

傾斜機能材料の歯冠修復への応用

-ジルコニア/陶材傾斜機能材料の破壊靱性値-

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野¹

鹿児島大学大学院理工学研究科²

○塚田岳司¹、末吉秀一²、金丸憲一¹、上林洋樹²、徳田雅行¹、鳥居光男¹

Application of Functionally Graded Materials to Crown Restorations

-Fracture Toughness of Zirconia/Porcelain Functionally Graded Material-

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹

Kagoshima University Graduate School of Science and Engineering²

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

TOKUDA Masayuki¹, TORII Mitsuo¹

【研究目的】近年、ジルコニアを用いた様々な歯冠修復法の開発が期待されている。ジルコニアの使用法としては、審美性には優れるが強度および靱性は劣る陶材を機械的強度の優れたジルコニアに焼き付けて被覆するといった方法が、現在主流である。しかし、陶材のチッピング、破壊あるいは剥離が大きな問題点として指摘されている。我々は、第137回日本歯科保存学会において、ジルコニアと陶材を複合化し、更に傾斜機能材料(FGM)とすることは、曲げ強さを高めるために、非常に有効であることを報告したが、この方法は、チッピングや破壊等の問題点の解決にも同様に有効であると考えている。そこで、チッピング、破壊に対する材料の性質を評価するために最も適した方法である破壊靱性値を測定したところ、興味ある結果が得られたので報告する。

【材料および方法】

ジルコニア粉末と陶材粉末については前回と同じものを使用し、それぞれの体積率も前回と同様に、ジルコニア:陶材=100:0、90:10、80:20、70:30とした。粉末の焼結には放電プラズマ焼結機を使用し、10 MPaの加圧下、1350°C、4分保持の条件で直径20 mm、厚さ1 mmの表に示すような6種類の円盤状の試験片を作製した。4層からなるFGM試験片については、それぞれの層の粉末の比率が順次変化するように黒鉛ダイに填入し焼結した。FGM(同層)はそれぞれの層の厚さが0.25 mm、FGM(変層)は100%ZrO₂層が0.4 mm、90%ZrO₂+10%porcelain層が0.3 mm、80%ZrO₂+20%porcelain層が0.2 mm、70%ZrO₂+30%porcelain層が0.1 mmと層の厚さを変化させた。破壊靱性値はIndentation Fracture法により求めた。ピッカース硬度計を用いて、それぞれの試験片について適切な圧痕とクラックが生じる荷重(50 kgfもしくは30 Kgf)で、試験片に圧子を圧入し、15秒間保持した。クラック長さはSEMで測定した。ピッカース硬さおよび破壊靱性値はJIS R 1607に従って求めた。各試料に対して6~8個の圧痕について測定を行った。FGM試験片については70%ZrO₂+30%porcelain側の圧痕およびクラック形状をSEMで調べた。

【結果】破壊靱性値の結果をFig.に示す。100%ZrO₂の破壊靱性値は5.06 MPa·m^{1/2}であり、複合材料(Homogeneous)の破壊靱性値は、陶材の体積率の増加に伴って低下し、70%ZrO₂+30%Porcelainで2.42 MPa·m^{1/2}であった。FGMの70%ZrO₂+30%Porcelain層の破壊靱性値は、同層で3.18 MPa·m^{1/2}、変層で4.23 MPa·m^{1/2}であり、70%ZrO₂+30%Porcelain単体と比較すると、いずれもP<0.01で有意に高い値を示した。また、FGM(同層)、FGM(変層)のクラック断面のSEM観察によると、クラックはMedian crackであり、いずれも70%ZrO₂+30%porcelainの層内に留まっていた。

【考察および結論】ジルコニアと陶材を複合化し、更にFGMとすることは、曲げ強さを高めるだけでなく、破壊靱性値を高めるために非常に有効であった(歯科用陶材の破壊靱性値:約1~2 MPa·m^{1/2})。この方法を歯冠修復材料に取り入れることにより、チッピングや破壊等の問題点を解決した次世代型の修復法の開発が期待できる。

Table Test specimen

Specimen	Structure
100%ZrO ₂	Homogeneous
90%ZrO ₂ +10%porcelain	Homogeneous
80%ZrO ₂ +20%porcelain	Homogeneous
70%ZrO ₂ +30%porcelain	Homogeneous
FGM(同層)	4 layers
FGM(変層)	4 layers

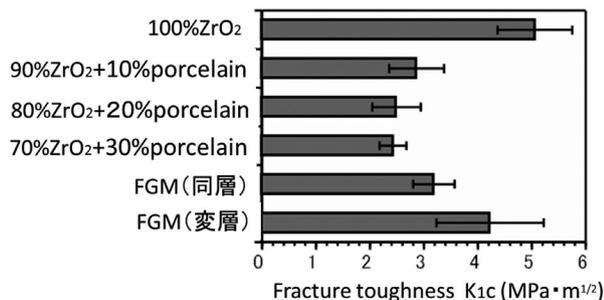


Fig. Fracture toughness for six specimens

ムタナーゼとデキストラナーゼからなる キメラ酵素はバイオフィルムの形成を阻害した

鶴見大学歯学部 保存修復学講座¹ 探索歯学講座²

○大塚 良子¹, 今井 奨², 花田 信弘², 桃井 保子¹

Chimeric enzyme composed of mutanase and dextranase inhibited biofilm formation

Department of Operative Dentistry¹, Department of Translational Research²,

Tsurumi University School of Dental Medicine

○OTSUKA Ryoko¹, IMAI Susumu², HANADA Nobuhiro², MOMOI Yasuko¹

【背景】我々は、 α -1,3-グルコシド結合分解酵素と α -1,6-グルコシド結合分解酵素からなるキメラ酵素を作製し、そのキメラ酵素に酵素活性が認められたことを報告した(日本歯科保存学会 2012 年度春期学術大会(第 136 回)A-1)。

【目的】 α -1,3-グルコシド結合分解酵素であるムタナーゼと α -1,6-グルコシド結合分解酵素であるデキストラナーゼからなるキメラ酵素のバイオフィルム形成阻害作用について検討する。

【材料と方法】各酵素の調製: *Paenibacillus humicus* NA1123 株からムタナーゼ遺伝子, *Streptococcus mutans* UA159 株からデキストラナーゼ A 遺伝子を、それぞれクローニングし、両遺伝子を同一ベクター内で連結して Lac Z プロモーターの下流に組み込み、大腸菌に導入した。大腸菌を振盪培養して増殖させた後(OD₅₄₀=0.5~0.7)、IPTG により遺伝子発現誘導を 5 時間行った。遠心分離により上清と沈渣に分画し、沈渣をクラッシュャーで機械的に破壊したのち、遠心分離した沈渣に Qproteome[®]Bacterial Protein Prep Kit (QIAGEN) を用いてタンパク質を可溶化させ遠心分離した。上清はスピカラムを用いて部分精製を行い、これをキメラ酵素(Chimera)とした。ムタナーゼ遺伝子、またはデキストラナーゼ遺伝子を単独で組み込んだ大腸菌から同様にムタナーゼ(Mut)、デキストラナーゼ(Dex)、空ベクター-pQE30 由来のタンパク質(pQE)を抽出し、コントロールに用いた。

バイオフィルム形成と定量: バイオフィルムの形成はガラス試験管壁への非水溶性グルカン(WIG)付着量で評価した。*Streptococcus sobrinus* 6715 株を 37°C, 18 時間 TSB で培養し、培養上清を 60%硫酸で塩析、遠心分離後の沈渣を透析し、バイオフィルム形成酵素 グルコシルトランスフェラーゼ(GTF)とした。GTF, 1%スクロース, 0.05M リン酸緩衝液(pH6.0)の反応液を調製し、Chimera の用量を変えて作用させ、ガラス試験管を 45° の角度で静置し 37°C, 48 時間反応させた。また、上記反応液の Chimera に代え Mut, Dex, Mut と Dex の混合物(Mut+Dex), pQE を作用させ同様に反応させた。反応後、ガラス試験管内の反応液及び生成物を、強固な付着画分(Firm-adherent), 弱い付着画分(Loose-adherent), 非付着画分(Non-adherent)および水溶性グルカン画分(WSG)に分画し、グルカンの全糖量をフェノール硫酸法によって測定し、標準曲線からグルコース量(μ g/mL)に換算した。

【結果と考察】キメラ酵素は用量に依存してバイオフィルムの形成量を減じ、とくに付着画分の形成を顕著に阻害した(Fig. 1)。キメラ酵素は、ムタナーゼ、デキストラナーゼ単独に比べ、効率よく病原性バイオフィルムの形成を阻害する可能性を示した(Fig. 2)。

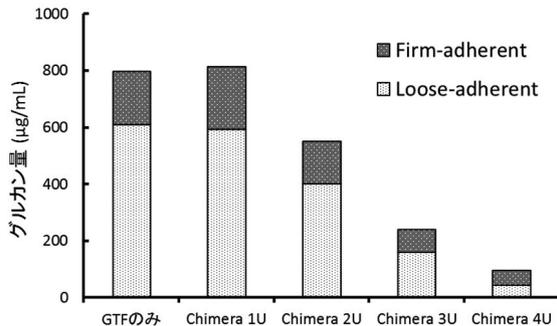


Fig.1 キメラ酵素の用量を変えて、形成されたバイオフィルム量

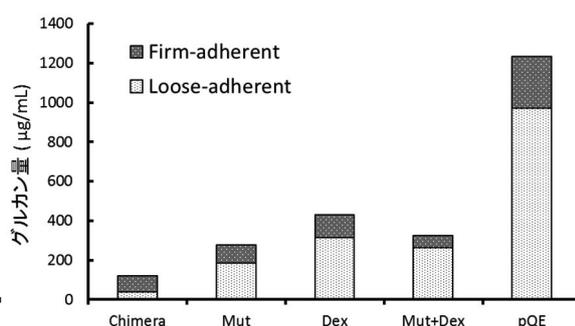


Fig.2 バイオフィルム形成量(キメラ酵素とコントロールとの比較)

【今後の展望】キメラ酵素は歯磨剤や洗口液などに応用し、う蝕発症の予防に貢献できる可能性がある。

【会員外研究協力者】津守 秀明(防衛医科大学校 化学教室) 野村 義明, 角田 衣理加(鶴見大学歯学部 探索歯学講座)

レジンコーティングと咀嚼環境想定の動的荷重が CAD/CAM セラミックアンレー修復の高底部接着強さに及ぼす影響

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

Effect of dynamic load and resin coating on cavity floor bond strength of CAD/CAM ceramic onlay restoration

Department of Adhesive Dentistry¹⁾, Department of Endodontics²⁾,
School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

○Maeno Masahiko^{1,2)}, Yamada Tadashi¹⁾, Nakamura Shoji¹⁾, Maseki Toshio¹⁾, Nara Yoichiro¹⁾

【研究目的】近年、CAD/CAM を用いた歯冠修復が臨床において次世代の歯科医療を担う治療法として広く普及している。また、メタルフリー修復は術者・患者双方の要望を叶える修復法といえ、特に間接修復を選択する際には、歯質との接着一体化や術後痛予防を見据え、レジンコーティングの応用が望ましい。一方、メタルフリーアンレー修復に対する咀嚼環境想定 of 動的荷重の負荷は、髄側壁(窩底部)の接着強さを有意に減弱させる¹⁾ことが確認されている。

そこで本実験では、レジンコーティングと咀嚼環境想定 of 動的荷重がチェアサイド CAD/CAM を用いたセラミックアンレー修復の窩底部接着強さ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、3 咬頭頂に基づく被験歯の規格化植立を行い、形態コピー用光学印象後に、低粘性レジンによるコーティング群 (C+群) および非コーティング群 (C-群) に区分した。C+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、Clearfil Bond SE ONE と Clearfil Protect Liner F (Kuraray Noritake Dental, 以下、K 社) を用いてレジンコーティングを施した。C-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。合着に際し、C+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、C-群では窩洞全体を Clearfil ED Primer II で処理した。一方、修復物内面に対しては、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。その後、両群試料内で動的荷重の負荷群 (S+群) と非負荷群 (S-群) とに区分し、S+群に対しては 37±1°C 水中における 16kgf×30 万回 (90 回/分) の繰り返し動的荷重を負荷した。ついで、全試料は、歯軸(植立軸)に平行かつ類側壁窩縁に直交する面によって 3 回の縦切断を行い、ついで歯軸および類側壁窩縁に平行する面によって 3 回の近遠心的切断を行うことによって、中心窩直下相当部の窩底部象牙質被着面を含む、縦 1.0mm 横 1.0mm 接着面積 1.0mm² のビーム状試料 4 片を得た。全ての試片は、クロスヘッドスピード 1.0mm/min で micro-tensile bond strength (μ -TBS) の計測と破断面様相の観察を行った。得られたデータは、二元配置分散分析および tukey の q 検定によって統計学的分析を行った。

【成績】本実験の結果を Fig. 2 に示す。二元配置分散分析の結果、レジンコーティングの有無・動的荷重の有無は、それぞれ μ -TBS 値に対し有意な影響を及ぼしていた。また、S-条件下の C+値と C-値には有意差を認めないものの、S+条件下では C+値が C-値より有意に大きな値を示した。さらに、最も臨床に近似した C+S+条件下の試料破断面様相は、修復物とレジンセメントによる界面破壊およびセメント内の凝集破壊による混合破壊が主体であった。

【考察ならびに結論】最新の CEREC システムを用いた MODP セラミックアンレー修復に際し、レジンコーティングの応用は、咀嚼環境想定 of 動的荷重による窩底部接着強さの減弱を抑制する効果を有していることが明らかになった。これは、修復物と象牙質との間に低粘性レジンが親和性をもって介在することによって、窩底部の接着が改善されると共に、コーティング層がストレスブレイカーとして寄与していると考えられる。また、C+S+条件下の破断面様相の主体が、修復物/レジンセメント界面およびセメント内凝集破壊による混合破壊であったことから、CAD/CAM セラミックアンレー修復における接着の向上には、術者による修復物内面処理の工夫やレジンセメント自体の物性強化が望まれる。

¹⁾ 参考文献：山田 正, 柵木寿男, 奈良陽一郎：動的荷重がハイブリッドセラミックアンレー修復の接着に及ぼす影響；日歯保存誌 54, 347-360, 2011

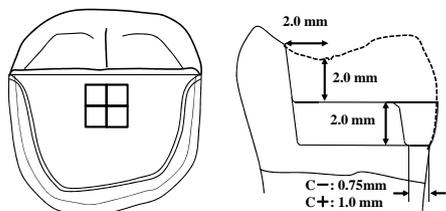


Fig.1 Standardized MODP cavity

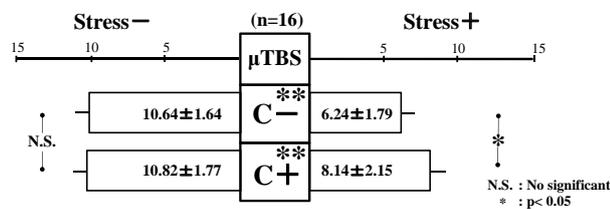


Fig.2 Mean μ -TBS of CAD/CAM ceramic onlay to cavity floor with / without dynamic load

模擬根管内におけるレーザー洗浄時の流れの解析

¹⁾九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野, ²⁾九州大学病院歯内治療科
○木原智子¹⁾, 吉嶺嘉人¹⁾, 松本妃可²⁾, 新井裕基¹⁾, 佐藤浩美²⁾, 赤峰昭文¹⁾

Fluid flow analysis in laser-activated root canal irrigation

¹⁾Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University, ²⁾Dept. of Endodontology, Kyushu University Hospital
○KIHARA Tomoko¹⁾, YOSHIMINE Yoshito¹⁾, MATSUMOTO Himeka²⁾, ARAI Yuki¹⁾, SATO Hiromi²⁾, AKAMINE Akifumi¹⁾

【研究目的】

根管治療を成功に導くには、根管内から細菌などの有害物質を除去することが大切である。根管切削器具を用いた機械的清掃には限界があり、今日では薬液を用いた根管洗浄（化学的清掃）が重視される傾向にある。近年、パルスレーザーを応用した新しい根管洗浄法が注目されている。

本研究では、模擬根管内において Er:YAG レーザーを照射した際の水流を微小トレーサーを用いて可視化することで、効率的な使用方法を見いだすことを目的とした。

【材料および方法】

1. 根管模型とレーザー装置

水流の観察には透明セル型模型（幅 10 mm×高さ 20 mm×奥行 1 mm）と透明模擬根管模型（ISO #40・長さ 20 mm）を用いた。レーザー装置には、コア径 200 μm の円錐型チップ（R200T）または平坦型チップ（R200F）を装着した Er:YAG レーザー（Erwin AdvEr1: モリタ）を使用した。蒸留水を容れた根管模型にチップを静止させて照射した際の流れを観察した。照射条件は、表示出力 30 mJ または 50 mJ、繰り返し速度 10 pps または 20 pps に設定し、注水・エア無しで行った。チップ先端が模型底部から 10 mm、5 mm、2 mm に位置するように設置した。

2. 撮影条件

撮影にはデジタルカメラ（AxioCam MRm: Carl Zeiss）と画像閲覧ソフト（ZEN LE: Carl Zeiss）をインストールした PC を用いた。水流を捉えるためにトレーサーとして直径 13 μm の蛍光ビーズ（Fluoro-Mac: Thermo Scientific）を蒸留水に混和して撮影した。

【結果】

透明セル型模型では、円錐型チップの場合、水流はチップ先端から底部まで蛇行しながら降下した後、左右に分かれ円弧を描きながら上昇し、チップ先端よりやや上方に達して降下した（図 1）。一方、平坦型チップではチップ先端から底部へ蛇行しながら降下して左右に分かれて上昇するが、チップ先端の高さで上昇は終了していた。また、平坦型チップの先端より上方には別の流れがあり、相反した流れが観察された（図 2）。

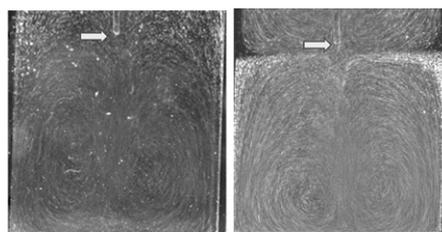


図1:円錐型チップ
(50mj・20pps)

図2:平坦型チップ
(50mj・20pps)

模擬根管模型では、平坦型チップ先端の近傍では著しく激しい水流が起こるが、チップ先端より上方では下方の激しい動きに押し上げられるような流れが生じていた。一方、円錐型チップ近傍では平坦型チップほどの激しい水流は無いものの、上下に攪拌する動きが見られた。表示出力および繰り返し速度が増加すると、流れはより激しさを増した。また、円錐型チップは模型底部から 5 mm に設置した際に活発な水の動きが観察された。

【考察】

レーザー洗浄法の作用機序として、レーザー誘発気泡およびキャビテーション気泡の形成・崩壊に伴う水の流れが関与することが報告されている。今回の観察結果より、根管内での水の動きには照射出力・繰り返し速度の他に、チップ先端の形状とチップ位置が影響することが分かった。

【結論】

Er:YAG レーザーによる根管洗浄法においては、円錐型チップを用いた場合に根管内全体の攪拌作用が起きやすく、特に根尖から 5 mm にチップ先端が位置する場合に、より効率的な根管洗浄が可能になると考えられる。

歯の破折症例の現状ならびに課題

—歯内療法専門外来初診患者にみる現在の歯科臨床のニーズ—

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

○和達礼子, 吉岡俊彦, 花田隆周, 海老原新, 須田英明

The Present Situation and Problems about Tooth Fracture —The Investigation into the New Outpatients

Consulting the endodontics Clinic and the Needs in Clinical Dentistry—

Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental
Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○WADACHI Reiko, YOSHIOKA Toshihiko, HANADA Takahiro,

EBIHARA Arata, SUDA Hideaki

【研究目的】 歯科治療の大多数は一般歯科医院にて行われているが、経過不良症例は二次あるいは三次医療機関で対応することがある。しかし、担当歯科医師の了解無く転院した場合はフィードバックがなされないことから、実態は把握され難い。それゆえ、二次あるいは三次機関を受診した経過不良症例等を分析することにより、一般歯科医師ならびに患者が解決に苦慮している問題点が明らかになると推測される。一方、近年歯の喪失の原因として歯の破折が増加していることが指摘されているが、我が国での具体的な調査は少ない。

本研究の目的は、大学病院の歯内療法専門外来の初診患者のうち、主訴が歯の破折に関わる症例を調査することにより、現在の歯科臨床における問題点とニーズを明らかにし、これからの歯科保存学が解決すべき課題を抽出することである。

【材料および方法】 対象は、平成 23 年 6 月に東京医科歯科大学歯学部附属病院（以下、「本院」と称する）むし歯外来（歯内療法専門外来）（以下、「むし歯外来（歯内）」あるいは「当科」と称する）を受診した初診患者とした。これらのうち、歯冠破折、歯冠—歯根破折、歯根水平破折あるいは歯根縦破折（以下、「歯の破折症例」と称する）について症例数、診断等を調査した。

【成績】 むし歯外来（歯内）における当該月間の初診患者数は計 466 名であった。他方、本院むし歯外来（保存修復専門外来）は 178 名、歯周病外来は 247 名であった。466 名のうち、事前に他歯科医院を受診せず患者の意思で直接本院を受診した症例は 29%、他歯科医院からの依頼症例は 24%、事前に他院を受診するも症状が改善せず、担当歯科医師の了承を得ずに依頼状無く自らの意志で転院してきた症例は 18%、本院の他診療科からの依頼症例は 17%、他歯科医院での診断・処置の良否について意見を求める、いわゆるセカンドオピニオン希望の症例は 12%であった。

歯の破折症例の割合は、視診あるいは画像診断により破折線が確認され確定診断が下された症例（以下、確定症例）、および破折線は確認されなかったが他の所見から歯の破折が疑われた症例（以下、疑い症例）を合計すると、25%であった。このうち、当科初診係あるいは当科担当歯科医師の診査により破折線が確認された確定症例は 36%、疑い症例は 64%であった。歯の破折症例のうち、すでに他歯科医院にて歯の破折の可能性を指摘されていた症例は 25%、当科初診係により初めて指摘された症例は 63%、当科担当歯科医師により初めて指摘された症例は 10%であった。

初診時に歯の破折を指摘された症例のうち、その場で抜歯に同意し当院口腔外科に紹介された症例は 24%であり、残りの 76%には同意を得られなかった。

【考察】 本研究結果から、歯科保存学分野の中でも歯内療法専門外来への需要は高く、歯の破折の診断が 1/4 を占めていることが示された。これらは初診時の簡単な診査により診断が可能であったことから、一般歯科医師に診断法を周知させる必要があると思われる。

しかし、実体顕微鏡や歯科用 CT を用いた精査によっても鑑別診断を下すことができない症例が多く存在したことは、適切な処置の遅れによる炎症の進行、誤診による不必要な抜歯、疑いのみによる安易な抜歯につながるものが懸念される。以上のことから、歯の破折の客観的な確定診断法の確立が急務であると言える。

さらに、歯の破折の診断や抜歯の必要性の説明に対する理解が不十分な患者の存在は、歯の喪失原因としての歯の破折の認知度が低いことを意味している。う蝕や歯周病だけでなく、歯の破折に関する知識の普及活動が求められる。

【結論】 歯の破折について、一般歯科医師にはその診断法を、患者には歯の喪失原因になり得るという知識を普及させることが必要である。また、歯の破折の客観的な確定診断法の確立が求められる。

ナノバブル水の抗バイオフィルム効果の検討

岡山大学病院 歯周科¹⁾

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野²⁾

サンスター株式会社 新規事業部³⁾

○平井公人¹⁾, 田口裕子²⁾, 信田有希²⁾, 峯柴史²⁾, 石井美和³⁾, 岡 徹³⁾, 前田博史²⁾, 高柴正悟²⁾

Anti-Microbial Biofilms Effect of Nano-Bubble Water

Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital¹⁾

Department of Pathophysiology - Periodontal Science Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Sciences²⁾

Sunstar Inc. New category business unit³⁾

○Hirai K¹⁾, Taguchi Y²⁾, Shinoda Y²⁾, Mineshiba F²⁾, Ishii M³⁾, Oka T³⁾, Maeda H²⁾, Takashiba S²⁾

研究目的

生体内での微生物は、バイオフィルムを形成するため、物理的な除去が困難であり、薬剤への耐性を持つことで、疾患の発症や治療に対して問題となることが多い。ナノバブル水 (NB 水) の先行研究においては、培養した浮遊細菌に対する効果を報告したものが多く、バイオフィルムに対する効果は不明である。今回 NB 水を安定して作成できるシステムを構築し、特に口腔細菌によるバイオフィルムに対してどのような効果があるかを検討することを目的とした。

材料および方法

NB 水 : サンスター株式会社より提供されたものを使用した (溶存酸素量 19.8mg/L)。

ヒト細胞毒性試験 : Hela 細胞を用いて DMEM 粉末培地を NB 水で溶解した培地で一定時間培養後の細胞数と MTT アッセイにより確認した。

口腔細菌株 : *Streptococcus mutans* ATCC25175 株を用いて、培養には Trypticase Soy Broth に 0.5% Yeast extracts 添加した培地 (TSBY) を用い、バイオフィルムの作成時には、さらに 1% Sucrose を添加した培地を用いた。

洗浄効果の評価 : 96 穴マルチプレートに作成したバイオフィルムを用いた。マイクロピペットによる洗浄操作後、クリスタルバイオレット染色にて各ウェルの吸光度を測定した。殺菌作用には試験管内で作成したバイオフィルムを用いて、NB 水で希釈したポビドンヨードで 30 分反応させた後、TSBY 寒天培地に播種し CFU/ml で評価した。

薬剤浸透性の評価 : 幅 1mm、長さ 40mm のチャンバー内に灌流型の装置により作成したバイオフィルムを用いた。NB 水で希釈したポビドンヨードを作用後、SYTO 9 / Propidium iodide を用いた染色システムにより生菌と死菌の染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡にて薬剤の浸透性を 3 次元的に評価した。

対照水 : いずれの試験においても、NB 水作成時に使用する精製水を対照とした。

成績

細胞毒性 : 細胞数の計測、MTT アッセイにおいて、精製水と有意な差は確認できなかった。

洗浄効果 : 精製水と比較して、有意な差があった。

殺菌作用 : NB 水で希釈したポビドンヨードでは、精製水で希釈したものと比較して、バイオフィルムに対する殺菌作用が増強され、共焦点レーザー顕微鏡ではバイオフィルムへの浸透性が高くなっていることが確認できた。

考察

NB 水は、その微細な気泡構造が安定しており、単独では細胞毒性や殺菌作用は無いものと考えられる。しかし、高い電位を持った微細な構造が、用いた *S. mutans* のバイオフィルム内部へ作用することで、バイオフィルムを直接遊離させやすくさせ、また殺菌剤のバイオフィルム内への浸透を促進させているのではないかと考えられる。このような特性は、口腔内では根管洗浄などが考えられるが、物理的な感染の除去が難しい、尿管内や医療機器配管内など、応用の可能性は幅広いと思われる。

結論

今回用いた NB 水単体ではヒト細胞に対する細胞毒性は無かった。用いた *S. mutans* のバイオフィルムに対しては NB 水単体では精製水と比較してバイオフィルムの洗浄効果を増強させた。また、NB 水をイソジンと併用することでバイオフィルム内への薬剤浸透性を促進させることで、殺菌効果を増強することが示唆された。

Porphyromonas gingivalis PGN_1796 は薬剤感受性に関与する

¹⁾ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野

²⁾ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 口腔微生物学分野

○田口裕子¹⁾, 井上哲圭²⁾, 大原直也²⁾, 前田博史¹⁾, 高柴正悟¹⁾

Porphyromonas gingivalis PGN_1796 is Involved in Drug Sensitivity

¹⁾ Department of Pathophysiology - Periodontal Science, ²⁾ Department of Oral Microbiology,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
OYuko TAGUCHI, Tetsuyoshi INOUE, Naoya OHARA, Hiroshi MAEDA, Shogo TAKASHIBA

【目的】代表的な歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (Pg) では、これまでに3株の全ゲノム配列が解読されている。これらのゲノムにコードされている遺伝子には機能未知のものが多く、他の細菌が持つ機能既知の遺伝子と比較することによって、その機能を明らかにしていくことが可能な場合がある。Pg ATCC 33277 株の PGN_1796 は、Leucine-rich repeat (LRR) モチーフを持つ1125アミノ酸からなる蛋白質をコードする。LRRを含む蛋白質は、自然免疫、細胞接着、そして蛋白質間の相互作用などに関与していることが知られている。特に、*Listeria* 属菌種が菌体表面に持っている Internalin A は、LRR を持つ代表的な病原性因子のひとつであり、上皮細胞表面の接着分子である E-cadherin に結合してエンドサイトーシスを誘導することによって、細胞侵入を引き起こす重要な分子であることが知られている。PGN_1796 の遺伝子産物は、その配列中に Internalin A 蛋白質のモチーフを有することから、宿主細胞との相互作用に関係する分子であると推測した。

そこで、PGN_1796 の機能を明らかにすることを目的とし、PGN_1796 遺伝子を欠損させた Δ PGN_1796 株を作製して、この変異が与える影響を調べてきた。そして、親株と比較して Δ PGN_1796 株では、薬剤感受性が変化していることが示唆されたため、今回は Δ PGN_1796 株の薬剤感受性について検討した。作用機序の異なる薬剤でも同様な感受性変化が観察されたので、感受性の変化を薬剤排出能力の変化の観点から検討した。さらに、薬剤排出の観点から、薬剤排出ポンプと推定される分子群についても検討した。

【材料および方法】Pg ATCC 33277 株を使用し、相同組換え法によって遺伝子欠損株を作製した。遺伝子組換えの確認は polymerase chain reaction 法で行った。親株と各欠損株の抗生物質に対する感受性は微量液体希釈法を用いて測定した。すなわち、あらかじめ培養した親株と欠損株をマクファーランド濁度 0.5 となるように菌液を調整し、抗生物質を 96-well plate に段階希釈したものに添加、培養し、マイクロプレートリーダーで吸光度を測定し、MIC の判定を行った。また、寒天平板希釈法も用いた。すなわち、種々の抗生物質を含む血液寒天培地を作製し、親株と欠損株をそれぞれ播種し、7日間嫌気培養を行ったのち minimum inhibitory concentration (MIC) の測定を行った。

【結果および考察】 Δ PGN_1796 株は血液寒天培地上に平滑で黒色の集落を形成し、集落の大きさは親株のものと差はなかった。また、増殖速度にも差はなかった。薬剤感受性については、Metronidazole および Tetracycline に対する MIC が親株に対して2倍以上上昇した。Metronidazole と Tetracycline では作用機序が異なることから、PGN_1796 は物質の排出/透過性に関与することが推測された。

菌体外へ物質を排出するマシーナリーとして薬剤排出ポンプ様分子が広く知られている。Pg ATCC 33277 株のゲノム中には、内膜蛋白質 (CMP)、ペリプラズム蛋白質 (PP) および外膜蛋白質 (OMP) を基本構成とするマルチコンポーネント型の薬剤排出ポンプ様分子の遺伝子クラスターが7つ見いだされた。各遺伝子クラスター中の PP 遺伝子を破壊した7種類の遺伝子欠損株 (Δ PP 株) を相同組換え法によって作製し、薬剤感受性の検討を行った結果、一部の Δ PP 株で薬剤感受性が上昇した。このことから、Pg ATCC 33277 株の PP 遺伝子は薬剤排出に関与していることが示唆された。今後は、薬剤感受性に関する PGN_1796 遺伝子と薬剤排出ポンプ様分子との関連性、さらにそれらの病原性との関連性について解析を進めていく予定である。

ヒト歯根膜由来血管内皮細胞に対する CCN2/CTGF の血管形成に関する研究

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 総合医科学研究所 共用研究施設 微細形態研究室

3 東京慈恵会医科大学 解剖学講座

○五十嵐(武内) 寛子^{1,3}、村樫 悦子¹、立花 利公²、岡部 正隆³、沼部 幸博¹

Effect of CCN2/CTGF on Tube Formation of Human Periodontal Endothelial Cells

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

2 Division of Fine Morphology, Core Research Facilities, The Jikei University school of Medicine,

3 Department of Anatomy, The Jikei University School of Medicine

○TAKEUCHI-IGARASHI Hiroko¹, MURAKASHI Etsuko¹, TACHIBANA Toshiaki²,

OKABE Masataka², NUMABE Yukihiko¹

[目的]

創傷治癒過程および組織再生の際、血管内皮細胞による血管新生は損傷した組織の修復および再生の促進において重要な役割を果たす。ヒト結合組織増殖因子(CCN2/CTGF)は、当初、血管内皮細胞の培養上清中に存在する線維芽細胞の遊走・増殖因子として発見され、細胞の増殖、分化、移動、接着を促進し、細胞外マトリックスの産生、軟骨形成など多彩な作用が報告されている。今回我々は、ヒトの歯根膜より分離した血管内皮細胞を用いて、CCN2/CTGFの血管形成作用について観察した。

[材料および方法]

中央部のみが円形ガラスでできている 35mm のガラスボトム・ディッシュに 2% 寒天を塗布し、ヒト歯根膜由来血管内皮細胞を 1% FBS/DMEM-F12 にて播種し 6 時間培養した (図 1)。対照群は、2%寒天のみを塗布したもの、および、実験群は 50 μ g/ml rCCN2/CTGF 含有 2% 寒天を塗布したものとした。

細胞数のカウントによる CCN2/CTGF の細胞増殖への影響、光学顕微鏡による形態観察、倒立型リサーチ顕微鏡による経時的形態変化の観察および電子顕微鏡による細胞内小器官の観察を行った。

[結果]

血管内皮細胞の増殖への影響は 50 μ g/ml rCCN2/CTGF が最も増殖率が高かったことから、本実験において使用する rCCN2/CTGF 濃度を 50 μ g/ml とした。対照群の血管内皮細胞は Tube を作ることなく寒天上に付着していたが、実験群は、播種 2 時間後より Tube Formation が観察された。また、もう 1 群の対照群である実験群の円形ガラス外のプラスチック部分の細胞は、Tube の形成は見られず、モノレイヤー状に増殖していた。

Trypan Blue 染色による光学顕微鏡の観察で、明瞭な管腔構造が確認され、電子顕微鏡による観察においても、管腔構造が認められた。

[考察]

歯周外科手術後や創傷治癒、組織の再生時には血管形成は必須であり、VEGF や HGF 等の様々な因子の相互関係が研究されている。今回の研究により、CCN2/CTGF がヒト歯根膜由来血管内皮細胞に対し Tube Formation を誘導し CCN2/CTGF は血管形成の初期に関するファクターということが示唆された。

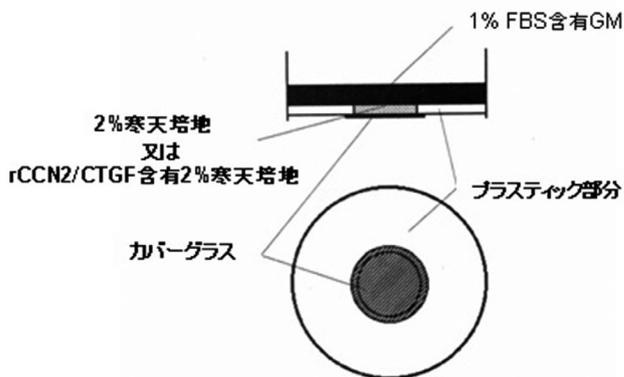


図 1. 35mm ガラスボトム・ディッシュ模式図

若年の冠動脈疾患患者では *Porphyromonas gingivalis* に対する血清抗体価が高い

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科¹ 歯周病学分野、²循環制御内科学分野
³東京大学 先端臨床医学開発講座
○青山典生¹ 鈴木淳一³ 金子 誠¹ 始平堂由佳¹ 磯部光章² 和泉雄一¹

High antibody level against *Porphyromonas gingivalis* in young patients with coronary heart disease

Departments of ¹Periodontology and ²Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, ³Department of Advanced Clinical Science and Therapeutics, University of Tokyo

○Norio Aoyama¹, Jun-ichi Suzuki³, Makoto Kaneko¹, Yuka Shiheido¹, Mitsuaki Isobe², Yuichi Izumi¹

【研究目的】

多くの研究から歯周病が心血管疾患と関連があることは示されているものの、両疾患を関連付けるメカニズムの詳細は研究途上である。これまでに我々は基礎研究から、特定の歯周病原細菌感染が大動脈瘤、血管傷害後の内膜肥厚、心筋虚血後の心臓の線維化などを促進させることを明らかにした。しかしながら、疫学的に歯周病原細菌ごとの冠動脈疾患への影響の違いは世界的にも明らかになっていない。そこで、本臨床研究の目的は、口腔内の細菌数の定量と細菌に対する血清中の抗体価を計測することにより、冠動脈疾患を有する患者における歯周病原細菌の感染状態を評価することである。

【材料および方法】

東京医科歯科大学医学部附属病院にて循環器疾患の治療を受ける入院症例の男女成人患者のうち31歳以上75歳以下の406例を被験者として、入院加療に関わる一般的な医科検査のほか、以下の歯科検査を行った。臨床的に欠損歯数の計測と、歯周病検査としてプロービング深さ、臨床的クリニカルアタッチメントレベルおよびプロービング時の出血の有無の測定を、代表6歯の周囲6部位から行った。無刺激唾液を採取し、リアルタイムPCR法により歯周病原細菌3菌種 (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*) の量を計測した。被験者の血清から、上記と同じ3菌種に対するIgG抗体価を測定した。

なお、本研究課題は東京医科歯科大学医学部附属病院および歯学部附属病院における倫理審査委員会の承認を受けている。またインフォームドコンセントにあたっては、研究者から書面による詳細な研究内容の説明を行ったのち、被験者の自由意思により書面での同意を得た。

【結果】

被験者を年齢と冠動脈疾患の有無により4群に分類し、31-60歳を若年者、61-75歳を高年者として解析を行った。若年者で冠動脈疾患を有する者は27名、有さない対照群が129名で、高年者で冠動脈疾患を有する者は99名、有さない対照群が151名であった。欠損歯数は、高年者において対照群の被験者と比較して、冠動脈疾患を有する被験者で統計学的有意に多かった。プロービング深さ、臨床的クリニカルアタッチメントレベルやプロービング時の出血の割合は、冠動脈疾患患者と対照群で同年齢層において差がなかった。同年齢層では唾液中の *Porphyromonas gingivalis* 菌数は冠動脈疾患群と対照群とで差がなかった。若年者における血清中の抗 *Porphyromonas gingivalis* 抗体価は、対照群と比較して冠動脈疾患群で有意に上昇していた。 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* および *Prevotella intermedia* については、同年齢層における両群で菌数、抗体価ともに差を認めなかった。

【考察】

本研究結果から、比較的若年の冠動脈疾患患者では、同年代の冠動脈疾患を有さない循環器疾患患者と比較して歯周病原細菌のうち特に *Porphyromonas gingivalis* に対する血清抗体価が上昇していることが認められた。唾液中の *Porphyromonas gingivalis* 菌数は冠動脈疾患群と対照群とで差がなかったことから、 *Porphyromonas gingivalis* に対して過剰に免疫反応を起こす者では冠動脈疾患発症のリスクが上昇している可能性が考えられ、歯周病原細菌の検索や歯周病治療が新たな循環器疾患のリスク診断へとつながる可能性がある。

【結論】

60歳以下の比較的若年の冠動脈疾患患者では、 *Porphyromonas gingivalis* に対する血清抗体価が上昇していることが明らかになった。

カリオテスター®を用いたフッ化ジアンミン銀の歯根象牙質における 脱灰抑制および再石灰化効果の *in vitro* 評価

¹鶴見大学歯学部保存修復学講座, ²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座 う蝕制御学分野,
³兵庫医科大学歯科口腔外科学講座, ⁴歯と骨の GCOE

○菅原豊太郎¹, 鶴鷹佐知子², 中嶋省志², 二階堂徹², 清水明彦³, 田上順次^{2,4}, 桃井保子¹

Cariotester assessment of demineralization inhibition and remineralization enhancement in root dentin by silver diammine fluoride *in vitro*

¹Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine, ²Cariology and Operative Dentistry, Department of Oral Health Science, Graduate School of Medical and Dental Science, Tokyo Medical and Dental University, ³Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine, ⁴Global Center of Excellence, Tokyo Medical and Dental University.

○¹SUGAWARA Toyotaro, ²UTAKA Sachiko, ²NAKASHIMA Syozi, ²NIKAIDO Toru, ³SHIMIZU Akihiko, ^{2,4}TAGAMI Junji, ¹MOMOI Yasuko

【緒言】Transverse microradiography(TMR)を用いたミネラル密度の定量的評価は、数多くの研究で行われてきた。しかし、フッ化ジアンミン銀(サホライド®, ビーブランドメディコ:以降 SDF)の効果を評価するために TMR を用いると、沈着した銀イオン(Ag⁺)により、ミネラル密度の定量的評価に限界が生じる。一方、2009年清水ら¹⁾により歯科用硬さ測定器(カリオテスター®, 三栄エムイー社:以降 CT)が開発されて以来、*in vitro* で CT を用いたさまざまな研究が行われてきた。その中には、ウシ歯根象牙質に対するフッ化ナトリウム (NaF) やリン酸酸性フッ化ナトリウム (APF) による脱灰抑制および再石灰化効果の評価に CT を用いたものも報告されており、CT の有用性が示唆されている^{2,3)}。今回、CT を用いて SDF によるウシ歯根象牙質の脱灰抑制および再石灰化効果を評価することとした。

【材料および方法】

実験 1. 脱灰抑制実験: ウシ歯根象牙質試料の被験面に SDF を塗布した。非塗布群と SDF 塗布群をそれぞれ脱灰液に浸漬し、1, 3, 7, 14, 21 日後に取り出した。CT を用いて被験面のカリオテスター深さ(μm, 以降 CT 深さ)の測定を行い、これを硬さとした。

実験 2. 再石灰化実験: ウシ歯根象牙質試料の被験面を脱灰処理し、SDF を塗布した。非塗布群と SDF 塗布群をそれぞれ 2, 4, 6 週間再石灰化液に浸漬し、再石灰化させ、CT 深さを測定した。

両実験とも、統計には Bonferroni 多重比較(有意水準 5%)を用いた。

【結果および考察】図 1 に実験 1 の結果を示す。CT 深さと脱灰日数の平方根との関係には高い直線関係があり、過去の報告²⁾と同様であった。したがって CT 深さはミネラル密度と相関していると考えられ、CT により脱灰抑制効果を評価できる可能性が示唆された。非塗布群と比べて、SDF 塗布群には平均 89% の高い脱灰抑制効果($\{1-(\text{SDF 塗布群の近似式の傾き}/\text{非塗布群の近似式の傾き})\} \times 100$)が認められ、全ての脱灰日数において両群には有意差が認められた。また、CT を用いることによって SDF の脱灰抑制効果を検出できることが示唆された。

図 2 に実験 2 の結果を示す。非塗布群と比較して、SDF 塗布群は全ての再石灰化日数(週)で CT 深さが有意に低かった。したがって CT を用いて SDF の再石灰化効果を検出できることが示唆された。再石灰化液浸漬前と再石灰化液浸漬後 6 週目を比較した CT 深さの減少率($\{1-(\text{再石灰化液浸漬後の CT 深さ}/\text{再石灰化液浸漬前の CT 深さ})\} \times 100$)は非塗布群で 20.6%、SDF 塗布群で 34.2%であった。

今回、CT を用いることで非塗布群と SDF 塗布群の脱灰抑制および再石灰化効果の差を評価できることが分かった。このことより、CT は SDF による根面う蝕への脱灰抑制および再石灰化効果を臨床現場で定量的かつ客観的に診断できる装置である可能性が示唆された。

【結論】カリオテスターを用いて、フッ化ジアンミン銀によるウシ歯根象牙質の脱灰抑制および再石灰化効果を *in vitro* で評価できることが確認された。

参考文献: 1)Akihiko Shimizu *et al.* Newly developed hardness testing system, "Cariotester": measurement principles and development of a program for measuring Knoop hardness of carious dentin. *Dent Mater J.* 2013; 32: 1-5.
2)菅原豊太郎ら フッ化物塗布はウシ歯根象牙質の脱灰を抑制した 日本歯科保存学術大会プログラムおよび講演抄録集 137 回 2012; 94.
3)Sachiko UTAKA *et al.* Cariotester, a new device for assessment of dentin lesion remineralization in vitro. *Dent Mater J.* 2013; 32: 241-7.

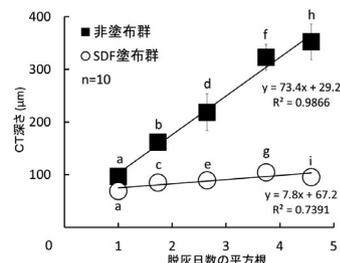


図1. SDFの脱灰抑制効果によるCT深さの経時変化
※同じ脱灰日数間で違う文字を付したものは有意差あり。

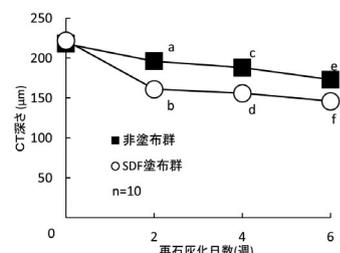


図2. SDFの再石灰化効果によるCT深さの経時変化
※同じ再石灰化日数間で違う文字を付したものは有意差あり。

新規 S-PRG フィラー含有レジン系仮封材の象牙質脱灰抑制能

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 蝕制御修復学講座¹⁾, 短期大学部歯科衛生学科²⁾, 歯科理工学講座³⁾,
横須賀・湘南地域災害医療歯科学研究センター⁴⁾

○椎谷 亨^{1,4)}, 富山 潔^{1,4)}, 飯塚純子^{1,4)}, 長谷川晴彦^{1,4)}, 倉持江里香^{1,4)},
藤野富久江²⁾, 大橋 桂^{3,4)}, 二瓶智太郎^{3,4)}, 寺中敏夫¹⁾, 向井義晴^{1,4)}

Anti-demineralization effect of a novel S-PRG filler containing resin based temporary filling material on dentin

Department of Cariology and Restorative Dentistry¹⁾, Department of Dental Hygiene, Junior College²⁾, Department of Dental
Materials Science³⁾, Institute for Research of Disaster Dental Medicine in Yokosuka and Shonan⁴⁾,
Kanagawa Dental University, Yokosuka, Japan.

○SHIYA Toru^{1,4)}, TOMIYAMA Kiyoshi^{1,4)}, IIZUKA Junko^{1,4)}, HASEGAWA Haruhiko^{1,4)}, KURAMOCHI Erika^{1,4)},
FUJINO Fukue²⁾, OHASHI Katsura^{3,4)}, NIHEI Tomotaro^{3,4)}, TERANAKA Toshio¹⁾, MUKAI Yoshiharu^{1,4)}

【研究目的】レジン系仮封材は、操作の簡便性などから窩洞の仮封に広く用いられている。しかしながら、一方では封鎖性に問題があることも指摘されており、仮封撤去後に窩縁部の脱灰や窩洞内の汚染が認められることも報告されている。近年開発された S-PRG フィラー含有レジン系仮封材は、簡便な操作性を維持しながら S-PRG フィラーから徐放されるフッ化物やストロンチウム等のイオンによる脱灰抑制が期待できる粉液タイプの仮封材料である。この実験の目的は、象牙質に対する本材料の脱灰抑制能を *in vitro* にて検討することである。

【材料および方法】

1. 象牙質試料の作製：ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部下直およびそれより 5mm 根尖側の位置で水平断して得られた円筒状象牙質片をさらに歯軸方向に 2 分割し、#2,000 の耐水研磨紙で象牙質試験面を平坦に仕上げた。
2. 仮封材：3×3 mm の試験面が得られるようにスティッキーワックスにて窓開けし、そのうち 2×3 mm の部位に対し以下の 4 種類のレジン系仮封材を筆積み法により適用した；1) デュラシール (Du 群) 2) S-PRG フィラー0%含有レジン系仮封材 (S0 群) 3) S-PRG フィラー10%含有レジン系仮封材 (S10 群) 4) S-PRG フィラー20%含有レジン系仮封材 (S20 群)。各群の試料数は n=6 とした。
3. 脱灰試験：上記 1. にて作製した象牙質試料をプラスチック製円筒容器の底にスティッキーワックスにて固定し、8% Methocel MC gel (Fluka) を注入して 24 時間放置後、その上部に脱灰緩衝液 (1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 50 mM acetic acid, 0 ppm F, pH 5.0) を静かに注入する二層法にて 37°C, 1 週間静置し、仮封材で被覆されていない 1×3 mm の露出象牙質を脱灰した。
4. ミネラルプロファイルの作成および平均ミネラル喪失量 (IML) の測定：象牙質試料から厚さ 300μm の薄切片を作製し、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) を用いて分析を行なった。4 群間におけるこれらパラメーターの比較には、One-way ANOVA および Games-Howell の検定 (有意水準 5%) を用いた。

【成績】平均ミネラルプロファイルを比較すると、Du 群および S0 群では明瞭な表層は観察されず顕著な病巣体部が認められたが、S10 群および S20 群では深さ約 10~20 μm 付近にミネラル量それぞれ 30 vol% および 40 vol% 近くにまで達する厚く明瞭な表層が観察され、病巣体部も軽微であった。平均 IML (vol% × μm) は、Du 群, S0 群, S10 群および S20 群各群でそれぞれ 5223.2 ± 341.1, 5004.0 ± 404.3, 2979.0 ± 241.0 および 2814.2 ± 569.5 であり、S10 群, S20 群は Du 群, S0 群に比較し有意に低い値を示した (p<0.05)。一方、S10 群と S20 群間および Du 群と S0 群間には有意差は認められなかった (p>0.05)。

【考察】S-PRG フィラー10%および 20%含有レジン系仮封材から徐放されるフッ化物イオン、ストロンチウムイオンなどが近接する象牙質表面に拡散して取り込まれることにより、過酷な酸性環境下においてもフルオロアパタイト、ストロンチウムアパタイトを形成して脱灰を抑制するものと考えられた。したがって、本材料はそのイオン徐放性により窩洞内の脱灰を防御するだけでなく、窩洞周囲に存在する象牙質、ひいては隣在歯象牙質における齶蝕の発生を抑制する効果が期待できるものと思われた。

【結論】*in vitro* にてウシ歯根象牙質面に S-PRG フィラー含有レジン系仮封材を適用してその隣接象牙質の脱灰様相を検討したところ、S-PRG フィラーを 10%もしくは 20%含有した仮封材の近接露出象牙質面における効果的な脱灰抑制能が確認された。

S-PRG フィラーおよび硝酸カリウム含有知覚過敏材の象牙質再石灰化・耐酸性能

神奈川県歯科大学大学院 歯制御修復学講座

○向井義晴, 富山 潔, 岡田周策, 長谷川晴彦, 飯塚純子, 倉持江里香, 椎谷 亨, 寺中敏夫

Remineralization and anti-demineralization effects of a S-PRG filler and potassium nitrate containing medicament for dentin hypersensitivity

Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School, Kanagawa Dental University

○MUKAI Yoshiharu, TOMIYAMA Kiyoshi, OKADA Shusaku, HASEGAWA Haruhiko, IIZUKA Junko, KURAMOCHI Erika, SHIYA Toru, TERANAKA Toshio

【研究目的】

象牙質知覚過敏部位は、細管の開口のみならずプラーク堆積による脱灰が伴っている場合も多くあると考えられる。我々は、S-PRG フィラーとポリアクリル酸を使用した S-PRG 細管封鎖法（以後 SPRG 法）が表層下脱灰象牙質を再石灰化させる可能性を報告した。今回、新たに知覚鈍磨作用を有する硝酸カリウム溶液を組み合わせた改良法による再石灰化後ならびに耐酸性試験後の象牙質脱灰様相を TMR および SEM により観察した。

【材料および方法】

ウシ歯根部から 6mm×5mm の象牙質試料を切り出した後、象牙質表面を 10%リン酸溶液で 10 秒間処理、水洗後、ヒドロキシアパタイトペーストを使用した歯面研磨用回転ブラシで 1,000rpm, 1 分間の研磨を行い、超音波浴槽中で 35 分間、脱イオン水中に 18 時間浸漬することにより細管を開口した。これら細管開口の終了した象牙質表面にスティッキーワックスを用いて 3mm x 4 mm の試験面を設定し、脱灰溶液 (1.5 mM Ca, 0.9 mM P, 50 mM acetic acid, 0.2 ppm F, pH5.0) 中に 37℃、3 日間浸漬することにより基準となる細管開口表層下脱灰病巣を作製した。これら試片を以下の 7 群に分けた (n=6)。①基準病巣群(Baseline) ②再石灰化群(Control) : 細管封鎖処理を行わず再石灰化液 (1.5 mM Ca, 0.9 mM P, 130 mM KCl, 20 mM Hepes, pH 7.0) に 4 週間浸漬 ③SPRG 群 (SPRG) : SPRG 法により細管封鎖処理 (5 wt% KNO₃ 溶液に浸したフェルトチップを使用して S-PRG フィラーを含む粉末 (85 wt% S-PRG フィラーと平均粒径 40 nm ヒュームドシリカを含有するパウダー) を微量採取し 1 分間擦り込んだ後、13 wt%ポリアクリル酸水溶液を 5 秒間塗布、余剰ペーストを拭き取った後、10 秒間水洗、再石灰化溶液に 4 週間浸漬) ④MS コート F 群 (MSF : サンメディカル) : MS コート F を指示書に従って 1 分間塗布後、10 秒間水洗。再石灰化溶液に 4 週間浸漬 ⑤再石灰化耐酸性群 (Cont-dem) : 細管封鎖処理を行わず再石灰化液 4 週間浸漬後、脱灰溶液 (1.5 mM Ca, 0.9 mM P, 50 mM acetic acid, 1 % CMC, pH5.0) に 3 日間浸漬 ⑥SPRG 耐酸性群 (SPRG-dem) : SPRG 処理、再石灰化液浸漬後、脱灰溶液に 3 日間浸漬 ⑦MS コート F 耐酸性群 (MSF-dem) : MS コート F 処理、再石灰化液浸漬後、脱灰溶液に 3 日間浸漬 なお、再石灰化溶液は 1 試料あたり 10ml とし、毎週新鮮な溶液に交換した。4 週間経過後、厚さ 300 μm 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) 後、分析用ソフト (TMR2000) を用いてミネラルプロファイルを作製した。試片毎に最終的なミネラル喪失量 (IML) 算出し、One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5% にて群間の統計分析を行った。また、TMR 用に切り出した試料の残りの部分は SEM 観察用試料とした。

【結果】

Baseline の IML は、3953.4 (vol%×μm) であり、その後再石灰化させた Control、MSF、SPRG 各群の IML は、942.8、1068.4、1523.0 であった。Baseline と再石灰化させた 3 群間には有意差が確認されたが、MSF と SPRG 間に有意差は認められなかった。その後、耐酸性試験を行った 3 群の IML はそれぞれ、Cont-dem: 4042.4、MSF-dem: 2553.1、SPRG-dem: 3253.8 であり、3 群間に有意な差が確認された。SEM 観察の結果、再石灰化後では SPRG 群でほとんどの細管が封鎖されていたのに対し MSF 群では比較的多くの細管に開口が認められた。耐酸性試験後においても SPRG 群の細管封鎖性は MSF 群に比較し良好と思われた。

【考察および結論】

一般的に硝酸カリウムの知覚過敏抑制効果は知覚鈍麻作用によるものと考えられており、本結果からもこれまでの SPRG 法に比較して細管封鎖性の著しい向上は認められなかった。IML の比較では再石灰化後および耐酸性試験後ともに MSF が SPRG に比較し低い値となっているのに対し、SEM 観察では MSF に細管の開口傾向が認められた。以上の結果から、SPRG は MS コート F に比較し材料の溶解が生じにくく、イオンの徐放は緩徐であるものの、持続的細管封鎖能は高いと考えられた。

フッ素徐放性フィッシャーシーラント材料の脱灰抑制効果に関する研究

¹⁾日本歯科大学附属病院 総合診療科、²⁾日本歯科大学生命歯学部 接着歯科学講座
○花村伊織¹⁾、滑川初枝¹⁾、代田あづさ¹⁾、柵木寿男²⁾

Study on the prevent effect of demineralization using fluoride-releasing fissure sealant materials.

¹⁾General Dentistry, The Nippon Dental University Hospital,

²⁾Department of Adhesive Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

○Iori Hanamura¹⁾, Hatsue Namekawa¹⁾, Azusa Shirota¹⁾, Toshio Maseki²⁾

【目的】 日常の臨床において、う蝕予防効果を期待したフッ素徐放性フィッシャーシーラントとして、コンポジットレジン系材料およびガラスイオノマーセメント系材料が広く活用されている。演者らは、第138回日本歯科保存学会春季学術大会において市販フィッシャーシーラントを比較し、コンポジットレジン系材料よりもガラスイオノマーセメント系材料が有意に大きなフッ素放出量を示す事を報告した¹⁾。今回、フッ素徐放性を示す各フィッシャーシーラントの基本的性質について検討を加えることを目的に、填塞周囲部のエナメル質への脱灰抑制効果に関する評価を行った。

【材料・方法】 被験歯には、本研究倫理委員会の承認を得て、健全ヒト抜去上顎中切歯10本を使用した。フィッシャーシーラントには、コンポジットレジン系材料である松風社製ビューティシーラント(以下BS)およびガラスイオノマー系材料であるジーシー社製フジVIIカプセル(以下F7)の2種を使用した。はじめに、被験歯唇側エナメル質中央部表面を注水下で耐水研磨紙#1200まで順次研磨し、エナメル質平滑面を調整した。BSではビューティシーラントプライマー、F7ではキャビティコンディショナーによる指定の歯面処理を施し、ついでエナメル質平滑面の近心半分を覆うように、BSおよびカプセルミキサーIIにて10秒間練和したF7を、それぞれマイクロチップアプリケーションを用い、一層塗布した。その後、BSではLED照射器を用いた10秒間の光照射を行った(N=5)。37℃湿度100%の湿ボックス中に1時間保管後に、フィッシャーシーラント塗布境界部が中央になるようにネイルマニキュアを塗布し、近遠心方向2mm、長軸方向3mmの規定面を作製した。ついで、37℃脱灰液(0.1M乳酸+水酸アパタイト1,000ppm、pH=4.8)5mlに96時間浸漬後、各試料の中央部を歯軸に垂直に低速切断機(Isomet, Buehler)を用いて切断し、厚さ1.0mmの平行切片試料を作製した。次に、マイクロエクス線CT(TOSCANER, TOSHIBA)を用いて管電圧100kV、管電流120μAの条件下でエクス線透過像を撮影し、フィッシャーシーラント辺縁部から100μm外周部エナメル質と健全エナメル質とのエクス線透過性を比較することにより、ミネラル喪失量を計測した。また、表層からミネラル濃度が95%以上となるところまでの距離を計測し、脱灰深度とした。各測定値については、t検定により統計学的解析を行った。

【結果】 ミネラル喪失量はBS(5,817±2,003vol%・μm) > F7(2,134±566vol%・μm)であり、F7の方が有意に小さい値を示した(P<0.01)。また、脱灰深度はBS(131.2±39.5μm) > F7(59.5±23.9μm)であり、F7の方が有意に小さい値を示した(P<0.01)。

【考察および結論】 本実験結果より、ガラスイオノマーセメント系材料であるF7は、コンポジットレジン系材料であるBSよりも短期間においては高い脱灰抑制効果を示す事が明らかとなった。これは先に報告したF7の大きな初期フッ素放出量¹⁾が、脱灰抑制効果に影響したものと考えられる。

以上のことからF7はフィッシャーシーラントとして有用である可能性が示唆された。さらに、高齢者の歯頸部う蝕や根面う蝕の修復、治療方針決定までの暫間修復等へのより幅広い対応が期待できると考える。今後、経時変化やリチャージの影響などの評価を加えることにより、臨床応用術式の確立を検討する。

¹⁾日本歯科保存学会 2013年度春季学術大会プログラムおよび講演抄録集, P.169, 2013

小窩裂溝填塞材におけるフッ素のリリースとリチャージの検討

北海道大学大学院歯学研究科歯科保存学教室

○角田晋一, 潘峰, 門脇佳孝, 川野晋平, 丁世俊, 勝俣愛一郎,
星加修平, 中沖靖子, 池田考績, 田中享, 佐野英彦

Releasing and Recharging Fluoride on Commercial Pit-and-Fissure Sealants

Department of Restorative Dentistry, Hokkaido University

○Shinichi KAKUDA, Feng PAN, Yoshitaka KADOWAKI, Shimpei KAWANO, Shih Chun TING, Aiichiro KATSUMATA,
Shuhei HOSHIKA, Yasuko NAKAOKI, Takatsumi IKEDA, Toru TANAKA, Hidehiko SANO

【研究目的】

Pit & Fissure Sealant (PFS) は、幼弱永久歯や乳歯のウ蝕好発部位である臼歯部小窩裂溝を物理的に填塞することでウ蝕発生を予防することが期待されている。さらに PFS からフッ素が徐放することによるウ蝕予防を行う製品もある。硬組織への作用と細菌に与える作用について、フッ素イオンの Bioactive な効果が叫ばれて久しい。しかし歯科材料からのフッ素徐放量は経時的に減少する。そのため、フッ素を再貯留させることが想定される。そこで、市販されているガラスイオノマー系及びレジン系の PFS における、フッ素の徐放（リリース）と再貯留（リチャージ）の動態について検討した。

【材料および方法】

使用した Sealant ペーストは、市販されている BeautiSealant、Clinpro Sealant、Fuji III LC、TEETHMATE F-12.0 の 4 種類の PFS システムを使用した。乳酸原液を蒸留水で希釈し調整した溶液（5cc、pH4.0）に、Sealant ペースト硬化体（直径 13mm、高さ 1.0mm）を浸漬した。その後、毎日新しい乳酸溶液に浸漬した。まず、24 時間ごとに溶液中に放出されたフッ素量をそれぞれ 7 日間にわたり計測した。そしてフッ素のリチャージ行程として、Sealant ペースト硬化体を 30 分間乾燥させたのち、9,000ppmF 相当のフッ化ナトリウム水溶液 5cc に 5 分間浸漬し、蒸留水で 10 秒間洗浄し、さらに試料表面に残留する水分を拭き取った（キムワイブ）。その後再び乳酸溶液に 24 時間ずつ浸漬することを 7 日間行い、その間フッ素濃度の測定を行った。

7 日目とリチャージ後 1 日目の溶液中フッ素濃度について Games-Howell 法により統計学的有意差検定を行った。

【成績】

溶液中フッ素濃度を以下に示す。（ppm; 平均値±標準偏差）

	BeautiSealant	Clinpro Sealant	Fuji III LC	TEETHMATE F-12.0
1 日目	5.58±0.49	1.31±0.10	26.86±2.17	15.71±3.91
3 日目	1.03±0.12	0.34±0.04	11.17±0.39	5.66±1.34
5 日目	0.58±0.10	0.23±0.01	7.63±0.29	3.70±1.14
7 日目	0.36±0.06	0.19±0.01	5.70±0.28	2.64±0.82
リチャージ後 1 日目	3.18±0.72	0.21±0.03	34.46±5.07	2.00±0.03
リチャージ後 3 日目	0.45±0.09	0.17±0.01	7.42±0.89	1.91±0.58
リチャージ後 5 日目	0.36±0.06	0.16±0.01	5.58±0.96	1.46±0.41
リチャージ後 7 日目	0.30±0.05	0.12±0.00	4.34±0.59	1.17±0.38

溶液中フッ素濃度について、BeautiSealant と Fuji III LC では 7 日目に対してリチャージ後 1 日目が有意に大きな値を示した。（ $p < 0.05$ ）

【考察・結論】

ガラスイオノマーはゲル形態をとることから、フッ素はゲル内に蓄積され、そして再び徐放されるものと考えられた。ガラスイオノマー製品である Fuji III LC と、S-PRG フィラー中にガラスイオノマー層を有する BeautiSealant において、フッ素のリチャージは高濃度フッ素溶液により効果的に行われた。

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(第2報)

近畿大学生物理工学部¹, 大阪歯科大学歯科保存学講座²

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

Examination on sealing effect of dentinal tubule using the ultrathin hydroxyapatite sheet (Part2)

Kinki University¹, Osaka Dental University²

HONSTU Shigeki¹, ○ISAI Arata¹, YAMAMOTO Ei¹, KATO Nobuhiro¹, NISHIKAWA Hiroaki¹,
YOSHIKAWA Kazushi², YAMAMOTO Kazuyo²

【研究目的】

一般に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るが、我々は極薄ハイドロキシアパタイト(HAp)シートを象牙質上に貼付することで、これを人工エナメル質とし、象牙細管を封鎖して知覚過敏の治療をオールアパタイトで行うことを試みている。これまで、HApシートの結晶性や貼付液のpH等を替えた場合の固着強度や固着時間の相違について検討してきた。本研究では、HApシートの膜厚が象牙質/シート界面の再石灰化層や象牙細管の封鎖効果に与える影響について検討を行ったので報告する。

【材料および方法】

KrFエキシマレーザーを用いたパルスレーザーデポジション(PLD)法により、これまで報告した成膜条件で1、2、8 μm のHAp薄膜をNaCl基板上に成膜した¹⁾。続いて、純水中にこの試料を浸漬し、NaCl基板のみを溶解させHAp薄膜を極薄シートとして回収した。今回、成膜後のシートは熱処理を行わず、アモルファス状態で使用した。一方、シートを貼付する象牙質はヒト抜去歯から作製した。まず、抜去歯を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、表面を#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することで、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、水を含んだ脱脂綿上に静置することにより、象牙細管内に常に水分が供給される状態で保管した。象牙細管の封鎖状況は、シート貼付表面に対して垂直に試料を切断することで、HApシートと象牙質との界面が観測できる状態にし、貼付6日後と30日後に走査型電子顕微鏡(SEM)により象牙質/シート界面を観察した。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り、象牙質上に貼付液で簡単に貼り付いた。図1に貼付6日後の1、2、8 μm のHApシートのシート/象牙質界面の断面SEM観察結果を示す。図より1 μm のHApシートの場合、完全に象牙質表面を覆うことができないが、2、8 μm シートでは象牙質表面を完全に被覆でき、象牙細管も封鎖できることがわかる。また、界面の再石灰化層はシート膜厚が厚いほど厚くなることもわかる。これは薄いシートほど柔軟に撓むことができ、象牙質表面と密着することと関係していると思われる。図2は2 μm のシートの貼付後30日後の界面の状況を示すが、シートは象牙質上に人工エナメル質として機能していることがわかる。

以上より、シートの取り扱い性や象牙細管封鎖効果から2 μm 厚のHApシートの象牙質上への貼付は、知覚過敏の有用な治療手段になると思われる。

References: [1] S.Hontsu et al. *Key Engineering Materials*, 494-494 (2011)

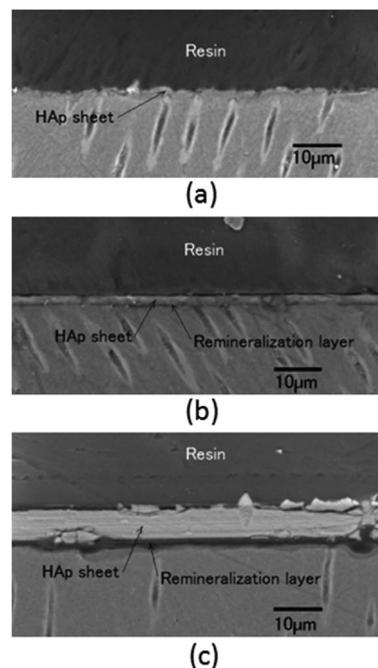


図1. 象牙質上に貼付したHApシートの断面SEM観察結果 (a)1 μm (b)2 μm (c)8 μm (6日後)

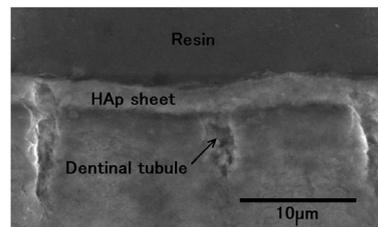


図2. 象牙質上に貼付した2 μm のHApシートの断面SEM観察結果 (30日後)

象牙細管内容物が象牙質知覚過敏抑制剤の封鎖性に及ぼす影響
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¹⁾
朝日大学口腔科学共同研究所²⁾

○村瀬由紀¹⁾, 渡辺茂文¹⁾, 森田侑宜¹⁾, 望月久子¹⁾, 岡崎 愛¹⁾, 堀田康明²⁾, 堀田正人¹⁾

Sealing ability of desensitizer on exposed dentinal tubules in fresh human teeth
Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,
Asahi University School of Dentistry¹⁾

Central Research, Institute of Oral Science, Asahi University School of Dentistry²⁾
○MURASE Yuki¹⁾, WATANABE Shigefumi¹⁾, MORITA Yuki¹⁾, MOCHIZUKI Hisako¹⁾, OKAZAKI Ai¹⁾
HOTTA Yasuaki²⁾, HOTTA Masato¹⁾

【研究目的】

象牙質知覚過敏症の主たる病因は開口した象牙細管より歯髄に外来刺激を受容させやすくするためと考えられている。また、象牙細管開口部からは歯髄側からの浸出液が歯髄内圧で溢れており、象牙細管内容物（管状膜様構造物等）の存在が石灰化沈着物による生理的封鎖を阻害することにより起こるのではないかとこの考えもある。このように、象牙細管内容物の存在が象牙細管の封鎖性にどのような影響を及ぼすかは不明であり、詳細な検討が必要である。そこで、抜去直後の歯の歯頸部を切断し、細管内容物をそのままにした状態のヒト象牙質を用いて、各種象牙質知覚過敏抑制剤塗布直後および人工唾液浸漬後の象牙細管封鎖性について形態学的に検討した。

【材料および方法】

①供試材料

使用した象牙質知覚過敏抑制剤は、MS コート F（サンメディカル、以下 MS）、グルーマディセンシタイザー（ヘレウスグルツァージャパン、以下 GLU）、シールドフォースプラス（トクヤマデンタル、以下 SF）、フルオロボンドII（松風、以下 FB）である。また、被験歯として、朝日大学歯学部附属病院にて抜去された第三大臼歯を用いた。なお、抜去歯については朝日大学歯学部倫理委員会の承認を得ている。

②人工唾液の作製方法

人工唾液は Sieck らの方法に従い作製し pH7.0 に調整した。

③象牙細管の走査電子顕微鏡（SEM）観察と元素分析

ヒト抜去第三大臼歯を抜去直後に切断し、象牙細管を露出させた。各種象牙質知覚過敏抑制剤塗布後 2.5%グルタルアルデヒド固定液（カコジル酸緩衝）にて抜去後 30 分以内に固定した試料と知覚過敏抑制剤塗布後 4 週間、人工唾液に浸漬後、2.5%グルタルアルデヒド固定液（カコジル酸緩衝）にて固定した試料の象牙細管横断面及び象牙細管縦断面の SEM 観察を行った（n=3）。また、SEM に装備したエネルギー分散型 X 線マイクロアナライザー（EMAX-7000, HORIBA, 以下 XMA）にて Ca/P モル比を求めた。知覚過敏抑制剤を使用していないものをコントロールとした。

【結果および考察】

SEM 観察においてコントロールでは 30 分以内に固定した歯（30M）は細管内に有機質のようなものが観察されたが 4 週間浸漬した歯（4W）では、有機質様のものはなく、細菌と思われるものが観察された。MS は 30M で微粒子や結晶が観察されたが 4W では観察されなかった。また、4W では塗布面に線維様構造物と細菌と思われるものが観察された。GLU は 30M で細管内に有機質膜様構造物が観察されたが 4W では観察されず、細菌と思われるものが存在した。SF は 30M と 4W ともレジクタグ様のものが約 20 μm 前後の深さまで細管内に観察され、細管は封鎖されていた。FB は 30M で象牙細管の開口が観察されなかったが 4W では象牙細管の開口が観察された。細管内は 30M, 4W とも、SF 同様レジクタグ様のものが約 20 μm 前後まで侵入していた。各知覚過敏抑制剤の元素分析では MS と FB が微量のフッ素、また、SF がシリカ、FB はシリカ、アルミナが検出された。Ca/P モル比は MS, GLU, SF においては 30M, 4W ともに塗布面、細管開口部付近ともにほとんど変化はみられなかった。FB は塗布面の 30M で Ca/P モル比が低い値であった。4W ではファイラーや硬化した FB が脱落したためかコントロールと同程度の値となった。以上のことから、SF が細管内への侵入性が良好で、人工唾液に 4 週間浸漬後でも細管は封鎖されたままであった。また、細管開口部付近の Ca/P モル比から 4 週間の人工唾液浸漬では今回使用した知覚過敏抑制剤とも顕著な Ca 沈着は起こらなかった。

象牙質知覚過敏抑制材がセルフエッチング接着システムの接着性に及ぼす影響

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野
○田中久美子, 大原直子, 澁谷和彦, 横山章人, 山路公造, 西谷佳浩, 吉山昌宏

Influence of Dentin Desensitizer on Bond Strength of Self-Etching Adhesive System

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○TANAKA Kumiko, OHARA Naoko, SHIBUYA Kazuhiko, YOKOYAMA Akihito, YAMAJI Kozo, NISHITANI Yoshihiro, YOSHIYAMA Masahiro

【研究目的】象牙質知覚過敏症においては、同一の患部に対し、象牙質知覚過敏抑制材の繰り返し塗布、機序の異なる知覚過敏抑制材の塗布、また、実質欠損を伴う場合には知覚過敏抑制材の塗布から日を改めてコンポジットレジン修復を行うなど、処置が多岐にわたる。本研究では、象牙質知覚過敏抑制材の使用がコンポジットレジン修復に及ぼす影響を検討することを目的に、象牙質知覚過敏症モデルに対して知覚過敏抑制材を塗布し、処理面の観察、処理面に対してセルフエッチング接着システムを用いた微小引張接着強さの測定および接着界面の観察を行った。

【材料及び方法】象牙質知覚過敏抑制材として、MSコートONE（サンメディカル）、F-バニッシュ歯科用5%（東洋製薬化成）、ナノシール（日本歯科薬品）を用いた。また、接着システムには、クリアフィルメガボンドFA（クラレノリタケデンタル）を用いた。

試料の作製 う蝕のないヒト抜去小臼歯の歯冠部象牙質平面を露出し、耐水研磨紙で研磨を行い、健全象牙質群および超音波洗浄を30分間行う象牙質知覚過敏モデル群¹⁾に分けた。知覚過敏モデル群はさらに4群に分け、無処理群および3種の知覚過敏抑制材にて処理を行う群とした。健全象牙質および無処理群は試料体作製直後に、また、処理群はメーカー指示通りに処理し7日間37℃水中保管した後に、以下の実験を行った。

象牙質表面の走査電子顕微鏡（SEM）観察 各群の試料に金蒸着を行い、象牙質表面のSEM観察を行った。

微小引張接着試験 各群の試料に対し、メガボンドFAにて歯面処理を行い、コンポジットレジン（AP-X、クラレノリタケデンタル）を築盛、硬化させ接着試料体を作製し、MTBS法を用いて微小引張接着強さを測定した。測定値は健全象牙質と象牙質知覚過敏モデルの無処理群、および、知覚過敏モデル群における知覚過敏抑制材の処理の有無に対して、それぞれone-way ANOVAとTukey's testを用いて有意水準5%にて統計処理を行った。

接着界面の観察 各々の試料に対し、引張試験と同様に接着試料体を作製した。接着界面に対して垂直に切断して研磨後、SEMにて接着界面の観察を行った。

【成績および考察】知覚過敏モデルのSEM像は、象牙細管が開口しており、知覚過敏モデルとして適切であることが示された。作用機序の違いから、材料により、象牙細管の封鎖の状態は様々であった。接着強さの値はそれぞれF-バニッシュ群で 40.65 ± 3.97 MPa、MSコートONE群は 43.07 ± 8.91 MPa、ナノシール群は 47.50 ± 2.90 MPaであり、いずれも無処理群（ 45.45 ± 5.26 MPa）と同等の値を示した（ $p > 0.05$ ）。接着界面のSEM観察では、樹脂含浸層とレジントグを認め、強固に接着していることが確認された。以上のことから、象牙質知覚過敏モデルに対して本研究で使用した3種の象牙質知覚過敏抑制材は、その後に処理した接着システムの接着性に影響を及ぼさないことが示された。

【結論】本研究で使用した象牙質知覚過敏抑制材は、処理後の象牙質に対するセルフエッチング接着システムの接着性に影響を及ぼさないことが示された。

【文献】1)高橋ら. 象牙質知覚過敏抑制材の歯ブラシ摩耗と耐着色性の評価 第136回日本歯科保存学会学術大会, 沖縄, 2012.6

新規 LED 光照射器に関する研究

— II 級窩洞の歯肉壁近接照射が接着に与える影響 —

大阪歯科大学歯科保存学講座

○黄地智子, 恩田康平, 初岡昌憲, 吉川一志, 山本一世

Study on newly LED curing light unit

— Effect of proximity irradiation on bonding at gingival wall of Class II cavity —

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○OUCHI Satoko, ONDA Kohei, HATSUOKA Yoshinori, YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

【目的】

近年 MI が広く浸透し、II 級窩洞であってもコンポジットレジン(以下、CR)修復を行う機会が増えている。しかし II 級窩洞は、従来の光照射器ではヘッド部が大きく窩底、特に歯肉壁までヘッドを近接させることが困難であり、照射距離が長くなってしまふ。今回、ヘッドが小さく(直径 2.1mm)歯肉壁まで近接させて光照射を行うことができる新規 LED 光照射器(以下、MI ヘッド、モリタ)を試作し、歯肉壁部のボンディング材の重合性に与える影響について検討を行った。

【材料および方法】

ヒト抜去大白歯に II 級窩洞(歯肉壁の頬舌距離 2.5mm で近遠心距離 1.5mm の長方形、咬頭頂からの深さ 6mm の四角柱状の窩洞)を形成した。ユーティリティワックスを用いて口腔内の環境を再現して植立させ金属製のマトリックスバンドで隔壁後メガバンド(クラレノリタケデンタル)で歯面処理を行い、咬頭頂からペンキュアにて①10 秒(以下、P10s)、②20 秒(以下、P20s)、MI ヘッドを窩洞の歯肉壁に近接(0.5mm)させてハイパワーにて③10 秒(以下、H10s)、④20 秒(以下、H20s)、ノーマルパワーにて⑤10 秒(以下、N10s)、⑥20 秒(以下、N20s)、歯肉壁から高さ 2mm まで MI ヘッドを挿入しハイパワーにて⑦10 秒(以下、H10s-2)、⑧20 秒(以下、H20s-2)、ノーマルパワーにて⑨10 秒(以下、N10s-2)、⑩20 秒(以下、N20s-2) 光照射を行った。その後フロアブルレジンを歯肉壁から 2mm の高さまで充填しペンキュアにて 20 秒光照射しペーストレジンを咬合面まで充填後ペンキュアにて 20 秒光照射を行った。試料すべてを 37°C 水中に 24 時間保管した後仕上げ研磨を行い、5-55°C・5000 回のサーマルストレスを負荷した。負荷後根尖をガラスアイオノマーセメントで封鎖後歯肉壁窩縁外側 1mm を残して試料全体をネイルバーニッシュで被覆し、各試料を 0.5%塩基性フクシン水溶液に 24 時間浸漬した。その後、窩洞の頬舌の中央で切断し、光学顕微鏡下で色素浸透状態を観察した(n=8)。評価方法として色素浸透なしを 0 点、エナメル質内で留まるものを 1 点、象牙質から隅角までのものを 2 点、隅角を越えるものを 3 点としてスコアリングした。統計処理は Mann-Whitney の U 検定を行った(P<0.05)。

【結果】

MI ヘッドを使用した場合、歯肉壁からの距離が 0.5mm と 2mm との間に漏洩の有意差は認められなかった。しかし 0.5mm の場合には切断面の歯肉壁窩縁部以外からの色素浸透が多く認められた。一方、2mm 離して光照射を行った場合、そのような漏洩はほとんど認められなかった。

【考察】

MI ヘッドを近接させて使用した試料では頬舌の中央部切断面の歯肉壁辺縁部では色素の浸透が認められないが、切断面の窩縁以外からの色素が浸透しているものが多く認められた。これは光が集中して当たっている歯肉壁辺縁部ではボンディング材の重合が良好であるが、光の当たっていない他の部分では重合が不十分となり結果的に漏洩が生じたものと考えられる。一方、照射距離を 2mm にすると歯肉壁以外の窩壁のボンディング材にも光照射が届くため、そのような漏洩が防がれたと考えられる。しかし、照射距離が 2mm になると接着強さが低下することを確認しているため、臨床で使用する場合には MI ヘッドを用いて歯肉壁に近接させて光照射を行い、さらに歯肉壁以外の窩壁に光照射を追加することが望ましいものと考えられる。

【結論】

MI ヘッドを II 級窩洞の歯肉壁に近接させてボンディング材を光照射した場合には、歯肉壁以外の窩壁に光照射を追加する必要があることが示唆された。

多用途型歯面処理材の象牙質接着強さ

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、伊澤俊次、田中久美子、大原直子、
高橋 圭、西谷佳浩、吉山昌宏

Dentin bond strengths of an universal bonding agent

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science, Okayama University
○YOKOYAMA Akihito, SHIODE Shintaro, YAMAJI Kozo, IZAWA Shunji, TANAKA Kumiko,
OHARA Naoko, TAKAHASHI Kei, NISHITANI Yoshihiro, YOSHIYAMA Masahiro

【研究目的】

歯科臨床において、コンポジットレジン修復やレジン支台築造、あるいは接着性レジンセメント等に用いる様々な接着システムが開発され応用されている。近年は 1 ステップの接着システムが普及しつつあり、接着操作の簡便化が図られている。これまでにトクヤマデンタルから、コンポジットレジン修復やレジン支台築造、間接法におけるレジンセメントのいずれにも多用途に使用でき操作の簡単な歯面処理材の開発を目的として、光照射が不要な 1 ステップ接着システムの歯面処理材が試作開発されている。本研究は、この歯面処理材をコンポジットレジン修復およびレジン支台築造に用いた場合の象牙質接着強さについて検討した。

【材料および方法】

歯面処理材として ELT (トクヤマデンタル) を用い、コンポジットレジンにはエステライト Σ クイック (トクヤマデンタル) を、コア用レジンとして ELC-02 (トクヤマデンタル) を使用した。対照群としてクリアフィルボンド SE ONE を用い、クリアフィルマジスティ ES-2 (クラレノリタケデンタル) と、クリアフィル DC コアオートミックス ONE (クラレノリタケデンタル) を使用した。ヒト抜去大白歯を用いて歯軸に垂直な象牙質平坦面を作製し、#600 耐水研磨紙で研磨したものを被着象牙質面とした。ELT は歯面処理の際、ボンド A 液、B 液を等量採取混合し、象牙質面に塗布後 10 秒間放置し、弱圧 5 秒、中圧 5 秒でエアードライした。その後、エステライト Σ クイックあるいは ELC-02 を築盛し光照射を行った。クリアフィルボンド SE ONE は採取後、象牙質面に塗布後 10 秒間放置し、5 秒間エアードライ後 10 秒間光照射を行った。その後、マジスティ ES-2 あるいは DC コアオートミックス ONE を築盛し光照射を行った。37°C 水中に 24 時間浸漬後、接着界面に垂直で断面が 1×1mm の角柱にトリミングし、クロスヘッドスピード 1mm/min にて微小引張試験(EZ Test, Shimadzu)を行った。得られた測定値は t 検定を用いて統計学的分析を行った(p<0.05)。

【成績および考察】

微小引張試験の結果、コンポジットレジン修復では、エステライト Σ クイックは 32.2±7.2(MPa)、マジスティ ES-2 は 34.2±5.2(MPa)であり、両者の間に有意差は認められなかった。また、レジン支台築造では、ELC-02 は 30.8±7.0(MPa)、DC コアオートミックス ONE は 33.1±5.3(MPa)であり、両者の間に有意差は認められなかった。ELT を用いた歯面処理により、対照群と同等の接着強さが得られた。本研究で用いた ELT の特徴として、含有される SR モノマーがリン酸基を複数個有し、歯質のカルシウムイオンに対して多点相互作用することができる。さらに、複数個の重合基によって架橋構造をつくる。また、重合触媒としてボレート系触媒が含まれ、ボンディング層の化学重合が起こる。これらのことによって、光照射を行わなくても、光照射を行うシステムと同等の接着強さが得られ、光の届きにくいポスト孔に対しても確実に歯面処理を行えるとともに、従来の 1 ステップ接着システムよりもさらに接着操作の短縮が図れると考えられる。

本研究の結果、ELT を歯面処理に用いることで、直接コンポジットレジン修復やレジン支台築造において簡便な操作で十分な接着性を有することが示唆された。

新規ワンステップ接着材 LCB の接着性評価

株式会社トクヤマデンタル つくば研究所
○山下佳敦, 平田広一郎, 山本博将

Adhesive properties of the new one-step adhesive LCB
Tsukuba Research Laboratory, Tokuyama Dental
○Yoshinobu Yamashita, Koichiro Hirata, Hiromasa Yamamoto

【目的】

トクヤマデンタルはこれまで、3D-SR 技術を応用したワンステップ接着材「トクヤマ ボンドフォース (BF)」を開発・上市した。BF は冷蔵保管する必要があるため、治療のたびに冷蔵庫から取り出さなければならなかった。これに対し、新規 3D-SR 技術を応用し、高い接着力を示しながら室温保管を可能にする新規ワンステップ接着材「LCB」を開発した。LCB は室温で保管できることから、上記問題が解決され接着操作が簡便となることが期待される。そこで本研究では、LCB の接着性を評価するため、種々の接着材と接着強さを比較し、さらにこれら接着材と象牙質との接着界面についてレーザー顕微鏡による観察を行った。

【材料と方法】

接着試験：新鮮抜去牛歯を耐水研磨紙 600 番で研磨し、平面の象牙質もしくはエナメル質を露出させた。直径 3mm の穴を有する両面テープを歯面に貼り付け、さらに直径 8mm の穴のあいたワックスシートを貼り付け、模擬窩洞とした。上記模擬窩洞に LCB を塗布し、10 秒後にエアブロー、次いで光照射した。ここにエステライト P クイック (トクヤマデンタル) を充填後光照射し硬化させた後、エステライト P 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 II (トクヤマデンタル) で接着させた。この接着試験サンプルを 37°C 水中に 24 時間保管したのち、万能引張試験機を用いてクロスヘッドスピード 1mm/min の条件で引張試験を行った (n=4)。BF (冷蔵保管、非相分離系)、製品 A (室温保管、相分離系)、製品 B (冷蔵保管、非相分離系) については、添付文書に従い接着操作を行った。統計解析ソフト (IBM 社 SPSS Statistics 21) を使用し、One-way ANOVA 並びに Tukey 法により多重比較した。

レーザー顕微鏡観察：新鮮抜去牛歯を歯頸部付近で切断し、上記手順に従って象牙質に対して接着操作を行った。この試験片を接着断面が露出するように縦断し、エポキシ樹脂で包埋した。この観察サンプルを通常法に従い鏡面研磨したのち通常法に従いアルゴンエッチングし、接着材と象牙質との界面を中心にレーザー顕微鏡を用いて観察を行った。

【結果と考察】

LCB は、冷蔵保管、非相分離系の接着材である BF や製品 B と比較して同等以上の接着強さを示し、室温保管、相分離系の製品 A と比較して高い値であった。レーザー顕微鏡により接着材/象牙質界面を観察したところ、製品 A/象牙質界面はアルゴンエッチングにより深く削れていた。一方で、LCB/象牙質界面はあまり削れていなかった。このことから、LCB は象牙質と緻密に接合して強固な接着材/象牙質界面が形成されていることが示唆され、これにより LCB は高い接着強さを発現したと考えられた。

【結論】

新規 3D-SR 技術を応用した室温保管可能な接着材「LCB」は、象牙質に対して高い接着性を示した。このことから LCB は、接着操作への信頼性と利便性に優れた材料であり、臨床において有用な材料であると言える。

表 1 各種ワンステップ接着材の保管方法と接着強さ

接着材	保管方法	液性状	接着強さ / MPa (平均±S. D.)	
			象牙質	エナメル質
LCB	室温	非相分離	21.1±4.9 A	20.8±5.0 a
製品 A	室温	相分離	9.5±3.5 B	15.2±2.4 a
BF	冷蔵	非相分離	20.9±3.6 A	19.5±2.8 a
製品 B	冷蔵	非相分離	16.8±4.8 A,B	17.3±4.4 a

同一アルファベット間には有意差を認めない (p>0.05)

シランカップリング処理時の加熱処理による接着効果について — 接着強さとぬれとの相関性について —

神奈川県川崎市立歯科大学大学院歯学研究所 歯制御修復学¹, 歯科理工学²

○大橋崇明¹, 菅原剛志¹, 大橋 桂², 三宅 香², 寺中文字子², 押川亮宏², 向井義晴¹, 二瓶智太郎²

Adhesive effect of heat treatment at silane coupling modification - Correlation of bond strength and surface affinity

¹Dept. of Cariology and Restorative Dentistry, ²Dept. of Dental Materials Science,
Graduate School, Kanagawa Dental University

○OHASHI Takaaki¹, SUGAHARA Tsuyoshi¹, OHASHI Katsura², MIYAKE Kaori²,
TERANAKA Ayako², OSHIKAWA Akihiro², MUKAI Yoshiharu¹, NIHEI Tomotaro²

【目的】

シランカップリング層および処理界面のシロキサン結合は、侵入した水により加水分解を受け、その結果、セラミックス接着やコンポジットレジン機械的強度も低下するという数多くの報告がある^{1,2)}。我々はシランカップリング層の耐加水分解性の向上を目指し、疎水性シランカップリング剤を合成、開発し、長期水中保管後においても接着耐水性やコンポジットレジン機械的強度の耐久性が向上することを報告してきた^{3,4)}。また、シランカップリング剤に添加する触媒の違いによっても接着性が異なることも報告してきた⁵⁾。

今回は、シランカップリング処理時の加熱温度と酸処理の効果をガラス面処理後のレジンの接着性と接触角から比較検討した。

【方法】

シランカップリング剤はエタノールにて 50mM に調製した 3-メタクリロイルオキシトリメトキシシラン (3-MPS) を用いた。被着体として洗浄した市販ガラス板を用い、調製した 3-MPS 溶液をブラシにて塗布し処理を行った。処理して室温下で 5 分放置後、80, 100, 110, 120, 130, 140, および 160°C で 3 分間それぞれ熱処理する群と室温保管群とを作製した。それぞれの処理ガラス面に φ3mm に規定したテープを張り、コンポジットレジン (クリアフィル F II, クラレ, Lot. 234073) をステンレス接着子に付け手圧にて接着した。

接着後、30 分間室温放置した後に室温 1 日保管、37°C 水中に 14 日および 60 日間保管した。また、シラン処理直前に 3-MPS 溶液に 10vol% 酢酸を添加した酸処理群 (A.A. 群) も同様に作製し保管した。各保管後、オートグラフ (AGS-500, 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード 1.0mm/min にて引張接着試験を行った。なお、各群 5 個の試料を作製した。さらに、同様に処理したガラス面に対するレジンモノマーの接触角を接触角測定器 (DCA-VZ 型, 協和界面科学) にて測定した。なお、各群 3 個の試料を作製した。

得られた値はそれぞれ平均値と標準偏差を求め、一元配置分散分析および Tukey の多重比較検定を行った。

【結果及び考察】

コントロール群 (酸未処理で未加熱群) の引張接着強さは、室温保管で 13.7MPa を示したが、水中 60 日保管後ではガラス面から接着子がすべて脱離し測定不能であった。試験後の破断面は、すべての試料でガラスとレジンの界面破壊を呈した。各 A.A. 群の 14 日水中保管後の接着強さは、コントロール A.A. 群と比較して 80°C A.A. 群において低い値を示したが、それ以外の群では高い値を示した。60 日水中保管での接着強さも、コントロール A.A. 群と比較して 80°C A.A. 群以外は高い値を示した。

各群における接触角は、水滴下時は、室温保管 A.A. 群, 80°C A.A. 群, 100°C A.A. 群, 120°C A.A. 群, および 160°C A.A. 群で酸未処理群と比べて有意に低い値であり ($p < 0.05$)、レジンモノマー滴下時では、80°C A.A. 群, 100°C A.A. 群, 140°C A.A. 群で有意に低い値であった ($p < 0.05$)。特に 120°C での加熱・酸添加群が他の加熱群と比べて有意に高い接着強さとなり ($p < 0.05$)、接触角値も他群と比べて有意に低い値となった ($p < 0.05$)。

以上の結果から、3-MPS を用いたシラン処理は、酸を添加し 120°C の熱を加えることにより、ガラス面上でのシランカップリング処理層をリジットに構築できたため、最も効果的に接着性を向上させることが可能と示唆された。

【文献】

- 1) Debnath S et al., Dent Mater 19, 441-448, 2003.
- 2) Ozcan M et al., Dent Mater 20, 586-590, 2004.
- 3) Nihei T et al., J Dent Res 81, 482-486, 2002.
- 4) Nihei T et al., Dent Mater 24, 760-764, 2008.
- 5) 大橋 桂ら, 日歯保存誌 52, 161-167, 2009.

光重合触媒量と光照射量の相関性の検討

大阪歯科大学歯科保存学講座

*King's College London Dental Institute, Biomaterials, Biomimetics & Biophotonics

○岩田有弘, 吉川一志, PETER Pilecki*, TIMOTHY F. Watson*, 山本一世

Evaluation of the correlation between the volume of light activator and amount of light irradiation

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

*King's College London Dental Institute, Biomaterials, Biomimetics & Biophotonics

○IWATA Naohiro, YOSHIKAWA Kazushi, PETER Pilecki*,

TIMOTHY F. Watson*, YAMAMOTO Kazuyo

【緒言】近年, 光重合型コンポジットレジン (CR) が盛んに臨床応用されるようになり, 齶蝕除去後の窩洞も遊離エナメル質や, 大きなアンダーカットが存在するような, 複雑な窩洞となっている傾向がある. そのため, 光照射器の照射範囲が限定され, 光照射エネルギーが減少し, CR の予後に対する影響が危惧される. 今回我々は, 光照射器の照射エネルギーに着目し, CR の象牙質に対する接着試験を行った. また, 光照射エネルギーが減少した場合, ボンディング材の光触媒量を変化させ, 反応性を向上させることにより, 光照射エネルギーの減少を補うことができるかについても検討を行ったので報告する.

【材料および方法】 試料として被験歯として健全人抜去歯象牙質を使用した. ボンディングシステムとして Clearfil® MEGA® bond (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan, SE), コンポジットレジンとして Clearfil® APX (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan, APX), 光照射器として 200, 400, 500, 700 および 1000 mW/cm² に照射エネルギー可変に変更した Pencure 2000 (Morita Co., Japan) を使用した. また SE の光触媒量を 2 倍, 3 倍としたものを SE2 と SE3 とした. また APX 光照射時の厚さは 2mm に規定した. なお, 測定結果は一元配置分散分析および Tukey の検定により統計処理を行った (P < 0.01).

実験 1 コンポジットレジンに対する光照射量の検討

CR の重合程度が接着強さに与える影響について検討した. SE を十分な光照射量で重合させ, その後の APX に対する光照射エネルギーを変化させた場合の接着強さについて検討を行った. SE を 1000 mW/cm² の光照射エネルギーで重合させ, その後 APX を各種光照射エネルギーで重合させ, 24 時間後と 3 カ月後に微小引張り試験を行った.

実験 2 ボンディング材に対する光照射量の検討

ボンディング材の重合程度が接着強さに与える影響について検討した. APX の光重合時の透過光が SE の重合に影響を与えないよう, SE と APX に対する光照射エネルギーを同一とした. また, SE2 と SE3 についても検討を行った. SE と APX に対する光照射エネルギーを各種光照射エネルギーに統一し接着操作を行い, その後 24 時間後と 3 カ月後に微小引張り試験を行った.

実験 3 ボンディング材の重合率の検討

ボンディング材を各種光照射エネルギーで重合させ, 重合前と比較した重合率をフーリエ変換赤外分光分析装置 FT-IR (SpectrumOne, PerkinElmer) を使用し, 計測した. また SE2 と SE3 についても検討を行った.

【結果および考察】 実験 1 において, ボンディング材を十分に重合させた場合, その後のコンポジットレジンに対する光照射エネルギーを変化させても接着強さに有意な差は認められなかった. 実験 2 において, 光照射エネルギーが 200 mW/cm² の場合, 他の条件と比較して有意に低い接着強さを示した. その一方, ボンディング材の光触媒量を 2 倍, 3 倍に増加させた場合, 照射エネルギー量を変化させても接着強さに有意な差は認められなかった. また実験 3 において, 重合率は 200, 400, 500 および 700 mW/cm² と 1000 mW/cm² 間において有意な差を認めた. SE2 と SE3 の各照射エネルギー間に有意な差は認められなかった.

【結論】

- ・ ボンディング層の重合が十分である場合, 象牙質における接着強さはコンポジットレジンの重合程度に影響を受けない.
- ・ ボンディング材への不十分な光照射は, 象牙質における接着強さの低下を引き起こす.
- ・ 光触媒量を増加させることは, ボンディング材への光照射不足を補い, ボンディング層の重合率と象牙質への接着強さの回復に有効である.

アレンジド・スリーブを用いたファイバーポスト支台築造体が示す 曲げ強さと耐久性の検討

¹九州歯科大学口腔治療学講座口腔保存治療学分野、²サンメディカル株式会社
○西野宇信¹、田中隆行²、三浦善広²、北村知昭¹

The Bending Strength and Durability of Fiber Post-Core Constructions with Arranged Sleeves

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

²Sun Medical Co., Ltd

ONISHINO Takanobu¹, TANAKA Takayuki², MIURA Yoshihiro², KITAMURA Chiaki¹

【研究目的】

ファイバーポスト支台築造システムは、金属材料には無い審美性と象牙質に近似した弾性率を有することからその優位性が注目されている。一方で、臨床におけるファイバーポスト自体の破折も報告されており、最適なファイバーポスト支台築造法の確立が望まれている。ファイバーポスト支台築造システムのひとつである i-TFC システム (Sun Medical Co., Ltd: 以下 i-TFC) は他のシステムとは異なる特徴 (ファイバーポスト、スリーブ、ポスト用とコア用 2 種の光重合型レジン等) を有している。これまでに我々は、i-TFC システムにおけるスリーブ使用により支台築造体が高い曲げ強さと耐久性を示すことを報告した (第 137 回日本歯科保存学会 2012 年秋季学術大会)。しかし、臨床においては本システムの特徴であるスリーブを用いることができない細い根管が多く存在する。今回、細い根管にスリーブを使用するファイバーアレンジメント法 (スリーブを切断加工して使用する補強法) を用いた支台築造体の強度特性について、他のファイバーポスト支台築造システムとの比較により検討した。

【材料および方法】

試験体は、ファイバーポスト築造体および全部鋳造冠による修復を想定し、即時重合レジン (プロビスタ: Sun Medical Co., Ltd) ブロックに窩洞形成後、メーカー指示により築造体を作製し金属チューブで被覆したものとした。試験体は 24 時間水中浸漬を行った後に実験に用いた。使用材料は、i-TFC ($\phi 1.1$ mm、 1.3 mm ファイバーポスト、アレンジド・スリーブ) と他社 4 種のファイバーポスト ($\phi 1.2$ 、 1.25 、 1.5 、および 1.6 mm) とした。i-TFC で用いたアレンジド・スリーブは、切れ目を入れたスリーブと短冊状にしたスリーブの各々を用いた。各試験体の強度特性は、作製した治具を用い曲げ強さ試験機にて金属チューブの歯頸相当側辺縁より 4 mm の位置に負荷をかけて曲げ強さを測定する 2 点曲げ強さ試験、および曲げ強さ試験と同様の位置に繰り返し衝撃を与える繰り返し衝撃試験により分析した。

【結果】

曲げ強さ試験では、① i-TFC $\phi 1.1$ mm + 短冊状スリーブ、② 他社 $\phi 1.5$ mm、他社 $\phi 1.6$ mm および i-TFC $\phi 1.1$ mm + 切れ目スリーブ (3 者はほぼ同等) の順であった。それ以下は、ファイバーポスト直径の太い順に曲げ強さが大きい傾向を示した。繰り返し衝撃試験では、① i-TFC $\phi 1.1$ mm + 切り目スリーブ、② i-TFC $\phi 1.1$ mm + 短冊状スリーブ、③ 切れ目スリーブのみ、④ 他社 $\phi 1.5$ mm の順であり、その他に大きな差は認められなかった。特に i-TFC $\phi 1.1$ mm + 切れ目スリーブの組み合わせは、他試験体と比較して著しく高い耐久性を示した。

【考察】

曲げ強さでは i-TFC $\phi 1.1$ mm + 短冊状スリーブが最も大きく他試験体はほぼファイバーポスト径の太い順に強い傾向を示したが、各々に著しい差を認めなかった。一方、繰り返し衝撃試験では i-TFC $\phi 1.1$ mm + 切れ目スリーブ、i-TFC $\phi 1.1$ mm + 短冊状スリーブが他試験体と比較して顕著に高い耐久性を示した。以上の結果より、i-TFC ファイバーポスト $\phi 1.1$ mm のみでの耐久性は他と比較して低いが、切断加工したスリーブと組み合わせることで耐久性が飛躍的に向上することが確認された。これは、細い根管における細いファイバーポストの補強には、形状を加工したスリーブが効果的であることを示唆している。

【結論】

今回実施したファイバーポスト支台築造システムの比較試験において、i-TFC ファイバーポスト $\phi 1.1$ mm + 切断加工したスリーブの組み合わせが高い曲げ強さと耐久性を示した。また、細い根管においてスリーブによる細いファイバーポストの補強は効果的であ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異なる再建歯根の劣化について -

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○恩田 康平、初岡 昌憲、西田 尚敬、横田 啓太、
藤原 秀樹、妻野 純郎、小松 首人、山本 一世

Restoration of vertically fractured teeth by adhesion and replantation

- Degradation of adhered root with different materials for the post and cement-

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○Kohei Onda, Yoshinori Hatsuoka, Hisataka Nishida, Keita Yokota,
Hideki Hujiwara, Sumio Tsumano, Obito Komatsu, Kazuyo Yamamoto.

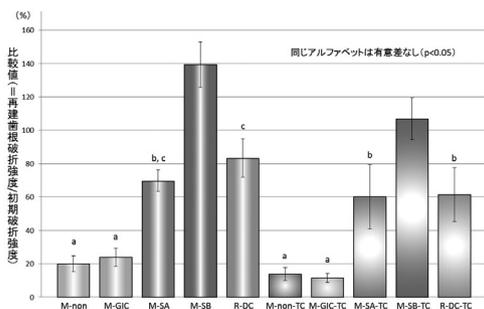
【緒言】

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、垂直歯根破折歯根の接着再建後の支台築造を行う場合、メタルポストを Superbond C&B (以下 SB、サンメディカル) で接着すると健全歯根より再破折が起こり難い可能性があることがわかった。そこで、再建後支台築造を行う際に、ポストの材質と装着材料の違いが負荷をかけることによりいかなる違いが出るか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。歯牙がはじめて破折した時の応力を初期破折強度とし、その時の応力の測定を行った。破折した歯牙を完全に破折させ、SB 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)。さらにポストを装着、充填した試料を 5-55°C のサーマルサイクル (以下、TC) を 5000 回かけたものをそれぞれ M-non-TC、M-SB-TC、M-SA-TC、M-GIC-TC、R-DC-TC とした。試料のポストに AUTOGRAPH 5kN で荷重をかけ破折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】



	再建部での再破折	歯冠側1/3以内の破折	コア装着セメントの破壊	コアの破壊
M-non	8			
M-GIC	6		2	
M-SA	8			
M-SB	8			
R-DC	2	2		4
M-non-TC	8			
M-GIC-TC	3		5	
M-SA-TC	6		2	
M-SB-TC	8			
R-DC-TC	6			2

比較値の結果を上グラフに示す。比較値は TC により M-SB と R-DC で有意に劣化が認められたが M-SA では劣化は認められなかった。しかし、M-SB-TC は健全歯根と同等の比較値を維持しており、TC 負荷により他の条件でも再破折が多く認められる傾向にあることから、M-SB は再破折のリスクが最も低いと考えられる。

【結論】

垂直歯根破折歯の接着再建後は、破折面の劣化が顕著に現れるため、破断面での再破折を起こす危険が高まることが示唆された。

ヒト象牙質における微小亀裂進展とコラーゲン線維の加齢変化

大阪大学歯学研究科顎口腔総合医療学 (口腔総合診療部)

○久保 美寿徳、三浦 治郎、清水 真人、松田 祐輔、長島 正、竹重 文雄

Change of morphological and immunohistochemical characteristics in human dentin by aging.

Division for Interdisciplinary Dentistry, Osaka University Graduate school of Dentistry

OKUBO Mizuho, MIURA Jiro, SHIMIZU Masato, MATSUDA Yusuke, NAGASHIMA Tadashi, TAKESHIGE Fumio

【研究目的】象牙質における微小亀裂進展に関して様々な報告が行われているが、象牙質の構造の多くを占めるコラーゲン線維と亀裂進展に関する報告は少ない。我々は、これまで行ってきた石灰化の中心とした亀裂進展パターンの加齢変化[1]に加えて別の因子として象牙質コラーゲンの加齢変化がどのように関与しているか検討を行った。基質タンパク質におこる加齢変化は複雑であるため解明されていない現象も多く見られるが、一般的にコラーゲン線維に対して血中のグルコースなどが関係する糖化反応により、最終的に分子内に非常に安定な AGEs (Advanced Glycation Endoproductions) という総称で呼ばれる物質を生成することが知られている[2]。この生成物が、生体内のコラーゲン線維において過度の架橋構造を構成することでコラーゲン線維の伸展性が失われ動脈硬化や骨折のリスクとなりうる事が多く報告されている。同様に象牙質における AGEs の変化も亀裂進展に影響を与えられと考えられるが、象牙質内部において AGEs の局在を調べた報告はまだない。本研究では象牙質の微小亀裂の進展パターンの形態学的評価と共に、象牙質コラーゲン線維における加齢変化を評価するため、未脱灰象牙質における亀裂の電子顕微鏡による評価および、象牙質コラーゲン線維に対して抗 AGEs 抗体を用いた免疫組織化学的手法にて分析検討を行った。

【材料および方法】被験歯としてヒトの抜去歯 (若年、高齢) を使用した。歯軸に対し垂直方向に 1mm の厚さにダイヤモンドソーにて切り出し、セメントエナメル境により歯冠部と歯根部の象牙質に分けた。試料に固定処理後、アルコール脱水および樹脂包埋を行った。亀裂進展観察は未脱灰にてウルトラマイクロトーム (UltrameV : LKB 社製) 及びダイヤモンドナイフにて 100nm 厚の超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡 (H800 : Hitachi) にて観察を行った。免疫組織化学的分析及び免疫電子顕微鏡法に関して、パラフォルムにおける浸漬固定後、脱灰操作を 10%EDTA にて 1 週間処理した後、抗 AGE 抗体を用いた免疫染色法、および金コロイド標識 2 次抗体を用いた免疫電子顕微鏡法にて評価を行った。

【結果】未脱灰試料における亀裂進展では、若年者では亀裂は象牙細管に達すると細管に交通し、高齢者の象牙質においては管周象牙質をまわりこみ進展する像が観察された。特に歯冠部において亀裂進展経路の違いが顕著に観察された。微小亀裂先端部ではコラーゲン線維の断裂像が観察されるとともに、年齢による管間象牙質においては、亀裂の断面の様相に違いが見られた。免疫組織化学的評価においては、コラーゲン線維の糖化を示す染色像が高齢の象牙質において顕著に見られた。さらに免疫電子顕微鏡像において、高齢者の象牙細管周囲のコラーゲン線維に特に多くの AGEs が沈着している様相が確認できた。若年者の脱灰象牙質を 6 週間リボース中に浸漬したものでは、抗原性の発現と物性の硬化が認められた。

【考察および結論】亀裂進展パターンが加齢により変化した原因として①石灰化による亀裂進展経路の変化および②加齢により象牙細管周囲のコラーゲン線維間に AGEs が沈着したことがみとめられた。特に管間象牙質における亀裂進展にはコラーゲンの弾性の変化が関与し、亀裂進展抵抗もコラーゲン線維の変化により大きな影響を受けると考えられる。コラーゲン線維に糖化反応が起こることで弾性の低下だけでなく色調の変化 (browning) といった加齢に伴い象牙質に起こる様々な変化との関連が示唆された。

本研究の一部は、平成 25 年度文部科学省科学研究補助金基盤研究 (C) 25462956、25462957 の補助を受けて実施されました。

[1] Kubo M, Miura J, Sakata T, Nishi R, Takeshige F. Structural Modifications of Dentinal Microcracks with human aging. *Microscopy* in press. doi:10.1093/jmicro/dft028

[2] 歯の形成と老化の可視化, 福島修一郎, 荒木勉, 三浦治郎, O plus E, 34, 1051-1055

歯科用象牙質接着材の細胞毒性と細胞回復度

¹大阪歯科大学 歯科理工学講座,

²岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野
○今井 弘一¹, 武田 昭二¹, 伊澤 俊次², 山路 公造², 西谷 佳浩², 吉山 昌宏²

Comparison of cytotoxicity and cell recovery rate for dentin adhesives

¹Department of Biomaterials, Osaka Dental University, ²Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University

○Koichi IMAI¹, Shoji TAKEDA¹, Shunji IZAWA², Kozo YAMAJI², Yoshihiro NISHITANI², Masahiro YOSHIYAMA²

[緒言]

歯科用接着材は歯科材料の中でも特に大きく進歩しているものの1つです。歯科用象牙質接着材は管理医療機器として細胞毒性試験をはじめとして数多くの生物学的安全性評価項目の試験に合格し市販されている。これらの歯科用象牙質接着材の組成と細胞毒性レベルの関係を解明するために、マウス由来の株細胞である Balb c/3T3 細胞、マウス由来の ES 細胞である ES-D3 細胞、ならびにマウス子宮組織由来の初代細胞を用いて細胞毒性試験と細胞回復度試験で IC50 値の比較を行った。

[材料および方法]

細胞および培養液: Balb c/3T3 細胞とマウス子宮結合織よりトリプシン-EDTA 溶液を用いて製作した初代細胞 (以下, MU 細胞, 使用継代数: 6代~11代) は, 容積比 10%FBS, 0.5%Non Essential Amino Acid (NAA), L-glutamine を添加した Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) を培養液とした。また, ES-D3 細胞は, あらかじめ 57°C で 1 時間加熱処理した容積比 10%FBS, 1%NAA, L-glutamine, β -mercaptoethanol, Penicillin / streptomycin を添加した DMEM をそれぞれ培養液とした。

試験液の調整: 6種類のワンステップ型を含む 10種類の市販象牙質接着材を用いた。DMSO を溶媒として希釈した後, 各細胞用培養液で再度の希釈と攪拌を行い 10 μ L/mL 溶液とした。この溶液をさらに各培養液で倍数希釈し各試験液とした。

評価: 各細胞を 1×10^4 cells/mL に調整し, 96well マイクロプレートに 50 μ L/well 分注し, 炭酸ガス恒温器 (5%CO₂, 95% 空気, 37°C) 中で 24 時間静置培養した。各 well の培養液を各試験液と交換し 48 時間静置培養した。一部のマイクロプレートを MTT 法で細胞生存率をそれぞれ測定した。他のプレートは各 well の試験液を各細胞用の新鮮培養液と交換し, 上記炭酸ガス恒温器で 4 日間静置培養し, MTT 法で細胞生存率を測定し, 各試験液を暴露し回復前の細胞生存率から新鮮培養液で回復後の細胞生存率の百分率を細胞回復度とした。なお, DMSO のみ添加した培養液を対照群として用いた。

[結果と考察]

MTT 法による細胞増殖試験の結果は各製品間で結果が大きく異なった。Bis-GMA が含まれるものは細胞生存率が低い傾向であった。3種の細胞を比較すると Balb c/3T3 細胞と MU 細胞の感度が高く, ES-D3 細胞の感度が低い傾向であった。細胞回復後では MTT 法で約 2%~44.5% の IC50 値の増加が認められた。MMA 系では細胞回復度が大きい傾向がみられた。各製品の細胞毒性レベルは, 光照射によって重合することから今回の結果からさらに変化すると考えられるが, 重合前には歯質に直接暴露することから, さらに細胞毒性レベルの低い製品の開発が望まれる。

細菌バイオミネラリゼーション誘導の試み

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科¹ 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野,
²国際環境科学講座 口腔微生物学分野

○大原直子¹, 大原直也², 田中久美子¹, 澁谷和彦¹, 横山章人¹, 山路公造¹, 西谷佳浩¹, 吉山昌宏¹

Induction of Bacterial Biomineralization

¹Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,

²Department of Oral Microbiology, Field of Study of Global Health and Environmental Sciences,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○OHARA Naoko, OHARA Naoya, TANAKA Kumiko, SHIBUYA Kazuhiko, YOKOYAMA Akihito, YAMAJI
Kozo, NISHITANI Yoshihiro, YOSHIYAMA Masahiro

【研究目的】

バイオミネラリゼーションとは生物が無機鉱物を作る作用であり、貝や真珠等の海洋生物での生体鉱物化作用がよく知られている。骨や歯はバイオミネラリゼーションによって作られたバイオミネラルであり、歯石も口腔内細菌によって作り出されたバイオミネラルである。当講座では以前よりモディファイド・シールドレストレーション研究をすすめているがその一環として、う蝕細菌のバイオミネラリゼーション誘導がう蝕病変を活動停止させ、ひいては象牙質再生の方向へ促す可能性の検討を開始した。本研究ではその第一報として、歯石形成に関与しているとされる菌を用い、人工的バイオミネラリゼーション誘導を試みたので報告する。

【材料および方法】

供試菌として *Corynebacterium matruchotii* ATCC 14266 (NCTC 10254) 株を用いた。培養にはブレインハートインフュージョン (BHI) 培地をベースに塩化ナトリウム、炭酸カルシウム塩、リン酸塩、塩化カリウム塩を含む寒天培地と、カゼイン加水分解物をベースに各種塩類、ビタミン類、ヌクレオチド類、増殖因子を混合した半合成液体培地を作成し、2種の培養法にてミネラリゼーション実験を行った。いずれの場合にもミネラリゼーション誘導群は 1mmol/L の濃度でカルシウムを添加した。寒天培地での誘導には低濃度のシリコンも同時に添加した。誘導 2 か月後と 4 か月後に菌体を回収し、観察に供した。

寒天培地上に形成された集落、あるいは液体培地中で培養された菌体を遠心法にて集菌したものを、ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋を行い、厚さ 5 μ m の切片を作製した。脱パラフィン後、ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE 染色) およびアリザリンレッド染色を施し、光学顕微鏡にて観察した。

【結果および考察】

液体培地で誘導培養した 2 か月後、HE 染色にて一部の菌がカルシウム陽性を示唆する暗紫色を呈し、同部は、アリザリンレッド染色においても薄い赤色を呈していた。4 か月後には、染色状態は明瞭かつ広範囲になり、アリザリンレッド染色においては明らかな赤色を呈しカルシウム化合物沈着を示した。いずれも菌体そのものが染色されており、菌体内石灰化が誘導されていると考えられた。誘導していないコントロールの菌体にも 4 か月後には石灰化を示す染色を認めたが、誘導の有無の差は歴然としていた。寒天培地で培養した場合との液体培地での培養法による比較では、液体培地での誘導の方が明らかなミネラリゼーションを認めた。今後、電子顕微鏡による観察、培養法による菌体内石灰化の相違および時間的変化について詳細な検討を行う必要がある。

【結論】

Corynebacterium matruchotii において、カルシウムを多く含む環境で培養することにより細菌のバイオミネラリゼーションを生じさせることができた。

隣接面のプラークコントロールに関する研究

第6報：デンタルフロスのフィラメントの違いとプラーク除去効率

鶴見大学歯学部 保存修復学講座¹ 日本歯科大学附属病院 歯科衛生士室²

○植松 裕美^{1,2}, 大塚 良子¹, 中野 正寛¹, 菅原 豊太郎¹, 臼井 エミ¹, 桃井 保子¹

Study on plaque control in interproximal area

Part 6 : Properties of filament of dental flosses and plaque removal efficiency

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine¹

Division of Dental Hygienists, The Nippon Dental University College at Tokyo²

○UEMATSU Hiromi^{1,2}, OTSUKA Ryoko¹, NAKANO Masahiro¹, SUGAWARA Toyotaro¹, USUI Emi¹, MOMOI Yasuko¹

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。近年、様々な性状のフィラメントのデンタルフロスが市販されているが、フィラメントの性状の違いがプラーク除去効率に及ぼす影響について網羅的に比較検討した研究は見当たらない。そこで私たちは、市販されているデンタルフロスのフィラメントに着目し、フィラメントの性状の違いがプラーク除去効率に及ぼす影響を比較検討した。

材料と方法

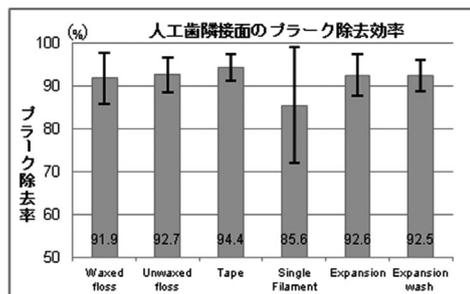
1) デンタルフロスのフィラメントの形態学的観察：走査電子顕微鏡を用い各デンタルフロスのフィラメントの表面状態を観察した。

2) 隣接面のプラーク除去効率の評価：実習用顎模型の着脱式メラミン歯(ニッシン)の下顎左側第一大臼歯の近心面を被験面とし、同面にフロッシング領域を設定した。被験面に人工プラーク(ニッシン)を塗布したメラミン歯を、ファントムに設置した頬粘膜ボックス(ニッシン)内の顎模型に装着した。あらかじめ、フロッシング法が同等となるよう調整した術者2名が、デンタルフロスの順をランダムに、各5歯ずつ1回フロッシングした。デジタルカメラ(Nikon D100)を用い被験面を撮影し、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。データは一元配置分散分析の後、Tukey's HSD test を用いて有意差検定(有意水準 5%)を行った。

3) デンタルフロスの分類：フロッシングには 12 社 26 種のデンタルフロスを用い、そのフィラメント性状によって次の6グループに分類した。Waxed floss グループ [Waxed floss (Johnson&Johnson)、Rucello floss mintwaxed (GC)、GUM Wax (SUNSTAR)、Waxed (CVS)、Waxed (edel)、Waxed (Tepe)]、Unwaxed floss グループ [Unwaxed floss (Johnson&Johnson)、Rucello floss unwaxed (GC)、GUM Unwax (SUNSTAR)、GUM FineFloss (SUNSTAR)、Unwaxed (CVS)、Unwaxed (BUTLER)]、Tape グループ [Dentotape (Johnson&Johnson)、Dentotape (CVS)]、Single Filament グループ [Easy Slide (Johnson&Johnson)、Ultraclean (Johnson&Johnson)、GUM Eez-Thru (SUNSTAR)、ICY MINT (CVS)、SATIN floss (Oral-B)、Glide ORIGINAL TAPE (Oral-B)]、Expansion グループ [Gumcare (Johnson&Johnson)、GUM Expansion (SUNSTAR)、Expansion (edel)、e-Floss (ライオン)、fluorifloss (OralCare)、Smart FLOSS (drTung's)]。なお、Expansion グループの比較対照に Expansion グループのフロスを口腔内で使用し、エキスパンドしたと仮定した群(以下、Expansion wash グループ)として、37°C前後に加温したリン酸緩衝生理食塩水で30秒間攪拌洗浄後、乾燥させたものを用いた。

結果と考察 フロッシング後のプラーク除去効率を右図に示す。各グループ間に統計的有意差は認められなかった。隣接面のプラーク除去効率にはデンタルフロスのフィラメント性状やワックス付着の有無の他、エキスパンジョンの状態が関与すると考えられたため Expansion wash グループも比較したが、除去率には大きく影響しなかった。今回の結果は私たちが今までに報告した指巻きフロス及びホルダー型フロスの隣接面のプラーク除去効率の結果(日本歯科保存学会学術大会 第137回、第138回)と同等であった。このことから、デンタルフロスの形状の違いや、フィラメントの性状の違いはプラーク除去効率に影響を与えないと考えられる。

まとめ 市販されているデンタルフロスのフィラメントの性状の違いはプラーク除去効率に影響を及ぼさなかった。



Streptococcus mutans バイオフィームに対する高分子化合物の拡散性の検索

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野

²新潟大学大学院医歯学総合研究科微生物感染症学分野

○坂上雄樹^{1,2}、竹中彰治¹、大墨竜也¹、長谷川泰輔¹、若松里佳¹、寺尾豊²、興地隆史¹

Analysis of diffusion of macromolecules in *Streptococcus mutans* biofilm

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,

²Division of Microbiology and Infectious Diseases, Department of Oral Health Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○SAKAUE Yuuki, TAKENAKA Shoji, OSUMI Tatsuya, HASEGAWA Taisuke, WAKAMATSU Rika,
TERAO Yutaka, OKIJI Takashi

【目的】口腔バイオフィームの成熟化とともに、バイオフィーム内部への物質の浸透率は減少すると報告されている。そのため、化学的コントロールによるバイオフィーム制御には、浸透拡散能を勘案した化合物の選定が必須と推察される。本研究では、高分子化合物の分子量および電荷が、バイオフィーム内部への浸透動態に与える影響を共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) と蛍光プローブを用いたリアルタイム観察法により検索した。

【材料および方法】 *Streptococcus mutans* UA159 株を、ガラスベースディッシュ中で 0.5% sucrose 含有 BHI 液体培地にて 24 時間嫌気培養することによりバイオフィームを形成させた (n=7)。24 時間後に、形成バイオフィーム中の細菌染色体を SYTO9 もしくは SYTO83 (Life Technologies 社) にて染色し、CLSM (オリンパス FV300) により XYZ 断層像を撮影した。次いで、顕微鏡の焦点をバイオフィーム底面に固定後、フルオレセイン (F: 分子量 332)、F 標識デキストラン (F-3K: 分子量 3,000, F-10K: 分子量 10,000; アニオン性)、テトラメチルローダミン標識デキストラン (TMR: 分子量 10,000; 中性)、ローダミングリーン標識デキストラン (RG: 分子量 10,000; カチオン性もしくは中性) のいずれかをバイオフィーム上面から滴下し、15 秒間隔で共焦点画像を 10 分間リアルタイムに撮影した。同共焦点画像群から、無作為に細菌菌体が疎である 3 領域 (7 μ m 四方) を抽出し、各領域内の蛍光強度 (I) の変化を Metamorph ソフトウェアにて解析した。

【結果】供試した UA159 株バイオフィームの最大厚みは、36 μ m であった。各種蛍光化合物が、バイオフィーム上面から底面に到達するまでの時間は、分子量の増大に伴い遅延する傾向が認められた。時間の経過とともにバイオフィーム底面に到達する各種蛍光化合物の蛍光強度は増加したが、始めに滴下した蛍光化合物の蛍光強度 (I₀) が、10 分後にバイオフィーム底面で完全に検出されたのは F 群のみであった。各種蛍光化合物の 10 秒あたりのバイオフィーム底面への浸透率% (I/I₀±SD) は、それぞれ 0.37±0.02 (F)、0.10±0.03 (F-3K)、0.10±0.01 (F-10K)、0.13±0.01 (TMR)、および 0.07±0.01 (RG) であった。F が他の化合物と比較して有意に浸透速度が速く (p<0.05, Kruskal-Wallis test および Steel-Dwass test)、分子量の増大に伴い浸透速度が減少する傾向にあった。カチオン性の RG は、同じ分子量のアニオン性 F-10K および TMR と比較し、有意にバイオフィーム中の浸透速度が遅かった (p<0.05)。

【考察および結論】本研究の結果から、バイオフィーム内部への物質の浸透速度は分子量の増大に伴い低下傾向を示すこと、およびカチオン性物質はアニオン性物質よりも有意に浸透速度が遅いことが明らかになった。

これらのことから、成熟したバイオフィームに対する化学的コントロール法を有効に行うためには、化合物の接触時間の延長や口腔内への貯留性を高める必要があるとともに、抗菌物質の選定時には分子量や荷電性を考慮する必要があることが示唆された。

バイオフィルムを形成した *Streptococcus mutans* に対する
リステリン®ナチュラルケアの膜傷害、殺菌効果

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野

²新潟大学大学院医歯学総合研究科微生物感染症学分野

○長谷川泰輔¹、竹中彰治¹、大墨竜也¹、若松里佳¹、坂上雄樹¹、寺尾豊²、興地隆史¹

Membrane disrupting and antimicrobial effect of Listerine® Naturalcare on *Streptococcus mutans* biofilm

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,

²Division of Microbiology and Infectious Diseases, Department of Oral Health Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○HASEGAWA Taisuke, TAKENAKA Shoji, OSUMI Tatsuya, WAKAMATSU Rika, SAKAUE Yuuki,
TERAO Yutaka, OKIJI Takashi

【目的】リステリン®は、バイオフィルム形成細菌に対しても短時間で優れた膜傷害効果を発揮するが、溶剤としてエタノールを含むため、粘膜への刺激が強いことが短所であった。本研究では、ノンアルコールタイプのリステリン®ナチュラルケア (J&J 社) がバイオフィルム中の *Streptococcus mutans* に及ぼす膜傷害および殺菌効果について従来型リステリンと比較検討した。

【材料及び方法】

S. mutans ATCC 25175 株を 0.5% sucrose 含有 BHI 液体培地中で 24 時間嫌気培養し、ガラススペースディッシュ上にバイオフィルムを形成させた (n=7)。培養 24 時間後、Calcein-AM (CAM; 10ug/ml) を 2 時間作用させ生菌を染色し、共焦点レーザー顕微鏡 (オリンパス FV300: Ex/Em= 488/ 510-530) を用いて XYZ 断層像を撮影したのち、焦点をバイオフィルム底面に固定した。リステリン®ナチュラルケア (J&J 社; N 群)、従来型リステリン (フレッシュミント; F 群)、0.12% グルコン酸クロルヘキシジン洗口液 (G 群)、あるいは緩衝液 (コントロール; C 群) を作用させ、15 秒間隔で共焦点画像をリアルタイムに 5 分間撮影した。撮影した共焦点画像から、無作為に最もバイオフィルムの厚みがある部位を含む 3 領域 (10 μm 四方) の厚み、および蛍光量の減少率を Metamorph ソフトウェアにて解析した。また、各洗口液を 30 秒作用させた後の *S. mutans* 菌体の生死像を Live/Dead Viability Kit (Life Technologies 社) を用いて染色し観察した。さらに、30 秒後および 5 分後の生菌数をプレートカウント法により算定した。

【結果】バイオフィルムの厚みは、最大 32 μm であった。C 群における 5 分後の蛍光褪色率は 11.1 ± 3.4% であった。蛍光量の 50% 減少までの時間は、バイオフィルムの厚みと正の相関関係にあり、それぞれ $y = 2.149x$, $r^2 = 0.994$ (N 群)、 $y = 2.255x$, $r^2 = 0.923$ (F 群)、および $y = 10.579x$, $r^2 = 0.994$ (G 群) であった。N 群と F 群の膜傷害効果の発現様式は同様であり、蛍光減少速度に有意差は認められなかった ($p > 0.05$, 2 元配置分散分析, Dunnett test)。しかしながら、N 群、F 群ともに、G 群と比較して有意に蛍光減少が速く ($p < 0.05$, 共分散分析, Bonferroni test)、すべての試料で最大 135 秒で背景レベルまで蛍光は消失したが、G 群では 5 分後も蛍光が残存していた。Live/Dead 染色像では N 群、F 群ともに全視野で PI 陽性像が観察されたが、G 群は混合色像であった。30 秒後の生菌数の平均 (logCFU/ml) は、それぞれ 8.36 (C 群)、5.42 (N 群)、5.58 (F 群)、および 6.92 (G 群) であった。5 分後の生菌数の平均は、それぞれ 3.73 (N 群)、3.71 (F 群)、および 7.15 (G 群) であった。30 秒、5 分後いずれも N 群と F 群は G 群と比較して有意に生菌数が少なかったが ($p < 0.05$)、N 群と F 群の間に有意差は認められなかった ($p > 0.05$, Kruskal-Wallis および Steel-Dwass test)。

【考察および結論】ノンアルコールタイプのリステリン®ナチュラルケアは、少なくとも 32 μm 以下の厚みのバイオフィルム中の *S. mutans* に対しては、従来のリステリンと同程度の膜傷害効果および殺菌効果を示すことが示唆された。

低濃度グルコン酸クロルヘキシジンが

Streptococcus mutans バイオフィーム形成に与える影響

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¹⁾

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座微生物感染症学分野²⁾

○大墨竜也¹⁾, 竹中彰治¹⁾, 坂上雄樹¹⁾²⁾, 長谷川泰輔¹⁾, 若松里佳¹⁾, 寺尾 豊²⁾, 興地隆史¹⁾

Influence of sub-MIC levels of chlorhexidine gluconate on the development of *Streptococcus mutans* biofilm

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹⁾

Division of Microbiology and Infectious Diseases, Department of Oral Health Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences²⁾

○OHSUMI Tatsuya, TAKENAKA Shoji, SAKAUE Yuuki, HASEGAWA Taisuke, WAKAMATSU Rika,

TERAO Yutaka, OKIJI Takashi

【目的】口腔バイオフィームの成熟化とともに、抗菌成分のバイオフィーム深層細菌への浸透は減弱されることが報告されている。したがって、バイオフィーム成熟下においては、浮遊細菌に対して決定した有効殺菌濃度の抗菌成分では十分な殺菌効果を呈さない可能性が推察される。しかしながら、低濃度であっても抗菌成分と標的細菌の接触がバイオフィーム形成能に影響を与える可能性が考えられる。そこで本研究では、最小発育阻止濃度 (MIC) 以下の濃度のグルコン酸クロルヘキシジン (CHX) が、*Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成に及ぼす影響について検討した。

【材料及び方法】 *S. mutans* ATCC 25175, UA159, および MT8148 株をマイクロプレートもしくはガラス試験管を用いて 0 (Control 群), 1/8, 1/16, および 1/32 MIC の CHX (Sunstar 社製) 添加 0.5% sucrose 含有 BHI 液体培地中で 24 時間好気、あるいは嫌気培養することによりバイオフィームを形成させた (n = 6)。なお、CHX 非添加で培養した群 (n = 6) を対照に設定した。

【実験 1 : バイオフィーム形成量の測定】 バイオフィームをクリスタルバイオレット液で染色後、30%酢酸を加え 5 分間超音波処理を行い溶出した上清を吸光度 571 nm にて測定し、バイオフィーム量とした。また、フェノール硫酸法により、バイオフィーム中の糖量を測定した。

【実験 2 : 生菌数算定と蛍光イメージング観察】 培養液中の浮遊生菌数を吸光度測定 (波長 600 nm) により、またバイオフィーム中の生菌数をプレートカウント法により算定した。さらに、バイオフィームに Live/Dead 染色 (Life Technologies 社製) もしくは calcein-AM/rhodamine 染色を施し、共焦点レーザー顕微鏡 (FV300, オリンパス) にて XYZ 断層像を採取し三次元イメージの構築を行った。

【実験 3 : バイオフィーム剥離能の測定】 試験管内で形成したバイオフィームを緩衝液にて洗浄後、5 分間超音波処理し、易剥離構造物を除去した。その後の残存バイオフィーム量は、クリスタルバイオレット法により測定した。

【結果】 バイオフィーム形成量は、UA159 株では嫌気培養下で 1/16 および 1/32MIC, 好気培養下では 1/32MIC の CHX 添加群において、対照群より有意に増加した ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis および Steel-Dwass test)。MT8148 株および ATCC 25175 株では、CHX 1/32MIC 添加群 (嫌気培養下) において、バイオフィーム形成量は増加傾向にあったが有意差は認められなかった。バイオフィーム中の生菌数は、すべての菌株で有意差はなく ($p < 0.05$)、蛍光イメージング像にも差異は認められなかった。培養液中の浮遊生菌数は、UA159 株 (CHX 1/32MIC 添加群) で有意に増加した ($p < 0.05$)。CHX 1/32MIC 添加群の対照群に対するバイオフィーム中の糖増加量 (平均) は、UA159 株および MT8148 株が 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であり、増加する傾向にあったが有意差は認められなかった。UA159 株では、CHX 1/32MIC 添加群において、対照群と比較してバイオフィーム構造が剥離されやすい傾向が認められた ($p < 0.05$)。

【考察および結論】 MIC 以下の CHX 存在下において、*S. mutans* バイオフィームは量的な増加が認められたものの、付着能は弱くなる傾向が示された。また、細菌数の増加は観察されなかったが、*S. mutans* は代謝系に対して影響を受けた可能性が示唆された。そして、バイオフィーム形成量を増加させる薬剤濃度に関しては、菌株間で差異があると考えられた。

齲蝕検出機能付き口腔内カメラについての研究

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○廣田 陽平, 岩田 有弘, 宮地 秀彦, 保尾 謙三, 松田 有之, 河村 昌哲, 吉川 一志, 山本 一世

Study on the intraoral camera with function of the caries detection

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○Youhei Hirota, Naohiro Iwata, Hidehiko Miyaji, Kenzo Yasuo, Tomoyuki Matuda, Masaaki Kawamura, Kazushi Yoshikawa, Kazuyo Yamamoto

【研究目的】

近年、歯科医療はミニマルインターベンション(MI)の概念に基づいた予防処置重視の治療に移行しており、検査・診断の重要性が高まっている。しかしながら、視診、触診、X線撮影などといった既存の検査法は術者の経験や練度の違いによって主観性の伴った診断結果が得られやすく、信頼性には限りがある。このような背景において、齲蝕の客観的診断用機器として口腔内カメラと齲蝕検出機能を一体化し画像化できるソプロライブ®(ソプロ社)が開発された。この機器の操作モードには診断、治療、昼光の3種類があり、今回は齲蝕リスクの情報が得られる診断モード(以下、Iモード)と齲蝕の範囲が得られる治療モード(以下、IIモード)に注目し、従来の齲蝕診断用機器と比較し検討を行ったので報告する。

【方法】

実験① Iモードの検討

被験歯として咬合面に実質欠損のないヒト抜去齲蝕大白歯5試料を用意し、まずX線撮影を行い齲蝕の状態を確認した。咬合面をIモードにて撮影し診断後、齲蝕リスクを示した部位を、レーザー蛍光強度測定器ダイアグノデントペン®(モリタ)にて測定し、結果を比較した。

実験② IIモードの検討

被験歯としてヒト抜去齲蝕大白歯5試料を用意し、IIモードにて撮影を行い齲蝕象牙質の範囲を確認した。同部位を齲蝕検知液カリエスチェック®(ニシカ)にて染色し、IIモードの画像情報と染色部位を比較した。その後、IIモードにて齲蝕が検出されなくなるまでラウンドバー及びスプーンエキスカベータを用いて齲蝕象牙質を取り除き、再度カリエスチェック®にて染色後、IIモードの画像情報と比較した。また、齲蝕象牙質の窩底部において、IIモードの画像情報により健全象牙質と診断された部位のヌーブ硬さを齲蝕象牙質硬さ測定システムカリオテスター®(三栄エムイー)にて測定した。

【結果】

実験①の結果、Iモードにて齲蝕リスクを示した部位のダイアグノデントペン®による測定値は、7-64と様々な数値を示した。また実験②の結果、開拓後の撮影ではカリエスチェック®とほぼ同範囲が赤色に発色しており、ソプロライブ®を利用した齲蝕象牙質除去後ではカリエスチェック®では染色されなかった。また、齲蝕象牙質除去後のカリオテスター®によるヌーブ硬さは平均17-23を示した。

【考察】

ダイアグノデントペン®による測定値0-14は特に治療の必要がないことから、Iモードによる画像診断システムは小窩裂溝に有機物が沈着していると健全歯質でも感染歯質と誤認されることや、残存エナメル質の厚さにより感染歯質でも健全歯質と誤認される可能性が示唆された。そのため、X線撮影やダイアグノデントペン®を併用し検査・診断を行うことが必要であると考えられる。

一方、カリオテスター®による齲蝕象牙質除去の基準はヌーブ硬さ20以上であるため、IIモードを利用した齲蝕象牙質除去は有用であると考えられる。また、カリエスチェック®による診断結果と同様であることから、臨床における客観的な齲蝕の検査・診断の方法としての有用性が示唆された。

三次元窩洞計測装置を用いた臼歯二級窩洞の客観的評価について

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

○泉川昌宣¹⁾ 半田慶介¹⁾ 伊藤修一¹⁾ 森海風¹⁾ 大福亮介²⁾ 斎藤隆史¹⁾

The assessment of the class II cavity using 3D cavity-evaluation device.

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

○ Masanobu Izumikawa¹⁾, Keisuke Handa¹⁾, Shuichi Ito¹⁾, Umikaze Mori¹⁾, Ryosuke Ofuku²⁾
and Takashi Saito¹⁾

【目的】

保存修復学基礎実習において窩洞形成法を習得させることは、重要な課題の一つである。我々は項目別窩洞形成評価法の開発を行い、学生実習における自己窩洞評価や実習試験での評価に使用しており、特に実習試験においては3名の教員による目視での評価を行なっている。しかしながら教員間での評価には違いが見られることも多い。今回我々は株式会社ニッシンと共に開発した窩洞計測装置を使用し、教員の主観的評価との比較検討を行ったので報告する。

【方法】

平成23年度歯学部第3学年(80名)の保存修復学実習において項目別窩洞形成評価法を用いて臨床および教育経験年数10年以上の教員3名による目視での評価を行った下顎左側第一大臼歯の2級Box式インレー窩洞形成歯牙を用いた。最初の評価時には評価基準の擦り合わせは行なっていなかった。30本を無作為抽出し評価基準の擦り合わせを行なった後に探針、バーを用いて窩洞の幅、深さを計測しながら再度教員3名による評価を行った後に株式会社ニッシン社製窩洞計測装置Fair Grader100(以下FGと記す)にて窩洞評価を行なった。

【結果】

教員3名での評価では擦り合わせ後において評価値の一致する割合は増加した。特に裂溝の追求に関する項目のうち頬側溝の形成量、窩洞の幅径に関する項目のうち頬舌の幅径、近心頬側咬頭削除の程度、隣接面開放の幅、側室の幅において一致率は増加した。しかし裂溝の追求に関する項目のうち遠心小窩、窩洞の幅径に関する項目のうち近心舌側咬頭削除の程度、頬側咬頭の削除の程度、遠心舌側咬頭削除の程度および側室の幅において一致率は増加したものの全形成歯牙の50%以下であった。FGとの比較では、評価のすり合わせを行わない場合での重相関係数は0.76、決定係数0.58で、すり合わせを行った場合での重相関係数は0.83、決定係数0.68であった。

【考察】

窩洞評価を行なう上で複数の教員による評価を行なう場合、その評価結果は一致していることが望ましい。3名の教員による評価結果とFGによる評価と比較した場合、擦り合わせ後との比較において相関係数に改善が見られた。しかし、3名の教員による評価において擦り合わせ後において評価値の一致する割合は増加したものの評価値に変化が見られない項目や一致率が50%以下の項目が存在した。今回項目別窩洞形成評価法での評価の比較を行なった3名の教員は、保存修復学臨床基礎実習および臨床実習において日常的に窩洞の評価をおこなっており、教育経験10年以上のベテランであるが、擦り合わせを行なった上で項目別窩洞形成評価法を用いた場合でも評価のばらつく項目が存在することが明らかとなった。FGは半導体レーザーを窩洞に投射し、反射光をCMOSイメージセンサーで受光することによって三次元画像構築を行い、基準窩洞との重ね合わせによって切削不足、切削過剰部位を視覚的に捉えることが可能である。しかしながら、窩洞外形の円滑度や窩底の平坦さに対する評価が弱点であり、今後FGのさらなる開発を進め、より公平な評価システムの構築をしたいと考える。

臨床実習後 OSCE の評価

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存修復学分野

○小澤 有美、河田 良健、高瀬 啓一郎、市村 葉、石原 祥世、片山 直

Implementation and student evaluation of clinical final year OSCE

Division of Operative Dentistry Department of Restorative and Biomaterials Sciences
Meikai University School of Dentistry

○Yumi Ozawa, Ryouken Kawada, Keiitirou Takase, You Ichimura, Sachiyo Ishihara, Tadashi Katayama

【目的】歯学教育において、わが国は知識習得に重点をおいた教育が長年続いていた。しかし、歯科医師になりまづ一般診療において基本が重要で、基本的臨床能力を備えていることが必要であるという教育改善が示された。そこで、臨床実習前に基本的臨床能力を備えているのか評価を行うため客観的臨床能力試験 Objective Structured Clinical Examination (OSCE) は義務化され行われている。しかし、臨床実習後には実習を通して習得した技能を評価するシステムは種々の問題を持っており義務化されておらず、実習中に実際に患者さんと接してまたは、卒後歯科医師として患者さんと接し技能のフィードバックを得ることになることも多い。保存修復学分野の OSCE の臨床技能課題は他の分野よりも多い。つまり、歯科医療を行ううえで誰もが確実に正しい技術を習得していなければいけないことになる。そこで、臨床実習後に保存修復の一連の診療を課題とし、臨床実習を通して習得した技能と知識が確実に習得されているのか評価を行った。また、その結果診療のプロセスを通してどのような点が理解に乏しく、教育すべき課題はどのようなことなのか報告します。

【方法】対象は本学歯学部臨床実習生 6 年生 108 名 (男性 74 名、女性 34 名) であった。実施内容は、顎模型にう蝕検知液可染性のう蝕歯牙模型 (下顎右側第二小臼歯) を取り付けてう蝕の診査から歯冠修復の一連の臨床技能を評価した。評価項目は、1-う蝕の診査 2-感染象牙質の除去 3-窩洞形成 4-修復用隔壁の装着 5-コンポジットレジン修復を大項目とし、さらに細分化して評価は数値化した。次に、各項目の最高得点を示す。1-う蝕の診査：**4** 2-感染象牙質の除去：**8** 3-窩洞形成：**9** 4-修復用隔壁の装着：**6** 5-コンポジットレジン修復：**9** とした。試験時間は決めずに、一連の技能が正しい手順で行うことに重点をおいた。

【結果および考察】各項目の平均点を示す。1-う蝕の診査：**3.16** 2-感染象牙質の除去：**6.97** 3-窩洞形成：**4.74** 4-修復用隔壁の装着：**5.24** 5-コンポジットレジン修復：**6.84** であった。この結果から、窩洞形成の目的や必要性の理解が乏しいことが示唆された。コンポジットレジン修復の窩洞は、インレー修復と異なりあえて保持形態を付与する必要はない。しかし、コンポジットレジン修復の抵抗形態、便宜形態や窩縁形態の意義についての知識が不十分であると示唆された。コンポジットレジン修復を行うにあたり、感染歯質の除去後の歯の欠損と窩洞形成後の欠損の形態が著しく変化しない。また、回転切削器具を用いると一連の操作で仕上げていくため手技のステップが変わったことに気づきにくいということも要因ではないかと思われる。それに比べ、この一連の手技の中で一番患者さんに侵襲が大きい感染象牙質の除去については得点が高かった。評価内容をみると、除去効率を考えてラウンド型スチールバーを使用し、その後スプーンエキスカベータを使用する者が多かった。このことから、生活歯に対する歯髄保護の条件に関しては気を付けて処置を行えることが示唆された。他にも、コンポジットレジンの充填は確実に積層充填することが出来た。しかし、マトリックスバンドをはずす前に頬舌側からの照射は不十分であった。また少数派ではあったが、隔壁の装着ではバンドの固定が確実にできない者は、装着後の確認を忘れる傾向が強いことも示唆された。

【結論】今回、う蝕の診査から歯冠修復の一連の臨床技能を評価し、適切な手技を行えるようにするためには基礎実習などで器械・器具に触れ取扱いに慣れる必要性も大切である。しかし、知識や理論に基づいたことを確実に理解させてから手技を身につけさせていかなければならないことが示唆された。

コーンビーム CT を用いることで低侵襲性アプローチが可能となった 特発性外部吸収の一症例

東北大学大学院私学研究科 歯内歯周治療学分野

○千葉 貴治、島内 英俊

A case report of less-invasive surgical approach to idiopathic external root resorption by
combination use of cone beam CT

Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Biology,

Tohoku University Graduate School of Dentistry,

○TAKAHARU CHIBA, HIDETOSHI SHIMAUCHI

【はじめに】近年、歯科用コーンビーム CT (CBCT) を保存治療領域における診査と診断に取り入れることで、良好な臨床成績を得られたという症例が多数報告されている。今回、通常の画像診断では状態の把握が困難であった特発性外部吸収の症例に CBCT を応用したところ、低侵襲性の外科的アプローチが可能となり良好な治療成績が得られたので、その経緯について報告する。

【初診時の所見】

患者：10 歳、女性、主訴：他院にて左上 1 の辺縁歯肉下に 2 mm ほどの陥凹部を指摘され来院。

一般既往歴：先天性心室中隔欠損症（定期観察中）

服用薬剤：特記事項なし。

現病歴：他院にて口腔清掃指導を含む定期的な管理を受けていたが、スクーリング中に左上 1 類側歯肉縁下の歯面に陥凹部が触知され、外部吸収の疑いがあるとして本院を紹介され来院した。

【診査、検査結果】

口腔内所見：口腔内はう蝕もなく、ブラークコントロール良好であった。

臨床所見：自発痛(-)、冷水痛(-)、温熱痛(-)、左上 1 部の辺縁歯肉の発赤・主張(-)

歯髄電気診(pulp tester 値) 左上 1 (27) 右上 1 (28)

探針による触診で歯肉縁下に 2 mm ほどの滑らかな陥凹部が認められた。

当該歯に対する異常な咬合力や外傷の既往などは認められなかった。

X 線所見：デンタル X 線写真では明確な診断は出来なかったため、CBCT 撮影を実施した。その結果、左上 1 類側歯頸部に滑らかな実質欠損が確認されたが、歯髄腔には達していなかった。また他の歯には吸収は認められなかった。

【診断】左上 1 歯頸部の特発性外部吸収

【治療計画】

まず CBCT による画像診断結果に基づき家族に説明を行い、外科的アプローチをすることに対して同意を取得した。主治医に相談の結果、感染性心内膜炎予防のため抗菌薬の術前投与を実施することとした。歯間乳頭部や辺縁歯肉の退縮を避けるため、外科的侵襲を可能な限り低減化することを目指した術式を選択することとした。切開線の設定は、CBCT 画像を参考にして行い、吸収部へのアプローチに最小限必要な範囲の部分層歯肉弁を作製し、搔爬後欠損部にコンポジットレジン充填を行うこととした。

【治療経過】

手術前日からメイアクト MS 小児細粒の投与を行った上で、浸潤麻酔下にて歯間乳頭を避けて切開を行い、三角形の部分層歯肉弁を作製した。外部吸収窩を確認後、鋭匙にて肉芽組織を除去し、同部にコンポジットレジン充填を行い、歯肉弁を復位した。現在経過観察中であるが、歯肉の退縮、歯牙の失活などの症状は認められない。

【考察・まとめ】

今回の症例では、CBCT の併用により外部吸収の水平・垂直的な位置を確認することが可能となり、最小限の侵襲のみで外科処置を実施できた。また、特発性外部吸収の病態の特徴の一つとして、同一口腔内における多発が上げられるが、CBCT 画像から他の部位には発症がないことを確認した。さらに CBCT の特徴として、三次元構築画像が作製できるため、家族への説明が容易となりインフォームドコンセントを得るのに非常に有用であった。

コーンビームX線CT検査により顎骨内腫瘍性病変と診断した根尖病変

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野
○木方 一貴, 関根 源太, 堀 雅晴, 服部 真丈, 吉田 隆一

A Case of Tumor Lesion in Jawbone Found by Using of CBCT

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

○Kazuki KIHOU, Genta SEKINE, Masaharu HORI, Masahiro HATTORI, Takakazu YOSHIDA

【諸言】歯科用コーンビームX線CT(以下CBCT)は, 根尖病変の広がり, 解剖学的位置関係, 歯根破折や穿孔部の位置, 根分岐部病変の診断に有効であると報告されている. 今回, X線単純撮影法による検査のみでは診断困難な症例において, CBCTを用いた画像診断から下顎骨の広範囲に及ぶ境界不整な骨吸収を把握し, 顎骨内腫瘍性病変の診断に至った1症例を報告する.

【症例】患者は43歳の男性. 65の自発痛, 冷温水痛及び咬合痛を自覚し近医を受診. 65の抜髄と根管充填を行った. しかし, その1週間後に65にも同様の自覚症状が出現したため抜髄処置を受けた. 約1か月間根管治療を行うも疼痛が治まらないため当院に来院した.

【診査】初診時検査項目及び結果を下記に示す.

表1 初診時の検査項目

	自覚症状			他覚症状							
	自発痛	咬合痛	挺出感	打診	動揺	発赤	腫脹	圧痛	瘻孔	POD	排膿
4	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)		
5	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	2~3mm	(-)
6	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)		

(+):有

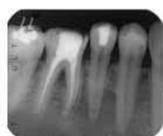
(-):無

デンタルX線検査にて65とも歯槽硬線の連続を認めるが, 根尖部のみやや不鮮明(図1).

【初診時診断】5: 急性根尖性歯周炎, 6: 急性根尖性歯周炎, 根分岐部病変

【治療経過】セフェム系抗菌薬にて消炎処置後, 感染根管治療を開始した. 治療開始2週間後に自発痛及び頬側歯肉に波動が触れる腫脹が出現. 同部の切開を行ったが多量の排膿はなかった. しかし, 洗浄時に広範囲の骨欠損を触知し, 充実性の内容物を認めた. 診査のためパノラマX線写真を撮影したが, 下顎骨臼歯部の透過性は左右差を認めるも病変の広がりまでは判別できなかった(図2). 654部の更なる精査を行うためCBCT撮影を行った. X軸方向のスライス像より4近心から6遠心にかけての骨の透過像, Y軸方向のスライス像にて下歯槽管直上までの範囲に病変, Z軸方向のスライス像より舌側皮質骨の境界不整な骨吸収像を認めた(図3,4,5). 根尖性歯周炎以外の可能性を疑い, 同日, 病理組織検査を行ったところ顎骨内腫瘍と診断された.

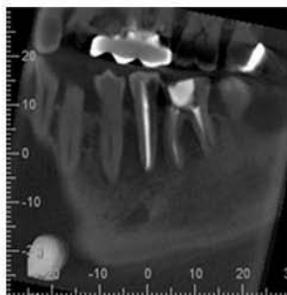
初診より2か月後, 当院口腔外科にて顎骨辺縁切除を行った. その後疼痛もなく, 現在も経過観察を行っている.



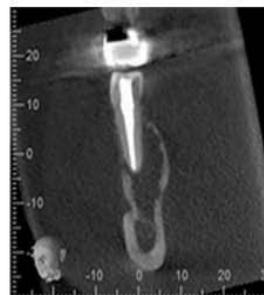
(図1)



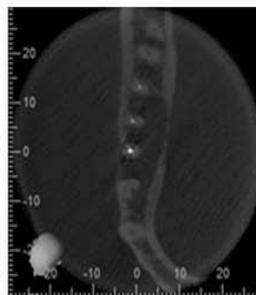
(図2)



(図3)



(図4)



(図5)

【結論】本症例は初診時に抜髄後の根尖性歯周炎を疑い治療を開始したところ, 急性症状を繰り返し, 顎骨内部を触知した状態により精査のためCBCT撮影を行い, 腫瘍の診断に至った症例である. CBCTはX線単純撮影法による検査と比べて3軸方向で病変の範囲が把握できるため, 根尖病変の正確な診断に有用だと考える.

根管壁の穿孔を生じた歯根吸収歯症例

¹みなみ歯科クリニック, ²JA 秋田厚生連平鹿総合病院・歯科
○¹南 清隆, ²寺田林太郎

A case report: Conservative root treatment for root canal perforation caused by root resorption

¹Minami Dental Clinic, ²Dentistry, Hiraka General Hospital
○¹MINAMI Kiyotaka, ²TERATA Rintaro

【研究目的】

歯根吸収は歯の外傷や歯髄の失活などに継発して生じ、臨床的に自覚症状なく進行することが多い。歯根吸収の状態によっては抜歯に至ることもあるが、歯根吸収を発見した際に吸収の進行を止めることができれば歯の保存が可能になり、その臨床的意義は大きいと思われる。

今回、根管内外壁に吸収が認められ、根管壁に穿孔が生じていた一例について保存を試みたので報告する。

【症例】

患者は初診時 41 歳の男性。上顎前歯部の審美障害を主訴として来院した。上顎右側中切歯、上顎右側側切歯、上顎左側側切歯はレジン充填が施され、上顎左側中切歯は陶材焼付鑄造冠が装着されていた。上顎右側中切歯、側切歯、上顎左側側切歯は歯冠が暗褐色に変色しており、いずれも歯髄は失活していた。上顎右側中切歯の唇側歯肉の歯根中央部やや正中寄りの部分には瘻孔が認められた。エックス線写真にて歯根の近遠心根尖側 1/3 から 1/2 にかけて歯根の内部および外部に吸収が認められ根管内外の交通が疑われた。患者の歯牙保存の希望は強く、治療経過によっては抜歯となる可能性があることを同意の上で、保存処置を試みることにした。

【治療経過】

上顎右側中切歯は歯根吸収を伴う慢性根尖性歯周炎と診断し、通法に従い不良充填物の除去、髄腔開拓を行った。根管内にクレンザーを挿入したところ、腐敗した歯髄組織と思われる組織が付着してきた。手用ファイルを用いて根管を機械的に清掃し、根管壁の吸収窩内の腐敗組織を可及的に除去する目的で、根管内に次亜塩素酸ナトリウム製剤 (AD ゲル, クラレメディカル株式会社) を満たし超音波洗浄を繰り返し行った。電気的根管長測定器 (デンタポート ルート ZX モジュール, 株式会社モリタ) を用い根管長の測定を行い、同作業長にてポイント試適のデンタルエックス線写真を撮影したところ、歯根中央部付近でポイントは止まっており、唇側歯肉に開存している瘻孔と一致していた。作業長を修正し、水酸化カルシウム製剤 (カルシベックス[®], 日本歯科薬品株式会社) を貼薬、仮封した。約 3 週間後、唇側歯肉の瘻孔は閉鎖し癒痕化していた。約 2 ヶ月後、水酸化カルシウム製剤を除去し、ヨードホルム含有水酸化カルシウム製剤 (ビタベックス[®], ネオ製薬工業株式会社) を根管内に充填し、充填状態の確認のためデンタルエックス線写真を撮影した。約 3 ヶ月後、臨床症状のないことを確認の上、根管中心部のビタベックス[®]をリーマー、ファイルで除去し、水酸化カルシウム、ヨードホルム配合酸化亜鉛ユージノール系シーラー (デンタリス[®] KEZ, ネオ製薬工業株式会社) を用い側方加圧充填にてガッタパーチャポイントを根管充填した。根管充填後、約 3 ヶ月の経過観察期間ののち、臨床症状の再発などのないことを確認後、補綴処置へと移行した。術後 7 ヶ月現在、特記すべき臨床症状は認められず、経過良好である。

【考察】

歯根の内部吸収や外部吸収は自覚症状なく進行することが多く、発見時には歯の保存が困難な場合も少なくない。歯根吸収を発見した際に吸収の進行を止めることができるかどうか、歯の保存療法の鍵となると考えられる。本症例においても歯根の内部と外部が交通するほどに吸収が進行しており保存が危ぶまれたものの、歯内療法のみで歯の保存が図れたことは患者負担の軽減のみならず、外科処置によるリスク回避の観点からも有意義であったと考えられる。

根尖切除術時に用いた吸収性遮断膜が感染した一症例

¹⁾日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座, ²⁾日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座,
³⁾日本大学総合歯学研究所高度先端医療部門
○佐藤秀一^{1,3)}, 吉沼直人^{1,3)}, 菅野直之^{1,3)}, 蛭間重能¹⁾, 小木曾文内^{1,2,3)}

Contamination of Resorbable GTR Membrane in Periapical Surgery: A Case Report

¹⁾Department of Periodontology, ²⁾Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry,
³⁾Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry,
○Shuichi SATO^{1,3)}, Naoto YOSHINUMA^{1,3)}, Naoyuki SUGANO^{1,3)}, Shigetaka HIRUMA¹⁾, Bunnai OGISO^{1,2,3)}

【はじめに】

歯周組織再生誘導 (GTR) 法は遮断膜を用いて歯根面への上皮および結合組織の侵入を防ぎ, 歯根膜からの間葉系細胞を誘導し歯周組織を再生する方法ある。そこで, GTR 法を根尖部の骨欠損に応用し, 骨再生を誘導した報告が多数認められる。GTR 法に用いた遮断膜が口腔内に露出し感染した場合, 予後を悪化させることが知られている。しかし, 根尖切除術時の吸収性膜の感染についての報告はほとんどされていない。そこで, 本症例では根尖切除時に用いた吸収性遮断膜が感染したために, 遮断膜を除去した一症例について報告する。

【症例】

患者は 37 歳の女性, 近医で全顎の歯周病を指摘されたことを主訴に来院した。歯科既往歴, 医科既往歴および家族歴に特記事項はなかった。現病歴は, およそ 15 年前に上顎両側中切歯に根管治療および前装冠を装着し, 経過は良好であった。その後, 近医にて全顎の歯周病を指摘され日本大学歯学部附属歯科病院歯周病科を紹介された。全顎の歯周組織検査を行った際, 上顎右側中切歯根尖部の根尖病巣を指摘, 歯周基本治療中にろう孔の発現を認めた。そこで, 装着補綴物を除去し根管治療することを患者に説明したが, 患者が装着補綴物の除去を拒否したため, 根尖切除術を実施することとした。根尖切除術は通法に従い根尖部歯肉を剥離し, 根尖部を露出させ病変部を搔爬した後, 歯根端部を切除した。その後, EBA セメントを用いて切除部を封鎖し, 遮断膜 (GC メンブレン®) を用いて, 根尖の骨欠損部を被覆した。2 週後に抜糸を行い, 経過は良好であったが, 6 週間後, 根尖部に設置した膜の露出および感染が認められた。そのため, 浸潤麻酔を施し, 感染部の搔爬を慎重に行い, 不良肉芽組織とともに感染した遮断膜を除去した。感染した遮断膜は直ちにホルマリンで固定し, SEM で観察した。その結果, 膜の構造は崩壊し, 細菌様構造物が認められた。

【考察および結論】

根尖切除術時に根尖部骨欠損部を骨再生させるための遮断膜が感染によって露出した場合, すみやかに感染物質を除去する必要があることが示された。

なお, 本症例の報告に関しては患者の同意を得た。

外傷性脱臼歯再植後に生じた外部吸収に対する MTA 逆根管充填症例の考察

¹⁾ 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第 1 講座

²⁾ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学

○北島佳代子¹⁾、新井恭子¹⁾、飯野華絵²⁾、山田理絵¹⁾、北野芳枝¹⁾、朝比奈壮郎¹⁾、五十嵐 勝¹⁾

Consideration of retrograde filling using MTA against external resorption after replantation of traumatically luxated tooth

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

²⁾ Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University

Graduate School of Life Dentistry at Niigata

○KITAJIMA Kayoko¹⁾, ARAI Kyoko¹⁾, IINO Hanae²⁾, YAMADA Rie¹⁾, KITANO Yoshie¹⁾, ASAHINA Takeo¹⁾ and IGARASHI Masaru¹⁾

【緒言】MTA (mineral trioxide aggregate) は歯髄硬組織形成能を有し、歯根面への応用では周囲の骨性治癒に有効とされる。欧米では、根管充填、外部吸収部の修復、逆根管充填時の充填、穿孔部閉鎖等へ広く適応されているが、本邦では歯髄のみの適応に限られている。本学では倫理審査委員会の承認 (承認番号 ECNG-H-41) を得て、患者へのインフォームドコンセントを図り、承諾書を得た上で MTA を使用している。今回、外傷歯再植後の外部吸収症例に対し、逆根管充填に MTA を応用し良好な予後を得た 1 例について報告する。

【症例】25 歳の男性。上顎左側中切歯の根管治療が経過不良のため、紹介来院した。16 年前に外傷性脱臼による再植と感染根管治療が施され、経過観察が行われてきた。1 年前に外部吸収と根尖病変が発見され、再根管治療が開始されたが、根管からの排膿が続き、瘻孔が閉鎖しないため当診療科に紹介された。

【経過】デンタルエックス線写真で根尖部側方穿孔と Calcipex の根尖孔外溢を認め、患歯には打診痛がみられた。感染根管治療を継続し加圧根管充填を施した後、外科的歯内治療を行った。歯肉剥離後、唇側歯根中央部から根尖にかけて大きな骨欠損が確認された。硬い瘻管を切除後、根尖部肉芽組織と溢出した Calcipex を一塊として摘出した。根尖周囲組織の搔爬と外部吸収部の debridement 後、吸収部歯根に窩洞形成を行い、MTA による逆根管充填を施した。

【予後】術後 1 年経過では臨床症状は無く、エックス線写真により根尖歯周囲組織の骨梁形成を認め、明らかな根尖部透過像の縮小から予後良好と判断した。

【摘出組織所見】塊状の水酸化カルシウムを含む摘出組織をパラフィン包埋し、厚さ 6・ の連続切片を作製した。HE 染色では線維性結合組織と肉芽組織に囲まれた腔性組織がみられ、リンパ球や肉芽細胞を伴う慢性的炎症性細胞浸潤が確認された。一部に血管の充血と鬱血がみられ、溢出した Calcipex と考えられる微細顆粒状構造物の周囲には顆粒を細胞内に取り込んだマクロファージが確認された。また、肉芽組織の外層部に接して、菲薄化した骨組織の一部と、筋線維や血管、線維性組織を含み、一部に出血を伴う筋組織が確認された。Brown-Brenn 染色では、菌塊形成は認めなかったが、微細顆粒状構造物周囲や肉芽組織の一部に細菌の存在が確認された。

【考察】本症例は、摘出組織から慢性肉芽性根尖性歯周炎と考えられた。外傷と再植に起因した外部吸収とそれに伴う側方穿孔が原因となり、Calcipex の溢出や根尖性歯周炎が発症し、細菌感染等が関係して経過不良となったと考えられる。さらに、慢性的に病変が拡大し、唇側歯肉粘膜下の骨の広範囲な開窓をきたし、根尖病変と口輪筋が密着して硬い線維性組織となり、手術時の剥離・摘出に困難を要したものと考えられる。以上のことから、本例では、外部吸収部を含む根尖切除と逆根管充填の適応症であったと考えられ、複雑な根尖部形態を長期に渡り十分に封鎖するためには、水硬性で硬化後も硬さを十分に維持できる MTA の応用が効果的であったと考えられる。また、エックス線透過像の大きさが縮小し、骨梁形成が明らかに確認され、臨床症状もないことから、MTA を穿孔部の封鎖や逆根管充填等に応用した場合も、根尖周囲組織に為害作用を示す所見はみられず、大型の病変への応用にも十分良好な予後が期待できることが示された。

【結論】本症例は、根尖部の外部吸収と側方穿孔をきたし、通常の根管治療では経過不良であった感染根管症例に対し、根尖切除と MTA を用いた逆根管充填により、良好な治癒経過を示した 1 例である。MTA は、周囲組織骨性治癒に有効であることが確認された。

口腔内内視鏡の臨床応用の可能性に関する研究 歯内治療における操作性能と術野観察性能

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科学部門¹⁾

長田電機工業 (株)²⁾

○長谷川篤司¹⁾、伊佐津克彦¹⁾、池田哲¹⁾、長田将治²⁾

Possibility for clinical application of the Dental endoscope

- Clinical handling and operative field observation performance on endodontic treatment -

Department of Conservative dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,

Showa University School of Dentistry¹⁾, OSADA Electronic Co. LTD²⁾

○HASEGAWA Tokuji¹⁾, ISATSU Katsuhiko¹⁾, IKEDA Satoshi¹⁾, OSADA Masaharu²⁾

【研究目的】

歯内治療領域における歯科用顕微鏡の臨床応用により、精度の高い診断だけでなく、完成度の高い診療と難易度の高い診療の可能性が得られるようになってきている。しかしながら、歯科用顕微鏡の導入に当たり、機器の高価なこと、機器が大きいこと、振動に対する配慮が必要など設備に関するハードルとともに、術者に専門的なトレーニングが求められること、フォーハンドテクニックが必要となるなどの教育を伴う人的資源の確保に関するハードルが汎用性を困難にしていると考えられる。歯科用顕微鏡治療に専門的スキルトレーニングが求められる最大の原因は、視点が口腔外の対物レンズ先端にあるため、治療器具や術者の手指が術野を遮らないように接眼レンズ先端と対象物の間に介入しなければならないことも高い施術技能を求める要因になっていると考えられる。一方、ファイバースコープを応用した内視鏡では視点がスコープ先端となるため、口腔外からの直線的な視線では視認できない部分を観察できる可能性と、スコープ先端より後方では術野を観察しながら比較的自由度高く治療器具を操作できる可能性が考えられる。

演者らはすでに第138回日本歯科保存学会にてオサダ社製口腔内内視鏡(オーラルスコープ OOS-1)が歯科用顕微鏡よりハードル低く設備、導入ができ、歯内治療において歯科用顕微鏡に比する術野観察性能を得られることを報告してきた。しかしながら、市販されているオーラルスコープ OOS-1 のハンドピースは口腔内観察用として開発されており、安定した操作性を確保するためにハンドピースは直径約20mm、全長約205mm、約75gの大きさに設定されており、根管チップはモノアングルの金属性チューブでハンドピースと直結されている。したがって、歯内治療使用時に重量や形状の点から術者単独では保持が困難となる可能性や、柔軟性の不足からリーマー等の切削器具の操作性能を損なう可能性が危惧される。

本研究では、片手に収まる小型先端ピースを約90cmの柔軟なファイバーでハンドピースに連結するように設計した試作根管チップ、およびリーマーを術野中央に誘導しやすくするためのアプリケーションを試作し、口腔内内視鏡を歯内治療に応用するための臨床的術式と操作性能、およびその場合の術野観察性能などを検討したので報告する。

【材料および方法】

ニッシン社製歯内治療用人工歯列模型(J0-22)に抜去後半年以内のヒト抜去歯を植立し、モリタ社製ファントム咬合器(DR-11)に装着して仮想の歯内治療環境を設定した。

治療術式として、まず、①フォーハンドテクニックを考慮して、介助者が根管チップを装着したハンドピースを保持、術野観察しながら術者が根管治療を行う術式、②介助者なしに術者がハンドピースと根管チップを左手で保持して術野観察しながら右手で根管治療を行う術式を検討した。次に、③ハンドピースに試作根管チップを装着し、その小型先端ピースを術者が左手で保持しながら右手で根管治療を行う術式と、④小型先端ピースとリーマーを術者が右手のみで保持し、術野観察しながら根管治療を行う術式を検討した。

【成績および結論】

試作根管チップの小型先端ピースを左手で保持しながら右手で根管治療を行う場合に安定した術野観察性能と、良好なリーマー操作性能が得られた。しかしながら、後方臼歯部ではこれら観察性能、操作性能を十分に得ることはできなかった。小型先端ピースの安定性を改善することで小型先端ピースとリーマーを右手のみで操作できれば歯内治療における臨床応用の可能性が広がるものと考えられた。

励起蛍光を応用した歯内および根尖病変の評価

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科学部門
○伊佐津克彦、勝又桂子、山田理、長谷川篤司

Assessment of endodontic lesion by using of light-induced fluorescence
Department of Conservative dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,
Showa University School of Dentistry
○ISATSU Katsuhiko, KATSUMATA Keiko, YAMADA Michi, HASEGAWA Tokuji

【研究目的】

感染根管治療においては、根管清掃によって根管内に残存する壊死組織や感染菌質、炎症性滲出液の分解産物が十分に除去された後、根尖周囲組織、根管内および象牙細管内微生物の減少を正確に評価できることが根管治療成功のカギとなる。

一般に根管充填の時期については、複数の臨床兆候を勘案して決定するが、根尖周囲組織、根管内および象牙細管内の無菌性（菌数の十分な減少）は根管内細菌培養検査によって評価され、炎症性滲出液の存在はカタラーゼ反応の有無によって評価される。これらのうち、根管内細菌培養検査は即日の判定ができないため、現症と評価にタイムラグが生じることが避けられない。我々は、第132、134回保存学会で、う蝕罹患歯質の識別に波長405nmの青色励起光が有効であることを報告してきた。また、第133、135、136、138回保存学会で、数種の歯周病原菌を培養したコロニーが波長405nmの青色励起光によって赤い励起蛍光を発すること、歯周病患者のプラークが波長405nmの青色励起光によって赤い励起蛍光を発することも報告している。

本研究では、根尖周囲組織、根管内および象牙細管内微生物に波長405nmの青色励起光を照射した場合の励起蛍光が根尖病変の評価、いいかえれば根管内の細菌検査となる可能性を根管治療中の根管内に静置しておいたペーパーポイントの観察によって検討したので報告する。

【材料および方法】

試作励起蛍光撮影装置 市販一眼レフカメラのレンズフード内にレンズに直接映り込まないように波長405nmのLEDランプを装着して試作撮影装置を作製した。

資料の採取 対象は、根尖性歯周炎で根管内から排膿あるいは滲出液のある症例、歯内一歯周病変のため症状が改善されない症例とした。

各被験症例において、臨床症状と治療経過を考慮して最適と考えられる根管貼薬を選択し、根管内に2本のペーパーポイントを静置して仮封した。次回の治療時にはまず、①自発痛の有無、②打診痛の程度（4段階）、③根尖部圧痛の有無、④瘻孔の有無、⑤根管からの排膿または出血の有無について診察してプロトコルに結果を記載した。次に、仮封を除去してペーパーポイントを摘出し、1本は⑥腐敗臭を確認した後、直ちに⑦根管内細菌培養検査に供した。続いて、残りのペーパーポイントを濾紙上に置き、レンズフード先端が接地してフードが暗箱となるようにカメラを設置し、⑧ペーパーポイントからの励起蛍光を撮影し、その後に⑨カタラーゼ反応に供した。

【成績および結論】

治療開始時には⑥腐敗臭と⑦根管内細菌培養検査、⑧ペーパーポイントからの励起蛍光、⑨カタラーゼ反応が認められたものも、症状の改善に伴い、⑥腐敗臭、⑦根管内細菌培養検査、⑧ペーパーポイントからの励起蛍光、⑨カタラーゼ反応が陰性になっていくのが観察された。また、治療開始時に、ペーパーポイントからの励起蛍光は、観察されたものと、そうでないものが認められた。従って、波長405nmの青色励起光を照射した場合の励起蛍光が根管内細菌培養検査の結果を推測できる可能性が示唆された。

歯内療法における研修歯科医の研修修了後の認識の変化について —電子ポートフォリオの記載内容からの分析—

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

Changes in understanding on endodontic treatments by trainee dentists between the beginning and end of postgraduate clinical training course in Okayama University Hospital

-Analysis of documents in electric portfolio-

Comprehensive Dental Clinic, Okayama University Hospital

○KUWAYAMA Kaori, KONO Takayuki, SHIOTSU Noriko, TAKETA Hiroaki, OHTSUKA Eri, TORII Yasuhiro

【緒言】

歯科医師臨床研修は生涯研修の第一歩と位置付けられる。臨床経験の浅い歯科医師にとっては、歯科治療を経験すればするほど自己学習の必要性に気づき、学習および振り返りによって治療への知識、技能が向上して、その認識も変化するものと思われる。特に歯内療法は、直視できない治療で成否には手指の感覚が重要となることから、知識と感覚との整合が必要となる治療と言え、臨床経験が知識の習得を促進させ、その結果技能向上に大きく影響すると考える。岡山大学病院では、臨床研修において電子ポートフォリオを用いて、研修歯科医が治療を経験するたびに内容、疑問、感想を記載し、それに対して指導歯科医がアドバイスを返すという教育を行ってきた。そこで、研修歯科医がポートフォリオに記載した歯内療法分野の内容を研修開始期と終了期で比較し、歯内療法についての意識・認識の変化を検討した。

【対象および方法】

H22年度からH24年度の3年間に岡山大学病院で臨床研修を受けた155人の研修歯科医が、総合歯科で診療を行った際に電子ポートフォリオシステムに入力した中から歯内療法分野に関連した記載内容を抽出し、それらを研修開始期の4月から7月に入力した内容と研修終了期の12月から3月に入力した内容に分け、以下のように分析した。

1. 抽出したポートフォリオを入力時期（研修開始期、研修終了期）と処置内容（抜髄（初回）、感染根管治療（初回）、拡大・貼薬、根管充填）によって8項目に分類した。
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、テキストマイニングソフト(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、キーワードを抽出した。
3. 入力時期・処置とキーワードの関連性分析のために、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】

1. 3年間に研修歯科医が入力したポートフォリオ12,043件のうち、歯内療法関連のポートフォリオは1,144件であった。そのうち研修開始期に入力したものは378件、研修終了期に入力したものは314件であった。
2. 研修開始期の抜髄（初回）は43件、感染根管治療（初回）は66件、拡大・貼薬は180件、根管充填は89件であった。一方、研修終了期の抜髄（初回）は34件、感染根管治療（初回）は47件、拡大・貼薬は144件、根管充填は89件であった。
3. 出現頻度が40以上のキーワード62件と入力時期・処置内容で分類した8項目について対応分析を行い布置図を作成したところ、感染根管治療が他の処置項目に比較して研修開始期と終了期での内容の変化が大きかった。
4. 有意性テストの結果、研修開始期は自信、難しさ、緊張といった診療に対する自信の無さを表すキーワードが上位にあったが、研修終了期には知識や治療内容を表すキーワードが上位になった。

【まとめ】

研修歯科医が入力したポートフォリオは、研修開始期は概念的な言葉を用いる傾向が強いが、研修終了期には知識や治療内容を意識した内容に変化していた。これは、研修歯科医が歯内療法の経験を積むことによって、感覚的な概念から確実な知識・技術の必要性を認識しているもので、歯科医師として成長していることが示唆された。

歯内治療科診療室内のチェアおよびデンタルグローブの消毒状態の調査

愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座

○平野文菜、佐久間紗綾、藤田将典、山口正孝、堀場直樹、松本 享、中村 洋

A study on disinfection of dental chairs and dental gloves at the endodontic clinic

Department of Endodontics, Aichi Gakuin University, School of Dentistry

○Hirano Fumina, Sakuma Saya, Fujita Masanori, Yamaguchi Masataka, Horiba Naoki,
Matsumoto Toru, Nakamura Hiroshi

【目的】

院内感染とは、病院内の感染あるいは入院が原因の感染と理解されている。歯科治療の際には、手袋は患者ごとに交換しているが、処置途中では、チェアライトの取手などに触れる機会が多い。しかし、その都度、手袋を消毒することは少ない。また治療終了後には、除菌布で消毒しているが、これらの場所の細菌付着の状態を検討した報告は少ない。そこで今回我々は、治療が終了し、チェア周囲の除菌クロスによる消毒が終了後のチェアに対する汚染状況を把握するとともに、リナパス消毒液の手指消毒への効果を検討した。また、これらの消毒剤と脂肪酸を主成分とする BV4 との消毒効果をも比較検討した。

【材料および方法】

1. チェアの細菌学的検査： 治療終了後に除菌クロス (OOSAKI) あるいは BV4 (テクノマイニング) で清掃した後、生理食塩水含有滅菌綿球でチェアなど、治療中に触れると思われる場所 12ヶ所を拭った。その綿球を SCD 寒天培地 (BD BBL) に直接塗抹し、3-4 日間ふ卵器内で培養した。発育した細菌のコロニー数をカウントするとともに、属の段階まで同定した。
2. ゴム手袋の細菌学的検査： 治療終了後、ゴム手袋の右手をパームチェック (日研生物医学研究所) に 10 秒間圧接した。その後、リナパス消毒液 (中北薬品) あるいは BV4 のワンプッシュ量 (約 3ml) にて消毒し、再度パームチェックに圧接した。またワンプッシュの 1/2 量 (1.5ml) および 1/4 量 (0.8ml) においても同様に検討した。3-4 日間、ふ卵器内で培養し、治療直後と消毒後の細菌の発育コロニー数をカウントするとともに、属の段階まで同定した。
3. リナパス消毒液と BV4 との抗菌効果の比較： チェアから分離された *Staphylococcus sp* を用いた。滅菌生理食塩水中に細菌を懸濁し、約 1×10^7 cfu/ml になるように調整した。その菌液 0.1ml に原液あるいは滅菌蒸留水で 10 倍に希釈したリナパス消毒液あるいは BV4 をそれぞれ 0.9ml 加え、30 秒間攪拌した後、連続 10 倍希釈した。BHI 寒天培地に播種し、ふ卵器内で 48 時間培養した後、コロニー数をカウントし、抗菌効果を判定した。

【結果】

1. チェアの細菌学的検査： 除菌クロスおよび BV4 はともに、検査した 12ヶ所すべてから細菌が検出されたチェアは認められなかった。また、細菌が未検出のチェアもなかった。チェアライト取手の細菌検出率が高く、除菌クロスでは 7 台中 6 台から、BV4 では 5 台中 4 台から検出された。菌種としては、*Staphylococcus* 属が多かった。また数カ所において *Pseudomonas* 属や腸内細菌科群も検出された。
2. ゴム手袋の細菌学的検査： ワンプッシュ量のリナパス消毒液では、5 例中 3 例に消毒後に細菌が残存した。1.5ml では、残存細菌は認められず、0.8ml では 5 例中 2 例に細菌が認められた。一方、3ml の BV4 では、5 例中 2 例に、1.5ml および 0.8ml ではそれぞれ 5 例中 3 例に細菌が残存した。菌種としては、*Staphylococcus* 属が多かった。
3. リナパス消毒液と BV4 との抗菌効果の比較： *Staphylococcus sp* に対して、両消毒剤の原液では、ともに BHI 寒天培地上には細菌は発育せず、抗菌効果を示した。しかし、10 倍に希釈した BV4 では、抗菌効果はほとんど認められなかった。

【考察および結論】

治療後のチェアなどにおいて、完全な無菌環境を得ることは難しいと思われた。免疫力が低下しているヒトへの感染が懸念されている *Pseudomonas* 属などの細菌も検出されており、チェア各所に触れた際には可能な限りの手指の消毒の必要性が示唆された。また 3ml 量の BV4 は、リナパス消毒液と同等の消毒効果を有しており、チェアなどの清掃消毒剤あるいは手指消毒剤として、検討に値する消毒剤であると思われた。

北海道大学病院における垂直歯根破折の実態調査

北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室¹

福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯周病学分野²

○中塚 愛¹、菅谷 勉¹、元木洋史¹、井上加菜¹、田中佐織¹、宮治裕史¹、川浪雅光¹、坂上竜資²

Existing condition on Vertical root fracture at Hokkaido University Hospital

Periodontology and Endodontology, Department of Oral Health Science,

Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine¹

Fukuoka Dental College, Section of Periodontology, Department of Odontology²

○Megumi Nakatsuka¹, Tsutomu Sugaya¹, Youji Motoki¹, Kana Inoue¹, Saori Tanaka¹,

Hirohumi Miyaji¹, Masamitsu Kawanami¹, Ryuji Sakagami²

【緒言】

歯根破折は歯の寿命を大きく左右する問題であり、その予防や治療には実態を知ることが必要である。しかし、歯根破折の実態を調査した研究は少なく、不明な点が多いのが現状である。そこで本研究では、垂直歯根破折した症例を分析し、破折の生じる部位、歯種による破折方向や位置の違い、ポストの材質や長さを調査して、臨床における歯根破折の実態を検討した。

【方法】

1994～2012年に北海道大学病院歯周・歯内療法科で垂直歯根破折と診断された歯を対象とし、破折の様相とポストの状態を、カルテ、口腔内写真、抜去歯の写真等から後ろ向きに調査を行った。調査項目は、歯種、破折状態、ポストの状態とした。破折状態は破折部位と破折方向を肉眼またはマイクロスコープで確認し、破折部位は次の5つに分類した。①歯頸部破折：歯頸部に破折があって根尖部にはない。②中間部破折：歯根中央部のみに破折がある。③根尖部破折：根尖部に破折があって歯頸部にない。④全部破折：歯頸部から根尖部まで破折がある。⑤不明。破折方向は次の3つに分類した。①頬舌方向、②近遠心方向、③その他：頬舌方向と近遠心方向が混在。ポストの状態はポストの材質、ポストの長さとし、ポストの材質はX線写真およびカルテから、①鋳造ポスト、②既製金属ポスト、③ファイバーポスト、④ポストなし、⑤不明の5群に分類、ポストの長さはX線写真で歯根長に対するポストの長さの比を計測し、0、～2/10、～4/10、～6/10、6/10以上に分類した。なお、本調査は北海道大学自主臨床試験審査委員会の承認を得て行った。

【結果と考察】

調査対象歯は合計305本で、発生頻度が最も高かったのは上顎小白歯、次いで下顎大白歯であった。また305本のうち296本は歯髄処置が行われていて、失活歯に垂直歯根破折が生じやすいことは多くの報告と一致していた。しかし、う蝕罹患率が高い歯種が歯根破折を生じやすいとは限らず、歯髄を失うことだけでなく、強い咬合力が負荷されることも原因の1つであると推察された。歯種別の破折部位は、上顎中切歯と犬歯は根尖部破折が少なく、他の歯種では歯頸部破折と根尖部破折は同程度であった。このことから、側方力の加わりやすい歯では歯頸部からの破折が生じやすい可能性が示唆された。歯頸部破折の破折方向は、いずれの歯種においても近遠心方向と頬舌方向のいずれにも生じていたが、根尖部破折では頬舌方向に破折する歯が大多数であった。このことから、歯頸部破折と根尖部破折では力の方向や応力の分布など、破折のメカニズムが異なると考えられた。破折部位によるポスト材質の差は認められず、ポストの材質は垂直歯根破折に直接大きな影響を及ぼしていない可能性が考えられた。歯根長に対するポストの長さの割合を破折部位で分類すると、歯頸部破折ではポスト長が歯根長の2/10～4/10が最も多かったが、根尖部破折はポストがない歯が最も多く、ポストが長くなるに従って減少した。ポストがない歯でも垂直破折する歯は多く、むしろ根尖部破折の予防にはポストが長い方が良い可能性が示唆された。

【結論】

垂直歯根破折において、歯頸部破折と根尖部破折は同程度で生じた。歯頸部破折はどの方向にも生じるのに対して、根尖部破折は頬舌方向が多かった。ポストの長さや歯頸部破折の関連は不明確であったが、根尖部破折はポストが長い方が少なかった。歯根破折の原因はポストの材質や長さ、根管治療だけでなく他の要因が複雑に関与していると考えられた。

試作非接触型電磁式加振装置に関する基礎的研究
—レーザー変位計による力学的パラメーターの検出—

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 日本大学歯学部物理学教室²
日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門³, 日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門⁴
○小林 寛¹, 林 誠^{1,3}, 小森 規雄^{1,3}, 清水 康平^{1,3}, 山岡 大^{2,4}, 小木曾文内^{1,3}

Fundamental study of electromagnetic vibration device

—Detection of mechanical parameter by laser displacement sensor—

Departments of Endodontics¹ and Physics², Division of Advanced Dental Treatment³, Division of Functional Morphology⁴, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry
○Hiroshi Kobayashi¹, Makoto Hayashi^{1,3}, Norio Komori^{1,3}, Kohei Shimizu^{1,3}, Masaru Yamaoka^{2,4}, Bunnai Ogiso^{1,3}

【研究目的】

歯周組織の状態を把握することは辺縁性歯周炎のみならず根尖性歯周炎や歯根破折などの診断に必要不可欠である。演者らの講座では、歯の動揺を含めた歯周組織の客観的評価方法を確立するため、電磁力を応用した非接触型電磁式加振装置を試作し、実験用植立模型を用いて力学的パラメーター（共振周波数、弾性係数および粘性係数）による歯周組織応答について検討を行ってきた。その結果、本装置では歯の動揺のみならず周囲支持組織の性状変化も併せて検出可能であり、その有用性について本学会で報告してきた。しかしながら、この方法では振動検出器として加速度ピックアップを測定対象物に接着させる操作を必要とする。そこで、演者らは臨床的操作性と精度の向上を目的に、振動検出器としてレーザー変位計の応用について検討した。

【材料および方法】

実験に供した植立模型は模擬歯、模擬歯根膜および模擬歯槽骨により構成されている。模擬歯としてポリアセタール棒（直径 6.0mm, 長さ 25.0mm）、模擬歯根膜として粘膜調整材であるティッシュコンディショナーⅡ®（松風）、模擬歯槽骨としてニッシン社製のウレタンおよび発泡ウレタン模型をそれぞれ用いた。

植立模型の作製は、ティッシュコンディショナーⅡ®を粉 4.8 g に対して液 5.0 ml の粉液比で混和し、底面および側面厚さを 0.5 mm、模擬歯の歯槽窩内への埋入深さを 10.0 mm に統一した。植立模型は室温 23±1°C、湿度 50±5% に設定した恒温恒湿室内で作製し、模型作製 1 時間後、試作非接触型電磁式加振装置にて強制振動を加えた。

振動検出法としては、レーザー変位計を用いて周波数応答特性を測定した。すなわち、波長 655 nm のレーザー光を模擬歯に照射し、その反射光をレーザー変位計にて読み取り FFT アナライザーにて模擬歯の振動状態を解析した。その後、測定された周波数応答特性から各力学的パラメーター（共振周波数、弾性係数および粘性係数）を算出した。また、振動検出器に加速度ピックアップを使用した測定群をコントロールとした。

統計学的解析は、Mann-Whitney U-test を用いて有意水準 5% の条件で、レーザー変位計および加速度ピックアップを使用して算出した各力学的パラメーターについて比較検討した。

【成績および考察】

レーザー変位計を使用して算出された全ての力学的パラメーターは、加速度ピックアップを使用した場合とウレタンおよび発泡ウレタン模型で近似し、統計学的有意差は認められず試作非接触型電磁式加振装置の振動検出器としてのレーザー変位計の有用性を確認した。このことから、加速度ピックアップに代わる振動検出器としてレーザー変位計を応用することで操作性の向上がはかられるとともに加速度ピックアップを同等の精度で模擬歯の周波数応答特性を捉えられるものと考えられた。

【結論】

以上のことから、試作非接触型電磁式加振装置における新たな振動検出法としてレーザー変位計を応用できる可能性が示唆された。

Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄時に生じる根尖孔外への洗浄液の溢出量および溢出距離

○市川勝¹, 八尾香奈子¹, 佐竹和久¹, 渡辺聡¹, 安生智郎¹, 海老原新¹, 小林千尋², 須田英明¹

1. 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
2. 東京医科歯科大学歯学部附属病院 歯科総合診療部

Apical Extrusion of Root Canal Irrigants during Root Canal Irrigation Activated by Er:YAG Laser

○ICHIKAWA Masaru¹, YAO Kanako¹, SATAKE Kazuhisa¹, WATANABE Satoshi¹, ANJO Tomoo¹, EBIHARA Arata¹, KOBAYASHI Chihiro², and SUDA Hideaki¹

1. Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
2. Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital, Tokyo Medical and Dental University

【目的】

根管洗浄には、シリンジを使用する洗浄法 (conventional irrigation, 以下「CI」) が通常用いられているが、根尖周囲組織への洗浄液の溢出による為害性が懸念されている。他方、Er:YAG レーザーを用いた洗浄方法 (laser-activated irrigation, 以下「LAI」) については、その有効性や LAI で約 100 km/h の水流が発生したという洗浄液溢出の危険性を示唆する報告があるものの、LAI で生じる根尖孔外への洗浄液の溢出量および溢出距離を測定した報告はほとんどない。本研究では、LAI によって生じる根尖孔外への洗浄液の溢出量および距離について基礎的に検討することを目的とした。

【材料および方法】

実験 1: 作業長 15 mm, 40 号 0.06 テーパーに調整したヒト単根抜去歯を用いた。LAI 群では、Er:YAG レーザー装置 (Erwin AdvErL, モリタ製作所) および付属チップ (R200T, 同) を使用し、根尖から 2, 5, 10 mm 手前にチップ先端を設置し、根管内に満たした蒸留水を 70 mJ 10 pps の出力条件にて、各 5 秒間作用させた (LAI2, 5, 10 群)。CI 群では、27G 洗浄針およびシリンジ (ニプロブランド針, ニプロシリンジ, ニプロ) を用い、根尖から 2, 5, 10 mm 手前に洗浄針先端を設置し蒸留水 3 ml にて根管洗浄を行った (CI2, 5, 10 群) 後、根尖孔外に溢出した洗浄液量を電子天秤 (AE240, METTLER TOLEDO) にて測定した。各群それぞれ 7 回ずつ計測した。

実験 2: 洗浄液の溢出距離を測定するため、George らの方法に準じて抜去歯の歯軸が水平になるように固定し、1% メチレンブルー染色液を満たし、実験 1 と同一条件にて各群それぞれ 5 回ずつ LAI を行い、洗浄液が溢出した距離を方眼紙上に記録し、画像分析ソフト (Photoshop CS5, Adobe) にて計測した。統計学的解析には一元配置分散分析および Tukey-Kramer 検定を用い、有意水準を 5% とした。

【結果】

LAI 群で生じた根尖孔外への洗浄液の溢出量は、CI 群よりも有意に小さかった ($p < 0.05$)。LAI 群の洗浄液の溢出距離は、すべての CI 群よりも大きく、LAI2, 5 群の溢出距離は LAI10 群よりも有意に大きかった ($p < 0.05$)。また LAI 群の溢出量および溢出距離に関しては、チップの設定位置間で統計学的有意差を認められた ($p < 0.05$)。

【考察】

LAI は根管内にキャビテーション、高速の水流、衝撃波を発生させるといわれているが、本実験条件下では根尖孔外に生じる洗浄液の溢出量は従来法よりも小さかった。また、溢出距離は従来法よりも大きく、従来の報告と同様の結果であった。どのような器具や手技を用いても、少量の洗浄液の溢出は起こりうると言われている。洗浄液の溢出量と組織為害性との関係はいまだに不明であるものの、臨床的に洗浄液の溢出量を可及的に少なくさせることは重要と考えられる。

【結論】

本実験条件下では、LAI 群は CI 群よりも根尖孔外への洗浄液の溢出量は小さかったが、根尖孔外の溢出距離は従来法よりも大きく、照射チップの設定位置がその溢出量および溢出距離に影響を与えた。LAI の臨床応用に際しては、洗浄効果とともに、適切な照射条件について更なる検討が必要である。

Er:YAG レーザーを利用した根管側枝の洗浄：清掃効果と歯根周囲に加わる圧力

○八尾香奈子¹，市川勝¹，佐竹和久¹，渡辺聡¹，安生智郎¹，海老原新¹，小林千尋²，須田英明¹

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

2. 東京医科歯科大学歯学部附属病院 歯科総合診療部

Er:YAG Laser-activated Irrigation for Lateral Canals: Induced Cleaning Effect and Peri-radicular Pressure

○YAO Kanako¹, ICHIKAWA Masaru¹, SATAKE Kazuhisa¹, WATANABE Satoshi¹, ANJO Tomoo¹, EBIHARA Arata¹, KOBAYASHI Chihiro², and SUDA Hideaki¹

1. Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

2. Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital, Tokyo Medical and Dental University

【目的】

根管洗浄は歯内療法の重要なステップの一つである。通常はシリンジを使用する根管洗浄 (conventional irrigation, 以下「CI」) や超音波洗浄 (passive ultrasonic irrigation, 以下「PUI」) が用いられているが、根尖周囲組織への洗浄液の溢出による有害性が懸念されており、洗浄効果とともに根管洗浄時において根尖孔外へ加わる圧力を検討した報告等がある。他方、Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄 (laser-activated irrigation, 以下「LAI」) については、その有効性が報告されているものの、LAI で生じる側枝への洗浄効果や側枝外への圧力を測定した報告はほとんどない。本研究では、LAI によって生じる側枝への洗浄効果および側枝外へ加わる圧力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 1: J タイプ規格根管模型 (THERMAFIL TRAINING BLOC, Dentsply Maillefer) を模擬根管 (n=10) として用いた。この側枝付模型に水酸化カルシウム材 (カルシペックス II, 日本歯科薬品) を 1.0% メチレンブルーで染色したものを満たし、以下の 3 種類の洗浄法にて水酸化カルシウム材の除去率を計測した。LAI 群では、Er:YAG レーザー装置 (Erwin AdvErL, モリタ製作所) および付属チップ (R200T, 同) を使用し、根管模型の底部から 5 mm 手前にチップ先端を設置し、模擬根管内に満たした蒸留水に対して 70 mJ 10 pps の出力条件で、各 10 秒間作用させた。PUI 群では、超音波装置 (Piezon Master 400, EMS, 最小設定値) を用い、超音波チップ (#20 U-file, 松風) の先端を模擬根管の根尖端から 5 mm の位置に設置し、10 秒間作用させた。CI 群では、27G 洗浄針およびシリンジ (ニプロブラント針, ニプロシリンジ, ニプロ) を用い、洗浄針先端を根管模型の底部から 5 mm 手前に設置し、蒸留水 0.5 ml にて 10 秒間洗浄を行った。洗浄後、Gregorio の分類に準じてデジタルマイクロスコープ (VH-8000, キーエンス) にて、側枝の水酸化カルシウム材が 50% 以上除去できているかを評価した。統計学的解析には Kruskal-Wallis および Scheffe 検定を用い、有意水準を 5% とした。

実験 2: 実験 1 と同じ根管模型を用い、側枝開口部の模型外に生じた圧力を、ビニールチューブを介して圧力計測装置 (AP-12S, キーエンス) に接続し、実験 1 と同様の手法にて各群それぞれ 10 回計測した。統計学的解析には一元配置分散分析および Tukey-Kramer 検定を用い、有意水準を 5% とした。

【結果】

根管模型の側枝において、水酸化カルシウム材が 50% 以上除去された試料数は LAI, PUI, CI 群においてそれぞれ 7, 2 および 0 であり、LAI 群は他の群よりも有意に側枝内の水酸化カルシウムが除去されていた ($p < 0.05$)。また、側枝外へ加わる圧力は、すべての群において有意差はなかった ($p > 0.05$)。

【考察】

LAI は PUI と同様に根管内にキャビテーション、高速の水流、衝撃波を発生させるとされており、模型側枝において超音波よりも優れた洗浄効果を認めた。PUI および CI における側枝洗浄効果は、従来の報告と同様であった。臨床的には歯周組織圧が存在し、その値はヒト中心静脈圧 (5.88 mmHg) に近似するという報告もある。歯周組織圧は根管洗浄時の圧力に抗すると考えられるが、本研究で得られた結果は、すべての群において上記の値を下回っていた。

【結論】

本実験条件下において、Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄法 (LAI) は従来の根管洗浄法 (PUI および CI) よりも側枝に対する洗浄効果が大きく、側枝外へ加わる圧力は同程度であった。しかしながら、LAI によっても根尖孔外や側枝外へ洗浄液が溢出する可能性は残されており、臨床応用に際しては更なる検討が必要である。

マウス ES 細胞由来象牙芽細胞において IL-1 β 誘導 MMP-3 は
細胞増殖と抗アポトーシス作用を調節する

○ 檜山太希, 尾関伸明, 山口秀幸, 川合里絵, 田中 毅, 中田和彦, 中村 洋
愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

Interleukin-1 β -induced matrix metalloproteinase-3 modulates cell proliferation
and anti-apoptosis in odontoblast-like cell derived from mouse embryonic stem cells

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

【研究目的】

Matrix metalloproteinase (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質分解酵素で, 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, 幹細胞の遊走などその作用は多岐にわたる。これまでに我々は, ラット生活歯髓断髄モデルを用いて, 歯髓の炎症時や創傷治癒過程において MMP-3 発現が増加し, 歯髓幹細胞, 血管内皮および神経細胞の増殖と遊走を促進することを報告した (Eba *et al.*, 2012, *PLoS One* 7: e52523., Zheng *et al.*, 2009, *Am J Pathol* 175: 1905-1914).

本研究では, 新規に確立したマウス ES 細胞由来象牙芽細胞 (Kawai *et al.*, 2013, *Oral Diseases*, in press) を用いて, 炎症性サイトカイン IL-1 β 誘導 MMP-3 の象牙芽細胞に対する新規な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 ES 細胞を用いて新規に確立した象牙芽細胞分化誘導法により, 高純度に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 β (PeptoTech) を添加し, RT-PCR 法と Western-blots 法により MMP-3 発現を評価した。IL-1 β による細胞増殖は BrdU 標識 cell proliferation ELISA (Roche Applied Science), アポトーシス細胞死は BrdU 標識 DNA fragment ELISA (Roche) により評価した。さらに培養液中の MMP-3 活性を ELISA (AnaSpec) により評価した。MMP-3 siRNA (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) を用いた MMP-3 遺伝子のノックダウンにより, IL-1 β 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】

IL-1 β 添加群 (0.25, 2.5 ng/mL) において, MMP-3 遺伝子, タンパク質発現ならびに細胞増殖の亢進が統計学的有意 ($P < 0.01$) 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 IL-1 β 処理により統計学的有意 ($P < 0.01$) な MMP-3 活性上昇が観察された。しかしながら, IL-1 β 添加 (25 ng/mL) 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 ($P < 0.01$) に惹起された。また, IL-1 β 添加群 (0.25, 2.5, 25 ng/mL) において, 内在性 MMP inhibitor の TIMP-1, TIMP-2 の遺伝子発現に変化は認められなかった。MMP-3 siRNA 処理により, IL-1 β 添加群 (0.25, 2.5 ng/mL) 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 ($P < 0.01$) が認められた。MMP-3 添加 (10, 30, 50 ng/mL) により, 細胞増殖が統計学的有意 ($P < 0.01$) に認められ, さらに, IL-1 β 添加 (0.25 ng/mL) と MMP-3 siRNA により惹起されたアポトーシス細胞死は, MMP-3 添加 (5, 10, 20, 30 ng/mL) で統計学的有意 ($P < 0.05$) に回避されることが明らかとなった。

【考察】

炎症性サイトカイン IL-1 β は multifunction を示し, 比較的低濃度では細胞増殖の亢進, 高濃度ではアポトーシス細胞死を誘導した。新規に確立したマウス ES 細胞由来象牙芽細胞において, IL-1 β により誘導された MMP-3 を 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 が歯髓の炎症時における象牙芽細胞の増殖と抗アポトーシス作用を制御することで, 歯髓創傷治癒に関与する可能性が示唆された。

(会員外共同研究者: 茂木眞希雄・愛知学院大学薬学部生体機能化学講座)

象牙芽細胞様細胞の炎症応答に対する MTI-II の影響

¹九州歯科大学口腔保存治療学分野

²聖マリアンナ医科大学 大学院 疾患プロテオーム・分子病態治療学

○中山皓平¹、平田-土屋志津¹、岡本一起²、北村知昭¹

Effects of MTI-II on Inflammatory Responses of Odontoblast-like Cells

¹Div. Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

²Clinical Proteomics and Molecular Medicine, St. Marianna University Graduate School of Medicine

○NAKAYAMA Kouhei¹, HIRATA-TSUCHIYA Shizu¹, OKAMOTO Kazuki², KITAMURA Chiaki¹

【目的】

歯髄は硬組織に囲まれた極めて閉鎖的環境に存在しているが、外来刺激に対しては、象牙細管を通して感染防御、炎症応答、そして硬組織形成を行うなど様々な反応を示す。しかし、閉鎖的環境が仇となり歯髄に生じた炎症が進行し歯髄壊死に陥ることも多い。近年、我々は、炎症の主たるシグナル伝達経路である NF- κ 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) に着目している。MTI-II はグルココルチコイド受容体活性化補助因子とされるタンパク質であり、全身性に拡散するステロイドホルモンと比べて局所に留まって炎症抑制の効果を発揮すると期待されている。本研究では、象牙芽細胞様の特徴を有するラット下顎切歯歯髄由来細胞株 KN-3 細胞に対する MTI-II の炎症応答抑制効果について検討した。

【材料と方法】

象牙芽細胞様細胞である KN-3 細胞の石灰化能を誘導するため、アスコルビン酸および β グリセロリン酸を加えた状態で、炎症性サイトカインの一種である腫瘍壊死因子 (TNF- α) の存在下・非存在下において、位相差顕微鏡下で細胞形態を観察した。また、石灰化能へ及ぼす影響をアルカリフォスファターゼ活性を測定することにより検討した。次に、遺伝子導入試薬 (Lipofectamin2000) を用いて MTI-II 発現プラスミドおよび NF- κ B ルシフェラーゼ発現プラスミドを遺伝子導入した KN-3 細胞を炎症性サイトカイン TNF- α (10 ng/ml) で 12 時間刺激後、ルシフェラーゼ活性を測定し、NF- κ B の転写活性を分析した。

【結果】

KN-3 細胞を TNF- α で刺激し、位相差顕微鏡で観察したところ、コントロールの細胞と比べて、形態的特徴に有為差は認められなかったが、アルカリフォスファターゼ活性は抑制された。KN-3 細胞を TNF- α で刺激すると、NF- κ B の転写活性が著しく上昇した。しかし、KN-3 細胞に MTI-II を過剰発現させると TNF- α 刺激による NF- κ B の転写活性の上昇が解除された。

【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、象牙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- α 刺激による NF- κ 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- κ B の転写活性を阻害することで象牙芽細胞様細胞が示す TNF- α 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)

ストロンチウム置換生体活性ガラスは *in vitro* において 象牙芽細胞様細胞の分化を促進する

福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野, *九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

○諸富孝彦, 北村知昭*, 泉 利雄, 水上正彦, 西崎竜司, 稲永晃子, 阿南 壽

Strontium-substituted bioactive glasses enhance the differentiation of Odontoblast-lineage cells *in vitro*

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College.

*Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University.

○Takahiko MOROTOMI, Chiaki KITAMURA*, Toshio IZUMI, Masahiko MINAKAMI,

Ryuji NISHIZAKI, Akiko INANAGA, Hisashi ANAN.

【目的】

象牙質形成誘導能を有する薬剤・材料の開発は、歯髄保存療法の臨床成績の向上や象牙質-歯髄複合体再生療法の確立に不可欠である。現在、生物学的な機能を有する象牙質誘導剤として BMPs 等サイトカインの応用が検討されているが、これらの材料は取り扱いや価格の面では有利とは言えない。よって、高い象牙質誘導能を持ちながら保管や滅菌方法が簡便で安価な材料の開発は有用である。

生体活性ガラスは骨伝導性を有し、線維性皮膚で被包されることなく骨と直接結合するうえ軟組織とも高い親和性を持つ無機材料であることから、骨補填剤として臨床の場で用いられている。また、ストロンチウム製剤は骨形成の促進と骨吸収阻害の両作用を有し、骨粗鬆症治療のための経口治療薬として臨床応用されている。今回我々は、生体活性ガラスの主要な構成因子の一つである酸化カルシウムを酸化ストロンチウムに置換した各種のストロンチウム置換生体活性ガラスの直接覆髄剤や象牙質補填剤としての可能性を、*in vitro* 研究により検討した。

【材料と方法】

細胞培養: 本実験には象牙芽細胞様の性質を有するラット切歯歯髄由来株細胞である KN-3 を用いた。培養液には 10% FBS、100 μ g/mL ストレプトマイシン、100 U/mL ペニシリンを添加した α -MEM を用いた。ストロンチウム置換生体活性ガラスは福岡歯科大学生体工学分野教授の松家茂樹先生より提供を受けた。生体活性ガラスの CaO を 0, 10, 20, 50 および 100% の割合で SrO に置換した各生体活性ガラス粒子 (粒子径: 300~500 μ m) をそれぞれ培養液に 10 mg/mL で 37°C・1 週間浸漬し、この培養液を用いて細胞を 37°C・5% CO₂ 条件下で培養した。培養液は 2 日毎に交換した。

細胞数の計測: 細胞を PBS で洗浄後、0.25% トリプシン-EDTA で 37°C、6 分間処理し細胞を浮遊させ回収した。細胞懸濁液は 0.4% トリパンブルーで 2 倍に希釈し、生細胞数をセルカウンターにて計測した。

ウェスタンブロッティング法: 細胞をラバーポリスマンを用いて回収し、ホモジナイズ後 12,000 rpm で 30 分間遠心し、上清を回収してサンプルとした。サンプルは SDS-PAGE で分離後 PVDF 膜に転写した。3% スキムミルクで 1 時間ブロッキングを行い、ウサギ由来抗 DSP ポリクローナル抗体 (1:1000) で 4°C、12 時間の一次抗体反応を行った。二次抗体反応はロバ由来抗ウサギ IgG HRP 抗体 (1:4000) を用いて室温で 1 時間行った。シグナルは ECL-Plus で化学発光させ検出した。

【結果および考察】

生体活性ガラス浸漬培養液で培養した KN-3 細胞は、通常の培養液を用いたコントロール群と比較して、象牙芽細胞分化マーカーである象牙質シアロタンパク (DSP) の産生量が増加した。そして酸化ストロンチウムの置換割合が高いほど、その発現量も高まっていた。一方、細胞増殖能は酸化ストロンチウムの置換割合が高い生体活性ガラスほど、低下していた。以上の結果から、生体活性ガラスからの溶出成分は象牙芽細胞分化誘導能を有すること、ストロンチウム置換生体活性ガラスは象牙芽細胞分化誘導能を著しく向上させることが確認された。今後は象牙芽細胞分化誘導に影響する溶出成分の特定や、ストロンチウム置換生体活性ガラスと象牙芽細胞様細胞の直接的な接触による影響について確認する予定である。

【結論】

ストロンチウム置換生体活性ガラスは直接覆髄材や象牙質補填材として有用な材料となりうる。