100	87
2型	0	4	2	4	4	14	16	8	10	8	6	2	4	2	3	0	8	0	6
3型	2	0	0	0	4	6	14	12	6	4	4	4	9	0	0	0	0	0	4
4型	0	0	0	0	0	0	4	2	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1
5型	2	2	2	4	4	4	4	8	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3

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4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, Part4

Department of Endodontics, 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、根管の扁平度や根尖部の形態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、解剖学的根尖孔、歯髓腔上端、及び歯冠切縁のそれぞれの位置関係について分析を行った。

【材料および方法】

実験には、第1報から第3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、日鉄エレックス) を用い、管電圧80kV、管電流60 μ A、スライス厚56 μ mの条件で根尖から歯冠部まで連続的に断層撮影を行った。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、解剖学的根尖孔から歯髓腔上端、歯冠切縁から歯髓腔上端までの距離と、歯冠舌側面から歯髓腔までの距離を測定した。

1. 解剖学的根尖孔から歯髓腔上端までの距離については、まず歯軸が垂直になるよう角度を調節し、最初に根管の四方を歯質に囲まれた部位を解剖学的根尖孔 (Af) とした。根尖で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。次に、Afから根管の走行に沿って歯髓腔の上端 (Pc) までの長さ (AfPc-L) を測定した。その際、歯髓腔が近遠心的に幅のある場合は、近遠心径の中央までをPcとして計測を行った。

さらに、歯冠を近遠心的に2等分する断面を作製し、Pcから、根管の走行の延長線が歯冠と交わる点 (Ie1) までの距離 (Ie1Pc-L) を計測した。同様に、歯冠を近遠心的に2等分する断面上で、Pcから歯冠の切縁 (Ie2) までの距離 (Ie2Pc-L) を測定した。

2. 歯冠舌側面から歯髓腔までの距離については、歯冠を近遠心的に2等分する断面を作製し、歯冠の舌側面中央 (Ls) からPcまでの距離 (LsPc-L) を測定した。さらに、歯冠舌側面から歯髓腔までの最短距離を求めた。

【結果とまとめ】

1. 作業長

AfPc-Lの平均は17.1mm、最大値は20.2mm、最小値は12.9mmだった。Ie1Pc-Lは、平均で4.9mm、最大値は7.8mm、最小値は3.6mm、Ie2Pc-Lの平均は5.3mm、最大値は8.0mm、最小値は3.8mmとなった。

立体構築した画像を基にした作業長の測定では、デンタルX線写真と比較して、近遠心的な湾曲だけでなく頬舌的な湾曲も考慮しながらの計測が可能であった。また、デンタルX線写真のように照射角度による画像の歪みが少ないため、ファイルの挿入前に、より正確に根管長を測定することが可能と思われた。

2. 歯冠表面から歯髓腔までの距離

LsPc-Lの平均は2.0mm、最大値は4.0mm、最小値は1.2mmだった。また、歯冠舌側面から歯髓腔までの最短距離は平均で1.7mm、最大値3.3mm、最小値1.1mmとなった。

上顎側切歯にみられた歯内歯の治療評価における歯科用 CT 画像検査の有用性

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岡山大学病院 歯周科, ³岡山大学病院 総合歯科,
⁴岩手医科大学歯学部 歯内療法学分野

○大森一弘¹, 清水明美², 峯柴淳二², 河野隆幸³, 成石浩司⁴, 前田博史¹, 高柴正悟¹

Endodontic treatment of a dens in dente (Oehlers type 3) using Cone-Beam Computed Tomography (CBCT) -A Case Report-

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

² Department of Periodontics and Endodontics, ³ Comprehensive Dentistry, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

⁴ Department of Conservative Dentistry and Oral Rehabilitation, Division of Endodontology, Iwate Medical University, Iwate, Japan

○OMORI Kazuhiro¹, SHIMIZU Akemi², MINESHIBA Junji², KONO Takayuki³, NARUIISHI Koji⁴,
MAEDA Hiroshi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【緒言】

歯内治療が必要な歯の根管や根尖部の形態を把握するために、歯科用デンタルエックス線画像検査が一般的に用いられる。しかし、楯状根や歯内歯といった解剖学的に特殊な根形態を有する場合、その根管構造を3次的に把握することは臨床経験豊かな歯科医師にとっても困難な場合が多い。今回、上顎側切歯にみられた歯内歯 (Oehlers の分類, Type 3) の慢性根尖性歯周炎の歯内治療を実施するにあたり、歯科用 CT (CBCT: Veraviewepocs3D, モリタ社) 画像検査を併用し、良好な経過を得ている症例について報告する。

【症例】

<患者背景>

患者は37歳、男性。平成22年10月、22根尖相当部歯肉に形成された瘻孔に気づき、かかりつけの歯科医院を受診した。同院にて、22慢性根尖性歯周炎の診断のもと感染根管治療を受けた。しかし、特殊な根形態を呈しており、排膿がとまらなかったため、岡山大学病院歯周科を紹介され、精査・加療を希望し来院した。また、患者への問診から約15年前に、某医科大学附属病院口腔外科において同部位の歯根端切除術および逆根管充填処置を受けた既往があった。全身疾患等の既往はない。

<初診時各種検査所見>

口腔外所見: 特記事項なし

歯内所見: 22根尖相当部歯肉に瘻孔の形成を確認した。根管内に、根管充填材が除去された主根管および根管充填材が残存する陥入根管の二つの根管口が存在を確認した。主根管の根管内からは排膿がみられたが、打診時違和感等の臨床症状はなかった。

デンタルエックス線画像検査所見: 22は、主根管と主根管の近心側に位置する陥入根管からなる2根管口2根尖孔を有していた。また、両根尖部を中心に拇指頭大の類円形のエックス線透過像の充進がみられた。

CBCT 画像検査所見: 前頭断面画像から、主根管と陥入根管の間には内腔の形成がみられた。矢状断面画像から、主根管根尖部に複雑な根尖分岐の存在と両根尖部を中心とした骨吸収の存在を確認した。また、陥入根管根尖部には、逆根管充填処置の形跡がみられた。水平断面画像から、陥入は口蓋側近心部に存在し、根中央部から根尖に及んでいた。さらに骨吸収は陥入部に一致して存在し、根尖相当部において根近心から唇側に開窓していた。

<診断>

22歯内歯 (Oehlers の分類, Type 3) および慢性根尖性歯周炎

<治療計画>

根管内からの感染根管治療後、主根管と陥入根管根尖部の歯根端切除術 (逆根管充填の併用)

<治療経過>

はじめに根管内から感染根管治療を行い、根管内の可及的感染源除去を試みた。感染根管治療開始2ヵ月後、主根管および陥入根管からの滲出液が消失したため、ガッターパチャーポイントと根管充填用シーラー (キャナルス N; 昭和薬品化工) を用いて側方加圧による根管充填処置を行った。しかし、瘻孔は消失せず、根管充填後のCBCT画像検査において、主根管の複雑な分岐は根管充填できていなかったため、残存する感染源除去を目的に予定通り歯内外科治療へと移行した。切開は22唇側の歯肉退縮を避けるため、辺縁歯肉から5mm切開線を離れたWassumund法を用いて粘膜骨膜弁を作製し、骨開窓部から根尖部を露出した。不良肉芽組織を除去したのち、主根管および副根管の根尖部を切除後、光重合型ガラスイオノマーセメント (Fuji Ionomer Type II LC; GC社) を用いて逆根管充填を行った。術後1年半のCBCT画像検査において、根尖部の歯槽骨再生を確認した。

【考察】

本症例では、CBCT画像検査を用いることによって、1) Type 3の歯内歯であること、2) 主根管および陥入根管の両方が骨吸収の原因であるため、両根管の根尖部を切除する必要があること、3) 根尖部の正確な位置や根切除範囲を決定すること、を術前に評価することができた。また、術前の患者説明においても3次元構築された根管画像を提示することによって、歯内外科処置への導入がスムーズに行えた。根管形態を3次的に把握できるCBCT画像検査は非常に便利ではあるが、CBCT撮影時における被曝量と対象歯の歯内治療における難易度の相反を考慮する必要がある。以上のことから、歯内歯のような特殊な根管形態を有する歯の歯内治療を行う際に、CBCTを用いた画像検査を行うことによって、より正確な診断と術式の選択が可能になると考える。

3 根管を有する下顎小白歯の歯内治療

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

○橋島弓子¹, 小谷依子¹, 小林健二¹, 中村裕子¹, 高橋哲哉¹, 井出祐樹¹, 武田典子¹, 申 基詰^{1,2}

Root Canal Treatment of Three Root Canals in Mandibular premolar

¹Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences,

²Division of Periodontology, Department of Oral Biology and Tissue Engineering,

Meikai University School of Dentistry

○HASHIJIMA Yumiko¹, KOTANI Yoriko¹, KOBAYASHI Kenji¹, NAKAMURA Yuko¹,
TAKAHASHI Tetsuya¹, IDE Yuki¹, TAKEDA Noriko¹, and SHIN Kitetsu^{1,2}

【緒言】 瘻孔の消失は根管充填の時期を決定する一つの要素である。しかし日常の診療において、根管治療を行っても、なかなか瘻孔が消失しない症例に遭遇する。その原因として、異所性のものや、歯根の破折、根管内の無菌化がはかられていないことなどが挙げられる。ガッタパーチャポイントを瘻孔から挿入してエックス線写真撮影をし原因を探る方法により、未処置の根管の存在を疑うこともある。下顎小白歯の多くは単根管であるが、複根管を有することもあり、臨床でも見逃す場合がある。そのためには、エックス線写真やCT画像による正確な診断、手術用実体顕微鏡下での根管治療が重要になってくる。今回、難治性であった下顎小白歯の根管治療において、3根管が確認され、すべての根管に適切に根管治療を施した結果、治癒した症例を経験したので報告する。なお、今回の症例報告にあたり、患者への説明は十分に行い、同意を得ている。

【症例】 患者は56歳の男性。下顎右側第一小白歯の歯内-歯周病変の治療において、本学研修センターで歯内治療処置を開始した。しかし、根管治療を繰り返すも根尖までのファイルの到達ができず、また瘻孔が消失しないため、歯内療法科に対診となった。歯内療法科初診時には、自発痛などの症状はなかったが、遠心部歯肉に瘻孔を認めた。エックス線写真では、垂直性の骨吸収と小豆大の根尖透過像、そして根管の分岐を疑わせる所見が確認された。低位分岐の2根管を疑い、手術用実体顕微鏡を用いて精査を行ったところ、頬側根管と舌側根管の2根管を確認し、根管治療を行った。瘻孔の消失を確認したため、通常通りに側方加圧根管充填を行った。しかし、2か月後の経過観察時に瘻孔が再発したため、瘻孔よりガッタパーチャポイントを挿入してエックス線写真撮影を行ったところ、根尖の遠心部が原因と判明し、再根管治療を行うこととした。未処置の根管の存在を疑い、再度、手術用実体顕微鏡により精査したところ、遠心頬側に未処置根管が確認された。未処置根管の根管治療後、瘻孔の消失を確認し、側方加圧根管充填を行った。現在、経過観察中であるが、経過は良好である。

【考察】 通常、下顎小白歯は単根管として根管治療が行われるが、下顎第一小白歯の22~26%に複根管の存在が認められ、さらに0.4%に3根管が認められるという報告¹⁾がある。しかし、エックス線写真では、頬舌方向からの撮影になるため、頬舌側根管が重なり単根管のように見えることが多く、複根管の存在を見逃す原因となっている。また、下顎小白歯の根管の分岐は低位分岐のことが多いことも、その原因の一つになると思われる。低位分岐根管は、肉眼で根管口を確認することがきわめて難しい。根管上部の切削が十分でない場合、根管へのアクセスが困難となり、根管を見逃して未処置根管としてしまうことも考えられる。今回の症例では、エックス線写真から複根管の可能性を疑い、手術用実体顕微鏡を用いて、慎重にアクセスを確保し、根管探索を行ったところ、2根管はすぐに発見され、根管治療を行った。しかし、瘻孔が再発したために根管造影してエックス線写真を精査したところ、主根管の遠心に根管様の不透過像を認めたため、3根管性の可能性を考慮した。手術用実体顕微鏡下で再度精査を行い、未処置であった3根管目を確認した。手術用実体顕微鏡は、光量も豊富で、視野を拡大できることから、歯内療法の分野では現在必須のものとなっている。今回も、未処置根管の探索において非常に有効であった。

【結論】 今回の症例は、難治性だった瘻孔を有する下顎第一小白歯に3根管が認められ、3根管すべてに根管治療を施したところ瘻孔の消失を認め、良好な経過をたどった。瘻孔が消失しない場合、その原因を探るためにもエックス線写真の確実な読影を行うことで解剖学的形態を把握することの重要性が示唆された。また、今回の症例において、手術用実体顕微鏡が有効であった。

【文献】 1) Zillich R, Dowson J : Root canal morphology of mandibular first and second premolars ; Oral Surg Oral Med Oral Pathol 36, 738-744, 2009.

歯科用コーンビーム CT を利用して根管処置を行った 2 症例
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
○吉岡俊彦, 海老原 新, 須田英明

Two cases of root canal treatment using dental cone-beam CT.
Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○YOSHIOKA Toshihiko, EBIHARA Arata, SUDA Hideaki

【緒言】

近年、歯内療法領域における歯科用コーンビーム CT (CBCT) の有用性について多くの報告がなされている。CBCT の高解像度モードでは、歯槽骨のみならず歯根・根管の位置や形態を三次元的に詳細に評価することが可能である。今回、デンタル X 線写真のみでは困難であった骨欠損や歯根形態の把握が、CBCT を利用することで可能となった 2 症例を報告する。

【症例 1】

患者は 58 歳女性。膿の出口があるとの主訴で、東京医科歯科大学歯学部附属病院むし歯外来を受診した。視診にて、仮着中の⑤③②①ブリッジのポンティック部に瘻孔を認めた。デンタル X 線写真では骨欠損の有無、瘻孔の原因の特定ができなかったため、CBCT (Finecube[®], 吉田製作所) による撮像を行った。CBCT にて、上顎右側第二小臼歯の根尖部および近心に骨欠損が確認された。骨欠損部の口蓋側には、X 線不透過性の充進像が認められた。患歯の根管は近心に湾曲しており、レッジ形成があり、根管充填は 2mm 程度不足していた。また、近心の歯根側面には X 線不透過物の添加が認められた。患者に再根管治療が困難であること、根尖孔外の汚染が疑われることを説明し、外科的歯内療法を行うこととなった。歯科用実体顕微鏡 (OPMI[®] pico, Zeiss) 下で、通法通り歯根端切除術を行った。術中、歯根側面にセメント質の添加を認め、その表層を超音波スケーラーにて除去した。瘻孔は 7 日後の抜糸時には消失し、骨欠損も 7 ヶ月後に撮像した CBCT にて改善傾向が認められた。術後 1 年 3 ヶ月経過時における診査では、臨床症状はなく経過良好であった。

【症例 2】

患者は 27 歳女性。むし歯を主訴に、東京医科歯科大学歯学部附属病院むし歯外来を受診した。患歯は上顎右側第三大臼歯であった。患者は同病院の矯正歯科外来にて矯正治療中で、上顎右側第二大臼歯が欠損しており、患歯はマルチブラケット装置による歯牙移動中であった。デンタル X 線写真で、歯髄に近接するカリエス様透過像が認められ、不可逆性歯髄炎と診断されたため、抜髄処置を行うこととした。患歯は、歯科用実体顕微鏡 (同上) 下で頬側根管と口蓋側根管の 2 根管性と判断され、根管形成・洗浄を行った。根管充填前の根管乾燥時に頬側根管根尖 1/3 付近に根管分岐を認めたため、分岐していた根管についても根管形成・洗浄を行った後、continuous wave of condensation 法にて根管充填を施した。根管充填後のデンタル X 線写真で、根管充填がなされている 2 根尖の間にもう 1 根尖が確認され、未処置の根管の存在が強く疑われたため、CBCT 撮像を行った。CBCT 画像にて患歯根尖部に X 線不透過性が充進している像が認められ、未処置の歯根は確認されなかった。また、根尖分岐にまで根管充填がなされていることも確認された。

【考察および結論】

CBCT は、骨欠損形態・歯根形態の把握 (症例 1)、デンタル X 線写真で疑われた未処置根管の有無の確認 (症例 2) に非常に有用であった。症例 1 では、大きな根尖病変が存在していたにもかかわらず、デンタル X 線写真で透過像が確認できなかった。口蓋側の皮質骨の存在、および骨欠損部の口蓋側に骨硬化があったため、X 線透過性が相殺されてしまったものと考えられる。症例 2 では、デンタル X 線写真で未処置根の根尖と思われた像は、骨硬化による偽像であったと考えられる。

デンタル X 線写真では、存在する骨欠損が確認困難な場合や、骨硬化部を根尖と誤認してしまう場合があり、それらは CBCT を用いることで正確な診断が得られると考えられた。ただし、CBCT は 3 次的に歯槽骨や歯の形態を正しく評価でき有用ではあるが、X 線被曝線量を考慮し、撮像のつどに予め利益とリスクを評価しなければならない。

顎下腺腫瘍が疑われた慢性根尖性歯周炎の一症例

日本歯科大学附属病院総合診療科、口腔外科、生命歯学部歯科保存学講座

○北村和夫¹、山崎孝子¹、石井隆資¹、阿川透久¹、清水章矢¹、山添悠貴¹、磯田浩太¹、荘司洋文²、
勝海一郎³

A Case of Chronic Apical Periodontitis Misdiagnosed as a Mandibular Gland Tumor

Division of General Dentistry¹ and Oral Surgery², The Nippon Dental Univ. Hospital, Department of
Endodontics³, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo

○KITAMURA K¹, YAMAZAKI T¹, ISHII T¹, AGAWA Y¹, SHIMIZU F¹, YAMAZOE Y¹, ISODA K¹, SYOUJI H²,
KATSUUMI I³

【はじめに】

顎下腺腫瘍は唾液腺腫瘍の一つで、良性腫瘍、悪性腫瘍のいずれも発生し、まれに良性腫瘍の一部は癌化することが知られている。また、良性腫瘍、悪性腫瘍のいずれも多形腫脹に代表されるようなさまざまな組織像を呈するのが特徴である。今回、顎下腺腫瘍との鑑別診断に苦慮した症例に遭遇したので報告する。

【症例】

患者：52歳男性

主訴：下顎右側顎下部の腫脹

現病歴：数ヶ月前より下顎右側顎下部の腫脹を自覚し、近隣の歯科医院を受診するも完治せず、悪性ではないかと心配になり腫脹の精査加療のため当院口腔外科へ来院した。顎下腺腫瘍の疑いでX線検査、超音波検査、CT検査、MRI検査を行った。超音波画像では炎症による硬結、CT画像では下顎右側第二大臼歯起因の炎症性疾患、MRI画像では唾液腺由来の腫瘍性疾患が疑われた。また、穿刺吸引細胞診検査の結果、好中球が多く観察されたが、腫瘍性の可能性も否定できなかった。歯髄電気診に反応を示したが、デンタルX線検査の結果、下顎右側第二大臼歯の根尖性歯周炎が疑われ、1か月後に総合診療科を受診した。

既往歴：十二指腸潰瘍（25年前）

家族歴：特記事項なし

現症：下顎右側第二大臼歯に自発痛はなく、わずかに打診痛及び咬合痛を認めるが、患歯周囲の歯肉には、発赤腫脹、瘻孔などの異常所見は認められない。右側顎下部に可動性の境界明瞭な類円形の腫瘍を認める。被覆皮膚は正常色で圧痛、炎症所見は認められない。歯髄電気診を行うとわずかに反応を示すが、冷熱診、切削試験では反応は見られない。

診断：下顎右側第二大臼歯の慢性化膿性根尖性歯周炎

【治療及び経過】

下顎右側第二大臼歯の歯髄は壊死していたため通法どおり感染根管治療を行ったところ、打診痛、咬合痛が消失し、顎下リンパ節の腫脹も消失したため、システムBでダウンパック、オブチュラIIでバックパックし根管充填を行った。コンポジットレジンで築造、全部金属冠で修復し3年経過したが、良好に経過している。

【考察】

本症例は、下顎右側第二大臼歯起因の慢性化膿性根尖性歯周炎により右側顎下リンパ節に強度の腫脹が引き起こされた。下顎右側第二大臼歯にはMOメタルインレーが装着されており、生活歯である第一大臼歯への電流の漏洩により歯髄電気診に反応がみられ、下顎右側第二大臼歯は生活歯であるという先入観が強く、顎下腺腫瘍との鑑別が遅れてしまったものと考えられる。

また、検査を依頼する場合、依頼された側是最悪の場合を想定して報告されるため over diagnosis になる傾向がみられる。歯科疾患の診査・診断には、先入観を排除し、歯科医師自身の読影力、診断力を向上させることが重要であることが再認識された。今後、歯内療法との鑑別を要する疾患との関わりについては、慎重に判断を加える必要がある。