

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会  
2013年度春季学術大会（第138回）  
プログラムおよび講演抄録集

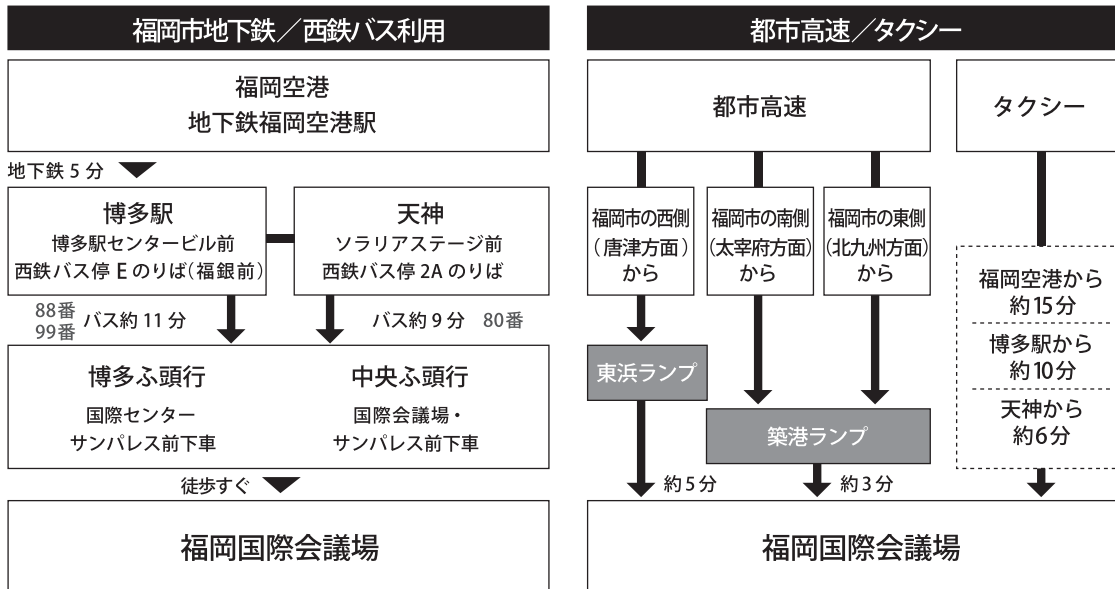
Program and Abstracts, the 138th Meeting  
of the Japanese Society of Conservative Dentistry,  
June 27-28, 2013, Fukuoka

2013年6月27日（木），6月28日（金）  
福岡市 福岡国際会議場



## ■ 会場へのご案内 ■

### 交通のご案内



### 周辺MAP



# 特定非営利活動法人 日本歯科保存学会

2013 年度 春季学術大会 (第 138 回)

## プログラムおよび講演抄録集

Program and Abstracts, the 138th Meeting  
of the Japanese Society of Conservative Dentistry,  
June 27-28, 2013, Fukuoka

会 期：2013 年 6 月 27 日 (木) 8：50～18：00  
2013 年 6 月 28 日 (金) 9：00～16：30

学会会場：福岡国際会議場

〒 812-0032 福岡市博多区石城町 2-1

TEL：092-262-4111 FAX：092-262-4701

日本歯科保存学会 HP：<http://www.hozon.or.jp>

学術大会 HP：<http://www.kokuhoken.jp/jscd138>

A 会 場：3F メインホール

B 会 場：2F 多目的ホール (201+202)

C 会 場：4F 会議室 (411+412)

D 会 場：4F 会議室 (413+414)

ポスター会場：2F 多目的ホール (203+204)

企業展示会場：2F 多目的ホール (203+204)



## 口頭発表者へのお願い

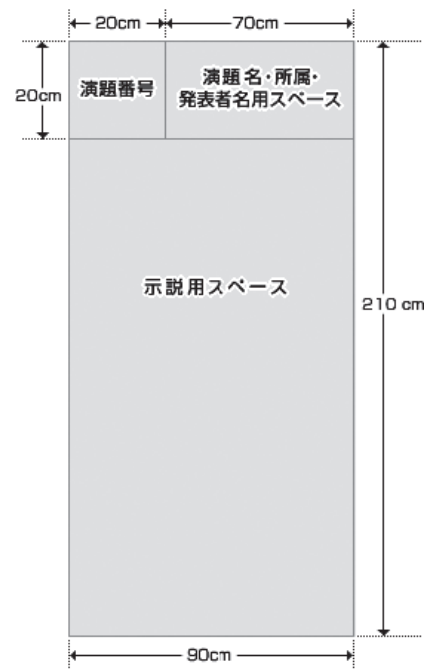
- ◆口演時間は、一般演題は発表8分です。また、質疑応答は2分です。発言は座長の指示に従ってください。口演に使用できるプロジェクターは1台となっております。
- ◆当日お持ちいただいたデータ（メディア：USBフラッシュメモリ、CD-ROMのいずれか一方をご用意ください）のPC試写は以下の時間で可能です。2日目に口演される発表者が、前日に受付することも可能です。

PC試写時間：6月27日（木）8：20～16：30 6月28日（金）8：20～15：00

※A会場、B会場ともに、2F学術大会総合受付内のPC受付にお越しください。

## ポスター発表者へのお願い

- ◆ポスター発表は、6月27日（木）、28日（金）の両日、ポスター会場（2F多目的ホール203+204）にて行います。なお、すべてのポスターは1日ごとに貼り換えをお願いします。
- ◆ポスターパネルは、掲示可能なスペースが横90cm、縦210cmで、そのうち最上段の縦20cmは演題名等用のスペースとし、本文の示説用スペースは横90cm、縦190cmとします。
- ◆最上段左側の横20cm、縦20cmは演題番号用スペースで、演題番号は担当校が用意します。また、ポスター掲示用の押しピンは、発表者自身で用意してください。
- ◆最上段右側の横70cm、縦20cmのスペースに、演題名、所属、発表者名を表示してください。なお、演題名の文字は、1文字4cm平方以上の大きさとし、また、共同発表の場合、発表代表者の前に○印を付けてください。
- ◆ポスター余白の見やすい位置に、発表代表者が容易にわかるように手札判（縦105mm、横80mm）程度の大きさの顔写真を掲示してください。
- ◆ポスターには図や表を多用し、見やすいように作成してください。3mの距離からでも明確に読めるようにしてください。なお、ポスターには研究目的、材料および方法、成績、考察、結論などを簡潔に記載してください（※症例報告の場合は、緒言、症例、経過、予後、考察、結論）。
- ◆ポスターを見やすくするために、バックに色紙を貼ることは発表者の自由です。
- ◆ポスターの準備は、下記の日時で行ってください。  
6月27日（木）8：40～10：00  
6月28日（金）8：40～10：00
- ◆ポスター発表および質疑応答の日は以下のとおりです。  
優秀発表賞（優秀ポスター賞）候補演題および演題番号  
P1～77：6月27日（木）16：00～17：00  
演題番号P78～154：6月28日（金）13：30～14：30  
ポスター発表および質疑応答の時間は、発表者はポスター前に立って自由に討論を行ってください。
- ◆ポスター撤去は以下の時間内に行ってください。  
6月27日（木）18：00～18：30  
6月28日（金）16：30～17：00



## 座長の先生へのお願い

- ◆口演における次座長の先生は、15分前までに、次座長席にご着席ください。

## 理事，編集連絡委員，一般会員へのお知らせ

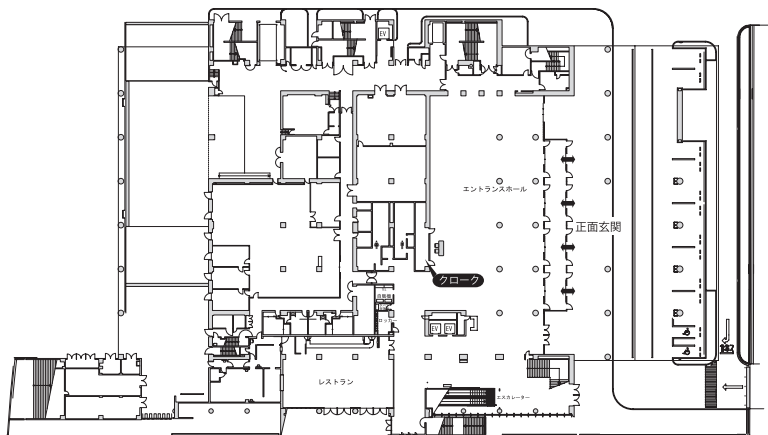
- ◆懇親会は、6月26日（水）18：30～20：30 福岡サンパレスホテル2F「パレスルーム」にて行います。
- ◆編集連絡委員会は、6月28日（金）12：30～13：30 B会場（2F 多目的ホール 201+202）にて行います。

## 企業展示のお知らせ

- ◆協賛各社による企業展示を、展示会場（2F 多目的ホール 203+204）にて行います。展示時間は以下をご参照ください。  
6月27日（木）9：00～18：00  
6月28日（金）9：00～16：00

# 会場案内図

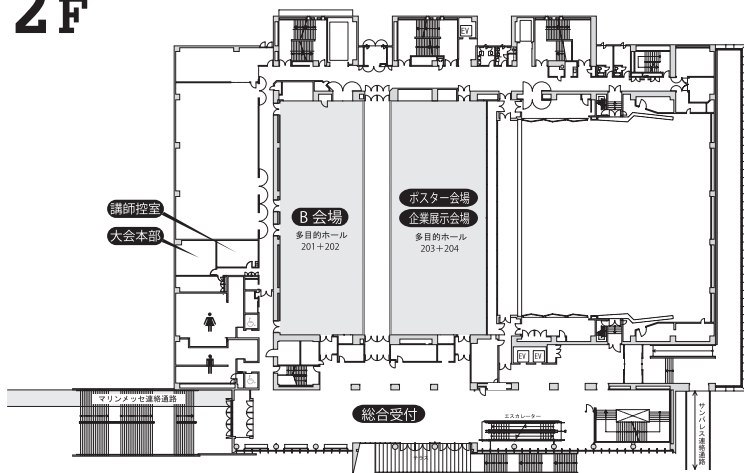
## 1F



## 1F

クローク

## 2F



## 2F

### 総合受付

- ・参加登録受付
- ・PC受付（口演）
- ・新入会，年会費受付

### B会場（多目的ホール 201+202）

- ・研究発表（27・28日，口演）
- ・編集連絡委員会（28日）

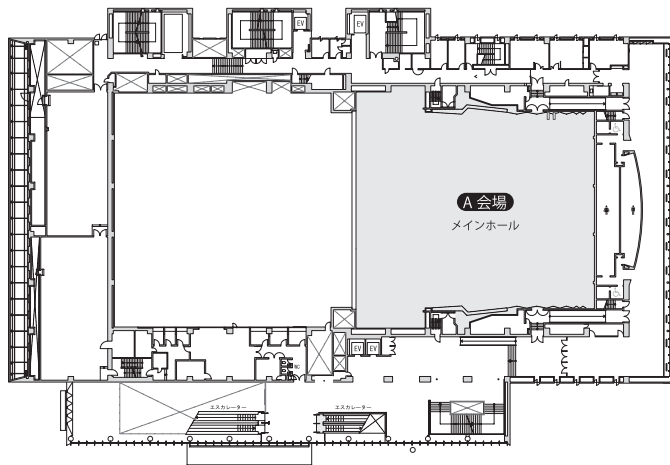
### ポスター会場（多目的ホール 203+204）

### 企業展示会場（多目的ホール 203+204）

### 大会本部（主催者事務室 2D）

### 講師控室（主催者事務室 2E）

# 3F

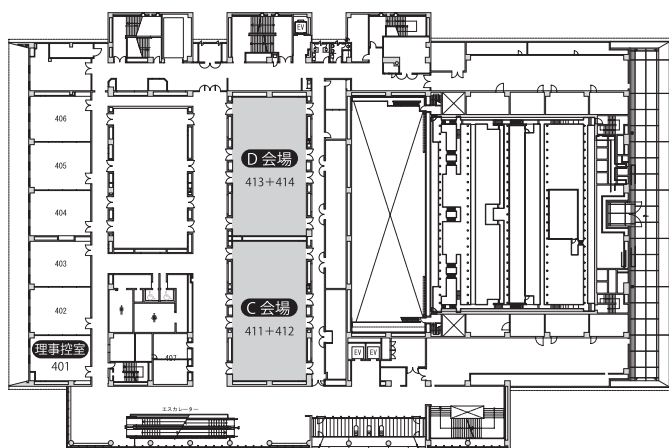


## 3F

### A会場 (メインホール)

- ・開会式 (27日)
- ・特別講演 (I・27日, II・28日)
- ・シンポジウム (I・27日, II・28日)
- ・認定研修会 (27日)
- ・研究発表 (27・28日, 口演)
- ・評議員会・総会・授賞式 (27日)
- ・閉会式 (28日)

# 4F



## 4F

### C会場 (411+412 会議室)

- ・ランチョンセミナー (I・27日, III・28日)

### D会場 (413+414 会議室)

- ・ランチョンセミナー (II・27日, IV・28日)

### 理事控室 (401 会議室)



## 学術大会スケジュール 前日 6月26日(水)

時間	4F 401	4F 402	4F 403
10:00			
11:00	10:30～11:30 教育問題委員会	10:30～11:30 定款委員会	10:30～11:30 認定委員会
12:00	11:30～12:30 医療合理化委員会	11:30～12:30 表彰委員会	11:30～12:30 研究活性化委員会
13:00	12:30～13:30 学会のあり方委員会	12:30～13:30 学術用語委員会	12:30～13:30 広報委員会
14:00	13:30～14:30 国際交流委員会	13:30～14:30 倫理委員会	
15:00	15:00～18:00 理事会		
16:00			
17:00			
18:00			
18:30	福岡サンパレスホテル 18:30～20:30 懇親会		

## 学術大会スケジュール 第1日目 6月27日 (木)

時間	総合受付 (2F ロビー)	A会場 (3F メインホール)	B会場 (2F 201+202)	C会場 (4F 411+412)	D会場 (4F 413+414)	ポスター会場 (2F 203+204)	企業展示会場
8:20	受付開始						
		開会の辞				8:40~10:00 ポスター準備	9:00~18:00 企業展示
9:00		A1 A2 A3 A4 A5 A6	B1 B2 B3 B4 B5 B6				
10:00		休憩	休憩				
		10:10~12:00 シンポジウム I	B7 B8 B9 B10 B11				
11:00			B12 休憩 B13 B14 B15 B16				
12:00				12:00~13:00 ランチョン セミナー I	12:00~13:00 ランチョン セミナー II		
13:00			13:00~14:00 評議員会・ 総会・授賞式				
14:00		14:00~15:00 特別講演 I					
15:00		休憩 A7 A8 A9 A10 A11	B17 B18 B19 B20 B21				
16:00						16:00~17:00 ポスター発表 (P1~77)	
17:00		17:00~18:00 認定研修会				17:00~18:00 ポスター掲示	
18:00	受付終了					18:00~18:30 ポスター撤去	

## 学術大会スケジュール 第2日目 6月28日 (金)

時間	総合受付 (2F ロビー)	A会場 (3F メインホール)	B会場 (2F 201+202)	C会場 (4F 411+412)	D会場 (4F 413+414)	ポスター会場 (2F 203+204)	企業展示会場
8:20	受付開始						
9:00		A12 A13 A14 A15 A16 A17	B22 B23 B24 B25 B26 B27			8:40~10:00 ポスター準備	9:00~16:00 企業展示
10:00		休憩 A18 A19 A20 A21 A22	休憩 B28 B29 B30 B31 B32				
11:00		A23 休憩	B33			10:00~13:30 ポスター掲示	
12:00		11:20~12:20 特別講演II					
13:00			12:30~13:30 編集連絡委員会	12:30~13:30 ランチョン セミナーIII	12:30~13:30 ランチョン セミナーIV		
14:00						13:30~14:30 ポスター発表 (P78~154)	
15:00	受付終了	14:30~16:20 シンポジウムII	B34 B35 B36			14:30~16:30 ポスター掲示	
			B37 B38 休憩				
			B39 B40 B41				
16:00			閉会の辞				
							16:30~17:00 ポスター撤去

## 特別講演 I

研修コード【2504】

講演名：歯周組織およびインプラントサイトの再生療法について

日時：2013年6月27日（木）14時00分～15時00分

会場：A会場（3F メインホール）

座長：原 宜興 教授  
（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周疾患病因・再生解析学分野）

演者：船越栄次 教授  
（船越歯科歯周病研究所・船越歯科医院）

### 演者略歴

1971年 九州歯科大学卒業  
1973年 Tufts 大学大学院卒業 Certificate of Periodontology 授与  
Indiana 大学歯学部助教授（5月～1977年6月）  
1976年 Indiana 大学院卒業 Master of Science in Dentistry 授与  
1977年 Indiana 大学歯学部准教授（7月～1978年6月）  
1978年 日本大学歯学部兼任講師（～1989年）  
1980年 福岡市にて船越歯科医院開業  
1982年 鹿児島大学歯学部非常勤講師（～1999年3月）  
1985年 九州歯科大学非常勤講師（現在に至る）  
1999年 九州大学歯学部臨床教授（現在に至る）  
2010年 福岡歯科大学臨床教授（～2011年3月）



### 学会等活動

Tufts 大学大学院 Certificate of Periodontology, Indiana 大学院 Master of Science in Dentistry  
FICD（国際歯科学士会）認証，日本歯周病学会（元常任理事，理事・評議員，専門医・指導医），FACD（米国歯科学士会）認証，日本臨床歯周病学会（元理事長，認定医・指導医），ITI section Japan Chairman  
日本臨床歯周病学会鈴木学術賞，アメリカ歯周病学会名誉会員

## 特別講演 II

研修コード【2808】

講演名：治らない歯痛とどう闘うか？—歯科心身医学の立場から—

日時：2013年6月28日（金）11時20分～12時20分

会場：A会場（3F メインホール）

座長：阿南 壽 教授  
（福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野）

演者：豊福 明 教授  
（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯科心身医学分野）

### 演者略歴

1990年 九州大学歯学部卒業  
福岡大学医学部歯科口腔外科学教室入局  
1992年 福岡大学病院助手（歯科口腔外科）  
2001年 福岡大学病院講師（歯科口腔外科）  
2007年 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科頭頸部心身医学分野教授  
2009年 同歯科心身医学分野教授（分野名変更）



### 学会等活動

日本歯科心身医学会理事長，口腔病学会理事，日本有病者歯科医療学会評議員，日本心身医学会特別委員

## シンポジウム I

研修コード【2503】

### 若手研究者が描く Pulp Wound Healing & Regeneration

日 時：2013年6月27日（木）10時10分～12時00分

会 場：A会場（3F メインホール）

コーディネーター：北村知昭 教授  
（九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野）

#### コーディネーター略歴

1989年 九州歯科大学卒業  
1992年 日本学術振興会特別研究員  
1993年 九州歯科大学大学院歯学研究科修了 博士（歯学）  
米国 NIH 留学  
1994年 九州歯科大学助手（歯科保存学第1講座）  
2005年 九州歯科大学助教授（齶蝕歯髄疾患制御学分野）  
2010年 九州歯科大学教授（齶蝕歯髄疾患制御学分野）  
2012年 九州歯科大学歯学科長



#### 学会等活動

日本歯科保存学会（理事，指導医），日本歯内療法学会（理事，指導医），日本口腔顔面痛学会指導医

講演1：断髄後の象牙質-歯髄複合体再生療法の確立のための材料および手技の開発

演 者：諸富孝彦 講師  
（福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野）

#### 演者略歴

1998年 九州歯科大学卒業  
2002年 九州歯科大学大学院修了（博士・歯学）  
九州歯科大学歯科保存学第一講座助手  
2007年 九州歯科大学口腔治療学講座齶蝕歯髄疾患制御学分野助教  
2010年 福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野講師



#### 学会等活動

日本歯科保存学会（評議員，専門医），日本歯内療法学会会員

講演2：MMPファミリー分子と象牙質-歯髄複合体の創傷治癒

演者：高橋雄介 助教

(大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室))

演者略歴

1998年 大阪大学歯学部卒業  
2002年 大阪大学大学院歯学研究科修了, 大阪大学歯学部附属病院医員  
2005年 大阪大学大学院歯学研究科特任研究員 (21世紀COEプログラム)  
2006年 大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室) 助手  
2009年 英国・バーミンガム大学歯学部 Honourable Research Fellow  
2010年 大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室) 助教



学会等活動

日本歯科保存学会(専門医), 日本歯内療法学会, International Association for Dental Research

講演3：内在性Wntによる歯髄創傷治癒促進効果とDentin Phosphoproteinによる硬組織形成作用の検討

演者：鈴木茂樹 助教

(広島大学大学院医歯薬学保健学研究院 総合研究科学部門 健康増進歯学分野)

演者略歴

2002年 大阪大学歯学部歯学科卒業  
2006年 大阪大学大学院歯学研究科修了, 歯学博士  
USA/National Institutes of Health/National Institutes of Dental and Craniofacial Research, Visiting Fellow  
2009年 広島大学大学院医歯薬学総合研究科助教  
2012年 広島大学大学院医歯薬保健学研究院助教



講演4：ハイブリッド型歯髄組織誘導を目指したバイオガラス配合セメントの応用

演者：鷺尾絢子 助教

(九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野)

演者略歴

2005年 九州歯科大学卒業  
2009年 九州歯科大学大学院歯学研究科修了 (歯学博士)  
九州歯科大学口腔機能科学専攻医療人間形成学講座総合診療学分野医員

## 第1日目 A会場

九州歯科大学口腔機能科学専攻口腔治療学講座齲蝕歯髓疾患制御学分野医員  
2010年 九州歯科大学口腔機能科学専攻口腔治療学講座齲蝕歯髓疾患制御学分野助教

### 学会等活動

日本歯科保存学会，日本歯内療法学会，歯科基礎医学会，日本再生歯科医学会，日本口腔顔面痛学会，日本歯科医学教育学会  
先端歯学スクール 2008 優秀賞，The Fifth Japan-Korea Joint Symposium on Bio-microsensing Technology ポスター賞受賞



## 講演5：歯髓幹細胞を用いた抜髄後歯髓再生治療法の開発

演者：庵原耕一郎 室長

(国立長寿医療センター研究所 歯科口腔先進医療開発センター 再生歯科医療研究部)

### 演者略歴

2001年 九州大学歯学部卒業  
2005年 九州大学大学院歯学研究院修了（歯学博士）  
国立長寿医療研究センター口腔疾患研究部研究員  
2009年 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室長



### 学会等活動

日本歯科保存学会，日本再生医療学会，日本歯内療法学会



## シンポジウム II

「痛みの制御」と「再生医療」を日々の臨床と研究のなかで  
どのように捉えていくのか

日時：2013年6月28日（金）14時30分～16時20分

会場：A会場（3F メインホール）

コーディネーター：木村裕一 教授  
（奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野）

### コーディネーター略歴

1985年 九州大学歯学部卒業  
1989年 九州大学大学院歯学研究科修了（歯学博士）  
1994年 米国カリフォルニア大学アーバイン校留学  
1996年 昭和大学歯学部講師  
2001年 昭和大学歯学部助教授  
2007年 奥羽大学歯学部教授



### 学会等活動

日本歯科保存学会（理事，専門医・指導医），日本歯内療学会（理事，専門医・指導医），  
日本レーザー歯学会（理事，認定医・指導医）

### 講演1：歯痛の見直し

演者：和嶋浩一 専任講師  
（慶應義塾大学医学部歯科口腔外科学教室）

### 演者略歴

1978年 神奈川歯科大学歯学部卒業  
慶應義塾大学病院研修医（歯科口腔外科）  
1980年 慶應義塾大学助手（医学部歯科口腔外科学教室）  
1995年 慶應義塾大学専任講師（医学部歯科口腔外科学教室）現在に至る  
学外兼任 昭和大学歯学部兼任講師



### 学会等活動

日本顎関節学会（理事，指導医，歯科顎関節症専門医），日本口腔顔面痛学会（理事，事務局  
局長，暫定指導医，専門医），日本頭痛学会（理事，指導医，頭痛専門医），American Acad-  
emy of Orofacial Pain（米国口腔顔面痛学会認定医），Asian Academy of Craniomandibular Disorders（President-elect）

## 第2日目 A会場

### 講演2：歯髄幹細胞を用いた再生医療の現状と課題

演者：川島伸之 助教

(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)

#### 演者略歴

- 1986年 新潟大学歯学部卒業
- 1991年 東京医科歯科大学大学院歯学研究科修了
- 1992年 日本学術振興会特別研究員 (PD)
- 1994年 東京医科歯科大学歯学部附属病院医員
- 1995年 東京医科歯科大学歯科保存学第三講座 (現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) 助手
- 1996年 Forsyth Research Center (現 The Forsyth Institute) Cytokine Biology 教室留学 (2年間)
- 2003年 東京医科歯科大学 21世紀 COE 特任講師・准教授
- 2008年 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助教



#### 学会等活動

日本歯科保存学会 (専門医・指導医), 日本歯内療法学会, アメリカ歯内療法学会, 日本再生医療学会, 国際歯科研究学会, NO学会

### 講演3：自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建

演者：岩田隆紀 特任講師

(東京女子医科大学先端生命医科学研究所 (兼) 歯科口腔外科)

#### 演者略歴

- 1998年 東京医科歯科大学歯学部歯学科卒業
- 2002年 東京医科歯科大学大学院修了, 東京医科歯科大学歯学部附属病院医員
- 2004年 ミシガン大学歯学部補綴科博士研究員
- 2007年 東京女子医科大学特任助教
- 2010年 東京女子医科大学特任講師
- 2012年 新潟大学非常勤講師



#### 学会等活動

日本歯周病学会 (評議員, 専門医), 日本再生医療学会評議員, IADR, 再生医療審査ワーキンググループ委員

## 認定研修会

研修コード【2503】

講演名：医療グローバル化時代を迎えた歯内療法

日時：2013年6月27日（木）17時00分～18時00分

会場：A会場（3F メインホール）

座長：鳥井康弘 教授  
（岡山大学病院 総合歯科）

演者：石井信之 教授  
（神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野）

### 演者略歴

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



ランチョンセミナー I

研修コード【2603】

講演名：新規“コンタクトキュア”型充填システムを用いた MI レジン修復

日 時：2013年6月27日（木）12時00分～13時00分

会 場：C会場（4F 411+412）

演 者：田上順次 教授  
（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 う蝕制御学分野）

演者略歴

- 1980年 東京医科歯科大学歯学部卒業
- 1984年 同大学院修了（歯学博士）  
東京医科歯科大学助手
- 1994年 奥羽大学歯学部教授
- 1995年 東京医科歯科大学教授
- 2000年 東京医科歯科大学附属歯科技工専門学校校長兼任（2005年まで）
- 2005年 東京医科歯科大学歯学部長（現在に至る）
- 2008年 Honorary Degree, Doctor of Dentistry（名誉歯学博士号）授与  
（英国 King's College of London から）



（協賛：株式会社トクヤマデンタル）

## ランチョンセミナー II

研修コード【2503】

講演名：セルフエッチングタイプの接着性レジン系根充シーラー  
「メタシール Soft」の特長について

日時：2013年6月27日（木）12時00分～13時00分

会場：D会場（4F 413+414）

演者：逸見浩史 先生  
（医療法人皓歯会 逸見歯科医院）

### 演者略歴

1992年 大阪歯科大学卒業  
1998年 大阪歯科大学口腔治療学講座専攻生  
2003年 大阪歯科大学口腔治療学講座博士号取得  
2004年 大阪歯科大学口腔治療学講座非常勤講師  
医療法人皓歯会逸見歯科医院



（協賛：株式会社モリタ  
サンメディカル株式会社）

ランチョンセミナー III

研修コード【3102】

講演名：マルチイオン徐放能を備えた S-PRG フィラーの可能性

日時：2013年6月28日（金）12時30分～13時30分

会場：C会場（4F 411+412）

演者：今里 聡 教授

（大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座（歯科理工学教室））

演者略歴

1986年 大阪大学歯学部卒業

1991年 大阪大学歯学部歯科保存学講座助手

1993年 英国ニューカッスル大学歯学部客員研究員（～1994年）

1999年 大阪大学歯学部歯科保存学講座助教授

2011年 大阪大学大学院歯学研究科顎口腔機能再建学講座歯科理工学教室教授



学会等活動

IADR Dental Materials Group, President (2008～2009年), 日本接着歯学会常任理事, 日本歯科理工学会理事, JADR 理事, 日本再生歯科医学会理事

（協賛：株式会社松風）

## ランチオンセミナー IV

研修コード【2603】

講演名：フロアブルコンポジットレジンの臨床

日時：2013年6月28日（金）12時30分～13時30分

会場：D会場（4F 413+414）

演者：秋本尚武 講師  
（鶴見大学歯学部保存修復学講座）

### 演者略歴

- 1986年 鶴見大学歯学部卒業  
鶴見大学歯学部第一歯科保存学教室助手
- 1995年 博士（歯学）取得
- 1996年 米国アラバマ大学バーミングハム校歯学部バイオマテリアル講座留学
- 2004年 鶴見大学歯学部第一歯科保存学教室講師
- 2012年 鶴見大学歯学部保存修復学講座（名称変更）講師



### 学会等活動

日本歯科保存学会，日本接着歯学会，日本歯科理工学会，IADR

（協賛：クラレノリタケデンタル株式会社  
株式会社モリタ）

## 第1日目 A会場

特定非営利活動法人

## 日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会（第138回）一般発表プログラム

演題の読み方：上段；AはA会場（メインホール），BはB会場（多目的ホール201+202），Pはポスター会場（多目的ホール203+204）を示し，次の1～3桁は演題番号，下4桁は口演開始時刻，（ ）内は分野，下段【 】は日本歯科医師会生涯研修個人カードの研修コードを示します。

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

下段 【2501】 → 研修項目 V-1）齲蝕病巣の対応

### 第1日目 6月27日（木）A会場（メインホール）

- 8：50～9：00 開会の辞……………特定非営利活動法人 日本歯科保存学会春季学術大会 大会長 阿南 壽  
理事長挨拶……………特定非営利活動法人 日本歯科保存学会 理事長 千田 彰
- 9：00～10：00 研究発表

座長 林 美加子（阪大院歯）

- A1-0900.（修復） S-PRG coating 材による人工齲蝕乳歯エナメル質白斑部の再石灰化効果  
【3102】 ……………○細矢由美子（長大院医歯薬・小児歯科）  
安藤 進，遠藤 肇，宮崎真至（日大歯・保存修復）
- A2-0910.（修復） PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果  
【2501】 第3報：塗布直下および隣接部位における獲得耐酸性  
……………○椎谷 亨，向井義晴，富山 潔，飯塚純子，長谷川晴彦，  
倉持江里香，寺中敏夫（神歯大・保存）  
藤野富久江（湘南短大・歯科衛生学科）
- A3-0920.（修復） 歯面コート材による象牙質脱灰抑制効果のマイクロCT解析  
【3001】 ……………○ローダ イナ，田上順次（東医歯大院・う蝕制御，歯と骨のGCOE）  
半場秀典，中嶋省志，二階堂 徹（東医歯大院・う蝕制御）

座長 島内英俊（東北大院歯）

- A4-0930.（歯内） ヒト象牙芽細胞機能複合体の刺激象牙質形成への貢献  
【2503】 ……………○池田英治（東医歯大院・歯髄生物）  
半場秀典（東医歯大院・う蝕制御）  
田上順次（東医歯大院・う蝕制御，歯と骨のGCOE）  
須田英明（東医歯大院・歯髄生物，歯と骨のGCOE）
- A5-0940.（歯内） ラット白歯歯髄における樹状細胞のサブポピュレーション  
【2501】 ……………○荒牧 音，島田康史，大槻昌幸，田上順次（東医歯大院・う蝕制御）  
川島伸之，鈴木規元，須田英明（東医歯大院・歯髄生物）
- A6-0950.（歯内） SOCS3はWntシグナル伝達経路を阻害することにより骨芽細胞への分化を抑制する  
【2503】 ……………○松下健太，伊藤祥作，池田 峻，山本由美子，山内裕香子，  
林 美加子（阪大院歯・感染制御（保存））

10：10～12：00 シンポジウム I

10：10～12：00 研究発表（B会場にて）



- 12:00~13:00 ランチョンセミナー I (C会場にて)  
 12:00~13:00 ランチョンセミナー II (D会場にて)  
 13:00~14:00 評議員会・総会・授賞式  
 14:00~15:00 特別講演 I  
 15:10~16:00 研究発表

座長 栗原英見 (広大院医歯葉)

- A7-1510. (歯周) *P. gingivalis* LPS 刺激による THP-1 細胞からの Thrombospondin 1 発現  
 【2504】 .....○御給美沙, 小林宏明, 南原弘美, 和泉雄一 (東医歯大院・歯周病)
- A8-1520. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* 感染は NKT 細胞のサイトカイン産生を誘導する  
 【2299】 .....○山田ひとみ, 宮沢春菜 (新大院医歯・口腔保健, 歯周)  
 奥井隆文, 多部田康一 (新大院医歯・歯周)  
 中島貴子 (新大歯・総合診療)  
 山崎和久 (新大院医歯・口腔保健)
- A9-1530. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* 口腔感染マウスモデルにおいて小胞体ストレスは  
 【2299】 破骨細胞形成に関与し歯槽骨吸収を誘導する  
 .....○土門久哲 (新大院医歯・歯周, 日本学術振興会特別研究員)  
 山田ひとみ, 宮内小百合, 宮沢春菜 (新大院医歯・口腔保健, 歯周)  
 中島貴子 (新大歯・総合診療)  
 多部田康一 (新大院医歯・歯周)  
 山崎和久 (新大院医歯・口腔保健)

座長 興地隆史 (新大院医歯)

- A10-1540. (歯内) フルオロアパタイト置換型リン酸カルシウムセメントに関する基礎的研究 (第3報)  
 【2503】 .....○尾形英大, 牧野公亮 (日大歯・歯内療法)  
 林 誠, 小森規雄, 羽鳥啓介,  
 小木曾文内 (日大歯・歯内療法, 総合歯学研究所・高度先端医療)  
 高木章三, Laurence C. Chow (米国国立標準技術院パフエンバーガー研究所)
- A11-1550. (その他) 歯髄組織工学に向けた棒状三次元細胞集合体の作製  
 【3103】 .....○佐々木淳一, 今里 聡 (阪大院歯・歯科理工)  
 毛利有希子 (阪大院歯・歯科理工, 阪大歯病院・口腔総合診療部)  
 竹重文雄 (阪大歯病院・口腔総合診療部)

- 16:00~17:00 ポスター発表 (ポスター会場にて)  
 17:00~18:00 認定研修会

## 第1日目 B会場

第1日目 6月27日(木) B会場(多目的ホール201+202)

9:00~12:00 研究発表

座長 林 善彦(長大院医歯薬)

- B1-0900. (歯内) 多血小板血漿が象牙芽細胞様細胞の抗炎症能と分化能に与える影響  
【2503】 .....○廉 晃勲(九歯大・保存, 感染分子生物)  
鷲尾絢子, 北村知昭(九歯大・保存)
- B2-0910. (歯内) 最終糖化産物(AGE)はRAGE-MAPK経路を介してラット培養歯髓細胞の  
【2503】 石灰化物形成を促進する  
.....○中島由紀子, 稲垣裕司, 木戸淳一, 永田俊彦(徳大院・歯周歯内)
- B3-0920. (歯内) Effects of phosphophoryn-derived RGD peptides on odontoblasts  
【3103】 .....○Jia Tang, Keisuke Handa, Keijiro Hayashi, MMA Polan and Takashi Saito  
(Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido)

座長 片山 直(明海大歯)

- B4-0930. (修復) 酸性溶液がエナメル質の衝突摩耗性に及ぼす影響  
【2599】 .....○市野 翔, 飯野正義, 井上直樹, 山路 歩(日大歯・保存修復)  
陸田明智, 安藤 進, 宮崎真至(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
青島 裕(青島歯科医院)  
松村正鴻(松村歯科医院)
- B5-0940. (修復) ケイ酸カルシウムと高親水性モノマーを含有した新しい光硬化型直接覆髓材の  
【2599】 修復性治癒効果に関する研究  
.....○堅田和穂, 堀江 卓, 岸本崇史, 永瀬洋介, 杉尾憲一, 堅田尚生,  
富士谷盛興, 千田 彰(愛院大歯・保存修復)
- B6-0950. (修復) MMA系接着充填材の接着強さと耐酸性の評価  
【2604】 .....○品川淳一, 井上 剛, 二階堂 徹(東医歯大院・う蝕制御)  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨のGCOE)

座長 奈良陽一郎(日歯大)

- B7-1010. (修復) エナメルマージン形態がコンポジットレジン修復物の色調に及ぼす影響  
【2605】 .....○会田麻美, 中島正俊(東医歯大院・う蝕制御)  
關 奈央子(東医歯大・国際交流センター)  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨のGCOE)
- B8-1020. (修復) 新規フロアブルレジンの機械的性質とその臨床応用  
【2603】 .....○黒川弘康, 高見澤俊樹, 瀧川智義, 安藤 進,  
宮崎真至(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
野尻貴絵, 浅野和正(日大歯・保存修復)  
斎藤充良(斎藤歯科医院)
- B9-1030. (修復) 試作フロアブルレジン修復システム(LLB-LF)の基本接着性能  
【2604】 .....○古市哲也, 吉田ふみ, 小倉由佳理, 岩佐美香, 利根川雅佳(日大歯・保存修復)  
坪田圭司, 安藤 進, 宮崎真至(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
植原俊雄(日大歯・歯周病, 植原歯科医院)

座長 堀田正人 (朝日大歯)

- B10-1040. (修復) ファイバーポスの維持力に及ぼす直接法・直接間接法の影響  
 【2604】 .....○副島寛貴, 河田英司, 小田 豊 (東歯大・歯科理工)
- B11-1050. (修復) 新規支台築造用レジンシステムにおける歯質接合界面のSEM観察  
 【2603】 .....○杉崎順平, 陶山雄司, 森上 誠, 宇野 滋, 山田敏元 (虎の門病院・歯科)
- B12-1100. (修復) セルフエッチシステムの金属およびセラミックスへの接着耐久性  
 【2604】 .....○白玉康司, 高橋史典, 清水裕亮, 遠藤 肇 (日大歯・保存修復)  
 辻本暁正, 坪田圭司, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
 福本敬一 (福本歯科医院)

座長 福島正義 (新大院医歯)

- B13-1120. (修復) 知覚過敏抑制材「ナノシール」による歯根面の脱灰抑制効果  
 【3102】 .....○宮嶋宏行, 今里 聡 (阪大院歯・歯科理工)  
 石本卓也, 中野貴由 (阪大院工・マテリアル生産科学)
- B14-1130. (その他) 象牙質知覚過敏抑制材“ナノシール”の臨床評価  
 【2502】 .....○浅野倉栄 (鶴大歯・総合歯科, (医財) 共生会浅野歯科)  
 矢作保澄, 山口博康 (鶴大歯・総合歯科)

座長 中村 洋 (愛院大歯)

- B15-1140. (歯内) シングルファイル法とマルチファイル法における湾曲根管に対する  
 【2503】 拡大形成の切削特性に関する研究  
 .....○松田浩一郎 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)  
 新井恭子, 北島佳代子, 五十嵐 勝 (日歯大新潟・保存I)
- B16-1150. (歯内) エアースケーラーによる根管治療  
 【2503】 髓腔開拡から根管形成そして根管洗浄について  
 .....○明石俊和, 林 誠, 小木曾文内 (日大歯・歯内療法, 総合歯学研究所・高度先端医療)

- 12:00~13:00 ランチョンセミナーI (C会場にて)  
 12:00~13:00 ランチョンセミナーII (D会場にて)  
 13:00~14:00 評議員会・総会・授賞式 (A会場にて)  
 14:00~15:00 特別講演I (A会場にて)  
 15:10~16:00 研究発表

座長 村上伸也 (阪大院歯)

- B17-1510. (歯周) 低分子BDNF模倣化合物LM22A-4はTrkBシグナルを介して  
 【2504】 セメント芽細胞の分化を制御する  
 .....○加治屋幹人, 柏井 桂, 竹下 慶, Nguyen Quon Trung, 藤田 剛,  
 柴 秀樹, 栗原英見 (広大院医歯薬・歯周病態)  
 高田 隆 (広大院医歯薬・口腔顎顔面病理病態)  
 北川雅恵 (広大病院・口腔検査センター)
- B18-1520. (歯周) 炎症性サイトカインはヒト歯肉上皮細胞においてLipid raftを介して発現する  
 【2504】 .....○今井遥香, 藤田 剛, 應原一久, 加治屋幹人, 内田雄士, 宮川剛史, 吉本哲也,  
 柴 秀樹, 栗原英見 (広大院医歯薬・歯周病態)

## 第1日目 B会場

B19-1530. (その他) T-RFLP 法による高感度な細菌叢解析法確立のための Pilot Study

【2203】 .....○松永一幸, 前田博史, 高柴正悟 (岡大院医歯薬・歯周病態)  
工藤値英子, 河田有祐 (岡大病院・歯周科)

座長 横瀬敏志 (明海大歯)

B20-1540. (修復) カキタンニンのポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する抗菌効果

【2599】 .....○富山 潔, 向井義晴, 二瓶智太郎, 椎谷 亨, 飯塚純子, 長谷川晴彦, 倉持江里香,  
寺中文字子, 三宅 香, 寺中敏夫 (神歯大・保存)  
熊田秀文, 渡辺清子, 浜田信城 (神歯大・微生物)  
齋藤正寛 (東理大基礎工・生物工学)

中村健一, 奥原正國, 邊見篤史 (リリース科学工業 (株))

B21-1550. (その他) 口腔常在レンサ球菌が産生する細胞外ヌクレアーゼの機能解析

【2499】 .....○住岡龍一, 野杵由一郎, 林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))  
中田匡宣, 森田知里, 川端重忠 (阪大院歯・感染制御 (口腔細菌))

16:00~17:00 ポスター発表 (ポスター会場にて)

17:00~18:00 認定研修会 (A会場にて)

第1日目 6月27日(木) ポスター会場(多目的ホール 203+204)

- 8:40~10:00 ポスター準備
- 10:00~16:00 ポスター掲示
- 16:00~17:00 ポスター発表
- 17:00~18:00 ポスター掲示
- 18:00~18:30 ポスター撤去

優秀発表賞(優秀ポスター賞)選考対象演題 P1, 2(修復), P3~5(歯内), P6, 7(歯周)

- P1. (修復) Rep-PCRを用いた *S. mutans* 血清型 *e* のバンディングパターンの差異について  
 【2203】 .....○岡田珠美, 鈴木英明, 藤田 光, 池見宅司(日大松戸歯・保存修復)
- P2. (修復) 大気圧低温プラズマのう蝕感染象牙質に対する殺菌効果  
 【2501】 .....○白井エミ, 桃井保子(鶴大歯・保存修復)  
 .....大島朋子, 前田伸子(鶴大歯・口腔微生物)  
 .....井川 聡(大阪府立産業技術総合研究所)  
 .....北野勝久(阪大院工・原子分子イオン制御理工学センター)
- P3. (歯内) NF- $\kappa$ B の阻害はラット実験的根尖性歯周炎の拡大を抑制する  
 【2503】 .....○山中裕介, 金子友厚, 伊藤崇史, 興地隆史(新大院医歯・う蝕)
- P4. (歯内) 中高齢者・若齢者におけるヒト歯髄幹細胞の歯髄再生能の比較検討  
 【3199】 .....○堀部宏茂, 山本 翼(国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部,  
 .....愛院大歯・顎口腔外科)  
 .....庵原耕一郎, 村上真史, 中島美砂子(国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部)  
 .....竹内教雄(国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・歯内治療)  
 .....林 勇輝(国立長寿医療研究センター・再生歯科医療研究部, 愛院大歯・小児歯科)  
 .....栗田賢一(愛院大歯・顎口腔外科)
- P5. (歯内) 根管・歯周組織への応用を目指した新規内視鏡の開発  
 【3101】 .....○吉居慎二, 北村知昭(九歯大・保存)  
 .....張 宇鵬, 植田敏嗣(早大院情報生産システム)  
 .....寺下正道(九歯大・総合診療)  
 .....西原達次(九歯大・感染分子生物)
- P6. (歯周) ラット歯肉における TRPM8 陽性神経線維の分布  
 【2201】 .....○矢島健大(東北大院歯・保存)  
 .....佐藤 匡, 市川博之(東北大院歯・口腔器官構造)  
 .....島内英俊(東北大院歯・歯内歯周)
- P7. (歯周) 歯肉上皮において Smad 2 は integrin 発現を促進する  
 【2504】 .....○本郷昌一, 山城圭介, 山本直史, 高知信介, 下江正幸, 鶴川祐樹,  
 .....前田博史, 高柴正悟(岡大院医歯薬・歯周病態)  
 .....富川和哉(九大病院・口腔総合診療科)
- P8. (修復) CAD/CAM 用ブロックの機械的性質について  
 【2603】 .....○坪田圭司, 高見澤俊樹, 升谷滋行,  
 .....宮崎真至(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
 .....白玉康司, 古市哲也, 石井 亮, 大塚詠一朗(日大歯・保存修復)  
 .....佐藤幹武(日大歯・保存修復, 佐藤歯科)

## 第1日目 ポスター会場

- P9. (修復) 超音波ダイヤモンドチップを使用した窩洞形成  
【3101】 —研削効率と研削耐久性—  
……………○竹田仁一, 菅原剛志, 高島志保, 菊池隼介, 椎谷 亨, 大橋 桂, 田中博隆,  
二瓶智太郎, 向井義晴, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
- P10. (修復) Er, Cr : YSGG レーザーの歯質切削に関する研究  
【3101】 —ウォーターズプレーの水と空気の相対比率がエナメル質の切削効率に及ぼす影響—  
……………○高田真代, 有田祥子, 川嶋里貴 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)  
新海航一, 加藤千景, 鈴木雅也 (日歯大新潟・保存II)  
平 賢久 (日歯大新潟・総合診療)
- P11. (修復) 試作 SS-OCT を用いた楔状欠損窩洞における各種修復材料の窩洞適合性の評価  
【2304】 ……………○水上英子, 後閑由香, 谷 千尋, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)  
千田真弓, 鹿熊秀雄 ((株) 吉田製作所)  
橋本絵美, 荒木和之, 岡野友宏 (昭大歯・歯科放射線)  
宮崎 隆 (昭大歯・保存・歯科理工)
- P12. (修復) 防湿方法の違いが口腔内温度および相対湿度に及ぼす影響  
【2604】 ……………○春山亜貴子, 浅見政子, 杉山節子, 杉山利子, 野呂明夫,  
近藤祥弘, 亀山敦史 (東歯大・総診)
- P13. (修復) 充填材料の接着における唾液混入の影響  
【2603】 ……………○島津貴咲, 菊部洋行 (日歯大・小児歯科)  
小方清和 (日歯大・小児歯科, 東京都立小児総合医療センター・歯科)
- P14. (修復) ESR 評価法によるコンポジットレジンの照射後重合  
【3102】 —LED 照射器の照射時間による影響—  
……………○亀水秀男, 駒田裕子 (朝日大歯・歯科理工)
- P15. (修復) リペア修復におけるトクヤマユニバーサルプライマーの接着性  
【2604】 ……………○百々海 歩, 平田広一郎, 山本博将 ((株) トクヤマデンタル・つくば研究所)  
木村幹雄 ((株) トクヤマデンタル・事業推進部)
- P16. (修復) ワンステップボンディング材の歯質脱灰能に関する研究  
【3102】 ……○藤田 (中島) 光, 岩井仁寿, 岡田珠美, 鈴木英明, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)  
西山典宏 (日大松戸歯・生体材料)
- P17. (修復) ピロリドンカルボン酸による象牙質コラーゲンの分解抑制,  
【2501】 および象牙質の脱灰抑制に関する検討  
……………○藤川晴彦, 井上志磨子, 竹内祥訓, 福田 康,  
山本高司 (ライオン (株)・オーラルケア研究所)
- P18. (修復) NaF と APF の根面象牙質に対する脱灰抑制効果の *in vitro* での比較  
【2501】 ……………○菅原豊太郎, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)  
中嶋省志, 田上順次 (東医歯大院・う蝕制御)
- P19. (修復) Er : YAG レーザー照射象牙質におけるレジン接着に関する研究  
【3101】 第1報 レジン添加型ガラスアイオノマーセメントの接着強さについて  
……………○鶴田あゆみ, 成橋昌剛, 福田秀光, 中野健二郎, 山田三良, 佐藤かおり,  
富士谷盛興, 千田 彰 (愛院大歯・保存修復)

- P20. (修復) 市販 EDTA 処理剤を用いた象牙質スマー層の除去効果  
 【2604】 .....○後閑由香, 水上英子, 谷 千尋, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)  
 宮崎 隆 (昭大歯・保存・歯科理工)
- P21. (修復) 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  
 【2598】 ....○日下部修介, 玄 太裕, 細川好美, 杉浦貴子, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))  
 清水明彦 (兵庫医大・歯科口腔外科)
- P22. (修復) ナノシール塗布後の象牙質に対する各種修復材料の接着効果  
 【2604】 .....○岡田伸男, 志賀華絵, 千葉史子, 山本慎子, 青島 久,  
 工藤義之, 野田 守 (岩医大歯・う蝕治療)
- P23. (修復) 各種象牙質知覚過敏抑制材の象牙質透過抑制に関する研究  
 【2502】 .....○清水裕久, 西谷佳浩, 星加知宏, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P24. (修復) 知覚過敏抑制材の象牙質透過性に及ぼす影響  
 【2502】 .....○山口純世, 兼平正史, FINGER WJ (東北大院歯・保存)  
 石幡浩志 (東北大院歯・歯内歯周)
- P25. (修復) 極薄アパタイトシートを用いた象牙細管の封鎖効果についての検討  
 【3102】 .....○以西 新, 山本 衛, 加藤暢宏, 西川博昭, 本津茂樹 (近畿大生物理工)  
 吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)
- P26. (修復) 新規モノマー CMET 配合シーリングコート材の象牙質接着性への影響  
 【3102】 .....○伊藤修一, 甕 富美子, Nahid Al NOMANN, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
- P27. (修復) 石灰化促進作用を有する機能性フィラー含有レジン系覆髄材の開発  
 【2604】 ー機能性フィラー含有量がレジン系覆髄材の象牙質接着強さに及ぼす影響ー  
 .....○川嶋里貴, 有田祥子, 高田真代 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)  
 鈴木雅也, 加藤千景, 新海航一 (日歯大新潟・保存 II)  
 平 賢久 (日歯大新潟・総合診療)
- P28. (修復) S-PRG フィラー配合試作レジンセメントのフッ素徐放性  
 【2604】 .....○横山章人, 塩出信太郎, 山路公造, 西谷佳浩, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P29. (修復) S-PRG フィラー配合試作レジンセメントの象牙質接着性  
 【2604】 .....○塩出信太郎, 山路公造, 伊澤俊次, 星加知宏, 西谷佳浩,  
 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P30. (修復) 新規 S-PRG フィラー含有レジン系仮封材がポリマイクロバイアルバイオフィルム形成に  
 【2501】 およぼす影響  
 .....○長谷川晴彦, 向井義晴, 富山 潔, 椎谷 亨, 飯塚純子, 倉持江里香,  
 寺中文字子, 寺中敏夫 (神歯大・保存)  
 渡辺清子, 熊田秀文, 浜田信城 (神歯大・微生物)
- P31. (修復) 各種修復材料と多目的接着システムとの接着  
 【2604】 ....○岡崎 愛, 小竹宏朋, 望月久子, 日下部修介, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))  
 作 誠太郎 (朝日大歯・口腔機能 (修復)), さくデンタルクリニック)
- P32. (修復) S-PRG フィラー配合歯磨剤のポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する抗菌活性  
 【2501】 .....○倉持江里香, 向井義晴, 富山 潔, 椎谷 亨, 飯塚純子,  
 三宅 香, 長谷川晴彦, 寺中敏夫 (神歯大・保存)  
 熊田秀文, 渡辺清子, 浜田信城 (神歯大・微生物)

## 第1日目 ポスター会場

- P33. (修復) S-PRG フィラー含有試作歯磨剤がウシ象牙質におよぼす影響  
【2499】 .....○竹中宏隆, 村山良介, 瀧本正行, 遠藤 肇, 安田源沢 (日大歯・保存修復)  
黒川弘康, 宮崎真至 (日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
日野浦 光 (日野浦歯科医院)
- P34. (修復) 近年の歯科用貴金属の価格推移について  
【3102】 .....○小西秀和 (王喜歯科医院)
- P35. (歯内) 口腔内内視鏡システムの臨床応用のための *in vitro* 試験  
【2302】 .....○長谷川篤司, 勝又桂子, 伊佐津克彦, 池田 哲, 高島英利 (昭大歯・保存・総合診療)  
長田将治 (長田電機工業 (株))
- P36. (歯内) 足場材としての魚コラーゲンの安全性試験  
【0303】 .....○池田 毅, 吉澤 祐, 柳口嘉治郎, 山本耕平, 山田志津香,  
林 善彦 (長大院医歯薬・齲蝕)
- P37. (歯内) インターフェロン- $\gamma$  依存性の細胞内侵入病原体排除における  
【2203】 オートファジー関連タンパク質の役割の解明  
.....○大嶋 淳 (阪大院歯・感染制御 (保存), 阪大微生物病研究所・感染病態,  
阪大免疫学フロンティアセンター・免疫寄生虫学)  
笹井美和, 山本雅裕 (阪大微生物病研究所・感染病態,  
阪大免疫学フロンティアセンター・免疫寄生虫学)  
林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))
- P38. (歯内) MTI-II が示す骨芽細胞への影響  
【2503】 —抗炎症剤としての可能性の検討—  
.....○平田-土屋志津, 北村知昭 (九歯大・保存)  
岡本一起 (聖マリアンナ医大院・疾患プロテアソーム・分子病態治療)  
寺下正道 (九歯大・総合診療)
- P39. (歯周) プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブの歯根膜細胞の石灰化制御  
【2504】 .....○北垣次郎太 (阪大院歯・免疫制御 (治療), 阪大歯病院・近未来歯科医療センター  
「口の難病」プロジェクト)  
謝 成婕, 中村友美, 栗田敏仁, 森 健太, 久保田実木子, 阪下裕美, 山本智美,  
池上久仁子, 小笹匡雄, 竹立匡秀, 柳田 学, 山下元三, 山田 聡,  
村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P40. (歯内) 象牙質・幹細胞複合体の骨再生への応用  
【2503】 .....○田中雅士, 小栗健策, 森 春菜, 吉田隆一 (朝日大歯・口腔機能 (歯内))  
川木晴美, 近藤信夫 (朝日大歯・口腔生化学)
- P41. (歯内) 培養幹細胞に対する象牙質顆粒の機能解析  
【2503】 .....○小栗健策, 田中雅士, 森 春菜, 吉田隆一 (朝日大歯・口腔機能 (歯内))  
川木晴美, 近藤信夫 (朝日大歯・口腔生化学)
- P42. (歯内) iPS 細胞由来象牙芽細胞において炎症性サイトカイン誘導 MMP-3 は  
【2503】 細胞増殖と抗アポトーシス作用を制御する  
.....○山口秀幸, 尾関伸明, 川合里絵, 田中 毅, 檜山太希,  
中田和彦, 中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)  
茂木眞希雄 (愛院大薬・生体機能化学)



- P43. (歯内) genistein の石灰化誘導メカニズムの解析  
 【2503】 .....○林 敬次郎, 半田慶介, 小池俊之, Mohammad Ali Akbor Polan, Jia Tang,  
 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
- P44. (歯内) ラット培養歯髄細胞の石灰化へ血管内皮細胞培養上清が与える影響について  
 【2503】 .....○増田宜子, 山田嘉重 (昭大歯病院・歯内治療科)  
 宮本洋一, 上條竜太郎 (昭大歯・口腔生化学)  
 宮崎 隆 (昭大歯・保存・歯科理工)
- P45. (歯内) スフェロイド培養による歯髄細胞の特性変化の検討  
 【2503】 .....○山本弥生子, 川島伸之, 鈴木規元, 小泉 悠, 瀧本晃陽,  
 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)  
 齋藤正寛 (東理大基礎工・生物工学)
- P46. (歯内) ヒト歯髄幹細胞の三次元培養による象牙芽細胞・骨芽細胞マーカーの変動  
 【2503】 .....○川島伸之, 山本弥生子, 瀧本晃陽, 小泉 悠, 鈴木規元,  
 須田英明 (東医歯大院・歯髄生物)
- P47. (歯内) 微酸性電解水の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果に与える作用温度の影響  
 【2503】 .....○中野雅子, 小澤寿子, 池野正典, 細矢哲康 (鶴大歯・歯内療法)  
 高尾亞由子, 前田伸子 (鶴大歯・口腔微生物)
- P48. (歯内) *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Enterococcus faecalis* に対する  
 【2503】 イオン導入法の薬剤と通電法の影響に関する検討  
 .....○小山隆夫, 前田伸子 (鶴大歯・口腔微生物)
- P49. (歯内) 根管洗浄剤としてのキトサン含有クエン酸溶液の抗菌効果: 基礎的研究  
 【2503】 .....○鈴木重紀, 山田嘉重, 増田宜子 (昭大歯・保存・歯内)  
 宮崎 隆 (昭大歯・保存・歯科理工)
- P50. (歯内) ウォータージェットポンプを用いたスミア層除去に関する検討  
 【2503】 ー噴射時間の影響についてー  
 .....○小倉陽子, 前田宗宏, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P51. (歯内) 新たな根管清掃・消毒法に関する基礎的研究  
 【2503】 ーLED 照射が低濃度過酸化水素水の活性酸素種生成に及ぼす影響ー  
 .....○小林慶美, 林 誠, 小木曾文内 (日大歯・歯内療法)  
 吉野文彦, 吉田彩佳, 李 昌一 (神歯大・薬理)  
 田村宗明, 落合邦康 (日大歯・細菌)
- P52. (歯内) Er:YAG レーザーと超音波で形成した逆根管窩洞の比較  
 【2503】 .....○新井裕基, 吉嶺嘉人, 木原智子, 橋口 勇, 後藤康治,  
 赤峰昭文 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存))  
 松本妃可, 佐藤浩美 (九大病院・歯内治療科)
- P53. (歯内) 薬液を応用した NiTi ファイル破折片の除去に関する研究  
 【2503】 ー通電がファイルの腐食に及ぼす影響ー  
 .....○高橋哲哉, 小林健二, 鈴木瑛子, 中村裕子, 井出祐樹,  
 小谷依子 (明海大歯・歯内療法)  
 申 基喆 (明海大歯・歯内療法, 歯周病)

## 第1日目 ポスター会場

- P54. (歯内) 水溶性 EDTA 製材の根管形成補助効果および化学的清掃に関する研究  
 【2503】 —Ni-Ti ファイル根管形成時の切削応力抑制とスミヤー層除去効果—  
 .....○鈴木二郎, 石井信之 (神歯大・歯内)  
 岡田周策, 寺中敏夫 (神歯大・保存)
- P55. (歯内) シングルファイル法とマルチファイル法による根管拡大形態と作業時荷重に関する研究  
 【2503】 .....○新井恭子, 北島佳代子, 北野芳枝, 朝比奈壮郎, 五十嵐 勝 (日歯大新潟・保存 I)  
 松田浩一郎, 山田理絵 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)
- P56. (歯内) 人工根管を用いた周期的疲労に対する K3XF と K3 の比較  
 【2503】 .....○渡邊浩章, 山村啓介, 牛窪敏博, 末原正崇, 森永一喜 (東歯大・保存)
- P57. (歯内) ニッケルチタンロータリーファイルの破折特性  
 【2503】 —X 線回折と走査電子顕微鏡による所見—  
 .....○佐々木重夫, 木村裕一, 佐藤穂子, 釜田 朗,  
 山崎信夫, 山田眞義 (奥羽大歯・歯内療法)  
 川島 功 (奥羽大歯・生体材料)  
 車田文雄 (奥羽大歯・口腔衛生)
- P58. (歯内) 根管形成操作解析装置の開発  
 【2503】 —トルク・荷重平面でのデータ点運動評価方法—  
 .....○庭野和明, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P59. (歯内) 新規歯内療法実習用顎模型の開発  
 【2598】 .....○白井 要, 妹尾智子, 藤原 正, 長澤敏行, 古市保志 (北医大歯・歯周歯内)
- P60. (歯周) 松本歯科大学における, 歯周病学模型実習に対する学生の意識調査  
 【2598】 .....○窪川恵太, 海瀬聖仁, 武藤昭紀, 三木 学, 吉成伸夫 (松歯大・保存 I)  
 内田啓一, 田口 明 (松歯大・歯科放射線)
- P61. (歯周) ヒト角化細胞 HaCaT におけるタイト結合形成機序の研究  
 【2504】 .....○水上正彦, 阿南 壽 (福歯大・修復・歯内)  
 北河憲雄, 稲井哲一郎 (福歯大・機能構造)
- P62. (歯周) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* における *pga* 遺伝子クラスターの  
 【2504】 凝集能と natural competence に対する役割について  
 ....○久野恭子, 藤瀬 修, 三浦真由美, 濱地貴文, 前田勝正 (九大院歯・口腔機能 (歯周))
- P63. (歯周) 複合波電気刺激がヒト歯周組織線維芽細胞に与える影響  
 【2504】 .....○両角祐子, 山下亜希, 佐藤 聡 (日歯大新潟・歯周)
- P64. (歯周) 生理的咬合圧が歯根膜の成長因子産生に及ぼす影響  
 【2299】 .....○市岡宏顕, 山本健太, 本城賢一 (京府医大院医・歯科口腔科学, 免疫学)  
 山本俊郎, 大迫文重, 金村成智 (京府医大院医・歯科口腔科学)  
 張 端良 (京府医大院医・歯科口腔科学, 蘇生会総合病院・歯科・歯科口腔外科)  
 植西俊裕 (京府医大院医・歯科口腔科学, 京都第一赤十字病院・歯科口腔外科)  
 喜多正和 (京府医大院医・免疫学)
- P65. (歯周) 神経変性疾患関連因子 TDP-43 はマクロファージ様細胞の TNF- $\alpha$  転写調節に関与する  
 【2504】 .....○村田裕美, 生田貴久, 木戸淳一, 永田俊彦 (徳大院・歯周歯内)  
 前田博史, 高柴正悟 (岡大院医歯薬・歯周病態)

- P66. (歯周) GFP マウス骨髄由来間葉系幹細胞の株化と分化能の評価  
 【2504】 ……○澤田俊輔, 滝沢尚希, 須和部京介, 伊東俊太郎, 金澤智美, 大川義人, 佐々木大輔,  
 藤原英明, 村井 治, 八重柏 隆 (岩医大歯・歯周)
- P67. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* LPS は歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化能を阻害し,  
 【2504】 ALP 活性を亢進させる  
 ……○嘉藤弘仁, 富永和也, 田中昭男 (大歯大・口腔病理)  
 田口洋一郎, 梅田 誠 (大歯大・歯周病)
- P68. (歯周) スフィンゴシン-1-リン酸が未分化間葉系幹細胞の脂肪細胞分化における  
 【2504】 Wnts の発現に及ぼす影響  
 ……○橋本陽子, 松崎英津子, 濱地貴文, 東 克匡, 前田勝正 (九大院歯・口腔機能 (歯周))
- P69. (歯周) 羊膜上培養ヒト歯根膜由来細胞による骨再生に関する免疫組織学的検討  
 【2504】 ……○足立圭司, 雨宮 傑, 本城賢一, 熊本園子, 西垣 勝, 大迫文重,  
 山本俊郎, 金村成智 (京府医大院医・歯科口腔科学)
- P70. (歯周) 長期間悩まされていた口腔異常感が口腔乾燥に対する処置で消失した症例  
 【2807】 ……○松浦洋志, 米田雅裕, 岡田美実子 (福歯大・口腔医療センター)  
 鈴木奈央, 藤本暁江, 廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)
- P71. (歯周) 審美障害および象牙質知覚過敏を訴える患者に結合組織移植術による  
 【2504】 根面被覆で対応した一症例  
 ……○河野智生, 梅田 誠 (大歯大・歯周病)
- P72. (歯周) カルシウム拮抗薬による薬物性歯肉増殖症を併発した慢性歯周炎患者に対して  
 【2504】 歯周治療ならびに禁煙支援が効果を示した 1 症例  
 ……○蓮池 聡 (日大歯・歯周病)  
 佐藤秀一, 伊藤公一 (日大歯・歯周病, 総合歯学研究所・高度先端医療)
- P73. (歯周) 超高気孔率ハイドロキシアパタイトの顆粒またはブロック体が  
 【3102】 歯周骨内欠損に及ぼす臨床効果: 2 年予後  
 ……○白井義英 (白井歯科)
- P74. (歯周) 突発性慢性歯肉増殖症を有する患者の一症例  
 【2504】 —CCN2/CTGF の発現の検討—  
 ……○五十嵐 (武内) 寛子 (日歯大・歯周病, 東京慈恵会医大・解剖学)  
 沼部幸博 (日歯大・歯周病)
- P75. (歯周) 垂直性骨欠損に対し GTR 法とエナメルマトリックスタンパク質を用いた  
 【2504】 歯周組織再生療法を行った症例の 5 年経過時における臨床的比較  
 ……○相野 誠, 三谷章雄, 高須英成, 古田英豊, 永坂太郎, 三輪晃資, 菊池 毅,  
 川瀬仁史, 伊藤正満, 林 潤一郎, 黒須康成, 石原裕一, 稲垣幸司,  
 福田光男, 野口俊英 (愛院大歯・歯周病)
- P76. (歯周) 航空自衛隊大滝根山分屯基地における口腔衛生指導 (第 3 報)  
 【3302】 ……○車田文雄, 長岡正博, 廣瀬公治 (奥羽大歯・口腔衛生)
- P77. (歯周) 太陽電池付光触媒内蔵音波振動歯ブラシの臨床効果  
 【2504】 ……○吉峰正彌, 小倉喜一郎, 大木亜悠子, 藤田讓治, 藤川瑞穂,  
 鴨井久博 (日医大千葉北総病院・歯科)

## 第2日目 A会場

第2日目 6月28日(金) A会場(メインホール)

9:00~11:10 研究発表

座長 桃井保子(鶴大歯)

- A12-0900. (修復) エナメル質と各種ボンディング材との接着界面における ABRZ の評価  
【2604】 .....○佐藤隆明, 高垣智博, 松井七生子, 二階堂 徹(東医歯大院・う蝕制御)  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
- A13-0910. (修復) コンタクトキュア・デュアルキュア型コンポジットレジン接着システムにおける  
【2604】 .....○千葉彩香, Prasansuttiporn Taweesak, 中島正俊(東医歯大院・う蝕制御)  
關 奈央子(東医歯大・国際交流センター)  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)
- A14-0920. (修復) 光重合型コンポジットレジンの窩底部重合促進効果  
【2603】 .....○吉川孝子, 趙 永哲(東医歯大院・う蝕制御)  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御, 歯と骨の GCOE)

座長 吉山昌宏(岡大院医歯薬)

- A15-0930. (修復) バイオフィルムによる小窩裂溝う蝕の形成と SS-OCT を用いた非破壊観察  
【2501】 .....○上野智香, 島田康史, マティン カイルール, サダル アリレザ,  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御)
- A16-0940. (修復) 照射レーザーの波長が歯質の OCT 像に及ぼす影響  
【3101】 .....○村山良介, 飯野正義, 島村 稔, 鈴木英梨子(日大歯・保存修復)  
黒川弘康, 升谷滋行, 宮崎真至(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
岩崎圭祐(東京電力病院・歯科)
- A17-0950. (修復) 歯質残存厚径測定への OCT の応用  
【2304】 .....○飯野正義, 古宅眞由美, 生形奈緒子, 田村ゆきえ, 利根川雅佳(日大歯・保存修復)  
黒川弘康, 宮崎真至(日大歯・保存修復, 総合歯学研究所・生体工学)  
細矢由美子(長大院医歯薬・小児歯科)  
市石芳博(市石歯科クリニック)  
宮 直利(横須賀共済病院)

座長 松尾敬志(徳大院)

- A18-1010. (修復) *Streptococcus mutans* を用いた歯頸部の脱灰と SS-OCT による評価  
【2501】 .....○手塚弘樹, 島田康史, マティン カイルール, サダル アリレザ,  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御)
- A19-1020. (修復) 接着修復物の二次う蝕に関する研究  
【2501】 .....○堀江 圭, 島田康史, マティン カイルール, サダル アリレザ,  
田上順次(東医歯大院・う蝕制御)

A20-1030. (修復) Formation of hypermineralized zone below dentin lesion body induced by topical fluoride *in vitro*  
 【2599】 .....○ Sahar Jameel KHUNKAR, Sachiko Utaka, Syozi Nakashima, Toru Nikaido  
 (Cariology and Operative Dentistry, Department of Oral Health Sciences,  
 Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University)  
 Junji Tagami (Cariology and Operative Dentistry, Department of Oral Health Sciences,  
 Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,  
 GCOE Program ; International Research Center for Molecular Science  
 in Tooth and Bone Diseases)

座長 古市保志 (北医大歯)

A21-1040. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* 感染が関節リウマチ発現に及ぼす影響についての実験的解析  
 【2504】 .....○山川真宏, 應原一久, 加治屋幹人, 橘高瑞穂, 藤田 剛,  
 柴 秀樹, 栗原英見 (広大院医歯薬・歯周病態)

A22-1050. (歯周) *P. gingivalis* 感染が心肥大に与える影響  
 【2402】 .....○金子 誠, 青山典生, 始平堂由佳, 和泉雄一 (東医歯大院・歯周病)  
 鈴木淳一 (東大・先端臨床医学開発)  
 磯部光章 (東医歯大院・循環制御内科)

A23-1100. (歯周) 歯肉溝滲出液 (GCF) における Hemoglobin (Hb) 検査を用いた PPD・BOP 検査精度の検証  
 【2504】 .....○伊藤 弘, 沼部幸博 (日歯大・歯周病)  
 戸円智幸, 橋本修一 (日歯大共同利用研究センター・アイソトープ研究施設)  
 八重柏 隆 (岩医大歯・歯周)  
 小方頼昌 (日大松戸歯・歯周治療学)  
 和泉雄一 (東医歯大院・歯周病)  
 永田俊彦 (徳大院・歯周歯内)

- 11:20~12:20 特別講演Ⅱ
- 12:30~13:30 編集連絡委員会 (B会場にて)
- 12:30~13:30 ランチョンセミナーⅢ (C会場にて)
- 12:30~13:30 ランチョンセミナーⅣ (D会場にて)
- 13:30~14:30 ポスター発表 (ポスター会場にて)
- 14:30~16:20 シンポジウムⅡ
- 14:30~16:00 研究発表 (B会場にて)
- 16:20~16:30 閉会の辞

## 第2日目 B会場

第2日目 6月28日(金) B会場(多目的ホール201+202)

9:00~11:10 研究発表

座長 須田英明(東医歯大院)

- B22-0900. (歯内) 骨髄液内で硬化させた4-META/MMA-TBBレジン表面への硬組織形成  
【2503】 .....○洲崎真希, 菅谷 勉, 中塚 愛, 柳澤 剛, 川浪雅光(北大院歯・歯周・歯内)
- B23-0910. (歯内) レジン系シーラーの種類と根管乾燥法の違いによる根尖封鎖性への影響  
【2503】 .....○中澤篤史, 菅谷 勉, 川浪雅光(北大院歯・歯周・歯内)
- B24-0920. (歯内) CT画像にみられる根管充填剤による歯根破折様アーチファクトについて  
【2304】 .....○飯久保正弘, 西岡高志, 笹野高嗣(東北大院歯・診断)  
小林 馨(鶴大歯・画像診断)  
有地榮一朗(愛院大歯・歯科放射線)

座長 小方頼昌(日大松戸歯)

- B25-0930. (歯周) Resveratrolがヒト歯肉上皮細胞の炎症性応答に及ぼす影響  
【2299】 .....○皆川高嘉(新大院医歯・口腔保健, 新大院医歯・歯周)  
奥井隆文, 多部田康一(新大院医歯・歯周)  
中島貴子(新大歯・総合診療)  
村上伸也(阪大院歯・免疫制御(治療))  
山崎和久(新大院医歯・口腔保健)
- B26-0940. (歯周) ヒト歯根膜細胞の老化により誘導されるSASPの解析  
【2504】 .....○池上久仁子, 山下元三, 山羽聡子, 中村友美, 森 健太, 栗田敏仁,  
柳田 学, 北村正博, 村上伸也(阪大院歯・免疫制御(治療))
- B27-0950. (歯周) 米ペプチドCLの歯周病原細菌内毒素活性の抑制効果  
【2504】 .....○高山沙織, 大久保信貴, 齋藤 淳(東歯大・歯周)  
加藤哲男(東歯大・化学)

座長 川浪雅光(北大院歯)

- B28-1010. (歯周) ゼラチンハイドロゲル徐放化多血小板血漿の歯周組織再生効果  
【3103】 .....○金指幹元, 長野孝俊, 五味一博(鶴大歯・歯周病)  
宮本正章(日医大病院・再生医療科)  
日下輝雄(経済産業省大臣官房情報システム厚生課厚生企画室)  
田畑泰彦(京大・再生医科学研究所)
- B29-1020. (歯周) 間葉系幹細胞由来軟骨細胞を用いた歯周組織の再生  
【3103】 .....○山中克之, 熊谷知弘((株)ジーシー)
- B30-1030. (歯周) 歯内-歯周病変ClassIIIに対して歯周組織再生療法を行った一症例  
【2504】 .....○高橋貫之, 河野智生, 梅田 誠(大歯大・歯周病)

座長 田上順次(東医歯大院)

- B31-1040. (修復) レジンコーティングがCAD/CAMセラミックアンレー修復の窩洞適合性に及ぼす影響  
【2603】 .....○前野雅彦(日歯大・接着, 保存)  
山田 正, 中村昇司, 柵木寿男, 奈良陽一郎(日歯大・接着)

- B32-1050. (修復) 噴霧注水における Er:YAG レーザー照射の除去効率について  
 【3101】 .....○横田啓太, 岩田有弘, 保尾謙三, 吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)
- B33-1100. (修復) 酸化チタンナノチューブの歯の漂白への応用:基礎特性評価①  
 【3102】 光触媒特性評価  
 .....○小松首人, 西田尚敬, 鈴木康一郎, 魯 灵, 古澤一範, 河村昌哲,  
 山本一世 (大歯大・保存)  
 関野 徹 (東北大・多元物質科学研究所)
- 11:20~12:20 特別講演Ⅱ (A会場にて)  
 12:30~13:30 編集連絡委員会  
 12:30~13:30 ランチョンセミナーⅢ (C会場にて)  
 12:30~13:30 ランチョンセミナーⅣ (D会場にて)  
 13:30~14:30 ポスター発表 (ポスター会場にて)  
 14:30~16:00 研究発表
- 座長 坂上竜資 (福歯大)
- B34-1430. (歯周) 新生児ラット頭蓋骨からの骨細胞様細胞の分離培養法  
 【3104】 .....○門倉弘志, 山崎崇秀, 和田康弘, 菊井徹哉, 西村 翼, 渡邊 崇,  
 横瀬敏志 (奥羽大歯・修復)
- B35-1440. (歯周) グラフェンおよび酸化グラフェンフィルムに対する生体反応  
 【3103】 .....○金山和泉, 宮治裕史, 西田絵利香, 井上加菜, 井原朝子,  
 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)  
 辻 妹井子 (三菱ガス化学(株))
- 座長 赤峰昭文 (九大院歯)
- B36-1450. (歯内) 海馬血流増加反応による歯髄痛評価の妥当性  
 【2205】 .....○長谷川誠実, 阿部徹也, 藤原正識, 本田公亮 (兵庫医大・歯科口腔外科)
- B37-1500. (歯内) 炎症惹起における NAF1 の分子機構解析  
 【2503】 .....○板東秀典 (阪大院歯・感染制御 (保存), 阪大院医・免疫フロンティア研究センター・  
 免疫発生学)  
 小椋英樹, 村上正晃 (阪大院医・免疫フロンティア研究センター・免疫発生学)  
 伊藤祥作, 林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))
- B38-1510. (その他) DPP4 阻害薬 SK-0403 はマクロファージ共培養における脂肪細胞の  
 【2499】 炎症性遺伝子の発現を抑制する  
 .....○新城尊徳, 永安慎太郎, 岩下未咲, 山下明子, 西村英紀 (広大病院・健康増進歯学)
- 座長 山本一世 (大歯大)
- B39-1530. (その他) 虎の門病院歯科における新患の主訴に関する調査  
 【2399】 .....○森上 誠, 陶山雄司, 杉崎順平, 宇野 滋, 山田敏元 (虎の門病院・歯科)
- B40-1540. (修復) う蝕病変の発生頻度および重症度に影響を与えるリスク要因の解析  
 【2501】 .....○永井真澄, 伊藤 中, 林 美加子 (阪大院歯・感染制御 (保存))
- B41-1550. (その他) 低出力パルス超音波のマウス筋芽細胞の分化に対する影響  
 【3104】 .....○玄 太裕, 下出 輝, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))  
 梶本忠保 (朝日大歯・口腔機能 (修復), 中部インプラントアカデミー)  
 山添光芳 (武庫川女子大・健康運動科学研究所)

## 第2日目 ポスター会場

第2日目 6月28日(金) ポスター会場(多目的ホール 203+204)

8:40~10:00 ポスター準備  
10:00~13:30 ポスター掲示  
13:30~14:30 ポスター発表  
14:30~16:30 ポスター掲示  
16:30~17:00 ポスター撤去

- P78. (修復) エナメル小柱の準静的および動的物性評価  
【2599】 .....○田中玲奈, 真鍋厚史(昭大歯・保存・美容歯科)  
宮崎 隆(昭大歯・保存・歯科理工)
- P79. (修復) ヒト歯髄由来線維芽細胞における MMPs 産生におよぼす small G protein の影響  
【2501】 .....○小正玲子, 竹内 摂, 谷本啓彰, 三木秀治, 野村雄司, 山本一世(大歯大・保存)  
合田征司, 堂前英資, 池尾 隆(大歯大・生化学)
- P80. (修復) クリアフィル® マジェスティ® ES フローの特性  
【2603】 .....○亀谷剛大, 辻 晶子, 石野博重(クラレノリタケデンタル(株))
- P81. (修復) フロワブルコンポジットレジン硬化初期の動向:  
【2604】 5級窩洞適合性, 歯質接着性および曲げ特性からの検討  
.....○入江正郎, 田仲持郎, 松本卓也(岡大院医歯薬・生体材料)  
吉山昌宏(岡大院医歯薬・保存修復)
- P82. (修復) 臼歯修復用フロアブルレジンの two-body wear  
【2603】 .....○平 賢久(日歯大新潟・総合診療, 保存II)  
高田真代, 有田祥子, 川嶋里貴(日歯大院新潟・硬組織機能治療)  
加藤千景, 鈴木雅也, 新海航一(日歯大新潟・保存II)
- P83. (修復) フロアブルタイプとペーストタイプコンポジットレジンの光照射前後の色調変化  
【2603】 .....○林 応璣, 白井エミ, 佐藤のどか, 山本雄嗣, 桃井保子(鶴大歯・保存修復)
- P84. (修復) 種々のコンポジットレジンにおける鏡面研磨された表面性状の評価  
【2603】 .....○岸本崇史, 友田篤臣, 鶴田あゆみ, 堅田和穂, 富士谷盛興,  
千田 彰(愛院大歯・保存修復)
- P85. (修復) コンポジットレジンの歯ブラシ摩耗について  
【2603】 一歯ブラシの毛の硬さ一  
.....○京泉秀明, 山田純嗣, 鈴木敏光, 真鍋厚史(昭大歯・保存・美容歯科)  
FINGER WJ, 兼平正史(東北大院歯・保存)
- P86. (修復) 修復用グラスアイオノマーセメントの感水に関する研究  
【2603】 .....○志賀華絵, 岡田伸男, 青島 久, 中村芳章, 千葉史子, 山本槇子,  
熊谷啓二, 工藤義之, 野田 守(岩医大歯・う蝕治療)
- P87. (修復) フッ素を含むフィッシャーシーラント材料のフッ素徐放量とリチャージに関する研究  
【2603】 .....○花村伊織, 滑川初枝, 代田あづさ(日歯大・総合診療)
- P88. (修復) 垂直歯根破折の接着再建・再植法に関する研究  
【2505】 一ポストの材質と装着材料が再建歯根の強度に及ぼす影響について  
.....○恩田康平, 初岡昌憲, 黄地智子, 宮地秀彦, 松田有之, 廣田陽平,  
貝本雅也, 藤原秀樹, 山本一世(大歯大・保存)



- P89. (修復) 動的荷重ストレスがレジンコアシステム応用コンポジットレジン直接修復の  
【2604】 辺縁封鎖性に及ぼす影響  
.....○小川信太郎, 柵木寿男, 奈良陽一郎 (日歯大・接着)
- P90. (修復) ジルコニアセラミックスとのレジン接着に及ぼす親水化処理の影響  
【2604】 .....○野呂明夫, 春山亜貴子, 浅見政子, 杉山利子, 杉山節子,  
近藤祥弘, 亀山敦史 (東歯大・総診)
- P91. (修復) 4-META を含有する市販シランカップリング材のジルコニアに対する接着性能  
【2604】 .....○小川弘美, 岩崎友美, 谷 千尋, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)  
宮崎 隆 (昭大歯・保存・歯科理工)
- P92. (修復) CAD/CAM 用ハイブリッドレジンブロックと技工用ハイブリッドレジンの着色変化の比較  
【2603】 .....○山口麻衣, 亀井千瑛, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)  
宮崎 隆 (昭大歯・保存・歯科理工)
- P93. (修復) 隣接面のプラークコントロールに関する研究  
【3002】 第4報 ホルダー型デンタルフロスによる人工歯隣接面のプラーク除去効率について  
.....○植松裕美 (鶴大歯・保存修復, 日歯大病院・歯科衛生士室)  
大塚良子, 中野正寛, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
- P94. (修復) 隣接面のプラークコントロールに関する研究  
【3002】 第5報 ワンタフトブラシによる人工歯隣接面のプラーク除去効率  
.....○中野正寛, 大塚良子, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)  
植松裕美 (鶴大歯・保存修復, 日歯大病院・歯科衛生士室)
- P95. (その他) ブラッシングによるコンポジットレジンの色調変化に関する研究  
【2605】 .....○菊地ひとみ, 宮崎晶子, 佐藤治美, 土田智子, 筒井紀子, 原田志保 (日歯大新潟短大)  
鈴木雅也, 新海航一 (日歯大新潟・保存II)  
両角祐子 (日歯大新潟・歯周病)  
今出昌一, 佐野 晃 (デンタルプロ (株))
- P96. (保存) 歯の着色部位の分布とその表面形状について  
【2599】 .....○村上義徳, 千葉厚子, 細矢 学, 矢納義高  
(花王 (株) ヒューマンヘルスケア研究センター・パーソナルケア研究所)
- P97. (修復) 漂白作用を備えた変色歯面塗布材の開発  
【2605】 .....○江本真規子, 川上克子, 徳田雅行, 鳥居光男 (鹿大院医歯・修復歯内)
- P98. (修復) 歯面コーティング材の象牙質接着強さ  
【3099】 .....○有田祥子, 高田真代, 川嶋里貴 (日歯大院新潟・硬組織機能治療)  
加藤千景, 鈴木雅也, 新海航一 (日歯大新潟・保存II)  
平 賢久 (日歯大新潟・総合診療)
- P99. (修復) フッ化炭素鎖を含む表面処理剤の歯科への応用 (XXI)  
【3102】 —Polymicrobial biofilms の脱離性—  
.....○寺中文字, 富山 潔, 三宅 香, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 大橋 桂,  
二瓶智太郎, 向井義晴, 寺中敏夫 (神歯大・保存)  
熊田秀文, 浜田信城 (神歯大・微生物)  
清水統太 (神歯大・有床補綴)  
好野則夫 (東理大工・工業化学)

## 第2日目 ポスター会場

- P100. (修復) 漂白剤の応用期間が歯面の色調と表面構造におよぼす影響  
【2605】 .....○手銭親良, 月野和 隆, 吉澤佑世, 松永健嗣, 末原正崇, 森永一喜 (東歯大・保存)
- P101. (修復) ブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略  
【2501】 —表層下脱灰病巣体部における唾液由来有機質のラマン分析とブリーチングによる変化—  
.....○飯塚純子, 向井義晴, 長谷川晴彦, 倉持江里香, 富山 潔,  
椎谷 亨, 寺中敏夫 (神歯大・保存)  
谷口紀江, 高垣裕子 (神歯大・生化学・分子生物)
- P102. (修復) アパタイト光触媒を利用した歯の漂白  
【2605】 —第2報 過炭酸ナトリウム/アパタイト光触媒系を利用した漂白—  
.....○野田陽子, 玄 太裕, 藤井和夫, 小竹宏朋, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))  
亀水秀男, 駒田裕子 (朝日大歯・歯科理工)
- P103. (修復) アパタイト光触媒 (La-OAP)/HAP 複合体の特性  
【3103】 .....○駒田裕子, 亀水秀男 (朝日大歯・歯科理工)  
野田陽子, 堀田正人 (朝日大歯・口腔機能 (修復))
- P104. (修復) 光干渉断層装置を用いた歯質の観察  
【2304】 —ホワイトニング前後の歯質の変化について 第2報—  
.....○松尾涼子, 小林幹宏, 真鍋厚史 (昭大歯・保存・美容歯科)  
千田真弓, 鹿熊秀雄 ((株) 吉田製作所)  
宮崎 隆 (昭大歯・保存・歯科理工)  
岡野友宏 (昭大歯・歯科放射線)
- P105. (修復) 骨粗鬆症モデル動物, 卵巣摘出ラットにおける炭酸ガスレーザーの組織学的研究  
【2201】 .....○和田康弘, 門倉弘志, 西村 翼, 渡辺 崇, 山崎崇秀,  
菊井徹哉, 横瀬敏志 (奥羽大歯・修復)
- P106. (その他) 上顎臼歯抜歯によるラット海馬歯状回での一酸化窒素産生動態  
【2205】 —*in vivo* brain micro dialysis 法による検討—  
.....○塚本亮一, 荒井清司, 前田隆秀 (日大松戸歯・小児歯科)
- P107. (その他) 象牙質知覚過敏抑制材 “ナノシール” に対する血液や唾液の影響  
【2502】 .....○矢作保澄, 山口博康 (鶴大歯・総合歯科)  
浅野倉栄 (鶴大歯・総合歯科, (医財) 共生会浅野歯科)  
横田兼欣, 常川勝由 (日本歯科薬品 (株))
- P108. (その他) 材料除去後の S-PRG フィラー配合材料の根面象牙質脱灰抑制効果  
【3102】 .....○宮田さほり, 田中佐織, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)  
松田康裕, 橋本直樹, 佐野英彦 (北大院歯・修復・歯内)
- P109. (その他) 唾液による総合的な口腔検査法の開発  
【2599】 (第4報) 多項目唾液検査システム (AL-55) の口腔状態の経時変化に対する  
モニタリングの基礎的検討  
.....○内山千代子, 高木悠希, 斉藤浩一, 西永英司, 山本高司, 村越倫明 (ライオン (株))  
福田 功, 大久保章男 (アークレイ (株))  
高橋亨典, 須崎 明, 有本憲弘, 松井 治, 五味明良, 富士谷盛興,  
千田 彰 (愛院大歯・保存修復)

- P110. (その他) 卒前臨床実習における新規教育プログラム「臨床実地問題作成演習」に関する  
 【2199】 学生アンケート調査  
 .....○加藤広之, 末原正崇 (東歯大・保存)  
 太田幹夫, 勢島 典, 齋藤 淳 (東歯大・歯周)  
 亀山敦史, 春山亜貴子 (東歯大・総診)
- P111. (その他) 兵庫医科大学病院における卒後臨床歯科研修の実際と今後の課題  
 【2111】 .....○本田公亮, 藤原正誠, 長谷川誠実 (兵庫医大・歯科口腔外科)
- P112. (その他) 研修歯科医が入力した修復分野に関するポートフォリオの質的分析  
 【2111】 .....○桑山香織, 河野隆幸, 塩津範子, 武田宏明, 大塚恵理,  
 鳥井康弘 (岡大病院・総合歯科)
- P113. (その他) ダイヤモンドパウダー配合歯磨剤の歯牙に対する影響について  
 【3002】 .....○橘 亜希, 長谷川謹崇 (サンスター (株))  
 藤澤考一 (サンスタースイスエスエー)
- P114. (歯内) 日本人における下顎第二大臼歯の槌状根の髓床底形態について  
 【2503】 .....○鈴木 誠, 中澤弘貴, 喜多詰規雄, 上田幾大, 富田 敬 (日大松戸歯・歯内)  
 辻本恭久, 松島 潔 (日大松戸歯・歯内, 日大口腔科学研究所)  
 金田 隆 (日大松戸歯・放射線, 日大口腔科学研究所)
- P115. (歯内) The Ability of Optical Coherence Tomography to Image Bone Lesion :  
 【2503】 Comparison between Porcine Maxilla and Mandible  
 .....○ DING J, WATANABE S, ANJO T, IINO Y, KOKUZAWA C, EBIHARA A, SUDA H  
 (Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences,  
 Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University)
- P116. (歯内) ヒト抜去歯を用いたマイクロ CT による歯髓腔の 3D 画像観察  
 【2503】 —内視鏡モードでの観察—  
 .....○安達詠子, 江面 晃 (日歯大新潟・総合診療)
- P117. (歯内) マイクロフォーカス X 線 CT 装置による下顎切歯根管形態の評価 (第 3 報)  
 【2503】 .....○西田太郎, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P118. (歯内) 量子ドットを使った D-グルコサミンの細胞内移行のナノイメージング解析  
 【2503】 第 3 報: 細胞膜を介した量子ドットの取込み状況  
 .....○井川一成, 林 善彦 (長大院医歯薬・齶蝕)  
 謝 明芳 ((株) ケア・フォー・バイオ事業部)  
 大庭英樹 ((株) ケア・フォー・バイオ事業部,  
 産業技術総合研究所・生産計測技術研究センター)
- P119. (歯内) ラット臼歯皮下移植後の歯髓腔内に出現する骨芽細胞様細胞  
 【2201】 .....○細矢明宏, 中村浩彰 (松歯大・口腔解剖 II)  
 吉羽邦彦, 吉羽永子 (新大院医歯・う蝕)  
 笠原悦男 (松歯大・保存 II)
- P120. (歯内) CFA 誘導性歯髓炎により発症する舌痛覚過敏に対する Toll-like Receptor 4 の関与  
 【2503】 .....○大原絹代, 清水康平, 勝呂 尚, 武市 収, 鶴町 保,  
 小木曾文内 (日大歯・歯内療法, 総合歯学研究所・機能形態)  
 平 亜希子 (日大歯・歯内療法)

第2日目 ポスター会場

掲示および発表なしのため削除

- P121. (歯内) .....メカカルストレスによりマウス歯髄組織に惹起される HSP 27 の発現  
【2202】 .....○佐藤将洋, 山本昭夫, 笠原悦男 (松歯大・保存Ⅱ)  
藤井健男 (松歯大病院・総合診療室)
- P122. (歯内) .....実験的歯髄炎はラット視床におけるミクログリアを活性化させる  
【2503】 .....○河村 隼, 砂川光宏 (東医歯大院・歯髄生物)  
金子友厚, 山中裕介, 伊藤崇史, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)  
須田英明 (東医歯大院・歯髄生物, 歯と骨の GCOE)
- P123. (歯内) .....ラット切歯実験的歯髄炎が幹細胞関連遺伝子の発現に与える影響  
【2503】 .....○伊藤崇史, 金子友厚, 山中裕介, 興地隆史 (新大院医歯・う蝕)
- P124. (歯内) ..... $\alpha$ -TCP/Te-CP セメントの覆髄剤への応用  
【2503】 .....3) 病理組織学的評価  
.....○武田進平, 河野 哲, 神山智佳子, 長谷川智哉,  
吉田隆一 (朝日大歯・口腔機能 (歯内))  
土井 豊 (朝日大歯・歯科理工)
- P125. (歯内) .....酸化マグネシウムを基材とした根管シーラーの接着に関する検討  
【2503】 .....○湯浅一洋, 間 奈津子, 山村啓介, 柏木 勢, 森永一喜 (東歯大・保存)
- P126. (歯内) .....新規イオン徐放性 S-PRG フィラー含有根管シーラーの生体適合性の検討  
【2503】 .....○田中佐織, 宮治裕史, 西田絵利香, 金山和泉, 加藤昭人,  
川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)  
中塚稔之 ((株) 松風)
- P127. (歯内) .....オレイン酸, ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした  
【2503】 .....新規根管充填用シーラーの寸法変化と硬化度  
.....○前田宗宏, 石塚克巳, 勝海一郎 (日歯大・保存)  
橋本修一 (日歯大・共同利用研究センター・RI 研究室)
- P128. (歯内) .....新規接着性レジン系シーラーのコロナルリーケージの評価  
【2503】 .....○大槻晴夏, 山本裕也, 小里達也 (サンメディカル (株) 研究開発部)  
若松尚吾, 山本憲廣, 池見宅司 (日大松戸歯・保存修復)  
松島 潔 (日大松戸歯・歯内)
- P129. (歯内) .....新たな接着性レジン系シーラーである MetaSEAL soft の除去に関する基礎的研究  
【2503】 .....○馬場俊晃, 五味博之, 酒井きよ美, 三浦孝司 (日大松戸歯・歯内)  
川島 正, 辻本恭久, 松島 潔 (日大松戸歯・歯内, 日大口腔科学研究所)
- P130. (歯内) .....新規接着性シーラーの細胞毒性について  
【2503】 .....○山本裕也, 大槻晴夏, 小里達也 (サンメディカル (株) 研究開発部)  
林 善彦 (長大院医歯葉・齶蝕)
- P131. (歯内) .....垂直破折歯根の破折間隙の化学的拡大が接着後の封鎖性に及ぼす効果  
【2503】 .....○西尾啓英, 菅谷 勉, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
- P132. (歯内) .....根管内歯根接着法による垂直歯根破折歯の破壊抵抗性に関する研究  
【2503】 .....○三橋 晃, 天川 丹, 川島栄里子, 石井信之 (神歯大・歯内)

- P133. (歯内) 多根歯における電気歯髄診査の反応  
 【2503】 .....○市古敬史, 大藏眞太郎, 小林 馨 (鶴大歯・口腔顎顔面放射線・画像診断)  
 矢作保澄, 山口博康 (鶴大歯病院・総合歯科)  
 八島章博 (鶴大歯・歯周病)  
 小林一行 (鶴大歯短大・歯科衛生科)
- P134. (修復) 深在性う蝕に対する歯髄温存療法と直接覆髄法の臨床成績について  
 【2501】 .....○今井文彰, 田崎達也, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)  
 山本 要, 細矢哲康 (鶴大歯・歯内療法)
- P135. (歯内) 矯正装置の違いにより挺出を行った2症例  
 【2503】 .....○今泉一郎, 鈴木洋子, 田中 毅, 北村成孝, 柴田直樹, 中田和彦,  
 中村 洋 (愛院大歯・歯内治療)
- P136. (歯内) 根未完成歯の長期的観察  
 【2503】 .....○佐々木重夫, 佐藤穂子, 釜田 朗, 今井啓全, 佐藤 克, 山崎信夫,  
 山田眞義, 木村裕一 (奥羽大歯・歯内)  
 齋藤高弘 (奥羽大歯・口腔衛生)
- P137. (歯内) Electro-Magnetic Apical Treatment  
 【2503】 ー嚢胞性疾患に対する対応ー  
 .....○富永敏彦, 坂東直樹 (徳大院・保存, (医)とみなが歯科医院)  
 湯本浩通, 平尾功治, 松尾敬志 (徳大院・保存)  
 平尾早希, 加古晋也, 前田やよい, 山口由美子, 高比良一輝 ((医)とみなが歯科医院)
- P138. (その他) ヒト *DMP-1* 遺伝子領域における long non-coding RNA の同定  
 【2599】 .....○星野博昭, 鈴木茂樹, 小武家誠司, 藤井理史, 西村英紀 (広大院医歯薬・健康増進)
- P139. (その他) 新たな骨分化メカニズムの解明 (WNT 活性化機序との関連)  
 【3104】 .....○月野和 隆, 吉澤佑世, 手銭親良, 間 奈津子, 森永一喜 (東歯大・保存)  
 小野寺晶子, 篠 宏美, 齋藤暁子, 東 俊文 (東歯大・生化学)
- P140. (その他) TGF- $\beta$ 1 による骨形成抑制作用時の WISP-2 発現と骨形成との関与  
 【3104】 .....○吉澤佑世, 月野和 隆, 手銭親良, 間 奈津子, 森永一喜 (東歯大・保存)  
 篠 宏美, 小野寺晶子, 齋藤暁子, 東 俊文 (東歯大・生化学)
- P141. (歯周) bFGF の非臨界骨欠損における血管新生および骨再生のエクソ線学的検討  
 【2504】 .....○木上理紗, 宇田川麻美, 土屋紀子, 津徳亮成 (日大院歯・応用口腔科学)  
 佐藤秀一, 伊藤公一 (日大歯・歯周病, 総合歯学研究所・高度先端医療)  
 新井嘉則 (日大歯)
- P142. (歯周) ラット頭頂骨に作製した骨欠損に対する PTH (1-34) の間歇投与の効果  
 【2504】 .....○津徳亮成, 吉巻友裕, 木上理紗 (日大院歯・応用口腔科学)  
 佐藤秀一, 山田 豊, 蓮池 聡, 伊藤公一 (日大歯・歯周病,  
 総合歯学研究所・高度先端医療)
- P143. (歯周) BMP とエムドゲインの併用が水平性骨欠損の歯周組織治癒に及ぼす影響  
 【2504】 .....○齋藤恵美子, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)  
 齋藤 彰, 弓削文彦, 中島利徳, 上北広樹 (北大院歯・リハビリ補綴)
- P144. (歯周) 三次元培養した間葉系幹細胞由来軟骨細胞を用いた歯周組織再生のメカニズム解析  
 【3103】 .....○山中克之, 熊谷知弘 ((株)ジーシー)

## 第2日目 ポスター会場

- P145. (歯周) Activin Aがヒト歯根膜細胞に及ぼす影響について  
【2504】 .....○杉井英樹, 山本直秀, 郡 勝明, 濱野さゆり, 長谷川大学, 祐田明香,  
寺松陽子, 吉田晋一郎 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存))  
前田英史, 和田尚久, 門野内 聡, 河野清美 (九大病院・歯内治療科)  
友清 淳 (アデレード大歯・歯周病)  
赤峰昭文 (九大院歯・口腔機能 (歯科保存), 九大病院・歯内治療科)
- P146. (歯周) 異なる濃度のナノβ-TCP分散液でコーティングしたコラーゲンスキャフォールドの特性評価  
【3103】 .....○宮治裕史, 西田絵利香, 村上秀輔, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
- P147. (歯周) エレクトロスピンニング法によるナノファイバーコラーゲン膜の作製  
【3103】 .....○村山 優, 牧村英樹, 大鹿沙弥香, 横田容子, 染井千佳子, 菊地信之,  
木村 功, 和田守康 (日大松戸歯・再生歯科治療)  
谷本安浩 (日大松戸歯・歯科生体材料)
- P148. (その他) *Porphyromonas gingivalis* からなるバイオフィルム性モデル実験系作製の試み  
【2203】 .....○藤原 守, 林 善彦 (長大院医歯葉・齲蝕)
- P149. (歯周) Papillon-Lefevre 症候群患者の口腔内細菌叢  
【2203】 ー特に歯周ポケット内細菌についてー  
.....○平田亮太郎 (日大松戸歯・口腔微生物)  
牧村英樹, 横田容子, 木村 功, 長濱文雄, 和田守康 (日大松戸歯・再生歯科治療)  
荒井清司, 前田隆秀 (日大松戸歯・小児歯科)
- P150. (歯周) 東京歯科大学水道橋病院における歯周外科治療の臨床結果  
【2504】 .....○早川裕記, 細川壮平, 古澤成博 (東歯大・口健・総歯)  
齋藤 淳 (東歯大・歯周)
- P151. (歯周) ヒノキチオール配合ジェルを用いた口腔ケアが口臭及び口腔内環境に与える影響  
【3001】 .....○伊波幸作, 鈴木奈央, 山田和彦, 岩元知之, 榎尾陽介, 藤本暁江, 瀬野恵衣,  
春名一人, 安 忠大, 入江丹佳子, 西原哲世, 仲西宏介, 廣藤卓雄 (福歯大・総合歯科)  
米田雅裕 (福歯大・口腔医療センター)
- P152. (歯周) 高齢双生児の歯周病における遺伝因子と環境因子の関与  
【2504】 .....○三木康史, 山下元三, 北垣次郎太, 池上久仁子, 久保田実木子, 栗田敏仁, 梶川哲宏,  
竹立匡秀, 柳田 学, 野崎剛徳, 山田 聡, 北村正博,  
村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))  
久留島悠子, 松田謙一, 池邊一典, 前田芳信 (阪大院歯・歯科補綴II)  
大阪ツインリサーチグループ
- P153. (歯周) 関節リウマチ患者におけるトシリズマブ治療の歯周状態への影響  
【2402】 .....○小林哲夫 (新大院医歯・歯周, 新大歯・総合診療)  
岡田 萌, 石田光平, 小島杏里, 吉江弘正 (新大院医歯・歯周)
- P154. (歯周) 励起蛍光を応用したプラーク認識除去システム  
【3101】 .....○伊佐津克彦, 高島英利, 長谷川篤司 (昭大歯・保存・総合診療)  
長田将治 (長田電機工業 (株))

## 講演抄録

特別講演Ⅰ	2
特別講演Ⅱ	3
シンポジウムⅠ	4
シンポジウムⅡ	10
認定研修会	14
ランチョンセミナーⅠ	15
ランチョンセミナーⅡ	16
ランチョンセミナーⅢ	17
ランチョンセミナーⅣ	18

### 一般研究発表

#### □演発表

第1日目A会場：A1～11	19～29
第1日目B会場：B1～21	30～50
第2日目A会場：A12～23	51～62
第2日目B会場：B22～41	63～82
第1日目ポスター発表：P1～77	83～159
第2日目ポスター発表：P78～154	160～236

## 歯周組織およびインプラントサイトの再生療法について

船越歯科歯周病研究所・船越歯科医院

船越栄次

歯周治療の主な目的は、患者によるプラークコントロールを行いやすい口腔内環境を作り出すことにより、歯牙や歯周組織を長期的に保持することである。そのためには歯周疾患の原因を徹底的に取り除くとともに、清掃を困難とする深いポケットを除去し、小帯異常などの歯肉歯槽粘膜の問題点を改善することが重要である。1970年代までは切除療法や歯肉歯槽粘膜形成外科（MGS）が歯周治療の主流であった。しかしながら、すでに進行した重度歯周炎に切除療法を実施することは、歯根露出による審美性の問題、さらには知覚過敏症、根面齲蝕の増加等の問題が指摘され始めた。また、切除療法による治癒の多くは、長い上皮性付着に代表される「修復」であり、歯周組織を構成するセメント質、歯根膜、歯槽骨の「再生」は認められなかった。これらの問題点を改善し、さらに歯周組織の真の再生を目指した新しい治療法として、細胞遮断膜を用いた歯周組織誘導再生療法（GTR法）が1970年代後半から1980年代前半にかけて考案された。

1982年、Nymanらはヒトにおいて初めて歯肉上皮や結合組織由来細胞を排除し、歯根膜由来細胞の増殖のためのスペースの確保をすることによって、新付着や歯周組織再生を引き起こすことを証明した。このようにして細胞遮断膜を用いることで、破壊された歯周組織の真の再生を目指した歯周組織誘導再生療法（GTR法：機械的再生療法）の臨床応用が始まった。

このGTR法が機械的再生療法と定義されるのに対し、エナメル関連タンパク質（EMD）を用いた治療法を生物学的再生療法と呼ぶ。生物学的再生療法は、1982年、Hammarstromらが歯周組織の形成にEMDが関与することを発見したことに基づいており、EMDは、発生期の歯の発達、特に歯根と支持組織の発生を含める生物学的プロセスを模倣することで、歯周組織再生を促進する再生材料である。歯根象牙質の表面にEMDを塗布することにより、セメント芽細胞が誘導され無細胞性セメント質が生成される。次に線維芽細胞や骨芽細胞が誘導されて、歯根膜や歯槽骨が再生される。1990年代後半より、幼若ブタの永久歯胚から抽出されたEMDがエムドゲインという商品名で臨床に応用され始め、今日では、この生物学的原理をもつ予知性の高い歯周組織再生療法が世界中の多くの臨床家に認知されている。

また、最近では種々のサイトカインを応用したサイトカイン療法（FGF, PDGF, BDNF）の研究や、患者自身の細胞を用いたオーダーメイド治療（Tissue Engineering）が急速に発展しつつあることも事実である。

こうした種々の再生療法により、以前では抜歯の適応であった歯牙を保存できるようになった。一方で、1969年Brånemarkらによって開発されたインプラントは歯牙の喪失を余儀なくされた部位を再建し、その臨床結果が大変素晴らしいものであったことは周知のことである。その後、世界中でインプラントの研究や開発が非常に活発になり、今日ではインプラントの適応症も当初に比べ大きく拡大し、上顎洞底と歯槽骨頂間の不十分な距離に対する洞底挙上術や、歯槽骨量不足に対するGBR法によるインプラント治療法も今日では標準的となったといえる。インプラントサイトの骨再生療法（GBR）は、次第にGTR法の応用の発展として盛んに実施されるようになった。

しかしこの従来のGBR法は、需要側の膜を完全に一次閉鎖するための骨膜減張切開の付与、また供給側の骨移植材採取による外科的侵襲は患者の苦痛が大きく、術後の腫れや疼痛が生じる欠点があった。そのため、骨膜減張切開を行わず、GBR膜を口腔内に露出させた状態で管理し、粒子状骨補填材に多血漿血小板血漿やEMDといったsignaling moleculesを併用するオープンバリアメンブレンテクニックを2002年より当院において実施したところ、良好な結果を得ることができた。

そこで今回、まず私の診療所において1988年から約20年という長期間にわたって臨床に応用してきたGTR法の術式や治療結果、また1998年以来今日まで取り組んでいる、より侵襲性の少ない再生療法である生物学的再生療法（EMD法）の術式、治療結果について考察してみたい。さらに、2002年より取り組んでいる侵襲性を抑えた術式として、Tissue Engineering Triadのコンセプトに基づいたインプラントサイトの骨再生療法（GBR）の結果や、今後の臨床応用の可能性についても述べてみたい。



## 治らない歯痛とどう闘うか？—歯科心身医学の立場から—

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯科心身医学分野

豊福 明

近年、わが国では歯科界の献身的努力によって古典的なう蝕が激減した。一方で、通常の歯科治療を行っても改善しない「歯痛」や「咬合の異常感」が問題になっている。これらの病態は、それぞれ phantom tooth pain (Atypical Odontalgia), phantom bite syndrome と呼ばれてきた。おのおのが単独症状のこともあれば、咬合調整などの処置を機に痛みから咬合へ、あるいは咬合から痛みへと両者を合併してくる場合もしばしばある。また歯周病のコントロールはよいのに、口腔内の「ヌルヌル、ベタベタ」などという訴えに困惑させられることもある。昨今、大学病院の保存科は、このような難儀な患者で溢れかえっていると聞く。

同様のテーマは JADA などでもたびたび取り上げられ、かの地でも歯科臨床上の問題になっていることがうかがい知れる。しかし、相変わらずパンセのなかの1文のごとく「我々は絶壁が見えないようにするために何か目を遮るものを前方に置いた後、安心して絶壁の方に走っている」。

歯痛や咬合の診断は案外難しい。必ずしも教科書どおりではすまないことがしばしばある。従来型診断では事前の鑑別が困難で、処置をしたらしたで病態に修飾がかかる。治療が難航して初めて、atypicalだと気づかされることも多い。

従来このような愁訴には、メンタルな問題の関与が指摘されてきた。確かに、基盤に潜む精神科的疾患のスクリーニングは大きな課題である。精神疾患が即、原因になるということではなく、痛みなどの表現型に大きな修飾を受ける可能性が高いからである。しかし、実は Atypical Odontalgia の精神科疾患の合併率は巷にいわれているほど高くはない。また、いわゆるストレスといった心理社会的因子についても、無視はできないものどこまで症状と関連しているのかは定かではない。

われわれが難渋している相手は、実は「痛覚」ではなく「痛み」、歯の接触関係ではなく脳内の表象 representation としての咬合であることに注意が必要である。このような phantom sensation が病態の中核となる歯科心身症は、歯科医師と精神科医が集まり、それぞれの担当部分を分担治療すれば制圧できるという疾患ではない。中枢を巻き込んだ歯科的症状、いわば心と歯が複雑に絡み合った病態に対応しうる総合的歯科医療が必要と考えている。

では、Phantom bite, phantom tooth pain など口の中の phantom にどう対峙するか？ このような pain も bite も conventional な歯科的処置を繰り返すほど難治化する。皮肉なことに抜髄・抜歯など「保険的には正しい」処置が症状の拡大と歯の喪失につながり、ますます患者を苦しめていくことになる。一方、苦しむ患者に向かって「この痛みは治らない」などと呪詛をかけたり、ろくな評価もなしに「精神科に行け」と突き放す歯科医師もいまだに散見される。肝心の精神科では、特に問題ないと診断され「歯の問題なら歯科へ」と突き返される。安易な思考停止を続けていては、患者からそっぽを向かれ、歯科医療を毀損するばかりとなる。

われわれは歯科心身医学の立場から、口腔内の phantom phenomenon について臨床的研究を積み重ねてきた。作業仮説として、特に 5-HT や NA もしくは DA 系の neurotransmitters の異常と大脳皮質連合野レベルでの情報処理過程のひずみに着目してきた。これらの病態はあくまでも syndrome であり、単一の原因に帰するのではない。いくつかの原因別の subtype に分けられ、おのおの治療法も異なってくると考えている。明確な精神科疾患や心理社会的因子の関与がない患者なら、Tricyclic antidepressants (TCAs) や dopamine partial agonist (DPA) などで治療可能な確率が高い。いかにも特殊な様相の患者ではなく、一見普通にみえる患者にこそ注意を喚起したい。特に前医のイレギュラーな処置をみつけたら、phantom を念頭におき、一步踏みとどまる勇気も必要と思われる。

本講演では、phantom tooth pain と phantom bite syndrome を中心に、口腔領域の phantom phenomenon の臨床的特徴と鑑別法、さらに患者への説明の仕方を含めた対処法について概説する。また歯周病患者にしばしば混在する「ヌルヌル、ベタベタ」などという奇異な訴えについて、われわれが Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) を用いた脳機能画像研究で得た最近の知見を紹介したい。

## シンポジウムのねらい

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

北村知昭

歯科医師の役割は、国民が快適な生活を送れるよう最善の歯科医療を提供することである。診療室では歯・歯髄を保存するために最大限の努力が払われ、研究室ではより良い治療技術の確立を目的に研究が進められている。本学会においても、30年以上にわたって歯の保存を目的とした歯髄の創傷治癒・再生に関する研究は注目され、関連したシンポジウムが何度も開催されている。しかしながら、歯科医師が行っている治療法は依然として従来どおりの覆髄法、抜髄・根管充填法である。それほど、感染・炎症を制御し歯髄を保存するための新技術確立への道程は険しく、歯髄の創傷治癒・再生療法に関する研究はいまだチャレンジの段階といえる。

ここで、創傷治癒研究と再生医療研究のかかわりを考えておく必要がある。創傷治癒は凝固、炎症、細胞増殖、修復というプロセスから構成され、その主役は細胞、成長因子、細胞外マトリックスである。一方、組織再生の主役は細胞、成長因子、生体材料といった3要素といわれている。近年のトピックであるiPS細胞であっても、そのポテンシャルを十分に引き出すには細胞周囲環境を構築する技術の確立、ターゲット組織（細胞）がもつ潜在能力の誘導、これらを可能にする生体材料の開発等、創傷治癒研究と同様に多様なアプローチが必要である。創傷治癒と再生医療に関する研究領域は隣合わせであり、両者は絶えずクロストークしている。

本シンポジウムでは、諸富孝彦先生、高橋雄介先生、鈴木茂樹先生、鷲尾絢子先生、庵原耕一郎先生という5名の若手研究者にプレゼンテーションをお願いした。各先生は、独自のアプローチによって研究を展開されており、新しい歯髄創傷治癒・再生に関する研究をご紹介いただけると考えている。エネルギー溢れる研究者たちによる本シンポジウムが、歯髄の創傷治癒・再生に関する研究を次のステップへと進めるためのマイルストーンになることを期待している。

## 演題 1：断髄後の象牙質-歯髄複合体再生療法の確立のための材料および手技の開発

福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野

諸富孝彦

歯髄は歯の知覚、栄養、免疫、修復などをつかさどり、健全な歯の機能維持に不可欠な役割を果たす組織である。その一方で、歯髄は硬組織に囲まれた閉鎖空間に近い特殊な環境に存在するため、コンプライアンスの低い組織である。現在各種の歯髄保存療法が用いられているが、処置を行ううえでの診断基準は明確とはいえず、予後も不安定である。さらに歯髄炎は患者に耐えがたい疼痛を与えるが、消炎処置の効果は限定的であるため、臨床上加髄処置が選択されることも少なくない。よって、現時点では加髄処置が選択される状態に陥った歯髄の保存を可能とする新たな治療法の確立は、歯の保存を通じて健康寿命の延長にも貢献すると思われる。そのためわれわれは、現在臨床応用されている薬剤・材料や手技を応用することで、一般的な歯科診療所でも処置が可能な象牙質-歯髄複合体再生療法の確立を目指している。

現在行われている断髄法では冠部歯髄は失われたままになるうえ、断髄部下層に形成されるデンティンブリッジも封鎖性に劣るとの報告がある。組織再生には幹細胞、成長因子/生体活性因子、そしてスキャホールドの主要3因子に加え、毛細血管網の構築と閉鎖空間が必要とされるが、断髄後には根部歯髄内に歯髄幹細胞および毛細血管が存在し、また確実な仮封により閉鎖空間を得ることができる。そこで、成長因子とスキャホールドを用いて断髄後の象牙質-歯髄複合体再生を可能とする治療法を検討した。細胞増殖および血管誘導能を有し、医科領域で臨床応用されている線維芽細胞増殖因子 (FGF)-2 を、京都大学再生医科学研究所の田畑泰彦教授らが開発したゼラチンハイドロゲルを用いて投与することで、ラット臼歯の断髄部に、咬合面側に象牙質様硬組織を有する歯髄を再生させることができた。またスキャホールド材としては、コラーゲンスポンジと比較してヒアルロン酸スポンジのもつ有用性が確認された。

一方、現時点で理想的な質・量の象牙質様硬組織再生にいたってはいないため、積極的な硬組織の形成誘導が必要と思われる。そのため、骨と直接結合する生体活性セラミックス材料であり、骨補填材として臨床応用されている生体活性ガラス (BAG) の応用を検討している。これまでの研究で、BAG により象牙芽細胞の象牙質基質形成能が促進されることが確認され、象牙質形成誘導能を有する補填材・スキャホールド材としての応用が期待できる。他方、歯髄由来の象牙芽細胞前駆細胞様細胞は熱刺激によって分化能および象牙質基質形成能が亢進されることが確認され、薬剤・材料に頼らない象牙芽細胞分化誘導法についても検討中である。

断髄時の刺激は、根部に残存する歯髄に傷害を与え壊死に陥らせる可能性があるため、断髄後の象牙質-歯髄複合体再生療法を確立するためには歯髄に傷害を与えにくい断髄方法の確立が必要である。そこで現在、歯髄を刺激しにくい断髄の手法と、歯髄の刺激への耐性を向上させる方法について両面から検討している。炎症が惹起された歯髄は内圧が著しく上昇し、血流障害を招き虚血状態に陥る。また、処置に際して用いられる局所麻酔剤が含有する血管収縮剤の作用も歯髄の虚血を招く。これまでの研究で、虚血によりもたらされる栄養障害は歯髄由来細胞にアポトーシスを誘導することや、熱抵抗性を減弱させることが確認された。また、歯髄にあらかじめ軽度の熱刺激を与えることで、熱ショックタンパク群の発現増強と細胞周期の一過性の停止が誘導され、歯髄細胞に致死的な熱刺激への耐性を獲得させることが可能であることを確認した。

以上の知見を基に研究を進展させ、断髄後の象牙質-歯髄複合体再生療法を実現させたいと考えている。

## 演題2：MMP ファミリー分子と象牙質-歯髄複合体の創傷治癒

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座（歯科保存学教室）

高橋雄介

近年、Minimal Intervention の概念が普及するにつれて、歯髄保存の意義がますます重要視されるようになってきた。これまで歯科臨床で覆髄材として用いられてきた水酸化カルシウム製材、コンポジットレジン、さらには MTA も含めた材料は、象牙質-歯髄複合体の治癒メカニズムに基づいて開発された材料ではない。原生象牙質の発生メカニズムについてはこれまでにさまざまな報告がなされており、多くのことがわかってきているが、非生理的な刺激によって形成される第三象牙質の形成メカニズム、すなわち象牙質-歯髄複合体の治癒機転については、いまだに不明な点が多いからである。象牙質-歯髄複合体の創傷治癒メカニズムを明らかにすることで、いわゆる Evidence Based な覆髄材の開発をわれわれはゴールと考えている。

われわれは、これまでラットを用いた動物実験系にて、第三象牙質形成過程における特定分子の発現を評価する研究を行ってきたが、傷害を受けた歯髄においてどのような分子が発現し、歯髄を治癒に導くのかについては不明であったことから、窩洞形成後のラット歯髄細胞において、発現変動している遺伝子についてマイクロアレイを用いた網羅的な解析を行った。その結果、多くの遺伝子発現が変動することが明らかとなったが、創傷治癒や血管新生、細胞外基質のリモデリングに関与していると報告のある Matrix Metalloproteinase (MMP) ファミリー分子 (*MMP3*, *MMP13*) の発現が継続的に上昇していた。上記に加えて、*Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1 (TIMP1)* はほかの MMP ファミリー分子と比較して、歯髄内で特に強い発現を継続的に示し、歯髄の創傷治癒に大きな影響を与える可能性が示唆された。また、骨芽細胞の分化過程や骨折時の創傷治癒時に活性化されることが報告されている Wnt/ $\beta$ -catenin 経路が窩洞形成後の歯髄においても活性化されることが示され、さらには歯髄において発現が上昇している *TIMP1* の発現に Wnt/ $\beta$ -catenin 経路が影響を与えることをこれまでに報告してきた。

一方、象牙質の有機成分中に含まれる細胞外基質タンパクには、成長因子をはじめとするさまざまな生理活性物質が含まれていることがわかっている。また、腎臓などの臓器において、酸やプロテアーゼなどにより侵襲、分解を受けた基質タンパクが組織の創傷治癒や再生を促進するという報告が認められる。同様に、う蝕に罹患して侵襲を受けた象牙質において、無機質は脱灰され、有機成分はその侵襲によって露出し、う蝕関連細菌の酸やプロテアーゼの侵襲を受けることとなる。さらに、象牙質の有機成分中に含有されているプロテアーゼ (MMP ファミリー分子など) によっても、細胞外基質タンパクは分解を受ける可能性がある。そこでわれわれは、精製した象牙質基質タンパクにう蝕の侵襲と類似した酸刺激を加えることで、歯髄細胞に与える影響について検討を行ったところ、乳酸もしくは酢酸による刺激で、歯髄の未分化間葉系細胞の走化性の向上や象牙芽細胞様細胞の石灰化が促進されることが明らかとなった。また、MMP ファミリー分子で分解された象牙質基質タンパクが歯髄細胞に与える影響についても検討を行ったところ、象牙芽細胞様細胞や歯髄初代培養細胞の増殖や分化が促進されることが明らかとなった。今後、さらに詳細な解析を行うとともに、象牙質基質タンパク分解産物の同定を行い、同定されたタンパクを用いた覆髄実験を計画している。

以上のように、歯髄ならびに象牙質で発現する MMP ファミリー分子が象牙質-歯髄複合体の創傷治癒に与える影響について現在もさまざまな角度から検討を加えているが、最終目標としては、歯髄に創傷治癒機転を起こさせるような覆髄材の開発を念頭に研究を行っている。

われわれの目指す Pulp Wound Healing and Regeneration は古典的手法であるが、かつ実際の臨床にすぐに導入可能な「生物学的覆髄」にあると考えており、他のシンポジストの先生方と討論を加えたい。

### 演題3：内在性 Wnt による歯髄創傷治癒促進効果と Dentin Phosphoprotein による硬組織形成作用の検討

広島大学大学院医歯薬学保健学研究院 総合研究科学部門 健康増進歯学分野

鈴木茂樹

現在、覆髄材として臨床応用されている水酸化カルシウム製剤や Mineral trioxide aggregate (MTA) セメントは、その高い pH による抗炎症作用や壊死層下の硬組織形成が特徴的である。一方、う蝕に限らず外傷や破折などによる露髄を歯髄の機械的損傷と捉えれば、レジンによる直接覆髄を含め、これまでに臨床応用されている材料のなかで歯髄組織の創傷治癒機転を積極的に促進する材料は見当たらない。そこで、われわれの研究室では、成長因子として Wnt に、細胞外基質および細胞刺激因子として Dentin phosphoprotein (DPP) に着目している。これら因子の組み換えタンパクを用いて、これまで抜髄を余儀なくされていたような比較的大きな露髄歯に対しても適応が可能となりうる創傷治癒促進材料としての覆髄材開発を最終目標とし、基礎的実験を行っている。

Wnt は、初期発生・形態形成や器官形成に必須の成長因子であるとともに、成体においては皮膚・骨・網膜組織が受傷した際に周囲でその発現が誘発され、創傷治癒を促進することが明らかとなっている。しかしながら、歯髄組織において Wnt が創傷治癒を促進するか否かはいまだ明らかではない。そこでわれわれは、組み換え Wnt タンパクの覆髄材としての応用の可能性を、遺伝子改変マウスを用いて *in vivo* で検討している。受傷後に分泌される Wnt に対する周囲細胞の刺激応答が、増幅および延長されるように遺伝子改変されたマウス (Axin-related protein-2 (Axin2) 欠損マウス) を用い、その臼歯に実験的露髄面を作製し、内在性 Wnt の歯髄組織創傷治癒に対する影響および効果を検討している。実験的露髄を行った Axin2 欠損マウスと野生型マウス臼歯での経時的な創傷治癒反応を、組織学的観察、免疫組織学的手法および  $\mu$ CT による定量解析により多角的に比較し、Wnt シグナルが歯髄組織創傷治癒を促進させるためのターゲットとなりうるかを検討した結果を、発表でお示しする予定である。

一方、象牙質で最も多量な非コラーゲンタンパクである DPP は、細胞外基質として象牙質の石灰化に必須の役割を果たすことがこれまで詳細に報告されている。さらに近年、その細胞刺激因子としての機能も注目されてきている。そこでわれわれは、DPP の臨床応用を想定し、真核細胞由来組み換え DPP タンパクの精製を行っている。DPP は、その塩基配列中央部が長い繰り返し配列からなるゆえにクローニングが困難であったこと、および DPP の高い酸性度により組み換えタンパク産生細胞での大量発現が困難であったことから、これまで組み換え DPP タンパクを用いた研究報告は多くない。われわれはこれら諸問題を克服し、基礎実験に供するに十分量の組み換えタンパク精製を可能にした。また、DPP は Dentin sialophosphoprotein (DSPP) という precursor タンパクから開裂され生成されるが、近年開裂されない全長 DSPP タンパクも成体内に一定量存在することが明らかとなってきている。興味深いことに、石灰化組織に存在する DPP に対して、この全長 DSPP は主に歯髄組織など非石灰化組織に存在するとの報告がある。ゆえに、DPP との機能差異を明らかにするために、DPP 同様に DSPP 組み換えタンパクも作製した。発表では、これら組み換えタンパクならびに過剰発現細胞を用いて、細胞分化誘導因子としての DPP および DSPP の機能を検討した結果をお示しする予定である。現在、Wnt と DPP に関し個別にその機能解析を行っている段階であるが、これら併用による相乗効果を期待した直接覆髄材の開発も視野に入れて研究を進めている段階である。

## 演題 4：ハイブリッド型歯髄組織誘導を目指したバイオガラス配合セメントの応用

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

鷺尾絢子

国民の QOL 向上に健全な歯の維持が重要であること、健全な歯の維持には歯髄が重要な役割を果たしていることは周知の事実であり、生活歯髄保護・保存の重要性は広く認知されている。多くの歯科医師は、小規模な露髄に対して歯髄保存療法を実践しており、効果的な生体材料に関する報告もされている。しかし、広範囲にわたる感染により重篤な傷害を受けた歯髄の保護は困難で、現状では抜歯を行わざるを得ない。また、近年では専用機器と技術を駆使することで高精度な歯内治療が可能となっているが、複雑な歯・根尖歯周組織の解剖学的形態の前では高精度歯内治療にも限界があり、根尖病変の再発や抜歯にいたるのが現状である。現在、国内外で歯の再生に関する研究が進められている。昨年、京都大学山中教授がノーベル賞を受賞されたことにより、これまで以上に iPS 細胞を応用した再生医療が注目されており、歯の再生療法の研究においても同様である。しかしながら、再生療法の確立には iPS 細胞の応用技術以外にも、細胞周囲の環境を構築する生体材料・技術の開発が必要である。

われわれは歯髄保護処置や歯内治療を行ううえで、残存歯髄を利用した象牙質・歯髄複合体の再生誘導治療を確立することが重要であると考えている。

これまでにわれわれは、*in vivo* においてラット臼歯断髄部に線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 徐放性ゼラチンハイドロゲル粒子を応用し、象牙質欠損部への残存歯髄からの歯髄組織増殖および新生象牙質形成が誘導されることを明らかにしてきた。さらに、*in vitro* において、FGF-2 の象牙芽細胞様細胞株 (KN-3) に及ぼす影響を検討した。FGF-2 は KN-3 細胞の形態変化 (細胞突起伸長)、および象牙芽細胞への分化に影響を与えることなど、歯髄創傷治癒メカニズムの一端を明らかにしてきた。

一方で、適切な再生誘導治療が行われるには、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セメントが必要不可欠である。現在までにさまざまなセメントが臨床応用されている。なかでも Mineral trioxide aggregate (MTA) は、臨床成績が良好であり、多くの研究者がそのメカニズムの解明を行っているが、問題点も報告されている。われわれは、これらの問題点を改善し、生体材料として明確な組成や良好な封鎖性を獲得するための組織との融合、および生体親和性や硬組織形成誘導能などの所要性質を有するセメントの開発を第一の目標として、整形外科領域を中心に使用されている生体医療材料の一種である「バイオガラス」の歯科領域への応用に着手している。歯科医療での「バイオガラス」の応用研究は、無機物質の優位性を再度確立できるとともに、歯科用生体材料の発展に大きく寄与すると考えている。

今回、発表のフォーカスとしている「バイオガラス」を配合したセメント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、およびセメントとしての有用性について報告する。さらに、このセメントをスキヤフォールドとして応用し、FGF-2 等の成長因子を用いてのハイブリッド型象牙質・歯髄複合体の再生誘導アプローチについて提示し、「Pulp Wound Healing & Regeneration」の可能性を示したい。

## 演題5：歯髄幹細胞を用いた抜髄後歯髄再生治療法の開発

国立長寿医療センター研究所歯科口腔先進医療開発センター再生歯科医療研究部

庵原耕一郎

近年、さまざまな疾病に起因した組織や器官の傷害や機能不全に対して、間葉系幹細胞を用いた再生医療の臨床研究あるいは治験が行われている。歯科領域においても、歯根膜幹細胞、骨髄幹細胞を用いて歯周組織や歯槽骨を再生させる臨床研究が行われているが、歯髄幹細胞等を用いた歯内治療における臨床研究の報告はいまだみられない。一方、幹細胞を臨床研究で用いるためには「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に従って臨床グレードの幹細胞を製造加工する必要がある。よって、今回われわれは、Good Manufacturing Practice (GMP) 準拠で標準作業手順書 (Standard Operating Procedure, SOP) に基づき歯髄幹細胞を製造加工し、この細胞の品質と安全性を厳密に評価した。すなわち、同意を得て提供された歯牙を GMP 準拠細胞加工施設アイソレータ内に輸送し、採取した歯髄組織から酵素消化法にて歯髄細胞を分離・培養後、granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) 濃度勾配を利用した膜遊走分取法により歯髄幹細胞を分取した。また、分取後継代し 7, 15, 20 代目において、プログラムフリーザーを用いて凍結保存した。

まず、品質検査としてこの細胞の無菌試験、生存率、細胞増殖、細胞形質を確認した。凍結保存された細胞から細菌、マイコプラズマ、エンドトキシン、ウイルスの各種感染は認められず、エンドトキシンは 1.0 (PG/ml) 以下であった。また、生存率は 80% 以上あり、細胞増殖にも問題はみられなかった。また、7 代目の歯髄幹細胞の表面抗原マーカーの発現率をフローサイトメトリーにて測定したところ、CD29, 44, 73, 90, 105 陽性率は 95% 以上で、CD31 は陰性であった。次に安全性試験として、NOD/SCID マウスまたは KSN nude マウスを用いて、精巣および皮下に 15 代目歯髄幹細胞を移植して造腫瘍試験を行い、20 代目歯髄幹細胞を用いて核型解析を Q バンド解析法にて行った。移植したマウスにおいては腫瘍の形成はみられず、細胞の染色体異常・核型異常もみられなかった。これらの結果より、GMP 準拠にて製造加工したヒト歯髄幹細胞の品質と安全性が示された。

また、イヌにおいて有効性の確認のため、ヒトと同様に歯髄幹細胞を分取、増幅した後、G-CSF およびアテロコラーゲンとともに、抜髄した根管に自家移植を行った。この結果、歯髄幹細胞と G-CSF との相乗効果により、血管・神経を伴う歯髄様組織が再生された。また、再生された歯髄組織は血流が回復し、電気歯髄診断にて生活反応を示したところから、歯髄組織としての機能も再生していることが示された。歯髄幹細胞および G-CSF を用いた歯髄再生治療の有効性が明らかとなった。さらに、同様にイヌの根管に、DiI にて染色した細胞と G-CSF をともに移植したものと細胞のみ移植したものを 36, 60 時間後に顎骨ごと採取し、蛍光観察したところ、細胞のみ移植したサンプルでは根尖外に細胞の浸出がみられたが、細胞と G-CSF をともに移植したものでは移植細胞の根尖外への漏出はみられなかった。また、自家移植したイヌの剖検を行ったところ、各臓器において異常はみられず、安全性が確認された。

現在、この細胞を用いた歯髄再生治療の安全性・有効性を確認する臨床研究を行っており、この研究を基に、新たな幹細胞を用いた歯内治療法の実用化を目指したい。

## シンポジウムのねらい

奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野

木村裕一

今回の学会のテーマは、「痛みの制御」と「再生医療」である。そこで、本シンポジウムでは、各分野の第一線でご活躍されている、慶應義塾大学の和嶋浩一先生、東京医科歯科大学の川島伸之先生、東京女子医科大学の岩田隆紀先生にご講演いただくことで、最近大きく変化しているこの二つの大きなテーマの現状を知り、今後の臨床・研究の一助としていただくことで企画した。

### 1. 痛みの制御

歯科を訪れる患者の主訴として、痛みは最も多いと考えられるが、そのほとんどがなんらかの疾患の一症状である。一般的に、痛みは症候であって、疾患そのものではない。そして警告反応として痛みが発現しているので、原因療法により原因となっている疾患が治癒すれば、通常は痛みも消失する。しかしながら、痛みを発現する疾患や異常には種々のものがあり、また同じ疾患でもステージにより痛みの症状は異なるので、その診断は容易ではない。

痛みの原因は何であっても、痛みは脳の働きで起こり、大変扱いにくいものである。なぜなら痛みは他人と共有することはできないので、あくまで主観的な意識内容として取り扱わざるをえないという難しさがあるからである。日々の臨床では、患者の痛みをいかにコントロールするのかが、大変重要である。このシンポジウムでは患者の痛みをどのように捉えるかについて紹介する。

### 2. 再生医療

再生医療を行う手法として臓器培養、多能性幹細胞（ES細胞、iPS細胞）の利用、自己組織誘導の研究などがある。近年の再生医療の発展に伴い、歯科領域でも研究や臨床に展開されている。そこで、まず歯科保存領域における再生療法として、幹細胞による歯髄再生療法について紹介する。歯髄組織は最良の根管充填材ともいわれているように、歯髄組織が再生できるならこれに勝る材料はないと考えられる。次に、日本は超高齢社会を迎えており、歯周病の罹患率も高まり、歯の喪失原因として歯周病の存在が大きく占め、したがって歯周組織再生療法への期待は高まっている。このことを考慮し、細胞シートを用いた歯周組織再生療法について紹介する。このシンポジウムでは歯科保存領域における再生医療の現状をわかりやすく紹介し、将来の再生医療の方向性をともに考え、その発展に寄与することをねらいとする。



## 演題 1：歯痛の見直し

慶應義塾大学医学部歯科口腔外科学教室

和嶋浩一

歯痛を口腔顔面痛の観点から見直して、1) 歯痛診断において非歯原性歯痛を考慮すべき、2) 抜髄、根管治療後の不快症状の原因として不良根充以外の要因を考慮すべき、象牙質知覚過敏症のメカニズムについてもさまざまな要因を考慮する必要性などを概説する。

### 1. 歯痛の診断において歯原性歯痛と非歯原性歯痛の鑑別診断の必要性

臨床の場において、歯痛患者が指し示す部位に痛みに見合う異常がまったく認められず、歯痛診断に苦慮することがある。

従来の歯科教育では、痛みの原因は痛みが感じられる部分にあり、「歯の痛みは歯が原因」としてきたが、最近の研究により痛みを感じる部位に痛みの原因があるとは限らないことがわかってきた。歯痛においても、歯や歯周組織以外に生じた痛みが原因となっており、いかにも歯に原因があるような痛みが感じられることもある。

日常臨床で頻繁に診療する歯髄炎・歯周炎・歯肉炎など歯科的原因による痛みを「歯原性歯痛」と分類するのに対して、歯や歯周組織に原因がないにもかかわらず歯痛が感じられる状態を「非歯原性歯痛」と分類する。

歯痛の診断においては、歯原性歯痛と非歯原性歯痛を最初に鑑別診断する必要がある。両者の診断のポイントは、a) 自発痛を訴える歯や歯周組織に痛みに見合う病態があるか、b) 各種局所誘発刺激に反応するかどうかを基に、1) う蝕、根尖病巣など痛みに見合う病態があり、局所誘発刺激に反応する場合は歯原性歯痛の可能性が高い、2) う蝕、根尖病巣など歯に病態があるが、局所誘発刺激に反応せず、痛みに見合う原因かどうか確実ではない場合は再診するか経過観察すべき、3) う蝕、根尖病巣など痛みに見合う病態がなく、局所誘発刺激にも反応しない場合には非歯原性歯痛の可能性が高いと一次診断することを提唱している。非歯原性歯痛の可能性が高いと診断されたならば、次に非歯原性歯痛の原疾患の診断を行う。非歯原性歯痛は原疾患により、筋・筋膜性歯痛、神経障害性歯痛、神経血管性歯痛、上顎洞性歯痛、心臓性歯痛、精神心理的要因による歯痛、特発性歯痛、その他の原因による歯痛に分類されている。

### 2. 抜髄によって神経障害性疼痛が生ずるか

完全なる根管治療後に頑固に続く不快症状や痛みの原因として、抜髄による根尖部での神経切断の回復過程で神経障害性疼痛が生じる可能性が挙げられ、非歯原性歯痛の原疾患の一つにもなっている。根管治療後、レントゲンのまったく異常がないにもかかわらず、頑固に痛みが続く例が12%程度あることが報告されている。全身各部位の外科手術後ではさらに高率に痛みが残ることが報告されており、抜髄によって神経切断後に痛みが続いたとしても不思議ではない。神経が断裂するとその回復過程で中枢側断端からスプラウト（発芽）や神経腫が生じ、そのなかでは $\text{Na}^+$ チャンネルの増加、ノルアドレナリンに対する反応性の出現等により痛みが生じることがある。

抜髄後に痛みが続くもう一つの原因として、抜髄前に歯髄に慢性炎症が生じ、痛みが続いた結果、痛み刺激によって神経線維にあって痛み信号の発生、伝導に重要な $\text{Na}^+$ チャンネルが変化することが知られている。 $\text{Na}^+$ チャンネルがテトロドトキシン感受性から抵抗性に変わり、そのため局所麻酔薬の効果が通常の1/2~1/6に低下するとともに、自発痛を生じさせたり反応しやすい状態になるためである。

### 3. 象牙質知覚過敏症は歯髄神経の過敏化である

象牙質知覚過敏症は象牙細管の刺激伝導が増すことが原因であるとマスコミでも流布されているが、通常は反応しない刺激に強い反応が生ずるといふ歯髄神経の閾値低下と反応性亢進の結果である。ステロイド服用患者に味覚過敏・臭い過敏とともに全歯牙に象牙質知覚過敏が生じることがあり、歯に原因がなくとも歯髄の侵害受容器の反応性が変化することが原因である。その他にも、歯髄の虚血再灌流障害も原因の一つと考えられる。

## 演題2：歯髄幹細胞を用いた再生医療の現状と課題

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

川島伸之

### 1. 幹細胞

再生医療で注目を集める幹細胞とは、多分化能と自己複製能を有する細胞である。多分化能にはレベルがあり、totipotency, pluripotency, multipotency, unipotency と分化できる範囲が狭まってくる。totipotency (全能性) とは、受精卵といった接合子が有している一つの細胞からすべての種類の細胞への分化が可能な能力をいう。また、pluripotency (多分化能) とは外胚葉・内胚葉・中胚葉の3胚葉に分化できる能力である。multipotency も日本語に訳すと多分化能となるが、やや限られた多分化能である。unipotency においては方向性の決まった分化能であり、この細胞を一般的には前駆細胞と呼ぶ。pluripotency を有する有名な幹細胞は、ES細胞 (embryonic stem cells) と iPS細胞 (induced pluripotent stem cells) である。

### 2. 歯髄幹細胞

歯髄幹細胞は、組織幹細胞あるいは体性幹細胞の一つで、multipotency を有する幹細胞である。歯髄組織に幹細胞が存在することは2000年にShiらのグループから報告され、歯髄幹細胞と名付けられた。歯髄組織に象牙芽細胞へ分化する細胞が存在していることは1980年前後より報告されていたが、象牙芽細胞以外の細胞への分化能をもった細胞が存在することが、このとき初めて明らかにされた。すなわち、unipotent な前駆細胞が multipotent であることが示唆された。ただし、これらのポピュレーションが同一であるかどうかはまだはっきりとは解明されていない。Shi が用いた手法は、骨髄幹細胞を分離する手法と同様であった。いわゆる多分化能を有する幹細胞分画のみを純粹に分離したのではなく、幹細胞分画を含む *in vitro* で培養可能な歯髄細胞を分離していたことになる。より純粹に幹細胞を歯髄組織より分離する試みとして、SP分画や、表面抗原のSTRO-1, CD105などを指標にしてFACSを用いて採取することも行われている。幹細胞としての特性の強い細胞を抽出することにより、高い多分化能が得られると報告されているが、得られる細胞数が少なくなることは、臨床応用を考えたとき、大きなデメリットとなることが危惧される。一方、間葉系幹細胞を分離する手法として用いられている、低密度細胞培養後にコロニーを形成した細胞を回収する手法を用いて歯髄幹細胞を分離する手法がある。この手法にて分離することで、得られる細胞集団はヘテロではあるが、細胞数の大幅な減少を招くことなく歯髄幹細胞を分離・回収することが可能である。

### 3. 歯髄幹細胞の臨床応用とその課題

多分化能を有する歯髄幹細胞は、臨床においてどのような組織の再生に用いることが可能なのだろうか。歯髄細胞は神経堤由来であることから、神経の再生に有効との報告も多数認められる。基本的な歯髄幹細胞の特性は硬組織形成細胞への分化であることより、骨芽細胞への分化能が最も秀でている。すでに歯髄幹細胞はイタリアのグループにより臨床応用されており、親不知の抜歯窩に歯髄幹細胞を移植し、移植しなかった部位と比較したところ、優位に骨組織が形成されたことが報告されている。また、歯髄組織由来であるので、歯髄組織の再生に用いることは最も自然であり、ブタを用いての歯髄組織の再生が報告されている。一方、歯髄組織は根尖孔のみからの血流に頼る周囲を象牙質で囲まれた細長い非石灰化結合組織であり、象牙質直下には象牙芽細胞が配列している。さらに、根管内に感染が及んでいる場合、その感染を確実に排除する必要がある。骨組織の再生とは異なり、歯髄組織の再生にはさまざまな課題があることが想起される。今回、歯髄幹細胞の課題について考察するとともに、その将来性について概説する。

### 演題3：自己培養歯根膜細胞シートを用いた歯周組織の再建

東京女子医科大学先端生命医科学研究所（兼）歯科口腔外科

岩田隆紀

歯周組織再生は歯と歯槽骨をつなぐ付着器官を再生することを目的とし、単なる歯槽骨の再生を指すわけではない。硬組織（セメント質）-軟組織（歯周靭帯）-硬組織（歯槽骨）という、複雑かつ異なる組織の再生を同時に促さなければいけないために困難を伴う。既存の歯周組織再生療法としては、1) 自家・他家・合成物などの骨補填剤、2) 遮断膜、3) 成長因子などの生物製剤等がすでに臨床で応用されているが、適応症が限られていたり、予知性が不安定であるなどの問題を包含している。また、これらのマテリアルを用いた再生療法はそもそも直接的ではなく、欠損部に適用したマテリアルが患者自身の細胞に働きかけることで再生を引き起こすという、間接的な再生療法である。

そこで近年では、幹細胞生物学と組織工学を背景とした細胞治療の研究が、歯周領域においても大学を中心に進められている。歯周病を歯周組織幹細胞疲弊症としてとらえ、生体に存在する幹細胞をバイオマテリアルとコンビネーションで移植する細胞治療である。われわれは、細胞ソースとしては患者の自己歯根膜幹細胞に着目し研究を進めてきた。また、組織を再構築するためのアプローチとして「細胞シート工学」をコア技術として取り入れている。組織を構築するうえで基本単位となる「細胞シート」は、温度変化によって培養皿表面の性質が親水性/疎水性に変化するインテリジェント培養皿「温度応答性培養皿」を用いて作製される。培養皿からの細胞を回収する従来法では、トリプシンなどのタンパク質分解酵素によって細胞-細胞間、細胞-細胞外マトリックス間のタンパク質は分解されるために、移植する細胞はバラバラになってしまう。しかし、温度応答性培養皿から回収された「細胞シート」では、細胞間・細胞-細胞外マトリックス接着が保持されているために、生体内の組織構成を模倣した三次元構造の再構築や、生体へのスキャホールドフリーでの移植が可能となる。

東京女子医科大学では、小動物・大動物を用いて「歯根膜細胞シート」の実験室レベルでの安全性・有効性を確認し、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に合致した臨床研究として2011年1月に厚生労働大臣より臨床研究実施の承認を得た。具体的には患者さん自身の抜去歯から歯根膜幹細胞を抽出し、「細胞シート工学」を用いてシート状に回収された「自己培養歯根膜細胞シート」を歯周欠損の根面に移植する臨床研究を進めている。この臨床研究は「細胞シート工学」を用いることで、細胞を非破壊的に細胞外マトリックスとともに移植することが可能である。細胞間相互作用を保持したまま移植することが可能であるため、移植した細胞が拡散することなく、歯根面に高次機能を保ったまま移植できるのが大きな利点であると考えられる（インジェクションによる細胞治療では、酵素処理による単一細胞化の過程で細胞外基質や細胞膜上のタンパクなどの有効成分が分解されてしまう）。無菌的に細胞を培養できる「細胞プロセッシングセンター」と呼ばれる特別な施設で作製された細胞シートは3層に重ね合わされ、郭清術の行われた歯周欠損の歯根面に設置され、骨欠損には $\beta$ -リン酸三カルシウム（オスフェリオン、オリンパス）を充填することで付着器官の再生を促す。現在までに、4例の移植と6カ月間の予後追跡が終了し順調な経過を示しており、今後2年間で全10症例の臨床試験を完了する予定である。

## 医療グローバル化時代を迎えた歯内療法

神奈川歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野

石井信之

日本をはじめ先進国の患者が国内の医療を受けずに国境を越え、国外の医療を受けに行くメディカルツーリズムが増加している。その背景には、最もグローバル化しにくいと考えられてきた医療自身が、急速にグローバル化してきたことにある。国民皆保険という世界有数の優れた医療制度を構築してきた日本もいま、医療費削減、医師の偏在、病院の経営難、医療システムの崩壊という大きな社会問題に直面している。歯科医療の医療費抑制はさらに深刻で、国民総医療費が最近10年間で約6兆円増加しているのに対して、歯科診療医療費は歯科医師数の増加にもかかわらず10年以上ほぼ横ばいで、昨年わずかに増加したものの、実質は国民総医療費における歯科医療費の割合は毎年低下している。このような歯科医療を取り囲む環境のなかで、われわれ歯科医師は国民の健康維持に貢献することが責務とされている。歯科医療費の内訳を診療行為別にみると、歯冠修復および欠損補綴が全体の約45%で、歯科医師の診療技術が最も問われる歯科診療処置に相当する割合は2番目であるものの、約15%にすぎない。歯科保存学会会員が日頃から研鑽を重ねている診療技術の向上は、現医療制度のなかでほとんど評価されていないに等しい。しかしながら、患者の人格に対して尊厳をもって接し、生涯にわたる口腔環境の健康を維持するためには、現医療制度のなかで最大限の医療情報と医療技術の習得が不可欠であることに議論の余地はない。

現在、歯科医療分野において著しい変革が歯内療法領域に訪れている。これらの変革は臨床成績を確実に向上させるだけでなく、治療時間の短縮も可能にすることが期待されている。疾患原因が不明確でときには手探りの治療を続けていた歯内療法は、歯科用マイクロスコープによる直視下のビジュアル歯内療法に変化し、形状記憶合金による迅速で正確な根管形成、効率的な根管洗浄、および三次元根管封鎖が可能な根管充填は、従来のアートとサイエンスを完全に融合させるユニバーサルデザイン（文化、言語、国籍の違い、年齢や男女の差異、障害や能力のいかに問わずに利用することが可能な製品と情報の設計）として、全世界で共通した歯科医療として完成しつつある。

歯内療法は術者の医療技術に頼る治療ではなく、誰が行っても確実に良好な臨床成績が確立された医療としての大きな一歩を踏み出した。医療グローバル化時代を迎えた現在、医学情報および医療技術においても、全世界の歯科医療が共通概念下で共通の診療器材・材料を使用し高度な医療を共有化できる現在の歯内療法は、患者に対する先進歯科医療の提供だけでなく、次世代の歯科医師養成においてもきわめて重要な役割を担う。また、歯内療法をはじめとする歯科医療の質向上は、国内から海外へのメディカルツーリズムの流れを阻止し、海外から国内への流れに変えることが可能になる。本講演は、技術革新に成功した歯内療法において、重要な診断機器になったマイクロスコープや新規診療用器具・材料を使用することによってグローバル化時代を迎えた歯内療法の現状を概説する。

## 新規“コンタクトキュア”型充填システムを用いたMIレジン修復

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 う蝕制御学分野

田上順次

接着性修復材料の性能向上により、コンポジットレジン修復の適応症例は拡大し、優れた長期臨床成績が報告されている。日本歯科保存学会で編纂された「う蝕治療ガイドライン」は、接着修復が主流の時代のう蝕治療の指針を示すものとして、英文誌にも投稿され、わが国の歯質保存的なう蝕治療がグローバルスタンダードとして認知される日も遠くない状況である。

現在の接着修復は、コンポジットレジンの築盛法や、形態付与、色調回復などの術式に関する部分に焦点が当てられる傾向にある。しかしながら、接着修復の最大の利点は、歯質保存的な処置が可能であることを強調したい。古くに行われた研究であるので、教育の現場でも軽視されがちな、象牙質う蝕に関する詳細な一連の研究成果があつて初めて、MIコンセプトによるう蝕治療が実現したのである。高齢社会を迎えてさまざまな疾患を有する患者が増加する状況では、歯科治療におけるMIコンセプトに基づくう蝕治療は、ますます重要となつてきている。

臨床の現場で考慮すべきことは、複雑な窩洞を構成する窩底部や窩壁に接着させなければならないということである。多くの接着性の評価は平坦な象牙質面に対して行われており、近年の材料の接着強さは、きわめて高い値を示している。しかしながらそうした高性能な接着材であっても、コンポジットレジンの重合収縮によるギャップ形成は高頻度に観察されている。

接着界面の構造解析では、樹脂含浸象牙質の重要性が指摘され、さらには Super Dentin と称する樹脂含浸象牙質に接続する、酸塩基抵抗層の存在も明らかになり、近年のボンドと象牙質との接合界面は、きわめて安定性の高いものとなっている。それでも形成される窩底部のギャップは、ボンドとコンポジットレジンとの界面の接着不良によるものである。

こうしたなか、トクヤマデンタルより「プライムフィル」が上梓された。この製品は、ボンドとコンポジットレジンとが接触することで重合反応が促進される、“コンタクトキュア”型の新しい修復システムである。たしかに象牙質平面での接着強さは最高レベルとはいえないが、窩底部でのギャップ形成という点では、従来の材料にはない特性をもつ非常に優れた修復材料である。この材料では結果的に接着操作の簡略化も進み、ボンド塗布、コンポジットレジンの充填、そして光重合というステップで、優れた結果が得られている。今後、超高齢社会のなかで増加する、管理型の歯科医療において、大いに活用されるべき修復システムである。

ボンド自体の耐水性向上、劣化抑制とともに、ボンドとコンポジットレジンの接着の改善は、今後の接着性材料の開発の方向を示すものとしても大変興味深い製品である。接着システムの新カテゴリーとして、さらに発展することを期待したい。

## セルフエッチングタイプの接着性レジン系根充シーラー 「メタシール Soft」の特長について

医療法人皓歯会 逸見歯科医院

逸見浩史

補綴治療の予後に大きな影響を及ぼすものには、根管治療における根管充填の成否が挙げられる。根管充填の最大の目的は、根管を緊密に封鎖し、外来刺激の遮断と根管内の死腔を排除することであり、この目的のために、ガッタパーチャポイントと根管用シーラーが用いられている。従来の根管用シーラーは、根管壁への接着性をもたない無機系シーラーが主流で、充填時の加圧などの操作技術の優劣や根管の性状により、封鎖性等、結果にばらつきの出やすいものであった。

近年、歯質に接着性を有するレジン系材料に急速な進歩がみられ、歯質とシーラー間への樹脂含浸象牙質の形成などによる良好な辺縁封鎖性をもち、組織親和性が良い、スーパーボンド根充シーラーなどの接着性レジンシーラーが出現し、登場以来、良好な臨床成績を取めている。接着性レジンシーラーは、その良好な封鎖性のみならず、抜髄や感染根管治療後の薄弱となった歯質や、微細な破折に対する補強にも有用と考えられ、洗浄だけでは完全に除去しきれない根管内部に残留した細菌をも、レジンにて封じ込めて無力化する可能性をもっている。しかし、優秀な性能をもつ一方、操作性や操作時間などの点で接着性レジンになじみのない臨床家にとって敷居が高く、また高価である側面もあった。

そういった時代背景の下に、今回サンメディカル株式会社から、新しい接着性レジンシーラーが開発・発売されることになった。接着性モノマーである4-METAを配合した「メタシール Soft」である。同社から先に発売され支持を受けているスーパーボンド根充シーラーと比較して、大きな特徴はその操作性の良さである。

メタシール Soft は、従来の無機系シーラーでよくみられた、臨床家にとってはなじみ深い、粉と液を練和紙上で練り合わせる粉液練和タイプとなっている。つまり充填操作時に、ガッタパーチャポイントにシーラーをつけて用いたり、レンツロを使用したりという無機系シーラーと同様の操作ができるので、それらを使用中の多くの臨床家にとって、診療スタイルはそのままに、より高性能な接着性レジンシーラーを使うことができるということである。しかも、製品にはよりシーラーを根管内へ容易に移送できる「エンドノズル」というパーツも付属している。これはシーラーを填入するための針状のノズルをCRシリンジに装着して根管内に差し入れて注入する仕様になっており、さらに「エンドノズル」先端側面にはスリットが付与されて、シーラーが根管内へ満遍なくいきわたり、根尖孔外への溢出を軽減し、複雑な形状の根管にもある程度の圧力をかけながら、充填操作をより簡単にミスなく行うことができるよう配慮されている。このように、症例に応じて充填ツールや、さまざまな技法を用いた幅広い根管充填が可能である。さらに操作時間は遮光下では約30分にも達し、複根管に対してもゆとりのある操作ができる。そして、セルフエッチング機能をもっているため、専用の歯面処理材は不要である。また、アミノ酸系重合開始剤の採用により、湿潤した根管象牙質にも浸透して重合硬化することで緊密な充填ができる。また、今までの接着性レジンの特性であった次亜塩素酸ナトリウム処理後の歯面にて重合阻害が引き起こされる問題も、この製品に関しては解決されている。

その他の特長として、デュアルキュアタイプのシーラーであることが挙げられ、充填後に光照射させることにより、その表層を硬化させることができるので、即日形成が可能である。また、硬化した接着性レジンシーラーは、今までその除去性の低さも指摘されることがたびたびあったが、メタシール Soft は硬化後も弾性がある特異な性質があり、除去性も従来の接着性レジンシーラーより優れている。

以上のように、臨床家にとってはより使い勝手が良くなり、かつ接着性レジンシーラーの優位性をもったメタシール Soft は、日々の臨床に今後貢献する材料であるといえる。

## マルチイオン徐放能を備えた S-PRG フィラーの可能性

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座（歯科理工学教室）

今里 聡

歯科用修復材料には、従来から、強度や審美性・接着性等に優れることが求められ、膨大な量の研究が行われてきた結果、これらを含めた基本的特性については臨床的に満足のいく製品が市販される状況にいたっている。そして、組織工学や再生医療が脚光を浴びるなか、近年、歯科用修復材料に生体機能性を付与し、“Bio-active”な再建材料へと進化させることに多くの関心が寄せられるようになってきた。

Surface-Pre Reacted Glass-ionomer (S-PRG) フィラーは、表面処理を施したコアガラスをポリアクリル酸と反応させることにより、表面改質層の内側にあらかじめガラスアイオノマー相が形成された3層構造を有するガラス粒子である。ただし、通常のガラスアイノマーセメントのガラスとは異なり、コア材にフルオロボロアルミノシリケートガラスが使用されており、フッ素(フッ化物)イオンに加えて、ストロンチウム( $\text{Sr}^{2+}$ )、ナトリウム、ホウ酸( $\text{BO}_3^{3-}$ )、アルミニウム、ケイ酸( $\text{SiO}_3^{2-}$ )等の多種のイオンを高濃度に放出するというユニークな特徴を備えている。修復材料からのイオンの徐放による付加的効果という点では、フッ化物イオンによる歯質強化や再石灰化がよく知られているが、マルチイオン徐放能を備えた S-PRG フィラーでは、以下のようなさまざまな作用の発現が確認あるいは期待されており、“Bio-active”な材料としてその可能性に注目が集まっている。

### 1. 歯質強化

S-PRG フィラーはもともとフッ化物イオンの徐放・リチャージ能に優れている。これに加えて、ストロンチウムイオンを高濃度に放出する特性があるため、ストロンチウムアパタイトの形成等による歯質の耐酸性向上が期待できる。

### 2. 酸の緩衝

フッ化物やストロンチウムをはじめとするマルチイオンの徐放は、中和・緩衝作用を示し、酸による脱灰を抑制する。S-PRG フィラーを含有するレジン系コート材 (PRG バリアコート) 上での *Streptococcus mutans* の酸産生を調べた演者らの研究においても、pH 低下に対する抑制効果が認められている。

### 3. 石灰化および硬組織形成の促進

S-PRG フィラーにはアパタイトの形成促進作用が認められる。石灰化を促進する効果のあるストロンチウムイオン等が関与しているものと考えられ、脱灰部の再石灰化や知覚過敏鈍麻に有利である。また、ストロンチウムは、造骨系細胞を活性化し、骨形成などにも促進的に働くことが知られており、S-PRG フィラーによって象牙質や骨等の硬組織形成誘導がもたらされる可能性がある。

### 4. 抗プラーク性、抗菌性

以前より、S-PRG フィラーを配合した修復材料上ではバイオフィルムの成熟が阻害されることや、S-PRG フィラーからの溶出液が oral streptococci に対して静菌的に作用することが報告されている。演者らも、最近、S-PRG フィラーを配合したコンポジットレジン上では *S. mutans* の増殖が抑制されることを確認した。S-PRG フィラーによる抗菌効果の発現メカニズムはまだ詳細には解明されていないが、S-PRG フィラーからは、点眼薬や含嗽剤に防腐目的で配合されるホウ酸イオンが高濃度で放出されることから、これが抗菌性発現の一因となっている可能性が高い。また、S-PRG フィラー溶出液はう蝕関連細菌以外の細菌にも効果を示し、たとえば *Porphyromonas gingivalis* と *Fusobacterium nucleatum* の凝集を阻害することなどが報告されている。

S-PRG フィラーを配合したさまざまな材料がすでに市販されている。マルチイオン徐放の臨床的有効性については、現在エビデンスの収集が行われている段階であるが、上記のような多くの基礎研究成果に鑑みれば、S-PRG フィラーが臨床のさまざまな場面で有用となることへの期待は大きい。

## フロアブルコンポジットレジンの臨床

鶴見大学歯学部保存修復学講座

秋本尚武

現在、歯科材料メーカーでは、コンポジットレジン（CR）とレジン接着材の開発・改良が続けられ、物性のさらなる向上はもちろん、材料に機能性をもたせるなどさまざまな取り組みが行われている。一方で、これらの材料による臨床的性能はほぼ頂点の域にまで達し、10年を超えるCR修復の長期臨床成績も報告されている。世界中の歯科材料メーカーが次々と開発する高品質の材料により、臨床家は前白歯を問わず安心してCR修復を行うことができるようになった。

CR修復には一般的にユニバーサル（ペースト）タイプのCRが用いられてきたが、驚くことにここ数年の市場分析ではフロアブルCRのシェアがユニバーサルタイプのCRと同等かそれ以上であると報告され、一般臨床で修復に使用するCRは従来のユニバーサルCRからフロアブルCRへとシフトしてきているようである。これまでのフロアブルCRは、フィラー含有量を少なくしフロー（流動性）を出していたが、ここ最近各社ともフィラーの表面処理（シランカップリング処理）方法を改良し、フロアブルCRでありながらユニバーサル（ペースト）タイプのCRと同等のフィラー含有量を実現した製品もある。結果として、物性はユニバーサルCRにほぼ匹敵するまでに改善され、白歯部でも使用可能な製品が開発されている。また、物性とともペースト性状の改良も進み、これまでのフロアブルCRの代名詞であったハイフロータイプからミディアムフローやローフロータイプなど、各社ともさまざまな流動性をもつ製品を開発している。さらに、ペースト採取時に流動性がある一方で充填後（採取後）にはペーストが流れない形態保持性をもつ製品もいくつか開発されており、「フロアブル」という言葉のイメージを新たにすることがある。

これまでフロアブルCRは、フィラー含有量が低いことからCRとしての物性が足りず、適応症として窩洞のライニングや小さなくさび状欠損などに用いられていた。しかしここ数年、物性の向上など進化したフロアブルCRは、その適応症を大きく広げさまざまなCR修復の症例に用いられ、これまでのユニバーサルCRに取って代わる勢いである。現在では国内外を問わず非常に数多くのフロアブルCRが市場に溢れ、そして一般臨床家を中心に臨床で広く用いられ始めている。まだまださまざまな面でユニバーサルタイプを完全に超えるまでの材料にはなっていないが、今後さらに機械的物性や操作性そして表面性状が改良され、すべてのCR症例に適応可能なフロアブルCRが開発され、ますます臨床での使用が増えることは間違いない。フロアブルCRの特性により、これまでの充填方法とは少し異なるテクニックが必要なフロアブルCRの操作感を修得し、自在に扱えるようになることでCR修復の臨床を楽しく、そして充実させることができるであろう。



## S-PRG coating 材による人工齲蝕乳歯エナメル質白斑部の再石灰化効果

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科小児歯科学<sup>1</sup>,  
日本大学歯学部保存修復学講座<sup>2</sup>  
○ 細矢由美子<sup>1</sup>, 安藤 進<sup>2</sup>, 遠藤 肇<sup>2</sup>, 宮崎眞至<sup>2</sup>

### Remineralization efficacy of PRG coating material on white spot lesion for artificial caries of primary tooth enamel

Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Medical and Dental Sciences, Department of Pediatric Dentistry<sup>1</sup>, Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry<sup>2</sup>  
○ Yumiko Hosoya<sup>1</sup>, Susumu Ando<sup>2</sup>, Hajime Endo<sup>2</sup>, Masashi Miyazaki<sup>2</sup>

#### 【研究目的】

イオン徐放性 S-PRG フィラー含有歯面 coating 材 (SI-R21104:松風社)を人工脱灰により形成した乳歯エナメル質白斑部に塗布し、塗布面の組織/物性変化を測定し、本材の再石灰化効果を観察した。

#### 【材料および方法】

抜歯後に生理食塩水中に冷凍保存した健全乳臼歯 (長崎大学歯学部倫理委員会認証) 10 歯を使用した。頬面を非切削エナメル質部とし、中央より左側を PRG coating 材塗布部 (unground/ PRG 部), 右側を塗布無し部 (unground/ non-PRG 部) とした。舌面中央部に、狭い幅の非切削エナメル質部を設け、本部位をコントロール部とした。コントロール部以外の舌面を一層切削し、左側を PRG coating 材塗布部 (ground/ PRG 部), 右側を塗布無し部 (ground/ non-PRG 部) とした。コントロール部と隣接面をマニキュアで coating 後, 10% EDTA 中で 7 時間と塩化カリウムと燐酸二水素カリウムを含む pH 4.75 の乳酸緩衝液中で 3 日間脱灰した。仕様書に従って SI-R21104 を歯面に 15 秒間すり込むように塗布し (PRG 部), 1 分間放置後に余剰部を拭き取った。浸漬液の種類により 3 群を設け (1 群: 人工唾液, 2 群: 脱灰液, 3 群: 蒸留水), 1 週間浸漬後に歯軸に垂直に切片を切り出して鏡面研磨した。

<DIAGNOdent (Kavo 社)による測定>: ground/ non-PRG 部と unground/ non-PRG 部に対し, 処置前, 脱灰後と浸漬終了後の DIAGNOdent 値を測定した。

<Nano-indentation test>: Nano-indentation tester ENT-1100 (エリオニクス)により, 超微小硬さ (H) とヤング率 (Y) を測定した。測定は 10  $\mu\text{m}$  間隔にエナメル質表面 (計測点 1) から歯髄方向に行った。

<SEM/EDX 分析>: PRG 塗布もしくは非塗布エナメル質表面 (計測点 0), 表面直下 (計測点 1), 表面から 5  $\mu\text{m}$  (計測点 2) 間隔に 25  $\mu\text{m}$  下方 (計測点 6) までの部位に対し, SEM/EDX 分析と SEM 撮影を行った。

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

#### 【成績ならびに考察】

<DIAGNOdent 値>: すべての Group で処置前と比較し, 脱灰後と浸漬後の値は有意に高かった。Group 1 の unground/non-PRG 部のみにおいて, 浸漬後が脱灰後より有意に低く, 人工唾液による再石灰化の可能性が観察された。

<Nano-indentation test>: Group 1 では, ground/ PRG 部の計測点 1 の H は下方の計測点より有意に高かったが, 計測点 2-5 の硬さが他の処理部位より有意に低かった為に相対的に有意差が生じたと思われる。Group 3 では, ground/ PRG 部のみについて, 計測点 1 の H と Y が下方の計測点より有意に高かった。Group 2 では, unground/ PRG 部と ground/ PRG 部の計測点 1 の H と Y は下方の計測点より有意に低く, PRG 塗布にも関わらず脱灰の進行が疑われた。

<SEM/EDX 分析>: すべての Group で, unground/ non-PRG 部の計測点 0 の Ca/P は下方より有意に低く, 脱灰の影響が強かった。Group 3 では, ground enamel については, PRG 塗布の有無に関わらず計測点間に有意差が見られなかった。一方, unground enamel については, PRG 塗布無しの場合には, 計測点 0 と 1 の Ca/P は下方より有意に低く, 塗布有りの場合には計測点 0 の Ca/P は下方より有意に高かった。

脱灰液浸漬群では脱灰液により coating 材が溶解し, 塗布無し部に作用した可能性があり, 人工唾液群では人工唾液による再石灰化作用は coating 材が塗布されていない部位で効率よく発揮される事が推察された。水中ではこれらの作用がほとんど生じない為, unground enamel では coating 材による効果が positive に生じたと思われる。

#### 【結論】

PRG coating 材が乳歯エナメル質白斑部に対して再石灰化効果を有する可能性が観察された。

#### 【文献】

1) R. Murayama *et al.*, *Dent Mater J.* 31:954-959, 2012.

## PRG バリアコートの根面象牙質再石灰化効果

### 第3報：塗布直下および隣接部位における獲得耐酸性

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

○椎谷 亨<sup>1)</sup>、向井義晴<sup>1)</sup>、富山 潔<sup>1)</sup>、飯塚純子<sup>1)</sup>、長谷川晴彦<sup>1)</sup>、倉持江里香<sup>1)</sup>、藤野富久江<sup>2)</sup>、寺中敏夫<sup>1)</sup>

#### Effect of PRG barrier coat on root dentin remineralization *in vitro*

#### 3<sup>rd</sup> report: Acquired acid resistance of dentin at adjacent and underneath areas

Dept. of Oral Medicine, Div. of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College<sup>1)</sup>,

Dept. of Dental Hygiene, Shonan College<sup>2)</sup>

○SHIYA Toru<sup>1)</sup>、MUKAI Yoshiharu<sup>1)</sup>、TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1)</sup>、IIZUKA Junko<sup>1)</sup>、HASEGAWA Haruhiko<sup>1)</sup>、  
KURAMOCHI Erika<sup>1)</sup>、FUJINO Fukue<sup>2)</sup>、TERANAKA Toshio<sup>1)</sup>

【研究目的】高齢者の残存歯増加に伴い、露出歯根面の齲蝕が臨床的に大きな問題となっている。我々は前回第 137 回日本歯科保存学会学術大会において、PRG バリアコート塗布が、その隣接歯面再石灰化部位に優れた耐酸性を誘導することを報告した。今回、塗布直下および隣接歯面各 2 か所における獲得耐酸性を比較することにより、本材の有効性を検討した。

【材料および方法】ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより 5mm 根尖側の位置で低速切断機を用いて水平断し、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 分割した。

1. 脱灰象牙質試料 (基準病巣) の作製: 耐酸性バーニッシュにより被験面を 2x3 mm に規定し、脱灰液 (1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.9 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM acetic acid, 0.2 ppm F, pH 5.0) に 37°C で 36 時間浸漬した。

2. 材料の塗布: 被験面 (2x3 mm) の半側 (1x3 mm) に対し、以下の 1) ~3) の材料塗布を行った。1) V 群: S-PRG フィラー非含有コート材 (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; 松風)。2) P 群: 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; 松風)。3) X 群: 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™XT バーニッシュ (3M ESPE)。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 (B 群) とした。各群の試料数は n=6 とした。

3. 再石灰化: B 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 (1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.9 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 130 mM KCl, 20 mM Hepes, pH 6.7) を注入する二層法で 37°C、4 週間静置した。

4. 耐酸性試験 (acid resistance test; 以下 ART): 50 mM acetic acid 脱灰液 (0 ppm F、pH 5.0) に 3 日間浸漬した。

5. 平均ミネラル喪失量 (IML; vol% x μm) 測定: ART 後の試料から薄片を作製し、TMR 撮影 (PW 3830、管電圧 25 kV、管電流 15 mA、照射時間 20 分) 後、分析用ソフト (TMR 2000) を用いて、B 群は被験面中央部、また V、P および X 群では、① 塗布面に隣接した露出象牙質面、② 塗布面端部材料直下象牙質面、③ 塗布面端部から 700 μm 離れた露出象牙質面、④ 塗布材料内側直下象牙質面 (端部より 700 μm 内側) の、それぞれ幅 300 μm におけるミネラルプロファイルを作成し、IML を算定した。各群間における IML の比較には、One-way ANOVA および Games-Howell の検定 (有意水準 5%) の統計分析を用いた。

【成績】B 群では、表層および病巣体部を有する典型的な脱灰病巣が形成された。塗布面に隣接した露出象牙質面では、P 群、X 群が V 群より有意に低かった (p<0.05)。塗布面端部材料直下では、V、P、X 各群でそれぞれ 4668.8, 3923.0, 3920.4 であったが、3 群間で有意差は認められなかった (p>0.05)。また、塗布面端部から 700 μm 離れた露出象牙質面では、V 群に比較して X 群は有意に低かったが (p<0.05)、P 群は有意差を示さなかった (p>0.05)。端部より 700 μm の材料内側では、3 群とも近似したミネラルプロファイルを示したが、表層から 25~60 μm の病巣体部における P 群のミネラルプロファイルは、有意差は認められないものの、3 群の中で最も高い mineral volume% を示した。

【考察】材料に隣接した露出象牙質面は、材料から遊離されるフッ化物イオン等を取り込みやすいが、材料内側直下ではこれらイオンの供給が十分にあったとしても液層からのカルシウムイオンやリンイオンの供給が阻害されるため、材料固有の特性は表れにくいものと考えられた。

【結論】*in vitro* において PRG バリアコートを象牙質表層下脱灰病巣に塗布した後、再石灰化、ART を行い、塗布直下および隣接歯面各 2 か所の脱灰様相を観察したところ、塗布面に隣接した露出象牙質面において最も耐酸性が獲得されており、それ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であった。

## 歯面コート材による象牙質脱灰抑制効果のマイクロ CT 解析

<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯蝕制御学分野, <sup>2</sup>東京医科歯科大学 歯と骨の GCOE  
○ローダ イナ<sup>1,2</sup>, 半場秀典<sup>1</sup>, 中嶋省志<sup>1</sup>, 二階堂徹<sup>1</sup>, 田上順次<sup>1,2</sup>

### Effect of tooth coating materials on inhibition of bovine dentin demineralization -Micro computed tomography assessment-

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,

<sup>2</sup>Global Center of Excellence, Tokyo Medical and Dental University

○LODHA Ena<sup>1,2</sup>, HAMBА Hidenori<sup>1</sup>, NAKASHIMA Syozi<sup>1</sup>, NIKAIIDO Toru<sup>1</sup>, TAGAMI Junji<sup>1,2</sup>

**Background and Purpose.** Exposed dentinal surface as a result of caries or non caries lesions are subjected to continuous demineralization and remineralization process. However, if demineralization dominates, it may lead to progression of caries lesions into the pulp. As the “Minimal intervention” concept becomes widely spread various products with tooth surface protection, anti-cariogenic or remineralizing effects attract an increasing attention. Recently, tooth surface coating materials with different ingredients were developed and marketed as a desensitizing agent. The purpose of this study was to evaluate the effect of two tooth coating materials on inhibition of dentin demineralization over time by using micro-computed tomography (micro-CT).

**Materials and Methods.** The dentin specimens were prepared by cutting bovine root into blocks (3 mm x 5 mm x 3 mm). The surface was covered with nail varnish, leaving a window (2 mm x 4 mm) exposed on the polished surface. The specimens were distributed into the following four application groups; de-ionized water (NC, negative control); Teethmate Desensitizer (TMD, Kuraray Noritake Dental, tetracalcium phosphate and dicalcium phosphate anhydrous); Nanoseal (NS, Nishika, fluoroaluminocalciumsilicate glass-containing material); and Duraphat (DP, Colgate, fluoride varnish) as a positive control. After the treatment, the specimens were immersed in a de-mineralizing solution (pH5.0). Micro-CT (Inspexio SMX-100CT, Shimadzu) scans (1024 x 1024, 5 μm/pixel) of all specimens were taken before/after demineralization. Gray scale values were converted into mineral density values (gHAp·cm<sup>-3</sup>) using hydroxyapatite phantoms. Mineral density changes were analyzed by 3D analysis software. Mean mineral loss (ML) were determined using micro-CT. ML values were statistically analyzed by ANOVA.

**Results and Discussion.** Micro-CT assessment enabled nondestructive analysis of local changes in mineral density of demineralization. ML values in all the treatment groups (TMD, NS and DP) were smaller than those in the NC group after demineralization. However, DP (the positive control group) demonstrated significantly more effective to inhibit the demineralization.

**Conclusion.** The application of Teethmate Desensitizer and Nanoseal to the exposed dentin surfaces resulted in inhibition of dentin demineralization. Quantitative assessment using micro-CT demonstrated to be useful for detecting mineral density changes.

## ヒト象牙芽細胞機能複合体の刺激象牙質形成への貢献

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<sup>1</sup>、う蝕制御学分野<sup>2</sup>、グローバルCOEプログラム国際教育研究拠点<sup>3</sup>  
○池田英治<sup>1</sup>、半場秀典<sup>2</sup>、田上順次<sup>2,3</sup>、須田英明<sup>1,3</sup>

**Contribution of Human Odontoblasts as an Electrical Syncytium to Tertiary Dentin Formation**  
Pulp Biology and Endodontics<sup>1</sup>, Cariology and Operative Dentistry<sup>2</sup>, Global COE program<sup>3</sup>, Graduate  
School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University  
○IKEDA Hideharu<sup>1</sup>, HAMBА Hidenori<sup>2</sup>, TAGAMI Junji<sup>2,3</sup>, SUDA Hideaki<sup>1,3</sup>

### 【研究目的】

象牙芽細胞が歯髄最表層に整列し、単極性の長い突起を象牙細管内に伸ばしていることは刺激感受に有効である。我々はこれまでヒト象牙芽細胞が個々に機能するというよりも、electrical-、dye-couplingを介して機能複合体として協調して働くことを証明してきた。さらに象牙芽細胞が感覚神経終末を変形させるとされている象牙細管内の動水力学的水圧に対して、体積や形状を変化させ、細胞膜イオンチャンネルの開閉と細胞内、細胞間シグナル伝達を引き起こすことを本学会で発表してきた。この研究では、ヒト象牙芽細胞の三次元的細胞間結合網を明らかにするとともに、刺激象牙質形成をmicro-CTを用いて観察、解析することを目的とした。

### 【材料および方法】

実験1. 矯正治療の一環として抜去された新鮮ヒト小白歯を用いた。試料としてはそれらの歯冠部を使用し、厚さ50-150 μm、水平方向に対して30°に傾いた象牙質-歯髄ディスクを作製した。実験にはDual patch-clamp法を用い、象牙芽細胞間の電気カップリングを確認した。さらに、一つの細胞に加えた電流刺激の広がり解析するとともに、電気泳動法を用いて注入したlucifer yellowの広がりを観察した。

実験2. くさび状欠損のあるヒト抜去歯を用い、Micro-CTにて歯髄側に添加した刺激象牙質を三次元的に観察、解析した。

### 【成績】

実験1. 電氣的結合率は細胞間距離が増加するほど減少した。また、電流刺激に対する電圧変化の減衰と潜時の延長が距離依存的に徐々に生じ、波形の複雑化がみられた。Lucifer yellowは水平、垂直両方向に広がる事が確認できた。

実験2. Micro-CT像では、添加象牙質は歯髄側象牙細管開口部のみでなく、三次元的に漸次厚みを減衰させる広がりをみせた。

### 【考察】

本研究により、ヒト象牙芽細胞層には象牙質を介した刺激に対して、被刺激部位直下だけではなく、三次元的に広がるネットワークで応答することが示された。我々の以前の研究で得られた、機械的歪みを生じた象牙芽細胞内、隣在し合う象牙芽細胞間においてCa<sup>2+</sup>伝播が盛んに行われるという結果と結び合わせると、象牙芽細胞突起で検知された情報は周囲象牙芽細胞にも伝播されることで三次元的に広く共有され、広範囲の刺激象牙質形成に繋がる事が電気生理学および形態学的に示唆された。

### 【結論】

細胞間連絡を有する象牙芽細胞は、広い電氣的機能複合体を形成し、象牙質/歯髄複合体の防御機構に重要な働きをしていると考えられる。

## ラット臼歯歯髄における樹状細胞のサブポピュレーション

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<sup>1</sup> 歯蝕制御学分野<sup>2</sup> 歯髄生物学分野  
○荒牧音<sup>1</sup>、川島伸之<sup>2</sup>、島田康史<sup>1</sup>、鈴木規元<sup>2</sup>、大槻昌幸<sup>1</sup>、須田英明<sup>2</sup>、田上順次<sup>1</sup>

### Identification of several subpopulations of DCs in rodent dental pulp

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, <sup>2</sup>Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University  
○Oto ARAMAKI<sup>1</sup>, Nobuyuki KAWASHIMA<sup>2</sup>, Yasushi SHIMADA<sup>1</sup>, Noriyuki SUZUKI<sup>2</sup>, Masayuki OTSUKI<sup>1</sup>, Hideaki SUDA<sup>2</sup> and Junji TAGAMI<sup>1</sup>

【研究目的】自然免疫応答における中心的役割を担っている樹状細胞 (DC) は、病原微生物に共通して存在する特有の分子構造 (PAMPs, pathogen-associated molecular patterns) を認識する受容体: パターン認識受容体 (PRR, pattern recognition receptor) を有し、自然免疫応答における中心的役割を担っている。DC の成熟には PRR からのシグナルが重要であり、成熟した DC は T 細胞を活性化し獲得免疫を誘導する。免疫応答の質と量は、DC の産生するサイトカインや共刺激分子の種類や量に依存するが、それは DC のサブセットおよび存在する局所環境に大きく左右される。これまでに、皮膚・腸管粘膜・鼻腔粘膜などにおいて数種の DC サブセットが報告され、各サブセットはそれぞれ異なる機能があることが報告されている。我々は、頬粘膜にも数種の DC サブセットが存在し、所属リンパ節に遊走していることを報告した (Biochem Biophys Res Commun. 2011)。しかし、歯髄における DC の各サブセットについては、未だ解明されていない。そこで今回我々は、ラット臼歯歯髄における DC の局在及びそのサブクラスの同定を免疫組織化学的に試みたので報告する。

【材料および方法】Wistar 雄ラットの下顎第一臼歯を実験材料に用いた (n=5)。第一臼歯を含む左右下顎を切除し、4%パラホルムアルデヒドにて固定 (4°C, over night) 後、15%EDTA 溶液にて脱灰を行い (4°C, 3 wks)、OCT コンパウンドにて包埋後、クライオスタットにて厚さ 5-6µm の凍結切片を作成した。一次抗体として抗 CD11c, 抗 CD68, 抗 CD86, 抗 CD103, 抗 MHC ClassII 抗体 (Serotec) を用い、ビオチン標識抗マウス IgG (Vector) を二次抗体として使用し、さらに Avidin Biotin Complex (ABC: VECTASTAIN Elite ABC Kit, R.T.U.) を作用させ、最後に DAB (3, 3'-diaminobenzidine, ImmPACT DAB Peroxidase Substrate) にて発色した。核染色にはヘマトキシリンあるいはメチルグリーンを使用した。

【結果】MHC ClassII 陽性細胞はラット臼歯歯髄の象牙芽細胞層に多く集積していたが、歯髄中心部にも散在していた。CD11c 陽性細胞は象牙芽細胞層にも存在していたが、歯髄中心部の血管周囲にも存在を認めた。CD103 陽性細胞は歯髄中心部の血管周囲に主に陽性像を認めた。CD86 陽性細胞は象牙芽細胞層に主に集積を認めた。CD68 陽性細胞は歯髄全体にその存在が認められた。

【考察】今回我々の得られた免疫染色像の結果より、ラット臼歯歯髄における DC は、最表層の象牙芽細胞層に存在する MHC ClassII+, CD11c+, CD103- の DC と、その下の血管周囲に存在する MHC ClassII+, CD11c+, CD103+ の DC が存在する可能性が示唆された。ラット臼歯歯髄における DC には、少なくとも二つのサブセットが存在し、それぞれの局在が異なっていた。この二つの DC は歯髄内における機能的相違についてはいまだ不明であるが、歯髄における象牙細管経路の外来侵襲に対する生体防御に関与している可能性が推察された。すなわち皮膚、粘膜と同様の免疫防御システムがラット臼歯歯髄においても常備されている可能性が示唆された。

【結論】ラット臼歯歯髄において局在の異なる 2 種の DC サブポピュレーションを同定した。

## SOCS3 は Wnt シグナル伝達経路を阻害することにより骨芽細胞への分化を抑制する

<sup>1</sup>大阪大学大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)  
○松下健太<sup>1</sup>、伊藤祥作<sup>1</sup>、池田峻<sup>1</sup>、山本由美子<sup>1</sup>、山内裕香子<sup>1</sup>、林 美加子<sup>1</sup>

### SOCS3 induced by LIF suppresses osteoblast differentiation through inhibiting $\beta$ -catenin

<sup>1</sup>Department of Restorative Dentistry and Endodontology,  
Osaka University Graduate School of Dentistry  
○MATSUSHITA Kenta<sup>1</sup>, ITOH Shousaku<sup>1</sup>, IKEDA Shun<sup>1</sup>, YAMAMOTO Yumiko<sup>1</sup>,  
YAMAUCHI Yukako<sup>1</sup>, HAYASHI Mikako<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

骨髄ストローマ細胞には、未分化間葉系幹細胞が含まれており分化誘導培地にて培養することにより様々な種類の細胞へ分化誘導することができる。この骨髄ストローマ細胞に含まれる未分化間葉系幹細胞は、骨芽細胞・線維芽細胞・象牙芽細胞などの歯・歯周組織に関連する細胞へ分化しうる細胞であると考えられている。我々は、これまでに IL-6 ファミリーサイトカインのうち Leukemia Inhibitory Factor (LIF) が骨髄ストローマ細胞の骨芽細胞への分化を抑制することを明らかにし (第 134 回本学術大会)、LIF-STAT3 シグナル伝達経路の下流で働く Suppressor of Cytokine Signaling 3 (SOCS3) が重要な役割をしていることを報告した (第 137 回本学術大会)。しかしながら、骨芽細胞の分化を制御しているシグナル伝達経路と SOCS3 の関係性については依然として不明であった。そこで今回、我々は、骨髄ストローマ細胞から骨芽細胞への分化に対する SOCS3 の働きについて、シグナル伝達経路の観点からその制御機構のメカニズムの一端を明らかにしたので報告する。

#### 【材料と方法】

1. C57BL/6J マウスの大腿骨と頸骨から骨髄細胞を調整し、10%FBS 含有  $\alpha$ -MEM 中で培養した。培養 3 日目に PBS にて浮遊細胞を除去した。そして 2 週間培養後、この付着細胞を骨髄ストローマ細胞とした。10%FBS 含有  $\alpha$ -MEM と 50  $\mu$ g/ml ascorbic acid、10 mM  $\beta$ -Glycerophosphate、 $10^{-8}$  M Dexamethasone にて骨芽細胞分化誘導培地を調整し、これに 50 ng/ml LIF を含むものと含まないものを作成した。骨髄ストローマ細胞をこれらの培地中で 7 日間培養した後、細胞を細胞溶解バッファー [20 mM Tris HCl (pH7.4)、150 mM NaCl、1% NP40、500  $\mu$ M sodium vanadate、1 mM dithiothreitol、5  $\mu$ g/ml aprotinin、5  $\mu$ g/ml leupeptin、1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride] にて溶解し、30 分間の遠心分離 (14,000rpm, 4°C) 後に、上清を回収し、これをタンパク抽出液とした。タンパク抽出液を 3×sodium dodecyl sulfate (SDS) サンプルバッファーにて希釈し、100°C で 5 分間加熱処理した。SDS-PAGE にてサンプルを展開し、ニトロセルロースメンブレンに転写した。ニトロセルロースメンブレンをブロックエースにてブロッキングした後、抗  $\beta$ -catenin 抗体および抗  $\beta$ -actin 抗体と反応させた。これに西洋わさび過酸化酵素 (HRP) 標識抗 IgG 抗体を反応させ、ECL キットを用いて発光シグナルを増幅した後、X 線フィルム に現像した。
2. 骨髄ストローマ細胞を LIF (50 ng/ml) で刺激後、上記と同様に細胞溶解バッファーにて回収したタンパクに対して、セファロースビーズに抗  $\beta$ -catenin 抗体を吸着させたものを 4°C で 24 時間反応させて、免疫沈降し回収したタンパクを SDS-PAGE にて展開し、メンブレンに転写した。これに抗 SOCS3 抗体を反応させ、上記と同様に IgG 抗体を反応させて、ECL キットを用いてシグナルを現像した。

#### 【結果】

1. LIF を含む培地で培養したものでは LIF を含まない培地で培養したもの比べると、 $\beta$ -catenin タンパクは減少していた。
2. 免疫沈降にて  $\beta$ -catenin タンパクと SOCS3 タンパクは会合していることが明らかとなった。

#### 【結論】

以上の結果から、LIF は、LIF-STAT3 シグナル伝達経路により SOCS3 の発現を誘導し、SOCS3 が  $\beta$ -catenin と会合して Wnt シグナル伝達経路を抑制的に制御することにより骨芽細胞への分化を抑制することが明らかとなった。

(本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金 (若手研究 (A) 24689070) の補助の下に行われた)

*P. gingivalis* LPS刺激によるTHP-1細胞からのThrombospondin 1発現

<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 歯周病学分野  
○御給美沙<sup>1</sup>、小林宏明<sup>1</sup>、南原弘美<sup>1</sup>、和泉雄一<sup>1</sup>

THP-1 cells produce Thrombospondin 1 stimulated by *P.gingivalis* LPS

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

OMisa Gokyu<sup>1</sup>, Hiroaki Kobayashi<sup>1</sup>, Hiromi Nanbara<sup>1</sup>, Yuichi Izumi<sup>1</sup>

【背景および研究目的】

歯周病は歯周病原細菌による慢性炎症性疾患であり、歯周病における歯肉結合組織の炎症や骨の破壊には細菌に対する生体の炎症反応が深く関わっていると考えられている。歯周病原細菌の中で高頻度に観察される細菌として *P.gingivalis* があげられるが、生体におけるその反応には不明な点が多い。我々は、*P.gingivalis* LPSが単球系細胞THP-1に与える影響を調べるためDNAアレイにて解析を行った。その結果、発現に変動が見られた遺伝子の中でThrombospondin 1(TSP-1)に着目した。TSP-1は生体内において血管新生や炎症に関与する多機能細胞外マトリックスタンパク質であり、炎症部位における免疫応答の調節に関与している。しかしながら、歯周炎局所でのTSP-1発現に関しては報告がなく、歯周病原細菌*P.gingivalis*における反応も不明な点が多い。本研究の目的は、歯周炎局所におけるTSP-1の発現を調べることで、そして*P.gingivalis* LPSによるTHP-1細胞からのTSP-1発現に関して調べることである。

【材料および方法】

- ・THP-1細胞をInvivoGen社製*P.gingivalis* LPSにて刺激し、4時間後にmRNAを回収した。cDNAに逆転写後、3D-gene社製DNA micro arrayを用いて解析を行った。TSP-1 mRNAの発現解析はrealtime RT-PCR法にて行った。また、TLR2刺激因子としてPam2CSK4を、TLR4刺激因子として*E. coli* LPSを用いた。また、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-17A、IL-17Fにて共刺激を行い、TSP-1 mRNA発現を計測した。
- ・東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病外来の歯周炎患者から、歯周外科時に歯肉組織を採取し、歯肉組織でのTSP-1 mRNA発現を解析した。本研究は、東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った。

【結果】

- ・DNA micro arrayにより、発現変動が認められる遺伝子が多数確認された。
- ・THP-1細胞において*P.gingivalis* LPS刺激により、濃度依存的・時間依存的にTSP-1 mRNA発現が認められた。また、Pam2CSK4や*E. coli* LPSにて刺激した結果、どちらにおいてもTSP-1 mRNA発現の亢進が認められた。IFN- $\gamma$ やIL-4刺激ではTSP-1 mRNA発現は亢進したが、IL-17A、IL-17Fでは変化は認められなかった。
- ・歯周炎局所においては、炎症歯肉においてTSP-1 mRNAの発現が認められた。その発現は健全な部位に対して炎症部位で発現亢進が認められた。

【考察および結論】

*P.gingivalis* LPSがTHP-1細胞からのTSP-1発現を誘導していることが明らかとなった。また、TSP-1の発現はTLR2を介するものとTLR4を介するものが考えられる。歯周炎環境下において、IL-4とIFN- $\gamma$ の存在がTSP-1発現を亢進することが考えられる。そして歯周炎局所においてTSP-1の発現が認められたことから、歯周病原細菌刺激により誘導されたTSP-1が歯周炎の疾患進行および生体への影響に関与している可能性が示唆された。

### ***Porphyromonas gingivalis* 感染は NKT 細胞のサイトカイン産生を誘導する**

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔保健学分野<sup>1</sup>,  
新潟大学医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野<sup>2</sup>, 新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部<sup>3</sup>  
○山田 ひとみ<sup>1,2</sup>, 中島 貴子<sup>3</sup>, 宮沢 春菜<sup>1,2</sup>, 奥井 隆文<sup>2</sup>, 多部田 康一<sup>2</sup>, 山崎 和久<sup>1</sup>

#### **Chronic stimulation with *Porphyromonas gingivalis* induced cytokine-producing NKT cells**

Laboratory of Periodontology and Immunology, Division of Oral Science for Health Promotion<sup>1</sup>, Division of Periodontology<sup>2</sup>,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital<sup>3</sup>  
○Yamada H<sup>1,2</sup>, Nakajima T<sup>3</sup>, Miyazawa H<sup>1,2</sup>, Okui T<sup>2</sup>, Tabeta K<sup>2</sup>, Yamazaki K<sup>1</sup>

#### 【背景および目的】

Natural Killer T(NKT)細胞はNK細胞マーカーであるNK1.1とT細胞レセプターの両方を発現しているリンパ球で、活性化によりIFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10などのサイトカインを産生し、組織恒常性の維持や自己免疫疾患の発症抑制に関与している。感染免疫においては、抗原の種類、感染経路、感染回数によりNKT細胞のサイトカイン産生パターンが異なることが知られている。NKT細胞は、抗原提示細胞のCD1d拘束性に糖脂質分子を認識して活性化される。海綿由来糖脂質をもとに化学合成された $\alpha$ -galactosylceramide( $\alpha$ GC)がNKT細胞の特異的リガンドであるが、細菌を構成する糖脂質もNKT細胞に認識されることが報告されている。

我々はヒト歯周炎組織へNKT細胞が浸潤しており、その周囲にはCD1d陽性のB細胞が多数認められることを報告した(Amanuma R *et al.*, J. Periodont Res. 2006)。またマウスの*Porphyromonas gingivalis*慢性口腔感染モデルでは、NKT細胞欠損マウスで歯槽骨吸収が抑制される。一方 $\alpha$ GC投与によりNKT細胞を活性化したマウスでは歯槽骨吸収が促進された。この時の血清中の急性期タンパク血清アミロイドA(SAA)、破骨細胞活性化サイトカインRANKL、そして抗*P. gingivalis*抗体価レベルの上昇が認められ、*P. gingivalis*慢性感染においてNKT細胞は全身の炎症レベル亢進と抗体産生亢進に関与していることが示唆された(Aoki-Nonaka Y *et al.*, J. Periodont Res. 2013. In press)。

本研究では、*P. gingivalis*感染に対してNKT細胞がどのようなサイトカイン産生パターンを示し、免疫応答のバランス制御に寄与するのかを、マウスの*P. gingivalis*感染モデルを用いて明らかにする。

#### 【材料及び方法】

6週齢のC57BL/6マウスに*P. gingivalis*W83株 $1 \times 10^8$ CFUと $\alpha$ GCを単独あるいは組み合わせて腹腔より投与した。投与は1回または3日おきに3回行った。最終投与後にマウスを安楽死させて肝臓から単核球を分離し、フローサイトメトリーにてNKT細胞のIFN- $\gamma$ 、IL-4産生を解析した。また、3回投与後の血清を採取し、ELISAにてIFN- $\gamma$ 、IL-4レベルを測定した。

#### 【結果と考察】

*P. gingivalis*1回感染ではNKT細胞はIFN- $\gamma$ 、IL-4いずれも産生しなかったが、3回感染後にはIFN- $\gamma$ <sup>+</sup>NKT細胞、IL-4<sup>+</sup>NKT細胞が認められ、全NKT細胞中に占める割合はいずれも4%程度であった。 $\alpha$ GCとの重複投与群ではIL-4<sup>+</sup>NKT細胞の割合は*P. gingivalis*単独感染群に比較して1.5倍に増加したが、IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>NKT細胞の割合に増加は認められなかった。血清中のIFN- $\gamma$ レベルは*P. gingivalis*3回感染群で上昇するが、 $\alpha$ GC群では変化は認められなかった。一方、血清中のIL-4レベルは $\alpha$ GC群で上昇するが、*P. gingivalis*単独感染群では不変であった。このことから*P. gingivalis*慢性感染時にNKT細胞は特異的リガンド $\alpha$ GCで刺激されたときと同様にIFN- $\gamma$ とIL-4を産生するが、血清のサイトカインレベルへ直接的には反映されないことが明らかになった。またNKT細胞が活性化される状況において、*P. gingivalis*感染がNKT細胞のIL-4産生を増強することが明らかになった。今回の実験系では*P. gingivalis*慢性感染群において血清レベルでIL-4は検出されなかった。しかし先に我々が報告しているようにNKT細胞欠損マウスでは、*P. gingivalis*慢性口腔感染時の血清抗*P. gingivalis*抗体価上昇がきわめてわずかである。このことを考え合わせると、抗体産生に必要なTh2型免疫応答への制御には感染局所や臓器に存在するNKT細胞が産生するIL-4が重要な役割を果たしている可能性が示唆される。



***Porphyromonas gingivalis* 口腔感染マウスモデルにおいて  
小胞体ストレスは破骨細胞形成に関与し歯槽骨吸収を誘導する**  
新潟大学大学院医学総合研究科 口腔保健学分野<sup>1</sup>, 歯周診断・再建学分野<sup>2</sup>,  
新潟大学医学総合病院 歯科総合診療部<sup>3</sup>, 日本学術振興会特別研究員<sup>4</sup>

○土門久哲<sup>2,4</sup> 山田ひとみ<sup>1,2</sup> 宮内小百合<sup>1,2</sup> 宮沢春菜<sup>1,2</sup> 中島貴子<sup>3</sup> 多部田康一<sup>2</sup> 山崎和久<sup>1</sup>

**Up-regulation of endoplasmic reticulum stress is associated with osteoclastogenesis in orally  
*Porphyromonas gingivalis*-infected mice**

Laboratory of Periodontology and Immunology, Division of Oral Science for Health Promotion<sup>1</sup>, Division of Periodontology<sup>2</sup>,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital<sup>3</sup>

Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science<sup>4</sup>

○Domon H<sup>2,4</sup>, Yamada H<sup>1,2</sup>, Miyauchi S<sup>1,2</sup>, Miyazawa H<sup>1,2</sup>, Nakajima T<sup>3</sup>, Tabeta K<sup>2</sup> and Yamazaki K<sup>1</sup>

【研究目的】

小胞体は新規に合成された分泌タンパクおよび膜タンパクの修飾や立体構造を整える場であるが、異常な高次構造をもったタンパクが生成される場合がある。小胞体内にそれら異常なタンパクが蓄積した状況は小胞体ストレスと呼ばれる。それに対し細胞は翻訳の抑制、小胞体シャペロンの誘導、異常タンパクの分解等の小胞体ストレス応答により小胞体の機能を維持する。小胞体ストレスは神経変性疾患、糖尿病、虚血性脳疾患、動脈硬化など、様々な疾患の病態に深く関与していることが報告されており、近年、炎症との関連についても報告されつつある。我々はこれまで小胞体ストレス関連遺伝子発現が、歯周炎罹患患者の歯肉組織において有意に上昇していることを報告したが、そのメカニズムは不明である。そこで今回我々は、歯周炎の病態形成における小胞体ストレス応答の役割を解明するため、*Porphyromonas gingivalis* 口腔感染マウスモデルを用いて解析を行った。

【材料および方法】

6週齢のC57BL/6マウスに10<sup>9</sup> CFU の *P. gingivalis* W83株を週2回、計10回口腔感染させた。感染後、上顎の歯槽骨吸収を測定するとともに上顎臼歯部周囲歯肉を採取して全RNAを抽出しcDNAを合成した。BiP, XBP1, ATF4, CHOPの各小胞体ストレス関連分子、炎症性サイトカイン、破骨細胞関連遺伝子発現についてReal-time PCR法にて定量解析を行った。また、小胞体のタンパク折り畳み機構を改善するケミカルシャペロンである4-フェニル酪酸をマウスに投与しつつ *P. gingivalis* を10回口腔感染させ、同様の解析を行った。

また、*in vitro* において小胞体ストレスの破骨細胞形成へ及ぼす影響を確認するため、ヒトCD14<sup>+</sup>細胞を分離し、M-CSFおよびRANKL添加培地にて破骨細胞様多核巨細胞へ分化する系を確立し、同培地へ4-フェニル酪酸もしくは小胞体ストレス誘導剤であるツニカマイシンを加えて破骨細胞様多核巨細胞形成に及ぼす影響をTRAP染色にて検討した。

【成績】

*P. gingivalis* 口腔感染群において歯槽骨吸収が誘導されるとともに、歯肉組織中におけるBiP, XBP-1の遺伝子発現が有意に上昇していた。一方で、4-フェニル酪酸投与-*P. gingivalis* 口腔感染群では小胞体ストレス関連遺伝子発現が抑制されるとともに *P. gingivalis* 口腔感染による歯槽骨吸収が抑制された。さらに同群では *P. gingivalis* 口腔感染群と比較して歯肉中の炎症性サイトカイン発現に差は認められなかったが、破骨細胞関連遺伝子発現の有意な減少が認められた。*In vitro* では4-フェニル酪酸添加によりRANKL誘導性の破骨細胞様多核巨細胞形成が抑制されたが、ツニカマイシン単独では破骨細胞様多核巨細胞形成が促進されなかった。

【考察と結論】

*P. gingivalis* 口腔感染により歯肉組織中における小胞体ストレス関連遺伝子発現が有意に上昇することがマウスモデルにおいても確認された。4-フェニル酪酸投与により歯槽骨吸収は抑制されたが、歯肉組織中における炎症性サイトカイン発現に大きな差は認められなかった。その一方、破骨細胞関連遺伝子発現が有意に減少したことにより、歯周炎において小胞体ストレスは破骨細胞形成に直接的に関与している可能性が推察できた。また、*in vitro* で4-フェニル酪酸の添加がRANKL誘導性の破骨細胞様多核巨細胞形成を抑制したこと、ツニカマイシン単独では破骨細胞様多核巨細胞形成が促進されなかったことより、破骨細胞形成において小胞体ストレス応答関連シグナルが必要であるが、それだけでは十分でないことが明らかとなった。以上より、歯周炎において小胞体ストレスは破骨細胞形成に関連し、歯槽骨吸収を誘導する可能性が示唆された。破骨細胞形成における小胞体ストレス応答の関連についての詳細なメカニズムについては今後さらなる解析が必要である。

### フルオロアパタイト置換型リン酸カルシウムセメントに関する基礎的研究(第3報)

—リン酸カルシウム粉末の大きさが反応生成物に及ぼす影響について—

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

○尾形英大<sup>1</sup>, 林 誠<sup>1,2</sup>, 小森規雄<sup>1,2</sup>, 羽鳥啓介<sup>1,2</sup>, 牧野公亮<sup>1</sup>, 高木章三<sup>3</sup>, Laurence C.CHOW<sup>3</sup>,  
小木曾文内<sup>1,2</sup>

#### Fundamental of Fluorapatite-forming Calcium Phosphate Cements part III

— Effect of the particle size of calcium phosphate on fluorapatite-forming reaction —

Departments of Endodontics<sup>1</sup> division of Advanced Dental Treatment<sup>2</sup>, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, ADA Foundation Paffenbarger Research Center, National Institute of Standards and Technology<sup>3</sup>

○Hidehiro OGATA<sup>1</sup>, Makoto HAYASHI<sup>1,2</sup>, Norio KOMORI<sup>1,2</sup>, Keisuke HATORI<sup>1,2</sup>, Kousuke MAKINO<sup>1</sup>, Shozo TAKAGI<sup>3</sup>, Laurence C.CHOW<sup>3</sup>, Bunnai OGISO<sup>1,2</sup>

#### 【研究目的】

近年、リン酸カルシウムセメントを主成分とした多種の骨補填材が臨床に広く使用されている。1982年に Brown と Chow によって開発された Calcium Phosphate Cement (CPC) は、Dicalcium Phosphate Anhydrous (CaHPO<sub>4</sub>: DCPA) と Tetracalcium Phosphate (Ca<sub>4</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>O: TTCP) の等モル比からなり、水分の介在により硬化し最終産物が Hydroxyapatite (HA) になることで知られている。一方、Inoue、Grzanna らなどの報告からフロライド (F) を含有する HA は骨芽細胞の分化と骨形成を促進するとの報告がある。このことから、演者らはフルオロアパタイト (FA) 置換型 CPC (FA-forming CPC) を試作し、第 135、136 回保存学会にて報告した。そこで本研究では、FA-forming CPC の一成分である TTCP 粉末の大きさが反応生成物に及ぼす影響、硬化時間、Diametral tensile strength (DTS)、気孔率、および X 線回折について検討を行った。

#### 【材料および方法】

TTCP 粉末の大きさを TTCP-S (4.0 ± 0.1 μm) および TTCP-L (20.4 ± 0.2 μm) として、それぞれ調製した。これらの粉末を用いてフッ化ナトリウム配合量を各 5 段階 (F/Ca = 0 (control)、0.05、0.1、0.2、0.4) に変化させたセメントを試作し、0.5 M のリン酸溶液を用いて P/L = 2.5 になるように混和した。その後、ステンレスの型 (直径 6 mm、厚さ 3 mm) に充填し、2 枚のフリットガラス版で挟み、37°C、湿度 100% の環境下のインキュベータ内で 4 時間保管した。セメント硬化後、試料をステンレス型から外し、同様の環境下で Physiologic-like solution (PLS) (1.15M CaCl<sub>2</sub>, 133 mM NaCl, 1.2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM HEPES, pH=7.4) (10 mL/disc) に 20 時間浸漬した。硬化時間の測定は Gilmore needle method を用いた。DTS は INSTRON 5500R Testing Machine を使い、速度は 10mm/min として算出した。気孔率は被検材料を 24 時間乾燥させ、密度より算出した。X 線回折は、vertically-mounted diffractometer system (D/MAX 2000, Rigaku, Danvers, MA) を用いた。測定結果は Two-way ANOVA を用いて、P < 0.05 にて統計処理を行った。

#### 【成績】

硬化時間は両粉末サイズともに control と比較し有意に速く F/Ca 比の影響は認められなかった (F/Ca 比=0.4 (TTCP-L) を除く)。F/Ca 比=0.05~0.2 では TTCP-S は TTCP-L より有意に速かった。DTS は両粉末サイズともに control と比較し有意に低く、F/Ca 比の増加にともなって低い値を示した。粉末サイズが DTS に及ぼす影響は F/Ca 比によって異なっていた。気孔率は両粉末サイズともに control から F/Ca 比=0.1 まで有意差は認められなかったが、F/Ca 比=0.2 および 0.4 では有意に増加した。粉末サイズが気孔率に及ぼす影響は control から F/Ca 比=0.2 まで TTCP-S は TTCP-L より有意に高かった。X 線回折では、両粉末サイズともに未反応な TTCP 量を確認し、F/Ca 比の増加にともなって高くなった。

#### 【考察および結論】

以上の結果より、フルオロアパタイト置換型リン酸カルシウムセメントの理工学的特性は、構成成分の一つである TTCP 粉末の大きさに影響を受け、粉末粒径が小さくなることで反応する表面積が増大することに起因すると推測された。また、フッ化ナトリウム配合量の違いも理工学特性に影響を与えるという演者らの先の報告と併せ、骨補填材としてより有用性が高い構成成分を解析することによって、フルオロアパタイト置換型リン酸カルシウムセメントは臨床応用できる可能性が示唆された。

## 歯髄組織工学に向けた棒状三次元細胞集合体の作製

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)<sup>1</sup>,  
大阪大学歯学部附属病院 口腔総合診療部<sup>2</sup>  
○佐々木淳一<sup>1</sup>、毛利有希子<sup>1,2</sup>、竹重文雄<sup>2</sup>、今里 聡<sup>1</sup>

**Fabrication of Rod-shaped 3D Cell Construct for Dental Pulp Tissue Engineering**  
Department of Biomaterials Science, Osaka University Graduate School of Dentistry<sup>1</sup>  
Division for Interdisciplinary Dentistry, Osaka University Dental Hospital<sup>2</sup>  
○SASAKI Jun-Ichi<sup>1</sup>, MOHRI Yukiko<sup>1,2</sup>, TAKESHIGE Fumio<sup>2</sup>, IMAZATO Satoshi<sup>1</sup>

### 【研究目的】

組織工学的手法による再生技術の開発は、新たな歯科医療体系の要になると考えられている。これまで、われわれは温度応答性高分子 poly N-isopropylacrylamide (pNIPAAm) ゲルを用いてマウス由来骨髄間葉系幹細胞 (BMSC) を培養することにより、球状の細胞集合体を作製できることを報告してきた<sup>1)</sup>。この pNIPAAm ゲルは、造形したモールドを用いて調整するため形態の制御が容易であり、球形以外の種々の形態の細胞集合体の作製が可能である。

移植用の歯髄組織を *in vitro* において構築することを目標に、本研究では、まずその基盤技術の開発として、BMSC およびマウス由来線維芽細胞 (L929) の棒状集合体の作製を試みた。

### 【材料と方法】

Free Form ソフトウェアおよび三次元プリンタ (Eden, Objet, Israel) を用いて造形したモールドに NIPAAm 溶液と polyethylene glycol dimethacrylate の混合溶液を流し込み、4°C で 8 時間静置して直方体の凹み (1.5 x 10 x 1.5 mm) を有する pNIPAAm ゲル製の培養チャンバーを作製した。このゲルに BMSC または L929 を播種し、それぞれ 24 時間または 48 時間培養後、周囲温度を 25°C に低下させることによってゲルを膨張させて細胞集合体を取り出した。L929 については、FBS 10% 含有 DMEM 培地を用いて、シーソー型バイオリアクター上でさらに 7 日間培養を継続し、23~27G の注射針を通過させて棒状成形と太さの制御を行った。

各細胞集合体を構成する細胞の生死は、Live/Dead 染色により評価した。また、パラフィン包埋薄切切片を作製し、HE 染色により内部構造の観察を行った。

### 【結果および考察】

BMSC については、pNIPAAm ゲルで 24 時間培養することによって棒状の集合体を得られた (Fig. 1)。一方、L929 については、ゲル上とバイオリアクターで培養後も球状または不定形の集合体を形成するに留まったが、注射針を通して射出することで棒状となった。さらに、通過させる注射針の直径を変化させることで、太さの制御も可能であった。二種の細胞では細胞間接着の強さに違いがあるため、異なる成形方法が必要となったものと考えられる。

一方、Live/Dead 染色の結果、細胞集合体の外層の細胞は活性を維持しているが、内層の細胞の多くが代謝活性を有していないことが分かった。また、HE 染色では、中心部の細胞の核が消失している像が観察され、酸素供給や培地栄養の不足によりネクロシスを起こしているものと推察された。

### 【結論】

pNIPAAm ゲルでの培養により、あるいはゲルで培養した細胞を射出することにより、細胞集合体の三次元的形態を制御でき、BMSC および L929 の棒状細胞集合体の作製が可能であった。

今後は、歯髄細胞の集合体作製やさらなるサイズ制御に取り組むとともに、血管系の共培養等により内部の細胞の生存率を向上させる手法の開発を行う予定である。

### 【参考文献】

- 1) Sasaki JI, *et al.* *In vitro* reproduction of endochondral ossification using 3D mesenchymal stem cell construct. *Integrative Biology* 4(10), 1207-1214, 2012.

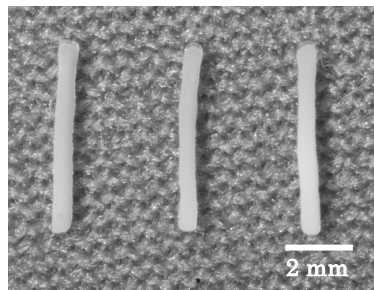


Fig. 1. Rod-shaped 3D cell constructs of BMSC.

## 多血小板血漿が象牙芽細胞様細胞の抗炎症能と分化能に与える影響.

<sup>1</sup>九州歯科大学口腔治療学講座齲蝕歯髓疾患制御学分野

<sup>2</sup>九州歯科大学健康増進学講座感染分子生物分野

○廉 昶勲<sup>1,2</sup>, 鷲尾 絢子<sup>1</sup>, 北村 知昭<sup>1</sup>

Effect of Platelet Rich Plasma on the Anti-inflammatory Potency and Differentiation of Odontoblast-like Cells (KN-3 cell).

<sup>1</sup>Div. of Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, Kyushu Dental University

<sup>2</sup>Div. of Infections and Molecular Biology, Kyushu Dental University

○YEOM Kyoungun<sup>1,2</sup>, WASHIO Ayako<sup>1</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

### 【研究目的】

多血小板血漿 (Platelet rich plasma:PRP) は自家血から調製され、血漿中に血小板が高濃度で凝縮されており、血小板由来増殖因子 (PDGF)、トランスフォーミング増殖因子 (TGF- $\beta$ )、血管内皮増殖因子 (VEGF)、上皮増殖因子 (EGF) のような成長因子を放出することで創傷治癒と組織再生に有効であると考えられている。歯科では歯槽提増大術、上顎洞底挙上術など口腔外科、歯周外科などで応用されている。

本研究では、歯髓と根尖歯周組織の創傷治癒・再生における PRP の影響を調べるため、象牙芽細胞様の特徴を有するラット下顎切歯歯髓由来細胞株 KN-3 細胞を用い、PRP が KN-3 細胞の抗炎症作用を有する物質の産生と硬組織形成能に与える影響を検討した。

### 【材料および方法】

PRP は 3.8%クエン酸ナトリウムを入れたシリンジで肘静脈から 30 ml 採血し、4 °C、2000 rpm で 5 分間遠心分離後、血漿のみ新しいチューブに分注し、4 °C、2000 rpm で 20 分間再度遠心分離を行い、最下層の分画を PRP として回収し、実験に用いた。

KN-3 細胞に PRP を添加して培養後、mRNA を抽出し、抗炎症反応を誘導する IL-1ra、Lactoferrin および炎症性サイトカインである IL-1beta の遺伝子発現を real time RT-PCR で解析した。また、象牙芽細胞分化への影響を検討するため、PRP 添加後の KN-3 細胞における象牙芽細胞分化マーカーである Dentin sialophosphoprotein (DSP) および Dentin matrix protein-1 (DMP-1) の発現を real time RT-PCR で解析した。DSP および DMP-1 については蛋白レベルでの発現を Western blotting 法に検討した。

さらに、PRP 添加後の KN-3 細胞が示す石灰化能を Alizarin red S 染色により検討した。

### 【結果】

PRP の添加により、KN-3 細胞では IL-1ra および Lactoferrin mRNA の発現が一過性に亢進した。この亢進は PRP の濃度依存的であり、5%PRP 刺激で最大の発現誘導が観察された。一方、IL-1beta の遺伝子発現に有意な変化はなかった。

また、DSP、DMP-1 の mRNA の発現も PRP の添加により濃度・時間依存的に発現上昇し、DSP については蛋白質レベルでの発現亢進も観察された。

さらに、Alizarin red S の染色性はコントロール群と比べ、PRP 添加群で有意に増強していた。

### 【考察】

今回の結果より、PRP が抗炎症作用を発現する物質の亢進とともに象牙芽細胞への分化誘導能を持つことが示された。

### 【結論】

以上の結果から、歯髓の創傷治癒・再生療法に有用であることが示唆された。

## 最終糖化産物(AGE)は RAGE-MAPK 経路を介してラット培養歯髄細胞の 石灰化物形成を促進する

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 歯周歯内治療学分野

○中島由紀子, 稲垣裕司, 木戸淳一, 永田俊彦

Advanced Glycation End-product Increases Calcification through RAGE-MAPK pathway in Cultured Rat Dental Pulp Cells.

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

○NAKAJIMA Yukiko, INAGAKI Yuji, KIDO Jun-ichi and NAGATA Toshihiko

【研究目的】 糖尿病患者では動脈硬化を合併し、血管壁に石灰化物を形成する 경우가多く、近年、最終糖化産物(AGE: Advanced Glycation End-product)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)。加えて、糖尿病ラット歯髄組織では AGE 受容体(RAGE)や石灰化関連マーカーの発現が亢進していること、AGE を添加したラット培養歯髄細胞では石灰化誘導能が上昇していることを報告した(*J Endod*: in press, 2013)。これらの知見より、糖尿病の歯髄組織において AGE が石灰化を促進する作用をもつことが示唆された。また、AGE による石灰化促進作用には RAGE-MAPK 経路が関係していることが血管平滑筋細胞を用いた実験で多数報告されている。本実験では AGE が歯髄細胞の石灰化を促進するメカニズムを検証するために、AGE を添加したラット培養歯髄細胞に RAGE に対する低分子干渉 RNA(siRNA)や MAPK 阻害剤を添加し、石灰化関連マーカー発現の変化を調べた。

【材料および方法】 歯髄細胞は Kasugai らの方法に従い 9 週齢の雄性 Wistar 系ラットの上顎切歯より採取し、継代 3 代目がコンフルエントになるまで培養した後、50 µg/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 µg/ml の濃度で添加した。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ものを使用し、コントロールとしてはグリセルアルデヒド無添加で作製した BSA 溶液を用いた。さらに RAGE に対する siRNA、あるいは MAPK 阻害剤として p38 阻害剤(SB203580)、ERK1/2 阻害剤(PD98059)、JNK 阻害剤(SP600125)をそれぞれ添加して 2 週間培養を行い、RNA を採取・抽出し、OPN およびオステオカルシン(OCN)の発現を real-time PCR 法で調べた。

【結果】 培養歯髄細胞に AGE を添加すると OCN の mRNA 発現量は有意に増加したが、RAGE に対する siRNA を添加するとその発現は BSA を添加した対照群と同じレベルにまで低下した。また、AGE の添加によって増加した OPN の mRNA 発現は、p38 阻害剤である SB203580 の添加によりその発現量が有意に低下し、PD98059 や SP600125 の添加では有意な変化は認められなかった。一方、AGE の添加によって増加した OCN の mRNA 発現は ERK1/2 阻害剤である PD98059 の添加によりその発現量が有意に低下し、SB203580 や SP600125 の添加では有意な変化は認められなかった。

【結論】 AGE 添加による培養歯髄細胞の石灰化促進には RAGE および MAPK 経路が関連しており、MAPK のうち OPN の発現には p38 が、OCN の発現には ERK1/2 が主に関連していることが示された。以上より糖尿病の歯髄組織における AGE 誘導性の病的石灰化は RAGE-MAPK 経路を介して引き起こされている可能性が示された。

## Effects of phosphophoryn-derived RGD peptides on odontoblasts

○Jia Tang, Keisuke Handa, Kejiro Hayashi, MMA Polan and Takashi Saito  
Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

### Purpose:

Calcium hydroxide has been considered as the gold standard in direct pulp capping. However, it has some unavoidable shortcomings like high alkalinity, porous reparative dentine formation and long reparation time. To overcome these problems, new biocompatible reagents that induce sound reparative dentine formation need to be developed. Dentin phosphophoryn is the most abundant extracellular matrix in dentin, and is reported to be involved in the initiation of mineralization of dentin. Previously, we showed the ability of phosphophoryn-derived RGD short peptides artificially synthesized for induction of differentiation of human bone marrow stem cells *in vitro*. The purpose of this study was to examine whether the peptides have any effects on the proliferation and differentiation of odontoblasts.

### Materials and Methods:

Polystyrene cell culture dishes were coated with 200µg/ml of phosphophoryn-derived RGD peptides (RGD-1: SESDNNSSSRGDASYNSDES; RGD-2: ANSESDNNSSSRGDA; RGD-3: SRGDASYNSDESKD). The MDPC-23, a rat odontoblast-like cell line was cultured on the peptide-coated dishes with DMEM supplemented with 10% FBS. The cell-morphology and proliferation were evaluated. Furthermore, cells were analyzed for mRNA expression of dentinogenesis-related proteins by conventional RT-PCR and real-time PCR.

### Results and Discussion:

These peptides did not affect the morphology or proliferation of MDPC-23. The RGD-3 significantly promoted the DSPP, DMP-1, ALP, OCN, BSP gene expressions at the concentration of 200µg/ml, while RGD-1 and RGD-2 showed comparatively weaker effect than RGD-3, still it was higher than control. It was previously reported that DPP promotes cell-differentiation via MAPK and Smad signal pathway after RGD motif binds to integrin existing on the cell surface. From the results of this study, it was speculated that peptide-conformation is important for induction of differentiation of odontoblasts.

### Conclusion:

This study shows that 200µg/ml of RGD peptides have positive effect on the differentiation of MDPC-23, and that RGD-3 is the most potential in enhancing the odontogenic gene expression among the peptides. Further *in vitro* and *in vivo* studies are needed to verify our results. (This work was partly supported by Grant-in-Aid for Scientific Research (B) 23390436.)

### 酸性溶液がエナメル質の衝突摩耗性に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1</sup>，総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>  
青島歯科医院<sup>3</sup>，松村歯科医院<sup>4</sup>

○市野 翔<sup>1</sup>，飯野正義<sup>1</sup>，井上直樹<sup>1</sup>，山路 歩<sup>1</sup>，陸田明智<sup>1,2</sup>，  
安藤 進<sup>1,2</sup>，宮崎真至<sup>1,2</sup>，青島 裕<sup>3</sup>，松村正鴻<sup>4</sup>

#### Influence of Acid Solution on Impacting-Sliding Wear of Enamel

Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>，Division of Biomaterials Science, Dental Research Center<sup>2</sup>，  
Nihon University School of Dentistry, Aoshima Dental Clinic<sup>3</sup>，Matsumura Dental Clinic<sup>4</sup>  
○ICHINO Sho<sup>1</sup>，IINO Masayoshi<sup>1</sup>，INOUE Naoki<sup>1</sup>，YAMAJI Ayumi<sup>1</sup>，RIKUTA Akitomo<sup>1,2</sup>，  
ANDO Susumu<sup>1,2</sup>，MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>，AOSHIMA Yutaka<sup>3</sup>，MATSUMURA Seikou<sup>4</sup>

#### 【研究目的】

Tooth wear は，齶蝕とは異なる過程で歯質の欠損を生じる疾患であり，酸蝕，摩耗あるいは咬耗などの因子が複雑に影響しあうことによって発症すると考えられている。しかし，その発現機序の詳細に関しては，影響因子が複雑であることから，とくにその予防法を解明することは困難な課題であると考えられている。そこで演者らは，Tooth wear の予防法を確立する研究の一環として，pH を規定したリン酸水溶液がウシエナメル質の衝突摩耗に及ぼす影響について検討した。

#### 【材料および方法】

エナメル質としては，ウン(2-3 歳齢)の下顎前歯を用いた。歯冠部を常温重合レジンに包埋し，シリコンカーバイドペーパー (SiC) を用いて直径 6 mm 程度のエナメル質の平坦面が得られるように #400 から #2,000 で順次研削し，これを試片とした。これら試片の浸漬溶液としては，その pH を 3.0, 5.0 あるいは 7.0 と酸性域から中性域に規定した 3 種のリン酸水溶液を用いた。

衝突摩耗試験には，衝突摩耗試験機 (K655-06，東京技研) を用いた。ステンレスロッドをアンタゴニストとし，37°C の溶液に浸漬した試片に対して，垂直的落下距離 5 mm，水平的スライド距離 2 mm，荷重 25N および 50N の 2 条件で，垂直落下 1 回と水平スライド 2 回を 1 サイクルとした衝突摩耗を 5,000 サイクルまで負荷した。その後，レーザー顕微鏡 (VK-9700，キヤンエンズ)，FE-SEM (ERA-8800FE，エリオニクス) およびヌープ硬さ試験機 (DMH-2，松沢) を用いて表面性状を継続的に測定した。摩耗性状の分析には，レーザーカラー画像 (LC 像)，3D レーザー画像 (3D 像) およびラインプロファイル (P 像) を用いて体積摩耗 (ISW) 量および最大摩耗深さを求めた。また，表面硬さは溶液に浸漬前後の細粒ヌープ硬さ値 (KHN) を求めた。試片の数は各条件について 5 個とし，測定値の統計処理には，ANOVA および Tukey の方法を用いた。

#### 【成績および考察】

溶液に浸漬前後の ISW 量および最大摩耗深さの変化は，溶液の pH および負荷荷重の違いによって特徴ある結果を示した。すなわち，酸性水溶液 (pH 3.0) 条件における衝突摩耗サイクル後の ISW 量および最大摩耗深さは，その他の溶液内での値より大きくなり，負荷荷重の増加に伴って，ISW 量および最大摩耗深さは大きくなる傾向も著名であった。

中性溶液 (pH 7.0) 条件での摩耗面観察は，疲労摩耗および摩擦摩耗が認められた (Fig. 1)。一方，酸性溶液 (pH 3.0) 条件では酸蝕によるエナメル小柱の明瞭化，衝撃に伴うエナメル小柱の破壊や亀裂および摩擦摩耗が混在した，いわゆる摩擦化学的摩耗が認められた (Fig. 2)。

KHN は，衝突摩耗回数の増加に伴って低下する傾向が認められた

#### 【結論】

エナメル質のリン酸溶液中における ISW 量および最大摩耗深さは，pH の低下および負荷荷重の増加によって影響されることが判明した。また，中性溶液内での初期の wear 挙動は疲労性摩耗が，また酸性溶液内での wear 挙動は，摩擦化学的摩耗が摩耗機序の主体であったことから，Tooth wear の予防には初期段階で酸蝕を防ぐことの検討が必要であると示唆された。

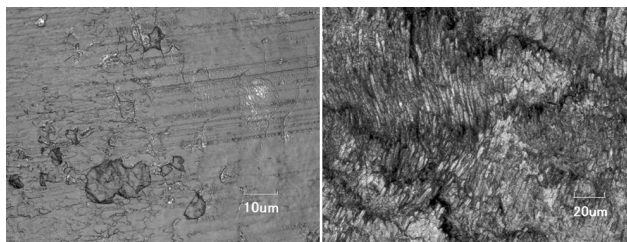


Fig. 1 Laser image in a neutral solution (pH 7.0)

Fig. 2 Laser image in an acid solution (pH 3.0)

## ケイ酸カルシウムと高親水性モノマーを含有した新しい光硬化型直接覆髄材の 修復性治癒効果に関する研究

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○堅田和穂, 堀江 卓, 岸本崇史, 永瀬洋介, 杉尾憲一, 堅田尚生, 富士谷盛興, 千田 彰

### A Study of Reparative Healing of the Exposed Pulp Directly Capped with a New Light-cured Resin-modified Pulp Capping Material Containing Calcium Silicate and Highly Hydrophilic Monomer

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

○KATADA Kazuho, HORIE Taku, KISHIMOTO Takafumi, NAGASE Yosuke, Sugio Kenichi, KATADA Hisao, FUJITANI  
Morioki, SENDA Akira

#### 【研究目的】

偶発的露髄に対する処置として、水酸化カルシウム製剤や Mineral Trioxide Aggregate (以下 MTA) などを用いた直接覆髄が一般的に行われている。近年注目されている MTA は、良好な被蓋硬組織形成を有し、露髄創傷部の治癒効果が高いと報告され、当講座堀江らも高く評価している (日歯保存誌 52(5):393-401, 2009)。その一方で、実際の臨床使用においては、硬化時間が長く、操作が煩雑であるなどという問題点も有する。

このような背景のもと、MTA の主成分であるケイ酸カルシウム等の無機質酸化物に加え、非常に親水性の高いモノマーを含有し、さらに光硬化性と簡便な操作性を有する直接覆髄材が新たに開発された。そこで本研究は、この新しい直接覆髄材をラット臼歯の露髄窩洞に応用した場合の歯髄の病理組織学的変化を観察し、被蓋硬組織形成の様相を中心に覆髄材の修復性治癒効果について、MTA を使用した場合と比較検討した。

#### 【材料及び方法】

本研究は愛知学院大学歯学部動物実験委員会の承認下 (承認番号 198 号) において愛知学院大学歯学部動物実験実施規程に基づいて遂行された。実験動物として 8 週齢の Wistar 系雄性ラット 20 匹を用い、ジエチルエーテル吸入にて麻酔導入を行い、ペントバルビタールナトリウム (ソムノベンチル®, 共立製薬) を腹腔内注射して全身麻酔を施した。上顎右側第一臼歯にラバーダムを装着し術野の隔離を行った後、近心小窩付近にラウンドのステールバー (ISO #006, メルファー) を用いて低速軽圧非注水下で露髄窩洞を形成した。露髄部を 10% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液と 3% 過酸化水素水にて交互洗浄後、滅菌生理食塩水で洗浄しながら止血を確認し、TheraCal LC (Bisco) を用いて直接覆髄を施した (TCL 群)。また、反対側 (左側) の第一臼歯に、直接覆髄材としてプロルート MTA (デンツプライ三金) を用いて同様の処置を施し、対照とした (MTA 群)。これらの窩洞をスーパーボンド (サンメディカル) で封鎖し、咬合を避けるため対合歯を抜去した。7, 14 日後、過剰量のペントバルビタールナトリウムの腹腔内注射によりラットを屠殺し、被検歯を取り出した後、通法に従ってパラフィン連続切片を調製した。ヘマトキシリン・エオジン染色を施した切片を用いて、歯髄の病理組織学的変化を、被蓋硬組織形成の様相を中心に観察した。

#### 【結果ならびに考察】

7 日後では、TCL 群および MTA 群のいずれにおいても、多くの被検歯の露髄部直下には軽度の炎症性細胞浸潤が認められたが、露髄面をほぼ完全に覆う被蓋硬組織が形成されていた。14 日後では、TCL 群、MTA 群ともに炎症性反応は消退し、露髄面は規則的な細管構造を有する新生被蓋硬組織により完全に覆われ、その厚みは増していた。MTA は、主成分であるケイ酸カルシウム等の水和反応により生じた水酸化カルシウムが持続的に溶出することにより、良好な修復性治癒効果を示すと考えられている。本研究に用いた新しい直接覆髄材においても含有されるケイ酸カルシウム等が同様に作用したものと推察され、TCL 群は MTA 群と同程度の良好な修復性治癒効果を示したものと思われる。

#### 【結論】

ケイ酸カルシウムと高親水性モノマーを含有した新しい光硬化型直接覆髄材は、操作が簡便であり、かつ、MTA と同程度の良好な修復能を有する覆髄材であることが明らかとなった。



## MMA 系接着充填材の接着強さと耐酸性の評価

<sup>1</sup>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う蝕制御学分野

<sup>2</sup>歯と骨の GCOE

○品川 淳一<sup>1</sup>、井上 剛<sup>1</sup>、二階堂 徹<sup>1</sup>、田上 順次<sup>1,2</sup>

### Assessment of Bond Strength and Acid Resistance of 4-META/MMA-TBB Resin Filling Materials

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

<sup>2</sup>Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases  
○Junichi Shinagawa<sup>1</sup>, Go Inoue<sup>1</sup>, Toru Nikaido<sup>1</sup>, Junji Tagami<sup>1,2</sup>

【研究目的】4-META/MMA-TBB レジン (スーパーボンド C&B、サンメディカル、以下 SB) は、機能的モノマーである 4-META と低分子モノマーである MMA、さらに TBB 触媒からなるユニークな接着システムとして臨床で広く使用されている。我々はこれまでにその長期接着耐久性や接着界面の耐酸-塩基抵抗性について検討してきた。今回 SB の特徴を活かした新たな接着性充填材料 (ボンドフィル SB、サンメディカル、以下 BF) が市販された。また NaF を配合した新しいポリマー粉末筆積 F3 (以下 F3) も開発された。そこで本研究の目的は、新規材料である BF の接着強さと耐酸性を SB と比較し、その性能を評価すると共に F3 の効果について検討することとした。

【材料及び方法】使用した接着材料は、SB と BF であり、SB 群では前処理材として、表面処理材グリーン (以下 10-3) またはティースプライマー (以下 TP) を使用した (SB/10-3、SB/TP)。一方、BF 群では前処理材として、TP を使用した (BF/TP)。さらに BF 専用粉材の代わりに F3 を使用した群を追加した (BF/F3/TP)。微小引張強さ試験：ヒト抜去歯の象牙質面を歯軸と垂直に露出させ #600 耐水研磨紙にて研削し、高さを約 1 mm に規制し SB または BF を筆積み法にて築盛、アクリルロッドを圧接して接着試験片とした。1 日水中保管後、ビーム法にてクロスヘッドスピード 1 mm/min にて微小引張強さ試験を行った。その後、SEM (JSM-5310LV、エリオニクス) にて破断面を観察した。接着界面の耐酸-塩基抵抗性の評価：ヒト抜去歯を用い Inoue らの方法 (2006) に準じて試料の作製を行い、SEM を用いて接着界面の観察を行った。

【結果及び考察】微小引張強さ試験の結果を表に示す。また接着界面の酸-塩基処理後の SEM 写真を図に示す。BF/TP 群では他の群に比べて有意に高い接着強さを示し、どの群においてもレジン内での凝集破壊が多く認められた。一方、SEM による接着界面の観察結果から、どの群においても Acid-base resistant zone の形成は認められなかった。さらに BF/TP 群においては象牙質移行部に Erosion の形成が認められた。BF は SB と比べてモノマー液に二官能性モノマーが添加され、さらにポリマー粉末にはフィラーが添加されている。BF/TP 群においては接着材の機械的強度が向上することで接着性が向上した反面、モノマーの浸透性が低下したことで Erosion が形成されたものと考えられる。しかし、BF/F3/TP においては、Erosion は認められず、象牙質への移行部にスロープ状の耐酸性層 (Sloped area) の形成が認められた。これは F3 に含まれる NaF の徐放作用によるものと考えられる。

【結論】BF は高い接着強さを示したが、SB に比べて耐酸性は低かった。しかし、粉材にフッ化物を配合することで耐酸性が向上する可能性が示唆された。

表 各群の微小引張強さ (MPa)

SB/10-3	SB/TP	BF/TP	BF/F3/TP
30.0 ± 6.8 <sup>a</sup> (n=24)	32.1 ± 8.6 <sup>b</sup> (n=30)	45.2 ± 14.3 <sup>abc</sup> (n=36)	32.7 ± 13.4 <sup>c</sup> (n=31)

統計処理: Games-Howell a, b, c: p<0.05

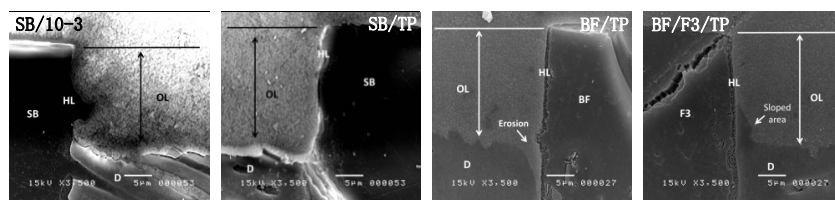


図 各群の酸-塩基処理後の SEM 写真(3500 倍)

## エナメルマージン形態がコンポジットレジン修復物の色調に及ぼす影響

東京医科歯科大学大学院摂食機能保存学講座 歯制御学分野

○会田麻美<sup>1</sup>, 關奈央子<sup>2</sup>, 中島正俊<sup>3</sup>, 田上順次<sup>4</sup>

Effect of enamel margin form on color change of resin composite restoration

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, Graduate school, Tokyo Medical and Deantal University

<sup>2</sup>Tokyou Medical and Dental University International Exchange Center

○Asami AIDA, Naoko SEKI, Masatoshi NAKAJIMA, Junji TAGAMI

### <緒言>

光重合型コンポジットレジン修復における課題のひとつとして、天然歯との色調適合性があげられるが、患者の歯牙の色調をいかに正確に評価し、それと類似の色調のコンポジットレジンを選択しても、完全に色調をあわせることは容易ではない。コンポジットレジン半透明性の材料であり、周囲歯質の色調を反映して、色調が変化することが知られている。そこで、色調を合わせる臨床技術としてベベル付与が推奨されているが、その詳細については不明である。今回、ウシ抜去歯から作成したエナメル質板に形成した打ち抜き窩洞に、3種のエナメル色コンポジットレジンを充填し、ベベルの有無による色調の変化挙動について検討を行った。

### <材料・方法>

実験材料として、3種のレイヤリング用光重合型コンポジットレジン(クリアフィルマジェスティ ES-2 Premium (A2E); クラレリタケ, カローレ (WE); ジーシー, エステライトプロ (A2E); トクヤマデンタル)を用い、シェードはそれぞれ、A2を採択した場合に業者指示されたエナメル色を用いた。

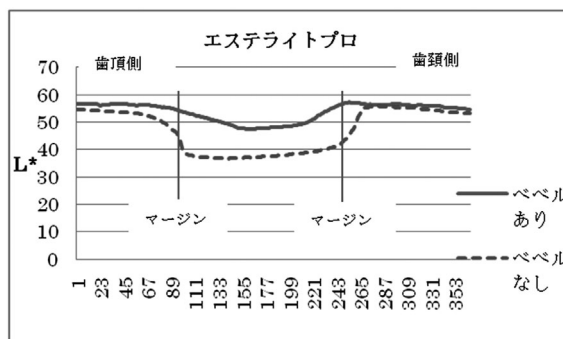
冷凍保存されたウシ抜去歯を用い、厚さ1mmのエナメル質板を切り出した後、中央部に45度のストレートベベルを付与した群、または付与しない群の2種の打ち抜き窩洞(径3mm)を形成した。業者指示に従い、クリアフィルボンド SE One (クラレリタケ)にて接着処理後、コンポジットレジンを充填し、光照射器(Optilux 501, Demetron)を用いて、両面から20秒間ずつ光照射して、硬化させた。その後、37°C24時間水中保管後、研磨し、測色用試料とした。測色には、D<sub>65</sub>光源下で、視覚全色域カメラ(YC900、パパラボ社製)を用いて、黒色基準板背景のもとデジタル撮影(画角 21×36 mm; 解像度 1920×1080)を行い、窩洞を含んで歯頂側から歯頸側エナメル質までの CIE L\*a\*b\*値を連続的に算出した。今回使用した視覚全色域カメラ(YC900)は、得られた3バンドの等色関数を人間の目の感度である標準的な等色関数への線形変換に対応するカラーフィルターを搭載しており、ヒトの色に対する感度を忠実に再現することを目指している。

### <結果および考察>

窩洞にベベルを付与しない場合、L\*値はマージン部で急激に低下したが、ベベルを付与することによりL\*値の変化は緩やかなものとなった。また、窩洞内のコンポジットレジンのL\*値は、ベベルを付与することにより高い値を示した。その程度は、用いたコンポジットレジンにより異なっていた。一方、a\*およびb\*値については、ベベルの有無による明確な変化は本研究において確認できなかった。

### <結論>

窩洞にベベルを付与することにより、コンポジットレジン修復物マージン部の明度変化は緩やかになり、コンポジットレジン修復物全体の明度も上昇した。



## 新規フロアブルレジンの機械的性質とその臨床応用

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1</sup>, 総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>, 斎藤歯科医院<sup>3</sup>

○黒川弘康<sup>1,2</sup>, 野尻貴絵<sup>1</sup>, 浅野和正<sup>1</sup>, 高見澤俊樹<sup>1,2</sup>,  
瀧川智義<sup>1,2</sup>, 安藤 進<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>1,2</sup> 斎藤充良<sup>3</sup>

### Mechanical properties of newly developed flowable resin composite and clinical use

Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>, Division of Biomaterials Science Dental Research Center<sup>2</sup>,

Nihon University School of Dentistry

SAITO Dental Clinic<sup>3</sup>

○KUROKAWA Hiroyasu<sup>1,2</sup>, NOJIRI Kie<sup>1</sup>, ASANO Kazumasa<sup>1</sup>, TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2</sup>,  
TAKIGAWA Tomoyoshi<sup>1,2</sup>, ANDO Susumu<sup>1,2</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup> and SAITO Mitsuyoshi<sup>3</sup>

#### 【緒言】

ペーストの操作性として、流れることを重要視したフロアブルレジンは多数市販されている。とくに最近では、レジンモノマー成分とともに含有されているフィラーの粒径、形状、配合率あるいはその表面処理などに改良を加えることで強度の向上を図った製品も多く開発され、くさび状欠損や咬合面小窩裂溝修復に留まらず、臼歯部の大型窩洞修復に用いることが可能な製品も市販されている。今回、新規フィラーの導入とともに、その表面処理技術の改良によって、優れた研磨性や操作性を有するだけでなく、フィラーの高密度充填を可能としたフロアブルレジンはクラレノリタケデンタルから市販された。そこで、この新規フロアブルレジンの機械的性質について評価するとともに、臨床応用について検討した。

#### 【材料および方法】

新規フロアブルレジンとして、クリアフィルマジスティ ES フロー（クラレノリタケデンタル）および従来品であるクリアフィルマジスティ LV（クラレノリタケデンタル）の2製品を用いた。

評価項目としては以下の4項目とし、それぞれ測定を行った。

##### 1. 曲げ強さ (MPa) および曲げ弾性率 (GPa)

2×2×25 mm のステンレス製割型にフロアブルレジンを充填し、加圧成形した後、製造者指示条件に従い2箇所に分割して照射し、測定用試片とした。この試片を、万能試験機 (Type 5500R, インストロン) を用いて3点曲げ強さ測定を行うとともに、応力-歪曲線の傾きから曲げ弾性率を試験機に付属するソフトウェアを用いて算出した。

##### 2. 摩耗量

衝突摩耗試験機 (K655-06, 東京技研) を用いて衝突摩耗試験を行った後、形状測定レーザマイクロスコープ (VK-9710, キーエンス) を用いて摩耗量を測定した。

##### 3. 光沢度

デジタル光沢度計 (GM-26D, 村上色彩技術研究所) を用い、入射角および受光角を 60° とし、黒ガラス標準板でキャリブレーションした後にいった。

##### 4. フロアブルレジ硬化物のフィラー形状

金蒸着を施した後、フィールドエミッション走査電子顕微鏡 (ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて、加速電圧 10 kV の条件で観察した。

さらに、日本大学歯学部附属歯科病院保存修復科に来院し、本研究の主旨を説明し、了解を得られた患者を被験者とし、クリアフィルマジスティ ES フローを用いて修復処置を行い、その臨床使用について評価した。なお、臨床応用にあたっては、日本大学歯学部倫理委員会の審査を経て承認を得ている。

#### 【成績および考察】

クリアフィルマジスティ ES フローの曲げ強さは 152.1 MPa および曲げ弾性率は 9.4 GPa を示した。また、クリアフィルマジスティ ES フロー硬化物の SEM 観察からは、サブミクロンフィラーおよびナノフィラーをクラスター化した像が観察された。一方、臨床使用時の操作性は、糸引きが少なく、また、窩壁になじみながらも流れにくいことから、くさび状欠損や臼歯部咬合面の充填など、インジェクタブルレジンとしての使用にも有効であった。これらの性質は、新規フィラーの導入とともにフィラーの表面処理技術の改良が影響したものと考えられた。

#### 【結論】

新規フロアブルレジンは、従来品と同程度の機械的性質を有しながら、良好な研磨性と容易な操作性とを示した。

## 試作フロアブルレジン修復システム (LLB-LF) の基本接着性能

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1</sup>, 総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>

日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座<sup>3</sup>, 植原歯科医院<sup>4</sup>

○古市哲也<sup>1</sup>, 吉田ふみ<sup>1</sup>, 小倉由佳理<sup>1</sup>, 岩佐美香<sup>1</sup>, 利根川雅佳<sup>1</sup>,

坪田圭司<sup>1,2</sup>, 安藤 進<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>1,2</sup>, 植原俊雄<sup>3,4</sup>

**Adhesive Performance of Experimental Flowable Resin Restorative System (LLB-LF)**

Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>, Division of Biomaterials Science Dental Research Center<sup>2</sup>,

Department of Periodontology<sup>3</sup>, Uehara Dental Clinic<sup>4</sup>, Nihon University School of Dentistry

○FURUICHI Tetsuya<sup>1</sup>, YOSHIDA Fumi<sup>1</sup>, OGURA Yukari<sup>1</sup>, IWASA Mika<sup>1</sup>, TONEGAWA Motoka<sup>1</sup>,

TUBOTA Keishi<sup>1,2</sup>, ANDO Susumu<sup>1,2</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>, UEHARA Toshio<sup>3,4</sup>

### 【緒言】

臨床使用における簡便性を旨として開発された Primefil (以下 PF, トクヤマデンタル) は、プライマーへの光照射を必要としない修復システムである。すなわち、プライマー中に含まれる SR モノマーが歯質のカルシウムイオンに化学的に反応することで接着層を形成するとともに、専用のフロアブルレジンを用いることによって組成中の重合開始材と反応し、接着界面における重合硬化が進行する。したがって、操作が簡便でチェアタイムの短縮が図れると同時に、テクニクセンシティブ因子の軽減が望めるとともに、歯質と修復物の接合界面付近から重合が開始することから、安定した接着系の形成が期待されている。さらに、臨床操作性の向上を目指して、フロアブルレジンのフローを低流動化した修復システム LLB-LF (以下 LLB, トクヤマデンタル) が開発された。そこで演者らは、LLB の初期およびサーマルサイクル負荷後の歯質に対する接着強さを測定するとともに、その破壊形式を観察することによって、基本的接着性能について検討を行った。

### 【材料および方法】

供試した修復システムは、LLB に加え、市販の Bond Force と Estelite Flow Quick (以下 BF, トクヤマデンタル)、および PF の合計 3 製品とした。可視光線照射器としては、Optilux 501 (sds Kerr) を、その光強度を確認して使用した。被着体としては、ウシ下顎前歯の唇面エナメル質および象牙質を 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、被着面積を規定し、製造者指示条件にしたがってアドヒーズを塗布、レジンペーストを填塞、ストリップスを介して光照射を行い、接着試験用試片とした。接着強さの測定は、37 °C 精製水中に 10 分間保管した試片 (以下 10 分群)、24 時間保管した試片 (以下 24 時間群)、および 24 時間保管した後にサーマルサイクル試験装置 (B type, トーマス科学) を用いて 5°C ~ 55°C を 1 サイクルとして、各温度における係留時間を 60 秒に設定したサーマルサイクルを負荷した試片 (以下 TC 群) の 3 条件について、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い、その平均値を各条件における接着強さとして評価した。24 時間群においては、被着歯面の湿潤状態を Dry 条件および Wet (プロットドライ) 条件の 2 群に分けて検討を行った。また、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し、破壊形式の判定を行った。アドヒーズ処理歯面および接合界面については、通法にしたがって SEM (ERA-8800FE, エリオニクス) 観察を行った。

### 【成績および考察】

LLB の 24 時間群の接着強さは、エナメル質および象牙質のいずれの被着面に対しても対照群と同等の良好な接着強さを示した。LLB の 24 時間群の破壊形式は、エナメル質では歯質あるいはレジンの凝集破壊が散見されたが、象牙質では接着界面付近からの破壊が大勢を占めた。また、LLB の TC 群の接着強さは、エナメル質において 24 時間群と同等の値を示したものの、象牙質においては低下する傾向を示した。このことは、エナメル質および象牙質の構造あるいは構成成分の違いによるものと考えられた。さらに、被着歯面の湿潤状態が LLB の接着性に及ぼす影響は、エナメル質および象牙質ともに Dry 条件と Wet 条件においても同等の接着強さを示したことから、歯面の湿潤状態の影響を受けにくいことが示唆された。LLB の接着機構において、いずれの条件においても機能性モノマーの化学的作用が向上した可能性が考えられた。

### 【結論】

本研究の結果、試作フロアブルレジン修復システム LLB はエナメル質および象牙質いずれの被着体に対しても安定した接着強さを示すことが明らかとなった。また、被着歯面が湿潤状態であっても良好な接着が得られることから、臨床においても有用性の高いことが示唆された。

## ファイバーポスの維持力に及ぼす直接法・直接間接法の影響

東京歯科大学歯科理工学講座  
○副島寛貴、河田英司、小田豊

**Influence of direct or direct-indirect techniques on retention force of post**  
Department of Dental Materials Science, Tokyo Dental College  
○Soejima Hirotaka, Kawada Eiji, Oda Yutaka

### [研究目的]

歯内療法処置歯にファイバー強化型コンポジットレジンポスト (FRC ポスト) を用い支台築造する方法が広く応用されている。しかし、FRC ポストとコンポジットレジンで作製したポストの維持力に関する報告は少ない。演者らはこれまでに、牛歯根管処置歯に直接法または直接間接法でポストを植立し、その接着初期 (1 日) での維持力を評価し、従来型接着性レジンセメントでは直接間接法で植立した方が大きいことを報告した。本研究では、セメントの後重合を考慮し、14 日間経過後のポストの維持力に及ぼす FRC ポストの植立方法の影響を明らかにすることを目的とした。

### [材料と方法]

根管径が 3 mm 以下の牛歯歯根に通法に従って根管充填した。ポストスペースは直径 3 mm のドリルにて深さ 4 mm になるように形成した後に、18% EDTA で洗浄した。FRC ポストには Fibrekleer Post (φ1.5 mm : ペントロンジャパン) を用いた。直接法では、ボンディング材にハイブリッドコート 2 (サンメディカル) を用いて FRC ポストとポストレジン (サンメディカル) でポストを作製する方法 (SB-D)、従来型接着性レジンセメントとしてパナビア F2.0 (クラレメディカル : PA)、セルフアドヒーシブタイプとして SA ルーティング (クラレメディカル : SA) で根管処置歯に直接 FRC ポストを植立する方法 (それぞれ PA-D および SA-D) で植立した。直接間接法では、根管に分離材 (スーパーボンドセップ) を塗布し、FRC ポストとポストレジンを充填し、10 秒間光照射した後に、ポストを取り出し、4 方向からさらに光照射した。硬化させたポストは、スーパーボンド C&B (サンメディカル : SB)、PA または SA で水洗乾燥した根管処置歯に各メーカーの指示通りに合着した (SB-ID、PA-ID、SA-ID)。各セメントの使用方法はメーカーの指示通りとした。試料は 37°C の水中に 14 日間静置し、各条件で 7 個ずつとした。

ポストを植立した根管処置歯はアクリルリングに固定した後に、万能材料試験機 (Autograph AG-I 20kN, 島津) を用い、クロスヘッドスピード 0.5 mm/min でポストの引抜き試験を行い、その最大荷重を維持力とした。引抜き試験後のポスト表面を光学顕微鏡 (VH-5000, Keyence) で破壊形態を観察、分類した。各種セメントにおいて、直接法と直接間接法で植立したポストの維持力は、t 検定により統計処理を行った ( $\alpha=0.05$ )。

### [結果および考察]

ポストの維持力の平均は、SB-D : 185.7、SB-ID : 281.5、PA-D : 247.9、PA-ID : 267.4、SA-D : 139.1、SA-ID : 261.4 (単位 : N) となり、SB-D と SB-ID および SA-D と SA-ID に統計学的な有意差が認められた。引抜き試験後の破壊形態は SB-D では主にポストレジンと歯質の間での破壊を認め、PA-D および SA-D ではポストを形成しているセメントと歯質の間での破壊が 3 個であった。SB-ID および SA-ID ではポストレジンと歯質の間での破壊を 3 個認め、PA-ID では主にポストレジンの凝集破壊を含む混合破壊であった。

これまでの発表から接着初期での引抜き維持力と比較すると PA-D および SA-ID は 14 日間の浸漬により維持力の増加を示した。これは PA-D および SA-ID の 14 日後の破壊形態として混合破壊が増えたことからポストを形成するセメント自身の強さが向上したためと考える。今回の実験の結果から 14 日間の水中浸漬により SB-D はボンディング材と歯質間の接着強さが低下していると推測される。PA-D および SA-ID はともに、ポストを形成するセメント自身の強さの増加のみならず、根管壁との接着強さの増加がポストの維持力に影響したものと考える。

### [結論]

異なった種類のセメントを用いて根管処置歯に植立した FRC ポストの維持力は、直接法・直接間接法にかかわらず水中保管することで増加するものと低下するものがあり、重合様式が関与しているものと示唆された。

[参考文献] 第 136 回保存学会春季学術大会抄録(P.64/B23-1710)、第 33 回歯内療法学会学術大会抄録(P.78/PO-15)

## 新規支台築造用レジンシステムにおける歯質接合界面のSEM観察

虎の門病院歯科

○杉崎順平、陶山雄司、森上 誠、宇野 滋、山田敏元

### SEM observation on the resin / dentin interface of a newly designed core build-up system

Toranomon Hospital, Department of Dentistry

○SUGIZAKI Jumpei, SUYAMA Yuji, MORIGAMI Makoto, UNO Shigeru, YAMADA Toshimoto

#### 【研究目的】

近年、審美修復の増加や垂直性の歯根破折への懸念、金属アレルギーへの対応などにより、メタルコアよりも歯質に近似した弾性係数をもつコンポジットレジンを用いたレジンコアが選択される症例が増えてきている。それに伴い、各メーカーからはデュアルキュアタイプのボンディングシステムを含む支台築造用のレジンコアシステムが市販されている。このたび(株)松風から PRG 技術を応用した 2 種の流動性をもつオートミックスタイプのデュアルキュアレジンコアペースト(ビューティコアペースト、フローペースト)と 1 ステップタイプのデュアルキュアボンディングシステム(ビューティデュアルボンド)から構成される支台築造システムが市販された。今回われわれはこのシステムを用いた直接法による支台築造を行った際のレジンと象牙質との接合界面、またファイバーポストとの界面の様相について SEM 観察を行ったので報告する。

#### 【材料と方法】

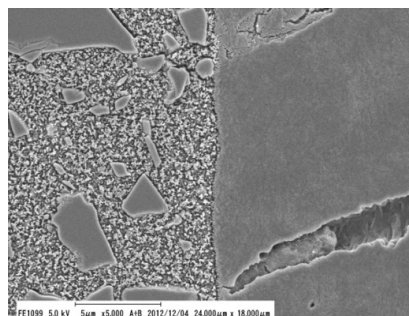
材料： 1. ビューティデュアルボンドはデュアルキュア型の 2 液 1 ステップタイプで、2 液を混和し歯面に塗布後 10 秒間の放置、弱圧～中・強圧エアで乾燥後 10 秒間の光照射を行うというものである。

2. コア用レジンペーストはオートミックスシリンジにより直接根管内へ注入する。根管深部には流動性の高いフローペーストを用い、上部構造には流動性が低く賦形が容易なコアペーストを用いた。

方法： 単根のヒト抜去歯を歯頸部付近で切断し、抜髄操作後ファイバーポストドリルを用いて根管形成を行い、上記手順に従ってジーシーファイバーポストを用いてコアの築盛を行い接着試片とした。24 時間後試片は根管中央付近を通るように歯軸方向に縦断されエポキシ樹脂に包埋された。樹脂硬化後研磨された試片は通法に従いアルゴンイオンエッチングを施した後、レジンと象牙質との界面、ならびにレジンとファイバーポストとの界面を中心に FE-SEM を用いて観察を行った。

#### 【結果および考察】

コア用レジンには 1-5 $\mu\text{m}$ 程度の不定形なフィラーの間に 0.1 $\mu\text{m}$ 程度の非常に細かなフィラーが高密度に充填されているのが観察された。また流動性の高いコアペーストの方がフローペーストと比べてフィラーの割合が多いのが確認された。象牙質との界面においてボンド層の厚さは極めて薄く、明瞭に判別できなかったものの、象牙質とは緊密な接合状態を示していた。コア用レジンとファイバーポストとの接合状態も良好で界面にギャップは観察されなかった。



レジンと根管内象牙質との接合界面

#### 【結論】

(株)松風から市販された支台築造用コンポジットレジン“ビューティコア”は、2 種類の流動性を有したペーストにより容易に築盛が可能であり、しかもビューティデュアルボンドを用いることによって歯質やファイバーポストとの接着性も十分に満足できるものであることが判明した。また S-PRG 技術を応用したフッ素徐放性を有していることから臨床上有意義な材料である可能性が示唆された。今後、他社製品と比較した接着耐久性などについても検討していく予定である。

## セルフエッチシステムの金属およびセラミックスへの接着耐久性

<sup>1</sup> 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, <sup>2</sup> 総合歯学研究所生体工学研究部門, <sup>3</sup> 福本歯科医院  
○白土康司<sup>1</sup>, 高橋史典<sup>1</sup>, 清水裕亮<sup>1</sup>, 遠藤 肇<sup>1</sup>, 辻本暁正<sup>1,2</sup>,  
坪田圭司<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>1,2</sup>, 福本敬一<sup>3</sup>

### Bonding durability of self-etch adhesive system on metals and ceramics

<sup>1</sup>Department of Operative Dentistry, <sup>2</sup>Division of a Biomaterials Science, Dental Research Center,  
Nihon University School of Dentistry, <sup>3</sup>Fukumoto Dental Clinic  
○SHIRATSUCHI Koji<sup>1</sup>, TAKAHASHI Fuminori<sup>1</sup>, SHIMIZU Yusuke<sup>1</sup>, ENDO Hajime<sup>1</sup>,  
TSUJIMOTO Akimasa<sup>1,2</sup>, TSUBOTA Keishi<sup>1,2</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>,  
FUKUMOTO Keiichi<sup>1,3</sup>

#### 【研究目的】

接着システムの発展によって、操作ステップ数の簡略化が可能となった。最近では、歯質のみならず歯科用合金および歯科用セラミックスに対する接着性を有するものが製品化されている。とくに、MI の概念の普及に伴って、修復物をすべ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修復の頻度が増加している。この補修修復を行う際には、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、それぞれの被着体に適した前処理が必要とされてきた。しかし、臨床で被着体を厳密に区別して処理を行うことは困難であり、ステップ数の増加によってこれがテクニックセンシティブ因子になる可能性がある。このような背景のもと、様々な被着体に対し、最小限のステップに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) が製品化された。そこで演者らは、この多目的接着システムのセラミックス、金属に対する接着耐久性について、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り検討した。

#### 【材料および方法】

供試した接着システムは、多目的接着システムである Scotchbond Universal Adhesive (SUA) であり、比較として Rely X Ceramic Primer + Adper Easy Bond Self-Etch Adhesive (AEB, 3M ESPE) および GC Metal Primer or GC Ceramic Primer + GC C & B リペアーキット リペアーアドヒーシブ(GCR, GC)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、被着体に歯科用合金として 12%金銀パラジウム合金およびプレシヤスメタルを、セラミックスとしてはジルコニアおよび酸化アルミナを用いた。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。さらに表面に対してサンドブラスト処理を 5 秒間行った。被着面積を 4mm に規定し、製造者指示条件に従って表面処理を行った後、デュラコンモールドを固定しレジンをペーストを充填、照射を行ったものを接着試験用試片とした。次いで、これらの試片は 37℃の精製水中に 24 時間保管、あるいは 24 時間保管後にサーマル試験機を用いて 5℃ - 55℃ (係留時間 30 秒間) を 1 サイクルとする温熱負荷を 10,000 あるいは 30,000 回負荷した後、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件でその剪断接着強さを測定した。なお、試片の数は 10 個とし、それぞれの平均値および標準偏差を求めて、各条件間の有意差検定を有意水準 0.05 の条件で統計学的検定を行った。なお、各条件における破断面に関しては、通法に従って SEM 観察を行った。

#### 【成績および考察】

24 時間後における金属に対する接着強さは、いずれの接着システムにおいても有意差は認められなかった。サーマルサイクル試験後については、24 時間後と比較して、サーマルサイクル回数の増加に伴って、その接着強さはいずれの接着システムにおいても低下する傾向が認められた。24 時間後におけるセラミックスに対する接着強さは、ジルコニアおよび酸化アルミナにおいて、SUA および AEB は GCR に比較して有意に高い接着強さを示した。サーマルサイクル試験後については 24 時間後と比較して、サーマルサイクル回数の増加に伴って、いずれのシステムにおいても低下する傾向を示したものの、SUA および AEB の低下傾向は GCR に比較して小さいものであった。

#### 【結論】

本実験の結果から、多目的接着システムである Scotchbond Universal Adhesive は、金属およびセラミックスに対して、良好な接着耐久性を示すことが示された。

## 知覚過敏抑制材「ナノシール」による歯根面の脱灰抑制効果

<sup>1</sup>大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)

<sup>2</sup>大阪大学大学院工学研究科 マテリアル生産科学専攻

○宮嶋 宏行<sup>1</sup>, 石本 卓也<sup>2</sup>, 中野 貴由<sup>2</sup>, 今里 聡<sup>1</sup>

### Effects of a desensitizing material Nanoseal to prevent demineralization of root surfaces

<sup>1</sup>Department of Biomaterials Science, Osaka University Graduate School of Dentistry

<sup>2</sup>Division of Materials and Manufacturing Science, Osaka University Graduate School of Engineering

○Hiroyuki Miyajima<sup>1</sup>, Takuya Ishimoto<sup>2</sup>, Takayoshi Nakano<sup>2</sup>, Satoshi Imazato<sup>1</sup>

#### [研究目的]

超高齢社会を迎えて、歯をより長く保存し機能させることの必要性が高まる中、増加する高齢者の根面う蝕に対して効果的な予防法を確立することが重要な課題となっている。ナノシール (日本歯科薬品) は、Al-Ca-F-SiO<sub>2</sub> ガラスの水分散液とリン酸を等量混和して塗布することで、その凝集体が歯面に沈着するとともに、表層を脱灰しながら歯質由来の成分を取り込み、歯質と一体化した約 1 μm の薄膜を形成することを特徴とする無機系歯面処理材である。本材は、象牙質知覚過敏抑制を主用途として市販されたが、前述の反応による歯質の改質という材料特性を考慮すると、歯根面に塗布した場合にはう蝕の発生予防にも有効であるものと考えられる。そこで本研究では、根面う蝕予防におけるナノシールの有用性を検証することを目的として、酸による根面象牙質の脱灰に対する抑制効果を *in vitro* にて検討した。

#### [材料および方法]

ヒト抜去臼歯をエナメル-象牙境で切断し、5 × 5 × 5 mm の歯根ブロック試料を調製した。表面を耐水研磨紙にて研削して平坦にした後、ネイルバーニッシュを用いて 3 × 3 mm の開窓部を規定し、以下の脱灰試験に供した。

#### 1. 酸への 72 時間浸漬による脱灰試験

開窓部にナノシールを塗布 (10 秒間を 2 回) した後、水洗し、ただちに pH 4.5 の酸性溶液に浸漬した。脱灰溶液を 24 時間ごとに交換しながら 37°C 下で 72 時間保管後、脱灰状態をナノシールを塗布せずに浸漬したコントロールと比較した。脱灰状態の評価は、マイクロフォーカス X 線 CT 装置 (SMX-100CT, 島津製作所) を用いて脱灰溶液浸漬前後に撮影を行い、二次元的および三次元的観察を行うとともに、得られた三次元データから、解析ソフト (TRI 3D-BON, ラトックシステムエンジニアリング社) を用いて脱灰体積量を計測した。

#### 2. pH サイクル系での脱灰試験

以下の 2 つの条件での脱灰状態を、前記 1 と同様の方法で評価した。

(I) 蒸留水を使用した pH サイクルによる検討: ナノシール塗布、非塗布 (コントロール) 試料を pH 4.5 の酸性溶液に 37°C で 24 時間浸漬した後、蒸留水 (pH 6.3) に 37°C で 24 時間浸漬した。次いで、酸性溶液に再度浸漬し、37°C で 24 時間保管した。

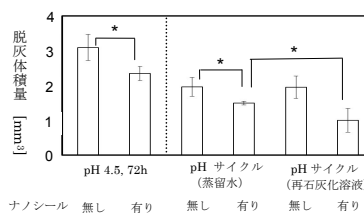
(II) 再石灰化溶液を使用した検討: (I) と同様のタイムスケジュールで、蒸留水の代わりに再石灰化溶液 (pH 7.0, 0.02 mol/l HEPES, 3.0 mmol/l CaCl<sub>2</sub>, 1.8 mmol/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) を用いて試験を行った。

#### [結果および考察]

酸性溶液中で 72 時間連続的に脱灰を行った場合、ナノシールを塗布した群では、コントロールと比較して脱灰体積量が有意に少なかった (ANOVA, Student's *t* test,  $p < 0.05$ )。蒸留水を用いた pH サイクル系での実験においても、ナノシールを塗布した群ではコントロールと比較して脱灰体積量が有意に少ない結果となったが、再石灰化溶液を用いるとさらに脱灰が抑制された (右図)。ナノシールの塗布によって歯面に形成されたナノ粒子層は、酸に対するある程度のバリアとなる一方で、ナノシール層をイオンが透過し、表層直下に耐酸性層が形成されて脱灰を抑制したものと推察された。

#### [結論]

以上の結果から、ナノシールの塗布は根面象牙質の脱灰抑制に有効であることが示された。





## 象牙質知覚過敏抑制材 “ナノシール” の臨床評価

<sup>1</sup>鶴見大学歯学部 総合歯科 <sup>2</sup>医療法人財団 共生会 浅野歯科  
○浅野倉栄<sup>1,2</sup> 矢作保澄<sup>1</sup> 山口博康<sup>1</sup>

### Clinical Evaluation of Desensitizing Effectiveness of “Nanoseal”

<sup>1</sup> Department of General Dentistry and Clinical Education  
Tsurumi University School of Dental Medicine  
<sup>2</sup>Asano Dental Clinic  
○Souei Asano<sup>1,2</sup>, Hozumi Yahagi<sup>1</sup>, Hiroyasu Yamaguchi<sup>1</sup>

#### 【目的】

新しい象牙質知覚過敏 (Dentin Hypersensitivity : Hys) 抑制材 ナノシールはブラシで歯面を擦る操作が必要なく、塗布して水洗するだけで、歯面にナノ粒子の層を形成し、象牙細管を封鎖してHys抑制効果を発現する新材料である。今回、我々は歯頸部及び露出根面のHysに対してナノシール適用による疼痛抑制効果を明らかにすべく、臨床評価を実施した。

#### 【対象と方法】

Hysと診断された101症例を対象とし、歯頸部及び露出根面の象牙質にナノシールを塗布、水洗し、術前後の疼痛について評価を行った。診査は次回来院時 (1週間後) に行ない、冷氣刺激、擦過刺激による疼痛及び患者による飲食やブラッシング時など生活の中での誘発痛について、簡易型McGill痛みの質問表中のVisual Analogue Scale (VAS) 及び6段階に分類したPresent Pain Intensity (PPI) を用いて評価した。有効性はVAS値の変化とPPIの変化を加味して総合判定した。

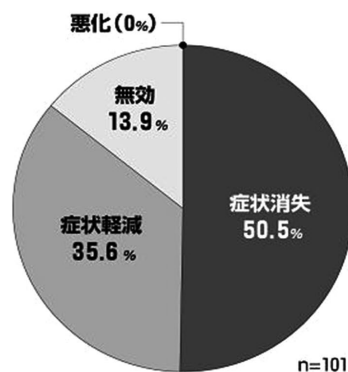
#### 【結果】

- 1) VAS値の変化 : VASの平均値は術前の32.7±22.4から8.5±9.7に低下し、術前後で疼痛症状が有意に改善された (paired t-test : p<0.01) .
- 2) PPIの変化 : PPIの平均スコアは術前の1.7±1.0から0.5±0.5に低下し、術前後での症状が有意に改善された (paired t-test : p<0.01) .
- 3) 有効性の総合評価 : 101症例中、87症例 (86.1%) でナノシールのHys抑制効果が認められ、51症例 (50.5%) で症状が完全に消失した。
- 4) 安全性、利便性 : 全症例にわたって患歯、周囲歯肉および口腔粘膜への為害作用はなく、全身的副作用も認められなかった。操作性は良好で多少の唾液・血液であれば影響を受けず、隣接面や歯肉溝内にも使用できることが示された。

#### 【結論】

Hys抑制効果と安全性、利便性が示され、ナノシールはHys抑制材として有用であると思われた。

分類	判定基準
症状消失	PPIが0(全く痛みなし)となった
症状軽減	PPIが1段階以上低下、もしくはVAS値が術前の50%以下に低下した
無効	PPIに変化がなく、VAS値が術前の50%以下に低下しなかった
悪化	術後のPPIが増加した



ナノシール適用後の有効性の総合評価

## シングルファイル法とマルチファイル法における湾曲根管に 対する拡大形成の切削特性に関する研究

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

<sup>2)</sup> 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座

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

### Studies of shaping ability on single and multi file techniques in simulated curved canals

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

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

【目的】Ni-Ti合金製ロータリーファイル(以下Ni-Tiファイル)は超弾性を有し柔軟性に優れることから、根管の追従性が高く、根管の湾曲形態に沿った拡大形成が可能になると同時に、根尖部根管の偏位も少ない。近年、根尖孔の大きさを基準に1本のファイルを選択し、往復回転運動のできるロータリーエンジンに装着して使用するシングルファイル法が報告された。本研究は、拡大形成法の異なるファイルの切削特性を知るため、1本のファイルを往復回転運動で使用するRECIPROC(VDW、以下RE)とテーパの異なる複数本を正回転で使用するProTaper(DENTSPLY、以下PT)、および複数本を手用で使用するステンレススチール製Kファイル(ZIPPERER、以下SSK)を用い、透明樹脂製湾曲根管模型を拡大した時の作業時間、押し込み荷重、引き抜き荷重、根管形態変化および切削片の大きさについて比較検討した。

【材料と方法】実験に先立ちガラス管内に常温重合レジンでファイルを包埋し、自動精密切断機(ISOMET、BUEHLER、USA)でファイル先端部から1mm間隔で刃部終了部までの横断切片を作製し、デジタル画像撮影を行った。実験群はRE群(21mmのRE-R25の1本で拡大)、PT群(21mmのPT-S1、S2、F1、F2の4本で拡大)、SSK群(21mmのSSK-#15、20、25の3本で拡大)の3群とした。根管の拡大形成には、30度のJ字形湾曲を持つ透明樹脂製湾曲根管模型(ENDO-TRAINING-BLOC A0177、DENTSPLY)を27個使用した。拡大時の荷重測定には、測定可能範囲が $\pm 5,000$ gfのデジタルフォースゲージ(FGP-5、日本電産シンボ(株))を用い、測定間隔を100msecとし、拡大形成時間とともに記録した。拡大前と後の根管にメチレンブルー水溶液を注入し、模型の側方および後方から画像撮影を行い、拡大完了後の画像を画像処理ソフトで反転し、拡大前の画像と重ね合わせた後、画像解析ソフトを用い、側方では拡大された外湾部と内湾部の面積を、後方では左側と右側の面積を計測した。拡大形成中に排出された切削片は遠沈管に回収し、懸濁液を調整した後20 $\mu$ lをスライドガラスに滴下し、その個数と面積を画像解析ソフトで計測した。ステップ形成や根尖の詰まりで実験を中止した模型は、拡大前と中止時の重ね合わせ画像を作製して観察した。また、使用後のファイルは全て肉眼的に観察し、刃部の伸びの有無を確認した。拡大形成時間、押し込み荷重、引き抜き荷重における実験群の影響については一元配置分散分析を行った後、Games-Howellの方法で多重比較検定を行った。また、外湾部および内湾部の面積と左側および右側の面積については、対応のある二元配置分散分析を用い解析を行った。統計ソフトには、PASW Statistics 18(SPSS Japan、東京)を使用し、有意水準 $\alpha$ は0.05とした。

【結果および考察】総拡大形成時間は、3種類のファイル間すべてで有意差がみられ、REが最も短く、SSKはNi-Tiファイルの6倍以上であった。RE群、PT群はロータリーエンジンに装着し、ファイルを回転させることで切削を行うため、拡大形成を全て術者が手動で行うSSK群とは異なり、効率的に根管拡大を行うことができるためと考えられる。押し込み荷重と引き抜き荷重ともにPT、RE、SSKの順に有意に小さくなった。SSK群に比べNi-Tiファイル群で荷重が小さいのは、トルクコントロールエンジンを使用することによりファイルが自動的に根管内に進んでいくため、無理な力を加える必要がないためと考えられる。拡大形成後の根管形態変化は、SSKでは根管湾曲の外側と根管上部の内側に削り残しがあり、根管の直線化傾向がみられたのに対し、Ni-Tiファイルでは根管の全周にほぼ均等な切削が観察された。拡大形成中の根尖部への切削片の詰め込みやステップ形成は、SSKで生じたがREとPTではみられず、切削片の大きさはNi-Tiファイルの方が大きかった。

【結論】Ni-Tiファイルは湾曲根管の拡大形成を短時間に行うことができ、根管のほぼ均等な拡大形成ができるファイルであることが示された。

エアースケーラーによる根管治療  
髓腔開拓から根管形成そして根管洗浄について

日本大学歯学部歯科保存学教室第2講座

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門

○明石俊和 林 誠 小木曾文内

**Sabsonic Vibration for Access Cavity and Root Canal Preparation and Irrigation**

**Department of Endodontics , Nihon University School of Dentistry**

**○Toshikazu Akashi Makoto Hayashi Bunnai Ogiso**

【はじめに】

振動系歯質切削器具には超音波振動と可聴域振動を利用した 2 種類の切削装置がある。ともに振動による歯質の切削であるが相違点はキャビテーション作用の有無である。とくに可聴域振動には切削効果が低く、またキャビテーション作用が発現しないので根管治療時の根管拡大・形成と洗浄には不向きとなっていた。しかし、歯科用エアースケーラーの進歩により現在は根管治療時の各種操作が行なえるまでに発展してきている。

すなわち、感染歯質除去、髓腔開拓に始まり側壁や髓角除去、根管口明示、根管拡大・形成などの操作には可聴域エンドチップの種類を目的別に選択し、根管治療時の各種操作を行なうことが出来る。

また、可聴域エンドチップを注水下で使用するとエンドチップの振動による水の攪拌と還流により根管口探索、根管内容物除去、再根管治療時の充填物除去、根管洗浄、拡大形成後の根管清掃が行なえる。

そこで可聴域振動装置であるナカニシ社製ティーマックス S970 エアースケーラーに各種可聴域エンドチップを装着し、髓腔開拓から根管口明示、根管拡大・形成、そして、根管系の洗浄・清掃について検討したので報告する。

【材料及び方法】

ティーマックス S970 エアースケーラーと専用可聴域エンドチップ V-S51D, V-S51, V-G71, V-G77 と試作可聴域エンドチップ V-NA1, V-NA2, V-NA3, V-NA4, V-NA5, V-NA6 を使用する。

A) ティーマックス S970 による根管形成手順と目的別可聴域エンドチップ

- 1) 髓室開拓と根管口明示 (V-G71, V-NA1, 2, 3, 4)
- 2) ストレートラインアクセスの確保 (V-G77, V-NA3, 4)
- 3) 作業長の決定 (#10 手用 K 型ファイル)
- 4) 根管のガイドグループ形成 (#10~#20 K 型ファイル, V-NA5, 6)
- 5) 根管上部 1/3 の根管形成 (V-S51D, V-NA3, 5, 6)
- 6) 根中央部 1/3 の根管形成 (V-S51D, V-NA5, 6)
- 7) 根尖部 1/3 の根管拡大・形成 (V-S51D, V-NA5, 6)
- 8) アピカルシート形成 (#35 K 型ファイル)

B) ティーマックス S970 による洗浄と可聴域エンドチップ

- 1) 髓室の洗滌 (V-G71, V-NA1, 2)
- 2) 根管洗浄 (V-S51)
- 3) 根管壁清掃 (V-G71, V-G77, V-NA1, 2, 3, 4)

【結果および考察】

- 1) 髓室開拓、根管口明示が出来る、2) 根管口上部 1/3 の根管形成が出来る、3) 根中央部 1/3 の根管形成が出来る、4) 根尖部 1/3 の根管形成が出来る、5) 根管洗浄が出来る、

可聴域エンドチップによる根管治療はヘット部が小さく患部の視野確保が容易であり、大白歯部の根管治療でも容易に操作することが出来る。すなわち可聴域エンドチップは感染歯質、髓腔開拓、髓角部、側壁除去、根管口の漏斗状拡大、エンド三角の除去が行える。また、回転切削より切削効果が劣ることにより過剰切削が予防できる。

ロータリー Ni-Ti シングルファイルや手用 K 型ファイルによる根管拡大は随時太いファイルに取替える必要がある。しかし、可聴域エンドチップによる根管形成は咬み込みによる切削ではなく振動による歯質破壊によるので、可聴域エンドチップは 1 種類 1 本で根管形成が完了する。また、可聴域エンドチップ振動時には超音波振動装置では発生するキャビテーションは発生しないが水の攪拌、還流作用により髓腔、根管洗浄が可能であった。

【結 論】

ティーマックス S970 エアースケーラーと各種可聴域エンドチップにより髓腔開拓から根管口明示、そして、根管形成・根管洗浄の操作が可能である。

## 低分子 BDNF 模倣化合物 LM22A-4 は TrkB シグナルを介して セメント芽細胞の分化を制御する

広島大学歯薬学総合研究科 先進医療開発科学講座 歯周病態学分野<sup>1</sup>、  
口腔顎顔面病理病態学<sup>2</sup>、広島大学病院 口腔検査センター<sup>3</sup>

○加治屋幹人<sup>1</sup>、柏井 桂<sup>1</sup>、竹下 慶<sup>1</sup>、Nguyen Quon Trung<sup>1</sup>、高田 隆<sup>2</sup>、北川雅恵<sup>3</sup>、藤田 剛<sup>1</sup>、柴 秀樹<sup>1</sup>、栗原英見<sup>1</sup>

### Small molecule BDNF mimetic regulates cementoblast differentiation via TrkB signaling

○Mikihito Kajiya<sup>1</sup>, Kei Kashiwai<sup>1</sup>, Takeshita Kei<sup>1</sup>, Nguyen Quon Trung<sup>1</sup>, Takashi Takata<sup>2</sup>, Masae Kitagawa<sup>3</sup>, Tsuyosi Fujita<sup>1</sup>, Hideki Shiba<sup>1</sup>, Hidemi Kurihara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Periodontal Medicine, <sup>2</sup>Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Graduate School of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University, <sup>3</sup>Center of Oral Clinical Examination, Hiroshima University Hospital

#### <研究目的>

脳由来神経栄養因子(BDNF)は、神経細胞のみならず、様々な細胞の増殖・分化をその高親和受容体である TrkB を介して制御することが知られている。これまでに、BDNF が TrkB-ERK シグナル伝達経路を介して歯周組織再生を促進することを、*in vivo*, *in vitro* の研究において明らかにしてきた(Takeda et al. 2005 *Tissue Eng*, Kajiya et al. 2008 *J Biol Chem*, Matsuda et al. 2012 *J Cell Physiol*)。一方、ごく最近になって、*in silico* スクリーニングの結果、BDNF の TrkB 活性化ドメインと類似構造体である化学物質 LM22A-4 が同定され、この LM22A-4 が神経系の細胞の TrkB を活性化し、神経保護作用を示すことが報告された (Massa SM et al., 2010 *J Clin Invest*)。これらの事実に基づき、BDNF 模倣化合物である LM22A-4 が歯周組織において TrkB-ERK シグナリングを活性化し、歯周組織再生を促進すると仮説を立てた。そこで、本研究では LM22A-4 のセメント芽細胞の分化に対する影響、およびその分子機構を明らかとするために実験を行った。

#### <材料と方法>

供試細胞は hTERT を導入し株化した不死化セメント芽細胞様細胞株(human cementoblast-like cells, HCEMs) (Kitagawa et al, 2006 *Bone*)を用いた。HCEMs に LM22A-4 (5 μM)を各種時間作用し、骨・セメント関連タンパク (Osteopontin (OPN), Alkaline phosphatase (ALP), Osteocalcin (OC)) mRNA 発現をリアルタイム PCR にて、TrkB の構造変化を免疫沈降法にて、リン酸化 ERK の発現をウェスタンブロッティング法にて、ERK の局在を共焦点顕微鏡にて解析した。また、シグナル伝達経路の検討のため、Trk の阻害剤である K252a (100nM)もしくは MEK-ERK 阻害剤である U0126(10μM)は LM22A-4 作用の 30 分前に添加した。

#### <結果>

LM22A-4 は HCEMs における OPN, ALP, OC mRNA 発現を時間依存的に上昇させ、そのピークは 6 時間から 12 時間の間に認められた。また LM22A-4 作用 10 分後に、HCEMs において、TrkB のリン酸化、およびアダプター蛋白である Shc, GRB2, SOS1 との結合が確認された。同様に、LM22A-4 刺激がリン酸化 ERK の発現量を上昇させ、さらに ERK の核内への集積を促進した。また阻害剤である K252a および U0126 添加が、LM22A-4 によって促進した TrkB、ERK のリン酸化および OPN mRNA 発現の上昇を抑制した。

#### <考察および結論>

本研究から、BDNF 模倣化合物である LM22A-4 が TrkB-ERK シグナル伝達経路を活性化することによって、セメント芽細胞の分化を制御することが明らかとなった。LM22A-4 はセメント芽細胞の硬組織形成能を促進することによって歯周組織再生を誘導する可能性が示唆された。

サイトカインである BDNF(分子量 13.5kDa)と比較して、LM22A-4 は分子量 0.3kDa と非常に小さな分子であり、化学合成可能であるため、良好な組織浸透性や、安全かつ安価に合成されるなどの利点を有するため、サイトカイン療法に代わる、より有望な組織再生治療薬となり得る可能性が考えられる。

炎症性サイトカインはヒト歯肉上皮細胞において Lipid raft を介して発現する  
広島大学大学院医歯薬保健学研究院 応用生命科学部門 歯周病態学  
○今井遥香, 藤田 剛, 應原一久, 加治屋幹人, 内田雄士, 宮川剛史, 吉本哲也, 柴 秀樹, 栗原英見

**The influence of the expression of inflammatory cytokines via lipid raft  
on human gingival epithelial cells.**

Department of Periodontal Medicine, Applied Life Sciences, Institute of Biomedical & Health  
Sciences, Hiroshima University

○Imai H, Fujita T, Ouhara K, Kajiya M, Uchida Y, Miyagawa T, Yoshimoto T, Shiba H, Kurihara H.

【目的】歯周病は歯周病原細菌感染に対する宿主の免疫応答の結果として歯周組織が破壊される疾患である。歯肉上皮細胞は歯周病原性細菌の侵入に対して、物理的なバリアーとして、あるいは抗菌ペプチドなどを産生することによって防御的に機能する一方で、細菌刺激に対して炎症性サイトカインを産生し炎症の惹起に関与している。したがって歯肉上皮細胞の機能制御は、歯周病における炎症の抑制に関与する可能性がある。細胞膜は均一な脂質二重膜ではなく、いくつかの脂質が集合したマイクロドメインを形作っている。これらのマイクロドメインは caveolae や lipid raft と呼ばれ、多くの生理活性物質の受容体などが存在し、膜を介したシグナル伝達、細菌やウイルスの感染などに重要な役割を持ち、細胞膜における情報変換の中心的な部位と考えられている。本研究では歯周病治療における lipid raft の標的分子としての可能性を探索するため、歯周病原細菌 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.actinomycetemcomitans*)または tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ 刺激における歯肉上皮細胞の lipid raft の炎症性サイトカインの発現への関与について検討した。

【材料および方法】不死化したヒト歯肉上皮細胞 OBA9 (大阪大学、村上伸也教授より供与)を実験に用いた。培地は Hu-mediaKB2 に insulin, human epidermal growth factor, gentamicin, hydrocortisone hemisuccinate を添加したものをを用いた。*A.actinomycetemcomitans* は 1%ホルマリンで 4°C、12 時間処理し、死菌としたものをを用い、TNF- $\alpha$  は RSD 社の human recombinant TNF- $\alpha$  を用いた。OBA9 をコンフルエントの状態まで培養し、*A.actinomycetemcomitans* ( $1 \times 10^8$  cell/ml)または TNF- $\alpha$  (50 ng/ml)を添加する 30 分前に lipid raft の主な構成脂質であるコレステロールを除去する Methyl- $\beta$ -cyclodextrin(M $\beta$ CD)または抗真菌薬の amphotericin B を作用させ、12 時間後に total RNA を回収した。IL-6, IL-8 mRNA 発現は、real-time PCR 法で解析した。

【結果および考察】M $\beta$ CD 単独では 2mM 以下の濃度では歯肉上皮細胞において IL-6, IL-8 発現に影響を与えなかった。*A.actinomycetemcomitans* 刺激によって歯肉上皮細胞の IL-6, IL-8 の mRNA 発現が増加したが、M $\beta$ CD の前処理によってその発現促進は抑制された。一方、TNF- $\alpha$  刺激下では M $\beta$ CD 作用においても炎症性サイトカインの発現促進を抑制しなかった。また、細胞膜に作用する抗真菌薬である amphotericin B も *A.actinomycetemcomitans* 刺激下の IL-6, IL-8 発現促進を抑制した。これらの結果から、lipid raft はヒト歯肉上皮細胞において、*A.actinomycetemcomitans* 刺激による炎症性サイトカインの発現に関与するが、TNF- $\alpha$ 刺激における炎症性サイトカインの発現には関与しないことが示唆された。

## T-RFLP 法による高感度な細菌叢解析法確立のための Pilot Study

<sup>1)</sup> 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病態学分野, <sup>2)</sup> 岡山大学病院歯周科  
○松永一幸<sup>1)</sup>, 工藤値英子<sup>2)</sup>, 河田有祐<sup>2)</sup>, 前田博史<sup>1)</sup>, 高柴正悟<sup>1)</sup>

### Pilot Study for Establishment of High Sensitive Analysis of Bacterial Flora

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

<sup>2)</sup> Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital

○Kazuyuki Matsunaga<sup>1)</sup>, Chieko Kudo<sup>2)</sup>, Kawata Yusuke<sup>2)</sup>, Hiroshi Maeda<sup>1)</sup>, Shogo Takashiba<sup>1)</sup>

#### 【緒言】

感染性心内膜炎のような感染部位からの検体採取が困難な疾患では、一般的に、血液培養検査による起炎菌同定が行われている。しかし、血液培養では培養困難な微生物も存在するため、起炎菌の同定が困難な症例も少なくない。したがって、DNA を用いて細菌群を網羅的に解析することは、より多くの菌種・菌属同定を可能にし、起炎菌同定に繋がる可能性がある。

DNA を用いた細菌群の構造解析法には、DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 法, TGGE (Temperature Gradient Gel Electrophoresis) 法, T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) 法およびマイクロアレイ法がある。これらの手法は、対象とする細菌群のうち高頻度に存在するものほど検出されやすい傾向にある。これは、DNA を用いた解析の前処理として行うことが多い PCR (Polymerase Chain Reaction) 法によって、細菌群内における細菌間の DNA 量差が拡大することに起因する。そこで今回、感染性心内膜組織での存在が報告されている歯周病原細菌を用いて、上記問題点を解決して T-RFLP 法による高感度な細菌叢解析法を確立したので報告する。

#### 【材料および方法】

表 1: サンプルの調整基準 (copies/μl)

サンプル群	Aa	Pg	Pi
NFW	0	0	0
#1	0.4×10 <sup>6</sup>	0.4×10 <sup>5</sup>	0.4×10 <sup>4</sup>
#2	0.4×10 <sup>6</sup>	0	0.4×10 <sup>5</sup>
#3	0.4×10 <sup>6</sup>	0.4×10 <sup>6</sup>	0.4×10 <sup>6</sup>

1. 歯周病原細菌サンプル群の調整: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC4371 (Aa), *Porphyromonas gingivalis* ATCC33277 (Pg) および *Prevotella intermedia* ATCC25611 (Pi) の歯周病原細菌の菌株を、前田らの手法 (Maeda et al., *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2003) を用いて嫌気培養後、InstaGeneMatrix (Bio-Rad) を使用して DNA 抽出を行った。次に 3 菌種の DNA 濃度を表 1 に従って混和し、サンプル群を調整した。その後、調整した各サンプル群について、リアルタイム PCR 法を用いて菌種 DNA 量の確認を行った。

2. DNA normalization: Trimmer-2 cDNA normalization kit (Evrogen) を用いて DNA normalization を行った。

① DNA 溶液を 12μl ずつに分注し、各サンプルに 4μl の 4×Hybridization buffer を添加し、これらを PCR チューブに 4μl ずつ分注し、ミネラルオイル (SIGMA) を添加後、98°C で 2 分間熱変性した。

② その後一本鎖 DNA を 68°C で 5 時間再会合させ、duplex-specific nuclease (0.25 倍, 0.5 倍, 1 倍希釈) を用いて 68°C, 40 分間、2 本鎖 DNA を分解した。

3. DNA 量の定量: リアルタイム PCR 法 (Maeda et al., *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2003) を用いて、サンプル群間の DNA 量を定量し、DNA normalization 前後における DNA 量を比較した。

4. T-RFLP 法による菌種特異的 DNA の検出: T-RFLP 法 (Wael et al., 岡山歯誌, 2010) に従って、16S rRNA 遺伝子を標的として蛍光標識したプライマーを用いた PCR 法で DNA を増幅し、制限酵素 *Msp* I (TaKaRa) を用いて断片化した。ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて、各 DNA 断片の蛍光強度を測定した。この結果を比較することにより、用いた細菌の同定力を検討した。

#### 【結果】

DNA normalization 後において、

1. 全てのサンプル群でそれぞれの歯周病原細菌の DNA 量は、DNA normalization 前よりも減少した。
2. また、菌種間の DNA 量の差も減少した。
3. T-RFLP 法による DNA 検出では、細菌種間の DNA 量差が大きい場合に検出が困難であった細菌種を検出できることが容易になった。

#### 【考察および結論】

本研究では、DNA normalization によって細菌種間の DNA 量をある程度均一化できた。このように DNA 量を均一化すると、T-RFLP 法によって同定できる細菌種の数が増加することが明らかとなった。このことは、血液培養法では培養困難な細菌種の同定を可能にし、細菌叢内の細菌種の同定力の向上に繋がると考える。今回の検討では、1 種類の制限酵素を使用した。バックグラウンドノイズの低減と同定可能な細菌種を増加させるためにも、今後は複数の制限酵素間での比較検討が必要と考える。さらに、DNA normalization において使用する duplex-specific nuclease の適正濃度も調整することも今後の課題と考える。なお、T-RFLP 法では細菌の菌属までの同定に限られるため、最終的にはクローンライブラリー法を併用して細菌種を確実に同定する予定である。

## カキタンニンのポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する抗菌効果

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 保存修復学分野<sup>1</sup>, 神奈川歯科大学 感染制御学講座 微生物学分野<sup>2</sup>,  
東京理科大学 基礎工学部 生物工学科<sup>3</sup>, リリース科学工業株式会社<sup>4</sup>

○富山 潔<sup>1</sup>, 向井義晴<sup>1</sup>, 齋藤正寛<sup>3</sup>, 二瓶智太郎<sup>1</sup>, 椎谷 亨<sup>1</sup>, 飯塚純子<sup>1</sup>, 長谷川晴彦<sup>1</sup>, 倉持江里香<sup>1</sup>,  
寺中文字<sup>1</sup>, 三宅 香<sup>1</sup>, 熊田秀文<sup>2</sup>, 渡辺清子<sup>2</sup>, 中村健一<sup>4</sup>, 奥原正國<sup>4</sup>, 邊見篤史<sup>4</sup>, 浜田信城<sup>2</sup>, 寺中敏夫<sup>1</sup>

### Antibacterial effect of the tannic acid extracted from astringent persimmon on polymicrobial biofilms

<sup>1</sup>Div. of Restorative Dent, Dept. of Oral Medicine, <sup>2</sup>Div. of Microbiology, Dept. of Infection Control, Kanagawa Dental College, <sup>3</sup>Faculty of Industrial Science and Technology, Dept. of Biological Science and Technology, Tokyo University of Science, <sup>4</sup>Rilis Co., Ltd.  
○TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1</sup>, MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>, SAITO Masahiro<sup>3</sup>, NIHEI Tomotaro<sup>1</sup>, SHIYA Toru<sup>1</sup>, IIZUKA Junko<sup>1</sup>,  
HASEGAWA Haruhiko<sup>1</sup>, KURAMOCHI Erika<sup>1</sup>, TERANAKA Ayako<sup>1</sup>, MIYAKE Kaori<sup>1</sup>, KUMADA Hidefumi<sup>2</sup>, WATANABE Kiyoko<sup>2</sup>,  
NAKAMURA Kenichi<sup>4</sup>, OKUHARA Masakuni<sup>4</sup>, HENMI Atsushi<sup>4</sup>, HAMADA Nobushiro<sup>2</sup>, TERANAKA Toshio<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

抗菌性を謳った修復材、歯面処理材および洗口剤などは、それぞれ特有の抗菌成分により、単一あるいは数種類の病原細菌への抗菌性や近接した歯質の脱灰抑制などに効果を発揮するとの研究報告がある。一方、浮遊菌と異なる性質を有するバイオフィルムは、抗菌作用を受けにくいことがわかっている。ポリフェノールに属するタンニンは、レンサ球菌、特に *S. mutans* の増殖を抑制することが報告されている。今回我々は、ポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する渋柿由来のタンニン酸を含有させた抗菌剤 (Pancil® PS-M: リリース科学工業株式会社) の抗菌効果を分析することを目的として、Exterkate らによる短期モデル (Caries Res, 2010) を応用し、ポリマイクロバイアルバイオフィルムの生菌数に与える影響について検討した。

#### 【材料および方法】

ポリマイクロバイアルバイオフィルム形成用材料には直径 12 mm の円盤状ガラス試片を用いた。処理剤には、Pancil® PS-M および Corsodyl (0.2 vol% グルコン酸クロルヘキシジン: SmithKline) を滅菌脱イオン水により希釈した溶液を用いた。実験群は、非処理群 (陰性対照, cont), ② 5.0 mg/ml Pancil® PS-M 群 (1.0 mg/ml カキタンニン含 5P), 7.0 mg/ml Pancil® PS-M 群 (7P), 10.0 mg/ml Pancil® PS-M 群 (10P), 0.05%グルコン酸クロルヘキシジン (陽性対照, CHX) の 5 群とした (n=6)。ポリマイクロバイアルバイオフィルムの培養には、1 被験者から採取した刺激唾液を用いたポリマイクロバイアルバイオフィルムモデルを使用した。培養液には buffered McBain 2005 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES) を用い、培養液の交換を 10 時間の時点で 1 回行なう嫌気培養 (CO<sub>2</sub>: 10.0%, H<sub>2</sub>: 10.0%, N<sub>2</sub>: 80.0%, 37°C) を 24 時間行なった。培養 24 時間の時点で各処理剤 (5P, 7P, 10P, CHX) あるいは滅菌脱イオン水 (cont) に 5 分間浸漬後、ポリマイクロバイアルバイオフィルムを Cysteine Peptone Water にて洗浄して血液寒天培地に 4 日間培養し、実験終了時に生菌数の算定を行なった。算出した生菌数は One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5%にて統計学的分析を行ない、各群の抗菌効果を比較検討した。

#### 【結果】

24 時間培養したポリマイクロバイアルバイオフィルムに 5P, 7P, 10P および CHX 各群の薬液を用いて薬液処理を行った結果、すべての薬液処理群におけるバイオフィルムの生菌数は cont と比較して有意に低く (cont=  $6.96 \times 10^8$ , 5P=  $1.49 \times 10^8$ , 7P=  $1.15 \times 10^8$ , 10P=  $7.53 \times 10^7$ , CHX=  $8.47 \times 10^7$ ,  $p < 0.05$ )、Pancil® PS-M 処理はいずれの濃度においても CHX と同程度の抗菌効果を示した。各 Pancil® PS-M 群間で有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ ) が、抗菌効果は濃度依存的に高くなる傾向が認められた。

#### 【考察】

タンニン酸は、口腔レンサ球菌の中でも *S. mutans* に吸着し易く、*S. mutans* の発育阻止への効果や、歯質および修復物への付着抑制能の高いことが指摘されている。また、グルコン酸クロルヘキシジンは抗菌スペクトルが広く、特に *S. mutans* の発育阻止への効果が持続的であることが報告されている。今回、Pancil® PS-M 処理は、単一あるいは数菌種の浮遊菌やバイオフィルムに比較して抗菌剤の浸透が生じにくく、効果が及びにくいとされるポリマイクロバイアルバイオフィルムに対して、0.05%グルコン酸クロルヘキシジンと同程度の抗菌効果が示された。

#### 【結論】

24 時間培養したポリマイクロバイアルバイオフィルムに Pancil® PS-M 処理を行なうことにより、バイオフィルム内の細菌の増殖を抑制することが確認されたため、本抗菌剤が口腔感染症に優れた効果を有する可能性が示唆された。

## 口腔常在レンサ球菌が産生する細胞外ヌクレアーゼの機能解析

大阪大学大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)<sup>1</sup>  
大阪大学大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (口腔細菌学教室)<sup>2</sup>  
○住岡龍一<sup>1</sup>、中田匡宣<sup>2</sup>、森田知里<sup>2</sup>、野杵由一郎<sup>1</sup>、川端重忠<sup>2</sup> & 林美加子<sup>1</sup>

### Functional analysis of extracellular nuclease from oral commensal *Streptococcus*

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry<sup>1</sup>

Department of Oral and Molecular Microbiology, Osaka University Graduate School of Dentistry<sup>2</sup>

○SUMIOKA Ryuichi<sup>1</sup>, NAKATA Masanobu<sup>2</sup>, MORITA Chisato<sup>1</sup>, NOIRI Yuichiro<sup>2</sup>,  
KAWABATA Shigetada<sup>2</sup> & HAYASHI Mikako<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

スケーリング・ルートプレーニング、PMTCといった一般的な歯科治療にとどまらず、日常の口腔清掃後におこる口腔内常在菌による菌血症が、亜急性細菌性心内膜炎の発症に関与することがあると考えられている。実際、心臓の病巣局所からは *Streptococcus sanguinis* をはじめとする口腔レンサ球菌が高頻度に分離される。他の口腔レンサ球菌種と比較して、*S. sanguinis* は多様な細胞壁架橋型の表層タンパクを産生することから、亜急性細菌性心内膜炎の発症過程において、これらの表層タンパクが血流での免疫回避や心組織への定着に機能する可能性がある。近年、好中球による細胞外殺菌機構として NETs (Neutrophil extracellular traps) が注目されており、口腔領域では歯周疾患との関係が報告されている。NETs は感染などにより活性化された好中球が細胞死と共に放出する網目状の構造物である。クロマチンや抗菌因子を含んでおり、細胞外空間における細菌の捕獲と排除に関係する。本研究では、*S. sanguinis* のヌクレアーゼドメインを有する表層タンパクに着目し、SWAN (*S. sanguinis* wall-anchored nuclease) と名付けた。今回、SWAN のヌクレアーゼ活性と NETs による殺菌への抵抗性を検討した。

#### 【実験方法】

*S. sanguinis* SK36 株の染色体 DNA を用い、*swan* 遺伝子上流と下流の DNA 断片を PCR 法で増幅・連結し、温度感受性プラスミドに挿入した。このプラスミドを SK36 株にエレクトロポレーション法で導入し、*swan* 欠失株を作製した。欠失の確認は部位特異的 PCR 法で行った。SWAN タンパクの細胞表層での発現を検討するため、野生株と *swan* 欠失株の細胞壁画分を抽出し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動で展開後、抗 SWAN マウス抗血清を用いたウェスタンブロット法により SWAN タンパクを検出した。異種発現系を構築するため *Lactococcus lactis* の *swan* 遺伝子発現組換え株を作製した。そして、*S. sanguinis* 株と *L. lactis* 株の DNase 活性を検討するため、サケ精子 DNA を含む増殖寒天培地に菌を播種し、48 時間の培養を行った。1N の塩酸を反応させ、コロニー周囲の DNA 分解部位に生じるハローを指標に菌株の DNase 活性を検討した。次に、ヒスチジンタグを N 末端側に付与した組換え SWAN タンパクを作製した。組換え SWAN タンパクを用いて核酸分解能を電気泳動法により確認し、酵素活性の至適 pH および金属イオンの要求性を同様の方法で検討した。また、SWAN のホモログで保存されている推定活性残基 H527、D580、H623 および D656 をアラニンに置換した点変異組換えタンパクを作製し、一元放射状酵素拡散法 (single radial enzyme diffusion ; SRED assay) によりヌクレアーゼ活性を測定した。NETs を構成する DNA を SWAN が分解するかを確認するために、ヒト好中球に NETs を誘導し、組換え SWAN タンパクを添加後、DNA の蛍光染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した。さらに、*S. sanguinis* が SWAN 活性により NETs から殺菌を回避するかを検討するため、NETs に野生株もしくは欠失株を感染させ、経時的に生菌率を測定した。*L. lactis* 組換え株についても同様の解析を行った。

#### 【結果と考察】

野生株の細胞壁画分において SWAN は検出された。また、*swan* の欠失により菌体の DNase 活性は低下したことから、SWAN は *in vivo* において、細胞表層に発現するヌクレアーゼとして機能することが示唆された。一方、組換え SWAN タンパクは  $Mg^{2+}$  と  $Ca^{2+}$  の共存下で NETs DNA を含む各種 DNA と RNA を分解し、中性付近の pH で最も高い酵素活性が認められた。推定活性残基である H527、D580、H623 および D656 の点変異により酵素活性は消失したことから、これらの残基がヌクレアーゼ活性に必須であると推察された。NETs への感染実験では、野生株と比較して、SWAN 欠失株の生存率は有意に低下した。さらに、*L. lactis* を用いた同様の解析では、SWAN の発現により菌生存率は上昇した。よって、SWAN のヌクレアーゼ活性により、*S. sanguinis* は NETs による殺菌を回避することが示唆された。



## エナメル質と各種ボンディング材との接着界面における ABRZ の評価

<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 歯制御学分野 <sup>2</sup>東京医科歯科大学 歯と骨の GCOE 拠点  
○佐藤 隆明<sup>1</sup>、高垣 智博<sup>1</sup>、松井 七生子<sup>1</sup>、二階堂 徹<sup>1</sup>、田上 順次<sup>1,2</sup>

### Comparison of Acid-base Resistant Zone on Enamel using various bonding systems.

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,  
Tokyo Medical and Dental University

<sup>2</sup>Global COE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases,  
Tokyo Medical and Dental University

○Takaaki Sato<sup>1</sup>, Tomohiro Takagaki<sup>1</sup>, Naoko Matsui<sup>1</sup>, Toru Nikaido<sup>1</sup>, Junji Tagami<sup>1,2</sup>

#### 【緒言】

レジン-象牙質接着界面の耐酸性については、酸-塩基処理後に樹脂含浸層の直下に Acid-base Resistant Zone (ABRZ) が観察される。その形態にはボンディングシステムにより違いがあることが報告されている。さらに ABRZ の形成には、機能的モノマーとヒドロキシapatite との化学的な相互作用が重要な役割を果たすことが示唆されている。しかし、二次う蝕形成においてより重要な意義を持つ、レジン-エナメル質接着界面の耐酸性に対する詳細な検討は充分に行われていない。研究は未だ不明な点が多い。そこで本研究では、2種の2ステップセルフエッチングシステムと、3種のワンステップシステムを用いて、エナメル質接着界面における酸-塩基処理後の接着界面の形態を比較検討した。

#### 【材料および方法】

実験材料として2ステップシステムである Clearfil Mega Bond (MB: Kuraray Noritake Dental) と、Optibond XTR (OP: Kerr)、ワンステップシステムである Clearfil Bond SE ONE (SE: Kuraray Noritake Dental)、Adper Easy Bond (EB: 3M ESPE)、Scotchbond Universal (SU: 3M ESPE) を使用した。ヒト抜去小臼歯の頬側歯冠中央部エナメル質を #600 耐水研磨紙にて研削し、各接着システムにてメーカー指示通りの処理を行った。その後、クリアフィルマジスティ LV (A2, Kuraray Noritake Dental) を充填し、光重合後、37°C 水中に 24 時間保管して試料とした。Li ら (J Dent. 2010) の方法に準じて酸-塩基処理を施した後、包埋、アルゴンイオンエッチング処理(エリオニクス EIS-200ER)し、SEM 観察(JEOL JSM-5310LV)を行った。

#### 【結果】

すべての群において ABRZ の形成が観察された。MB 群と比較して OP 群では厚みのある ABRZ が観察された。SE 群、EB 群、SU 群は MB 群とほぼ同じ厚みの ABRZ が観察された。SE 群、EB 群、SU 群においては ABRZ 直下に漏斗状の erosion が観察された。

#### 【考察と結論】

機能的モノマーの種類が ABRZ 形成に寄与することが示唆されている(Li et al: J Dent.2010)。本実験で用いたボンディングシステムは、MB、SE、SU では MDP、EB では MHP、OP では GPDM といったリン酸エステル系モノマーを含有する。2ステップシステムである OP 群においては MB 群と比べて比較的厚みのある ABRZ が観察された。これは MB のプライマー (pH2.0) と比較して pH の低い OP のプライマー (pH1.6) がエナメル質をより深くまで脱灰し、モノマーの浸透を促進したことによるものと推察される。さらに 2ステップシステムである MB 群、OP 群においては ABRZ 直下に erosion 形成が認められなかったが、ワンステップシステムである SE 群、EB 群、SU 群では erosion 形成が観察された。このことからボンディングシステムの違いが ABRZ 直下の耐酸性に影響を与える可能性が考えられる。今後ボンディングシステムの違いと erosion 形成との関係について、さらなる研究が求められる。

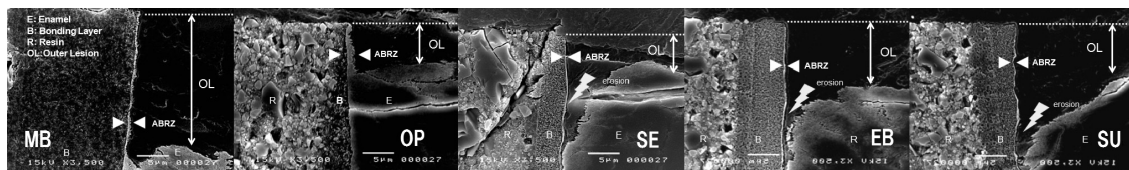


図1 各群の Acid-base resistant zone SEM 像 (3500倍)

## コンタクトキュア・デュアルキュア型コンポジットレジン接着システムにおける ボンディング材中のキャタリストと未重合層が象牙質接着強さに及ぼす影響

東京医科歯科大学大学院摂食機能保存学講座 歯制御学分野

○千葉彩香<sup>1</sup>, Prasansuttiporn Taweesak<sup>1</sup>, 關奈央子<sup>2</sup>, 中島正俊<sup>1</sup>, 田上順次<sup>1,3</sup>

### Compatibility between dual-cure resin composite and self-etch adhesive with or without contact-cure system

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, Graduate school, Tokyo Medical and Dental University

<sup>2</sup>Tokyo Medical and Dental University International Exchange Center

<sup>3</sup>Global Center of Excellence(GCOE) Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases at Tokyo Medical and Dental University

○Ayaka CHIBA, Taweesak PRASANSUTTIPORN, Naoko SEKI, Masatoshi NAKAJIMA, Junji TAGAMI

#### <緒言>

光照射後にワンステップボンディング材表層に形成される未重合層は、光重合型コンポジットレジンとの共重合反応に寄与することにより、象牙質接着強さが高くなると言われている。一方で化学重合型コンポジットレジンを用いた場合、ワンステップボンディング材中の酸性成分が化学重合反応を阻害し、接着強さが低下することが知られている。近年市販されたクリアフィルボンド SE ONE (クラレノリタケ社製) は、付属のデュアルキュア型コンポジットレジン (クリアフィル DC コアオートミックス ONE) を併用することで、化学重合が可能となるキャタリストがボンディング材に含有されているため、ボンディング材の光照射を行わなくても使用することができる。このキャタリストは、ボンディング材に光照射した場合においても、表層の未重合層とコンポジットレジンとの共重合性に影響を与える可能性がある。そこで今回、ボンディング材中のキャタリストの有無と未重合層の有無が象牙質接着強さに及ぼす影響について検討した。

#### <材料・方法>

ヒト抜去大臼歯 32 本の咬合面のエナメル質を削除し象牙質を露出させ、高さ 2 mm、内径 8 mm の黒色プラスチックリングを固定して被着面として規定、被着面に SE ONE (キャタリスト有(SE(+))), SE ONE (キャタリスト無(SE(-))) (クラレノリタケ社製) を業者指示通り歯面処理し、光照射器 (Optilux 501, Kerr Courp, USA) にて 10 秒光照射した。未重合層を除去するため、試料の半数に SE ONE 光硬化後、エタノールにて表面の清拭を行い、未重合層を除去した (wipe(+))。その後、デュアルキュア型コア用コンポジットレジン (クリアフィル DC コアオートミックス ONE) をリング内に充填し、30 分間暗所保管 (化学重合)、及び 20 秒光照射 (光重合) の後、37°C の水中に 24 時間保管した。低速切断機にて接着面と垂直に 1 mm×1 mm のマイクロテンサイルテスト用ビーム状試片を作成し、クロスヘッドスピード 1 mm/min にて微小引張り接着強さを測定した。なお試料数は各実験群ともそれぞれ 16 とし、得られたデータは three-way ANOVA、Turkey にて統計処理を行った。

#### <結果>

接着試験の結果を以下の表に示す (Mean±SD, MPa)。

Curing Mode	Chemical cure		Light cure	
	Wipe(-)	Wipe(+)	Wipe(-)	Wipe(+)
SE(+)	31.5(4.3) <sup>A</sup>	25.1(3.5) <sup>B</sup>	50.4(5.0) <sup>C</sup>	50.7(5.7) <sup>C</sup>
SE(-)	26.3(4.2) <sup>B</sup>	22.1(3.2) <sup>B</sup>	53.1(6.7) <sup>C</sup>	52.7(6.3) <sup>C</sup>

括弧内は、標準偏差を示す。同一アルファベット間に、有意差は認めない。

#### <結論>

光重合群では、全ての群において接着強さに有意差は認められず、未重合層の存在やキャタリストの有無の影響を受けないことが判明した。一方、光照射を行わなかった場合では、wipe(-)群において SE(+)と SE(-)間に有意差が認められた。また、SE(+)群では、Wipe(-)に比べ Wipe(+))が有意に低下したが、SE(-)群では両群間に有意差は認められなかった。以上より、デュアルキュア型コンポジットレジン化学重合で用いた場合、未重合層の存在とキャタリストの有無が象牙質接着強さに影響を及ぼすことが判明した。

### 光重合型コンポジットレジン の 窩底部重合促進効果

<sup>1</sup> 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 歯制御学分野,  
<sup>2</sup> 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

○吉川孝子<sup>1</sup>、趙 永哲<sup>1</sup>、田上順次<sup>1,2</sup>

### Accelerating the curing of light-cured resin composite at the cavity floor

<sup>1</sup> Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, <sup>2</sup> GCOE Program; IRCMSTBD

○YOSHIKAWA Takako<sup>1</sup>, CHO Eitetsu<sup>1</sup>, TAGAMI Junji<sup>1,2</sup>

#### 【研究目的】

著者は、コントラスト比が増加するレジンの方が、コントラスト比が減少するレジンよりも低出力照射法 (Slow-start curing 法) を用いると窩底部レジンの重合促進効果が高いことを報告している。本研究では、実験用ランプ電圧可変型照射器 (GC) を使用し、Slow-start curing 法を用いて、各種レジンにおける窩底部レジンの重合促進効果と重合収縮応力緩和の可能性について検討した。

【材料および方法】 深さ 2mm のテフロンモールドに、Clearfil AP-X (AP、クラレノリタケデンタル)、Photo Clearfil Bright (PB、クラレノリタケデンタル) と Palfique Estelite (PE、トクヤマデンタル) の Vita シェードの A3 と B4 に対応する各々 2 種類のシェードのレジン を 充填し、通常の照射法と Slow-start curing 法 (10 秒照射/ インターバル 5 秒/ 50 秒照射) により重合硬化させた。すなわち、① 600 mW/cm<sup>2</sup>、60 秒の通常照射法、② 270 mW/cm<sup>2</sup> 10 秒照射、インターバル 5 秒、600 mW/cm<sup>2</sup> 50 秒の Slow-start curing 法を用いた。硬化物をモールドから取出し、その表面と底面のヌーブ硬さを照射終了直後に荷重 100g、負荷時間 15 秒の条件で測定した。硬さ測定は各 4 カ所行い、底面の硬さを表面の硬さで割った Hardness ratio を求めた。

【結果および考察】 270 mW/cm<sup>2</sup> 10 s + 5 s (interval)+600 mW/cm<sup>2</sup> 50 s の Slow-start curing 法を行うと、深さ 2 mm のモールドに充填された Vita シェード A3 に対応する PB と PE では、レジンの底面の硬化が表面より促進することが認められた。しかしながら、AP ではその効果は認められなかった。また、Vita シェード B4 に対応するレジンでは、AP と PB で表面と底面の硬さが同等になったが、PE ではその効果は認められなかった。照射前後のコントラスト比 (硬化前後の不透明度) が増加するレジンである PB の方が、照射に伴いコントラスト比が大きく減少するレジンである AP より窩底部レジンの重合促進効果が高いものと考えられる。

#### 【結 論】

照射に伴いコントラスト比が増加する光重合型コンポジットレジンの方が、コントラスト比の減少が大きいレジンよりも Slow-start curing 法により重合すると、窩底部レジンの重合促進効果が高く、重合収縮応力を緩和する可能性が示唆された。

Table 1 Hardness ratio=KHN of bottom surface / KHN of top surface

	600 mW/cm <sup>2</sup>	270 / 600 mW/cm <sup>2</sup>
AP (A3)	0.91	0.96
AP (B4)	0.97	1.00 *
PB (A3)	0.94	1.05
PB (B4)	0.94	1.01 *
PE (A3)	0.97	1.02
PE (B4)	0.92	0.89

\*superscript symbol indicate no significant difference between KHN of top and bottom surfaces.

## バイオフィームによる小窩裂溝う蝕の形成と SS-OCT を用いた非破壊観察

<sup>1)</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野

○上野智香<sup>1</sup> 島田康史<sup>1</sup> マティンカイルール<sup>1</sup> サダルアリレザ<sup>1</sup> 田上順次<sup>1</sup>

### Non-destructive observation of pit and fissure caries induced by biofilm using SS-OCT

<sup>1)</sup>Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University,

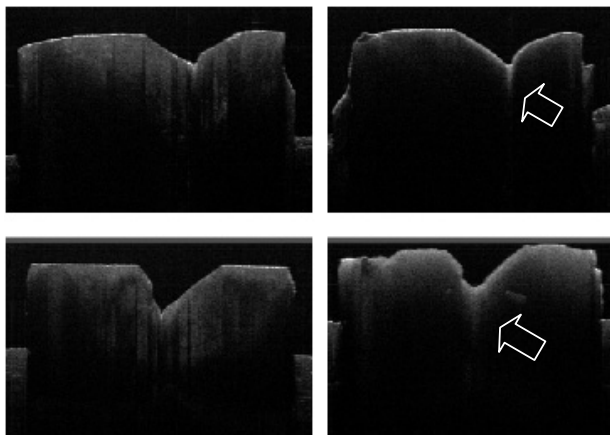
○Tomoka UENO<sup>1</sup> Yasushi SHIMADA<sup>1</sup> Khairul MATIN<sup>1</sup> Sadr ALIREZA<sup>1</sup> Junji TAGAMI<sup>1</sup>

【目的】小窩裂溝う蝕は若年者に多くみられ、急性に進行することがあるため、発症機序の解明と適切な診断法の確立が望まれている。臨床におけるう蝕の画像診断には、エックス線写真が多く用いられている。しかしながら、エックス線写真は進行した隣接面う蝕などの検出には有用であるものの、初期う蝕の判別は困難であるとともに、放射線被曝というデメリットがあった。波長走査型光干渉断層計 (Swept-source optical coherence tomography, SS-OCT) は、非破壊的・非侵襲的な画像診断機器として注目されている。本研究は、バイオフィームを用いてヒト抜去歯の裂溝部にう蝕を形成し、SS-OCT による非破壊観察を行い、裂溝う蝕発生の機序の解明を目的としている。また、*in vitro* で形成した裂溝う蝕を SS-OCT ならびにレーザー顕微鏡にて観察・比較し、SS-OCT 観察の有用性を評価した。

【材料・方法】小窩裂溝う蝕のみられない冷凍保管したヒト抜去歯を本実験に使用した。なお、本実験でのヒト抜去歯の使用に関しては、東京医科歯科大学倫理審査委員会の承認を受けている。小窩裂溝を含むように 5mm×5mm×3mm の大きさに歯を切断しサンプルとした。*Streptococcus mutans* MT8148 をインキュベーター内で Brain Heart Infusion 液体培地を用いて嫌気培養し、リン酸緩衝溶液 (PBS) 中で洗菌、再懸濁した細菌懸濁液を用意した。人工口腔装置 (Oral Bacteria Reactor) を用いて細菌懸濁液・スクロース含有 Heart Infusion 液体培地・PBS をサンプルに対し 20 時間滴下した。人工口腔装置にてサンプル上にバイオフィームを形成後、インキュベーター内でスクロース含有 Heart Infusion 液体培地を用いて 2 週間、4 週間あるいは 6 週間継続させてバイオフィームの培養を行った。培養前ならびに所定の期間経過後のサンプルの SS-OCT 画像を 10 μm ごとに撮影した。また、バイオフィーム除去後にサンプルをエポキシレジンにて包埋し、ダイヤモンドブレードにて切断し、研磨後の断面を走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) にて観察した。SS-OCT ならびに CLSM の画像を比較することによって、バイオフィーム培養期間における脱灰程度の変化を観察し、裂溝う蝕の診断における SS-OCT の有用性を評価した。

【結果】バイオフィームを 2 週間作用させると、SS-OCT 画像においてエナメル質範囲内に限局した輝度の上昇が裂溝部にみられた。培養 4 週間後、6 週間後では、周囲のエナメル質の変化と比較して、裂溝部の輝度の上昇はさらに深く侵入していた。切断面の CLSM 画像では、SS-OCT 画像の結果とほぼ一致した脱灰病変が観察できた。

【考察】バイオフィームを用いた裂溝う蝕モデルを作成することにより、う蝕の進行状態を観察することができた。SS-OCT 画像では、裂溝に沿って輝度の上昇部が深く入り込んでおり、エナメル質の脱灰による微小な欠陥の形成と屈折率の変化が起きていると考えられた。



上段：培養 2 週間、下段：培養 6 週間、左：脱灰前、右：脱灰後。  
裂溝部に輝度の上昇がみられる (矢印)。

## 照射レーザーの波長が歯質の OCT 像に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1</sup>，総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>，東京電力病院歯科<sup>3</sup>

○村山 良介<sup>1</sup>，飯野 正義<sup>1</sup>，島村 穰<sup>1</sup>，鈴木 英梨子<sup>1</sup>

黒川 弘康<sup>1,2</sup>，升谷 滋行<sup>1,2</sup>，宮崎 真至<sup>1,2</sup>，岩崎 圭祐<sup>3</sup>

### Influence of irradiated laser wavelength on the OCT images

Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>，Division of Biomaterials Science，Dental Research Center<sup>2</sup>

Nihon University School of Dentistry，TOKYO Denryoku Hospital<sup>3</sup>

○MURAYAMA Ryosuke<sup>1</sup>，IINO Masayoshi<sup>1</sup>，SHIMAMURA Yutaka<sup>1</sup>，SUZUKI Eriko<sup>1</sup>

KUROKAWA Hiroyasu<sup>1,2</sup>，MASUTANI Shigeyuki<sup>1,2</sup>，MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>，IWASAKI Keisuke<sup>3</sup>

### 【緒言】

光干渉断層画像化法 (Optical Coherence Tomography, 以後, OCT) は, 非侵襲的に組織の精密断層像を得るとともに, 他の医療用画像技術と比較しても高解像度を有していることから, 歯科臨床への応用が期待されている。これまで演者らは, 歯質表層の脱灰および再石灰化といった微細な状態変化を, 波長 1310nm の SLD を用いた OCT の信号強度分布をもとに  $1/e^2$  幅を用いて数値化, 検討を行ってきた。OCT のレーザー光源素子である SLD の波長は, 生体への透過性と為害性を考慮した近赤外領域が用いられている。そのなかでも, 1310nm の波長は,  $H_2O$  に対する吸収率が低く, 生体透過性に優れるため, 深部の観察に有利である。一方, 短波長光源の利点は, その分解能にあるため, 初期齲蝕などの表層に限局した病巣を検出する場合, 精度を向上させることが可能になると考えられる。したがって, SLD の波長を変化させることができれば, 照射レーザーの透過性を応用した深部の観察と, 分解能を応用した表層の観察が同時に可能となる。このような理由から, 今回, OCT の照射レーザーの波長を, 近赤外領域である 830nm および 1310nm の二種類に設定し, 深部および表層部の信号強度の比較, 検討を行った。

### 【材料および方法】

試片は, ウシ下顎前歯歯冠部唇側面中央付近の歯質を, モデルトリマーを用いて直径 4~6mm のエナメル質および象牙質で構成されたブロックとして切り出し, 調整した。次いで 37°C 人口唾液もしくは乳酸緩衝液 (pH4.7) 中に保管し, 実験期間はそれぞれ 28 日とした。OCT イメージ像の観察には OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用い, 測定用 SLD 光源の波長はそれぞれ 830nm および 1310nm とした。OCT イメージ像の変化をより客観的に把握することを目的として, それぞれの波長による測定において, 測定範囲内の任意の 20 カ所における歯質の表層から深部にわたる反射光分布の信号強度分布グラフを得ることで信号強度を解析し, ピーク値を算出した。さらに, 最大ピークを有する非対称な波形のピーク強度値から 86.5% に低下した値 ( $1/e^2$  値) におけるピーク波形の基底幅 ( $1/e^2$  幅) を求め, OCT イメージ像の経時的変化に対する変化量との関連性について検討した。

### 【成績および考察】

人工唾液浸漬条件において, 波長 830nm および 1310nm とともに, エナメル質表層における信号強度分布は, 浸漬期間の延長に伴って, 相対的に低下する傾向がみられた。また, 脱灰液浸漬条件における信号強度は, 波長 830nm および 1310nm のいずれにおいても相対的に増加した。これは, 人口唾液浸漬期間の延長におけるエナメル質表層の光学的性質の変化に起因するものと考えられる。すなわち, エナメル質表面での散乱光が減少したことによって, 光線の深部到達性が増し, さらには内部での光干渉性が向上したため, 信号検出が可能になったものと考えられた。 $1/e^2$  幅の変化は, 人口唾液浸漬, 脱灰液浸漬ともに, 1310nm に比べ, 830nm では変化量が小さい傾向が得られた。これは, 波長が 830nm の SLD は, 波長 1310nm のものに比べ, エナメル質表層での散乱光が増加傾向にあるため, 深部でのシグナル検出頻度が低下したことに起因すると考えられた。これらのことは, 照射レーザーの表面での散乱は, 波長が短くなるほど増加するため, 光線の深部到達性に影響を及ぼし, その結果,  $1/e^2$  幅が変化したものと考えられる。

### 【結論】

本実験の結果から, OCT のシグナル強度および  $1/e^2$  幅は, 浸漬条件と期間に依存することが判明した。また, 照射波長 1310nm は 830nm に比べ,  $1/e^2$  幅変化量が大きいことが示された。これらのことから, OCT の照射レーザーの波長を選択することにより, 歯質表層の状態変化の観察が可能であることが示唆された。

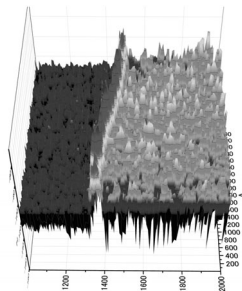


Fig. 1 OCT の三次元信号強度解析グラフ

### 歯質残存厚径測定への OCT の応用

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1</sup>, 総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科小児歯科学<sup>3</sup>, 市石歯科クリニック<sup>4</sup>, 横須賀共済病院<sup>5</sup>  
○飯野正義<sup>1</sup>, 古宅真由美<sup>1</sup>, 生形奈緒子<sup>1</sup>, 田村ゆきえ<sup>1</sup>, 利根川雅佳<sup>1</sup>  
黒川弘康<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>1,2</sup>, 細矢由美子<sup>3</sup>, 市石芳博<sup>4</sup>, 宮直利<sup>5</sup>

#### Application of optical coherence tomography for monitoring residual tooth thickness

Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center<sup>2</sup>  
Nihon University School of Dentistry, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences<sup>3</sup>  
Ichiishi Dental Clinic<sup>4</sup>, Yokosuka Kyosai Hospital<sup>5</sup>  
○IINO Masayoshi<sup>1</sup>, KOTAKU Mayumi<sup>1</sup>, UBUKATA Naoko<sup>1</sup>, TAMURA Yukie<sup>1</sup>, TONEGAWA Motoka<sup>1</sup>  
KUROKAWA Hiroyasu<sup>1,2</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>, YUMIKO Hosoya<sup>3</sup>, ICHIISHI Yoshihiro<sup>4</sup>, MIYA Naotoshi<sup>5</sup>

#### 【緒言】

光干渉断層画像化法 (Optical Coherence Tomography, 以後 OCT) は, 他の医療用画像技術と比較してチェアサイドで簡便かつ非侵襲的に高解像度の組織精密断層像を得ることを特徴としている. 今回, OCT の臨床使用の拡大を図るための基礎的研究の一環として, 窩洞形成あるいは齶蝕除去を想定して, 歯質を削除した後の残存歯質厚径の測定への OCT の応用とその有効性について検討した. すなわち, 歯質切削時において, 残存するエナメル質あるいは象牙質厚径を正確に把握することは, 修復の予後のためにも重要となるが, チェアサイドで非侵襲的かつ簡便に利用できる歯質厚径計測装置はなく, 臨床家の多くは, 歯質の厚さの判定を自らの臨床経験に委ねているのが現状である. そこで, 残存歯質厚径の測定への, OCT を臨床応用するための基礎的検討を行った.

#### 【材料および方法】

残存歯質厚径の測定には, 歯髓組織を有するウシ下顎前歯を用いた. 歯根部歯周組織を除去した後, 唇側を耐水性 SiC ペーパーの #2,000 まで順次研磨し平坦面を露出させ, これを測定用試片とした. 切縁からエナメル-セメント境までをエナメル質計測面, エナメル-セメント境から根尖までを象牙質計測面とし, 1mm 毎に水平断面の撮影を行った.

OCT による断層像の観察には, SLD を光源とするマイケルソン型光干渉計の応用技術によって構築された Time-Domain 型 OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用いた. すなわち, 光源からの近赤外光を対象物に入射し, 屈折率の異なる構造あるいは境界面から反射してきた光を光学干渉計によって捉えることで, 測定対象の内部構造を光強度の情報として得るものである. ここでは, 歯質における屈折率の異なる構造あるいは境界を, 異なる信号強度ピークとして検出し, ピーク位置の差から光学距離を求めるとともに, 組織固有の屈折率でこの数値を除し, それを OCT 計測値とした. また, OCT 計測後の試片を, 精密低速切断機 (Ecomet 4000, Buehler) により, 計測面に対して垂直に, 1mm 間隔で切断した. それらを, 三次元レーザ走査顕微鏡 (VK-8700, キーエンス) を用い, 水平断面における歯質厚径を計測, OCT より得られた計測値と比較, 検討した. なお, これら測定用試片は, 実験期間を通じて 37°C の精製水中に保管し, 実験に供試する際に水中から取り出して使用した.

#### 【結果および考察】

OCT による信号強度分布のピークは, エナメル表面では, 約 -50dB であり, 象牙質表面では約 -55dB であった. また, エナメル象牙質境および, 象牙質と歯髓腔の境界と思しき信号強度分布のピークはそれぞれ, 約 -60dB, -75dB であった. これらは, レーザ照射面表層から深さ方向へ移行するに従い減衰する傾向が認められたものの, 周囲の信号強度よりも相対的に高い信号強度のピークとして検出され, エナメル質表層およびエナメル象牙質境, 象牙質表層および歯髓腔の境界を類推することが可能であった. それらは, 周囲組織の光干渉性, すなわち屈折率が異なる物質の間で起こる反射および散乱を検出しているものと考えられた. また, これらの測定結果より, それぞれの境界を指し示すピーク間距離から得られた残存歯質厚径は, 3D マイクロ CT による測定値との近似性が認められ, その有用性が示された.

#### 【結論】

今回行った実験結果より, OCT を用いた歯質の境界検出および, それを用いた残存歯質厚径測定が可能であることが示唆され, 臨床への応用が期待される.

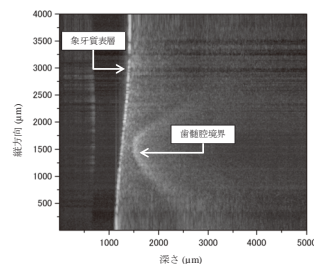


Fig.1 象牙質観察画像

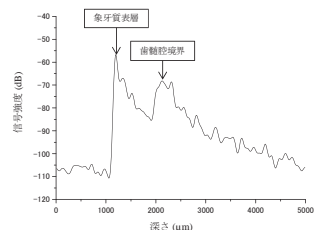


Fig.2 縦方向750μmにおける信号強度分布

### *Streptococcus mutans* を用いた歯頸部の脱灰と SS-OCT による評価

<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野

○手塚 弘樹<sup>1</sup>, 島田 康史<sup>1</sup>, マティン カイルール<sup>1</sup>, サダル アリレザ<sup>1</sup>, 田上 順次<sup>1</sup>

### Assessment of cervical tooth demineralization induced by *Streptococcus mutans* using SS-OCT

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

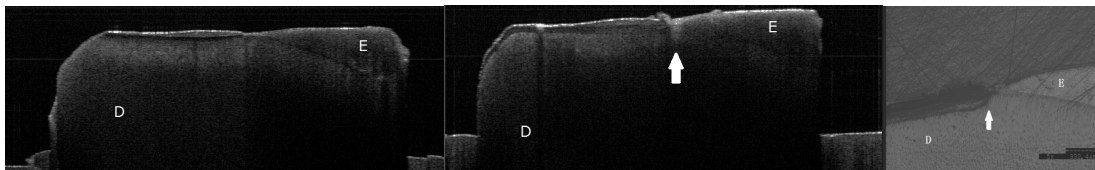
○Hiroki TEZUKA<sup>1</sup>, Yasushi SHIMADA<sup>1</sup>, Khairul MATIN<sup>1</sup>, Sadr ALIREZA<sup>1</sup>, Junji TAGAMI<sup>1</sup>

【緒言】歯頸部う蝕は歯肉の退縮とともに増加する傾向にあり、修復後も二次う蝕に罹患しやすく、その適切な予防と治療法の確立が望まれている。生体に無害な近赤外光を用いた波長走査型光干渉断層計 (SS-OCT) は、非破壊的に組織の精密断層像を得ることができ、う蝕の診断や修復物のギャップの検査に用いることができる。本研究は、歯頸部う蝕の発症機序の解明を目的とし、ヒト抜去歯の歯頸部にバイオフィルムを形成後、*in vitro* のう蝕を作成し、脱灰の進行度を SS-OCT を用いて観察した。さらに、走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) による観察を行い、SS-OCT 画像との比較を行った。

【材料及び方法】ヒト抜去大白歯から CEJ を中心として 5.0mm×5.0mm の試片を作成した。なお、本実験のヒト抜去歯の使用に関して、東京医科歯科大学倫理審査委員会の承認を受けている。供試細菌として、*Streptococcus mutans* MT8148 (*S. mutans*) を用いた。*S. mutans* を Brain Heart Infusion 液体培地 (BHI) で培養後、リン酸緩衝液 (PBS) 中で洗菌し、再懸濁した細菌懸濁液を準備した。人工口腔装置 (Oral biofilm reactor: OBR) 内に、作成した試片を固定し、上記細菌懸濁液、1%スクロース含有 Heart infusion (HI)、PBS を連続的に 20 時間滴下し、*S. mutans* による sucrose dependent のバイオフィルムを形成した。その後、試片を 1 週間、2 週間の群に分け (n=10) インキュベーターにて HI 溶液内で 37°C に保存し、バイオフィルムを培養し作用させた。それぞれの作用期間の後、歯面上のバイオフィルムを 0.25mol/l NaOH にて除去し、SS-OCT (Dental OCT System Prototype2, パナソニックヘルスケア) を用いて CEJ 周囲の歯質の脱灰状態を観察した。また比較画像として、試片をエポキシレジンにて包埋した後、ダイヤモンドブレードにて半切し、研磨後、走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) により歯頸部の脱灰状態を観察した。

【結果】SS-OCT 画像を用いることにより、バイオフィルムを作用させた CEJ 付近のエナメル質、象牙質の変化を観察することができた。作用期間の延長によって CEJ のエナメル質と象牙質の脱灰は進行し、SS-OCT 画像の輝度の上昇部も深く拡大する傾向がみられた。CEJ 付近の輝度の上昇は、周囲のエナメル質と象牙質よりも強く観察することができた。

【考察】今回の実験では、CEJ 付近の SS-OCT 画像の輝度の上昇が強くみられたが、脱灰によるエナメル質内部の欠陥や亀裂の形成による屈折率の変化が示唆された。また CLSM 画像では、象牙質脱灰がエナメル質の下部に侵入していく様相が観察され、SS-OCT 画像の変化として表示された可能性も考えられる。今後、歯頸部の脱灰機序について、詳細な検討が必要と思われる。



脱灰前 SS-OCT 画像

E. エナメル質 D. 象牙質

1W 脱灰後 SS-OCT 画像

CEJ 付近に輝度の上昇がみられる(矢印)

脱灰後 CLSM 画像

歯頸部の脱灰している様子が分かる(矢印)

## 接着修復物の二次う蝕に関する研究 バイオフィームによる脱灰層の SS-OCT 評価

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 歯制御学分野  
○堀江 圭、島田 康史、マティン カイルール、サダル アリレザ、田上 順次

**Study on secondary caries at adhesive restoration**  
**Non-destructive assessment of biofilm-induced demineralization using SS-OCT**  
Cariology and Operative Dentistry, Graduate school of Medical and Dental Sciences,  
Tokyo Medical and Dental University

○Kei Horie, Yasushi Shimada, Khairul Matin, Sadr Alireza, Junji Tagami

【緒言】 修復物周囲の二次う蝕は、視診やレントゲン診査による初期の段階での評価が困難である。生体に無害な近赤外光を用いた波長走査型光干渉断層計 (SS-OCT) は、非破壊で組織の精密断層像を得ることができる。本研究は接着修復物周囲の二次う蝕の形成機序を解明するため、形成の経過を SS-OCT にて観察することを目的としている。in vitro で *Streptococcus mutans* 依存性バイオフィームを修復物に作用させ、周囲の変化を SS-OCT を用いて観察した。

【材料及び方法】 ヒト抜去大白歯の頬側歯冠中央部を #600 耐水研磨紙にて研削し、エナメル質に皿状窩洞 (直径約 2.0 mm, 深さ約 1.5 mm) を形成した。なお、本実験でのヒト抜去歯の使用に関しては、東京医科歯科大学倫理審査委員会の承認を受けている。その後、Clearfil Mega Bond (Kuraray Noritake Dental) にてメーカー指示通りに処理を行い Estelite Flow Quick (A2, Tokuyama Dental) を充填し、再度 #600 耐水研磨紙にて表面を研削し試料とした。

供試細菌として *Streptococcus mutans* MT8148 (*S. mutans*) を用い、Brain Heart Infusion 液体培地にて培養後、リン酸緩衝液 (PBS) 中で洗菌し、再懸濁した細菌懸濁液を準備した。人工口腔装置 (Oral Biofilm Reactor) 内に試片を固定し、上記の *S. mutans* 懸濁液を滴下させ、試料表面に sucrose dependent バイオフィームを 20 時間形成した。1 週間、2 週間、3 週間の群に分け、インキュベーターにてスクロース含有 Heart infusion 液体培地を用いて培養を続けた。その後 SS-OCT (Dental OCT System Prototype2, パナソニックヘルスケア) により、コンポジットレジン修復物周囲のエナメル質の脱灰状態を観察した。また比較として、試片をエポキシレジンにて包埋した後、ダイヤモンドブレードを用いて半切し、研磨後、走査型レーザー顕微鏡 (CLSM) による観察を行った。

【結果】 SS-OCT 画像において、バイオフィームを作用させたコンポジットレジン修復物周囲に輝度の変化がみられ、脱灰層の形成が観察できた。また輝度の変化は、実験期間の経過にともなって増加する傾向がみられた。CLSM 画像では、SS-OCT 画像における脱灰領域にほぼ一致する脱灰部分を確認することができた。また、作用期間 1 週間と 2 週間において、歯冠側と比較し歯頸側のエナメル質の脱灰深さがやや大きい試片がみられた。

【考察】 バイオフィームを作用させたコンポジットレジン修復物周囲にみられる輝度の上昇は、修復物周囲に脱灰層が形成され、その領域において微小な欠陥が生じ、また屈折率が変化することによってレーザーが散乱した結果によるものと考えられる。歯冠側と比較して歯頸側のエナメル質がやや深く脱灰される試片がみられたことから、エナメル質の部位の違いが脱灰深さに影響する可能性が示唆された。

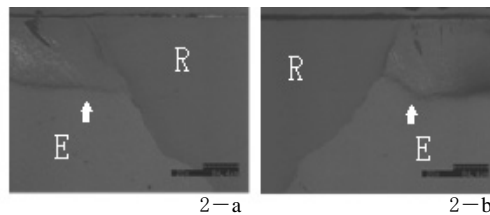
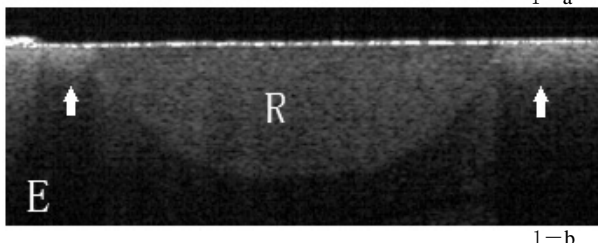
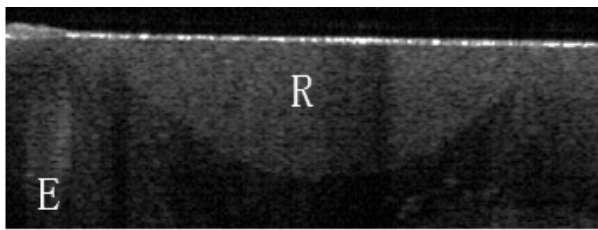


図 1: OCT 画像 (1 週間)

1-a, 脱灰前 1-b, 脱灰後  
脱灰後、輝度の上昇がみられる (矢印)

図 2: 図 1 の CLSM 画像 (1 週間)

2-a, 歯冠側 2-b, 歯頸側  
歯頸側にてやや脱灰が深くなっている (矢印)

R: コンポジットレジン E: エナメル質



### Formation of hypermineralized zone below dentin lesion body induced by topical fluoride in vitro

○Sahar Jameel KHUNKAR<sup>1</sup>, Sachiko Utaka<sup>1</sup>, Syozi Nakashima<sup>1</sup>, Toru Nikaido<sup>1</sup>, Junji Tagami<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Cariology and Operative Dentistry, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, <sup>2</sup>GCOE Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

**Introduction:** It is well known that fluoride application to sound dentin inhibits the demineralization through formation of CaF<sub>2</sub>-like material, and also the application to incipient dentin lesion leads to the remineralization or lesion arrestment. Furthermore several studies reported that hypermineralization was observed at the lesion surface under the presence of fluoride. However, formation of hypermineralization *below dentin lesion body* (ie, in sound dentin region: hereinafter Hyp-S) induced by topical fluoride is new finding to our knowledge. This study reports Hyp-S after 2- and 4-week remineralization. The authors presume the fluoride-induced hypermineralization is a factor for the lesion arrestment. **Materials and Methods:** Bovine root dentin specimens were demineralized for 1 week in demineralizing solution (1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.9 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM acetic acid, 3.08 mM NaN<sub>3</sub>, pH 4.7) at 37 °C. Next, topical fluoride application (NaF group: 2% NaF neutral pH, APF group: 2% NaF in 0.1M H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) was done, and then exposed to remineralization solution (1.0 mM CaCl<sub>2</sub>, 3.0 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 100 mM NaCl, 3.08 mM NaN<sub>3</sub>, pH 6.5) for 2 and 4 weeks. Control group was remineralized without fluoride application. Also, undemineralized (sound) dentin specimens were treated by the fluoride solutions and remineralized in the same way (Sound group). The specimens were sliced to 210 μm for TMR analysis. Photo microscopic observation of the specimens was performed to compare with TMR image.

**Results and Discussion:** Analysis of the TMR images of NaF, APF and Control groups after the remineralization revealed mineral gain at the lesion body in all the specimens, and 8 of 10 specimens in NaF group and 9 of 10 specimens in APF group indicated the clear zone of Hyp-S after 4 week remineralization (Fig. 1), but not in Control group. However no hypermineralization was observed at the lesion surface. For the Hyp-S, the average mineral densities were 57.1 (52.8 - 60.7vol%) and 54.7 (50.8 - 59.0vol%) for NaF and APF groups, respectively: and average of the zone distance 275μm and 231μm for NaF and APF group, respectively. Whereas Sound group treated by NaF did not show Hyp-S, although very thin layer of hypermineralization over the dentin surface (TLH) was noted in a few specimens (Fig. 2). This study suggested that for the Hyp-S formation, initial demineralization might be necessary. Photo microscopic image looked brighter in Hyp-S region than in the deeper region beneath the Hyp-S region, and the brighter region was corresponding to Hyp-S region. Present authors presume that the newly formed deposits in Hyp-S consist of fluoride-rich and acid resistant apatite, and block acid diffusion into the sound region, resulting in lesion arrestment.

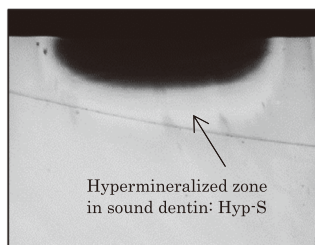


Fig. 1a. TMR image of NaF group, showing Hyp-S below the lesion body

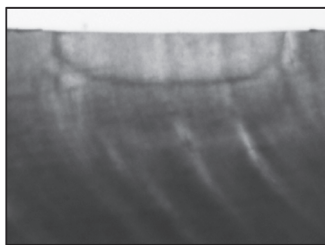


Fig. 1b. Photo image of NaF group, showing Hyp-S below the lesion body

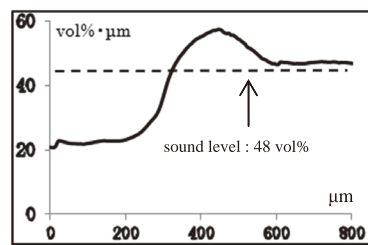


Fig. 1c. TMR profile of NaF group, showing Hyp-S below the lesion body

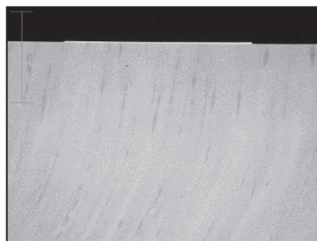


Fig. 2a. TMR image of sound group treated by NaF, showing TLH at the top surface

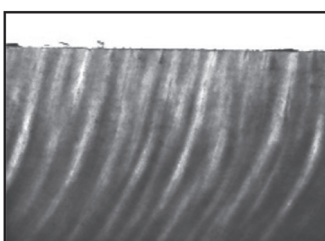


Fig. 2b. Photo image of sound group treated by NaF. Presence of TLH is not clear

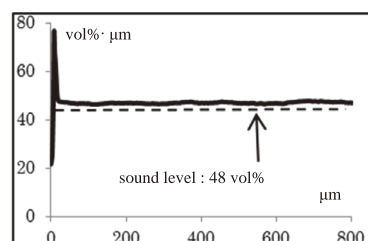


Fig. 2c. TMR profile of sound group treated by NaF, showing TLH at the surface

*Porphyromonas gingivalis* 感染が関節リウマチ発現に及ぼす影響についての実験的解析

広島大学大学院医歯薬保健学研究院 応用生命科学部門 歯周病態学研究室  
○山川真宏 應原一久 加治屋幹人 橋高瑞穂 藤田 剛 柴 秀樹 栗原英見

Experimental analysis of *Porphyromonas gingivalis* infection affected the expression of rheumatoid arthritis  
Department of periodontal medicine, division of frontier medical science, Hiroshima University graduate school  
of biomedical sciences.

○Masahiro Yamakawa, Kazuhisa Ouhara, Mikihiro Kajiyama, Kittaka Mizuho, Tsuyoshi Fujita,  
Hideki Shiba, Hidemi Kurihara

<目的>

歯周炎は、*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*)を主とした歯周病原細菌による感染症であり、糖尿病や動脈硬化症といった様々な全身疾患との関連が報告されている。一方、関節リウマチ(RA)は、滑膜の肥厚を特徴とする有病率の高い自己免疫性疾患であるが、その病因論に依然として不明な点が多い。近年、抗環状シトルリン化タンパク(CCP)抗体の陽性化が RA 診断に重要なマーカーになっている。この抗体が認識するシトルリン化タンパクは *Pg* の Peptidylarginine deiminase によって生成されるという報告がある。そこで本研究では、*Pg* 感染と RA の関連を明らかにするために、*in vitro* でヒト歯肉線維芽細胞 (HGF)の構成タンパクが *Pg*によってシトルリン化されるか検討した。また *in vivo* では、SKG マウスを用いて、*Pg*感染が RA 発症にどのように影響するかについて検討した。

<材料と方法>

供試菌：*Pg* W83 を実験に供した。

シトルリン化タンパクの検出：*HGF* を通法に従い confluent になるまで培養後、*Pg*( $10^8$  CFU/ml)と共培養し、*HGF* を破砕後、構成タンパクのシトルリン化を Western blotting 法にて解析した。

RA 発症マウスモデルにおける *Pg*感染の影響：RA モデルとして SKG マウス(CLEA Japan, 6-8 週齢)を用いた。野生型として、Balb/c(CLEA Japan, 6-8 週齢)を用いた。RA は、SKG マウスに Laminarin (1 mg/g/mice)を腹腔内投与することで誘導した。実験群は、① *Pg* ( $4.0 \times 10^5$  CFU/g/mice)と Laminarin (1 mg/g/mice)を腹腔内に同時に投与した群 (*Pg*+LA 群)、② Laminarin (1 mg/g/mice)のみ腹腔内投与した群 (LA 群)、とした。対照群は、③ PBS のみを腹腔内投与した群 (PBS 群)、とした。関節炎の評価は、坂口らの Arthritis score を用いて 7 日ごとに関節腫脹を評価した。投与してから 14 日後に尾静脈血より血清を採取し、*Pg* に対する血清抗体価と、CCP およびリウマチ因子(RF)に対する抗体価を ELISA 法にて解析した。また頸部リンパ節から T 細胞、脾臓から抗原提示細胞として単球系の細胞をそれぞれ分離し、*Pg* ( $10^7$  CFU/ml)と 72 時間共培養した後、T 細胞の増殖を BrdU を用いた ELISA 法にて解析した。

<結果>

*HGF* 構成タンパクは *Pg* W83 によってシトルリン化され、シトルリン化は 30 分以内に検出された。

① *Pg*+LA 群は、③ PBS 群と比較して Arthritis score の有意な上昇がみられた。*Pg* に対する血清抗体価は *Pg* で免疫してから 14 日後に上昇が認められた。また、CCP および RF に対する抗体価は、① *Pg*+LA 群および② LA 群と③ PBS 群を比較すると、有意に上昇が認められた。しかし、① *Pg*+LA 群および② LA 群の間に有意な差は認められなかった。また、① *Pg*+LA 群における T 細胞の増殖は、③ PBS 群に比べて有意に上昇した。

<考察および結論>

本研究から、*Pg* W83 は *HGF* 由来タンパクをシトルリン化した。また SKG マウスに *Pg* W83 を感染させると、関節炎病態の増悪が認められた。このことから、*Pg* は歯周組織局所のタンパクのシトルリン化を介して、RA を誘導または増悪に関与することが示唆された。

## *P. gingivalis*感染が心肥大に与える影響

<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯周病学分野

<sup>2</sup>東京大学先端臨床医学開発講座

<sup>3</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科循環制御内科学分野

○金子 誠<sup>1</sup>、鈴木 淳一<sup>2</sup>、青山 典生<sup>1</sup>、始平堂 由佳<sup>1</sup>、磯部 光章<sup>3</sup>、和泉 雄一<sup>1</sup>

### The effect of *P. gingivalis* infection on pressure-overload induced cardiac hypertrophy

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, <sup>2</sup>Department of Advanced Clinical Science and Therapeutics, University of Tokyo,

<sup>3</sup>Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○Makoto Kaneko<sup>1</sup>, Jun-ichi Suzuki<sup>2</sup>, Norio Aoyama<sup>1</sup>, Yuka Shiheido<sup>1</sup>, Mitsuaki Isobe<sup>3</sup>, Yuichi Izumi<sup>1</sup>

#### 【目的】

歯周病はグラム陰性嫌気性菌である歯周病原細菌感染による慢性炎症性疾患であり、特に中高年齢において罹患率の高い感染症である。*Porphyromonas gingivalis*(*P. gingivalis*)は歯周病に大きく関与している主要な歯周病原細菌である。近年、歯周病原細菌感染と全身疾患との関わりが多く報告されている。心肥大は高血圧や大動脈の狭窄による圧負荷に対して心機能を補償する適応反応であるが、その反応が高度になると死に至る。また心臓血管疾患罹患患者の心臓血管より *P. gingivalis* が高頻度に検出されている。そこで、本研究では歯周病原細菌である *P. gingivalis* の感染が心肥大へ与える影響をマウスを用いて検討した。

#### 【材料および方法】

7週令の C57BL/6J オスマウスの背部皮下に歯科矯正用ワイヤを直径 5mm、長さ 10mm のコイル状にした物を植え込み、細菌感染用のスペースとした。コイル埋入 2 週間後、抱水クロラルによる腹腔内麻酔下で開胸して上行大動脈を 6-0 絹糸にて血拮し大動脈を狭窄させ、圧負荷による心肥大モデルを作製した。感染群では、 $10^8$ CFU/ml の *P. gingivalis* の懸濁液 0.1ml を大動脈結紮後から毎週 1 回、4 週間投与した。対照群では、同じタイミングにて PBS を投与した。手術後 1 週および 4 週で心エコーを測定した。手術後 4 週で心臓を採取し、心体重量比を計測した。病理組織学的分析としてヘマトキシリン-エオジン染色による心筋細胞の肥大の程度の観察、またマロリー染色により組織の線維化を観察した。免疫組織学的分析を行いマトリックスメタロプロテアーゼの局在を観察した。

#### 【結果および考察】

感染群では、心エコーにおいて左室内径短縮率が減少する傾向にあった。一方、対照群ではその減少は感染群に比べ緩やかであった。対照群と比べると感染群において心体重量比がより増加する傾向にあった。病理所見として、ヘマトキシリン-エオジン染色で感染群において心筋細胞の肥大が観察された。一方で対照群では肥大はしていたが、その程度が感染群に比べ小さかった。マロリー染色では感染群で心筋全体および血管周囲組織の線維化の亢進が観察された。本研究結果より、歯周病原細菌である *P. gingivalis* の感染が心肥大を悪化させる事が示唆された。

## 歯肉溝滲出液(GCF)における Hemoglobin(Hb)検査を用いた PPD・BOP 検査精度の検証

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座<sup>1)</sup>, 日本歯科大学生命歯学部共同利用研究センター・アイソトープ研究施設<sup>2)</sup>, 岩手医科大学歯学部口腔機能保存学講座歯周病学分野<sup>3)</sup>, 日本大学 松戸歯学部 歯周治療学講座<sup>4)</sup>, 東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 生体支持組織学系専攻 生体硬組織再生学講座 歯周病学分野<sup>5)</sup>, 徳島大学 大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 再生修復医歯学部 顎口腔病態制御学講座 歯周歯内治療学分野<sup>6)</sup>

○伊藤 弘<sup>1)</sup>, 沼部幸博<sup>1)</sup>, 戸田智幸<sup>2)</sup>, 橋本修一<sup>2)</sup>,  
八重柏隆<sup>3)</sup>, 小方頼昌<sup>4)</sup>, 和泉雄一<sup>5)</sup>, 永田俊彦<sup>6)</sup>

Accuracy of PPD & BOP by hemoglobin inspection in GCF

Department of Periodontology, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo<sup>1)</sup>,  
Dental Research Institute, Radio Isotope Center, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry Tokyo<sup>2)</sup>,  
Department of Conservative Dentistry and Oral Rehabilitation, Division of Periodontology, School of Medicine,  
Iwate Medical University<sup>3)</sup>, Departments of Periodontology, School of Dentistry at Matsudo, Nihon University<sup>4)</sup>,  
Section of Periodontology, Department of Hard Tissue Engineering, Graduate School of Medical and Dental Science,  
Tokyo Medical and Dental University<sup>5)</sup>, Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Health  
Biosciences, The University of Tokushima Graduate School<sup>6)</sup>  
○Hiroshi Ito<sup>1)</sup>, Yukihiko Numabe<sup>1)</sup>, Toshiyuki Toen<sup>2)</sup>, Shuichi Hashimoto<sup>2)</sup>, Takashi Yaegashi<sup>3)</sup>, Yorimasa Ogata<sup>4)</sup>,  
Yuichi Izumi<sup>5)</sup>, Toshihiko Nagata<sup>6)</sup>

### 【目的】

歯周病の診断ツールとして PPD・BOP は必要不可欠であり、歯周病の診断・治療計画の立案/変更に関与するものの、手技が繊細であり熟練が要求される。我々は、BOP 検査の限界について示唆し、PPD・BOP に GCF における Hb 検査を加えることでその精度が担保できる可能性を報告した。そこで、複数もしくは 1 人の歯周病専門医で行う PPD・BOP 検査結果それぞれに対する Hb 検査結果を比較し、改めて PPD・BOP 検査の精度に関し検討を行なった。

### 【材料と方法】

被験者は非喫煙者の SPT 期患者 184 名とし、複数の歯周病専門医により歯冠修復物のない上下顎前歯部 401 部位から GCF を採取した。検査項目は、臨床パラメータとして、PII, GI, CAL, PPD, BOP を評価した。同様に 1 人の歯周病専門医により SPT 期患者 48 名の歯冠修復物のない上下顎前歯部 115 部位から GCF を採取した。採取した GCF は、出血反応に対する指標として Hb 測定を行ない、その測定には immuno-chromatography (IC) 法を用いた。BOP 検査と IC 法を用いた検査 (Hb 検査) 結果を (-)と(+)に分け、感度・特異度を求めた。さらに、健常部位と歯周ポケット GCF 中の蛋白質については SDS-PAGE を用いた銀染色にて観察した。さらに、GCF 中の Hb を Hb 抗体を用いた western blotting にて検出した。

### 【結果】

PPD・BOP 検査と Hb 検査を比較すると、複数の検査者と 1 人の検査者では BOP が(-)であり Hb が(-)である特異度は同等であったものの、BOP が(+)であり Hb が(+)である感度は 1 人の検査者のほうが高かった。SDS-PAGE 後の銀染色により Hb 単量体と思われる場所に濃染される蛋白質バンドが認められ、さらに western blotting によりこの蛋白質が Hb であることが確認された。

### 【考察】

BOP 検査と Hb 検査との整合性は、1 人の歯周病専門医で行うほうが、複数の歯周病専門医で行う場合と比べ高かった。これは、PPD・BOP 検査は非常に繊細であり、プロービング圧が低くなる傾向を示唆することとなった。こうした PPD・BOP 検査の齟齬を補正する手段として GCF における Hb 検査の意義が示唆された。従って今後、PPD・BOP 検査に Hb 検査を併用することが必要と考えられる。

本研究は、文部省科学研究費助成金：基盤研究 C，課題番号：20592437，平成 24 年度日本歯科大学研究プロジェクトの助成を受けて行われた。また、倫理委員会の承認（承認番号 2111）のもと遂行された。

## 骨髄液内で硬化させた 4-META/MMA-TBB レジン表面への硬組織形成

北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室  
○洲崎 真希, 菅谷 勉, 中塚 愛, 柳澤 剛, 川浪 雅光

Hard tissue formation on the surface of 4-META/MMA-TBB resins cured in bone marrow  
Periodontology and Endodontology, Department of Oral Health Science,  
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine  
○Maki Sunosaki, Tsutomu Sugaya, Megumi Nakatsuka, Gou Yanagisawa, Masamitsu Kawanami

### 【緒言】

4-META/MMA-TBB レジンは優れた接着性と生体親和性を有することから、歯根端切除術や再植術時の root-end sealing, 垂直歯根破折の接着治療、髄床底穿孔部の封鎖に応用してきた。しかし、レジン上にセメント質は形成されないのが現状である。一方、4-META/MMA-TBB レジンは大気中より血液中で硬化させた方が、炎症の発生は少なくなることが報告されている。そこで本研究では、4-META/MMA-TBB レジンを骨髄腔内で硬化させた場合のレジン表面への骨の形成に及ぼす影響を評価した。

### 【材料と方法】

スーパーボンド (クリア、以下 SB) をポリプロピレン製チューブ内で硬化させ、直径 1mm, 長さ 5mm の円柱形試料を作製した。10 週齢ウィスター雄性ラットの左右大腿骨骨髄腔に穿孔し、次の 3 つの条件で試料を骨髄腔に埋植した。①骨髄液中硬化群: 試料表面に SB を塗布した直後に埋植した。②空気遮断硬化群: 試料をそのまま埋植した。③空气中硬化群: 試料表面に SB を塗布して空气中で硬化させた後に埋植した。術後 2, 8 週で脱灰薄切標本を作製して H-E 染色し、試料周囲の骨形成状態を光学顕微鏡で観察し、骨形成率、骨接触率等を計測した。

さらに SB を 5mm×5mm のディスク状に硬化させた試料に、次の 3 つの条件で骨髄液に浸漬した。①骨髄液中硬化群: SB を塗布した直後に浸漬した。②空気遮断硬化群: 試料をそのまま浸漬した。③空气中硬化群: 試料表面に SB を塗布して空气中で硬化させた後に浸漬した。骨髄液への浸漬時間はいずれも 10 分とした。その後 20 分超音波洗浄し、乾燥後、レジン表面と縦断面の SEM 観察及び FT-IR 分析を行った。

### 【結果と考察】

骨髄腔内に埋植した試料周囲には、2 週後にすべての群で新生骨が形成されていた。2, 8 週とも骨形成量は  $75.7 \pm 17.6 \sim 83.8 \pm 12.9\%$  で 3 群間に有意差はなく、各群の 2 週後と 8 週後を比較しても有意差はなかった。さらに、経時的な新生骨の緻密化や、層板骨の増加、骨細胞の扁平化、骨表面の細胞の扁平化などは 3 群とも同様であったことから、骨の成熟に大きな差はなかった。一方、試料と骨の接触率は、2 週後には  $0 \sim 5.8 \pm 13.0\%$  で試料と骨が直接接している部分はほとんどなく、3 群間に有意差はなかった。しかし、8 週後は試料と骨が直接接している部位がみられ、接触率は骨髄液中硬化群では  $15.4 \pm 8.0\%$ 、空気遮断硬化群では  $4.9 \pm 6.0\%$ 、空气中硬化群では  $1.9 \pm 2.9\%$  で、骨髄液中硬化群は他の 2 群に比較して有意に高かった。したがって、骨髄液中で硬化させることは、試料周囲への骨形成量は増加しないが、骨基質と試料が直接接する面積を増加させるのには有効であると思われた。

ディスク状に硬化させた試料に SB を塗布し、直後に骨髄液に浸漬した骨髄液硬化群の試料では、SEM でレジン表面に厚さ 2~3 $\mu\text{m}$  の粗造な層が観察され、この層とレジンとの界面には、境界が不明瞭な部位が一部に認められた。FT-IR 分析では、骨髄腔中硬化群のレジン表面にタンパク質を含む骨髄成分の付着が認められた。

### 【結論】

4-META/MMA-TBB レジンを骨髄液中で硬化させると、レジン表面にタンパク質を含む骨髄成分が付着し、レジンと骨との直接接触が高まる可能性が示唆された。

## レジン系シーラーの種類と根管乾燥法の違いによる根尖封鎖性への影響

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座

○中澤 篤史、菅谷 勉、川浪 雅光

Influence of different resin sealers and root canal drying methods on apical seal.

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,  
Hokkaido University Graduate school of Dental Medicine

○Atsushi Nakazawa, Tsutomu Sugaya, Masamitsu Kawanami

### 【緒言】

根尖孔が大きく加圧根管充填のための根管形成が十分に行えない症例では、接着性レジンシーラーを用いた単一ポイント法で高い封鎖性が得られると報告されている。しかし、根管形態が扁平や槌状の場合にはシーラーが厚くなる部位が生じて、重合収縮により根管壁との間にギャップが生じたり、気泡が混入しやすくなったり、乾燥が不十分な部位が生じて接着が障害される危険性などがある。そこで本研究では、接着性シーラーのみで根管充填を行って、根管の乾燥方法、シーラーの種類が根尖封鎖性に及ぼす影響を検討した。

### 【材料と方法】

ヒト抜去単根歯 70 本を根尖孔サイズ #140 まで拡大形成し、スティッキーワックスで根尖部を被覆した。根管充填にはスーパーボンド根充シーラー (SBS)、スーパーボンド混和ラジオペーク (SBR)、リアルシール SE シーラー (RS) の 3 種類を用いた。根管の乾燥方法は、エアードライする方法とペーパーポイントで乾燥する方法の 2 つを行った。RS の乾燥は、本材料の接着機構を考慮してペーパーポイント法のみを行った。SBS と SBR の根管充填は、メーカー指示に従ってモノマー液とポリマー粉末を混和し、混和泥をシリンジで充填した。RS では付属の混和ノズルから直接根管内に充填した。24 時間水中保管後に色素侵入試験を行い、根尖部 3mm を 0.5mm 間隔で歯軸に垂直に切断して 6 枚の標本作製し、①色素侵入距離 (色素侵入が認められた最歯冠側の標本と根尖との距離)、②色素侵入率 (色素侵入長さ/根管外周)、③根管充足率 (根充材面積/根管面積)、④根管壁空隙率 (根管壁に接した空隙面積/根管面積)、⑤根充材内部空隙率 (根充材内部の空隙面積/根管面積) を計測し、さらに SEM 観察を行った。

### 【結果及び考察】

SBS と SBR をそれぞれ根管乾燥方法で比較すると、色素侵入距離は 0~0.5mm、色素侵入率は 0~22.0%、根管充足率は 83.9~90.7%、根管壁空隙率は 0.6~6.8%、根充材内部空隙率は 6.7~13.6% で、いずれも有意差はなかった。一方、根管壁空隙率は SBS を用いた場合にはエアードライよりペーパーポイント乾燥の方が有意に大きな値を示した。

SBS、SBR、RS で比較すると、色素侵入距離はそれぞれ  $0.15 \pm 0.11$ mm、0mm、 $1.3 \pm 0.26$ mm、色素侵入率は  $2.27 \pm 1.83$ %、0%、 $75.11 \pm 9.1$ % で、RS が SBS と SBR に比較していずれも有意に大きかった。根管充足率は 83.3~90.7%、根充材内部空隙率は 6.7~16.0% でいずれも 3 群間に有意差はなかったが、根管壁空隙率は  $6.8 \pm 1.0$ %、 $0.6 \pm 0.4$ %、 $0.7 \pm 0.2$ % で SBS が他の 2 群に比較して有意に高い値を示した。

SEM 観察では、SBS と SBR はエアードライを行うと長いレジクタグがみられたが、ペーパーポイント乾燥ではレジクタグが短く侵入が不十分な部分が認められた。また、SBS と SBR を用いた場合は根管壁付近に空隙がみられても、気泡と根管壁との間には一層レジンが認められる部分が多かったが、RS では根管壁とレジンの間に空隙が認められた。これは RS が重合収縮で空隙が生じるのに対して、SBS と SBR が根管壁から重合が開始されるために空隙が生じにくいからと思われる。

### 【結論】

本研究結果により、太い根管などで接着性レジンシーラーが厚くなる場合でも、スーパーボンド混和ラジオペークを用いることで、良好な封鎖性が得られることが示唆された。

## CT画像にみられる根管充填剤による歯根破折様アーチファクトについて

<sup>1</sup>東北大学大学院歯学研究科 口腔診断学分野、

<sup>2</sup>鶴見大学歯学部 口腔顎顔面放射線 画像診断学講座、

<sup>3</sup>愛知学院大学歯学部 歯科放射線学講座

○<sup>1</sup>飯久保 正弘、<sup>1</sup>西岡 高志、<sup>2</sup>小林 馨、<sup>3</sup>有地 榮一郎、<sup>1</sup>笹野 高嗣

### Root fracture-like artifacts due to the gutta-percha point in the imaging of the CT

<sup>1</sup>Department of Oral Diagnosis, Tohoku University Graduate School of Dentistry,

<sup>2</sup>Department of Oral and Maxillofacial Radiology and Diagnosis, Tsurumi University School of Dental Medicine,

<sup>3</sup>Department of Oral and Maxillofacial Radiology, Aichi-Gakuin University School of Dentistry

○<sup>1</sup>Masahiro Iikubo, <sup>1</sup>Takashi Nishioka, <sup>2</sup>Kaoru Kobayashi, <sup>3</sup>Eiichiro Ariji, <sup>1</sup>Takashi Sasano

#### [目的]

永久歯抜歯の原因疾患として、齶蝕や歯周病に比較して歯根破折の占める割合が増加している。そこで、平成23年度歯科医学会プロジェクトとして、「歯の破折の診断・治療に関するプロジェクト研究」が公募され、NPO法人日本歯科放射線学会として申請した「歯根破折歯の画像診断ガイドライン作成のためのプロジェクト研究」が採択された。我々は既に、昨年の第136回日本歯科保存学会シンポジウムにおいて、歯科用コーンビームCT (CBCT) でみられる根管充填剤によるアーチファクトが、歯根垂直破折の診断において偽陽性率を高める可能性があることを報告している。しかしながらこれまで、根管充填剤のアーチファクトに関して、その発生方向や程度について詳細に検討した報告はみられない。そこで、今回我々は、根管充填した上顎前歯と下顎小臼歯に対してCBCTおよびマルチディテクタヘリカルCT (MDCT) 撮影を行ない、アーチファクトの発生方向および程度について比較検討を行なった。

#### [対象と方法]

口内法撮影練習用ファントムの上顎骨と下顎骨を外し、上顎前歯と下顎小臼歯を抜歯した。上顎前歯と下顎小臼歯の抜去歯(各9歯)に対し、抜去窩に歯根の2/3以上が収まる様に歯根形態を整えた後に、Kファイルを用いて50号まで根管拡大を行ない、50号のガッタパーチャポイント(GPP)を挿入した。抜去歯を抜去窩に挿入し、上下顎を咬合させ、咬合平面が床と平行になるように水槽に入れ、頸椎と一緒にCBCT(朝日レントゲン、Alphard VEGA)を撮影した。撮影は管電圧80kV、管電流7mAで、FOVが直径102mm、高さ102mm、ボクセルサイズが0.2mmのI-modeで行なった。また、MDCT(Siemens、SOMATOM Plus)については、咬合平面が床と垂直になるように水槽に入れ、管電圧120kV、管電流70mA、Slice thickness 0.5mmで撮影した。なお、GPPのない状態もコントロールとして撮影し、評価の参考とした。評価画像は、歯根軸に垂直な横断像とし、評価部位は、歯頸部、歯頸側3分の1、根尖側3分の1の3スライスとして、歯を8分割した方向に対するアーチファクトの見え方について、資料作製者と画像撮影者を除く7人の歯科放射線専門医が視覚的に評価した。評価方法は、0:全くアーチファクトはない、1:僅かなアーチファクトがみられる、2:明らかなアーチファクトがみられる、3:アーチファクトにより歯が断裂してみられる、の4段階とした。

#### [対象と方法]

CBCTで撮影した上顎前歯部では、近心頬側、近心舌側、遠心舌側、および遠心頬側方向にアーチファクトがみられ、特に近心頬側と遠心舌側に強くみられた。また、下顎小臼歯部では、頬舌方向や近遠心方向にアーチファクトがみられ、特に近遠心方向へ強くみられた。さらに、これらアーチファクトは、根尖側断面に比較して歯頸部断面で強くみられた。一方、MDCTで撮影した上顎前歯部および下顎小臼歯部は、ともにCBCTと同様の方向にアーチファクトがみられたが、いずれもCBCTに比較してその見え方は弱かった。

#### [結論]

CBCTで見られる根管充填剤のアーチファクトはMDCTに比較して強く現れ、その発生方向は部位により違いがあることが明らかとなった。

## Resveratrol がヒト歯肉上皮細胞の炎症性応答に及ぼす影響

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔保健学分野<sup>1</sup>, 歯周診断・再建学分野<sup>2</sup>  
新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部<sup>3</sup>,  
大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学分野<sup>4</sup>  
○皆川 高嘉<sup>1,2</sup>, 奥井 隆文<sup>2</sup>, 中島 貴子<sup>3</sup>, 多部田 康一<sup>2</sup>, 村上 伸也<sup>4</sup>, 山崎 和久<sup>1</sup>

### Effects of resveratrol on inflammatory responses in human gingival epithelial cells

Laboratory of Periodontology and Immunology, Division of Oral Science for Health Promotion<sup>1</sup>, Division of Periodontology<sup>2</sup>,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital<sup>3</sup>  
Department of Periodontology, Division of Oral Biology and Disease Control, Osaka University Graduate School of Dentistry<sup>4</sup>  
○Minagawa T<sup>1,2</sup>, Okui T<sup>2</sup>, Nakajima T<sup>3</sup>, Tabeta K<sup>2</sup>, Murakami S<sup>4</sup>, Yamazaki K<sup>1</sup>

#### [研究目的]

Resveratrol は、赤ワインやピーナッツに多く含まれる、抗酸化作用を有するポリフェノールの1つであり、糖尿病や動脈硬化症などの老化関連性疾患の発症を遅らせること、また炎症性応答を制御することが報告されているが、その詳細なメカニズムはわかっていない。Resveratrol の作用メカニズムの1つとして、Sirtuin 1 (SIRT1)の活性化が挙げられる。SIRT1はNicotinamide adenine dinucleotide (NAD)依存性ヒストン脱アセチル化酵素に属する蛋白質であり、ヒストンや細胞機能に重要な蛋白を脱アセチル化して、それらの機能を制御していることが知られている。SIRT1はまたNF- $\kappa$ Bの活性化を抑制して炎症性応答を制御することが報告されている。歯周炎は歯周病原細菌に対する宿主の炎症性応答により、歯周組織が破壊される慢性炎症性疾患である。歯周組織を構成する細胞の中で歯肉上皮細胞は物理的なバリアーとして機能するだけでなく、歯周病原細菌に対して炎症性サイトカインやケモカインを産生して歯周炎の病態形成に重要な役割を果たすため、その炎症性応答を制御するような物質は歯周炎の進行抑制に有効である可能性がある。本研究では Resveratrol の歯肉上皮細胞の炎症性応答に対する影響を解析すること、及びそのシグナル経路を解析することを目的とする。

#### [材料および方法]

歯肉上皮細胞はヒト歯肉不死化細胞株 epi4 (大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学分野 村上伸也教授より供与)を Supplement S7 添加 Epilife 培地にて培養し、以下の実験を行った。

- (1) epi4 に対する Resveratrol の細胞毒性について MTT assay (12h) を用いて確認した。
- (2) Resveratrol または SIRT1 阻害剤である Sirtinol で前処理した epi4 を *Porphyromonas gingivalis* 菌体(生菌又は加熱死菌)で刺激し、4時間後の炎症性サイトカイン(IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, MCP-1)発現変動を real-time PCR 法により解析した。
- (3) SIRT1 siRNA により SIRT1 をノックダウンした epi4 を用いて(2)と同様の実験を行った。

#### [結果]

MTT assay より Resveratrol は 15 $\mu$ M よりも低い濃度では細胞毒性を示さなかった。*P. gingivalis* 菌体(生菌)刺激によって epi4 における IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 の遺伝子発現が増加したが、Resveratrol 前処理はそれらを抑制した。*P. gingivalis* 菌体(加熱死菌)刺激によって epi4 の IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, MCP-1 の遺伝子発現が増加したが、Resveratrol 前処理は IL-8 以外のサイトカインの増加を抑制し、Sirtinol 前処理はすべてのサイトカインの増加を抑制した。SIRT1 siRNA を用いた実験に関しては現在データを解析中である。

#### [考察]

今回の研究から Resveratrol は *P. gingivalis* 菌体(生菌又は加熱死菌)刺激による歯肉上皮細胞の炎症性サイトカイン産生を抑制することが明らかとなった。このメカニズムについては明らかではないが、Sirtinol を用いた実験結果からは、SIRT1 の関与は低いことが示唆された。今後 SIRT1 の関与をさらに解析するとともに他の分子の関与やシグナリングの解析を行っていく予定である。



## ヒト歯根膜細胞の老化により誘導される SASP の解析

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)

○池上久仁子、山下元三、山羽聡子、中村友美、森健太、栗田敏仁、柳田学、北村正博、村上伸也

### Analysis of SASP (Senescence-associated secretory phenotype) in aged HPDL cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

OKuniko Ikegami, Motozo Yamashita, Satoko Yamaba, Tomomi Nakamura, Kenta Mori,

Toshihito Awata, Manabu Yanagita, Masahiro Kitamura and Shinya Murakami

#### [研究目的]

体細胞において分裂回数が限界に到達すると、細胞死あるいは細胞老化が誘導される。老化細胞は増殖停止の状態  
で体内に蓄積されることから、個体レベルの老化への関与が注目されている。近年、慢性炎症・幹細胞能の維持・発  
がん等に関連する炎症性サイトカイン・ケモカイン・細胞外マトリックス分解酵素等の様々な分泌蛋白を、老化細胞  
が高産生する現象(SASP)が明らかとなっている。歯周病は加齢に伴い病状が進行する慢性炎症性疾患であり、その過  
程において歯周組織構成細胞は細菌感染・メカニカルストレス・活性酸素等の細胞老化誘導刺激に暴露されている。  
そこで本研究では、*in vitro*のヒト歯根膜細胞老化モデルを構築し、老化により誘導される SASP の解析を行った。

#### [材料と方法]

##### 1. ヒト老化歯根膜細胞誘導系の樹立

ヒト初代培養歯根膜細胞を3日毎に30代以上の継代培養を行うことで、複製老化を誘導した。継代ごとの細  
胞増殖能についてはPDL (Population doubling level) を算出することで評価した。老化誘導した細胞の形態  
は、蛍光標識 Phalloidin 抗体を用いて蛍光顕微鏡にて観察した。老化細胞に特徴的な細胞の肥大は、フローサ  
イトメトリーによりFSC/SSCを計測し、細胞の大きさ・タンパク含有量を解析することで評価した。

##### 2. 老化が誘導されたヒト歯根膜細胞における老化マーカーの発現

SA-β GAL (Senescent-associated β-galactosidase) 活性は、酵素特異的基質を用いた染色法にて評価した。  
細胞内の活性酸素 (ROS) の蓄積についてはCM-H2CFFDA (Invitrogen)を用いて蛍光染色し、蛍光顕微鏡な  
らびにフローサイトメトリーにて発現解析を行った。またG1/S期の制御については細胞周期調節タンパクであ  
るp15、p16、p53、Rbの発現をWestern blot法にて検討した。老化ストレスにより誘導されるストレス応答  
性タンパクの活性については、Phospho-MAPK array (R&D)を用いて解析した。

##### 3. 老化ヒト歯根膜細胞の分泌タンパク質 (SASP) のプロファイルの同定

ヒト歯根膜細胞からtotal RNAを採取し、IL-6、IL-8、TNF $\alpha$ に代表される炎症性サイトカインや、MCP-1  
などのケモカイン、並びにMMPs、TIMPs等のマトリックス分解酵素群のmRNAの発現をqPCR法にて検討  
した。また、培養上清中に産生された分泌タンパク量については、ELISA法にて定量解析を行った。

#### [結果および考察]

歯根膜細胞は継代数35代付近で増殖能が低下し、細胞形態の肥大と核のSAHF (老化特異的ヘテロクロマチン構  
造)が観察された。同細胞内におけるSA-β GAL活性とROS活性は増強しており、p16、Rbの蛋白レベルでの発現  
上昇が認められ、G1/S期において増殖抑制状態にあることが認められた。以上のことより、ヒト初代培養歯根膜細  
胞からの*in vitro*老化モデルの樹立が確認された。ヒト老化歯根膜細胞は、炎症性サイトカイン、ケモカインやマト  
リックス分解酵素をmRNAレベルで高発現しており、培養上清中の蛋白IL-6、IL-8について高産生が認められた。

#### [結論]

歯周組織においては、加齢により老化歯根膜細胞からの炎症性サイトカイン、ケモカインやマトリックス分解酵素  
等の分泌 (SASP) 蛋白が増大し、自然炎症状態を誘導することで、組織恒常性の破綻や高齢者の歯周病の重篤化に  
関与していることが示唆される。

## 米ペプチド CL の歯周病原細菌内毒素活性の抑制効果

東京歯科大学歯周病学講座<sup>1</sup>, 化学研究室<sup>2</sup>  
○高山沙織<sup>1</sup>, 大久保信貴<sup>1</sup>, 加藤哲男<sup>2</sup>, 齋藤淳<sup>1</sup>

### Inhibitory effect of a rice peptide on cytokine induction by periodontopathic bacterial LPS

Departments of Periodontology<sup>1</sup>, Chemistry<sup>2</sup>, Tokyo Dental College  
○TAKAYAMA Saori<sup>1</sup>, OKUBO Nobuki<sup>1</sup>, KATO Tetsuo<sup>2</sup>, SAITO Atsushi<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯周病原細菌の内毒素は宿主細胞からの炎症性サイトカイン産生を誘導し、炎症反応を引き起こすことで、歯周病の発症や進行に深く関与している。近年、従来の薬剤に耐性をもつ細菌に対し増殖を阻止する抗菌物質として、天然由来の抗菌タンパク質や抗菌ペプチドが関心を集めている。米タンパク質(Cyanate lyase)由来プロテアーゼ阻害ペプチド CL(14-25)は 12 残基のアミノ酸からなり、これまでに歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* の増殖阻害やバイオフィルム形成阻害効果が報告されてきた。

そこで本研究では、CL(14-25)の抗炎症効果を評価する目的で、グラム陰性細菌内毒素がもつヒト培養細胞からの炎症性サイトカイン誘導能に対する抑制効果を検討した。また、CL(14-25)のヒト培養細胞に対する毒性の有無を評価した。

#### 【材料および方法】

米タンパク質由来の合成ペプチド CL(14-25)を実験に用いた。歯周病原細菌内毒素として *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*) Y4 LPS を用い、加えて *Escherichia coli* (*E. coli*) O55:B5 LPS, *E. coli* J5 LPS, *E. coli* R515 lipid A も用いた。48 ウェルプレートにて培養したヒト大動脈内皮細胞 (HAECs) (培地 HuMedia-EG2, KURABO)の培養液に、CL(14-25) (0.014 ~ 0.14 mM)および各内毒素 (100 ng/ml)、もしくは内毒素のみを添加し、17 時間培養後の細胞上清中のサイトカイン IL-6 量を ELISA キットにより測定した。

また、細胞毒性を検討するため、96 ウェルプレートにて培養した HAECs の培養液に CL(14-25) (0.07 ~ 0.35 mM)、または毒性をもつ物質として 1% もしくは 5% エタノールを添加し、4 時間後および 24 時間後に XTT assay にて評価した。

#### 【成績】

供試した全ての *A. actinomycetemcomitans* および *E. coli* 内毒素の添加により HAECs から産生される IL-6 量は増加したが、CL(14-25)を同時に、またはあらかじめ内毒素と反応させてから添加することで産生 IL-6 量に有意 ( $p < 0.05$ )な抑制がみられ、その抑制は濃度依存的であった。

また、HAECs の培養液に CL(14-25)を添加した上で培養しても、細胞毒性を示す結果はみられなかった。

#### 【考察】

内毒素と CL(14-25)とを細胞培養液に添加する以前に反応させておくか、または両者を同時に添加しないと抑制効果がみられなかったことから、本 IL-6 産生抑制効果は CL(14-25)が内毒素に結合し、内毒素の細胞への結合を阻害することに起因すると考えられる。さらに、lipid A に対しても同様の効果がみられたことから、CL(14-25)が内毒素の活性中心に作用していることが示唆された。同様のタイプの lipid A を有する歯周病原細菌に対しても抑制効果を示すことが予想されるため、CL(14-25)は歯周治療・予防に有効である可能性が高い。

CL(14-25)に細胞毒性は無いと考えられることから、今後ヒト臨床試験に向け検討していく予定である。

## ゼラチンハイドロゲル徐放化多血小板血漿の歯周組織再生効果

鶴見大学歯学部歯周病学講座<sup>1)</sup>、日本医科大学付属病院再生医療科<sup>2)</sup>、  
経済産業省大臣官房情報システム厚生課厚生企画室<sup>3)</sup>、京都大学再生医科学研究所<sup>4)</sup>  
○金指幹元<sup>1)</sup>、宮本正章<sup>2)</sup>、日下輝雄<sup>3)</sup>、長野孝俊<sup>1)</sup>、田畑泰彦<sup>4)</sup>、五味一博<sup>1)</sup>

### The effects of Controlled Release of Platelet-Rich Plasma Impregnated in Biodegradable Gelatin Hydrogel on Periodontal Regeneration.

Tsurumi University<sup>1)</sup>、Nippon Medical School Hospital<sup>2)</sup>、Ministry of Economy, Trade and Industry<sup>3)</sup>、  
Institute for Frontier Medical Science, Kyoto University<sup>4)</sup>  
○M. Kanazashi<sup>1)</sup>、M. Miyamoto<sup>2)</sup>、T. Kusaka<sup>3)</sup>、T. Nagano<sup>1)</sup>、Y. Tabata<sup>4)</sup>、K. Gomi<sup>1)</sup>

#### 【緒言】

近年、軟組織損傷や、骨折治癒過程において、血小板中に最も多く含まれる $\alpha$ 顆粒と呼ばれる粒状構造物中から、脱顆粒により PDGF (Platelet derived growth factor)、TGF- $\beta$  (transforming growth factor)、VEGF (vascular endothelial growth factor)、EGF (epithelial growth factor) などの増殖因子群が組織再生に重要な役割を示す事が明らかになってきた。多血小板血漿 (Platelet-rich plasma: 以下 PRP) は、自己血を遠心分離して得られる血小板を濃縮した血漿であるため、PRP 中には自己血液中のサイトカインが大量に含まれている。我々はすでに 2002 年より PRP を用いた歯周組織再生療法を実施し良好な臨床成績を報告している。

本研究の目的は、自己血から得られる PRP を薬物伝送システムであるゼラチン粒子にまぜ、それを失われた歯周組織の部分へ移植することにより、持続的に PRP 中の有効成分を放出 (徐放化) させることで、その歯周組織再生効果を検討する臨床研究を実施し、その有効性、安全性を検討することにある。

本臨床研究は「薬物送達システム徐放化多血小板血漿の歯周組織再生効果および安全性の検討」で、鶴見大学歯学部倫理審査委員会の審査と承認 (受付番号: 906 号) を得たのち、大学病院医療情報ネットワーク (UMIN000006594、薬物送達システム徐放化多血小板血漿の歯周組織再生効果) に登録済みである。

#### 【症例】

**患者:** 52 歳 女性 **主訴:** 上顎右側臼歯部の歯の動揺

**口腔内所見:** 全顎にわたる歯間乳頭歯肉腫脹をみとめ、主訴である 25 近心には 5~6mm の歯周ポケットが存在した。

**X線所見:** 全顎的に軽度歯槽骨吸収を、さらに主訴である 25 近心には垂直性歯槽骨吸収像を認めた。

**臨床診断:** 限局性・慢性歯周炎

**歯周外科処置:** PRP の調整は 2 回法を用いた。450G で 6 分間遠心後、血漿と赤血球の境目から下 1mm 程度のところまで buffy coat を含む血漿成分を採取、15mL のファルコンチューブに移した。これを 1600G で 5 分間遠心し PRP と PPP とを分離した。

得られた PRP は 2 wt%塩化カルシウム溶液と混合し“PRP 活性化溶液”とした。最後にゼラチンハイドロゲルに活性化 PRP を含浸させるため、37°C で 1 時間 incubation したものを移植体とした。

局所麻酔下にて術野を展開し、歯周病に罹患した感染部位を可能な限りデブライドメントし、汚染セメント質の除去後に移植体で歯周骨欠損部を満たし縫合で終了とした。

#### 【経過】

現在外科処置後 6 ヶ月経過した。従来の GTR 法、エナメルタンパク質 (Emdogein®Gel) に比較して 3 ヶ月経過時から X線写真上で歯槽骨再生が観察できたので、有効性についてさらに臨床パラメーターを計測しているところである。

#### 【考察】

本研究で用いたゼラチンハイドロゲルは、その分解過程で 2 週間にわたり成長因子を徐放させることが判明しているため、歯周骨内欠損部位でも PRP 中の各成長因子を徐放することで組織再生が生じたと考えられる。

#### 【結論】

歯周骨内欠損にゼラチンハイドロゲル徐放化 PRP を適用することで、従来の歯周組織再生療法に比べより短期間で歯周組織再生が期待できることが示唆された。

#### 【謝辞】

本研究は公益財団法人・臨床薬理研究振興財団・平成 23 年度研究奨励金の補助を受けて実施中である。

## 間葉系幹細胞由来軟骨細胞を用いた歯周組織の再生

株式会社ジーシー  
○山中 克之, 熊谷 知弘

Periodontal tissue regeneration using mesenchymal stem cell derived chondrocyte  
GC Corporation  
○Katsuyuki Yamanaka, Tomohiro Kumagai

### 【研究目的】

幹細胞を用いた組織の再生では、その移植方法が重要である。我々は機能性 scaffold に骨髄由来間葉系幹細胞 (以下 MSC) を播種し、体外で三次元的に培養し、組織化させてから移植する手法が有効であると考え、検討を進めてきた。ラット大腿骨全周性骨欠損モデルの再生試験では三次元的に播種した間葉系幹細胞を軟骨分化させた組織体 (以下 MSC-DCs ; Mesenchymal Stem Cell Derived Chondrocyte) が骨の再生に有用であることを見出し、その結果について報告している (原田紀子ら, 日整会誌 86, 2012)。本研究では歯科領域における MSC-DCs の有用性を確認する事を目的とし、ラット頭蓋骨および上顎歯槽骨上での組織再生能について評価したので報告する。また、大腿骨における MSC-DCs 移植による組織再生との様式の違いについても検討し、考察する。

### 【材料および方法】

4週齢F344ラット大腿骨・脛骨から採取した骨髄を10 %FBS, 3 ng/ml FGF-2含有 $\alpha$ MEM培地でMSCを増殖させ (Tsumumi S et al. BBRC., 2001), PLGA scaffold (LA:GA=75:25, MW.120,000, 気孔率80%, 平均孔径500 $\mu$ m, 圧縮強度0.5 MPa) に播種した後、軟骨分化誘導を行い、頭蓋骨用 $\phi$ 9 $\times$ 2 mm, 上顎骨用3 $\times$ 3 $\times$ 1 mmの3次元培養 MSC-DCs移植体を作製した。10週齢の同系ラットを2群に分け、頭蓋骨骨膜下、および上顎歯槽骨第一臼歯頰側骨膜下に前述の移植体を移植する群とした (各群N=3)。比較対照としてscaffoldのみを移植する群 (各群N=3) を設定し、2, 4, 8週後にラットを安楽死させた後、頭蓋および上顎を回収し、 $\mu$ CTおよび組織学的 (H&E染色) 検索を行った。

### 【結果】

$\mu$ CTによる評価ではCT値1000以上の領域を石灰化組織として抽出したところ、頭蓋骨、上顎歯槽骨の両試験群において、MSC-DCs移植体は移植後2週という早期から石灰化領域を認め、移植後8週では、母床から連続性のある石灰化組織の形成を認めた。石灰化組織内部には一部非石灰化組織が観察され、その割合が70%程度であった。H&E染色像から外周部および内部の石灰化組織は骨組織であり、内部の非石灰化組織は血管が豊富に侵入した骨髄組織であることが確認された。骨形成部ではscaffoldはほぼ吸収され、再生した骨、骨髄組織のみが残存した。MSC-DCs移植群での再生骨の厚さは骨髄領域も含めると、頭蓋骨骨膜下において母床 (厚さ約400 $\mu$ m) の8倍以上となる3 mm, 上顎歯槽骨骨膜下では母床 (厚さ約600 $\mu$ m) の約2倍の1 mm以上であった。移植後8週では新生骨が成熟し、上顎歯槽骨移植部では新生骨と歯根の境界に方向性が不均質で幼弱な歯根膜組織の形成も観察された。一方で比較対照群は全例において石灰化組織を認めず、組織学的検索においても骨組織は観察されず、線維性組織の形成が確認された。

### 【考察および結論】

MSC-DCs移植により形成された新生骨組織は長管骨の骨端で多く見られるような海綿骨様の構造体であった。これは、大腿骨全周性骨欠損へのMSC-DCs移植で見られる様な、内部が造血機能を有した骨髄で満たされた活動性の高い骨組織と同様であり、頭部ではあまり見られない形態を示した。つまり、MSC-DCsは移植部位に関係なく、骨髄の多い海面骨様組織を再生する可能性が示された。MSC-DCsは未分化MSCと比較して虚血に強く、血行不全状態でも壊死に至りにくいため、本法は大型の骨を再生する新しい治療法となりえる。MSC-DCsによって再生した骨は、その活性の高さから咬合による荷重などの外的刺激に早期に応答してリモデリングされ、その場で求められる形状へと修正される事が予想されることから、三次元培養MSC-DCsは新しい歯周領域の再生材料として有用であると考えられる。

## 歯内-歯周病変 ClassⅢに対して歯周組織再生療法を行った一症例

大阪歯科大学歯周病学講座

○高橋 貫之・河野 智生・梅田 誠

A Case report of periodontal regeneration for class III periodontal lesions combined with endodontic lesions

Department of Periodontology ,Osaka Dental University

○Tsurayuki Takahashi, Tomoo Kouno, Makoto Umeda

### 【はじめに】

歯内-歯周疾患症例では、十分な診査や治療を行っても予後不良となる場合が多いが、その一方で適切な鑑別診断と治療を行うことによって症状が改善し、長期的な歯の保存が可能となる症例が存在するの事実である。

今回、感染根管処置・歯周組織再生療法を行うことにより良好な結果が得られ症例を報告する。

### 【初診】

患者：39歳 女性 初診：2008年3月20日

主訴：左下臼歯部の歯肉の腫脹および排膿を主訴として来院。

近医では継続的に投薬処置のみで、根本的な治療はなく不安になり当大学病院に来院した。

### 【診査・検査所見】

全顎にわたるプラークが歯頸部に付着しており PCR は 54.3%であった。36の頬側中央部に 10mm の深い歯周ポケットが存在し 2 度の根分岐部病変であった。また咬合性外傷が認められ、ブラキシズムの自覚もあった。

【診断】軽度慢性歯周炎（一部重度）、咬合性外傷

### 【治療計画】

歯周基本治療（プラークコントロール、咬合調整、感染根管処置、SRP、ナイトガード装着）、再評価、歯周外科治療（36部にGTR法）、再評価、SPT。

### 【治療経過】

2008年3月から7月：歯周基本治療、2009年2月36歯周組織再生療法（GTR法）、2009年4月メンブレン除去、2009年10月最終補綴、2009年12月以降SPT。

### 【考察・まとめ】

当初、歯内-歯周病変の分類のクラスⅡと診断し、根管治療し経過観察していたが分岐部病変が改善せず、歯周組織再生療法を行った。また、36部にエナメル突起および垂直性骨欠損が認められた。エナメル突起の分類は3度であり、直視では困難なためマイクロスコープを用いてオドントプラスティール・GTR法を行い現在に至るまで安定した状態を維持している。分岐部病変の治療では、十分な診査や治療を行ってもエナメル突起の見落としが多く、その結果、予後不良となることもある。今後は、SPTによる徹底したプラークコントロールおよびブラキシズムに対する継続的な対応をして、炎症をコントロールしていくことが重要と思われる。

## レジンコーティングが CAD/CAM セラミックアンレー修復の窩洞適合性に及ぼす影響

日本歯科大学 生命歯学部 接着歯科学講座<sup>1)</sup>・ 歯科保存学講座<sup>2)</sup>  
○前野 雅彦<sup>1,2)</sup>, 山田 正<sup>1)</sup>, 中村昇司<sup>1)</sup>, 柵木 寿男<sup>1)</sup>, 奈良 陽一郎<sup>1)</sup>

### Effect of resin coating on cavity adaptation of CAD/CAM ceramic onlay restoration

Department of Adhesive Dentistry<sup>1)</sup>, Department of Endodontics<sup>2)</sup>,  
School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

○Maeno Masahiko<sup>1,2)</sup>, Yamada Tadashi<sup>1)</sup>, Nakamura Shoji<sup>1)</sup>, Maseki Toshio<sup>1)</sup>, Nara Yoichiro<sup>1)</sup>

**【研究目的】**近年の目覚ましい Digital Dentistry の発展によって、CAD/CAM を用いた歯冠修復が臨床において普及し、次世代の歯科医療を担う治療法として再認識されている。また、メタルフリー修復は審美性・低侵襲性の観点から望ましい修復法であり、特に間接修復を選択する際には、歯質との接着一体化、象牙質面保護、術後痛予防のため、象牙質レジンコーティングの併用が望まれる。しかし、CAD/CAM 歯冠修復に際してのレジンコーティングによる影響は不明な点が多い。そこで本実験では、チェアサイド CAD/CAM を用いたセラミックアンレー修復におけるレジンコーティングが窩洞適合性に及ぼす影響について評価検討を行った。

**【材料および方法】**被験歯には本学部研究倫理委員会の承認を得て、ヒト抜去健全上顎第一大臼歯 16 本を用いた。被験材料には、最新の歯科用チェアサイド CAD/CAM システム CEREC (CEREC AC および MC XL, SIRONA Dental Systems) ならびに CAD/CAM 用セラミックスである VITABLOCS Mark II (Shade:A3C, VITA) を選択した。まず、被験歯の咬頭頂を利用した規格化植立を行い、形態コピー用光学印象を行った後、レジンコーティング群 (R+群) および非コーティング群 (R-群) に区分した。R+群に対しては、フラットエンドダイヤモンドポイント (FG103) を用いて、Fig. 1 に示す MODP 窩洞を形成後、クリアフィル ボンド SE ONE とクリアフィル プロテクトライナー F (Kuraray Noritake Dental, 以下、K 社) を用いて象牙質レジンコーティングを施した。R-群に対しては、ラウンドエンドダイヤモンドポイント (FG107RD) にて Fig. 1 に示す窩洞形成を行った。その後、両群試料の光学印象を行い、形態コピー用光学印象データに基づく MODP アンレーを製作した。合着操作に際し、R+群ではレジンコーティング相当部に Clearfil Ceramic Primer (K 社) を、エナメル質切削部に Clearfil ED Primer II (K 社) を用いて処理し、R-群では窩洞全体を Clearfil ED Primer II で処理した。一方、アンレー体内面に対しては、リン酸処理後に Clearfil Ceramic Primer 処理を行い、接着性レジンセメント (Clearfil Esthetic Cement, K 社) で合着後に、湿ボックス中に 1 時間保管した。全試料は、歯軸 (植立軸) に平行かつ頬側壁窩縁に直交する面によって 2 回の縦切断を行い、中心窩直下の髄側壁象牙質被着面を含む、厚さ 2.0mm の板状試料を得た。ついで、残存した近遠心部 2 試料の歯軸および頬側壁窩縁に平行する面によって 2 回の近遠心的切断を行い、中心窩直下相当部の近・遠心軸側壁象牙質被着面を含む、厚さ 2.0mm の板状試料 2 片を得た。その後、切り出した計 3 片の切断研磨面から、Fig. 2 に示す 23 計測点における適合状態を Nikon Measure Scope MM-11 (測定精度 1 μm) で計測した。得られたデータは Student の t 検定によって統計学的分析を行った。

**【成績】**統計学的分析の結果、Fig. 2 の○付数字で示す 5 計測点において、R+群は R-群より有意に小さい値を示し、それ以外の 18 計測点では両群間に有意差は認められなかった。また、R-群と同等または優れた窩洞適合状態を示した R+群であっても、そのセメントスペースは、窩縁部で約 50~100 μm、窩洞内部で約 100~250 μm を示した。

**【考察ならびに結論】**最新の CEREC システムを用いたセラミックアンレー修復では、レジンコーティングによって窩洞適合性が低下することは皆無であり、歯肉側壁、軸側髄側線角部の適合性を向上させることが明らかになった。これは、凹隅角の窩洞内形状がレジンコーティングの有無によって明瞭な違いを示さなかったことから、特に凸隅角である髄側軸側線角のレジンコーティングによるラウンド化が寄与しているものと考えられる。また、計測した窩縁部のセメントライン幅は 80~100 μm であり、経年的な臨床的变化としてのクレビス形成や当該部の変色・着色に留意すべきと考える。さらに、事前の形態コピー用光学印象データに基づき作製した R+群のアンレー体は、窩縁より約 50~100 μm 突出した状態となっていることは臨床的に興味深い。

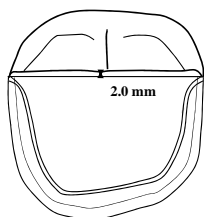


Fig.1 Standardized MODP cavity

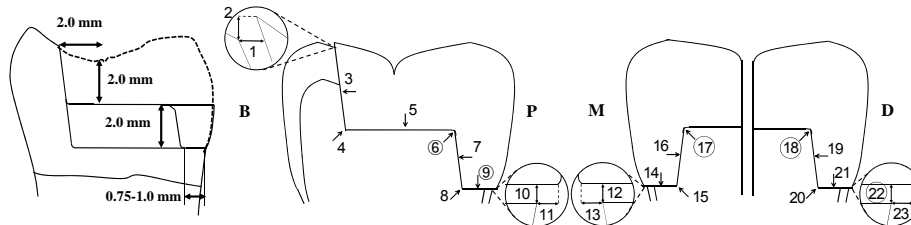


Fig.2 Measured points for restorative-cavity adaptation

## 噴霧注水における Er:YAG レーザー照射の除去効率について

大阪歯科大学歯科保存学講座

○横田啓太, 岩田有弘, 保尾謙三, 吉川一志, 山本一世

### Removal efficiency of Er:YAG laser irradiation with pouring water of fog-form

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○YOKOTA Keita, IWATA Naohiro, YASUO Kenzou, YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

#### 【緒言】

近年、歯科用レーザーの応用が進み、臨床においても様々な分野で使用されるようになってきた。歯牙硬組織切削では、Er:YAG レーザーは特に優れた効果を示し、臨床応用されている。しかしながら、高速回転切削器具には除去効率では到底及ばず、治療時間の延長など問題となっている。除去効率を向上させるため、先端出力や繰り返し速度（パルス数）を上げる試みがされてきているが、歯髄への影響など様々な問題を抱えている。

我々の研究グループは注水装置に着眼し、より効率よく歯質除去を行うために従来の注水機構ではなく、霧状に噴霧注水できる装置を利用し、モリタ製作所の協力の下、注水方式を霧状に改良した試作チップを作製し、象牙質に対する除去効率について実験を行い、第129回秋季本学会にて発表した。

今回、この試作チップを用いてエナメル質に対する除去効率について検討を行ったので報告する。

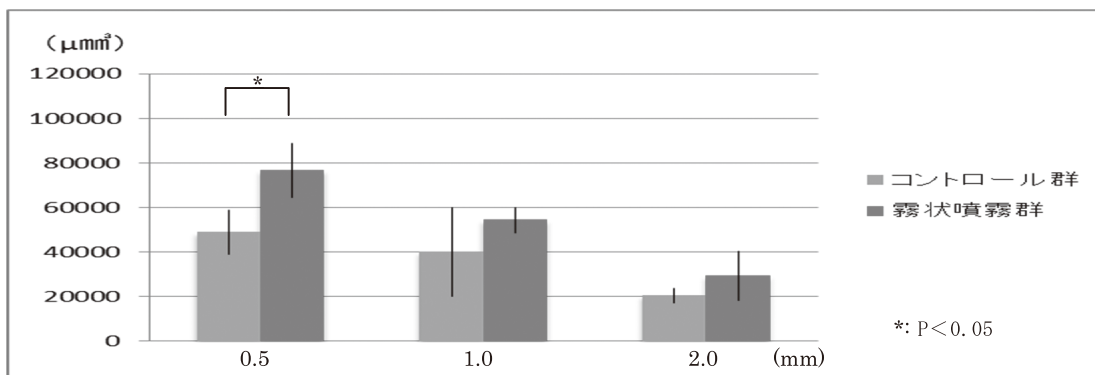
#### 【材料および方法】

Er:YAG レーザー発振装置として Erwin<sup>®</sup> Adver1 (モリタ製作所、以下レーザー) を用いた。照射条件を 100mJ とし、繰り返し速度は 10pps とした。照射チップは C600F と注水方式を霧状の改良した試作チップを使用した。また先端出力は出力測定器 LaserMate-P (COHERENT) にて計測し、規定した。

被験歯として牛歯を用い、エナメル質をモデルトリマーにて面出しを行い、耐水紙 #2000 まで研磨を行った後、1 cm/s でムービングステージを移動させ、レーザー照射を行った。レーザー照射は試料までの距離を 0.5、1.0 および 2.0mm に規定した。C600F にてレーザー照射を行った群をコントロール群、試作チップにてレーザー照射を行った群を霧状噴霧群とした。各試料はレーザーマイクロスコープ (KEYENCE, 倍率×100) にて観察を行い、断面積量を計測した (n=5)。なお、測定結果は一元配置分散処理および Tukey の検定により統計処理を行った (P<0.05)。

#### 【結果および考察】

断面積量の結果を下図に示す。



距離 0.5mm では霧状噴霧群はコントロール群よりも有意に高い値を示し、除去効率の向上に有効であることが示唆された。距離 1.0 および 2.0mm では有意な差は認められなかったが、チップ先端から試料までの距離が大きくなるにつれ照射エネルギーも減弱するため、除去効率に大きな差が生じにくくなったためと考えられる。今後は照射エネルギーや繰り返し速度を変化させるなど、臨床における様々な状況においても研究を進めていく予定である。

## 酸化チタンナノチューブの歯の漂白への応用：基礎特性評価① 光触媒特性評価

1)大阪歯科大学歯科保存学講座, 2)東北大学多元物質科学研究所

○小松首人<sup>1)</sup>, 西田尚敬<sup>1)</sup>, 鈴木康一郎<sup>1)</sup>, 魯 灵<sup>1)</sup>, 古澤一範<sup>1)</sup> 河村昌哲<sup>1)</sup>  
関野 徹<sup>2)</sup>, 山本一世<sup>1)</sup>

### Application of titanium oxide nanotubes to tooth bleaching : Fundamental evaluation① Evaluation of their photocatalyst ability

1) Osaka Dental University, 2) Tohoku University

○Obito KOMATSU<sup>1)</sup>, Hisataka NISHIDA<sup>1)</sup>, Koichiro SUZUKI<sup>1)</sup>, Lu Ling<sup>1)</sup>, Kazunori FURUSAWA<sup>1)</sup>  
Masaaki KAWAMURA<sup>1)</sup>, Tohru SEKINO<sup>2)</sup>, Kazuyo Yamamoto<sup>1)</sup>

#### 【緒言】

昨今、二酸化チタン含有低濃度過酸化水素水が漂白剤として開発され、消毒用過酸化水素水と同程度の3.5%に濃度が抑えられている。そして、酸化チタンの光触媒作用により低濃度の過酸化水素水でも優れた漂白効果が引き出せることで注目されている。歯の漂白は、過酸化水素水を用い触媒の作用により発生したラジカルが色素を酸化、分解し無色にすることで漂白効果が得られていると考えられる。1998年に中部電力の春日らによって、比較的低温での化学反応により酸化チタンナノチューブ(TNT)をテンプレートなど一切用いずに合成する方法が開発された[1]。この材料は、特異的なナノチューブ構造とチタニア結晶の持つ多様性との共生により優れた光触媒能や物理化学的機能を示すことが報告されている。

そこで、本研究では歯科用漂白剤への応用展開を想定した基礎的研究の一環として、TNTの光触媒特性におけるラジカルの発生量を検討した。

#### 【材料および方法】

出発原料として、TiO<sub>2</sub>粉末(P-25, 日本アエロジル社)を用いた。まず化学合成プロセスを用いてTNTを作製した。TiO<sub>2</sub>粉末を10M NaOH水溶液に加え、110℃で24時間攪拌還流させた。得られた白色のスラリーにイオン交換水を加えてよく攪拌し、ろ過により固液分離を行った。この洗浄を70 μS/cm以下になるまで繰り返した。この生成物に0.1M塩酸を加え、再び洗浄作業を5 μS/cm以下になるまで行い乾燥させ、TNT粉末を得た。

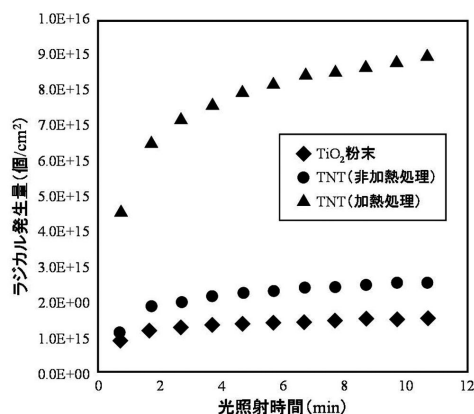
TNTにおいては非加熱処理と加熱処理を行ったものを用意した。加熱処理は、大気中にて400℃、2hの条件で行った。準備した3種類(TiO<sub>2</sub>粉末、TNT、TNT(加熱処理))の試料を、それぞれUV照射下において電子スピン共鳴法(ESR法)にて、1分おきに10分間、ラジカルの定量測定を行った。UV照射装置には超高压水銀灯(ウシオ電機)を用いた。また、ラジカルの測定にはESR装置(ESP350E, BRUKER社)を用いた。

#### 【結果】

UVランプ照射下において、未処理TNTからTiO<sub>2</sub>粉末よりもやや多いラジカル発生量がみられた。また、加熱処理を行ったTNTからは未処理のTNTと比較して、大幅なラジカル発生量の増加が認められた。

#### 【考察】

UVランプ照射時にTNTからもラジカルが発生することが明らかとなった。また、TNTからTiO<sub>2</sub>粉末よりもやや多いラジカルが認められ、さらに、加熱処理を行うことでラジカルの発生量を増加させることが可能であることがわかった。これは、加熱処理によりXRDでみられるTNTのピークからアナターゼのピークに近づくという報告もあり、熱処理により結晶化が向上したためと考えられる。今回の実験により、TiO<sub>2</sub>粉末よりも優位性があることが確認でき、さらに機能化することで応用展開が拡大されることが示唆された。



#### References

[1] T.Kasuga, K.Hiramatsu, T.Sekino, and K.Niihara. Adv. Mater. 11, 1307 (1999).



## 新生児ラット頭蓋骨からの骨細胞様細胞の分離培養法

奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学分野

○門倉弘志、山崎崇秀、和田康弘、菊井徹哉、西村 翼、渡邊 崇、横瀬敏志

### Establishment of culture method of osteocyte-like cell from rat newborn calvalia

Division of Operative dentistry, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Ohu University

○Kadokura Hiroshi, Yamazaki Takahide, Wada Yasuhiro, Kikui Tetsuya,

Nishimura Tubasa, , Watanabe Takashi, Yokose Satoshi

#### 【研究目的】

骨にメカニカルフォースが加わると、骨に埋入された骨細胞はこのメカニカルフォースを認識するメカノセンサーとして働き、細胞突起や骨細管を介して骨芽細胞や破骨細胞へシグナルを伝達し、骨代謝を調節するという重要な機能があることが最近の研究でわかってきた。しかし、硬組織に覆われた特殊な環境のため、骨細胞の機能の詳細な解析については未だ不明な点が多い。骨細胞の培養法についての報告はいくつかあるが、骨細胞としての機能を詳細に検索している報告は未だ少ないのが現状である。このような背景から本研究は、骨細胞の機能をさらに解析することを目的として、骨組織から骨細胞様細胞を分離培養する方法の確立を目的とした。

#### 【材料と方法】

動物は5日齢の新生児SDラットを使用した。頭蓋骨を摘出し骨膜を除去し、骨表面の細胞を死滅させるために70%エタノールに15秒間浸漬した。細切した骨組織片にコラゲナーゼ酵素液とEDTA脱灰液を交互に処理する方法を用いて細胞を分離した。分離した細胞は10%牛血清を含んだ $\alpha$ -MEMを用いて37°C、5%CO<sub>2</sub>環境の下、14日間の培養を行った。細胞の解析としてAlikaline phosphatase(ALP)染色、抗Sclerostin抗体を用いた免疫組織化学的染色、real time PCRを用いた、Osteocalcin, E11, Destrin, DMP-1, FGF23, SclerostinのmRNA発現を調べた。

#### 【結果と考察】

培養7日目の細胞のALP染色では、細胞の集団の中に細胞突起を有したALP陰性の細胞が認められた。これら細胞には免疫組織化学的染色法により、骨細胞の特異的マーカーであるSclerostinの局在が認められた。Real time PCRの結果では、骨細胞に特有に発現するOsteocalcin, E11, Destrin, DMP-1, FGF23, SclerostinのmRNA発現が認められた。

以上の結果から骨組織から分離した細胞は、骨細胞特有の細胞突起を有する形態を示し、骨細胞特有の遺伝子発現を示すことが確認された。

#### 【結論】

本実験の骨組織からの細胞の分離培養方法は骨細胞を研究する上で有用な方法であることが示唆された。

## グラフェンおよび酸化グラフェンフィルムに対する生体反応

<sup>1</sup>北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室, <sup>2</sup>三菱ガス化学株式会社  
○金山 和泉<sup>1</sup>, 宮治 裕史<sup>1</sup>, 西田 絵利香<sup>1</sup>, 辻 妹井子<sup>2</sup>, 井上 加菜<sup>1</sup>, 井原 朝子<sup>1</sup>, 川浪 雅光<sup>1</sup>

### Biomedical response to the films of graphene and graphene oxide.

<sup>1</sup>Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine.

<sup>2</sup>Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc.

○KANAYAMA Izumi<sup>1</sup>, MIYAJI Hirofumi<sup>1</sup>, NISHIDA Erika<sup>1</sup>, TSUJI Maiko<sup>2</sup>,  
INOUE Kana<sup>1</sup>, IBARA Asako<sup>1</sup>, KAWANAMI Masamitsu<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

グラフェン (G) は厚さ 1 nm 以下の炭素の単層ナノシート (図) で, これまでに優れた理工学的特性が報告されている。G を官能基で修飾すると分散性を持つ酸化グラフェン (GO) となり, GO を還元処理すると官能基が除去され, 分散性も失われ G に戻る性質がある。本研究では, グラフェンシートの生体応用を目指して, G および GO が生体に及ぼす効果を検討するために, G フィルムおよび GO フィルムの生物学的特性を調べた。また, コラーゲンスキャフォールドを G および GO フィルムでコーティングした場合の特性変化を評価した。



nanoGRAX®の模式図

#### 【材料および方法】

GO 分散液として nanoGRAX (R) (1wt%, 三菱ガス化学, 東京) を用いた。GO 分散液で培養用ディッシュをコーティング後, 乾燥して GO フィルムとした。また GO フィルムを 10% アスコルビン酸溶液, あるいは 2% ハイドロサルファイドナトリウム溶液を用いた化学的還元処理を行うことで G フィルムとした。還元性の評価として G および GO フィルムの色調変化を観察, 電気抵抗値を計測した。生物学的特性の評価として, G および GO フィルムに MC3T3-E1 細胞を播種, 24 時間後の細胞形態を SEM にて観察した。次に 24 穴プレートに G および GO フィルムを作製後, E1 細胞をフィルム上に播種, 培養 7, 14 日後の DNA 量と ALP 活性を測定した。また, 同様にフィルム作成後, 各フィルムを培地に浸漬してフィルム上へのカルシウム析出量を計測した。各評価のコントロールにはコーティングしていないプレートを用いた。

次に GO 分散液 (0.1wt%) を用いてコラーゲンスキャフォールド (6×6×3mm, テルダームス (R), オリパステルモバイオマテリアルより提供) をコーティングして GO スキャフォールドとした。またこれを化学的還元処理して G スキャフォールドとした。これらを SEM にて観察, 圧縮強度を測定した。また, ラット背部皮下に埋入して 10 日後に組織標本作製, 顕微鏡観察を行い, スキャフォールドに ingrowth した組織の面積を計測した。

#### 【結果と考察】

GO フィルムは肉眼的に茶褐色であったが還元処理によって黒変した。電気抵抗測定から GO フィルムはほぼ絶縁であったが G フィルムは良好な通電性を示し, 還元処理が十分に行われたと考えられた。SEM 観察において G と GO フィルムの表面構造に差はなかった。培養試験において各フィルム上に細胞の付着伸展を認めたが, GO フィルムでは付着後の伸展が不十分な細胞も観察された。DNA 量は G および GO フィルムともにコントロールの 60~70% 程度の量で, 増殖は抑制された。一方, ALP 活性は G フィルム上の E1 細胞に強く発現し, 逆に GO フィルムでは有意に低かったことから, G フィルムは骨芽細胞の分化レベル上昇に効果的であると考えられた。カルシウム量は G フィルムで GO フィルムの約 1.5 倍の析出量を測定, コントロールでは検出されなかった。

コラーゲンスキャフォールドはコーティング処理によって一様にフィルムに覆われ, 圧縮強度はコントロールに比較して G スキャフォールドで約 2.7 倍, GO スキャフォールドで約 1.7 倍に上昇した。組織学的観察では G, GO コーティングによる生体親和性の低下は認めず, スキャフォールド内への線維芽細胞, マクロファージ等の侵入を観察した。組織侵入面積は G スキャフォールドで最も高い値であった。

#### 【結論】

G フィルムを用いた場合の生体反応とスキャフォールドの特性変化は, GO フィルムよりも効果的であった。

## 海馬血流増加反応による歯髄痛評価の妥当性

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座  
○長谷川誠実、阿部徹也、藤原正識、本田公亮

### **Tooth pulp stimulation induced hippocampal blood flow responses provide a useful approach for research into relationship between tooth pulp stimulation and function of hippocampus**

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine  
○HASEGAWA Makoto, ABE Tetsuya, FUJIWARA Masanori, HONDA Kousuke

#### 【目的】

第 129 回日本歯科保存学会において、歯髄の電気刺激によって海馬血流に増加反応を認めることを報告して以来、歯髄痛と海馬活動の関連について研究を進めてきた。現在までに、歯髄の電気刺激により、極めて早期に短時間のピークをもって遊離した微量 ATP が分解し、アデノシンとなり、アデノシンが血管平滑筋に作用し血流の増加に至ること、また、歯髄の電気刺激は繰り返し与えることで、内因性のオピオイドに関与したストレス鎮痛を生じることから、歯髄痛は侵害性と報酬系の両面を有することについて報告してきた (第 130~137 回日本歯科保存学会)。現段階に至るまで、演者は一貫して、歯髄刺激の観点から海馬活動を検討してきた。そこで今回は、海馬活動から歯髄刺激を検討することとし、海馬活動評価が歯髄刺激研究上有用な手段であるのかについて調べた。

#### 【実験材料と方法】

実験には雄性ウイスター系ラット (10 週齢、体重 320~380 g) 20 匹を使用した。ラットは、すべて 20%ウレタン (1.2 g / kg) 腹腔内投与と全身麻酔を施した。まず、ラット下顎両側切歯歯冠部を切断除去し、歯髄腔を露出させ、ステンレス針電極を挿入し、歯髄刺激電極とした。同時に前肢に 10 mm 間隔でステンレス針電極を挿入し前肢刺激電極とした。さらに、右側頸動脈にカテーテルを挿入し、血圧測定装置に接続し、動脈圧測定に使用した。また、右側大腿静脈にもカテーテルを挿入し、実験中の補液のための静脈路とした。次に、ラットを脳定位固定装置に固定し、開頭し、左側海馬内に血流測定用プローブを挿入した。血流測定用プローブは、ドップラー血流計 (TBF-LN1、ユニークメディカル社)、歯髄刺激電極および前肢刺激電極は、電気刺激装置 (PSS-410、ユニークメディカル社) にそれぞれ接続した。電気刺激のパラメーターとして、従来の研究に用いた、duration 0.5 ms、100 Hz、interval 10 s を用い、歯髄および前肢電気刺激を与えた。刺激強度の設定は、歯髄刺激および前肢刺激に伴い生じる動脈血圧の上昇を基準として刺激閾値とした。そして、それぞれ閾値の 1.5、2、3 および 5 倍の刺激を与えた時の海馬血流を測定した。得られたデータの整理は、刺激前の血流に対して刺激後の血流の変化率を算出することで行い、刺激前と刺激後で比較検討した。統計学上の解析には、Student's *t*-test を使用した。

#### 【結果】

前肢の電気刺激では、血圧上昇の閾値の 1.5 倍および 2 倍では、海馬血流に変化は認めなかった。3 倍および 5 倍の刺激において海馬血流に増加反応を認めた。しかし、増加率は 3 倍と 5 倍の間に差はなかった。歯髄刺激においては、血圧上昇の閾値の 1.5、2、3 および 5 倍ともに海馬血流増加反応を認め、さらに刺激強度に応じて増加率が増加した。

#### 【考察および結論】

前肢の電気刺激は、血圧上昇を指標とした閾値の 3 および 5 倍で海馬血流に増加反応を認めたが、刺激強度との相関がなかった。この現象は、閾値の 3 から 5 倍という極めて強い刺激に対して応答としての海馬血流増加、すなわち痛み強度に対する応答と考えられる。それに対して、歯髄刺激では、閾値の 1.5 倍ですでに海馬血流増加反応を生じ、さらに刺激強度に相関した応答であることが分かった。この結果から、海馬血流増加反応は歯髄痛と密接に関係した海馬活動であることが示唆され、海馬活動が歯髄痛研究の指標として有用であることが示された。また、同時に歯髄痛は大脳辺縁系に直ちに關与する特異な痛みであることが分かった。

本研究は平成 24 年度兵庫医科大学教員助成金により行われた。

本研究は、兵庫医科大学実験動物倫理委員会承認 (承認番号: B11-205 号) の上遂行された。

## 炎症惹起における NAF1 の分子機構解析

大阪大学大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)<sup>1)</sup>  
大阪大学大学院 生命機能研究科 医学系研究科 免疫フロンティア研究センター免疫発生学研究室<sup>2)</sup>  
○板東 秀典<sup>1) 2)</sup>, 小椋 英樹<sup>2)</sup>, 村上 正晃<sup>2)</sup>, 伊藤 祥作<sup>1)</sup>, 林 美加子<sup>1)</sup>

### The analysis of inflammation mechanism from the perspective of NAF1 molecule

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry<sup>1)</sup>  
Laboratory of Developmental Immunology, JST-CREST, Osaka University Graduate School of Frontier Biosciences, Graduate school of Medicine, and WPI Immunology Frontier Research Center<sup>2)</sup>  
○BANDO Hidenori<sup>1) 2)</sup>, OGURA Hideki<sup>2)</sup>, MURAKAMI Masaaki<sup>2)</sup>, ITOH Shousaku<sup>1)</sup>, HAYASHI Mikako<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

慢性根尖性歯周炎や歯周病などの炎症性疾患は、新規ヘルパーT細胞サブセットである Th17 細胞などの炎症性細胞浸潤による恒常性の破綻が原因であると考えられている。我々はこれまでに慢性炎症の誘導機構として遊走因子ケモカインの過剰産生機構“炎症アンブ”を同定し、解析してきた。炎症アンブは線維芽細胞、血管内皮細胞などの非免疫系細胞にて転写因子 NF $\kappa$ B と STAT3 が同時に活性化すると、大量のケモカインを産生し、局所に細胞浸潤を誘導し、恒常性を破綻させる。我々は、炎症アンブの慢性的な活性化が慢性炎症であることを証明してきた。炎症アンブの強力な NF $\kappa$ B 刺激因子としては、新規ヘルパーT細胞サブセット Th17 細胞が発現する IL-17A であること、さらに、IL-6 は STAT3 活性化を誘導する炎症アンブの重要因子であることが分ってきた。近年、我々は炎症アンブの正の制御遺伝子をゲノムワイドに検索して 1000 以上の遺伝子を同定した。これら遺伝子群から、脂質代謝に関連する 1 つの酵素遺伝子を NF $\kappa$ B Activating Factor 1 (NAF1) と名付けて検討し、新たな知見が得られたので報告する。

#### 【材料と方法】

1) 実験には、マウス大腿骨皮質由来内皮細胞株である BC-1 細胞株を用いた。BC-1 に対して、NAF1 の shRNA を搭載するレンチウイルスを感染させた後、ピューロマイシンを添加した 10%FCS 含有 D-MEM 培地にて培養した。こうして得られた NAF1 遺伝子ノックダウン BC-1 細胞株を用いて以下の実験を行った。

##### (1) タンパク質レベルでの機能解析

NAF1 ノックダウン細胞株を IL-6 と IL-17A の共刺激、または TNF- $\alpha$  にて単独で刺激し、24 時間血清無添加の D-MEM 培地にて培養した後で、NF $\kappa$ B のターゲットである IL-6 の産生を ELISA 法にて検討した。

##### (2) 遺伝子発現レベルでの機能解析

上記の培養系から mRNA を抽出し、NF $\kappa$ B のターゲットである各種ケモカイン、IL-6、さらに STAT3 のターゲットである Socs3 の発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。この検討の際、発現量の比較のためハウスキーピング遺伝子である HPRT の発現量をコントロールとした。

2) 最後に、NF $\kappa$ B 経路活性化に対する NAF1 の機能解析を行った。この解析において、BC-1 を 10%FCS 含有 D-MEM 培地にて 24 時間培養し、その後 TNF- $\alpha$  にて刺激をしてから 0、15、30 分での NF $\kappa$ B 分子の核内移行を抗 p65 抗体にて免疫染色した後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて検討した。

#### 【結果】

NAF1 ノックダウン BC-1 細胞株では、IL-6 と IL-17A の共刺激および TNF- $\alpha$  単独刺激後において、IL-6 の産生量が有意に減少していた。同様にリアルタイム PCR 法による解析の結果、ケモカイン、IL-6 の mRNA レベルでの発現量の減少を認めた。一方で、IL-6-STAT3 シグナル伝達経路のターゲットである Socs3 発現には減少をみとめなかった。さらに、NAF1 ノックダウン BC-1 細胞株では、TNF- $\alpha$  刺激後の NF $\kappa$ B の核内移行が有意に抑制された。

#### 【結論】

以上の結果より、NAF1 は NF $\kappa$ B を制御する炎症アンブの正の制御遺伝子であることが判明した。今後、この遺伝子の炎症アンブにおける働きを詳細に解析することで、慢性炎症性疾患の治療に向けた創薬につながることを期待される。

DPP4 阻害薬 SK-0403 はマクロファージ共培養における脂肪細胞の炎症性遺伝子の発現を抑制する

広島大学病院 健康増進歯学  
○新城尊徳、永安慎太郎、岩下未咲、山下明子、西村英紀

**DPP4 inhibitor SK-0403 suppresses inflammatory genes expression in adipocyte under co-culture condition with macrophage.**

Department of dental science for health promotion, Hiroshima University  
○Takanori Shinjo, Shintaro Nagayasu, Misaki Iwashita, Akiko Yamashita, Fusanori Nishimura

【背景】

新規糖尿病治療薬 DPP4 阻害薬は、投与経路や副作用の面で患者への負担が少ない経口治療薬として大いに注目されている。糖尿病患者では歯周炎に対するリスクが亢進していることから今後、本薬剤を投与されている糖尿病合併歯周病患者に遭遇する機会が増えるものと想定される。一方近年、種々の炎症性病変において DPP4 の発現が上昇していることが報告された。さらに、メタボリックシンドロームの定義の一つである肥満状態においては、主に脂肪細胞からの可溶性 DPP4 の発現・放出が上昇することも報告された。すなわち、DPP4 が一連の炎症反応において重要な役割を果たすことが考えられた。

我々は重度歯周炎による炎症反応が脂肪組織（門脈系）を介して増幅され、結果的に糖尿病や動脈硬化の進行を促進する可能性について検討を進めてきた。そこで、DPP4 が脂肪組織における慢性炎症においてオートクリン・パラクリン的に影響を及ぼしているものと仮定し、その阻害薬が脂肪組織における炎症反応に及ぼす影響について検討した。

【目的】

肥満状態における慢性炎症は、脂肪組織におけるマクロファージの浸潤が大きな役割を果たしている。そこで、DPP4 阻害薬である SK-0403（三和化学研究所）が脂肪組織の炎症反応へ及ぼす影響を、マクロファージ並びにマクロファージと脂肪細胞を共培養するシステムを用いて検討することにした。

【材料および方法】

マクロファージ単独に対する SK-0403 の抗炎症作用について、マウスマクロファージ由来細胞（RAW 細胞）に 10ng/ml の E.coli 由来 lipopolysaccharide(LPS)刺激と SK-0403 を 100 $\mu$ M、10 $\mu$ M、1 $\mu$ M 濃度で添加して 24 時間後に回収し、炎症性サイトカインの mRNA 発現の変化をリアルタイム PCR 法によって検討した。また、RAW 細胞において LPS 刺激時の NF- $\kappa$ B プロモーター活性化に対する SK-0403 添加による影響をルシフェラーゼアッセイ法によって検討した。次に脂肪組織におけるマクロファージの浸潤を想定した *in vitro* のモデルとして、トランスウェルシステム（Corning）を用いた。12 ウェルプレートで通常に従い成熟脂肪細胞へ十分に分化誘導させたマウス繊維芽細胞（3T3-L1 細胞）と、RAW 細胞をトランスウェル内に播種して互いの液性因子がメンブレンを介して交通できるようにした状態で培養した。この条件下で、LPS 刺激ならびに SK-0403 を 100 $\mu$ M、10 $\mu$ M、1 $\mu$ M 濃度で添加を行い 24 時間作用させた後、3T3-L1 細胞を回収し炎症性サイトカインの mRNA 発現をリアルタイム PCR 法によって検討した。

【結果および考察】

LPS 刺激によって、RAW 細胞においては TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-12 が、RAW 細胞と共培養した 3T3-L1 細胞では、TNF $\alpha$ 、IL-6、IL-12、MCP-1、RANTES の mRNA 発現量が顕著に上昇した。これに対し、SK-0403 を同時に添加しておくこと、SK-0403 の濃度依存的に炎症性サイトカインの発現が抑制された。経口投与時に得られる血中濃度に近い 10 $\mu$ M 濃度においても RAW 細胞では 4 種すべての炎症性サイトカインの、また共培養下 3T3-L1 細胞では TNF $\alpha$ 、IL-6、IL-12、MCP-1 の mRNA 発現低下が見られた。以上の結果より、DPP4 阻害薬 SK-0403 が、腸管ホルモン（インクレチン）分解遷延効果以外に、マクロファージやマクロファージの浸潤した脂肪細胞の炎症性遺伝子の発現に対し抑制的な作用を果たすことが示唆された。すなわち、SK-0403 はインスリン分泌作用のみならず、インスリン感受性に対してもある程度の改善作用を発揮する可能性が示唆された。歯周炎症によって亢進する可能性のある門脈系の炎症反応が本阻害剤により制御される可能性が示唆された。さらに、グラム陰性菌による感染症である歯周病の進行そのものに対しても抑制的に作用する可能性が示唆された。

## 虎の門病院歯科における新患の主訴に関する調査

虎の門病院歯科

○森上 誠, 陶山雄司, 杉崎順平, 宇野 滋, 山田敏元

### The survey on chief complaints of the first appointment patients at Department of Dentistry, Toranomom Hospital

Department of Dentistry, Toranomom Hospital

○MORIGAMI Makoto, SUYAMA Yuji, SUGIZAKI Jumpei, UNO Shigeru, YAMADA Toshimoto

#### 【研究目的】

我々はこれまでも、歯科外来において診療に従事しながら、歯科を新規に受診した患者（新患）における歯頸部欠損の臨床調査や接着性レジン修復の症例調査、各種歯科処置が歯科医の処置時間に占める割合についての調査を実施し、学会発表・論文投稿を行ってきた。これまで、新患の主訴に関する報告はほとんどみられないことから、今回、虎の門病院歯科を受診した新患の主訴について調査を行い、考察を試みた。

#### 【方法】

平成23年7月1日から平成24年6月29日までの1年間に、虎の門病院歯科を初めて受診した患者（外来患者および入院患者）の年齢・性別・主訴を記録した。主訴については、検診希望（他科担当医からの依頼含む）、除石・クリーニング希望、歯周病（歯の動揺・Perico含む）、う蝕（歯牙破折・WSD・他院での治療途中含む）、修復物・補綴物の脱離（Tec含む）、義歯（新作希望・不調・破損含む）、Br（新作希望・不調・破損含む）、インプラント（希望・不調・相談含む）、Ext（希望・相談・他院からの依頼含む）、顎関節症（痛み・開口障害・ナイトガード希望含む）、知覚過敏（う蝕除く）、口腔粘膜疾患（口内炎・舌の異常など含む）、睡眠時無呼吸症候群、ホワイトニング希望、外傷、セカンドオピニオン希望、その他の17項目に分類した。さらに、入院患者については入院中の科名および疾患名も記録した。調査終了後、各項目につき集計を行った。

#### 【結果および考察】

今回の調査対象となった新患は、男性が684名（54.2%）、女性が579名（45.8%）であり、総計1,263名であった。

年齢別では、1-9歳が13名（1.0%）、10-19歳が14名（1.1%）、20-29歳が98名（7.8%）、30-39歳が120名（9.5%）、40-49歳が139名（11.0%）、50-59歳が207名（16.4%）、60-69歳が325名（25.7%）、70-79歳が234名（18.5%）、80-89歳が99名（7.8%）、90-95歳が14名（1.1%）であり、20歳以上の成人が新患全体の97.8%を占め、50歳以上が新患全体の2/3以上を占めた。

主訴に関しては、検診希望が284名（22.4%）、除石・クリーニング希望が36名（2.8%）、歯周病が209名（16.5%）、う蝕が230名（18.1%）、修復物・補綴物の脱離が108名（8.5%）、義歯が155名（12.2%）、Brが15名（1.2%）、インプラントが12名（0.9%）、Extが73名（5.8%）、顎関節症が36名（2.8%）、知覚過敏が10名（0.8%）、口腔粘膜疾患が39名（3.1%）、睡眠時無呼吸症候群が1名（0.1%）、ホワイトニング希望が2名（0.2%）、外傷が6名（0.5%）、セカンドオピニオン希望が4名（0.3%）、その他が48名（3.8%）であった。新患全体に占める割合が10%以上であった項目は、検診希望、歯周病、う蝕、義歯の4項目であり、これら4項目で全体の69.2%を占めることが明らかとなった。また、主として歯科保存学領域の処置が必要になると思われる除石・クリーニング希望、歯周病、う蝕、知覚過敏、ホワイトニング希望の5項目で全体の38.4%を占めることが明らかとなった。

また、新患のうち、外来患者が757名（59.9%）、入院患者が506名（40.1%）であった。入院患者の疾患で多くみられた疾患名は、白血病（91名）、食道がん（55名）、骨髄異形成症候群（30名）、肺がん（27名）、悪性リンパ腫（24名）などであった。

#### 【結論】

虎の門病院歯科の新患を1年間にわたり調査した結果、検診希望、歯周病、う蝕、義歯の4項目で全体の約7割を占めることが明らかとなった。また、主として歯科保存学領域の処置が必要になると思われる除石・クリーニング希望、歯周病、う蝕、知覚過敏、ホワイトニング希望の5項目で全体の約4割を占めることが明らかとなった。

## う蝕病変の発生頻度および重症度に影響を与えるリスク要因の解析

大阪大学歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○永井 真澄、伊藤 中、林 美加子

### Analyses of influential factors on frequency and development of primary and secondary caries in adults

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

○Masumi NAGAI, Ataru ITOU, Mikako HAYASHI

臨床の現場において患者個々のカリエスリスクに応じた予防および治療計画を立案し、実施することが求められている。しかし、各種カリエスリスク要因がう蝕病変の発生に与える影響の重みや、成人のカリエスリスクについては、未だ十分に検討されているとは言えない。

**【目的】**本研究の目的は、一般開業歯科医院の来院患者の臨床データの統計学的分析を通じて、初発または二次う蝕病変の発生頻度および重症度に影響を与える因子を同定すること、またデータマイニングの手法を使用してう蝕病変発生頻度のローリスク患者およびハイリスク患者を分別することである。

**【方法】**伊藤歯科クリニック(大阪府茨木市)における最終来院日が2008年2月9日以前で、データベースに臨床データが登録されている初診時年齢が20歳以上64歳以下の患者のうち、初診日から365日以内にカリエスリスク検査を実施した442名(男性130名、女性312名)を分析対象とした。

初診時DMFT、mutans streptococci数(以下SM)、Lactobacilli数(以下LB)、唾液分泌量、唾液緩衝能、メンテナンスに対するコンプライアンスを説明変数として用い、修復を要する初発および二次う蝕病変の1年あたりの発生頻度に影響を与える因子を重回帰分析によって検索した。さらに、重回帰分析で統計的に有意であった因子を用いてClassification and regression trees (CART)を作成し、う蝕病変発生頻度のハイリスク患者とローリスク患者を分別した。

また、442名のうち観察期間中(1417.6±52.1日)に新たに初発病変が発生した受診者82名に対して重回帰分析を行い、う蝕病変の重症度に影響を与える因子を同定した。説明変数には上記と同じものを用い、重症度はう蝕病変が歯髓腔に到達したか否かで分類した。

**【結果および考察】**修復を要するう蝕病変の発生頻度を目的変数とすると、説明変数として、初発病変ではSM( $p=0.0373$ )とLB( $p=0.0633$ )が、二次う蝕病変では初診時DMFT( $p=0.0003$ )、SM( $p=0.0014$ )、LB( $p=0.0131$ )が統計的に有意であった。またCARTによって、初発または二次う蝕の発生頻度のハイリスク患者、ローリスク患者に分別することができた。初発病変に関してはSMが $10^6$ CFU/ml未滿かつLBが $10^5$ CFU/ml未滿の患者群は、SMが $10^6$ CFU/ml以上の患者群に比較し統計的に有意に発生頻度が低い( $p=0.0012$ )ことが示された。二次う蝕病変に関しては初診時DMFTが22未滿かつSMが $5 \times 10^5$ CFU/ml未滿の患者群は、初診時DMFTが22以上の患者群に比較し統計的に有意に発生頻度が低い( $p<0.0001$ )ことが示された。

う蝕病変の重症度に影響を与える因子としてメンテナンスに対するコンプライアンス( $p=0.0105$ )のみが有意であった。メンテナンスに対するコンプライアンスが不良な患者群は良好な患者群に比較し、初発う蝕病変が歯髓腔に達している比率が統計的に有意に高かった( $p=0.0094$ )。

これらの結果から、より少ないパラメータで患者の初発および二次う蝕病変の発生頻度を予測できる可能性が示された。また、う蝕病変の重症化を抑制することにメンテナンスが有効であることが示された。

## 低出力パルス超音波のマウス筋芽細胞の分化に対する影響

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学<sup>1)</sup>

中部インプラントアカデミー<sup>2)</sup>

武庫川女子大学健康運動科学研究所<sup>3)</sup>

○玄 太裕<sup>1)</sup>、下出 輝<sup>1)</sup>、梶本 忠保<sup>1),2)</sup>、山添 光芳<sup>3)</sup>、堀田 正人<sup>1)</sup>

### Effect of Low-intensity pulsed ultrasound on differentiation of C2C12 cells

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

Asahi University School of Dentistry<sup>1)</sup> Chubu Implant Academy<sup>2)</sup> Mukogawa Women's University<sup>3)</sup>

○GEN Taiyu<sup>1)</sup>, SHIMODE Akira<sup>1)</sup>, KAJIMOTO Tadamori<sup>1),2)</sup>, YAMAZOE Mitsuyoshi<sup>3)</sup>, HOTTA Masato<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

低出力パルス超音波 (low-intensity pulsed ultrasound:以下LIPUSと略す) は組織再生を促進すると考えられ、臨床の分野で応用されている。しかし口腔内には様々な組織があり、それぞれの細胞においてLIPUSの影響があるかどうかは詳細に報告されていない。どのような細胞の分化過程に影響があるかわかれば今後LIPUSが再生医療の一助となるかもしれない。そこで今回筋肉細胞へ分化する過程におけるLIPUSの作用に着目した。

#### 【材料と方法】

マウス筋芽細胞株C2C12 (以下C2C12細胞) をDMEM培地 (非働化した牛胎児血清10%を含む) を用いて37°C、炭酸ガス濃度5%にて培養した。筋細胞への分化誘導は5%馬血清を含むDMEM培地で行った。LIPUS照射には伊藤超短波製BRソニック-Proを使用した。プローブ (直径約1.8cm) の上にゲルを塗布し、その上に12穴マルチウェルプレートに乗せ固定した。照射は15分間行った。

1. C2C12細胞の生存率に対する影響 C2C12細胞を播種して1日培養した後、分化誘導用の培地に交換し、翌日LIPUSを照射した。非照射群をコントロールとし、照射群は3MHz、5MHzの周波数で3段階の出力(45mW/cm<sup>2</sup>、70mW/cm<sup>2</sup>、90mW/cm<sup>2</sup>)で照射し、生存率を評価した。

2. C2C12細胞の分化誘導に対する影響 C2C12細胞を播種して1日培養し翌日分化誘導を行った後、1日培養し翌日LIPUSを照射した。照射は周波数3MHz出力70mW/cm<sup>2</sup>ないし90mW/cm<sup>2</sup>で1日15分ずつ7日間照射し、その後7日間培養を継続した。分化誘導をかけた日を0日目とし、7日目と14日目の形態を位相差顕微鏡にて観察した。次に分化に要する刺激回数を知るために1回~8回まで異なる回数で連日照射した。分化誘導をかけた日を0日目とし8日目から形態の変化を位相差顕微鏡にて観察した。

3. 筋細胞分化における遺伝子発現の検討 LIPUSは筋分化過程の初期段階で働く遺伝子に影響を及ぼすことが予想されたので、これらの遺伝子の発現を解析した。播種し1日培養した後、分化誘導用の培地に交換し、翌日LIPUSを周波数3MHz出力70mW/cm<sup>2</sup>で照射した。1時間後、24時間後に全RNAを抽出しリアルタイムPCRで遺伝子の発現量を測定した。

#### 【結果】

C2C12細胞の生存率への影響は全ての出力において認められなかった。分化誘導に対する影響では照射群は7日目で細胞融合が多く観察され、14日目においては分化した筋管細胞様の束になり、一方向に整列している像が観察された。また、1回だけのLIPUS照射でも十分に分化促進作用があることがわかった。

遺伝子発現では筋細胞分化誘導によってERK5、Klf4、Spl、Cdh15、p21、MyoD、Myogenin、MEF2a、BMP2、Cot/Tp12、ERK2、Runx2の発現量が増大した。またLIPUS照射によってMyoD、BMP2の転写が1時間後に有意に増強したが24時間後では抑制された。

#### 【考察と結論】

3MHzのLIPUS照射ではC2C12細胞の分化が有意に促進された。この促進効果は1回だけの照射でも十分であったことから、LIPUSは分化誘導の初期段階の遺伝子発現に影響を及ぼすことが予想された。C2C12細胞に筋分化への誘導をかけると筋分化のマーカーであるMyoD以外に骨分化のマーカーであるBMP2の転写量が増加している。BMP2が骨への分化だけでなく、筋への分化に関与している可能性がある。周波数3MHzのLIPUSはマウス筋芽細胞の分化を促進することが分かった。したがってLIPUS照射により未分化な細胞が減少し、分化に必要な時間も短縮されることが考えられる。よってLIPUSは再生医療の一助となる可能性が示唆された。



## Rep-PCR を用いた *S. mutans* 血清型 *e* のバンディングパターンの差異について

日本大学松戸歯学部保存修復学教室  
○岡田珠美、鈴木英明、藤田光、池見宅司

The differentiation of banding patterns of *S. mutans* serotype *e* in rep-PCR with ERIC primer  
Department of Operative Dentistry Nihon University School Dentistry at Matsudo.  
○Okada Tamami, Suzuki Hideaki, Fujita kou and Ikemi Takuji.

演者らは初期う蝕の発症に深い関わりを持っている *S. mutans* (血清型 *c, e, f*) と *S. sobrinus* (血清型 *a&g*) の遺伝子型の差異を Repetitive extragenic palindromic PCR (rep-PCR) 法を用いて調べる研究を行っている。この技術は将来において高う蝕罹患患者を識別する上での重要な技術となりえる可能性がある。gold standard であるが PFGE (pulsed field gel electrophoresis) と比較して、rep-PCR 法は操作が簡便であり、特別な機械・技術を必要とせず、安価で短期間に結果が得られるという利点がある。この rep-PCR 法に市販プライマーの ERIC プライマーを用いて *S. mutans* と *S. sobrinus* の標準株およびヒト口腔分離株に応用したところ種々のバンドを得ることができ、*S. mutans* と *S. sobrinus* の標準株ではそのバンディングパターンに差異が認められることを報告した(第 135 回)。また血清型 *f* は血清型 *c* と異なったバンディングパターンの認められることも報告した(第 134 および 136 回)。今回は異なったバンディングパターンの認められた *S. mutans* 血清型 *f* の臨床分離を株数菌株増やしそのパターンの確認を行った。さらに血清型 *e* の分離株についても同様にそのバンディングパターンの多様性の差異について検討したところ若干の知見を得たので報告する。

### 【材料および方法】

*S. mutans* 標準株数菌株(血清型 *c, e&f*)とヒト口腔より分離した数株を本実験に供した。前培養菌を BHI 液体培地を用いて一夜ローソク培養を行った(37°C)。得られた菌液より遠心分離機にて菌体を回収し、市販 DNA 抽出キット(kit (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen)を用いて DNA を抽出、濁度計を用いて濃度を調節した。得られた DNA を各血清型に特異的なプライマーを用いて血清型の同定を行った後、本実験に供した。市販プライマー ERIC1R (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3') と ERIC 2 (5'-AAGTAAGTACTGGGGTGGAGCG-3') (Integrated DNA Technologies)およびバッファーコンポーネント(EPICENTER Technologies)を用い通常に従い PCR を行った。得られた増幅産物の分離は 2%のアガロースゲル使用の電気泳動により行った。電気泳動後、エチジウムブロマイドにて染色、画像撮影を行った。得られた画像よりバンディングパターンの差異を 3 種血清型間で比較・検討した。

### 【結果および考察】

- 1) すべての標準株および分離株の DNA から得られたバンディングパターンは数種のバンドを有していた。
- 2) *S. mutans* 標準株血清型 *c* と比較して血清型 *f* の標準株および分離株のうちに数株のパターンは異なっていたが血清型 *e* は *c* と類似したパターンであった。
- 3) 血清型 *f* の分離株のうち数菌株と *e* 型では若干の差異は認められるが 2000bp, 1700bp, 1400bp, 1100bp, 800bp, 250bp に強く染色されるバンドが認められた。これは血清型 *c* に認められるバンディングパターンと同じであった。
- 4) これに対して血清型 *f* のうち標準株 2 菌株と分離株 4 菌株には 1700bp, 1400bp, 1100bp, 800bp, 250bp に強く染色されるバンドが認められたが、2000bp には強く染色されるバンドは認められなかった。若干の差は認められるが、この 6 菌株のバンディングパターンは類似していた。

以上の結果は、本 rep-PCR 法は *S. mutans* 血清型 *e* 株にも応用出来る事が認められた。また血清型 *f* のバンディングパターンは他の血清型と異なるパターンを有する株の割合が多い可能性が示唆された。今後より多くの血清型 *f* の分離菌株についてのバンディングパターンを調べて異なるパターンを有する株の割合を確認することとともに、この異なった血清型 *f* 株の WIG 合成能、試験管ガラス壁への固着能試験などの齶蝕原生を同じ血清型 *f* や他の血清型と比較検討する予定である。

大気圧低温プラズマのう蝕感染象牙質に対する殺菌効果  
—ヒト抜去歯を用いた感染象牙質モデルでの検討—

<sup>1)</sup> 鶴見大学歯学部保存修復学講座, <sup>2)</sup> 鶴見大学歯学部口腔微生物学講座,  
<sup>3)</sup> 大阪府立産業技術総合研究所, <sup>4)</sup> 大阪大学大学院工学研究科原子分子イオン制御理工学センター  
○白井エミ<sup>1)</sup>, 大島朋子<sup>2)</sup>, 井川 聡<sup>3)</sup>, 北野勝久<sup>4)</sup>, 前田伸子<sup>2)</sup>, 桃井保子<sup>1)</sup>

Sterilization effect of atmospheric pressure and low temperature plasma on the carious infected dentin  
- with the infected dentin-models using extracted human teeth -

<sup>1)</sup> Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine,  
<sup>2)</sup> Department of Oral Microbiology, Tsurumi University School of Dental Medicine,  
<sup>3)</sup> Technology Research Institute of Osaka Prefecture  
<sup>4)</sup> Graduate School of Engineering, Osaka University

○ USUI Emi<sup>1)</sup>, OHSIMA Tomoko<sup>2)</sup>, IKAWA Satoshi<sup>3)</sup>, KITANO Katsuhisa<sup>4)</sup>, MAEDA Nobuko<sup>2)</sup>, MOMOI Yasuko<sup>1)</sup>

**背景・目的:** 日本歯科保存学会のう蝕治療ガイドライン<sup>1)</sup>は、歯髄に達するような深在性う蝕においては、感染象牙質を一括完全に除去せず段階的に除去することで露髄を回避しようとしている。これは、臨床的に健康な歯髄と診断できれば、長期間覆髄剤を貼付することにより感染歯質が無菌化した再石灰化するというエビデンスに基づいた歯髄温存療法として、保険にも記載されているが、長期間を要する待機的な治療法であるため、実際の臨床ではほとんど実施されていないのが現状である。そこで我々は、露髄を回避するため意図的に残置させた感染象牙質を、非侵襲的に1回で無菌化する新たな治療技術を模索する中で、大気圧低温プラズマによる殺菌方法<sup>2),3)</sup>に着目した。この方法は液体にプラズマを照射することで産生される活性種の殺菌活性を利用するもので、*in vitro*試験では口腔微生物に対し4.7以下の低pH環境下で殺菌効果が発揮される(低pH法)<sup>2),3)</sup>。そこで大気圧低温プラズマの低pH法による感染歯質の殺菌効果についてヒト歯のモデルで検討した。

**材料・方法:** 実験1(象牙質のディスク状試片を使用): ヒト抜去大白歯から、厚さ1mmの象牙質ディスク(Dp)を切り出し試片とした。オートクレーブ滅菌したDpに、*Streptococcus mutans* (ATCC25175, 10<sup>5-6</sup> CFU/10 $\mu$ L, BHI培地で調整)を接種した。24時間培養後のDpをpH3.5もしくはpH4.5のクエン酸バッファー(1 mL)中に静置し、この試片にHeを用いた大気圧低温プラズマ装置(試作機, (株)吉田製作所)を用いて180秒間プラズマ照射した。

次いでDpをREDOX Indicator(Alamar Blue™, TREK Diagnostic Systems)添加RPMI1640培地に入れ、培養直後から2時間ごとに蛍光マイクロプレートリーダー(Cytoflour™ II, Perseptive Biosystem)を用いて蛍光値を測定後に菌数換算を行い、実験結果はKruskal Wallis検定とMann-Whitney検定( $\alpha=0.05$ )で統計解析した。

実験2(窩洞象牙質を使用): ヒト抜去大白歯の咬合面象牙質中に直径3mm, 深さ3mmの円柱窩洞を形成後、歯を蒸留水中に浸漬し、オートクレーブ(121°C, 15分間)滅菌した。その後、窩洞内を乳酸で2日間脱灰後*S. mutans*の菌液(10<sup>6-7</sup> CFU/30 $\mu$ L, グルコース添加Tryptic Soy Brothで調整)を1週間毎日接種し、37°C湿潤下で培養した。菌液を除去後、窩洞内をpH3.5のクエン酸バッファーで洗浄した。試片は、プラズマ照射30秒群(PL30), 60秒群(PL60), 180秒群(PL180)およびプラズマ未照射(Heガスのみ)群(HE180), 照射なし群(Control)に分類した。全群pH3.5の条件下で実験し、PL180のみpH6.5の条件下でも行った。プラズマ照射前後に、スチールラウンドバーで窩洞内から象牙質を採取して、その切片片をBHI培地に懸濁し、懸濁液を寒天培地上で2日間培養しCFUを算出した。統計解析は実験1と同様に行った。

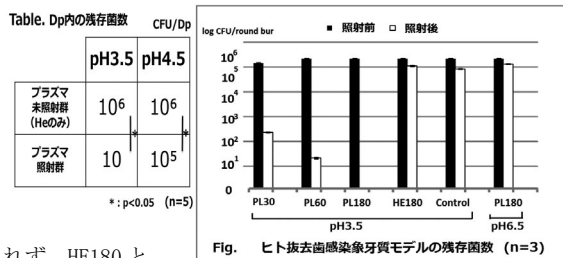
**結果:** 実験1: プラズマ照射群では未照射群と比較し有意に菌数が減少し、pH3.5の条件下ではpH4.5と比較し著しく菌数が減少した(Table)。実験2: pH3.5の条件下では、プラズマ照射時間依存的に有意に菌数が減少した。PL180では窩洞内象牙質の菌数は0となった。一方、HE180の照射前後とControlでは菌数に有意差はなかった。また、pH6.5の条件ではPL180に菌数の減少は認められず、HE180とControlにおいても菌数の有意な変化が認められなかった(Fig)。

**結論:** 大気圧低温プラズマの低pH法<sup>2)</sup>による感染歯質の殺菌効果について、ヒト抜去歯を用いた象牙質ディスク状試片および感染歯質モデルで検討したところ、歯質に侵入した*S. mutans*の殺菌に有効であった。今後、感染歯質を意図的に残すう蝕治療におけるプラズマ殺菌低pH法の有用性を、プラズマの生体安全性の点から検討する予定である。

**参考文献:** <sup>1)</sup> 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.

<sup>2)</sup> IKAWA S. *et al.* Plasma Process. Polym 2010 ; 7 :33-42.

<sup>3)</sup> YAMAZAKI H. *et al.* Dent Mater J 2011 ; 30(3) :384-391.



## NF- $\kappa$ B の阻害はラット実験的根尖性歯周炎の拡大を抑制する

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 歯学分野

○山中裕介, 金子友厚, 伊藤崇史, 興地隆史

**Inhibition of NF- $\kappa$ B reduces the expansion of experimentally-induced rat apical periodontitis**  
Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
○YAMANAKA Yusuke, KANEKO Tomoatsu, ITO Takafumi, OKIJI Takashi

**【研究目的】** 根尖性歯周炎の拡大において、vascular endothelial growth factor (VEGF)などの血管新生因子によって活性化される nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)などの転写因子は、血管新生関連因子である B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)および Bcl-2-associated protein (Bax)などの Bcl-2 ファミリー遺伝子の発現を調節し、血管内皮細胞の遊走、浸潤および管腔形成などに重要な働きを有していると考えられるが、その詳細は不明である。そこで本研究では、NF- $\kappa$ B の活性を阻害することで根尖性歯周炎における血管新生が抑制可能であるか、またその結果として、病変の拡大が抑制できるのかという仮説を検証するために、NF- $\kappa$ B の転写活性を特異的に抑制するデコイ核酸をラットに投与し、実験的根尖性歯周炎における病変の大きさ、CD31 陽性血管内皮細胞の密度、および Bax/Bcl-2 比に対する影響を検討した。

**【材料および方法】** 5週齢雄性Wistar系ラット(n=8)にNF- $\kappa$ B デコイ核酸(Gene Design, Inc., 0.3  $\mu$ g/ml)あるいはコントロールとしてスクランブルデコイを腹腔内投与した。24時間後に8%抱水クロラール (350 mg/kg) による全身麻酔を施し、下顎第一臼歯を露髄させたのち、窩洞に1  $\mu$ lのlipopolysaccharide(10mg/ml)を注入し、水硬性セメント (Cavition, GC)にて仮封した。さらに6, 13, 20, および27日経過後に、NF- $\kappa$ B デコイ核酸あるいはスクランブルデコイの追加投与を行なった。根尖性歯周炎の誘発28日経過後に、下顎第一臼歯を顎骨ごと摘出し、直ちにエックス線撮影装置 (ビーナス携帯, 吉田精工)およびデジタルX線画像処理装置 (Trophy Windows, Trophy Radiologie Japan) を用いてデジタルエックス線撮影を行なったのち、根尖部透過像の面積をImageJソフトウェア (Version 1.37v; National Institutes of Health, Bethesda, MD) を用いて測定した。また、試料より2% periodate lysine paraformaldehyde 固定凍結切片を作成したのち、一次抗体としてCD31 (抗血管内皮細胞), 抗Bcl-2, あるいは抗Baxを用いて酵素抗体染色を行い、各陽性反応産物の密度を定量した。Bcl-2およびBaxについては、陽性反応産物密度からタンパク発現におけるBax/Bcl-2比を算出した。さらに、病変組織内のCD31陽性血管内皮細胞をレーザーキャプチャーマイクロダイゼクションにて回収したのち、全RNA抽出し、Bcl-2, Bax, あるいはGAPDH mRNAに対するリアルタイムPCR解析を行い、mRNA 遺伝子発現におけるBax/Bcl-2比を算出した。統計学的解析には、Mann-WhitneyのU検定 (Bonferroni補正)を用いた。

**【結果】** 根尖部透過像の面積およびCD31 陽性血管内皮細胞の密度は、いずれもNF- $\kappa$ B デコイ非投与群よりNF- $\kappa$ B デコイ投与群の方が、有意に小さかった ( $p < 0.05$ )。一方、タンパク発現および mRNA 遺伝子発現における Bax/Bcl-2 比は、いずれもNF- $\kappa$ B デコイ投与群の方がNF- $\kappa$ B デコイ非投与群より有意に大きな値を示した ( $p < 0.05$ )。

**【考察】** これまでに我々は、ラット実験的根尖性歯周炎の成立過程において、Bax 発現は、著明な変化を示さないこと、また Bcl-2 は病変の拡大期に高レベルに発現することを報告し、Bax よりも Bcl-2 が血管新生誘導因子として病変形成に大きく関与している可能性を報告している(山中ら, 日歯保誌, 2011; Yamanaka et al., J Endod, 2012)。一方、本実験条件では、NF- $\kappa$ B の転写活性の阻害により、NF- $\kappa$ B 活性化経路の下流にある Bcl-2 の発現が抑制され、そして Bcl-2 と相補関係にある Bax の発現が増強した。また、血管内皮細胞の密度が減少し、病変の大きさも小さくなった。これらの結果から、根尖性歯周炎の成立には、NF- $\kappa$ B から Bcl-2 ファミリーへの伝達経路が深く関与していることが推察される。

**【結論】** ラット実験的根尖性歯周炎において、NF- $\kappa$ B の転写活性を抑制するデコイ核酸の投与により、Bax/Bcl-2 比の上昇、血管内皮細胞密度の減少とともに、病変拡大の抑制が生じた。

### 中高齢者・若齢者におけるヒト歯髄幹細胞の歯髄再生能の比較検討

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、<sup>2)</sup>愛知学院大学歯学部  
顎口腔外科学講座、<sup>3)</sup>愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座、<sup>4)</sup>愛知学院大学歯学部 小児歯科学講座  
○堀部 宏茂<sup>1,2)</sup>、庵原 耕一郎<sup>1)</sup>、村上 真史<sup>1)</sup>、竹内 教雄<sup>1,3)</sup>、林 勇輝<sup>1,4)</sup>、山本 翼<sup>1,2)</sup>、  
栗田 賢一<sup>2)</sup>、中島 美砂子<sup>1)</sup>

#### Regenerative potential of human dental pulp stem cells from middle and old age compared with those from young age

<sup>1)</sup>Department of Dental Regenerative Medicine, Center of Advanced Medicine for Dental Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, <sup>2)</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, <sup>3)</sup>Department of Endodontics, <sup>4)</sup>Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University  
○Horibe Hiroshi<sup>1,2)</sup>, Iohara Koichiro<sup>1)</sup>, Murakami Masashi<sup>1)</sup>, Takeuchi Norio<sup>1,3)</sup>, Hayashi Yuki<sup>1,4)</sup>, Yamamoto Tsubasa<sup>1,2)</sup>, Kurita Kenichi<sup>2)</sup>, Nakashima Misako<sup>1)</sup>

【研究目的】私どもは近年、若齢のイヌ根完成後の抜髄後の根管内に歯髄幹細胞を自家移植すると歯髄が再生されることを明らかにした。しかしながらヒトにおいては、抜髄処置は中高齢者に多く、臨床応用する上では中高齢者における歯髄再生治療法をさらに検討する必要がある。一方、高齢者においては、得られる歯髄組織量および幹細胞数が減少し、分化能、再生能および遊走能が低下するという報告がある。さらに、幹細胞の分取法が分化能、再生能および細胞老化に影響を及ぼすともいわれている。私どもは第136回学会にて、臨床で用いるには安全性に問題があるフローサイトメトリーに代わる、安全で有効な「新規幹細胞膜遊走分取法」による歯髄幹細胞の特徴を発表した。本研究では、さらに、この分取法を用いて中高齢者から歯髄幹細胞を分取し、その細胞形質を若齢者と比較した。ついでマウス下肢虚血モデル移植による血管新生能を検討し、さらに異所性歯移植モデルによる歯髄再生能を若齢と比較検討した。これにより中高齢者における歯髄再生治療法の有効性を検討した。

#### 【材料と方法】

1. 中高齢者および若齢者の抜去歯から歯髄細胞を分離し、2代目で新規分取法により歯髄幹細胞を分取、増幅
2. 細胞表面マーカー発現：フローサイトメトリーにて、CD29, 31, 44, 73, 90, 105, 146, CXCR4の陽性率を比較
3. 分子生物学的解析：Real-time RT-PCRにて幹細胞マーカー、血管新生・神経栄養因子のmRNA発現を比較
4. *in vitro*における多分化能の解析（血管誘導、神経誘導、象牙質・骨誘導、脂肪誘導）
5. 遊走能および増殖能：ヒト血清および遊走因子に対する増殖能および遊走能を比較
6. 老化マーカーSA-βgalや細胞老化誘導因子の発現比較
7. SCIDマウス下肢虚血モデルへの移植による血管新生能：虚血後24時間後に歯髄幹細胞 $1 \times 10^6$ 個  
A 血流量測定：移植14日後レーザードップラー血流計にて  
B 血管形成密度測定：凍結切片作製後Lectin染色を行いキーエンス蛍光顕微鏡にて観察し、統計的に解析
8. 異所性歯移植モデルへの移植による歯髄再生能：ヒト歯根6mmスライスに歯髄幹細胞 $1 \times 10^6$ 個を注入し、SCIDマウス腹腔内に移植。28日後、5μmパラフィン切片を作製し、形態学的解析（H-E染色、免疫染色、*in situ* hybridization）

【結果】6代目において、中高齢歯髄幹細胞は若齢と同様に、CD29, 44, 73, 90, 105はほぼ陽性であり、CD31, CD146はほぼ陰性であった。多分化能では、中高齢と若齢の歯髄幹細胞の差はみられなかった。また遊走能、血管新生・神経栄養因子のmRNA発現、老化マーカーや細胞老化誘導因子の発現も、両者において差はみられなかった。マウス下肢虚血モデル移植では、中高齢の歯髄幹細胞は若齢と比較して血流量や血管新生能に有意差はみられなかった。さらに、異所性歯移植においても血管新生能、歯髄再生能、象牙質再生能に両者の差はみられなかった。

【考察・結論】中高齢者から得られた歯髄幹細胞は若齢と同様の幹細胞形質を示すことが明らかとなった。また中高齢者の歯髄幹細胞は、*in vivo*においても若齢と同様の血管新生、歯髄再生能を有することが明らかとなった。よってこれらの結果より、中高齢者においても、歯髄再生治療が可能であることが示唆された。

### 根管・歯周組織への応用を目指した新規内視鏡の開発

九州歯科大学齶蝕歯髄疾患制御学分野<sup>1</sup>、早稲田大学大学院情報生産システム研究科<sup>2</sup>、  
九州歯科大学総合診療学分野<sup>3</sup>、九州歯科大学感染分子生物学分野<sup>4</sup>

○吉居 慎二<sup>1</sup>、張 宇鵬<sup>2</sup>、北村 知昭<sup>1</sup>、寺下 正道<sup>3</sup>、西原 達次<sup>4</sup>、植田 敏嗣<sup>2</sup>

Development of Novel Endoscopy for Root Canal and Periodontal Tissue

<sup>1</sup>Div. of Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, Kyushu Dental University, <sup>2</sup>Graduate School of Information, Production and Systems, Waseda University, <sup>3</sup>Div. of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental University, <sup>4</sup>Div. of Infections and Molecular Biology, Kyushu Dental University  
○YOSHII Shinji<sup>1</sup>, YUPENG Zhang<sup>2</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>, TERASHITA Masamichi<sup>3</sup>, NISHIHARA Tatsuji<sup>4</sup>, UEDA Toshitsugu<sup>2</sup>

#### 【研究目的】

近年、歯科用顕微鏡・歯科用コーンビームCTなどの機器により、口腔内の複雑な解剖学的形態や微細な病変等を高精度に検出することが可能となった。しかしこれらの機器は高価で歯科医療現場に広く流通するには至っていない。また、根管内部の歯質の診断や側枝の検出、および後方臼歯歯周ポケット内の縁下歯石の確認は、現状の最新機器をもってしても困難である。我々は、グレーテッドインデックスファイバを用い歯の内部・根尖歯周組織及び歯周ポケット内に存在する微細構造を、容易かつ高解像度で検出する新しい診断用内視鏡の開発を目的としている。今回の研究では機器の先端に微細レンズを装着することで、焦点距離の延長・被写界深度の増加を計り、より口腔内の微細構造観察に適した診断機器の検討を行った。

#### 【材料および方法】

試作した機器は、主としてグレーテッドインデックスマルチモード型のイメージファイバ、ハーフミラー、光ファイバ、C-MOS、および数種類のレンズを用いて構成した。各 부품の配置は、1本のイメージファイバで画像の取得と観察サンプルへの光照射を同時に行うことを目的として、C-MOS・両凸レンズ・プリズムビームスプリッタ・イメージファイバを直線状に配置し、光ファイバをそれらに対し直角にかつプリズムビームスプリッタの部位で接するように配置した。さらに、システム内での光の反射・散乱を抑え、画像上に現れたハレーションを取り除くことを目的に、光源用レンズの中央にマスクを付けるとともに、取得した画像のMatlabによる処理を行った。また、ファイバ先端に直径0.5mm・0.29ピッチ・焦点距離5.0mmのグリーンレンズを取り付けることで焦点距離の延長、被写界深度の増加を図った。観察条件は、グリーンレンズを装着していない場合はサンプルに接した状態で観察を行い、グリーンレンズを装着した場合はサンプル、または抜去歯根尖よりレンズ先端を5mm離れた状態で観察した。

#### 【結果】

試作機器のC-MOS・両凸レンズ・プリズムビームスプリッタ・イメージファイバを直線状に配置するとともに光ファイバをプリズムビームスプリッタ部に配置することで、光ファイバからの照射光がプリズムビームスプリッタを介し入力され、一本のイメージファイバで光の照射と画像の取得を同時に行うことが可能となった。次に、焦点距離延長と被写界深度増加を目的に、グリーンレンズの装着状態で得られる画像と非装着状態の画像を比較した。グリーンレンズ非装着でサンプルに直接イメージファイバを接触させて観察した場合、光源用レンズにマスクを用いることでより反射の少ない画像を得る事が可能となり、かつMatlabによる画像処理を行う事で解像度10μm以下のハレーションのない鮮鋭な画像を取得することが可能となった。機器内の反射を取り除いた状態でイメージファイバ先端にグリーンレンズを装着してサンプルを観察した場合、解像度20μm以下まで観察することが可能であった。さらに、本装置を用いて実際の抜去歯根管を観察したところ、根管口からの光照射を追加で行うことで根尖まで観察することが可能であった。

#### 【考察】

試作機器では、イメージファイバをサンプルに接した状態では解像度10μm以下の鮮鋭な画像を取得でき、ファイバ先端が接することのできる歯周ポケット等の部位には応用可能であることが示唆された。一方、根管内の観察を想定した時、ファイバを直接接触させることによる根管壁の画像取得が困難であるが、グリーンレンズ装着と根管口からの光照射を併用する事で根管内の観察が可能となったことから、本試作機器の根管内へも応用可能であることが示唆された。

#### 【結論】

歯周ポケットおよび根管内の高解像度観察を可能にする、新しい内視鏡の臨床応用の可能性が示された。

## ラット歯肉における TRPM8 陽性神経線維の分布

東北大学大学院歯学研究科<sup>1</sup> 歯科保存学分野<sup>2</sup> 口腔器官構造学分野<sup>3</sup> 歯内歯周治療学分野

○矢島 健大<sup>1</sup> 佐藤 匡<sup>2</sup> 市川 博之<sup>2</sup> 島内 英俊<sup>3</sup>

### Distribution of TRPM8-positive nerve fiber in the rat gingival

<sup>1</sup>Division of Operative Dentistry, <sup>2</sup>Division of Oral and Craniofacial Anatomy, <sup>3</sup>Division of Periodontology and Endodontology, Graduate School of Dentistry, Tohoku University

○Takehiro Yajima<sup>1</sup> Tadasu Sato<sup>2</sup> Hiroyuki Ichikawa<sup>2</sup> Hidetoshi Shimauchi<sup>3</sup>

#### 【研究目的】

Transient receptor potential melastatin-8 (TRPM8) は 8~28°C の冷刺激により活性化し、冷覚や痛覚をもたらすと考えられている。このセンサーは後根神経節や三叉神経節においては小型の感覚ニューロンに存在している。口腔内では、歯髄や舌に TRPM8 を含む神経線維が分布することが報告されているが、歯肉における TRPM8 の発現については知られていない。本研究では歯肉における TRPM8 含有神経線維の分布について調べ、歯髄や歯根膜などと比較した。

#### 【材料および方法】

7 週齢の雄性 Wistar ラット (180~250g) を用いた。左側上顎骨を脱灰し、8  $\mu$ m の矢状断連続凍結切片を作製した。切片は抗 TRPM8 ウサギ血清を用いて ABC 法にて免疫染色を行った。また、痛覚の伝達物質と考えられる calcitonin gene-related peptide (CGRP) についても同様に免疫染色を行い比較した。染色後、写真撮影を行い形態分析ソフト Lumina Vision (Mitani Corp.) を用いて、歯肉・口蓋粘膜・歯髄・歯根膜における TRPM8 陽性線維の長さを計測した。また TRPM8 と CGRP との蛍光二重染色を行い、それらの共存についても調べた。

さらに TRPM8 陽性神経線維の由来を調べるために、逆行性トレーサーである Fluorogold をラット歯肉と歯髄に注入し、3 日後、三叉神経節を取り出した。8  $\mu$ m の矢状断連続凍結切片を作製し、TRPM8 と CGRP との蛍光二重染色を行い、蛍光顕微鏡を用いて写真撮影を行った。

#### 【成績】

ABC 法による免疫染色により、歯肉には TRPM8 陽性線維が存在することが明らかとなった。これらの線維は上皮下あるいは上皮内において枝分かかれし、自由神経終末を形成し、外縁上皮や歯肉稜で特に豊富であった。しかし、付着上皮には TRPM8 陽性線維は認められなかった。TRPM8 陽性神経線維は歯髄でも数多く観察されたが、歯根膜や口蓋粘膜では稀であった。また、TRPM8 陽性線維の長さを計測し、陽性線維が占める面積比を密度として比較したところ、歯肉の外縁上皮や歯肉稜における TRPM8 陽性神経線維の密度は、内縁上皮の 50-100 倍であった。一方、CGRP は付着上皮や歯髄に豊富に観察された。二重染色の結果、TRPM と CGRP を両方含む神経線維は認められなかった。

歯肉および歯髄を支配する神経細胞のうち、三叉神経節においてはそれぞれ 4.7% と 6.0% のものが TRPM8 を発現していた。これらの神経細胞に CGRP は見られなかった。

#### 【考察】

TRPM8 陽性線維が歯肉や歯髄で数多く認められたことから、これらの組織において TRPM8 が冷刺激を感知するセンサーとして働いていると考えられた。特に、歯肉においては TRPM8 陽性線維が付着上皮では全く観察されず、外縁上皮や歯肉稜で豊富であった。一方、CGRP 陽性線維は付着上皮で豊富に観察された。さらに、蛍光二重染色によっても TRPM8 と CGRP を含む神経線維の分布が異なっていることが明らかとなった。以上の結果から、これらの神経線維の機能が異なる可能性も示唆された。

#### 【結論】

TRPM8 は歯髄と同様に、歯肉においても冷覚や冷痛覚に関与している可能性が示唆される。なお、本研究は会員外の京都大学・細川浩先生と九州保健福祉大学・近藤照義先生との共同研究である。

## 歯肉上皮において Smad2 は integrin 発現を促進する

<sup>1)</sup> 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

<sup>2)</sup> 九州大学病院 口腔総合診療科

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

### Overexpression of Smad2 Enhances Integrin Expression in Gingival Epithelium

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

<sup>2)</sup> Division of General Oral Care, Kyushu University Hospital

○ Shoichi HONGO<sup>1)</sup>, Keisuke YAMASHIRO<sup>1)</sup>, Tadashi YAMAMOTO<sup>1)</sup>, Shinsuke KOCHI<sup>1)</sup>, Masayuki SHIMOE<sup>1)</sup>, Kazuya TOMIKAWA<sup>2)</sup>, Yuki UGAWA<sup>1)</sup>, Hiroshi MAEDA<sup>1)</sup>, Shogo TAKASHIBA<sup>1)</sup>

#### 【緒言】

歯周炎は細菌感染によって歯周組織に生じる炎症性破壊性疾患であり、細菌感染に対する防御機構である歯と歯肉接合上皮との付着が破壊されることにより炎症は深部へと波及していく。歯周炎の進行や重症化を防ぐには、接合上皮の歯面への付着を早期に修復し、強固にすることが重要と考える。歯肉接合上皮は歯面との間でヘミデスマゾーム結合によって接着しており、この結合には細胞接着分子である integrin が深く関与し、また integrin は TGF- $\beta$  による発現調節を受けることが知られている。しかしながら、硬組織と隣接するという特殊な環境に位置する歯肉上皮において、TGF- $\beta$  が integrin に及ぼす作用や、その詳細なシグナル伝達経路に関しては不明な点が多い。我々は近年、TGF- $\beta$  のシグナル伝達分子 Smad2 が歯肉上皮細胞の接着能を制御することを明らかにした。そこで、本研究では、TGF- $\beta$ -Smad2 シグナルによる細胞接着に関わるメカニズム解明のために、ヒト培養歯肉上皮とマウス歯肉上皮組織切片を用いて、Smad2 過剰発現による細胞接着能と integrin 発現への影響を検討した。

#### 【材料および方法】

1. 歯肉上皮細胞の分離・培養: 健康な歯周組織を有するドナーの歯肉から分離・培養したヒト歯肉上皮細胞を Simian virus 40 (SV40) を用いて形質転換し、不死化上皮細胞株を樹立した。
2. Smad2 過剰発現細胞の確立: 上記細胞株に Smad2 発現ベクター (Nakao, *J Biol Chem*, 1997) をリポフェクション法にて遺伝子導入し、24 時間後に種々の濃度の TGF- $\beta$  1 で刺激して、過剰発現した Smad2 のリン酸化を図った。
3. 細胞接着能試験: 上記 2 の細胞を細胞数調整のため再播種し、Cellomics ArrayScan VTI (Thermo Fischer Scientific) を用いて、プレート上の接着細胞数を経時的に測定した。
4. Integrin 発現の解析: 上記 2 の細胞を調製した 24 時間後に、INTEGRIN 発現をリアルタイム RT-PCR 法にて定量解析した。また、Cellomics ArrayScan VTI を用いて INTEGRIN 発現を免疫蛍光染色にて定量解析した。
5. *In vivo* での integrin 発現の解析: Smad2 を keratin14 プロモーター制御下で上皮特異的に過剰発現させたトランスジェニックマウスの歯肉上皮組織切片において、INTEGRIN 発現を免疫蛍光染色法にて調べた。

#### 【結果】

1. Smad2 過剰発現細胞は、対照と比較して有意に接着細胞数が増加した。
2. Smad2 過剰発現細胞において、INTEGRIN ( $\alpha$ 2,  $\alpha$ 5,  $\beta$ 4,  $\beta$ 6) の発現が増加し、同時にそれらの翻訳物である INTEGRIN の発現も増加した。
3. Smad2 トランスジェニックマウスの歯肉上皮では、野生型と比較して INTEGRIN ( $\alpha$ 5,  $\beta$ 6) の発現が強かった。

#### 【考察および結論】

歯面にある内側基底の細胞外基質との接着に integrin は必須の分子である。本研究では、歯肉上皮細胞において、Smad2 過剰発現は細胞接着能を促進するとともに、integrin サブユニットの発現を促進することが明らかになった。特に、INTEGRIN ( $\alpha$ 5,  $\beta$ 6) の *in vivo* における発現増加は、歯肉内縁上皮の接着に重要な役割を果たすと考えられる。近年我々は、TGF- $\beta$ -Smad2 シグナルが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)。すなわち、TGF- $\beta$ -Smad2 シグナルは歯肉上皮の増殖と遊走を抑制し、かつ、歯肉接合上皮の歯面への接着を亢進するという、歯周組織再生にとって重要な上皮の深行増殖を抑制するシグナル伝達と考えられる。

## CAD/CAM 用ブロックの機械的性質について

<sup>1</sup> 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, <sup>2</sup> 総合歯学研究所生体工学研究部門, <sup>3</sup> 佐藤歯科

○坪田圭司<sup>1,2</sup>, 白土康司<sup>1</sup>, 古市哲也<sup>1</sup>, 石井 亮<sup>1</sup>, 高見澤俊樹<sup>1,2</sup>,  
大塚詠一朗<sup>1</sup>, 升谷滋行<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>1,2</sup>, 佐藤幹武<sup>1,3</sup>

### Mechanical Property of Resin Composite Block for CAD/CAM

<sup>1</sup>Department of Operative Dentistry, <sup>2</sup>Division of Biomaterials Science, Dental Research Center,  
Nihon University School of Dentistry, <sup>3</sup>Sato Dental Clinic

○Tsubota Keishi<sup>1,2</sup>, Shiratsuchi Koji<sup>1</sup>, Furuichi Tetsuya<sup>1</sup>, Ishii Ryo<sup>1</sup>, Takamizawa Toshiki<sup>1,2</sup>,  
Otsuka Eiichiro<sup>1</sup>, Masutani Shigeyuki<sup>1,2</sup>, Miyazaki Masashi<sup>1,2</sup>, Sato Mikitake<sup>3</sup>

#### 【研究目的】

近年、患者の審美的要求の高まりからコンポジットレジンあるいはセラミックを用いた修復が多く行われている。一方、Digital Dentistry も飛躍的に向上していることから、CAD/CAM を応用した審美修復も頻度が高くなっている。また、金属価格の高騰という背景もあり、今後も CAD/CAM を応用した修復の重要性は増すものと予測される。現在の CAD/CAM 用ブロックとしては、コンポジットレジンあるいはセラミックを用いたものが市販、臨床応用されている。最近、3M ESPE からナノテクノロジーを応用したコンポジットレジンブロック LAVA Ultimate が製品化された。しかし、この LAVA Ultimate に関する研究は少なく、その詳細に関しては不明な点が多いのが現状である。そこで演者らは、本材料の詳細について検討するために、摩耗試験、ヌーブ硬さ試験および曲げ強さ試験を行うとともに電子顕微鏡観察を行うことで検討した。

#### 【材料および方法】

供試した CAD/CAM 用コンポジットレジンブロックは LAVA Ultimate (LU) であり、対照としてセラミックブロックの CEREC Blocs (CB, Sirona)、ハイブリッドセラミックの Gradao Forte (GF, GC) および Estenia C&B (EC, Kuraray Noritake Dental) の合計 4 製品である。物性試験にあたっては、CAD/CAM 用ブロックは切り出しを行って調整したものを、ハイブリッドセラミック素材においては製造者指示条件で作製したものを試片として用いた。

1. 摩耗試験：摩耗試験は 3 体摩耗試験である Leinfelder-Suzuki の方法で行った。SiC ペーパー#4,000 まで調整した試料の表面を球状ステンレス製アンタゴニストが、垂直負荷荷重 80 N で試片に接触してから、そのまま 30° の水平回転運動を 2 Hz の条件で滑走する動作を 400,000 回繰返した。試験後の試片は、非接触式レーザー測定装置 Proscan 2000 (Scantron Industrial Product) および付属のソフトウェアシステムを用いて、最大摩耗深さおよび摩耗量を求めた。
2. 光沢度の測定：光沢度の測定には、光沢計 (GM-26D) を用い、歯ブラシ摩耗試験前および後の光沢度を測定角 60° の条件で測定した。歯ブラシ摩耗試験は鏡面研磨した試片に対して 1 Hz で 12,000 回、負荷荷重 2.5 N、ストローク幅 50 mm の条件で行った。
3. ヌーブ硬さの測定：ヌーブ硬さの測定は微小硬さ測定器 (DMH-2) を用い、表面を SiC ペーパー#4,000 まで調整した試片に対し荷重 0.25 N、荷重保持時間 30 秒の条件で行った。
4. 曲げ強さ試験：曲げ強さ試験は、ISO 6872 に準じて行った。試片を 4 × 1 × 15 mm になるように調整した後、万能試験機 (Instron 5500R) を用いて、支点間距離 10 mm の条件で 3 点曲げ強さ試験を行った。
5. 電子顕微鏡観察：走査電子顕微鏡 (SEM, ERA-8800 FE, Elionix) を用い、通法に従って表面性状の観察を行った。

#### 【成績および考察】

3 体摩耗試験の成績は、最大摩耗深さおよび摩耗量において CB が他と比較して有意に低い値を示した。LU の最大摩耗深さはハイブリッドセラミックと同程度であったものの、摩耗量は小さくなる傾向を示した。歯ブラシ摩耗試験後の光沢度の成績は、LU で他のハイブリッドセラミック製品と比較してその低下傾向は小さく、これにはフィラーの大きさあるいは形状が影響しているものと考えられた。ヌーブ硬さの成績は、CB, ES, LU および GF の順でヌーブ硬さは高い値を示した。また、曲げ強さ試験の成績は、CB が他の材料と比較して低い値を示した。

#### 【結論】

LAVA Ultimate の機械的物性はハイブリッドセラミックと比較して同程度であり、歯ブラシ摩耗試験後の光沢度では、他の製品と比較して優れた成績を示すことから臨床における有用性が示唆された。



## 超音波ダイヤモンドチップを使用した窩洞形成 — 研削効率と研削耐久性 —

神奈川県立歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野

○竹田 仁一, 菅原 剛志, 高島 志保, 菊池 隼介, 椎谷 亨  
大橋 桂, 田中 博隆, 二瓶 智太郎, 向井 義晴, 寺中 敏夫

### Study on the ultrasonic preparation using diamond tips - Efficacy and Grinding durability -

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

○TAKEDA Jinichi, SUGAHARA Tsuyoshi, TAKASHIMA Shiho, KIKUCHI Shunsuke, SHIYA Toru  
OHASHI Katsura, TANAKA Takahiro, NIHEI Tomotaro, MUKAI Yoshiharu and TERANAKA Toshio

#### 【目的】

超音波を利用した初期う蝕治療, MI レストレーション, 根管治療にまで使用できる新しい超音波インスツルメンテーションシステムがナカニシより発売された. 超音波チップ先端は小さいため, 十分な視野の確保が可能となり, 臼歯部遠心面や頬側部へのアクセスも容易なことから, 罹患歯質のみを選択的に研削し, 健全歯質を最大限に残すことが可能である. また, 歯肉縁に近い歯頸部う蝕の処置に対しても, 軟組織に損傷を与えず出血や歯肉溝滲出液を最低限に抑えることができることから, その後の充填処置を容易に行えることが利点である. この超音波システムは, 一般臨床で頻用されているタービンなどの回転切削器具とは異なり, チップ先端の微振動により対象面を研削する独特な研削器具である.

本研究では, ダイヤモンドコーティングされたう蝕除去用チップを用いて, その研削効率と研削耐久性について検討することを目的とした.

#### 【材料および方法】

実験には神奈川県立歯科大学附属病院で抜去され, チモール水溶液に永年保管された永久抜去歯を用いた. Varios 970 (ナカニシ) にダイヤモンドコーティングされた初期う蝕除去用チップ V-TIP SYSTEM (V30, V-G70; ナカニシ) を装着し使用した.

研削効率については, 上下顎大白歯歯根部を普通石膏にて包埋後, 歯冠咬頭部より咬合面と平行にアイソメットを用いて切断して象牙質を露出させ試料とした. 象牙質試料は耐水研磨紙により #2,000 まで研磨した後, 脱イオン水中で 30 分間超音波にて洗浄した. その後, 超音波システム Varios 970 に初期う蝕除去用 V-TIP SYSTEM (V30, V-G70) を装着し, パワーレンジ G, パワーモードを 1 から 6 まで変化させ, それぞれ 5 秒間研削した. 研削圧は約 30g とし, 研削後, 象牙質試料を脱イオン水中で 30 分間超音波洗浄し, 研削した象牙質面をデジタルマイクロスコープ (VHX-1000; キーエンス) にて, パワーモードの違いによる研削状態を観察した.

研削耐久性については, Varios 970 に初期う蝕除去用 V-TIP SYSTEM (V30, V-G70) を装着し, 抜去永久歯の健全エナメル質のみを選択的に 15 秒, 30 秒, 60 秒, 90 秒および 120 秒間同一方向から連続研削した. 術者は臨床経験 2 年目の 4 人の医局員とし, 研削圧は約 30g, パワーレンジとパワーモードは G6 とした. 研削後のチップは 30 分間超音波にて洗浄後, チップのダイヤモンドコーティングの状態をデジタルマイクロスコープにて観察した. 術者による研削感と研削後のチップ先端の観察によりダイヤモンドコーティングの状態から耐久性を検討した. また, それぞれの術者がエナメル質のみを選択的に研削し続け, 研削感が失われるまでの時間とその時のダイヤモンドコーティングの状態も同様に検討した.

#### 【結果および考察】

研削効率: パワーを上昇させていくに従い研削面積は増加傾向にあることが確認され, パワーモードの上昇に伴い振幅が増したことにより, 研削面積が増加したものと考えられた. 研削耐久性: エナメル質に対しては研削時間を延長するとチップ表面にコーティングされたダイヤモンドがより多く剥がれて研削感は失われ, 連続 60 秒を超えるとダイヤモンドコーティングが完全に剥がれた像が観察された. また, エナメル質の研削感が失われた時間の術者 4 人の平均は 146 秒であった. また, 回転切削具の使用に慣れた術者は超音波インスツルメンテーションシステムの特徴を理解し訓練した上で臨床に用いなければ, その有用性を活かすことが困難であると思われた.

以上の結果より, 超音波システムを利用した窩洞形成は, 耐久性の観点から, エナメル質の開拡は通法に従いタービンなどの高速切削器具で行い, 窩縁の整理やう蝕罹患象牙質の除去を適切なパワーで行うべきであると考えられた.

### Er,Cr:YSGG レーザーの歯質切削に関する研究

#### － ウォータースプレーの水と空気の相対比率がエナメル質の切削効率に及ぼす影響 －

<sup>1</sup>日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻, <sup>2</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座  
<sup>3</sup>日本歯科大学新潟病院総合診療科

○高田真代<sup>1</sup>, 新海航一<sup>2</sup>, 有田祥子<sup>1</sup>, 川嶋里貴<sup>1</sup>, 加藤千景<sup>2</sup>, 鈴木雅也<sup>2</sup>, 平賢久<sup>3</sup>

#### Basic Studies on the Er,Cr:YSGG Laser Ablation for Tooth Substance

#### － The effects of the relative rate of water and air on the efficiency of ablation for tooth enamel －

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

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

<sup>3</sup>Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

○TAKADA Mayo<sup>1</sup>, SHINKAI Koichi<sup>2</sup>, ARITA Shoko<sup>1</sup>, KAWASHIMA Satoki<sup>1</sup>, KATO Chikage<sup>2</sup>,  
SUZUKI Masaya<sup>2</sup>, TAIRA Yoshihisa<sup>3</sup>

#### 【研究目的】

Er,Cr : YSGG レーザーは歯質を効率的に切削することが可能であるが、非接触であるため回転切削器械と比べて窩洞形成のコントロールが難しい。切削メカニズムの詳細を解明してコントロールを良くするには、歯質切削に適したレーザー光の出力、ウォータースプレーの水と空気の相対比率、照射光の方向性、ハンドピースの動かし方などを検討する必要がある。レーザー光がウォータースプレーとともに照射されると照射された歯面で微小水蒸気爆発が生じ、エナメル質小柱が破壊されて切削が生じることをこれまでの研究で確認している。そこで本研究では、ウォータースプレーの水と空気の各相対比率がエナメル質の切削効率に及ぼす影響について検討した。

#### 【材料および方法】

ヒト抜去上顎前歯を使ってエナメル質を含む直径約5mmの歯片を作製し、耐水研磨紙#600、#800および#1500を用いて平坦なエナメル質面を形成した(n=10)。Er,Cr : YSGG レーザー (Waterlase MD) を用いて下表の切削条件でエナメル質平坦面を切削した。切削面に対する照射光の入射角度を90度、照射距離を3mmに設定し、各歯片のエナメル質平坦面に対して各々切削条件を変えながら9箇所を約1秒間ずつ切削した。各切削時の状況をハイスピードビデオカメラ(動き解析マイクロスコプ)で撮影した。ビデオクリップ画像上でモニタリングを行い、切削中に生じた水蒸気爆発の回数をカウントした。切削されたエナメル質の深さは表面粗さ測定器(Surfcom 470A)で測定した。得られた結果から1Hzあたりの切削深度を算出した。対応のある2元配置分散分析を用いて統計学的解析を行い、ウォータースプレーの水と空気の各相対比率が切削深度に与える効果を検定した(p<0.05)。実体顕微鏡を用いてレーザー切削面を観察し、各実験群の代表例について微細構造をSEM観察した。

#### 【結果ならびに考察】

ビデオクリップ画像上では各実験群の切削状況に関して大きな差は認められなかった。すべての実験群において一定の間隔で微小水蒸気爆発が発生している状況が明瞭に観察された。各実験群における測定結果を表に示す。Group 2の切削深さが最も低く、Group 4の切削深さが最も高い値を示した。2元配置分散分析の結果、ウォータースプレーの水と空気の各相対比率は切削深度に有意な効果を与えないことが明

実験群	W	Hz	% Air	% Water	切削深さ(μm):±SD
Group 1	3.0	20	70	60	10.38 ± 2.7
Group 2				70	10.51 ± 3.3
Group 3				80	9.77 ± 2.6
Group 4			80	60	9.24 ± 2.5
Group 5				70	9.68 ± 1.2
Group 6				80	8.50 ± 1.2
Group 7			90	60	9.64 ± 2.8
Group 8				70	10.22 ± 3.5
Group 9				80	9.90 ± 3.5

統計学的有意差なし(p<0.01)

らかとなった(p>0.05)。したがって、レーザーの照射出力を3.0Wに固定した上でウォータースプレーの水の相対比率を60~80%、空気の相対比率を70~90%の範囲に設定した場合、これらの切削条件はエナメル質の切削効率に有意な影響を及ぼさないことが明らかとなった。

### 試作 SS-OCT を用いた楔状欠損窩洞における各種修復材料の窩洞適合性の評価

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門<sup>1)</sup>、歯科理工学部<sup>2)</sup>、歯科放射線学講座<sup>3)</sup>、  
株式会社 吉田製作所<sup>4)</sup>

○水上英子<sup>1)</sup>、後閑由香<sup>1)</sup>、谷 千尋<sup>1)</sup>、真鍋厚史<sup>1)</sup>、千田真弓<sup>4)</sup>、鹿熊秀雄<sup>4)</sup>、橋本絵美<sup>3)</sup>、荒木和之<sup>3)</sup>、岡野友宏<sup>3)</sup>、  
宮崎 隆<sup>2)</sup>

Evaluation of Experimental swept-source Optical Coherence Tomography (SS-OCT) on Cervical Defect Restorations  
Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology<sup>1)</sup>, Division of Oral Biomaterials and Technology<sup>2)</sup>,  
Department of Conservative Dentistry and Department of Radiology<sup>2)</sup>, Showa University School of Dentistry, The  
Yoshida Dental MFG. Co., LTD<sup>3)</sup>

○Eiko Mizukami<sup>1)</sup>, Yuka Gokan<sup>1)</sup>, Chihiro Tani<sup>1)</sup>, Atsufumi Manabe<sup>1)</sup>, Mayumi Chida<sup>4)</sup>, Hideo Kakuma<sup>4)</sup>, Emi Hashimoto<sup>3)</sup>,  
Kazuyuki Araki<sup>3)</sup>, Tomohiro Okano<sup>3)</sup> and Takashi Miyazaki<sup>2)</sup>

#### 【研究目的】

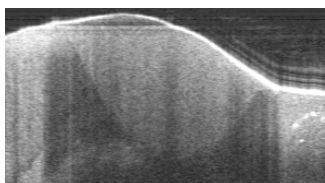
生体組織に対し透過性を持つ近赤外線を使用した光干渉断層画像装置 (Optical Coherence Tomography : OCT) は撮影対象物に侵襲を加えることなく断層画像を撮影することができる装置であり、眼科領域を中心に広く臨床応用されている。我々は株式会社吉田製作所で開発されたレーザー光源の発振波長を連続的に挿引しながら時間的にフーリエ分析する方法を採用する試作波長走査型光干渉断層画像装置 (swept-source Optical Coherence Tomography : SS-OCT) を用いて、窩洞に充填したコンポジットレジン修復部位の撮影を行った結果、コントラクションギャップの発生部位に反射光の強い像が観察出来ることで、修復物の部分脱離部位の特定が可能であることを確認し、報告した (第 136 回 日本歯科保存学会 春季学術大会)。今回我々は、試作 SS-OCT 装置の臨床応用をする目的で、ヒト抜去歯唇側面に形成した楔状欠損に対し、各種修復法を用いて充填した修復物の窩洞適合性について、SS-OCT と  $\mu$ -CT を用いて観察、検討を行った。

#### 【材料および方法】

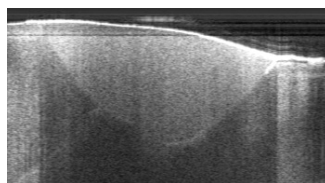
本研究では被着対象としてヒト抜去犬歯および小白歯を用い、唇・頬側面の歯頸部に長軸方向の幅約 5.0 mm、最深部の深さ約 2.0 mm、それぞれの窩壁のなす角度を 90° となるように楔状欠損窩洞を形成した (昭和大学 歯学部 医の倫理委員会 承認番号 ; 2011-016 号)。形成の完了した試片に対し、All-in-One タイプの接着システム (Xeno V<sup>®</sup>, Densply-Sankin, Japan) を用いたコンポジットレジン修復、セルフエッチングプライマータイプの接着システム (Clearfil MegaBond, KURARAY-Noritake Dental, Japan) を用いたコンポジットレジン修復、マルチステップタイプの接着システム (E-Lize system + E-Lize Bond, Pentron, Japan) を用いたコンポジットレジン修復、および従来型グラスアイオノマーセメント (Fuji I, GC, Japan) を各々業者指示に従って用い、充填操作を完了した。コンポジットレジンを充填した試片群には Kuraray Medical 社製 Clearfil Majesty LV (A3) を用いた。試片の窩縁を形態修正および研磨操作後、24 時間室温水中に保管した。修復の完了した試片は SS-OCT を用いて中心波長 1310nm、深さ方向の分解能 13  $\mu$ m の条件下で試片の断層撮影を行った。また、同部位を島津製作所社製 卓上型マイクロフォーカス X 線 CT システム inspeXio SMX-90CT を用いて 40 kV、60  $\mu$ A の条件で同じく断層撮影を行い、SS-OCT 画像との比較検討を行った。

#### 【成績および考察】

マルチステップタイプの接着システムを用いたコンポジットレジン修復を行った試片群では、修復物と窩壁とが密着している像が観察され、窩縁のどの部位においても反射光の変化は認められなかった。しかしながら、All-in-One タイプの接着システムを用いてコンポジットレジン修復を行った試片群では、唇・頬側窩縁部および窩洞の最深部付近で修復物と窩壁とが剥離していることを示す反射光の強い像が観察された。これらの結果より、試作 SS-OCT 装置を臨床に用いることで修復後の状態、特に象牙質接着の不備等の場所が容易に特定することができることから部分的な早期発見が可能となり、MI の基本理念とも一致していると思われ、補修修復を行う際の診断に有効であると考えられた。



マルチステップタイプ



All-in-One タイプ

## 防湿方法の違いが口腔内温度および相対湿度に及ぼす影響

東京歯科大学千葉病院総合診療科

○春山亜貴子, 浅見政子, 杉山節子, 杉山利子, 野呂明夫, 近藤祥弘, 亀山敦史

### Influence of different dry-field technique on intraoral temperature and relative humidity.

Division of General Dentistry, Tokyo Dental College Chiba Hospital

○Akiko Haruyama, Masako Asami, Setsuko Sugiyama, Toshiko Sugiyama,  
Akio Noro, Yoshihiro Kondoh, Atsushi Kameyama.

#### [研究目的]

臨床において、コンポジットレジンによる修復時には確実な防湿処置が必要である。しかし、隣接面を含む 2 級, 3 級, 4 級窩洞への修復では接触点の回復が必要なため、防湿を行う際に隣在歯を含めた複数歯の露出が必要である。本研究では、防湿方法の違いが口腔内環境にどのような影響を及ぼすかを明らかにすることを目的とした。

#### [材料および方法]

東京歯科大学歯科衛生士専門学校に在学中の女性から、全身状態が健康で特に口腔乾燥感などなく、また下顎左側臼歯部(34~37 番歯)に欠損を認めない 5 名(20~21 歳)を対象とした。なお、本研究は東京歯科大学倫理委員会により研究内容の審査を受けた上で実施された(承認番号 323 号)。

測定に先立ち、測定室内の温度および相対湿度をデジタル温湿度計(Model CTH-1100, カスタム, 東京)を用いて測定し、記録した(実験前)。本研究では、以下の 3 群を設定した。I 群(コントロール): 36 番歯の頬舌側にコットンロールをそれぞれ 1 つずつ挿入した。II 群(36 番歯露出): ウレタン系シート(Roeko Flexidam non latex, Coltene/Whaledent, Langenau, Germany)にラバーダムパンチ(YDM)で穿孔し、アイボリー#56 ラバーダムクランプ(YDM)および専用フレーム(Coltene/Whaledent)を用いてシートを固定した。III 群(34~37 番歯露出): ウレタン系シート(Roeko Flexidam non latex)にラバーダムパンチ(YDM)で 4 箇所穿孔し、37 番歯にアイボリー#56 ラバーダムクランプ(YDM)を固定後、34 番歯から 37 番歯までの 4 本を露出させ、専用フレーム(Coltene/Whaledent)を用いてシートを固定した。

各群防湿開始直後にデジタル温湿度計のプロープ先端(センサー部)を口腔内に挿入、36 番歯の咬合面直上 1cm 付近に手指で固定し、装着 5 分後の口腔内温度および相対湿度の計測を行った。なお、各被験者とも同日中にすべての群を行った。得られたデータは一元配置分散分析の後、Tukey の HSD Test を用いて実験前ならびに 3 群間の比較を行った( $p<0.05$ )。

#### [成績および考察]

測定室内の温度は  $25.1 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$  であった。これに対し、口腔内で測定した群はいずれも室内温度に比べ有意に高い値を示した( $p<0.05$ )。なお、I ~ III 群間には有意差を認めなかった( $p>0.05$ )。

測定室内の相対湿度は、 $50.7 \pm 2.6\%$  であった。I 群は、室内環境での相対湿度に比べ有意に高い値を示した( $p<0.05$ )。これに対し、II 群と III 群は室内環境での相対湿度と有意差を認めなかった(II 群  $p=1.000$ , III 群  $p=0.309$ )。また、II 群と III 群との間には有意差を認めなかった( $p=0.276$ )が、それぞれ被験者間でのばらつきが大きかった。

本研究では、防湿法の違いによる口腔内温度および相対湿度の影響を検討した。口腔内温度は室内環境より高くはなるが、防湿法の違いによる影響はないことが明らかになった。これに対し、相対湿度は I 群では 100% を示し、防湿効果がないに等しく、コンポジットレジンによる接着性修復に影響を及ぼすことが示唆された。複数歯の連続露出では被験者間でのばらつきが非常に大きかった。これは、露出歯が多くなることで歯とラバーシートとの隙間が増大し、結果として防湿効果が単独歯露出に比べやや低くなったものと思われた。

#### [結論]

本研究結果から、コットンロールによる簡易防湿には相対湿度を低下させる効果、すなわち「防湿」効果は期待できないことが明らかとなった。一方、ラバーダム防湿は室内環境に近似した相対湿度を口腔内に整備することが可能であるが、口腔内温度を低下させる効果は認められなかった。また、臼歯部に複数歯露出でラバーダム防湿を行った場合、単独歯露出の場合と同様に明らかな防湿効果が期待できるものの、その効果にはばらつきが生じる可能性があることが示唆された。

## 充填材料の接着における唾液混入の影響

\*日歯大・生命歯・小児歯, \*\*東京都立小児総合医療センター・歯科  
○島津貴咲\*, 小方清和\*,\*\*, 荻部洋行\*

### Influence of saliva contamination on adhesion of luting materials

\*Department of Pediatric Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry and  
\*\*Division of Dentistry, Tokyo Metropolitan Children's Medical Center  
○Kisaki Shimazu\*, Kiyokazu Ogata\*,\*\*, and Hiroyuki Karibe\*

#### 【目的】

歯冠修復において、唾液等が患部へ侵入するのを防ぐためにラバーダム防湿が有用である。しかし、萌出途上の歯や歯冠崩壊の著しい歯、あるいは口呼吸患者や障害者、高齢者を対象とした場合など、日常臨床では防湿が困難なケースが多い。本研究では、唾液が混入した歯面にコンポジットレジン (CR) とガラスアイオノマーセメント (GIC)、およびレジン強化型ガラスアイオノマーセメント (RMGIC) を応用し、接着強さと微小漏洩への影響について比較検討を行った。

#### 【対象と方法】

以下の3条件で実験を行った：人工唾液未使用 (条件 I, コントロール)、人工唾液を滴下後に軽く乾燥 (条件 II)、人工唾液の液滴が残っている状態 (条件 III)。充填材料として、CR はクリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル) を用い、CR の接着処理材はトータルエッチングシステムのオブチボンドソロプラス (OBS ; Kerr) とセルフエッチングシステムのトライエスポンド (TSB ; クラレノリタケデンタル) の2種類を使用した。また、GIC はフジ IX GP エクストラカプセル (ジーシー)、RMGIC はフジ II LC カプセル (ジーシー) を用いた。

#### 1) 接着強さ試験

包埋・表面研磨した牛歯のエナメル質と象牙質に、歯面処理と人工唾液による処理を施した後、CR を適応する歯には各接着処理を行った。次いで、シリコン型を用いて各充填材料を直径 2.38mm、高さ 4.0mm に築盛し、硬化後、各試料を 37°C の蒸留水に 24 時間保存した。なお、歯面処理や光照射は、必要に応じて各材料の指示書に従い行った。剪断接着強さは万能試験機を用いて、クロスヘッドスピード 1mm/1min の条件で測定した (n=10)。統計分析は、3 条件間の接着強さの比較に一元配置分散分析を用い、多重比較には Tukey の HSD 法を用いた。

#### 2) 微小漏洩試験

牛歯に直径 3.0mm、深さ 1.5mm の窩洞を形成した。接着強さ試験に準じて歯面・唾液処理、接着処理、充填、硬化後、37°C の蒸留水に 24 時間保存した。次いで、各試料にサーマルサイクル負荷 (5-55°C、2000 回) を施した後、0.1%メチレンブルー溶液に 20 時間浸漬し、包埋・切断を行った。色素侵入の定量化は、ISO/TS 11405: 2003 に従って、スコア 0 (色素侵入無し) からスコア 3 (色素侵入が窩洞の髄室床に及ぶ) の4段階で評価した (n=7)。

#### 【結果】

GIC と RMGIC では、エナメル質と象牙質の双方とも、唾液の混入による接着力の低下は認められなかった。一方、CR (OBS) では、エナメル質に対しては接着力の低下が認められなかったものの、象牙質に対してはコントロール (条件 I) と比較して顕著な低下を示した (条件 II、III とも  $P < 0.001$ )。また、CR (TSB) では、エナメル質に対しては条件 III で接着力が低下し ( $P < 0.01$ )、象牙質に対しては、条件 II、III ともに有意に低下した (両条件とも  $P < 0.001$ )。

微小漏洩試験の色素侵入中央値は、GIC と RMGIC において、すべての条件で CR (OBS, TSB) と比較して低い値を示した。最も唾液混入の多い条件 III における中央値を比較すると、GIC と RMGIC はスコア 1 (色素侵入がエナメル質に及ぶ) であるのに対し、CR (OBS, TSB) ではスコア 2 (色素侵入が象牙質に及ぶ) であった。

#### 【結論】

GIC や RMGIC は、唾液が混入する条件でも安定した接着力を示し、口腔内環境を想定したサーマルサイクル負荷を施しても微小漏洩が少ないことが明らかとなった。ガラスアイオノマーは高いフッ素徐放能をもち、生体親和性も優れているといわれている。現在、臨床においてコンポジットレジン充填が主流であるが、防湿が困難な場合の接着力低下や、微小漏洩による二次カリエスなどを考慮し、ガラスアイオノマー充填が有用であると考えられる。

ESR 評価法によるコンポジットレジンの照射後重合  
-LED 照射器の照射時間による影響-

朝日大学歯学部歯科理工学分野  
○亀水秀男, 駒田裕子

ESR study on post-polymerization of composite resin  
-Effect of exposure time with LED unit-  
Department of Dental Material Science, Asahi University School of Dentistry  
○KAMEMIZU Hideo, KOMADA Yuko

【研究目的】

電子スピン共鳴法 (ESR 法) は、重合に関与するラジカルを直接検出でき、その経時的な変化も観察し易い。また、非破壊的な分析も可能で、測定感度が非常に高いという利点がある。さらに、ESR スペクトルの各種パラメータから、ラジカルの定性・定量だけでなく、ラジカル周囲の状態 (レジンの硬化状態等) も解析することも可能である。我々は、光照射によってレジン中に発生する長寿命のポリマーラジカルを指標として、そのラジカル量 (濃度) から、炭素-炭素二重結合の反応率を算定する方法を検討してきた。今回、この ESR 評価法によりコンポジットレジンの照射後重合に関して、特に LED 照射器を使用したときの照射モードと照射時間による影響について検討した。

【材料および方法】

光重合型コンポジットレジンとしてクリアフィル AP-X (A2, クラレ, 以下 CR とする) を、LED 照射器としてブルーショット (松風) を使用した。CR ペースト (13.0~13.5 mg) を填入したテフロンチューブ (外径 3.0 mm, 内径 1.5 mm, 高さ 3.0 mm) を金型に挿入後、LED 照射器により 2 種類の照射モード (ノーマルとハイモード) で、所定の時間 (10, 20, 30, 40 秒間) 光照射した。光照射後、37°C の恒温槽に保管 (光遮断) した。各時間経過後 (10 分間後, 1 時間後, 24 時間後, 1 週間後) で再度光照射 (二次照射: ノーマルモード 140 秒間, ハイモード 90 秒間) して ESR 測定を行った。光照射によって増加したスペクトル強度から残留している未反応の二重結合量を算定した。光照射は、ライトガイド照射口をテフロンチューブ口から 6 mm 離して行った。照射直後の二重結合の反応率は、照射時のラジカル発生量/ラジカル最大発生量の百分率で、未反応二重結合の残留率は、二次照射によるラジカル発生量/ラジカル最大発生量の百分率で算定した。なお、ラジカル量は、ESR スペクトル (微分波形) の重積分から求めるが、ラジカル量  $\propto W^2 \cdot h$  ( $W$ : スペクトル線幅,  $h$ : スペクトル強度) において、スペクトル線幅が一定の場合、直接スペクトル強度から求めることができる。今回は、スペクトル強度から未反応二重結合の残留率の経時的変化 (後重合) について比較検討した。

【結果】

10 秒間照射の場合、光照射直後ではノーマル、ハイモードとも低い反応率 (64.9, 72.0%) を示した。このことから照射直後では、かなり多くの未反応二重結合が残留していることがわかった。未反応二重結合の残留率は、時間の経過とともに低下した。残留率の低下は後重合が進行していることを意味しており、照射後 10 分間で後重合がかなり進行していることもわかった。ただし、10 分後でもかなり未反応二重結合が残留しており、照射後 24 週間後、1 週間後でも後重合が進行していることがわかった。20 秒間照射の場合、反応率はノーマルモード、ハイモードでそれぞれ 76.6%, 85.8% だった。10 秒照射に比べて、後重合の進行程度は少なかった。30 秒間照射の場合、反応率はノーマルモード、ハイモードでそれぞれ 90%, 95.4% を、40 秒間照射の場合、それぞれ 93.8%, 98.1% を示した。すでに高い反応率であったため、後重合は少なかった。

【考察】

ESR 法によって得られた二重結合の反応率は、照射時に発生したラジカル量から直接評価しているため、試料調整の間や測定時間の間に起こる後重合の影響を受けず、本来の照射時または照射直後の値を示している。また、ESR 法は、照射直後の経時的な後重合の挙動を詳細に追跡することが可能な方法であることが示唆された。

## リペア修復におけるトクヤマユニバーサルプライマーの接着性

株式会社トクヤマデンタル つくば研究所<sup>1</sup>, 株式会社トクヤマデンタル 事業推進部<sup>2</sup>  
○百々海歩<sup>1</sup>, 平田広一郎<sup>1</sup>, 木村幹雄<sup>2</sup>, 山本博将<sup>1</sup>

### Adhesive properties of the Tokuyama Universal Primer in prosthetic repair

Tsukuba Research Laboratory, Tokuyama Dental<sup>1</sup>,

Corporate Marketing Department, Tokuyama Dental<sup>2</sup>

○Ayumi Dodomi<sup>1</sup>, Koichiro Hirata<sup>1</sup>, Mikio Kimura<sup>2</sup>, Hiromasa Yamamoto<sup>1</sup>

【目的】トクヤマデンタルは、2012年7月各種被着体（貴金属・卑金属・セラミックス・フィラー含有レジン）に対して接着性を向上させる新規補綴物プライマー「トクヤマユニバーサルプライマー（UP）」を開発・上市した。

ポーセレン前装冠の破折修復や歯肉退縮による前装冠マージ部の修復（リペア修復）では、ポーセレン、金属、歯質の混合面にコンポジットレジン接着をさせる。このような場合、これまでの各被着体の専用プライマーでは、混合被着面の各種材料に対するプライマーを何度も同じ場所に塗布しなくてはならず、操作が煩雑であった。これに対しUPは、一回の処理で各種被着体への接着性を向上させることができるメリットから、前記課題の解決が期待される。そこで本研究では、UPのリペア修復への応用の可能性を探るため、UP及び既存の専用プライマーである「メタルタイト（MT）：トクヤマデンタル」、「トクソーセラミックスプライマー（TCP）：トクヤマデンタル」と、1液1ステップボンディング材「トクヤマボンドフォース（BF）：トクヤマデンタル」を組み合わせた場合の接着強度の比較を行った。また、ボンディング材の種類による影響を確認するために、UPと各種ボンディング材（2液1ステップボンディング材「ワンナップボンドFプラス（OBF）：トクヤマデンタル」、3液2ステップボンディング材「トクソーマックボンド2（MB2）：トクヤマデンタル」、ウェットボンディング材「excite F（EF）：ivoclar vivadent」）を組合せた場合の接着強度を評価した。

【材料と方法】被着体として、金バラ（キャストマスター12S：トクヤマデンタル）、床用コバルトクロム（アイクローム：トクヤマデンタル）、ハイブリッド硬質レジン（パールエステ：トクヤマデンタル）、歯科用陶材（VMK68：VITA）、ジルコニア（TZ-3Y-E：東ソー株式会社）及び、ウシ下顎前歯のエナメル質と象牙質を使用した。

各種被着体を#600の耐水研磨紙で研削し水洗した。次に、直径3mmの両面テープを貼付し、UPの推奨方法に従い、又は、重ね塗りした場合を想定しTCP処理後にMT処理（TCP→MT）した。次いで、BF、OBF、MB2、EFの推奨方法に従い被着体を処理し照射した。その後、直径8mmのワックスシートを両面テープに貼付し、そこにエステライトΣクイック（トクヤマデンタル）を充填後照射し硬化させた後、ワックスシートを取り外し、エステライトΣクイックの硬化体上に直径8mmのアタッチメントをビスタイト2（トクヤマデンタル）で接着させたものを接着試験サンプルとした。これら試験サンプルは37℃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1.0mm/minの条件で引張り試験を行った（n=8）。

【結果と考察】各被着体に対しUPはTCP→MTと比較し同等以上の接着強さを示した。一方、各種ボンディング材との組合せによる接着強さの評価から、UPはいずれのボンディング材に対しても高い接着強さが得られており、ボンディング材の種類による接着への影響は低いと考えられた（図1）。

【結論】各種ボンディング材との組合せにおいて各種被着体に対し高い接着性を示す材料であるUPは、リペア修復における補綴物用のユニバーサルプライマーとして使用できる材料であり、各種混合被着面を一括処理できるため接着のテクニクエラーが少なくなり、臨床において有用な材料であると言える。

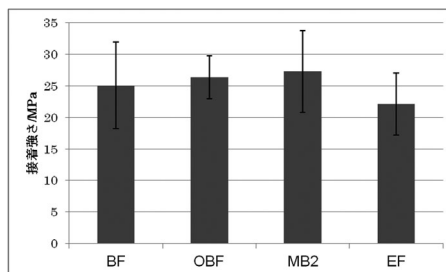


図1. 各種ボンディング材とUPを組合せた接着強さ（被着体：歯科用陶材）

ワンステップボンディング材の歯質脱灰能に関する研究

日本大学松戸歯学部保存修復学講座<sup>1</sup>, 日本大学松戸歯学部生体材料学講座<sup>2</sup>  
○藤田(中島)光<sup>1</sup>, 岩井仁寿<sup>1</sup>, 岡田珠美<sup>1</sup>, 鈴木英明<sup>1</sup>, 西山典宏<sup>2</sup>, 池見宅司<sup>1</sup>

Etching Efficacy of Tooth Component by one step-bonding adhesives  
Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>, Department of Dental Biomaterials<sup>2</sup>,  
Nihon University School of Dentistry at Matsudo  
○FUJITA (NAKAJIMA) Kou<sup>1</sup>, IWAI Hiroto<sup>1</sup>, OKADA Tamami<sup>1</sup>, SUZUKI Hideaki<sup>1</sup>, NISHIYAMA Norihiro<sup>2</sup>,  
IKEMI Takuji<sup>1</sup>

【目的】

近年、接着操作の簡便化を図る目的で、ワンステップボンディング材が開発され、臨床応用されている。また、それ以上の確実な接着性能を発揮させるために改良も進められている。しかし、ボンディング材に配合されている酸性モノマーと歯質との相互作用の詳細については不明な点が多い。

本研究では、ワンステップボンディング材に配合されている酸性モノマーと歯質との相互作用の詳細について検討することを目的とし、3種類のワンステップボンディング材とハイドロキシアパタイトあるいは象牙質とを相互作用させ、ボンディング材の上澄み液の<sup>13</sup>C NMR スペクトルを測定し、ハイドロキシアパタイトまたは象牙質のカルシウム塩の生成量がエナメル質および象牙質のレジンの圧縮剪断接着強さに及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

カルシウム塩の生成量の測定: 各種ワンステップボンディング材(クリアフィルトライエスボンド(クラレ), G-BOND PLUS (GC), BOND FORCE(トクヤマデンタル))に2.00 g中にハイドロキシアパタイト粉末(HA200, 太平化学)または切削したウシ歯冠象牙質粉末を0.40 gを懸濁し、10分間振盪・攪拌した。その後、これらの懸濁液を遠心分離し、ボンディング材上澄み液の<sup>13</sup>C NMR スペクトルを測定した。なお、NMRの測定にはEX 270 スペクトロメーター(日本電子)を用いた。得られたNMRスペクトルから、ボンディング材にリン酸エステル系モノマーとして添加されているモノマーのビニル基メチレンカーボンに帰属されるNMRピークとTEGDMA(トリエチレングリコールジメタクリレート)分子内ビニル基メチレンカーボンのNMRピークに対する相対強度を求め、その強度変化から歯質成分の脱灰により生成されたカルシウム塩の生成量を算出した。

接着試験: ウシ前歯抜去歯の唇側エナメル質を#1000シリコンカーバイトペーパーにて研磨し、新鮮なエナメル質および象牙質を露出させた後、試料片を埋没した。内径3.2 mmの穴の開いた両面テープを貼付け、その内面をワンステップボンディング材で20秒間処理後、3秒間強圧エアブローを行い、10秒間光照射し、内径3.2 mmのシリコンリングを固定し、コンポジットレジンを充填し光照射(20秒間)を行い、試験体を作製した。その後、24時間37℃水中保管後、インストロン型万能試験機で、クロスヘッドスピード1.0 mm/minにて圧縮剪断接着強さを測定した。

【結果および考察】

各種ワンステップボンディング材の<sup>13</sup>C NMR スペクトル溶液を測定した結果、<sup>13</sup>C NMR ピークは、クリアフィルトライエスボンドおよびG-BOND PLUS にハイドロキシアパタイトまたは象牙質を添加し、両者を相互作用させると、MDPのビニル基メチレンに帰属されるNMRピークの相対強度は減少し、その減少率はハイドロキシアパタイトで16.3-22.0%、象牙質では63.5-66.0%であった。これは、MDPが歯質アパタイトを脱灰し、ボンディング材に不溶性のカルシウム塩を生成して析出したためと考えられる。またMDPはハイドロキシアパタイトより象牙質を強く脱灰することがわかった。それに対しBOND FORCEは、<sup>13</sup>C NMR スペクトル上、ビニル基メチレンに帰属されるNMRピークに変化は見られなかった。

エナメル質接着試験において、クリアフィルトライエスボンドおよびG-BOND PLUSのカルシウム塩の生成量がBOND FORCEより増加しても接着強さは約16MPaと同じ値を示し、象牙質接着は、カルシウム塩の生成量の多いクリアフィルトライエスボンドおよびG-BOND PLUSは約16MPa、BOND FORCEの接着強さは、約12MPaを示した。

本研究は、平成22-24年度日本学術振興会科学研究費補助金(基盤研究(C)、課題番号22592129)により行われた。



## ピロリドンカルボン酸による象牙質コラーゲンの分解抑制、 および象牙質の脱灰抑制に関する検討

ライオン株式会社 研究開発本部 オーラルケア研究所  
○藤川晴彦、井上志磨子、竹内祥訓、福田 康、山本高司

**Effects of pyrrolidone carboxylic acid on collagen degradation and demineralization**  
Oral Care Research Laboratories, Research & Development Headquarters, Lion Corporation  
○FUJIKAWA Haruhiko, INOUE Shimako, TAKEUCHI Yoshikuni, FUKUDA Yasushi, YAMAMOTO Takashi

### 【背景・目的】

近年、歯周病罹患や加齢により歯肉が退縮し、その結果露出する歯根面のう蝕増加が懸念されている。歯根面う蝕の発症部位である象牙質には、コラーゲンを主とする有機質が約20%含まれており、物理/化学的に脆弱な象牙質の脱灰に加え、口腔内のコラゲナーゼが象牙質コラーゲンを分解することにより、歯根面う蝕が進行すると考えられている。従って、歯根面う蝕の予防には、象牙質コラーゲンの保護と、象牙質の脱灰抑制の両面が重要である。本研究では、グルタミン酸の分子内縮合化合物であるピロリドンカルボン酸（以下、PCA）の象牙質コラーゲンの分解抑制および象牙質の脱灰抑制効果を評価し、PCAの歯根面う蝕予防に関する有用性を検討した。

### 【材料および方法】

<実験1：象牙質コラーゲンの分解抑制評価（n=6/群）>

- 1) 材料：脱灰液浸漬によりコラーゲンを露出させた牛歯根象牙質切片（処置面：約2mm×220 $\mu$ m）
- 2) 処置剤：歯磨剤（950ppmF含有の市販歯磨剤にPCAを0、1、2、3、5%配合）の水3倍希釈液
- 3) 方法：以下、①②③順でpHサイクル試験を3サイクル実施  
①象牙質切片を処置剤で3分浸漬後に水洗浄、②2U/mlコラゲナーゼ配合再石灰化液に16h浸漬、③脱灰液に5h浸漬
- 4) 評価：顕微鏡観察による消失コラーゲン深さ（ $\mu$ m）、TMR法によるミネラル損失量（vol%× $\mu$ m）・脱灰深さ（ $\mu$ m）
- 5) 解析：抑制効果に対するPCAの濃度依存性をWilliams多重比較検定（有意水準5%）

<実験2：象牙質の脱灰抑制評価（n=5/群）>

- 1) 材料：ヒト臼歯の象牙質ディスク（処置面：約2mm×2mm）
- 2) 処置剤：歯磨剤（950ppmF、3000ppmF、950ppm+PCA5%）の水3倍希釈液
- 3) 方法：象牙質ディスクを処置剤で3分浸漬・水洗浄（2回/日）し、再石灰化液に3日間浸漬後、脱灰液に6h浸漬
- 4) 評価：原子吸光度法による脱灰液への溶出Caイオン量（ $\mu$ g/ml）
- 5) 解析：950ppmF群に対する脱灰抑制効果をDunnett多重比較検定（有意水準5%）

### 【結果および考察】

<実験1>PCA 0、1、2、3、5%配合群の消失コラーゲン深さは、55.4、50.5、46.4、43.0、41.2（ $\mu$ m）、ミネラル損失量は、3012、2811、2417、1889、1973（vol%× $\mu$ m）、脱灰深さは、178.5、167.2、88.0、65.0、53.2（ $\mu$ m）であった。3評価項目いずれもPCA配合濃度が2%以上で有意に減少し（ $p<0.05$ ）、PCAによるコラーゲン分解抑制効果および、それに伴う脱灰抑制効果が認められた。PCAにより保護されたコラーゲンが象牙質内部への酸浸透を抑制、又は象牙質内部で溶解したミネラルイオンの外部拡散を抑制したことが要因と推察する。

<実験2>象牙質ディスクから溶出したCaイオン量（ $\mu$ g/ml）は、A（950ppmF）群 51.1、B（3000ppmF）群 40.3、C（950ppmF+PCA5%）群 42.6であった。PCAを配合したC群では、高濃度Fを含有するB群と同様に、A群と比較してCaイオン溶出量が減少した（ $p<0.05$ ）。従って、PCAが脱灰抑制効果を有することが明らかとなった。

### 【結論】

PCAは、歯根面のう蝕予防に重要な象牙質コラーゲンの分解抑制効果と象牙質の脱灰抑制効果を併せ持つことが明らかになった。今後、歯根面う蝕予防剤への応用が期待される。

## NaF と APF の根面象牙質に対する脱灰抑制効果の in vitro での比較

<sup>1</sup> 鶴見大学歯学部保存修復学講座, <sup>2</sup> 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  
○菅原豊太郎<sup>1</sup>, 中嶋省志<sup>2</sup>, 田上順次<sup>2</sup>, 桃井保子<sup>1</sup>

### In vitro comparison of NaF and APF regarding the inhibitory effect on root dentin demineralization

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

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

**【緒言】** エナメル質う蝕の予防の場合と同様に, 専門家用の高濃度フッ化物塗布剤が根面う蝕を予防することが期待される<sup>1)</sup>. エナメル質の場合, フッ化物歯面塗布には中性フッ化ナトリウム(以降 NaF)とリン酸酸性フッ化ナトリウム(以降 APF)が最も広く使用されている. しかし根面う蝕において, どのフッ化物塗布剤が脱灰抑制に効果が高いのか, また塗布時間や回数などについて何も基準が定められていないようである. そこで本研究では, NaF と APF を単純に 1 回塗布した場合の脱灰抑制効果を経時的に TMR (Transversal Micro Radiography) 法で評価し, 両フッ化物の効果と比較することとした.

**【材料および方法】** ウシ歯根面象牙質ブロックを樹脂包埋し, その表面を研磨して被験象牙質面(1.5×3.0 mm)を設定した. フッ化物として, NaF (フッ化ナトリウム液ネオ<sup>®</sup>, ナルコム, 2%NaF) と APF (フルオール液歯科用<sup>®</sup>, ビーブランドメディコ, 2%NaF) を用い, 塗布時間はメーカー指示に準じ 5 分間とした. その後, 塗布した試料を, 一定期間 (1, 3, 7, 14, 21 日間) 脱灰液 (2.2 mM: CaCl<sub>2</sub>, 2.2 mM: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 50 mM: 酢酸, 3.08 mM: NaN<sub>3</sub>, pH5.0) に浸漬し, 脱灰液は週 1 回新しい液に交換した. 各脱灰日数後に試料を脱灰液から取り出し, TMR 法にて脱灰深さ (LD:  $\mu\text{m}$ ) とミネラル喪失量 ( $\Delta Z$ : vol% $\cdot\mu\text{m}$ ) を評価した. またフッ化物を塗布しない試料 (コントロール群) についても同様に脱灰した. 各脱灰日数に対し, 10 試料を用いた. 脱灰日数と  $\Delta Z$  と LD との関係は決定係数(R<sup>2</sup>)で検討した. また,  $\Delta Z$  と LD をボンフェローニ多重比較 (p<0.05) で分析した.

### 【結果および考察】

脱灰日数の平方根に対する LD(図 1),  $\Delta Z$ (図 2) の関係を示す. 両者とも, いずれの群においても LD と  $\Delta Z$  は経時的に増加し, 強い直線性を示した (R<sup>2</sup>:0.8557~0.9776). コントロール群と比べて, フッ化物塗布群で LD および  $\Delta Z$  は有意に小さかった. 21 日目においてコントロール群に対する各塗布群の脱灰抑制率を算出したところ, NaF では LD で 25.4%,  $\Delta Z$  で 39.2%, APF では LD で 69.4%,  $\Delta Z$  で 82.0% で

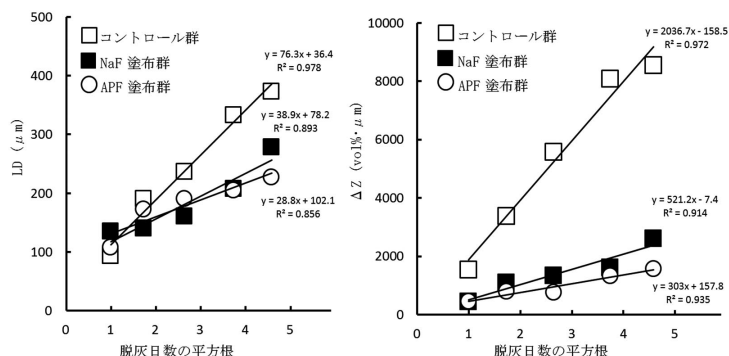


図1 LDと脱灰日数の平方根

図2  $\Delta Z$ と脱灰日数の平方根

あった. 過去のエナメル質におけるものよりも高い脱灰抑制効果があらわれたのは, 象牙質の空隙率 (約 20%) がエナメルと比較して高いこと, 象牙質アパタイトが F イオンと反応しやすいことによる推察された. また, NaF, APF のミネラルプロファイルについて経時的推移を評価したところ, 脱灰日数が増加するとともに, 表層のミネラル密度が上昇し, 典型的な表層下脱灰のプロファイルが認められた. しかしながら, そのような表層下脱灰の形成はコントロール群では認められなかった. 今後このような基礎実験を積み重ね, 根面う蝕の予防に関するフッ化物塗布法の確立の一助とする.

**【結論】** APF および NaF に高い脱灰抑制効果が認められ, NaF より APF では脱灰抑制率が大きくなる傾向にある. また両塗布剤とも, 21 日間という過酷で連続的な脱灰条件でも高い脱灰抑制効果を維持したことから, 1 回塗布でも効果が持続する可能性が示唆された.

**【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

Er:YAG レーザー照射象牙質におけるレジン接着に関する研究  
第1報 レジン添加型グラスアイオノマーセメントの接着強さについて

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○鶴田あゆみ、成橋昌剛、福田秀光、中野健二郎、山田三良、佐藤かおり、富士谷盛興、千田 彰

Study of Resin Bond to Er:YAG-lased Dentin

Part 1 Bond Strength of Resin-modified Glass-ionomer Cement

Aichi Gakuin University, Department of Operative Dentistry

○TSURUTA Ayumi, NARUHASHI Masayoshi, FUKUDA Hidemitsu, NAKANO Kenjiro

YAMADA Mitsuyoshi, SATOH Kaori, FUJITANI Morioki, SENDA Akira

【緒言】

レーザーを用いた無痛のう蝕除去のためには、低出力照射が望まれる。ところが、低出力でレーザー照射された象牙質面には、構造欠陥や熱変性層が形成される。そのため、レジンの接着性が阻害され、回転切削器具で形成された象牙質面におけるレジンと同等の初期接着性や接着耐久性を期待するには問題がある(第108、109回日本歯科保存学会)。そこで、低出力照射後、中出力で同一部位にフィニッシング照射すると、構造欠陥や熱変性層が除去され低下していたレジンの接着性が有意に回復することを見出した(第19回日本レーザー歯学会, 2007)。一方、Er:YAG レーザー照射された象牙質面に対するレジン添加型グラスアイオノマーセメント(RMGIC)の接着性は良好であることが報告されている(峯ら、第17回日本レーザー歯学会, 2005)。しかし、出力の違いによる接着強さの変化や破壊形態を含めたレジンの接着性の詳細な検討はなされていない。そこで本研究は、低出力レーザー照射象牙質における安定したレジンの接着性獲得を目的とし、フィニッシング照射された象牙質面に対するRMGICの接着強さについて検討した。

【材料および方法】

新鮮抜去ウシ前歯の唇側歯頸部に平坦面(#600)を調製し、先端出力50mJ(低出力照射)、150mJ(中出力照射)および50mJ照射後150mJで追加照射(フィニッシング照射)の照射条件にてEr:YAGレーザー(アーウィンアドバール、モリタ)を照射し(1パルス、接触照射、注水下)、レーザー照射面とした。また、レーザー非照射象牙質をコントロール(Cont)とした。これらの面に、①G群:Gボンドプラス(ジーシー)、②FL群:セルフプライマー(ジーシー)/フジライニング(ジーシー)および③FLB群:セルフプライマー/フジライニングボンドLC(ジーシー)の各処理を施し、クリアフィルAP-X(クラレノリタケデンタル)を充填して、37°C蒸留水中24時間保管後、各群の接着強さを微小引張り試験により検討した。得られた測定値はStudent's *t*-testを用いて統計処理( $p=0.05$ )を施した。また、破断面の破壊形態を実体顕微鏡にて観察し、さらに、同様に調製された試片を用い、接合界面のSEM観察を行った。

【結果および考察】

いずれの群においても、低出力照射された象牙質に対するレジンの接着強さは、Contに比し有意に低い値を示した。一方、G群では、中出力照射あるいはフィニッシング照射した場合の接着強さは、低出力照射の場合に比し有意に高かったが、Contと比較すると有意に低かった。ところが、FL群およびFLB群の中出力照射あるいはフィニッシング照射した場合の接着強さは、Contに比し有意差はなかった。破壊形態については、G群では、界面剥離およびレジンと象牙質の混合破壊がほぼ同数認められ、一方FL群およびFLB群では、RMGICと象牙質の混合破壊が多かった。また、接合界面のSEM像では、レジンと象牙質の接合状態はいずれの群においてもすべて良好であったが、界面直下の象牙質には構造欠陥および熱変性層が認められた。これらの結果より、レーザー照射された象牙質面に対するレジンの接着性は、充填された材料の機械的諸性質ならびにレーザー照射により生じた構造欠陥や熱変性層の影響を大きく被ることが明らかとなった。したがって、低出力レーザー照射された象牙質面における安定したレジンの接着性を獲得するためには、フィニッシング照射などによりこれらを完全に除去する必要性のあることが明らかとなった。

【結論】

Er:YAGレーザーにより低出力照射された象牙質面に対するRMGICの接着強さは、非照射象牙質面におけるそれより有意に低かったが、中出力照射ならびにフィニッシング照射した象牙質面においては非照射象牙質面とほぼ同等の接着強さを示すことが判明した。低出力レーザー照射象牙質面における安定したレジン接着性獲得のためには、生じた構造欠陥や熱変性層などを除去する必要性が示唆された。

市販 EDTA 処理剤を用いた象牙質スメア一層の除去効果  
昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門<sup>1)</sup> 歯科理工学部門<sup>2)</sup>  
○後閑 由香<sup>1)</sup>、水上 英子<sup>1)</sup>、谷 千尋<sup>1)</sup>、真鍋 厚史<sup>1)</sup>、宮崎 隆<sup>2)</sup>

Effect of Removing the Dentin Smear Layer by using Commercial EDTA Conditioner  
Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology<sup>1)</sup>, Division of Oral Biomaterials and  
Technology<sup>2)</sup>, Department of Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry  
○Yuka Gokan<sup>1)</sup>, Eiko Mizukami<sup>1)</sup>, Chihiro Tani<sup>1)</sup>, Atsufumi Manabe<sup>1)</sup> and Takashi Miyazaki<sup>2)</sup>

【研究目的】

コンポジットレジン修復の完全な窩洞適合性を獲得するためには、ボンディング材の塗布に先立ち、エナメル質窩壁ではリン酸処理のみが要求されるのに対して、象牙質窩壁ではスメア一層の除去とプライミングの2段階の処理が必要となる。これらの前処理によって象牙質とエナメル質は近似した物理化学的な性状に整えられ、デンティンボンディング材は一つの窩洞でエナメル質、象牙質双方の窩壁に同一のメカニズムに基づいて接着すると推測することができる。通常、齶蝕除去を行った歯面はスメア一層に覆われており、これらはコンポジットレジン歯質に接着する際に阻害因子として働くことが確認されている。我々はこれまでに、象牙質においてはこれらスメア一層に対し、0.5mol/L、pH7.4に調整されたEDTAを用いることで歯質内のCa濃度を低下させることなく確実に除去することが可能であると報告してきた。このほど、Ultradent社より根管治療時に石灰化の進行した根管壁を軟化する目的で18%濃度のEDTA処理剤が市販された。今回我々はこの市販EDTA処理剤をコンポジットレジン修復時に歯面を覆っているスメア一層の除去に応用した際の歯面処理効果について、走査型電子顕微鏡による処理面の微細構造の観察を行い、従来からデンティンコンディショナーとして用いられている市販EDTA溶液と比較検討を行った。

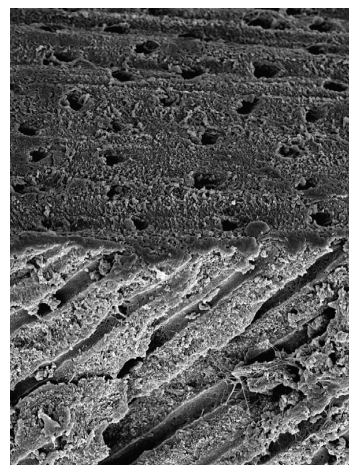
【材料および方法】

本研究は昭和大学 歯学部 医の倫理委員会(承認番号; 2011-016号)の承認を得て行った。ヒト抜去臼歯隣接面エナメル質を除去し象牙質平面を露出させ、耐水研磨紙600番を用いて象牙質平面にスメア一層の形成を行った。対象歯面に対し、Ultradent社製18%EDTA処理剤を60秒間適用し、処理を行った。EDTA処理後、水洗乾燥し、室温水中に24時間浸漬した。処理の完了した試片は、処理面に対し垂直に切断し、通法に従いアルコール上昇系列で脱水後、臨界点乾燥および白金パラジウムを用い試片の蒸着を行った。調整の完了した試片を日立社製走査型電子顕微鏡(S-4700, HITACHI, Japan)を用いて、EDTA処理面および切断面にみられる象牙細管内のスメア一層除去の状態を微細構造とともに観察を行った。また、コントロールとして完全なスメア一層除去効果を有する市販コンディショナー(E-Lize Conditioner, Pentron, Japan)を業者指示の通りに用いて処理を行った試片を調整した。

【結果および考察】

走査型電子顕微鏡で観察した結果、E-Lize Conditionerを用いてスメア一層を除去した試片では、象牙質表層を覆っているスメア一層は完全に除去されている像が観察された。また、細管内のスメア一層については一部残存している像が観察された。18%濃度のEDTA処理剤を用いてスメア一層を除去した試片では、象牙質表層のスメア一層が完全に除去されている像が観察された。また、細管内のスメア一層についても、殆どの細管で除去されている傾向が確認できた。

今回用いた市販歯面処理剤は、いずれも歯面表層を覆っているスメア一層の除去が完全に行えることが確認できた。18%濃度のEDTAについては根管形成時に石灰化した歯質を軟化する為に用いられているが、コンポジットレジン修復時にも応用する事が出来る可能性が示唆された。今後、処理面に対するコンポジットレジンの接着性能を含め、詳細に検討を行っていく予定である。



18% EDTA 処理を行った試片

## 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

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<sup>1)</sup>

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座<sup>2)</sup>

○日下部修介<sup>1)</sup>, 玄 太裕<sup>1)</sup>, 細川好美<sup>1)</sup>, 杉浦貴子<sup>1)</sup>, 清水明彦<sup>2)</sup>, 堀田正人<sup>1)</sup>

### 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 Dentistry<sup>1)</sup>

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine<sup>2)</sup>

○KUSAKABE Shusuke<sup>1)</sup>, GEN Taiyu<sup>1)</sup>, HOSOKAWA Yoshimi<sup>1)</sup>, SUGIURA Takako<sup>1)</sup>,  
SHIMIZU Akihiko<sup>2)</sup>, HOTTA Masato<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

現在の齲蝕治療は、エアータービンにて齲窩を開拡した後、硬さ、着色、齲蝕検知液による染色性等を指標として齲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ベーターで除去している。齲蝕治療の教育においても、学生に齲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、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)で齲蝕象牙質に押し込み、その距離(μm)を計測し、ヌープ硬さに換算するものであり、齲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、C<sub>2</sub>程度の齲蝕を有するヒト抜去歯を用い、エキスカベーター、ラウンドバーを使用し、齲蝕検知液を併用して感染象牙質を除去した場合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. 被験者および実験前準備

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名である。

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齲蝕の概要についての講義を行った。

##### 2. 実験材料

予めエアータービンにてう窩の開拡を終了させたC<sub>2</sub>程度の齲蝕を有するヒト新鮮抜去歯を用いた。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。齲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。

##### 3. 実験方法

まず齲蝕象牙質除去前の硬さを測定した[コントロール]。その後、術者(学生および医員)の主観により齲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、齲蝕検知液(カリエスチェック、ニシカ)を用いて齲蝕象牙質を染色し、メーカーの指示通り検知液が染まらなくなるまで感染層を除去し、硬さを測定した[B群]。これらの操作は、①エキスカベーターのみ使用、②ラウンドバーとエキスカベーターを併用して使用し、1人の術者が10か所の齲蝕象牙質に対して行った。なお、齲蝕表層部などでヌープ硬さが6以下に軟化した象牙質においては、硬さが表示されず、圧子の押し込み深さのみの表示となるので、本研究では押し込み深さ(μm)で比較することとし、必要に応じてヌープ硬さ(KHN)に換算した。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。

#### 【結果および考察】

押し込み深さの平均値は、コントロールは①では学生が224.0μm、医員が223.1μm、②では学生が212.0μm、医員が、210.1μm、A群は①では学生が66.7μm、医員が34.2μm、②では学生が47.3μm、医員が29.3μm、B群は①では学生が35.3μm、医員が26.1μm、②では学生が29.4μm、医員が23.3μmであった。

分散分析の結果、医員と学生間および齲蝕象牙質の感染層の除去方法の違い(エキスカベーターのみとラウンドバーとエキスカベーターの併用および齲蝕検知液を併用)で有意差が認められた。また交互作用は認めなかった。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られず齲蝕象牙質前の硬さに違いはなかった。学生の①および②においてA群とB群に有意差が認められたものの、医員では①および②のA群とB群に有意差は認められなかった。②のA群およびB群において医員と学生に有意差は認められなかったが、①のA群において医員と学生に有意差が認められた。さらにB群の医員および学生において①と②に有意差は認められなかったが、A群の学生において①と②に有意差が認められた。

なおカリオテスターにおける齲蝕象牙質の感染層の除去の指標は硬さ20KHN以上(距離32μm以下)とされているが、ヌープ硬さに換算すると、A群の平均値は①が学生:7KHN、医員:18KHN、②が学生:11.5KHN、医員:23KHN、B群の平均値は①が学生:17.5KHN、医員:27KHN、②が学生:23KHN、医員:32KHN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、感染していない齲蝕象牙質の硬さを自分の判断で除去することは医員にとっても困難であり、齲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。またラウンドバーを用いた方がエキスカベーターのみの場合よりも有意に感染象牙質を多く除去でき、再発齲蝕の原因となる感染象牙質を残す確率は少なくなる。しかし、齲蝕検知液を用いても完全に感染齲蝕象牙質の除去を行うことが困難な学生が存在しており、学生によってカリオテスターの圧子を押し込む際の力加減、スピード等に差があるのではないかと推測している。以上より、カリオテスターは齲蝕象牙質の感染していない、再石灰化する可能性のある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。

## ナノシール塗布後の象牙質に対する各種修復材料の接着効果

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座う蝕治療学分野  
○岡田 伸男, 志賀 華絵, 千葉 史子, 山本 槇子, 青島 久, 工藤 義之, 野田 守

### Dentin Bond Strength in Nanoseal Methods with Resin Composite and Glass-Ionomer Cement

Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry,  
School of Dentistry, Iwate Medical University  
○Okada Nobuo, Shiga Hanae, Chiba Fumiko, Yamamoto Makiko, Aoshima Hisasi, Kudo Yoshiyuki,  
Noda Mamoru

#### 【緒言】

象牙質知覚過敏症は、齶蝕を伴わない露出した象牙質に軽微な外来刺激が加わった際に生じる一過性の誘発痛を特徴とし、日常臨床では発現頻度の高い疾患である。現在まで、象牙細管を被覆する、あるいは封鎖する方法や象牙細管内の石灰化を促進する方法が試みられてきた。今回、開発されたナノシールは簡単な操作で、歯質と反応して効果を発現し、歯肉に対して為害性がない操作性に優れた象牙質知覚過敏抑制材である。しかしながら、このナノシールによる知覚過敏症治療後に対するコンポジットレジンなどの修復処置を検討した報告は少ない。

そこで、今回我々は、ナノシール塗布後の接着効果について着目し、ナノシール塗布後の歯面に対する各種修復材料の接着力について比較検討を行った。

#### 【材料および方法】

接着試料としては、コンポジットレジンに MI ローフロー、ソラーレ(GC)、ガラスアイオノマーセメントは Fuji 9 GP Extra Capsule(GC)を使用した。シェードはすべて A3 とした。

被着体は、抜去後冷凍保存したウシ永久下顎前歯から採取した象牙質を耐水研磨紙#600 まで研磨し、リン酸エッチングを 15 秒間行ったものを使用し、業者指示書に従ってナノシール (NISHIKA) を塗布した群と塗布しない群とした。

各種レジンに内径 4mm 高さ 3.5mm のステンレスモールドを用いて積層充填し照射は 40 秒間行った。ガラスアイオノマーセメントは、同ジグを使用、填塞し、セルロイドストリップスを介して 2 分 30 秒間圧接した。

37°C で各 24 時間、3、7 日水中保管および 100% 湿潤保管し、クロスヘッドスピード 0.5mm/min にて引っ張り試験 (INSTRON 4204) にて接着強さを測定した。各群の試料数は 12 とし、得られた値は One-way ANOVA Student-Newman-Keuls test と t-test を用いて有意水準 5% で統計学的分析を行った。

#### 【結果】

ナノシール塗布の有無に対するコンポジットレジンとガラスアイオノマーセメントの引っ張り強さを図に示す。

各時間において、ガラスアイオノマーセメントは、コンポジットレジンに比べ、有意に低い値を認めた。ナノシール塗布の有無に関しては、各時間において統計学的な有意差を認めなかった。

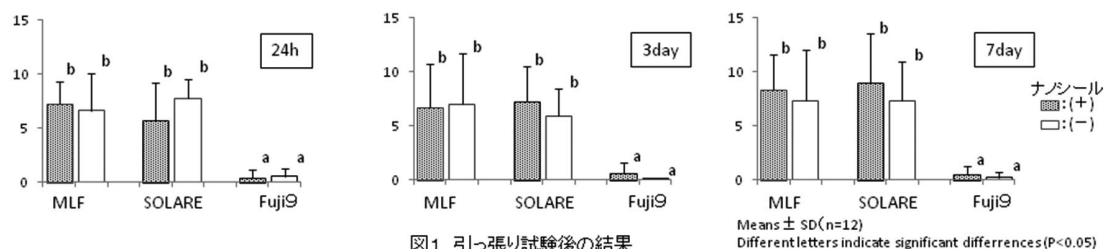


図1 引っ張り試験後の結果

#### 【考察】

今回の結果より、ナノシールを塗布することで、コンポジットレジンおよびガラスアイオノマーの接着に変化を生じることはなかった。このことより知覚過敏症に対する治療の後に再度、新鮮象牙質を露出するような割合や処理することなく接着することが示唆された。

## 各種象牙質知覚過敏抑制材の象牙質透過抑制に関する研究

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野  
○清水裕久, 西谷佳浩, 星加知宏, 吉山昌宏

**Study of the inhibition of dentin permeability of the dentin desensitizers**  
Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction  
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University  
○Shimizu H, Nishitani Y, Hoshika T, Yoshiyama M

### 【緒言】

現在、象牙質知覚過敏症の発症機構のひとつである動水力学説をもとに開発された材料で象牙細管封鎖機構が異なる2種類、つまり1液性ボンディング材の象牙質接着機構を応用し象牙細管を封鎖するレジン系材料と、シュウ酸成分と歯質に存在するカルシウム成分とから生成される結晶物により象牙細管を封鎖するシュウ酸系材料について研究・検討を行っており、象牙質知覚過敏症を模した象牙質面を作製し、その象牙質面に対して歯髄側から歯冠側へ象牙細管内に蒸留水を通過させることで各種象牙質知覚過敏抑制材を評価した内容を第59回日本歯科理工学会学術講演会で報告した。今回、象牙細管内に模擬体液(Simulated Body Fluid, 以下 SBF)を通過させることで、象牙細管内を通過する液体の違いが象牙質知覚過敏抑制材の透過抑制効果におよぼす影響を検討した。

### 【材料および方法】

〈象牙質知覚過敏モデル作製〉う蝕のない健全なヒト抜去大白歯をモデルトリマーおよび耐水研磨紙(#600)にて咬合面から研削し、象牙質の平坦面を作製後、その平坦面から歯根側へ低速ダイヤモンドカッター(Isomet, Buehler)にて厚さ3mmに切り出すことで象牙質板を作製した。象牙質板の歯髄側から残存する歯髄腔をガイドとして、深さ2mmの窩洞をエアタービンにて注水下で形成した。その窩洞内のスマイヤ層除去を目的として、表面処理材レッド(サンメディカル)にて30秒間エッチングを行った。エッチング後、象牙質表面のスマイヤ層除去を目的として、30分間超音波洗浄を行った。

〈使用材料〉歯科用シーリング・コーティング材であるハイブリッドコートII(サンメディカル, 以下 HC2), 歯科用知覚過敏抑制材料であるトクヤマシールドフォースプラス(トクヤマデンタル, SFP), MSコートONE(サンメディカル, 以下 MSO), スーパーシール5秒(Phoenix Dental, Inc., 以下 SS5)を使用した。

〈象牙質透過性測定〉Pashleyらが報告した象牙質透過性測定装置を作製した。処置を施していない象牙質面に、歯髄側から歯冠側へ静水圧20cmH<sub>2</sub>Oで象牙細管内にSBFを通過させることで単位時間当たりの流量を測定した。静水圧がかかった状態で同一象牙質面上記材料をメーカー指示通りに処置し、同様の手順で流量を測定した。処置前後の流量から象牙質透過抑制率(%)を算出した。得られた結果はtwo-way ANOVA および Tukey 法を用いて有意水準5%で統計処理を行った。

### 【結果】

蒸留水又はSBFにおける象牙質透過性測定の結果を表1に示す。4つの材料全てにおいて、象牙細管を通過する液体の種類に関係なく象牙細管内液の移動を抑制した。蒸留水における象牙質透過抑制率は、SS5で有意に低かったが、SBFにおいては、いずれの材料においても有意差は確認されなかった。

表1. 象牙質透過抑制率 Mean(±SD)(%)

	HC2	SFP	MSO	SS5
蒸留水	68.8(10.7)Aa	60.8(5.3)Aa	61.8(23.4)Aa	39.3(17.3)Ab
SBF	63.3(15.7)Aa	51.5(12.9)Aa	65.7(18.1)Aa	54.8(23.0)Aa

大文字のアルファベットは、各列内の数値間の有意差を、  
小文字のアルファベットは、各行内の数値間の有意差を表し、  
同文字間には有意差がないことを表す(p>0.05)。

### 【考察】

全ての象牙質知覚過敏抑制材において、蒸留水およびSBF間に有意な差は確認されなかったが、レジン系材料よりもシュウ酸系材料のほうがSBFにより象牙質透過抑制の効果が高くなる傾向が見られた。この傾向は、歯質からのカルシウムイオン成分だけでなく、SBFに含まれる金属イオン成分とシュウ酸との反応物による象牙細管封鎖によるものと考えられる。

知覚過敏抑制材の象牙質透過性に及ぼす影響  
東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座歯科保存学分野<sup>1</sup>  
口腔生物学講座歯内歯周治療学分野<sup>2</sup>  
○山口純世<sup>1</sup> 兼平正史<sup>1</sup> 石幡浩志<sup>2</sup> FINGER W.J.<sup>1</sup>

Effect of multiple application of dentin desensitizing agents on dentin permeability  
Division of Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry<sup>1</sup>, Division of Periodontology and Endodontology<sup>2</sup>,  
Tohoku University Graduate School of Dentistry

○YAMAGUCHI Sumiyo<sup>1</sup>, KANEHIRA Masafumi<sup>1</sup>, ISHIHATA Hiroshi<sup>2</sup>, FINGER Werner J.<sup>1</sup>

### Introduction

Dentin hypersensitivity (DH) is characterized by short, sharp pain arising from exposed dentin in response to tactile, evaporative, chemical or thermal stimuli. The mechanism of pain transmission from dentin to the pulp is not fully understood. According to Brännström's hydrodynamic theory external stimuli cause rapid fluid flow in the dentinal tubules, activate mechanoreceptors at the pulp-dentin interface, and provoke pain. Common strategy for DH treatment is occlusion of the patent tubules. Recently, new desensitizing agents were introduced to the Japanese market, aiming at blocking tubules by precipitation of calcium- or silicate phosphate crystals, or by precipitation of artificial hydroxyapatite.

Aim of this in vitro investigation was to evaluate the effects of two new desensitizing agents after single or multiple applications on reduction of dentin permeability.

### Material and Method

Nanoseal<sup>®</sup> (Nano: NISHIKA) and Teethmate<sup>®</sup> Desensitizer (TMD: Kuraray) were investigated. Coronal dentin slices (1.4 mm) were cut from third molars and cleaned with EDTA. The desensitizer components were mixed and applied for 1 min on the occlusal side of the slices (Nano-N, TMD-N). In a second group specimens treated as above were rinsed and received 9 subsequent additional coatings (Nano-10, TMD-10). Dentin permeability was determined using a split chamber chemiluminescence method. Upon pressurizing an activator liquid from the apical side, the solution may pass through the discs to an illuminant-containing chamber and produce a luminescence reaction. The photo signal is recorded with a photomultiplier tube detector.

Permeability was determined twice under 2.5 kPa liquid pressure for 2 min and 13 kPa for 1 min, respectively, after 1 hour storage at 100% r.h. and then after 1 day, 1 week and 1 month storage in water. The area under the output voltage line during pressurizing was integrated (mV•s) and served as measure of permeability. Statistical evaluation: ANOVA and multiple comparisons at  $\alpha \leq 0.05$ .

Two representative specimens from each material group were fractured, Pt-sputtered and inspected by SEM.

### Results

After one application, there was no or moderate reduction in permeability with both products. In contrast, repeated application of both desensitizing agents showed significantly reduced permeability. SEM photographs after single application showed opened tubuli (Nano-N), whereas TMD-N group specimens displayed a thin surface layer, bridging the tubular entrances. After 10 coatings with each desensitizer the dentin surfaces were uniformly covered (approx. 1 $\mu$ m), and plugs were detected in the tubular orifices.

### Discussion and Conclusion

Single application of the suspensions is insufficient to occlude the open dentin tubuli and to reduce permeability. Ten subsequent coatings showed however significantly less permeability due to thicker precipitation layers. Element analyses on specimens cut perpendicular through the coated surface are in progress and might give a clue to understanding of the phenomena. Further trials will show, whether two or three coats only would have an appreciable permeability reducing effect.



## 極薄アパタイトシートを用いた象牙細管の封鎖効果についての検討

近畿大学生物理工学部<sup>1</sup>, 大阪歯科大学歯科保存学講座<sup>2</sup>

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

Examination on sealing effect of dentinal tubule using the ultrathin hydroxyapatite sheet

Kinki University<sup>1</sup>, Osaka Dental University<sup>2</sup>

○ISAI Arata<sup>1</sup>, YAMAMOTO Ei<sup>1</sup>, KATO Nobuhiro<sup>1</sup>, NISHIKAWA Hiroaki<sup>1</sup>, YOSHIKAWA Kazushi<sup>2</sup>,  
YAMAMOTO Kazuyo<sup>2</sup>, HONSTU Shigeki<sup>1</sup>

### 【研究目的】

現在、象牙質知覚過敏症の治療にはレジン塗布法やレーザー照射法が用いられているが、前者は有機成分によるアレルギー反応の問題や生体への親和性の問題があり、後者はレーザーの照射出力の設定が難しく、高エネルギーだと患部の炭化が起り、低エネルギーだと効果が認められないという問題がある。象牙質知覚過敏症の理想の治療は象牙質上にハイロドキシアパタイト(HAp)で人工エナメル質を形成することが望ましいが、象牙質上にエナメル質を形成することは不可能とされ、歯科分野での永遠の課題とされてきた。我々は柔軟性を持つ極薄 HAp シートを開発し、歯質の修復・保存をオールアパタイトで行うことを試みている。本研究では、エナメル質の喪失により生じる象牙質知覚過敏症の HAp シートによる治療の実現の第一歩として、極薄 HAp シートの象牙細管の封鎖効果について検討を行ったので報告する。

### 【材料および方法】

石英基板上にレジストを塗布したものを HAp 薄膜作製用の基材とした。この基材上にパルスレーザーデポジション(PLD)法を用いて、これまで報告した成膜条件と同条件[1]で HAp 薄膜を成膜した。次に、薄膜と基板の中間層となるレジストを有機溶剤により溶解させ HAp 薄膜を極薄シートとして回収した。一方、ヒト抜去歯はレジンで包埋した後、歯根歯冠境界部で切断して、象牙質を露出させ#2000 の耐水研磨紙で研磨した。塩酸により pH を 2.0 に調整したリン酸カルシウム水溶液を用いて HAp シートを象牙質上に貼付し、シートとエナメル質の界面を一度脱灰させた。その後、30 分後と 1 日ごとに人工唾液を塗布して界面の再石灰化を行った。また、シートを貼付した象牙質は、象牙細管内に常に水分が供給させている状態で保管した。HAp シートの象牙質に対する固着応力は、3φの引張り治具を用いた引張り試験法により評価した。HAp シートとエナメル質との界面状況は走査型電子顕微鏡(SEM)により観察した。なお、ヒト抜去歯の使用については大阪歯科大の倫理委員会の承認を得た。

### 【結果および考察】

得られた HAp シートは透明かつ柔軟性があった。図 1 に象牙質上に貼付した HAp シートの 1 日後における光学写真を示す。図より、象牙質上にシートが固着している様子がわかる。図 2 にシート貼付 6 日後における固着強度を引張り試験法により測定した結果を示す。HAp シートの象牙質に対する固着応力は 3.2MPa であった。図 3 に HAp シート/象牙質界面の断面 SEM 観察結果を示す。図より HAp シートが再石灰化層を介して象牙質に隙間なく付着していることがわかる。この再石灰化層が象牙質に対して良好な接合界面として働き、象牙細管を封鎖し、象牙質知覚過敏症の治療に有用な手段になると思われる。



図 1. 象牙質上に貼付した HAp シート(1日後)

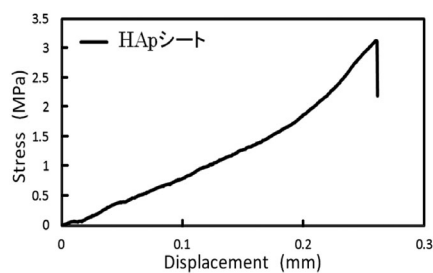


図 2. 象牙質上に貼付した HAp シートの引張り試験結果(6 日後)

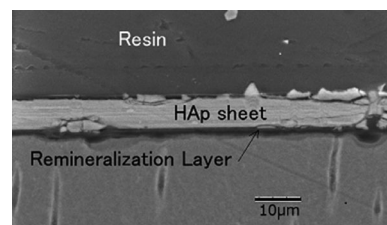


図 3. 象牙質上に貼付した HAp シートの断面 SEM 観察結果(6 日後)

### References

[1]S.Hontsu et al. *Key Engineering Materials*, 494-494 (2011) 615

## 新規モノマーCMET配合シーリングコート材の象牙質接着性への影響

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  
○伊藤 修一、甕 富美子、Nahid Al NOMANN、斎藤 隆史

Effect of sealing coat material including newly developed adhesive monomer CMET  
on Dentin bond strengths

Division of Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,  
Health Sciences University of Hokkaido.

○ITO Shuichi, MOTAI Fumiko, Nomann Nahid Al, SAITO Takashi

### [諸言]

レジ系知覚過敏抑制は広く使用されているが、その長期耐久性には問題がある。これまでに、歯面処理後の脱灰象牙質コラーゲンにボンディング材が浸透しないナノスペースが存在し、経時的に露出コラーゲン及びそれに接するボンディング材の加水分解が起こり、接着界面の崩壊が引き起こされることが報告されている。そこで、象牙質再石灰化誘導活性を有するモノマーを配合した修復材料を開発し、それによりナノスペースが石灰化物で封鎖され、修復材料の耐久性が向上することを期待した。

本研究では、新規モノマーである 4MET-Ca (calcium 4-methacryloxyethyl trimellitate; 以下 CMET) をハイブリッドコート (サンメディカル, 以下 HC) に配合したシーリング・コート材を試作し、その接着性及び石灰化の可能性について検討した。

### [材料と方法]

1. 微小引張試験 ヒト抜去大白歯16本を用いた。歯冠部中央を歯軸に対して垂直に切断し、象牙質を露出させ研磨、洗浄を行った。HCに0%, 1.5%CMET を配合したものをそれぞれ歯面処理し、コンポジットレジンで築盛、硬化させて試料を作成した (HC群, CMET群)。得られた試料を切り出し、37°C水中保管した。24時間後、3ヶ月後、6ヶ月後、2年後にランダムに選択した15個の試料を用い、万能試験機 (EZ-test, Shimazu) を用いて微小引張接着強さの測定を行った。測定値は Mann-Whitney検定を用い、有意水準5%にて統計処理を行った。

2. 粘弾性の測定 HC の光重合未配合品、及びそれに CMET を 1.5%添加したものを作成し、アセトンを留去して静置し、下層を試料とした (HC 群, CMET 群)。これらの試料を HAAKE MARKIII (Thermo Scientific) を用いて、ずり速度 0.01~1rad にて粘弾性を測定した。

### [結果および考察]

CMET 群における接着強さは 24 時間後 41.8±4.0MPa, 3 ヶ月後 34.0±7.8MPa, 6 ヶ月後 27.9±7.0MPa, 2 年後 22.6±8.2MPa であり、HC 群は 24 時間後 30.9±8.7MPa, 3 ヶ月後 28.7±7.9MPa, 6 ヶ月後 19.8±10.1MPa, 2 年後 13.5±7.4MPa であった。24 時間後、6 か月後、2 年後において CMET 群が有意に高い値を示した ( $p<0.05$ )。

粘弾性の測定において、HC に CMET を加えることにより、粘弾性が上昇した。また、HC 群はずり速度を上げて粘弾性がほとんど上昇せず、CMET 群は 0.05rad まではあまり変化が認められないが、その後急激に粘弾性が低下した。また、CMET 群の 2 回目の測定では、1 回目に比べて粘弾性が低下した。歯面へのボンディング材の通常操作にはエアブローが必須であるが、粘弾性の向上は塗布、エアブロー後の歯面へのボンディング材の残留量に影響を及ぼした可能性がある。また、CMET は予備実験で、4MET にカルシウムが分子内で結合している場合と、CMET 同士がカルシウムを介して弱い分子間結合をしている場合が混在することがわかっている。CMET 群は低剪断領域で粘度変化の少ない領域が確認された。また、CMET 群の繰り返し測定を行った場合、1 回目に比べて 2 回目は粘弾性が低下した。このことは、CMET が分子間で弱い網目構造を形成しており、低変位では網目構造は壊れないが、高変位では壊れたのではないかと推察された。

HC に CMET を加えることにより、粘弾性が上昇し、象牙質接着性が向上したと推察された。

### [結論]

CMET 配合コート材は象牙質接着界面の耐久性に優れ、長期に渡り象牙質知覚過敏抑制作用を発揮する可能性が示唆された。

**石灰化促進作用を有する機能性フィラー含有レジン系覆髄材の開発  
—機能性フィラー含有量がレジン系覆髄材の象牙質接着強さに及ぼす影響—**

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

**Development of a new pulp-capping adhesive resin contained calcification promoting filler  
- The effect of filler contents on the dentin bond strength of a new adhesive resin -**

○KAWASHIMA Satoki<sup>1)</sup>, SUZUKI Masaya<sup>2)</sup>, ARITA Shoko<sup>1)</sup>, TAKADA Mayo<sup>1)</sup>, KATO Chikage<sup>2)</sup>, TAIRA Yoshihisa<sup>3)</sup>, SHINKAI Koichi<sup>2)</sup>

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

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

<sup>3)</sup>Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

**【研究目的】**

S-PRG フィラーは、多機能性ガラス、グラスアイオノマー相および表面改質層の3層からなり、Na、Al、Si、F、Sr および B の6種類のイオンを徐放するという性質がある。Sr や B は石灰化促進作用を有することから、S-PRG フィラーを配合した接着性レジンに直接覆髄材として応用できる可能性がある。本実験では、試作したデュアルキュア型ワンステップアドヒーズシステムの S-PRG フィラー含有量が象牙質の微小引張接着強さに及ぼす影響について評価した。

**【実験方法】**

ヒト抜去大白歯の咬合面に、耐水研磨紙 #120～#600 を用いて平坦な象牙質面（各実験群につき5歯）を形成し、透明アクリルチューブ（内径6mm、高さ3mm）を固定した。使用材料と実験群を表1に示す。S-PRG フィラーの含有量が異なる4種類のボンドA（S-00A、S-13A、S-27A、S-40A）とボンドBを各1滴ずつ混和皿に採取し、マイクロブラシで十分に攪拌後、被着面に塗布した。20秒間放置後エアブローを行い、キャンデラックス（morita）を用いて10秒間光照射を行った。コントロールとしてフルオロボンドシェイクワン（shofu）を用いた。その後、ビューティフィル フロープラス F03（A3、shofu）を厚さ約1mm塗布し、20秒間光照射、次いでビューティフィルⅡ（A3、shofu）を約2mm積層し40秒間光照射を行った。接着試料は、恒温恒湿器中（37℃、相対湿度95%）に24時間保管後、アイソメット（buehler）により象牙質接着界面の断面積が1mm<sup>2</sup>となる角柱型ビームを作製した（n=20）。ビームは微小引張試験用治具（Bencor-multi-T試験器：Danville Engineering）に取り付け、小型卓上試験機 EZTest 500N（shimadzu）を用いて、クロスヘッドスピード0.5mm/minで微小引張接着試験を行った。得られたデータは一元配置分散分析後、Tukey法による多重比較検定で実験群間の有意差を検定した（p<0.05）。また、各試料の接着破壊様式を実体顕微鏡 EZ4D（leica）にて判定し、走査型電子顕微鏡 S-800（hitachi）を用いて接着界面を観察した。

**【結果および考察】**

微小引張接着強さの測定結果を表1に示す。試作接着性システムのなかでは、S-PRG フィラー含有量が最も多い Group 4 が最も高い接着強さを示した。Group 2 のみ、コントロールより有意に低い象牙質接着強さを示した（p=0.012）。

**【結論】**

S-PRG フィラー含有量の異なる試作デュアルキュア型ワンステップアドヒーズシステムを用いて微小引張接着強さ試験を行った結果、Group 2 を除いて Control と同等の微小引張接着強さを示したことから、S-PRG を40%含有する Group 4 がレジン系覆髄材として最も有効と考えられる。

表1 微小引張接着強さ

実験群	接着システム	MPa (mean±SD)
Group 1	S-00 A (S-PRG : 0%) + ボンド B	13.5±5.0 <sup>ab</sup>
Group 2	S-13 A (S-PRG : 13%) + ボンド B	12.8±3.7 <sup>a</sup>
Group 3	S-27 A (S-PRG : 27%) + ボンド B	14.2±4.0 <sup>ab</sup>
Group 4	S-40 A (S-PRG : 40%) + ボンド B	15.1±6.1 <sup>ab</sup>
Control Group	シェイクワン ボンド A+ボンド B	17.6±3.5 <sup>b</sup>

同一文字は有意差なし（p>0.05）

## S-PRG フィラー配合試作レジンセメントのフッ素徐放性

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野  
○横山章人、塩出信太郎、山路公造、西谷佳浩、吉山昌宏

### Fluoride release of experimental resin cement containing S-PRG filler

Department of Operative Dentistry, Field of study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,  
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science  
○Akihito Yokoyama, Shintaro Shiode, Kozo Yamaji, Yoshihiro Nishitani and Masahiro Yoshiyama

#### 【研究目的】

Surface reaction-type Pre-Reacted Glass-ionomer (S-PRG)フィラーは各種イオンの徐放性を有することが知られており、合着用セメントへ配合することで二次う蝕の抑制が期待される。その一方で、S-PRG フィラーを構成するガラスアイオノマー相は水和ゲルとなっており、S-PRG フィラーの配合量が増加することによりレジンセメントの機械的性質の低下が危惧される。そこで本研究では、S-PRG フィラー配合レジンセメントを試作し、S-PRG フィラーが最も効果的に作用する配合率を検討することを目的として、S-RPG フィラーの配合率によるフッ素徐放性への影響をフッ素徐放量、フッ素リチャージ量の測定により評価することとした。

#### 【材料および方法】

試作レジンセメントとしてフルオロアルミノシリケートガラス(FASG)フィラーを 68.5wt%含有した UDMA ベースのレジンセメント及び FASG フィラーを S-PRG フィラーで 5、10、15、20、25、30wt% ずつ置換したものを作製し、S-PRG フィラーが含まれていないものを RCPRG-0、以降配合量が少ないものから RCPRG-1,2,3,4,5,6 とした。

フッ素徐放量の測定は、高さ 1mm、直径 15mm の円盤状の試料を作製し、この試料を 37℃、2ml の脱イオン水に浸漬し、1、2、3、7、14 以降 7 日ごとに 6 ヶ月間新しい脱イオン水と交換し、浸漬液中に溶出したフッ素イオン量を測定した。フッ素リチャージ量の測定は、同様に作製した試料を 1、2、3、4、5、6、7 日目に浸漬液の交換とフッ素イオン量の測定を行った。7 日目のフッ素イオン量の測定後、試料を 1,000ppm のフッ化ナトリウム水溶液中に 5 分間浸漬し、脱イオン水中で洗浄し脱イオン水中に浸漬した。再び 8、9、10、11、12、13、14 日目にフッ素イオン濃度を測定した。上記の方法で測定した群をリチャージ(+)群とし 7 日目のフッ素リチャージをしなかった群をリチャージ(-)群とした。リチャージ(+)群のフッ素イオン量の総和とリチャージ(-)群のフッ素イオン量の総量の差をリチャージ量とした。統計分析は、フッ素徐放量の測定では one-way ANOVA と tukey's test を用いた。フッ素リチャージ量の測定では回帰分析を用いた。

#### 【結果および考察】

フッ素徐放量は S-RPG フィラーの配合率の増加に伴い増加した。最初の 14 日間で 6 ヶ月間に徐放されたフッ素のうち RCPRG-0 では 24%、RCPRG-6 では 43%のフッ素イオンが徐放していた。S-PRG フィラー配合率と徐放されたフッ素イオン量の間には強い相関が認められた( $R=0.97$ )。RCPRG-0 と比較し RCPRG-3、4、5、6 で有意に多くのフッ素を徐放した( $p<0.05$ )。フッ素リチャージ量は、S-RPG フィラーの配合率の増加に伴い増加した。S-RPG フィラーの配合率の増加とフッ素リチャージ量の間には相関が認められた( $R=0.92$ )。

S-PRG フィラーはガラスアイオノマー相を含んでおり、この相には多機能ガラスから溶出してきた各種イオンがポリカルボン酸のカルボキシル基とキレート結合することでトラップされた状態で存在している。このため、S-PRG フィラーは初期に各種イオンを FASG よりも多く徐放することができることが考えられた。また、試作レジンセメント周囲のフッ素ナトリウム水溶液に存在する高濃度のフッ素イオンをキレート結合によりトラップし、そしてこのトラップされたイオンを徐放することが考えられた。

以上のことから、15%以上の S-PRG フィラーの配合によりレジンセメントのフッ素徐放量の増加を見込めること、S-PRG フィラーの配合はフッ素の徐放だけでなくリチャージについても有効であることが示唆された。

## S-PRG フィラー配合試作レジンセメントの象牙質接着性

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野  
○塩出信太郎、山路公造、伊澤俊次、星加知宏、西谷佳浩、吉山昌宏

**An adhesive property of experimental resin cement incorporated S-PRG filler**  
Department of Operative Dentistry, Field of study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,  
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science  
○Shintaro Shiode, Kozo Yamaji, Shunji Izawa, Tomohiro Hoshika, Yoshihiro Nishitani  
and Masahiro Yoshiyama

### 【研究目的】

接着技術は歯科臨床において重要なものとなっており、間接法での修復において合着用セメントの機械的性質は修復物の予後を決める大きな要因である。歯質との接着が弱い場合やセメントの機械的性質が低い場合は修復物が脱離したり、歯質の二次う蝕の発生の原因となりうる。二次う蝕の抑制のために合着用セメントへフッ素を添加することが注目されている。松風より修復材料へのフッ素添加のためにガラス粒子表面にガラスアイオノマー相が形成された Surface reaction type Pre-Reacted Glass-ionomer filler (S-PRG フィラー)を配合することが試みられている。S-PRG フィラーはフッ素のリリースおよびリチャージ能に優れていることが知られている。しかしながら、S-PRG フィラーはガラスアイオノマー相を含んでいることから、S-PRG フィラーを配合するとレジン系材料の機械的性質が低下する可能性が考えられる。当教室では第 136 回日本歯科保存学会にて S-PRG フィラーが 20wt%以下配合されているときに圧縮強さ、曲げ強さが低下しないことを発表した。そこで本研究では、S-PRG フィラーを配合した試作レジンセメントの歯質接着性を象牙質微小引張接着試験を行うことにより評価することとした。

### 【材料および方法】

試作レジンセメントとしてフルオロアルミノシリケートガラス(FASG)フィラーを 68.5wt%含有した UDMA ベースのレジンセメント及び FASG フィラーを S-PRG フィラーで 5wt%、10wt%、15wt%、20wt%、25wt%、30wt% ずつ置換したものを作製し、S-PRG フィラーが含まれていないものを RCPRG-0、以降配合量が少ないものから RCPRG-1,2,3,4,5,6 と名付けた。新鮮ヒト抜去大白歯の咬合面を平坦に研削した後、試作プライマーで歯面処理し、硬質レジン(セラマージュ、松風)に試作レジンセメントを塗布し両者を圧接した。4方向から 20秒ずつ光照射(Blue shot、松風)した。24時間 37°Cで水中保管した後、接着界面に垂直で断面が 1×1mmの角柱になるように精密低速切断機(Isomet、Buehler)でトリミングした。小型卓上試験機(EZ test、島津)を用いて微小引張接着試験を行った(24時間群)。また、24時間の水中保管後 2万回のサーマルサイクル負荷時の微小引張接着試験も行った(TC群)。

### 【成績および考察】

測定した各条件における微小引張試験の結果を示す。

	RCPRG-0	RCPRG-1	RCPRG-2	RCPRG-3	RCPRG-4	RCPRG-5	RCPRG-6
24時間群	22.5±5.9	22.6±3.8	23.9±3.0	23.3±6.2	24.1±5.8	22.8±6.4	23.4±6.6
TC群	20.5±8.0	20.8±7.4	21.0±3.6	20.9±6.6	18.9±7.0	17.7±5.5	18.8±6.7

有意差なし (one-way ANOVA, tukey's test,  $p>0.05$ ), (t-test,  $p>0.05$ )

象牙質微小引張接着強さは、24時間群のすべての S-PRG フィラー配合率で有意差が認められなかった。TC群でもすべての S-PRG フィラー配合率で有意差が認められなかった。また、サーマルサイクル負荷の有無で比較しても同じ S-PRG フィラー配合率の試料では有意な差は認められなかった。本試作レジンセメントは象牙質プライマーを前処置として用いている。このことにより、プライマーが象牙質へ浸透し、樹脂含浸層を形成して、象牙質と強固に接着することができたと考えられた。また、破壊形態もセラマージュの凝集破壊が多数観察され、良好な象牙質接着性を有していた。

以上のことから、S-PRG フィラーを配合しても象牙質との接着性に影響を与えることはなく、また長期間接着性を維持できることが示唆された。

## 新規 S-PRG フィラー含有レジン系仮封材が ポリマイクロバイアルバイオフィーム形成におよぼす影響

神奈川歯科大学 口腔治療学講座保存修復学分野<sup>1</sup>, 感染制御学講座微生物学分野<sup>2</sup>  
○ 長谷川晴彦<sup>1</sup>, 向井義晴<sup>1</sup>, 富山 潔<sup>1</sup>, 椎谷 亨<sup>1</sup>, 飯塚純子<sup>1</sup>, 倉持江里香<sup>1</sup>, 寺中文字<sup>1</sup>, 渡辺清子<sup>2</sup>, 熊田秀文<sup>2</sup>,  
浜田信城<sup>2</sup>, 寺中敏夫<sup>1</sup>

### Antimicrobial effect of S-PRG filler containing resin based temporary filling material on the formation of polymicrobial biofilms

<sup>1</sup>Div. of Restorative Dentistry, Dept. of Oral Medicine, <sup>2</sup>Div. of Microbiology, Dept. of Infection Control, Kanagawa Dental College

○ HASEGAWA Haruhiko<sup>1</sup>, MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>, TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1</sup>, SHIYA Toru<sup>1</sup>, IIZUKA Junko<sup>1</sup>, KURAMOCHI Erika<sup>1</sup>,  
TERANAKA Ayako<sup>1</sup>, WATANABE Kiyoko<sup>2</sup>, KUMADA Hidefumi<sup>2</sup>, HAMADA Nobushiro<sup>2</sup>, TERANAKA Toshio<sup>1</sup>

**【目的】** レジン系仮封材は操作の簡便性などから形成窩洞の仮封に広く用いられている一方で、封鎖性に問題があることも指摘されており、除去後に窩洞内の汚染や軽度の脱灰が認められることも報告されている。このような問題を克服するため、surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラー含有レジン系仮封材が新規開発された。S-PRG フィラーはフッ化物、ストロンチウムおよびホウ酸などのイオンを放出し、歯質の脱灰抑制のみならず抗菌活性などを示すことが報告されており、う蝕予防を目的としたコンポジットレジン、歯面コート材や予防填塞材などに広く使用され、有用な歯科材料として注目されている。今回我々は、ポリマイクロバイアルバイオフィームモデル (Exterkate RAM ら, Caries Res., 2010) を用い、多種病原細菌を含むバイオフィームの形成能に対する S-PRG フィラー含有レジン系仮封材の効果を検討した。

**【材料及び方法】 1. 試料作製:** ガラス円板の両面に粒径 50  $\mu\text{m}$  のアルミナでサンドブラスト処理を行った後、超音波洗浄し、高圧蒸気滅菌 (121°C, 15 分) した。各試料の両面に次に挙げる仮封材を約 1mm の厚さで塗布後、30 分間室温で放置し、バイオフィーム形成用の試料とした。実験群は 1) 0%24h 群: S-PRG フィラー非含有レジン系仮封材を塗布後、24 時間培養, 2) 20%24h 群: 20% S-PRG フィラー含有レジン系仮封材を塗布後、24 時間培養, 3) 0%72h 群: S-PRG フィラー非含有レジン系仮封材を塗布後、72 時間培養, 4) 20%72h 群: 20% S-PRG フィラー含有レジン系仮封材を塗布後、72 時間培養の、4 群とした (n=6)。

**2. ポリマイクロバイアルバイオフィームの培養:** ポリマイクロバイアルバイオフィームシステムには 1 被験者から採取した刺激唾液を用いるポリマイクロバイアルバイオフィームモデルを使用した。培養液は buffered McBain 2005 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES 含有) を用い、培養液の交換を 20%24h 群および 0%24h 群では 10 時間で 1 回, 20%72h 群および 0%72h 群では毎日 10 時間および 14 時間で 2 回行ない、嫌気培養 (CO<sub>2</sub>: 10.0%, H<sub>2</sub>: 10.0%, N<sub>2</sub>: 80.0%, 37.0°C) をそれぞれ 24 時間および 72 時間行なった。

**3. 生菌数の測定 (CFU/ml):** 培養開始から 24 時間後と 72 時間後、2 ml PBS 中に各試料を浸漬して 90 秒間超音波処理させて試料からバイオフィームを剥離・分散させた。Cysteine Peptone Water を用いて段階希釈し、血液寒天培地で 4 日間嫌気培養後、CFU/ml を算定した。算定値の統計処理は有意水準 5% で *t* 検定により行った。

**【結果および考察】** 各仮封材を塗布後、ポリマイクロバイアルバイオフィームを 24 時間および 72 時間培養して生菌数を比較した結果、0%24h 群と 20%24h 群間、および 0%72h 群と 20%72h 群間で共に有意差は認められず (p>0.05)、ポリマイクロバイアルバイオフィームの形成は抑制されなかった (0%24h=1.07×10<sup>8</sup>, 20%24h=9.83×10<sup>7</sup>, 0%72h=1.11×10<sup>9</sup>, 20%72h=1.19×10<sup>9</sup>)。S-PRG 含有市販コンポジットレジンや S-PRG 溶出液には *S. mutans* の単一浮遊菌に対して抗菌効果を示すとの報告があるが、本実験のようなポリマイクロバイアルバイオフィームシステムを用いた場合はその効果が十分ではないことが示唆された。しかしながら、仮封材で問題となるのは辺縁漏洩により生じる窩壁と仮封材との間隙に形成されるバイオフィームであり、本実験のような自由表面ではない。辺縁漏洩のような狭い間隙では S-PRG フィラー含有レジン系仮封材から溶出されるイオンは、当然ながら、高濃度となり、望ましい抗菌性を示す可能性は高い。したがって、仮封材の抗菌性を検討するには微小な間隙内に形成されるバイオフィームの形成阻害を定量的に測定できる実験系を構築する必要があると考えられた。

## 各種修復材料と多目的接着システムとの接着

1) 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  
2) さくデンタルクリニック

○岡崎 愛<sup>1)</sup>, 小竹宏朋<sup>1)</sup>, 望月久子<sup>1)</sup>, 作誠太郎<sup>1,2)</sup>, 日下部修介<sup>1)</sup>, 堀田正人<sup>1)</sup>

### Tensile Bond Strength of Multipurpose Adhesion Systems to Restorative Material

Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University, School of Dentistry<sup>1)</sup>, Saku Dental Clinic<sup>2)</sup>

○OKAZAKI Ai<sup>1)</sup>, KOTAKE Hiroto<sup>1)</sup>, MOCHIZUKI Hisako<sup>1)</sup>, SAKU Seitaro<sup>1,2)</sup>, KUSAKABE Shusuke<sup>1)</sup>, HOTTA Masato<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

Minimal Intervention Dentistry の概念により、修復物周囲の二次齲蝕の治療が再修復から補修復へと移行している。これは、歯質だけでなく金属、コンポジットレジン、セラミックスなど、さまざまな被着体に接着する各種プライマーが開発されたことにより実現された。これらのプライマーは被着体の種類ごとに製品が存在し、被着体が複数ある場合に操作手順が複雑になり問題視されている。最近、歯質だけでなく金属、コンポジットレジン、セラミックスに接着する多目的接着システムが開発され各社から発売されているが、これら多目的接着システム間で接着強さを比較した研究は少ない。そこで今回、3種類の多目的接着システムを用い、金属、コンポジットレジン(硬化体)、セラミック、ジルコニアに対して補修復に用いられるフロアブルコンポジットレジンとの引張り接着強さ試験を行った。

#### 【材料および方法】

多目的接着システムとして、スコッチボンドユニバーサルアドヒーズブ(SUA, 3M ESPE), ユニバーサルプライマー+ボンドフォース(UP, トクヤマデンタル), ビューティボンドマルチ+PR プラス(BBM, 松風)を用いた。被着体としてキンバラエース12S(金属, トクリキ), クリアフィルAP-X(CR, クラレメディカル), CEREC Blocs(セラミック, シロナデンタルシステムズ), ナノジルコニア(ジルコニア, パナソニックヘルスケア)を用いた。これらの表面を耐水ペーパー#800まで研磨し、アルミナサンドブラスト処理(50 μm, 0.4MPa)を5秒間行い、表面を粗造化し被着面とした。その後メーカーの指示に従って表面処理を行い、内径3.0mm, 深さ2.0mmのテフロンモールドを固定し、ビューティフィルフロープラスF00(松風)を填入し、光照射して硬化させたものを接着試験用試片とした。試料数は各20個とし、作製試料片は、37°C蒸留水中に24時間浸漬後、引張り試験用アダプターに固定し、万能試験機(EZ Graph, SHIMADZU)にて、クロスヘッドスピード0.5mm/minの条件で引張り、破断時の値を単位面積当たりに換算し引張り接着強さとした。測定データは一元配置分散分析と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、引張り接着強さ試験の結果を示す。金属、CR、セラミックにおいて、UPはSUA、BBMに比較して有意に大きい接着強さを示した。ジルコニアではUP、SUA、BBM間に有意差は認められなかった。

各修復材料によって接着強さは異なっており、CR>(セラミック, ジルコニア)>金属の順であり、金属に対する接着強さを向上させる必要があると思われる。また、もっとも接着強さが大きかった多目的接着システムはUPであった。

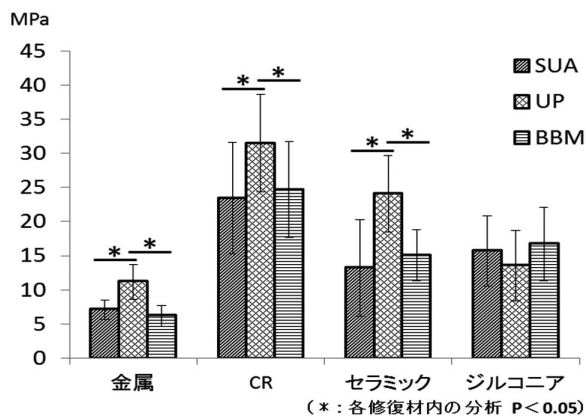


図1 引張り接着強さ試験

### S-PRG フィラー配合歯磨剤のポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する抗菌活性

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 保存修復学分野<sup>1</sup>, 神奈川歯科大学 感染制御学講座 微生物学分野<sup>2</sup>  
○倉持江里香<sup>1</sup>, 向井義晴<sup>1</sup>, 富山 潔<sup>1</sup>, 熊田秀文<sup>2</sup>, 椎谷 亨<sup>1</sup>, 飯塚 純子<sup>1</sup>, 三宅 香<sup>1</sup>, 長谷川晴彦<sup>1</sup>,  
渡辺清子<sup>2</sup>, 浜田信城<sup>2</sup>, 寺中敏夫<sup>1</sup>

#### Antibacterial effect of the S-PRG filler containing tooth paste on the polymicrobial biofilms

<sup>1</sup>Div. of Restorative Dent, Dept. of Oral Medicine, <sup>2</sup>Div. of Microbiology, Dept. of Infection Control,  
Kanagawa Dental College  
OKURAMOCHI Erika<sup>1</sup>, MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>, TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1</sup>, KUMADA Hidefumi<sup>2</sup>, SHIYA Toru<sup>1</sup>, IIZUKA Junko<sup>1</sup>,  
MIYAKE Kaori<sup>1</sup>, HASEGAWA Haruhiko<sup>1</sup>, WATANABE Kiyoko<sup>2</sup>, HAMADA Nobushiro<sup>2</sup>, TERANAKA Toshio<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

口腔を清潔で健康な状態に保つことで口腔疾患の予防のみならず、高齢者における主要な死亡原因となっている誤嚥性肺炎などの呼吸器感染症を抑制することが、かなりの率で可能であると考えられている。到来する超高齢社会に対応するために、高齢者の口腔の健康を維持・増進する対策の構築は歯科界喫緊の重要課題である。surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーは、フッ化物、ストロンチウムおよびホウ酸などのイオンを放出し、歯質の脱灰抑制のみならず、口腔細菌に対して抗菌活性を示すことが報告されており、ブラークの機械的清掃が十分には行えない患者、あるいは清掃しにくい部位においても S-PRG フィラーから溶出されるこれらイオンが口腔の健康状態を良好に保つ一助となる可能性がある。本研究の目的は、ポリマイクロバイアルバイオフィルムモデル (Exterkate *et. al.*, Caries Res, 2010) を用いて S-PRG フィラーを含有する歯磨剤および S-PRG フィラーからの溶出成分がバイオフィルム形成に与える影響を検討することである。

#### 【材料および方法】

ポリマイクロバイアルバイオフィルム形成用基質にはφ12 mm のガラス試片を用いた。1 被験者から採取した刺激唾液を液体培地の buffered McBain 2005 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES 含有, pH 7.0) に混入して嫌気培養 (CO<sub>2</sub>: 10.0%, H<sub>2</sub>: 10.0%, N<sub>2</sub>: 80.0%, 37°C) し、初期のバイオフィルムを形成した。培養液の交換は培養 10, 24, 28 時間に行った。培養 24, 28 および 32 時間において次の各種処理液に 10 分間浸漬してバイオフィルムを処理し、以下の 4 群 (n= 6) に分けた。C 群: 脱イオン水 (DW; 対照), P 群: 粒径 1 μm の S-PRG フィラーを 5% 含有する歯磨剤の DW 3 倍希釈液 (松風), V 群: S-PRG 非含有歯磨材の DW 3 倍希釈液 (松風), E 群: S-PRG 溶出液 (松風)。なお、E 群の S-PRG 溶出液は、S-PRG フィラーを DW に 24 時間攪拌して得た上清である。各種処理の後、試料を Cysteine Peptone Water (CPW) で十分洗浄した。使用済みの培養液の pH は培養 10, 24, 28 および 32 時間で測定 (9618-10D, F-71, Horiba) した。32 時間における処理および洗浄後に各試料を 2 ml PBS に浸漬して 90 秒間超音波振動させて試料から細菌を剥離し、CPW を用い段階希釈、血液寒天培地に塗抹し 4 日間嫌気培養後、総生菌数 (CFU/ml) を算定した。データの統計分析は One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5% で行なった。

#### 【結果および考察】

培養後の培地の pH は、培養期間中 pH 6.2~7.0 であったことより、buffered McBain 2005 培地は中性領域の良好な緩衝作用を示した。C 群の CFU は  $7.00 \times 10^8$  であったのに対し V 群は  $1.14 \times 10^8$ 、および P 群は  $8.57 \times 10^7$  であり、両群とも有意に低値を示したが (p<0.05)、E 群 ( $8.53 \times 10^8$ ) との間には有意差が認められなかった (p>0.05)。また、P 群は V 群に比較して減少傾向は示したが、統計学的有意差は認められなかった (p>0.05)。P 群の CFU が C 群に比較して有意に低いのにに対し E 群の CFU が同等であったのは、S-PRG フィラー粒子がバイオフィルムに吸着する可能性、ならびに歯磨剤に含まれる界面活性剤がバイオフィルム内に拡散する、あるいは S-PRG 溶出イオンの拡散を促進する可能性を示唆するものであり、さらなる検討が必要である。さらに、実際のブラーク内では pH が 4.0 付近まで低下すると報告されているため、耐酸性細菌種が優勢になる unbuffered McBain 2005 培地による検討も必要と思われる。



## S-PRG フィラー含有試作歯磨剤がウシ象牙質におよぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1</sup>, 総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>, 日野浦歯科医院<sup>3</sup>

○竹中宏隆<sup>1</sup>, 村山良介<sup>1</sup>, 瀧本正行<sup>1</sup>, 遠藤 肇<sup>1</sup>,  
安田源沢<sup>1</sup>, 黒川弘康<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>1,2</sup>, 日野浦 光<sup>3</sup>

### Influence of S-PRG Filler Containing Dentifrice on Bovine Dentin

Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center<sup>2</sup>,  
Nihon University School of Dentistry,  
HINOURA Dental Clinic<sup>3</sup>

○TAKENAKA Hirota<sup>1</sup>, MURAYAMA Ryouyuke<sup>1</sup>, TAKIMOTO Masayuki<sup>1</sup>, ENDO Hajime<sup>1</sup>,  
YASUDA Genta<sup>1</sup>, KUROKAWA Hiroyasu<sup>1,2</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup> and HINOURA Ko<sup>3</sup>

#### 【研究目的】

Minimal Intervention という治療概念の普及に伴い、臨床においても齶蝕リスクを低減化させることに焦点が置かれている。とくに、高齢者においては歯肉退縮に伴う根面齶蝕の増加が考えられるが、実質欠損を伴う根面齶蝕は環状に進行し隣接面に及ぶ場合も多く、修復操作は極めて困難となる。したがって、広範囲な実質欠損となる前の初期段階で積極的に再石灰化療法を行うことで根面齶蝕の進行を抑制することが重要となる。一方、高齢者においては全身的な問題などから治療に制限を受けることも多く、フッ化物配合歯磨剤などホームケア製品を応用することで齶蝕リスクをコントロールすることが行なわれている。しかし、これらのホームケア製品の効果は、患者個人の実行性やブラッシングの手技に大きく影響を受けるとともに、歯磨剤に含まれるフッ化物濃度にも制限があるのが現状である。そこで演者らは F 以外にも Si あるいは Sr などの石灰化に関与するイオンを徐放する S-PRG フィラーを含有する試作歯磨剤に着目し、この歯磨剤を象牙質に適用させた際の状態変化を、超音波パルス法を用いて検討した。また、レーザー顕微鏡および走査型電子顕微鏡を用いて観察することで考察資料とした。

#### 【材料および方法】

##### 1. 超音波測定用試片の作製

ウシ抜去下顎前歯歯根部象牙質をブロックとして切り出した後、耐水用 SiC ペーパーの#2000 まで順次研し、4×4×1 mm の大きさに調整したものを超音波測定試片とした。

##### 2. pH サイクルの設定

超音波測定用試片に対して、以下の pH サイクルを 1 日 2 回、28 日間適用した。

- 1) EDTA (pH4.75) で 10 分間脱灰した後、37°C 人工唾液に 12 時間保管 (Control 群)
- 2) EDTA で 10 分間脱灰した後、S-PRG 含有歯磨剤希釈液に 10 分浸漬後、37°C 人工唾液に 12 時間保管 (PRG 群)
- 3) EDTA で 10 分間脱灰した後、フッ化物含有歯磨剤希釈液 (フッ素イオン濃度 900 ppm) に 10 分間浸漬後、37°C 人工唾液に 12 時間保管 (F 群)

##### 3. 超音波伝搬時間の測定およびレーザー顕微鏡観察

超音波測定装置 (Model 5900, Panametrics) を用いて超音波の伝播時間を測定、縦波音速を求めることで、象牙質の状態変化を経時的かつ非破壊に測定した。なお、超音波の伝播時間の測定時期としては、実験開始前および実験開始 1, 7, 14, 21 および 28 日経過とし、あわせてレーザー顕微鏡を用いて象牙質の表面性状を観察した。

##### 4. SEM 観察および元素組成分析

実験期間の終了した試片に対して、FE-SEM (ERA8800-FE, Elionix) を用いて試片の断面を観察するとともに、元素分析 (EDAX Genesis, Elionix) を併せて行った。

#### 【成績および考察】

Control 群では、縦波音速は実験開始前と比較して、実験期間を通じて低下する傾向を示した。一方、PRG 群および F 群では、実験期間の延長に伴い縦波音速が上昇する傾向が認められるものの、その上昇程度は異なるものであった。このように、PRG 群および F 群で縦波音速が上昇した原因としては、歯磨剤に含まれるイオンが、象牙質の脱灰あるいは再石灰化に影響を及ぼしたためと考えられた。

#### 【結論】

pH サイクルに適用した象牙質試片の音速を、超音波パルス法を用いて測定した結果、S-PRG フィラー含有歯磨剤は象牙質の脱灰抑制および再石灰化に影響を及ぼす可能性が示された。

## 近年の歯科用貴金属の価格推移について

王喜歯科医院  
○小西 秀和

Recent Changes of the Precious Metal Prices for Dental Treatment  
Ouki Dental Clinic  
OKONISHI Hidekazu

### 【研究目的】

近年、わが国における歯科用の貴金属価格は軒並み上昇傾向を続けており、ここ2~3ヶ月は政府の政権交代による政策転換の影響もあり(円安・株価高)、貴金属価格が高止まりの傾向を示している。一方、現在のわが国の保険診療報酬体系は十分に貴金属の価値を担保したものとは言い難く、今後消費税増税の可能性も高いことから、ほとんどの地域の個人開業の歯科診療所でも医療経営上の死活問題となっている。

そこで本研究では、近年の歯科用貴金属の価格推移について調査を行い、わが国の歯科医療における危機的状況を乗り切る手段について、筆者なりに考察を加えた。

### 【材料および方法】

各種貴金属の価格推移のデータを閲覧できるホームページ(HP)にアクセスし、特に歯科用貴金属として頻用されている金・白金(プラチナ)・パラジウム・銀の四種類に関して、各金属1gあたり(銀は100gあたり)の最近3ヵ年分の価格推移について調査し、さらに12%金銀パラジウム合金(略称一金パラ)に関しても、合金30gあたりの最近3ヵ年分の価格推移について調査を行った。

### 【結果】

- ・金—3年前は1gあたり約3500円で、その後徐々に上昇傾向を示し、現在1gあたり約4800円となっている。
- ・白金(プラチナ)—3年前は1gあたり約5000円で、その後徐々に下降傾向を示すも昨年から上昇傾向に転じ、現在1gあたり約4800円となっている。
- ・パラジウム—3年前は1gあたり約2300円で、その後徐々に下降傾向を示すも昨年から上昇傾向に転じ、現在1gあたり約2250円となっている。
- ・銀—3年前は100gあたり約9000円で、その後上昇・下降を示すも現在ほぼ横ばい傾向である。
- ・金パラ—3年前は30gあたり約28000円で、その後上昇・下降を示すも最近は上昇傾向が強まり、現在30gあたり約33000円となっている。  
(現在とは、本学会抄録を作成していた平成25年3月1日当時をさしている。)

### 【考察】

歯科用貴金属の使用が不可欠なケース(咬合圧のかかる保険の歯冠修復・補綴物、ならびにロングスパンのブリッジなど)を除いては、患者の金属アレルギー等の存在も考慮し、可及的にメタルフリー修復(コンポジットレジン修復やファイバーポスト築造、あるいは硬質レジン、ポーセレン、ジルコニア材の応用など)を心がけることで、個人開業の歯科診療所の経営に対しても安定感をもたらす可能性が示唆された。

## 口腔内内視鏡システムの臨床応用のための in vitro 試験

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科学部門<sup>1)</sup>

長田電機工業 (株)<sup>2)</sup>

○長谷川篤司<sup>1)</sup>、勝又桂子<sup>1)</sup>、伊佐津克彦<sup>1)</sup>、池田哲<sup>1)</sup>、高島英利<sup>1)</sup>、長田将治<sup>2)</sup>

### In vitro study for clinical application of the Dental endoscope system

Department of Conservative dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,

Showa University School of Dentistry<sup>1)</sup>, Osada Electronic Co., LTD<sup>2)</sup>

○HASEGAWA Tokuji<sup>1)</sup>, KATSUMATA Keiko<sup>1)</sup>, ISATSU Katsuhiko<sup>1)</sup>,

IKEDA Satoshi<sup>1)</sup>, TAKASHIMA Hidetoshi<sup>1)</sup>, OSADA Masaharu<sup>2)</sup>

#### 【目的】

1990年代後半から歯科用顕微鏡が幅広く臨床応用されるようになり、特に歯内治療領域でその有用性が数多く報告され、高い評価を得ている。これら歯科用顕微鏡の有効性としては①高拡大下での観察による診察、診断精度の向上、②観察下での精密な治療だけでなく③安定的な診療姿勢と十分な視認性能による歯科医の健康維持にも寄与するなどが挙げられる。

一方、歯科用顕微鏡は①機器が高価、②機器が大きい、という導入に関するハードルが高いだけでなく、③術者には専門的な教育とトレーニングが求められ、④場合によっては介助者が必須となる可能性が普及を遅らせているとも考えられる。さらに、歯科用顕微鏡の視点が口腔外の対物レンズ先端にあるため、治療器具と術者の手指が術野を遮らないように対象物と接眼レンズの間に介入しなければならないことも高い施術技能が求められる要因になっていると考えられる。他方、ファイバースコープを応用した内視鏡はすでに医療で幅広く応用されており、視点がスコープ先端となるため、術野を確認しながら治療器具を動作させられる可能性や口腔外からの直線的な視線では視認できない部位を観察できる可能性などを秘めているにもかかわらず歯科界ではあまり報告がない。

オサダ社製オーラルスコープOOS-1はハンドピース、制御用PC、フットスイッチで構成される歯科用ファイバースコープである。先端ファイバースコープ部は直径0.9mm、約4cmで金属性チューブで被覆保護され、モノアングルのカーブが与えられている。円柱状ハンドピースは直径約20mm、全長約205mm〔ファイバースコープ部を含む〕、約75gであり、USBケーブルでPCと接続して管理用ソフト (Osada Oral Scope Viewer Ver. 1.0.1) で制御している。本研究では口腔内内視鏡オーラルスコープOOS-1を口腔内に応用するために観察の特性と精度を確認したので報告する。

#### 【材料および方法】

ニッシン社製歯根付人工歯列模型 (i2D-400C) の下顎第1小臼歯の歯頸部マージンラインを描記し、これを参考に歯肉縁下2mm、歯肉縁下4mmの線を描記した。この線の上に電気エンジンに装着した球形スチルバー #1/2 でいくつかの大きさの球形窩洞を形成し、窩洞内を根管と想定した根管観察用試片とした。

ニッシン社製抜髄練習用人工歯で通法通り抜髄術式を行ったのち、電気エンジンに装着した球形スチルバー #1/2、#1、#2で髄床底部にいくつかの大きさの球形窩洞を形成した。次に窩洞内をニッシン社製歯石作成レジンセット (Dental Calculus Set) で充填し、硬化後表面を鎌形スクレーパーで仕上げて歯周 (歯垢、歯石) 観察用試片とした。

オーラルスコープOOS-1は管理ソフト立上げ後に、規定の焦点補正シート (フォーカスチェッカー) でキャリブレーションを行ってから使用した。

#### 【成績】

オーラルスコープOOS-1は歯肉縁下4mmの部位でも直径約0.3mmの根面充填物を明瞭に視認でき、これの1/10以下の大きさでも十分に視認できると考えられた。

#### 【考察および結論】

口腔内内視鏡システム (オーラルスコープOOS-1) は適切な解像度を有し、根管の観察、歯肉縁下の観察にも対応できると考えられる。さらに、内視鏡治療に発展できる可能性を十分に持ったシステムである事が明らかとなった。

足場材としての魚コラーゲンの安全性試験  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野  
○池田 毅, 吉澤 祐, 柳口嘉治郎, 山本耕平, 山田志津香, 林 善彦

Bio-safety Properties of Fish Collagen  
Department of Cariology, Nagasaki University  
Graduate School of Biomedical Sciences  
○Ikeda Takeshi, Yoshizawa Yuu, Yanagiguchi Kajiro, Yamamoto Kohei,  
Yamada Shizuka, Hayashi Yoshihiko

**【緒言】**再生医療において不可欠な3要素、細胞、足場、栄養素のうち、我々は足場材に関して種々検討を加えている。キトサンの足場材としての特性に関して、キトサンスポンジを試作しすでに報告を行った(第134回日本歯科保存学会学術大会)。残念ながら、キトサンはイヌなどの大動物の歯髄への応用で初期に急性炎症を惹起させる欠点を有していることが判明したため、この点を克服するために人獣共通感染症の対象とならない魚コラーゲンを用いた足場材を考案し物理・化学的性状について報告した(第135回日本歯科保存学会学術大会)。そこで今回魚コラーゲンの生物学的特性について検討したので報告する。

**【材料と方法】**1) 魚コラーゲン: テラピアの皮膚からペプシン可溶化し0.1、0.2%に調整されたタイプIアテロ化コラーゲン(5mM酢酸溶液、0.45 $\mu$ mフィルター濾過済)を(株)ニッピバイオマトリックス研究所より供与された。2) 魚コラーゲングル内における細胞保存について: 実際の臨床での応用を前提として、魚コラーゲンベッド内における細胞の生育状況について骨芽細胞(NOS-1)を使って検討した。

2) 魚コラーゲンの組織反応について: 従来より当教室で歯髄貼薬剤の組織反応を検討する場合に用いている動物(ラット)実験モデル系を使って、切歯露髄面に貼薬した魚コラーゲンによる歯髄組織反応を病理組織学的に検討した。

3) 安全性試験

①細胞毒性試験: ISO規格に準じ、V79細胞を用いた直接法による細胞毒性試験を実施した。

②感作性試験: ISO規格に準じ、モルモットにおける感作性試験を実施した。

③皮内埋入試験: 0.1%魚コラーゲン20-30 $\mu$ lをラット背部皮内へ埋入し、術後1週目に病理組織学的に観察した。

**【結果】**

ゲル内にて細胞の生育が可能な条件(PBS(-)に溶解0.1%魚コラーゲン)が確認できた。なお、この条件で1か月程度の冷蔵保存が可能であることも判明した。

歯髄内反応として、術後1日目には軽度の炎症反応が観察されたが、術後1日目には炎症反応も消退していた。術後7日目には歯髄内へ拡散したコラーゲンの消失が顕著であった。術後7日間をとおして、コラーゲンに対する異物反応は見られなかった。

細胞毒性試験はコロニー形成率が対象群と変わらず細胞毒性はないと判定した。また感作性試験においても、惹起終了後48時間までの投与部位における異常は認められなかった。

皮内試験の結果、1週間後の肉眼所見として完全に周囲皮膚と区別ができないほど異物・炎症反応は認められなかった。また、病理組織学的にも正常皮膚の組織像を呈していた。

**【まとめ】**魚コラーゲンは病理組織学的に歯髄組織における生体親和性および生分解性に優れた生体材料であることが明らかにできた。また、今回実施した3つの安全性試験においても、為害性のない素材であることが確認できたため、臨床応用へ向けた検討をさらに加速させたいと考えている。

**【謝辞】**本研究の一部は平成24年度長寿医療研究開発費で実施した。

**【参考文献】**

1. Hayashi Y: Application of chitosan oligosaccharide and glucosamine in dentistry. In *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*, ed. Se-Kwon Kim, CRC Press- Taylor & Francis Group, 447-460, 2010.
2. Hayashi Y, Yamada S, Ikeda T, Yanagiguchi K: Fish collagen and tissue repair. In *Marine Cosmeceuticals: Trends and Prospects*, ed. Se-Kwon Kim, CRC Press- Taylor & Francis Group, in press, 2011.
3. Hayashi Y, Ikeda T, Yamada S, Koyama Z, Yanagiguchi K, The application of Fish Collagen to The Dental and Hard Tissue Regenerative Medicine. In *Advances in Seafood Processing By-Products: Trends and Applications*, ed. Se-Kwon Kim, Springer, in press

## インターフェロン- $\gamma$ 依存性の細胞内侵入病原体排除における オートファジー関連タンパク質の役割の解明

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座(歯科保存学教室)<sup>1</sup>

大阪大学微生物病研究所 感染病態分野<sup>2</sup>

大阪大学免疫学フロンティアセンター 免疫寄生虫学研究室<sup>3</sup>

○大嶋 淳<sup>1,2,3</sup>, 笹井美和<sup>2,3</sup>, 山本雅裕<sup>2,3</sup> & 林 美加子<sup>1</sup>

### A role for autophagy proteins in IFN- $\gamma$ -mediated elimination of intracellular pathogen

<sup>1</sup>Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry,

<sup>2</sup>Department of Immunoparasitology, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

<sup>3</sup>Laboratory of Immunoparasitology, WPI Immunology Frontier Research Center, Osaka University

○Jun OHSHIMA<sup>1,2,3</sup>, Miwa SASAI<sup>2,3</sup>, Masahiro YAMAMOTO<sup>2,3</sup> & Mikako HAYASHI<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

口腔内にはう蝕や歯周病の原因となる細菌を含め 700 種類にもものぼる多様な細菌が生息し、きわめて複雑な細菌叢を形成している。近年、リステリア菌やサルモネラ菌に代表される細胞内寄生性細菌以外にも、これまで細胞外でのみ増殖すると考えられていた多くの病原微生物が宿主細胞内に侵入可能であることが報告されており、それらの菌の細胞内動態の解明は急務となってきている。一方、細胞侵入した細菌に対し、宿主はオートファジーと呼ばれる自食作用を含む大規模な細胞内分解システムを利用してこれらを効率的に排除することがよく知られているが、オートファジー関連タンパク質の 1 つである Atg5 は自食作用のみならず、インターフェロン- $\gamma$  (Interferon-gamma : IFN- $\gamma$ ) 誘導性 GTP 分解酵素を介して細胞内寄生性細菌の殺傷に関与することも示唆されている。そこで本研究では、特に IFN- $\gamma$  依存性の病原体排除についてよく調べられている細胞内寄生性病原体トキソプラズマ (*Toxoplasma gondii*) をモデルに、IFN- $\gamma$  誘導性殺傷能における複数のオートファジー関連タンパク質の関与を検討した。

#### 【材料および方法】

オートファジーに必須のタンパク質である ATG7、ATG16L1、ATG9a、ATG14 のそれぞれの欠損マウスから得た胎児線維芽細胞 (Mouse embryonic fibroblast : MEF) に、ルシフェラーゼを恒常的に発現しているトキソプラズマを感染させて実験を行った。各遺伝子欠損マウス由来の MEF を 6 穴プレートに  $5 \times 10^5$  / well の濃度で播種し、IFN- $\gamma$  10 ng / ml を含む、もしくは含まない 10 % FBS 添加 DMEM 培地にて 37 °C、5 % CO<sub>2</sub> 下で 24 時間培養したのち、 $5 \times 10^5$  のトキソプラズマに感染させてさらに 24 時間培養後、全細胞を回収・溶解しルシフェラーゼ・アッセイにてトキソプラズマの存在量を比較検討した。また同様に、MEF を  $2.5 \times 10^5$  ずつ播種して IFN- $\gamma$  10 ng / ml にて刺激したのち、24 時間後に  $5 \times 10^5$  のトキソプラズマを感染させ、感染 6 時間後に 3.7 %ホルムアルデヒド含有 PBS にて固定し、標本を得た。それぞれの標本に対して、代表的な IFN- $\gamma$  誘導性 GTP 分解酵素である Irgb6・GBPs ならびにトキソプラズマに特異的な抗体を用いて共染色を行い、共焦点蛍光顕微鏡を用いて各オートファジー関連遺伝子欠損 MEF におけるトキソプラズマとそれらの GTP 分解酵素との共局在について解析を行った。

#### 【結果】

野生型の細胞と比較して、ATG7 および ATG16L1 を欠損した細胞では IFN- $\gamma$  刺激によるトキソプラズマへの殺傷能が著しく抑制され、顕微鏡観察においても IFN- $\gamma$  誘導性 GTP 分解酵素と共局在するトキソプラズマの割合は有意に低下していた。一方、ATG9a および ATG14 欠損細胞では、IFN- $\gamma$  によるトキソプラズマ殺傷能に野生細胞との差はなく、顕微鏡観察における IFN- $\gamma$  誘導性 GTP 分解酵素とトキソプラズマとの共局在化についても変化は認められなかった。

#### 【結論】

今回の結果から、必須オートファジー関連遺伝子群の中でも、ATG7 / ATG16L1 は IFN- $\gamma$  依存的な細胞内寄生性病原体の排除機構に大きく関与している一方、ATG9a / ATG14 の有無はそれほど影響しないことが明らかとなった。このことから、ATG ファミリーの中には自食作用のみならず IFN- $\gamma$  誘導性 GTP 分解酵素を介した細胞内寄生性病原体の排除に関与するものとそうでないものが存在することが示唆された。

### MTI-II が示す骨芽細胞への影響 -抗炎症剤としての可能性の検討-

<sup>1</sup>九州歯科大学齶蝕歯髓疾患制御学分野

<sup>2</sup>聖マリアンナ医科大学 大学院 疾患プロテオーム・分子病態治療学

<sup>3</sup>九州歯科大学総合診療学分野

○平田-土屋志津<sup>1</sup>、岡本一起<sup>2</sup>、寺下正道<sup>3</sup>、北村知昭<sup>1</sup>

#### Effects of MTI-II on Osteoblastic Cells -Possibility as an Anti-inflammatory Drug-

<sup>1</sup>Pulp Biology, Operative Dentistry, and Endodontics, Kyushu Dental University

<sup>2</sup>Clinical Proteomics and Molecular Medicine, St.Marianna University Graduate School of Medicine

<sup>3</sup>Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental University

○HIRATA-TSUCHIYA Shizu<sup>1</sup>, OKAMOTO Kazuki<sup>2</sup>, TERASHITA Masamichi<sup>3</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

【目的】近年、代謝性疾患、発癌、動脈硬化性疾患の発症における「慢性炎症」の関与がクローズアップされている。根尖歯周組織疾患においても、難治症例では十分にコントロールされていない「慢性炎症」が根尖部に持続していることが容易に想像できる。根尖歯周組織に生じた骨欠損の再生を確実にするためには、感染制御と再生療法技術に加え、慢性炎症制御が重要と言える。今回、直接的に炎症の主たるシグナル伝達経路である NF- $\kappa$ B シグナルを抑制するステロイド受容体コアクチベーターの Macromolecular Translocation Inhibitor II (MTI-II) に着目し、骨芽細胞様細胞における炎症応答抑制効果について検討した。

【材料と方法】骨芽細胞様細胞であるヒト骨肉腫細胞 MG-63 に MTI-II 発現プラスミドを遺伝子導入後、位相差顕微鏡下で細胞形態を観察するとともに WST アッセイにより細胞増殖能を測定し遺伝子導入による影響を検討した。次に、MTI-II 発現プラスミドおよび NF- $\kappa$ B ルシフェラーゼ発現プラスミドを同時に遺伝子導入し、炎症性サイトカイン TNF  $\alpha$  (10 ng/ml) で 12 時間刺激後にルシフェラーゼ活性を測定し、NF- $\kappa$ B の転写活性を分析した。さらに、MTI-II 発現プラスミド導入細胞を TNF  $\alpha$  で刺激後、全 RNA を調整し、逆転写酵素を用いて cDNA を合成し、NF- $\kappa$ B 標的遺伝子として Matrix metalloproteinase (MMP) のプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い、MMP-2, 9 の発現を分析した。

【結果】MG-63 細胞に MTI-II 発現プラスミドを遺伝子導入し、位相差顕微鏡で観察したところ、コントロールの細胞と比べて、形態の特徴や細胞増殖能に有意差は認められなかった。一方、MG-63 細胞を TNF  $\alpha$  で刺激すると、NF- $\kappa$ B の転写活性が著しく上昇した。しかし、MTI-II を過剰発現させると MTI-II 濃度依存的に NF- $\kappa$ B の転写活性の上昇が解除・抑制された。また、細胞を TNF  $\alpha$  で刺激しても、MMP-2 の発現に変化はあまり認められず、MTI-II を過剰発現させた細胞でも MMP-2 の発現変化は認められなかった。一方 MMP-9 は、TNF  $\alpha$  の刺激によって発現増加が認められたが、MTI-II を過剰発現させた細胞では、MMP-9 の発現増加が解除・抑制された。

#### 【考察】

今回の結果は、ステロイド受容体コアクチベーターである MTI-II が、骨芽細胞様細胞の形態や増殖能に影響を及ぼすことなく、TNF  $\alpha$  刺激による NF- $\kappa$ B の転写活性を抑制することで、炎症を抑制することを示している。このことから、MTI-II がステロイド剤などと同様に抗炎症剤として有効であることが示唆された。

#### 【結論】

MTI-II は、NF- $\kappa$ B シグナルを阻害することで骨芽細胞様細胞が示す TNF  $\alpha$  刺激による炎症を抑制する。

特許番号：4874798 (日本、査定済)、US 7932226 (米国、査定済)、05755776.1 (EU、査定中)

## プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブの歯根膜細胞の石灰化制御

<sup>1</sup>大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周分子病態学 (口腔治療学教室)

<sup>2</sup>大阪大学歯学部附属病院 近未来歯科医療センター 「口の難病」プロジェクト

○北垣次郎太<sup>1,2</sup>、謝成婕<sup>1</sup>、中村友美<sup>1</sup>、栗田敏仁<sup>1</sup>、森健太<sup>1</sup>、久保田実木子<sup>1</sup>、阪下裕美<sup>1</sup>、山本智美<sup>1</sup>、池上久仁子<sup>1</sup>、小笹匡雄<sup>1</sup>、竹立匡秀<sup>1</sup>、柳田学<sup>1</sup>、山下元三<sup>1</sup>、山田聡<sup>1</sup>、村上伸也<sup>1</sup>

### Effect of proteasome inhibitor bortezomib on the periodontal ligament cell calcification

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

<sup>2</sup>Osaka University Dental Hospital, Challenge to Intractable Oral Diseases

○Jirouta Kitagaki<sup>1,2</sup>, Chengjie Xie<sup>1</sup>, Tomomi Nakamura<sup>1</sup>, Toshihito Awata<sup>1</sup>, Kenta Mori<sup>1</sup>,

Mikiko Kubota<sup>1</sup>, Hiromi Sakashita<sup>1</sup>, Satomi Yamamoto<sup>1</sup>, Kuniko Ikegami<sup>1</sup>, Masao Ozasa<sup>1</sup>,

Masahide Takedachi<sup>1</sup>, Manabu Yanagita<sup>1</sup>, Motozo Yamashita<sup>1</sup>, Satoru Yamada<sup>1</sup> and Shinya Murakami<sup>1</sup>

#### [研究目的]

ユビキチン修飾系は、エネルギー依存的タンパク質分解系の一部として発見されたタンパク質翻訳後修飾系であり、細胞周期・アポトーシス・シグナル伝達・転写調節といった多様な生命現象を制御しており、近年、硬組織形成を制御している可能性が示唆されている。ユビキチン化タンパクを分解するプロテアソームの阻害剤ボルテゾミブが悪性骨髄腫の治療薬として臨床応用されていることや、ボルテゾミブが BMP-2 や Runx2 の分解を阻害することにより骨芽細胞の分化を誘導する結果、マウス頭蓋骨の骨量を増加させることなどから、プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブの硬組織研究へのさらなる応用が期待されている。そこで本研究では、ボルテゾミブの歯根膜細胞の硬組織形成過程に与える影響を検討した。

#### [材料と方法]

高い硬組織形成能を有するマウス歯根膜細胞株 (MPDL-22) を、アスコルビン酸およびβ-グリセロリン酸を含む石灰化誘導培地中で長期培養を行った。プロテアソーム阻害剤ボルテゾミブの MPDL-22 に対する効果を検討するために、以下の各種実験を行った。

##### 1. MPDL-22 に作用させるボルテゾミブの至適濃度の検討

ボルテゾミブ (1-100 nM) を添加し、抗ユビキチン抗体を用いて Western blotting を行い、至適濃度を検討した。

##### 2. 歯根膜細胞の石灰化物形成、および石灰化物形成時に誘導される遺伝子発現に対するボルテゾミブの影響

ボルテゾミブ存在下にて MPDL-22 の長期培養を行い、同細胞における石灰化ノジュール形成をアリザリン染色で検討した。同時に、石灰化物形成時に MPDL-22 に誘導される各種石灰化関連遺伝子発現を real-time PCR 法を用いて検討した。

##### 3. BMP-2 誘導性の石灰化に対するボルテゾミブの効果

ボルテゾミブにて前処理された MPDL-22 に BMP-2 を添加して培養を行い、BMP-2 誘導性の石灰化に対するボルテゾミブの効果を実験室 PCR 法にて検討した。

#### [結果および考察]

ボルテゾミブ 10 nM 以上の添加により、MPDL-22 におけるタンパク質分解阻害作用が認められた。石灰化誘導培地における MPDL-22 の長期培養系へのボルテゾミブ添加により、石灰化ノジュール形成ならびに石灰化物形成時に誘導される骨シアロタンパクの遺伝子発現量の上昇が認められた。また、ボルテゾミブにて MPDL-22 を前処理することにより、BMP-2 誘導性のオステオカルシンの発現が亢進されることが明らかとなった。

#### [結論]

本研究結果から、ボルテゾミブを用いてプロテアソームを介するタンパク質分解作用を阻害することにより歯根膜細胞の石灰化を *in vitro* で誘導できることが明らかとなった。また、ボルテゾミブは BMP-2 誘導性の歯根膜細胞の石灰化を増強することから、その作用機序として、BMP シグナル下流のシグナル伝達タンパク群が標的である可能性が示唆された。

## 象牙質・幹細胞複合体の骨再生への応用

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

○田中雅士<sup>1)</sup> 小栗健策<sup>1)</sup> 森春菜<sup>1)</sup> 川木晴美<sup>2)</sup> 近藤信夫<sup>2)</sup> 吉田隆一<sup>1)</sup>

### Application of dentin-stem cell complex to bone regeneration

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

○Tanaka Masashi<sup>1)</sup> Oguri Kensaku<sup>1)</sup> Mori Haruna<sup>1)</sup> Kawaki Harumi<sup>2)</sup> Kondoh Nobuo<sup>2)</sup> Yoshida Takakazu<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

現在、骨再生療法の現場では様々な材料が開発、使用されている。代表的な補填材としてハイドロキシアパタイト (HA)、 $\beta$ -リン酸三カルシウム ( $\beta$ -TCP)、焼成した牛骨などがあり、自家骨を使用する場合もある。しかし、人工材料や牛骨を用いる場合、組織再生後も残存する場合や何らかの異物反応が生じる可能性がある。また自家骨を用いる場合は採取のための外科的処置が必要となり患者の負担を無視できない。そこで我々は生体材料として供給可能な象牙質に注目した。本研究では象牙質を患者由来の幹細胞の足場として使用し、象牙質・幹細胞を凝集させた複合体として骨補填材への応用を目的としている。そして象牙質・幹細胞凝集塊の作成条件を検討し、第137回日本歯科保存学会 (P96) で発表した。今回は既存の骨補填材である HA や  $\beta$ -TCP を比較対照に凝集塊の形状の観察、細胞数、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性について検討した。

#### 【材料および方法】

1. 抜去歯の採取：実験に用いた抜去歯は患者の同意のもと、矯正治療のために便宜的に抜去される歯、埋伏智歯など口腔内で審美的、機能的に保存不可と診断された歯から齲蝕のない歯を選択し、朝日大学歯学部倫理委員会の承認 (第23111号) を得て採取した。
2. ヒト象牙質の顆粒の作成：抜去歯から象牙質を抽出・粉碎後、粒径 106~212 $\mu$ m の顆粒のみに整粒しその後オートクレーブを用いて滅菌した。
3. 細胞塊の作製：滅菌したヒト象牙質顆粒、HA、 $\beta$ -TCP でコートした 96 ウェルのプレート上で (4.0~0.008mg/ウェル)、ヒト歯髄幹細胞 (ALLCELLS 社、以下 hDPSC) を 7 日~14 日間培養し、4%PFA 固定して ALP 基質染色を行った。
4. 細胞塊の観察：3 で作製した hDPSC の細胞塊を走査型電子顕微鏡 (S4500 : HITACHI 社、以下 SEM) で観察を行った。
5. 細胞塊中の細胞数測定：3 で作製した hDPSC の細胞塊を細胞溶解液を用いて細胞を抽出し、細胞数を調べた。

#### 【結果】

細胞数を変えて細胞塊作成条件を検討した結果  $4 \times 10^4 / \text{cm}^2$  の密度で播種した場合、播種後 3~5 日で凝集し始め、細胞塊が形成されることが示された。細胞塊を固定し、ALP 染色を行ったところ HA は濃染されたが象牙質、 $\beta$ -TCP ではほとんど染色されなかった。SEM 観察を行うと、象牙質顆粒を用いた細胞塊では、多数の細胞が顆粒を被包しているのが観察された。さらに細胞塊中の細胞数を比較すると、象牙質顆粒の細胞塊では細胞増殖が顕著でありコントロールと比較して有意差を認めた。しかしながら HA ではコントロールに比べ細胞数は減少していた。

#### 【結論および考察】

hDPSC は今回すべての材料とともに細胞塊を形成し、骨補填材への応用の可能性が示唆された。象牙質を用いた場合は細胞増殖が促進されており、HA を用いた場合 ALP 活性の上昇がみとめられることから、未分化幹細胞のマーカーや骨芽細胞あるいは象牙芽細胞の分化マーカーを用いて細胞の性状を明らかにする必要がある。今後は細胞塊から mRNA を抽出しマーカー遺伝子の発現解析を行うとともに細胞塊を各種マーカーの抗体を用いて免疫染色を行い細胞の性状を明らかにするとともに、実験動物の皮下への細胞塊移植実験等を行い、骨誘導能についても評価し検討していく予定である。



### 培養幹細胞に対する象牙質顆粒の機能解析

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<sup>1)</sup> 田中雅士<sup>1)</sup> 森春菜<sup>1)</sup> 川木晴美<sup>2)</sup> 近藤信夫<sup>2)</sup> 吉田隆一<sup>1)</sup>

#### Possible roles of dentin particles on the stem cell activities

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 Kensaku<sup>1)</sup> Tanaka Masashi<sup>1)</sup> Mori Haruna<sup>1)</sup> Kawaki Harumi<sup>2)</sup> Kondoh Nobuo<sup>2)</sup> Yoshida Takakazu<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

我々は象牙質を粉碎して得た顆粒を根尖封鎖材として応用すべく研究を行ってきた。そして、象牙質が根尖部で凝塊を形成し dentinal plug を形成することを動物実験にて示した。しかし、象牙質顆粒填入後の周囲組織の応答については不明な点が多い。そこで本研究は象牙質存在下での細胞応答を様々な組織由来の幹細胞(ヒト歯髄由来幹細胞(hDPSC)、ヒト骨髄由来幹細胞(hBMSC)、ヒト脂肪由来幹細胞(hASC))を用いその有用性を検討した。そして象牙質顆粒は hDPSC の細胞増殖を添加量依存的に促進することを見出し第 137 回日本歯科保存学会 (P30) で報告した。今回は人工骨として応用されているハイドロキシアパタイト(HA)やβ-リン酸三カルシウム(β-TCP)を比較対照に細胞播種後の初期接着、増殖、アルカリホスファターゼ(ALP)活性の変化について解析した。

#### 【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℃で凍結保存した。
2. 象牙質、β-TCP、HA 顆粒の作製：抜去歯から象牙質のみを取り出した。その後ボーンミル(YDM社)にて粗砕し、アルミナ乳鉢および乳棒を用いて微粒化し、自動ふるい機にて粒径106~212μmと粒径38μm以下に整粒した。β-TCPおよびHAはアルミナ乳鉢および乳棒で粉碎して微粒化し、象牙質顆粒と同様に整粒した。
3. hDPSC、hBMSC、hASC の培養：3種の幹細胞を、オートクレーブ滅菌したヒト象牙質顆粒4.00mg/cm<sup>2</sup>でコートした培養プレート上で12時間、48時間、および7日間培養した。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。
4. 細胞応答の検討：それぞれの細胞を播種後12時間、または48時間でLysis bufferを用いて回収し、Hoechst染色を行って蛍光強度をプレートリーダー(infinite M200PRO, テカンジャパン社)で測定し、既知の細胞数を同様に処理して得た検量線から細胞数を算出した。7日間培養した細胞はLabAssay™ALP(和光純薬工業)を用いてALP活性を測定した。得られた結果はMann-WhitneyのUの検定を用いて統計処理を行った。

#### 【結果】

象牙質顆粒、HA、β-TCPに対する細胞の初期接着を評価するため播種後12時間経過した細胞数を検討した結果、3種ともコントロールに比べ細胞数は減少傾向であったが有意な差は認められなかった。次いで細胞増殖について検討した結果、象牙質顆粒はコントロールおよび他の2種の材料と比較して3種の幹細胞の増殖を有意に促進した。HA β-TCPでは細胞増殖促進は認められなかった。ALP活性についてはHAが有意に活性上昇を促進したが象牙質顆粒およびβ-TCPには有意な促進効果は認められなかった。

#### 【結論および考察】

今回用いた材料は細胞接着を顕著に阻害するものではなかった。そして細胞増殖においては、象牙質顆粒は比較に用いた人工材料よりも有意に促進効果を示した。しかしながらALP活性には促進効果は認められず、未分化な状態で増殖を促進する基材として有望であることが示唆された。今後は培養後の細胞の性状をさらに詳細に検討するため、mRNAを抽出して遺伝子発現解析を行っていく予定である。

## iPS 細胞由来象牙芽細胞において炎症性サイトカイン誘導 MMP-3 は細胞増殖と抗アポトーシス作用を制御する

○ 山口秀幸<sup>1</sup>, 尾関伸明<sup>1</sup>, 川合里絵<sup>1</sup>, 田中 毅<sup>1</sup>, 檜山太希<sup>1</sup>, 中田和彦<sup>1</sup>, 茂木眞希雄<sup>2</sup>, 中村 洋<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>愛知学院大学歯学部歯内治療学講座, <sup>2</sup>愛知学院大学薬学部生体機能化学講座

### Proinflammatory cytokine-induced matrix metalloproteinase (MMP) -3 modulated cell proliferation and anti-apoptosis in odontoblast-like cell derived from iPS cells

○ Hideyuki Yamaguchi<sup>1</sup>, Nobuaki Ozeki<sup>1</sup>, Rie Kawai<sup>1</sup>, Tsuyoshi Tanaka<sup>1</sup>,  
Taiki Hiyama<sup>1</sup>, Kazuhiko Nakata<sup>1</sup>, Makio Mogi<sup>2</sup>, and Hiroshi Nakamura<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University  
<sup>2</sup>Department of Medicinal Biochemistry, School of Pharmacy, Aichi Gakuin University

#### 【研究目的】

MMP-3は線維芽細胞や滑膜細胞, 軟骨細胞から分泌されるタンパク分解酵素で, コラーゲンやプロテオグリカン, エラスチンなどから成る細胞外マトリックスの分解をはじめとし, 細胞表面に発現するタンパク質の分解, 生理活性物質のプロセッシングなどその作用は多岐にわたる. 本酵素は歯髄幹細胞の増殖と血管内皮細胞の増殖および遊走を促進し, 歯髄の炎症時や創傷治癒過程に発現が増加するとの報告がある. 本研究では, 新規に確立したiPS細胞由来象牙芽細胞を用いて炎症性サイトカイン誘導MMP-3の生理的役割を明らかにするため, MMP-3 siRNA を用いて検討をおこなった.

#### 【材料および方法】

マウス iPS 細胞(京大・山中研より分与)を新規に確立した象牙芽細胞分化誘導法を用いて, 象牙芽細胞に分化誘導させた後, 炎症性サイトカインとして, マウス IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  (PeptoTech) からなるサイトカインミクスチャー (CM) を添加し, RT-PCR 法と Western-blots 法により MMP-3 の発現を評価した. サイトカインによる細胞増殖は WST-1 法 (Roche), アポトーシス細胞死は BrdU 標識 DNA fragment を ELISA (Roche) にて評価した. さらに培養液中の MMP-3 活性を ELISA 法 (AnaSpec) により評価した. MMP-3 siRNA (Santa Cruz) を用いたノックダウンにより, サイトカインによる細胞増殖とアポトーシス細胞死の評価をおこなった.

#### 【結果】

CM 添加 (1, 3 U) において, MMP-3 の遺伝子, タンパク質発現と細胞増殖が統計学的有意 (\*\* $P < 0.01$ ) に認められたが, アポトーシス細胞死は惹起されなかった. さらに, 同濃度の CM 処理にて統計学的有意な MMP-3 活性上昇が観察された. しかしながら, CM 添加 (5U) の条件下では, MMP-3 の発現が認められず, 細胞増殖の低下とアポトーシス細胞死が統計学的有意に惹起された (\*\* $P < 0.01$ ). MMP-3 siRNA により, CM 添加群 (1, 3 U) で, 細胞増殖の抑制とアポトーシス細胞死が惹起され, コントロールと比較して統計学的有意差が認められた.

#### 【考察】

iPS 細胞由来象牙芽細胞において, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  からなる炎症性サイトカインにより誘導された MMP-3 を MMP-3 siRNA を用いてノックダウンすることにより, 細胞増殖が統計学的有意に抑制され, アポトーシス細胞死が惹起されたことから, MMP-3 が炎症時における象牙芽細胞の細胞増殖と抗アポトーシス作用を調節する可能性が示唆された.

## genistein の石灰化誘導メカニズムの解析

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯蝕制御治療学分野

○林 敬次郎、半田 慶介、小池 俊之、Mohammad Ali Akbor Polan、Jia Tang、斎藤 隆史

### Analysis of the mechanisms by genistein-induced calcification

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

○Keijiro Hayashi, Keisuke Handa, Toshiyuki Koike, Mohammad Ali Akbor Polan, Jia Tang, Takashi Saito

#### 【目的】

天然成分である大豆イソフラボンはフラボノイドに分類され、食品添加物やサプリメントとして摂取されている健康食品であり、様々な生理活性効果が期待されている。また、その構造がエストロゲンと類似しているためエストロゲン様作用を有し、特に骨組織で優位に発現するエストロゲンレセプターβ (Estrogen receptor β; ERβ)と高親和性をもつことから、骨粗鬆症の予防や改善に有効であるとされている。我々はこれまでに、大豆イソフラボンのひとつである genistein が、*in vitro* におけるラット歯髄細胞 (Rat Dental Pulp Cells; RDP) の増殖・分化誘導能、および *in vivo* における修復象牙質形成能を有することを報告してきた(第 134・137 回大会)。しかし、genistein による RDP の分化および石灰化機構に関する詳細は解明されていない。そこで本研究では、genistein がラット歯髄細胞の分化・石灰化にどのように関係するか調べるため、各種遺伝子発現およびオステオカルシン(Osteocalcin; OCN)タンパク産生について検討することとした。

#### 【材料および方法】

12 週齢 Wistar 系雄性ラットの両側下顎中切歯から歯髄組織を採取し、細菌性コラゲナーゼにて段階的に酵素消化することにより RDP を得た。RDP は  $4 \times 10^5$  cell/dish の濃度で 60mm dish に播種し 10% FBS を含む DMEM で 37°C、5%CO<sub>2</sub> 存在下にて 24 時間培養後、以下の実験に供した。

1. RDP に genistein を 0.01、0.1、1、10μM (以下 G0.01、G0.1、G1、G10)添加し 10 日および 17 日間培養した。その後、各サンプルの total RNA を抽出し Dentin matrix protein 1 (DMP-1)、Dentin sialophosphoprotein (DSPP)、Runx-related transcription factor 2 (Runx2)、Bone sialoprotein (BSP)、Osteopontin (OPN)、OCN、Alkaline phosphatase (ALPase)、Transforming growth factor-β receptor (TGF-βR)1、TGF-βR2、ERα および β の mRNA 発現量を Real time PCR 法により定量した。

2. 各種濃度の genistein 添加培地で 20 日間培養後に RDP から培養液中に放出された総 OCN タンパク量を ELISA 法によって測定した。Rat Gla-Osteocalcin High Sensitive EIA Kit (TaKaRa)を用いて、マイクロプレートリーダーにより 450 nm の吸光度で測定し算出した。得られた測定値は、細胞に含まれる単位タンパク量当たりの OCN タンパク量として評価した。

#### 【結果】

genistein 添加群では DMP-1、DSPP、Runx2、BSP、OPN、OCN、ALPase、TGF-βR1、ERβ の mRNA 発現量が genistein 未添加群と比較して有意に増加しており、特に G1 では 5~6 倍に発現量が上昇していた。一方、ERα および TGF-βR2 mRNA はすべての群で発現量に大きな変化はみられなかった。OCN タンパク量の定量では、genistein 添加群において産生量が顕著に増加していた。

#### 【考察および結論】

Real time PCR 法の結果より、DMP-1、DSPP、Runx2 などの石灰化関連遺伝子群の発現が 10 日目以降に上昇していた。また OCN タンパク量の定量では、遺伝子発現後の 20 日目に産生量の増加が確認された。このことから、genistein 添加により TGF-βR1 を介して Smad1、5、8 および p38 のリン酸化活性を亢進させ、象牙芽細胞の分化成熟過程で発現する Runx2 および分化マーカーである ALPase の遺伝子発現を誘導し、さらに下流の DMP-1、DSPP、BSP、OPN、OCN の遺伝子発現を上昇させることで RDP を石灰化に導いたと考えられる。また、genistein は ERβ を介して p38 のリン酸化活性を亢進し、細胞周期を制御する cyclin D1、cyclin A の活性を阻害することで細胞増殖を抑制させることが考えられる。以上より、genistein は RDP を象牙芽細胞に分化させ、石灰化へと導く可能性が示唆された。

## ラット培養歯髄細胞の石灰化へ血管内皮細胞培養上清が与える影響について

昭和大学歯科病院・歯内治療科<sup>1</sup>、昭和大学歯学部・口腔生化学教室<sup>2</sup>  
○増田 宜子<sup>1</sup>、山田 嘉重<sup>1</sup>、宮本 洋一<sup>3</sup>、上條 竜太郎<sup>3</sup>、宮崎 隆

**Effects of the cultured medium of the endothelial cells on calcification of rat cultured dental pulp cells.**

Showa University, School of Dentistry, Dept. of Conservative Dentistry, Division of Endodontology<sup>1</sup>, Division of Oral Biomaterials and Technology<sup>2</sup>, Dept. of Biochemistry<sup>3</sup>

○MASUDA Yoshiko<sup>1</sup>, YAMADA Yoshishige<sup>1</sup>, MIYAMOTO Yoichi<sup>3</sup>, KAMIJO Ryutarō<sup>3</sup>, MIYAZAKI Takashi<sup>2</sup>

(目的) 第136回の本学会において我々は、血管内皮細胞と歯髄細胞との膜を介した共培養と直接接した共培養とで TGF- $\beta$  1、Osteocalcin 遺伝子の発現に時期や発現量においてそれぞれ異なる影響が認められ、細胞間の距離によって遺伝子発現に相違があることを発表した。今回、歯髄細胞での Osteocalcin 遺伝子の発現の変化が血管内皮細胞が分泌する培養上清中の液性成分によるものなのかを血管内皮細胞の培養上清を用いて歯髄細胞を培養し Osteocalcin 遺伝子の発現の変化を調べることによって検討することとした。

(材料と方法) 5週齢の雄性 Wistar ラット4匹の下顎切歯より歯髄組織を摘出し、Collagenase、trypsin、EDTA を含む酵素液にて細胞を分離し 5%CO<sub>2</sub> 条件下にて  $\alpha$ -MEM 培地に 10% FBS を加え培養した。

一方ラット大動脈内皮細胞(凍結細胞)(旭硝子)をラット内皮細胞成長培地(旭硝子)にて培養した。コンフルエントになった歯髄細胞を  $1 \times 10^4$  cells/cm<sup>2</sup> の濃度で 6 well plate (Transwell<sup>®</sup>, Corning Inc.) に継代した。

37°C、5%CO<sub>2</sub>にて培養し、歯髄細胞へ培地 2/3、1/2、1/3 の割合で血管内皮細胞培養上清を混ぜて2日毎に交換した。7日後に歯髄細胞の Total RNA を調整し cDNA を合成し Osteocalcin 遺伝子の発現を RT-PCR によって調べた。

(結果) 7日後の RT-PCR の結果、歯髄細胞へ培地 2/3、1/2、1/3 の割合で血管内皮細胞培養上清を混ぜた場合血管内皮細胞の培養上清の割合が減るに従い Osteocalcin 遺伝子の発現も減少していた。

(考察及び結論) 血管内皮細胞の培養上清を 2/3、1/2、1/3 の割合で培地と混ぜ、歯髄細胞を培養すると培養上清の量が多くなる程 Osteocalcin 遺伝子の発現が増加したことから歯髄細胞の Osteocalcin 遺伝子の発現を増加させる因子が血管内皮細胞の液性成分に由来する可能性が示唆された。他の TGF- $\beta$  1 遺伝子や Dspp 遺伝子の発現や、血管内皮細胞から分泌される成分に関して検討していく予定である。

## スフェロイド培養による歯髄細胞の特性変化の検討

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

<sup>2</sup>東京理科大学 基礎工学部 生物工学科

○ 山本弥生子<sup>1</sup>、川島伸之<sup>1</sup>、鈴木規元<sup>1</sup>、小泉悠<sup>1</sup>、瀧本晃陽<sup>1</sup>、齋藤正寛<sup>2</sup>、須田英明<sup>1</sup>

Evaluation of pulpal cell properties by spheroid culture

<sup>1</sup>Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

<sup>2</sup>Department of Biological Science and Technology, Tokyo University of Science

○YAMAMOTO Mioko<sup>1</sup>, KAWASHIMA Nobuyuki<sup>1</sup>, SUZUKI Noriyuki<sup>1</sup>, KOIZUMI Yu<sup>1</sup>, TAKIMOTO Koyo<sup>1</sup>, SAITO Masahiro<sup>2</sup>, and SUDA Hideaki<sup>1</sup>

### 【研究目的】

通常の平面培養法は、培養細胞が二次元的に配列し、立体構造を形成する生体環境とは異なることが知られている。一方、スフェロイド培養では、培養細胞同士が放出された細胞外基質とともに凝集体を形成し三次元構造を形成することから、細胞の機能を長時間維持することが可能となり、より生体に近い培養法と考えられている。これまで我々は、ヒト歯髄細胞をスフェロイド培養したところ、平面培養と比較して象牙芽細胞・骨芽細胞マーカーである *Dspp*, *Alp*, *Oc* の発現が有意に亢進したことを報告した (第 135 回日本歯科保存学会秋季学術大会)。本実験では、象牙芽細胞への分化能を有するマウス株化歯乳頭細胞を用い、スフェロイド培養が歯髄細胞に与える影響について、さらに詳細に分子生物学的・免疫組織学的解析を行った。

### 【材料および方法】

実験には、マウス株化歯乳頭細胞 (mouse dental papilla cells : MDP細胞) を使用した。スフェロイド培養では、MDP細胞を96穴PrimeSurface (住友ベークライト) に、 $3 \times 10^4$  cells/well播種し、1, 3, 7, 14日間培養した。3日に1回メディアウム交換を行った。平面培養として、6穴マルチプレート (グライナー) に同数播種したMDP細胞を使用した。各種染色用として、スフェロイド培養では、スフェロイドコロニーを4% paraformaldehyde (PFA) にて室温30分間固定後、phosphate buffered saline (PBS) にて洗浄したものをO. C. T. コンパウンドに包埋し、厚さ  $7 \mu\text{m}$  の凍結切片を作製した。平面培養では、細胞を24穴セルデスクLF1 (住友ベークライト) に $1 \times 10^4$  cells/well播種し、3日間培養後、4%PFAにて室温15分間固定、PBSにて洗浄したものを染色に用いた。

・象牙芽細胞・骨芽細胞分化マーカーのmRNA発現：細胞よりRNAを抽出し、cDNAを合成後、象牙芽細胞あるいは骨芽細胞に特異的なプライマー (*Dspp*, *Dmp*, *Alp*, *Oc*, *Bmp2*) を用いてリアルタイムPCRを行った。

・HE染色・ALP染色・免疫組織化学染色：作製した切片を使用し、HE染色、ALP染色を行った。また抗DMP-1, 抗p-FAK, 抗p-paxillin抗体を使用して免疫組織化学染色を行った。

### 【結果および考察】

スフェロイド培養したMDP細胞は、平面培養したものより有意に象牙芽細胞・骨芽細胞分化マーカーの発現の亢進が認められた。また、HE染色にて、スフェロイド培養の期間が長くなる程、コロニー外層部に細胞が層状に集合する様子が観察された。さらに、ALP染色および抗Dmp-1抗体を使用した免疫組織化学染色の結果、この外層部の細胞は、中心部の細胞と比較し、各種マーカーの発現が高いことが確認された。また、スフェロイド外層部の細胞においてインテグリンシグナル分子であるFAK, paxillinのリン酸化が亢進していた。以上の結果より、スフェロイド培養したMDP細胞は、インテグリンシグナルを介して象牙芽細胞・骨芽細胞への分化誘導が亢進されたと推察された。

### 【結論】

スフェロイド培養はMDP細胞の象牙芽細胞・骨芽細胞の分化誘導を促進し、その作用は特にスフェロイドコロニー外層部に認められた。

## ヒト歯髄幹細胞の三次元培養による象牙芽細胞・骨芽細胞マーカーの変動

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

○ 川島伸之、山本弥生子、瀧本晃陽、小泉悠、鈴木規元、須田英明

Odonto-/osteoblast marker expression of human dental pulp stem cells in 3-D culture

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

○KAWASHIMA Nobuyuki, YAMAMOTO Mioko, TAKIMOTO Koyo, KOIZUMI Yu, SUZUKI Noriyuki and SUDA Hideaki

### 【研究目的】

未分化間葉組織である歯髄組織中に存在する歯髄幹細胞は、神経、脂肪、骨、軟骨といった多様な細胞に分化する能力を有しているが、ES細胞あるいはiPS細胞と異なり、体性幹細胞としてのオリジナルの特性をも維持している。すなわち、歯髄幹細胞は歯髄組織内においては象牙芽細胞のソースとして機能しており、硬組織形成細胞への分化能を有している。しかし抜去歯より分離された歯髄幹細胞は、通常の平面培養を経るうちに一般的な線維芽細胞へと変化していく。一方、三次元培養においては、より生体環境に近い状態で細胞を培養することができるため、よりオリジナルの特性を維持あるいは誘導することが可能であると推察される。今回、ヒト抜去歯より分離した歯髄幹細胞を三次元(スフェロイド)で培養し、その象牙芽細胞・骨芽細胞マーカー発現について検討した。

### 【材料および方法】

抜去歯の歯髄組織より歯髄幹細胞を採取し実験を行うことについて、患者に十分に説明し理解を得たうえで抜去歯を研究に供した(東京医科歯科大学歯学部倫理審査承認番号 第442番)。歯髄幹細胞の分離は、間葉系幹細胞分離法に準じて行った。すなわち、抜去歯より摘出した歯髄組織をメスにて細切後、コラゲナーゼI(2mg/ml)処理(37度、振とう、1h)を行い、セルストレーナー 40 $\mu$ m (BD Falcon 352340)フィルターにて濾過することで単細胞に分離し、 $1 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>で細胞培養ディッシュに播種した。パッセージ3-4の細胞を、 $4 \times 10^4$  cells/wellの濃度にて96穴PrimeSurface(住友ベークライト)あるいは6穴マルチプレート(グライナー)に播種し、3-7日間培養を行った。その後、サンプルよりRNAを抽出し、象牙芽細胞・骨芽細胞特異的マーカーのmRNA発現をリアルタイムPCRにて検討した。またアスコルビン酸および $\beta$ グリセロリン酸を添加して石灰化誘導を行い、石化物をアリザリン染色にて検討した。

### 【結果および考察】

三次元(スフェロイド)培養した歯髄幹細胞は、平面培養したものと比較し、有意に象牙芽細胞・骨芽細胞分化マーカーの発現の亢進が認められた。これは平面培養においては、細胞は隣在する細胞とのみ接触するが、三次元培養することにより細胞はより多くの細胞と立体的に接触し、その緊密な接触により誘導されたシグナル(インテグリンシグナル)が、歯髄細胞としての特性を特に強く誘発したと推察される。また石灰化誘導培地での培養により、三次元培養した歯髄幹細胞において、平面培養したものと比較してアリザリン陽性の石灰化物の沈着がより早期に認められた。三次元培養により象牙芽細胞・骨芽細胞分化能が維持および増強された結果として、石灰化が誘導されたと推察される。

### 【結論】

三次元培養は歯髄幹細胞の象牙芽細胞・骨芽細胞への分化誘導能および石灰化能を促進した。

微酸性電解水の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果に与える作用温度の影響

鶴見大学歯内療法学講座、口腔微生物学講座

○中野雅子、小澤寿子、池野正典、高尾亞由子、前田伸子、細矢哲康

Influence of reaction temperature on antibacterial effect of slightly acidic electrolyzed functional water against *Enterococcus faecalis*  
Department of Endodontology, Oral Microbiology, Tsurumi University, School of Dental Medicine  
○NAKANO Masako, OZAWA toshiko, IKENO Masanori, TAKAO Ayuko,  
MAEDA Nobuko, HOSOYA Noriyasu

【目的】

歯科用チェアユニットの流路に形成されるバイオフィルムの防止と除去は、歯科感染対策における重要な課題である。鶴見大学歯学部附属病院では、生体や環境への安全性と高い殺菌消毒効果が期待できる微酸性電解水（以下 SAW）を常時供給する歯科用チェアユニットを 2010 年 7 月に設置した。以降の継続した微生物学的検査から、本ユニットにおいてはバイオフィルム形成防止が認められている。われわれは SAW の効果を確認する目的で、水由来従属栄養細菌に対する殺菌効果を第 134 回日本歯科保存学会春季学術大会で、感染根管から分離される菌種 *Enterococcus faecalis*（以下 Ef）に対する殺菌効果を第 136 回日本歯科保存学会春季学術大会にて発表した。

今回は、SAW の至適使用条件を知る一環として、液温と Ef に対する殺菌効果との関係を検討した。

【材料と方法】

SAW（有効塩素濃度：10～30ppm、pH6.3～6.8）を、電解水生成装置を搭載した歯科用チェアユニット（SPACELINE EMCIA III型、(株)モリタ製作所）のコップ給水部より採取、直ちに実験に用いた。96 穴マイクロプレートに Ef を 37℃5 日間、好気または嫌気培養後、培養上清を除去した。附着菌を PBS 洗浄し、滅菌水または SAW を作用させた。反応温度は 4℃、20℃、37℃とし、1 分間（交換無しと 20 秒毎に液交換）、または 5 分間（交換無しと 1 分毎に液交換）経過後、チオ硫酸ナトリウム液で液を中和、ウェルを PBS で洗浄した。Alamar Blue(以下 AB)-Tryptic Soy Broth 混合液を添加して 37℃で培養し、蛍光強度変化（励起波長：530nm、蛍光検出波長 590nm）により代謝活性を、さらにウェルをクリスタルバイオレット(以下 CV)染色した後の吸光度からバイオフィルム量を評価した。

【結果・考察】

作用液を交換しない場合は、SAW の液温が高いほどバイオフィルムの代謝活性が低下した。一方、液を交換した場合は、SAW は温度条件が 20℃以上であれば 1 分で十分な殺菌効果を示した。CV 染色によるバイオフィルム量の測定では、蒸留水に比較して有意な減少は認められず、バイオフィルム自体の破壊は期待できないことが示唆された。

SAW は Ef 浮遊菌に対し、15 秒で殺菌効果を示し（第 136 回日本歯科保存学会春季学術大会にて報告）、頻りに液を交換することでバイオフィルムの代謝活性も低下させることが可能である。一方でバイオフィルム自体の除去は困難と予想されることから、バイオフィルムの化学的または物理的除去方法を併用することが推奨される。すなわち、臨床での使用を想定した場合、多量の流水とともに超音波洗浄機器を介して行なう根管洗浄で、SAW をユニット水として使用するメリットが特に高いと考えられる。

また、SAW は浮遊状態の歯周病菌や齶蝕菌に殺菌効果を示すことが報告されているので、歯周ポケット洗浄やスクレーピング、歯面清掃、窩洞形成など日常の歯科診療において、口腔内の殺菌消毒効果において水道水と置き換えるメリットがあると思われる。

【結論】

SAW は Ef の実験的バイオフィルムに対し、20℃以上、かつ頻回交換で有効性を示すが、バイオフィルム自体の除去は困難であった。この特性を踏まえて、根管洗浄に用いるべきである。

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* および *Enterococcus faecalis*  
に対するイオン導入法の薬剤と通電法の影響に関する検討

鶴見大学歯学部・口腔微生物学講座  
○小山隆夫、前田伸子

In-vitro Evaluation for Microbicidal Effects of Iontophoresis and a Relationship with medicines and electrical resistance against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis*.

Department of Oral bacteriology, Tsurumi Univ. School of Dental Medicine  
○Takao Oyama, Nobuko Maeda

【目的】

難治性根尖性歯周炎の原因は、根尖部における微生物の残存であることが、今日まで明らかにされてきた。同時に、多くの種類の微生物の検出が報告されている。

我々は、根尖性歯周炎実験モデルを用いて、いくつかの微生物に対する根管消毒剤やイオン導入法の抗菌効果について検討し、薬剤への反応は微生物種によって多種多様であることを、これまでの日本歯科保存学会で報告した。今回我々は根管モデルを用いて、イオン導入法における各薬剤の通電性と抗菌効果、さらに通電なし、陽極通電および陰極通電の影響について検討した。

【方法】

被検微生物株として *Escherichia coli* ATCC25922 株、*Pseudomonas aeruginosa* 27853 株および *Enterococcus faecalis* ATCC19433 株を用いた。被検微生物は Tryptic Soy 寒天培地上で培養後、およそ  $10^6$  cfu/ml となるよう調整した。

根管モデルを用いた根尖部病巣モデルは、根尖部病巣に相当する腔に、滅菌生食寒天  $30 \mu\text{l}$ 、被検微生物含有羊脱繊維血添加寒天  $30 \mu\text{l}$ 、滅菌生食寒天  $70 \mu\text{l}$  の順に重層し、実験的根尖部病巣とした。

イオン導入はカントップ・ジュニアを用いて、陽極通電および陰極通電した場合と、貼薬のみの場合で、それぞれの薬剤を比較検討した。イオン導入には、薬剤は 38% フッ化ジアンミン銀溶液 (DSF)、アンモニア銀溶液 (ASH)、カントップ用ヨード・ヨード亜鉛液 (IZI) を用いて、それぞれ 1mA の定電流で一定時間 (5 分・10 分・25 分・50 分) 作させた。

イオン導入後、あるいは貼薬後に根尖部病巣モデルから被検微生物を回収し、適宜希釈後コロニー数 (log CFU/ml) を測定した。また通電性については、電圧計にて 1 分間隔で電圧を測定し、抵抗値 ( $\Omega$ ) を算出した。

【結果と考察】

通電性に関しては、IZI がもっとも優れていた。IZI は、陽極および陰極通電の双方においても通電性は良好であった。抗菌性に関しては、*E. faecalis* をのぞいて、*E. coli* および *P. aeruginosa* に抗菌効果が認められた。さらに、陽極通電と陰極通電では、その抗菌性に違いが認められた。

DSF においては、陽極通電と陰極通電で通電性に違いがみられた。陽極通電で、*E. coli* および *P. aeruginosa* に抗菌性が認められた。しかし *E. faecalis* に対しては、必ずしもその抗菌性は十分といえず、さらに陽極通電と陰極通電で、その抗菌性に差が認められた。

ASH は、陽極通電では通電直後数分で抵抗値が上昇し、それと共に通電が不能になった。*E. coli*、*P. aeruginosa* および *E. faecalis* に対する ASH の抗菌効果が十分認められない原因として、薬剤および電極の分極が影響していることが示唆された。ところが、陰極通電では抵抗値上昇はわずかで、*E. coli*、*P. aeruginosa* および *E. faecalis* に対する抗菌効果が認められた。

以上、イオン導入法の抗菌効果に関して、各薬剤の通電性、さらに陽極通電および陰極通電が関与している可能性が考えられる。

【結論】

イオン導入法の抗菌性において、通電性さらに陽極通電あるいは陰極通電選択が関与することが示唆された。



根管洗浄剤としてのキトサン含有クエン酸溶液の抗菌効果：基礎的研究

昭和大学歯学部 歯科保存学講座 歯内治療学部門<sup>1</sup>  
昭和大学歯学部 歯科保存学講座 歯科理工学部門<sup>2</sup>  
○鈴木重紀<sup>1</sup>, 山田嘉重<sup>1</sup>, 増田宜子<sup>1</sup>, 宮崎隆<sup>2</sup>

The bactericidal effect of citric acid with chitosan oligomer as a root canal irrigant :in vitro  
Division of Endodontology, Department of Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry<sup>1</sup>  
Division of Oral Biomaterials and Technology, Department of Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry<sup>2</sup>

○Shigenori Suzuki<sup>1</sup>, Yoshishige Yamada<sup>1</sup>, Yoshiko Masuda<sup>1</sup>, Takashi Miyazaki<sup>2</sup>

<研究目的>

根管治療において、複雑な根管形態を機械的操作のみで全て清掃することは困難である。そこで、良好な根管治療の予後を獲得するためには化学的洗浄を組み合わせて使用することが一般的である。現在、根管洗浄剤として主に次亜塩素酸ナトリウムが用いられているが、その抗菌効果、有機質溶解作用の有効性が評価される一方で生体への為害性が報告されている。そこで、本実験では軽度の抗菌効果とスメアー層除去効果をもつクエン酸と、齶蝕抑制・歯周病予防に应用されているキチン・キトサンを使用し、生体への為害性の低い根管洗浄剤を作製し、*Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* に対するの抗菌効果について検討することを目的とした。

<材料及び方法>

①キトサン溶液の作製：pH3.5の10%クエン酸緩衝液にキトサンオリゴマー（COS-YS 焼津水産化学工業株式会社）を加え4.0%のキトサン溶液を作製した。

②抗菌効果の判定

実験群：未処理群（供試した菌をPBSで希釈した群）、クエン酸緩衝液群（10%クエン酸をNaOHにてpH3.5に調整した群）、キトサン溶液群（前述のクエン酸緩衝液にキトサンオリゴマーを添加した群）

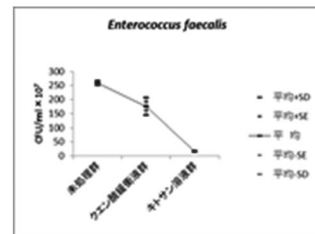
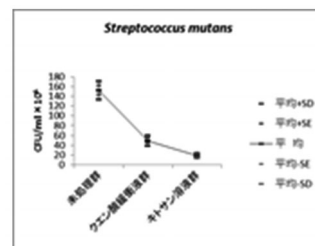
抗菌効果判定に供試した細菌は *Streptococcus mutans* (菌株：UA159)、*Enterococcus faecalis* (菌株：4532D) を使用した。この2菌種を、BHI液体培地（Becton Dickinson, USA）を使用し嫌氣的条件下（N<sub>2</sub>；80%, H<sub>2</sub>；10%, CO<sub>2</sub>；10%）において37℃で培養した。24時間培養した2菌種を試薬に30分間作用させた後、リン酸緩衝食塩水（PBS）にて希釈し、BHI寒天培地に塗抹し、48時間後に生菌数（CFU/ml）を求めて未処理群と比較し抗菌効果を判定した。

その後、1元配置分散分析とTurkey検定にて統計学的に有意差検定を行った。

<結果>

供試した2菌種に対して、キトサン溶液群において生菌数（CFU/ml）は有意に減少し最も抗菌効果が認められた。また、*Streptococcus mutans*はクエン酸緩衝液群に、*Enterococcus faecalis*はキトサン溶液群に対し生菌数（CFU/ml）が有意に減少したことから試薬に対する感受性に相違が認められた。

<考察・結論>過去に、クエン酸の抗菌効果が *Streptococcus mutans* に対して高い抗菌性を示す一方で *Enterococcus faecalis* ではあまり有効でないことが報告されている。このことが、本実験においてクエン酸緩衝液群の2菌種の抗菌効果の差に反映されたと考えられる。また、キトサンオリゴマーには抗菌効果があることが既に報告されている。本実験で、キトサン溶液群はクエン酸緩衝液群よりも抗菌効果を認めた。このことからクエン酸緩衝液へのキトサンオリゴマーの添加が抗菌効果の作用を増強させたと考えられる。従来、クエン酸の抗菌効果の判定は、pH1.2~1.8・濃度10%~50%の条件下で行われてきた。その中でクエン酸の抗菌効果は、pH・濃度に影響されることが報告されている。本実験では、生体為害性を考慮し弱酸性（pH3.5）に調整したクエン酸緩衝液を用いた。このことから、従来よりもクエン酸による抗菌効果は期待できないが、キトサンオリゴマーを添加することで、その効果を補うことが出来たものと考えられる。以上の事から、本実験で作製したキトサン溶液の有効性が示唆された。



1%有意

## ウォータージェットポンプを用いたスミア層除去に関する検討 — 噴射時間の影響について —

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座  
○小倉陽子 前田宗宏 勝海一郎

**Removal of Smear Layer Using Water Jet Pump, Effect of Machining Time.**  
Department of Endodontics, Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo.  
○Ogura Y., Maeda M. and Katsuumi I.

### 【目的】

本学会の第 136 回学術大会において、ウォータージェットポンプを用いたスミア層の除去効果について報告した。今回は、ウォータージェットの噴射時間の影響について検討を行った。

### 【材料および方法】

実験には、象牙質に齶蝕のないヒト単根抜去歯 9 本を使用した。ダイヤモンドポイントを用いて咬合面中央部の象牙質内に縦 2 mm×横 2 mm×深さ 2 mm の窩洞を形成したのち、歯を 3 本ずつ 3 群に分けた。噴射洗浄用器具として、直径 0.1 mm の噴出口を持つウォータージェットポンプ装置（キャピタル工業株式会社）を使用し、噴射口が象牙質窩底部から垂直的に 10 mm の位置になるよう試料を固定後、水圧 5 MPa にて洗浄を行った。噴射条件は 3 分間 (Group 1) および 6 分間 (Group 2) とし、未噴射のものをコントロール (Group 3) とした。

噴射洗浄後の窩底の象牙質の状態を、走査電子顕微鏡 (SEM) で撮影した。窩底部内の任意の点 (5 カ所) を 1000 倍で撮影し、得られた観察画像をもとに象牙細管の開閉状態の判定を行った。判定は、歯内療法を専門とする研究者 3 名が Takeda<sup>1)</sup>らの基準に基づき行った。

#### 判定基準

- 0 : スミア層なし。細管は開口し、スミア層は完全に除去されている。
- 1 : 象牙細管の輪郭が観察可能であり、部分的なスミア層の除去を認める。
- 2 : 薄いスミア層による表面の被覆。象牙細管の位置はクラックにより示されるが、輪郭の確認は困難である。
- 3 : 分厚いスミア層による被覆。象牙細管の輪郭の確認は不可能である。

統計学的解析は、Kruskal Wallis による差の検定および、Tukey HSD による多重比較を行った。

### 【結果および考察】

いずれの群においてもスミア層が完全に除去されたものはなかった。Group 1 では切削片などの汚れはなく、象牙細管の状態はクラックによりその輪郭がわかるものが多かったが、細管が開閉しているものはなかった。Group 2 ではクラックによって象牙細管の輪郭が確認でき、部分的に開口が見られるものもあるが、分厚いスミア層で被覆されたものもあり、ばらつきが見られた。Group 3 では切削片などの汚れは少なく、象牙細管はクラックにより位置が示されているものの、輪郭が確認できるものは少なかった。スコアの平均値は Group 1; 2.29 (±0.69), Group 2; 2.33 (±0.70), Group 3; 2.45 (±0.59) であり、各群間に差は認められなかった ( $p>0.05$ )。

今回の結果から、スミア層除去を目的としてウォータージェットポンプ装置を用いて水圧 5MPa にて窩底部の洗浄を行った場合、切削片等の汚物は除去できるものの、スミア層の除去効果に対する噴射時間の影響は少ないことが示唆された。切削片は象牙細管内に侵入しスミア層の除去を困難にしていることが考えられ、今後、更に詳細に検討を行う予定である。

1) Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K : A comparative study of the removal of smear layer by three endodontic irrigants and two types of laser; Int Endo J 32, 32-39, 1999.

新たな根管清掃・消毒法に関する基礎的研究  
—LED 照射が低濃度過酸化水素水の活性酸素種生成に及ぼす影響—

日本大学歯学部 歯科保存学第Ⅱ講座<sup>1</sup>, 細菌学講座<sup>2</sup>

神奈川歯科大学 生体管理医学講座 薬理学分野<sup>3</sup>

○小林 慶美<sup>1</sup>, 林 誠<sup>1</sup>, 吉野 文彦<sup>3</sup>, 田村 宗明<sup>2</sup>, 吉田 彩佳<sup>3</sup>, 李 昌一<sup>3</sup>, 落合 邦康<sup>2</sup>, 小木曾 文内<sup>1</sup>

Preliminary study of novel root canal disinfective technique

—Effects of LED irradiation on generation of reactive oxygen species peroxide from low concentration of hydrogen peroxide—

Departments of <sup>1</sup>Endodontics, <sup>2</sup>Microbiology, Nihon University School of Dentistry,

<sup>3</sup>Division of Pharmacology, Department of Clinical Care Medicine, Kanagawa Dental College

○KOBAYASHI Yoshimi<sup>1</sup>, HAYASHI Makoto<sup>1</sup>, YOSHINO Fumihiko<sup>3</sup>, TAMURA Muneaki<sup>2</sup>, YOSHIDA Ayaka<sup>3</sup>

LEE Masaichi-Chang I-il<sup>3</sup>, OCHIAI Kuniyasu<sup>2</sup>, OGISO Bunnai<sup>1</sup>

【研究目的】

従来から根管治療における化学的根管清掃・消毒には多種の薬剤が応用されてきたが、組織刺激性や発癌性などの問題から、演者らは生体安全性を優先した新たな根管清掃・消毒法を模索してきた。これまで、代表的な根管清掃剤である過酸化水素水へ紫外線や超音波を照射することにより活性酸素種 (ROS) が生成するとの報告を受け、ROS の殺菌効果に着目して研究を進め、過酸化水素水に超音波照射を加えた際の ROS の発生および口腔内細菌に対する殺菌効果を第 137 回本学会にて報告した。一方、紫外線などの光照射による過酸化水素水からの ROS 生成についての実験的報告はあるものの、同法の歯科臨床への応用については解決すべき問題点があると考えられている。近年、LED の安全性や恒常性についての認識が高まるとともに、LED 照射と ROS 生成の関係についての研究報告がある。そこで今回演者らは、紫外線の生体への作用を考慮し低濃度過酸化水素水への青色 LED 照射により生成される ROS を同定・定量し、同時に口腔内細菌に対する影響を検討したので報告する。

【材料および方法】

実験 1. LED 照射条件と生成される ROS の測定

LED 光源として紫外線領域を含まない波長 465 nm をピークとした照射器 (KTL-100-B, ケンコートキナー社製) を使用した。マイクロチューブ (0.6 ml) 中にて 0.5 M (1.5%) 過酸化水素水に 30, 60 および 90 秒間 LED 照射し ROS 測定用試料とした。また、生成する ROS を測定するため、これらを特異的に補足するスピントラップ剤の 5 mM 5-(2,2-dimethyl-1,3-propoxycyclophosphoryl)-5-methyl-1-pyrroline-N-oxide (CYPMPO) 共存下にて、電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いて検出した。得られた信号強度は、10 μM 4-Hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-piperidinyloxy を標準物質とし ROS 濃度を算出した。

実験 2. 生成された ROS が口腔内細菌に及ぼす影響

難治性根尖性歯周炎の代表的な原因菌 *Enterococcus faecalis* JCM5803 (*E. faecalis*) を供試し、菌懸濁液作製後、実験 1. の条件にて LED 照射し、brain heart infusion 寒天培地に塗抹培養後、colony forming unit (CFU) を測定した。

【結果】

実験 1. において供試したすべての試料から、ROS のヒドロキシラジカル (HO<sup>•</sup>) に特有のシグナルである CYPMPO-OH スピニアダクトが検出された。また、HO<sup>•</sup> 消去剤であるアスコルビン酸によりシグナル強度が減弱したことから、今回の実験で生成する ROS は HO<sup>•</sup> であると考えられた。更に、生成した HO<sup>•</sup> 濃度は LED 照射時間依存的に有意に上昇した。

実験 2. では、LED 照射時間の延長に伴って *E. faecalis* の CFU は有意に減少した。

【考察及び結論】

以上の結果から、低濃度過酸化水素水の LED 照射により HO<sup>•</sup> が生成され、殺菌作用を示すことが確認された。先に報告した超音波照射の成績と併せて、生体安全性を担保した根管清掃・消毒法への HO<sup>•</sup> 応用の可能性が示唆された。

## Er:YAG レーザーと超音波で形成した逆根管窩洞の比較

<sup>1)</sup>九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野, <sup>2)</sup>九州大学病院歯内治療科  
○新井裕基<sup>1)</sup>、吉嶺嘉人<sup>1)</sup>、松本妃可<sup>2)</sup>、佐藤浩美<sup>2)</sup>、  
木原智子<sup>1)</sup>、橋口 勇<sup>1)</sup>、後藤康治<sup>1)</sup>、赤峰昭文<sup>1)</sup>

### Er:YAG laser versus ultrasonic in preparation of root-end cavities

<sup>1)</sup>Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University, <sup>2)</sup>Dept. of Endodontology, Kyushu University Hospital  
○ARAI Yuki<sup>1)</sup>, YOSHIMINE Yoshito<sup>1)</sup>, MATSUMOTO Himeka<sup>2)</sup>, SATO Hiromi<sup>2)</sup>,  
KIHARA Tomoko<sup>1)</sup>, HASHIGUCHI Isamu<sup>1)</sup>, GOTO Yasuharu<sup>1)</sup>, AKAMINE Akifumi<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

近年、根尖切除術における逆根管窩洞形成には、主にレトロチップを装着した超音波装置が用いられているが、歯根に微小亀裂 (micro crack) を生じるなどの問題点も指摘されている。一方、Er:YAG レーザーは応力を生じることなく硬組織を切削することが可能であり、周囲組織への熱による影響が少ないなどの利点がある。そこで本研究では、Er:YAG レーザーを用いて形成した逆根管窩洞の微細構造を超音波による形成法と比較した。

#### 【材料および方法】

##### 1. 試料作製

被験歯として、抜去されたヒトの歯を用いた。根尖から 12 mm の位置で歯軸と直角に切断し、#15 の K-ファイルが根尖端から見える位置から 1mm の長さを作業長として、通法に従って K-ファイルを用いて根管拡大 (~ #40) を行った。次に、ガッタパーチャポイントと酸化亜鉛ユーージノール系シーラーで側方加圧法による根管充填を行い、2 日後に根尖から 3mm の位置でエアタービンを用いて歯軸と直角に歯根切断を行った。

##### 2. 逆根管窩洞形成・充填

Er:YAG レーザー (Erwin AdvErl : モリタ) に先端が平坦な石英ファイバーチップ (C400F・コア径 400 μm) を用いてガッタパーチャを除去し (注水・エアあり・繰り返し速度 20 pps・表示エネルギー値 150 mJ)、深さ 3 mm の窩洞を形成した。さらに、同サイズの先端が円錐形のチップ (R400T・コア径 400 μm) を歯軸方向にゆっくりと上下しながら窩洞壁面に照射を行った。一方、超音波法ではレトロチップ (E31D : ナカニシ) を用いて注水下に深さ 3 mm の窩洞形成を行った。

##### 3. 走査型電子顕微鏡観察

窩洞形成後の試料を切断した後、通法に従って上昇エタノール系列で脱水し、金蒸着を施し走査型電子顕微鏡 (JEM-5400LV:JOEL) で観察を行った。

#### 【成績および考察】

レーザー照射による窩洞形成法では、根管壁面は鱗片状に凹凸不整で、広範囲に開口した象牙細管が観察された。一方、超音波による窩洞では、根管壁の一部はスミヤク層で覆われていた。

平坦型チップでガッタパーチャ等の根管内容物を除去し、次に、同サイズのエネルギーの約 80% が側方に照射される円錐型チップを併用することで、短時間で確実な形成が可能になったと考えられる。すなわち、根管壁面に効率的にレーザー光が照射されることで象牙細管は開口し、象牙細管内の殺菌作用も期待できることから、レーザー法は逆根管窩洞形成に適していると考えられる。

#### 【結論】

Er:YAG レーザーと超音波による逆根管窩洞の微細構造には、象牙細管の開口状態の違いが認められた。また、平坦型と円錐型のチップを併用することによる効率的な逆根管窩洞形成の可能性が示唆された。

## 薬液を応用した NiTi ファイル破折片の除去に関する研究 — 通電がファイルの腐食に及ぼす影響 —

<sup>1</sup>明海大学歯学部 機能保存回復学講座 歯内療法学分野

<sup>2</sup>明海大学歯学部 口腔生物再生医工学講座 歯周病学分野

○高橋哲哉<sup>1</sup>, 小林健二<sup>1</sup>, 鈴木瑛子<sup>1</sup>, 中村裕子<sup>1</sup>, 井出祐樹<sup>1</sup>, 小谷依子<sup>1</sup>, 申 基結<sup>1,2</sup>

### A Study on Removing Broken NiTi Files by Using Solution — Effect of Turning Electricity on the Corrosion of NiTi Files —

<sup>1</sup>Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences,

<sup>2</sup>Division of Periodontology, Department of Oral Biology and Tissue Engineering,

Meikai University School of Dentistry

○TAKAHASHI Tetsuya<sup>1</sup>, KOBAYASHI Kenji<sup>1</sup>, SUZUKI Eiko<sup>1</sup>,

NAKAMURA Yuko<sup>1</sup>, IDE Yuki<sup>1</sup>, KOTANI Yoriko<sup>1</sup> and SHIN Kitetsu<sup>1,2</sup>

**【緒言】** 根管内で破折した NiTi ファイルの除去に関する報告は少なく、除去方法は確立されていない。そのため我々は、根管内から NiTi ファイル破折片を容易に除去する方法の確立を目的とし、薬液の応用により破折片を腐食させる基礎的研究を行ってきた。これまでに、2種類の薬液を NiTi ファイル破折片に作用させた場合、3~24時間の浸漬によって破折片は腐食溶解を示し、薬液温度の上昇により腐食溶解に要する時間は短縮することを報告した (the 15th Biennial Congress of the ESE in Rome, 2011)。さらに、破断面の性状によっても影響を受けること報告した(第137回日本歯科保存学会)。今回、更なる時間短縮を目的として、NiTi ファイルを薬液に浸漬して通電させ、経時的な重量変化を測定し、加えて走査型電子顕微鏡による表面構造の観察を行った。そして薬液に浸漬して通電させることが NiTi ファイル破折片の腐食に及ぼす影響について検討を行った。

**【材料および方法】** NiTi ファイルは、ProTaper®(Dentsply Maillefer) #25/F2を使用した。ファイルは全て未使用のものを用いて試料とした。浸漬薬液には、pH4.5に調整したリン酸酸性2%フッ化ナトリウム溶液(以下 APF)および脱イオン水(以下 control)を、37°Cに設定し1試料当たり3ml用いた。

<非通電群> 試料はそれぞれ先端から5mmを各薬液に浸漬して恒温槽に保管しながら、20、40、60および80分後の重量を測定した。また、走査型電子顕微鏡(S-700, 日立製作所)を使用して、20および80分間浸漬した試料の形態学的変化を観察した。

<通電群> 陰極には白金線(直径0.4mm)を使用した。試料はそれぞれ先端から5mmを各薬液に浸漬して陽極とし、直流で2mAを通電させた。そして、同様に20、40、60および80分後の重量を測定した。また、走査型電子顕微鏡を使用して、20および80分間浸漬した試料の形態学的変化を観察した。

**【結果】** APFの非通電群では、浸漬部分の重量は60分後に減少し、80分後には約96%となった。SEMによる観察では浸漬部分全体の表面にわずかな小孔が認められた。一方、APFの通電群では、重量は20分後に減少し、80分後には浸漬部分がすべて腐食溶解した。SEMによる観察では浸漬部分全体の表面に多くの小孔が認められた。また controlでは非通電群、通電群ともに腐食溶解は認められなかった。

**【考察】** APFでは、非通電群と比較して通電群は非常に早く腐食溶解が進行した。APFによるNiTi合金の腐食は、F<sup>-</sup>が配位子となりTiに作用してフルオロ錯体を生じ溶解するメカニズムである。両極間に電圧をかけることで、陽極のNiTiファイル側にはF<sup>-</sup>が集まり、電気化学的酸化が起こる。すなわちF<sup>-</sup>によりTiが酸化されTiF<sub>6</sub><sup>2-</sup>とe<sup>-</sup>が生じて溶解する反応が促進されて、腐食溶解が早く進行したと考えられる。一方、Niは酸性環境下では腐食反応が促進されることが知られている。そのためTiとNiはほぼ同時に腐食溶解したものと考えられた。今回の結果より、薬液に通電させることは、NiTiファイル破折片の腐食溶解に要する時間を大幅に短縮することが可能であることが明らかとなった。

**【結論】** NiTi ファイルを APF に浸漬して通電させた場合、腐食溶解に要する時間は大幅に短縮した。このことから、臨床における治療時間を考慮した場合でも、NiTi ファイル破折片の腐食溶解が可能であり、臨床応用の可能性があることが示唆された。今後、さらに臨床応用に適した条件を模索していく必要があると考えている。

水溶性 EDTA 製材の根管形成補助効果および化学的清掃に関する研究  
—Ni-Ti ファイル根管形成時の切削応力抑制とスミヤ層除去効果—

神奈川県立歯科大学歯学部 口腔治療学講座 歯内療法学分野<sup>1)</sup>  
神奈川県立歯科大学歯学部 口腔治療学講座 保存修復学分野<sup>2)</sup>  
○鈴木二郎<sup>1)</sup>, 岡田周策<sup>2)</sup>, 寺中敏夫<sup>2)</sup>, 石井信之<sup>1)</sup>

The Study of Canal Preparation aid effects and Chemical Irrigation by EDTA

—The Effect of Inhibition of File Stress and Smear layer Elimination used by Ni-Ti Rotary File—

Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental University<sup>1)</sup>  
Department of Oral Medicine, Division of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental University<sup>2)</sup>  
○SUZUKI Jiro<sup>1)</sup>, OKADA Shusaku<sup>2)</sup>, TERANAKA Toshio<sup>2)</sup>, TANI-ISHII Nobuyuki<sup>1)</sup>

【研究目的】

EDTA 製材は根管形成時における、ファイル操作時の補助材、および根管形成後のスミヤ層除去として使用されている。前者の根管形成補助効果は根管壁象牙質の Ca イオンと結合して象牙質脱灰を誘導するが、同時にファイル最大トルク値を低下させ、ファイルに対する応力を抑制し、結果的に根管形成時のマイクロクラック発症抑制効果が期待される。本研究は、各種 EDTA 製材（試作製材を含む）と Ni-Ti ファイルによる根管形成時の切削応力抑制効果、およびスミヤ層除去効果を検討することを目的とした。

【材料および方法】

実験には、水溶性 EDTA 製材としてグライド（デンツプライ三金）、試作 EDTA 24%ジェル（日本歯科薬品）、および対照として非水溶性 EDTA 製剤の RC プレップ（白水貿易）および精製水を使用し、Ni-Ti ファイルを応力測定機能付きエンドモーター（試作トライオート mini モリタ製作所）に装着してプラスチック根管模型 S1-U1（ニッシン）に対する根管形成時の電流値変化（大阪マイクロコンピューター）を測定し、各種 EDTA の Ni-Ti ファイルに対する応力減少を解析した。

根管壁スミヤ層除去効果については、単根ヒト抜去歯をエナメルセメント境で水平切断し、#15 K-File（マニー）にて作業長決定後、被験歯をシリコンパテに植立、手順に従い応力測定機能付きエンドモーターおよび X-スマートプラス（デンツプライ三金）による根管形成を行い、歯根を垂直方向に分割し乾燥、通法により根管上部、中央部および根尖部の根管内壁を走査型電子顕微鏡（SS-550、島津製作所）による解析を行い、根管象牙質のマイクロクラック発生およびスミヤ層について解析した。

【成績】

応力抑制効果：グライドおよび試作 EDTA 24%ジェルともに Ni-Ti ファイルに対する応力の減少が認められた。

スミヤ層除去効果：グライドおよび試作 EDTA 24%ジェルともに根管上部および中央部に比較し、根尖部においてスミヤ層の残存が認められた。

【考察および結論】

根管形成時に産生されるスミヤ層は、感染源歯質残存や緊密な根管充填を阻害するため除去する必要がある。EDTA の脱灰作用は濃度および pH に影響されるが、グライド、および試作 EDTA 24%ジェルは、Ni-Ti ファイルに対する応力減少と同程度のスミヤ層除去効果を示し、水溶性 EDTA 製材の使用は根管形成に有用であることが示された。

## シングルファイル法とマルチファイル法による 根管拡大形態と作業時荷重に関する研究

<sup>1)</sup> 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座

<sup>2)</sup> 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学

○新井恭子<sup>1)</sup>、松田浩一郎<sup>2)</sup>、山田理絵<sup>2)</sup>、北島佳代子<sup>1)</sup>、北野芳枝<sup>1)</sup>、朝比奈壮郎<sup>1)</sup>、五十嵐 勝<sup>1)</sup>

**Studies of enlarged canal shapes and operating forces on single and multi file techniques**

<sup>1)</sup> Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

<sup>2)</sup> Advanced Operative Dentistry・Endodontics, The Nippon Dental University,  
Graduate School of Life Dentistry at Niigata

○ARAI Kyoko<sup>1)</sup>, MATSUDA Koichiro<sup>2)</sup>, YAMADA Rie<sup>2)</sup>, KITAJIMA Kayoko<sup>1)</sup>, KITANO Yoshie<sup>1)</sup>,  
ASAHINA Takeo<sup>1)</sup>, IGARASHI Masaru<sup>1)</sup>

【目的】ステンレススチール製手用ファイルを用いた湾曲根管の拡大形成では、根管の直線化が起りやすい。一方、Ni-Ti 合金製ロータリーファイル (以下 Ni-Ti ファイル) は、根管の湾曲に沿った拡大形成が可能で根尖部根管の偏位が少ないといわれている。近年、根尖孔の大きさを基準にファイル1本を選択し、往復回転運動のできるロータリーエンジンに装着して使用するシングルファイル法が報告された。本研究では、シングルファイル法の RECIPROC® (VDW, Germany, 以下 RE) とマルチファイル法の Twisted File (SybronEndo, USA, 以下 TF)、ProTaper® (DENTSPLY, Switzerland, 以下 PT) およびステンレススチール製Kファイル (ZIPPERER, Germany, 以下 SSK) を用い、透明湾曲根管模型を拡大形成した後の根管幅径増加量と形成時に加わる荷重について比較検討を行った。

【材料および方法】実験群は RE 群 (21mmRE-R25 の1本で拡大)、TF 群 (21mmTF-.10/#25、.08/#25、.06/#25、.04/#25 の4本で拡大)、PT 群 (21mmPT-S1、S2、F1、F2 の4本で拡大)、SSK 群 (21mmSSK-#15、20、25 の3本で拡大) の4群とした。根管の拡大形成には、30度の湾曲を持つ透明湾曲根管模型 (END-TRAINING-BLOC A0177, DENTSPLY, Switzerland) を36個使用した。拡大前と後の根管にメチレンブルー水溶液を注入し、側方から撮影した拡大前後の写真を重ね合わせて計測に使用した。計測法は Yumら (2003) の方法に準じ、根尖孔から0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9mmの位置で内湾側と外湾側における根管幅径増加量を測定した。さらに、外湾側と内湾側の増加量の比率 (外湾/内湾比) を求めた。また、拡大中は、デジタルフォースゲージを用い、100msecの測定間隔で拡大時の荷重測定を行った。結果は、一元配置分散分析を行った後、Games-Howellの方法で多重比較検定を行った。

【結果】内湾側での根管幅径増加量の平均値が最も多かったのは、全ての部位で RE 群であった。そのうち、4~7mmでは他の群と有意差があったが、1~3mmでは RE 群と SSK 群との有意差はなかった。最も増加量が少なかったのは、0~5mmでは TF 群で、1~4mmで他の群と有意差がみられた。6~9mmでは SSK 群が最も少なく、7~9mmで他の群と有意差があった。一方、外湾側の増加量が最も多かったのは、0mmでは SSK 群であったが、他の群との有意差はなかった。1mmでは RE 群が最も大きく、TF 群と有意差があった。2~9mmでは PT が最も多く、3、4mmで他の群と有意差があった。最も増加量が少なかったのは、0、1mmでは TF 群で、0mmで PT 群と RE 群との間に、1mmでは全ての群との間に有意差がみられた。2~5mmでは SSK が最も少なく、2、3mmで他の群と有意差がみられた。6~9mmでは TF 群が最も少なく、他の群と有意差があった。外湾/内湾比は、0、1、7~9mmで SSK 群の値が6以上となり、外側に多く拡大されていた。押し込み荷重と引き抜き荷重は SSK 群が最も大きく、RE 群、PT 群、TF 群の順で小さい値となった。押し込み荷重では全ての群間で有意差があり、引き抜き荷重では PT 群と TF 群には有意差がなかったが、他の群間では有意差があった。

【考察】根管幅径増加量では、内湾側の全ての位置で RE 群が最も多く、外湾側でも最も多くなった PT 群とほぼ同様の結果を得たことから、他のファイルよりも根管の全域を均等に拡大できると考えられる。TF 群は外湾側の増加量が最も少なく、内湾側でも増加量が少なかった部位が多く、形成量は最も少なかったと考えられる。外湾側 0mm で SSK 群が最も増加量が多くなったことから、SSK 群は根尖孔の外側偏位が最も大きく、Ni-Ti ファイルの方が湾曲根管を良好に拡大形成できることを示している。押し込み荷重と引き抜き荷重では、Ni-Ti 群が SSK 群よりも有意に小さくなったことから、トルクコントロールエンジンを使用することで小さい荷重で拡大形成ができることを示している。

【結論】湾曲根管では、手用ファイルよりも Ni-Ti ファイルの方が軽圧で良好な拡大形成を行うことができるとともに、特にシングルファイル法の RECIPROC®では、根管全域を均等に切削することができることが示唆された。

## 人工根管を用いた周期的疲労に対する K3XF と K3 の比較

東京歯科大学歯科保存学講座

○渡邊 浩章、山村 啓介、牛窪 敏博、末原 正崇、森永 一喜

### Comparison of cyclic fatigue of K3XF and K3 on artificial root canal

○WATANABE Hiroaki, YAMAMURA Keisuke, USHIKUBO Toshihiro, SUEHARA Masataka,  
MORINAGA Kazuki Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

#### 【研究目的】

Ni-Ti 製ロータリーファイルである K3XF が、2011 年に SybronEndo より市販された。この Ni-Ti 製ロータリーファイルは、K3 (SybronEndo) の後継品として開発され、R 相 Ni-Ti が用いられていることが特徴である。この R 相 Ni-Ti は、従来の Ni-Ti に比較して、より優れた超弾性と高い破折抵抗を有することが報告されている。しかしながら現在まで、R 相 Ni-Ti ロータリーファイル K3XF の周期的疲労に関する報告はほとんどない。

本研究の目的は、R 相 Ni-Ti 製の K3XF と、従来型 Ni-Ti 製ロータリーファイルである K3 の周期的疲労について、彎曲角度の異なる人工根管を用い比較検討することである。

#### 【材料および方法】

本研究には、K3XF (SybronEndo) 15 本と、K3 (SybronEndo) 15 本を用いた。K3XF、K3 共に、ファイルサイズは.06/#30 とした。ファイルの周期的疲労試験には、根管形成用ファイル試験機(CIS, Japan)と、金属製人工根管 (ニッシン) を用いた。ファイルの回転数は、300rpm とした。それぞれのファイルを、3つのグループに分け(n=5)、25°、35°、45°の彎曲角度の人工根管内に挿入し、潤滑液 (WD40,WD40) を満たした状態で回転させ、破折までの時間を測定した。全ての測定は、同一人物により行った。統計処理には、Tukey 法と t 検定を用いた。

#### 【成績】

彎曲角度ごとの比較では、すべての彎曲角度において K3XF の破折までの時間が、K3 に比較して有意に長かった。

彎曲角度による比較では、K3XF は 25° と 35° の間に有意差は認められなかったが、35° と 45° の間には有意差が認められた。K3 は、25° と 35° ならびに 35° と 45° の間に有意差は認められなかったが、25° と 45° の間には有意差が認められた。

#### 【結論】

本研究の結果より、R 相 Ni-Ti 製ロータリーファイルである K3XF は、従来型の Ni-Ti 製ロータリーファイルである K3 に比較して、ファイルの周期的疲労に対し、より高い耐久性を示すことを確認した。



## ニッケルチタンロータリーファイルの破折特性 -X線回折と走査電子顕微鏡による所見-

<sup>1)</sup>奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野

<sup>2)</sup>奥羽大学歯学部生体材料学講座, <sup>3)</sup>奥羽大学歯学部口腔衛生学講座

○佐々木重夫<sup>1)</sup>, 川島 功<sup>2)</sup>, 木村裕一<sup>1)</sup>, 佐藤穂子<sup>1)</sup>, 釜田 朗<sup>1)</sup>, 山崎信夫<sup>1)</sup>, 山田眞義<sup>1)</sup>, 車田文雄<sup>3)</sup>

### Fracture Properties of nickel titanium rotary files

#### -Findings of X-ray diffraction and scanning electron microscopy-

<sup>1)</sup>Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

<sup>2)</sup>Department of Biomaterials and Medical Engineering, Ohu University School of Dentistry

<sup>3)</sup>Department of Preventive Dentistry, Ohu University School of Dentistry

○SASAKI Shigeo<sup>1)</sup>, KAWASHIMA Isao<sup>2)</sup>, KIMURA Yuichi<sup>1)</sup>, SATO Yasuko<sup>1)</sup>,

KAMADA Akira<sup>1)</sup>, YAMAZAKI Nobuo<sup>1)</sup>, YAMADA Masayoshi<sup>1)</sup>, KURUMADA Fumio<sup>3)</sup>

#### 【研究目的】

ニッケルチタン(Ni-Ti)ファイルは優れた超弾性があることから、彎曲根管の根管形成に有用されているが、使用中にファイルが破折することがあり、いまだに安心して使用するところまでには至っていない。近年、さまざまな改良が加えられ、破折率が減少する傾向にある。その改良を加えた一つの製品として、従来の削り出しではなく、ねじり(ツイステッド)加工をすることで製造されたTF (twisted file) ファイルがある。このTF ファイルはオーステナイト相とマルテンサイト相の相変態時に生じるR相(Rhombohedral 構造)を利用したものである。しかし、このTF ファイルの破折特性に関する詳細な報告は少ない。そこで、本研究ではTF ファイルの破折面をX線回折し、走査電子顕微鏡(SEM)にて観察し検討を行った。

#### 【材料および方法】

実際に回転操作を加え、破折したTF ファイル 10本を使用した。破折部のX線回折測定は微小領域X線回折装置RINT2500(リガク)を使用した。測定条件はCuターゲット、管電圧40kV、管電流200mAとし、Niフィルターを使用した。100 $\mu$ のコレクターを採用し、走査条件を回折角 $2\theta=20\sim 90^\circ$ の範囲で $2^\circ/\text{min}$ の速度として測定した。対照部位としてファイルのシャンクに近い部位(未変形部分)を測定した。残りの試料は5kV、20mAで90秒間パラジウムを使用してコーティングし、SEM(S-3000, 日立)にて加速電圧10kV、倍率40~1000倍にて観察した。

#### 【結果及び考察】

X線回折測定結果で回折線は未変形部分では約42度付近のシャープなオーステナイトと考えられる110ピークがみられた一方で、破折面ではほぼ同一角度であるが、顕著にブロードな回折ピークとなった。SEMによる観察では、多くの試料において刃部に伸びが生じ、その少し先端部分で破折していた。破折角度はファイルの軸に対してほとんどが約 $90^\circ$ になっていた。破折部より少しシャンク部よりではクラック様のひびが認められる試料があった。破折面は比較的なめらかなものとかかなり粗造感のあるものが存在していた。

Ni-Ti ファイルは通常はオーステナイト相にあり、回転によるストレスが加わるとひずみが生じ、徐々にマルテンサイト相に変化していき、ある一定以上のマルテンサイト相が生じると破折することが報告されている。大部分のファイルにおいて刃部の伸びが生じている部分より少し先端が破折しており、理由は明らかではないがR相を利用して作製されたことと関連していると考えられる。従来のNi-Ti ファイルでは伸びを生じることなく、破折するのに対して、TF ファイルは急激なストレスによるひずみが生じない限り、一度伸びが生じてそれからさらに応力が集中した部位に破折が発生すると考えられた。このことは破折面の近くで亀裂が多く認められたことから裏付けられる。R相を利用したファイルは破折抵抗性が増すと報告されており、その詳しいメカニズムはまだ明らかではないが、何より破折する前に刃部に伸びを生じて破折の徴候を示してくれることが、臨床においては好都合である。

#### 【結論】

TF ファイルの破折面をX線回折した結果、オーステナイト相からマルテンサイト相に相変態が生じていたことが示唆された。破折部位は刃部の伸びが生じている部位より少し先端側で、破折角度はファイル軸に対してほぼ直角であった。破折部より少しシャンク側では亀裂様のひびが認められた。このことより破折部位の前後ではストレスによりひずみが生じ、最もひずみが高いところから破折したことが示唆された。

## 根管形成操作解析装置の開発 - トルク・荷重平面でのデータ点運動評価方法 -

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野  
○庭野和明 興地隆史

**Development of a Device for Analyzing Dynamic Characteristics of Root Canal Instrumentation:  
A Method for Evaluation of the Data Point Movement in the Torque-Force Plane**  
Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
○NIWANO Kazuaki, OKIJI Takashi

**【緒言】** 演者らは、根管形成操作に対する客観的評価法の開発を目的として、形成時に根管模型に作用するトルク、荷重をひずみゲージで検出後、リアルタイムでトルク-荷重曲線としてモニタ表示する装置を開発し、術者がこの表示を注視しながらWatch-winding motion (以下WWM)により根管形成を行った時に、モニタ上に目標として重ね表示した長方形枠領域に向けてトルク、荷重を変化させようことを第135回本学会において報告した。今回は、WWMに特徴的なトルク変化パターンに着目し、同装置で得られたデータからWWMに特有の運動パターンデータを抽出し、その頻度により形成操作を評価する方法について検討を行ったので報告する。

**【材料および方法】** 歯学部6年次学生、歯科臨床研修医あるいは前年時歯科臨床研修医からなる10名を被験者とした。エポキシレジン製根管模型 (S8:ニッシン社製) を装置に接続し、#40K-fileでWWMによる根管形成を行いトルク、荷重を1/200秒毎に計測した。この際、目標となる長方形の枠をモニタ上に重ね表示し、トルク-荷重曲線の軌跡が可及的に枠内を動くような操作となるよう、モニタ注視下で形成することを指示した。

**1) データ前処理** 過去に開発した非操作区間推定アルゴリズムにより同区間データをゼロ値化する前処理を行った。次いで前処理後データの非ゼロ値データ先頭の5秒を除去し、それに続く10秒間のデータを解析に供した。

**2) 速度状態の分類** 任意のサンプリング時刻において、近接データ差分により定義されるトルク変化速度 $V_t$ 、および荷重変化速度 $V_f$ は、ともに正、0、負の3状態に分類できる。従って、任意のデータ点の速度状態は $V_t$ と $V_f$ との組み合わせにより9種に分類される。さらにトルク-荷重平面を4象限に分割し、原点座標を加えて各々に前記9状態を設定すると、任意の時刻におけるデータ点は45状態に分類される。そこで、各状態を図に示す英数字1文字で命名したのち、解析対象データ点の速度状態を順次分類し、2000字長の文字列とした。

**3) 正規表現による検索** トルクが $V_t > 0$ を保ちながら第3象限(DOWN\_CCW領域)から第4象限(DOWN\_CW領域)へ運動軌跡が向かうパターンおよび $V_t < 0$ で第4象限から第3象限へ向かうパターンがWWMに特徴的であると仮定し、2)で作成した文字列を正規表現 [JKL]+[BCD]+ および [FGH]+[NOP]+ によりマッチさせた。2つの正規表現にマッチした文字数の和を、本評価法で得られた成績とした。なお、1-3)のデータ処理ソフトウェアはGCC 4.7.2およびPerl v5.14.3により作成した。

**4) 統計解析** 1)のデータについて枠で表示した目標領域内に存在する軌跡データ点数を算出し、3)の結果との間に相関が認められるかどうかSpearmanの順位相関係数の有意性検定を行った。検定はR version 2.15.1を用いた。

**【成績】** 検索されたデータ点数はWWMパターン検索1993~389、目標領域内検索1701~501であった。また順位相関係数は $\rho = 0.32$ であった。帰無仮説:  $\rho = 0$ は棄却されなかった。(p = 0.37)

**【結論】** 運動パターン評価と目標領域内軌跡データ点数評価間の相関を明らかにできなかった。すなわち、両評価方法はWWM動作指示により行われる術者パフォーマンスに対して異なる評価を与える可能性が示唆された。

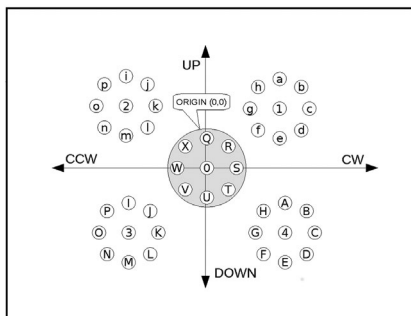


図 トルク・荷重平面における45の速度状態に対する命名

4象限{UP\_CW, UP\_CCW, DOWN\_CCW, DOWN\_CW}と原点(面積を与えて示す)に設定された9個の円は速度状態による分類名(1文字:英字は大文字,小文字を区別)を示す。中心の円(0, 1, 2, 3, 4)は $V_t=0, V_f=0$ の状態,他の円では中心の円より上方は $V_f > 0$ ,下方は $V_f < 0$  また右方は $V_t > 0$ ,左方は $V_t < 0$ を示す。

## 新規歯内療法実習用顎模型の開発

北海道医療大学 歯学部 口腔機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野  
○白井 要, 妹尾 智子, 藤原 正, 長澤 敏行, 古市 保志

### Development of new jaw model for training of endodontic treatment.

Department of Oral Rehabilitation Division of Periodontology and Endodontology School of Dentistry

Health Sciences University of Hokkaido

○Kaname Shirai, Tomoko Senoo, Tadashi Fujiwara, Toshiyuki Nagasawa, Yasushi Furuichi

#### 【背景】

現在、全国の歯科大学・歯学部では、文部科学省の制定したモデル・コア・カリキュラムに基づき、各校が独自の卒前教育を実施している。近年は、客観的臨床能力評価試験 (OSCE) が行なわれ、外部評価者による評価システムの導入などにより他校の現状を相互に把握することの重要性が認識されている。また、臨床実習前に行なわれる基礎実習の一つである歯内療法学実習では、各大学により実習内容、使用器具、使用薬剤が異なっていることが報告されている (山内ら, 日歯保存誌, 53(5): 525-533, 2010)。現在、歯内療法学実習では、天然歯や模型歯を石膏に直接埋め込んで実習及び評価を行う方法が行われているが、ステップごとの結果の評価が困難である。

#### 【目的】

今回当分野では、基礎実習、OSCE、参加型臨床実習及び卒業後臨床研修における教育内容の均一化を図るために、規格化された模型歯とそれらを装着できる新規歯内療法実習用顎模型を開発し、その教育機材としての可能性を評価した。

#### 【材料と方法】

株式会社ニッシンと共同制作によって、透明根管模型歯 B22X-END #26,#36 (株式会社ニッシン, 東京) が着脱可能であり、かつ、ファントム DR-11 (株式会社モリタ, 東京) に着脱可能なモデルとして新規歯内療法実習用顎模型を作成した。新規歯内療法実習用顎模型に透明根管模型歯 #26, #36 を装着し、ラバーダム防湿下にて抜髄から根管充填までの根管治療を行った。対照モデルとして、石膏模型に#26, #36 を植立し同様に根管治療を行った。リーマー試適、根管充填後のエックス線写真撮影を行い、その状態を観察した。また、新規歯内療法実習用顎模型および石膏模型から #26, #36 を取り出し目視にて評価した。

#### 【結果】

透明根管模型歯#26, #36 は、天然歯と類似した X 線透過像を示し、根管充填状態の確認に有効であった。#26, #36 は、確実に新規歯内療法実習用顎模型に固定され、ラバーダム装着時やファイリング操作時にかかる着脱方向への負荷によって外れなかった。また、新規歯内療法実習用顎模型に #26, #36 を装着した状態でエックス線撮影を行っても、鮮明な画像を得ることができた。さらに、着脱も簡便であり新規歯内療法実習用顎模型及び透明根管模型歯の破損を防ぐことができることから、根管治療中および修了後に目視での評価が容易であることが確認された。

#### 【考察】

今回開発した新規歯内療法実習用顎模型は、規格化された透明根管模型歯を装着できるため、歯内療法実習における教育内容の均一化が可能である。また、透明根管模型歯が容易に着脱できるため、術前、術中、術後の視覚的な自己および他者評価を行うことで、基礎実習や OSCE 時の客観的な評価の質の向上に繋がる。また、参加型臨床実習や卒業後臨床研修における臨床前シミュレーション実習にも活用することが可能である。さらには、患者からの抜去歯を用いた実習の代替になり感染事故の予防にも大いに貢献する。これらから、今回の新規歯内療法実習用顎模型は、臨床実習前基礎実習、OSCE、参加型臨床実習及び卒業後臨床研修まで幅広く利用可能であり、スキルスラボにおける使用機材として適していることが示唆された。

研究協力者 : 山本雅人, 岩城重次 株式会社 ニッシン

### 松本歯科大学における、歯周病学模型実習に対する学生の意識調査

松本歯科大学歯科保存学第一講座

○窪川恵太<sup>1)</sup>、海瀬聖仁<sup>1)</sup>、武藤昭紀<sup>1)</sup>、三木 学<sup>1)</sup>、内田啓一<sup>2)</sup>、田口 明<sup>2)</sup>、吉成伸夫<sup>1)</sup>

#### Survey of Student's Attitude toward the model practice of periodontology at Matsumoto Dental University

<sup>1)</sup>Department of Periodontology, <sup>2)</sup>Department of Oral and Maxillofacial Radiology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University

○Keita Kubokawa<sup>1)</sup>, Kiyohito Kaise<sup>1)</sup>, Akinori Muto<sup>1)</sup>, Manabu Miki<sup>1)</sup>, Keiichi Uchida<sup>2)</sup>, Akira Taguti<sup>2)</sup>  
and Nobuo Yoshinari<sup>1)</sup>

【目的】本学では、質の高い教育を行うために、2007年度から継続的に講義、実習内容などに関する学生の意識調査を行い、学生教育へのフィードバックを図っている。今回は、松本歯科大学第4学年に実施している歯周病学模型実習において、実習状況の把握、実習内容の再考と今後の改善のため、すべての学生に対して模型実習内容に関する6年間のアンケート調査、その内容および結果を模型実習の概要とともに報告する。

【方法】2007年度(91名)、2008年度(111名)、2009年度(123名)、2010年度(88名)、2011年度(83名)、2012年度(59名)の6年間における、歯周病学模型実習を履修した松本歯科大学歯学部、第4学年を対象とした。実習は15名~23名の小グループに分かれ、全15回の最終実習日にアンケート用紙を学生に配布し、調査を施行した。アンケート項目は、実習環境について問う「班分け、レイアウト」が3項目、模型、器材について問う「実習器材」が1項目、教員の指導や態度について問う「インストラクター」が3項目、達成目標などについて問う「実習内容」が3項目の合計10項目あり、それぞれを5段階評価方式で評価した。回答は無記名とし、上位2段階が占める割合を満足度良好割合、下位2段階を不満足度割合とした。実習に参加したインストラクターは、常勤8~9名に加え、実習毎4~6名の非常勤講師であった。

【結果】班分け、座席、デモ機のレイアウト項目に関して、班員数においては、2009年度において不満足度割合が2007年度、2008年度に比べ増加し、2010年度以降は減少傾向が見られた。自分の座席の位置においては、不満足度割合が、2010年度以降減少傾向が見られた。デモ機の位置は、2008年、2009年度で、不満足度割合に増加傾向が見られた。実習器材項目に関しては、2007~2012年度で満足度良好割合が勝っていたが、さらに、不満足度割合が2010年より減少していた。インストラクターの指導評価項目に関しては、デモ、指導内容、指導レベルすべてで、不満足度割合と比較し、満足度良好割合が2007~2012年度で勝っていた。実習の難易度においては、2012年度で不満足度割合が減少した。実習内容項目に関しては、ビデオデモにおいて、毎年否定的評価の割合が多かったが、2012年度で満足度良好割合が増加した。

【考察】班分け、座席、デモ機、レイアウトに関しては、学生数が最も多かった2009年度の不満足度割合が一番多く、デモが見づらい、教員の目が行き届かなかったなどの理由で増加傾向にあったと考えられ、学生数が一番少ない2012年度では減少した。実習器材項目である模型の使いやすさにおいては、2007年~2012年度すべてにおいて、満足度良好割合が良好であったが、さらに、2010年より不満足度割合も減少傾向にある。これは、2010年度より模型を改善したことによるものと考えられる。インストラクターに関しては2007年~2012年度、全項目(デモ、指導、指導レベル)において、満足度良好割合が50.0%を超えていたため、指導レベルは適切だったと思われる。実習の難易度に関して、2012年度で不満足度割合が過去5年間と比較し、著しく減少した点は、学生全体の理解レベルが上昇したためと考えられる。実習内容のビデオデモにおいては、2007年~2011年度において満足度良好割合より、不満足度割合と回答した学生が多くいたが、2012年度で不満足度割合の減少が見られた。これは、前年度と比較し、実習中に新たなビデオを流すなどの改善をした結果と思われる。インストラクターの指導に対する評価が高い事は、指導内容、指導レベルの相違が生じないように、事前にインストラクター間のデモを行い、統一を計っている。また、ビデオデモにはより改善の余地があり、意欲の低い学生に実習の楽しさを教え、インストラクターの実習目的や目標を少しでも具現、達成することができるビデオデモに改善していく予定である。教育方法の妥当性の評価及び、問題点の抽出を行う事は重要であり、さらなるスキルの向上へと関連付けされる。その一つの手法として、学生を対象としたアンケート調査は重要な要素である。今後も継続的に調査を行い、さらなる実習内容の改善を図るつもりである。

## ヒト角化細胞 HaCaT におけるタイト結合形成機序の研究

<sup>1)</sup> 福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野

<sup>2)</sup> 福岡歯科大学生体構造学講座機能構造学分野

○水上 正彦<sup>1)</sup>、阿南 壽<sup>1)</sup>、北河 憲雄<sup>2)</sup>、稲井 哲一朗<sup>2)</sup>

### A Study on mechanisms of tight junction formation in human keratinocyte, HaCaT cells

<sup>1)</sup> Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College

<sup>2)</sup> Section of Functional Structure, Department of Morphological biology, Fukuoka Dental College

○Masahiko Minakami<sup>1)</sup>, Hisashi Anan<sup>1)</sup>, Norio Kitagawa<sup>2)</sup>, Tetsuichiro Inai<sup>2)</sup>

#### [研究目的]

本研究の目的は、角化重層扁平上皮におけるタイト結合形成過程を観察する三次元細胞培養系のモデルを構築することである。今回は、ヒト角化細胞である HaCaT 細胞を二次元培養し、タイト結合の発現を共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

#### [背景]

- 1 : 角化重層扁平上皮の顆粒層細胞間にはタイト結合が存在し、細胞間の物質透過性を制限するバリアとして機能している。
- 2 : MAPK (Mitogen-activated Protein Kinase) ファミリー はセリン/スレオニンキナーゼの一つであり ERK(Extracellular Signal-regulated Kinase) 1/2, p38 MAPK, JNK (c-jun N-terminal kinase)/SAPK (Stress-activated Protein Kinase), ERK5 の4つの主要な経路が知られている。外界刺激 (増殖刺激、物理化学的ストレス、炎症性サイトカインなどの刺激) を受けて活性化され、細胞質から核へ移行する。細胞増殖、分化、遺伝子発現、アポトーシス、癌などとの関与が示唆されている。SP600125 (以下 SP) は JNK の阻害剤である。またアニソマイシンは JNK の活性化剤である。

#### [方法]

HaCaT 細胞は、DMEM+10%FBS で培養した。

実験 1 : 2 × コンフルエントの細胞数の HaCaT 細胞を播種し、翌日、無添加群をコントロールとして①9.6mMCa, ②50μMSP, ③9.6mMCa+50μMSP で 24 時間処理した後に 1%パラホルムアルデヒドで固定・免疫染色して共焦点レーザー顕微鏡にてタイト結合蛋白の局在を観察した。

実験 2 : 2 × コンフルエントの細胞数の HaCaT 細胞を播種し、翌日培地交換した。さらに一晚培養後 SP+Ca で 6 h 刺激後、SP 処理後 0~72 時間で固定・免疫染色して共焦点レーザー顕微鏡にてタイト結合蛋白の局在を観察した。

実験 3 : 2 × コンフルエントの細胞数の HaCaT 細胞を播種し、翌日培地交換した。さらに一晚培養後 SP で 6 h 刺激後、アニソマイシン 1 μM, 0.5 μM, 0.2 μM にて 18 時間刺激後、固定・免疫染色して共焦点レーザー顕微鏡にてタイト結合蛋白の局在を観察した。

#### [結果]

実験 1 : Ca の単独刺激ではタイト結合の形成は促進されなかったが、SP 刺激によりタイト結合の形成は促進された。さらに、SP と同時に Ca を添加することでタイト結合の形成はさらに促進された。また形成されたタイト結合にはタイト結合蛋白である claudin (cldn)-4, cldn-7, occludin, ZO-1, PAR3, PATJ が確認された。

実験 2 : SP 処理 6 時間後からタイト結合の形成が見られ、72 時間まで持続した。

実験 3 : 1 μM および 0.5 μM のアニソマイシン処理で、タイト結合の形成が完全に抑制された。しかし、0.2 μM ではタイト結合が形成された。

#### [考察及び結論]

HaCaT 細胞において、JNK の阻害剤である SP の添加によりタイト結合の形成が促進された。逆に、JNK の活性化剤であるアニソマイシンの添加によりタイト結合の形成が抑制された。以上の結果から、HaCaT 細胞におけるタイト結合の形成過程で、JNK の経路が関与している可能性が示唆された。歯肉の外縁上皮は角化重層扁平上皮であり、このバリアの破綻は歯周疾患との関連が考えられる。今後、重層扁平上皮のタイト結合が果たす役割を解析できる培養系を確立し、歯周組織におけるタイト結合の役割の基礎医学研究に応用していきたい。

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*における *pga* 遺伝子クラスターの  
凝集能と natural competence に対する役割について

九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯周病学分野

○久野恭子 藤瀬 修 三浦真由美 濱地貴文 前田勝正

Role of *pga* gene cluster for Aggregation ability and natural competence  
in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Section of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation,

Faculty of Dental Science, Kyushu University

○Kyoko Hisano, Osamu Fujise, Mayumi Miura, Takafumi Hamachi, Katsumasa Maeda

【背景・目的】

バイオフィームは、菌体外多糖等のマトリックスに封入された細菌の集団からなっており、付着、凝集し成熟しながら形成されていく。又、細菌には natural competence をもつものがある。natural competence とは、周囲の環境から細胞外 DNA を取り込み、自分自身のゲノムに取り込む能力のことである。過去の研究で、バイオフィーム形成を促進する因子、natural competence を向上させる因子の一つとして  $\text{Ca}^{2+}$  が報告されている。重要な歯周病原細菌の一つに *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. a*) がある。*A. a* はグラム陰性細菌であり、バイオフィームを形成し、natural competence を持つ。しかし、*A. a* について上記に関する研究はまだなされていない。*A. a* の菌体外多糖の産生に関わっている遺伝子の一つとして *pga* 遺伝子クラスターがあげられる。我々の研究グループでは、過去にこの遺伝子クラスターの内 *pgaBC* 遺伝子を欠損させると凝集を起さなくなると報告した。この遺伝子クラスターのバイオフィーム形成以外の役割については不明である。

そこで、培養時に添加した  $\text{Ca}^{2+}$  が *A. a* のバイオフィーム形成における凝集促進、natural competence 促進因子となり得るのか、そしてその中の *pga* 遺伝子クラスターの役割について追究することにした。

【材料及び方法】

*A. a* の ATCC29523 株(野生株)と HM23ML 株(ATCC29523 株の *pgaBC* 遺伝子欠損株)を使用した。各菌の対数増殖期の前に  $\text{CaCl}_2$  を添加して培養した時と定常期に  $\text{CaCl}_2$  を添加した時の、凝集率と natural transformation の頻度をそれぞれ比較し、変化がみられるか検討した。

【結果】

*A. a* の ATCC29523 株において、対数増殖期の前に  $\text{Ca}^{2+}$  を添加して培養した場合、凝集率が高くなり、凝集促進が確認出来た。一方、*pgaBC* 遺伝子が欠損していると  $\text{Ca}^{2+}$  による凝集率の変化はなかった。そして、ATCC29523 株は対数増殖期の前に  $\text{Ca}^{2+}$  を添加して培養した場合、 $\text{Ca}^{2+}$  を添加しないで培養した場合よりも natural transformation の頻度が有意に増加した。一方、*pgaBC* 遺伝子が欠損していると  $\text{Ca}^{2+}$  による natural transformation の頻度の変化はなかった。また、定常期に  $\text{Ca}^{2+}$  を添加した場合、ATCC29523 株は凝集率、natural transformation の頻度ともに変化はみられなかった。

【結論および考察】

対数増殖期の前に添加した  $\text{Ca}^{2+}$  は、*A. a* のバイオフィーム形成における凝集能を促進、natural competence を促進する因子となり得た。*pga* 遺伝子クラスターはそのような促進過程に関与していた。

また、定常期に添加した  $\text{Ca}^{2+}$  は、*A. a* の上記促進因子となり得なかった為、増殖中に存在する  $\text{Ca}^{2+}$  が促進因子となり得る可能性、そして *pga* 遺伝子クラスターが対数増殖期に働いている可能性が推察された。

## 複合波電気刺激がヒト歯周組織線維芽細胞に与える影響

日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座  
○両角祐子, 山下亜希, 佐藤 聡

### Effect of multiple wave electrical stimulation on human periodontal fibroblasts

Department of Periodontology, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Niigata  
○MOROZUMI Yuko, YAMASHITA Aki, SATO Soh

#### 【目的】

電気療法は理学療法として広く応用されており、近年では、異なる周波数を組み合わせて通電させる複合波による電気刺激が臨床応用されている。しかし、複合波による電気刺激が歯周組織由来の線維芽細胞に対しどのような影響をもたらすのか不明な点も多い。そこで本研究では、ヒト歯根膜線維芽細胞 (HPDLF)、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) を用い、歯周組織由来線維芽細胞に対する複合波電気刺激の影響について *in vitro* にて研究を行った。

#### 【材料および方法】

##### 1. 細胞

HPDLF および HGF は、日本歯科大学新潟病院を受診した患者 (HPDLF: 男性 1 名、女性 2 名、平均年齢 31±5.5 歳、HGF: 男性 2 名、女性 1 名、平均年齢 25±3.5 歳) の歯科治療上の理由で抜去された歯、また抜去の際に除去された歯周組織より採取した (日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会: 許可番号: ECNG-H-8)。

##### 2. 細胞の採取および培養

抜去歯をリン酸緩衝液 PBS(-) で洗浄し、歯肉細胞や歯髓細胞の混入を避けるために、歯頸部 1/3 と根尖部 1/3 の組織を除いた歯根中央部 1/3 の組織に限局して歯根膜組織を採取し、また上皮部を除いた結合組織を歯肉組織として採取した。細胞は、第 5 継代までの培養細胞を研究に用いた。

##### 3. 電気刺激

電気刺激は、培養 3 日から培養 10 日まで 24 時間間隔で 1 分間行った。複合波電気刺激装置には、理学療法機器テクノトロン EMS 2H(Techno Link 株式会社)を用いた。電気刺激は、パルス幅変調方式を用いた独自波形で、2.7 kHz で 1 周期を 368 μsec、最小パルス幅を 4 μsec とした。電流は、一般的に電気刺激療法に使用される 10 mA とし、電気刺激を与えたものを電気刺激群、与えなかったものを非電気刺激群とした。

##### 4. 評価方法

###### 1) Alamar Blue を用いた細胞増殖の評価

細胞(1.0×10<sup>4</sup> cells)を 24 ウェルプレートに播種し、前述した条件で電気刺激を与え、培養 4, 6, 8, 10 日後、各ウェル 10 v/v% になるように Alamar Blue Cell viability Reagent (Invitrogen 社)を添加し、37°C、3 時間、炭酸ガス培養器中(5% CO<sub>2</sub>, 95% Air)で培養後、蛍光度をマイクロプレートリーダー(Fluoroskam Ascent FL, Thermo Fisher Scientific Inc.)を用い、測定した。

###### 2) アルカリホスファターゼ(Alkaline phosphatase; ALP)活性の評価

ALP 活性の評価は TRACP & ALP Assay Kit (タカラバイオ株式会社, 日本)を用いて行った。キットの方法に従い、吸光マイクロプレートリーダー(Viento808, DS PHARMA BIOMEDICAL)にて測定を行った。

測定結果は、電気刺激の有無および培養日数の影響について、2 元配置分散分析および Tukey の多重比較検定を用いて行った。

#### 【結果および考察】

Alamar Blue を用いた細胞増殖の評価では、HPDLF、HGF 共に電気刺激群で fluorescence intensity が増加する傾向にあった。ALP 活性の評価では、HPDLF は電気刺激群で有意に ALP 活性の増加を認め、HGF では電気刺激群と非電気刺激群間に大きな差は認められなかった。以上の結果より、電気刺激はヒト歯周組織線維芽細胞に作用し、HPDLF の活性を高め、歯周治療応用への可能性が示唆された。

**生理的咬合圧が歯根膜の成長因子産生に及ぼす影響**

京都府立医科大学大学院医学研究科 歯科口腔科学<sup>1</sup>, 京都府立医科大学大学院医学研究科 免疫学<sup>2</sup>,  
蘇生会総合病院 歯科・歯科口腔外科<sup>3</sup>, 京都第一赤十字病院 歯科口腔外科<sup>4</sup>

○市岡宏顕<sup>1, 2</sup>, 山本俊郎<sup>1</sup>, 山本健太<sup>1, 2</sup>, 本城賢一<sup>1, 2</sup>, 張端良<sup>1, 3</sup>,  
植西俊裕<sup>1, 4</sup>, 大迫文重<sup>1</sup>, 喜多正和<sup>2</sup>, 金村成智<sup>1</sup>

**Effects of occlusal stress on production of growth factors in periodontal ligament.**

Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical  
Science<sup>1</sup>

Department of Immunology, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical  
Science<sup>2</sup>

Department of Dental and Oral Surgery, Soseikai General Hospital<sup>3</sup>

Department of Oral Surgery, Japanese Red Cross Society Kyoto Daiichi Hospital<sup>4</sup>

○Ichioka Hiroaki<sup>1, 2</sup>, Yamamoto Toshiro<sup>1</sup>, Yamamoto Kenta<sup>1, 2</sup>, Honjo Ken-ichi<sup>1, 2</sup>, Cho Tanryo<sup>1, 3</sup>,  
Unishi Toshihiro<sup>1, 4</sup>, Oseko Fumishige<sup>1</sup>, Kita Masakazu<sup>2</sup>, Kanamura Narisato<sup>1</sup>

**【研究目的】**

歯根膜は、歯槽骨とセメント質の間に介在する線維性結合組織であり、歯槽骨内に歯牙を固定するとともに、顎骨・歯槽骨への咬合圧をはじめとしたメカニカルストレス（以下、MS）を緩衝している組織である。これまでに我々は生理的咬合圧に近似したMSがヒト歯根膜由来細胞（以下、hPDL細胞）の炎症性サイトカイン産生を誘導することを報告しているが、生理的咬合圧に近似したMS付与による成長因子の産生や、成長因子産生の細胞内シグナリングに関する報告はこれまでにみられない。そこで、本研究では生理的咬合圧に近似したMS付与の有無（*in vitro*）あるいは咬合刺激の有無（*in vivo*）によるhPDL細胞および歯根膜組織の成長因子（VEGF, FGF, NGF）発現ならびに産生と、MS付与の有無（*in vitro*）によるMAPK（ERK, p38, JNK）シグナリングについて検討した。

**【材料および方法】**

歯根膜は、健康な患者（20～41歳）から矯正学的理由に便宜抜去された健全な第一小臼歯または第三大臼歯から採取した。採取した歯根膜は、37℃、5% CO<sub>2</sub>条件下で10% FBS/DMEMにて初代培養後、3～4代継代培養したものをhPDL細胞とした。hPDL細胞に生理的咬合圧に近似したMSを付与し、形態的变化、細胞活性変化、Real-time RT-PCRにて成長因子発現、ELISA法にて成長因子産生について検討をおこなった。また、C57BL/6マウスの上顎臼歯を抜歯し、咬合刺激除去群を作成し、下顎臼歯歯根膜組織での成長因子発現をReal-time RT-PCRにより検討をおこなった。さらに、Cytometric Bead Array（BD bioscience）を用いて、MS付与の有無によるMAPKのリン酸化について検討をおこなった。また、MAPK阻害剤を用いて、MS負荷による成長因子発現についてReal-time RT-PCRにより検討をおこなった。

**【成績】**

hPDL細胞へのMS付与によりVEGF, FGF, NGF mRNA発現とVEGF, FGF産生の有意な増加を認めた。なお、形態学的変化および細胞活性に変化は認めなかった。また、咬合刺激除去群の歯根膜組織では、NGF mRNA発現の有意な減少を認めた。さらに、hPDL細胞へのMS付与によりERKおよびp38のリン酸化が促進された。また、MS負荷による成長因子発現の増加は、ERKおよびp38阻害剤添加により抑制された。

**【考察】**

生理的咬合は、歯根膜において炎症性サイトカインを誘導するとともに、組織修復に関連する成長因子を誘導することで、歯根膜組織の多様性が増大し、歯周組織の再生や恒常性維持に関与している可能性が示唆された。また、生理的咬合圧に近似したMS付与によるhPDL細胞の成長因子発現には、ERKおよびp38経路が関与している可能性が示唆された。

**【結論】**

生理的咬合圧に近似したMSは、MAPK経路を活性化し、hPDL細胞において組織修復に関連した成長因子産生を誘導する。



## 神経変性疾患関連因子 TDP-43 はマクロファージ様細胞の TNF- $\alpha$ 転写調節に関与する

<sup>1</sup>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

<sup>2</sup>岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野

○村田裕美<sup>1</sup>, 生田貴久<sup>1</sup>, 前田博史<sup>2</sup>, 高柴正悟<sup>2</sup>, 木戸淳一<sup>1</sup>, 永田俊彦<sup>1</sup>

### The major neurodegenerative disease protein TDP-43 enhances TNF- $\alpha$ transcriptional regulation in human monocyte-derived macrophage-like cells

<sup>1</sup>Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School

<sup>2</sup>Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○Hiromi Murata<sup>1</sup>, Takahisa Ikuta<sup>1</sup>, Hiroshi Maeda<sup>2</sup>, Shogo Takashiba<sup>2</sup>, Jun-ichi Kido<sup>1</sup>, Toshihiko Nagata<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

TNF- $\alpha$  は、関節リウマチや糖尿病におけるインスリン抵抗性および歯周病など、多くの炎症性疾患の病態形成に関わる主要な炎症メディエーターである。その主な産生細胞は単球/マクロファージであり、lipopolysaccharide (LPS) が最大の活性化因子と考えられているが、LPS 誘導性の TNF- $\alpha$  発現機構は未だ完全には明らかにされていない。我々はこれまでに、単球系細胞を用いて TNF- $\alpha$  プロモーター配列の中で LPS 誘導性に強い転写活性を示す領域を同定した。本研究では、その領域に結合する新規の DNA 結合性タンパクの同定を目的としてスクリーニングを行い、得られた複数の候補因子のうち神経変性疾患関連因子として知られる TAR DNA binding protein 43 (TDP-43) に焦点を絞り、単球系細胞における LPS 誘導性の TNF- $\alpha$  転写調節への関与を検討した。

#### 【材料および方法】

1. 細胞培養: ヒト単球系細胞株 THP-1 を 10% ウシ胎児血清を含む RPMI1640 で培養し、phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA: 200 nM) を含む培地で 24 時間培養してマクロファージ様に分化させた後、*Escherichia coli* LPS (100 ng/ml) を添加し培養を行った。
2. 酵母 one-hybrid スクリーニング: 培養した細胞から mRNA を精製し、SMART 法 (Clontech) にて RT-PCR を行い、cDNA ライブラリーを作製した。また、TNF- $\alpha$  プロモーター配列の中で LPS 誘導性に強い転写活性を示した領域を同方向に 3 つ繋いだ配列を、HIS3 をコードするレポータープラスミドに標的 DNA として挿入した。酵母コンピテントセルの同時形質転換を行い、陽性クローンから cDNA インサートを抽出し、Genbank データベースによるホモロジー解析を行った。
3. 候補因子 TDP-43 の発現動態: LPS 刺激下の THP-1 細胞において、TDP-43 タンパクの発現と細胞内局在をウェスタンブロットおよび免疫染色にて、mRNA 発現を定量 PCR にて、それぞれ検出した。
4. TNF- $\alpha$  転写調節への関与: ヒト TDP-43 の PCR 産物を pFLAG-CMV-2 発現ベクターにサブクローニングし、pFLAG/TDP-43 を作製した。pFLAG/TDP-43 を導入した細胞の核抽出物から、ヒト TNF- $\alpha$  プロモーター断片と結合するタンパクをゲルシフトアッセイにて検出した。また、TDP-43 を過剰発現させた THP-1 細胞における TNF- $\alpha$  の mRNA 発現を、定量 PCR にて検出した。

#### 【結果】

THP-1 細胞の核抽出物を用いたウェスタンブロットでは、TDP-43 タンパクは LPS 刺激の有無にかかわらず PMA で分化させた THP-1 細胞の核内に存在し、それは LPS 刺激によってやや増加する傾向を示した。免疫染色では、TDP-43 タンパクは LPS 刺激の有無にかかわらず主に核内に局在していた。TDP-43 mRNA の発現量は、LPS 刺激後 20 分で上昇し、30 分後には刺激前のレベルに戻った。ゲルシフトアッセイにて、TDP-43 タンパクが実際に TNF- $\alpha$  プロモーター領域と結合することが確認された。また、pFLAG/TDP-43 を導入した THP-1 細胞では、mock と比べて TNF- $\alpha$  mRNA の発現量が増加した。

#### 【考察と結論】

LPS の刺激を受けたマクロファージ様細胞では、早期に TDP-43 mRNA の発現量が増加し、核内に局在する TDP-43 タンパクの発現量もやや増加した。また、TDP-43 タンパクは実際に TNF- $\alpha$  プロモーター配列の中で LPS 誘導性に強い転写活性を示した領域に結合していた。さらに TDP-43 を過剰発現させた細胞では、TNF- $\alpha$  mRNA の発現量が増加した。以上のことから、TDP-43 が LPS 誘導性の TNF- $\alpha$  転写調節に関与している可能性が示唆された。

## GFP マウス骨髄由来間葉系幹細胞の株化と分化能の評価

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座 歯周療法学分野

○澤田 俊輔, 滝沢 尚希, 須和部 京介, 伊東 俊太郎, 金澤 智美,  
大川 義人, 佐々木 大輔, 藤原 英明, 村井 治, 八重柏 隆

### Evaluation of differentiation potency in the immortalized mesenchymal stem cells derived from bone marrow of GFP mice.

Division of Periodontology, Department of Conservative Dentistry,  
School of Dentistry, Iwate Medical University

○Sawada S, Takizawa N, Suwabe K, Ito S, Kanazawa S, Okawa Y, Sasaki D, Fujiwara H, Murai O, Yaegashi T

#### 【目的】

間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cells: MSC) は骨・軟骨・脂肪細胞等への多分化能を有した体性幹細胞である。主として骨髄に存在する MSC は血流を介して各組織に到達した後、その場で必要な細胞を供給するために増殖・分化して組織の修復や再生に働くとされている。近年では MSC の抗炎症作用ならびに炎症によって傷害を受けた組織修復への関与も注目されている。一方、マウス等のモデル動物を利用した再生や組織修復を評価するうえで、生体内で蛍光タンパク質をトレースする *in vivo* イメージング解析は重要なツールとなる。しかしながら、マウス MSC は *in vitro* における長期培養が容易でないことに加え、系統によって MSC マーカーの発現に違いがあることが報告されている。

幹細胞を用いた歯周組織再生療法のトランスレーショナルリサーチを推進するためには、マウス MSC を利用した研究環境の構築が必要と考えられる。そこで本研究では、緑色蛍光タンパク質 (green fluorescent protein: GFP) を強発現するトランスジェニックマウス (GFP マウス) より MSC を分離して不死化・株化し、それらの増殖能、MSC 特異的な表面抗原マーカー (MSC マーカー) の発現ならびに分化能を詳細に評価した。

#### 【材料および方法】

1. 岩手医科大学動物研究センターより供与された生後 3 週齢の GFP マウスから脛骨を摘出した。生理食塩水で洗浄後に両骨端を切断し、2mM EDTA, 0.5% 牛胎児血清を含むリン酸緩衝液で骨髄内より細胞を流出させ、採取した。
2. 得られた細胞を市販の MSC 増殖培地でコラーゲンコートデッシュに播種し、24 時間後に非接着性の細胞を取り除いた。接着性の細胞のみを 37°C, 低酸素条件下 (5% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) にて 2 週間培養して MSC 様細胞を選択的に増殖させた。
3. 増殖した細胞に hTERT (human telomerase reverse transcriptase) および SV40 (simian vacuolating virus 40) 遺伝子のプラスミドベクターを Lipofectamine LTX 試薬にて導入し、薬剤耐性選択後、限界希釈法にて単一細胞由来細胞株を樹立した。
4. 樹立した細胞株の増殖能を PDL (population doubling level) を指標に評価した。また、フローサイトメーターで MSC マーカーの発現を解析した。さらに増殖能に長けた細胞株については骨、軟骨、脂肪分化誘導培地中でそれぞれ培養し、多分化能を評価した。

#### 【結果と考察】

GFP マウスの骨髄より得られた細胞より 21 系統の細胞株を樹立した。それぞれの細胞株において表面抗原マーカーの発現を解析したところ、95% の細胞株において MSC マーカーである Sca-1 が陽性であった。しかしながら、他の MSC マーカーである CD34, CD44, CD90.2, CD105 においてそれぞれの細胞株を比較したところ、発現量に差が認められた。一方、全ての細胞株で造血幹細胞マーカーの CD11b ならびに CD45 は陰性であった。また、MSC マーカーの発現差異と細胞増殖能に相関は認められなかった。Sca-1 陽性の細胞株の分化能を評価したところ、骨ならびに脂肪分化において分化能の程度に差が認められた。これらの結果より、マウス骨髄由来 MSC 様細胞には MSC マーカーの発現パターンが異なる細胞が混在することが示された。

本研究で樹立された細胞株の MSC マーカーの発現差と分化能の違いを詳細に比較することによって、これらの差異を生かした部位特異的な幹細胞治療に繋がる可能性が期待される。さらに、これらの細胞株を利用した *in vivo* イメージング解析をはじめとするトランスレーショナルリサーチへの応用が期待される。MSC を用いた歯周組織再生療法の早期臨床応用を目指して、マウス MSC を用いた *in vivo* 実験は不可避であり、未だ報告のない蛍光発現 MSC 株の樹立と解析は歯科臨床応用においても欠かせないと考える。

*Porphyromonas gingivalis* LPS は歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化能を阻害し, ALP 活性を亢進させる

<sup>1</sup>大阪歯科大学 口腔病理学講座, <sup>2</sup>大阪歯科大学 歯周病学講座  
○嘉藤弘仁<sup>1</sup>, 田口洋一郎<sup>2</sup>, 富永和也<sup>1</sup>, 梅田誠<sup>2</sup>, 田中昭男<sup>1</sup>

*Porphyromonas gingivalis* LPS inhibits osteoblast  
differentiation and promotes alkaline phosphatase in human periodontal ligament stem cells in vitro  
Osaka Dental University, <sup>1</sup>Department of Oral Pathology, <sup>2</sup>Periodontology  
Departments of <sup>1</sup>Oral Pathology and <sup>2</sup>Periodontology, Osaka Dental University, Osaka, Japan

○Hirohito Kato<sup>1</sup>, Yoichiro Taguchi<sup>2</sup>, Kazuya Tominaga<sup>1</sup>, Makoto Umeda<sup>2</sup>, Akio Tanaka<sup>1</sup>

【目的】

歯周病は歯周組織を破壊する慢性炎症疾患である。*Porphyromonas gingivalis* (以下, *P. gingivalis*) は様々な歯周病関連細菌のなかでも最も歯周病と関連が深い細菌の一つであるといわれている。また *P. gingivalis* lipopolysaccharide (以下, LPS) は歯周組織破壊を促進する炎症性サイトカインである interleukin-18 (IL-18), IL-6, IL-8 を誘導する働きがあることが明らかになっている。

歯根膜幹細胞 (以下, PDLSCs) は高い増殖能力と多分化能をもっている。最近の研究では, この PDLSCs は歯周組織や歯槽骨の再生に重要な役割をすることが明らかになってきた。しかし, *P. gingivalis* LPS が PDLSCs の骨芽細胞分化に与える影響に関する研究はほとんど報告されていない。

したがって, 本研究の目的は *P. gingivalis* LPS による PDLSCs の細胞増殖能, 骨芽細胞分化能, および石灰化物形成能, ならびに歯槽骨吸収と強い関連がある IL-18, IL-6, および IL-8 への影響について検討を行った。

【材料と方法】

PDLSCs はヒト抜去歯の歯根膜より剥離・細切し, 酵素処理により得た初代培養細胞で, 間葉系幹細胞マーカー (STRO-1, SSEA-4) の免疫組織化学的染色にて分離・同定した。また *P. gingivalis* LPS (0 µg/mL) の培地で培養したものを対照群とし, *P. gingivalis* LPS (1, 10 µg/mL) の培地で培養したものを実験群とした。

細胞増殖能については PDLSCs を Invivogen 社製 *P. gingivalis* LPS (0, 1, 10 µg/mL) 含有の培地で 1, 3, 8, 24, 72, 120, 168 時間培養し, Nacalai 社製 Cell Count Reagent SF を用いて測定した。

骨芽細胞分化能については *P. gingivalis* LPS (0, 1, 10 µg/mL) 含有の骨芽細胞分化培地で 7 日~21 日間培養した。Collagen 1α1 (COL1α1) 産生量, アルカリホスファターゼ (ALP) 活性, オステオカルシン (OCN) 産生量, およびカルシウム析出量を測定し, アリザリンレッド染色にて石灰化物形成能を測定した。また, 炎症性サイトカインの産生量については IL-18, IL-6, IL-8 の産生量をそれぞれ測定した。なお, 本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った。(承認番号: 110712)

【結果】

1. 細胞増殖能は培養開始 1, 3, 8, 24, 72, 120, 168 時間いずれにおいても対照群と比較して実験群で有意に高かった。
2. ALP 活性は培養開始 7, 14 日いずれにおいても対照群と比較して実験群で有意に高かった。
3. IL-18, IL-6, IL-8 産生量は培養開始 21 日において対照群と比較して実験群で有意に高かった。
4. COL1α1 産生量は培養開始 7 日において対照群と比較して実験群で有意に低かった。
5. OCN 産生量, およびカルシウム析出量は培養開始 21 日において対照群と比較して実験群で有意に低かった。また石灰化物形成能は対照群と比較して実験群において抑制された。

【考察】

*P. gingivalis* LPS は, PDLSCs の IL-18, IL-6, および IL-8 の産生を促進し, 骨芽細胞分化能, および石灰化物形成能を抑制する作用があることが示唆された。また, *P. gingivalis* LPS は PDLSCs の細胞増殖能, ALP 活性を亢進した。ALP は LPS を解毒させる作用が過去に報告されている。したがって, PDLSC は *P. gingivalis* LPS の影響により ALP 活性を亢進させ LPS を解毒する働きがあり, 免疫細胞様の機能を担う可能性が示唆された。

## スフィンゴシン-1-リン酸が 未分化間葉系幹細胞の脂肪細胞分化における Wnts の発現に及ぼす影響

九州大学大学院歯学研究院 歯周病学分野  
○橋本 陽子、松崎 英津子、濱地 貴文、東 克匡、前田 勝正

### Sphingosine-1-phosphate modulates adipocyte differentiation through the Wnts expression in C3H10T1/2 cells

Department of Periodontology, Faculty of Dental Science, Kyushu University  
○Yoko Hashimoto, Etsuko Matsuzaki, Takafumi Hamachi, Katsumasa Higashi,  
Katsumasa Maeda

#### 【研究目的】

血漿中に多く存在するスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、脂質メディエーターの一つで、種々の細胞に対し、増殖、運動・形態調節、分化など多彩な作用を及ぼす。骨組織においては、S1P が破骨細胞前駆細胞に作用し、骨吸収を抑制することが報告されており、我々は、S1P が歯周疾患により失われた歯槽骨ならびに歯周組織の再生に応用できるか検討している。これまでに、未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 において、S1P が脂肪細胞分化を抑制し、骨芽細胞分化を促進させる可能性を見出した (第 137 回日本歯科保存学会 2012 年度秋季学術大会)。

Wnt シグナル伝達経路は、初期発生、形態形成、出生後の細胞の増殖・分化・運動、がんなどを制御し、 $\beta$ -カテニン経路が古典経路として知られている。未分化間葉系幹細胞の分化において、 $\beta$ -カテニン経路の活性化は、骨芽細胞分化マーカー遺伝子の発現増加と、それに伴う脂肪細胞分化マーカー遺伝子の発現抑制を引き起こす。一方、非古典経路の Wnt-5a-Ror2 シグナルも、未分化間葉系幹細胞の骨芽細胞分化促進、脂肪細胞分化抑制を導くという報告がある。シグナルのリガンドとなる Wnts は細胞外分泌タンパク質で、19 種類存在することが知られている。

本研究では、マウス未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 細胞の脂肪細胞への分化誘導に伴う Wnts の発現と、S1P がその発現に及ぼす影響について検討した。

#### 【材料および方法】

実験には、マウス未分化間葉系幹細胞である C3H10T1/2 細胞を用いた。試薬として、S1P (0.1-1.0  $\mu$ M, SIGMA) を用いた。脂肪細胞分化誘導には、AdipoInducer Reagent (タカラバイオ) を用いた。

mRNA 発現については real-time RT-PCR 法、タンパク質発現については Western blot 法を用いて検討した。脂肪化については、Oil red O 染色法を用いて検討した。

#### 【結果および考察】

C3H10T1/2 に脂肪細胞への分化誘導を行った場合、S1P の添加により、脂肪細胞の分化マーカーである PPAR $\gamma$ 、FABP4 (aP2) の発現は濃度依存性に減少し、脂肪滴の形成は抑制された。また、脂肪細胞分化に伴い、古典経路のリガンド Wnt-10b、ならびに非古典経路のリガンド Wnt-5a の発現は抑制されたが、S1P を添加すると、これらの Wnts 発現抑制は解除された。

以上の結果から、未分化間葉系幹細胞である C3H10T1/2 細胞の脂肪細胞分化において、Wnt-10b、Wnt-5a の発現は抑制され、その結果 Wnts が autocrine または paracrine に作用して、脂肪細胞分化が促進される可能性が考えられた。また、S1P は脂肪細胞への分化を抑制するが、その作用は Wnts の発現を調節することにより引き起こされている可能性が示唆された。

#### 【結論】

未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 において、S1P は、Wnt-10b および Wnt-5a の発現調節を通じて脂肪細胞分化を抑制する可能性が考えられる。

## 羊膜上培養ヒト歯根膜由来細胞による骨再生に関する免疫組織学的検討

京都府立医科大学 大学院医学研究科 歯科口腔科学  
○足立圭司, 雨宮 傑, 本城賢一, 熊本園子, 西垣 勝, 大迫文重, 山本俊郎, 金村成智

### Immunohistochemical Investigation about Bone Regeneration with Periodontal Ligament-derived Cells Cultivated on Amniotic Membrane.

Department of Dental Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine

○ADACHI Keiji, AMEMIYA Takeshi, HONJYO Ken-Ichi, KUMAMOTO Sonoko, NISHIGAKI Masaru,  
OSEKO Fumishige, YAMAMOTO Toshiro, and KANAMURA Narisato.

#### 【研究目的】

われわれは羊膜の細胞培養基質としての有用性に注目し、2010年度秋季学術大会(第133回)にて、強固な細胞間接着装置と基底膜を有した羊膜上培養歯根膜由来細胞シートが作成可能であることをした報告した。さらに、2012年度春季学術大会(第136回)では、動物実験において、羊膜上培養歯根膜由来細胞シートが移植可能な培養細胞シートである可能性について報告した。そして今回、これまでの実験結果を踏まえて、歯周組織の再生に最適な新たな培養細胞シートの開発を目的に、羊膜上にて歯根膜由来細胞を骨分化誘導培養し、新規羊膜上培養歯根膜由来細胞シートを作成した。また、作成した新規培養細胞シートに対して免疫組織化学的な検討を行い、若干の知見が得られたので報告する。

#### 【材料および方法】

羊膜は、帝王切開時の胎盤より採取し、洗浄後、羊膜上皮細胞を除去したものを研究に供した。また歯根膜由来細胞は、抜去した智歯より歯根膜組織を採取し初代培養後、3~4代継代したものを使用した。継代培養した歯根膜由来細胞は、羊膜上に播種し、約3週間、骨分化誘導培地上で培養を行った。そして、上記にて作成した羊膜上培養歯根膜由来細胞に対して、蛍光抗体法による免疫染色を行った。

なお、当研究の実施および歯根膜組織、羊膜の利用については、該当患者に対し本研究内容、安全性の説明を行い、同意を得た上で実施した。また、京都府立医科大学医学倫理審査委員会の許可を得た上で実施した。

#### 【結果】

骨分化誘導培養を行い作成した羊膜上培養歯根膜由来細胞は、vimentin, Ki-67 陽性細胞の局在を認め、細胞間には desmoplakin, ZO-1 が発現していた。また、歯根膜由来細胞の基底部では、laminin 5/10, collagen IV/VII が発現しており、骨芽細胞マーカーである osteocalcin, osteopontin および bone sialoprotein も発現を認めた。

#### 【考察および結論】

骨分化誘導培養を行い作成した羊膜上培養歯根膜由来細胞は、羊膜上において歯根膜としての性質を保持しつつ歯根膜由来細胞が増殖していた。また、デスモソームやタイト結合のマーカー(desmoplakin, ZO-1)、基底膜構成成分(laminin 5/10, collagen IV/VII)の発現を認めたことより、細胞間接着装置が存在し、基底膜構造を有する培養細胞シートである可能性が示唆された。そしてさらに、骨芽細胞マーカーである osteocalcin, osteopontin および bone sialoprotein が発現を認めており、新生骨形成能、すなわち歯周組織再生を促進する細胞を有しているものと推察された。

今後さらなる検討が必要と思われるが、羊膜上培養歯根膜由来細胞は、歯周組織を再生する能力を有する細胞シートである可能性が示唆された。

本研究の一部は、日本学術振興会・科学研究費補助金(No. 24792243)の助成を受けて行った。

## 長期間悩まされていた口腔異常感が口腔乾燥に対する処置で消失した症例

<sup>1)</sup> 福岡歯科大学口腔医療センター  
<sup>2)</sup> 福岡歯科大学総合歯科学講座総合歯科学分野

○松浦洋志<sup>1)</sup>, 米田雅裕<sup>1)</sup>, 鈴木奈央<sup>2)</sup>, 岡田芙実子<sup>1)</sup>, 藤本暁江<sup>2)</sup>, 廣藤卓雄<sup>2)</sup>

### Relieving a long-lasting oral unusual sensation by the care and treatment of dry mouth

<sup>1)</sup> Center for Oral Diseases, Fukuoka Dental College

<sup>2)</sup> Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

○Hiroshi Matsuura<sup>1)</sup>, Masahiro Yoneda<sup>1)</sup>, Nao Suzuki<sup>2)</sup>, Fumiko Okada<sup>1)</sup>,  
Akie Fujimoto<sup>2)</sup>, Takao Hirofuji<sup>2)</sup>

#### 【緒言】

最近、ねばねば、べたべた、ざらざらなどを訴える口腔異常感症の患者が増加している。これらの一部は口腔心身症と診断され、精神科や心療内科での治療または、これらの科と歯科によるリエゾン治療が必要になる。しかし、十分な診査を行うことにより一般歯科医でも対応ができることがある。今回、原因不明の口腔内異常感のために複数の歯科医院で治療を行ったが改善しなかった症例に対して、丁寧な説明および客観的検査結果にもとづいた治療を行ったところ症状が改善したので、その患者対応および治療経過を報告する。

#### 【症例】

1. 患者：84歳 女性

2. 主訴：「上あごのあたりからぬるっとしたものが出てくる。」

現病歴：X-4年頃から、「上あごのあたりから、ぬるっとしたものが出てくる。」のが気になり始め、A歯科医院で歯周治療を受けた。しかし口腔異常感が改善しないため、X-3年に別の歯科医院（B歯科医院）を受診した。歯内治療、歯周治療、補綴処置等を受けたが、上記の症状はまったく改善しなかった。そこでX年、B歯科医院より口腔心身症の疑いで福岡歯科大学に紹介された。初診時の患者は「夜寝ていると、上あごのあたりからぬるっとしたものが出てきて目が覚める。毎晩トイレに行って吐き出しているので良く眠れない。」と訴えた。

3. 現症：1) 口腔内所見：上下顎に部分床義歯が装着されており適合は良好であった。歯肉に強い炎症はなく、義歯を除去した際も口蓋に特記事項はなかった。2) 唾液流出量検査：安静時唾液、刺激唾液（ガムテスト）の流出量は5分間でそれぞれ、0.4ml、2.5mlであり、やや口腔乾燥が認められた。

4. 心身医学的検討

CMI健康調査表の結果より神経症の可能性が低いこと、これまでに精神科受診歴がないこと、特にコミュニケーションに問題がないこと、などから口腔心身症の可能性は低いと考えた。

#### 【治療経過】

1) ラポールの確立：診査の結果、「ぬるっとしたもの」は認められなかったが、患者の訴えを否定せず、「大変ですね。」「眠れなくてつらいですね。」と共感的姿勢を示した。そして、症状が改善するよう歯科医師が応援することを約束した。2) 原因、および治療法についての説明：口腔内が乾燥すると様々な違和感が生じることを説明。口腔乾燥の原因には、機能低下、唾液腺の異常、薬剤の副作用など種々あるが、まずは、機能訓練を行うことを説明した。

3) 機能訓練：口や顔を動かすことにより唾液の分泌促進を図った。4) ラクトフェリン含有保湿剤の使用：機能訓練の効果が発現するまでには少し時間がかかるので保湿剤を併用した。また、カンジダによる違和感の可能性があるのでラクトフェリン含有保湿剤を選択した。

#### 【考察】

本症例では、口腔乾燥の緩和とラクトフェリンの抗菌作用が有効であったと思われる。また、患者の訴えを歯科医師が受容的な態度で傾聴したことも患者の不安感を減少させた可能性がある。精神疾患が疑われても十分なコミュニケーションのもと、慎重な診査で原因を解明し、必要に応じて適切な口腔ケアを行うことが重要であると思われる。

審美障害および象牙質知覚過敏を訴える患者に結合組織移植術による根面被覆で対応した一症例

大阪歯科大学歯周病学講座  
○河野智生, 梅田 誠

**A case report of esthetic dissatisfaction and hypersensitivity treated  
with root coverage using connective tissue graft**

Department of Periodontology, Osaka Dental University  
○Tomoo Kono, Tsurayuki Takahashi, Umeda Makoto

キーワード：審美障害，象牙質知覚過敏，歯肉退縮，結合組織移植術

**【はじめに】**

歯肉退縮による根面露出に起因する象牙質知覚過敏には一般的に薬剤の塗布や露出部の充填などで対応がなされている。しかし充填物が辺縁歯肉の炎症の原因となる、知覚過敏症状の再発などの様々問題が考えられる。そこで象牙質知覚過敏に対して結合組織移植術による根面被覆で対応して良好に経過した症例を報告する。

**【初診】**

患者：22歳の男性 初診：2009年9月15日

主訴：上顎犬歯，下顎小白歯部の歯肉退縮による審美不良と象牙質知覚過敏。

**【診査・検査所見】**

歯肉退縮は13,23,33,34に認められ，Millerの分類Class 2およびMaynardの分類Type 4に相当する。プラークコントロールは良好で、全顎的に深い歯周ポケットは認められず、エックス線検査で垂直性および水平性の骨吸収は認められなかった。咬合様式はグループファンクションであり、ブラキシズムの自覚症状はなかったが、13,23に若干のファセットが認められた。全身的に健康状態は良好で、喫煙の既往および粗雑なブラッシングを行ったことは無いとのことである。

**【診断】**

歯肉退縮 (Millerの分類Class 2・Maynardの分類Type 4)

**【治療計画】**

1) 歯周基本治療 (炎症因子の除去、ナイトガード装着) 2) 再評価 3) 歯周外科処置 (Modified Langer Techniqueによる結合組織移植術) 4) SPT

**【治療経過】**

2009年9月から11月までナイトガード装着および徹底したプラークコントロールを含む歯周基本治療を行った。同年12月再評価した後、13,23の4歯肉退縮部にModified Langer Techniqueを用いた結合組織移植を順次行っていった。また33,34部には歯頸部にレジン充填が施されていたため、充填物を除去しグラスアイオノマー充填を行った後に結合組織移植術を行った。術後に冷痛が一部残ったが、強い症状は改善し、患者も審美面においても満足されたため2010年6月にSPTに移行した。

**【考察・まとめ】**

グラスアイオノマーセメント充填をした上に根面被覆を行った部位もあり、また被覆部の歯肉と根面の結合は上皮性付着であることが予想されるため、SPTにおける後戻りに対する注意深い観察が重要であると考えられる。また、13,23部の移植部にはSPT移行後にもグラフトアイランドがみられたため、審美的要求が強求められる前歯部などにおいては移植片の厚みや、被覆する根面と歯列との位置関係などにより強い注意が要求されることが必要であると考えられる。

カルシウム拮抗薬による薬物性歯肉増殖症を併発した慢性歯周炎患者に対して  
歯周治療ならびに禁煙支援が効果を示した 1 症例

<sup>1)</sup> 日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座

<sup>2)</sup> 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療部門

○蓮池 聡<sup>1)</sup>, 佐藤 秀一<sup>1),2)</sup>, 伊藤 公一<sup>1),2)</sup>

Treatment of chronic periodontitis combined with calcium antagonist related gingival overgrowth  
by periodontal treatment and instruction of quitting smoking .

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

Nihon University School of Dentistry, Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center<sup>2)</sup>

○Akira Hasuike<sup>1)</sup>, Shuichi Sato<sup>1),2)</sup>, Koichi Ito<sup>1),2)</sup>

【はじめに】

本症例はカルシウム拮抗薬を服用し、また 20 年間の喫煙歴を持つ慢性歯周炎患者に、薬剤変更は行わずに歯周治療ならびに禁煙支援を行うことで、良好な経過が得られたので報告する。

【診査・診断】

2009 年 6 月 23 日初診。53 歳，男性。歯科医院には 15 年位通院していなかった。歯肉の腫脹が気になり、精査および治療を希望され来院した。患者は健康診断にて高血圧症を指摘され、カルシウム拮抗薬であるノルバスク錠が処方されていた。さらに 20 年間，20 本/日の喫煙者であり、唇側歯肉に色素沈着を認めた。全顎的にプラークの沈着，辺縁歯肉部の発赤および腫脹，著しい歯石の沈着がみられた。#31, 32, 33 歯間部に線維性腫脹を認めた。上顎前歯部に辺縁不適な充填物と歯間乳頭部の腫脹を認め、#22 は唇側傾斜していた。#25, 26, 27 に歯冠長の短いブリッジが装着されていた。#28 は挺出，#38 は低位および近心傾斜を示し，プラークが付着していた。下顎前歯部では軽度の叢生を認めた。プロービングポケット深さ (PD) は #17 で 8mm，#32, 33 で 7mm であり，全顎的に 5mm を超えるポケットが 42 %の部位に認められた。BOP は 76.7 %であった。#16 の近遠心で I 度，#17 の近遠心で II 度，#46, 47, 48 の舌側に I 度の根分岐部病変を認めた。以上のことより診断名は “ 広汎型中等度慢性歯周炎 および薬物性歯肉増殖症 ” とした。

【治療】

初診時 PCR は 60%であり，病態に対するプラークの影響が大きいと考え，カルシウム拮抗薬の薬剤変更を行わずに，徹底的な炎症因子の除去を行うこととした。歯周基本治療として口腔衛生指導，SRP，う蝕処置，不良補綴物の除去，感染根管治療，プロビジョナルレストレーションの装着，予後不良歯の抜歯を行った。さらに禁煙の必要性を繰り返して説明し，支援することで禁煙が達成された。その後に再評価を行い，PCR は 13%に減少した。

再評価後，歯肉増殖がみられた下顎前歯部には，歯肉の厚さとポケットの深さの減少を目的としたフラップ手術を行った。#47 遠心部には最小限の剥離によるフラップ手術を，#25, 27 には歯冠長延長術を行った。術後，歯周組織管理，禁煙支援を継続し，2010 年 10 月に再度再評価を行った。その後，口腔機能回復治療として#17 に全部鑄造冠を，#25, 26, 27 に固定性ブリッジを装着した。歯周組織の安定を再度確認し，SPT へと移行した。現在 2 年経過しているが，禁煙は継続されており歯周組織は安定している。

【考察】

本症例の患者はカルシウム拮抗薬を服用している患者であったが，徹底的な炎症因子の除去ならびに禁煙支援を行うことで，薬剤の変更を行うことなく，ポケットの浅化ならびに歯周組織の安定が得られた。今後 SPT を行いながら，注意深く経過を観察していく予定である。



超高気孔率ハイドロキシアパタイトの顆粒またはブロック体が歯周骨内欠損に及ぼす  
臨床効果：2年予後

白井歯科  
白井義英

Effect of superporous hydroxyapatite for the treatment of periodontal defects : 2 years

SHIRAI DENTAL CLINIC  
YOSHIHIDE SHIRAI

【目的】慢性歯周炎により生じた歯周骨内欠損への再生療法が歯周治療において重要と考えられる。近年、高い気孔率とマクロポアの中に連通孔を有する構造を持った超高気孔率ハイドロキシアパタイトが開発された。また、in vitroの実験では材料の深部まで細胞を侵入させ石灰化させることに成功している。そこで、今回はこの超高気孔率ハイドロキシアパタイト（気孔率82.5±5.5%、Ca10(P04)6(OH)2を主成分とする多孔質体）の顆粒またはブロック体を歯周骨内欠損に応用し、その2年予後について検討した。

【材料および方法】当医院にて歯周基本治療を終了して同意の得られた20名の患者（男性2名、女性18名、平均年齢61.1±6.2才）を被験者とした。計測にはステントを用いて4mm以上のポケット(PPD)と4mm以上のクリニカルアタッチメントレベル(CAL)、規格エックス写真より3mm以上の骨欠損深さ(IBD)を示す20部位を被験部位として2群に分けた。また、骨欠損形態と大きさは術前に良く精査して最小限の外科的侵襲となる様に、歯肉溝内切開を行い骨欠損形態に応じて近心のみ縦切開を加えた。また、徹底して搔爬を行った骨内欠損部に無作為に顆粒またはブロック体を、年齢、性別、骨欠損形態、歯種をマッチングさせて10部位ずつ填塞した。ブロック体については、骨欠損形態に適合する様に15cのメスを使用して切削し根面に対して密接しているかの確認を行った。また、填塞に際しては直前にディスプレイの注射筒(3.0ml、ニプロ株式会社)内にて生理食塩水で十分な脱泡操作を行い、気泡内が生理食塩水で充たされている状態とした。填塞後は移植材を被覆するために歯肉弁に骨膜減張切開を加え、歯冠方向への懸垂縫合にて完全に被覆した。また、縫合糸についても術後、歯肉弁の治癒が安定するまでの期間、留置する目的からナイロン糸(ソフトレッチ、株式会社ジーシー)にて全ての縫合を行い、術後2週間にて全ての縫合部分の抜糸を行った。さらに、術後5日間は抗菌薬を服用、術後6週間は1日3回含嗽剤にてうがいをしてもらった。術後2週目に全ての抜糸をし、また、術後6週間は1週毎に専門的機械清掃を行い、2年目まで1ヶ月毎に口腔衛生状態の確認を行った。そして、臨床評価については術前と術後2年におけるPD、CAL、IBDで行った。

【結果】ベースラインでは平均で、PPDは顆粒7.4mm、ブロック体7.5mm、CALは顆粒8.1mm、ブロック体8.4mm、IBDは顆粒4.9mm、ブロック体5.0mmで群間差は無かった。2年予後では、PPDは顆粒3.5mm、ブロック体3.5mm、CALは顆粒4.4mm、ブロック体4.8mm、IBDは顆粒1.7mm、ブロック体2.4mmで両群間に有意差は認められなかった。また両群とも骨欠損改善に2年予後では良好な改善が認められた。

【考察】超高気孔率ハイドロキシアパタイトの顆粒、ブロック体ともに2年予後で歯周骨内欠損の再生効果に有効に作用していた。顆粒の方が複雑な歯周骨内欠損に緊密に填塞できることからスペースメイキングを確保しやすく、早期から顆粒気孔内部にコラーゲン組織・骨原性細胞が進入した結果、母床骨からの骨伝導作用を起こして骨再生を生じている。一方ブロック体は6ヶ月予後までは残存骨との隙間に軟組織の侵入を許し、線維被包体となり骨伝導作用および細胞侵入が若干ではあるが阻害されたと考えられる。しかし、2年予後においては両群共に安定しており良好な改善が認められる。今後、ブロック体の形状は組織工学の概念を応用してin vitroで細胞を気孔内に侵入させて骨誘導活性を維持した培養骨のスキヤフォールドとしての利用が有望で、さらにCAD/CAM技術により骨欠損への適合性も向上が図れることからその展開が期待される。

## 突発性慢性歯肉増殖症を有する患者の一症例

### - CCN2/CTGF の発現の検討 -

- 1 日本歯科大学生命歯学部 歯周病学講座  
2 東京慈恵会医科大学 解剖学講座  
○ 五十嵐(武内)寛子<sup>1,2</sup>、沼部幸博<sup>1</sup>

### A case of Gingival Overgrowth

#### - Expression of CCN2/CTGF on gingival tissue -

- 1 School of Life Dentistry at Tokyo, Nippon Dental University, Department of Periodontology  
2 The Jikei University School of Medicine, Department of Anatomy  
○ Hiroko Takeuchi-Igarashi<sup>1,2</sup> and Yukihiro Numabe<sup>1</sup>

#### [緒言]

歯肉増殖症とは歯肉組織のコラーゲン線維の過剰増生による歯肉肥大であり、遺伝的要因によるものと薬物的副作用によるものがあるがブラークコントロールを徹底することにより、症状の発現や再発をある程度防止できるとされている。

今回は突発性に生じた歯肉増殖症を有する患者に対し、ブラークコントロールを徹底し歯肉切除術を施すことにより、増殖した歯肉組織が良好な治癒経過を示した。また、切除した歯肉組織は切片を作成し検討した。歯肉増殖症の治療について臨床的側面および研究的側面から考察する。

#### [症例]

患者は44歳男性。主訴はじんわりとした歯肉の疼痛であり全顎的な線維性の歯肉の腫脹が認められた。レントゲン写真では高度な骨吸収は認められず、また同症状を有する親族がいないことから突発性慢性線維性歯肉増殖症と診断した。口腔清掃は就寝前の1回のみで、初診当時は喫煙者(1日17・18本、喫煙歴20年)であった。

#### [経過]

他院での口腔清掃指導の経験はあるものの、初診時の口腔清掃状況は悪く0' LearyのPCRは78%であった。まず、バス法による口腔清掃指導と並行し歯肉縁上および縁下のスクレーピング・ルートプレーニングや左右第二大臼歯の感染根管治療を行った。この間、患者には禁煙指導をおこなった。PCRは減少傾向であったが増殖した歯肉付近の清掃が困難であった。さらに、増殖した歯肉のポケットは深く、また線維性に腫脹しているためポケットの退縮は望めないことから、PCRが40%代に減少した時点で4回に分けて特に歯冠部および歯間部を過度に覆う部位において歯肉切除術を行った。歯周パックは術後1週間で除去し、バス法による口腔清掃を指導すると、PCRが減少し20%代になった。また、切除した歯肉組織を固定後、パラフィン包埋しHE染色およびDUB法による結合組織増殖因子(Connective Tissue Growth Factor: CCN2/CTGF)の発現を検索したところ、CCN2/CTGFの高度な発現が認められた。

#### [考察および結論]

今回、突発性の慢性歯肉増殖症を有する患者に対し、積極的に外科処置を施すことで歯周組織の安定を得られた。また増殖した歯肉組織には結合組織増殖因子(CCN2/CTGF)の高発現が認められた。CCN2/CTGFは線維性因子として医科の分野を中心に多くの報告がある。歯周組織ではニコチンによる刺激(Takeuchi, 2010)や薬物性歯肉増殖において強発現が報告されている。我々は過去にニコチンの刺激によりCCN2/CTGFを介しType I collagenが増加すること、またTIMP-1の増加、MMP-1が減少することを報告している(In press)。今回、患者は喫煙者であるがその喫煙の刺激により歯肉の増殖が誘発されたのかは定かではない。歯肉増殖症はブラークによっても助長されるとの報告もあり、初診時の口腔清掃状況が悪く、ブラークコントロールの改善に努めたが歯周組織における恒常性が破堤し、過剰に増殖した歯肉は吸収や退縮が望めないことから外科による切除が有効であることが示唆された。

今回、切除した歯肉組織から線維化因子が認められたことから、歯肉に線維化が生じていることが示唆された。

歯肉増殖症については再発が多数報告されている。患者には病態を理解してもらい、禁煙の継続およびメンテナンスの必要性を訴えかけ、今後も長期経過観察を行っていく予定である。

垂直性骨欠損に対し GTR 法とエナメルマトリックスタンパク質を用いた歯周組織再生療法を行った症例の  
5 年経過時における臨床的比較

愛知学院大学歯学部歯周病学講座

○相野誠, 三谷章雄, 高須英成, 古田英豊, 永坂太郎, 三輪晃資, 菊池毅, 川瀬仁史, 伊藤正満, 林潤一郎, 黒須康成, 石原裕一,  
稲垣幸司, 福田光男, 野口俊英

**Five-year results following treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration**

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

○Makoto AINO, Akio MITANI, Hidenari TAKASU Hideatsu FURUTA Tarou NAGASAKA Koji MIWA, Takeshi KIKUCHI Hitoshi KAWASE  
Masamitsu ITO Junichiro HAYASHI Yasunari KUROSU, Yuichi ISHIHARA, Koji INAGAKI, Mitsuo FUKUDA and Toshihide NOGUCHI

【目的】予知性のある歯周組織再生療法としてメンブレンを用いた GTR 法やエナメルマトリックスタンパク質 (EMD) を用いた再生療法が、国内外で認知されている。これまでもフラップ手術 (OFD) と GTR の比較、または OFD と EMD の比較は現在まで数多く報告されているが、その多くは術後 1 年以内の報告であり、長期経過の報告は少ない。また、OFD, GTR, EMD の 3 群間で長期経過を比較した報告はほとんどない。そこで本研究では、OFD と GTR 法および EMD による手術施行後 5 年経過している症例について臨床的評価を行った。

【被験者および方法】本研究では、愛知学院大学歯学部附属病院歯周病科を受診し、以下の条件を満たした歯周炎患者 44 名を対象に、後ろ向き研究を行った。

- ①歯周基本治療後において 1 歯でも 4mm 以上の Probing Depth (PD) を有する症例。
- ②臨床検査とデンタル X 線写真により骨縁下欠損を有すると診断される症例 (根分岐部病変は除く)。
- ③侵襲性歯周炎、および中等度から高度の慢性歯周炎の症例。
- ④歯周治療に影響を与える全身疾患を有しない症例。
- ⑤非喫煙者

これらのうち 16 名 16 部位は OFD のみの歯周外科療法、16 名 17 部位は非吸収性膜を用いた GTR 法を適応し、12 名 15 部位は EMD を用いた歯周組織再生療法を施行した。臨床パラメーターとして、術前と比較した術後 5 年経過時での、PD の減少量、臨床的付着の獲得量 (Clinical attachment level, CAL), および歯肉退縮量 ([術後 CAL - 術後 PD] - [術前 CAL - 術前 PD]) について比較検討した。また、3 群間の統計解析は、Bonferroni 型の多重比較を行った。なお本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認を受けて行った (承認番号: 230)。

【結果】術前の PD および CAL は、それぞれ OFD 群  $5.1 \pm 1.2$  mm,  $6.3 \pm 1.3$  mm, GTR 群  $5.7 \pm 0.8$  mm,  $7.8 \pm 1.8$  mm EMD 群  $5.5 \pm 1.4$  mm,  $6.9 \pm 2.6$  mm, であり、3 群間において有意な差は認められなかった。各歯周外科処置後 5 年経過した状態において、PD の減少量は OFD 群  $1.1 \pm 1.1$  mm, GTR 群  $2.4 \pm 1.9$  mm, EMD 群  $1.8 \pm 1.4$  mm, であり、3 群間に有意な差を認めなかった。しかしながら、歯周外科処置後 5 年経過した状態における付着獲得量は、OFD 群  $0.4 \pm 1.4$  mm, GTR 群  $2.7 \pm 2.4$  mm, EMD 群  $2.4 \pm 2.9$  mm, であり、GTR 群, EMD 群が OFD 群に比較し有意な ( $P < 0.05$ ) 付着獲得量を示した。また、歯周外科処置後 5 年経過時の歯肉退縮量は OFD 群  $1.0 \pm 1.3$  mm, GTR 群  $-0.2 \pm 1.3$  mm, EMD 群  $-0.6 \pm 2.3$  mm であり、OFD 群が大きな値を示す傾向であった。

【考察】本研究結果において、術後 5 年経過時の、3 群間での臨床パラメーターを比較した結果、臨床的付着の獲得量のみにおいて、歯周組織再生療法の 2 群は OFD 群に比べ有意に良好な結果であった。PD 減少量には 3 群間に有意な差は認められなかった。これらのことから 3 群とも歯周外科処置の後、PD の減少は得られ、維持されたと考えられ、さらに歯周組織再生療法を行った 2 群では臨床的付着を伴った歯周ポケットの減少が得られたと思われた。

2005 年のコクラン・レビューでは、術後 1 年において歯周組織再生療法はコントロールに比べ、臨床的付着の獲得量と PD 減少量について有意に良好であると報告されているが、長期経過については検討されなかった。また Sculean らは、骨内欠損に対して行った歯周組織再生療法 (GTR, EMD) の術後 1 年経過時と 8 年経過時における臨床的付着の獲得量と PD 減少量についての経過を比較したところ、両群間および 1 年と 8 年の比較において、共に有意な差はなかったと報告している。このことは、歯周組織再生療法を行った後にも長期に渡り安定した状態を保持できる事を示唆している。本研究結果においても術後 5 年において再生療法を行った 2 群においては OFD 群に比較し有意な臨床的付着の獲得が長期的に維持されており、また、GTR 群と EMD 群の間に有意な差を認めず、同様な傾向が見られる。本研究では、歯周外科処置によって得られた臨床的付着の獲得が、OFD に比べ、歯周組織再生療法においては長期に渡って維持されており、これらの事実より、歯周組織再生療法においては結合組織性付着を伴った歯周組織再生が起きている可能性が示唆された。

## 航空自衛隊大滝根山分屯基地における口腔衛生指導 (第3報)

奥羽大学歯学部口腔衛生学講座  
○車田文雄、長岡正博、廣瀬公治

### Oral hygien guidance for JASDF Ohtakineyama Sub Base (III)

Dept. Preventive Dentistry OHU University School of Dentistry  
○Fumio KURUMADA, Masahiro NAGAOKA, Kimiharu HIROSE

#### 【 緒 言 】

先の第137回本学会にて、航空自衛隊第27警戒群大滝根山分屯基地の隊員等の職場における集団口腔健康管理の目的で、齶蝕活動性を調べる機会を得たので、その結果を発表した。そこで今回、そのデータを基に各々の齶蝕活動性試験の相関傾向を調べるとともに、歯周疾患活動性の検査も併せて実施し、若干の知見を得ることができたので、ここに報告する。

#### 【 方法および結果 】

対象者は前回同様、上記隊員および事務官の男女38名である。

歯周局所において、現時点における疾患活動性ないし疾患進行性を評価するために、特異的細菌とその産生物、局所組織(上皮、結合組織、歯槽骨、細胞間基質)に由来した組織傷害産生物を測定対象として、歯垢、歯肉溝浸出液、唾液および血液等を検体に分析されている。そこで今回、以下2種類の歯周疾患活動性検査を行った。

##### 1. サリバスター (検体:唾液) …唾液中の潜血(ヘモグロビン)濃度判定

- ① 唾液を紙製採唾容器に採取し、直ちに試験開始
  - ② 試験紙の発色部分表面を下に向け、採取した唾液に2~3秒浸漬
  - ③ 30秒後に、紙製採唾容器に印刷してある標準比色表で判定
- (-) : 0mg/dl                      (+) : 1.0mg/dl                      (++) : 2.5mg/dl

##### 2. ペリオスクリーン (検体:唾液) …免疫学的に唾液中のヘモグロビンを検出

- ① 飲食または歯磨き後2時間以上経過後、検体を採取
  - ② 反応試験紙下端の試料添加部を測定試料に浸漬
  - ③ 反応試験紙を浸漬したまま5分後に、反応試験紙の抗体固定化部を観察し、判定見本と比較判定
- (-) 陰性 : 0 μg/mL                      (+) 陽性 : 2 μg/mL                      (++) 陽性 : 5 μg/mL

歯頸部にプラークが付着した状態が続くと、2~4日以内に急性炎症反応として典型的な血管の変化が生じ、病理組織学的に開始期病変が出現する。臨床的徴候としては、歯肉出血傾向や歯肉溝浸出液の増加が認められる。従って、唾液中の潜血性出血の検出は、歯肉部病変の早期発見マーカーとして利用できると考えられる。

#### 【 考察および結論 】

齶蝕活動性試験においては、唾液リスクテスト(CAT21パフ)の唾液流出量と唾液緩衝能との関係は、結果より唾液流出量が5ml以上(口腔内は齶蝕になりにくい状態)の者は、唾液緩衝能(酸性から中性へ戻る能力)も安全域になっていると考えられる。また、ストレプトコッカスミュータンス簡易菌測定テスト(ミューカウント)と歯垢の酸産生能テスト(カリオスタット)との関係は、結果より10以上のコロニー様付着確認が認められた者は、歯垢の酸産生能も高く、間食における糖分摂取の制限要指導に一致していると考えられる。そして管壁一面に細かなコロニー様付着確認、同時に大きなコロニー様付着も確認された者は、食生活全体から糖分摂取の制限要指導者として一致していると考えられる。

次に、歯周疾患活動性検査においては、現在、最終データ処理中のため、3種類の齶蝕活動性試験とDMF歯数との関係および歯周疾患の検査についての詳細は、当日の学会にて発表する。

## 太陽電池付光触媒内蔵音波振動歯ブラシの臨床効果

日本医科大学千葉北総病院歯科

○吉峰 正彌, 小倉 喜一郎, 大木 亜悠子, 藤田 譲治, 藤川 瑞穂, 鴨井 久博

Clinical efficacy of the sonic toothbrush with a solar cell and built-in photocatalyst

Nippon Medical School Chiba Hokusou Hospital Dental Clinic

○Masaya Yoshimine, Kiichirou Ogura, Ayuko Ohgi, Joji Fujita, Mizuho Fujikawa, Hisahiro Kamoi

### 【研究目的】

歯周病予防・治療において、プラークコントロールは非常に重要な役割を果たしている。これは機械的方法、化学的方法に大別されるが、歯ブラシによる機械的方法が主体になると考えられる。現在、電動・音波振動・超音波振動などに加え、半導体による電子の発生等、様々な機能を有した歯ブラシが数多く市販されている。鴨井らは、太陽電池付光触媒内蔵歯ブラシでは口腔内で電子が発生することにより、口臭改善などの臨床効果があると報告している。そこで今回演者らは、音波振動歯ブラシに太陽電池付光触媒内蔵機能を付与した歯ブラシを用いて、その臨床効果の検討を行った。なお本研究は実施に際し、日本医科大学千葉北総病院倫理委員会の承認を得ている。

### 【材料および方法】

#### 1) 被験者

被験者は日本医科大学千葉北総病院歯科の来院患者 30 名 (男性 4 名, 女性 26 名, 平均年齢 62.1 歳) であり, 本研究の趣旨を理解し参加に同意を得られた者を対象とした。また 20 歯以上の歯を有し歯周ポケット (PPD) 4 mm 以上の部位が存在する成人性歯周炎である患者を被験者として選択した。

#### 2) 歯ブラシ

使用した歯ブラシは、音波振動式歯ブラシ SOLADEYRHYTHM (株式会社シケン) であり 18,000 回/分の音波振動機能を有する。さらにネック部に光触媒作用を有する TiO<sub>2</sub> (酸化チタン) 半導体が内蔵され、柄部に太陽電池を搭載しており、これらにより電子を発生する機序を有する。対照群は、音波振動機能を有し電子発生効果の無い同一形状の歯ブラシを使用することとした。被験者数は研究群, 対照群 15 人ずつとし、無作為に同意の得られた患者を選択した。

#### 3) 測定項目・方法

##### 1. Plaque Index (PII), PPD, Bleeding on probing (BOP)

被験歯は、Ramfjord の PII の測定部位に準じて 16, 21, 24, 36, 41, 44 とした。PII・PPD は 6 歯の平均値を算出し、BOP はその有無を測定した。

##### 2. 歯肉溝滲出液 (GCF)・口腔内細菌レベル

13 唇側における GCF をペリオトロン (ヨシダ) を用いて測定した。また、舌体表面を綿棒で擦過しプラークを採取することにより、口腔内細菌レベルを測定した。測定には細菌数測定装置「細菌カウンタ (DU-AA01NP-H) (パナソニック) を用いた。ブラッシングは 1 日 3 回 3 分以上を指示し、実験開始前に TBI を充分に行った。実験中は、歯間ブラシなどの隣接面清掃器具、歯磨剤、洗口剤の使用を禁止した。測定は実験開始日 (前期)・14 日後 (中期)・28 日後 (後期) の計 3 回とし、各ステージにおける測定値、および 2 群間のその比較を行った。検定には *t*-検定を用いた。

### 【結果】

1. PII, PPD, BOP については、研究群・対照群とも経時的な変化が無く、同程度の値を示した。

2. GCF および細菌レベルについては、研究群が対象群と比較して経時的に減少傾向を示した。

### 【考察】

PII は両群ともに同程度の値を示したが、これは両群で同一形状の歯ブラシを用いたため、2 群間におけるプラークの量的変化がなかったことが原因として考えられた。PPD・BOP は、歯肉縁下プラークコントロールの影響を強く受けるため 2 群間での差が認められなかったものと考えられる。一方で、研究群における GCF・口腔内細菌レベルの経時的な減少は、歯ブラシの使用により口腔内で効果的に電子が発生することにより、プラーク内細菌叢の質的变化を起こしたことによるものと考えられる。

## エナメル小柱の準静的および動的物性評価

昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科学部門<sup>1</sup>  
昭和大学歯学部歯科保存学講座歯科理工学部門<sup>2</sup>  
○田中 玲奈<sup>1</sup>, 真鍋厚史<sup>1</sup>, 宮崎 隆<sup>2</sup>

### Quasi-static and Dynamic mechanical testing of Enamel prism

<sup>1</sup> Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry

<sup>2</sup> Division of Oral Biomaterials and Engineering, Showa University School of Dentistry

○Tanaka R<sup>1</sup>, Manabe A<sup>1</sup>, Miyazaki T<sup>2</sup>

#### 【研究目的】

天然歯エナメル質は生体の中で長期間機能し、セラミックには見られない耐久性をもつ。エナメル質の大部分はエナメル小柱で構成されるため、エナメル質の物理的特性を評価するには、エナメル小柱に局限したナノレベルのインデンテーションを行うことが必要である(図1)。本研究では、走査型プローブ顕微鏡ナノインデンター(Shimadzu)を用いて準静的および動的試験を行い、エナメル小柱の粘弾性を評価した。

#### 【材料および方法】

矯正治療のために便宜抜去した健全な第三大臼歯をエポキシ樹脂(Palapress vario, Heraeus)にて包埋し、エナメル小柱の長軸方向と垂直に被験面が出るよう切断した。包埋したエナメル表面を、耐水研磨紙および研磨剤(MicroPolish, BUEHLER)を用いて0.05  $\mu\text{m}$ まで鏡面研磨した。

また、標準試料として均一材料である熔融石英を用いた。SPMナノインデンターに三角錐のバーコピッチチップを用い、熔融石英サンプルでチップの校正を行った。エナメルサンプルにおいて小柱の深さ方向にインデントを行い、弾性係数が均一である測定範囲内で、準静的および動的試験を行った。準静的試験により変位一定で荷重の変化を測定し、応力緩和を評価した。また、荷重を60秒間 1000  $\mu\text{N}$ に保ち、Creep rateを測定した。さらに、動的試験によりエナメルサンプルに0.5Hz, 1.0Hz, 2.0Hzの各周波数を与え、正弦波ピーク値の時間軸上における変位のずれから粘弾性を測定した。(図2)

#### 【結果】

エナメル小柱の弾性係数は熔融石英の弾性係数と比較して大きかった。準静的試験からエナメル小柱は変位一定において応力緩和、荷重一定においてcreepがみられた。また、動的試験において変位のずれがみられた。

#### 【考察】

エナメル小柱は均一材料である熔融石英と比較して剛性は高いが、小柱単位でも粘弾性がみられた。エナメル小柱は応力緩和、creepおよび変位のずれにおいて熔融石英よりも大きい値を示したことから、応力に対するエネルギー吸収があることがわかった。

#### 【結論】

本研究より、ナノインデンターによる準静的・動的評価は、エナメル小柱の物性評価に有効であるといえる。

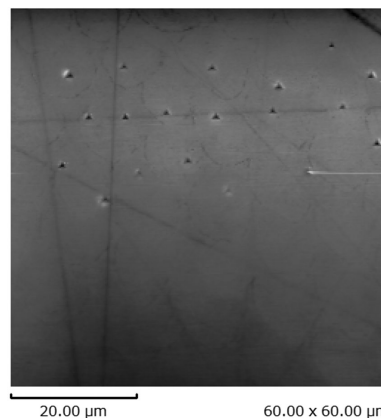
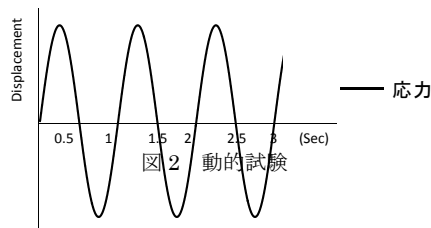


図1 エナメル小柱への  
ナノインデンテーション



## ヒト歯髓由来線維芽細胞における MMPs 産生におよぼす small G protein の影響

大阪歯科大学 1) 歯科保存学講座 2) 生化学講座

○小正 玲子<sup>1)</sup>, 竹内 摂<sup>1)</sup>, 合田 征司<sup>2)</sup>, 堂前 英資<sup>2)</sup>, 谷本 啓彰<sup>1)</sup>, 三木 秀治<sup>1)</sup>, 野村 雄司<sup>1)</sup>,  
池尾 隆<sup>2)</sup>, 山本 一世<sup>1)</sup>

### Effects of small G protein on the Production of MMP-3 by Tumor Necrosis Factor-alpha Stimulated Human Dental Pulp Fibroblast Like Cells

Department of 1) Operative Dentistry, 2) Biochemistry Osaka Dental University

○Reiko KOMASA<sup>1)</sup>, Osamu TAKEUCHI<sup>1)</sup>, Seiji GODA<sup>2)</sup>, Eisuke DOMAE<sup>2)</sup>, Hiroaki TANIMOTO,  
Hideji MIKI<sup>1)</sup>, Yuji NOMURA<sup>1)</sup>, Takashi IKEO<sup>2)</sup>, Kazuyo YAMAMOTO<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

歯髓は常時、物理・化学的刺激下のもと歯を維持するために、象牙質への栄養補給、歯髓保護、修復象牙質の形成などの役割を果たしている。う蝕の進行に伴い、歯髓では白血球やマクロファージが浸潤し、う蝕細菌の貪食が行われる。その過程において、歯髓組織では tumor necrosis factor-alpha(TNF-α)などの炎症性サイトカインが産生され、歯髓炎が惹起される。また、刺激を受けた歯髓組織では細胞外マトリックス分解酵素である matrix metalloproteinases (MMPs)などが産生され、歯髓組織を破壊し病態が進行する。可逆性歯髓炎は原因を除去することにより正常な歯髓に回復し得るため、歯髓に存在する細胞における炎症の進行過程や発症機序を解明することは歯髓の存在のために重要であると考えられる。また small G protein は、炎症に深く関わっているタンパク質で知られている。そこで今回、ヒト歯髓由来線維芽細胞における TNF-α 刺激による MMP-1 産生に対する small G protein の関与について検討した。

#### 【方法】

本研究に参加同意を得た患者の抜去歯（大歯医倫 110751 号）より歯髓組織を採取・培養し、3～10 世代目をヒト歯髓由来線維芽細胞として本研究に使用した。ヒト歯髓由来線維芽細胞を 24well plate に  $5.0 \times 10^5$  cells/well になるよう播種し、24 時間培養後、TNF-α を 0ng/ml, 5ng/ml, 10ng/ml, 20ng/ml, 50ng/ml, 100ng/ml 加え、刺激を行った。刺激終了後、上清中の MMPs の産生を Western Blotting, Gelatin zymography にて検討した。次に、ヒト歯髓由来線維芽細胞を 24well plate に  $5.0 \times 10^5$  cells/well になるよう播種し、TNF-α 100ng/ml を 0, 0.5, 1, 3, 5, 10 分のタイムコースで加え、Rac1 のリン酸化について Western Blotting にて検討した。Rac1 阻害剤である Rac1 inhibitor を 0ng/ml, 5ng/ml, 10ng/ml, 20ng/ml 加え、刺激を行い、上清中の MMPs の産生を Western Blotting, Gelatin zymography にて検討した。

#### 【結果】

- 1) ヒト歯髓由来線維芽細胞における TNF-α 刺激が MMP-1, 2 産生におよぼす影響について Western Blotting, Gelatin zymography にて検討した結果、MMP-1 の産生は濃度依存的に増強したが、MMP-2 の産生に変化は認められなかった。
- 2) TNF-α 刺激による Rac1 のリン酸化について Western Blotting にて検討した結果、Rac1 のリン酸化は経時的に変化した。
- 3) TNF-α 刺激時の Rac1 阻害剤である Rac1 Inhibitor の影響について Western Blotting にて検討した結果、Rac1 Inhibitor は MMP-1 の産生を濃度依存的に上昇した。

#### 【結論】

ヒト歯髓由来線維芽細胞において TNF-α 刺激によりコラゲナーゼ群である MMP-1 の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 の産生は無刺激時においても産生は確認され、TNF-α 刺激による影響は認められなかった。Rac1 がリン酸化していること、Rac1 阻害剤により MMP-1 の産生が上昇したことにより、ヒト歯髓由来線維芽細胞における TNF-α 刺激による MMP-1 産生に対して small G protein の Rac1 が関与していることが示唆された。

## クリアフィル® マジェスティ® ES フローの特性

クラレノリタケデンタル株式会社  
○亀谷 剛大、辻 晶子、石野 博重

### Characteristics of CLEARFIL MAJESTY™ ES Flow

Kuraray Noritake Dental Inc.  
○KAMEYA Takehiro, TSUJI Akiko, ISHINO Hiroshige

#### 【研究目的】

近年、フロアブルレジンは機械的物性の向上とペースト性状の多様化に伴い多用される材料となっており、当社でも高い機械的強度とペーストの賦形性と流動性の両立を特徴とする「クリアフィル® マジェスティ® LV(以下 MJ-LV)」を発売している。一方、審美性の観点で修復物の表面光沢も重要な特性として挙げられることから、MJ-LV が有する機械的強度を保持し高い研磨性と滑沢耐久性を付与することを目的にサブミクロンフィラーを導入した「クリアフィル® マジェスティ® ES フロー(以下 ES Flow)」を開発した。本研究ではその特性について MJ-LV との比較を行った。

#### 【材料及び方法】

1. 材料：フロアブルレジンとして、ES Flow(フィラー含有量 75wt%)、MJ-LV(フィラー含有量 81wt%)を使用した。
2. 研磨性の測定：フロアブルレジンをペンキュア 2000(モリタ社製)ノーマルモードで 10 秒間光照射を行い、直径 10mm、厚さ 2mm の試料を作製した。試料の光照射面を#600 の研磨紙により研磨し、その表面をコンボマスター(CA13S、松風社製)で、5000rpm にて 20 秒間研磨した。試片を各 8 個作製し表面の光沢を光沢度計 VG2000(日本電色工業社製)にて、測定角 60° の光沢度を測定した。
3. 滑沢耐久性の測定：コンボマスターで 20 秒間研磨した各 8 個の試片に対して、歯ブラシ磨耗試験機(大栄科学精機社製)にて、歯ブラシはビイトウィーンライオンふつう(ライオン社製)を使用し、歯磨剤としてデンタークリア Max(ライオン社製)を蒸留水で 10wt%に希釈したスラリーを用い、荷重 250gf、ストローク速度 30 回/分、ストローク幅 100mm の条件下で 40000 回の繰り返し磨耗試験を行った。磨耗後の表面の光沢を光沢度計 VG2000 にて測定角 60° の光沢度を測定した。
4. 曲げ強さの測定：ISO4049:2009、JIS T6514:2005 に準拠し測定した。

#### 【結果及び考察】

1. ES Flow は、MJ-LV と比較して高い研磨性と滑沢耐久性を示した(図 1)。一方、ES Flow と MJ-LV の曲げ強さに優位差は認められなかった(表 1)。
2. MJ-LV がミクロンサイズのフィラーを主体とするのに対し、ES Flow はサブミクロンガラスフィラーとナノ粒子の凝集体であるクラスターフィラーを主体としていることから ES Flow では硬化物表面に凹凸が生じにくく研磨が容易であり、また磨耗後も光沢が維持されたと考えられる。
3. また、ES Flow ではサブミクロンガラスフィラーと当社独自の表面処理剤とを高率で反応させる新処理法を開発したことにより、フィラーとマトリックスとの結合がより強固となり曲げ強さに対しても効果を発現したものと考えられる。

#### 【結論】

ES Flow は優れた研磨性と滑沢耐久性、ならびに MJ-LV と同等以上の曲げ強さを有するフロアブルレジンであることが示され、臨床的有用性が示唆された。

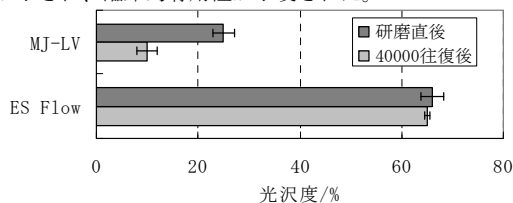


図 1 研磨直後及び 40000 回磨耗後の光沢

表 1 曲げ強さ MPa(SD)

ES Flow	MJ-LV
151 (4)	145 (5)



## フロワブルコンポジットレジンの硬化初期の動向 : 5級窩洞適合性, 歯質接着性および曲げ特性からの検討

<sup>1)</sup>岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野  
<sup>2)</sup>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<sup>1)</sup>, 田仲持郎<sup>1)</sup>, 松本卓也<sup>1)</sup>, 吉山昌宏<sup>2)</sup>

### Early Performance of Flowable Composite Restorations : Interfacial Gap-formation of Class V restoration, Bonding Ability to Tooth Substrate and Flexural Properties.

<sup>1)</sup>Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences. <sup>2)</sup>Department of Operative Dentistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.

○Masao Irie<sup>1)</sup>, Jiro Tanaka<sup>1)</sup>, Takuya Matsumoto<sup>1)</sup>, Masahiro Yoshiyama<sup>2)</sup>

#### 【 目的 】

歯冠修復に不可欠な最近のフロワブルコンポジットレジン (FCR) は, フィラーの高密度充填化やシラン処理の高機能化により, 数年前とは随分と様変わりしている. たとえば, 利便性を追求した光照射なしのセルフエッチングプライマー (SEP) で歯質処理を行う FCR や, 曲げ強さの向上した FCR が登場している. そこで, FCR の 5 級窩洞修復材としての可能性を探る目的から, 硬化初期の窩洞適合性, 歯質接着性および FCR 自身の曲げ特性の検討を試み, 今回は 5 級窩洞適合性を報告する.

#### 【 材料と方法 】

材料は Table に示す 7 種の FCR を使用した. 内訳は, 従来の光照射併用の SEP を使用する FCR5 種と, 光照射なしの SEP を使用する FCR2 種である.

方法は, ヒト小白歯に 5 級窩洞 (歯頸線から 0.5 mm 上に直径: 3.5 mm, 深さ: 1.5 mm) を形成, メーカー指示に沿って歯質を処理, FCR を充填し, 光照射して硬化させた. その後, 光照射直後研磨および 1 日間水中浸漬後研磨の両試料を窩洞中心部で長軸方向に切断, 切断面の窩洞周囲に生じている間隙の有無 (0.5 mm 間隔で 14 箇所) を読み取り顕微鏡(1,000 倍)で観察, 間隙が観察されなかった合計箇所数を計測, その値を 140 (1 条件につき 10 箇所を準備, 10 箇所の測定箇所の総数) で除し, 間隙阻止率 (No interfacial-gap incidence) として%で表記した<sup>1)</sup>.

#### 【 結果と考察 】

間隙阻止率の結果を Table に示した. 光照射直後研磨では 86-89 %, 1 日間水中浸漬後研磨では 88-93 % の値を示し, すべての FCR において両者には有意差がなかった. FCR の流動性のよさ, 優れた歯質接着性の影響が考えられる. この結果から, 最近の FCR による 5 級修復では, 窩洞適合性の点から, 1 日後研磨でなく光照射直後研磨の有意性が確認された.

#### 【 まとめ 】

最近の FCR を使用した 5 級修復の間隙阻止率から, 研磨時期に関して検討した結果, 光照射直後研磨法でも, 1 日間水中浸漬後研磨と比較して有意差がないことが示された. そして, 今回の光照射なしの SEP 併用 FCR は, 従来の光照射併用の SEP を使用した FCR と同等の窩洞適合性を示すことも確認された.

#### 【 文献 】

1) M Irie *et al.* Dent Mater, 2010, 26, 608-615.

**Table No Interfacial-gap incidence for 10 Class V restorations (%)**

Restorative material	Immediately	After one-day storage	p value*
Filtek Supreme Ultra Flowable + Scotchbond Universal (3M ESPE)	89	91	NS
MI Fil + G-Bond Plus (GC)	86	89	NS
Beautifil Flow Plus F03 + BeautiBond Multi (Shofu)	89	91	NS
Metafil Flo Low-Flow + AQ Bond SP (Sun Medical)	86	88	NS
LLB-LF + Primefil Primer (Tokuyama Dental)	88	90	NS
Primefil Flow + Primefil Primer (Tokuyama Dental)	87	91	NS
Clearfil Majesty SE Flow + Clearfil Bond SE ONE (Kuraray Noritake Dental)	89	93	NS

N=10

\*: Significantly different by Mann-Whitney U-Test between the two sums (p=0.05).

NS: not significantly different (p>0.05).

## 臼歯修復用フロアブルレジンの two-body wear

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

<sup>3</sup> 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻

○平 賢久<sup>1,2</sup>, 高田真代<sup>3</sup>, 有田祥子<sup>3</sup>, 川嶋里貴<sup>3</sup>, 加藤千景<sup>2</sup>, 鈴木雅也<sup>2</sup>, 新海航一<sup>2</sup>

Two-body Wear of Flowable Resin Composite for Posterior Tooth Restoration

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

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

<sup>3</sup>Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

○TAIRA Yoshihisa<sup>1</sup>, TAKADA Mayo<sup>3</sup>, ARITA Shoko<sup>3</sup>, KAWASHIMA Satoki<sup>3</sup>,

KATO Chikage<sup>2</sup>, SUZUKI Masaya<sup>2</sup>, SHINKAI Koichi<sup>2</sup>

### 【研究目的】

フロアブルレジンは填塞操作が容易であるため、臨床において多用されている。最近ではフロアブルレジンのフィラー形状の改善とともに含有量を高めた結果、物性が向上し前歯部に限らず臼歯部にも適応が可能とされているが、咬合ストレス域における耐摩耗性は明らかにされていない。そこで本研究は *in vitro* において口腔内での咬合ストレスをシミュレーションした繰返し荷重摩耗試験を実施して各種臼歯修復用フロアブルレジンの two-body wear を測定し、臼歯咬合接触点におけるフロアブルレジンの摩耗挙動を推測することが目的である。

### 【材料および方法】

セラミックブロックの縁端平面中央に#149 レギュラーカットダイヤモンドポイント（松風）を用いて腕型窩洞（直径4mm、深さ2mm）を各群につき5個形成した。セラミックの窩洞内面はシランカップリング処理を施した後、下表に示す材料を用いて各メーカー指示に従ってボンディング処理を行い、各臼歯修復用フロアブルレジンを窩洞を填塞した。Controlとして Clearfil Majesty を用いた。48時間恒温恒湿箱に保管後、#1500 耐水研磨紙を用いて填塞面を平坦に仕上げて試料を完成した（n=5）。

繰返し荷重負荷試験機（伊藤電気）を使用し、セラミックスタイラス（窒化アルミニウム）にて two-body wear test を行った。最大荷重は75Nとし、毎分60回繰返し荷重を負荷しながら4万回まで two-body wear test を行った。その際、繰返し荷重負荷1万回ごとに摩耗面をエグザファイニンジェクション（GC）とスタイクキャストレジ（Henkel）を用いてレプリカを作製した。小型測定顕微鏡 STM6（OLYMPUS）を用いてレプリカ上の摩耗面をプロファイルし、摩耗体積を測定した。得られたデータはANOVAとTukey検定を用いて統計学的解析を行い、実験群間の有意差を検定した（ $p < 0.05$ ）。

実験群	コンポジットレジン	ボンディング材	メーカー
MLV	Clearfil Majesty LV	Clearfil SE ONE	Kuraray Noritake
EFQ	Estelite Flow Quick	Bond Force	Tokuyama
BF00	Beautiful Flow Plus F00	BeautiBond	Shofu
MIF	MI Fil	G Bond Plus	GC
Control	Clearfil Majesty	Clearfil SE ONE	Kuraray Noritake

### 【結果および考察】

各実験群の繰返し荷重負荷4万回時の摩耗体積量は、MLV:0.268±0.139mm<sup>3</sup>、EFQ: 0.140±0.041 mm<sup>3</sup>、BF00:0.008±0.003 mm<sup>3</sup>、MIF: 0.026±0.006 mm<sup>3</sup>、ならびに Control は 0.013±0.002 mm<sup>3</sup>であった。ANOVAの結果、4万回摩耗試験終了時の実験群間に統計学的有意差（ $p=0.04$ ）を認められた。しかし、Tukey検定による多重比較の結果では、どの実験群の間にも有意差は認められなかった（ $p > 0.05$ ）。平均値を比較するとBF00およびMIFは、controlとほぼ同等の耐摩耗性を示した。

## フロアブルタイプとペーストタイプコンポジットレジンの光照射前後の色調変化

鶴見大学歯学部保存修復学講座

○林 応璣, 臼井 エミ, 佐藤 のどか, 山本 雄嗣, 桃井 保子

### Color changes of flowable type and paste type resin-composites before and after light exposure

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○HAYASHI Oki, USUI Emi, SATO Nodoka, YAMAMOTO Takatsugu, MOMOI Yasuko

#### 研究目的

コンポジットレジンは、光照射前後で色調変化することが知られている<sup>1,2)</sup>。本研究では、光照射前後の色調変化をフロアブルタイプコンポジットレジジン(フロアブル)とペーストタイプコンポジットレジジン(ペースト)で比較検討した。

#### 材料及び方法

Table 1 に示すレジンを、アルミ板に開けた直径 7.0 mm, 高さ 1.0 mm の穴に充填し、各レジジン表面を測色した。次いで、メーカー指示通りに光照射 (Optilux 501, sds Kerr) し、再びレジジン表面を測色した。測色には、色差計 (SE2000, 日本

Table 1 評価した12種類のコンポジットレジジン (色調:A3)

フロアブル	略号	ペースト	略号	製造元
CLEARFIL MAJESTY ES Flow	ce	CLEARFIL MAJESTY ES-2	CE	クラレ/リタケデンタル
CLEARFIL MAJESTY LV	cm	CLEARFIL MAJESTY	CM	クラレ/リタケデンタル
Metafil Flo	me	Metafil C	ME	サンメディカル
BEAUTIFIL Flow plus	be	BEAUTIFIL II	BE	松風
Filtek Supreme Ultra	fs	Filtek Supreme Ultra	FS	3M
ESTELITE FLOW QUICK	es	ESTELITE Σ QUICK	ES	トクヤマデンタル

電色)を用い、背景は白, 黒, グレーとした。光照射前後のL\*, a\*, b\* 値(n=5)より、光照射前後の色差(ΔE)とコントラスト比を算出した。結果の統計処理には、Tukeyの多重比較(有意水準1%)を用いた。

#### 結果および考察

ΔEの平均値と標準偏差は、フロアブルでは、cm:15.4±0.2, me:11.3±0.2, es:6.8±0.2, be:6.0±0.4, fs:4.8±0.2, ce:4.0±0.2であり、ペーストでは、CE:5.6±0.3, ES:4.6±0.1, FS:4.2±0.2, CM:4.1±0.2, BE:3.7±0.1, CE:3.5±0.4であった(Fig.1)。ΔEは、フロアブルでペーストよりも大きい傾向があった。これは、フロアブルのマトリックスレジジンやフィラー含有量がペーストと異なるためと考えられた。コントラスト比は透明性を示す指標であるが、光照射前後では

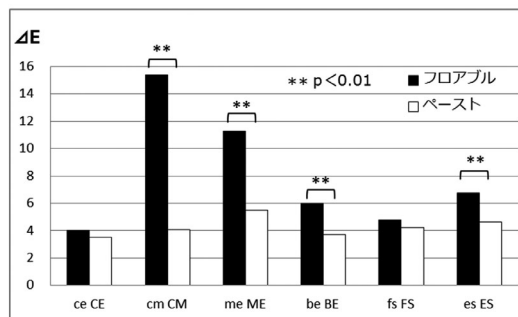


Fig.1 各レジジンの光照射前後のΔE

全てのレジジンでコントラスト比が異なり、光照射後に透明性が増すものと減じるものがあった。各レジジンにおいて、ΔEが、ΔL(明るさの変化)、Δa(赤-緑の変化)、Δb(黄-青の変化)にどの程度影響されているかを見たのがTable 2である。CE, FS, ES, ce, cmではΔL, esではΔa, CM, BE, ME, be, fs, meではΔbの影響を受けていると思われた。

#### 結論

フロアブルコンポジットレジジンの光照射前後の色調変化(ΔE)は、ペーストタイプにおける変化より大きい傾向にあった。色調変化(ΔE)は、主に明るさの変化(ΔL)と黄-青方向の変化(Δb)の影響を受けていた。

Table 2 各レジジンのΔEとΔL, Δa, Δbの相関関係における決定係数(r<sup>2</sup>)

	ΔL	Δa	Δb		ΔL	Δa	Δb		ΔL	Δa	Δb		ΔL	Δa	Δb
ce	0.7424	0.0031	0.2256	be	0.1787	0.0549	0.9992	CE	0.9301	0.3864	0.7904	BE	0.0792	0.1180	0.9933
cm	0.9279	0.0461	0.4822	fs	0.2185	0.0020	0.9913	CM	0.0174	0.6154	0.7613	FS	0.9594	0.5222	0.4933
me	0.4963	0.1722	0.5618	es	0.3897	0.7979	0.2477	ME	0.2963	0.0619	0.9886	ES	0.5784	0.0971	0.0182

#### 参考文献

- 1) 小木曾 政則: 可視光線重合型コンポジットレジジンの光照射に伴う色調変化に関する研究-日歯保誌 31, p79-106, 1988.
- 2) 森川 公博: 光重合型コンポジットレジジンの色調に関する研究-日歯保誌 32, p411-420, 1989.

## 種々のコンポジットレジンにおける鏡面研磨された表面性状の評価

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○岸本崇史、友田篤臣、鶴田あゆみ、堅田和穂、富士谷盛興、千田 彰

### Evaluation of Mirror-polished Surface Characteristics of Various Resin Composites

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

○KISHIMOTO Takafumi, TOMODA Shigetaka, TSURUTA Ayumi, KATADA Kazuho,  
FUJITANI Morioki, SENDA Akira

#### 【緒言】

最近のコンポジットレジン、フィラー粒径、粒度分布などの改良により、その研磨性が著しく改善された。また研磨器材の改良が進み、その表面の滑沢化が比較的簡便となったといわれている。レジン修復において、填塞後の研磨は表面滑沢性のみならず、着色やブランク付着性など患者の満足度を左右する重要な操作となり、十分に研磨された滑沢なレジン表面は、臨床に必要不可欠である。したがって、レジンの研磨性や研磨後の表面性状を評価することは、修復物の予後を判断する上で非常に重要である。しかし、研磨後のレジン表面の表面粗さ、光沢度などについての報告は多数あるが、それらに密接に関連する着色や変色に関する評価は少ない。そこで本研究では、鏡面研磨された最近のレジンの表面性状を総合的に評価することを目的として、その表面粗さ(Ra)、光沢度(%)、および変色(色差)について検討した。

#### 【材料および方法】

実験に使用したレジン材料は、Filtek Supreme Ultra (3M ESPE, 以下FS)、Beautiful II (松風, 以下BF)、Estelite Σ Quick (トクヤマデンタル, 以下EQ)、Clearfil AP-X (クラレノリタケデンタル, 以下AP)、MI Fil (ジーシー, 以下MF)の5種で、いずれもシェードはA3を使用した。

各レジンを用いてブロック(縦1cm横2cm厚径4mm)を調製し、自動回転研磨機(Ecomet3000, BUEHLER)で、#800、#1200、#1500、#2000の耐水研磨紙を順次用いて注水下で研磨(100rpm)した。その後、通法に従って、酸化アルミナ粉末(0.3μm)と研磨パフを用いて表面を調製し、それらの面について以下の評価を行い、各々の表面粗さ、光沢度および変色の平均値について統計処理(Tukey HSD test,  $p=0.05$ )を施した。

**表面粗さ**：表面粗さ計(Surfcom130A, 東京精密)を用いて、算術平均粗さ(Ra)を求めた。1試料につき3箇所測定を行い、この平均値をもって試料の平均粗さとした。

**光沢度**：ハンディ型光沢計(PG-1M, 日本電色工)を用いて、JIS規格に基づき60度鏡面光沢度の測定を行った。

**変色**：各レジン試料を37℃紅茶液に30日間浸漬し、浸漬前後の変色の状態を歯科用分光光度計(Spectro Shade, DENTZPLY 三金)を用いて測色し、色差( $\Delta E^*ab$ )を算出した。

#### 【結果および考察】

表面粗さについては、全てのレジン間で有意な差は認められなかった。光沢度は、APが他のレジンに比べて有意に低く、また、変色は、FSが他のレジンに比べて有意に高かった。したがって、表面粗さと光沢度、あるいは変色との間に関連性の認められないレジンが存在することが判明した。

レジンの光沢度や変色には、フィラーの種類、または粒径や含有率、あるいはフィラーとマトリックスレジンの接着などが影響していると推察される。すなわち、ハイブリット型コンポジットレジンであるAPは、配合されているフィラー粒径や種類などの影響により光沢度が低かったものと思われる。また、FSにおいて有意に変色が生じた原因は、このレジンで使用されているナノクラスターを形成しているフィラーが関与しているものと考えられる。今後さらに、レジンの劣化試験などを行い、これらを検討していく予定である。

#### 【結論】

鏡面研磨された各種レジンの表面における表面粗さ、光沢度、および変色は、コンポジットレジンによりその程度は異なっており、三者間に密接な関連性は認められなかった。

## コンポジットレジンの歯ブラシ摩耗について—歯ブラシの毛の硬さ—

<sup>1</sup>昭和大学歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門

<sup>2</sup>東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座歯科保存学分野

○京泉秀明<sup>1</sup>、山田純嗣<sup>1</sup>、鈴木敏光<sup>1</sup>、Finger Werner J.<sup>2</sup>、兼平正史<sup>2</sup>、真鍋厚史<sup>1</sup>

### Toothbrush abrasion of resin composite -Hardness of the brush-

<sup>1</sup>Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry

<sup>2</sup>Division of Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○KYOIZUMI Hideaki<sup>1</sup>, YAMADA Junji<sup>1</sup>, SUZUKI Toshimitsu<sup>1</sup>, FINGER Werner J.<sup>2</sup>, KANEHIRA Masafumi<sup>2</sup> and MANABE Atsufumi<sup>1</sup>

#### 【緒言】

現在、日本国内では歯ブラシの大きさや、形、毛の材質、毛の硬さ、刷毛の形態など少しずつ異なる数多くの製品が市販されている。

歯ブラシは必ず毎日数回使うので、歯磨き剤をつけると歯は次第に摩耗していき、くさび状欠損や知覚過敏などが生じることがある。また、歯磨き剤に含まれる香料や発砲剤などにより、たとえ歯磨きが不十分であっても磨いた気になってしまうことがあり、歯磨き剤を使用しないブラッシングを推奨している歯科医師もいる。そこで、第136回日本歯科保存学会秋季学術大会において、研磨剤の有無によるコンポジットレジンの歯ブラシ摩耗について検討した。その結果、研磨剤を使用しない場合には歯ブラシ摩耗は全く認められなかった。

今回は、歯ブラシの毛の硬さの違いが歯ブラシ摩耗に及ぼす影響について検討した。

#### 【材料および方法】

摩耗材料として Venus<sup>®</sup> (VEN, microhybrid, Heraeus Kulzer)、Venus<sup>®</sup> Diamond (VED, nanohybrid, Heraeus Kulzer)、Venus<sup>®</sup> Pearl (VEP, nanohybrid, Heraeus Kulzer) の3種類のコンポジットレジンを使用した。

それぞれの材料を使用して、3×3×12mmの試料を作製した。試料は相対湿度100%、温度37℃の恒温槽中に1時間放置した後、37℃の蒸留水中に23時間保管した。摩耗試験直前に#4000のシリコンカーバイトペーパーを使用し研磨した。

摩耗試験は歯ブラシ摩耗試験機(東京技研)を使用し、歯ブラシはDENT. EX Slimhead II 33 (Lion Dental Products)を使用した。毛の硬さは、Soft、Medium、Hardの3種類を使用した。摩耗試験は毎分60回で、歯ブラシにかかる垂直荷重は200gf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、3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。5万回での歯ブラシ摩耗深さの結果を表に示す。VENおよびVEDでは、毛の硬さの間に有意差は認められなかったが、VEPでは有意差が認められた。

表面粗さは、3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では、VEDが最も粗く、続いてVEP、VENの順で小さかった。VEDでは毛の硬さの間に有意差は認められなかったが、VEPおよびVENでは有意差が認められた。

歯ブラシの毛の硬さは、5万回後の歯ブラシ摩耗深さに大きな影響は与えなかったが、表面粗さには影響を与える材料が認められた。

表 歯ブラシ摩耗深さ

	Soft	Medium	Hard
VEN	169.7±3.1	168.4±7.4	171.2±7.8
VED	23.0±1.2	23.7±0.7	22.5±1.4
VEP	71.4±2.9	73.9±2.2	79.4±6.2

(μm)

## 修復用グラスアイオノマーセメントの感水に関する研究

岩手医科大学歯学部 歯科保存学講座 う蝕治療学分野  
○志賀華絵 岡田伸男 青島 久 中村芳章 千葉史子 山本槇子 熊谷啓二 工藤義之 野田 守

### A Study of Water Abluted Glass Ionomers for Restorative.

Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department Conservative Dentistry, School of Dentistry,  
Iwate Medical University

○Shiga Hanae, Okada Nobuo, Aoshima Hisashi, Nakamura Yoshiaki, Chiba Fumiko,  
Yamamoto Makiko, Kumagai Keiji, Kudou Yoshiyuki and Noda Mamoru

#### 【目的】

グラスアイオノマーセメントはコンポジットレジンと並ぶ審美修復材料である。近年では材料の改良が進み、歯質接着性や抗う蝕作用のみならず、色調の改善や臼歯部咬合面に使用可能な高強度型も市販されるようになり、その用途は多岐にわたっている。グラスアイオノマーセメントは初期硬化時に水分と接触すると感水し、物理的性質の低下と白濁を起こすことが知られている。臨床ではパーニッシュなどで感水を防止しているが、唾液の浸入により感水を免れないケースもある。グラスアイオノマーセメントの感水に関する報告は少なく、セメント表面からどの程度まで感水が及んでいるのかについての報告はみられない。本研究では3種類の充填用グラスアイオノマーセメントの感水モデルを作製し、色素浸透によって評価を行った。

#### 【材料】

材料は、充填用グラスアイオノマーセメントのFuji IONOMER TYPE II (GC, ペールイエロー, 以下:F2), Fuji IX GP (GC, Shade A3, 以下:GP), Fuji IX GP Extra Capsule(GC, Shade A3, 以下:EC)の3種類を使用した。

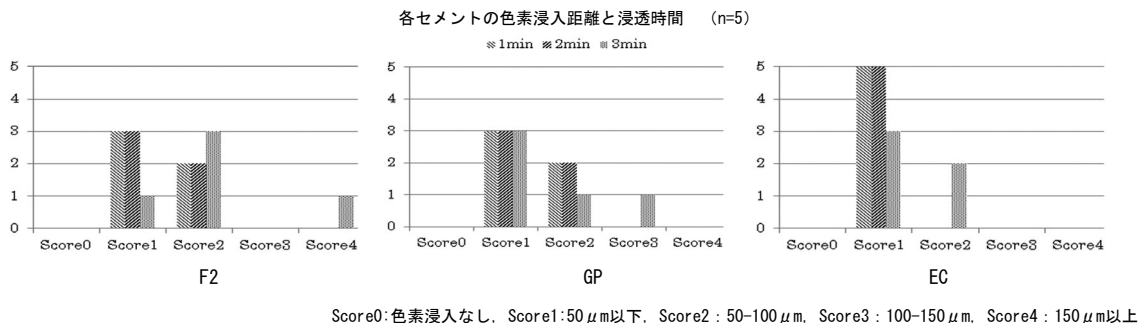
#### 【方法】

業者指示でセメントを練和後、内径3mm高さ5mmのプラスチックチューブにセメントを充填し、手練和のF2, GPは練和開始から1分30秒後、機械練和のECは練和開始から30秒後に齶蝕検知液(Caries Detector, Kurarey)を滴下した。1分後に濾紙で齶蝕検知液を吸い取り、20秒間エアで乾燥させた。同様の方法で2分後、3分後の試料も作製した。各セメントの硬化時間が経過したらチューブよりセメントを取り出し、硬化体を2分割して実体顕微鏡(×20)にて観察し、色素の浸入距離を測定しスコア化した。得られたデータはKruskal Wallis testにて統計的に検討した。

#### 【結果および考察】

各セメントの色素浸透距離を以下に示す。各セメント間および浸透時間で色素の浸入距離に統計学的な有意差を認めなかったが、浸透時間が長くなるにつれて浸入距離が長くなる傾向を示した。ECでは浸入距離は均一であったのに対し、F2, GPでは局所的に浸入距離が長くなる部位が散見され、最長200 $\mu$ mであった。これは手練和による気泡の混入が影響しているものと考えられた。また本研究では水より分子量の大きい色素を使用していることから、実際の感水距離は今回の結果より大きい可能性があると考えられた。

以上のことから、充填用グラスアイオノマーセメントは感水時に少なくとも表層から50 $\mu$ m以上の感水が予想され、感水時には十分な研磨と、状況によっては再充填が必要であることが示唆された。



## フッ素を含むフィッシャーシーラント材料のフッ素徐放量とリチャージに関する研究

日本歯科大学附属病院 総合診療科  
○花村伊織、滑川初枝、代田あづさ

### Study on fluoride release and recharge of the Fischer sealant materials containing fluoride

General Dentistry, The Nippon Dental University Hospital

○Iori Hanamura, Hatsue Namekawa, Azusa Shiota

#### 【目的】

レジン接着システムの進化にともない、グラスアイオノマーセメントは、日常の臨床において頻用されているとはいえない昨今である。しかしながら、フィッシャーシーラント、裏層、支台築造、暫間修復材等、また、高齢社会にともなう在宅診療等での臨床において、その有用性は否定できない。

その一方、グラスアイオノマーセメントおよびフッ素放出能を有するレジン材料のフッ素放出量やフッ素リチャージ能に関する周知されていないことが多い。

今回、グラスアイオノマーセメントの基本的性質を検討することを目的に、フッ素を含むフィッシャーシーラント材各材料のフッ素放出量とリチャージに関する研究を行った。

#### 【材料・方法】

1. 試料の作成：直径7mm 深さ2mmのアクリル型に、クラレノリタケデンタル社製ティースメイトF-1 2.0 (以下TM)、松風社製ビューティシーラント (以下BS)、GC社製フジVII カプセル (以下F7) を充填後 (N=5)、ポリエチレンシートを用いて圧接し、TM、BSはGC社製G-ライトプリマ2を用いて20秒間照射した後、各試料の硬化を確認、37°C湿度100%のチャンバー内で1時間放置した。その後、ポリエチレンシートを取り除き、硬化した試料のバリを除去し、37°Cの蒸留水8mLに24時間浸漬した。

2. 蒸留水中のフッ素濃度の測定：各試料を24時間浸漬後、HORIBA社製イオンメーターLAQUAを用いて抽出液中フッ素濃度を測定した。その後、2、3、4、14、28日後の積算フッ素放出量および24時間あたりのフッ素放出量を測定した。

3. フッ素リチャージ能の評価：フッ素濃度測定後、各試料を口腔内の洗口を想定し、GC社製フッ化ナトリウム洗口液「ジーシー」0.1% (以下Faq) 10mLに30秒浸漬した。その後、洗瓶を用いて蒸留水で30秒洗浄を行った後の各硬化体からのフッ素放出量についても同様に測定を行った。

4. 各測定値は、平均値の差の検定を行った。

#### 【結果】

24時間後の平均フッ素放出量はF7 (199.50  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>) > TM (14.16  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>) > BS (5.93  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>) で、F7が有意に高い値を示した。いずれの製品においても24時間あたりのフッ素放出量は経時的に低下する傾向にあったが、全ての測定日においてF7が有意に高い値を示した。また、フッ化ナトリウム洗口液への浸漬によりF7はフッ素放出量の向上がみられたが、TM及びTSではフッ素放出量に有意な変化はみられなかった。

#### 【考察および結論】

今回、実験に使用した3材料のうちの2つは、フッ素徐放性を有するレジン系のフィッシャーシーラント材であるが、2つの材料に比較しF7はグラスアイオノマーセメントであるため、フッ素徐放性が顕著に高い値を示したと考えられる。また、フッ素洗口液への浸漬によりF7はフッ素放出量の向上がみられ、フッ素のリチャージ能が確認された。

以上の結果より、グラスアイオノマーセメントは歯質強化と齲蝕予防に有用であり、臨床応用の幅がさらに拡大する可能性が示唆された。

垂直歯根破折の接着再建・再植法に関する研究  
- ポストの材質と装着材料が再建歯根の強度に及ぼす影響について -

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○恩田 康平、初岡 昌憲、黄地 智子、宮地 秀彦、松田 有之、  
廣田 陽平、貝本 雅也、藤原 秀樹、山本 一世

Restoration of vertically fractured teeth by adhesion and replantation

- Influence of materials for the post and cement give to the strength of adhered root -

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○Kohei Onda, Yoshinori Hatsuoka, Satoko Ouchi, Hidehiko Miyaji, Tomoyuki Matsuda  
Youhei Hirota, Masaya Kaimoto, Hideki Hujawara, Kazuyo Yamamoto.

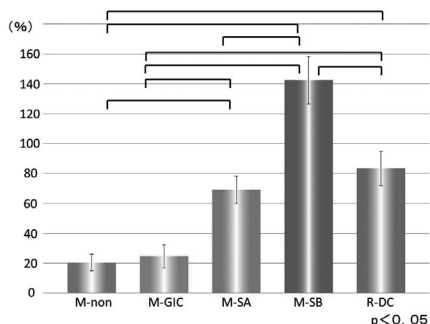
【緒言】

抜歯適応とされてきた垂直歯根破折歯に対して、接着性セメントにて再建を行い、その後再植を行うことにより天然歯を保存することが可能となっている。我々の以前の研究から、垂直歯根破折歯根を接着性レジンセメントで接着させた場合、健全歯根に比べ 25%以下の耐久性しか持たないことがわかった。今回、再建後支台築造を行う際に、ポストの材質やポストを合着、接着する材料によっていかなる違いが出るのかを調べたので報告する。

【材料と方法】

冷凍保存したウシ歯根を根尖より 24.0mm で歯軸に垂直に切断し、テーパー5° のテーパリーマーで切断面が直径 4.0mm となるポスト孔を形成し、シリコン印象材を人工歯根膜とし、歯冠側 2.0mm を残し即時重合レジンに包埋した。金銀パラジウム合金で作成したポストをポスト孔に挿入し、AUTOGRAPH 5kN (島津製作所) を用いてポストに荷重をかけ圧縮試験を行った。歯牙が破折した時の応力を初期破折強度とし、その時の応力と破断形態の観察を行った。破折した歯牙を完全に破折させ、Superbond C&B (以下 SB、サンメディカル) を用いて接着再建し、24 時間水中浸漬後、再び上記の通りポスト孔を形成した。そのポスト孔に対して、金銀パラジウム合金を用いてメタルポストを作製し、接着させず挿入しただけのもの (以下 M-non)、SB、SA ルーティング、Fuji I でそれぞれ装着したもの (それぞれ以下 M-SB、M-SA、M-GIC)、またポスト孔に DC コアオートミックスと Linerbond II Σ を用いて直接ポスト孔を充填したもの (以下 R-DC) を作成し、試料とした (n=8)。試料のポストに AUTOGRAPH 5kN で荷重をかけ破壊が起こった応力を再建歯根破折強度とした。初期破折強度に対する再建歯根破折強度の割合を比較値として、その試料の値とした。また再破折の起こった部位を肉眼的に観察した。得られた結果は、一元配置分散分析および Tukey の検定を用いて統計学的に検討を行った (P<0.05)。

【結果および考察】



図：比較値

	再破折	歯冠側1/3 以内の破折	セメント の破壊	コアの 破壊
M-non	8			
M-GIC	6		2	
M-SA	8			
M-SB	8			
R-DC	2	2		4

表：再破折を起こした部位

比較値の結果を上グラフに示す。ポストに歯軸に平行な荷重をかけた場合、M-SB は健全歯根より再破折を起こし難く、他の条件に比べ優位に高い値を示した。M-SA と R-DC は同程度の比較値を示したが、R-DC はコア自体の破壊や歯冠側 1/3 以内の接着線以外での歯根破折が認められ、歯根の保護に有利であると考えられる。M-GIC は M-non と同程度の比較値であり、再建後の支台築造として再破折の危険性が高いと考えられた。

【結論】

垂直歯根破折歯の接着再建後の支台築造を行う場合、メタルポストを SB で接着すると健全歯根よりも再破折が起こり難いことが示唆された。



## 動的荷重ストレスがレジンコアシステム応用コンポジットレジン直接修復の 辺縁封鎖性に及ぼす影響

日本歯科大学 生命歯学部 接着歯科学講座  
○小川信太郎, 柵木寿男, 奈良陽一郎

### Effect of dynamic load stress on marginal sealing property of direct resin composite restoration applied with resin core system

Department of Adhesive Dentistry,  
School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

○OGAWA Shintaro, MASEKI Toshio, NARA Yoichiro

**【目的】** 歯内療法処置後の失活歯に対するレジンコアシステム応用のコンポジットレジン直接修復は、歯質保存ならびに歯質補強が可能な、低侵襲性のメタルフリー修復として意義ある臨床的対応といえよう。しかし、髄腔開拓した窩洞に対する修復には的確な接着操作が求められ、その良否が窩洞内の象牙質接着強さや接着信頼性に大きく影響することを報告<sup>1,2)</sup>した。そこで本研究では、動的荷重ストレスが髄床底を窩底とするレジンコア併用2級MOコンポジットレジン直接修復の辺縁封鎖性に及ぼす影響を明らかにすることを目的に、色素浸透試験を行い評価検討した。

**【材料および方法】** 被験歯には、本学部研究倫理委員会の承認を得て、ヒト抜去健全下顎第一大臼歯 40本を用いた。はじめに、被験歯に対し透明レジンによる咬合面形態再現用コアの作製を行った後、通法に従い髄腔開拓、根管充填を行った。湿ボックス 24 時間保管後、被験歯の近心頬・舌側咬頭頂と遠心頬側咬頭頂とによって決定される平面が植立用規格化円筒モールド底面と平行になるよう被験歯を植立した。ついで規格化窩洞形成器と基準窩洞模型の併用により、Fig.1 に示す髄床底を窩底とする規格化2級MO窩洞を形成した。その後、2種レジンコアシステム、すなわち Clearfil DC Bond と Clearfil DC Core Automix (以後 DC、Kuraray Noritake Dental) ならびに Clearfil Bond SE ONE と Clearfil DC Core Automix ONE (以後 SE、Kuraray Noritake Dental) を用いた製造者指定の歯面処理後に、窩底から 5.0 mm 上縁までのコア用レジン層塗布を経た3層による分割充填を行った。ついで、咬合面形態再現用コア併用の Clearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental) による2層の分割充填を施した。試料は湿ボックス 24 時間保管後に形態修正・研磨を行い、動的荷重負荷(+)群と非負荷(-)群に区分し、+群に対しては複合機能試験機を用いた 37°C 水中、16kgf × 30 万回 (90 回/分) の繰り返し動的荷重を負荷した。その後、全試料は 37°C 1%メチレンブルー水溶液中に1時間浸漬し、歯軸と平行に窩洞中央部から厚さ 1.0mm の板状試料を近遠心的に切り出した後、頬舌側残存 2 試料の切断面を研磨後、判定基準に基づいた色素浸透状態の評価 (n=10) を行った。なお、色素浸透試験結果は、Kruskal-Wallis の順位検定と Wilcoxon の符号付順位検定による分析を行った。

**【成績ならびに考察】** Fig.2,3 に2種レジンコアシステムによる修復の歯肉側壁および歯頂側壁の色素浸透試験結果を示す。分析の結果、動的荷重ストレスの負荷は、DC システムによる歯頂側壁の辺縁封鎖性のみ有意な影響を与えていた。また、動的荷重ストレスの有無およびレジンコアシステムの違いにかかわらず、窩壁の違いによって辺縁封鎖性に有意差が認められ、歯頂側壁は歯肉側壁に比べ、漏洩が生じ易いことが判明した。以上から、歯頂側壁は歯肉側壁に比べ、直接的な繰り返し応力負荷による影響を受けやすいものの、新規モノマーの導入に代表される接着耐久性の改良などが図られた SE システムでは、辺縁封鎖性の改善も達成されていると考えられた。また、DC・SE システムいずれにも髄腔開拓象牙質壁に至る顕著な漏洩は認められなかったが、一群においてもエナメル質内への漏洩が確認できた。したがって、コンポジットレジンの宿命ともいえる重合収縮による窩縁部封鎖性への影響は存在すると判断でき、本修復のような症例に際しては、窩縁形態、コンポジットレジンの充填法、光照射法などについて留意する必要性が示唆された。

<sup>1)</sup>小川ら 日本歯科保存学会 2011 春季学術大会, <sup>2)</sup>小川ら 日本歯科保存学会 2012 秋季学術大会

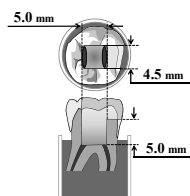


Fig. 1 Dimension of standardized class 2 type MO core-cavity

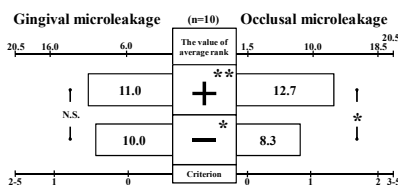


Fig. 2 Gingival and occlusal microleakage of DC with and without dynamic load stress

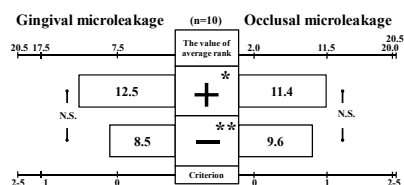


Fig. 3 Gingival and occlusal microleakage of SE with and without dynamic load stress

## ジルコニアセラミックスとのレジン接着に及ぼす親水化処理の影響

東京歯科大学千葉病院総合診療科

○野呂明夫, 春山亜貴子, 浅見政子, 杉山利子,  
杉山節子, 近藤祥弘, 亀山敦史

### **Influence of hydrophilic treatment on resin bonding to zirconia ceramics**

Division of General Dentistry, Tokyo Dental College Chiba Hospital

○Noro A, Haruyama A, Asami M, Sugiyama T,  
Sugiyama S, Kondoh Y, Kameyama A

#### 【目的】

近年、ジルコニアセラミックスを用いた歯冠修復が広く普及しており、特にインプラント上部構造としての応用もなされている。しかしながら、ジルコニアフレーム（コーピング）の表層に築盛された歯冠色前装部が破損した場合、その対処法は困難となる。ジルコニアセラミックスに対するレジン系材料の接着性向上を目的として様々な方法が試みられているが、現在のところ確実に安定した表面改質法としての確立に至らないのが現状である。大気圧プラズマや紫外線をジルコニアに照射すると表面性状が変化し、親水性が向上することが知られていることから、これらの照射によるジルコニア表面性状の変化はレジンの接着性に影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで本研究では、ジルコニア表面に対する親水化処理がジルコニアとコンポジットレジンとの接着性に与える影響を調べるため、大気圧プラズマまたは紫外線を照射したジルコニアに対してクリアフィルムメガボンド FA（クラレノリタケデンタル）を用い、コンポジットレジン接着させた場合の剪断接着強さを検討した。

#### 【材料と方法】

直径 13mm、厚さ 2mm のジルコニアプレートを包埋用樹脂に埋入した、その表面を耐水研磨紙#240～#1200 まで順次研削し、これを被着面とした。この表面に対して 30 分間の超音波洗浄後、10 秒間の大気圧プラズマ照射 (NJZ-2820 長野日本無線)、60 分間の紫外線照射 (BioForce Nanosciences)、あるいはクリアフィルセラミックプライマー（クラレノリタケデンタル）のいずれかで被着面処理後、表面にアクリルリング（内径 6mm、高さ 2mm）を貼付、固定した。リング内面にクリアフィルムメガボンド FA のボンドを塗布、G ライトプリマ（ジーシー、ノーマルモード）による 10 秒間の光照射ののちクリアフィルマジスティ（クラレノリタケデンタル）を充填し、再度 40 秒間の光照射を行った。接着試料は 37℃水中に 7 日間静置保管後、オートグラフ AG-I（島津製作所）を用いてクロスヘッドスピード 1mm/min で剪断接着試験を行った。なお、#1200 までの研削後に 50μm アルミナサンドブラスト処理を 20 秒間行った被着面についても同様に検討を行った。各群の試料数 10 とし、分散分析および Tukey's HSD Test を用いて各群間の比較を行った ( $p < 0.05$ )。接着試験後の破断面は実体顕微鏡を用いて観察を行い、破断様式の確認を行った。

#### 【結果と考察】

アルミナサンドブラスト処理を行わなかった場合、プラズマ照射群、および紫外線照射群はそれぞれ  $8.0 \pm 2.8$ MPa、 $8.3 \pm 2.3$ MPa を示し、クリアフィルセラミックプライマー処理群 ( $6.3 \pm 2.3$ MPa) に比べやや高い接着強さを示したものの、3 群間に統計学的有意差を認めなかった ( $p > 0.05$ )。

アルミナサンドブラスト処理を行った場合、プラズマ照射群、および紫外線照射群はそれぞれ  $8.4 \pm 1.8$ MPa、 $11.3 \pm 3.3$ MPa を示し、クリアフィルセラミックプライマー処理群 ( $9.3 \pm 1.4$ MPa) との間にそれぞれ統計学的有意差を認めなかった ( $p > 0.05$ )。なお、各親水化処理とも、アルミナサンドブラストの有無による差は認めなかった ( $p > 0.05$ )。

大気圧プラズマ照射法は低温でプラズマ（電離状態）をつくりだす処理法であり、照射表面に官能基を導入し、表面エネルギーや表面荷電などの表面性状が制御できる。また紫外線照射法は、ジルコニア表面に親水性を付与し、骨芽細胞の初期接着に有効に働くことが報告されている。これらの親水化処理をジルコニア表面に応用した場合、クリアフィルセラミックプライマーによる被着面処理とほぼ同等かあるいは若干高い接着性を示したことから、今後チェアサイドにおけるジルコニア被着面処理の 1 つの方法として臨床応用できる可能性が示唆された。

【謝辞】 本研究に際してご指導・ご尽力いただいた吉成正雄教授（東京歯科大学口腔科学研究センター 口腔インプラント研究部門）に深く謝意を表します。

#### 4-META を含有する市販シランカップリング材のジルコニアに対する接着性能

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門<sup>1)</sup> 歯科理工学部門<sup>2)</sup>

○小川 弘美<sup>1)</sup>、岩崎 友美<sup>1)</sup>、谷 千尋<sup>1)</sup>、真鍋 厚史<sup>1)</sup>、宮崎 隆<sup>2)</sup>

#### Bonding Performance to the Zirconia of the Commercial Silane Coupling Agent Containing 4-META

Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology<sup>1)</sup>, Division of Oral Biomaterials and Technology<sup>2)</sup>, Department of Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry  
○Hiromi Ogawa<sup>1)</sup>, Tomomi Iwasaki<sup>1)</sup>, Chihiro Tani<sup>1)</sup>, Atsufumi Manabe<sup>1)</sup> and Takashi Miyazaki<sup>2)</sup>

【研究目的】 審美修復の需要に伴い補綴物の機械的強度の向上を目的とした酸化ジルコニウムを主成分とする材料が多数開発されている。これらを主成分とするジルコニア材料はシリカの含有量が低いため、 $\gamma$ -MPTSによるシランカップリング処理だけではレジン系接着材料との化学的結合が不十分と考えられており、10-Methacryloyloxydecyl dihydrogenphosphate (10-MDP) を接着性モノマーとして装備するボンディング材を併用することにより化学的な接着を獲得できると考えられている。このたび、Pentron Japan より、シランカップリング材として $\gamma$ -MPTS、接着性モノマーとして 4-META を含有する一液性のシランカップリング処理材である CeramicsBond IK が発売された。本研究では、市販シランカップリング処理材 CeramicsBond IK (Pentron Japan) のジルコニアに対する接着性能について剪断接着力を計測することで検討を行った。

【材料および方法】 本研究は昭和大学 歯学部 医の倫理委員会 (承認番号; 2011-016 号) の承認を得て行った。本研究ではジルコニアセラミックスとして ivoclar vivadent 社製 e-max zir CAD およびニケイ酸リチウムガラスからなる ivoclar vivadent 社製 e-max を用いた。ジルコニアブロックは IsoMET を用いて厚さ約 3.0 mm となるように切断し、切断面を粒径 0.3 mm のダイヤモンドペーパーを用いて研磨を行った。ジルコニアセラミックスについては 0~500°C 10 時間、500~500°C 2 時間、500~1500°C 10 時間、1500~1500°C 2 時間、1500~500°C 6 時間、500~0°C 0 時間の予定で電気炉を用いて焼結操作を完了した。接着操作に先立って被着面に対し粒径 110  $\mu$ m のアルミナを用いてブラスト処理を行った。被着面に対し、KURARAY-Noritake Dental 社製 Clearfil Etching Agent を用いて 60 秒間エッチング処理を行った後に Pentron 社製 CeramicsBond IK を業者指示の通りに用いてシランカップリング処理を行い、10-MDP を機能性モノマーとして含有する KURARAY-Noritake Dental 社製 Clearfil Photo Bond を用いてボンディング処理を行った後に、テフロンモールドを用いて、KURARAY-Noritake Dental 社製フロアブルコンポジットレジン Clearfil Majesty LV (A3) を直径 3.6 mm、高さ 5.0 mm の円柱状となるように接着させた。調整の完了した試片を 24 時間室温水中に保管後、万能試験機 (Instron Model 4302, Instron, USA) を用いてクロスヘッドスピード 5.0mm/min にて剪断接着試験を行った。また、コントロールとして齶蝕や修復物のないヒト抜去大臼歯をエポキシ樹脂に包埋し、硬化後、耐水研磨紙を用いて象牙質平面を露出させ、Pentron 社製 E-Lize システムを用いて前処理を行った後に同様のボンディング処理を行い、コンポジットレジンの填塞硬化を行った試片を作製し、剪断接着力の計測を行った。試片は各群 10 本、合計 30 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定を行った。

【結果および考察】

Table 1

Substrate	Manufacture	Shear Bond Strength (MPa)
Dentin	---	14.72 $\pm$ 2.00
e-max	ivoclar vivadent	16.71 $\pm$ 2.03
e-max Zr CAD	ivoclar vivadent	8.96 $\pm$ 3.11

n = 10, Mean  $\pm$  SD  
The value joined by the line are showed no significantly difference by one-way ANOVA and Fisher's PLSD Test.

ジルコニアセラミックスに対する剪断接着力はその他の試片群に比較して優位に低い値を示した。e-max には約 70%の酸化ケイ素が含まれており、今回の剪断接着試験ではシランカップリング材の処理効果が有効であったと考えられる。その反面、ケイ素をほとんど含まないジルコニアに対する接着操作には、さらなる改良が必要であると示唆された。

## CAD/CAM 用ハイブリットレジンブロックと技工用ハイブリッドレジンの着色変化の比較

1) 昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科学部門, 2) 昭和大学歯学部歯科保存学講座歯科理工学部門

○山口麻衣<sup>1)</sup>, 亀井千瑛<sup>1)</sup>, 真鍋厚史<sup>1)</sup>, 宮崎隆<sup>2)</sup>

### Discoloration of hybrid resin composite exposed to staining solution in vitro

1) Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Department of Conservative Dentistry, Showa University, School of Dentistry 2) Division of Oral Biomaterials and Technology, Department of Conservative Dentistry, Showa University, School of Dentistry

○YAMAGUCHI Mai<sup>1)</sup>, KAMEI Chiaki<sup>1)</sup>, MANABE Atsufumi<sup>1)</sup>, MIYAZAKI Takashi<sup>2)</sup>

【目的】近年、白く形態の良い美しい歯は人々の QOL の向上とともに患者心理的にも良い影響を及ぼすことが一般的にも認知されてきている。さらに歯科材料の進歩と国民の健康意識の高まりにより、より生体親和性が高く優れた審美性を持つコンポジットレジンやセラミックスが、審美歯科領域の主流となっている。特にハイブリッド型硬質レジン、セラミックスと比較して、エナメル質に近似した硬さであるためセラミックスやジルコニアと比較して対合歯を過度に摩耗させる危険性が少ないという非常に優れた利点を持っている。しかしながら、ハイブリッド型硬質レジン、セラミックスは歯冠修復物完成時にはセラミックスに近い良好な審美性を期待できる反面、長期にわたる色調安定性は十分でなく向上が望まれている。これまでも光重合型硬質レジン、セラミックスを蒸留水中に 4 週間浸漬し、色調が著明に変化したとする報告<sup>1)</sup>や光重合レジンが、装着後、口腔内で経時的に変色するという報告<sup>2)</sup>がされている。一方、歯科業界へデジタル技術の参入によりコンピューターを利用した成形加工法である CAD/CAM の実用化に伴い歯冠修復物の作製は手作業中心の技工からいわゆるデジタル処理法と変位しつつある。しかしながら CAD/CAM 用セラミックスブロックはジルコニアと比較し曲げ強さと破壊靱性値が低いため、製作物の形態によってはブロックから歯冠修復物を削り出す作業中に破壊が起こる場合がある。特にセラミックインレーやセラミックスアンレーの削りだし中の破壊を予防するためには、歯冠修復物の設計をなるべく単純な形態とする必要性があり、歯質接着による依存する形成法が必要となっている。既存の CAD/CAM 用ハイブリットレジンブロックはセラミックスブロックと比較して切削加工が容易であり、加工時のチッピングの減少、切削加工時間の短縮、切削工具寿命の延長などコストパフォーマンスの向上に有効であるが、その長期的予後すなわち脱落度、チッピング、色調変化、摩耗度に関する報告は少ない。そこで今回我々は、CAD/CAM 用ハイブリットレジンブロックの色調安定性に注目し、CAD/CAM 用レジンブロックと技工用ハイブリッドレジンペーストの着色変化について比較検討を行うことを目的としている。

【材料と方法】CAD/CAM 用ハイブリットレジンブロック (Lava Ultimate A2 HT サイズ 12, 3M ESPE) と技工用ハイブリットレジンペースト (PEARLESTE ENAMEL E2, トクヤマデンタル) を使用した。CAD/CAM 用ハイブリットレジンブロックはブロックを厚さ約 0.6mm にスライスした。技工用ハイブリットレジンペーストの試片は厚さ約 0.6mm に調整した。技工用ハイブリットレジンについては、プラスチックストリップにて表面を覆い 10 秒間仮重合硬化させ本重合を 90 秒光照射し 100°C で焼成した後、表面を #4000 の耐水研磨紙で研磨し表面を滑沢にした。各試験片を水とコーヒーに 24 時間, 48 時間, 72 時間, 一週間, 一ヵ月浸漬後、黒色シート上で歯科用測色器 (Shade eye, 松風) にて L\*a\*b\* を計測し ΔE を算出後、比較検討した。さらにブロック試片とペーストから重合させた試片との SEM による表面性状の観察も行った。

【結果と考察】ΔE の値は、技工用ハイブリットレジンが CAD/CAM 用ハイブリットレジンブロックより経時的に比較したところいずれの時間でも高い値を示した。今後、表面粗さを計測し理工学的性質と着色変化の関連性、浸漬液について検討を加える予定である。参考文献 1) 堺 誠, 恩田上司, 岩堀正俊, 山内六男: 光重合型硬質レジン、セラミックスの重合および経時的な色調変化. 補綴誌, 36:279-285, 1992 2) 熱田 充: 前装用硬質レジン材料の選択基準は、歯界展望/歯科器材・薬剤選択のすべて一感染予防から補綴まで一. 別冊:208-215, 1993.

## 隣接面のプラークコントロールに関する研究

### 第4報 ホルダー型デンタルフロスによる人工歯隣接面のプラーク除去効率について

○植松 裕美<sup>1,2</sup>, 大塚 良子<sup>1</sup>, 中野 正寛<sup>1</sup>, 桃井 保子<sup>1</sup>  
鶴見大学歯学部 保存修復学講座<sup>1</sup> 日本歯科大学附属病院 歯科衛生士室<sup>2</sup>

#### Study on plaque control in interproximal area

#### Part 4 plaque removal efficiency of floss sticks in interproximal area of model teeth

○UEMATSU Hiromi<sup>1, 2</sup>, OTSUKA Ryoko<sup>1</sup>, NAKANO Masahiro<sup>1</sup>, MOMOI Yasuko<sup>1</sup>  
Department of Operative Dentistry, Tsurumi University school of Dental Medicine<sup>1</sup>  
Division of Dental Hygienists, The Nippon Dental University College at Tokyo<sup>2</sup>

#### 緒言

隣接面のプラークコントロールを行うことは、う蝕や歯周病の発症予防や進行抑制にきわめて重要である。しかし、平成22年国民健康・栄養調査によれば、デンタルフロスの使用は全体でわずかに12.5%であり、その使用が広く浸透していない。近年、様々な形状のホルダー型デンタルフロス(ホルダー型)が市販されているが、ホルダー型のプラーク除去効率(除去効率)を評価した研究は少ない。今回私たちは、市販の各種ホルダー型デンタルフロスの除去効率について、製品間比較と従来の指巻きデンタルフロス(指巻き)との比較検討を行った。

#### 材料と方法

隣接面のプラーク除去評価：人工プラーク(ニッシン)を塗布した実習用顎模型の着脱式メラミン歯(ニッシン)を、頬粘膜ボックス(ニッシン)を装着したファントムに設置した。次いでメラミン歯を右利きの同一術者が通法によりフロッシングした。あらかじめ、メラミン歯にはフロッシング領域を設定し、フロッシングの順はランダムに、各デンタルフロスにつき5歯ずつ行った。その後、デジタルカメラ(Nikon D100)を用い、メラミン歯の被験面を撮影し、画像分析ソフト Adobe photoshop CS5 を使用してプラーク除去率を算出した。データは二元配置法、一元配置分散分析、Tukey's HSD tset、T検定により有意水準5%でそれぞれ解析した。

1) 各種ホルダー型と指巻きの除去効率：下顎左側第一大臼歯の近心面を被験面とし、11社13種のホルダー型、Y字型グループ(Y字型)としてDENT. EX ULTRAFLOSS M\*, S (ライオン)、ガム・デンタルフロス&ピック Y字型(SUNSTAR)、Rucello flosser M, S (GC)、Floss&Toss (StaiNo)、F字型グループ(F字型)としてMini Flosser\* (TePe)、Mr. Floss (PROXIDENT)、Plackers WHITENING (Ranir)、クリニカ ダブルフロス (ライオン)、糸ようじ (小林製薬)、Seaフロス & ピック (マツモトキヨシ)、糸ピックス WIDE (クリエイト)を用いてフロッシングを行った。なお、比較対象に指巻き型グループ(指巻き型)としてWaxed floss\* (Johnson & Johnson)、Rucello floss unwaxed\* (GC)を用いた。

2) 部位による除去効率：下顎左右側第一大臼歯の近心面と遠心面、計4面を被験面とし、歯科専売の4種(上記、\*付きデンタルフロス)を用いてフロッシングを行った。

3) 使用回数と除去効率：下顎左側第一大臼歯の近心面を被験面とし、DENT. EX ULTRAFLOSS M、Mini Flosserを用いた。被験面のみフロッシングを行ったデンタルフロス(1歯面目)と被験面以外の全隣接面をフロッシングした後、被験面のフロッシングを行ったデンタルフロス(56歯面目)を比較した。

#### 結果と考察

各種ホルダー型と指巻きの除去効率は、Mr. Floss および Rucello flosser M に対して DENT. EX ULTRAFLOSS M, S、ガム・デンタルフロス&ピック Y字型、Mini Flosser、クリニカ ダブルフロス、糸ようじ、Waxed floss、Rucello floss unwaxed は有意に除去率が高かった。指巻き型とY字型とF字型の間に統計的有意差は認められなかった。部位による除去効率については、遠心面は近心面より有意に除去効率が悪かった。左側と右側には差がなかった。使用回数による除去効率は製品によって異なった。ホルダー型デンタルフロスの除去効率は製品によって差があり、指巻きデンタルフロスとホルダー型デンタルフロスの間にも製品によって差があった。

#### まとめ

- 1) 指巻き型とY字型とF字型の間に除去効率の差はなかった。
- 2) 遠心面と近心面では遠心面の除去効率が悪く、左側と右側の歯には差がなかった。
- 3) 使用回数による除去効率は製品によって異なった。

## 隣接面のプラークコントロールに関する研究 第5報 ワンタフトブラシによる人工歯隣接面のプラーク除去効率

鶴見大学歯学部 保存修復学講座<sup>1</sup> 日本歯科大学附属病院 歯科衛生士室<sup>2</sup>

○ 中野 正寛<sup>1</sup>, 植松 裕美<sup>1,2</sup>, 大塚 良子<sup>1</sup>, 桃井 保子<sup>1</sup>

### Study on plaque control in interproximal area

#### Part 5 Plaque removal efficiency of tufted tooth brushes in interproximal area of model teeth

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University school of Dental Medicine<sup>1</sup>

Division of Dental Hygienists, The Nippon Dental University College at Tokyo<sup>2</sup>

○NAKANO Masahiro<sup>1</sup>, UEMATSU Hiromi<sup>1,2</sup>, OTSUKA Ryoko<sup>1</sup>, MOMOI Yasuko<sup>1</sup>

#### 緒言

隣接面のプラークコントロールを行うことは、う蝕や歯周病の発症予防や進行抑制にきわめて重要である。平成23年歯科疾患実態調査によると、我が国において1日1回以上ブラッシングをおこなう人は90%以上である。我々は、第3報<sup>1)</sup>において歯ブラシによる除去効率を報告したが、隣接面不潔域の全てに歯ブラシの毛先を到達させることはできなかった。特に、歯の欠損が生じると、歯ブラシのみでのプラークコントロールはより困難になり、ワンタフトブラシなどを併用するプラークコントロールが重要となってくる。今回我々は、市販されている各種ワンタフトブラシ製品間でネックの角度や刷毛の長さ、硬さでプラーク除去効率に違いがあると仮説をたて、隣接面のブラッシング領域におけるプラーク除去効率を比較検討することとした。

#### 材料と方法

##### 隣接面のプラーク除去評価

下顎左側第一大臼歯の近心面に人工プラーク(ニッシン)を塗布した実習用顎模型の着脱式メラミン歯(ニッシン)を、頬粘膜ボックス(ニッシン)を装着したファントムに設置した状態で、同一術者(右利き)がワンタフトブラシを用い、頬側、舌側とも、歯頸部に沿って近遠心的に3ストロークのち、歯間部に固定して5回、円を描くようにブラッシングを実施した。ワンタフトブラシは5社20種、EX onetufut S, M, systema (ライオン)、ブラウト S, M, MS (オーラルケア)、P-Cure S, M, LS (オーラルケア)、BUTLER シングルタフト #01S, #01M, #01MH (サンスター)、SAM FRIEND S, M (サンデンタル)、プロスペックワンタフト (GC)、インタースペースブラシ S, M, MH, LS (モリムラ)、ポケットクリーナー(モリムラ)を用い、ブラッシングはランダムに各ブラシにつき3歯ずつ行った。あらかじめ、メラミン歯にはブラッシング領域を設定した。その後、デジタルカメラ(Nikon D100)を用い、メラミン歯の被験面を撮影し、画像分析ソフト Adobe photoshop CS5 を使用してプラーク除去率を算出した。データの解析は多元配置法と一元配置分散分析後 Tukey's HSD test により多重比較(有意水準5%)を行った。

#### 結果と考察

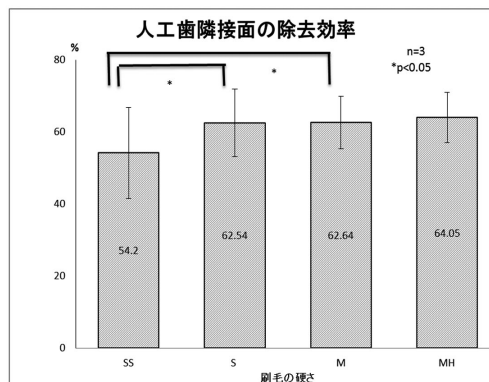
ブラッシング後のプラーク除去率は36.9~76.0%を示した。ワンタフトブラシの特徴ごとのグループでは、刷毛の硬さによって統計的有意差を得たものの、刷毛の長さ、ネックの角度のグループ間では除去効率に統計的有意差は認められなかった。

第3報で報告した歯ブラシのみの隣接面のプラーク除去率は40%前後であった。今回の実験結果では、36.9~76.0%を示したことから、第1報で報告したデンタルフロスによる除去効率には及ばないものの、歯ブラシよりは除去効率が良い結果を示した。

#### まとめ

各種ワンタフトブラシでは刷毛の硬さによってプラーク除去効率に違いがあった。刷毛の長さやネックの角度においては有意差は認められなかったが、刷毛の長さが10mm以下のもの、またネックの角度がわずかに後方に傾いているものが除去効率が良い傾向を示した。

1) 大塚良子, 植松裕美, 中野正寛, 桃井保子 隣接面のプラークコントロールに関する研究 第3報 歯ブラシによる人工歯隣接面のプラーク除去効率について 2013年 第62回日本口腔衛生学会学術大会 (2013年 第62回日本口腔衛生学会学術大会)



## ブラッシングによるコンポジットレジンの色調変化に関する研究

<sup>1</sup>日本歯科大学新潟短期大学 <sup>2</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部保存学第2講座  
<sup>3</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座 <sup>4</sup>デンタルプロ株式会社  
○菊地ひとみ<sup>1</sup> 鈴木雅也<sup>2</sup> 宮崎晶子<sup>1</sup> 佐藤治美<sup>1</sup> 土田智子<sup>1</sup> 筒井紀子<sup>1</sup>  
原田志保<sup>1</sup> 両角祐子<sup>3</sup> 今出昌一<sup>4</sup> 佐野 晃<sup>4</sup> 新海航一<sup>2</sup>

### Study of the color change of composite resins by brushing

<sup>1</sup>The Nippon Dental University College at Niigata

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

<sup>3</sup>Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

<sup>4</sup>DENTALPRO.CO.,Ltd.

○Hitomi Kikuchi<sup>1</sup>, Masaya Suzuki<sup>2</sup>, Akiko Miyazaki<sup>1</sup>, Harumi Sato<sup>1</sup>, Satoko Tsuchida<sup>1</sup>, Noriko Tsutsui<sup>1</sup>,  
Shiho Harada<sup>1</sup>, Yuko Morozumi<sup>3</sup>, Shoichi Imade<sup>4</sup>, Akira Sano<sup>4</sup> and Shinkai Koichi<sup>2</sup>

#### 【緒言】

近年、歯の審美性に対する関心や意識が高まってきている。審美性を決める大きな要素の一つに色調が挙げられる。現在、コンポジットレジンは歯冠修復材料として頻用されている。しかし、経時的に色調変化を起こす特性があり、その原因の一つに歯の表面に食品由来の色素が沈着することが考えられる。そこで本研究は、日常の食習慣として定着しているコーヒーに着目し、コーヒーへの浸漬がコンポジットレジンの色調に及ぼす影響について検討した。その後、ブラッシングにより浸漬後のコンポジットレジンの色調がどのように変化するかを検討するために、アルミナオキシド含有の刷毛を有する歯ブラシを用いてブラッシングし、ブラッシング前後の色調で比較した。

#### 【材料および方法】

##### 1 試料および使用歯ブラシ

試料には、光重合型コンポジットレジン（クリアフィル®マジェスティ®ES-2、A3、クラレノリタケデンタル株式会社）を用い、直径24mm、厚さ3mmのモールドに填入し重合した試料を60個作製した。試料表面は、シリコンカーバイドペーパーを使用して#500、#1200の順に研磨を行った。歯ブラシには、アルミナオキシド0.05%含有（P01）、アルミナオキシド1.0%含有（P02）、アルミナオキシド5.0%含有（P03）、プラチナコロイドセラミックス含有（PCC）、ポリブチレンテレフタレート（PBT）の刷毛を有する5種類（デンタルプロ株式会社）を使用した。

##### 2 浸漬実験

200mlのビーカーに試料を各30個ずつ入れ、コーヒー液（無糖ブラック®、UCC）、蒸留水を185ml注入して蓋をした。37℃恒温槽に保存し、1週間浸漬させた。

##### 3 刷掃試験機を用いたブラッシング

実験には、上顎中切歯部に試料を設置できる歯列模型（500H-1、株式会社ニッシン）を用いた。刷掃条件は、刷掃回数120/min、ブラシ圧400gf、刷掃時間4分とし、刷掃試験機に歯列模型を固定し、歯ブラシ刷毛面を試料に対して90°にあたるようにした。

##### 4 測色

測色には歯科用測色計（シェードアイNCC®、松風）を用いた。白色を背景とし、1試料につき5か所測色して平均値を出した。測色値（L\*a\*b\*）について、総計学的解析（t検定）を行うとともに、色差（ΔE）値を算出した。

#### 【結果および考察】

コーヒー液浸漬試料は、浸漬後ではL\*66.81、a\*1.41、b\*16.11であった。ブラッシング後では、P02のL\*67.64、a\*1.69、b\*15.55、P03のL\*66.69、a\*1.39、b\*15.63であり、L\*とa\*において統計的に高度に有意な色調変化が認められた。アルミナオキシド含有歯ブラシ以外では、PBTのL\*67.31、PCCのa\*1.48のみ有意な差が認められた。また蒸留水浸漬試料は、浸漬後ではL\*が69.93、a\*が1.60、b\*が15.35であった。ブラッシング後では、P03のL\*が69.55と有意な色調変化が認められた。浸漬後とブラッシング後の色差では、わずかながら違いが認められた。以上から、アルミナオキシドの粒子が1.0%以上の歯ブラシで刷掃することにより、コーヒー液浸漬後のコンポジットレジンの明度が明るくなった。よって、コーヒーによる色素沈着除去には1.0%以上のアルミナオキシド含有のセルフケア商品が有用であると考えられる。今後は、歯ブラシによるレジンの表面の研磨も踏まえ、表面性状の確認も検討したい。

## 歯の着色部位の分布とその表面形状について

花王株式会社ヒューマンヘルスケア研究センターパーソナルケア研究所

○村上義徳、千葉厚子、細矢学、矢納義高

The shape of tooth surface and the distribution of the stained sites of tooth

Global R&D - Personal Health care

○Murakami Yoshinori, Chiba Atsuko, Hosoya Manabu, Yano Yoshitaka

### 【研究目的】

歯の着色の原因の一つに、飲食や喫煙などによる外因性着色が挙げられる。歯の着色のしやすさは、エナメル質表面の粗さに関係すると考えられているが、その詳細について不明な点が多い。そこで本研究では、歯の着色部位の分布とその表面形状について検討を行なった。また、着色物を効果的に除去する為の歯磨剤とブラッシング方法の検討を行なった。

### 【方法】

着色部位の分布観察：歯の着色を気にしている成人男女61名を対象として、上下左右中切歯及び側切歯の計8本を目視で評価した。また、被験者の歯型のレプリカを取り、着色している部位の形状の大きさを測定した。

着色物の除去方法の検討：凸凹部の異なる着色モデルにおいて、清掃剤が異なる2種類の歯磨剤を用い、ブラッシング方法の着色除去における清掃剤とブラッシング方法を評価した。

### 【結果】

観察対象者の97%において、いずれかの歯に着色が見られた。表1に歯種と表面形状別に調べた着色率(%)を示す。歯面に存在するマイクロレベルの細かな傷や溝、豊隆部に着色がみられ、その中でも、凹形状である唇面溝の着色率が高かった。また全ての部位で、遠心よりも近心の着色率が高かった。

着色モデルにおいて、顆粒配合歯磨剤および、顆粒無配合歯磨剤の着色除去効果を比較した結果、顆粒配合歯磨剤の方が着色を除去する効果が高かった。また、ブラッシング方法としては、歯の凸凹構造と平行する方向にブラッシングすることで着色を除去する効果が高くなった。

### 【考察】

歯の表面は、マイクロレベルの凸部と凹部が複雑に存在しており、本検討から、そのような部分に着色が残りやすいという実態が解った。そのような部分は、歯ブラシをあてているように見えても歯ブラシの毛先が届きにくいいため、着色物が除去しきれていないと考える。また、清掃剤の粒径やブラッシング方法によって着色を除去する効果が異なったことから、歯磨剤やブラッシング方法の適切な選択によって、効率的に着色物を除去できる可能性が示唆された。

表1 表面形状別着色率(%)

表面形状		上顎 中切歯	下顎 中切歯	上顎 側切歯	下顎 側切歯
隆線	近心唇面隆線	9.3	20.5	19.3	14.9
	中央唇面隆線	11.0	12.3	12.8	10.8
	遠心唇面隆線	2.5	8.4	9.2	8.3
溝	近心唇面溝	23.6	21.4	29.3	20.7
	遠心唇面溝	15.2	15.6	14.7	10.0
その他	クラック	13.5	1.6	0.0	0.0
	歯頸部	10.1	23.8	6.4	19.9
	周波条	5.9	12.3	2.7	14.1
	小窩	2.6	5.0	0.9	4.2



## 漂白作用を備えた変色歯面塗布材の開発

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科顎顔面機能再建学講座歯科保存学分野  
○江本真規子、川上克子、徳田雅行、鳥居光男

### Development of surface coating material for discolored tooth equipped with bleaching effect

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

○EMOTO Makiko, KAWAKAMI Yoshiko, TOKUDA Masayuki and TORII Mitsuo

#### 【目的】

我々は、光重合レジンベースに漂白剤を添加したものを第1層として歯面に塗布し、その上を市販の変色歯用歯面コーティング材で被覆することにより歯面コーティング材に漂白作用を賦与することを発想した。以前に、レジンに炭酸ナトリウム (SPC) を添加することによりレジン材料に漂白作用を賦与することができることを報告した (第134回学術大会)。今回、SPC添加レジンの機械的性質および漂白効果について試験を行った。

#### 【材料】

1. 硬度測定: SPC を 1, 5, 10% (w/w) 添加したレジンディスク ( $\phi 10\text{mm} \times 2\text{mm}$ ) に対し、マイクロビッカース硬度試験機 (HM-102, 明石製作所) を用いてビッカース硬度を測定した。測定は、水に浸漬前あるいは浸漬後 1, 3, 5, 7, 14 日に行った。

2. 圧縮剪断試験: セルエッチングプライマーで歯面処理した牛歯エナメル質に、SPC5%添加レジンを  $\phi 5\text{mm}$ , 厚さ  $200\ \mu\text{m}$  で塗布し 20 秒間光照射にて硬化させた。直後あるいは水に浸漬 1, 3, 5, 7 日後に圧縮剪断試験を行った (EZTest, EZ-S, 島津製作所)。

#### 3. 漂白試験

・変色試料作製: 牛の前歯を歯頸部で切断し抜髄後、耐水研磨紙 (#600-#2000) で唇側にエナメル質平滑面を作製した。これを  $60^\circ\text{C}$  で7日間メイラード反応 ( $0.2\ \text{mol/L}$  glucose,  $0.2\%$  NaOH (w/v)) により変色させた。

・処置: 唇側エナメル質平滑面をプライマー (クリアフィルメガボンドプライマー, クラレ) で処理後SPC5%添加レジンを塗布し光硬化させた (平均厚さ  $200\ \mu\text{m}$ )。さらにレジン塗布面をベースレジンで被覆し、光硬化させた (平均厚さ  $200\ \mu\text{m}$ )。対照として、SPC非添加レジンを塗布し硬化させた (平均厚さ  $400\ \mu\text{m}$ )。  $37^\circ\text{C}$  で7日間試料を水中に浸漬した後、レジンを除去した。この処置を3回繰り返し行った。

・測色: 試料エナメル質の同一部位を処置前、処置後に測色し、 $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  を記録し色差  $\Delta E^*ab$  を求めた。

#### 【結果】

1. 水に浸漬したことにより硬度の低下を認め、浸漬前と7日後間で有意差を認めた。コントロール群よりSPC添加群の方が大きい値を示し、コントロール群と1%添加群で有意差を認めた。

2. 水に浸漬した群は浸漬していない群と比較して有意に小さい剪断強度を示した。浸漬後、時間経過による差は認めなかった。

3. テスト群はコントロール群と比較して処置前後の $L^*$ 値,  $a^*$ 値,  $b^*$ 値の変化が有意に大きく、色差  $\Delta E^*ab$  値も有意に大きかった。また、テスト群の色差は処置毎に増大した。

#### 【考察】

SPCを添加したレジンでは重合体の硬度を増しており、添加による重合率に対する影響はないと考えられる。レジンの吸水により生じたSPCの分解生成物により接着面積が減少した結果、接着強さが低下したと考えられる。また、レジンの吸水によりSPCの分解が進み過酸化水素を放出することで、漂白作用を示したと考えられる。

以上の結果より、漂白作用を備えた変色歯面塗布材開発の可能性が示唆された。

## 歯面コーティング材の象牙質接着強さ

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

### The dentin bond strength of tooth coating materials.

<sup>1</sup>Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Dentistry at Niigata  
<sup>2</sup>Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata  
<sup>3</sup>Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital  
○ARITA Shoko<sup>1</sup>, KATO Chikage<sup>2</sup>, TAKADA Mayo<sup>1</sup>, KAWASHIMA Satoki<sup>1</sup>,  
SUZUKI Masaya<sup>2</sup>, TAIRA Yoshihisa<sup>3</sup>, SHINKAI Koichi<sup>2</sup>

#### 【目的】

知覚過敏の軽減や高齢者の根面齲蝕の予防などを目的として歯面コーティング材が臨床応用されている。レジン系歯面コーティング材は、開口した象牙細管の封鎖とともに F、Ca、P などの各種イオンを徐放して被覆した根面歯質の耐酸性を向上させると報告されている。徐放されたイオンによる歯質強化には時間を要するため、コーティング材が歯質表面にしばらく留まる必要がある。

そこで、今回は4種類の市販歯面コーティング材の象牙質接着強さを測定し、比較検討した。

#### 【実験方法】

耐水研磨紙#120～#600を用い、ヒト抜去大白歯の頬側面と舌側面に平坦な象牙質面を形成した後、歯根を切除してから近遠心的に2分割して接着用歯片を作製した。固定時にリング底面と象牙質平坦面が平行になるように調整しながら、即時重合レジンを用いてリング状固定台に歯片を固定した。象牙質平坦面に透明アクリルチューブ(内径3mm、高さ3mm)を固定した後、メーカー指示に従って各歯面コーティング材を象牙質面に応用した。さらに各フロアブルレジンをチューブ内に約2mmの高さまで填入し、40秒間光照射を行った。接着試料は恒温恒湿器中に24時間保管後、アクリルチューブを除去した。

小型卓上試験機EZ Test 500N (Shimadzu, Japan)を用いてクロスヘッドスピード1.0mm/minで剪断接着強さ試験を行い(n=10)、得られた結果は一元配置分散分析を行った後、Tukey HSD検定による材料間の多重比較を行った(p<0.05)。

実体顕微鏡を用いて各試料の接着破壊様式を判定した後、代表例については走査型電子顕微鏡で微細構造を観察した(100～1,000倍)。

#### 【結果および考察】

歯面コーティング材	フロアブルレジン	剪断接着強さ (MPa)
PRG バリアコート (松風)	ビューティフィルフローF00 (松風)	6.5±2.3 <sup>ab</sup>
ハイブリットコートII (サンメディカル)	メタフィル F10 ミディアムフロー (サンメディカル)	10.1±4.4 <sup>ac</sup>
シールドフォースプラス (トクヤマデンタル)	プライムフィル (トクヤマデンタル)	10.2±3.7 <sup>c</sup>
クリンプロ™XT バーニッシュ (3M ESPE)	フィルテック™ シュープリーム ウルトラ フロー コンポジットレジン (3M ESPE)	5.6±2.0 <sup>bd</sup>
フジVII (GC)		1.9±1.0 <sup>d</sup>

一元配置分散分析を行った結果、材料間に有意差が認められた (p<0.001)。そこで、Tukey HSD 検定にて材料間の多重比較を行った結果、PRG バリアコートとハイブリットコートII、PRG バリアコートとクリンプロ™XT バーニッシュ、ハイブリットコートIIとシールドフォースプラス、ならびにクリンプロ™XT バーニッシュとフジVII群の間には象牙質接着強さに有意差がみられなかった (p>0.05) が、これら以外の材料間に有意差が認められた (p<0.05)。クリンプロ™XT バーニッシュを除くレジン系歯面コーティング材は、いずれもガラスイオノマーセメントより象牙質に対して有意に高い接着強さを示した。レジン系歯面コーティング材のなかでは、ハイブリットコートIIとシールドフォースプラスが高い象牙質接着強さを示した。

今後は、長期保管後の接着性ならびにコーティングされた象牙質面の耐酸性について検討していく予定である。

## フッ化炭素鎖を含む表面処理剤の歯科への応用 (XXI)

### - Polymicrobial biofilms の脱離性 -

<sup>1</sup>神奈川歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野, <sup>2</sup>感染制御学講座微生物学分野,  
<sup>3</sup>顎口腔機能修復科学講座有床補綴学分野, <sup>4</sup>東京理科大学工学部工業化学科  
○寺中文字<sup>1</sup>, 富山 潔<sup>1</sup>, 熊田秀文<sup>2</sup>, 三宅 香<sup>1</sup>, 長谷川晴彦<sup>1</sup>, 倉持江里香<sup>1</sup>, 大橋 桂<sup>1</sup>,  
清水統太<sup>3</sup>, 二瓶智太郎<sup>1</sup>, 向井義晴<sup>1</sup>, 浜田信城<sup>2</sup>, 好野則夫<sup>4</sup>, 寺中敏夫<sup>1</sup>

### Application of Surface Modifier Containing Fluorocarbon Chain in Dentistry (XXI)

#### - Polymicrobial biofilm detachment assay -

<sup>1</sup>Dept. of Oral Medicine, <sup>2</sup> Dept. of Infection Control, <sup>3</sup>Dept. of Oral and Maxillofacial Rehabilitation, Kanagawa Dental College,  
<sup>4</sup>Dept. of Industrial Chemistry, Tokyo University of Science  
○TERANAKA Ayako<sup>1</sup>, TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1</sup>, KUMADA Hidefumi<sup>2</sup>, MIYAKE Kaori<sup>1</sup>, HASEGAWA Haruhiko<sup>1</sup>,  
KURAMOCHI Erika<sup>1</sup>, OHASHI Katsura<sup>1</sup>, SHIMIZU Tota<sup>3</sup>, NIHEI Tomotaro<sup>4</sup>, MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>,  
HAMADA Nobushiro<sup>2</sup>, YOSHINO Norio<sup>4</sup> and TERANAKA Toshio<sup>1</sup>

【研究目的】近年, 我が国では高齢化が進み, 高齢者の中には十分な口腔清掃が難しく, 口腔内清掃不良による肺炎や誤嚥性肺炎の発症, また, 歯肉退縮による根面う蝕の発生も増加してきている. 我々は, 歯面ならびに材料表面の表面自由エネルギー (SFE) を低下させ, かつ耐酸性を付与することが可能な歯面改質剤を開発し, プラークの付着, 形成ならびに歯質脱灰を抑制して, 齲蝕および歯周疾患を予防することを目的として研究を進めてきた. 中でも高い撥水・撥油性, および耐酸性を有するシランカップリング剤 1H,1H,2H,2H-henicosafuorododecyl-triisocyanatosilane (10F2S-3I) で改質されたガラスならびにコンポジットレジン表面は, う蝕原性菌である *S.mutans* の付着抑制および脱離効果が高いことを報告した. 本研究の目的は, 10F2S-3I 改質ガラス面上の形成されるバイオフィルムの付着性と脱離性を, ポリマイクロバイアルバイオフィルムモデル (Exterkate *et. al.*, Caries Res., 2010) を用いて検討することである.

【材料および方法】 1 mol/L NaOH と 1 mol/L HCl に各一昼夜浸漬したガラス試片 (φ 12 mm, Menzel, Braunschweig, Germany) を 3 mmol/L に調製した 10F2S-3I 中に 1 時間浸漬して改質した. 実験群は, 未改質 (C) 群および改質 (M) 群に対し, それぞれ Cysteine Peptone Water (CPW) による洗浄 (W), および未洗浄 (N) の組み合わせによる CW, CN, MW および MN の 4 群とした (n = 6). バイオフィルムの形成には, 1 被験者から採取した刺激唾液を用いるポリマイクロバイアルバイオフィルムモデルを使用した. 培養液には buffered McBain 2005 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES 含有) を用い, 嫌気条件下 (CO<sub>2</sub>: 10.0%, H<sub>2</sub>: 10.0%, N<sub>2</sub>: 80.0%), 37.0°C, 24 時間培養した. 尚, 培養液は 10 時間後に交換した. 培養終了後, 各試料を CPW 中で静かに上下して洗浄し, PBS 中に各試料を移し, 超音波振動にて試料から細菌を剥離, 分散した. その後, CPW にて段階希釈し, 血液寒天培地を用いて嫌気条件下 37°C, 4 日間培養して CFU を算定した. 算定値の比較は有意水準 5% で One-way ANOVA および Tukey の検定を用い, ポリマイクロバイアルバイオフィルムの付着性と脱離性を比較検討した. また, 培養済み培地の pH を測定した (9618-10D, F-71, Horiba). さらに, 培養前と培養終了後の試料表面に蒸留水およびジヨードメタンをそれぞれ滴下し, 室温 25°C の環境下で自動接触角計 (DCA-VZ 型, 協和界面科学) を用いて試料に対する接触角を測定し, 得られた接触角値から表面自由エネルギー (SFE) を算出した.

【結果および考察】各培養時間における培地の pH は 4 群ともそれぞれ近似であり, 差は認められなかった. これは, 本研究には培養液に緩衝作用の強い PIPES を用いているためであり, その結果, 本研究のバイオフィルム形成には耐酸性細菌だけでなく, 中性領域で増殖する多くの細菌種が寄与しているものと思われる. 培養前と培養終了後の SFE 値には大きな変化が認められなかったことから, 培養終了後も改質効果は維持されていると考えられた. 各実験群の CFU は, CN と MN には差が認められなかったのに対し (p > 0.05), MW は CW に比較して有意に低かった (p < 0.05). これは培養終了後, CPW による弱い洗浄で M のバイオフィルムが容易に脱離したためと考えられ, 10F2S-3I による改質により, ガラス表面に付着したポリマイクロバイアルバイオフィルムは未処理群と比較して容易に脱離しやすい性状であることが示唆された.

【結論】10F2S-3I で改質したガラス面上に形成されたポリマイクロバイアルバイオフィルムは, 弱い洗浄により容易に脱離できることが示された.

## 漂白剤の応用期間が歯面の色調と表面構造におよぼす影響

東京歯科大学歯科保存学講座

○手銭親良 月野和隆 吉澤佑世 松永健嗣 末原正崇 森永一喜

### Effect of application period of bleaching agent on tooth color and surface structure

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○Chikara Tezen, Takashi Thukinowa, Yusei Yoshizawa, Kenji Mathunaga,  
Masataka Suehara and Kazuki Morinaga

#### 【目的】

近年、口腔の健康に対する意識の向上により、明るく健康的な白い歯を求める傾向が強くなりつつある。それに伴い歯のホワイトニングに関する研究や、製品の開発が多く行われるようになり、現在日本国内では、ホームホワイトニングやオフィスホワイトニングに用いる剤品がいくつか認可され、販売されている。このような歯の審美性の向上への意識が高まる中で、近年特に有髄歯のホームホワイトニングによる漂白法が注目され、新たな方法が考案されている。しかしながらこれらの漂白法は、漂白効果の経時的推移やエナメル質表面への影響に関して、未だ検討の余地があるといえる。本研究の目的は、ホームホワイトニングの施術期間の違いによる色彩の変化と、エナメル質表面に与える影響について検討することである。

#### 【材料および方法】

実験材料としてヒト抜去上顎中切歯 25 本を用いた。またホームホワイトニング剤としてティオンホーム(株式会社ジーシー)を用いた。漂白効果については、色測法を用いて評価した。漂白処理は指示書に従い行い、漂白期間を 28 日間とした。被験歯を漂白日数で、漂白 0 日、7 日、14 日、21 日、28 日にそれぞれ群分けし(n=5)、各漂白期間経過後、分光色差計 VSS300H(日本電色産業)にて測色を行った。測色は 1 個の資料について歯冠部中央の直径 2 mm の範囲を測色し、CIE1976L\*a\*b\*表色系の L\*, a\*, b\*を求めた。各値から処理前後の差を求め、 $\Delta E^*ab$ を算出し、色の变化および漂白効果を判定した。統計処理には、Bonferroni の多重比較検定を用いて統計学的に分析した。

また、エナメル質表面構造の観察のため、漂白後の各試料をエタノール上昇系列にて脱水後、スパッターコーター(BIORAD,SC500A)にて Au-Pd スパッターコーティングを行い、SEM(低真空分析電子顕微鏡 SU6600,日立ハイテク)にて観察した。

#### 【結果および考察】

色彩の変化で L\*値は、0 日の値と比較して有意に上昇した。しかしながら処理 14 日目以降は、L\*値の有意な上昇は認められなかった。a\*値は漂白処理開始後に減少傾向を示したものの、処理前と比較して有意差は認められなかった。b\*値は、7 日目から 28 日目の全ての期間において、0 日目の値と比較して有意に減少した。色差値( $\Delta E^*ab$ )は、7 日目が  $\Delta E^*ab5.60(SD \pm 1.46)$ 、14 日目が  $\Delta E^*ab6.35(SD \pm 1.40)$ 、21 日目が  $\Delta E^*ab6.85(SD \pm 1.95)$ 、28 日目が  $\Delta E^*ab6.90(SD \pm 1.83)$ であり処理期間の増加に伴い色差も増加した。しかしながら、増加量は、漂白 7 日目から 14 日目にかけて大きく増加し、それ以降の増加量は減少した。

エナメル質表面の SEM 画像観察において、弱拡大では、0 日目から 28 日目の全ての群で、ポリッシングによると考えられる傷は認められるがエナメル質表面の光沢度、平滑性に大きな変化が見られなかった。強拡大での観察では、21 日、28 日の群のエナメル質表面に微細な網目状の亀裂が観察された。以上のことより本薬剤は、エナメル質を構造的、形態的に変化させる原因とならないことが考えられる。またホワイトニング処置は 14 日間までの連続使用が、最も効果があり歯面への影響が少ないことが示唆された。

## ブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略

### — 表層下脱灰病巣体部における唾液由来有機質のラマン分析とブリーチングによる変化 —

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 保存修復学分野<sup>1</sup>, 生体機能学講座 生化学・分子生物学分野<sup>2</sup>  
○飯塚純子<sup>1</sup>, 向井義晴<sup>1</sup>, 谷口紀江<sup>2</sup>, 長谷川晴彦<sup>1</sup>, 倉持江里香<sup>1</sup>, 富山 潔<sup>1</sup>, 椎谷 亨<sup>1</sup>, 高垣裕子<sup>2</sup>, 寺中敏夫<sup>1</sup>

### Remineralization strategy for enamel subsurface lesions utilizing bleaching therapy

#### — Micro-Raman spectroscopic analysis of salivary components in the body of enamel subsurface lesions before and after bleaching —

Department of Oral Medicine, Division of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College<sup>1</sup>

Department of Functional Biology Division of Biochemistry and Molecular Biology, Kanagawa Dental College<sup>2</sup>

○IIZUKA Junko<sup>1</sup>, MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>, TANIGUCHI Motoe<sup>2</sup>, HASEGAWA Haruhiko<sup>1</sup>, KURAMACHI Erika<sup>1</sup>,  
TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1</sup>, SHIYA Toru<sup>1</sup>, TAKAGAKI Yuko<sup>2</sup>, TERANAKA Toshio<sup>1</sup>

【研究目的】エナメル質表層下脱灰病巣を形成している表層にはサブミクロンレベルの孔や裂溝が存在し、病巣体部に侵入したタンパク質等の有機物が再石灰化の進行を妨げている可能性が指摘されている。我々はエナメル質表層下脱灰病巣に侵入している有機物を分解し効果的な再石灰化を誘導するための手段の一つとしてオフィスブリーチング材の有効性を検討してきた。136回本学術大会においては、表層下脱灰病巣には選択的に唾液タンパク質が侵入・結合し、35%過酸化水素を主材とするオフィスブリーチング材を作用させると、それら有機質と無機質の結合が解離されることを報告した。そこで本研究では Transversal Microradiography (TMR) と顕微ラマン分光法を用いて、侵入した唾液由来の有機質と表層下脱灰病巣を構成する無機質との関係を解析するとともに、ブリーチングによる病巣内有機質の除去効果についても評価・検討した。

【材料および方法】ウシ下顎中切歯よりエナメル質片を直径5mmの円柱状に切り出し平坦な面を作製後、耐水研磨紙2,000番で研磨を行った。耐酸性バーニッシュにて試験面を2×3mmに規定後、脱灰緩衝液(0.1M lactic acid, 8% methylcellulose, pH 4.6)に37℃で10日間浸漬し表層下脱灰病巣を作製した。試料は以下に示す3群に分けた。1) control群: エナメル質表層下脱灰病巣。2) saliva群: control群と同様に病巣を作製した後、氷冷下にて採取した自己安静時唾液(0.02% NaN<sub>3</sub>添加)に37℃で5日間浸漬した。唾液は1日1回交換した。3) bleaching群: 同様に病巣を作製後、安静時唾液に浸漬した。その後、HiLite(松風)を3回を1setとし2set処理した。TMRによる分析: 基準病巣となるcontrol群のエナメル質片から厚さ150μmの薄片を切り出し、TMR撮影(PW3830, 管電圧25kV, 管電流15mA, 照射時間20分)を行い、分析用ソフト(Inspektor)を用いてミネラルプロファイルを作成した。ラマン分光光度計による分析: 各処理後、表面に付着した唾液やブリーチングにより変性したタンパク質等を取り除くため脱イオン水にて洗浄、自然乾燥し、顕微ラマン分光光度計(Nicolet Almega XR, Thermo Fisher scientific)を用いて測定した。測定条件は励起波長780nm, 露光時間10秒, 露光回数10回, 出力レベル10mW, アパーチャ100μmスリット, グレーディング360lines/mmとした。計測部位は表層部および、病巣体部(エナメル質表面より60μm付近, 80μm付近)とした。

【結果】ミネラルプロファイルの結果から表層65%および病巣体部30%のミネラル密度を有する典型的な表層下脱灰病巣が作製されたことが確認された。ラマン分光分析から計測部位により検出量は異なるものの、有機質由来と考えられるamide I, amide IIIおよびCH<sub>2</sub>wagのピークは、control群, bleaching群と比較し、saliva群で強く検出された。また3群全ての計測部位においてPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>のラマン散乱ピークであるν<sub>1</sub>, ν<sub>2</sub>, ν<sub>4</sub>のピークが検出された。control群とbleaching群では、これらはほぼ同じ強度であった。またCO<sub>3</sub><sup>2-</sup>のピークも同様に検出された。

【考察】特に表層において、有機質の指標であるamide I, amide IIIおよびCH<sub>2</sub>wagがcontrol群, bleaching群と比較しsaliva群で有意に高く検出されたことから、唾液に浸漬することで脱灰病巣表層中に唾液由来の有機質が侵入し、オフィスブリーチ処理を施すことにより、有機質とミネラルの結合が解離され、脱イオン水で容易に除去されることが示唆された。また病巣体部60μmでは3群間における有機質指標の検出値に有意差は認められなかったが、80μmではcontrol群, bleaching群と比較しsaliva群で有意に高く検出された。これはsaliva群の表層内および80μm付近のミネラル密度の高い部分には多くの唾液タンパク質が吸着している一方、60μm付近では吸着するミネラル密度が約30%と低いと、吸着量が相対的に少なかったことに由来すると考えられた。

【結論】唾液由来の有機質は表層下脱灰病巣深部まで取り込んでおり、その量は病巣を構成している無機質の量に依存する可能性が示唆された。また、オフィスブリーチ材を適用することにより深部にまで取り込まれた有機質とミネラルの結合が解離され、容易に溶出されることが示唆されたことから、本方法をブラウンスポット等の着色エナメル質表層下脱灰病巣面に適用した場合には、審美性の回復も兼ねた効果的な再石灰化誘導手段となるものと考えられた。

アパタイト光触媒を利用した歯の漂白  
—第2報 過炭酸ナトリウム/アパタイト光触媒系を利用した漂白—

<sup>1</sup>朝日大学歯学部歯冠修復学分野

<sup>2</sup>朝日大学歯学部歯科理工学分野

○野田陽子<sup>1</sup>, 亀水秀男<sup>2</sup>, 玄 太裕<sup>1</sup>, 藤井和夫<sup>1</sup>, 駒田裕子<sup>2</sup>, 小竹宏朋<sup>1</sup>, 堀田正人<sup>1</sup>

**Bleaching with apatite photocatalyst**

**- Part 2 Bleaching using Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·1.5H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/apatite photocatalyst system -**

<sup>1</sup> Department of Operative Dentistry, Asahi University School of Dentistry

<sup>2</sup> Department of Dental Material Science, Asahi University School of Dentistry

○NODA Yoko<sup>1</sup>, KAMEMIZU Hideo<sup>2</sup>, GEN Taiyu<sup>1</sup>, FUJII Kazuo<sup>1</sup>, KOMADA Yuko<sup>2</sup>

KOTAKE Hiroto<sup>1</sup>, HOTTA Masato<sup>1</sup>

**【研究目的】**

新規アパタイト光触媒は、二酸化チタン同様、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展開として、歯の漂白への適用について検討してきた。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、二酸化チタンの併用によって低濃度化が図られている。前回、新規アパタイト光触媒も二酸化チタン同様、漂白助剤として良好な漂白効果が得られた。今回は、漂白剤/漂白助剤として過炭酸ナトリウム/アパタイト光触媒系の新規漂白剤を試作し、着色モデルを用いて、漂白剤としての利用可能性について検討した。

**【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、前回同様 La-OAP (ランタンオキシアパタイト) を使用した。La-OAP は、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 1,400°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、着色モデルを作製した。すなわち、HAP 焼結体をメチレンブルー (MB) 水溶液に一定期間浸漬して着色させた。

**3. 新規漂白剤 (過炭酸ナトリウム/アパタイト光触媒) の試作と色素分解能実験:** 市販の過炭酸ナトリウム粉末 50wt% と合成アパタイト光触媒粉末 50wt% をメノウ乳鉢で混合し、新規漂白剤として調整した。過炭酸ナトリウム漂白剤の色素分解能を検討するため、粉末を MB 水溶液 (10ppm) へ投入し、各経過時間での濃度を測定した。

**4. 漂白方法と測色:** 調整した漂白剤粉末 (0.5g) と蒸留水 (0.25ml) とをラバーカップ内で混合して泥状で調整して使用した。着色した HAP 焼結体表面に泥状の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) 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\*, b\* 値で評価した。なお、漂白処理は 3 回行い、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。

**【結果と考察】**

漂白回数が多いほど、L\* 値、b\* 値とも増加し、漂白の程度が大きくなった。3 回処理後は、着色前の L\* 値と b\* 値に近づき、また、漂白前後の色差も大きくなった。

過炭酸ナトリウムは、MB 水溶液に入れると過酸化水素が発生し、時間の経過とともに色素分解されて透明になる。練和直後に塗布して照射したものに比べて 10 分放置した後に塗布した方が漂白効果が高かった。新規漂白剤は、蒸留水と練和ししばらく放置した後に、塗布し照射した方が良いと思われる。

過炭酸ナトリウムの量が多いほど、漂白効果の高い傾向がみられるが、低濃度の過炭酸ナトリウムでも、良好な漂白効果が得られた。焼結体は 30 分間処理により、はじめて表面硬さが低下する傾向が見られた。よって、処理回数が多くなっても、硬さ等への影響は少ないと思われる。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。

## アパタイト光触媒(La-OAP)/HAP 複合体の特性

<sup>1</sup>朝日大学歯学部歯科理工学分野

<sup>2</sup>朝日大学歯学部歯冠修復学分野

○駒田裕子<sup>1</sup>, 亀水秀男<sup>1</sup>, 野田陽子<sup>2</sup>, 堀田正人<sup>2</sup>

### Characteristics of HAP / apatite photocatalyst(La-OAP) complex

<sup>1</sup>Department of Dental Material Science, Asahi University School of Dentistry

<sup>2</sup>Department of Operative Dentistry, Asahi University School of Dentistry

○KOMADA Yuko<sup>1</sup>, KAMEMIZU Hideo<sup>1</sup>, NODA Yoko<sup>2</sup>, HOTTA Masato<sup>2</sup>

#### 【目的】

新規アパタイト光触媒 (La-OAP, ランタンオキシアパタイト) 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. 前回, アパタイト光触媒の色素分解実験 (ハロゲンランプ光源) を行った結果, 高い分解能を示すことがわかった. また, 発育阻止円による抗菌性試験においても良好な結果が示唆された. しかしながら, オキシアパタイト (OAP) は, ハイドロキシアパタイト (HAP) のような高い吸着性を示さず, あまり細菌や有害な有機化合物を吸着しないことがわかっている. そこで, 本研究では, 高い吸着性と光触媒能 (可視光応答型) を有したアパタイトセラミックスの開発を目的として, アパタイト光触媒と吸着性の高い HAP との複合体を作製し, その特性 (吸着性, 色素分解能, 抗菌性等) 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合成と調整:** 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. 合成後, メノウ乳鉢で粉砕し, 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. アパタイト光触媒/HAP 複合体の作製:** アパタイト光触媒粉末と HAP 粉末をそれぞれ 25/75, 50/50, 75/25 (重量比) の割合で混合し, 3 種類の混合物を調整した. その後, 粉体または圧粉体を各種温度 (300~1,400°C) で大気中, 1 時間加熱処理して複合体試料を作製した. なお, HAP は湿式法にて合成したものを使用した. **3. 複合体の色素吸着能と色素分解能:** 複合体の可視光に対する光触媒能を検討するために白色光 (LED 光源) による色素分解実験を行った. すなわち, 複合体試料 (0.25g) を 10ml メチレンブルー水溶液 (MB 水溶液, 濃度: 10ppm) の入ったガラス瓶に投入した後, LED 光源により光照射を行った. 各時間 (10~60 分間) 照射後, MB 水溶液の濃度を測定し, 照射時間との関係を調べた. なお, 濃度測定には, 紫外可視分光光度計 (UV-1800) を用いた. 各照射時間に対して 3 回測定し, 各々の濃度の平均値を求めた. 有意差検定は, 一元配置分散分析と多重比較検定により行った. **4. 複合体の拡散反射スペクトル:** 作製した複合体の拡散反射スペクトルを求めるために, 紫外可視近赤外分光光度計 (UV-3600) に積分球付属装置を装着して測定した. なお, 標準試料として硫酸バリウムを使用した. **5. 複合体の抗菌性:** 複合体粉末を浸透させたフィルター (5 mm φ) について細菌発育阻止円試験を行った. La-OAP にそれぞれ蒸留水を加えて 0.25g/ml のスラリー液を調整し, フィルターに 10 μl 滴下して浸透させてから寒天培地に裏返しに設置した. 設置後上下から光照射を 60 分間行い, 4~6 時間培養した. 培養後, 試料の周囲に生じる細菌発育阻止円の有無を観察した.

#### 【結果と考察】

複合体は, LED 光源の可視光 (400~750nm, ピーク波長 440nm) に十分応答していることがわかった. 複合体試料の光照射下での色素分解能に関して, 混合比や処理温度による影響が見られた. 重量比が 25/75 の場合, 処理温度が 500~1,100°C の複合体試料では, 50~60 分間光照射で MB 水溶液はほぼ脱色され, 透明になった. 1,200~1,400°C の複合体試料では, 500~1100°C の場合に比べて色素分解能が低かった. 吸着能に関して, 処理温度 500~1,400°C の複合体試料では, どの処理温度間でも有意差はみられず, MB 水溶液濃度は 24 時間後, 5.7~6.3ppm に低下した. また, 重量比が 50/50, 75/25 の場合, La-OAP の割合が多いことから, 色素分解能は高く, 短時間で脱色されたが, 吸着能は低かった. 適切な混合比と適切な処理温度で, 吸着能および色素分解能の高いアパタイト光触媒/HAP 複合体を作製することが可能であることがわかった.

## 光干渉断層装置を用いた歯質の観察

### ～ホワイトニング前後の歯質の変化について 第2報～

昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科学部門<sup>1</sup>, 株式会社吉田製作所<sup>2</sup>  
昭和大学歯学部歯科保存学講座歯科理工学部門<sup>3</sup>, 昭和大学歯学部歯科放射線学教室<sup>4</sup>  
○松尾涼子<sup>1</sup>, 小林幹宏<sup>1</sup>, 千田真弓<sup>2</sup>, 鹿熊秀雄<sup>2</sup>, 宮崎隆<sup>3</sup>, 岡野友宏<sup>4</sup>, 真鍋厚史<sup>1</sup>

### Teeth surface observation after bleaching by optical coherence tomography ~the second part~

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology,  
Showa University School of Dentistry<sup>1</sup>  
The Yoshida Dental MFG.CO., LTD<sup>2</sup>

Department of Conservative Dentistry, Division of Oral Biomaterials and Technology,  
Showa University School of Dentistry<sup>3</sup>

Department of Radiology, Showa University School of Dentistry<sup>4</sup>

○MATSUO Ryoko<sup>1</sup>, KOBAYASHI Mikihiro<sup>1</sup>, CHIDA Mayumi<sup>2</sup>, KAKUMA Hideo<sup>2</sup>,  
MIYAZAKI Takashi<sup>3</sup>, OKANO Tomohiro<sup>4</sup>, MANABE Atsufumi<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

近年、白くて美しい歯は人々の QOL の向上には欠かせない要因となり、審美歯科に対する関心の高まりとともにホワイトニングを希望する患者も増加してきている。ホワイトニング剤の歯質に対する影響はいまだ不明な点が多く、ホワイトニング剤によりエナメル質を保護するペリクルは除去され、エナメル質表面になんらかの影響を及ぼしていると考えられている。また、漂白処置後に問題となる知覚過敏の発生や色の後戻りなどの問題を回避するために、漂白処置後は適切な歯面処理材を用いて処置を行うことが重要であると考えられる。前回、光干渉断層装置 (Swept-Source Optical Coherence Tomography; 以下 SS-OCT) を用いて、オフィスホワイトニング処置前後の歯質の変化を経時的に観察し、オフィスホワイトニング処置後は処置前に比較して、エナメル質表層の光反射強度に増加傾向が示されたことから、本研究では SS-OCT で得られる光反射強度を数値化し、オフィスホワイトニング処置前後による歯質の変化を検討した。

#### 【材料および方法】

試料は歯冠部唇側面に齶蝕がなく修復充填物や亀裂のない変色ヒト抜去歯を合計 5 本用いた。なお、本研究で使用した抜去歯は本学歯学部医の倫理委員会の承認を得たものである (承認番号 2011-035 号)。抜去後すみやかに歯石等の沈着物をスケーラーにて除去し、歯面清掃後 ShadeEyeNCC (松風) にて測色し、吉田製作所製試作 SS-OCT を用いてホワイトニング処置前の試験面を唇側から撮影した。オフィスホワイトニング剤として 35% 過酸化水素を主成分とする Shofu Hi-lite (松風) を使用し、健全エナメル質唇面に設定した試験面を使用説明書に示されている術式に準じオフィスホワイトニング操作を行った。ホワイトニング操作は 1set を 3 回のホワイトニング操作とし、5set のホワイトニング処置、すなわち合計で 15 回のホワイトニング処置を行った。また、それぞれのホワイトニング処置の間に 20 分間水中保管の時間を設けた。ホワイトニング処置後、ShadeEyeNCC にて試料の測色と SS-OCT を用いてホワイトニング処置前と同部位の試料撮影を行った。

#### 【結果および考察】

SS-OCT を用いたホワイトニング処置前後のエナメル質の観察において、ホワイトニング処置後の光反射強度は強くなる傾向を示し、エナメル質内部では光透過性が亢進する傾向が得られた。また、ホワイトニング処置前後で得られる反射強度スペクトルには明らかな違いが得られた。すなわち、オフィスホワイトニング処置後、光反射強度はエナメル質表層から深部にかけて急激に現象する傾向を示した。エナメル質、象牙質ではオフィスホワイトニング剤に含まれる過酸化水素から発生したフリーラジカルによって  $\beta$ -カロテンなどの有機着色物質が分解され、光透過性が亢進したことで反射強度が減少し、SS-OCT 受光部で捉える光が弱くなったと考えられた。また、歯質内部で光浸透性が更新し、エナメル質表層では反射強度が強くなることによって、反射強度スペクトルに明らかな違いがでると示唆された。



## 骨粗鬆症モデル動物、卵巣摘出ラットにおける炭酸ガスレーザーの組織学的研究

奥羽大学 歯学部 歯科保存学講座 保存修復学分野

○和田 康弘、門倉 弘志、西村 翼、渡辺 崇、山崎 崇秀、菊井 徹哉、横瀬 敏志

Effects CO2 laser irradiation in ovariectomy Rat (osteoporosis model animal)

Division of Operative Dentistry Department of Conservative Dentistry Ohu university school of dentistry

○Yasuhiro Wada, Hiroshi Kadokura, Tubasa Nishimura, Takashi Waktanabe, Takahide Yamazaki, Tetsuya Kikui, Satoshi Yokose

【目的】 我々は既に炭酸ガスレーザーを Low-Level Laser Therapy (LLLT) 条件で照射することにより骨の形成が促進することを報告している。骨組織は、骨形成と骨吸収による骨リモデリングが、ほぼ等しく骨量の変化が認められないために恒常性が維持されている。しかし、骨粗鬆症では骨吸収の増加に対して骨形成量が変わらないことによる骨量減少や骨形成の低下に対して骨吸収を抑制するメカニズムに不均衡が生じた結果、総じて骨量の低下を認める病態である。高齢社会を迎え、骨の代謝疾患である骨粗鬆症患者における歯科治療が高頻度で行われている。しかし、骨粗鬆症では歯の支持となる歯槽骨の骨量の変化が起こるため、歯科の治療リスクも考慮しなければならない。そこで炭酸ガスレーザー照射を応用し歯槽骨の骨形成が可能であれば、骨粗鬆症患者の QOL 向上が期待できる。骨粗鬆症の原因としてはホルモン、サイトカインの役割が明らかにされてきている。近年、骨の過成長を伴う sclerosteosis と van Buchem 症候群の遺伝疾患から骨細胞による分泌蛋白 sclerostin の遺伝子 SOST の欠失変異が骨の形成に関与していることが解ってきた。また骨細胞はメカノセンサーとして機能し骨形成、骨吸収に関与しているのではとの報告がある。この sclerostin は Wnt のアンタゴニストとして働き  $\beta$ -catenin の核内移行を阻害して骨形成の働きを抑制することが知られている。このように近年、骨細胞の働きが注目されてきているが、骨粗鬆症と骨細胞の関係についての研究は少なく、その詳細は不明な点が多い、そこで今回我々は卵巣摘出術を行った骨粗鬆症モデル実験ラットに炭酸ガスレーザーを照射した場合の骨細胞と骨形成について研究を行った。

【方法】 実験動物には 12 週齢 雌 SD ラットを用いた。骨粗鬆症モデル動物の作製には、奥羽大学動物実験の規定に従い、卵巣摘出術を行った。術後 4 週間経過したラットを用い、骨量の低下を確認するために二重 X 線吸収測定法 (DEXA) を用いて大腿骨の骨塩量測定を行った。レーザー照射実験には以下の 2 群を用いた。卵巣摘出を行った OVX 群にレーザー照射を行った OVX+レーザー群、擬似手術を行った Sham 群にレーザー照射を行った Sham+レーザー群を用いた。それぞれの群を軟エックス線やヘマトキシリン染色にて新生骨量の組織学的解析、骨細胞についての骨形態計測を用いた解析を行った。また免疫染色を行い骨細胞における sclerostin 蛋白発現についても比較検討を行った。

【結果】 OVX 群では骨塩量の減少が確認された。一方 Sham 群では骨塩量の著明な変化は認められなかった。LLLT 条件のレーザー照射実験では OVX+レーザー群に顕著な骨造成は認められなかった。Sham+レーザー群では新生骨の増生が認められた。OVX+レーザー群と Sham+レーザー群の骨細胞の形態に差は認めなかった。sclerostin 蛋白発現にも両者における著明な差は認められなかった。

【考察】 卵巣摘出術を行いエストロゲン減少に伴う、骨粗鬆症モデルラットでは、レーザーによる著明な骨造成を今回は確認出来なかった。骨細胞の形態や分泌蛋白の sclerostin の発現において有意差は認めなかった。しかしながら、新生骨形成においては OVX+レーザー群では骨量の増加が抑制されている傾向が示唆された。

上顎臼歯抜歯によるラット海馬歯状回での一酸化窒素産生動態  
-*in vivo* brain microdialysis 法による検討-

日本大学松戸歯学部 小児歯科学講座  
○塚本亮一、荒井清司、前田隆秀

Upper molar extraction induced nitric oxide production in the rat hippocampal Dentate gyrus  
- *in vivo* brain microdialysis study -  
Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Department of Pediatric dentistry  
○Ryoichi TSUKAMOTO, Kiyoshi ARAI, Takahide MAEDA

**【諸言】**一酸化窒素 (Nitric oxide, NO) は一酸化窒素合成酵素 (Nitric oxide synthase, NOS) を介して産生されるフリーラジカルで、生体の恒常性に重要な役割を担っている。口腔内の様々な病態痛により、痛覚伝導路第一次中継核で、シナプス可塑性変化である長期増強 (LTP, Long term potential) 様の現象が認められるが、この LTP 発現にはグルタミン酸受容体の可塑性変化や NO が関与することが明らかにされている。情動記憶や学習に関与する海馬には NO 産生細胞の存在が確認されているが、NO の過剰な産生は細胞障害性に働く一方、短期記憶形成時に起こる LTP 現象に関与しているとの報告がある。本研究では、口腔内に関わる疼痛が嫌悪・不安等の負の感情として記憶されると考えられる海馬での NO 産生動態を明らかにすることを目的とし、上顎臼歯抜歯が海馬歯状回内における NO 産生反応を *in vivo* brain microdialysis 法によりリアルタイムで測定を行った。

**【材料と方法】**実験動物として、Sprague-Dawley 系雄性ラット8週齢 (21匹) を使用した。ラットを抱水クロラルール (300 mg / kg) による全身麻酔後、定位脳手術装置に固定し、頭部皮膚を切開剥離した。頭蓋骨の冠状縫合および矢状縫合の融合部 (bregma) を基準点とし、その部位から後方3.8 mm、右側方2.0 mm、脳表層より深さ2.5 mmの位置に歯科用エンジンにて穴をあけ、右側海馬歯状回 (HDG) にガイドカニューレ (長さ13 cm) を挿入後、歯科用セメント (Fuji II LC EM, GC社製) およびアンカービスにて固定した。術後1週間の回復期間を設定し、実験当日にHDGに埋入したガイドカニューレに透析プローブ (Eicom社製) を挿入し、マイクロシリンジポンプ (EP-60; Eicom社製) に接続された人工脳脊髄液 Hank's balanced solution (NaCl, 8.0 g/L; KCl, 0.4 g/L; glucose, 1.0 g/L; KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>, 6 mg/L; Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>, 47.0 mg/L, pH 6.9) を流速 2.0 μL / min にて灌流させ、10分毎に還流液中に回収されるNO最終代謝産物 (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>およびNO<sub>3</sub><sup>-</sup>) を連続的に測定した。灌流開始3時間でNO遊離量が安定したことを確認後、1) エーテルにて吸入麻酔を行い、上顎両側臼歯抜歯を行った群 (n=7)、2) エーテル麻酔のみを行った群 (n=7) および3) コントロール群 (n=7) の3群に分け実験を行った。NO代謝産物濃度の測定には、酸化窒素分析システム (ENO-10; Eicom社製) を使用した。脳還流液は、オートインジェクター (AS-10; Eicom社製) に集められ、10分毎に自動的に輸送され、紫外可視分光検出器 (NOD-10, 吸光度540 nm; Eicom社製) を使用した。分析結果は、クロマトグラムデータ処理装置 (SIC社製) にて記録した。

**【結果】**上顎臼歯抜歯を行った結果、前値を100%とした場合、術後30分でNO<sub>2</sub><sup>-</sup>およびNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は、16%および14%の増加を認めた (p<0.05)。一方、エーテル吸入麻酔のみ行った群およびコントロール群においては、前値と比較して有意差は認められなかった。

**【考察および結論】**上顎臼歯抜歯によりラット海馬歯状回内でNO代謝産物の上昇が明らかとなった。NOは神経伝達物質として働くことが知られており、三叉神経領域、特に歯髄-歯根膜からの情報の中枢への投射系が疼痛の感覚弁別性・情動感情性に関与すると考えられ、同時に海馬内において何らかの中枢性過敏反応が影響した可能性が示唆された。さらに、抜歯直後の急性ストレス反応により血中コルチコステロン濃度が上昇し、海馬内に存在する神経型NOS (nNOS)、誘導型 (iNOS) が賦活化した可能性や、血管内皮型NOS (eNOS) 由来NOの血管拡張作用による血流量増加等が関与していることも考えられ、今後の検討が必要である。

## 象牙質知覚過敏抑制材“ナノシール”に対する血液や唾液の影響

<sup>1</sup>鶴見大学歯学部 総合歯科 <sup>2</sup>医療法人財団 共生会 浅野歯科 <sup>3</sup>日本歯科薬品株式会社  
○矢作保澄<sup>1</sup> 山口博康<sup>1</sup> 浅野倉栄<sup>1,2</sup> 横田兼欣<sup>3</sup> 常川勝由<sup>3</sup>

### Clinical Evaluation of Desensitizing Effectiveness of “Nanoseal”

<sup>1</sup> Department of General Dentistry and Clinical Education

Tsurumi University School of Dental Medicine

<sup>2</sup>Asano Dental Clinic, <sup>3</sup>Nippon Shika Yakuhin Co.,

○Hozumi Yahagi<sup>1</sup>, Hiroyasu Yamaguchi<sup>1</sup>, Souei Asano<sup>1,2</sup>, Kazuyoshi Yokota<sup>3</sup>, Masayoshi Tsunekawa<sup>3</sup>

#### 【目的】

新しい象牙質知覚過敏 (Dentin Hypersensitivity : Hys) 抑制材 ナノシールはブラシで歯面を擦る操作が必要なく、塗布して水洗するだけで、歯面にナノ粒子の層を形成し、象牙細管を封鎖してHys抑制効果を発現する新材料である。今回、我々は血液及び唾液により汚染された象牙質面へのナノシール適用の可能性について確認すべく、象牙細管封鎖性試験を実施した。

#### 【材料および方法】

ウシ下顎中切歯の歯頸部直下から8mm根尖側の位置を硬組織切断機で水平に切断し、得られた円筒状試片を2分割した後、表面を600番の耐水研磨紙まで順次研磨し、超音波洗浄を30分間作用させて象牙細管開口を伴う象牙質試験片とした。唾液は成人1名のパラフィン咀嚼刺激唾液を採取後、3000rpmで10分間の遠心分離を行った上澄を0.2μmのフィルターを通じたものとした。血液モデル溶液は、アルブミン5%およびγグロブリン2.5% (いずれも生化学用試薬、和光純薬工業) になるように滅菌精製水に溶解させて調製した。これらの唾液および血液モデル溶液を試験片が完全に浸かるようにし、密封して37℃の環境下で24時間接触させてそれぞれ唾液処理群、血液処理群とし、無処理群として同時間精製水中に保管した。その後、試験片を取り出して表面の液を紙製ワイパーで押さえるようにして拭き取った後、試験片の半面にPVC製テープでマスキングし、ナノシール (日本歯科薬品株式会社製) をメーカー指定の方法で塗布を行った。このとき、無処理群とした試験片に対しては、短時間の塗布 (3秒, 5秒, 8秒) 及び濡れた歯面を想定し、塗布前のナノシール液を水で2倍, 4倍に希釈して塗布する条件を加えた。水洗を行った後、マスキングのテープを取り外して再度水洗、乾燥後、白金コーティング、フィールドエミッション走査型電子顕微鏡 (日本電子社製 JSM-7000F : FE-SEM) を用いて観察を行った。

#### 【結果】

各試験片のナノシールを塗布しない部分のFE-SEM観察から、超音波洗浄による象牙細管の開口を確認できた (図1)。ナノシールの塗布により、唾液処理群、血液処理群および無処理群いずれも象牙質表面はナノシールの生成物と思われる凝集物で完全に被覆され、同時に象牙細管も封鎖されている像が確認された (図2~4)。無処理群の短時間塗布、希釈した液を塗布した場合においても同様であった。

#### 【結論】

知覚過敏抑制材“ナノシール”は、血液、唾液が付着した歯面、濡れている歯面に対しても通常の使用方法で効果を発揮し、塗布時にナノシールの液が接触さえすれば、その効果が期待できることが示唆された。

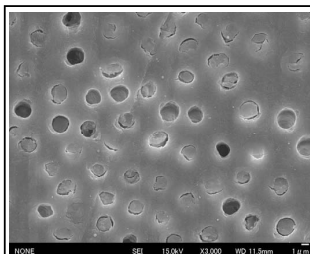


図1. 超音波処理後  
(ナノシール塗布前)

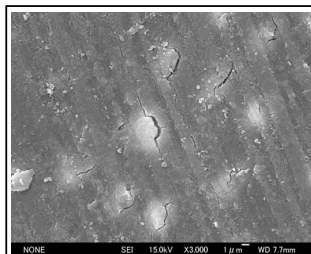


図2. 無処理群  
(ナノシール塗布後)

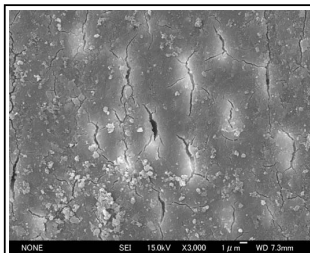


図3. 唾液処理群  
(ナノシール塗布後)

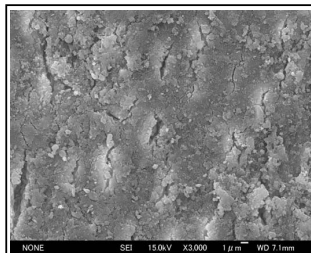


図4. 血液処理群  
(ナノシール塗布後)

## 材料除去後の S-PRG フィラー配合材料の根面象牙質脱灰抑制効果

<sup>1</sup>北海道大学大学院歯学研究科歯周歯内療法学教室

<sup>2</sup>北海道大学大学院歯学研究科歯科保存学教室

○宮田さほり<sup>1</sup>, 田中佐織<sup>1</sup>, 松田康裕<sup>2</sup>, 橋本直樹<sup>2</sup>, 佐野英彦<sup>2</sup>, 川浪雅光<sup>1</sup>

### Efficiency of the materials containing S-PRG in preventing demineralization of the root dentin after removing materials

<sup>1</sup>Department of Periodontology and Endodontology, <sup>2</sup> Department of Restorative Density, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

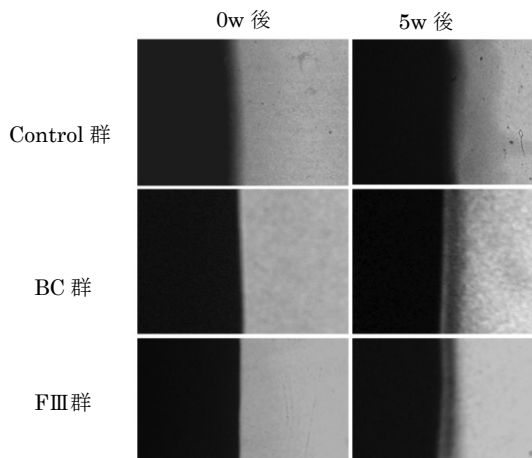
○MIYATA Saori<sup>1\*</sup>, TANAKA Saori<sup>1</sup>, MATSUDA Yasuhiro<sup>2</sup>, HASHIMOTO Naoki<sup>2</sup>, SANNO Hidehiko<sup>2</sup>, KAWANAMI Masamitsu<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯科医療の進歩により重度の歯周病罹患歯を保存する症例が増加している。歯周治療後にみられる露出歯根象牙質は、齲蝕に罹患しやすく、また罹患後は進行が早い。ため抜髄あるいは抜歯に至る症例も見られる。露出した歯根面に対する予防法の確立が望まれる。S-PRG フィラー配合歯面コーティング材バリアコートは F<sup>-</sup>をはじめ、Na<sup>+</sup>, BO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, Sr<sup>2+</sup>, SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, Al<sup>3+</sup>などのイオン徐放性を持ち、齲蝕予防効果が報告されている。しかし、臨床応用した際に、材料は様々な外力により脱離することが考えられる。このような場合に材料脱離後も塗布面や周囲の根面象牙質に脱灰抑制効果が認められれば、臨床応用の価値が高まると考えられる。本研究の目的はバリアコートを露出根面象牙質に 24 時間塗布後に除去した場合の脱灰抑制効果を検討し、歯周治療後の根面齲蝕予防への応用を目指すことである。

#### 【材料と方法】

実験には抜去後水中保管した健全ヒト小白歯 5 本を使用した。これらをルートプレーニングし、歯根象牙質を露出させ、マイクロカッティングマシンにて頬舌方向に 200 μm の厚さに薄切した。エナメル象牙境から上下 2mm 幅の歯面を試験面とし、その部位を除く面をスティッキーワックス (Kerr, USA) にて被覆した。材料は S-PRG フィラー配合材料である BC:バリアコート (松風) とグラスアイオノマーセメントの FIII:Fuji III (GC) を使用した。試験面に BC と FIII を塗布、24 時間後に塗布した材料を除去した。材料を塗布しないものを Control とし、Control、BC、FIII の 3 群に分け、これらの試料を pH サイクル装置に 6 週間入れ、人工齲蝕を発生させた。pH サイクルでは pH4.5 の脱灰溶液と pH7.0 の再石灰化溶液を 120 分間隔で 1 日 6 回のサイクルで還流させ、1 サイクルで初期の pH に戻るまでの時間 (回復時間) は平均 52.17 ± 3.82 分とした。1 週ごとに Transverse Microradiography (TMR) を Softex X-ray システム (CSM-2, Softex) を用いて撮影 (撮影条件 14kV, 4mA, 20 分) し、得られた写真は光学顕微鏡に接続した CCD カメラと汎用画像処理ソフトウェア imageJ を用いて取り込み、観察を行った。



#### 【結果と考察】

Control の試料では表層の溶解と脱灰の進行が認められたが、BC 群および FIII 群では表層の脱灰が抑制され、表層下脱灰が認められた。BC 群は pH サイクル 1 週間後より表層下脱灰が見られ、6 週間には再石灰化層は消失し、脱灰の進行が観察された。これらの結果より、S-PRG フィラー配合材料は材料除去後も一定期間脱灰抑制効果を示すと考えられる。それは、材料塗布期間中に根面構造が変化し、材料が脱離した後も根面に抗脱灰作用をもつイオンが残り、pH サイクルの中で効果を示した可能性が考えられる。今後、歯周治療後の露出した歯根象牙質に対して、S-PRG フィラー配合材料をリコールの際などに定期的に塗布することで齲蝕予防効果が期待される。

#### 【結論】

S-PRG フィラー配合材料は、歯根象牙質に 24 時間塗布した後に除去しても 5 週間にわたり脱灰抑制効果を示した。

## 唾液による総合的な口腔検査法の開発

### (第4報)多項目唾液検査システム(AL-55)の口腔状態の経時変化に対するモニタリングの基礎的検討

<sup>1</sup>ライオン株式会社、<sup>2</sup>アークレイ株式会社、<sup>3</sup>愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○内山千代子<sup>1</sup>、高木悠希<sup>1</sup>、斉藤浩一<sup>1</sup>、西永英司<sup>1</sup>、山本高司<sup>1</sup>、村越倫明<sup>1</sup>、福田功<sup>2</sup>、大久保章男<sup>2</sup>、  
高橋亨典<sup>3</sup>、須崎明<sup>3</sup>、有本憲弘<sup>3</sup>、松井治<sup>3</sup>、五味明良<sup>3</sup>、富士谷盛興<sup>3</sup>、千田彰<sup>3</sup>

#### Development of comprehensive salivary test system

#### 4<sup>th</sup> report: Monitoring efficiency of oral condition in salivary multi-test system (AL-55)

<sup>1</sup>Lion Corporation, <sup>2</sup>ARKRAY Inc., <sup>3</sup>Department of Operative Dentistry, School of Dentistry,  
Aichi Gakuin University

○UCHIYAMA Chiyoko<sup>1</sup>, TAKAGI Yuuki<sup>1</sup>, SAITO Koichi<sup>1</sup>, NISHINAGA Eiji<sup>1</sup>, YAMAMOTO Takashi<sup>1</sup>,  
MURAKOSHI Michiaki<sup>1</sup>, FUKUTA Isao<sup>2</sup>, OKUBO Akio<sup>2</sup>, TAKAHASHI Kyosuke<sup>3</sup>, SUZAKI Akira<sup>3</sup>,  
ARIMOTO Norihiro<sup>3</sup>, MATSUI Osamu<sup>3</sup>, GOMI Akira<sup>3</sup>, FUJITANI Morioki<sup>3</sup>, SENDA Akira<sup>3</sup>

【背景・目的】唾液による総合的な口腔検査法の確立を目指し、演者らは、う蝕、歯周病、口腔清潔度に関与する7項目の唾液因子（[う蝕] う蝕原性菌数、pH、酸緩衝能、[歯周病] 潜血、白血球、蛋白質、[口腔清潔度] アンモニア）を5分間で測定できる多項目唾液検査システム（AL-55）を開発した。これまでに、231名の被験者を対象とした横断的研究を行い、AL-55の検査結果と、う蝕、歯周病等の病態との相関を確認し、AL-55の検査機器としての基本性能を明らかにした（第136回日本歯科保存学会学術大会）。しかしながら、AL-55の歯科臨床への応用のためには、患者の口腔状態の変化を経時的にモニタリングできることが重要であるが、その検討については未だ行われていない。そこで本研究では、歯科医院の患者を対象とした6ヶ月間の縦断的研究で、AL-55および口腔内の検査結果の推移を比較し、AL-55の口腔状態の経時変化に対するモニタリングの有用性を検討した。

#### 【対象および方法】

【対象】愛知県内の開業歯科医院5施設に通院する患者のうち、同意を得られた成人57名（50.3±12.6歳、男性24名、女性33名）を被験者とした。

【試験方法】試験期間は6ヶ月間とし、初回および1、3、6ヶ月後に、AL-55による検査と口腔内の検査を実施した。なお、その間の歯科治療、口腔ケアは通常通り行った。

【AL-55による検査】蒸留水3mlによる洗口吐出液を試料とし、AL-55により測定した。

【口腔内の検査】う蝕についてはPlaque control record（以下PCR）、歯周病についてはProbing depth（以下PD）を評価した。口腔清潔度については、洗口吐出液中の総菌数をPolymerase Chain Reaction法にて測定した。

【解析】試験期間におけるAL-55および口腔内の検査結果の経時的推移を比較検討した。また、各回の検査における両者の相関について、Spearman相関解析にて評価した。

なお、本研究はシミック（株）倫理審査委員会の承認を受け遂行した（承認番号2012-01）。

#### 【結果と考察】

【う蝕】試験期間を通じてPCRは改善し、う蝕原性菌数も同様に低下傾向を示したが、pHおよび酸緩衝能の推移はPCRのそれと連動しなかった。また、各回の検査において、これら3項目はPCRと有意な相関は示さなかった。その原因として、被験者の年齢層が高く、歯周病を主訴とする被験者の比率が高かったこと、および、う蝕の病態の推移を評価するには、今回の6ヶ月間の試験は短期間であったことなどが考えられる。これら3項目はう蝕の発生および進行に深く関与していることが知られており、今後更なる検討が必要である。

【歯周病】試験期間を通じてPDは改善し、潜血、白血球、蛋白質も同様に低下傾向を示した。さらに、各回の検査においても、PDとこれら3項目との間に有意な相関を認めた。したがって、これら3つの検査項目は、経時的な歯周病の病態の推移を反映することが明らかとなった。

【口腔清潔度】試験期間を通じて、総菌数とアンモニアは同様の推移を示し、また、各回の検査においても、両者は有意な相関を示した。したがって、アンモニアは、経時的な総菌数の推移を反映することが明らかとなった。

【結論】歯科医院の患者を対象とした6ヶ月間の縦断的研究において、AL-55および口腔内の検査結果は同様の推移を示し、AL-55は口腔状態の経時変化に対するモニタリングに有用であることが明らかとなった。

## 卒前臨床実習における新規教育プログラム「臨床実地問題作成演習」に関する 学生アンケート調査

<sup>1)</sup> 東京歯科大学歯科保存学講座、<sup>2)</sup> 東京歯科大学歯周病学講座、<sup>3)</sup> 東京歯科大学千葉病院総合診療科  
○ 加藤広之<sup>1)</sup>、末原正崇<sup>1)</sup>、太田幹夫<sup>2)</sup>、勢島 典<sup>2)</sup>、亀山敦史<sup>3)</sup>、春山亜貴子<sup>3)</sup>、齋藤 淳<sup>2)</sup>

### Making examination questions on clinical conservative dentistry as new program in undergraduate clinical training: A survey study

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

<sup>3)</sup> Division of General Dentistry, Tokyo Dental College Chiba Hospital

○KATO Hiroshi<sup>1)</sup>, SUEHARA Masataka<sup>1)</sup>, OTA Mikio<sup>2)</sup>, SESHIMA Fumi<sup>2)</sup>, KAMEYAMA Atsushi<sup>3)</sup>,  
HARUYAMA Akiko<sup>3)</sup>, SAITO Atsushi<sup>2)</sup>

【研究目的】 歯科大学・歯学部における臨床実習は、卒前歯学教育の総まとめとして重要な教育段階であり、各大学で個性ある独自の学習プログラムへの取り組みが進められている。東京歯科大学の第5学年次臨床実習は、診療科別のローテート形式で行われている。千葉病院保存科における臨床実習は、約9週を前期・後期に分け、一般的な臨床ケースを主体としたカリキュラムとなっている。これまで診療参加型実習の推進を中心に教育プログラムの改変を進める中で、臨床実習中の問題発見解決型思考の育成が大きな課題となっていた。そこで今回我々は、平成23年度第5学年臨床実習の後期カリキュラムにおける新規教育プログラムとして、学生自らが臨床症例のなかでの問題発見解決の視点を理解することを目的とした「臨床実地問題作成演習」(以下、作成演習)を策定し、実施した。今回は「作成演習」の概要と教育プログラムとしての有効性と、今後への課題とを検討するために行った学生アンケート調査の結果について報告する。

【材料および方法】 平成23年度第5学年生の保存科臨床実習・後期(平成23年10月1日～平成24年3月12日)において、5つのローテート班(25～26名)毎に教育プログラムとして「作成演習」を1回実施した。実施時期は後期臨床実習第2週の100分を「作成演習」の実施枠とした。「作成演習」では、保存科臨床実習の各班学生を、さらに4つの小グループ(6～7名)に分け、各グループに1名の指導専任教員を配置した。国家試験既出問題の視覚資料(口腔内写真およびエックス線写真)を使用したPC用プレゼンテーション(PowerPoint: マイクロソフト)で作成したフォーマット上で、歯内療法学系、歯周病学系、保存修復学系の3分野の臨床実地問題作成の課題を原則2人1組で行わせた。問題作成後、各グループで学生同士による作成問題のプレゼンテーションならびにブラッシュアップを実施させた。その後、指導教員による視覚資料情報の解説、作成問題に対する問題点の指摘、追加ブラッシュアップの指導を行った。教員による解説、指導にあたっては、実際の臨床症例での問題抽出・問題解決と同様の思考過程は、臨床実地問題の構造や解答過程と関連のあることを、学生が認識できるよう留意した。「作成演習」終了後、課題と同一の視覚資料を用いたポストテストを実施し、さらにその解説を行った。各班の保存科臨床実習の最終週に保存科臨床実習と「作成演習」とに関する『臨床実習実施後アンケート』を学生に対して行った。アンケート用紙への氏名記入は任意であることを明記して実施した。

【結果】 「作成演習」は、各ローテート班で策定したタイムスケジュールに沿って実施できた。学生が作成した臨床実地問題は、同じ課題でも異なった視点から作られた問題が数多くみられた。学生間ブラッシュアップでの修正作業では、問題作成の視点と設定の合理性、視覚資料情報の解釈と問題文との整合性について討議がなされ、臨床症例での問題発見の思考過程に関する相互確認が行われた。回答協力により回収できたアンケートのうち、今回の結果集計の対象として用いたのは「作成演習」実施日の全出席者119名分であった。アンケートでは保存系教科の前期末で理解度で「修復系」を不得意とする学生が62%を占め、「歯内系」「歯周系」の約3倍であった。後期実習後には3分野共に80%以上の学生が理解度向上と答え、「作成演習」に対しても70%以上の学生が臨床実地問題や臨床症例に接する視点への効果があった、と回答した。また、「作成演習」の前・後期での実施希望が47%、保存系以外での演習実施希望が65%と、本プログラムへの指示を示す回答が多く得られた。

【結論】 東京歯科大学千葉病院保存科臨床実習において新たに行った教育プログラム「作成演習」は、臨床実習を効果的に行う上で効果的な教育手法になるものと考えられた。

## 兵庫医科大学病院における卒後臨床歯科研修の実際と今後の課題

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○本田 公亮, 藤原 正識, 長谷川 誠実

Status and Challenging Issues of Post-graduate Clinical Training for Dentists at Hyogo College of Medicine Hospital

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine

○Kosuke HONDA, Masanori FUJIWARA, Makoto HASEGAWA

### (緒言)

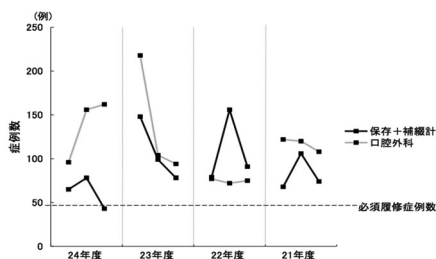
2006年4月から歯科医師免許取得後の臨床研修が義務化され、各歯科大学、歯学部、医科大学または医学部の歯科、歯科口腔外科、および病院歯科、一般歯科医療施設において独自の歯科研修カリキュラムが立案されることとなった。臨床研修期間は1年間と定められているが、一般の医師と同様に2年間の臨床研修を行っているところも少なくない。本学においても2年間としているが、最初の1年間のみを本学卒後研修センター管理とし、2年目以降は「臨床研修歯科医」ではなく、「歯科レジデント」として歯科口腔外科の所属となる。したがって2年目以降の学外関連病院への出向も視野にいれ、1年目の臨床歯科研修において歯科医師としての最低限の診療能力を身につけさせることを目的としている。ところで当科は医学部の歯科口腔外科ではあるが、口腔外科関連学会の専門医、指導医の他に、保存、補綴、小児歯科の学会専門医、指導医が教員として在職する。そのため歯学部、歯科大学に近似した研修プログラムを作成することを試みてきた。しかし一方、大学病院であることから高い専門が重視され、特に医学部の歯科という使命上、身体的、精神的にハイリスクな患者を対象に診療を行わなければならない、臨床歯科研修に適した患者が不足しているのが実情である。今回過去4年間の本学における臨床歯科研修の状況を省み、指導医側および研修医側からみた問題点を検証する。そして今後研修の質を高めるためにはどのような点を改善すれば良いのかについて検討した。

### (対象と方法)

- (1) 研修カリキュラムの性質が異なる3つの臨床研修施設、本学(兵庫医科大学)、朝日大学歯学部、島根大学医学部を対象にし、研修医および指導医数、研修医の選択方法、研修期間、研修プログラムの特徴について比較した。
- (2) 上記各研修施設における歯科保存、および補綴分野関連の研修カリキュラムの割合、研修方法、研修評価方法について調べた。
- (3) 本学の付属病院において歯科保存、および補綴分野での研修を行う上で指導方法、評価方法にどのような点が問題になるのかを分析し、改善の可能性があるのかについて検討した。

### (結果および考察)

本学において毎年3名の研修医が履修した全症例数の中で、保存・補綴関連の症例が占める平均割合は平成21年度で41.5%(82±20例)、22年度で59.3%(109±40例)、23年度で43.9%(108±36例)、24年度で30.7%(61±17例)であった。左下図に示すように平成22年度では口腔外科関連の履修症例数よりも保存・補綴関連の症例数の方が全体的に多くなっていたが、平成24年度では保存・補綴関連の症例数が顕著に少なくなった。またいずれの年度においても研修医間で履修症例数に明瞭な差がみられたが、これは治療の進捗状態や研修医の臨床能力の差などが影響したものと思われた。しかし各年度間でも履修症例数に差が生じた。この結果から前年度の研修状況を十分に省みた次年度の研修カリキュラムの実施ができていなかったことが考えられた。



## 研修歯科医が入力した修復分野に関するポートフォリオの質的分析

岡山大学病院 総合歯科

○桑山香織, 河野隆幸, 塩津範子, 武田宏明, 大塚恵理, 鳥井康弘

**Text-mining analysis of trainee dentists' portfolios associated with restorative dentistry**  
Comprehensive Dental Clinic, Okayama University Hospital

○KUWAYAMA Kaori, KONO Takayuki, SHIOTSU Noriko, TAKETA Hiroaki, OHTSUKA Eri, TORII Yasuhiro

### 【緒言】

岡山大学病院では、H18年度から電子ポートフォリオシステムを用いた歯科医師臨床研修を行っている。研修歯科医は、日々の診療に対する感想や疑問点を診療後に電子ポートフォリオに入力する。それに対して、指導歯科医はアドバイスを入力する。ポートフォリオを入力することによって、研修歯科医は診療を振り返りや気づきを得ることが出来る。このポートフォリオは、臨床経験の少ない研修歯科医が診療を行った際の感想や疑問、そして、振り返りや気づきが含まれるデータベースである。したがって、将来的には、このデータベースを活用して効率的な歯学臨床教育を行いたいと考えている。今回、H21年度からH24年度の3年間に研修歯科医が入力したポートフォリオの中から、修復分野に関連したポートフォリオを抽出し、質的分析を行うことによって、修復分野に関するキーワードの出現頻度や処置とキーワードの関係を分析した。

### 【対象および方法】

H21年からH24年度に岡山大学病院で臨床研修をうけた159人の研修歯科医が、総合歯科および専門診療科で臨床研修を行った際に電子ポートフォリオシステムに入力した21,599件のポートフォリオの中から、修復分野に関連した2,359件のデータを分析対象とした。

ポートフォリオの分析として、

1. 入力されている処置を、覆髄、グラスアイオノマー充填、レジン充填、メタルインレー、レジンインレー、メタルアンレー、その他の修復物（エステニア等）、漂白、その他の9項目に分類・集計
2. ポートフォリオの入力項目の一つである研修内容に対する感想を、WordMiner®（日本電子計算株式会社）を用いてテキスト・マイニングを行い、出現頻度が100以上のキーワードを抽出
3. 処置とキーワードの関連性を分析のために、WordMiner®を用いて対応分析とキーワードの有意性テストを行った。

### 【結果】

処置の割合は、レジン充填（47.5%）、メタルインレー（22.3%）、その他（21.1%）の順が多かった。抽出された出現頻度が100以上のキーワードは62項目で、患者（42.1%）、カリエス（28.3%）、レジン充填（26.6%）、除去（24.2%）、充填（20.3%）等の割合が多かった。処置内容とキーワードについて対応分析を行ったところ、第1成分は固有値が0.16、寄与率が70.14%、第2成分は固有値が0.03、寄与率が12.86%で、第1成分と第2成分を軸として布置図を作成したところ、処置と関連したキーワードが近接していた。また、処置別の頻度による有意性検定を行ったところ、「レジン充填」ではレジン充填、充填、レジン、研磨、カリエス処置が、「メタルインレー」ではメタルインレー、セット、調整、印象、インレーが上位に位置していた。また、処置の割合が低かった「漂白」は歯、患者、説明が、「覆髄」は歯髄、軟化象牙質、カリエスが上位に位置していた。

### 【考察】

対応分析や有意差テストを行うことによって、それぞれの処置と関連性の高いキーワードを抽出できた。それぞれの処置と関連性の高いキーワードを含むポートフォリオをデータベース化し、研修歯科医が診療を行う前に能動的に活用することによって、より効率的な臨床研修を行うことが出来るのではないかと考える。



## ダイヤモンドパウダー配合歯磨剤の歯牙に対する影響について

サンスター株式会社<sup>1</sup>、サンスタースイスエスエー<sup>2</sup>  
○橋 亜希<sup>1</sup>、長谷川 謹崇<sup>1</sup>、藤澤 考一<sup>2</sup>

### The effects of a toothpaste containing diamond powder on teeth

Sunstar Inc.<sup>1</sup>, Sunstar Suisse S.A.<sup>2</sup>  
○Aki Tachibana<sup>1</sup>, Noritaka Hasegawa<sup>1</sup>, Koichi Fujisawa<sup>2</sup>

#### 【緒言】

ダイヤモンドは、天然でもっとも固い物質であるといわれている。一般的には、その硬度ゆえ過度に歯面を傷つけるのではないかという懸念から市販の歯磨剤への適応は避けられている。一方近年、その高い硬度や特性を利用し、非常に平滑な表面が必要とされる HDD の記録面など、優れた鏡面を得ることができる研磨剤として注目されている。そこで、本研究では新規ダイヤモンドパウダーを配合した歯磨剤の有効性および歯牙有害性を評価することを目的とした。

#### 【材料および方法】

試験サンプルはダイヤモンドパウダー配合歯磨剤(以下ダイヤモンド歯磨剤)、ダイヤモンドパウダープラセボ歯磨剤(以下プラセボ歯磨剤)、市販されているホワイトニング歯磨剤 A、B (以下市販品 A、B) の 4 種類で行った。

Radioactive dentin abrasion(RDA)、Radioactive enamel abrasion(REA)は Hefferren の方法(1976)に基づいて Therametric Technologies, Inc. で試験を行った。Pellicle cleaning ratio(PCR)は Stookey らの方法(1982)に基づいて Precedent Research, Inc. で行った。

歯面平滑性試験は以下の手順で行った。

1. 牛歯のエナメル質歯片を 3mm×6mm に切り取り、歯科用重合レジンで包埋し、歯片の表面を研磨紙(P1200、P1500 の順)で鏡面研磨した。
2. エッチング処理として 0.2 M 塩酸に 180 秒、飽和炭酸ナトリウム水溶液に 60 秒、1%(v/v)フィチン酸に 60 秒の順で浸漬させた。各水溶液と水溶液の浸漬操作の間は、蒸留水に 30 秒以上浸漬させた。エッチング処理後の牛歯ブロックは縦半分にテープを貼付け、未処理部位とした。
3. ハブラシを設置した BSI 準拠の歯ブラシ磨耗試験機にセットし、各サンプルの 3 倍希釈液中、荷重 150 gf で 3,000 回往復させた。
4. 洗浄後、形状測定レーザーマイクロスコープで歯面の算術平均粗さ Ra を測定した。各部位の算術平均粗さ Ra より以下の式から Ra 変化率を求めた。

$$Ra \text{ 変化率}(\%) = ((\text{未処理部位 Ra} - \text{ブラッシング部位 Ra}) / \text{未処理部位 Ra}) \times 100$$

#### 【結果】

1. RDA：プラセボ歯磨剤及び市販品 B と比較して低い値を示し、市販品 A と同等程度であった。
2. REA：プラセボ歯磨剤及び市販品 B と比較すると高い値であったが、市販品 A と同等程度であった。
3. PCR：プラセボ歯磨剤及び市販品 B と比較して高い値を示し、市販品 A と同等程度であった。
4. 歯面平滑性：プラセボ歯磨剤、市販品 A 及び市販品 B と比較して、高い値であった。

#### 【考察】

RDA 及び REA 試験結果より、ダイヤモンド歯磨剤の歯牙有害性は市販品と同等レベルであり、ISO11609 に定められている規格上限値と比較して、十分に許容される値であることが示された。また、PCR 及び歯面平滑性試験結果より、ダイヤモンド歯磨剤はホワイトニング歯磨剤として十分な性能を有していることが示された。

### 日本人における下顎第二大臼歯の槌状根の髓床底形態について

1)日本大学松戸歯学部歯内療法学講座 2)日本大学松戸歯学部放射線学講座 3)日本大学口腔科学研究所  
○鈴木 誠<sup>1)</sup>, 中澤 弘貴<sup>1)</sup>, 喜多詰 規雄<sup>1)</sup>, 上田 幾大<sup>1)</sup>, 冨田 敬<sup>1)</sup>, 辻本 恭久<sup>1)3)</sup>, 金田 隆<sup>2)3)</sup>, 松島 潔<sup>1)3)</sup>

#### A morphological study of the floor of pulp chamber of the mandibular second molars with c-shaped root in a Japanese population

○Suzuki Makoto<sup>1)</sup>, Nakazawa Hiroataka<sup>1)</sup>, Kitadume Norio<sup>1)</sup>, Ueda Ikuo<sup>1)</sup>, Tomita Takashi<sup>1)</sup>,  
Tsujiimoto Yasuhisa<sup>1)2)</sup>, Kaneda Takashi<sup>2)3)</sup>, Matsushima Kiyoshi<sup>1)2)</sup>

1)Department of Endodontics Nihon University School of Dentistry at Matsudo

2)Department of Radiology Nihon University School of Dentistry at Matsudo

3)Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

【研究目的】槌状根は、下顎大白歯の近・遠心の2本の歯根が頰側では癒合するが、舌側では2根が縦の溝で隔てられて癒合せず、歯根概形が槌状を呈し、根管がC字状になりやすい。そのため、根管の容積が大きくなり、残髄や清掃不良が起こりやすくなり、出血や痛み等の要因になる。歯内療法の成否は術者がいかに根管形態を熟知しているかが第一の要因となる。根管形態が複雑になる槌状根では歯髓腔の形態を詳細に調査する必要があると考えられる。本研究では医療用CT画像を用いて、現代日本人の下顎第二大臼歯における槌状根の出現頻度および髓床底の形態を検討した。

#### 【材料および方法】

##### (対象)

2009年1月から2011年12月までの期間に本学付属病院を受診した20歳代から30歳代の患者のCT画像を試料とした(男性284名, 女性299名)。左右両側の下顎第二大臼歯が萌出している画像のうち2根に分岐した歯と槌状根を呈する歯を対象とした。根管充填や補綴物による障害陰影のあるもの、カリエスなどによって歯冠が崩壊している歯は除外した。2根が頰舌側ともに、完全に癒合して1根となった歯, 3根の歯は試料には含まれない。本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認を得て行った(承認番号:EC 11-037号)。

##### (CTの撮影条件)

64列 Multi-detector row CT装置は(Aquilion<sup>TM</sup>64, 東芝メディカルシステムズ株式会社)で、エックス線ビーム幅32mm, 検出器0.5mm幅で頭尾方向に64列配置されている。撮影条件は管電圧120kv, 管電流100mA, ヘリカルピッチ(以下HPと略す)は, 41, 1.0sec/rotationで骨表示画像を用いた。なお, HPはCT装置メーカーの推奨値を用いた。咬合平面に平行な面を軸位断面(水平断面)として撮像した。

##### (方法)

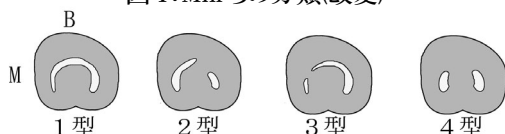
1. 槌状根の出現頻度: 根尖1mmまで歯根が癒合しているものを槌状根と定義し, 槌状根と2根に分岐している歯に分類した。統計分析は, JMPにより, カイ2乗検定を行った。
2. 髓床底の形態: セメント・エナメル境から歯根側3mmの水平断面画像を用い, Minら(2006)の分類(図1)に従って髓床底の形態を分類した。

【結果および考察】左右両側が槌状根となった頻度は男性23.3%, 女性42.8%, 左右側いずれか片側が槌状根となった頻度は男性14.4%, 女性11.4%であった。少なくとも左右側のいずれかに槌状根が出現する頻度は男性37.7%, 女性54.2%で, 槌状根は男性より女性に有意に多く認められた( $P < 0.01$ )。

左右両側が槌状根となった場合で, 髓床底の形態が左右側で同じ型となった頻度は男性17.3%, 女性30.1%であった。髓床底の形態が左右側で異なった型となった頻度は男性6.0%, 女性12.7%であった。槌状根の髓床底形態は左右側で異なる型となることがあるため, 型の頻度については左右側を一括して検討した。男女とも1型が最も多く見られた(男性64.7%, 女性65.2%), 次いで2型が多く(男性19.1%, 女性22.1%), 3型と4型は少なかった。

以上の結果から, 1)槌状根は男性より女性に多く認められたこと, 2)槌状根の髓床底形態は, 槌状になる歯根概形と同様に, C字状である1型が最も多く, 性差が認められないことが明らかとなった。

図1: Minらの分類(改変)



なお, この研究は本学, 解剖学1講座, 近藤信太郎 教授の協力を得て行った。

## The Ability of Optical Coherence Tomography to Image Bone Lesion: Comparison between Porcine Maxilla and Mandible

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

○ *J. Ding, S. Watanabe, T. Anjo, Y. Iino, C. Kokuzawa, A. Ebihara, H. Suda*

**Introduction:** The purpose of this study was to compare the ability of optical coherence tomography (OCT), a new noninvasive imaging method, in detection of bone lesion between the porcine maxilla and mandible.

**Materials and methods:** Twenty pieces of bone plate were obtained from ten porcine maxillae and mandibles on the same side. The internal bone surface was ground to be flat, and the external surface was maintained intact. A round bur was used to create a deep groove on the internal surface with the remaining bone thickness ranged roughly from 0 to 1.5mm. Then each groove was filled with fresh meat to simulate periapical granulation tissue. A swept-source OCT (SS-OCT) was used to scan and image the external bone surface along the groove. When the bottom of the groove just disappeared on the OCT images, the corresponding site on the external bone surface was marked, and the bone thickness under the groove was calculated as  $L_s$ . After that, all bone plates were scanned by micro-computed tomography (MCT), and the thickness between the marked site and the bottom of the groove was calculated as  $L_r$ . The values of  $L_s$  and  $L_r$  of maxilla and mandible were statistically analyzed by Student's *t*-test.

**Results:** The mean values of  $L_s$  and  $L_r$  were 1.19mm and 0.86mm in the maxilla, and 1.09mm and 0.78mm in the mandible, respectively. There was no significant difference between them ( $P > 0.05$ ).

**Conclusions:** Under the limitation of the present study, OCT may present equal ability in terms of imaging depth in the detection of apical lesion in the porcine maxilla and mandible.

## ヒト抜去歯を用いたマイクロ CT による歯髓腔の 3D 画像観察

### —内視鏡モードでの観察—

日本歯科大学新潟病院総合診療科

○安達 詠子, 江面 晃

Observation by micro-CT 3D image of pulp cavities using extracted human teeth

—Method using endoscopic mode—

Comprehensive Dental Care, Niigata Hospital, The Nippon Dental University

○ADACHI Eiko, EZURA Akira

#### 【緒言】

歯髓処置ならびに根管治療を行うためには、歯髓腔の解剖学的形態を熟知している必要がある。歯髓腔の形態を理解するためには、X線写真や墨汁注入透明標本などを用いて行ってきた。近年は、マイクロ CT 画像を利用することも多くなってきている。マイクロ CT 画像は、試料を被破壊的に詳細な構造を 3 次的に再現することができ、任意の部位でのスライスや内部の観察が可能である。そこで抜去歯をマイクロ CT で撮影し、医用画像処理ソフトウェアの内視鏡モードを応用して歯髓腔内の 3 次元構築を行って観察したので報告する。

#### 【試料および方法】

当科所蔵の抜去時期、年齢、性別不明の歯根完成ヒト抜去歯を、マイクロ CT 装置（島津製作所製 SMX100CT）で撮影の後、3 次元画像処理ソフトウェア（3D BON, RATOC 社）で立体構築および医用画像処理ソフトウェア（Real INTAGE, サイバネット社）の内視鏡モードで抜去歯の髓室と根管を観察した。

#### 【結果】

観察された画像の一部を下図に示す。

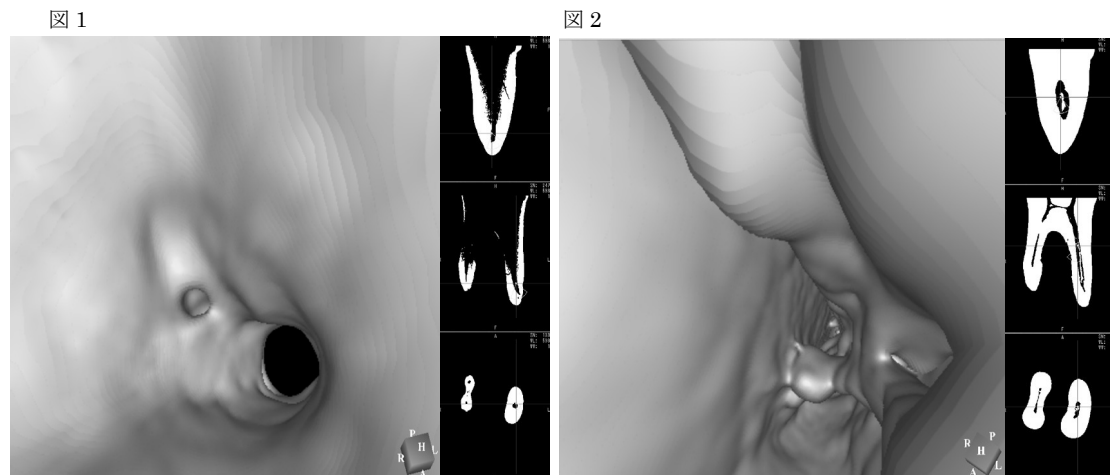


図 1；下顎右側第一大臼歯遠心根根尖 1/3 の歯冠側からの観察で、根尖孔部での湾曲と側枝を認める。

図 2；同歯遠心根中央から根尖部方向の観察で、歯髓の石灰変性と思わせる像を認める。

#### 【結論】

これまでの X 線写真観察、透明標本やマイクロ CT による立体像・透視像の観察と異なり、内視鏡モードでの観察では根管に入ったような画像が得ることができた。これらの画像により歯髓腔の解剖学的形態や病的变化の理解を容易にするばかりか、あたかもリーマーの先端に目があるような像を示すことで、リーマー挿入時の手指感覚と根管の状態を理解することも容易になる。

## 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3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 3  
Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo  
○NISHIDA Taro, KATSUUMI Ichiroh

### 【はじめに】

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装置を用いて連続的な断層撮影を行い、三次元像を構築後、下顎切歯の歯軸と根尖の根管形態の分析を行った。

### 【材料および方法】

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 $\mu$ A、スライス厚 52.9 $\mu$ m の条件にて、根尖から歯冠部まで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 $\mu$ m で根尖部約 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、歯軸方向と根尖の根管形態の分析に供した。

#### 1. 歯軸

三次元構築した全体像を基に唇舌断面像を作成した。右図の様に断面像の髄角と根尖開孔部を直線①でつなぎ、①を三等分した垂線②を引いた。②とそれぞれの根管唇側壁面、舌側壁面の交差する点をつなぎ、その線の中点 M1、M2 を作図した。根管が複数認められる歯は唇側根管の唇側壁面と舌側根管の舌側壁面を作図に用いた。根管中央の軸方向である M1 と M2 を通る直線③をひき、その延長線が歯冠表面と交差した位置の存在する部位を、唇側と切端、および舌側に分類した。

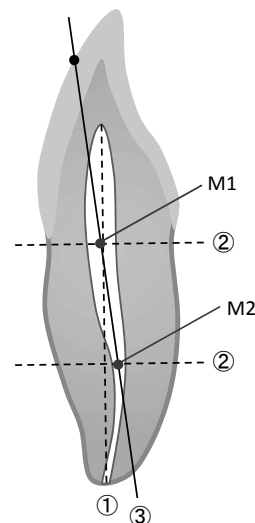


図 歯軸方向

#### 2. 根尖の根管形態

三次元構築した根尖部の画像から、根尖の根管形態を観察できる唇舌断面像、近遠心断面像を作成し、根尖の根管形態を単一狭窄型、テーパー型、パラレル型、フレア型、根尖分岐型、複数狭窄型に分類した。

### 【結果とまとめ】

#### 1. 歯軸

根管中央の軸方向が歯冠表面と交差した位置は、唇側が 46%、切端が 54% で舌側に交差した歯は認められなかった。

#### 2. 根尖の根管形態

根尖部における根管形態は唇舌断面像では単一狭窄型 24%、テーパー型 24%、パラレル型 26%、フレア型 6%、根尖分岐型 18%、複数狭窄型 2% であった。近遠心断面像では単一狭窄型が 10%、テーパー型が 14%、パラレル型 74%、フレア型 2% であった。また、唇舌断面像・近遠心断面像の両方で単一狭窄型を示した歯は 2%、テーパー型は 4%、パラレル型は 22% 存在した。

本研究により、髄室開拓部から根管へのファイルなどの挿入、器具操作の難しさ、アピカルシート設置の困難さがうかがわれた。今後さらに詳細な分析を行う予定である。

## 量子ドットを使ったD-グルコサミンの細胞内移行のナノイメージング解析 第3報：細胞膜を介した量子ドットの取込み状況

1 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野、2 (株) ケア・フォー バイオ事業部、3 産業技術総合研究所 生産計測技術研究センター

○井川一成1、謝 明芳2、大庭英樹2、3、林 善彦1

### Nano-imaging analysis for the intracellular transportation of D-glucosamine using quantum dot The third report: The uptake imaging through cell membrane

1Department of Cariology, Nagasaki University Graduate school of Biomedical Sciences, 2Biotechnology Division of Care Four Company Ltd., 3Measurement Solution Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

○Igawa Kazunari1, Xie Ming-Fang2, Ohba Hideki2,3, Hayashi Yoshihiko1

**はじめに** D-グルコサミン (MW:約 215) はキチンの完全加水分解物で、変形性関節炎に効果があるとされており、欧米を含め世界的に利用されている。当教室では、キチン/キトサンに関して12年以上にわたり基礎的、臨床的研究を行ってきた。初期炎症反応が弱く、鎮痛効果を含め種々な生理活性作用を有するD-グルコサミンに注目している。現在、D-グルコサミンの細胞内への移行および細胞内での動態を解明する研究に着手している。今回、量子ドットの細胞膜への取込まれる過程を検討したので報告する。

#### 材料と方法

1) D-グルコサミンと量子ドットの結合：0.2g D-グルコサミンを1mLのPBSに溶解し4℃で一晩静置する。カルボキシル化量子ドット {コロイド法によってセレン化カドミウム CdSe (3-4nm 程度) に ZnS を被覆} 50 μL を加えて攪拌後、さらに 0.1M EDC (1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩) 溶液 100 μL を加え静かに混ぜた (量子ドットのコア径は約 3nm だが、最終的修飾物の径は 15nm 程度となる)。

2) 培養細胞の調整：NOS-1 細胞をガラスボトムカルチャーディッシュ (World Precision Instruments, Ltd., FD35-100) に  $2 \times 10^5$  個程度 (短時間実験は  $6 \times 10^5$  個程度) となるように播種した (10%FBS 添加 α-MEM を使用)。細胞は、CO<sub>2</sub> (5%) 培養器内で通常どおり培養を行った。

3) D-グルコサミン結合量子ドットの取り込み：細胞への取り込みは、D-グルコサミン濃度が 0.2% となるよう調整した培地で継代直後から培養した。培地は 3 日目に交換した。別に短時間の実験群では、D-グルコサミン濃度が 0.05%、0.005% となるよう調整した。

4) 染色：CellMask™ Plasma Membrane Stain (C10045) (Molecular Probes, Inc., USA) で細胞膜を生体染色した。

5) 観察：細胞は、顕微鏡ステージ CO<sub>2</sub> (5%) 培養器 (okalab) 内で培養した。播種後 1, 2, 5, 7 日目に顕微鏡ステージ CO<sub>2</sub> (5%) 培養器内で培養しながら共焦点レーザー顕微鏡 (ライカ TCS SL) にて観察・撮影を行った。量子ドットと細胞膜の蛍光観察条件は、それぞれ励起波長：385nm, 554nm, 最大蛍光波長：525nm, 567nm を参考とした。

**結果** 量子ドットは極めて輝度の強い黄緑色の蛍光として明瞭に観察できた。細胞膜の蛍光色素染色で、量子ドットの細胞膜への付着、細胞内への移行を観察できた。量子ドットの細胞内での残留は、培養 7 日目に明瞭に減少していた。また、培養 5 日、7 日後においても核内への移行は観察できなかった。D-グルコサミンの最も生理活性を高める濃度は 0.005% であるが、量子ドットの観察は細胞内取り込みが少なく、0.05% が短時間の観察では適当であった。また、D-グルコサミンと結合させない量子ドット単体では細胞への取り込みは極めて少ない事も判明した。

**まとめ** 量子ドットに結合した D-グルコサミンの培養骨芽細胞への細胞膜を介した取込みをイメージングできた。量子ドット単体では細胞への取り込みはない事を再確認できた。量子ドットとの結合は、カルボキシル基とアミノ基との結合であり細胞内へ入っても解離しないと考えられるので、今回の観察は D-グルコサミンの細胞膜内への移行を示している事となる。レーザー顕微鏡による 3D 観察は、量子ドットの位置関係を観察するうえで極めて有益である。

本研究は科学研究費 (挑戦的萌芽研究課題番号 22659345) によって実施した。

**文献** 1. Matsunaga T, Yanagiguchi K, Yamada S, Ohara N, Ikeda T, Hayashi Y, Chitosan monomer promotes tissue regeneration on dental pulp wounds, Journal of Biomedical Materials Research A, 76(4): 711-720, 2006

2. Kaida K, Yamashita H, Toda K, Hayashi Y, Effects of glucosamine on the tooth pulpal nociceptive responses in the rat, Journal of Dental Sciences, in press, 2013

## ラット臼歯皮下移植後の歯髄腔内に出現する骨芽細胞様細胞

<sup>1</sup>松本歯科大学 口腔解剖学第2講座, <sup>2</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科  
口腔健康科学講座 歯学分野, <sup>3</sup>松本歯科大学 歯科保存学第2講座  
○細矢明宏<sup>1</sup>, 吉羽邦彦<sup>2</sup>, 吉羽永子<sup>2</sup>, 笠原悦男<sup>3</sup>, 中村浩彰<sup>1</sup>

### Osteoblast-like Cells in Dental Pulp after Subcutaneously Transplantation of Rat Molar

<sup>1</sup>Department of Oral Histology, Matsumoto Dental University; <sup>2</sup>Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences; <sup>3</sup>Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University  
○HOSOYA Akihiko<sup>1</sup>, YOSHIBA Kunihiko<sup>2</sup>, YOSHIBA Nagako<sup>2</sup>, KASAHARA Etsuo<sup>3</sup>, NAKAMURA Hiroaki<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯の移植や外傷後の歯髄腔内に骨様組織が形成されることが、多数の形態学的研究により明らかにされている。しかし、歯髄腔内に出現する骨芽細胞様細胞は、歯髄細胞が分化したものか、あるいは外部から遊走してきた間葉細胞に由来するかは不明である。そこで本研究では、歯髄の潜在的骨様組織形成能を明らかにする目的で、green fluorescent protein (GFP) 発現ラット臼歯を野生型ラット腹部皮下へ移植し、歯髄腔内における骨様組織形成過程を組織学的ならびに免疫組織化学的に観察した。

#### 【材料と方法】

4週齢 GFP 発現ラット上顎第一臼歯を抜歯し、ただちに野生型ラット腹部皮下へ他家移植した。5, 10, 20 日後に移植歯を周囲組織と共に取り出し固定、通法に従い矢状断パラフィン切片を作製し、H-E 染色ならびに免疫組織化学的手法にて、 $\alpha$ -平滑筋アクチン、Smad4, Runx2, Osterix, Osteopontin, GFP の局在を観察した。また、移植前の上顎第一臼歯を同様に処理したものを対照歯とした。

#### 【結果】

対照歯は歯根が形成途中であり、象牙前質表面に円柱状の象牙芽細胞が配列していた。移植 5 日後、歯髄上部に壊死が生じ典型的な象牙芽細胞は消失したが、根尖部の象牙質に接して多数の細胞を封入した新生硬組織が認められた。10 日後、壊死組織の回復とともに、歯冠部歯髄で島状に線維性骨様組織が形成された。20 日以降、根尖部および歯冠部歯髄に形成された硬組織は量を増し、組織学的に骨様を呈した。

幹細胞および前駆細胞マーカーの一つである  $\alpha$ -平滑筋アクチンは、対照歯の歯髄細胞では陰性であったが、移植 10 日後の歯冠部歯髄において多数の陽性細胞が観察された。骨芽細胞分化マーカーの Smad4, Runx2, Osterix, Osteopontin は、対照歯の根尖部象牙芽細胞ならびにその近傍の subodontoblastic layer の細胞で陽性反応が認められた。移植後、これらの反応は、根尖部および歯冠部歯髄の骨芽細胞様細胞で観察された。歯の細胞由来であることを示す GFP は、根尖部および歯冠部歯髄の骨芽細胞様細胞で陽性を示した。

#### 【考察】

皮下移植後の歯髄腔内に形成される骨様組織は、歯髄組織に由来することが明らかとなった。根尖部歯髄では、移植前から骨芽細胞分化マーカーを発現する細胞が認められ、これらの細胞が移植後早期に象牙質に接する骨様組織を形成したと考えられた。一方、歯冠部歯髄で島状に形成された骨様組織は、歯髄の未分化細胞が  $\alpha$ -平滑筋アクチン陽性の前駆細胞を経て骨芽細胞様細胞へと分化し、形成したものと考えられた。従って、歯髄には分化段階の異なる骨芽細胞前駆細胞が存在し、広範囲な歯髄傷害後に骨様組織を形成することが示唆された。

## CFA 誘導性歯髄炎により発症する舌痛覚過敏に対する Toll-like Receptor4の関与

<sup>1)</sup> 日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座

<sup>2)</sup> 日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門

○大原 絹代<sup>1),2)</sup>, 清水 康平<sup>1),2)</sup>, 勝呂 尚<sup>1),2)</sup>, 武市 収<sup>1),2)</sup>, 平 亜希子<sup>1)</sup>, 鶴町 保<sup>1),2)</sup>, 小木曾 文内<sup>1),2)</sup>

### Toll-like receptor 4 in the trigeminal sensory neurons is involved in tongue-referred pain following tooth pulp inflammation

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

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

○Kinuyo Ohara<sup>1) 2)</sup>, Kohei Shimizu<sup>1) 2)</sup>, Hisashi Suguro<sup>1) 2)</sup>, Osamu Takeichi<sup>1) 2)</sup>, Akiko Hira<sup>1)</sup>,

Tamotsu Tsurumachi<sup>1) 2)</sup> and Bunnai Ogiso<sup>1) 2)</sup>

【研究目的】歯髄に炎症が引き起こされると、歯痛だけでなく顔面や舌の痛みを発症する症例に遭遇することがあるが、これは適切な診断と治療を行う上で大きな問題となっている。このような疼痛異常の発症メカニズムとして、三叉神経節(TG)細胞に発現する Toll-like receptor (TLR) が考えられているが、その神経機構に関しては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、歯髄炎によって舌に引き起こされる異所性疼痛異常に対してTG細胞に発現する TLR4 の役割を解明することを目的とした。

【材料及び方法】SD系雄性ラット(9w)の左側下顎第一臼歯を露髄させ、歯髄に Complete Freund's adjuvant (CFA)を投与した後に仮封し、CFA 誘導性歯髄炎モデルを作製した。歯髄処置前から処置後 21 日目まで、浅麻酔下にて左側舌背部に熱あるいは機械刺激を与え、頭部引っ込み反射閾値を測定した。また舌外側部に逆行性トレーサーである FluoroGold (FG)を 0.5µl 投与した後に歯髄処置後 3 日目で同モデルラットを灌流固定し、舌を支配する TG 細胞における TLR4 発現について免疫組織学的手法を用いて解析した。

さらに、歯髄炎モデルラットの TG 内に TLR4 アンタゴニスト(LPS-RS)を 3 日間持続投与し、舌への熱刺激あるいは機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値の変化を解析した。その後、舌外側部に逆行性トレーサーである FG を 0.5µl 投与し、TLR4 の内因性リガンドである HSP70 を標識物質 (Alexa Fluor 594) にて可視化し、歯髄に投与して仮封を行った。処置後 3 日目に、TGを光学顕微鏡にて観察し、HSP70 陽性細胞の有無を確認した。また、TLR4 の外因性リガンドであるLPSを歯髄に投与し、頭部引っ込み反射閾値を測定した。

【結果】CFA 処置後、舌の熱および機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値の有意な低下が認められ、この閾値低下は9日間続いた。また、歯髄炎発症後、TG 細胞において TLR4 発現が多数観察されたが、これらの内64.7%は舌への FG 投与によってラベルされたFG 陽性細胞であった。CFA 投与後、LPS-RSの三叉神経節内への持続投与により、舌の熱および機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値の低下が抑制された。また、HSP70 あるいは LPS の歯髄投与により、歯髄への CFA 投与と同様、投与後3日目に頭部引っ込み反射閾値の有意な低下が認められた。さらに、Alexa Fluor 594 で標識された HSP70 を歯髄に投与することによって、多くの FG 非陽性細胞が Alexa Fluor 594 陽性を示した。

【考察及び結論】以上の結果から、炎症歯髄で合成された HSP による TG 細胞での TLR4 産生亢進が舌の痛覚過敏を誘発する可能性が示唆された。すなわち、歯髄炎が発症により炎症歯髄で合成された HSP がTGに運ばれ、さらに炎症歯髄を支配するTG細胞から HSP が放出される。一方、舌を支配するTG細胞においては TLR4 の合成が亢進し、炎症歯髄を支配するTG細胞から放出された HSP が舌を支配するTG細胞に発現した TLR4 と結合することによりTG細胞活動が上昇し、結果的に舌の痛覚過敏を発症させるという疼痛メカニズムによるものと考えられた。



## 掲示および発表なしのため削除

### メカニカルストレスによりマウス歯髄組織に惹起される HSP27 の発現

<sup>1)</sup>松本歯科大学 歯科保存学第2講座  
<sup>2)</sup>松本歯科大学病院 総合診療室  
○佐藤将洋<sup>1)</sup>, 藤井健男<sup>2)</sup>, 山本昭夫<sup>1)</sup>, 笠原悦男<sup>1)</sup>

#### HSP27 Expression Induced by Mechanical Stress in the Mouse Dental Pulp Tissue

<sup>1)</sup>Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University School of Dentistry

<sup>2)</sup>Comprehensive Examination Room, Matsumoto Dental University Hospital

○Masahiro Sato<sup>1)</sup>, Takeo Fujii<sup>2)</sup>, Akio Yamamoto<sup>1)</sup>, Etsuo Kasahara<sup>1)</sup>

**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<sup>1)</sup> に着目しその結果を報告した。また、Chromogranin A (ChgA) についても着目歯髄への発現を明らかにしたので<sup>2)</sup>、歯髄においても何らかの傷害修復を担っていると考察し、137回の本学会大会において報告した<sup>3)</sup>。今回は、種々のストレスの負荷により組織・細胞に誘導され、生体防御機構に中心的な役割を果たすと考えられているストレスタンパク質である HSP27 について検討した。

**方法:**実験には8週齢 ddY 雄性マウス計18匹を用い、臼歯間へのウェッジ挿入による3時間の歯間分離を行った。ウェッジ除去直後から3日後まで、当該部組織を経時的に上顎骨ごと採取し、病理組織学的検索に供した。歯髄組織における HSP27 の発現状況の観察には蛍光抗体法を使用した。採取した組織を、通法に従い厚さ4μmのパラフィン切片とし、脱パラフィン後に Proteinase K (Dako Japan, Tokyo) で5分間処理後、蛍光標識を施した抗体を反応させた。抗体には Anti-mouse HSP27 antibody (sc-65567, Santa Cruz Biotechnology, Inc, Dallas), 抗体の蛍光標識には Zenon® Alexa® Fluor labeling kit (Invitrogen, Carlsbad) を用い、1μgの抗体に対して5μlのZenon IgG labeling reagent を加えて抗体標識を行った。標識した抗体はPBSで希釈し、最終濃度1μg/mlで60分間室温にて組織と反応させた。反応終了後、PBSで洗浄し Fluorescent Mounting Medium® (Dako Japan, Tokyo) で封入して蛍光顕微鏡 (BX61, Olympus, Tokyo) を用いて観察した。

**結果:**ウェッジ未挿入の対照群の歯髄では一部の細胞に HSP27 が弱く発現していた。実験群では、ウェッジ除去直後群(0分群)の歯髄組織全域に HSP27 の強調された発現があった。発現している細胞は、歯髄固有細胞、血管内皮細胞が主体であった。ウェッジ除去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、象牙芽細胞層とその近傍の歯髄細胞にも発現増強が認められた。しかし、この部の発現はウェッジ除去9時間群ではかなり減弱し、ウェッジ除去3日群(3日群)では、歯髄組織全域において発現が弱まり、対照群と同レベルになっていた。

**考察:**実験群の観察結果から、今回の HSP27 の発現状況による検証においても先の Runx2 の時と同様に、ウェッジ挿入による一時的な発現増強があるが、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。ウェッジ挿入の負荷によって歯髄に発現増強した HSP27 は、一過性のものであり、歯間分離による傷害性刺激は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。なお、対照群の歯髄における弱い発現は先に報告した Runx2<sup>1)</sup> や ChgA<sup>2,3)</sup> の発現と同じく、咬合圧などの生理的メカニカルストレスに対して HSP27 が恒常的に発現しているものと推察された。

**結論:**短時間のウェッジ挿入は、歯髄組織において速やかなストレス関連因子の発現を引き起こすが、速やかに消退したことから、HSP27 の発現状況を指標とする限り歯髄組織に与える障害性は低いことが示唆された。

会員外共同研究者: 中野敬介, 岡藤範正, 川上敏行 (松本歯科大学大学院 硬組織疾患制御再建学講座)

#### 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, 2012.
- 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
- 3) 佐藤将洋, 他: 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. 第137回日本歯科保存学会, P-36, 2012.

### 実験的歯髄炎はラット視床におけるミクログリアを活性化させる

1 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 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 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<sup>1</sup>, 金子友厚<sup>2</sup>, 山中裕介<sup>2</sup>, 伊藤崇史<sup>2</sup>, 砂川光宏<sup>1</sup>, 興地隆史<sup>2</sup>, 須田英明<sup>1,3</sup>

#### Experimental Pulpitis Causes Activation of Microglia in the Rat Thalamus

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

2 Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences.

3 Global Center of Excellence (GCOE) Program: International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

○KAWAMURA Jun<sup>1</sup>, KANEKO Tomoatsu<sup>2</sup>, YAMANAKA Yusuke<sup>2</sup>, ITO Takafumi<sup>2</sup>, SUNAKAWA Mitsuhiro<sup>1</sup>, OKIJI Takashi<sup>2</sup> and SUDA Hideaki<sup>1,3</sup>

#### (目的)

我々は、ラット臼歯に歯髄炎を惹起させると、惹起側とは対側の視床組織において p38 MAPK の活性化が生じ、視床の免疫担当細胞であるグリア細胞の増加も起こることを報告した(Kaneko et al., J Endod, 2010, 2013)。そこで本研究においては、実験的歯髄炎惹起後の視床グリア細胞の活性化についてさらに詳細に検索することを目的とし、活性化ミクログリアのマーカーの一つである OX6(抗クラス II MHC)を用いた免疫組織化学的解析を行うとともに、グリア細胞活性化関連遺伝子である Itgam (CD11b)、Aif1( IBA-1)および抗原提示細胞関連遺伝子である CD86 の定量的 mRNA 発現解析を行った。

#### (方法)

5 週齢雄性 Wistar ラットの下顎左側第一臼歯(n=40)を以下の 3 群に分類した。実験群: 生活断髄後、lipopolysaccharide (LPS)を貼薬し、コンポジットレジンを用いて仮封 (n=16)。コントロール群: 生活断髄後、生理食塩液を貼薬し、コンポジットレジンを用いて仮封 (n=16)。正常群: 生活断髄を行わない正常歯髄 (n=8)。

実験群、コントロール群の動物に対し、pentobarbital sodium (30 mg/kg) による全身麻酔下で、1/2 ラウンドバーを用いて被験歯を咬合面から切削後、根管口付近で歯髄を切断したのち、5  $\mu$ l の LPS(1 mg/ml)もしくは生理食塩液をマイクロシリンジで滴下後、ワンステップボンディング材(クリアフィルトライエスボンド, Morita) およびフロアブルコンポジットレジン(UniFill Flow, GC)で窩洞を封鎖した。実験群、コントロール群については生活断髄 24 および 72 時間経過後(各 n=8)、また正常群については全身麻酔後直ちに対側視床を摘出し、免疫組織化学的解析(各 n=4)および mRNA 発現解析(各 n=4)に供した。免疫組織化学的解析については、4%パラホルムアルデヒド固定凍結切片を作製し、一次抗体として OX6 を用いて酵素抗体染色を行った後、各観察期間における OX6 陽性ミクログリアの密度を定量した。また、分子生物学的検解析については、全 RNA を抽出し、cDNA の合成を行った後、リアルタイム PCR を用いて Itgam、Aif1、および CD86 mRNA の発現を定量した。統計学的解析には Kruskal-Wallis 検定および Mann-Whitney の U 検定(Bonferroni 補正)を用いた。

#### (結果)

免疫組織学的検索: 72 時間後まで、実験群、コントロール群ともに、正常群に比べて OX6 陽性ミクログリアの密度は増加した(P<0.05)。各観察期間とも、実験群の方がコントロール群に比べて OX6 陽性ミクログリアの密度は有意に大きかった(P<0.05)。

分子生物学的検索: 72 時間後まで、Itgam、Aif1、および CD86 mRNA の発現量は、実験群、コントロール群ともに、正常群に比べて増加した(P<0.05)。各観察期間とも、実験群の方がコントロール群に比べて Itgam、Aif1、および CD86 mRNA の発現量は有意に大きかった(P<0.05)。

#### (考察)

LPS により歯髄炎を惹起した実験群では、コントロール群に比べてクラス II MHC 陽性ミクログリアの密度に加えて、グリア細胞活性化のマーカー遺伝子 Itgam、Aif1 および抗原提示細胞の活性化に関連する CD86 の発現量が、有意に高値を示した。従って、ラット臼歯に歯髄炎が生じると、痛みの神経シグナルの伝達により視床においてミクログリアが抗原提示細胞として活性化することが示唆された。

#### (結論)

ラット臼歯に対する歯髄炎誘発により、対側視床組織でクラス II MHC 陽性ミクログリアの増加および Itgam、Aif1 および CD86 mRNA の発現亢進が生じることが確認された。

## ラット切歯実験的歯髄炎が幹細胞関連遺伝子の発現に与える影響

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

○伊藤崇史、金子友厚、山中裕介、興地隆史

### Influence of experimental pulpitis on the expression of stem cell related markers in rat incisors

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences.

○ITO Takafumi, KANEKO Tomoatsu, YAMANAKA Yusuke, OKIJI Takashi

#### (目的)

我々は、ヒト歯髄組織と同様に、ラット臼歯歯髄組織中にも幹細胞関連遺伝子の発現が認められるとともに、幹細胞関連マーカーを発現する細胞が存在することを報告した(Kaneko et al., Cell Tissue Research, 2013)。しかし、これらの細胞の実態、あるいは歯髄における幹細胞関連遺伝子の発現動態の詳細は、依然として不明な点が多い。そこで本研究では、ラット切歯に歯髄炎を誘発した場合に幹細胞関連遺伝子発現にどのような変化が生じるのかを検索するために、幹細胞関連遺伝子 CD105 および CD146 mRNA の発現を RT-PCR を用いて解析した。

#### (方法)

5 週齢雄性 Wistar ラットの臼歯(n=12)を検索対象とした。実験群の動物に対し、8% chloral hydrate (350 mg/kg) による全身麻酔下で、1/2 ラウンドバーを用いて被験歯を水平方向に切削後、根管口付近で歯髄を切断したのち、1 µl の LPS (1 mg/ml) を貼薬後、水硬性セメント (キャビトン, GC) で窩洞を封鎖した (n=6)。コントロール群として生活断髄を行わない正常歯髄 (n=6) を用いた。実験群については生活断髄 24 および 72 時間経過後 (各 n=3)、また正常群については全身麻酔後直ちに切歯歯髄組織を摘出し、免疫組織化学的解析(コントロール群のみ n=3) および mRNA 発現解析(各 n=3) に供した。

免疫組織学的解析については、2% パラホルムアルデヒド固定凍結切片を作成し、CD146 および抗 microtubule-associated protein 1-B (MAP1-B) 抗体を一次抗体とした酵素抗体二重染色を行った後、正常切歯歯髄組織における CD146 および MAP1-B 二重陽性細胞の密度を定量した。

また、分子生物学的検解析については、全 RNA を抽出し、cDNA の合成を行った後、RT-PCR を用いて endoglin (CD105)、および CD146 mRNA の発現を確認した後、ImageJ ソフトウェアを用いて発現量を半定量的に解析した。統計学的解析には Mann-Whitney の U 検定 (Bonferroni 補正) を用いた。

#### (結果)

免疫組織学的検索において、正常切歯歯髄組織における CD146+/MAP1-B+ 陽性幹細胞様細胞の存在が確認された。これらは主として血管周囲に小型類円形の細胞として少数が確認された。

一方、分子生物学的検索においては、CD105 および CD146 mRNA の発現は、生活断髄・LPS 貼付 24 および 72 時間経過群とも、コントロール群よりも有意に低かった ( $P < 0.05$ )。

#### (考察)

CD146 は melanoma cell adhesion molecule と呼ばれ、血管内皮細胞のマーカーとして知られるのみならず、各種の間葉系幹細胞における発現が認められている。また CD105 も同様に各種の間葉系幹細胞における発現が認められており、新生血管内皮細胞に特異的なマーカーであることが知られている。炎症性刺激が結合組織の間葉系幹細胞の挙動に及ぼす影響はほとんど知られていないが、本研究では、LPS により歯髄炎を惹起した実験群では、正常歯髄に比べて CD105 および CD146 mRNA の発現量が有意に低値を示した。従って本実験条件では、炎症刺激により歯髄における幹細胞関連遺伝子の発現が低下し、組織修復に負の影響が及ぼされることが示唆された。

#### (結論)

LPS で誘発したラット切歯実験的歯髄炎においては、起炎 72 時間経過後までは、歯髄幹細胞に関連する CD105 および CD146 mRNA の発現抑制が生じることが確認された。

## α-TCP/Te-CP セメントの覆髄剤への応用

### 3) 病理組織学的評価

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野<sup>1)</sup> 歯科理工学分野<sup>2)</sup>  
○武田進平<sup>1)</sup>、河野 哲<sup>1)</sup>、神山智佳子<sup>1)</sup>、長谷川智哉<sup>1)</sup>、土井 豊<sup>2)</sup>、吉田隆一<sup>1)</sup>

## Application of α-TCP/Te-CP Cement to Pulp Capping Materials

### 3) Histopathological Evaluation

Department of Endodontics<sup>1)</sup>, Department of Dental Materials Science<sup>2)</sup>,  
Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

○TAKEDA Shinpei<sup>1)</sup>, KAWANO Satoshi<sup>1)</sup>, KAMIYAMA Chikako<sup>1)</sup>, HASEGAWA Tomoya<sup>1)</sup>, DOI Yutaka<sup>2)</sup>, YOSHIDA Takakazu<sup>1)</sup>

#### 【目的】

現在、直接覆髄剤として主に用いられている水酸化カルシウム製剤は早期に被蓋硬組織を形成し、その形成量も多い。しかし、pH12.5の強アルカリ性のため歯髄刺激が強く、場合によっては歯髄の広範囲な壊死を生じることや、形成される被蓋硬組織は裂隙を認め、多孔質であるため、被蓋硬組織の形成後にも辺縁漏洩による感染の危険性があることなどの問題点も指摘されている。一方、リン酸カルシウム化合物からなるα-TCP/Te-CPセメントは、生体親和性が高く、硬組織を誘導するため注目されている。我々は第135回および第136回日本歯科保存学会において、α-TCP/Te-CPセメントの各種練和液による理工学的諸性質への影響を検討した結果、α-TCP/Te-CPセメントは練和液を選択することで、覆髄剤として有用な性質が得られることを報告した。今回は、ラット臼歯露髄面に対し本セメントを応用し歯髄反応と被蓋硬組織の形成について病理組織学的に検討した。

#### 【材料および方法】

##### 1. 材料

α-TCP/Te-CPセメントは、炭酸カルシウムと第二リン酸カルシウム二水塩をモル比5:6で機械混合したものを、1500℃で5時間加熱し、得られた焼結塊を粉砕したものをセメント粉末とし、1Mリン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比2.0で練和したもの(以下; α-TCP/Te-CP I群)、2Mリン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比1.5で練和したもの(以下; α-TCP/Te-CP II群)、1Mクエン酸水溶液と粉液比2.5で練和したもの(以下; α-TCP/Te-CP III群)を実験に用いた。また、対照として水酸化カルシウム製剤であるダイカルを用いた。

##### 2. 方法

生後8週齢の雄性ラット(Wistar系)40匹に全身麻酔を施し、右側上顎第一臼歯にラバーダム防湿下で点状露髄させ、6%次亜塩素酸ナトリウムと3%過酸化水素水によるケミカルサージェリーを行い、生理食塩水で洗浄し、止血を確認した。その後、α-TCP/Te-CPセメントあるいは水酸化カルシウム製剤(ダイカル®)で直接覆髄を行った。7日および14日後に全身麻酔下にて灌流固定後、被験歯を上顎骨ごと取り出し、中性脱灰後にパラフィン包埋し、その後連続切片を作製し、H-E染色を行い、光学顕微鏡下で病理組織学的に検討した。

#### 【結果および考察】

いずれの材料でも覆髄7日後、14日後ともに歯髄に明らかな炎症細胞は認められなかった。α-TCP/Te-CP I群では覆髄7日後で一層の被蓋硬組織の形成を認めた。さらに、覆髄14日後には被蓋硬組織の厚さが増し、露髄部は封鎖されていた。しかし、形成された被蓋硬組織は一部に細胞を封入し、細管様構造は不明瞭であった。α-TCP/Te-CP II群では覆髄7日後では被蓋硬組織の形成は認めなかったが、覆髄14日後では明瞭な細管様構造を持つ厚い被蓋硬組織の形成を認め、露髄部は完全に封鎖されていた。α-TCP/Te-CP III群では覆髄7日後では被蓋硬組織の形成は認めなかったが、覆髄14日後では細管様構造を持つ厚い被蓋硬組織の形成を認め、露髄部は完全に封鎖されていた。ダイカル群では覆髄7日後で一層の被蓋硬組織の形成を認めた。さらに、覆髄14日後には被蓋硬組織の厚さが増し、露髄部は封鎖されていた。しかし、形成された被蓋硬組織は裂隙を認め、多孔質で不完全であった。α-TCP/Te-CP II群およびα-TCP/Te-CP III群のように、細管構造を有する均一な被蓋硬組織で露髄面を封鎖することにより、歯髄への感染の危険性を減少させると考えられることから、本セメントは覆髄剤として有用な材料であることが示唆された。

## 酸化マグネシウムを基材とした根管シーラーの接着に関する検討

東京歯科大学歯科保存学講座  
○湯浅 一洋 間 奈津子 山村 啓介 柏木 勢 森永 一喜

Evaluate of adhesion of magnesium oxide-based root canal sealer  
Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College  
○Kazuhiro Yuasa, Natsuko Aida, Keisuke Yamamura, Sei Kashiwagi and Kazuki Morinaga

### 【目的】

根管充填シーラーは、根管処置後の根尖部組織治癒に大きく関わり、根管充填において重要な働きを持つ。根管充填に用いるシーラーには具備すべきいくつかの重要な条件があり、根管の封鎖性、接着性や生体親和性が求められる。本研究は、新規開発した酸化マグネシウムを基材とした根管充填用シーラー (Magnesium oxide-based root canal sealer) を用いて、側方加圧充填および垂直加圧充填後の根管充填材と根管壁との接着強さについて検討することである。

### 【材料および方法】

試料は抜去ヒト上顎中切歯 (歯周病罹患により抜去された歯牙) を使用した。根管は根尖 40 号、06 テーパーに形成し、その後 3% 次亜塩素酸ナトリウム溶液と 18% EDTA 溶液にて根管洗浄を行った。根管充填用シーラーには MGO シーラー® (ネオ製薬株式会社)、AHplus® (デンツプライ三金株式会社) を使用した。根管充填にはガッタパーチャポイントを用いた側方加圧充填とオブチュラ II® (Texceed) を使用した垂直加圧充填を行った。

実験群として側方加圧充填は、LM 群 (ガッタパーチャポイント+MGO シーラー)、LA 群 (ガッタパーチャポイント+AHplus)、LC 群 (ガッタパーチャポイントのみ) の 3 群とした。垂直加圧充填は、VM 群 (ガッタパーチャポイント+MGO シーラー)、VA 群 (ガッタパーチャポイント+AHplus)、VC 群 (ガッタパーチャポイントのみ) の 3 群とした (各群 n=5)。充填後一週間湿度 100% 環境下にて保存した。観察部位は、根尖から 5mm の位置で厚さ 1mm となるよう水平にスライスし試料を作製した。スライスを金属板に設置しオートグラフ (AG-10kNIS; 島津製作所) にプランジャーを接続、クロスヘッドスピードを 0.5mm/min に設定し push-out strength bond test を行い、根管壁と根管充填材との接着強さを評価した。得られた圧力からガッタパーチャポイントを押し出すのに必要とした圧力 (MPa) を算出した。

### 【結果および考察】

LM 群は 2.55MPa と最も高い圧力を示し、他の群より高い値を示した。LM 群はシーラーを使用していない LC 群、VC 群に対し有意に高い値を示した。さらに最大検出力のグラフより LM 群ではガッタパーチャポイントの脱落より先にプランジャー先端部が試験片を突き抜けた。このことから、側方加圧充填時には高い接着力が得られることが考えられる。また垂直加圧充填時と側方加圧充填時を比較すると、垂直加圧充填時で接着力が小さい傾向が認められた。さらに LM 群は VM 群に対し有意に高い接着力を認めたことから、MGO シーラーは垂直加圧充填時に用いるオブチュラ II のような高温を与える充填法に適さないことが考えられる。

### 【結論】

MGO シーラーを用いた根管充填材は、根管壁と強く接着することが確認された。また、垂直加圧充填に比較し、側方加圧充填での接着力が高いことが示唆された。

## 新規イオン徐放性 S-PRG フィラー含有根管シーラーの生体適合性の検討

<sup>1</sup>北海道大学大学院歯学研究科歯周歯内療法学教室

<sup>2</sup>株式会社 松風

○田中佐織<sup>1</sup>, 宮治裕史<sup>1</sup>, 西田絵利香<sup>1</sup>, 金山和泉<sup>1</sup>,  
加藤昭人<sup>1</sup>, 中塚稔之<sup>2</sup>, 川浪雅光<sup>1</sup>

### Biocompatibility of new ion-releasing root canal sealer containing S-PRG filler

<sup>1</sup>Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

<sup>2</sup>SHOFU INC.

○TANAKA Saori<sup>1\*</sup>, MIYAJI Hirofumi<sup>1</sup>, NISHIDA Erika<sup>1</sup>, KANAYAMA Izumi<sup>1</sup>,  
KATO Akihito<sup>1</sup>, NAKATSUKA Toshiyuki<sup>2</sup>, KAWANAMI Masamitsu<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

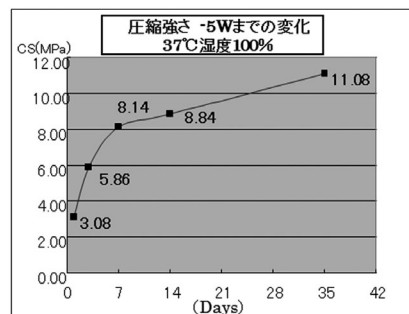
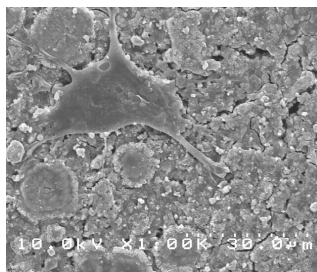
根管充填用シーラーは、根管充填後に根尖周囲組織に接触する可能性があり、生体適合性が求められる。最近では、臨床応用されるようになってきたレジン系シーラーは生体親和性が良好とされている。一方、新たな根管充填材料として S-PRG フィラー含有根管シーラーが松風により開発された。S-PRG フィラーはコンポジットレジンや歯面コーティング剤など、主に修復分野で応用され、Fをはじめ、Na<sup>+</sup>, B03<sup>3-</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Si03<sup>2-</sup>, Al<sup>3+</sup>などのイオン徐放性を持ち、再石灰化促進や抗菌性が報告されている。本研究では新規イオン徐放性 S-PRG フィラー含有根管シーラーを用いて、その生体適合性を検討したので報告する。

#### 【材料と方法】

本実験には、S-PRG フィラー含有シーラーSI-R20502を用いた。シーラーを練和し、直径4ミリ、高さ1ミリに成形し、37℃、湿度100%中で2時間保管し、硬化させたものを試料とした。表面形態をSEMにて観察した。細胞親和性評価のために、24 well plate に試料を静置し、1万個に調整したMC3T3-E1細胞を播種して、2時間培養を行った後にSEMにて細胞の性状を観察した。また作製した試料の圧縮強さを1日後及び1、2、5週後に測定した。次にラットに全身麻酔下、局所麻酔下で試料を背部皮下に埋植、術後10日および5週後に組織学的観察を行った。

#### 【結果と考察】

試料のSEM観察では、表面は粗造で約1-2μmの小孔が観察される部位がみられた。培養2時間後の試料では、細胞の伸展を確認(下図左)、細胞親和性は良好であると考えられた。圧縮強さは、1週間まで急激に増加しその後5週まで緩やかに上昇した(下図右)。ラット皮下への埋植10日後の組織学的観察では、材料周囲に若干のリンパ球の浸潤が認められたが、概ね良好な生体適合性を示した。また埋植5週間後では炎症性細胞浸潤などの炎症所見はなく、生体適合性は良好であると考えられた。シーラーの硬化が5週まで継続して進行し、それに伴って生体適合性も向上した可能性が考えられる。



#### 【結論】

新規イオン徐放性 S-PRG フィラー含有シーラーの生体適合性は良好であることが示された。

## オレイン酸、ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした 新規根管充填用シーラーの寸法変化と硬化度

<sup>1</sup>日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座, <sup>2</sup>共同利用研究センターRI 研究室  
○前田宗宏<sup>1</sup>, 橋本修一<sup>2</sup>, 石塚克巳<sup>1</sup>, 勝海一郎<sup>1</sup>

### Size-changing and Hardening rates of new root canal sealer contained mainly with oleic acid, eugenol and zinc oxide

<sup>1</sup>Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Tokyo, <sup>2</sup>Section of Radioisotope Research, Research Center for Odontology, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University  
○Maeda M<sup>1</sup>, Hashimoto S<sup>2</sup>, Ishitsuka K<sup>1</sup> and Katsuimi I<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

第 137 回の本学会において、従来の酸化亜鉛ユージノール系シーラーと含有ユージノール量を低減させた新規根管充填用シーラーでは、細菌発育阻止帯の形成と遊離したユージノール量との間には相関が認められることを報告した。今回は、シーラーの継時的な寸法変化と硬化度について検討を行った。

#### 【材料】

##### 1. 新規根管充填用シーラーの組成

粉 剤 (1g 中) : 酸化亜鉛 (堺化学工業) 0.4g、ロジン (荒川化学工業) 0.4g、その他 0.2g

液 剤 (1ml 中) : オレイン酸 (日油) 0.75ml、ユージノール (日本粉末薬品) 0.15ml、その他 0.1ml

粉剤 1g に対して液剤 0.5ml の割合で 30 秒間練和し、各実験に用いた (粉液比 2.0)。

##### 2. シーラー寸法変化試験

1. の比率で 30 秒間練和したシーラーをガラス平板上に置いた内径 6mm、高さ 12mm のステンレス製円柱形分割型に過剰に充填した。金型の上方にもう一枚のガラス平板を押し付けクランプで強く締め付けたまま、練和開始から 5 分後に恒温高湿器中 (37°C、100%湿度) に 24 時間静置した。試料の両端は注水下で耐水研磨紙上を往復させて平滑な面とした。試料を金型から取り出し、両端間を測定単位 10 $\mu$ m で測定してから、37°C の蒸留水中に保存した。試料を 1, 3, 6, 7, 10, 14, 21, 25, 30, 40 日後にそれぞれ測定し、蒸留水浸漬前の値と比較した。なお、測定は各条件につき 3 試料ずつ行った。

##### 3. シーラー硬化度試験

内面を粗造にした内径 8mm、長さ 5mm のガラス管を 50mm $\times$ 50mm のガラス板上に置き、練和したシーラーを充填した。練和開始から 5 分後に恒温高湿器 (37°C、100%湿度) に移し、24 時間静置した。試料を 1, 3, 6, 7, 10, 14, 21, 25, 30 日間 37°C の蒸留水中に浸漬し、硬化度測定用試料とした。先端径 1mm、長さ 100mm の測定針を装着したテクスチャーアナライザ (EZ Test、島津製作所) の試料台上に、自家製固定装置を用いて試料の上面が測定針に接触するように固定後、測定針が試料の中央部に進入するように調整した。1mm/sec の速度で測定針が試料に進入する際の荷重変化は、専用データ処理ソフト (TRAPEZIUM、島津製作所) で記録し、硬化度の比較に用いた。なお、測定は各条件につき 3 試料ずつ行った。

#### 【結果とまとめ】

1. 新規シーラーの寸法は、蒸留水に浸漬後 3 日目まで一過性に減少するものの、その後は徐々に増加し、30 日目まで練和直後に比べて 0.12% 増加して平衡状態に達した。

2. 新規シーラーの硬化度は、減少することなく 3 日目まで経時的に増加し、その後平衡となった。

今回の実験結果から、新規シーラーは通常の酸化亜鉛ユージノール系シーラーにおける根尖部封鎖性低下の一因とされたシーラー硬化時の収縮傾向が飛躍的に改善され、膨張型を示すことが明らかとなった。今後はシーラーの臨床応用時の留意点などについて詳細な検討を進めていく予定である。

## 新規接着性レジン系シーラーのコロナルリーケージの評価

サンメディカル株式会社研究開発部<sup>1</sup>, 日本大学松戸歯学部保存修復学講座<sup>2</sup>

日本大学松戸歯学部歯内療法学講座<sup>3</sup>

○大槻晴夏<sup>1</sup>, 山本裕也<sup>1</sup>, 小里達也<sup>1</sup>, 若松尚吾<sup>2</sup>, 山本憲廣<sup>2</sup>, 松島潔<sup>3</sup>, 池見宅司<sup>2</sup>

### Evaluation of newly developed adhesive root canal sealer on coronal leakage

Sun Medical Co., Ltd. Research Department<sup>1</sup>

Department of Operative dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo<sup>2</sup>

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo<sup>3</sup>

○Haruka Otsuki<sup>1</sup>, Yuya Yamamoto<sup>1</sup>, Tatsuya Ori<sup>1</sup>, Shogo Wakamatsu<sup>2</sup>, Norihiro Yamamoto<sup>2</sup>,  
Kiyoshi Matsushima<sup>3</sup>, Takuji Ikemi<sup>2</sup>

#### 【緒言】

根管治療に使用される材料の一つとして根管充填用シーラーがある。ユージノール系や非ユージノール系、エポキシレジン系、アクリルレジン系などの様々なタイプが存在しており、その殆どは歯質接着性が付与されていない。シーラーの使用目的は根管充填材の緊密性をより高め、歯冠側からの細菌侵入と根尖孔側からの滲出液を抑制することであり、歯質接着性を有するシーラーには無菌化の獲得が難しい根管内の先駆細菌叢を樹脂含浸層にて封じ込めることも期待できる。接着性レジン系シーラーとして4-META/MMA-TBB レジンのスーパーボンド根充シーラーやセルフエッチングタイプのMetaSEALが根管象牙質への接着性に優れることが報告されており、これらはレジンであるが故に再根管治療に至った場合の除去性への不安があった。最近、MetaSEALの除去性を改良して硬化後でも軟質な物性を有するメタシール Softが発売されたが、その根管封鎖性については明らかではない。そこで本研究ではメタシール Softのコロナルリーケージを評価するべく、*in vitro*での色素浸入試験並びに細菌侵入試験を行い、MetaSEALと比較検討を行ったので報告する。

#### 【材料及び方法】

実験には生理食塩水中にて冷凍保管された40歳以上のヒト単根抜去歯牙を使用した。歯牙は根尖から約12mmの位置にて歯冠部分を切除し、メルファー社製Kリーマー#15にて穿通させた後に同社のHファイルを用いて#60まで拡大形成した。次に、モルホニン歯科用液(昭和薬品化工株)にて2分、次いで2.5%NaOCl水溶液にて2.5分間の根管洗浄を行った後に水洗した。ペーパーポイントにて根管内部の水分を除去した後、メタシール Soft 付属のエンドノズルを用いて根管内部にメタシール Soft またはMetaSEAL(共にサンメディカル株)を填入し、シングルポイント法にて根管充填を行った(n=3)。根充後のサンプルは37℃湿潤化にて24時間保管した後、スーパーボンドを用いて歯冠側にガラス管を隙間が生じないように固定した。色素浸入試験サンプルは精製水を、細菌侵入試験サンプルには液体培地を各々3mL入れた遠心チューブに根尖部2mm程度が浸漬するように静置した。ガラス管内には1%メチレンブルー水溶液もしくはStreptococcus mutans及びLactobacillus Caseiを混合した細菌懸濁液を各々入れ、パラフィルムを用いて開口部から漏洩しないように軽く巻き付けて37℃の湿度95%環境下にて保管した。色素浸入試験は1, 5, 9, 21, 28日経過後のメチレンブルー漏洩量を確認するため、マイクロプレートリーダー(Model 680, Bio-Rad)を用いて吸光度を測定した。細菌侵入試験については侵入の有無を培地の混濁度合を指標として目視にて確認した。

#### 【結果及び考察】

メチレンブルー漏洩量を測定した結果、各測定期間においてメタシール Soft とMetaSEAL共にコントロールの精製水と同等の吸光度であった。細菌侵入試験においても4週間までは培地の混濁はなく、目視による細菌の侵入は確認されなかった。漏洩が認められなかった理由として、両製品共に4-METAとHEMAを基材とした親水性シーラーで歯質浸透性と拡散性に優れる結果と考える。また、重合開始剤が親水性であることから浸潤した歯質界面での重合性が高く、さらに重合時の収縮応力が歯質方向に向かうために歯質界面での隙間が生じにくかったものと推察した。

#### 【結論】

二種の接着性レジン系シーラーを用いてシングルポイント法にて根充したサンプルのコロナルリーケージを*in vitro*で評価した結果、両シーラー共に4週間までの期間において根尖からの色素並びに細菌漏洩は確認されなかった。以上のことから、メタシール Softの根管封鎖性は4週間まではMetaSEALと同程度の性能を有していることが示唆された。



## 新たな接着性レジン系シーラーである MetaSEAL soft の除去に関する基礎的研究

1 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座 2 日本大学口腔科学研究所  
○馬場俊晃<sup>1</sup>, 川島正<sup>1,2</sup>, 五味博之<sup>1</sup>, 酒井きよ美<sup>1</sup>, 三浦孝司<sup>1</sup>, 辻本恭久<sup>1,2</sup>, 松島 潔<sup>1,2</sup>

### Basic Study on removal of MetaSEAL which is a new resin-based endodontic sealer

1 Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo  
2 Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo  
○BABA Toshiaki<sup>1</sup>, KAWASHIMA Tadashi<sup>1,2</sup>, GOMI Hiroyuki<sup>1</sup>, SAKAI Kiyomi<sup>1</sup>, MIURA Takashi<sup>1</sup>,  
TSUJIMOTO Yasuhisa<sup>1,2</sup>, MATSUSHIMA Kiyoshi<sup>1,2</sup>

### 緒言

近年、様々な接着性レジン系シーラーが開発され、歯科臨床に応用されるようになってきている。接着性レジン系シーラーは適切な処理がなされた根管壁象牙質に対して接着性を有し、また、良好な根管封鎖性を示すことが報告されている。しかし、接着性レジン系シーラーの問題として、再根管治療の適応となった際の除去が困難であることが指摘されている。近年発売された MetaSEAL soft (MS-soft, サンメディカル) は硬化後の物性が軟質であり、再根管治療の際にファイルなどによる除去が容易であるよう開発された接着性レジン系シーラーである。本研究では、MS-soft の持つ、除去が容易であるという性質について、既存の接着性レジン系シーラーである MetaSEAL (MS, サンメディカル) および酸化亜鉛ユージノールセメントである CANALS (CNL, 昭和薬品化工) との比較により検討した。

### 方法

固形根管充填材として、06 テーパーのガッタパーチャポイント、シーラーとして MS, MS-soft, CNL を実験に供した。透明レジン製規格根管模型(#80, 06 テーパー, 根管長 16 mm) を 15 根管用意し、MS 群, MS-soft 群, CNL 群の 3 群(n=5) に分けた。

06 テーパーのガッタパーチャポイントを用いたシングルポイント法によって模型に根管充填を行った後、すべての試料を 37°C, 100%湿度の条件下で 24 時間硬化させた。硬化した根管充填材料を NRT-GPR(マニー)を用いたクラウンダウン法により除去した。その際、除去に要する時間を計測するとともに、除去前後の重量を計測し、除去された根管充填材料の重量を算出した。

計測された値は全て、一元配置の分散分析後、Tukey 検定により ( $p < 0.05$ ) で統計処理を行った。

### 結果

根管充填材料の除去に要した時間:MS>CNL>MS-soft の順に根管充填材料の除去に時間を要した。MS 群と MS-soft 群の間に有意差( $p < 0.05$ )が認められた。

除去された根管充填材料の重量:MS-soft>CNL>MC の順に除去された根管充填材料の量が多かったが、全群において、有意差は認められなかった。

### 結論

MetaSEAL soft は接着性レジン系シーラーでありながら、CANALS と同程度に除去が可能である事が判明した。

## 新規接着性シーラーの細胞毒性について

サンメディカル株式会社研究開発部<sup>1</sup>, 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野<sup>2</sup>  
○山本裕也<sup>1</sup>, 大槻晴夏<sup>1</sup>, 小里達也<sup>1</sup>, 林善彦<sup>2</sup>

### Cytotoxicity evaluation of a newly developed adhesive root canal sealer

Sun Medical Co., Ltd. Research Department<sup>1</sup>  
Department of Cariology, Unit of Translational Medicine, Medical and Dental sciences, Nagasaki University<sup>2</sup>  
○Yuya Yamamoto<sup>1</sup>, Haruka Otsuki<sup>1</sup>, Tatsuya Ori<sup>1</sup>, Yoshihiko Hayashi<sup>2</sup>

#### 【研究目的】

歯内療法において感染歯質の除去と清掃, 並びに緊密な充填が治療予後に大きく影響する。現在, 根管充填用シーラーとして酸化亜鉛-ユージノール系やアクリルレジン系, エポキシレジン系等の様々なシーラーがガッタバーチャポイントとの併用により臨床応用されているが, 不十分な根管封鎖性による二次的な細菌感染で再根管治療に至ることもある。近年, より封鎖性を高めることを目的として接着性シーラーが開発され, 4-META/MMA-TBB レジンであるスーパーボンド根充シーラー(サンメディカル株式会社)や4-META含有のセルフエッチングタイプのMetaSEAL (Parkell, Inc.) が市販されるようになった。しかし, これら接着性シーラーは優れた接着性能と根管封鎖性を有している反面, 再根管治療時の除去が困難との指摘もある。レジンでありながら重合後でも軟質な物性を発現することで機械的な除去を可能とした接着性シーラー・メタシール Soft (サンメディカル株式会社) が発売されたが, その生体親和性についての報告はない。そこで本研究ではメタシール Soft の生体親和性に関して, ISO規格に準じてチャイニーズハムスター繊維芽細胞株 V79 を用いた細胞毒性試験を行った。更に, すでに臨床実績のあるスーパーボンド根充シーラーやMetaSEAL と比較検討したので報告する。

#### 【材料及び方法】

細胞毒性試験はISO10993に準拠したMTT assay法にて行った。メタシールSoft, スーパーボンド根充シーラー及びMetaSEALの各シーラーを10×10×1mmの孔の開いたテフロンモールドに充填し, ガラス板で挟み込んで37°Cで24時間重合させて硬化体を作製した。各硬化体25枚を $\alpha$ -modified minimal essential medium( $\alpha$ -MEM, life technologies社), 5%(wt%) fetal bovine serum(FBS, Hyclone社), 0.05%(wt%)カナマイシン(京都和光純薬社)からなる培養液10mlに投入し, 37°Cで24時間抽出して試験培地を調製した。次にチャイニーズハムスター線維芽細胞株V79を96ウェルマイクロプレートに $1.0 \times 10^4$  cells播種して37°C, 5%CO<sub>2</sub>環境下で24時間培養した後, 各試験培地及びコントロールとして未浸漬の培地それぞれに交換して更に24時間培養した。培養後にテトラゾリウム塩WST溶液(Premix WST-1, タカラバイオ社)を10 $\mu$ L添加して37°C, 5%CO<sub>2</sub>環境下で2時間培養後にマイクロプレートリーダー(Bio Rad社)にて蛍光測定(Ex/Em: 450/630nm)を行った(n=3)。コントロールの測定値に対する百分率を製品ごとに算出し, 有意差検定は一元配置分散分析の後, 多重比較としてTukey法を用いて有意水準5%で行った。

#### 【成績及び考察】

コントロールを基準とした測定値に対する百分率がメタシール Soft, MetaSEAL 及びスーパーボンド根充シーラーの順に 8.4%, 11.7%, 85.7%であった。スーパーボンド根充シーラーの細胞毒性が有意に低い結果となり, メタシール Soft と MetaSEAL の間に有差は認められなかった。スーパーボンド根充シーラーは MMA を基材とした疎水性シーラーであるのに対して, メタシール Soft 及び MetaSEAL は HEMA を基材とした親水性シーラーである。親水性シーラーの方が培養液中に未反応モノマーが溶出しやすく, また培養液の pH も酸性に傾いていたことから 4-META の溶出も合わさるため細胞毒性が高くなったものと考えられる。しかしながら, MetaSEAL は米国で 2007 年に発売以来, 約 6 年間にわたり臨床応用されており, MetaSEAL と同程度の細胞毒性であったメタシール Soft も, 臨床においてはこれと同等の生体親和性を有すると推察された。

#### 【結論】

メタシール Soft の細胞毒性試験を MTT 法により評価した結果, その細胞毒性はスーパーボンド根充シーラーと比較して明らかに劣っていたが, MetaSEAL とは同等であった。

## 垂直破折歯根の破折間隙の化学的拡大が接着後の封鎖性に及ぼす効果

北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学

○西尾 啓英, 菅谷 勉, 川浪 雅光

### The effect of chemical enlargement on sealing of the gap of vertical root fracture

Department of Periodontology and Endodontology,  
Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University  
○Takahide Nishio, Tsutomu Sugaya, Masamitsu Kawanami

#### 【緒言】

垂直破折した歯根の治療は、破折線の細菌を除去して接着、封鎖することが基本である。その方法の一つに、根管内から破折線を超音波スケーラーで切削し、感染歯質を除去するとともに接着性レジンの流入スペースを形成する方法がある。しかし、根管内から破折線を歯根膜に達するまで切削するには、多くの時間と熟練を必要とする。そこで、薬剤によって化学的に破折間隙を溶解、拡大することで接着性レジン流入スペースを確保できれば、術式が簡易化できる可能性が考えられる。

本研究の目的は破折間隙を化学的に拡大することが、接着性レジンによる接着性、封鎖性に及ぼす影響を検討することである。

#### 【材料と方法】

ヒト抜去歯 10 本から、歯冠を切除してセメント質を除去し、約  $10 \times 10 \times 1$  mm の象牙質片 20 個を作製した。象牙質片は象牙細管に平行な方向で破折させ、元の位置に復位し、両端をメガボンドで固定して、破折間隙の化学的拡大を行う処理群と、破折間隙の処理を行わない未処理群に無作為に分けた。処理群では、試料の破折間隙を 10% クエン酸/3% 塩化第二鉄水溶液(表面処理材グリーン、以下 10-3) 5 分、10% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液(ネオクリーナー) 2 分の処理を 3 回繰り返した。その後、両群とも芳香族スルフィン酸塩(アクセル) 処理 10 秒、10-3 処理 10 秒を行って、スーパーボンド(混和ラジオペーク)をモノマー液 4 滴、キャタリスト 1 滴、ポリマー粉末 1 杯を混和して、破折間隙上に滴下した。

24 時間後、0.5% 塩基性フクシンに 24 時間浸漬し、試料中央部で切断して光学顕微鏡下で①試料の厚み、②破折間隙幅、③スーパーボンド流入率：試料の厚みに対するスーパーボンドの侵入長さの割合、④色素侵入率：試料の厚みに対する色素侵入距離の割合を計測するとともに、断面の SEM 観察を行った。

#### 【結果と考察】

試料の厚みは処理群が  $1183.5 \pm 328.4 \mu\text{m}$ 、未処理群が  $1058.8 \pm 249.0 \mu\text{m}$  で有意差は認められなかった。破折間隙幅は、処理群の根管側が  $115.6 \pm 78.6 \mu\text{m}$ 、歯根表面側が  $46.0 \pm 21.0 \mu\text{m}$ 、未処理群がそれぞれ  $28.9 \pm 15.4 \mu\text{m}$ 、 $11.4 \pm 7.6 \mu\text{m}$  で、根管側、歯根表面側とも未処理群と比較して処理群の方が有意 ( $p < 0.05$ ) に広がった。スーパーボンド流入率は、処理群が  $92.8 \pm 22.7\%$ 、未処理群が  $17.7 \pm 22.7\%$  で処理群の方が有意 ( $p < 0.05$ ) に高く、歯根表面近くまで流入していた。色素侵入率は、処理群が  $9.8 \pm 4.2\%$ 、未処理群が  $29.3 \pm 3.6\%$  で、処理群が有意 ( $p < 0.05$ ) に低かった。

また SEM 観察では、未処理群はスーパーボンドが破折間隙に流入していても象牙質との間に間隙が生じている部分が多かったのに対して、処理群では間隙が見られる部分はわずかで、長いレジントグも観察された。

以上の結果から、破折間隙内に薬剤が侵入して象牙質を溶解し、破折間隙幅が広がり、水洗、乾燥が確実にできるようなるとともに、スーパーボンドが流入しやすくなって、封鎖性が向上したと考えられた。

#### 【結論】

破折間隙を 10% クエン酸/3% 塩化第二鉄水溶液と次亜塩素酸ナトリウムで処理することは、破折間隙を拡大してスーパーボンドによる破折間隙の封鎖性を向上させるのに効果的であることが示唆された。

## 根管內歯根接着法による垂直歯根破折歯の破壊抵抗性に関する研究

神奈川県歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野  
○三橋 晃、天川 丹、川島榮里子、石井信之

### The Study of the Fracture Resistance of the repaired Vertical Root Fracture

Kanagawa Dental University

○Akira Mitsuhashi, Akira Amakawa, Eriko Kawashima, Nobuyuki Tani- Ishii

#### 【研究目的】

近年、歯科用マイクロスコープの普及により、診断時に歯根の亀裂や破折の存在を確認することが可能になった。従来、垂直歯根破折歯は抜歯の対象であったが、接着性材料（スーパーボンド、接着性レジン）やMTAセメントの開発により、保存療法への応用が可能になりつつある。垂直歯根破折歯の保存療法は、抜歯後に口腔外で歯根を接着後に再植する方法と抜歯せずに根管内から歯根接着を行う方法（根管內歯根接着法）に大別される。後者は抜歯による歯根膜傷害がないことを長所とする。本研究は、垂直性歯根破折歯が歯根接着後の咬合力負荷に対する破壊抵抗性を比較検討することを目的とした。

#### 【材料および方法】

実験にはヒト単根抜去歯を用いて垂直歯根破折モデルを作製し、種々の接着性材料で歯根接着後に破壊抵抗性を測定し比較検討した。垂直歯根破折モデルは、破折歯を再現するために歯根の表層側方向よりダイヤモンドディスク（松風社製）を用いて根管に達するまで亀裂を作成した。根管內歯根接着法は破折単根抜去歯を髓腔開拓後に、Ni-Ti ロータリーファイル・プロテーパー（デンツプライ三金）を使用してF3まで根管形成後、オブチュラIIにより垂直加圧根充を行った。根尖3mmのガッタパーチャーを残して根管形成し、歯科用マイクロスコープ下で根管内より亀裂部分を象牙質を超音波チップ（OSADA社製）で調整し、スーパーボンド（サンメディカル社製）を用いて亀裂を修復した。

単一のファイバーポストを用いて築造したシングルポスト群、複数のファイバーポストを用いて築造したマルチポスト群、および根管形成後ファイバーポストにより築造をしない対照群に分類した。

- ①シングルポスト群：単一のファイバーポストとレジンにて築造した群（i-TFCシステム；サンメディカル社製）
- ②マルチファイバーポスト群：複数のファイバーポスト（FibreKor；ペントロンジャパン）を根管内径に合わせてスーパーボンドとともに築造を行った群
- ③対照群：根管形成後、築造形成を施していない歯根破折歯

実験群すべての試料を恒温恒湿槽に7日間浸漬固定後、即時重合レジン（ジーシー社製）にて歯根部を固定し、負荷条件を一定にするために切縁側を水平に切断し、同部位にオートグラフ（島津社製）を使用して、歯牙に歯冠方向より負荷をかけ（0.5mm/min、チャートスピード200mm）破壊抵抗性を測定した。また破断面をレーザー顕微鏡（OLYMPUS社製OLS1100）で観察し、破壊挙動を分析し、評価した。

#### 【成績】

各実験群は、いずれも対照群に比較して破壊抵抗性は増強した。ファイバーポストを使用した実験群はファイバーポスト未使用群と比較して破壊抵抗性は増強し、さらに複合ファイバーポスト群では、高い破壊抵抗性を示す傾向があった。

#### 【考察および結論】

破折歯を修復した手技を比較検討した結果、ファイバーポストを挿入した方がその破壊抵抗性は高く、ファイバーポストの物性を反映したものと考えられる。さらに複数のポストを組み合わせた方がより歯質を強化することが示唆された。

## 多根歯における電気歯髄診査の反応

鶴見大学歯学部口腔顎顔面放射線・画像診断学講座<sup>1)</sup>、附属病院総合歯科<sup>2)</sup>、  
歯周病学講座<sup>3)</sup>、短期大学部歯科衛生科<sup>4)</sup>

○市古敬史<sup>1)</sup>、大藏眞太郎<sup>1)</sup>、矢作保澄<sup>2)</sup>、八島章博<sup>3)</sup>、小林一行<sup>4)</sup>、山口博康<sup>2)</sup>、小林 馨<sup>1)</sup>

### Responses of electric pulp testing in multi rooted teeth

Tsurumi University, School of Dental Medicine,  
Department of Oral and Maxillofacial Radiology and Diagnosis<sup>1)</sup>,  
Department of General Dentistry<sup>2)</sup>, Department of Periodontology<sup>3)</sup>,  
Tsurumi Junior College, Department of Dental Hygiene<sup>4)</sup>.

○Takashi Ichiko<sup>1)</sup>, Shintaro Okura<sup>1)</sup>, Hozumi Yahagi<sup>2)</sup>, Akihiro Yashima<sup>3)</sup>, Kazuyuki Kobayashi<sup>4)</sup>  
Hiroyasu Yamaguchi<sup>2)</sup> and Kaoru Kobayashi<sup>1)</sup>

#### 【目的】

大臼歯の感染根管治療において、一部の歯髄に生活反応が認められることがある。また、多根歯の一根に根尖透過像を有していても、他の根管に生活反応を認める場合がある。そのため多根歯の感染根管の診査では、根管ごとの歯髄診断が重要である。本研究では多根歯の診査および歯髄診断法について報告する。

#### 【方法】

鶴見大学歯学部附属病院総合歯科2における歯内療法症例のうち、多根歯各根管で生活、失活反応を示す大臼歯6症例(上顎第一大臼歯2例、第二大臼歯3例、下顎第一大臼歯1例:男性5名、女性1名 平均年齢49歳)に対し、通法に従い診査した。生活反応については電気歯髄診断法 Analytic vital Scanner で判定した。

#### 【結果】

6症例19根管中、11根管に失活根が認められた。失活反応を示した根管は、上顎では5歯中頬側8根、口蓋根1根、下顎では1歯中頬側根2根であった。症例について示す。

**症例1:** 64歳男性、上顎左側第一大臼歯でIn修復、歯周ポケットは最深値5mm、頬側にフィステルが認められた。電気診において頬側根2根が失活し、口蓋根は53値を示した。

**症例2:** 66歳女性、上顎左側第二大臼歯でIn修復(近心に間接覆髄)、歯周ポケットは最深値で11mm、電気診において頬側根2根が失活し、口蓋根は62値を示した。X線所見で根尖部透過像を示した。

**症例3:** 33歳男性、下顎第一大臼歯でIn修復(近心に間接覆髄)、歯周ポケットは最深値で2mm、電気診において頬側の2根が失活を示し近心舌側根36値、遠心舌側根48値を示した。頬側部に膿瘍が認められた。

**症例4:** 44歳男性、上顎右側第一大臼歯で歯周ポケットは最深値で2mm、クラウン再製作のため覆髄し、形成後、頬側2根が失活、口蓋根が56値を示した。

**症例5:** 40歳男性、上顎右側第二大臼歯、修復物は認められず、遠心に歯髄腔に達する透過像(う蝕)が認められる。歯周ポケットは最深値で4mm、電気診において遠心頬側根54値以外は失活を示した。

**症例6:** 40歳男性、上顎右側第一大臼歯に修復物下にう蝕を認めた。歯周ポケットは最深値で4mm、電気診において近心頬側根が失活、遠心頬側根48値、口蓋根45値を示した。

#### 【考察】

本研究より多根管である場合、特に歯髄に近接した覆髄がされた部位からの感染が考えられた。多根歯の場合、詳細な電気歯髄診断を行わずに根管治療を行った場合、治療途中に生活反応を示す場合があり、根管に切削刺激など加えた場合、著しい疼痛を伴う。また、途中から浸潤麻酔処置を行わなければならない、患者の不信感を与えてしまう可能性も考えられ、ラポール形成にも影響を与える可能性がある。近年、先制疼痛抑制の概念より、手術中の疼痛刺激は術後疼痛を及ぼし、難治性疼痛発症の原因になりうることも考えられるため、術中の疼痛刺激は避けることが望ましい。本症例における各根管への電気刺激による診査法は、各根のエナメル歯頸部に限局してプローブを接触させ診査する必要がある。また、唾液などの流入を避け、乾燥状態を保つ必要がある。さらに金属修復物がある場合は本術式の応用が困難であり術式を改良する必要もあり、多根歯の生活歯髄反応診査として検討する予定である。

#### 【結論】

多根歯の診査では、根管ごとの電気歯髄診断が必要である。

#### 【文献】

Mumford JM. Pain perception threshold and adaptation of normal human teeth. *Arch Oral Biol.* 1965; 10: 957-68.

### 深在性う蝕に対する歯髄温存療法と直接覆髄法の臨床成績について

<sup>1)</sup> 鶴見大学歯学部保存修復学講座

<sup>2)</sup> 鶴見大学歯学部歯内療法学講座

○今井文彰<sup>1)</sup>、田崎達也<sup>1)</sup>、山本要<sup>2)</sup>、細矢哲康<sup>2)</sup>、桃井保子<sup>1)</sup>

#### Clinical results of indirect and direct pulp capping for deep caries

<sup>1)</sup> Department of Operative Dentistry and <sup>2)</sup> Department of Endodontology,  
Tsurumi University School of Dental Medicine

○IMAI Fumiaki<sup>1)</sup>, TASAKI Tatsuya<sup>1)</sup>, YAMAMOTO Kaname<sup>2)</sup>, HOSOYA Noriyasu<sup>2)</sup>, MOMOI Yasuko<sup>1)</sup>

**緒言:** 今回、う蝕が歯髄に近接した深在性う蝕歯で、歯髄症状が無い、あっても軽微で臨床的健康歯髄と診断できた症例に対して行った歯髄温存療法と直接覆髄法の臨床成績を報告する。この研究の背景には、できるだけ歯髄を保存することが望ましいというわれわれの共通認識がある。なぜなら、無髄歯は有髄歯とくらべ、歯根破折しやすく、歯髄からの警告信号が失われ、外来侵襲に対する生体防御反応が欠如し、変色するなど深刻な問題を有するためである。また、抜髄の成功率が決して100%ではない事実からも歯髄保存は強く推奨される。

**材料と方法:** 歯髄温存療法と直接覆髄法は、同一術者が同一施設内で行った。エックス線検査によりう蝕が歯髄に近接している歯を対象とした。歯髄症状は無いまたは軽微で、歯髄が臨床的に健康と診断できた症例に限った。全症例麻酔下で施術し、必要に応じて隔壁を使用して全症例にラバーダムを装着した。感染象牙質の除去は、最初、低速のスチールラウンドバーで大半の軟化象牙質を除去し、次いでう蝕検知液を複数回使用して検知液に濃染したう蝕象牙質をスプーンエキスカベータで慎重に除去した。う蝕象牙質を完全に除去すると露髄が危ぶまれると判断した場合に、う蝕象牙質をあえて残置する歯髄温存療法を採用した。この場合、6%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で残したう蝕象牙質を5分間洗浄した後、軽く乾燥しう蝕象牙質部分に覆髄剤を貼付した。覆髄剤には、 $\alpha$ -TCP (リン酸三カルシウム)の粉末に3Mixの粉末(メロニダゾール3+セファクロル1+シプロフロキサシン1)を10~20%加え、これをポリカルボン酸主成分の溶液と練和したもの、もしくは水酸化カルシウム系材料を用いた。覆髄後、接着性コンポジットレジンで暫間充填した。一方、やむなく露髄に至った場合に、直接覆髄法を採用した。この場合、6%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で露髄面を5分間洗浄した。軽く乾燥した露髄面に、 $\alpha$ -TCPの粉末に3Mixの粉末を10~20%加え、これを生理的食塩水と練和したものを直接貼付し、その上を歯髄温存療法で用いた $\alpha$ -TCP+3Mixで覆った。または、水酸化カルシウム系材料を用いた。直接覆髄後、接着性コンポジットレジンで暫間充填した。歯髄温存療法54歯、直接覆髄法28歯について、術後6ヶ月以上経過した時点で診査を行った。

**結果:** 歯髄温存療法を施した54歯のうち、44本が生活反応を示し10本が抜髄または失活し、歯髄温存療法の成功率は82%であった。一方、直接覆髄法を施した28歯のうち、16本が生活反応を示し12本が抜髄または失活し、直接覆髄法の成功率は57%であった。歯髄温存療法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixで81%、水酸化カルシウム系材料で73%であった。直接覆髄法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixで57%、水酸化カルシウム系材料で56%であった。両治療とも若年者が成績良好という結果は示されなかった。

#### 結論

歯髄温存療法の方が直接覆髄法より臨床成績が良好であった。歯髄温存療法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixの方が水酸化カルシウム系材料より高く、直接覆髄法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixと水酸化カルシウム系材料とでほぼ変わらなかった。歯髄温存療法も直接覆髄法も若年者が成績良好という結果は示されなかった。日本歯科保存学会のう蝕治療ガイドラインは、歯髄に達するような深在性う蝕で、歯髄が臨床的に健康または可逆性の歯髄炎の症状を呈する場合は非侵襲性間接覆髄(歯髄温存療法)を行うよう推奨している。今回、使用した覆髄剤はガイドラインが示すものと異なるが、歯髄温存療法の臨床的有用性があらためて確認できた。う蝕が歯髄に近接しているが歯髄症状が無い軽微な場合には、歯髄温存療法を第一選択と考えるべきことが示された。

## 矯正装置の違いにより挺出を行った 2 症例

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○今泉一郎 鈴木洋子 田中 毅 北村成孝 柴田直樹 中田和彦 中村 洋

### Two Cases of Orthodontic Extrusion using Different Orthodontic Appliance

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

○Ichiro Imaizumi, Yoko Suzuki, Tsuyoshi Tanaka, Naritaka Kitamura, Naoki Shibata,  
Kazuhiko Nakata, and Hiroshi Nakamura

#### 【緒言】

日常臨床において、歯肉縁下にまで及ぶ齶蝕および歯冠歯根破折にしばしば遭遇する。深い歯肉縁下では、無菌的な根管処置や確実な補綴処置が行えず、予後不良となることも少なくない。このままの状態では修復処置を行うと炎症が長期間残存し、歯周組織の破壊を招くことになる。このような場合には、歯肉切除、外科的挺出、矯正的挺出などの方法により、これらの問題を解決し、歯の保存が試みられる。その中でも矯正的挺出は、比較的安全で予知性が高く、有効な方法と考えられている。

今回、我々は、方法の異なった矯正的挺出を 2 症例行い、それぞれの矯正的挺出を比較し、有用性を検討したので報告する。

#### 【症例 1】

患者は 17 歳女性。自転車により転倒し、上顎左側側切歯の歯冠部が破折した。上顎左側側切歯は、歯槽骨頂で歯冠歯根破折し、歯肉縁下に完全に埋伏していた。審美的な早期の回復を希望された為、歯肉切除を行い、TEK を装着した。矯正的挺出は、審美的な回復を考慮し、マルチブラケットを装着し、ストレートワイヤーと TEK の歯頸部最下部に装着したボタンをエラスチックゴムにて結紮し、挺出を行った。患歯の挺出に伴い、TEK の切端を削合した。予定した挺出量まで行い、その位置で固定した。

#### 【症例 2】

患者は 54 歳女性。上顎左側側切歯の動揺と腫脹を主訴に来科した。口内法 X 線診査では、補綴物の下には、カリエスが認められ、根尖部には透過像がみられた。補綴物を除去したところ、カリエスは歯肉縁下深く、このままの状態では保存不可能と判断した。患歯の歯根長は長く、矯正的挺出を行えば、保存は可能であると判断した。印象採得後、模型上で矯正装置を作成し、装着した。定期的のエラスチックスレッドを交換し、矯正的挺出を行った。

#### 【考察および結論】

矯正的挺出期間中の装置の破損や前歯では長期間にわたり矯正用ワイヤーが見えることが問題となることがある。今回、歯肉縁下のう蝕、または破折により、そのままでは保存が難しいと思われる症例に対して、異なる装置により矯正的挺出を行った。患歯の隣在歯の状況や審美的な要求などにより矯正的挺出方法が選択され、それぞれの方法において比較検討を行った。症例 1 では、早期から TEK を装着することが可能であるため、装置の破損のリスク軽減や審美的な回復が可能であるが、挺出量がやや少なく限界があった。また、症例 2 では、TEK の中にワイヤーを埋入したことにより、ほとんど装置が見えない為、矯正的挺出期間中でも良好な審美的な回復が可能で、さらに十分な挺出量が確保できた。従って、必要な挺出量や隣在歯の状況などを考慮に入れ、矯正的挺出方法を検討する必要があると思われた。

### 根未完成歯の長期的観察

<sup>1)</sup>奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野

<sup>2)</sup>奥羽大学歯学部口腔衛生学講座

○佐々木重夫<sup>1)</sup>, 佐藤穂子<sup>1)</sup>, 釜田 朗<sup>1)</sup>, 今井啓全<sup>1)</sup>, 佐藤 克<sup>1)</sup>,  
山崎信夫<sup>1)</sup>, 山田真義<sup>1)</sup>, 齋藤高弘<sup>2)</sup>, 木村裕一<sup>1)</sup>

#### The Long-term Observations of Immature tooth

<sup>1)</sup>Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

<sup>2)</sup>Department of Preventive Dentistry, Ohu University School of Dentistry

○SASAKI Shigeo<sup>1)</sup>, SATO Yasuko<sup>1)</sup>, KAMADA Akira<sup>1)</sup>, Imai hiroaki<sup>1)</sup>, SATO Masaru<sup>1)</sup>,  
YAMAZAKI Nobuo<sup>1)</sup>, YAMADA Masayoshi<sup>1)</sup>, SAITO Takahiro<sup>2)</sup>, KIMURA Yuichi<sup>1)</sup>

【緒言】 根未完成歯に対する歯内療法はアペキシゲネーシスとアペキシフィケーションに大別される。生活歯髄切断法を施術し、正常歯髄を残存させて歯根の正常な発育を継続させるアペキシゲネーシスに比較して、感染根管治療あるいは抜髄法を適応とするアペキシフィケーションは漏斗状を呈している根尖部付近を施術範囲としているため治療に関してはより困難な症例であるといえる。今回、中心結節の破折より歯髄感染した下顎左側第二小臼歯に対してアペキシフィケーションを施術し、根管充填後から6年間の経過観察が可能であった症例を経験したので報告する。

【症例】 患者：初診時11歳0か月女児。主訴：歯が痛い（下顎左側第二小臼歯）。現病歴：1か月前より同部の違和感を認めるも放置。既往歴：貧血症状にて時々クエン酸第一鉄ナトリウム（フェロミア錠：エーザイ）を服用。現症：下顎左側第二小臼歯に中心結節を認める。同歯の自発痛と咀嚼痛ならびに頰側根尖部歯肉の腫脹と圧痛は認められるが、所属リンパ節（左側顎下リンパ節）の腫脹は認められない。動揺度は0度、歯冠全周の歯周ポケットも正常範囲（2.0mm以内）であった。電気歯髄診断器（ANALYTIC PULP TESTER<sup>®</sup>：Analytic technology）では反対側同名歯（ $\overline{5}$ ）との比較において閾値が高い傾向にあったが、生活反応（測定回数3回  $\overline{5}$  : 55,  $\overline{5}$  : 45~50）を示した。また、エックス線写真所見では反対側同名歯と同様に歯根が未完成であり、患歯の根尖部に円形の透過像が観察された。

【処置および経過】 頰側根尖部歯肉の腫脹とエックス線写真所見による根尖部透過像が認められたが、電気歯髄診断に生活反応を示したため初回の治療は局所麻酔下で行った。歯髄組織の除去後、根尖部からの血液ならびに膿液浸出液の湧出が認められたので、根管治療開始より約1か月間は根管内にフェノール系の根管消毒剤（METHOCOL<sup>®</sup>：ネオ製薬）を貼薬した。その後、水酸化カルシウム製剤（Calcipex：日本歯科工業）を1か月毎に貼薬交換するとともに二重仮封の上部にコンポジットレジン（プラディア<sup>®</sup>「培地」：昭和薬品化工）を行う前にはフェノール系薬剤を貼薬した。治療開始時の根管長は20.0mm、測定に使用したKファイル（品番053：ZIPPERER）は#90（φ0.90mm）であった。感染根管治療開始より6か月経過後のエックス線写真所見において根尖部透過像の消失が認められたが、根尖部硬組織の形成が確認されるには1年7か月を要した。治療開始より1年10か月経過時に3回目の根管内細菌培養検査（1回目：10か月経過時陽性、2回目：1年3か月経過時陽性）が陰性所見を示したので、ガッタパーチャを用いた垂直加圧根管充填（Obtura II：モリタ）を行った。その後、根管充填材上部をグラスアイオノマー系セメント（BASE CEMENT：松風）で裏層し、コンポジットレジン（SOLARE P：GC）修復を施して経過観察とした。根管充填後1年、2年、5および6年経過時のエックス線写真所見においても問題なく経過していたもののその後の明瞭な歯根尖の延長は認められなかった。

【考察および結論】 本症例ではエックス線写真所見による根尖部透過像の存在ならびに口腔内所見における頰側根尖部歯肉の腫脹が認められたにもかかわらず、電気歯髄診断において生活歯としての反応が認められた。根未完成歯は根完成歯に比較して根尖部の歯髄組織や歯周軟組織の血流量が多いとされ、本症例が生活反応を示したことから根未完成歯の歯髄は旺盛な生活力を有しているといえる。根尖部の硬組織の閉鎖には1年7か月を要したが、通常6か月～1年との報告もあり、アペキシフィケーションにおける根尖部硬組織の形成を左右する要因としては根尖開口部やその周囲の歯根膜の状態、歯根の発育程度、根尖病巣の大きさ、さらには根尖部に対する治療手技および使用薬剤などが考えられる。今回は水酸化カルシウム製剤以外のフェノール系薬剤を多用したことが根尖部の硬組織形成に影響を及ぼしていたことも推察される。また、本症例において根管充填後の歯根尖の延長は認められなかったのは早期にヘルトビッチ上皮鞘が壊死に陥っていたことが考えられる。

根未完成歯の歯髄は旺盛な生活力を有するため、歯内治療に際してはより綿密な診査が必要である。また、アペキシフィケーションにおける根尖部硬組織の形成は治療手技や使用薬剤の影響を受けるため慎重な対応が重要である。



## Electro-Magnetic Apical Treatment — 嚢胞性疾患に対する対応 —

<sup>1)</sup>徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 発達予防医歯学部門 健康長寿歯科学講座  
歯科保存学分野, <sup>2)</sup>医療法人とみなが歯科医院  
○富永敏彦<sup>1,2)</sup>, 湯本浩通<sup>1)</sup>, 坂東直樹<sup>1,2)</sup>, 平尾功治<sup>1)</sup>, 平尾早希<sup>2)</sup>, 加古晋也<sup>2)</sup>, 前田やよい<sup>2)</sup>,  
山口由美子<sup>2)</sup>, 高比良一輝<sup>2)</sup>, 松尾敬志<sup>1)</sup>

### Electro-Magnetic Apical Treatment — Treatment of Cystic-like lesion

<sup>1)</sup>Department of Conservative Dentistry, Institute of Health BioSciences, The University of Tokushima Graduate School, <sup>2)</sup>Tominaga Dental Clinic

○Toshihiko TOMINAGA<sup>1,2)</sup>, Hiromichi YUMOTO<sup>1)</sup>, Naoki BANDO<sup>1,2)</sup>, Kouji HIRAO<sup>1)</sup>, Saki HIRAO<sup>2)</sup>,  
Shinya KAKO<sup>2)</sup>, Yayoi MAEDA<sup>2)</sup>, Yumiko YAMAGUCHI<sup>2)</sup>, Kazuki TAKAHIRA<sup>2)</sup>, Takashi MATSUO<sup>1)</sup>

【研究目的】 これまでに我々は、病原細菌の消毒及び治癒促進に応用されている高周波治療に着目し、第 131 回秋季本学会にて“電磁波照射の口腔内細菌に対する殺菌効果”<sup>1)</sup>、第 134 回春季本学会にて“大きな根尖病変を有する歯の根尖孔外及び根尖部根管内に電磁波照射を行い、良好な治癒を示した症例、さらに第 135 回秋季本学会にて電磁波照射による骨芽細胞の Growth Factor の発現・産生誘導について報告した。根尖部に生じる歯槽骨欠損を伴う疾患として、歯根嚢胞の好発が報告されており、臨床所見や X 線所見のみでは診断が困難な症例も多く、病変部の大きさとして 200 mm<sup>2</sup> 以上のサイズを有する<sup>2)</sup>等の諸説がある。このような嚢胞性疾患が、根管治療により治癒するかどうかの予知することも困難なため、抜歯や歯根端切除術を含めた嚢胞摘出術等の外科的処置を施されることが多いのも事実である。そこで本研究では、嚢胞性疾患に対して非外科的治療法である「電磁波根尖療法: Electro-Magnetic Apical Treatment (EMAT)<sup>3)</sup>」を応用し、その有用性ならびに発展性について検討を行ったので報告する。

【術式】 (徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会にて承認: 臨床試験番号: 第 906 号)

通法通り根管拡大・清掃後、麻酔下にて根管を冷却生理食塩水で満たし、根尖周囲の骨吸収最先端から 1 mm 離れた部位を照射開始点とし、2 mm 間隔で最終的に根尖部根管内に 1 回ずつ 500 kHz, 1 秒/回で電磁波を照射した。

#### 【症例】

(症例 1) 患者: 31 歳男性、主訴: 36 の軽度自発痛及び咀嚼時痛

現症: 36 根尖部に軽度の腫脹を認め、動揺度 M2, 舌側遠心部に 4 mm のポケットを認めたが、その他は 3 mm 以下であった。デンタル X 線撮影及び CT 検査の結果、全根管とも根管充填材は根尖部まで達しておらず、遠心根を取り囲む約 19.5 × 8.0 mm の境界明瞭な X 線透過像が認められ、その下端部は下歯槽管に近接していた。

治療経過: 根管充填材除去後、遠心根管より出血と排膿が認められた為、開放処置を行った。数回にわたり根管拡大を行うものの、臨床症状に著明な変化は認められなかった。X 線透過像の大きさ等から従来の感染根管治療のみによる治癒は困難であると判断し、根管拡大後に電磁波を照射し、即時に垂直加圧根管充填を行った。根管充填 1 週間後では動揺は認めず、4 カ月後の CT 検査において骨再生様像を認め、現在も麻痺等の症状もなく、経過良好である。

(症例 2) 患者: 59 歳男性、主訴: 11, 12, 13 部の圧痛及び根尖部の腫脹

現症: 11, 12, 13 相当根尖部に弥漫性の腫脹と軽度の圧痛と 13 に M1-2 の動揺を認めたが、打診痛は認めず、歯周ポケットも全て 3 mm 以下であった。デンタル X 線撮影及び CT 検査の結果、13 から 21 根尖部に至る約 19.1 × 23.6 mm の境界明瞭な類円形の X 線透過像を認め、透過像内には逆性過剰歯の歯冠が含まれていた。また、13 根尖部の外部吸収も認められた。電気歯髓診断の結果、11, 12, 13 に歯髓生活反応は認めなかった。

治療経過: 11, 12, 13 の髓腔開拓を行うと、13 から多量の褐色浸出液が認められた為、根管拡大及び減圧処置を行った。引き続き根尖部の拡大・形成を行った後、電磁波を照射し、即時根管充填を行った。デンタル X 線撮影による経過観察では、根管充填約 5 カ月後で嚢胞壁周囲に X 線不透過像が、約 9 カ月後に 13 根尖部を中心とした X 線不透過像の充進を認めた。根管充填 2 週間後には 13 の動揺度は M0 まで改善し、現在まで臨床症状はなく、経過は良好である。

【考察および結論】 EMAT は、嚢胞性疾患に対する新たな非外科的治療法として有用である可能性が示唆された。

(参考文献) 1) Yumoto H *et al.*: J Appl Microbiol. 2012. 2) Eversole RL. Clinical Outline of Oral Pathology., 2<sup>nd</sup> ed. 1984.

3) 富永敏彦: 四国歯誌 2011.

## ヒト *DMP-1* 遺伝子領域における long non-coding RNA の同定

広島大学大学院医歯薬保健学専攻医歯薬学研究所  
顎口腔顎部医科学講座 健康増進歯学研究室  
○星野博昭、鈴木茂樹、小武家誠司、藤井理史、西村英紀

### The identification of novel long non-coding RNA in *Dentin Matrix Protein-1* genetic locus

Department of Dental Science for Health Promotion Division of  
Cervico-Gnathostomatology Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences

○Hiroaki Hoshino , Shigeki Suzuki , Seiji Kobuke , Masashi Fujii , Fusanori Nishimira

<研究目的>近年、ヒトやマウスの大規模なゲノム解析が進み、これまで「意味のない」とされてきた非遺伝子座領域中のゲノム配列においても、micro RNAをはじめとした蛋白質をコードしない non-coding RNA (ncRNA) が転写される事が明らかとなってきた。その中でも、long ncRNA は一般的に 200 bp 以上の長さを持つものと定義され、数十 bp の micro RNA と区別される。long ncRNA のゲノム上での局在や総数、及び各種組織や細胞での発現パターンは未だ十分に解明されていないものの、いくつかの long ncRNA が、局所のクロマチンリモデリングや DNA のメチル化などの epigenetic な変化を引き起こすことで、その近傍遺伝子の発現を調節する事が明らかとなってきている。Dentin matrix protein-1 (DMP-1) は、Dentin sialophosphoprotein (DSPP)、Bone sialoprotein (BSP) などと共に Small Integrin Binding Ligand N-linked Glycoproteins (SIBLINGs) family に属する分泌性タンパク質で、歯科・口腔領域においては、歯牙及び歯槽骨の形成・成熟に必須の役割を果たす。また、全身的には、腎臓近位尿細管でのリンの再吸収を抑制する Fibroblast growth factor-23 (FGF-23) の血中濃度を調節することで、リン代謝に重要な役割を果たす。更に、形質転換した癌細胞の浸潤に寄与することが近年明らかとなり、癌細胞マーカーとしても注目されている。このような背景から、*DMP-1* の発現調節メカニズムを解明することは極めて重要であるものの、これまでの多くの報告は転写因子やその結合部位の同定といった genetic な解析に留まっているのが現状であり、epigenetic な観点からの解明に関しては報告が無い。そこで本研究では、*DMP-1* プロモーター領域に着目し、long ncRNA の探索・同定並びにその機能解析を行うことで、如何にして *DMP-1* 発現が調節されるのかを解明することで、将来的にこれら研究領域・疾患治療への一助とすることを目的とした。

<材料及び方法>1. *DMP-1* プロモーター領域における新規 RNA の同定：12 種類の培養ヒト骨肉腫由来細胞及び口腔組織由来細胞を血清存在下でサブコンフルエントまで培養後、低血清培地で 24 時間培養した後に total RNA を回収した。oligo dT primer を用いて cDNA を作製し、*DMP-1* プロモーター領域に約 100 bp の間隔で作製した primer pair を用いて半定量性 PCR を行った。2. 新規 RNA の全長クローニング：PCR で増幅が見られた領域を起点に、GeneRacerKit (Life and Technologies) を用いて、新規 RNA の 5' 及び 3' 末端のクローニングを行った。

<結果>12 種類の細胞のうち、HSC-2 (squamous cell carcinoma of mouth : 口腔扁平上皮癌細胞株)、Ca9-22 (gingival carcinoma of gingiva : 歯肉癌細胞株)、HO-1-u-1 (squamous cell carcinoma of mouth floor : 口腔底扁平上皮癌細胞株)、Sa3 (squamous cell carcinoma of upper gingiva : 上顎歯肉扁平上皮癌細胞株) において、*DMP-1* プロモーター領域に PCR で増幅される領域があることを見出した。Reverse transcriptase (-) のコントロールサンプルでは増幅が見られなかったことから、この増幅産物は genomic DNA のコンタミネーションではなく、この領域に新規の転写産物が存在する事を示した。更に GeneRacerKit を用いた解析により、この新規 RNA が相補鎖に存在し、その全長が約 1.2 kb であることが明らかとなった。また、この新規 RNA を発現する 4 種の細胞株では、他 8 種類と比較して有意に高い *DMP-1* 遺伝子の発現を認めた。

<考察>演者らがクローニングした新規 RNA にはアミノ酸配列をコードする塩基配列が存在しないことから、この新規 RNA が *DMP-1* 領域に発現する long ncRNA である可能性が高いと考えられた。また、新規 long ncRNA の発現パターンと *DMP-1* 遺伝子発現パターンとの間に正の相関があることから、*DMP-1* 遺伝子発現がこの long ncRNA により制御されている可能性が強く示唆された。その検討結果についてもあわせ報告する。

### 新たな骨分化メカニズムの解明(WNT 活性化機序との関連)

<sup>1)</sup>東京歯科大学歯科保存学講座 <sup>2)</sup>東京歯科大学学生化学講座

○月野和 隆<sup>1)</sup>、小野寺 晶子<sup>2)</sup>、吉澤 佑世<sup>1)</sup>、篠 宏美<sup>2)</sup>、齋藤 暁子<sup>2)</sup>、  
手銭 親良<sup>1)</sup>、間 奈津子<sup>1)</sup>、東 俊文<sup>2)</sup>、森永 一喜<sup>1)</sup>

### Determination of a new osteoblast differentiation mechanism (relationship to WNT activation mechanism)

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

<sup>2)</sup>Department of Biochemistry, Tokyo Dental College

○Takashi Tsukinowa<sup>1)</sup>、Shoko Onodera<sup>2)</sup>、Yuusei Yoshizawa<sup>1)</sup>、Hiromi Shino<sup>2)</sup>、Akiko Saito<sup>2)</sup>、  
Chikara Tezen<sup>1)</sup>、Natsuko Aida<sup>1)</sup>、Toshifumi Azuma<sup>2)</sup>、Kazuki Morinaga<sup>1)</sup>

#### 【背景、目的】

歯周病の治療やインプラント治療において炎症による骨再生抑制を防ぎ、新生骨形成を効果的に促進する治療法の開発は重要な課題である。我々は歯槽骨再生において重要な役割を果たすヒト歯根膜(HPDL)細胞を用いて、炎症と骨再生抑制が TGF- $\beta$  による IGF-1-P13 キナーゼ経路抑制により生ずることを報告してきた。骨再生抑制機序では近年、Wnt 経路抑制物質が注目されている。そこで今回、HPDL における Wnt 経路の検討を行う。

#### 【方法】

HPDL 細胞を Lonza より購入し、SCGM(BulletKit® Stromal cell growth medium, Lonza)を用いて 37°C、CO<sub>2</sub> 濃度 5% 下で培養した。実験に際しては、12 穴プレートに 3×10<sup>5</sup> cells/cm<sup>2</sup> で播種し、一昼夜インキュベートした。翌日、骨分化誘導培地(OBM:  $\alpha$ -MEM に 50mg/ml L-ascorbic acid と 10mM  $\beta$ -glycerophosphate を添加) ±100 $\mu$ M Dexamethasone(R&D Systems、以下 Dex)に交換し、同時に 50ng/ml BMP2/7(R&D Systems)を添加し、72h 培養後、RNA を抽出した。BMP2/7 群と BMP2/7+Dex 群について Microarray 法(網羅的遺伝子発現解析法)及び IPA 解析(遺伝子ネットワーク解析)を行い、WNT 経路に関わる因子を抽出した。また、それぞれ抽出した遺伝子、及び骨形成マーカーである ALP についてリアルタイム PCR (Applied Biosystems 7500 Fast) で確認した。さらに、ALP 染色(Roche Diagnostics)にて骨芽細胞への分化を確認した。

#### 【結果】

Dexamethazone は BMP2/7 による HPDL 骨芽細胞分化誘導 (ALP 酵素活性) を強力に増強した。この時、IPA 解析および RT-PCR 法による検討から Wnt 経路抑制因子 (SOST、SFRP2、DKK1、DKK2) の著名な発現変化を認めた。特に DKK1 発現は増加し、DKK2、SFRP2 は発現減少することから、Wnt 経路抑制因子として DKK2、SFRP2 が重要であることが示唆された。

#### 【考察】

Wnt 経路阻害因子に対する特異抗体が骨再生を促進することが期待されているが、HPDL 細胞では DKK2、SFRP2 が骨再生促進のための標的分子として重要である可能性が示唆された。

## TGF-β1 による骨形成抑制作用時の WISP-2 発現と骨形成との関与

<sup>1)</sup>東京歯科大学歯科保存学講座、<sup>2)</sup>東京歯科大学学生化学講座  
○吉澤 佑世<sup>1)</sup>、篠 宏美<sup>2)</sup>、月野和 隆<sup>1)</sup>、小野寺 晶子<sup>2)</sup>、齋藤 暁子<sup>2)</sup>、  
手銭 親良<sup>1)</sup>、間 奈津子<sup>1)</sup>、東 俊文<sup>2)</sup>、森永 一喜<sup>1)</sup>

### Relevance of WISP-2 expression and bone formation at the time of suppression of bone formation by TGF-β1

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

<sup>2)</sup>Department of Biochemistry, Tokyo Dental College

○Yuusei Yoshizawa<sup>1)</sup>, Hiroshi Shino<sup>2)</sup>, Takashi Tsukinowa<sup>1)</sup>, Shoko Onodera<sup>2)</sup>, Akiko Saito<sup>2)</sup>, Chikara Tezen<sup>1)</sup>,  
Natsuko Aida<sup>1)</sup>, Toshifumi Azuma<sup>2)</sup> and Kazuki Morinaga<sup>1)</sup>

#### 【目的】

ヒト歯根膜は間葉系組織として線維芽細胞を主としているが、多くの未分化細胞をもち歯槽骨との位置関係から歯槽骨再生細胞の源としても注目される。我々はこれまでヒト歯根膜細胞の骨分化誘導における情報伝達機序を詳細に検討してきた。今回、骨組織維持に重要な役割を果たすことが示唆されているが、あまり機序のわかっていない Wnt signaling のヒト歯根膜細胞骨分化誘導における役割について検討する。

#### 【材料および方法】

細胞はヒト歯根膜細胞(HPDL 細胞、Lonza, Switzerland)を使用し、骨芽細胞分化には α-MEM (Life Technologies, USA) に 50 μg/ml L-ascorbic acid (Wako, Osaka)、10 mM β-glycerophosphate (Wako) を添加した骨分化誘導培地 (OBM) を使用した。5-8 継代の細胞を 1×10<sup>5</sup> cells/cm<sup>2</sup> で播種し、37°C、5% CO<sub>2</sub> 環境下で 96 時間培養後、それぞれの分析に用いた。OBM に 1 ng/ml TGF-β1 を添加して培養したものを 1 回投与群、1 ng/ml TGF-β1 を添加した OBM を 12 時間毎に交換したものを複数回投与群、その複数回投与群に 200 ng/ml IGF-1 を添加したものを IGF 投与群、OBM のみで培養したものを対照群とした。ALP 活性染色、および骨分化マーカーである ALP の mRNA 発現を Real-time PCR により検出し、同条件における Wnt-1 inducible signaling pathway protein 2 (WISP-2) タンパクの発現をウエスタンブロット法にて検出した。さらに、Wnt3a を添加して HPDL 細胞を培養し、骨分化マーカーと WISP-2 発現について検討した。統計処理には一元配置の分散分析、および Bonferroni の多重比較検定を用いた。

#### 【結果および考察】

ALP 活性染色による骨分化誘導の検討では、TGF-β1 1 回投与群で誘導促進し、複数回投与群では逆に誘導阻害を認めた。また、複数回投与群に IGF-1 を加えた IGF 投与群では ALP 活性の回復が見られた。Real-time PCR においても ALP の mRNA 発現で同様の結果が得られた。すなわち 1 回投与群では明らかに発現が増加し、複数回投与群では有意に発現が低下した。また、IGF 投与群では ALP 発現の復帰が認められた。ウエスタンブロット法による WISP-2 タンパク発現の結果は ALP の mRNA 発現の結果と類似しており、1 回投与群は WISP-2 タンパクの発現が増加し、複数回投与群では著しく発現が低下した。また、IGF 投与群でも WISP-2 タンパク発現の回復が確認された。TGF-β1 の複数回投与による骨芽細胞分化の抑制作用下で、骨分化マーカーである ALP の発現と WISP-2 の発現が連動していることから、WISP-2 は骨形成において重要な因子であると考えられた。また、TGF-β1 によって抑制された WISP-2 の発現が IGF-1 添加により回復したことから、PI3K/Akt 経路と Wnt signaling とのクロストークの存在が示唆される。

また、WISP が標的因子である骨分化調節因子として重要な Wnt3a の添加において、骨分化誘導促進効果が認められた。WISP-2 の mRNA が骨形成中の骨芽細胞や Alkaline Phosphatase (ALP) 陽性の骨髄細胞、軟骨細胞において高く発現していることが報告されていることから、WISP-2 は骨形成に大きく関与していることが予測される。発生段階では Wnt-βcatenin 経路が骨芽細胞の細胞死を抑制し骨芽細胞の成熟を促進するとされているが、Osteolineage 細胞では Wnt 経路単独ではなく多くの複雑な相互作用を持ちながら骨組織維持に大きな役割を果たしていることが示唆された。

#### 【結論】

HPDL 細胞での TGF-β1 による骨芽細胞分化の抑制作用下において、WISP-2 の発現と骨形成の促進との関連性が示唆された。

### bFGF の非臨界骨欠損における血管新生および骨再生のエクソ線学的検討

1) 日本大学大学院歯学研究科 歯学専攻応用口腔科学分野 2) 日本大学歯学部 保存学教室歯周病学講座

3) 日本大学歯学部 総合歯学研究所 高度先端医療研究部門 4) 日本大学歯学部

○木上理紗<sup>1</sup>, 佐藤秀一<sup>2, 3</sup>, 宇田川麻美<sup>1</sup>, 土屋紀子<sup>1</sup>, 津徳亮成<sup>1</sup>, 新井嘉則<sup>4</sup>, 伊藤公一<sup>2, 3</sup>

X-ray study of bFGF on angiogenesis and bone regeneration within non-critical-sized bone defects in rat calvaria

1) Division of Applied Oral Science, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan

2) Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

3) Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

4) Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Risa Kigami<sup>1</sup>, Shuichi Sato<sup>2, 3</sup>, Asami Udagawa<sup>1</sup>, Noriko Tsuchiya<sup>1</sup>, Katsuyoshi Tsunori<sup>1</sup>,  
Yoshinori Arai<sup>4</sup>, Koichi Ito<sup>2, 3</sup>

#### 【目的】

塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) は、血管新生作用と未分化間葉系細胞の増殖誘導能を有し、組織の発生および細胞の分化、創傷治癒の過程できわめて重要な働きをしていることが知られている。そこで、本研究では、ラット頭蓋骨に非臨界骨欠損を作製し bFGF を含浸させたコラーゲンスポンジを設置し、初期の血管新生と骨再生に対する bFGF の影響について、血管造影およびマイクロ CT を用いて観察することを目的とした。

#### 【材料および方法】

7 週齢のラット 40 匹にイソフルレンによる吸入ガス麻酔後、ペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) を腹腔内に注射し、全身麻酔を施した。ついで、ラットの頭頂部に 2% 塩酸リドカイン (1:80,000 アドレナリン含有歯科用キシロカインカートリッジ) 約 0.5ml を用いて局所麻酔を施し、頭部皮下に切開を加えた。そして、ラットの頭頂骨に矢状縫合を避けるように、両側に直径 2.7 mm の非臨界骨欠損をトレファインバーを使用して作製した。直径 2.7 mm のコラーゲンスポンジにそれぞれ、生理食塩水と 0.1% bFGF および 0.3% bFGF を含浸させ欠損部に設置し骨膜および皮膚を縫合した。生理食塩水と 0.3% bFGF, 生理食塩水と 0.1% bFGF, 0.1% bFGF と 0.3% bFGF の 3 群を作製した。その後、in vivo マイクロ CT (R\_mCT, 理学メカトロニクス, 東京) を用いて、術直後を 0 週とし、生理食塩水と 0.1% bFGF の群を 3 匹、生理食塩水と 0.3% bFGF の群を 3 匹、0.1% bFGF と 0.3% bFGF の群を 4 匹、計 10 匹ずつ 1 週から 4 週まで毎週 CT 撮影および血管造影を行った。血管造影方法は、全身麻酔後に CT 撮影を行った後、ラットの腹部に 2% 塩酸リドカイン 1 ml を用いて局所麻酔を施し、ラットの心臓を剖出させた。還流固定と同じ方法を用いて、生理食塩水で脱血させ安楽死させた後、10% 中性緩衝ホルマリン溶液を使用して全身を固定した。ついで、血管造影剤 (イオパニロン注 370 バイエル薬品株式会社, 大阪) 20 ml を自動注入機を用いて毎分 1.25  $\mu$ l の速度で全身に注入した後、2 度目の CT 撮影を行い、血管造影を行った後に CT 撮影を行い、造影前と造影後の画像の差分を計測して血管新生と骨再生を評価した。

#### 【結果】

マイクロ CT による観察から実験側および対照側ともに、術後 2 週から 4 週まで継続的に新生血管様組織および新生骨様組織の増加量を有意に認めた ( $p < 0.05$ )。術後 3 週の 0.1% bFGF 側で欠損部のおよそ 1/3 に新生血管様組織および新生骨様組織が観察され、0.3% bFGF 側では欠損側のおよそ半分に観察された ( $p < 0.05$ )。術後 4 週の対照側では、欠損部のおよそ 1/3 に観察され、0.1% bFGF 側は欠損部のおよそ 2/3 に観察され、0.3% bFGF 側では欠損部のほぼ全体に観察された ( $p < 0.05$ )。

#### 【考察および結論】

bFGF 側では、血管造影法を用いたマイクロ CT 撮影により、術後 2 週から早期に骨欠損部への血管の侵入が認められ、継続的に血管新生を認めた部位で、骨再生が観察された。また、0.1% bFGF 側よりも 0.3% bFGF 側の方が、早期に血管形成が生じ骨再生をより多く促進することが示された。

## ラット頭頂骨に作製した骨欠損に対する PTH (1-34) の間歇投与の効果

日本大学大学院歯学研究科 歯学専攻応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部 保存学教室歯周病学講座<sup>2</sup>

日本大学歯学部 総合歯学研究所 高度先端医療研究部門<sup>3</sup>

○津徳亮成<sup>1</sup>, 佐藤秀一<sup>2,3</sup>, 山田 豊<sup>2,3</sup>, 蓮池 聡<sup>2,3</sup>, 吉巻友裕<sup>1</sup>, 木上理紗<sup>1</sup>, 伊藤公一<sup>2,3</sup>

### Effect of the intermittent administration of PTH in rat calvaria defect.

<sup>1</sup>Division of Applied Oral Science, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

<sup>3</sup>Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Katsuyoshi Tsunori<sup>1</sup>, Shuichi Sato<sup>2,3</sup>, Yutaka Yamada<sup>2,3</sup>, Akira Hasuike<sup>2,3</sup>, Tomohiro Yoshimaki<sup>1</sup>, Risa Kigami<sup>1</sup>, Koichi Ito<sup>2,3</sup>

#### 【目的】

副甲状腺ホルモン (PTH) は、生体内のカルシウム濃度を調節するホルモンとして知られている。PTH (1-34) は、PTH をリコピナントすることにより作られた骨粗鬆症薬である。骨芽細胞に作用することで骨形成を促し、破骨細胞に作用することで骨吸収を促進する 2 つの作用を有する。PTH の持続投与は、骨吸収を誘導し、骨量を減少するが、間歇投与することによって、骨形成が有意に促進させられることが知られている。そこで、PTH (1-34) の間歇投与による骨再生を検討するために、ラット頭頂骨に作製した臨界骨欠損および非臨界骨欠損の骨再生の動態をマイクロ CT による観察および組織学的検討を行った。

#### 【材料および方法】

12 週齢のラット (F344/Jcl) に、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内注射 (50 mg/kg) の全身麻酔を行った。ついで、ラット頭頂部に 2% 塩酸リドカイン (1 : 80,000 アドレナリン含有歯科用キシロカインカートリッジ) 約 0.5ml を用いて局所麻酔を施し、頭部皮下に切開を加えて皮膚骨膜弁を形成、剥離、翻転した。そして、ラットの頭頂部に矢状縫合に添って左側に直径 2.7 mm のトレファインバーを用いて非臨界骨欠損を作製、右側には直径 5.0 mm のトレファインバーを用いて臨界骨欠損を作製した。その後、骨膜は吸収性縫合糸を、皮膚は非吸収性縫合糸を用いて縫合を行った。実験群として手術日を 0 週とし、PTH (1-34) (商品名 : テリボン, 旭化成ファーマ) を 10 匹, 毎日 13 μg 腹腔内投与した。コントロール群には、同様の骨欠損を作製した後に、同量の生理食塩水を 10 匹投与した。実験動物用 3D マイクロ X 線 CT (マイクロ CT, 理学メカトロニクス, 東京) を用いて、4 週目まで隔週で撮影した。4 週目にて組織標本を採取し、4% パラホルムアルデヒドにて固定、4% EDTA にて脱灰を行い、パラフィン包埋し HE 染色にて組織学的観察を行った。

#### 【結果および考察】

マイクロ CT 観察の結果から非臨界骨欠損側において実験群はコントロール群と比較し、術後 2 週から術後 4 週まで新生骨が有意に観察された ( $p < 0.05$ )。また、臨界骨欠損側においては、術後 3 週から術後 4 週まで新生骨が有意に実験群において観察された ( $p < 0.05$ )。組織学的には、実験群の両骨欠損側において骨芽細胞様細胞が観察された。とくに、既存骨辺縁周囲に骨芽細胞様細胞がコントロール群と比較し、有意に観察された。

#### 【結論】

PTH (1-34) の間歇投与は、ラット頭頂骨に作製した骨欠損に対して、既存骨辺縁の骨芽細胞に作用することによって、早期に骨再生を促進することが示唆された。

### BMP とエムドゲインの併用が水平性骨欠損の歯周組織治癒に及ぼす影響

北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室  
\*北海道大学大学院歯学研究科 口腔機能学講座 リハビリ補綴学教室,  
○齋藤 恵美子, 齋藤 彰\*, 弓削文彦\*, 中島利徳\*, 上北広樹\*, 川浪雅光

#### Periodontal healing after implantation of BMP and Emdogain in horizontal defects of dogs

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine, \*Department of Oral Rehabilitation, Division of Oral Functional Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine,

○SAITO Emiko, SAITO Akira\*, YUGE Fumihiko\*, NAKAJIMA Toshinori\*, UEKITA Hiroki\*,  
KAWANAMI Masamitsu

#### 【目的】

Bone morphogenetic protein (BMP) は、骨形成能を持つ成長因子であり、口腔領域では、すでに歯槽骨および顎骨の再建や増大などに臨床応用されている。しかし、歯周組織欠損部に応用した場合、歯槽骨の形成は促進するが、骨性癒着や根吸収を生じることが報告され、いまだ臨床応用されていない。一方、Enamel matrix derivative (EMD、以下 エムドゲイン)は、エナメルマトリックス蛋白からなり、歯根膜細胞の分化、増殖を促進して、結合組織性付着の形成を促進することが報告されている。しかし、歯周組織欠損部でBMPとエムドゲインを併用した場合、歯周組織の治癒にどのように影響するのか、まだ明らかにされていない。

本研究の目的は、再生が困難と考えられる水平性骨欠損部に対して、BMPとエムドゲインの併用が、歯周組織再生に与える影響を検索することである。

#### 【方法】

本研究は、北海道大学動物実験指針に基づいて、承認を得て行った。(承認番号 第08-0257号) 実験部位はビーグル犬5頭の上下前歯50歯を用いた。実験に先立ち、ビーグル犬に固形飼料を与え、週1回のブラッシングと0.5%クロルヘキシジン塗布により、歯周組織の健康を確立した。水平性骨欠損は前歯のCEJより高さ4mmの歯槽骨を削除して作製し、露出根面はスクーリング・ルートプレーニングをおこなって、歯根膜とセメント質を除去した。その後、24%EDTAにて根表面を3分間処理、水洗した後、以下の5群に分けて処置を行い、その後、肉肉弁を復位縫合した。SEB群(N=10)は、根面にエムドゲインゲル4.0 $\mu$ lを塗布した後、BMP4.0 $\mu$ lを配合したコラーゲン膜(3×3×3 mm)の移植を行った。

MEB群(N=10)は、エムドゲインゲル4.0 $\mu$ lとBMP4.0 $\mu$ lを混和した後、コラーゲン膜(3×3×3 mm)に配合し移植した。

B群(N=10)は、BMP4.0 $\mu$ lを配合したコラーゲン膜(3×3×3 mm)を移植した。

E群(N=10)は、根面にエムドゲインゲル4.0 $\mu$ lを塗布した後、コラーゲン膜(3×3×3 mm)の移植を行った。

対照としてC群(N=10)は、根面にコラーゲン膜(3×3×3 mm)の移植を行った。

観察期間は、8週とした。評価方法は、通法に従い病理組織標本を作製して、HE染色後に病理学的観察および組織計測を行った。統計学的分析は、Kruskal-Wallis testを用いた。

#### 【結果と考察】

術後の治癒は、肉眼的に歯肉の炎症もほとんど認められず、概ね良好であった。組織計測では、上皮のダウングロースは、C群が74.9 $\pm$ 8.1%で、他の3群よりも有意(P<0.01)に大きかった。新生骨の高さは、SEB群(40.5 $\pm$ 5.1%)、MEB群(40.1 $\pm$ 6.8%)が、C群(-1.4 $\pm$ 2.4%)、E群(1.6 $\pm$ 2.0%)よりも有意(P<0.01)に大きかった。新生セメント質の長さ、SEB群(61.6 $\pm$ 7.8%)、E群(38.3 $\pm$ 11.2%)が、C群(3.0 $\pm$ 4.0%)、B群(5.8 $\pm$ 7.6%)よりも有意(P<0.01)に大きかった。骨性癒着は、MEB群(6.0 $\pm$ 10.3%)、B群(1.1 $\pm$ 2.6%)が、C群(0.0 $\pm$ 0.0%)、SEB群(0.0 $\pm$ 0.0%)よりも有意(P<0.01)に大きかった。SEB群は、骨性癒着を認めなかった。

以上の結果より、SEB群では、エムドゲインが根面の歯根膜細胞の増殖を促進し、骨欠損部に移植したBMPが根面のセメント質形成に協調的に関与したことが、一方、骨欠損部では、BMPによる骨形成に際して、エムドゲインによって増殖した細胞が供給された可能性が考えられた。それに対して、BMPとエムドゲインを混合したMEB群の場合、硬組織形成が促進されて、根面で骨性癒着の発生が促進された可能性が示唆された。以上のことより、BMPとエムドゲインは、骨欠損と根面に分けて移植することによって、水平性骨欠損部において歯周組織再生を促進する可能性が示唆された。

## 三次元培養した間葉系幹細胞由来軟骨細胞を用いた歯周組織再生のメカニズム解析

株式会社ジーシー  
○山中 克之, 熊谷 知弘

### Investigation of periodontal tissue formation mechanism using 3D-cultured mesenchymal stem cell derived chondrocyte.

GC Corporation  
○Katsuyuki Yamanaka, Tomohiro Kumagai

#### 【研究目的】

我々は強度と気孔径を最適化させた機能性 scaffold に骨髄由来間葉系幹細胞 (以下 MSC) を播種し、軟骨分化させた細胞 (Mesenchymal stem cell derived chondrocyte, 以下 MSC-DCs) が大腿骨の全周性骨欠損モデルの再生に有用である事を報告しており (原田紀子ら. 日整会誌 86, 2012), 本大会ではさらに歯周組織の再生にも有用である事を別途報告している。本研究では MSC-DCs からなる軟骨様組織から骨が形成されるメカニズム解析を目的に, MSC-DCs 移植体の作製から移植後の経時変化を組織学的に検索し, 評価を行ったので報告する。

#### 【材料および方法】

三次元培養MSC-DCs移植体に最適なscaffoldは, 気孔率 (70-90%), 圧縮強度 (0.05-0.80 MPa), および気孔径 (260-740  $\mu$ m) の異なる12種類のPLGA (LA:GA=75:25, MW.120,000) scaffoldの中から軟骨形成効率と形状安定性から選定した (金子正ら. 再生医療 12, 2012)。4週齢F344ラット大腿骨・脛骨骨髄を10%FBS, 3 ng/ml FGF-2 含有 $\alpha$ MEM培地で培養してMSCを増殖させ (Tsutsumi S et al. BBRC., 2001), PLGA scaffoldに播種した後, 軟骨分化誘導を行い, 頭蓋用 $\phi$ 9 $\times$ 2 mm, 上顎用3 $\times$ 3 $\times$ 1 mmの3次元培養MSC-DCs移植体を作製した。10週齢の同系ラットを2群に分け, 頭蓋骨骨膜下, および上顎歯槽骨第一臼歯頰側骨膜下に前述の移植体を移植した (各群N=3)。比較対照としてscaffoldのみを移植する群 (各群N=3) を設定した。2, 4, 8週後にラットを安楽死させた後, 頭蓋および上顎を回収し,  $\mu$ CTおよび各種病理組織学的評価 (H&E染色, Alcian Blue染色, TRAP染色) を行った。

#### 【結果】

頭蓋骨および上顎歯槽骨の骨膜下へ移植したMSC-DCs移植体中のAlcian Blue陽性の軟骨組織は移植後2週の早期から減少し始め, 骨組織へと置換されるに従って減少した。移植体内部への血管侵入も移植後2週から多数観察され, 血球系細胞の浸潤が観察された。骨髄の形成も移植後2週から再生した骨内部で観察され, 移植後の経過日数に依存して成熟していく傾向にあった。移植後8週には巨核球の存在も確認され, 造血機能を有した骨・骨髄組織が形成されている事が確認された。TRAP陽性細胞の出現は上顎歯槽骨の方が頭蓋骨と比較して早く, 軟骨と骨の界面に多く見られた。形状は不定で多核の破骨細胞とは異なっていた。骨芽細胞は新生骨の表面に並んで観察され, 軟骨の表面を覆うように骨を形成していく様子が観察された。 $\mu$ CTによる評価では頭蓋骨, 上顎歯槽骨ともに移植体の外周部に一層の石灰化組織が早期に観察され, その後内部で散発的な石灰化組織の形成が観察された。

#### 【考察および結論】

MSC-DCs移植体は早期に骨, 骨髄へと置換され, 境界部にはTRAP陽性細胞が観察され, 新生骨表面には骨芽細胞が観察されたことから, 軟骨内骨化のメカニズムで骨が形成されていることが示唆された。また, 移植体表面では宿主骨膜性の骨形成が観察され, 移植体と骨膜の作用により骨が形成されている事が示唆された。MSC-DCs移植体の骨化では移植体中に血管が入り込むことで, 軟骨が肥大化して石灰化し, TRAP陽性細胞による吸収が起こり, これに呼応する形で宿主由来骨芽細胞による骨形成が起こり, 骨が再生したものと推測される。この作用機序は大腿骨, 頭蓋骨, 上顎歯槽骨の全てのモデルで類似しており, MSC-DCs移植体は使用する部位に関係することなく, 軟骨内骨化のメカニズムで早期に骨を形成する新しい再生治療材料になりうるものと考えられる。



### Activin A がヒト歯根膜細胞に及ぼす影響について

<sup>1</sup>九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、<sup>2</sup>九州大学病院歯内治療科、  
<sup>3</sup>アデレード大学歯学部歯周病学講座

○杉井英樹<sup>1</sup>, 前田英史<sup>2</sup>, 友清淳<sup>3</sup>, 山本直秀<sup>1</sup>, 郡勝明<sup>1</sup>, 和田尚久<sup>2</sup>, 門野内聡<sup>2</sup>, 濱野さゆり<sup>1</sup>,  
長谷川大学<sup>1</sup>, 祐田明香<sup>1</sup>, 寺松陽子<sup>1</sup>, 河野清美<sup>2</sup>, 吉田晋一郎<sup>1</sup>, 赤峰昭文<sup>1,2</sup>

#### The effect of Activin A on human periodontal ligament cells.

<sup>1</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, <sup>2</sup> Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, <sup>3</sup> Colgate Australian Clinical Dental Research Centre, School of Dentistry, University of Adelaide. ○Hideki Sugii<sup>1</sup>, Hidefumi Maeda<sup>2</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>3</sup>, Naohide Yamamoto<sup>1</sup>, Katsuaki Koori<sup>1</sup>, Naohisa Wada<sup>2</sup>, Satoshi Monnouchi<sup>2</sup>, Sayuri Hamano<sup>1</sup>, Daigaku Hasegawa<sup>1</sup>, Asuka Yuda<sup>1</sup>, Yoko Teramatsu<sup>1</sup>, Kiyomi Kono<sup>2</sup>, Shinichiro Yoshida<sup>1</sup>, Akifumi Akamine<sup>1,2</sup>

【研究目的】Activin A は transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) superfamily に属する inhibin $\beta$  の 2 量体蛋白質であり、脳下垂体からの FSH 分泌促進、中胚葉誘導作用、そして濃度依存的組織分化誘導といった多くの事象への関与が明らかにされている。骨に関しては、*in vitro* では骨形成抑制の報告が多く存在する。一方、*in vivo* では骨形成、骨折治癒の促進といった報告がなされている。口腔領域ではマウス歯胚間葉の初期で歯小嚢に発現が認められ、Activin A の変異体は歯根膜組織を含めた上顎臼歯以外の歯が欠損することが知られている。しかしながら現在のところ、ヒト歯根膜組織に対する Activin A の作用については明らかにされていない。そこで本研究では(1)ヒト歯根膜細胞(HPDLCs)における Activin A の発現、ならびに(2) Activin A が HPDLCs の走化性、遊走能、増殖能、骨芽細胞様分化、そして線維芽細胞様分化に及ぼす影響、(3)歯根膜組織の創傷部位における Activin A の発現について検討した。

【材料および方法】矯正治療を目的に本院を受診し、本研究に同意を得られた 3 名の患者の抜去歯牙より歯根膜組織を採取し、10%Fetal Bovine Serum 含有の $\alpha$ -MEM(10%FBS/ $\alpha$ -MEM)にて 4-7 継代培養した細胞を HPDLC-3S(23 歳男性)、-3Q(21 歳女性)、-30(20 歳女性)として本研究に用いた。(1) HPDLCs における inhibin $\beta$ 、Activin receptor- I a, - I b, - II a, - II b の遺伝子発現を、PCR 法を用いて解析した。(2) modified Boyden Chamber assay, Scratch wound healing assay, 及び Proliferation assay(Takara)を用いて、Activin A が HPDLCs の走化性、遊走能、増殖能に及ぼす影響について検討した。次に、Activin A の存在下で培養した HPDLCs において Alizarine red 染色ならびに骨及び、線維関連遺伝子発現について解析した。(3) ラット歯根膜傷害モデル(5 週齢、雄性、SD ラット)の左側上顎臼歯部の組織切片を用いて Activin A 抗体(R&D Systems)ならびに IL-1 $\beta$ 抗体(Santa Cruz Biotechnology)による免疫組織化学的染色を行った。また、炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) にて刺激した HPDLCs における inhibin $\beta$  の遺伝子発現について解析した。なお本研究は九州大学大学院歯学研究院倫理委員会の承認を得て実施された。

【結果】(1)HPDLCs において inhibin $\beta$  及び 4 種類の Activin receptor の遺伝子発現を認めた。(2) 100ng/ml の Activin A 存在下で、HPDLCs の走化性及び、遊走能は刺激後 2 日目、そして増殖は刺激後 3 日目で有意に促進する結果が得られた。また、Activin A は Ca 含有培地にて培養した HPDLCs における Alizarin red 陽性反応を抑制する傾向が認められた。一方、Activin A 単独で刺激した HPDLCs では、COL-1、Periostin の遺伝子発現が有意に促進した。(3) ラット歯根膜傷害モデルを用いて Activin A 抗体、IL-1 $\beta$ 抗体による免疫組織化学的染色を行った結果、傷害側では創部近傍の歯根膜組織にていずれも強い陽性反応を認め、非傷害側では Activin A 抗体に弱陽性反応を呈した。また、IL-1 $\beta$ 抗体に陽性反応は存在しなかった。IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 刺激 (12, 24 時間) 下で HPDLCs における inhibin $\beta$  の発現は有意に促進した。

【考察】本研究の結果から、傷害によって惹起された炎症性サイトカインにより、炎症早期に Activin A の発現が促進することが示唆された。また、組織の治癒過程において細胞の走化性、遊走能、増殖は重要な過程であるが、本研究において、Activin A は HPDLCs に対してこれらを有意に促進し、さらに HPDLCs の骨芽細胞様分化を抑制し、線維芽細胞様分化を促進することが示唆された。これらのことより、Activin A は歯根膜組織の創傷治癒に関与していることが推察された。

【結論】(1) HPDLCs は inhibin $\beta$  及び 4 種類の Activin receptor 遺伝子を発現している。(2) Activin A は HPDLCs の走化性、遊走能、増殖能、そして線維芽細胞様分化を促進し、骨芽細胞様分化を抑制する。(3) 傷害を受けた歯根膜組織は、炎症病態下で Activin A の発現を促進する。

## 異なる濃度のナノ $\beta$ -TCP 分散液でコーティングした コラーゲンスキャフォールドの特性評価

北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室  
○宮治 裕史, 西田 絵利香, 村上 秀輔, 川浪 雅光

### The properties of collagen scaffold modified by nano $\beta$ -TCP dispersion with different concentrations.

Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine.

○MIYAJI Hirofumi\*, NISHIDA Erika, MURAKAMI Shusuke, KAWANAMI Masamitsu.

#### 【研究目的】

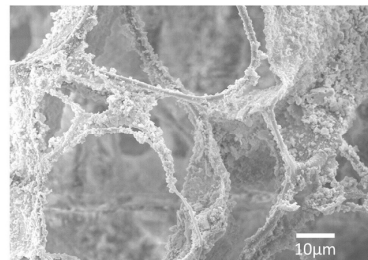
$\beta$ -三リン酸カルシウム ( $\beta$ -TCP) は優れた骨伝導性, 生体親和性を有するが, 歯周組織再生用スキャフォールドとして応用するには, 吸収が遅く生体内に長期に残存する問題点がある. 我々は  $\beta$ -TCP をナノサイズ粒子にすることで表面積が拡大され, 吸収性をはじめとした様々な活性が上昇すると考え, ナノ  $\beta$ -TCP 分散液でコラーゲンスキャフォールドをコーティングして生体応用した. その結果, 骨増生效果を認め, 同時にスキャフォールドの吸収性が促進された (第 137 回日本歯科保存学会学術大会にて発表). 今回さらに, ナノ  $\beta$ -TCP 分散液の濃度を変えてコーティングを行い, スキャフォールドの特性変化について評価したので報告する.

#### 【材料および方法】

$\beta$ -TCP (平均粒径 2.3  $\mu\text{m}$ , 富田製薬より提供) をナノ粉砕機にて粉砕し, 両性イオン界面活性剤と有機溶媒 (NMP) を用いて分散液を作製した. ナノ  $\beta$ -TCP の粒径は平均 84nm であった. コラーゲンスキャフォールド (テルダーミス (R), オリンパスステルモバイオマテリアルより提供) を  $6 \times 6 \times 3\text{mm}$  の大きさに裁断, 3 種類の濃度 (0.1, 1, 5wt%) に調整したナノ  $\beta$ -TCP 分散液でコーティング後, 洗浄乾燥した. コントロールとして溶媒のみで処理したスキャフォールドを用意した. 各試料の重量および圧縮強度を測定した. また SEM にて各試料の表面および内部を観察した. 細胞親和性の評価として, MC3T3-E1 細胞をスキャフォールドに播種して 24 時間後に SEM 観察した. 次にラット背部皮下へ各試料を移植して, 10 日後に組織標本作製, 顕微鏡観察を行った. また, 移植後 10 日の各スキャフォールドを皮下より摘出して スキャフォールドに含まれる細胞の DNA 量を計測した.

#### 【結果と考察】

コラーゲンスポンジはコーティングによって若干変色したが形状に変化は見られなかった. 試料の重量は分散液濃度に依存して増加, 圧縮強度は 5wt% 分散液コーティングスキャフォールドでコントロールの約 2 倍を示し有意に向上した. SEM 観察においてコラーゲンスキャフォールドの表面にナノサイズの  $\beta$ -TCP 粒子が付着しているのが観察され, スキャフォールド表面と内部の粒子付着状態は同等であった. また  $\beta$ -TCP 分散液の濃度依存性に付着粒子が増加した. 培養試験の結果, スキャフォールド表面への細胞の付着伸展を認めた. また, ラット背部皮下へ移植されたスキャフォールド周囲への炎症性細胞浸潤もほとんど認められず, 細胞・組織親和性は良好であると考えられた. また, ナノ  $\beta$ -TCP コーティングによってスキャフォールドへの線維芽細胞, マクロファージ等の ingrowth が多く認められ, 血管新生も盛んであった. DNA 測定の結果, 5wt% コーティングスキャフォールドはコントロールの約 4 倍, 1wt% で約 3 倍の値であり, ナノ  $\beta$ -TCP 分散液の濃度依存性に細胞の ingrowth が増加することが明らかとなった.



SEM image of nano  $\beta$ -TCP scaffold

#### 【結論】

ナノ  $\beta$ -TCP 分散液のコーティング濃度依存性にコラーゲンスキャフォールドの強度および生体適合性が向上した.

## エレクトロスピンニング法によるナノファイバーコラーゲン膜の作製

日本大学松戸歯学部 再生歯科治療学講座<sup>1</sup>、歯科生体材料学講座<sup>2</sup>

○村山 優<sup>1</sup>, 牧村英樹<sup>1</sup>, 大鹿沙弥香<sup>1</sup>, 横田容子<sup>1</sup>, 染井千佳子<sup>1</sup>, 菊地信之<sup>1</sup>, 木村功<sup>1</sup>, 谷本安浩<sup>2</sup>, 和田守康<sup>1</sup>

### Fabrication of nano-fiber collagen membrane using the electrospinning

Departments of <sup>1</sup>Renascent Dentistry and <sup>2</sup>Dental Biomaterials Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Yu MURAYAMA<sup>1</sup>, Hideki MAKIMURA<sup>1</sup>, Sayaka OOSHIKA<sup>1</sup>, Yoko Yokota<sup>1</sup>, Chikako SOMEI<sup>1</sup>, Nobuyuki KIKUCHI<sup>1</sup>,  
Koh KIMURA<sup>1</sup>, Yasuhiro TANIMOTO<sup>2</sup> and Moriyasu WADA<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯周病や歯根のう胞等を原因とする骨欠損やインプラント埋入時における骨増生にGTR、GBR膜（細胞遮断膜）等を用いた歯周組織再生法は早くから臨床の場で応用されてきた。細胞遮断膜の所要条件として細胞の吸着性、生体親和性、多孔質性などが挙げられ、特に吸収性膜の場合には膜の吸収にともない、機械的強度が減少しスペースメイキング能力もなくなるため、吸収スピードは組織再生と同じ速さである事が理想である。

また近年、エレクトロスピンニング技術の再生医療用材料への応用が検討されている。エレクトロスピンニング法とは、高分子溶液などに高電圧を流すことによってノズルから溶液を金属コレクタに対してスプレーしつつ、溶媒を蒸発させることで電氣的に紡糸する方法である。これにより数ナノ～数マイクロメートル径の細いファイバーを作ることが可能である。ナノファイバーは広い表面積を有し、細胞や生体成分の湿潤が容易に起こると考えられ、またナノファイバーが複雑に絡まり合って3次元構造を形成するため、多方向に対して優れた機械的性質を有するものと考えられる。そこで本研究ではナノ～サブミクロンスケールのコラーゲンやPLLAファイバーを歯周組織再生治療の細胞遮断膜として臨床応用することを目指し、まず今回はエレクトロスピンニング法によりナノファイバー構造を有するコラーゲン膜の作製を試みた。

#### 【材料及び方法】

本研究では出発原料として、吸収性高分子材料であるアテロコラーゲンパウダー（高研）を用い、また溶媒には1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール（和光）を用いた。これらにより60mg/mlの溶液を調製し、エレクトロスピンニングすることにより、コラーゲンナノファイバーを作製した。エレクトロスピンニングによるナノファイバー膜の作製条件は、印加電圧20kV、溶液量2.0ml/h、ノズル間とコレクタ板までの距離10cmとした。また作製したナノファイバー膜の収集を容易にするため、ステンレス製のコレクタ板表面にアルミ箔を貼り付けた。

作製したナノファイバーコラーゲン膜について、電界放射走査電子顕微鏡（FE-SEM；JSM-6340F、JEOL）により構造観察を行なった。

#### 【結果および考察】

本研究で作製したナノファイバーコラーゲン膜のFE-SEM観察の結果、約300～700nm以下のナノファイバーで形成された3次元構造が確認できた。一般にエレクトロスピンニング法により作製されるナノファイバーの構造は、ポリマーの分子量、ポリマー溶液の濃度、印加電圧やコレクタとノズル間との距離などに影響される。特にポリマー溶液の濃度は重要であり、濃度が低いとファイバー化せず、ビーズ（粒子状形成物）が発生し、濃度が高いとファイバー化するファイバー径が大きくなる。そのためエレクトロスピンニング法を応用する際、最適なポリマー濃度を選定する必要があるが、本研究の場合には60mg/mlの濃度が最適であった。その一方で今回得られたナノファイバーコラーゲン膜の機械的強度は低く、操作性に難があり、今後は膜の機械的強度の向上のためにPLLAとの複合化などが考えられる。

以上のことから、エレクトロスピンニング法により得られたナノファイバーコラーゲン膜は、その構造面から歯周組織再生治療での細胞遮断膜として有用であると想定されるが、今後各種生体由来因子の吸着設計および機械的性質などの観点からさらなる検討を行っていく予定である。

*Porphyromonas gingivalis* からなるバイオフィーム性モデル実験系作製の試み

○藤原 守、林 善彦  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齲蝕学分野

**The preliminary *in vitro* study for biofilm formation consisting of *Porphyromonas gingivalis***

○Fujiwara Mamoru, Hayashi Yoshihiko  
Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

緒言

これまで我々の教室では、齲蝕原性細菌である *S. mutans* および成人性歯周炎の代表的な原因菌である *Porphyromonas gingivalis* (P. g 菌) に対し、甲殻類由来の多糖であるキチンを脱アセチル化することによって得られるキトサンが、高い発育抑制作用を有することを明らかにした (第 131 回日本歯科保存学会学術大会)。

しかしながら従来、抗菌活性の評価は寒天平板或いは静置された培養液中での菌増殖の抑制を図ることによってなされてきた。このような“浮遊形態の細菌”に対する効果を明らかにすることはそれ自体一定の意味はある。しかし、より実際の口腔環境および感染形態に近いバイオフィーム様状態となった菌を対象とすることが、臨床に資する所は大きく、基礎研究においては不可欠な実験手法となっている。

P. g 菌からなるバイオフィームに関しては多くの報告がなされているが、その多くは形成されたバイオフィームの形状、遺伝子発現、などに関する研究からなっており、バイオフィームそれ自体がいかにして形成されていくか、その発達・成長過程自体を扱ったものは少ないようである。P. g 菌バイオフィームの形成モデル実験において、すでに菌体外マトリックス様構造物が形成されることが観察されている。また、浮遊形態の菌には感受性を示す抗菌剤でも、必ずしもバイオフィーム中の菌に対しては効果を有するわけではないことも報告されている。

以上のような背景の下で、バイオフィームをも含めた P. g 菌への種々な抗菌活性物質の影響を検討するために必要となる、バイオフィーム形成モデルの基礎データを得る目的で今回の実験・観察を行った。

方法

今回、疑似血管画像解析装置である Cellix VenaFulux システム (Cellix 社、アイルランド) に装着した Vena8 バイオチップ内でのバイオフィーム形成条件を種々検討した。すなわち、灌流速度を種々変化させることによって、バイオフィームの形成過程は光学顕微鏡を用いて直接観察・撮影を行った。

結果とまとめ

Vena8 バイオチップの流路を構成するカバーガラス上で、流量を調整すること {低速灌流状態 (0.05dyne/cm<sup>2</sup> 以上)} で P. g 菌の経時的な集積を観察・確認できた。キトサンを始めとした生物由来の抗菌物質は、一般に殺菌的作用と共に静菌作用も有しているとされている。

今回、キトサンによる P. g 菌バイオフィームの形成阻害効果の有無を明らかにするための基礎的なデータとして、形成過程の光学顕微鏡観察ができた意義は大きいものと考えている。今後は、今回のバイオフィームモデル系を用い、キトサンの種類、濃度、作用時間を変化させた時の抗菌作用を検討したいと考えている。

文献

1. Fujiwara M, Hayashi Y, Ohara N, Inhibitory effect of water-soluble chitosan on growth of *Streptococcus mutans*, *New Microbiologica*, 27(1), 83-86,2004
2. Hayashi Y: Application of chitosan oligosaccharide and glucosamine in dentistry. In *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*, ed. Se-Kwon Kim, CRC Press- Taylor & Francis Group, 447-460, 2010.

Papillon-Lefevre 症候群患者の口腔内細菌叢  
- 特に歯周ポケット内細菌について -

日本大学松戸歯学部<sup>1</sup> 口腔微生物学,<sup>2</sup> 再生歯科治療学,<sup>3</sup> 小児歯科学講座  
○平田亮太郎<sup>1</sup>, 牧村英樹<sup>2</sup>, 荒井清司<sup>3</sup>, 横田容子<sup>2</sup>, 木村 功<sup>2</sup>, 長濱文雄<sup>2</sup>, 前田隆秀<sup>3</sup>, 和田守康<sup>2</sup>

Oral microflora of Papillon-Lefevre syndrome  
-Detection of bacteria in periodontal pocket-

Departments of <sup>1</sup> Microbiology and Immunology, <sup>2</sup> Renascent dentistry and <sup>3</sup> Pediatric dentistry,  
Nihon University School of Dentistry at Matsudo  
○Ryoutaro HIRATA<sup>1</sup>, Hideki MAKIMURA<sup>2</sup>, Kiyoshi ARAI<sup>3</sup>, Yoko YOKOTA<sup>2</sup>, Koh KIMURA<sup>2</sup>, Fumio NAGAHAMA<sup>2</sup>,  
Takahide MAEDA<sup>3</sup> and Moriyasu WADA<sup>2</sup>

【研究目的】

Papillon-Lefevre症候群(PLS)は、手足の過角化および乳歯列、永久歯列における高度な歯周組織破壊を示し、成人までに無歯顎となってしまう難治性の歯周疾患を伴う症候群である。本症候群は常染色体劣性遺伝で発症し、カテプシンC遺伝子の変異が発症と関連しているカテプシンCの酵素活性欠如により皮膚の上皮細胞剥離脱落を阻害し過角化症の要因となるといわれており、口腔内では接合上皮の早い代謝と剥離しやすい傾向が歯周疾患を誘導する要因となっているとされる。歯科領域における本疾患の治療法としては、抗菌薬による歯周病関連細菌の除去、ならびに口腔内ケアであるが、本症例における口腔内細菌叢の文献は散見される程度である。そこで今回我々は、PLS患者の歯周ポケット内浸出液より試料を採取、培養し、無作為に100菌株を選択し、16S rRNA遺伝子の配列をもとに菌種同定を行ったところ興味深い知見を得たので報告する。

【対象と方法】

日本大学松戸歯学部付属病院・小児歯科を受診した初診時年齢10歳5ヶ月の女児の歯周ポケット内浸出液を実験に供した。近医で歯周治療を行っていたが、歯の動揺がおさまらないことを主訴として紹介来院した。乳歯列期からの歯周疾患と乳歯の早期脱落が認められた。先天性角化症と若年性歯周炎であったため遺伝子検査を行った結果、PLSと診断された。採取した歯周ポケット内浸出液は、超音波分散後、血液寒天培地に接種した。嫌気培養後、100株を分離培養し、染色体DNAを抽出した。16S rRNA遺伝子をPCRにて増幅し、塩基配列を決定した。得られた塩基配列はDDBJのblastデータベースにて検索し、菌種を同定した。また、歯周病原性細菌の検出比率を検討するため総菌用培地として血液寒天培地、黒色色素産生菌用の選択培地としてカナマイシン、ヘミン、メナジオン含血液寒天培地、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. a*) 用選択培地としてAASM培地、さらに真菌である*Candida albicans* (*C. a*)用の選択培地としてカンジダサブロー培地を使用した。培養方法は通法に従った。加えて、通法に従いDNA genotypeを検討した。本実験は日本大学松戸歯学部倫理委員会(承認番号EC 12-006)の承認を、被験者および保護者には事前説明したのち同意を得て行った。

【結果】

血液寒天培地から分離した100株の菌種同定を行ったところ、次の結果を得た。最も優勢であったのは*Streptococcus*属の59%であり、*S. anginosus*, *S. sanguinis*, *S. intermedius*の3菌種が大半を占めていた。次に優勢なのは*Actinomyces*属の24%であり、*A. naeslundii*が多かった。また歯周病原性細菌種の検出比率を検討したところ、PLSで検出頻度が高いとされ、侵襲性歯周炎の主要な原因菌である*A. a* は検出されなかった。慢性歯周炎への関連が深い黒色色素産生菌はわずかながら検出された。さらに興味深いことに、*C. a*を培養したところ集落形態が異なる2種類の*C. a*が検出されDNA genotypeを検討した結果genotype A, 及びCが検出された。

【考察】

PLSにおける歯周病治療として抗菌剤投与による治療の有効性が示されているが、安易な抗菌剤投与は菌交代現象を引き起こし、より重篤な疾患へとつながる可能性が示唆され、抗菌剤の選択、真菌の影響など治療法に関して更なる検討が必要なものと推察された。

## 東京歯科大学水道橋病院における歯周外科治療の臨床結果

東京歯科大学口腔健康臨床科学講座総合歯科学分野<sup>1</sup>, 歯周病学講座<sup>2</sup>  
○早川裕記<sup>1</sup>, 細川壮平<sup>1</sup>, 古澤成博<sup>1</sup>, 齋藤 淳<sup>2</sup>

### Clinical outcome of surgical periodontal therapy at Tokyo Dental College Suidobashi Hospital

Division of General Dentistry, Department of Clinical Oral Health Science<sup>1</sup>,  
Department of Periodontology<sup>2</sup>, Tokyo Dental College  
○HAYAKAWA Hiroki<sup>1</sup>, HOSOKAWA Sohei<sup>1</sup>, FURUSAWA Masahiro<sup>1</sup>, SAITO Atsushi<sup>2</sup>

#### 【目的】

深い歯周ポケットの残存は、清掃用具の到達を困難にし、歯周ポケット内部が歯周病原細菌の温床となり、さらなる歯周炎の進行につながる。歯周外科治療は歯周基本治療では除去できない原因因子の除去、歯周組織の生理的な形態の回復、審美性の改善を目指しているが、科学的根拠や確立した治療指針に基づき適切に実施する必要がある。そのためには、術者自身が行っている臨床結果について評価し、併せて検討することも重要となる。今回、我々は所属診療科における歯周外科治療の現状を把握し、臨床結果について評価することを目的に調査を行った。

#### 【材料および方法】

東京歯科大学水道橋病院総合歯科において、2010年4月から2012年3月までの期間に行われた歯周外科治療を対象とした。歯周外科記録用紙(1.症例基本情報 2.歯周外科の種類 3.手術部位 4.初診時、基本治療後および外科後の歯周パラメーターの項目を含む)を使用して術者が記録し、提出されたものを解析した。

#### 【結果および考察】

中等度から重度歯周炎を有する患者計80名(男性31名,女性49名,平均年齢54歳)に対し歯周外科治療が、計17名の術者により行われ、症例総数は138であった。歯周基本治療後に行われた歯周外科手術の内訳は、フラップ手術102例、歯周組織再生療法29例、歯周形成外科7例であった。フラップ手術および歯周組織再生療法の症例は、骨内欠損(1壁性から3壁性)が17例、根分岐部病変は12例であった。歯周組織再生療法としては、エナメルマトリックスデリバティブ(EMD, 先進医療として実施)または骨移植が選択されていた。歯周外科治療後の再評価の結果、フラップ手術群では、プロービングデプスの減少は平均3.9mm, アタッチメントゲインは平均2.3mmであった。歯周組織再生療法群は、それぞれ4.0mm, 2.8mmであった。歯周組織再生療法群はフラップ手術群と比較し、4mm以上のアタッチメントゲインの割合が多く、初診時8mm以上の深い歯周ポケットにおいて、有意に大きなアタッチメントゲインが認められた( $p < 0.05$ )。プロービング時の出血は歯周基本治療後に60%と高い値を示していたが、歯周外科治療後、16%に改善された。治療による動揺度の有意な変化は認められなかった。

#### 【結論】

歯周外科手術は、主にフラップ手術が選択されており、歯周組織再生療法ではEMDの応用症例が大部分を占めていた。深い歯周ポケットに対しては、歯周組織再生療法の有用性が示唆された。

## ヒノキチオール配合ジェルを用いた口腔ケアが口臭及び口腔内環境に与える影響

<sup>1)</sup>福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野

<sup>2)</sup>福岡歯科大学 口腔医療センター

○伊波幸作<sup>1)</sup>, 鈴木奈央<sup>1)</sup>, 米田雅裕<sup>2)</sup>, 山田和彦<sup>1)</sup>, 岩元知之<sup>1)</sup>, 榊尾陽介<sup>1)</sup>, 藤本暁江<sup>1)</sup>, 瀬野恵衣<sup>1)</sup>, 春名一人<sup>1)</sup>, 安 忠大<sup>1)</sup>, 入江丹佳子<sup>1)</sup>, 西原哲世<sup>1)</sup>, 仲西宏介<sup>1)</sup>, 廣藤卓雄<sup>1)</sup>

### Effect of mouth cleaning by hinokitiol-containing gel on oral malodor and oral conditions

<sup>1)</sup>Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

<sup>2)</sup>Center for Oral Diseases, Fukuoka Dental College

○Iha K<sup>1)</sup>, Suzuki N<sup>1)</sup>, Yoneda M<sup>2)</sup>, Yamada K<sup>1)</sup>, Iwamoto T<sup>1)</sup>, Masuo Y<sup>1)</sup>, Fujimoto A<sup>1)</sup>, Seno K<sup>1)</sup>, Haruna K<sup>1)</sup>, Yasu T<sup>1)</sup>, Irie T<sup>1)</sup>, Nishihara T<sup>1)</sup>, Nakanishi K<sup>1)</sup>, Hirofuji T<sup>1)</sup>

【研究目的】ヒノキチオールは、歯周病関連嫌気性菌に優れた抗菌活性を示すことから、歯科口腔領域では、古くから歯周疾患治療剤として利用されている。口臭の主成分である揮発性硫黄化合物は、舌苔や歯周ポケットに棲息する嫌気性菌が含硫アミノ酸を分解することによって発生する。臨床的にも、口腔由来の病的口臭の主な原因は歯周疾患であることから、ヒノキチオールは、口臭のコントロールに有効であると予想される。我々は、ヒノキチオール配合口腔ケア用ジェルによる歯、口腔粘膜、舌苔を含む口腔清掃の口臭改善効果を、ヒノキチオール無配合口腔ケア用ジェルを使用した場合と比較することによって評価してきた。第 137 回日本歯科保存学会秋季学術大会では、途中経過を報告したが、今回は統計学的分析を加えて比較検討を行った。

【対象および方法】本研究は、福岡歯科大学・福岡医療短期大学倫理委委員会の承認を得て実施した。口臭を主訴として福岡歯科大学医科歯科総合病院口臭クリニック科を受診した真性口臭症患者 18 名に対して、ランダム化比較試験を行った。被験者は、第三者によって無作為にヒノキチオール配合ジェル群 (実験群、9 名) とヒノキチオール無配合ジェル群 (対照群、9 名) に割り当てられた。口腔清掃は 1 日 3 回 (毎食後)、以下の通りを行うよう指示した。1) 歯ブラシにジェルを 1 cm 取る、2) 歯と歯肉の清掃を 3 分間行う、3) 舌ブラシで 5 回舌清掃を行う、4) 歯磨き終了後ゆすいだ後に、再度ジェルを 2cm 指に取り、口腔内全体にマッサージしながら広げ、清掃後 30 分は飲食をしない。使用開始前 (ベースライン) と 4 週後に、口臭検査 (官能検査・ガスクロマトグラフィーによる硫化水素濃度とメチルメルカプタン濃度の測定) と口腔内診査 (歯周ポケット・プロービング時出血 (BOP)・プラークインデックス (PII)・舌苔スコア・舌表面の保湿度) を実施した。歯周組織検査は 6 点法で行い、舌表面の保湿度は口腔水分計 (ムーカス®、ライフ (株)) を用いて測定した。検査当日は、起床時より飲食および歯面清掃を禁止した。

【結果と考察】ベースライン解析において、実験群 (52.2 ± 11.4 years) と対照群 (57.2 ± 8.6 years) の間に、口臭レベルと口腔内状態の統計学的違いはみられなかった。ベースラインと 4 週後の結果を比較したところ、口臭検査においては、実験群で官能検査スコア、硫化水素濃度、メチルメルカプタン濃度に有意な改善が、対照群で官能検査スコアに有意な改善が認められた (図 1)。特に実験群では 2 名が、官能検査スコアで「口臭なし」と判定するスコア 1 以下に改善した。口腔内診査においては、実験群で平均歯周ポケット、BOP の割合、PII の有意な減少がみられた。一方、対照群では BOP の割合に若干の改善があったものの、統計学的有意差はみられなかった。舌苔スコアと舌表面の保湿度については、両群ともに変化しなかった。

【結論】ヒノキチオール配合口腔ケア用ジェルによる口腔清掃は、歯周組織の状態を改善することによって口臭の改善に寄与すると考えられる。

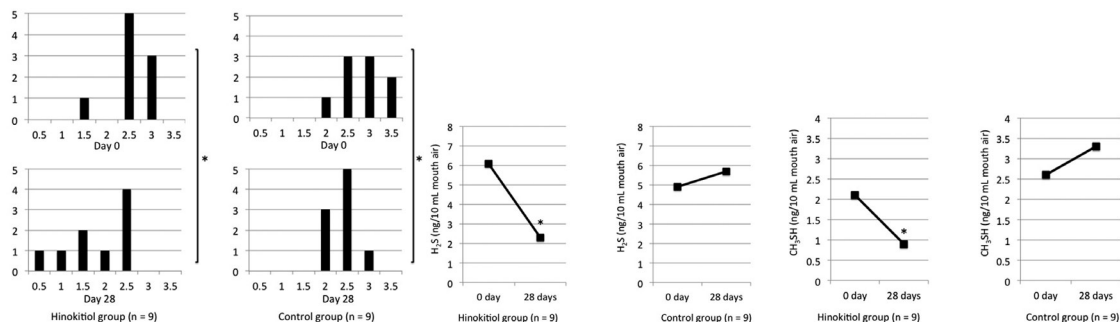


図 1. 口臭レベルの変化。官能検査スコア (左)、硫化水素濃度 (中)、メチルメルカプタン濃度 (右)。\*  $P < 0.05$

### 高齢双生児の歯周病における遺伝因子と環境因子の関与

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学<sup>1</sup> (口腔治療学教室)、顎口腔機能再建学講座<sup>2</sup> (歯科補綴第二教室)

○三木康史<sup>1</sup>、山下元三<sup>1</sup>、北垣次郎<sup>1</sup>、池上久仁子<sup>1</sup>、久保田実木子<sup>1</sup>、粟田敏仁<sup>1</sup>、梶川哲宏<sup>1</sup>、竹立匡秀<sup>1</sup>、柳田学<sup>1</sup>、野崎剛徳<sup>1</sup>、  
山田聡<sup>1</sup>、久留島悠子<sup>2</sup>、松田謙一<sup>2</sup>、池邊一典<sup>2</sup>、北村正博<sup>1</sup>、前田芳信<sup>2</sup>、村上伸也<sup>1</sup>、大阪ツインリサーチグループ<sup>3</sup>

#### Genetic and environmental factors in periodontitis among elder twins

1) Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry 2) Department of Prosthodontics, Osaka University Graduate School of Dentistry 3) Center for Twin Research, Osaka University Graduate School of Medicine

○Koji Miki, Motozo Yamashita, Jirouta Kitagaki, Kuniko Ikegami, Mikiko Kubota, Toshihito Awata, Tetsuhiro Kajikawa  
Masahide Takedachi, Manabu Yanagita, Takenori Nozaki, Satoru Yamada, Yuko Kurushima, Kenichi Matsuda, Kazunori Ikebe,  
Masahiro Kitamura, Yoshinobu Maeda, and Shinya Murakami, Osaka Twin Research Group

〔研究目的〕 高齢者を対象とした歯周組織の状態や歯列形態に関する遺伝因子と環境因子の関連を総合的に検討した研究は、歯科の分野において十分になされていない。ヒトの形質や多因子が複雑に関与する疾患において、遺伝因子と環境因子との相対的な重要度を調べる方法の一つとして、双生児研究法は「ゴールドスタンダード」とみなされている。遺伝因子が完全に同一である一卵性双生児においても、高齢期に達した時、後天的な環境因子の蓄積により歯列形態、生活習慣病としての歯周病の重篤度に差異を生じることが予想される。そこで本研究は、長期間にわたって環境因子の影響を受けてきた高齢双生児を対象に、歯周病と口腔内の形態的特徴とについて、一卵性双生児 (MZ) 間と二卵性双生児 (DZ) 間との類似度を比較することによって、遺伝因子ならびに環境因子による影響を統計学的に検討することを目的とした。

〔材料と方法〕 対象：大阪大学大学院医学研究科附属ツインリサーチセンターにおいて検診を受けた高齢双生児のうち、卵生診断がなされたペアを対象とした。(本研究は大阪大学大学院歯学研究科・歯学部及び歯学部附属病院倫理審査委員会の承認 (承認番号：H21-E2-3) を受け実施されたものである。)

方法：各被験者に対し、以下の検査を実施した。①全残存歯数。②プロービングポケット深さ (PPD)：大阪大学歯学部附属病院歯周病診療室の歯科医師により、6点法にて実施した。③平均歯槽骨吸収率：パノラマレントゲン写真をもとに、Schei のルーラーを用いて歯槽骨の吸収率を算出した。④上下顎歯列の大きさ：各被験者の歯列模型を作製し左右第一小臼歯頰側咬頭間距離を歯列弓幅径として測定した。上記項目に対して各双子ペア間における級内相関係数の検定を行った。

〔結果〕 高齢双生児 57 組は、平均年齢 69.8±11.4 歳、(MZ: 46 組、DZ: 11 組、男: 63 人、女: 51 人、喫煙経験：無: 65 人、有: 27 人、喫煙者: 20 人) 平均現在歯数 20.0±11.0 本、平均歯槽骨吸収率 2.04±1.96、平均 PPD 2.90±1.87mm であった。上顎歯列弓幅径長さに関する級内相関係数は、MZ: 0.95、DZ: 0.87、下顎は MZ: 0.84、DZ: 0.63 となり、同項目については遺伝因子による影響が大きいことが明らかとなった。現在歯数、平均歯槽骨吸収率、平均 PPD に関する級内相関係数はそれぞれ (MZ: 0.64、DZ: 0.83)、(MZ: 0.43、DZ: 0.51)、(MZ: 0.34、DZ: 0.54) となり、これらの項目に関しては環境因子による影響が大きいことが明らかとなった。

〔考察並びに結論〕 口腔の形態的要素である顎骨歯列の大きさは、高齢者においても遺伝因子による影響が大きいことが示唆された。その一方で、歯周病の進行については、遺伝因子よりも加齢の過程で暴露される様々な環境因子による影響が大きいことが推察された。高齢者一卵性双生児間におけるDiscordantペアの環境因子を調査することにより、歯周病に及ぼす糖尿病や肥満などの全身疾患ならびにライフスタイルなどの環境因子の影響をヒト遺伝学にもとづき明らかとしていく予定である。

〔謝辞〕 本研究は大阪ツインリサーチグループ：米田悦啓、早川和生、岩谷良則、畑澤順、依藤史郎、加藤憲司、本多智佳、林 知里、渡邊幹夫、秋山明子 (大阪大学大学院医学系研究科附属ツインリサーチセンター) による高齢双生児レジストリーを基盤とした総合的研究 (代表：大阪大学医学系研究科、早川和生) の一環として実施されたものであり、厚く謝意を申し上げます。



## 関節リウマチ患者におけるトシリズマブ治療の歯周状態への影響

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野<sup>1</sup>

新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部<sup>2</sup>

○小林哲夫<sup>1,2</sup>、岡田 萌<sup>1</sup>、石田光平<sup>1</sup>、小島杏里<sup>1</sup>、吉江弘正<sup>1</sup>

### Effect of tocilizumab medication on periodontal condition in rheumatoid arthritis patients

Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences<sup>1</sup>

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital<sup>2</sup>

○Tetsuo Kobayashi<sup>1,2</sup>, Moe Okada<sup>1</sup>, Kohei Ishida<sup>1</sup>, Anri Kojima<sup>1</sup>, Hiromasa Yoshie<sup>1</sup>

#### 【目的】

インターロイキン6 (IL-6) の過剰産生は、関節リウマチ (RA) ならびに慢性歯周炎 (CP) に共通した病因の1つであることが知られている。近年、トシリズマブ (TCZ) を用いた IL-6 受容体 (IL-6R) 標的治療は、RA 患者において高い寛解率が報告されているが、歯周炎に対する効果については未だ評価が成されていない。そこで今回は、CP を有する RA 患者を対象に、TCZ 治療の有無間での、歯周状態、血清中のサイトカイン、炎症マーカー、および歯周病原細菌に対する免疫グロブリン G (IgG) 抗体価について比較・解析を行った。

#### 【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 を有する RA 患者 55 名のうち、TCZ 治療中の患者 28 名 (TCZ 群)、ならびに TCZ 以外の RA 治療中の患者 27 名 (コントロール群) を対象とした。ベースライン時と 8 週後の再評価時に各々、歯周検査、RA 検査、ならびに血清検査を行った。歯周検査として、歯肉炎指数 (GI)、プロービング時の出血 (BOP)、プロービングポケット深さ (PPD)、臨床的アタッチメントレベル (CAL) を、RA 検査として、疾患活動度 (DAS28) を、血清検査としては、リウマチ因子 (RF)、抗環状化シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体)、C 反応性蛋白 (CRP)、マトリックスメタロプロテアーゼ-3 (MMP-3)、腫瘍壊死因子 alpha (TNF- $\alpha$ )、IL-6、および 4 種の歯周病原細菌 (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*) に対する IgG 抗体価を ELISA 法にて測定した。

#### 【結果および考察】

研究期間中、口腔内・RA 状態における副作用は特に認められなかった。ベースライン時における比較では、コントロール群と比べて TCZ 群で血清 IL-6 濃度が有意に高く、他の評価項目では有意差は認められなかった。一方、再評価時の比較では、コントロール群と比べて TCZ 群において GI、BOP、CRP、MMP-3 が有意に低下していた。ベースライン時から再評価時までの変化量の比較では、コントロール群と比べて TCZ 群で GI、BOP、PPD、CAL、MMP-3、IL-6 が有意に著しい減少量を認められた。いずれの評価時でも 2 群間において、年齢、性別、喫煙状態、ステロイド薬、抗リウマチ薬、非ステロイド性抗炎症薬、歯周病原菌特異的 IgG 抗体価、ブランクコントロールレベルで有意差は見られなかった。したがって、今回観察された TCZ 群での歯周状態の改善は TCZ の作用による可能性が考えられる。すなわち、TCZ は IL-6R の IL-6 結合部位に結合することで IL-6 シグナルを競合的に抑制し血清 IL-6 レベルを低下させる。血清 MMP-3 レベルは血清 IL-6 レベルと相関することが報告されており、今回の TCZ 群における IL-6、MMP-3 の減少結果と矛盾しない。更に、今回の結果、TCZ 群のみに抗 CCP 抗体の変化量と PPD および CAL の変化量との間に有意な正の相関が認められた。口腔内細菌で唯一、シトルリン化変換酵素を保有する *P. gingivalis* に対して特異的な IgG 抗体価で群間差が見られたことから、*P. gingivalis* 由来シトルリン化  $\alpha$ -enolase と相同性が高いシトルリン化  $\alpha$ -enolase ペプチド 1 が関与している可能性が考えられる。 会員外共同研究者：村澤 章博士、伊藤 聡博士、小林大介博士 (新潟県立リウマチセンター)

## 励起蛍光を応用したプラーク認識除去システム

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科部門<sup>1)</sup>、長田電機工業(株)<sup>2)</sup>  
○伊佐津克彦<sup>1)</sup>、高島 英利<sup>1)</sup>、長田 将治<sup>2)</sup>、長谷川篤司<sup>1)</sup>

### Effect of the experimental light-induced fluorescence aided plaque removal system

Department of Conservative dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,  
Showa University School of Dentistry<sup>1)</sup>, Osada Electronic Co., LTD<sup>2)</sup>  
○Katsuhiko Isatsu<sup>1)</sup>, Hidetoshi Takashima<sup>1)</sup>, Masasi Osada<sup>2)</sup>, Tokuji Hasegawa<sup>1)</sup>

#### 【目的】

近年、デンタルプラークに起因する歯周病と糖尿病や動脈硬化などの全身疾患との関連や、デンタルプラークを構成している細菌を誤嚥することによる肺炎についての報告が多く認められている。デンタルプラークは複数の細菌が形成するバイオフィルムの典型で、この中に存在している細菌に抗菌薬はほとんど効果を発揮することができないため、物理的にバイオフィルムを破壊することが必要である。したがって、デンタルプラーク除去の基本は本人あるいは介助者などによる機械的関与が必要で、プラーク付着部位を視覚的に正しく認識することは、治療効果を最大限に引き出すカギとなる。言い換えるなら、口腔および全身の健康維持のためにはプラークの量、付着部位、そして活動性を定期的に正しく認識することが必須である。

従来、付着しているプラークの評価は染めだし液などを用いて行うのが一般的であるが、高齢者や在宅看護の受診者では染色後の清掃が決して容易ではない。そこで、近年、染め出しなしにプラークの蛍光特性を利用するプラーク認識システムが開発、市販に至っている。我々は第 132、134 回大会で、この光誘導蛍光システムによるプラークの検出は、プラーク染めだし液に比較し鋭敏でないものの、質的評価の可能性について発表した。

この概念を基に 405nm の光源をシステム内で供給できるよう改良した新規プラーク認識除去システムを試作したので報告する。なお、波長約 405nm の十分な光量を確保するために LD 光源を採用した。

#### 【材料と方法】

対象：口腔衛生指導またはメンテナンスを目的に来院した患者を対象として、405nm の LD 光源をにした超音波スクレーパーで口腔内の歯石・プラーク除去を行った。デンタルチェアへの無影灯下では、口腔内 4000lux 前後であるが、診療室の照明だけでは、500～600lux 前後であった。

405nm の LD 光源は 30～400lux の輝度で、無影灯を使用することで 405nm の光はほとんど認識できなかった。

しかしながら、無影灯を使用せず、405nm の光源だけで、プラークを十分認識でき、歯肉辺縁の状態や補綴物辺縁の状態を容易に認識できた。

暗視野では、わずかに赤く蛍光するプラークを観察できたが、通常の室内では、プラークが赤く蛍光することは確認できなかった。

#### 【結果および考察】

LD 光源の照射により、暗視野内ではかすかに赤く蛍光するプラーク付着部と考えられる歯面を識別できることが確認できた。また、出力 80 mW の LD 光源を照明とする術野は十分に明るく、保護メガネ装着時にも他の照明を使用せずに口腔内を観察でき、プラーク除去を適切に実施できた。訪問診療など十分な輝度が期待できない場合に、本機は有用であると考えられる。今後さらに大きな出力で検討する事により、プラークの質的評価への検討が可能であると考えられる。

平成 25 年 5 月 28 日 発 行

編集兼発行者

制 作 者

印 刷 所

発 行 所

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会理事長

千 田 彰

一般財団法人 口腔保健協会

<http://www.kokuhoken.or.jp/>

三 報 社 印 刷 株 式 会 社

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会

〒 170-0003 東京都豊島区駒込1-43-9

(一財) 口 腔 保 健 協 会 内

電 話 03 (3947) 8891

F A X 03 (3947) 8341

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会賛助会員名簿

賛助会員名	郵便番号	所在地	電話番号
アグサジャパン株式会社	540-0004	大阪市中央区玉造 1-2-34	(06)6762-8022
医歯薬出版株式会社	113-8612	東京都文京区本駒込 1-7-10	(03)5395-7638
イボクラールピバデント株式会社	113-0033	東京都文京区本郷 1-28-24 4F	(03)6903-3535
長田電機工業株式会社	141-8517	東京都品川区西五反田 5-17-5	(03)3492-7651
カボデンタルシステムズジャパン株式会社	140-0001	東京都品川区北品川 4-7-35 御殿山トラストタワー 15F	(03)6866-7480
クラレノリタケデンタル株式会社	100-0004	東京都千代田区大手町 1-1-3 大手センタービル	(03)6701-1730
小林製薬株式会社	567-0057	大阪府茨木市豊川 1-30-3	(072)640-0117
サンメディカル株式会社	524-0044	滋賀県守山市古高町 571-2	(077)582-9981
株式会社ジーシー	113-0033	東京都文京区本郷 3-2-14	(03)3815-1511
株式会社松風	605-0983	京都市東山区福稲上高松町 11	(075)561-1112
昭和薬品化工株式会社	104-0031	東京都中央区京橋 2-17-11	(03)3567-9573
株式会社スマートプラクティスジャパン	227-0043	横浜市青葉区藤が丘 1-9-6 日機装 藤が丘ビル 4F	(045)972-9081
スリーエムヘルスケア株式会社	158-8583	東京都世田谷区玉川台 2-33-1	(03)3709-8233
タカラベルモント株式会社	542-0083	大阪市中央区東心斎橋 2-1-1	(06)6212-3619
デンツプライ三金株式会社	106-0041	東京都港区麻布台 1-8-10	(03)5114-1005
株式会社東洋化学研究所	173-0004	東京都板橋区板橋 4-25-12	(03)3962-8811
株式会社トクヤマデンタル	110-0016	東京都台東区台東 1-38-9 イトーピア清洲橋通ビル 7F	(03)3835-2261
株式会社ナカニシ	322-8666	栃木県鹿沼市下日向 700	(0289)64-3380
株式会社ナルコム製作所	270-0023	千葉県松戸市日暮 2-3-15	(047)367-7272
株式会社ニッシン	601-8469	京都市南区唐橋平垣町 8	(075)681-5719
日本歯科薬品株式会社	750-0015	山口県下関市西入江町 2 番 5 号	(0832)22-2221
ネオ製薬工業株式会社	150-0012	東京都渋谷区広尾 3-1-3	(03)3400-3768
白水貿易株式会社	532-0033	大阪市淀川区新高 1-1-15	(06)6396-4455
パナソニックヘルスケア株式会社	793-8510	愛媛県西条市福武甲 247	(0897)56-1210
ピヤス株式会社	132-0035	東京都江戸川区平井 6-73-9	(03)3619-1441
ヘレウスクルツァージャパン株式会社	113-0033	東京都文京区本郷 4-8-13 TSK ビル 2F	(03)5803-2151
マニ 株式会社	321-3231	宇都宮市清原工業団地 8-3	(028)667-1811
株式会社茂久田商会	650-0047	神戸市中央区港島南町 4-7-5	(078)303-8246
株式会社モリタ	564-8650	大阪府吹田市垂水町 3-33-18	(06)6388-8103
株式会社モリムラ	110-0005	東京都台東区上野 3-17-10	(03)3836-1871
株式会社ヨシダ	110-0005	東京都台東区上野 7-6-9	(03)3845-2931

(五十音順)

## 謝 辞

日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会（第 138 回）を開催するにあたり、下記の団体・企業等から多大なご協力を賜りました。ここに記し、御礼申し上げます。

日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会（第 138 回）

大会長 阿南 壽

### 後援団体等一覧（五十音順）

---

一般社団法人 福岡県歯科医師会

学校法人 福岡学園

一般社団法人 福岡市歯科医師会

### 協賛企業等一覧（五十音順）

---

相田化学工業(株)

タカラベルモント(株)

Ivoclar Vivadent(株)

ティーアンドケー(株)

ウエルテック(株)

デンタルプロ(株)

ULTRADENT JAPAN(株)

デンツプライ三金(株)

(株)オーラルケア

(株)トクヤマデンタル

長田電機工業(株)

(株)トムス・エンタテインメント

(有)オルソネット

(株)ナカニシ

科研製薬(株)

(株)ニッシン

カボデンタルシステムズジャパン(株)

日本歯科薬品(株)

キング工業(株)

ネオ製薬工業(株)

(株)クイント

バイネキスト

グラクソ・スミスクライン(株)

白水貿易(株)

クラレノリタケデンタル(株)

パナソニック(株)

(株)コムネット

(株)ビーブランド・メディコーデンタル

サンスター(株)

(株)フォレスト・ワン

サンメディカル(株)

ペントロンジャパン(株)

(株)ジーシー

マニー(株)

(株)シケン

(株)丸文

(株)松風

(株)茂久田商会

昭和薬品化工(株)

(株)モリタ

シロナデンタルシステムズ(株)

(株)モリムラ

スリーエムヘルスケア(株)

(株)ヨシダ

セイリン(株)

ライオン歯科材(株)

(株)セルフメディカル

(株)YDM

