

Er,Cr:YSGG レーザーのエナメル質切削に関する研究
- レーザー光の出力と周波数がエナメル質の切削効率に及ぼす影響 -

¹日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻、²日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座、
³日本歯科大学新潟病院総合診療科

○永井悠太¹、新海航一²、有田祥子¹、川嶋里貴¹、高田真代¹、加藤千景²、鈴木雅也²、平賢久³

Study on Tooth Preparation with Er,Cr:YSGG Laser
- Effects of Output Power and Frequency of Laser on Efficiency of Enamel Preparation -

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

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

³Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

○NAGAI Yuta¹, SHINKAI Koichi², ARITA Shoko¹, KAWASHIMA Satoki¹, TAKADA Mayo¹, KATO Chikage²,
SUZUKI Masaya², TAIRA Yoshihisa³

【研究目的】

Er,Cr:YSGG レーザーはエナメル質を効率的に切削することが可能であるが、切削メカニズムが明らかでなく、非接触であるが故に回転切削と比べて窩洞形成のコントロールが非常に難しい。したがって切削メカニズムの解明とともに、エナメル質の切削に適したレーザー光の出力と周波数、ウォーターズプレーの水と空気の相対比率、照射の方向性、ならびにハンドピースの動かし方などを詳細に検討する必要がある。本研究では、レーザー光の出力 (W) と周波数 (Hz) がエナメル質の切削効率に及ぼす影響について検討した。

【材料及び方法】

ヒト抜去上顎前歯からエナメル質を含む直径約 5 mm の試料を作製し、耐水研磨紙#600、#800 および #1500 を用いて平坦なエナメル質面を形成した (n=10)。Er,Cr:YSGG レーザー (Waterlase MD) を用いて下表の切削条件でエナメル質平坦面を切削した。その際、Water の相対比率を 75%、Air の相対比率を 85%、照射光の入射角度を 90°、照射距離を 3 mm に設定し、各試料のエナメル質平坦面に対して各々切削条件を変えながら 9 カ所を約 1 秒間ずつ切削した。各切削時の状況をハイスピードカメラ (動き解析マイクロスコープ) で撮影し、ビデオクリップ画像上でモニタリングを行って、切削中に生じた水蒸気爆発の回数をカウントした。切削されたエナメル質の深さは表面粗さ測定器 (Surfcom470A) を用いて測定した。得られた結果から 1 Hz あたりの切削深さを算出した。

対応のある 2 元配置分散分析を用いて統計学的解析を行い、レーザー光の出力と周波数がエナメル質の切削効率に及ぼす影響を検定した ($p < 0.05$)。実体顕微鏡を用いてレーザー切削面を観察し、各実験群の代表例について微細構造を SEM 観察した。

Group	出力 (W)	周波数 (Hz)	Group	出力 (W)	周波数 (Hz)	Group	出力 (W)	周波数 (Hz)
①	3.0	20	④	4.0	20	⑦	5.0	20
②		30	⑤		30	⑧		30
③		40	⑥		40	⑨		40

共通条件: 75% Water, 85% Air

【結果ならびに考察】

ビデオクリップ画像上では各 Group の切削状況に関して大きな差は認められず、すべての Group において一定の間隔で微小水蒸気爆発が発生している状況が明瞭に観察された。各 Group における 1 Hz あたりの切削深さ (平均値±SD) は、①: 10.48±5.34、②: 4.52±2.89、③: 2.92±1.10、④: 15.93±4.03、⑤: 8.56±2.99、⑥: 5.88±2.46、⑦: 18.31±3.35、⑧: 9.91±3.18、⑨: 7.77±1.30 であった。

得られた結果について対応のある 2 元配置分散分析を行ったところ、レーザー光の出力と周波数は各々エナメル質の切削効率に有意な影響を与えることが明らかとなった ($p < 0.0001$)。両因子の交互作用は認められなかったため、Bonferroni の多重比較検定を行ったところ、4.0W で各周波数の間にすべて有意差が認められた。3.0W と 5.0W では、20Hz と 40Hz の間に有意差が認められた。また、周波数ごとに各出力を比較すると 20Hz では 3.0W と 5.0W の間のみ有意差が認められ、30Hz と 40Hz では 3.0W と 4.0W ならびに 3.0W と 5.0W の間に各々有意差が認められた。

したがって、75%Water、85%Air の条件でレーザー光の出力を 3.0~5.0W、周波数を 20~40Hz の範囲に設定した場合、レーザー光の出力と周波数はエナメル質の切削効率に有意な影響を及ぼすことが明らかとなった。

本研究の一部は、科学研究費基盤研究 (C) (課題番号 22592130) の補助によって行われた。

Er,Cr:YSGG レーザーの歯質切削に関する研究
—レーザー光の出力および周波数が象牙質の切削効率に及ぼす影響—

¹ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻, ² 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座
³ 日本歯科大学新潟病院総合診療科

○高田真代¹, 新海航一², 永井悠太¹, 有田祥子¹, 川嶋里貴¹, 加藤千景², 鈴木雅也², 平賢久^{2,3}

Study on Tooth Preparation with Er,Cr:YSGG Laser
— Effects of Output Power and Frequency of Laser on Efficiency of Dentin Preparation —

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

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

³ Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

○TAKADA Mayo¹, SHINKAI Koichi², NAGAI Yuta¹, ARITA Shoko¹, KAWASHIMA Satoki¹, KATO Chikage²,
 SUZUKI Masaya², TAIRA Yoshihisa^{2,3}

【研究目的】

Er,Cr:YSGG レーザーは歯質を効率的に切削することが可能であるが、非接触であるため回転切削器械と比べて窩洞形成のコントロールが難しい。切削メカニズムの詳細を解明してコントロールを良くするには、歯質切削に適したレーザー光の出力と周波数、ウォータースプレーの Water と Air の相対比率、照射光の方向性、ハンドピースの動かし方などを検討する必要がある。そこで本研究では、レーザー光の出力(W)および周波数 (Hz)が象牙質の切削効率に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

ヒト抜去上顎前歯を使ってエナメル質を含む直径約 5 mm の歯片を作製し、耐水研磨紙#600、#800 および#1500 を用いて平坦な象牙質面を形成した (n=10)。Er,Cr:YSGG レーザー (Waterlase MD) を用いて下表の切削条件で象牙質平坦面を切削した。切削面に対する照射光の入射角度を 90 度、照射距離を 3 mm、ウォータースプレー85%Air, 75%Water に設定した上で、各歯片の象牙質平坦面 9 箇所に対し、各々切削条件を変えて約 1 秒間ずつ切削した。切削時の状況をハイスピードビデオカメラ (動き解析マイクロスコープ) で撮影し、ビデオクリップ画像上でモニタリングを行い、切削中に生じた水蒸気爆発の回数をカウントした。切削された象牙質の深さは表面粗さ測定器 (Surfcom 470A) で測定した。得られた結果から 1 Hz あたりの切削深さを算出し、レーザー光の出力(W)および周波数 (Hz)が切削深さを与える効果を統計学的に分析した (2Way-ANOVA, Bonferroni, p<0.05)。実体顕微鏡を用いてレーザー切削面を観察した後、各実験群の代表例について微細構造を走査型電子顕微鏡 (S-800) で観察した。

【結果ならびに考察】

ビデオクリップ画像上では各実験群の切削状況に大きな差は認められなかった。すべての実験群において各々一定の間隔で微小水蒸気爆発が発生している状況が明瞭に観察された。測定結果を下表に示す。各実験群における 1 Hz あたりの切削深さの平均値を比較すると、Group3 の切削深さが最も低く、Group4 の切削深さが最も高い値を示した。レーザーの出力と周波数を因子として対応のある 2Way-ANOVA を行ったところ、交互作用効果が認められたため、単純主効果について検定した。その結果、各因子に有意な効果が認められたため、多重比較検定 (Bonferroni) を行ったところ、いずれの出力でも各周波数の間にすべて有意差が認められた。また、周波数ごとに各出力の切削深さを比較すると 20Hz と 30Hz では 2.0W と 3.0W の間に有意差が認められたが、40Hz ではどの出力の間にも有意差は認められなかった。したがって、75%Water、85%Air の条件でレーザー光の出力を 2.0~3.0W、周波数を 20~40Hz

実験群	% Air	% Water	出力 (W)	周波数 (Hz)	1Hzあたりの切削深さ(μm)
					平均値 ± SD
Group 1	85	75	2.0	20	10.33 ± 2.37
Group 2				30	5.21 ± 1.66
Group 3				40	3.00 ± 1.36
Group 4			2.5	20	14.76 ± 3.14
Group 5				30	7.01 ± 1.78
Group 6				40	3.97 ± 1.13
Group 7			3.0	20	14.66 ± 2.45
Group 8				30	7.23 ± 1.43
Group 9				40	4.44 ± 1.27

の範囲に設定した場合、照射出力よりも周波数の方が象牙質の切削効率に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。本研究の一部は、科学研究費基盤研究 (C) (課題番号 22592130) の補助によって行われた。

炭酸ガスレーザー照射による歯質表面の形態的变化に関する研究

— 開口象牙細管に対する照射の影響について —

神奈川歯科大学大学院歯学研究科う蝕制御修復講座¹, 歯科理工学²

○菅原剛志¹, 大橋 桂², 富山 潔¹, 竹田仁一¹, 菌部悠子¹, 向井義晴¹, 二瓶智太郎²

Study on structural changes of tooth surface by dioxide laser irradiation

-Influence of laser irradiation on opened dentinal tubes-

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

○SUGAHARA Tsuyoshi¹, OHASHI Katsura², TOMIYAMA Kiyoshi¹, TAKEDA Jinichi¹, SONOBE Yuko¹,
MUKAI Yoshiharu¹, NIHEI Tomotaro²

【目的】

演者らは、セラミックス粉体を歯質表面に添付して炭酸レーザーを照射するとエナメル質と融着することを報告してきた¹⁻⁴⁾。一方、象牙質に対しても同様にセラミックスの融着性の可能性や照射の影響について検討する必要があると考えられる。

近年、超高齢化社会を迎え、知覚過敏症の多発が懸念されている。臨床における知覚過敏症緩和処置としては、種々の象牙細管封鎖材やボンディング材の塗布、コンポジットレジン修復あるいはグラスアイオノマーセメント修復などが行われている。しかしながら、簡便性、即効性、持続性を備えた処置法については未だ確立されていないと思われる。

今回の目的は、象牙質知覚過敏モデルを用い、炭酸ガスレーザー照射により開口象牙細管の封鎖の有無を形態的な変化から観察することである。

【実験材料ならびに方法】

象牙質知覚過敏モデルの試料にはウシ下顎前歯歯根面象牙質を用いた。歯髄および歯根面に付着した軟組織ならびにセメント質をペリオドンタルキュレットにて除去し、象牙質を露出した後、歯頸部直下およびそれより5mm根尖側の位置で歯根を水平段し、ドーナツ状の試料を切り出した。さらにワイヤーソーにて平坦な被験面を作製した後、長軸方向に2分割した。

次いで、10%正リン酸溶液に10秒間浸し、49重量%プロピレングリコール、および21重量%ポリビニルピロリドンに30重量%の平均粒径100~200 μ mのヒドロキシアパタイトを混じた研磨用ペーストで1,000rpm、1分間機械研磨を行った。研磨後、試料を30分間超音波洗浄し、脱イオン水中で攪拌しながら24時間水洗することにより、象牙細管を開口させた試料を作製した。

炭酸ガスレーザーはOPELASER PRO (ヨシダ)を用いた。レーザー照射距離は20mmとし、出力は0.5Wと1.0Wを各10秒間、0.048mmのデフォーカスで連続照射を行った。レーザー照射後の各試料に対し、Quick Auto Coater (SC-701 AT, サンヨー電子)を用いて200Åの金蒸着を施した後、走査型電子顕微鏡 (Superscan SS-550, 島津製作所)にて加速電圧10kVで表面観察を行った。また、レーザーを照射しない試料も同様に作製して表面観察を行った (コントロール群)。

【結果および考察】

コントロール群は象牙細管の開口を認め、本実験の知覚過敏象牙質モデルとして適切であることが確認できた。レーザー0.5W連続照射群では象牙質表面が融解され、表面も一層滑らかになり、封鎖された細管が確認された。また、1.0W連続照射群では細管内の封鎖は認められたが、0.5W連続照射よりも表面が滑らかではなかったことから、照射出力が高いとデフォーカスであったとしても象牙質表面が蒸散する可能性が高いと考えられた。

以上の結果より、開口した象牙細管の封鎖法として炭酸ガスレーザーの有効性が示唆されたが、照射条件をさらに検討する必要があると考えられた。

【文献】

- 1) 二瓶智太郎. 炭酸ガスレーザーによるエナメル質表面へのセラミックスの融着に関する研究. 日歯保存誌 45: 649-656, 2002.
- 2) 倉田茂昭ら. 炭酸ガスレーザーを用いたセラミックス融着による歯牙のう蝕予防. 日本赤外線学会雑誌 14: 34-38, 2004.
- 3) Nihei T et al. Study on ceramic coating on the enamel surface using a carbon dioxide laser. Dental Materials J 30: 212-215, 2011.
- 4) 二瓶智太郎. レーザーを用いた新規セラミック修復法の開発. 神奈川歯学, 46(1), 102-106, 2011.

CO₂レーザー (波長 9.3 μm) 照射された 象牙質の形態学的ならびに結晶学的変化と耐酸性について

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○向井 侑、山田三良、三島和美、福田秀光、八谷文貴、鶴田あゆみ、
成橋昌剛、中野健二郎、富士谷盛興、千田 彰

Morphological, Crystallographic Changes and Acid Resistance of Dentin Surface Irradiated with CO₂ Laser at a Wavelength of 9.3 Micrometers

Aichi Gakuin University, Department of Operative Dentistry

○Mukai Yu, Yamada Mitsuyoshi, Misima Kazumi, Fukuda Hidemitsu, Yatagai Yoshitaka,
Tsuruta Ayumi, Naruhashi Masayoshi, Nakano Kenjiro, Fujitani Morioki, Senda Akira

【緒言】 CO₂レーザー (波長 10.6 μm) を象牙質に照射し、その構造変化や硬さの上昇、あるいは耐酸性の向上を図るなど改質効果を得る試みが多く報告されている。一方、歯質無機成分の吸収波長は 9.0 μm から 9.6 μm の付近に存在することが報告されており (Friedら, Proceedings of SPIE, 1999)、演者らは象牙質への吸収がさらに高い波長を有する CO₂レーザー (波長 9.3 μm) を象牙質に照射すると、これらの効果がより効率的に起こると考え、種々検討を加えてきた。すなわち、波長 9.3 μm の CO₂レーザーを象牙質に照射すると亀裂を認めても照射野内に限局しており (第 11 回日本歯科用レーザー学会, 2010)、また、低エネルギー照射でも結晶性が向上する可能性があることを報告した (第 23 回日本レーザー歯学会, 2011)。そこで本研究では、波長 9.3 μm あるいは 10.6 μm の CO₂レーザーを種々のエネルギーで照射したときの象牙質の形態学的ならびに結晶学的変化をさらに詳細に観察するとともに、耐酸性についても検討を加えた。

【材料および方法】 ヒト抜去大白歯の歯冠の咬合面側 1/3 を低速切削機で歯軸に対し垂直に切断し、象牙質平坦面 (井 800) を得た。この試片を頬舌方向に 2 分割し、それぞれの面にネイルバーニッシュを塗布して 1.8mm×5.0mm のウインドウを作製し照射面とした。片方の照射面に波長 9.3 μm の試作 CO₂レーザー (タカラベルモント) を用いて、3 種 (19.0 J/cm², 45.2 J/cm², 69.0 J/cm²) のエネルギー密度 (E 密度と略す) で各々 1 パルス (0.1 sec) 48 点照射した (各々 9.3L 群, 9.3M 群, 9.3H 群と略す)。また、もう一方の照射面に波長 10.6 μm の CO₂レーザー (ベルレーザー, タカラベルモント) を用いて同様の条件で照射し、これらを対照とした (それぞれ 10.6L 群, 10.6M 群, 10.6H 群と略す)。これら照射面の形態を走査電子顕微鏡にて観察し、次いで、照射野中央部の結晶学的変化を赤外分光分析装置および X 線回折装置を用いて検討した。また、耐酸性について検討するために、各試料を 0.1M 乳酸緩衝溶液 (pH 4.0, 37°C) 10ml に 24 時間浸漬して脱灰し、これらの脱灰溶液を 6μl 採取し、それに含まれる Ca 量を偏光ゼーマン型原子吸光分光光度計を用いて検量法にて測定し、得られたデータを統計学的に解析した (Student's *t*-test, *p* = 0.01)。また、脱灰処理後の照射面の形態観察や結晶学的変化の分析も前述の方法と同様に行った。

【結果および考察】 ①形態学的変化: 9.3 群では、いずれの E 密度であっても照射野中央部に熔融像が形成され、その程度は E 密度が高いほうが著しかった。一方 10.6 群では、E 密度が最も高い H 群のみに、9.3 L 群と同じような熔融像が出現した。これは、波長 9.3 μm の CO₂レーザーの方が象牙質への吸収がより高いため生じた現象と考えられた。②結晶学的変化: 9.3 群の方が 10.6 群に比し、PO₄ のピーク強度が高く分岐したピークが顕著に認められた。また、9.3 M, H 群, 10.6 M, H 群で Amid I および II のスペクトルが消失傾向にあった。これらのことより 9.3 群はいずれの E 密度においても 10.6 群に比し高い結晶性を示し、E 密度の高い方がその程度は高かった。また、9.3 群の E 密度の最も低い L 群と 10.6 群の E 密度の最も高い H 群は同程度の結晶学的変化を示した。③耐酸性: レーザー照射した象牙質の Ca 溶出量は非照射の場合に比し有意に少なかった (*p* < 0.01)。9.3 群は、いずれの E 密度においても 10.6 群に比し高い耐酸性を示し、E 密度が高い方がその程度は高かった。また、9.3L 群と 10.6H 群は同程度の耐酸性を示した。

以上のことから、CO₂レーザーを象牙質に照射すると有機成分が蒸散し、また照射された象牙質が熔融して再結晶化することで、より結晶性の高い純粋なヒドロキシアパタイトが生成され、その結果乳酸に対する抵抗性が認められたものと考えられた。またこれらの効果は、レーザーの象牙質への吸収効率がより高い 9.3 群に顕著に現れたものと考えられた。

【結論】 波長 9.3 μm と 10.6 μm の CO₂レーザーを象牙質に照射したところ、波長 9.3 μm の方が、結晶性の高い純粋なヒドロキシアパタイトが生成され、その結果、高い耐酸性を示すことが判明した。

速硬型ケイ酸カルシウム系歯内療法用セメントの生体機能性に関する研究

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
*新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座生体材料学分野
○小玉沙織, 韓 臨麟, 大川誠剛*, 興地隆史

Bioactivity Evaluation of Fast-setting
Calcium Silicate-based Endodontic materials

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics,

*Division of Biomaterial Science,

Department of Oral Health Science

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan

○KODAMA Saori, HAN Linlin, OKAWA Seigo, OKIJI Takashi

【緒言】 Mineral trioxide aggregate (MTA) を始めとするケイ酸カルシウム系歯内療法用セメントは Ca^{2+} や OH^- を持続的に放出する生体機能性材料であり, 良好な生体親和性と封鎖性を備えることが報告されている. MTA はリン酸イオン存在下で Ca^{2+} 放出に続いてアパタイト様の結晶生成を示すことが知られており, 本材の良好な生体親和性や封鎖性につながる性質と考えられている. ところが, MTA の問題点として硬化時間が長いことや粘稠度が低く扱いづらいことが指摘されており, 改善のためのさまざまな改変が試みられている. 本研究ではボゾラン (可溶性シリカを含むセメント混和材) の添加により硬化時間短縮と操作性向上がはかられた速硬型ケイ酸カルシウム系セメントを研究対象とし, その生体機能性を従来の MTA と比較検討した.

【材料および方法】: 被験ケイ酸カルシウム系セメントとして Endocem MTA, Endocem Zr および EndoSeal (Maruchi, Wonju, Korea) を, また, 対照として White ProRoot MTA (WMTA; Dentsply Tulsa, OK) を用いた. なお, Endocem MTA, Endocem Zr ではそれぞれ grey MTA, white MTA に相当する製品で, Endoseal では根管充填材として使用可能な稠度を有する製品である.

1. 粉材の形状と組成分析: 被験材料粉末をアルミホルダに充填し 10^4 Pa 加圧した後, EPMA (EPMA1601; 島津) にて微細構造的観察と定性分析 (各 $n=3$) を行った. **2. Ca^{2+} 放出量測定:** 各被験材料を製造者指定量の蒸留水あるいは生理食塩水で練和し, 4×10 mm の円柱状試片 (各 $n=3$) を蒸留水 10 ml 中に 168 時間浸漬し, 浸漬液中の Ca^{2+} 濃度を EDTA 滴定法で経時的に測定した. **3. 表面析出物の分析:** 2×10 mm の円盤状試片を PBS 10 ml 中に 14 日間 (37°C) 浸漬保管後, 表面析出物について SEM (S2300, 日立) による形状観察および X 線回折 (XRD) による結晶分析を行った (各 $n=3$). **4. 硬化物表層と内部の微細構造的観察:** 上記 (実験 3) の試片について, 表層と内層 (縦断面) の微細構造を SEM で観察した (各 $n=3$).

【結果】: **1. 粉材形状および組成:** Endocem MTA 粉材では $1 \mu\text{m}$ 程度のケイ酸カルシウム粒子周囲にボゾラン成分と思われる構造物や造影材の酸化ビスマス粒子が観察され, WMTA とほぼ同等量の Ca, Si に加えて約 2% の Fe を含んでいる. 一方, Endocem Zr は, $1-2 \mu\text{m}$ のケイ酸カルシウム粒子の間に Zr 構造物が散在し; EndoSeal 粉材では Zr 粒子が $1 \mu\text{m}$ 程度のケイ酸カルシウム粒子の間に散在しており, Zr が多量に含まれる一方で Ca や Si は WMTA より少量であった.

2. Ca^{2+} 放出量: 蒸留水, 生理食塩水のいずれによる練和した場合も EndoSeal < Endocem Zr < Endocem MTA < WMTA であった. また, 生理食塩水練和試片では蒸留水練和試片と比べて Ca^{2+} 放出量が少なかった. **3. 表面析出物の性質:** 各材料とも表面にアパタイト様の形状を呈する析出物の生成が観察された. また, WMTA ではアパタイト様の X 線回折ピークが確認されたが, 他のセメントでは析出物の量が少なく明瞭なピークは確認できなかった. **4. 表層および内層構造:** いずれの材料においても, 浸水溶解と思われる表層部変質層が見られ, 層の幅が PMTA, ENMTA, ENZr, ENS の順で, 厚くなったことが確認された.

【考察】: 3 種の被験ケイ酸カルシウム系セメントはいずれも Ca^{2+} の放出やアパタイト結晶様析出物の形成を示したことから, WMTA に類した生体機能性を有することが示唆された. 一方, Endocem MTA はボゾラン反応により速硬性を示すが水和反応の過程で水酸化カルシウムがボゾランと反応して不溶性の高いケイ酸カルシウム水和物に変換されると共に Ca^{2+} や水酸化カルシウムの消耗などから, Ca^{2+} 放出やアパタイト様析出物形成が WMTA より少量であった原因と考えられる. 加えて, Endocem Zr, Endoseal では組成中のケイ酸カルシウム含有量自体が WMTA より少量であり, これが Ca^{2+} 放出量の低下につながったと推察される.

【結論】: 3 種の被験ケイ酸カルシウム系セメントはいずれも Ca^{2+} の放出やアパタイト結晶様析出物の形成を示したが, その量はいずれも WMTA より少なかった.

カルシウムを混和した 4-META/MMA-TBB レジン上への骨形成

北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室
○柳澤 剛 菅谷 勉 中塚 愛 川浪 雅光

Bone formation on 4META/MMA-TBB resin containing calcium

Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine
○YANAGISAWA Go, SUGAYA Tsutomu, NAKATSUKA Megumi, KAWANAMI Masamitsu

【諸言】

4-META/MMA-TBB レジンは優れた接着性と生体親和性を有することから、歯根端切除術や垂直歯根破折の接着治療、髄床底穿孔部の封鎖などに応用されてきた。しかし、レジン上へのセメント質の形成はできていないのが現状である。一方、4-META/MMA-TBB レジンにカルシウムを添加すると、骨との結合を促進させることが示唆されている。そこで、本研究では 4-META/MMA-TBB レジンに α -TCP、または炭酸カルシウムを添加し、骨髄腔内に移植してレジン表面への骨の形成に及ぼす影響を組織学的に評価した。

【材料と方法】

スーパーボンド(クリア)をポリプロピレン製チューブ内で硬化させ、直径 1mm、長さ 5mm の円柱形試料を作製した。作製した試料にスーパーボンドの活性化液と以下の 3 群の粉材を混和して塗布し、10 週齢ウィスター雄性ラットの左右大腿骨骨髄腔に直径 1mm の大きさで穿孔して直ちに移植を行った。各群の粉材は以下の通りとした。①コントロール群：スーパーボンドクリア、②炭酸カルシウム群：炭酸カルシウム(粒径 10~100 μ m)を 40wt% でスーパーボンドクリアに混和、③ α -TCP 群： α -TCP(粒径 5~80 μ m)を 40wt% でスーパーボンドクリアに混和。移植試料の底部が骨髄腔内に位置するように固定し、術後 2、8 週で大腿骨を採取、脱灰薄切標本を作製して H-E 染色し、試料周囲への骨形成状態を光学顕微鏡で観察した。

【結果と考察】

2 週後は 3 群ともほぼ同様の所見で、明らかな炎症性細胞浸潤は見られず、試料周囲には新生骨の形成が認められ、試料全周に及んでいた。新生骨は梁状で類骨を含んだ幼弱な骨であり、骨小腔内の骨細胞は類円形であった。新生骨面状には、数層の扁平な細胞や、多核の巨細胞が認められた。2 週後のコントロール群と炭酸カルシウム群では、試料と新生骨の間に軟組織が厚く介在していたのに対し、 α -TCP 群では数層の細胞が見られたのみであった。

8 週後は 2 週後と比較すると 3 群とも新生骨は緻密化し、層板状の構造がみられ、類円形、または扁平な骨細胞が認められた。3 群とも試料と新生骨の距離は接近していたが、コントロール群においては直接接している部位はほとんど見られず、試料と新生骨の間には数層の細胞が観察された。炭酸カルシウム群は、骨基質と試料が直接接している部分が認められ、直接接していない部分の軟組織の幅も術後 2 週後と比較すると薄く、数層の細胞が配列していたのみであった。 α -TCP 群は骨基質と試料が直接接している部分がより多く認められ、接していない部分では一層の細胞が配列している程度であった。

α -TCP および炭酸カルシウムをスーパーボンドに混和することによって、スーパーボンド硬化体からカルシウムが溶出し、骨との直接的な接触を高めたものと考えられた。

【結論】

4-META/MMA-TBB レジンに α -TCP や炭酸カルシウムを添加すると、レジンと骨との直接接触が高まることが示唆された。

フルオロアパタイト置換型リン酸カルシウムセメントに関する基礎的研究
—ケイ酸カルシウムを添加した場合の辺縁封鎖性について—

¹日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座, ²日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療部門,
³米国国立標準技術院パフフェンバーガー研究所

○鈴木裕介¹, 林 誠^{1,2}, 鶴町 保^{1,2}, 高木章三³, Laurence C.CHOW³, 小木曾文内^{1,2}

Fundamental study of fluorapatite-forming calcium phosphate cements

—Sealing ability of fluorapatite-forming cement containing calcium silicate—

Departments of Endodontics¹, Division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, ADA Foundation Paffenbarger Research Center, National Institute of Standards and Technology³

○Yusuke SUZUKI¹, Makoto HAYASHI^{1,2}, Tamotsu TSURUMACHI^{1,2}, Shozo TAKAGI³,
Laurence C.CHOW³, Bunnai OGISO^{1,2}

【研究目的】

近年、リン酸カルシウムセメントを主成分とした多種の生体材料が臨床に広く使用されている。Brown と Chow によって開発された Calcium Phosphate Cement (CPC) はその代表的な材料であり、水分の介在により硬化し、最終産物が hydroxyapatite (HA) となる。また、CPC にフッ化物を含有させると fluorapatite (FA) が形成され、結晶性、溶解性および耐酸性が向上し、硬組織形成促進作用などの特徴を有することが報告されている。このように本材の特徴は構成成分を変化させることにより、使用目的に適した最終産物を得ることができる。

一方、代表的な歯内療法用セメントである Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は生体親和性や封鎖性に優れ、歯内療法領域に広く用いられている。しかしながら、硬化時間が長く、操作性に難があるなどの問題点も報告されており、改良の必要性が指摘されている。このことから、演者らは MTA の構成成分であるケイ酸カルシウムが封鎖性向上に寄与することに着目し、FA を形成する歯内療法用セメントとして FA-forming CPC を試作し、その生体親和性について第 137 回本学会にて報告した。今回演者らは、歯内療法用セメントとして重要な要件である本材の辺縁封鎖性についてヒト唾液を使用して検討した。

【材料および方法】

1. 被験材料

被験材料は、試作歯内療法用セメントである FA-forming CPC (粉 CaHPO₄:61.3%, CaCO₃:32.3%, NaF:7.6% +10wt% Ca₃SiO₅ 液 1.5 M リン酸溶液 P/L=2.22) と Pro Root MTA® (Dentsply 社製) の 2 種を使用した。

2. 抜去歯の調整

ヒト新鮮単根抜去歯を通常法に従い根管口を明示した後、Ni-Ti ロータリーファイルであるプロテーパーF3 まで根管拡大・形成を行った。その後、根尖部を歯軸長軸に垂直に 3 mm 切除し、逆根管充填窩洞をレトロチップにて 3 mm の深さで形成し、各被験材料をプラグにて充填した。

3. 細菌漏洩試験

細菌漏洩試験は Split Chamber 法を用いて行った。すなわち、upper chamber に抜去歯を固定し、ヒト唾液を根管内に挿入した。また、lower chamber には細菌の漏洩を評価するために purple broth を入れた。細菌漏洩の判定は、purple broth の色の変化(紫→黄)により行い、37℃、湿度 100%の条件下で 4 週間観察した。なお、被験材料未填入のものを Positive Control (PC)、根尖部をネイルバーニッシュで被覆したものを Negative Control (NC) とした。

【結果】

FA-forming CPC 群において細菌漏洩が一部観察されたが、MTA 群と有意差は認められなかった。一方、すべての PC 群では 24 時間以内に漏洩が確認され、NC 群では実験期間内において漏洩は認められなかった。

【考察および結論】

以上の結果から、ケイ酸カルシウムを配合した FA-forming CPC の根尖部における辺縁封鎖性は、MTA と同程度と考えられた。さらに、本試作セメントは高い生体親和性を有することに加えて、MTA と比較して硬化時間も短いことから、新たな歯内療法用セメントとしての要件を具備するものと考えられた。

Fish collagen による骨再生療法の有用性

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野

○吉澤 祐、池田 毅、山本 耕平、杉本 浩司、山田 志津香、林 善彦

The effect of fish collagen for bone regeneration therapy

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Yoshizawa Yuu, Ikeda Takeshi, Yamamoto Kohei, Sugimoto Kouji, Yamada Shizuka, Hayashi Yoshihiko

はじめに

再生医療において不可欠な 3 要素である、細胞、足場、栄養因子のうち、われわれは足場材に関して従来より種々検討を加えている。これまで研究室では、生体親和性、生分解性に優れ、かつ人獣共通感染症 (BSE など) の対象とならない Fish collagen 由来足場材としての物理的、化学的な性状ならびに安全性について多孔性担体を試作しすでに報告を行ってきた (第 135 回、第 138 回日本歯科保存学会学術大会)。そこで今回、細胞移植療法を想定した観点から、Fish collagen によるラット骨髄由来細胞の動態への影響について検討したので報告する。

材料と方法

1) Fish collagen

テラピアの皮膚からペプシン処理したのち、1%に調整されたタイプ I アテロ化コラーゲン (5mM 酢酸溶液、0.45 μ m フィルター濾過済) は (株) ニッピから提供を受けた。なお Fish collagen を用いない実験群をコントロール群とした。

2) 使用細胞

F344 系ラットの大腿骨骨髄から通法により分離採取した細胞を 10%FBS, penicillin/streptomycin を加えた α -MEM を用いて 14 日間初代培養ののち、継代操作を行ったものを用いた。

3) 細胞増殖能ならびに骨分化能の検討

増殖能については 0.06%に調整した Fish collagen を coating した 35mm 培養皿に 1.0×10^4 個の細胞を播種し、1, 3, 5 日後の細胞数を計測した。分化能については Fish collagen を同様に調整した 24well cell culture plate 上に 1.0×10^5 個の細胞を播種し、5, 7, 14, 21 日後に alizarin red S 染色にて判定した。骨分化能については 5, 7, 14, 21 日後にサンプル回収、Real-Time PCR によって骨分化マーカー (Runx2, オステオカルシン, オステオポンチン) の発現の解析を行なった。

4) 埋入試験

凍結乾燥した Fish collagen から円柱状の多孔性担体を作製し、その中にラット骨髄由来細胞を 1.0×10^5 個添加後、90 分間培養したものを従来より当教室で骨組織反応を検討する場合に用いている動物 (ラット) 実験モデル系を使って、下顎骨内に形成した骨窩洞へ移植し 1, 2, 4 週経過時の組織反応を病理組織学的に検討した。

結果及び考察

今回の実験において Fish collagen を用いた群において、継時的な細胞増殖能の向上が認められた。骨分化能もコントロール群と比較して alizarin red S 染色像において 14 日目から著名な差を認めた。骨分化マーカーの発現は、コントロール群と比較して、オステオカルシンの発現量の増加を認めた。埋入試験においては、コントロール群と比較して骨様組織の形成が促進されている結果が得られた。このことから、組織再生療法の際に Fish collagen を用いた足場材が細胞の育成、骨欠損部の治癒に対して有効であることが示唆された。今後は、至適培養条件等の検討ならびに牛由来のコラーゲンとの比較実験を行っていく予定である。

再生医療用足場材としての魚コラーゲンの安全性評価

○林 善彦、山本耕平、池田 毅、柳口嘉治郎、山田志津香

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野

Biological evaluation of fish collagen as scaffold for regenerative medicine

○Hayashi Yoshihiko, Yamamoto Kohei, Ikeda Takeshi, Yanagiguchi Kajiro, Yamada Shizuka,

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

はじめに

再生医療において不可欠な 3 要素、細胞、足場、栄養素のうち、われわれの教室では足場材に関して種々検討を加えてきた。まず、キトサンの足場材としての物性に関する特性は、キトサンスポンジを試作し報告を行った(第 134 回日本歯科保存学会学術大会)。しかし残念ながら、D-グルコサミン以外のキトサンは動物歯髄への応用で、初期に強度の急性炎症を惹起させる欠点を有している。そこで、人獣共通感染症の対象とならない魚類のコラーゲンについて物理・化学的性状について検討し、すでに報告した(第 135 回日本歯科保存学会学術大会)。今回、魚(セラピア)コラーゲンの安全性について検討を行ったので報告する。

材料と方法

1) 魚コラーゲンの調整

セラピアの皮膚からペプシン可溶化し 0.1% に調整されたタイプ I アテロ化コラーゲン(0.45 μ m フィルター濾過済、最終的には PBS⁻ で中性化)は、(株)ニッピ バイオマトリックス研究所から提供を受けた。

2) 魚コラーゲンゲル内における細胞増殖

臨床応用を前提に、魚コラーゲンベッド上のゲル内における細胞の生育状況は骨芽細胞(NOS-1)を使って検討した。

3) 安全性試験

医療機器の生物学的安全性試験法(ISO規格相当)に準じて、①細胞毒性試験 ②感作性試験 ③染色体異常試験 ④皮内刺激試験 ⑤急性全身性毒性試験 ⑥発熱性試験 ⑦溶血性試験を実施した。

4) 無菌性試験

臨床検査に準じた、①好気性菌否定試験 ②嫌気性菌否定試験 ③エンドトキシン定量 ④マイコプラズマ否定試験 ⑤ウイルス否定試験を実施した。

結果

PBS(-)に溶解 0.1% 魚コラーゲン(この条件で 1 か月程度の冷蔵保存が可能)ゲル内にて細胞の生育が 2 週間以上にわたって可能なことを確認できた。ラット背部皮内試験の結果、1 週間後、肉眼所見として完全に周囲皮膚と区別ができないほど異物・炎症反応は認められなかった。また、病理組織学的にも正常皮膚の組織像を呈していた。

細胞毒性試験はコロニー形成率が対象群とかわらず細胞毒性はないと判定した。また感作性試験においても、惹起終了後 48 時間までの投与部位における異常は認められなかった。以下、②感作性試験から⑦溶血性試験まで、すべて陰性結果が得られた。さらに、無菌性試験において細菌およびウイルスの存在は否定でき、エンドトキシン量も 1.0 pg/mL 以下で臨床的基準をクリアしていた。

まとめ

魚コラーゲンは歯髄における生体親和性および生分解性に優れた生体材料であることは、既に確認している。今回実施した 3 つの安全性試験ならびに無菌性試験においても、為害性のない生体材料であることが確認できたので、臨床応用へ向けた検討をさらに加速させたいと考えている。

本研究は、先導的創造化学技術開発補助金ならびに長寿医療研究開発費によって実施している。

象牙質・幹細胞複合体を用いた機能性骨再生材料の開発

1)朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

2)朝日大学歯学部口腔構造機能発育学講座口腔生化学分野

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

Development of functionalized bone regenerative material based on dentin-stem cell complex

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

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

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

【研究目的】

我々は、象牙質が骨に類似した硬組織であり抜去歯の有効活用として供給可能であることに着目し、根尖封鎖材として研究を行ってきた。そして実験動物の根尖部に移植した粉碎象牙質顆粒が硬組織誘導能を有していることを示してきた。(Yoshida et al., 日歯保存誌 1986) そこで我々は顆粒状に粉碎した象牙質を骨補填材として応用すべく、移植前にあらかじめ象牙質顆粒と細胞を共に培養し象牙質と細胞を凝集させた複合体を用いる方法を考案した。すなわち、象牙質・幹細胞複合体を作成して骨補填材として応用することを目的としている。そして顆粒サイズや細胞播種条件の最適化について本学会で報告してきた。また、象牙質あるいは人工骨補填材単独でマウス皮下に移植した結果、移植材内部にまで血管が進入し、特に象牙質を用いた場合血管の進入が明瞭に観察されたことも報告した。今回は象牙質顆粒の血管内皮細胞に対する作用とマウスの皮下での象牙質・幹細胞複合体の骨誘導能について検討した。

【材料および方法】

1. 抜去歯の採取：実験に用いた抜去歯は患者の同意のもと、朝日大学歯学部倫理委員会の承認（第23111号）を得て採取し、抜歯直後に -80°C 凍結乾燥下で保存した。
2. ヒト象牙質の粉碎および顆粒の粒径を分別：抜去歯からエナメル質、歯根膜、セメント質、歯髄を除去し、根尖から3mmで切断した。次に象牙質をボーンミル（YDM社）を用いて粉碎し、粒径 $106\sim 212\mu\text{m}$ 、 $300\sim 500\mu\text{m}$ の象牙質顆粒を作製したのち、オートクレーブを用いて滅菌した。
3. 既存の骨補填材の整粒：オスフェリオン（オリンパス社）、ネオボーン（MMT社）をボーンミルを用いて、粒径 $106\sim 212\mu\text{m}$ 、 $300\sim 500\mu\text{m}$ に整粒し、オートクレーブを用いて滅菌した。
4. 象牙質・幹細胞複合体の作製：3種の顆粒をコートした96ウェルのプレート上で（2.0mg/ウェル）、ヒト歯髄幹細胞（ALLCELLS社、以下hDPSC）を7日間培養（4万/cm²）し、顆粒・hDPSC複合体を作製した。
5. マウス背部皮下への複合体の埋植：4で作製した顆粒・hDPSC複合体をそれぞれヌードマウス（6週齢、雄性、体重：約25g）の左側背部皮下に埋植し、埋植3週間後に屠殺して埋植物を一塊として摘出した。試料は4%PFAに24時間浸漬固定して、実体顕微鏡（オリンパス社）観察を行った。
6. 血管内皮細胞への作用の検討：ボイデンチャンバーシステムを用いて象牙質顆粒、オスフェリオン、ネオボーン顆粒の、血管内皮細胞（HUVEC）の遊走に対する効果を検討した。

【結果】

象牙質・幹細胞複合体を埋植後摘出したものは象牙質単独で埋植した場合に比べ、周囲の皮下組織と一体となり血管の進入が良好であった。また、象牙質顆粒はHUVECの遊走を有意に促進した。

【結論および考察】

象牙質・幹細胞複合体は無細胞の象牙質単独での移植に比べ血管の進入が良好であった。また、象牙質顆粒では他の材料に比べHUVECの遊走が顕著に促進され、血管新生に有効であることが示唆され、優れた骨補填材としての可能性が示された。現在、埋植物の切片を作製し、組織学的に評価を行っている。そして、移植材の細胞源の選択肢を拡大するため、hDPSCで得られた条件をもとに骨髄由来幹細胞、脂肪組織由来幹細胞でも象牙質・幹細胞複合体の作成条件を検討中である。さらに、培養7日目の複合体の遺伝子発現変化についても解析を行う予定である。

骨髄幹細胞による硬組織形成に及ぼすアミノ酸の効果

大阪歯科大学 歯内治療学講座
○柿木 栄幸、好川 正孝、辻 則正、林 宏行

Effects of amino acids for hard tissue formation by bone marrow cells
Department of Endodontics, Osaka Dental University
○KAKIGI Hideyuki, YOSHIKAWA Masataka, TSUJI Norimasa, HAYASHI Hiroyuki

【研究目的】

硬組織の再生には硬組織形成の足場となる担体が必要である。しかも、多量の硬組織の形成には骨芽細胞あるいは象牙芽細胞に分化する多数の幹細胞が必要である。歯科領域で採取が可能とされているセルソースは少なく、そこから得られる幹細胞は少数である。我々の領域では硬組織再生に必要な多数の幹細胞の取得が困難であるために、少数の幹細胞を速やかに増殖・分化させて効率的に硬組織を誘導する因子が必要である。そこで、幹細胞分化活性の因子としてアミノ酸に着目した。そして、今回の研究では、リシン、ロイシン、トリプトファン の 3 種類のアミノ酸を選択し、骨髄幹細胞を用いてこれらのアミノ酸による硬組織形成促進の可能性を *in vitro* で評価した。

【材料および方法】

リシン、ロイシン、トリプトファンをそれぞれ超純水に溶解、ろ過滅菌して、10mg/ml 濃度の溶液を調製した。

6 週齢の雄性 Fischer344 ラットの大腿骨から骨髄細胞を採取して初代培養を 1 週間行った。1×10⁵cells/2ml/ウェルの細胞密度で 6 ウェルプレートに播種し、*in vitro* での骨髄幹細胞による硬組織形成の必須因子として知られているβ-グリセロフォスフェート(β-GP)、デキサメタゾン (Dex) およびアスコルビン酸 (Vc) を添加し、さらに各アミノ酸をそれぞれ 20μl 添加して、2 週間培養を行った。培養液は週に 3 回交換した。培養後、それぞれのアルカリフォスファターゼ(ALP)活性を生化学的に、オステオカルシン量を免疫化学的に測定した。

【結果と考察】

β-GP、Dex および Vc を添加した培養液にリシンを添加して培養した幹細胞での ALP 活性は 2.99±1.65μM/μgDNA、ロイシンを添加した場合には 2.17±0.37μM/μgDNA、トリプトファンの添加では 5.02±0.68μM/μgDNA、β-GP、Dex および Vc を添加した培養液でのコントロールとした幹細胞では 1.53±0.25μM/μgDNA であった。トリプトファンが有意に高い ALP 活性を示した。また、リシンを添加して培養された幹細胞では 35873.2±28634.45ng/ml、ロイシン添加では 28359.88±12857.63ng/ml、トリプトファン添加では 100162.5±3999.353ng/ml、そして、アミノ酸を添加しなかった幹細胞では 25370.35±3118.943ng/ml のオステオカルシンが定量された。トリプトファンを添加して培養した幹細胞でのオステオカルシン量が有意に高かった。

今回の実験では、幹細胞の培養に 10mg/ml 濃度でリシン、ロイシン、あるいは、トリプトファンを 20μl 添加した。蛋白質を構成する必須アミノ酸であるトリプトファンが、幹細胞分化因子として周知の Dex 添加より有意に幹細胞の硬組織形成細胞への分化を促す結果が得られ、トリプトファンがタンパク質合成に関わっていることから幹細胞による硬組織形成に寄与すると考えられる。また、このような結果は、硬組織再生に応用する価値があるとする先人の報告と一致している。トリプトファンの幹細胞から骨芽細胞への分化を促進する作用に関して、今回の実験で硬組織形成を有意に誘導したトリプトファンの濃度が至適濃度とは限定できず、より適正な添加量を検討する余地がある、また、その他の必須アミノ酸では顕著な硬組織形成の誘導は認められなかった。それらのアミノ酸の生体内での役割を考慮し、至適濃度の再検討が必要である。

【結論】

3 種類のアミノ酸の中でトリプトファンが骨髄幹細胞による硬組織形成に有効で、トリプトファンは少数の骨髄幹細胞の効率的な硬組織形成を誘導する因子であることが明らかになった。

アミノ酸コーティングがスポンジ状担体内での硬組織形成促進に及ぼす影響

大阪歯科大学 口腔治療学講座
○藪内 崇督、好川 正孝、林 宏行

Effects of amino acid coating on sponge scaffolds to promote hard tissue formation

Department of Endodontics, Osaka Dental University
○YABUUCHI Takayoshi, YOSHIKAWA Masataka, HAYASHI Hiroyuki

【研究目的】

硬組織の再生のために種々の担体が考案され、試作されてきた。我々は多孔質ハイドロキシアパタイト (HA) およびホルマリン処理ポリビニルアルコール (PVF) スポンジを硬組織形成のための担体として用いるための評価を行ってきた。スポンジ状の担体は容易に形状が賦与できる利点を有しているが、生体内埋入間に体外から圧迫されて担体に変形する可能性がある。PVF スポンジを硬組織形成のための担体として用いるには、より多くの幹細胞の付着を実現し、また、生体内にあるスポンジが外力を受けることによる変形はスポンジに播種した細胞の圧出を招き、担体内の細胞数を減少させる危惧があった。そこで、今回の研究では、幹細胞の増殖・分化誘導のための因子として蛋白質構成アミノ酸である必須アミノ酸に着目し、スポンジにコートすることによる細胞の付着性向上、増殖・分化の促進、および、硬組織形成の促進についての有効性を検討することを目的とした。なお、スポンジ担体は外力の影響を避けるために筒状 HA の中空部に挿入して実験に供した。

【材料および方法】

PVF スポンジを直径 5mm、高さ 10mm の円柱状に成形して、超純水に溶解した 10mg/ml 濃度のリシン溶液、ロイシン溶液、あるいは、トリプトファン溶液に浸漬した後、乾燥してアミノ酸コート PVF スポンジを調整した。次いで、これらのスポンジを内径 5mm、外径 8mm、高さ 10mm の円筒状 HA の中空部に挿入した。

6 週齢の雄性 Fischer344 ラットの大腿骨から骨髓細胞を採取し、初代培養を行った。 1.5×10^6 個の骨髓細胞を懸濁した 150 μ l の培養液を PVF スポンジに浸潤させることによって骨髓細胞を播種し、これらを 7 週齢の雄性 Fischer344 ラット皮下に 6 週間埋入した。その後、担体を皮下から摘出し、ALP を生化学的に、オステオカルシン (OC) を免疫化学的に定量した。また、それぞれの担体からパラフィン切片を作製して組織学的に検討した。

【結果と考察】

ALP 量はロイシン溶液でコートした担体で有意に高い値を示した。リシンコート担体の 25.53 ± 0.5 mM/scaffold、ロイシンコート担体の ALP 量は 55.67 ± 32.75 mM/scaffold、トリプトファンコート担体の ALP 量は 21.40 ± 9.17 mM/scaffold、コートをしていない担体では 18.06 ± 10.19 mM/scaffold であった。OC 量もロイシンコーティングが有意に高い値を示し、リシンコート担体で 170.13 ng/scaffold、ロイシンコート担体では OC 量は 584.48 ng/scaffold、トリプトファンコート担体は 229.32 ng/scaffold、また、コートをしなかった担体では 178.68 ng/scaffold であった。

ロイシンを豊富に含むプロテグリカンが石灰化組織の基質形成に関わることが知られており、PVF スポンジをロイシンで処理することが、未分化間葉細胞の分化と硬組織形成誘導に有利に作用したと考えられる。また、HA の中空部にスポンジを挿入してラット皮下に埋入したことで、外部からの圧迫による変形は生じずに、担体内でロイシンが硬組織形成に貢献したものと考えられる。

組織学的検討では、スポンジ内に多くの骨様組織の存在が認められた。トリプトファンでコートした PVF スポンジ内において、顕著に多量の骨様組織の存在が観察された。

【結論】

ロイシンコート担体が、その気孔内における硬組織の効果的な形成に最も有効であることが免疫化学的に示された。顕微鏡下の組織学的観察ではロイシンコートまたはトリプトファンコートした担体で多量の骨様硬組織の形成が認められた。

象牙質知覚過敏抑制材ナノシールに関する研究
- pH サイクル環境における歯質表層部微細構造の解析 -
新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野
○韓 臨麟, 興地隆史

Ultrastructural changes after pH-cycling of enamel and dentin treated surfaces
with a dentin desensitizing agent (Nanoseal)

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

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan
○HAN Linlin, OKIJI Takashi

緒言: ナノシールはフルオロアルミノシリケートガラス分散液とリン酸水溶液から成る象牙質知覚過敏抑制材であり、混和して塗布するとすみやかに歯質と反応して微粒子沈着層が生成し、象牙細管を封鎖するのみならず、歯質耐酸性向上やう蝕抑制効果も期待できると考えられている¹⁾。本研究では、pH サイクル環境におけるナノシール塗布歯面の微細構造を解析することにより、本材の歯質耐酸性への影響を検証した。

材料および方法: 被験材料としてナノシール (日本歯科薬品) を用いた。また、被験歯には冷蔵(4℃)保管の新鮮抜去牛中切歯を用いた。

1. 試片の調製: 精密低速切断機 (Isomet, Buehler) にて歯頸部で歯冠、歯根を切断した。#1200 耐水研磨紙で歯冠部エナメル質表層部を削除し、6×6 mm の試片を2枚作製した。また、歯根部の最表層を#1200 耐水研磨紙で削除し、頬舌側から6×6 mm の平坦面試片を各2枚作成した。

2. ナノシールの塗布: 上記の試片面にナノシールを10秒間2回塗布した。ナノシール非塗布面を対照とした (各 n=3)。

3. pH サイクル: 各試片は、脱灰液 (2.2 mM Ca, 2.2 mM P and 50 mM acetic acid, pH 4.5) に2時間、再石灰化液 (3.0 mM Ca, 1.8 mM P, 130 mM KCl, and 20 mM HEPES, pH 7.0) に22時間浸漬する作業を1サイクルとし、合計10サイクル行った。サイクルごとに新液を交換した。

4. SEM 観察: 浸漬後の試片を流水下で10分間水洗し表面観察に供した。試片の一部はエポキシ樹脂包埋を行い、精密低速切断機にて実験面中央部より縦断し、断面観察用試料とした。試料は減圧デシケーター内で乾燥、Au-Pd コーティング (約30 nm, イオンコーター, 島津) 後、走査型電子顕微鏡 (SEM2300, 日立) で微細構造観察を行った。

5. 表層部組成分析: 波長分散型 X 線マイクロアナライザー (EPMA; EPMA1601, 島津) により上記断面試片の組成を分析した。

結果: 1. エナメル質塗布面微細構造: ナノシール塗布面は微粒子で被覆されており、断面試片表層部では小柱構造が不明瞭であった。非塗布歯面ではエナメル小柱の露出や破壊が観察された。

2. 象牙質塗布面微細構造: 非塗布歯面では象牙細管の露出が明瞭に観察された。

一方、塗布歯面では90%以上の象牙細管が微粒子沈着により閉鎖されており、管間象牙質の露出も観察できなかった。

3. 塗布面の組成: ナノシール塗布エナメル試片、象牙質試片とも、表層部にCa, P, Si高濃度層が確認できた。

考察: 本研究ではエナメル質、象牙質とも、対照群ではpH サイクル環境下で脱灰像が観察されたが、ナノシール塗布群では層部における微粒子の沈着やCa, P, Si高濃度層の形成が観察された。また、ナノシール塗布群では象牙細管開口部の封鎖が高率に生じた。したがって、ナノシールが象牙質知覚過敏症を抑制するのみならず、歯質耐酸性の向上に貢献する可能性が推測できる。

ナノシール塗布歯面では、リン酸によって塗布歯面から微量ながらCa²⁺の遊離が生じ、これを取り込みながらリン酸カルシウム、フッ化カルシウム、ケイ酸化合物、未反応のガラスなどを含む不溶性の微粒子が形成され、歯面表層への沈着や象牙細管の封鎖が生じると考えられる¹⁾。本研究の結果から、この微粒子層がpH サイクル環境下で脱灰抑制に貢献するのみならず、再石灰化にも寄与することが示唆される。

結論: ナノシール塗布歯面では、表層部におけるCa, P, Si高濃度層の形成により脱灰抑制が生じるとともに、象牙細管開口部の封鎖が高率に観察された。

参考文献:

1) Han L, Okiji T. Effects of a novel fluoride-containing aluminocalciumsilicate-based tooth coating material (Nanoseal) on enamel and dentin. Am J Dent: in press.

ステアリン酸亜鉛配合歯磨剤による象牙質知覚過敏症に対する有効性

- 1) 鶴見大学歯学部歯内療法学講座、2) 花王株式会社 パーソナルヘルスケア研究所、
3) 鶴見大学歯学部保存修復学講座

○吉田拓正¹⁾、高橋典敬²⁾、押野一志²⁾、矢納義高²⁾、坂本富則³⁾、森戸亮行¹⁾、甲田 智¹⁾、細矢哲康¹⁾、桃井保子³⁾

Effectiveness for dentin hypersensitivity of zinc stearate containing toothpaste

1) Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine

2) Personal Health Care, KAO Corporation

3) Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○YOSHIDA Takumasa¹⁾, TAKAHASHI Noritaka²⁾, OSHINO Kazushi²⁾, YANO Yoshitaka²⁾,
SAKAMOTO Tominori³⁾, MORITO Akiyuki¹⁾, KODA Satoshi¹⁾, HOSOYA Noriyasu¹⁾, MOMOI Yasuko³⁾

【緒言】

象牙質知覚過敏症は、硬組織の欠損や歯肉退縮に起因した、象牙細管の開口が原因と考えられている。象牙質知覚過敏症の発症部位の象牙細管は、非発症部位に比較して多く、大きい傾向がある。治療法として、発症部位の象牙細管の閉鎖、石灰化、象牙細管内容物の変性ならびに知覚神経の鈍麻などがあり、ブラッシング指導、薬剤の塗布ならびに薬用成分を配合した歯磨剤の使用、レーザー治療などが施されている。

本研究では、白色の板状結晶で潤滑性や展延性があり、これまでに、*in vitro*での実験において象牙細管の封鎖作用が認められたステアリン酸亜鉛の象牙質知覚過敏症に対する有効性を検討するために、象牙質知覚過敏症を発症した患者にステアリン酸亜鉛配合歯磨剤を応用し、症状の変化を観察し有効性を評価した。

【材料と方法】

本研究は、鶴見大学倫理審査委員会の承認のもとに行った。被験対象は、鶴見大学歯学部附属病院に来院し、象牙質知覚過敏症と診断された患者25名（男性4名 女性21名、56.1±13.8才）である。なお、被験患者は6ヶ月以内に象牙質知覚過敏症に対する受診履歴がなく、Schiff Air Index 2ないし3に該当する場合である。被験患者を無作為に実験群（n=14）と対照群（n=11）に分類し、実験群は硝酸カリウム、フッ化ナトリウムならびにステアリン酸亜鉛配合の歯磨剤を、対照群は硝酸カリウムならびにフッ化ナトリウム配合の歯磨剤を用いて、普段行っているブラッシング方法ならびに時間で、毎日2回以上ブラッシングするように指示した。評価は、歯磨剤使用開始時、2週後ならびに4週後に18℃、0.3Mpaのエアーを発症部位に吹きかけ、疼痛をVisual Analogue Scale (VAS)にて計測し比較した。なお、歯磨剤の分配から疼痛の計測まで、全て二重盲検法にて行った。得られた結果は、群内における経時的変化に対してはWilcoxon signed-ranks testを、群間においてはMann-Whitney's U testを用いて統計学的検索を行った。

【結果】

実験群ならびに対照群の群内の比較において、VAS値は経時的に有意な低下を示した（ $p<0.01$ ）。両群間においては、歯磨剤の使用開始時ならびに2週後では差は認められなかったが、4週後で対照群に比べ実験群でVAS値の有意な低下が認められた（ $p<0.05$ ）。

【考察】

実験群ならびに対照群における経時的なVAS値の低下は、両群の被験材料に含まれる硝酸カリウムによる知覚神経の鈍麻やフッ化ナトリウムによる再石灰化、あるいは普段にもまして規則的に行われたブラッシングによる影響と考えられる。また、4週後の実験群におけるステアリン酸亜鉛配合の被験材料が示す良好な結果は、象牙細管の封鎖が継続的かつ緊密に行われたと考えられる。本研究における疼痛緩和はエアーの吹きつけで評価したが、象牙質表面に物理的な刺激が加わる擦過痛などでも有効性の評価を行う必要があると考えられる。

【結論】

ステアリン酸亜鉛配合歯磨剤を継続して使用することによって、象牙質知覚過敏症における疼痛緩和に有効であることが示唆された。

ステアリン酸亜鉛による象牙細管の経時的な封鎖状況の観察

1) 鶴見大学歯学部歯内療法学講座 2) 花王株式会社 パーソナルヘルスケア研究所
○甲田 智¹⁾、森戸亮行¹⁾、高橋典敬²⁾、押野一志²⁾、矢納義高²⁾、吉田拓正¹⁾、細矢哲康¹⁾

Sealing ability in dentinal tubules of zinc stearate

1) Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine
2) Personal Health Care, Kao Corporation
OKODA Satoshi¹⁾, MORITO Akiyuki¹⁾, TAKAHASHI Noritaka²⁾, OSHINO Kazushi²⁾
YANO Yoshitaka²⁾, YOSHIDA Takumasa¹⁾, HOSOYA Noriyasu¹⁾

【緒言】

象牙質知覚過敏症は、開口した象牙細管内の組織液が移動することで疼痛を引き起こすと考えられる。処置には歯髄の興奮抑制や象牙細管の封鎖が有効とされ、象牙細管の開口部を封鎖するために、種々の方法や材料が臨床に供給され利用されている。また、薬効が期待される成分が添加された歯磨剤も広く市販されている。著者らは第136回本学会にて、歯磨剤の添加成分としてのステアリン酸亜鉛が象牙質表面に被膜を形成し、開口した象牙細管を機械的に封鎖することを報告した。本研究では、口腔内環境に類似した状態でのステアリン酸亜鉛による象牙質表面の被膜形成、ならびに経時的な象牙細管開口部の封鎖状況に関して観察し検討を加えた。

【材料と方法】

被験象牙質片として、生理的食塩水中に保管したヒト抜去歯84本の歯冠部から、3mm×3mm×1mmの象牙質試片を作成した。被験材料として、ステアリン酸亜鉛ならびに既に歯磨剤に配合されている乳酸アルミニウム+リン酸水素二ナトリウムを用いた。歯冠部からエナメル質を削除後、0.5 mol/l EDTAで2分間処理し、切削面に生じたスマー層を除去した。生活歯における象牙細管内の歯髄組織圧を再現するために、リングル液を用いて歯髄腔側から象牙細管内へ15 cm H₂Oの圧力をかけた。象牙質試片を無作為に3群に分け、以下のような被験材料を適用した。1群：ステアリン酸亜鉛分散液、2群：アルミニウム・リン酸水溶液、3群：溶液基剤（ソルビット水溶液）。各群において象牙質試片の象牙細管開口部歯面に対し、一人の術者が歯ブラシ（ピュオーラ・花王）を用いて、被験試料の擦り込みをスクラビング法にて圧力250gで2分間、6時間置きに3回行った。各群において、1回目の擦り込み直後、6時間後の2回目の擦り込み前後、12時間後の3回目の擦り込み前後、24時間後、48時間後において、試料の象牙細管開口部周囲の象牙質表面ならびに象牙細管内への被験材料粒子の侵入状態について、走査型電子顕微鏡にて詳細に観察した。試験期間中は口腔内における種々の刺激を再現する目的で、圧力を加えた状態の試料を37℃生理食塩水中に浸漬し、振幅3cmで毎秒1往復の振盪を加えた。

【結果】

擦り込みによって、1群ではステアリン酸亜鉛粒子の被膜形成ならびに象牙細管内への侵入が認められた。2群では乳酸アルミニウム・リン酸粒子の象牙細管内への侵入が認められた。1群では、保管中に一部脱離があるが擦り込み回数を重ねることで積層する様子が確認された。2群では、繰り返しの擦り込みでも、1回目の擦り込み直後の状態に顕著な変化は見られなかった。3群では、特に変化は認められなかった。

【考察】

37℃水中での振動を加えた環境下で保管することで、口腔内環境に類似した状況を再現したと思われる。1群では、擦り込み後にステアリン酸亜鉛粒子の層が薄くなる傾向が見られたことから、振盪による刺激の影響で一部が脱落する可能性が考えられる。しかし、繰り返しの擦り込みで層の厚みが増加する状態も確認された。1群では2群に比べ、象牙細管開口部を覆うようにステアリン酸亜鉛粒子の層を作るため、象牙細管を確実に封鎖すると思われる。今後、さらに効果を確認するために、封鎖性試験などによる観察が必要と思われる。

【結論】

ステアリン酸亜鉛粒子ならびに乳酸アルミニウム・リン酸粒子は、歯ブラシによる擦り込みで象牙細管に侵入し、ステアリン酸亜鉛粒子は象牙質表面に被膜を形成した。ステアリン酸亜鉛粒子の被膜は、刺激によって一部脱離するものの、擦り込みを繰り返すことで被膜の厚さが増加した。

新型ニッケルチタンファイル Vortex Blue™の相変態挙動および曲げ特性について

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¹

昭和大学歯学部 歯科保存学講座 歯内治療学部門²

東京医科歯科大学生体材料工学研究所 素材研究部門金属材料分野³

○宮良香菜¹, 八幡祥生², 海老原新¹, 塙 隆夫³, 須田英明¹

Phase transformation behavior and bending property of Vortex Blue™

Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹

Division of Endodontology, Department of Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry²

Department of Metallic Biomaterials, Division of Biomedical Materials, Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University³

○MIYARA Kana¹, YAHATA Yoshio², EBIHARA Arata¹, HANAWA Takao³, SUDA Hideaki¹

【研究目的】

近年、ニッケルチタン(以下「NiTi」)ファイルは数多く開発されてきた。特に最近では、NiTi 合金特性に着目した研究が盛んである。Vortex Blue™(DENTSPLY Tulsa Dental, USA, 以下「VB」)は特別な熱処理加工をした、最近注目されている新規 NiTi ファイルである。そこで、本研究では VB の曲げ特性および相変態挙動について検討を行った。

【材料および方法】

実験群として、先端径 0.30 mm, 0.06 テーパーの VB を、対照群には Profile® Vortex® (DENTSPLY Tulsa Dental, 以下「PV」)を用い、以下の実験を行った。

1) 曲げ試験

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

2) 示差走査熱量分析(以下「DSC」)

NiTi 合金の相変態挙動を定量的に解析するため、DSC 装置(DSC-60, 島津製作所)を用いて試験を行った。DSC 曲線より、各相変態温度である M_s , M_f , A_s および A_f を算出した。

3) 統計学的解析

曲げ試験における変位量 0.5 および 2.0 mm での曲げ荷重と、DSC における M_s , M_f , A_s , A_f について、それぞれ有意水準を 5%とし、Student's *t* test を用いて解析を行った。

【結果】

1) 曲げ試験

変位量 0.5 mm での曲げ荷重は、VB が PV と比較して有意に大きかった ($p < 0.05$)。変位量 2.0 mm での曲げ荷重は、VB が PV と比較して有意に小さかった ($p < 0.05$)。

2) DSC

VB の M_s , A_s および A_f は、PV と比較して、有意に低い温度を示した ($p < 0.05$)。また、 M_f に関しては有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

【考察】

NiTi 合金の曲げ特性は相変態挙動に影響を受ける。本研究で用いた VB および PV の断面形態は同一であるため、 M_s , A_f が高いほど高い柔軟性を示すことは Clausius-Clapeyron の関係より明らかである。変位量 0.5 mm における曲げ荷重は、PV と比較して VB のほうが高い値を示した。これは PV の M_s および A_f が、VB と比較して有意に高い温度領域に存在するため、PV が高い柔軟性を示したと推察される。一方、変位量 2.0 mm における曲げ荷重は、PV と比較して VB のほうが低い値を示した。これは、PV は加工ひずみが残留しているが、VB は熱処理によりひずみが解放され相変態できる領域が多いため、PV よりも少ないたわみ量で応力誘起マルテンサイト変態が起こることによるためと考えられる。

【結論】

新規 NiTi ファイル VortexBlue™は、機械的特性、特に超弾性領域における曲げ特性に優れたファイルであることが示唆された。

髓腔開拓の形態が根尖部根管形成に与える影響

昭和大学歯学部 歯科保存学講座 歯内治療学部門¹, 歯科理工学部門²
吉岡デンタルオフィス³

○八幡 祥生¹, 古川 恵理奈¹, 吉岡 隆知³, 坂上 齊¹, 増田 宜子¹, 宮崎 隆²

Effects of form of access cavity preparations on apical transportation

Division of Endodontology¹, Division of Biomaterials and Engineering², Department of Conservative, Dentistry,
Showa University School of Dentistry

Yoshioka Dental Office³

○YAHATA Yoshio¹, FURUKAWA Erina¹, YOSHIOKA Takatomo³, SAKAUE Hitoshi¹, MASUDA Yoshiko¹, MIYAZAKI Takashi²

【諸言】

根管治療では、根管内から感染源を可及的に除去するため、逸脱の少ない根管形成を行うことが重要となる。根尖部において逸脱の少ない根管形成を行うためには、柔軟性の高い根管切削器具を使用する他に、器具の直達性を確保することが必要である。従来、前歯部における髓腔開拓の形態は、基底結節より歯冠側に舌面窩と相似形に形成することが推奨されてきた。しかしながら、この形態は歯根軸とは方向がずれることが多く、根尖部への器具の直達を阻害する可能性がある。そこで本研究では、器具の挿入方向が歯根軸に近くなるよう、より切縁近くに位置させた髓腔開拓の形態が、根尖部根管形成に与える影響を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】

・根管模型

試験には、抜去された上顎右側中切歯の3次元データを基に作製された、光造形根管模型（ディーメック）を使用した。

・根管形成

従来推奨されてきた髓腔開拓（以下 conventional）群と切縁方向に位置させた髓腔開拓（以下 novel）群に分け、髓腔開拓を行った。ゲーツグリッドドリル（MANI）の1号から4号にて根管上部形成を行った後、ステンレススチール製Kファイル（Kerr, USA）を使用し、作業長20mm、最終拡大号数40号となるように根尖部根管形成を行った。次いで55号Kファイルまで順次1mm刻みのステップバック形成を行った後、40号が作業長に到達することを確認し、根管形成を終了とした。なお、器具交換毎に、15号Kファイルによる穿通性の確認および、精製水による根管洗浄を行った。各群n=7とした。また、根管形成を行わない模型歯をコントロールとした。

・評価

根管形成を終了した模型は、作業長より0.5mm除した位置で、低速切断機（ISOMET, Buehler, USA）を使用し、歯根軸と垂直方向に切断した。また、コントロールを同位置で切断した。切断面は実体顕微鏡（SMZ800, ニコン）にて撮影した。また、根管形成後の各画像から、切削された領域の面積を求めた。コントロールと各模型の画像を重ね合わせ、根管形成による根管の変位量の計測を行った。切削面積および変位量について、Kolmogorov-Smirnov検定およびt検定を用い、有意水準5%として統計学的解析を行った。

【結果】

変位量において、novel群は 0.43 ± 0.10 mmであり、conventional群の 0.70 ± 0.09 mmよりも有意に小さな値を示した（ $p < 0.05$ ）。一方、切削面積においても、novel群がconventional群に比較し有意に小さい値を示した（ $p < 0.05$ ）。

【考察】

novel群ではconventional群に比較し、根尖部における根管の変位が少なく、それに伴い切削面積も小さかった。これは、Kファイルの動きを制限する切縁付近の歯質を除去した結果、直達性が向上したためと推察される。

【結論】

本実験より髓腔開拓形態を、より切縁方向に位置させることで、根尖部での変位が少なく、追従性の高い根管形成が可能となることが示唆された。

ステンレススチール製手用ファイルと Ni-Ti ロータリーファイルの 同日実習における拡大形成評価

¹⁾ 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座、²⁾ 日本歯科大学新潟病院 総合診療科
○新井恭子¹⁾、北島佳代子¹⁾、横須賀孝史²⁾、佐藤友則²⁾、北野芳枝¹⁾、朝比奈壮郎¹⁾、五十嵐 勝¹⁾

Evaluations of endodontic practice of root canal shaping using stainless steel hand files and Ni-Ti rotary files of on the same day

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

²⁾ Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

○ARAI Kyoko¹⁾, KITAJIMA Kayoko¹⁾, YOKOSUKA Takashi²⁾, SATOH Tomonori²⁾,
KITANO Yoshie¹⁾, ASAHINA Takeo¹⁾ and IGARASHI Masaru¹⁾

【緒言】平成 22 年の歯内療法教育勉強会の報告によると、歯学教育機関におけるニッケルチタン製ロータリーファイル (Ni-Ti) の臨床基礎実習への導入は 7 校のみと少ない。本学では、歯内療法学基礎実習に平成 20 年から Ni-Ti 実習を導入しており、ステンレススチール製手用ファイル (SS) を用いた根管拡大形成の模型実習を行った後、最終回に湾曲根管模型を用いて Ni-Ti による拡大形成実習を行っている。平成 24 年度は、SS での湾曲根管拡大形成実習直後、同日に Ni-Ti 実習を行い、そのアンケート結果を平成 25 年度日本歯科教育学会で報告した。今回われわれは、拡大形成後の各々の模型について、根管の穿通拡大結果を中心として検討したのでその概要を報告する。

【材料および方法】対象は本学第 4 学年の学生 69 名である。使用模型は 30 度の湾曲根管を有する樹脂製透明模型 (ENDO-TRAINING-BLOC A0177、DENTSPLY) で、まず SS にて拡大した。#10 SS K ファイル (GC、21mm) で根管穿通後、作業長を決定した。手用拡大では制限時間を 15 分とし、プレカーブを付与した SS でファイリング主体の拡大形成を #25 まで行い、終了後ただちに拡大形成に対するアンケート調査を行った。次に、Ni-Ti の ProTaper[®] (DENTSPLY、21mm) SX、S1、S2、F1 を用い、専用コントロールエンジンに装着し、同規格の樹脂製透明模型を拡大した。Ni-Ti では 4 本の使用時間を合計して総拡大時間とした。実習後、再度拡大形成に対するアンケート調査を行った。拡大形成後に模型を回収し、SS と Ni-Ti の根尖到達度と偶発事故の種類、発生位置を確認し、得られた結果を 2 群間で比較した。

【結果】SS では、時間内の拡大終了学生は 6 名 (8.7%) で、自己評価では good 1 名 (1.5%)、fair 37 名 (56.9%)、poor 30 名 (44.1%) であった。アンケートでは刃部の伸び 5 名 (7.4%)、器具の破折 1 名 (1.5%)、ステップ形成 27 名 (39.1%) であった。削片の詰め込みに関しては、無いと回答した学生は 0 名、少しまたは多くあると回答した学生は 19 名、わからないと回答した学生は 50 名だった。回収模型の評価結果では、湾曲が現れる 14~15mm の位置に詰め込みが多くみられ、偶発事故の発生は、削片の詰め込み 35 例、詰め込み後ステップ形成 11 例、ステップ形成 10 例、ステップ形成後詰め込み 5 例であった。Ni-Ti の総拡大時間は 77.9 秒 (最長 216 秒、最短 30 秒) で、自己評価では good 33 名 (49.3%)、fair 31 名 (46.3%)、poor 3 名 (4.5%) であった。Ni-Ti 群では刃部の伸び 2 名 (2.9%)、器具の破折 0 名 (0%)、ステップ形成 2 名 (2.9%) であった。削片の詰め込みは、無いと回答した学生は 13 名、少しまたは多くあると回答した学生は 47 名、わからないと回答した学生は 9 名であった。回収模型の評価結果では、削片の詰め込み 2 例、ステップ形成 1 例であった。また、アンケート調査から、湾曲根管の SS による拡大の困難さと Ni-Ti による拡大の容易さの回答が多くみられた。

【考察】30 度の湾曲を有する樹脂製透明模型の実習では、SS に比べて Ni-Ti の方が短時間で適切な拡大形成ができることが示された。アンケート調査からも、多くの学生が SS の困難さについて理解したと考えられる。また、削片の詰め込みに関するアンケート結果と回収模型の評価結果では違いがみられたことから、学生は手頭感覚や実際に起きたことを正しく理解することが難しく、実習の後のフィードバックが大切であることが考えられる。SS を用いた拡大形成直後に同日中に Ni-Ti 実習を行うことにより、Ni-Ti の有用性を理解し、将来の臨床導入を希望する学生が多くみられたことは、今後の Ni-Ti 普及に一役を果たすものと考えられた。

【結論】Ni-Ti による湾曲根管の拡大実習では、Ni-Ti 使用前に SS で同じ湾曲根管を拡大することにより、その違いが明確となり、Ni-Ti の特性をより深く理解でき、教育効果が向上したことが確認された。しかし、学生が拡大結果を正しく自己評価できていない可能性があり、フィードバックを行う必要性が示唆された。

歯髓腔を有する人工歯を用いた髓室開拓試験の評価

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 歯髓生物学分野
○竹田淳志、鈴木規元、川島伸之、須田英明

Evaluation on the Results of Access Cavity Preparation Test Using Artificial Teeth with the Tooth Pulp Cavity

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

○TAKEDA Atsushi, SUZUKI Noriyuki, KAWASHIMA Nobuyuki, and SUDA Hideaki

【緒言】

東京医科歯科大学歯学部歯学科では、6年次学生を対象として臨床実習終了時に臨床技能達成度試験を現在行っている。平成24年度試験での歯内療法の課題では、マネキンに装着した歯髓腔を有する人工歯を用い、髓室開拓の試験を行った。本研究の目的は臨床技能達成度試験成績に影響を及ぼす因子を検討することである。

【材料および方法】

平成24年度東京医科歯科大学歯学部歯学科6年次学生65名を対象として、平成24年10月27日に歯内療法課題に関する実習試験を行った。使用した歯髓腔を有する人工歯は、ニッシン社製上顎第一大臼歯（エポキシ樹脂製）であり、マネキンに装着した顎模型にセットした。課題は髓室開拓および根管口明示とし、試験時間を25分間とした。

試験終了後、経験年数17～27年の歯科医師3名が成績評価を行った。評価項目は、髓室開拓（窩洞外形、天蓋除去、軸面の形成、髓床底の切削の有無）および根管口部の形成とし、それぞれについて2～4段階の評価基準を設けて100点満点となる基準で評価した。

また、試験の成績について以下の各項目との相関性を調べた。

- (1) 4年次歯内療法学基礎実習試験成績
- (2) 6年次臨床実習歯内療法試験ケース成績
- (3) 6年次臨床実習で各学生が行った歯内療法症例数・根管数

【結果】

試験の採点結果は、最高95点、最低63点、平均80.6±8.26点であった。

今回の試験結果と、上記(1)4年次歯内療法学基礎実習試験成績との間には有意な相関が認められた。

(2)、(3)のデータとの間には相関性は認められなかった。

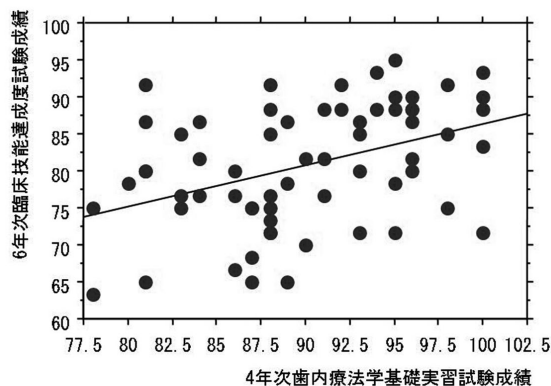


図. 4年次基礎実習試験成績との関係

【考察および結論】

受験者は平成24年1月から11月にかけて臨床実習を行った学生で、今回の試験は臨床技能の達成度を評価するために企画されたものである。試験結果は、平均点が約80点と全体的には良好な成績であった。ただし、点数の良否は、評価基準の設定や人工歯の構造の難易度に影響を受ける。臨床技能達成度試験の成績と4年次基礎実習試験成績との間に有意な相関が認められたことから、臨床技能の向上のためには基礎実習教育が重要であることが改めて確認された。

試作エンドモーターおよび試作 EDTA ジェルによる根管形成効果に関する研究
— レシプロモード根管形成時の切削応力抑制とスミヤ層除去効果 —

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学講座¹⁾
神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕抑制修復学講座²⁾
○鈴木二郎¹⁾, 岡田周策²⁾, 石井信之¹⁾

The Study of Canal Preparation Effects by Trial Reciprocating Motor and Trial EDTA Gel
— The Effect of Inhibition of File Stress and Smear layer Elimination used by Reciprocating Mode —
Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University¹⁾
Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University²⁾
○SUZUKI Jiro¹⁾, OKADA Shusaku²⁾, TANI-ISHII Nobuyuki¹⁾

【研究目的】

国内に於いてもレシプロモードによる Ni-Ti ファイルが発売され、より短時間で簡便な根管形成が可能となった。しかしその反面、根管形成に伴う根管クラック発生や根管内残渣が報告されている。一方、EDTA 製材は、根管形成時におけるファイル操作時の補助材および根管形成後のスミヤ層除去材として使用され、根管形成補助効果は根管壁象牙質の Ca イオンと結合して象牙質脱灰を誘導するが、同時にファイル最大トルク値を低下させ、ファイルに対する応力を抑制し、結果的に根管形成時のマイクロクラック発症抑制効果が期待される。本研究はレシプロモード根管形成時に、試作エンドモーターおよび各種 EDTA 製材（試作製材を含む）を用い、切削応力抑制効果を根管形成時の電流値変化により解析、根管壁スミヤ層除去効果についても検討することを目的とした。

【材料および方法】

実験には、Ni-Ti ファイルを電流測定機能付きエンドモーター（試作トライオート mini モリタ製作所）EDTA 製材として試作 EDTA ジェル（日本歯科薬品）、グライド（デンツプライ三金）、RC プレップ（白水貿易）対照として精製水を使用した。

実験 1：根管形成時の電流値測定

Ni-Ti ファイルは WaveOne P 25/08 レシプロモード 300rpm 0.8Ncm または 1.0Ncm ならびに ProTaper F2 ロータリーモード 250rpm 2.0Ncm（デンツプライ三金）を試作トライオート mini に装着、同一の術者によりプラスチック根管模型 S1-U1（ニッシン）根管形成時負荷に対する電流値を測定（LogStick 大阪マイクロコンピューター）。EDTA 製材による根管形成時の切削応力抑制への効果を解析した。なお対照には乾燥根管と精製水を用い、統計処理は Kruskal-Wallis の検定後、Mann-Whitney *U* 検定による多重比較を行った。

実験 2：根管壁スミヤ層除去効果

単根ヒト抜去歯を供試し #15 K-File（マニー）にて作業長決定後、シリコーンパテに植立、実験 1 と同条件にて根管形成、対照として市販の X-スマートプラス WaveOne P 25/08（デンツプライ三金）による根管形成を行い、歯根を垂直方向に分割、根尖部根管内壁を走査型電子顕微鏡（SS-550 島津製作所）によりスミヤ層除去効果の評価を行った。

【成績】

根管形成時の電流値測定：EDTA 製材の使用により Ni-Ti ファイル根管形成時の電流値の減少が認められた。根管壁スミヤ層除去効果：各 EDTA 製材ともに根管上部および中央部に比較し、根尖部においてスミヤ層の残存が認められた。

【考察および結論】

根管形成時に残存するスミヤ層は、感染歯質残存や緊密な根管充填を阻害するため除去する必要がある。本研究の結果より下記の結論を得た。

1. Ni-Ti ファイル根管形成時に EDTA 製材を併用すると根管形成時負荷に対応する電流値が低下し、切削応力抑制によるマイクロクラック発症予防の可能性が示された。
2. 試作 EDTA ジェルまたはグライドによる根管形成は、良好なスミヤ層除去効果を示した。

トルクリバース機構を備えた試作型自動根管形成装置の形成能
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
○時田大輔、宮良香菜、海老原新、須田英明

Shaping Ability of a New Automatic Root Canal Preparation Device with Torque-reverse Mechanism
Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and
Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○TOKITA Daisuke, MIYARA Kana, EBIHARA Arata, SUDA Hideaki

【研究目的】近年、ニッケルチタンロータリーファイルはその優れた根管追従性や効率性等から普及してきたが、回転操作中に突然破折するという問題がある。そのため、ファイル自体に留まらず、エンジンの動作をも視野に入れて改良が進められている。本研究では、トルクリバース機構を応用した試作型自動根管形成装置(モリタ製作所)を用い、透明湾曲根管模型で根管形成を行った際の形成能について評価した。

【材料および方法】実験群として、トルクリバース角度を 60°と 120°とした試作型自動根管形成装置、対照群には、トルク検知設定のない同一の装置を用いた。使用ファイルは ProTaper Rotary Universal (DENTSPLY Maillefer, Switzerland, 以下「PT」)とした。模擬根管として、透明湾曲根管模型(エンドトレーニングブロック, DENTSPLY Maillefer)を用い、各 Group とも 7 根管ずつ形成した。試作型自動根管形成装置は、一定のトルクが印加されると非切削回転方向に一定角度逆回転する点、さらに逆回転の角度を自由に設定できる点で従来型と異なるものである。

1) 根管形成 Group1: 非切削回転方向角度を 60°に設定した試作型自動根管形成装置を用い、回転速度 300 rpm, トルク検知 1.0 Ncm で根管形成を行った。

Group2: 非切削回転方向角度を 120°に設定し、Group1 と同様に行った。

Group3: トルク検知のない設定にし、Group1, 2 と同様に行った。

すべての模擬根管は以下の通りに形成した。まず、ステンレススチール製#10K ファイル (Zipperer, Germany) にて作業長 (17 mm) を確認し、術者が外部から根管形態を視認できない状態で RC-Prep™ (Premier, Canada) を根管内に満たし、PT の S1, S2, F1, F2 の順で業者指示通りに作業長まで形成し、根管形成に費やした時間 (WT) を計測した。PT は、変形や破断が起こるまで同一のものを用いた。また、Ni-Ti ファイルを交換する毎に、水道水による根管洗浄を行い、ステンレススチール製#10K ファイルで根管の穿通性を確認した。なお、器具交換や洗浄、穿通性の確認に要した時間は WT から除外した。

2) 根管形成の評価 根管形成前後の透明湾曲根管模型をデジタルマイクロスコープ (VH-8000, キーエンス) にて撮影した。各透明湾曲根管模型の根管形成前後の画像を重ね、模擬根管の根尖部、根尖より 3 および 6 mm における内湾部および外湾部の切削量を計測した。

3) 統計学的解析 根管形成時間および切削量について、それぞれ有意水準を 5%とし、一元配置分散分析および Games-Howell 法を用いて解析を行った。

【結果】切削量については、根尖部より 3 mm 内湾部にて Group1 は Group3 に比べて有意に少なく、外湾部では Group2 は Group3 に比べて有意に多かった。根尖部より 6 mm では、すべての Group で差が見られなかった。形成時間については、Group3 が Group1, 2 に比べて有意に短かった。破断・変形については、Group1 で 2 本の変形、Group3 で 4 本の変形を認めた。

【考察】PT を用いたとき、一般に根管内湾部の切削量は外湾部よりも多い。実験結果でみられた、根尖より 3 mm 内湾部および外湾部における切削量の有意差は、根管形成中のトルク検知によって内湾部の切削量を少なくできたためと考えられた。Group1, 2 で作業時間が延長したのは、トルクリバース機構による非切削回転が切削効率を下げるためと考えられた。なおファイルの変形は、ねじれ疲労によるものと思われた。

【結論】適正かつ安全な根管形成を行う上で、トルクリバース機構を備えた試作型自動根管形成装置の有用性が示唆された。

オレイン酸、ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした 新規根管充填用シーラーの根尖封鎖能

¹日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座, ²共同利用研究センター RI 研究室
○前田宗宏¹, 橋本修一², 石塚克巳¹, 勝海一郎¹

Apical Sealing Ability of New Root Canal Sealer Contained
Mainly with Oleic Acid, Eugenol and Zinc Oxide

¹Department of Endodontics, ²Section of Radioisotope, Research Center for
Odontology, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
○Maeda M¹, Hashimoto S², Ishitsuka K¹ and Katsuumi I¹

【はじめに】

第 137 回の本学会において、従来の酸化亜鉛ユージノール系シーラーに比べて含有ユージノール量を低減させた新規根管充填用シーラーでは硬化時の収縮傾向が飛躍的に改善され、膨張性を示すことなどについて報告した。今回は、シーラーの根尖封鎖能について検討を行った。

【材料】

1. 新規根管充填用シーラーの組成

粉 剤 (1g 中) : 酸化亜鉛 (堺化学工業) 0.4g、ロジン (荒川化学工業) 0.4g、その他 0.2g

液 剤 (1ml 中) : オレイン酸 (日油) 0.75ml、ユージノール (日本粉末薬品) 0.15ml、その他 0.1ml

粉剤 1g に対して液剤 0.5ml の割合で 30 秒間練和し、実験に用いた (粉液比 2.0)。なお、対照シーラーは液剤にユージノールを含む酸化亜鉛ユージノール系シーラー (チャンネルス、昭和薬品化工) を粉液比 3.33 で練和し、用いた。

2. 根管の拡大形成法および根管充填

実験にはヒト単根抜去歯 3 本を使用した。根尖から歯冠寄りに 14mm の位置で切断した歯根部を試料とした。

作業長を 13mm に設定し、K ファイル (マニー) をリーミング操作で 15 番~40 番までの拡大形成を行った。拡大形成中は、次亜塩素酸ナトリウム剤 (チャンネルクリーナー、ビーブランドメディコデンタル) と 3%過酸化水素水との交互洗浄をファイル交換毎に 2 回繰り返した。40 番の K ファイルによる拡大形成終了後に、10ml の生理食塩液で根管内を洗浄し、根尖孔を 15 番のファイルが貫通することを確認した。根管充填はシングルポイント法で行った。すなわち、13mm の作業長まで各シーラーを過不足なく塗布した根管内に 40 番のマスターポイント (ピアス) を挿入した。根管充填後の試料、およびシーラーを塗布せずにマスターポイントのみを 13mm の位置まで挿入した試料 (コントロール) を 37°C、100%湿度の恒温恒湿器内で 24 時間静置した。

3. 封鎖性実験モデルの作製

10×10×4 (cm) のアクリル製水槽の中央部に 10×4 (cm) のアクリル板を設置し、水槽を二分した。アクリル板中央を直径約 6mm に穿孔し、抜去歯中央部とアクリル板が密着するようにシリコン系接着剤で接着した。その後、アクリル板と水槽とを接着剤で接着し、室温で 24 時間静置し接着剤を乾燥させた。

根尖側の水槽に ¹⁴C-leucine (317Bq/0.1ml; 11.3GBq/mmol ; American Radiolabeled Chemicals) を含む 220ml の精製水を注入した。歯冠側の水槽には 189ml の精製水を注入した。根尖側から歯冠側への溶液の移動を調べるため、経時的に歯冠側の水槽から溶液を 0.1ml 採取し、この操作を 2 回繰り返した。その後、歯冠側の水槽には精製水を 0.2ml 補充し、水位が変化しないようにした。測定は 70 日間行った。採取した歯冠側水槽の溶液は液体シンチレーションカウンターで放射エネルギーを測定した。

【結果および考察】

1. マスターポイントのみの根管充填 (コントロール) では、30~200 時間まで放射エネルギーの増加が認められ、その後は平衡に達した。
2. これに対して、新規根管充填用シーラーおよび酸化亜鉛ユージノール系シーラーを用いてシングルポイント法で根管充填を行った場合には、いずれのシーラーにおいても根尖から歯冠側方向への ¹⁴C-leucine の移動は観察されなかった。

以上の結果から、新規根管充填用シーラーは、2 か月以上にわたって良好な根尖封鎖能を示すことが明らかとなった。

各種シーラーが垂直加圧根管充填時の充填材到達度と根尖封鎖性に及ぼす影響

¹⁾奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野, ²⁾奥羽大学歯学部口腔衛生学講座
○佐藤穂子¹⁾, 佐々木重夫¹⁾, 山崎信夫¹⁾, 山田眞義¹⁾, 車田文雄²⁾, 齋藤高弘²⁾, 木村裕一¹⁾

Influence of various sealers on the obturation degree and apical sealing ability by vertical condensation method

¹⁾Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

²⁾Department of Preventive Dentistry, Ohu University School of Dentistry

○SATO Yasuko¹⁾, SASAKI Shigeo¹⁾, YAMAZAKI Nobuo¹⁾, YAMADA Masayoshi¹⁾, KURUMADA Fumio²⁾,
SAITO Takahiro²⁾, KIMURA Yuichi¹⁾

【研究目的】根管充填は根管治療の最終処置であり, 緊密に根管充填されたか否かは予後を左右する重要な要因である。しかし, 根管には主根管から分岐する根管側枝や根尖分岐などが存在し, 緊密に根管充填を行うには軟化したガッタパーチャ材を根尖方向に十分に圧接する必要がある。根尖部の複雑な形態を緊密に封鎖するために各種の根管充填用器材や装置が開発されているが, 緊密な封鎖を行うためには熟練を要する方法が多い。その中でも比較的簡便に行えるのが軟化した材料を挿入するサーマフィル[®]を使用した垂直加圧根管充填法である。この材料は軸状部をガッタパーチャ材で包含してあるため死腔が生じにくく, シーラーを併用することによりさらに緊密な根管充填が可能であると考えられている。本研究では側枝が付随した透明根管模型を用い, サーマフィル[®]による根管充填時に各種シーラーを併用して側枝への封鎖性を比較検討することを目的とした。

【材料および方法】試料として根管口から 10.7 mm(側枝 1)と 5.3 mm(側枝 2)に側枝を有している 40 本の J タイププラスチック規格根管模型(サーマフィル[®]トレーニングブロック:デンツプライ三金)を使用した。すべての試料において手用ファイル #25 (ベリファイヤ:デンツプライ三金)で穿通を確認した。根管充填材はサーマフィル[®] #25 (デンツプライ三金)を, 併用するシーラーは 3 種類 [メタシール Soft(サンメディカル), MGO シーラー(ネオ製薬), キャナルス(昭和薬品化工)] を用いた。実験群はグループ 1:シーラーなし(コントロール群), グループ 2:メタシール Soft, グループ 3:MGO シーラー, グループ 4:キャナルスとした(n=10)。根管充填はそれぞれメーカーの指示に従い練和したシーラーをペーパーポイントを用いて根管壁に薄く塗布したのち, 専用加熱装置で軟化したサーマフィル[®]を根管内に挿入した。根管充填後, 軸部を根管口相当部にて切断してマニキュアでコーティングした。試料は 37°C で 0.1% ローダミン B 液(武藤化学)に 24 時間浸漬後, ダイヤモンドディスク (ISOMET[™]:Buehler)を用いて側枝に平行に切断し, 根尖孔および側枝への根管充填材の到達距離および色素浸入距離を測定した。測定には実体顕微鏡 SMZ-2T(Nikon)およびデジタルカメラ Nikon DS-Fi1(Nikon)を使用し, 得られた画像データは画像処理ソフト(Photoshop CS5.1, Adobe)にて根尖孔においては根管充填材から根尖孔までの距離および根尖孔からの色素浸入距離を, 側枝では根管壁から側枝内へ最も到達した最先端部までの距離および根管充填材が到達した最先端部から色素が浸入した部分までの距離を計測した。結果は平均±標準偏差として表し, グループ間の根尖孔における根管充填材の到達距離および色素浸入距離と各グループ内 2 か所の側枝間および各側枝におけるグループ間での根管充填の材到達距離および色素浸入距離を比較した。これらの結果は Kruskal Wallis および Mann-Whitney U-Test を用い, 危険率 5% で統計学的分析を行った。

【成績および考察】根尖ではすべてのグループで根尖孔まで根管充填材が到達しており, 色素浸入も認められなかった。各グループ内における側枝間の根管充填材の到達距離はすべてのグループで側枝 2 の到達距離が有意に長かった。また, 色素浸入距離はグループ 4 のみ側枝 2 の浸入距離が長く, 有意差が認められた。各側枝におけるコントロール群と各グループ間の色素浸入は側枝 1 ではグループ 2 との間に有意差が認められた。側枝 2 ではすべてのグループにおいて有意差が認められなかった。根管口により近い側枝ではシーラーの存在は根管充填材の到達度や封鎖性に大きな影響を及ぼさないが, 根尖付近の側枝においてシーラーの有無は到達度および封鎖性により影響を与えることが考えられた。

【結 論】サーマフィル[®]による垂直加圧根管充填はシーラーの有無が根管充填材の到達度およびその封鎖性に影響を及ぼすこと, また流動性が高いレジン系シーラーがその効果に影響を与えることが示唆された。

各種根管充填用シーラー抽出液による培養細胞の初期発育抑制

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野
○柳口嘉治郎, 山本裕也, 林 善彦

Initial cytotoxic evaluation of several root canal sealers

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
○Yanaguchi Kajiro, Yamamoto Yuya, Hayashi Yoshihiko

【研究目的】

現在、根管充填用シーラーとして酸化亜鉛-ユージノール系やアクリルレジン系、エポキシレジン系等の様々なシーラーがガッタパーチャポイントとの併用により臨床応用されているが、不十分な根管封鎖性による二次的な細菌感染によって再根管治療に至ることもある。近年、より封鎖性を高めることを目的として接着性シーラーが開発され、4-META/MMA-TBB レジンであるスーパーボンド根充シーラーや4-META 含有のセルフエッチングタイプのMetaSEALに加え、再根管治療時の除去性を向上させた軟質接着性シーラーであるメタシールSoft等が市販されている。

これまでに、接着性シーラーの組織為害性に関して細胞毒性試験を行い報告した(第138回日本歯科保存学会学術大会)。更にその他レジン系シーラーや従来から臨床応用されている酸化亜鉛ユージノール系シーラーとの比較を行うため、今回は培養初期の細胞発育抑制に関して検討を加えたので報告する。

【材料及び方法】

細胞毒性試験はMTT assay法にて行った。メタシールSoft(サンメディカル株式会社)、スーパーボンド根充シーラー(サンメディカル株式会社)、MetaSEAL(Parkell, Inc.)、リアルシールSEシーラー(ペントロンジャパン株式会社)、キャナルシーラー(日本歯科薬品株式会社)のそれぞれシーラーを10×10×1mmの孔の開いたテフロンモールドに充填し、ガラス板で挟み込んで37°Cで24時間重合させて硬化体を作製した。各硬化体25枚を α -modified minimal essential medium(α -MEM, ライフテクノロジーズ・ジャパン株式会社)、5%(wt%) fetal bovine serum(FBS, Hyclone Laboratories, Inc.)、0.05%(wt%)カナマイシン(京都和光純薬株式会社)からなる培養液10mlに投入し、37°Cで24時間抽出して試験培地を調製した。次にチャイニーズハムスター線維芽細胞株V79を96ウェルマイクロプレートに1.0×10³ cells播種して37°C、5%CO₂環境下で24時間培養した後、各試験培地及びコントロールとして未浸漬の培地それぞれに交換して更に24時間培養した。培養後にテトラゾリウム塩WST溶液(Premix WST-1, タカラバイオ株式会社)を10 μ L添加して37°C、5%CO₂環境下で2時間培養後にマイクロプレートリーダー(バイオ・ラッドラボラトリーズ株式会社)にて蛍光測定(Ex/Em: 450/630nm)を行った(n=3)。コントロールの測定値に対する百分率を製品ごとに算出し、一元配置分散分析ののち、有意差はTukey検定を用いて行った(信頼度95%)。

【成績及び考察】

コントロールを基準とした測定値に対する百分率は、スーパーボンド根充シーラー、メタシールSoft、MetaSEAL、リアルシールSEシーラー、キャナルシーラーでそれぞれ79.2±6.6%、9.1±0.1%、10.9±0.1%、10.4±0.3%、10.2±0.1%となった。統計処理の結果、スーパーボンド根充シーラーの細胞毒性が有意に低い結果となり、その他シーラーの間には有意差が認められなかった。スーパーボンド根充シーラーはTBB系触媒により重合硬化するシーラーであるが、酸素や水分による重合阻害を受けないため良好な硬化性を有している。したがって構成成分のほか、未重合成分の溶出が少ないことで細胞毒性が低くなったものと考えている。

【結論】

各社根管充填用シーラーの細胞毒性試験をMTT法により評価した結果、その細胞毒性はスーパーボンド根充シーラーが最も低く、その他シーラーに関しては同等程度の細胞毒性であった。今後、経時的な毒性変化などを検討する予定である。

(文献) 柳口嘉治郎, 首藤 実, 川崎 綾, 杉本浩司, 池田 毅, 山田志津香, 根管充填用レジンシーラーの生体親和性, 日本歯内療法学会雑誌, 32(3), 212-216, 2011

レジン系シーラーの組成についての評価

昭和大学歯学部 歯科保存学講座¹ 歯内治療学部門² 歯科理工学部門
○坂上 斉¹, 八幡祥生¹, 増田宜子¹, 藤島昭宏², 宮崎 隆²

Evaluation of composition of resin-based sealers

¹Division of Endodontology,

²Division of Biomaterials and Engineering,

Department of Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry

○SAKAUE Hitoshi¹, YAHATA Yoshio¹, MASUDA Yoshiko¹, FUJISHIMA Akihiro², MIYAZAKI Takashi²

【研究目的】

根管治療の目的は、根管の機械的な形成、化学的な洗浄、および根管の緊密な充填である。根管の緊密な充填は根管治療の予後に影響を与え、近年レジン系材料を用いた根管充填用シーラーが臨床で用いられている。しかし、生体内におけるレジン系シーラーの機械的な挙動は確認されておらず、長期的な予後は不確定である。本研究では、レジン系シーラーの長期予後を推測するために、種々の材料の硬化機構、硬化後の組成を確認し、生体内における機械的な安定性を解明することを目的としている。

【材料および方法】

本研究では、デュアルキュア型レジン系シーラーとして MetaSEAL (以下 MS, Parkell, USA), MetaSEAL soft (以下 MSsoft, SUN MEDICAL, Japan), Real Seal SE (以下 RealS, SybronEndo, USA), および化学重合型レジン系シーラーとして AH plus (以下 AHP, DENTSPLY, Germany) を用いた。各材料を、内径 10mm, 深さ 1mm のアクリルチューブに填入し、MS, MSsoft, RealS は填入面より 40 秒間光照射 (BlueLEX, Yoshida, Japan) を行った後、37°C にて 24 時間保管した。AHP は光照射せず 37°C にて 24 時間保管した。各材料の硬化を確認した後、1500 番耐水研磨紙で研磨した後、5.0 μm および 0.3 μm のアルミナにて順次研磨した。超音波洗浄後、カーボン蒸着を行い、走査型電子顕微鏡 (以下 SEM, Miniscope TM3000, Hitachi, Japan) にて観察を行い、表面構造を確認した。同試料をエックス線分析装置 (Swift ED3000, Hitachi, Japan) にてエックス線分析 (以下 EDX) をを行い、含有元素を確認した後、元素マッピングを行い各元素の局在を確認した。

【結果】

EDX より各試料の含有元素を表に示す (炭素, 酸素を除く)。

MS	Na, Si, Zr
MSsoft	Pt, Bi
RealS	Al, Si, P, Cl, Ca, Zr, Ba, Pt, Bi
AHP	Ca, Zr, W

また元素マッピング画像より、MS は酸化ジルコニウム、MSsoft は酸化ビスマス、RealS は酸化ビスマス、ケイ酸バリウム、AHP はタングステン酸カルシウム、酸化ジルコニウムの構造を確認した。

【考察】

SEM 画像や元素マッピング画像より MS および MSsoft は、RealS や AHP と比較し、大きなフィラーを持たず小さなフィラーで構成されていることが確認できた。RealS と AHP は、様々な大きさを持った 2 種以上のフィラーで構成されていることが確認できた。フィラーの大きさ、形状、性質は、材料が崩壊した場合、生体との反応性に関与する可能性がある。

以前の研究において、各材料はフーリエ変換赤外分光光度計分析により、MS, MSsoft, および RealS は炭素の二重結合による重合反応が示唆され、AHP は二重結合を有しておらず、エポキシ分子による重合反応が示唆されている。各材料の重合機序および含有しているフィラーは、生体内における長期的な安定性や崩壊後の生体との反応性についての考察の一助になると考えられる。

水酸化カルシウム貼薬が根管封鎖性に及ぼす影響の解析

¹九州大学病院歯内治療科、²九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野
○野村育子¹、後藤康治²、前田英史¹、赤峰昭文^{1,2}

Calcium hydroxide intracanal medication influences the gutta-percha-filled area

¹Department of Endodontology, Kyushu University Hospital

²Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University

○NOMURA Ikuko¹, GOTO Yasuharu², MAEDA Hidefumi¹, AKAMINE Akifumi^{1,2}

【研究目的】水酸化カルシウム製剤は根管貼薬剤として多く使用されているが、根管から完全に除去することは困難で、根管内に残存した水酸化カルシウム製剤は根管封鎖性に影響を及ぼすと考えられている。そこで本研究ではシングルポイント法（以下 SP 法）、根管内で加熱するコンティニュアス・ウエーブ法（以下 CW 法）、根管外で加熱するサーマフィル法（以下 TF 法）の 3 つの根管充填法に、キャナルス（以下 CS）とキャナルス N（以下 CN）の 2 つのシーラーを組み合わせる根管内に残存する水酸化カルシウム製剤が根管充填に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】水酸化カルシウム製剤はカルシペックス II を使用した。透明レジンブロック製のストレート根管模型を、回転式器具であるプロテーパーを用いて F3 まで拡大した。模型はカルシペックス II を填入する根管とカルシペックス II を填入しない根管（コントロール）との 2 つのグループに分け、各グループの根管を SP+CS、SP+CN、CW+CS、CW+CN、TF+CS、TF+CN の 6 つの方法で充填した。SP 法では、ポイント（#30、06 テーパー）の全周にシーラーを塗布し根管内で数回、上下させながら充填した。CW 法では、ポイントで根管内にシーラーを塗布し、挿入したポイントをスーパーエンドアルファ 2 でダウンバック後、スーパーエンドベータでバックフィルを行った。TF 法では、根管上部の 3 分の 1 にシーラーを塗布し、加熱した TF（#30）を充填した。根管充填後、すべての標本を作業長から 1mm と 3mm の位置にて水平に切断し、ガッタパーチャが占める面積の割合（the percentage of gutta-percha-filled area、以下 PGP）を測定した。

【成績】作業長から 1mm では、SP+CS および SP+CN において PGP はカルシペックス II 填入根管のほうがコントロールよりも小さかった。また、CW+CS、CW+CN、TF+CS、TF+CN は SP+CS、SP+CN より PGP が大きかった。一方、作業長から 3mm では、カルシペックス II 填入根管とコントロールの PGP に差はみられなかった。

【考察】カルシペックス II 填入根管において、SP+CS および SP+CN で PGP の減少がみられたのは、SP 法においてシーラーが根管壁に塗布される時、根管壁のカルシペックス II との接触でシーラーの性質が変化し PGP に影響を与えたためと考えられた。一方、CW+CS、CW+CN で PGP が変化しなかったのは、シーラーの性質の変化が PGP に及ぼす影響をダウンバック操作が減少させたためと考えられた。また、TF+CS、TF+CN で PGP が変化しなかったのは、加熱により軟化したガッタパーチャが根尖部へと垂直に流動するのに従って、シーラーが薄い膜となって根尖方向へ広がるためカルシペックス II の影響を受けにくかったためと考えられた。

【結果】SP 法に CS あるいは CN を用いたとき PGP はカルシペックス II 填入の影響を受けたが、CW 法に CS あるいは CN を用いたとき、および TF 法に CS あるいは CN を用いたとき PGP はカルシペックス II 填入の影響を受けにくかった。従って、カルシペックス II を根管貼薬剤として用いた根管に根管充填を行う際、CW 法あるいは TF 法を用いると根管封鎖性が高まる可能性が示唆された。

クエン酸応用が各種水酸化カルシウム製剤の除去と根管象牙質の接着性に及ぼす影響

北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学

○木村 慎吾, 菅谷 勉, 鷲巣 太郎, 川浪 雅光

Effect of citric acid application on removing three types of calcium hydroxide and adhesiveness of root canal dentin

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

○Shingo Kimura, Tsutomu Sugaya, Taro Washizu, Masamitsu Kawanami

【諸言】

水酸化カルシウムは良好な殺菌作用や生体親和性により、根管貼薬に広く用いられているが、水酸化カルシウムが根管内に残存すると、特に接着性レジンシーラーを用いた根管充填では封鎖性が低下することが大きな問題となっている。これまでの研究で、10%クエン酸/3%塩化第二鉄溶液を用いた根管内水酸化カルシウムの除去が、根管封鎖性の向上に効果的なことを報告している。本研究の目的は、10%クエン酸/3%塩化第二鉄水溶液による各種水酸化カルシウム製剤の除去及びスーパーボンドによる根管象牙質への接着に及ぼす影響を明らかにすることである。

【材料と方法】

ヒト抜去歯の歯冠を切除して根管を#140まで拡大し、歯軸方向に2分割、間隙を約300 μ mとして歯根を復位、固定、根管内に各種水酸化カルシウム製剤を貼薬した。水酸化カルシウム製剤はビタペックス、カルシペックスブレンII、および水酸化カルシウム試薬と精製水を1:1で練和したものを用いた。1週間後、#50Uファイルを用いて、注水化で60秒間の超音波洗浄を行い、次に10%クエン酸/3%塩化第二鉄水溶液(表面処理材グリーン、以下10-3)を根管に満たして60秒間、さらに10%次亜塩素酸ナトリウム水溶液(ネオクリーナー)で30秒間の超音波洗浄を行った。

洗浄後に歯根を再分割し、根管壁と破折間隙部の水酸化カルシウム製剤の残存率を計測するとともにSEM観察を行った。残存率の計測は、根尖から1mm単位で8か所を光学顕微鏡下で計測した。さらに根管貼薬しないコントロール群を加え、各群とも芳香族スルフィン酸塩(アクセル)処理10秒、10-3処理10秒を行って、スーパーボンド(混和ラジオペク)をモノマー液4滴、キャタリスト1滴、ポリマー粉末1杯を混和して間隙部に接着した。24時間水中保管後、微小引張試験及び0.5%塩基性フクシンを用いた色素侵入試験を行った。

【結果と考察】

根管壁での残存率は、ビタペックス群がカルシペックス群、水酸化カルシウム群に比較して有意に高かったが、カルシペックス群と水酸化カルシウム群の間には有意差が見られなかった。間隙部での残存率は、水酸化カルシウム群はビタペックス群およびカルシペックス群に比較して有意に低い残存率であった。

微小引張試験では、ビタペックス群は試料作製過程ですべて破断して計測不可能であった。カルシペックス群は8.1 \pm 2.7MPa、水酸化カルシウム群が12.2 \pm 4.2MPa、コントロール群が13.7 \pm 4.9MPaで、コントロール群とカルシペックス群、カルシペックス群と水酸化カルシウム群の間に有意差が認められたが、水酸化カルシウム群とコントロール群の間には有意差がなかった。色素侵入距離は、カルシペックス群が928.8 \pm 562.6 μ m、水酸化カルシウム群が361.8 \pm 240.0 μ m、コントロール群が254.3 \pm 134.5 μ mで、カルシペックス群は水酸化カルシウム群とコントロール群に比較して有意に大きかったが、水酸化カルシウム群はコントロール群と有意差がなかった。

以上の結果から、とくに超音波ファイルが接触しない部位では水酸化カルシウム試薬を精製水で練和したものが最も除去しやすく、接着が可能なレベルまで取り除くことが可能と考えられた。

【結論】

水酸化カルシウム製剤はビタペックス、カルシペックスブレンII、および水酸化カルシウム試薬と精製水を1:1で練和したものを根管貼薬し、10%クエン酸/3%塩化第二鉄水溶液と10%次亜塩素酸ナトリウムで超音波洗浄した結果、最も除去しやすかったのは水酸化カルシウム試薬と精製水を1:1で練和したものであり、接着性に影響を認めないレベルまで除去することが可能であった。

マイクロフォーカスX線CT装置による下顎切歯根管形態の評価 (第4報)

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座
○西田太郎、勝海一郎

Evaluation of Root Canal Morphology in Mandibular Incisor by Micro-focus X-ray CT Device, Part 4

Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○NISHIDA Taro, KATSUUMI Ichiroh

【はじめに】

下顎切歯は単根歯であるが、歯根が強度に偏平しており、唇舌的な根管の分岐や湾曲、さらには根尖分岐などが認められ、治療難度の高い歯種とされる。

本研究はマイクロフォーカスX線CT装置を用いて連続的な断層撮影を行い、三次元画像を構築後、歯軸方向における歯根と根管の幅径、偏平度を調べた。

【材料および方法】

実験にはヒト抜去下顎前歯 50 本を用いた。歯根外形を肉眼的に観察後、マイクロフォーカスX線CT装置 (ELE-SCAN, 日鉄エレックス) を用い、管電圧 80kV、管電流 70 μ A、スライス厚 52.9 μ m の条件にて、根尖から歯冠部まで連続的に断層撮影を行った。得られた断層像は画像処理ソフト (TRI/3D-BON, ラトックシステムエンジニアリング) により三次元構築を行った。

三次元画像上で、歯根先端から 1mm 間隔で 17mm までの断面像を歯軸と直行するように作成し、断面像上で歯根と根管の近遠心径、唇舌径を計測した。偏平度は近遠心径を唇舌径で除することにより求めた。

【結果とまとめ】

歯根と根管の近遠心径、唇舌径の測定結果を表 1, 2 に示す、歯根と根管の偏平度を表 3 に示す。本研究により、下顎切歯根管は、根管形成時に未切削部位の残存に注意する必要があることが窺われた。今後、さらに詳細な検討を行う予定である。

表 1 歯根の平均幅径 (mm)

歯根先端からの位置 (mm)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
単根管歯	近遠心径	1.40	1.70	1.99	2.21	2.39	2.56	2.74	2.89	3.09	3.20	3.38	3.50	3.75	4.04	4.36	4.40	4.60
	唇舌径	2.47	3.37	3.98	4.42	4.75	5.01	5.24	5.35	5.40	5.45	5.50	5.53	5.34	5.13	4.77	4.33	3.87
2根管歯	近遠心径	1.38	1.65	2.01	2.24	2.45	2.57	2.73	2.92	3.00	3.11	3.27	3.40	3.53	3.71	4.03	4.45	5.01
	唇舌径	2.29	3.27	4.16	4.68	5.16	5.54	5.83	6.02	6.12	6.15	6.06	6.02	6.14	6.09	5.68	4.97	4.45

表 2 根管の平均幅径 (mm)

歯根先端からの位置 (mm)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
単根管歯	近遠心径	0.29	0.29	0.31	0.33	0.34	0.39	0.43	0.49	0.52	0.55	0.61	0.66	0.69	0.75	0.85	0.94	0.94
	唇舌径	0.42	0.45	0.53	0.69	0.86	1.00	1.10	1.16	1.19	1.10	1.01	0.95	0.83	0.67	0.54	0.50	0.35
2根管歯	近遠心径	0.29	0.30	0.32	0.33	0.37	0.38	0.38	0.43	0.48	0.87	0.50	0.55	0.65	0.77	0.82	1.01	1.75
	唇舌径	0.46	0.46	0.55	0.70	0.88	1.17	0.94	0.91	1.18	2.66	1.87	1.79	1.56	1.25	0.96	0.64	0.55

表 3 歯根と根管の平均偏平度

歯根先端からの位置 (mm)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
歯根	単根管歯	0.57	0.51	0.50	0.50	0.50	0.51	0.52	0.54	0.57	0.59	0.62	0.64	0.72	0.81	0.96	1.05	1.23
	2根管歯	0.62	0.51	0.49	0.48	0.48	0.47	0.47	0.49	0.49	0.51	0.54	0.56	0.57	0.61	0.71	0.91	1.15
根管	単根管歯	0.75	0.70	0.66	0.54	0.45	0.43	0.45	0.50	0.53	0.60	0.68	0.81	0.99	1.25	1.69	1.96	2.87
	2根管歯	0.72	0.70	0.61	0.48	0.46	0.38	0.60	0.63	0.47	0.32	0.29	0.31	0.43	0.64	0.91	1.73	3.32

マイクロフォーカスX線CT装置による上顎側切歯根管形態の評価 (第5報)

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座

○天野亮子, 勝海一郎

Evaluation of Root Canal Morphology in Maxillary Lateral Incisor Using Micro-focus X-ray CT Device, Part5

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

○Amano R, Katsuumi I

【はじめに】

上顎側切歯は、前歯の単根管歯であるにもかかわらず、根管充填後の予後が劣り治療の難しい歯種とされている。第1報から第4報ではマイクロフォーカスX線CT装置により連続的な断層像を撮影して三次元像を構築し、上顎側切歯の根管の走行や湾曲度、根管の扁平度や根尖部の形態について分析を行った。その結果、根管は近遠心的に圧平され、側枝やS字状湾曲根管の存在など、上顎側切歯歯髓腔形態の複雑さが窺われた。今回の研究では、髓室開拓を行う際の開拓位置と根管形態の関係について分析を行った。

【材料および方法】

実験には、ヒト上顎側切歯抜去歯 50 本を用いた。マイクロフォーカスX線CT装置 (ELE-SCAN、日鉄エレクトクス) を用い、管電圧 80kV、管電流 $60\mu\text{A}$ 、スライス厚 $56\mu\text{m}$ の条件で根尖から歯冠部まで連続的に断層撮影を行った。得られた断層像は画像処理ソフト (TRI/3D-BON、ラトックシステムエンジニアリング) により三次元構築を行った。

1. 三次元画像をもとに唇舌面像を作成し、右図のように髓角の先端と根尖孔開口部を直線 (①) で結び、その直線を3等分する位置で垂線 (②) を引いて歯髓腔を歯冠側・中央・根尖側の3つに分割した。さらに2本の垂線 (②) 上で、根管の唇側壁と舌側壁の中間点を M1、M2 とし、M1 と M2 を結んだ直線をストレートライン (③) とした。③と歯冠表面とが交わる点を SP とし、SP の存在する部位を歯冠の唇側、切端、舌側の3種類に分類した。

2. M1 と根尖孔開口部を通る直線を作成し、③となす角度を計測した。

【結果とまとめ】

1. 50 歯中、SP が唇側に位置したのは 43 歯、切端が 7 歯となり、舌側に位置したものは認められなかった。

2. M1 と根尖孔開口部を通る直線が③となす角度では 10° 以上になった歯が 10 歯認められ、最大値は 20° であった。また、M1 より根尖側で、根管がS字状の湾曲を示した歯が 4 歯見られた。

本研究により、根尖側に無理なくファイルが到達するような髓室開拓位置の設定、および髓室開拓後の根尖側での器具操作の難しさが窺われた。

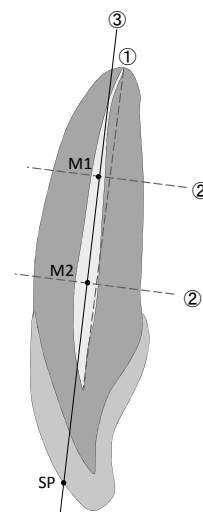


図 SPの作図

ラット口蓋歯肉の創傷治癒へのキトサン由来止血材応用効果に関する研究

東京歯科大学歯周病学講座¹⁾，東京歯科大学衛生学講座²⁾
○大久保信貴¹⁾，備前島崇浩¹⁾，石塚洋一²⁾，齋藤 淳¹⁾

Effect of chitosan-derived hemostatic agent on wound healing of rat palatal gingiva

¹⁾Department of Periodontology, Tokyo Dental College

²⁾Department of Epidemiology and Public Health, Tokyo Dental College

○Nobuki Okubo¹⁾，Takahiro Bizenzima¹⁾，Youichi Ishizuka²⁾，Atsushi Saito¹⁾

【研究目的】

遊離歯肉移植術や結合組織移植術などの歯周形成外科では，供給側の口蓋部歯肉の止血や創傷治癒を確実に得ることが患者の術後不快感を軽減させるために重要である。また，高血圧症などの基礎疾患を有する患者への観血処置においても十分な対策・対応が必須である。近年，キトサン由来の材料が注目されており，歯科臨床における報告も認められる。甲殻類由来の天然物質であるキトサンは，プラスに帯電していることでマイナス電荷の赤血球および血小板が引き寄せられて自然な凝血塊を形成することができる。しかし，キトサン由来止血材を口腔軟組織に応用した際の治癒過程についてはいまだ不明な点が多い。本研究では，口腔粘膜欠損部に応用した際の治癒動態を病理組織学的に評価することを目的とした。

【材料および方法】

実験動物には10週齢雄性SDラットを使用した。ラボナールによる全身麻酔下にて背位で開口固定した。左右第一臼歯口蓋歯肉部に2×2mm切開を行い，全層弁で歯肉を切除した。実験群にはキトサン由来止血材（ヘムコンデンタルドレッシング：白鵬）を欠損部のサイズに合わせてトリミングし応用した。術後の移動や脱離を防止するために7-0非吸収性縫合糸で周囲歯肉に水平マットレス縫合を行い固定した。対照群は開放創とした。観察期間は術後3，7，14日とした。実験期間中ラットは金属ゲージで飼育し，固形飼料，水道水の自由摂取など，同一の生活条件下で飼育した。各実験期間経過後，ラットはラボナールによる全身麻酔下で開胸後，左心室よりカテーテルを挿入し，生理食塩水の灌流による脱血で安楽死させた。その後，4%パラホルムアルデヒド固定液で灌流固定を行い，欠損部を含む周囲組織を一塊として採取した。採取した組織片は4%パラホルムアルデヒド固定液で一晩浸漬固定し，10%エチレンジアミン四酢酸四ナトリウム（EDTA）溶液にて脱灰を行った。病理組織学的検索の為にパラフィン包埋後，前頭断にて厚さ5μmのパラフィン切片を作製し，H-E染色および結合組織線維の配列・走行を評価のためのアザン・マロリー染色を行った。各標本から得られた切片を光学顕微鏡（UPM Axiophot 2：Carl Zeiss Japan）にて観察し，組織学的分析を行った。

【結果および考察】

肉眼所見では，術後3日において両群ともに歯肉の炎症が認められたが，実験群では術後7日において著明な歯肉の炎症は認められず，対照群と比較して歯肉欠損部の上皮化が進行していた。術後14日では両群ともに欠損部の閉鎖が認められた。

病理組織学的所見では，術後3日において実験群では上皮の欠損中央部への進展および下方増殖が認められたが，対照群では上皮の伸展は少なかった。術後7日では，実験群においては左右側から伸展した上皮は癒合し欠損部を被覆しており，上皮下の結合組織も規則正しく配列していた。一方，対照群では上皮の欠損中央部への進展および下方増殖は認められたが，欠損部の閉鎖は認められず，上皮下の結合組織の配列も不規則であった。術後14日では両群ともに左右側から進展した上皮の癒合が認められ，結合組織の配列も規則的であった。

本研究から，キトサン由来止血材は自然な凝血塊を形成し血餅の保持に寄与することで，歯肉欠損部の早期の結合組織の形成と上皮の伸展による創傷部の閉鎖を促進すると推察された。

【結論】

キトサン由来止血材の口蓋歯肉欠損部への応用は，初期の創傷治癒を促進する可能性が示唆された。

羊膜を用いた培養骨膜由来細胞シートの作製

¹京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学,
²医仁会武田総合病院, ³京丹後市立久美浜病院, ⁴宇治徳洲会病院
○雨宮 傑¹, 本城賢一¹, 遠藤悠美^{1,2}, 市岡宏顕¹, 熊本園子¹, 足立圭司^{1,3},
西垣 勝¹, 大迫文重¹, 山本俊郎¹, 中村 亨^{1,4}, 金村成智¹

Development of a Periosteal Cells Sheet using the Amniotic Membrane

¹Department of Dental Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine,
²Ijinkai Takeda General Hospital, ³Kumihama Hospital, ⁴Uji Tokushukai Hospital
○AMEMIYA Takeshi¹, HONJYO Ken-Ichi¹, ENDO Yumi^{1,2}, ICHIOKA Hiroaki¹, KUMAMOTO Sonoko¹, ADACHI Keiji^{1,3},
NISHIGAKI Masaru¹, OSEKO Fumishige¹, YAMAMOTO Toshiro¹, NAKAMURA Toru^{1,4}, KANAMURA Narisato¹

【研究目的】 羊膜は胎盤の最表層を覆う薄膜で、一定の厚みを持った実質組織から構成される。分娩後に通常破棄される組織で、胎盤よりほぼ無菌的に採取され、倫理的、技術的に容易に入手することができる。また、抗炎症作用・感染抑制作用などを有し、他の組織にはない特徴を備えている。これまでに、さまざまな手術療法に用いる報告があり、移植材料としてだけでなく培養基質としても高い有用性・有効性が注目されている。われわれはこの羊膜の有用性に注目し、羊膜を基質とした各種培養細胞シート（口腔粘膜上皮細胞シート、歯根膜由来細胞シート、歯髓由来細胞シート）を作製し、一部では臨床応用を実施しており新たな再生医療的治療法としての有効性を示してきた。そして今回、この細胞培養系を骨膜由来細胞の培養に応用することを立案した。

近年、骨膜由来の細胞を *in vitro* でシート状に培養して移植し、歯周組織の再生を試みる研究が散見される。そこで、われわれは骨膜由来細胞の培養に適切な基質を用いることを着想し、*in vitro* にて増殖させた骨膜由来細胞を羊膜上にてシート状に培養し、臨床応可能な羊膜上培養骨膜由来細胞シート開発のための検討を行った。

【材料および方法】 羊膜は、帝王切開時の胎盤より採取し研究に供した。また骨膜組織は、智歯の抜歯手術等における外科手術時の粘膜炎作製時に、歯槽骨上にある組織を骨膜組織として採取した。得られた骨膜組織を洗浄後、初代培養を行い、3~4代継代培養し得られた細胞を骨膜由来細胞として研究に使用した。上記にて得られた骨膜由来細胞を、羊膜上皮細胞を剥離・除去した羊膜上にて、骨分化誘導培地を用いて約3週間の培養を行った。作製した羊膜上培養骨膜由来細胞は、H-E染色ならびに蛍光抗体法による免疫染色を行い、検討を加えた。なお、当研究の実施および骨膜組織、羊膜の利用については、該当患者に対し本研究内容、安全性の説明を行い、同意を得た上で実施した。また、京都府立医科大学医学倫理審査委員会の許可を得た (C-1038)。

【結果】 骨膜由来細胞は羊膜上にて、層状構造を示した。免疫染色像では、細胞増殖マーカー (Ki-67)、間葉系細胞マーカー (ビメンチン陽性細胞) が認められた。培養細胞間においてはデスモソーム構成タンパク (デスモブラキン)、タイト結合構成タンパク (ZO-1) が発現し、培養細胞の基底部 (細胞-羊膜境) では、基底膜構成細胞接着タンパク (ラミニン 5)、基底膜構成コラーゲン (VII型コラーゲン) が発現していた。また、骨芽細胞マーカーであるオステオカルシン (BGP)、オステオポンチン (OPN)、骨シアロタンパク (BSP) の発現を認めた。

【考察および結論】 骨膜由来細胞は、羊膜上においても増殖し、細胞間接着装置、基底膜が存在し、1枚の細胞シートを形成しているものと考えられ、羊膜は骨膜由来細胞の培養・増殖に適切な足場 (基質) である可能性が示された。骨膜には骨芽細胞や骨細胞へ分化する能力をもつ細胞が含まれているとされる。細胞シートにおいても、骨芽細胞が産生するタンパクである BGP, OPN, BSP の発現を認めたことより、羊膜上培養骨膜由来細胞は、骨形成能、すなわち歯周組織再生を促進する性質を有しているものと推察された。今後さらなる検討が必要と思われるが、羊膜上培養骨膜由来細胞シートは、歯周組織を再生する能力を有する可能性が示された。本研究は、JSPS 科研費 24592997 の助成を受けたものである。

Platelet-rich fibrin-ヒト培養骨膜シート複合体移植による 骨再生能の向上

新潟大学 医歯学総合研究科 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野¹,
新潟大学 医歯学総合研究科 顎顔面再建学講座 歯科基礎移植・再生学分野²,
○堀水慎^{1,2}, 久保田健彦¹, 川瀬知之², 奥田一博¹, 富田尊志¹, 両角俊哉¹, 吉江弘正¹

Improving the osteogenic potential of The human alveolar bone-derived periosteal sheet as an Complex with platelet-rich fibrin

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate school of Medical
and Dental Sciences, Niigata, JAPAN¹,

Division of Pharmacology and Oral Bioengineering, Department of Tissue Regeneration and Reconstruction, Niigata
University Graduate school of Medical and Dental Sciences, Niigata, JAPAN²

○Horimizu Makoto, Kubota Takehiko, Kawase Tomoyuki, Okuda Kazuhro,
Tomita Takayuki, Morozumi Toshiya, Yoshie Hiromasa

【背景と目的】

これまで我々はヒト培養骨膜シートを応用し、歯周組織再生療法や顎堤増大術など 100 例以上の顎顔面領域の骨再生療法を行ってきた。このとき骨膜シートの生物学的な活性を向上させるために Platelet-rich plasma (PRP) を併用し、良好な治療成績を報告してきた。しかし、PRP は調整に熟練が必要であり、液体であるために局所的な滞留がむずかしいなどの問題がある。一方、Platelet-rich fibrin (PRF) は PRP と同じく血小板由来の増殖因子を豊富に含み、末梢血を採取して遠心操作のみで調製できる。さらに遠心時のフィブリノーゲン重合によって形成されるフィブリンゲルは細胞接着に有効なスキャホールドとして働くことが期待される。そこで我々は、PRF をスキャホールドとして培養骨膜シートと複合化し、組織再生療法に応用することで、増殖因子による分化促進効果が骨再生を促進すると考えた。ここでは、in vitro および in vivo において、PRF-培養骨膜シート複合体の移植材料としての骨再生能を検証する。なお本研究は新潟大学倫理審査委員会の承認を得て行われた。

【材料および方法】

- 1) インフォームドコンセントを得た上、下顎埋伏智歯抜歯時に下顎骨頬歯槽骨から骨膜組織を採取し、1x1mm の骨膜片を Medium199 培地 (10% FBS, 25µg/ml アスコルビン酸含有) で組織片培養した。
- 2) 採血したヒト末梢静脈血 10 mL を 2,400~3,000 rpm で 13 分間遠心し、PRF を調製。1mm 厚に圧接して 8x8mm 大にトリミングした。
- 3) 14 日間培養した骨膜シートをスクレーパーで剥離し PRF 上に静置し複合化し、さらに 14 日間培養。組織標本作製し、細胞局在とコラーゲン沈着、アルカリフォスファターゼ(ALP) とオステオポンチンの発現、石灰化物を評価した。
- 4) スードマウス背部皮下および頭蓋骨に作製した骨欠損部に 28 日間培養した骨膜シートと PRF を複合化して移植した。28 日後に摘出し、コラーゲン量、血管数、石灰化量を評価。頭蓋骨欠損部の新生骨量を比較した。

【結果】

- 1) in vitro においては、PRF と骨膜片の界面部に細胞が集積し、フィブリンゲル内への細胞遊走もみとめられた。
- 2) 細胞周囲にはコラーゲンが沈着し、ALP とオステオポンチンが発現していた。骨膜シート単独と比較し、PRF との複合化により、石灰化量が増加した (p<0.05)。
- 3) スードマウス背部皮下移植においては、コラーゲン量、血管数、石灰化量いずれにおいても骨膜シート単独と比較し、PRF 複合化によって増加傾向にあったが有意差はみられなかった。
- 4) 頭蓋骨骨欠損部への移植では、PRF 複合化によって血管数が増加し、さらに新生骨量の有意な増加がみられた。

【考察】

血管新生の誘導と TRAP 陽性細胞の増加から、背部皮下移植での石灰化は Osteoclast による骨吸収の影響を受けていると考えられ、骨欠損部では骨リモデリングが効果的に作用し、骨形成が増加したものと考えられる。以上より、ヒト培養骨膜シートと PRF との複合化は、骨形成能と血管新生を介した骨誘導能を併せ持つ有望な骨再生移植材料となることが示唆された。

スフィンゴシン-1-リン酸が 未分化間葉系幹細胞の脂肪細胞分化におけるシグナル伝達に及ぼす影響

九州大学大学院歯学研究院 歯周病学分野
○橋本 陽子、松崎 英津子、東 克匡、西村 英紀

Sphingosine-1-phosphate modulates adipocyte differentiation through S1P/cAMP signaling pathway in C3H10T1/2 cells

Department of Periodontology, Faculty of Dental Science, Kyushu University
○Yoko Hashimoto, Etsuko Matsuzaki, Katsumasa Higashi,
Fusanori Nishimura

【研究目的】

血漿中に多く存在するスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、脂質メディエーターの一つで、5 種類の S1P 受容体と共役する G タンパク質の下流に位置するシグナル伝達分子により、分化・増殖など多彩な細胞応答を引き起こす。骨組織においては、S1P の破骨細胞前駆細胞遊走制御による骨吸収抑制、骨芽細胞における破骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin) 発現促進が報告されており、骨粗鬆症や歯周疾患により失われた歯槽骨の再生への応用が期待される。骨芽細胞と脂肪細胞は、いずれも未分化間葉系幹細胞から分化する。老化に伴う骨粗鬆症や 2 型糖尿病などの病因を考えた場合、骨と脂肪のバランスの制御機構の解明は生体の恒常性を理解する上で重要な課題のひとつである。我々はこれまでに、マウス未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 において、S1P が脂肪細胞分化を抑制し、骨芽細胞分化を促進することを見出した (第 137 回日本歯科保存学会 2012 年度秋季学術大会)。また、S1P による Wnt-10b および Wnt-5a の発現調節が、脂肪細胞分化の抑制に関与する可能性を見出した (第 138 回日本歯科保存学会 2013 年度春季学術大会)。

本研究では、C3H10T1/2 細胞の脂肪細胞への分化に及ぼす S1P の作用メカニズムについて検討した。

【材料および方法】

実験には、マウス未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 を用いた。試薬として、S1P (1.0 μ M, SIGMA) を用いた。脂肪細胞分化誘導には、AdipoInducer Reagent (Takara Bio)、Rosiglitazone (Wako) を用いた。

mRNA 発現については real-time RT-PCR 法、タンパク質発現については Western blot 法を用いて検討した。脂肪化については、Oil red O 染色法を用いて検討した。

【結果および考察】

C3H10T1/2 に dexamethasone, isobutyl-methylxanthine, insulin を含む通法通りの脂肪細胞への分化誘導を行った場合、S1P の添加により、脂肪細胞の分化マーカーである peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ)、FABP4 (aP2) の発現は濃度依存性に減少し、脂肪滴の形成は抑制された。一方、PPAR γ のアゴニストである Rosiglitazone を用いて脂肪細胞への分化誘導を行った場合、S1P は脂肪細胞分化マーカー遺伝子の発現に影響を及ぼさなかった。そこで次に、PPAR γ の上流に存在する CCAAT/enhancer binding protein (C/EBP) β の発現に及ぼす S1P の影響について検討した。その結果、通法の脂肪細胞分化誘導において、S1P の添加により C/EBP β の mRNA 発現量は減少したが、Rosiglitazone を用いた脂肪細胞分化誘導においては、S1P による影響は認められなかった。

以上の結果から、S1P による脂肪細胞への分化抑制の作用点は、C/EBP β の上流である可能性が示唆された。

S1P シグナルの下流では、adenylate cyclase を介した cyclic AMP (cAMP) の減少が報告されている。cAMP は、脂肪細胞分化において増加し、protein kinase A 活性の上昇と C/EBP β ならびにそれに引き続く PPAR γ の発現量増加を引き起こすことが示されており、S1P/cAMP シグナル伝達経路の解析を引き続き行っている。

【結論】

未分化間葉系幹細胞 C3H10T1/2 において、S1P は C/EBP β の上流に作用して脂肪細胞への分化抑制を引き起こす可能性が考えられる。

骨芽細胞の細胞内シグナル伝達に關与する スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) 受容体の検索

九州大学大学院歯学研究院 歯周病学分野
○東 克匡、松崎 英津子、橋本 陽子、西村 英紀

The role of sphingosine-1-phosphate receptors on the S1P signaling pathway in osteoblast-like cells

Department of Periodontology, Faculty of Dental Science, Kyushu University
○Katsumasa Higashi, Etsuko Matsuzaki, Yoko Hashimoto,
Fusanori Nishimura

【研究目的】

血漿中に多く存在するスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、細胞膜上の G タンパク質共役受容体である S1PR1-5 に結合し、分化・増殖など多彩な細胞応答を引き起こす脂質メディエーターである。骨組織においては、S1P の破骨細胞前駆細胞遊走制御による骨吸収抑制が報告されている。我々はこれまでに、骨芽細胞において S1P が S1P/Akt/ β -catenin シグナル伝達経路を介して、破骨細胞抑制因子 (osteoprotegerin) 発現を促進することを見出し、骨粗鬆症や歯周疾患により失われた歯槽骨の再生への応用が期待される。しかしながら、S1P がどの受容体を介して細胞内シグナル伝達を活性化するかについては明らかとなっていない。

そこで本研究では、骨芽細胞における細胞内シグナル伝達に關連する S1P 受容体の検索を行った。

【材料および方法】

実験には、マウス頭蓋冠由来の骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を用いた。S1P 受容体の阻害には、S1PR1-2 siRNA 及び S1PR1-3 阻害剤 W146、JTE-013、CAY10444 を用いた。

タンパク質発現については Western blot 法、mRNA 発現については real-time RT-PCR 法を用いて検討した。 β -カテニンの核内移行については、蛍光免疫染色法を行った。

【結果および考察】

MC3T3-E1 細胞には、S1PR1-5 のすべての S1P 受容体が発現していた。骨芽細胞における S1P シグナル伝達経路の活性化に重要な Akt のリン酸化は、S1PR1 の阻害により減少したが、S1PR2 及び S1PR3 の阻害による影響は認められなかった。また、 β -カテニンの核移行も、S1PR1 の阻害により減少した。

さらに、骨芽細胞分化マーカーである alkaline phosphatase (ALP) の発現は、S1P の添加により増加したが、S1PR1 及び S1PR2 の阻害によりその作用は減少した。以上の結果から、骨芽細胞における S1P シグナル伝達には、少なくとも S1PR1 が關与することが示唆された。

ALP の発現調節には、BMP シグナル伝達経路の關与が報告されているため、現在 BMP シグナル伝達経路に及ぼす S1P 及びその受容体の影響についても検討している。

【結論】

骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 における、S1P/Akt/ β -catenin シグナル伝達経路の活性化は S1PR1 を介している可能性が考えられる。

歯周炎病態形成における Periostin の役割

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔保健学分野¹, 歯周診断・再建学分野²,
大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学分野³
○中島 麻由佳^{1,2}, 本田 朋之², 宮内 小百合^{1,2}, 村上 伸也³, 山崎 和久¹

The role of periostin on the pathogenesis of periodontitis

Laboratory of Periodontology and Immunology, Division of Oral Science for Health Promotion¹, Division of
Periodontology², Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
Department of Periodontology, Division of Oral Biology and Disease Control, Osaka University Graduate School of Dentistry³
○Nakajima M^{1,2}, Honda T², Miyuchi S^{1,2}, Murakami S³, Yamazaki K¹

【研究目的】

Periostin は Matricellular protein の一つであり、歯周組織においては歯根膜に高発現し、その恒常性維持に関与していると考えられている。近年、Periostin の新たな作用として、アトピー性皮膚炎の進行、慢性化に関与することが報告された (Masuoka M *et al.*, J Clin Invest. 2012)。すなわち、皮膚線維芽細胞において Th2 サイトカイン (IL-4, IL-13) により Periostin が誘導され、その Periostin が角化細胞に作用することで炎症性サイトカインの産生を介して Th2 免疫応答が亢進することが示された。我々はこれまでに、歯周炎組織において Th2 サイトカインが上昇していることを報告し (Yamazaki K *et al.*, J Oral Pathol Med. 1994, Yamazaki K *et al.*, Oral Microbiol Immunol. 1997), Th2 主体の免疫応答が歯周炎の進行に関与している可能性を示してきた。以上のことから、Periostin が歯周炎において炎症応答の亢進に関与している可能性があり、本研究ではこれを明らかにすることを目的とする。具体的には、歯周組織構成細胞において、Th2 サイトカイン、炎症性サイトカイン、歯周病原細菌構成成分が Periostin 発現に及ぼす影響、さらには Periostin が炎症性サイトカイン、ケモカイン、マトリックス関連分子の発現に及ぼす影響を明らかにする。

【材料及び方法】

初代培養のヒト歯肉線維芽細胞 (hGF) およびヒト歯根膜線維芽細胞 (hPDL), ヒト歯肉上皮不死化細胞株 epi4 (大阪大学村上伸也教授より供与) を用いて、recombinant human (rh) IL-4, rh-IL-13, rh-TNF- α , *P. gingivalis* LPS により刺激し (8, 24h), Periostin の遺伝子およびタンパク発現の変化を Real-time PCR 法および Western blot 法にて解析した。また、これらの細胞を用いて、rh-Periostin, rh-TNF- α により刺激し (12-72h), IL-6, IL-8, MCP-1, TGF- β 1, MMP-2, type 1 collagen (Col1 α 1) の遺伝子およびタンパク発現の変化を Real-time PCR 法および ELISA 法にて解析した。

【結果】

hGF, hPDL において、IL-4, IL-13 刺激により Periostin 発現が強く誘導されたが、epi4 においては同刺激により Periostin 発現に変化は認められなかった。いずれの細胞種においても TNF- α , *P. gingivalis* LPS 刺激により Periostin 発現に変化は認められなかった。

hGF において、Periostin および TNF- α 刺激により IL-6, IL-8, MCP-1 産生の上昇が認められたが、TNF- α 刺激に比較して Periostin 刺激による影響は低かった。hPDL, epi4 においては、Periostin 刺激により IL-6, IL-8, MCP-1 産生にいずれも明らかな変化は認められなかった。hGF, epi4 において、Periostin 刺激により MMP-2, TGF- β 1, Col1 α 1 の遺伝子発現に変化は認められなかった。

【考察】

以上の結果から、歯周炎において歯肉線維芽細胞より Periostin 産生が誘導されていると考えられる。しかしながら、Periostin が歯周炎における炎症応答、マトリックスタンパク代謝に及ぼす影響はわずかであり、歯肉組織と皮膚でももちろんのこと、歯根膜組織とも Periostin の作用が異なっている可能性が示唆された。歯肉結合組織における Periostin 機能のさらなる解析が必要である。

歯周炎罹患組織における IL-6 遺伝子プロモーター領域のメチル化解析

新潟大学大学院医歯学総合研究科歯周診断・再建学分野

○石田光平、小林哲夫、横山智子、岡田 萌
小島杏里、小松康高、吉江弘正

Interleukin-6 gene promoter methylation in periodontal tissues

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

○Kohei Ishida, Tetsuo Kobayashi, Tomoko Yokoyama, Moe Okada,
Anri Kojima, Yasutaka Komatsu, Hiromasa Yoshie

【目的】

インターロイキン 6 (IL-6) は歯周炎を含む炎症性疾患の病因において重要な役割を果たしている炎症性サイトカインであり、その遺伝子多型の一部は疾患感受性に関与している。近年、IL-6 をはじめとしたサイトカイン遺伝子プロモーター領域のメチル化状態が遺伝子情報発現を制御する可能性が指摘されており、疾患におけるエピジェネティック (DNA メチル化) 修飾の重要性が示唆されている。そこで今回は、慢性歯周炎 (CP) および健常者 (H) 由来の末梢血細胞、歯肉組織を対象として、全身と局所について IL-6 遺伝子プロモーター領域のメチル化状態に差異があるか否かを検証した。

【材料および方法】

インフォームドコンセントが得られた慢性歯周炎患者群 (CP 群) 15 名および健常者群 (H 群) 10 名より末梢血細胞、歯肉組織を各々採取した。その後、採取したサンプルからゲノム DNA を抽出し、バイサルファイト処理を行い、IL-6 遺伝子プロモーター領域のプライマーを用いて PCR 法にて増幅後、ダイレクトシーケンス法により IL-6 遺伝子プロモーター領域のメチル化部位を特定し、各部位ごとにメチル化頻度を解析した。

【結果】

IL-6 遺伝子プロモーター全領域 (-1200bp~+27bp) 中の CpG 19 部位におけるメチル化頻度を測定した結果、-491bp 部位において H 群の末梢血細胞と比較し、歯肉組織でメチル化頻度が有意に低い値が認められた ($P=0.049$)。同様に、CP 群では有意な差は認められなかったものの、-491bp 部位において末梢血細胞と比較し、歯肉組織でメチル化頻度が低い傾向が認められた ($P=0.08$)。

【考察】

本研究の結果から、末梢血細胞と歯肉組織との間では IL-6 遺伝子プロモーター-491bp 部位のメチル化状態が異なり、歯肉組織においてメチル化頻度が低いことが示唆された。IL-6 遺伝子プロモーター領域の DNA の低メチル化状態が、結果的に歯周炎の病因に関与している可能性が考えられる。今後は、-491bp 部位のメチル化状態と IL-6 発現レベルとの関連性について機能的検証をしていく必要がある。

シクロスポリン誘導性歯肉増殖マウスモデルにおけるサイトカイン発現

京都府立医科大学大学院医学研究科 歯科口腔科学¹⁾・免疫学²⁾
京都府立心身障害者福祉センター附属リハビリテーション病院 歯科³⁾
康生会 北山武田病院 歯科口腔外科⁴⁾

○¹⁾大迫文重, ¹⁾山本俊郎, ^{1),3)}赤松佑紀, ¹⁾西垣 勝, ¹⁾雨宮 傑, ^{1),4)}坂下敦宏, ²⁾喜多正和, ¹⁾金村成智

Cytokine expression in the cyclosporine induced gingival hyperplasia

Department of Dental Medicine¹⁾ and Immunology²⁾, Kyoto Prefectural University of Medicine, Graduate School of Medical Science

Department of Dentistry, Kyoto Prefectural Rehabilitation Hospital for the Disabled³⁾

Department of Dentistry, Kouseikai Takeda Kitayama Hospital⁴⁾

○Ooseko Fumishige¹⁾, Yamamoto Toshiro¹⁾, Akamatu Yuki^{1),3)}, Nishigaki Masaru¹⁾, Amemiya Takeshi¹⁾, Sakashita Nobuhiro^{1),4)}, Kita Masakazu²⁾, Kanamur Narisato¹⁾

【緒言】

薬剤性歯肉増殖症は、免疫抑制剤シクロスポリン A (以下、CsA) をはじめとして、抗てんかん薬フェニトイン、カルシウム拮抗薬の服用者に認められる副作用であり、歯肉結合組織の線維性増殖と上皮組織の肥厚を特徴としている。

CsA は、抗真菌薬として開発された免疫抑制剤である。細胞性免疫を担う T 細胞を、選択的かつ可逆的に抑制することでサイトカイン産生を抑制する。これにより、臓器移植や骨髄移植の拒絶反応抑制や、全身性エリテマトーデス (SLE) や関節リウマチなどの自己免疫疾患の治療などに広く臨床応用されている。これまでに IL-6 が減少し、間接的に線維芽細胞が刺激され、歯肉増殖が生じるとされているが詳細は不明な点が多い。

そこで我々は、免疫抑制剤である CsA を用い、歯肉増殖マウスモデルを作製し、歯肉増殖の発症機序について免疫学的に検討を加えたので報告する。

【対象および方法】

4 週齢の C57BL/6 正常マウス (♀, n=5) を用いた。CsA (サンディミュン[®]、ノバルティスファーマ) を 1 日 1 回、週 5 日間 8 週連続で、腹腔内投与 (40mg/kg body weight) し、CsA 投与群 (以下、CsA 群) を作製した。また、生理食塩水を腹腔内投与した群をコントロール群とした。

マウスの下顎骨を摘出し HE を用いて病理組織学的検討を行った。さらに、臼歯部歯肉組織を RNA 抽出し、real-time RT-PCR 法を用いて、IL-6、Epidermal Growth Factor (以下、EGF)、Transforming growth factor (以下、TGF) - β 、IL-17mRNA の発現について定量的検索を行った。また、脾臓を摘出し flow cytometry を用いて、脾臓における T 細胞の割合について検討した。

本研究の概要、動物研究の必要性、飼育場所ならびに研究実施場所、動物の苦痛軽減方法ならびに研究終了後の処置等を明記した動物実験計画書を当大学の「京都府立医科大学動物実験委員会」において承認を得ている。

【結果】CsA 群はコントロール群に比べ、肉眼的な観察で歯肉の肥厚を認めた。また、CsA 群は病理組織学的に粘膜上皮の肥厚および上皮脚の伸張を認めた。CsA 群はコントロール群に比べ IL-6、EGF の有意な発現の上昇を認めた ($p < 0.05$)。一方、TGF- β ・IL-17 に変化がなかった。また、脾臓の T 細胞の割合が減少した。

【考察および結論】

CsA 群は、肉眼的な観察で歯肉の肥厚に加えて、病理組織学的に粘膜上皮の肥厚および上皮脚の伸張を認めた。さらに脾臓の T 細胞の割合が減少した。以上から、シクロスポリンで誘導された歯肉増殖マウスモデルは免疫抑制状態であることが判明した。

さらにこのマウス歯肉では、歯肉増殖に関与するとされる IL-6、EGF、TGF- β のうち、TGF- β mRNA の発現のみ変化がなかった。この TGF- β は IL-6 とともに IL-17mRNA 発現に関与するとされている。IL-17mRNA 発現にも TGF- β と同様に変化がなかった。このことから、本マウスモデルの歯肉増殖には、TGF- β と IL-17 が関与しない可能性が示唆された。

本研究の一部は JSPS 科研費 24792358 の助成を受けた。

2型糖尿病モデルラット歯周組織早期創傷治癒過程における 循環血中の VEGF 発現

大阪歯科大学歯周病学講座

○森田浩正 中田貴也 小石玲子 片山暢仁 南堂百映 重松伸寛 河野智生 梅田誠

**The VEGF expression of circulating blood on periodontal wound healing
in model rats with type 2 diabetes mellitus**

Osaka Dental University department of Periodontology

○Hiromasa Morita, Takaya Nakata, Reiko Koishi, Nobuhito Katayama, Momoe Nandou,
Nobuhiro Shigematsu, Tomoo Kono, and Makoto Umeda

【目的】

糖尿病患者は、歯周病を高頻度で発症することが知られています。また、糖尿病は歯周疾患の重要なリスクファクターであると考えられてきました。糖尿病は、特徴として全身のあらゆる血管を同時に障害し、高頻度に脳血管障害、心血管病変の大血管障害を引き起こし、さらに特有の症状としては、神経障害、網膜症、腎症の細小血管障害があります。そして、歯周疾患は、これらにつぐ第6番目の合併症としてあげられ、すべて血管障害に関係しています。

血管の治癒過程で発現する血管内皮増殖因子(VEGF)は、血管新生の際にペリサイトが離脱した部位の血管内皮細胞に反応するサイトカインで、血管内皮細胞の増殖、分化、微小血管の血管透過性の亢進、血管拡張作用などの働きを持ち、特に低酸素状態で誘導されることが特徴です。糖尿病下において VEGF 発現による血管新生が関与する疾患としては、固形腫瘍、関節リウマチ、先ほど述べた細小血管障害である糖尿病性網膜症があり、特に網膜症では、網膜血管の閉塞から低酸素状態を経て網膜上に異常な血管新生が認められることは証明されています。

これまでの我々の研究で、II型糖尿病モデルラットの歯周創傷治癒部の細小血管障害部において VEGF 発現が認められ、その VEGF 発現を介して障害部で血管新生を通常より促進する組織像が観察されました。

しかし、局所の歯周組織において発現した VEGF が全身の細小血管関連疾患に関連しているかは未だ明らかになっていません。そこで、本研究では、糖尿病患者の創傷治癒過程における VEGF の全身への影響および VEGF と細小血管障害との関連性を明らかにするために、II型糖尿病モデルラットの両側上顎臼歯部に人工的に歯周組織欠損を作成し、その治癒過程の初期段階における術部で発現した VEGF がラット心臓部より採血した循環血中の VEGF 発現に影響を及ぼす可能性について観察することを目的としておこないました。

【材料および方法】

生後8週齢 GK 系雄性ラットを高脂肪飼料にて40~45週長期飼育したものを実験群、同条件下のSD系雄性ラットを対照群としました。実験群はあらかじめ、空腹時に200mg/dl以上を示すラットのみを実験群として用いました。実験群および対照群に対し、両側上顎臼歯部口蓋側において外科的に歯周組織欠損を作成し、術後3, 5, 7日目において安楽死させ、10%中性緩衝ホルマリンにて灌流固定の際にラット心臓部より、循環血を約7ml採血し、遠心分離を行い血清成分のみを採取しました。採取した血清成分を用いて ELISA Kit を用いて循環血中の VEGF 発現を両群間において観察を行いました。

【結果および考察】

実験期間を通じて、循環血中の VEGF の発現は実験群および対照群ともに観察されました。術後それぞれの期間において実験群のほうが対照群より循環血中の VEGF の発現量が多く認められ、さらに、両群ともに術後3, 5, 7日目と継時的な減少傾向を示しました。

以上から、II型糖尿病モデルラットに歯周外科処置を行った術部の早期創傷治癒段階において発現した VEGF が心臓部より採血した循環血中の VEGF 発現上昇に関与していることが考えられ、同様に、糖尿病患者に外科処置を行った部位で発現した VEGF が治癒過程において合併症の増悪にも影響を及ぼす可能性を唆しました。

ラマン分光法を用いた根面歯石除去の評価

昭和大学歯学部歯周病学講座
○中村紫野、安藤正浩、濱口宏夫、山本松男

Evaluation method for debridement of dental calculus using Raman spectroscopy

Department of Periodontology, Showa University School of Dentistry

○Shino Nakamura, Masahiro Ando, Hiro-o Hamaguchi, Matsuo Yamamoto

【研究目的】

歯周基本治療に含まれる歯肉縁下のデブライドメントまたは歯周外科手術を行う際のデブライドメントは歯周病の予後を左右する重要な治療のひとつである。しかし、歯根表面の凹凸は経験に基づき判別できるが、微細な石灰化物や細菌由来の成分の存在については評価する方法はない。特に歯周基本治療中のデブライドメントでは縁下歯石を直視できず、術者の手指の感覚に頼っているところが大きい。縁下歯石や肉芽組織を取り残した場合は歯周炎が再発し、また、汚染セメント質が存在すると組織治癒（上皮性付着・線維性付着）が生じにくい。

ラマン分光法は入射光と異なる波長をもつラマン散乱光を分光し、解析することにより、物質の分子構造や結晶構造などを知る手法である。さらに測定環境や物質の状況に依存せず、あるがままの状態为非破壊的に状態分析が可能な分析方法である。

今回、我々はラマン分光法を用いてヒト抜去歯根面に沈着した歯石をはじめ石灰化物の有無または歯石の除去段階で、ラマンスペクトルにどのような変化が見られるかについて検討した。

【材料および方法】

根面に歯石が多く沈着した抜去歯 30 本の表面をポータブルラマン分光光度計 (Enwave Optronics, Inc. ProRaman-L) を用いて測定した。測定は、歯石が多量に沈着している状態、手用スクレーラーで大きな歯石を除去しデブライドメントを行ったが根面の凹凸はまだ残っている状態、完全にデブライドメントを行い根面が滑沢になった状態、さらにデブライドメントを続け健全セメント質まで露出させた状態の 4 点で行った。また計測部位は常に同じ点に照射されるように設定した。測定条件は励起波長 785nm、出力 100mW、露光時間 0.5 秒、露光回数 10 回とした。

【結果】

歯石が多量に沈着している状態で測定を行うと強い蛍光のみが見られた。次に手用スクレーラーで大きな歯石を除去しデブライドメントを行ったが根面の凹凸はまだ残っている状態で測定を行うと蛍光強度は下がり、ヒドロキシアパタイトのラマンバンドピークである 960 cm^{-1} が見られた。さらに、デブライドメントを完全にを行い根面が滑沢になった状態では、 960 cm^{-1} とその他のヒドロキシアパタイトのピークである 440 cm^{-1} 、 580 cm^{-1} と有機物のピークである $\sim 2940\text{ cm}^{-1}$ も観察できた。

【考察】

歯石が多量に沈着している状態からデブライドメントを順次行くと、蛍光強度が下がっていくことが確認できた。この時、ヒドロキシアパタイトのバンド強度で規格化することにより、蛍光強度を定量的に評価できた。これより、歯根表面の残存物を、規格化した蛍光強度によって定量的に計測する原理が確立された。

【結論】

ラマン分光法を用いて歯根表面の蛍光強度を測定することにより、歯石または石灰化物の有無を判定できる可能性が示唆された。また、デブライドメントの適切なエンドポイントを知る臨床応用の可能性が示唆された。

クルクミン含有食品摂取のメンテナンス時の歯周炎再発部位に対する効果 —パイロットスタディー—

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野
○秋月 達也, 松浦 孝典, 星 嵩, 井川 貴博, 和泉 雄一

Benefits of highly bioavailable curcumin for recurrent periodontitis in subjects under periodontal maintenance. - A pilot study-

Department of Periodontology, Graduate school of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University.

○Tatsuya Akizuki, Takanori Matsuura, Shu Hoshi, Takahiro Ikawa, Yuichi Izumi.

【背景】

クルクミンはウコンの薬効成分として知られ抗炎症作用、抗腫瘍作用、抗酸化作用があることが報告されている。これまでに *in vitro* での破骨細胞に対する抑制効果の報告¹⁾はあるが、ヒト歯周組織に対する効果を調べたものはない。クルクミンは経口で吸収を高めることが難しかったが、細粒化クルクミン (セラクルミン[®]: 株式会社セラバリュース) では吸収性が高まり、濃度依存的に血中に移行することがわかっている^{2,3)}。

【目的】

本ランダム化比較試験は、生体内への吸収効率を高めたクルクミン含有食品の摂取が、メンテナンス時の歯周炎再発部位に与える影響を検討することを目的として行った。

【材料と方法】

歯周ポケット(PPD)が4 mm以上の部位を有するメンテナンス中の慢性歯周炎患者(40歳以上の男女)を対象とした。全身的に重篤な疾患がある者、妊産婦、6か月以内に抗菌薬の投与を受けたものは除外した。被験者は、実験群(クルクミン含有)と対照群(非含有)に無作為に割り付けられ、1回3カプセル(クルクミン換算30mg/カプセル)×2回(朝夕食後)1か月間摂取した。ベースライン時(BL)、1か月後(1M)、2か月後(2M)に被験部位のPPD、クリニカルアタッチメントレベル、歯肉炎指数、ブランクインデックス、動揺度、歯肉溝浸出液中のアスバラギン酸アミノトランスフェラーゼレベルの測定(PTMキット: 株式会社松風)を行った。

食品製造、無作為化は株式会社セラバリュースで行い、外見上、含有、非含有どちらかわからない状態で提供されたものを使用した。データの保管、キーオープン後の解析は東京医科歯科大学で行った。

本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った(第656号)。

【結果】

研究には14名が登録し、全員完遂した。観察期間を通じて有害事象は認められなかった。両群にそれぞれ1名ずつコンプライアンスが不良なものがいたためそれらを除外した12名(実験群6名, 対照群6名)について検討した。実験群では、術前と術後のPPDに改善が認められた($p<0.05$)。対照群では統計学的有意差は認められなかった。

【考察および結論】

歯周炎が再発した部位においてクルクミン含有食品を摂取することでPPDの改善に効果がある可能性が示唆された。クルクミンの抗炎症作用によるものと推察されるが、詳細なメカニズムを調べるために、今後大規模な研究を行い、炎症性マーカーを検討する必要があると考えられる。

- 1.Suda T et al. Regulatory roles of beta-catenin and AP-1 on osteoprotegerin production in interleukin-1alpha-stimulated periodontal ligament cells. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 Oct; 24(5):384-9.
- 2.Sasaki H et al. Innovative preparation of curcumin for improved oral bioavailability. *Biol Pharm Bull*. 2011;34(5):660-5.
- 3.Kanai M et al. Dose-escalation and pharmacokinetic study of nanoparticle curcumin, a potential anticancer agent with improved bioavailability, in healthy human volunteers. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012 Jan; 69(1):65-70.

(会員外研究協力者: 株式会社セラバリュース 今泉 厚、高橋 司)

航空自衛隊大滝根山分屯基地における口腔衛生指導 (第4報)

奥羽大学歯学部口腔衛生学講座¹⁾、同大学同学部歯科保存学講座²⁾
○車田文雄¹⁾、長岡正博¹⁾、廣瀬公治¹⁾、佐藤穂子²⁾、佐々木重雄²⁾、木村裕一²⁾

Oral hygien guidance for JASDF Ohtakineyama Sub Base (IV)

Department of Preventive Dentistry OHU University School of Dentistry
Department of Conservative Dentistry OHU University School of Dentistry
○Fumio KURUMADA, Masahiro NAGAOKA, Kimiharu HIROSE, Yasuko SATOH, Shigeo SASAKI,
Yuithi KIMURA

【 緒 言 】

先の第136～138回本学会において、航空自衛隊第27警戒群大滝根山分屯基地の隊員等の職場における集団口腔健康管理の目的で、齶蝕活動性および歯周疾患活動性検査を調べる機会を得たので、その結果を発表した。そこで今回、そのデータを基に各々の齶蝕活動性試験の相関傾向を調べた結果、若干の知見を得ることができたので、ここに報告する。

【 方法および結果 】

対象者は前回同様、上記隊員および事務官の男女38名である。

1. カリオスタット (検体: 歯垢) … 歯垢の酸産生能テスト

青 (-): 口腔清掃は従来とおり。

緑 (+): 間食後の口腔清掃の必要性。

黄緑 (++) : 間食における糖分摂取の制限要指導。 黄 (+++) : 食生活全体から糖分摂取の制限要指導。

2. CAT 2 1 バフ (検体: 唾液) … 唾液リスクテスト

① 唾液流出量 5ml 以上: 口腔内は齶蝕になりやすい状態。 2～5ml 未満: 口腔内は齶蝕になりやすい状態。

2ml 未満: 非常に齶蝕になりやすい状態。

② 唾液緩衝能 (指導は上記同様) 赤 (安全域-)、橙 (注意域+)、黄 (危険域++)。

3. ミューカウント (検体: 唾液) … ストレプトコッカスミュータンス簡易菌測定テスト

(-) : 管壁付着が認められないもの。 (+) : 1～10のコロニー様付着確認。

(++) : 10以上のコロニー様付着確認。

(+++): 管壁一面に細かなコロニー様付着確認。同時に大きなコロニー様付着も確認。

これらのうち、唾液リスクテスト (CAT 2 1 バフ) の唾液流出量と唾液緩衝能との関係を調べた。すなわち5ml 以上 (0)、2～5ml 未満 (1)、2ml 未満 (2) とスコア化し、同様に、赤: - (0)、橙: + (1)、黄: ++ (2) と3段階で対比させた結果、68%の者がスコア0として一致した。また、ストレプトコッカスミュータンス簡易菌測定テスト (ミューカウント) と歯垢の酸産生能テスト (カリオスタット) との関係を調べた。すなわち、- (0)、+ (1)、++ (2)、+++ (3) とスコア化し、同様に、青: - (0)、緑: + (1)、黄緑: ++ (2)、黄: +++ (3) と4段階で対比させた結果、約60%の者がスコア2として一致し、約50%の者がスコア3として一致していた。

【 考察および結論 】

齶蝕活動性試験においては、唾液リスクテスト (CAT 2 1 バフ) の唾液流出量と唾液緩衝能との関係は、結果より唾液流出量が5ml 以上 (口腔内は齶蝕になりやすい状態) の者は、唾液緩衝能 (酸性から中性へ戻る能力) も安全域になっていると考えられる。また、ストレプトコッカスミュータンス簡易菌測定テスト (ミューカウント) と歯垢の酸産生能テスト (カリオスタット) との関係は、結果より10以上のコロニー様付着確認が認められた者は、歯垢の酸産生能も高く、間食における糖分摂取の制限要指導に一致していると考えられる。そして管壁一面に細かなコロニー様付着確認、同時に大きなコロニー様付着も確認された者は、食生活全体から糖分摂取の制限要指導者として一致していると考えられる。現在、最終データ処理中のため、3種類の齶蝕活動性試験とDMF歯数との関係および歯周疾患の検査についての詳細は、当日の学会にて発表する。

歯周疾患のスクリーニング検査としてアンケート調査および唾液検査の有用性

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座

○高橋亮一、関野 愉、伊藤 弘、沼部幸博

Ability of the questionnaire and salivary testing screening of periodontitis

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

○TAKAHASHI Ryoichi, SEKINO Satoshi, ITO Hiroshi, NUMABE Yukihiko

【背景】

我々は平成20年度より、茨城県高萩市住民を対象とした歯周疾患の疫学調査を遂行してきた。歯周組織の臨床パラメータと生活習慣、自覚症状のアンケート結果、および採取した唾液の生化学的検査から関連性を分析し、歯周疾患のスクリーニング検査としての有用性を発表してきた(2012、秋季)。今回、追加調査を行い、CPIコードによるスクリーニング検査との比較を行い新たな知見を得たので報告する。

【材料および方法】

高萩市民208人(男性64人、女性144人、21歳~84歳、平均59.7±13.9歳、20歳代12名、30歳代11名、40歳代25名、50歳代35名、60歳代69名、70歳以上の52名)を対象とした。

全身既往歴、服用薬物、喫煙歴、ブラッシングの頻度と時間、使用器具、歯科医院の通院の有無や自身の口腔内の外観の評価、口腔内の自覚症状等を含めたアンケート調査を行った。その後、刺激唾液の採取および歯数、う蝕などの歯科的検査を行った。歯冠崩壊が著しい歯、インプラント埋入部位は除外し、その他全ての残存歯に、以下の歯周組織の臨床パラメータをWilliams probeを用いて測定した。

1. プラーク指数(Silness & Loe 1965)
2. 歯周ポケットの深さ(PPD)
3. ブロービング時の出血(BOP)の有無
4. 臨床的アタッチメントレベル(CAL)

上記1~4は1歯につき6歯面を測定した。ブロービング圧は20gとした。1名の歯周病専門医が全ての臨床パラメータの測定を行った。歯周疾患の基準を過去の文献を下記の様に定めた。

1. 軽度歯周炎 : PPD5mm以上の部位が2%以上、かつBOP陽性部位が5%以上
2. 中等度歯周炎 : PPD5mm以上の部位が5%以上、かつBOP陽性部位が10%以上
3. 重度歯周炎 : PPD5mm以上の部位が10%以上、かつBOP陽性部位が15%以上
4. 健全者 : 1~3以外の者

採取した唾液中の潜血反応を唾液検査紙(ペリオスクリーン、サンスター)を用いて、1ml中の遊離ヘモグロビン量を分析した。また乳酸脱水素酵素(以下LDHと略)量の分析を行った。

これらの項目とWHOのCPI(部分検査法)によるスクリーニング検査を特異度、敏感度、陽性的中率、陰性的中率、で比較した。

本研究は日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認に基づいて行われた。(EDT-ID-0084号)

【結果および考察】

自覚症状のアンケート結果、刺激唾液中の遊離ヘモグロビン濃度および、LDH濃度によるスクリーニングと従来のCPIによるスクリーニング検査と比べ明らかな有意性は見られなかった。今後は、これらの唾液検査を組み合わせることによる精度の高いスクリーニング検査を検証していきたい。

(会員外協力者)

茨城県高萩市歯科医師会

(参考文献)

*Tooth loss in 776 treated periodontal patients. John A. Martin, Roy C. Page et al. Journal of periodontology 2010; 81:244-250.

*Evaluation of a periodontal risk assessment model in subjects with severe periodontitis. Henrik Jansson, Ola Norderyd. Swedish Dental Journal 2008; 32:1-8.

共振型音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する臨床的効果

明海大学歯学部 口腔生物再生医工学講座 歯周病学分野
○大塚秀春, 市村 光, 谷田部一大, 難波智美, 林 丈一郎, 辰巳順一, 申 基詰

Clinical Effects of Resonance Type Sonic-Powered Toothbrush for Patients with Chronic Periodontitis

Meikai University School of Dentistry Division of Periodontology
Department of Oral Biology & Tissue Engineering

○Hideharu Otsuka, Koh Ichimura, Kazuhiro Yatabe, Satomi Namba,
Joichiro Hayashi, Junichi Tatsumi, Kitetsu Shin

【緒言】

近年、電動歯ブラシは、一般的な口腔清掃用具として広く普及するようになった。そのなかでも、15 Hz～20 kHzの周波数を用いる音波歯ブラシは、手用歯ブラシや超音波歯ブラシと比較してプラークの除去効果が高いと言われており、電動歯ブラシの主流になっている。共振型音波歯ブラシは、偏芯おもりをブラシのネック部に置くことによって固有の振動振幅を発生する機構が取られている。歯ブラシ本体の共振を利用することにより、効率良く毛先に力を伝えることを特徴にしている。共振を応用した電動歯ブラシは、模型モデルにおいて、低速でも効果的なプラーク除去が可能で¹⁾、歯周病患者や正確なブラッシング手技の行えない高齢者にも適しているものと考えられる。

本研究の目的は、共振型電動歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する臨床的効果を歯周病検査およびリアルタイム PCR法を用いた細菌検査から評価するものである。

【材料および方法】

被験者は、明海大学歯学部附属明海大学病院歯周病科に来院した慢性歯周炎患者 15 名(女性 9 人, 男性 6 人, 平均年齢 53.3±14.1 歳)とした。対象歯は、同顎の左右に 4mm 以上の歯周ポケットを有する小白歯とし、実験側には DENT EX systema VibratoCare の試作機、対照側には DENT EX systema 44M を用いて、被験者自身によるバス法でのブラッシングを 4 週間行った。検査項目は、ベースライン時、2 週、および 4 週時に、①PII(Plaque Index), ②GI(Gingival Index), ③PPD(Probing Pocket Depth), ④BOP(Bleeding on Probing), ⑤GCF(歯肉溝浸出液量), および⑥PCR 法による細菌検査(総細菌数, *P.g. Porphyromonas gingivalis*, *P.i. Prevotella intermedia*, *A.a. Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, および *T.f. Tannerella forsythia*)を行った。統計学的分析には、IBM SPSS Statistics version 20 を用いた。本研究の実験計画は、明海大学歯学部倫理委員会による承認(承認番号:A0917)を得ている。

【結果のまとめ】

- ① PII の 4 週時の比較において、実験群は、対照群に対して有意な低下がみられた($p<0.05$)。
- ② PII の部位別の比較では、頬舌側では有意差はみられなかったが、近遠心側では 2 週および 4 週時の実験群に有意な低下がみられた($p<0.05$)。
- ③ 歯肉の炎症状態の比較では、実験群の 4 週時の GCF に有意な低下がみられた($p<0.05$)。
- ④ 細菌検査による比較では、両群ともに総細菌数および歯周病原細菌数に経時的な減少がみられたが、両群間に有意差はみられなかった。

【考察】

共振型音波歯ブラシは、隣接面のプラークの除去に効果を示した。これは、模型を用いてプラークの除去効果をみた両角ら¹⁾の研究結果と一致する。実験群の 4 週時における GCF の有意な低下は、プラークの除去による炎症の軽減によるものと考えられる。総細菌数および歯周病原細菌数では、両群間の比較では有意差はみられなかった。慢性歯周炎患者に 1.6MHz の超音波歯ブラシを用いたわれわれの研究²⁾においても同様の結果がみられており、歯ブラシによる機械的プラークコントロールの限界を示すものとする。

【結論】

PII および GCF の有意な低下($P<0.05$)から、共振型音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する有用性が示唆された。

【参考文献】

- 1) 両角祐子ら：共振を応用した音波歯ブラシのプラーク除去効果.日歯周誌 51: 97-103, 2008
- 2) 大塚秀春ら：超音波歯ブラシの慢性歯周炎患者に対する臨床的効果.日歯保存誌 52 :199-207, 2009

ルシェロ歯間ブラシにおけるインナーアングルの使用感アンケート調査

株式会社ジーシー

○横沼 久美子, 徳井 香, 石原 容子, 熊谷 知弘

Questionnaire survey on usability of the inner-angle in ruscello interdental brush

GC Corporation

○Kumiko Yokonuma, Kaori Tokui, Yoko Ishihara, Tomohiro Kumagai

【目的】

歯間ブラシは、歯周病などにより歯間空隙が発現した部分に使用する清掃用具である。歯周病の発現は、前歯部よりも臼歯部の方が多く、また審美的な面からも臼歯部に使用することが望ましいと考える。

一方、臨床では器用さやモチベーションがネックになり、頬側からしか挿入しない患者が多い。本研究ではリスクの高い臼歯部におけるルシェロ歯間ブラシ インナーアングルの使用感と頬側からのみ挿入している方が舌口蓋側から挿入した場合の使用感について評価することを目的とした。

【材料と方法】

材料：ルシェロ歯間ブラシ

- ・先端部を付け替えることで使いやすい角度を選択できる。(図1)
- ・インナーアングルはルシェロ歯間ブラシと同様のカーブ形状とした。(図2)

・ハンドルの長さは、ブラシが第二大臼歯遠心まで届いた際でもしっかり握れるように120mmとした。

- ・ハンドル形状はしっかりと握れ、ブラシ部の方向がイメージしやすいように断面を扁平状にした。
- ・滑りにくいラバー部は30mmの幅を持たせ、持つ位置に必ずラバーが当たる様にした。

方法：日頃から臼歯部に歯間ブラシを使用している方を対象に使用感アンケートを実施した。

対象：社員とその家族 70名 男性43名 女性27名 年齢42.4才(±8.9)

期間：2013年6月3日～2013年7月5日

アンケート項目：1. 日頃の歯間ブラシの操作方向 2. 舌口蓋側からの使用感 3. 頬側からの使用感 4. ハンドルの持ちやすさ

評価方法：5点法 (5点：良い 4点：やや良い 3点：ふつう 2点：やや悪い 1点：悪い)

統計解析方法：Wilcoxonの符号付順位和検定

【結果】

1. 操作方向：頬側のみ59% (40名)、舌口蓋側のみ4% (3名)、2方向から操作しているが37% (25名)。
2. 舌口蓋側からの使用感 平均3.8点 3. 頬側からの使用感 平均3.8点 4. ハンドルの持ちやすさ 平均4.2点
頬側からのみ操作していた方の舌口蓋側からの操作の評価は平均4.0点であり、全体の舌口蓋側の使用感と比較し有意差が認められた。(p<0.05)

【結論】

ルシェロ歯間ブラシは、リスクの高い臼歯部に使用しやすく、持ちやすいハンドルであることが確認できた。特に頬側からしか挿入しなかった方に舌口蓋側から操作を指導する場合には、インナーアングルを選択することが有効であると示唆された。

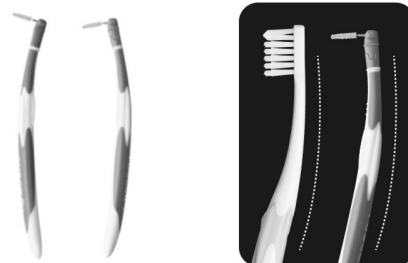


図1

アウターアングル (左) インナーアングル (右)

図2

ルシェロ歯間ブラシ (左) インナーアングル (右)

2 種次亜塩素酸電解水の細胞毒性に関する検討

¹鶴見大学歯学部探索歯学講座、²東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野、
³医療法人社団 きらり 紀尾井町プラザクリニック
○岡田彩子¹、マティン カイルール²、根深研一³、今井 奨¹、花田信弘¹、田上順次²

Cytotoxic Effects of Two Different Types of Hypochlorous Acid Electrolyzed Water

¹Department of Translational Research, School of Dental Medicine, Tsurumi University,
²Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,
³Medical Corporation KIRARI Kioicho Plaza Clinic
○Ayako OKADA¹, Khairul MATIN², Kenichi NEBUKA³, Susumu IMAI¹, Nobuhiro HANADA¹ and Junji TAGAMI²

【概要及び研究目的】

近年、電解水の歯科への応用に高い関心が寄せられている。電解水は、強い殺菌性を示す一方で、一般的に分解性が高く、残留性が殆ど無いため、安全性に関しても期待されており、口腔内への応用を想定した毒性試験の報告も増えてきた。しかし、近年、電解水の開発は多種に亘り、殺菌因子が有効塩素で一致していても、原材料や製造方法は電解水ごとに異なり、また生成される液性も様々であるため、安全性に対する慎重な検討が必要である。

したがって、本研究では2種次亜塩素酸電解水を選択し、KB細胞に及ぼす毒性を検証した。

【材料及び方法】

試用溶液

試用溶液として、以下の2種の次亜塩素酸電解水を選択した；NaClと炭酸水素水を無隔膜電解槽で生成した次亜塩素酸電解水I（最大有効塩素濃度；600 mg/L、pH；8.01 ± 0.23、パーフェクトペリオ株式会社）及び、NaClと純水を3室ダブルイン型電解槽で生成した次亜塩素酸電解水II（最大有効塩素濃度；140 mg/L、pH；6.9 ± 0.1、ハイクロテック・メディカル・ジャパン株式会社）を選択した。本実験では、次亜塩素酸電解水Iを希釈し、有効塩素濃度は125、250、400 mg/Lに、次亜塩素酸電解水IIを希釈し、125 mg/Lに調整した。尚、対照群として3%過酸化水素水を用いた。

細胞毒性試験

KB細胞を10%ウシ胎児血清及び抗生物質含有DMEMにて、37℃、5%CO₂、95%Air条件下にて3日間培養し、細胞がコンフルエントになった時点で、実験に用いた（1.2 × 10⁶ cells/ml）。各試用溶液を20秒間作用させ、新たな培地と交換した。作用直後、3、5及び7日目の細胞に、MTT試験（MTT Cell Growth Assay Kit, Millipore Corporation）及び蛍光顕微鏡観察による生死判定により検証した。

【結果及び考察】

次亜塩素酸電解水I；蛍光顕微鏡観察による生死判定の結果、作用直後は、30%程度の死細胞が認められたが、5日目以降では全細胞に死滅が認められ、細胞数も減少していた。MTT試験の結果では、作用直後から5日目までは吸光度の減少が認められたが、7日目には僅かな上昇がみられた。また、有効塩素濃度に依存して、細胞傷害性は高まった。

次亜塩素酸電解水II；蛍光顕微鏡観察による生死判定の結果、全日程において非処理群と比較し、僅かに死細胞は増加したが、80%以上の生細胞が認められた。MTT試験の結果では、作用直後は非処理群と比較し僅かに減少したが、3日目以降は、作用直後と比較し1.5倍以上上昇した。

3%過酸化水素水；蛍光顕微鏡観察による生死判定の結果、作用直後で50%以上の死細胞が認められ、3日目以降では全細胞が死滅していた。細胞形態は、3日目以降は扁平形態が失われ、付着能の低下により剥離が生じ、細胞数が減少していた。MTT試験の結果では、吸光度は著しく低下し、非処理群の15%以下であった。

【結論】

本実験条件において、2種の次亜塩素酸電解水は、3%過酸化水素水と比較し、細胞毒性が低いことが認められた。しかし2種間で比較した場合、有効塩素濃度は一致しているにも関わらず、細胞に及ぼす影響は著しく異なった。2種間で原材料及び製造方法などが異なるため、生成された次亜塩素酸電解水の純度或いは安定性に差が生じたためと考えられる。

電解水の多様化に伴い、慎重な安全性試験が重要であり、本研究で選択した2種次亜塩素酸電解水に関しても、今後さらなる検証をしていく必要がある。

歯科用合金の義歯洗浄剤溶液中における変色とイオン溶出

東京医科歯科大学歯学部口腔保健学科口腔保健工学専攻, *東京医科歯科大学生体材料工学研究所
○池田正臣, 土居寿*, 上條真吾, 安江透, 富川紘一, 岩崎直彦, 大木明子, 杉本久美子, 高橋英和, 鈴木哲也

Tarnish and ion release of dental alloys in denture cleanser solutions.

Course for Oral Health Engineering, Department of Oral Health Care Sciences, Faculty of Dentistry,
Tokyo Medical and Dental University.

*Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

○Ikeda M, Doi H*, Kamiyjo S, Yasue T, Fukawa K, Iwasaki N, Oki M, Sugimoto K, Takahashi H, Suzuki T

【目的】

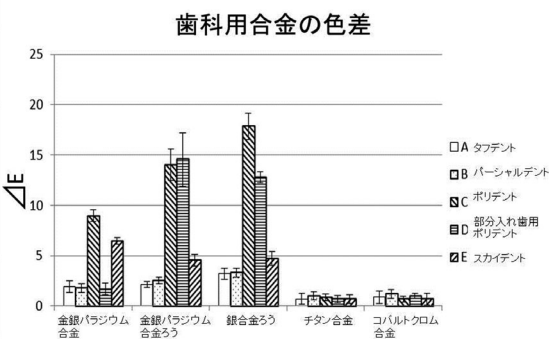
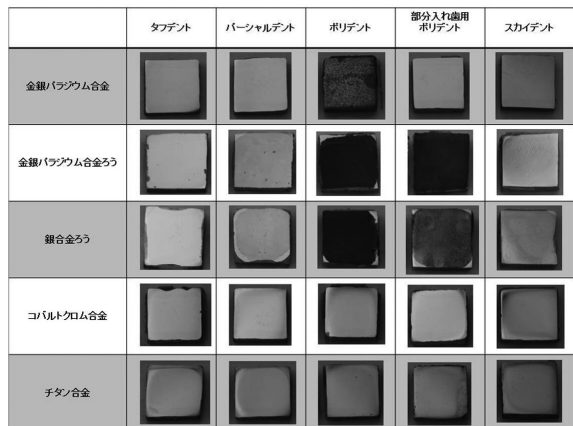
義歯の維持装置や床は金銀パラジウム合金, コバルトクロム合金, チタン合金など様々な歯科用合金を用いて製作される。また, ろう付け用合金を用いて維持装置と床を連結することも少なくない。一方, 義歯洗浄剤には防錆材, 漂白剤を配合したものがあり, 就寝中に義歯を浸漬し洗浄する方法が一般的である。義歯洗浄剤を用いると義歯の維持装置やろう着部の金属が変色するだけでなく, 金属イオンが溶出し腐食や金属アレルギーの原因となる。本研究では市販の各種義歯洗浄剤に歯科用合金を浸漬し, 金属イオン溶出濃度の比較と金属表面の変色を観察したので報告する。

【材料と方法】

義歯洗浄剤としてタフデント (A), パーシャルデント (B), ポリデント (C), 部分入れ歯用ポリデント (D), スカイデント (E) の5種を, 歯科用合金として金銀パラジウム合金, 金銀パラジウム合金ろう, 銀合金ろう, コバルトクロム合金, チタン合金の5種を実験に用いた。金銀パラジウム合金, コバルトクロム合金, チタン合金を通常に従い 10×10×2mmの板状に铸造し, 合金表面を#2000 耐水研磨紙にて面出した後, ダイヤモンドペーストにて鏡面研磨したものを, 金銀パラジウム合金ろう, 銀合金ろうはコバルトクロム合金板にろうを盛り上げた後, 同様に鏡面研磨したものを各8個ずつ製作し, 研磨面以外は接着操作後, 常温重合レジンにてコーティングし, 浸漬用の試片として用いた。試片は各種洗浄剤に24時間浸漬した後, 積分分光測色計を用いて色差を, 高周波プラズマ発光分析装置を用いて溶出イオン濃度を測定した。測定結果はWilcoxon rank sum test with Bonferroni correctionを用いて危険率5%にて検定を行った。

【結果と考察】

金属表面の測定結果から, 金銀パラジウム合金ろうと銀合金ろうでは, C, Dの色差は10以上を示し, 次いでEの色差は約4.5であり, A, Bの色差は2.1~3.3であった。金銀パラジウム合金では, Cの色差は約8.9を示し, 次いでEの色差は約6.4を, A, B, Dの色差は1.7~1.9であった。コバルトクロム合金, チタン合金では, 各洗浄剤とも色差は0.6~1.2であった。金属イオン溶出濃度測定結果から, 各洗浄剤とも銀合金ろうからCuとAgの溶出が多く認められ, 次いで金銀パラジウム合金ろうと金銀パラジウム合金からもCuとAgの溶出が認められた。また, コバルトクロム合金, チタン合金からはイオンの溶出は認められなかった。A, Bの変色が少なかったのは, 酸化還元電位およびpHの違い並びに, 防錆材, 漂白剤などの組成が色差の結果に影響したためと考えられる。



がん性疼痛モデルマウスにおける血小板活性化因子(PAF)阻害薬の鎮痛作用

¹広島大学大学院医歯薬保健学研究院健康増進歯学, ²広島文化学園大学大学院看護学研究科薬理学,
³広島大学大学院医歯薬保健学研究院歯周病態学, ⁴日本薬科大学薬物治療学
○本山直世¹, 森田克也², 栗原英見³, 土肥敏博⁴

Potent analgesic action of platelet-activating factor (PAF) antagonists in a bone cancer pain model in mice

¹Dept. Dent. Sci. Health Promot., Hiroshima Univ. Inst. Biomed. & Health Sci., ²Dept. Pharmacol., Hiroshima Bunka Gakuen Univ., ³Dept. Periodontal Medicine., Hiroshima Univ. Inst. Biomed. & Health Sci., ⁴Dept. Clinical Pharmacol., Nihon Pharmaceutical Univ.
○Naoyo Motoyama¹, Katsuya Morita², Hidemi Kurihara³ and Toshihiro Dohi⁴

【緒言】

「痛み」はQOLを最も低下させる因子の一つであり、「がん」はその代表の一つである。がん患者の38%が痛みを訴え、末期患者では約70%の患者が痛みを持っているとされている。現在のがん治療において、がん性疼痛およびがん治療に伴う難治性疼痛の克服が第5番目のがん治療と位置づけられ、その克服が重要な課題となってきている。がん患者の痛みの中でも治療が最も困難なのは、神経障害性疼痛である。この中にはがん治療（化学療法、放射線療法、手術療法など）に起因する神経障害性疼痛もあるが、主体はがんによる末梢神経の圧迫・浸潤によるもので、がん疼痛治療の主軸をなすオピオイドには殆んど反応せず、副作用に悩まされる。がん性疼痛は種々の要因によって成り立っており、侵害性受容疼痛、炎症性疼痛、神経障害性疼痛、情動、感情等が複雑に影響している。これらが病状の経過と共に複雑に変化するため、個々の要素を抑制するだけではがん性疼痛を緩和することができない。現状では、従来の鎮痛薬が奏功しないため、オピオイド類や、抗うつ薬、抗てんかん薬等鎮痛補助薬が用いられているが、それらの有効性、使用には限界があり、新しい治療法・治療薬の開発が待たれている。私達は、これまで血小板活性化因子(PAF)阻害薬が原因の異なる各種難治性疼痛モデル動物で長期間持続性の強力な鎮痛作用を有することを見出した(第130・131回日本歯科保存学会, Eur J Pain, 2013)。本研究では、広い鎮痛スペクトルを有するPAF阻害薬のがん性疼痛緩和作用について検討を加えた。

【方法】

実験には生後6週齢、25~30gのC3H/HeN系雄性マウスを用い、Minamiら(J. Pharmacol. Sci., 2009)の方法に準拠し、C3H/HeNマウス左大腿骨骨髓内に骨溶解性肉腫細胞NCTC2472を移植してマウス大腿骨がんモデル(FBCマウス)を作製した。がん性疼痛は①アロディニアスコア; ペイントブラシで軽く患部を撫でる触覚刺激に対する逃避行動(疼痛関連行動)の程度をスコア化したもの、②アロディニア閾値; von Frey hairsフィラメントによる患肢足趾刺激に対するマウス後足の逃避行動閾値、③Guarding behavior(安静時に患肢を持ち上げる行動); 患肢の防御行動(guarding behavior)、即ち、患肢を床から持ち上げている防御行動の時間、④Limb-use abnormality(体動時に患肢を不自然に使う行動); マウスの歩行異常の程度をスコア化したものを用い評価した。評価は薬物投与前、及び投与後の特定の時点で実施した。研究は観察者に処置群を判別できない環境下で行った。

【結果および考察】

PAF阻害薬の静脈内投与は、FBCマウスにおいて長期間(5~7日間)持続する強力な疼痛緩和作用を認めた。この効果は、モルヒネと比較してはるかに少量で長期間持続した。PAF阻害薬の反復投与は疼痛の発生を抑制し、その効果に耐性を生じなかった。PAF阻害薬の脊髄腔内投与および脊髄PAF受容体ノックダウンによっても長時間持続する鎮痛効果が得られた。腫瘍細胞移植マウスで脊髄PAF合成酵素(LPCAT2)の誘導を認めた。従って、がん性疼痛の発症と維持に脊髄でPAFが関係しており、PAF阻害薬の鎮痛作用の機序には、少なくとも脊髄のPAF受容体の特異的阻害が含まれることが示唆された。PAF阻害薬は低用量でモルヒネの鎮痛作用を強力に増強したが、モルヒネの脱糞抑制作用には影響しなかった。併用によりモルヒネの減量が可能になり、副作用発現(特に問題となる便秘)がもはや問題とならない低用量のモルヒネで十分な疼痛緩和が得られることを明らかにした。

以上、PAF阻害薬は骨がん性疼痛において長期間持続する強力な鎮痛効果を示すことを明らかにした。その機序に脊髄PAF受容体の特異的阻害が含まれること、PAF阻害薬とオピオイド類との併用はがん性疼痛の緩和治療に有益である可能性を示した。

ヒト骨膜細胞の血管新生促進作用の検証

1)新潟大学医歯学総合研究科 歯科基礎移植再生学分野

2)新潟大学医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

○小林 美登^{1,2)}、川瀬 知之¹⁾、奥田 一博²⁾、吉江 弘正²⁾

The angiogenic effects of human periosteal cells

1)Division of Oral Bioengineering, Department of Tissue Regeneration and Reconstitution, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University

2)Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Institute of Medicine and Dentistry, Niigata University

○Mito Kobayashi¹⁾²⁾, Tomoyuki Kawase¹⁾, Kazuhiro Okuda²⁾, Hiromasa Yoshie²⁾

【背景・目的】

ヒト骨膜を組織片培養して得られる培養骨膜シートは、幹細胞様細胞を含むヘテロな細胞集団および蓄積した ECM との複合体である。

組織再生を目的とした細胞治療の細胞ソースとしては、骨髄をはじめとした多様な組織の利用がこれまで提唱されてきている。骨膜は口腔内から比較的低侵襲に採取することが可能であり、高い骨形成能が期待されることから、特に歯科領域において有用な細胞ソースであると考えられる。我々は、ヒト培養骨膜シートを歯周組織再生療法に用いた際の歯槽骨再生能について報告してきた。

培養骨膜シートは *in vitro* で良好な石灰化能を示しており、マウスを用いた *in vivo* 実験でも骨再生を促すことが認められている。一方で、生体における骨膜細胞の骨再生における機序については未だに不明な点が多い。そこで本研究では生体における血管の走行を肉眼で直接観察・評価できる鶏胚漿尿膜法 (CAM assay) を用いて、組織再生に重要な役割を担う血管新生に対する骨膜細胞の影響を検証することとした。

【材料および方法】

培養ヒト分散骨膜細胞は継代数 5~6 の時点でコンフルエントまで培養後剥離し、 5×10^5 cell/ml の細胞懸濁液として用いる。対照群として Gin-1 (ヒト歯肉線維芽細胞) 細胞および細胞を含まない PBS(-) を準備した。

各群ともに $40 \mu\text{l}$ を、インテグラン (ウシ由来アテロコラーゲン) に滴下したものを試料として用いた。受精 11 日目の鶏受精卵卵殻を気室上部で直径 1.6mm の円形に開窓し、露出した鶏胚漿尿膜上に試料を静置した。その後 37°C 加湿下にて 5 日間孵卵を行う。孵卵 5 日目に試料周囲における漿尿膜での血管の走行を肉眼にて観察し、血管数の計測を行った。血管の描出のため観察に際しては漿尿膜下には白色の乳化剤を注入する。観察後、漿尿膜を切除・ホルマリン固定後パラフィン切片を作成し H.E 染色および免疫染色による組織学的評価を行った。

【結果および考察】

試料設置 5 日目の鶏胚漿尿膜において、ヒト骨膜細胞群では試料周囲に放射状の微細な血管走行が確認でき、試料周囲の血管数は Gin-1 群、PBS 群と比較して有意に多かった。組織学的には細胞添加群で PBS 群と比較して試料周囲組織に多数の血管様構造が認められるが、骨膜細胞群においては Gin-1 細胞群より成熟した α -SMA 陽性の血管が多数認められた。ヒト骨膜細胞は鶏胚漿尿膜における血管新生を誘導し、血管の成熟を助けることが示唆された。

動脈硬化易形成性マウスにおける加齢の影響

松本歯科大学歯科保存学第一講座

○海瀬聖仁¹⁾, 武藤昭紀¹⁾, 窪川恵太¹⁾, 三木 学¹⁾, 岩井由紀子¹⁾, 石岡康明¹⁾, 吉成伸夫¹⁾

The effect of aging in the atherosclerotic mice

¹⁾Department of Periodontology, School of Dentistry Matsumoto Dental University
○Kiyohito Kaise¹⁾, Akinori Muto¹⁾, Keita Kubokawa¹⁾, Manabu Miki¹⁾, Yukiko Iwai¹⁾, Yasuaki Ishioka¹⁾
and Nobuo Yoshinari¹⁾

【目的】

高齢者に多く認められる動脈硬化症は、脂質異常症や糖尿病等の危険因子に加え、加齢という特有の因子が関与することが報告されている。また、加齢は、心臓血管疾患(cardiovascular disease: CVD)に対しても危険因子であるが、加齢と、CVDの原因となる動脈硬化症を結びつけるメカニズムはまだ十分に理解されていない。一方、加齢に伴う各臓器での慢性炎症の進行が、生活習慣病の発症・進展の原因の一つとして報告されている。動脈硬化性疾患は、マクロファージを主体とした炎症反応によりアテロームを形成し、血管内腔の狭窄や閉塞をきたすことが解明されている。現在、日本において、動脈硬化症が原因とされる疾患が死因の30%を占めており、さらに、要介護高齢者における寝たきりの原因の約40%が、心疾患や脳血管疾患である。このように、高齢化がすすむ日本において、動脈硬化症は健康寿命の時代のうえで大きな問題である。

そこで、今回高週齢の動脈硬化易形成性 ApoE ノックアウトマウスを用いて、動脈硬化症の進展、血清アミロイド A(SAA) に対する加齢の影響を検討した。

【材料と方法】

当施設で継代、繁殖させた生後 20, 40, 60, 80 週齢の動脈硬化症易形成性マウス ApoE ノックアウトマウスを使用した。雄、雌群の 2 群に分け、ともに各週齢 6 匹ずつ、計 48 匹を実験に供した。なお、食餌と飲料水に関しては、両群とも自由に摂取させた。アテローム硬化症の進行程度を把握する為、動脈硬化部の検出を行った。すなわち、大動脈内腔のアテローム性動脈硬化病変部における脂肪沈着部位を Sudan IV により確認し、画像解析ソフト Image J (ver. 1.43, NIH, USA) を用いて大動脈の中での動脈硬化病変部位率を算出、解析した。また、雌群で心臓より血液を採取、血清を遠心分離機により分離し、ELISA 法にて血清 SAA 濃度を測定した。

【結果】

すべての群では継時的に体重増加がみられ、雌群の 20 週齢と 60 週齢、20 週齢と 80 週齢に有意な差が認められた。Sudan IV 染色による脂肪沈着部位では、経時的な染色部位の増大が認められた。動脈硬化病変面積比率は、雌群より雄群の方が高く、両群とも 20, 40, 60 週齢と経時的に増加したが、80 週齢で減少が認められた。さらに、全ての週齢において雄群での血中 SAA 濃度は、20, 40, 60, 80 週齢と経時的に上昇が認められた。

【考察】

以上の結果より、動脈硬化易形成性 ApoE ノックアウトマウスは、加齢の進行に伴い、アテローム性動脈硬化病変が増大し、全身的な炎症状態を示す血中 SAA も増加することが認められた。80 週齢における動脈硬化病変面積比の減少は、病変が重度なマウスは、80 週齢に達する前に死亡し、脂肪沈着の割合が減少したと思われる。

今後は、アテローム病変部位での SAA レセプターの発現を分子生物学的に検討し、詳細なメカニズムを解明していく予定である。

体性感覚誘発磁場解析による口唇機能の加齢変化に関する研究

東北大学大学院歯学研究科歯科保存学分野¹ 歯学イノベーションリエゾンセンター²
東京医科歯科大学歯学総合研究科顎口腔外科学分野³

○日原大貴¹, 金高弘恭², 小枝聡子³, 齋藤正寛¹

Age-related change evaluation in the lip function by somatosensory evoked magnetic fields analysis

Division of Operative Dentistry¹, Liaison Center for Innovative Dentistry²,
Tohoku University Graduate School of Dentistry

Graduate School of Tokyo Medical and Dental University Oral and Maxillofacial Surgery³

○HIHARA Hiroki¹, KANETAKA Hiroyasu², KOEDA Satoko³, SAITO Masahiro¹

【研究目的】 日常生活の基本機能である摂食嚥下機能において、口唇の働きは大変重要である。しかしながら、その加齢変化に関しては不明な点が多く、特に高齢者の流涎や食べこぼしには口唇閉鎖機能や口唇感覚の低下が関与していると考えられているが、脳機能学的観点から口唇機能の加齢変化について詳細に検討した報告はなかった。そこで本研究では、若年者と高齢者それぞれに対し、口唇刺激時に大脳皮質に認められる反応を時間分解能、空間分解能に優れている脳磁計 (Magnetoencephalography, MEG) を用いて計測し、刺激と同側および対側半球の体性感覚誘発磁場第一成分と第二成分について、加齢による変化が認められるか検討することを目的とした。

【実験方法】

1. 対象者

本研究の趣旨を説明し、インフォームドコンセントが得られた健常ボランティアを対象とした。若年者群 (平均年齢 22.52 歳) 31 名 (男性 19 名, 女性 12 名) の 62 半球、高齢者群 (平均年齢 71.03 歳) 29 人の (男性 17 名, 女性 12 名) 58 半球とし、若年者群および高齢者群とも右利きで神経系疾患の既往がない者を選択した。なお本研究は東北大学大学院歯学研究科研究倫理委員会の承認を得ている。(受付番号: 23-20 課題名: 顎顔面領域刺激における大脳皮質一次感覚野一次成分の検討)

2. 方法

左下唇に持続時間 0.3ms の刺激を 0.7Hz で 600 秒間加え、脳磁計測システム (PQ1160C; 横河電機社製) を利用し、口唇刺激時の刺激と同側および対側半球の体性感覚誘発磁場を計測した。頂点潜時が約 15ms 付近の第一成分と考えられる反応 N15m、および頂点潜時が約 21ms 付近の第二成分と考えられる反応 P21m の信号源を単一電流双極子モデルで推定した。信号源を被験者の MR 画像に表示し解剖学的中心溝に推定できた場合のみを評価の対象として、反応潜時と信号強度について若年者群および高齢者群の 2 群間での比較を行った。

【結果】 左下唇刺激時の第一成分 N15m は、対側半球 (右側半球) の解剖学的中心溝にのみ信号源が推定され、同側に反応は見られなかった。頂点潜時は若年者群と比較し高齢者群で統計的に有意に長くなる傾向がみられ、信号強度に関しては若年者群と比較し高齢者群で統計的に有意に強くなる傾向が認められた。第二成分の P21m も対側の解剖学的中心溝にのみ信号源が推定され、同側には反応が見られなかったが、頂点潜時および信号強度とも若年者群と高齢者群で統計的に有意差は認められなかった。また、同側半球 (左側半球) の解剖学的中心溝に信号源が推定された最初の頂点潜時の反応は 40-60ms であり、若年者群および高齢者群とも頂点潜時および信号強度ともに両群間で統計的に有意差は認められなかった。

【考察】 口唇刺激時の体性感覚誘発磁場一次成分 (対側) は加齢により変化することが示唆された。潜時の延長は加齢による末梢神経の機能低下、強度の増大は加齢による GABA 抑制系の減少が理由として考えられ、このような原因から高齢者における口唇機能に関する様々な問題点が生ずる可能性が考えられた。

【結論】 脳磁計 (Magnetoencephalography, MEG) を用いることで若年者と高齢者において、口唇刺激時の体性感覚の加齢による変化を計測することが可能であった。この結果は中枢における加齢による口唇機能の低下を示唆するものであると考えられる。脳磁計測は体性感覚における加齢変化の機能測定において有用であり今後、口腔内の他の部位においても有用であることが示唆された。

骨粗鬆症モデル動物における炭酸ガスレーザーの組織学的研究

1, 奥羽大学 歯学部 歯科保存学講座 保存修復学分野
2, 明海大学 歯学部 機能保存回復学講座歯内療法学分野
○和田 康弘¹、門倉 弘志¹、西村 翼¹、山崎 崇秀¹、菊井 徹哉¹、横瀬 敏志²

Effects CO2 laser irradiation in ovariectomy mice(osteoporosis model animal)

1, Division of Operative Dentistry Department of Conservative Dentistry
Ohu university school of dentistry

2, Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences,
Meikai University School of Dentistry

○Yasuhiro Wada¹, Hiroshi Kadokura¹, Tubasa Nishimura¹, Takahide Yamazaki¹, Tetsuya Kikui¹, Satoshi Yokose²

【目的】我々は、先の保存学会にて骨粗鬆症モデル動物に炭酸ガスレーザーを Low-Level Laser Therapy (LLLT) 条件で照射することにより骨の形成が低下していることを報告している。骨細胞が骨形成と吸収に関与していることが注目され、骨細胞による分泌蛋白質 sclerostin の作用についての究明が徐徐になされている。この sclerostin は骨の過形成を伴う遺伝性疾患、sclerosteosis と van Buchem 症候群に骨細胞による分泌蛋白質 sclerostin の遺伝子 SOST の欠失変異が骨の形成に関与していることから発見された骨細胞の分泌蛋白質である。我々も骨細胞の働きに注目し炭酸ガスレーザーを照射した骨における sclerostin 蛋白質発現について比較検討し、骨粗鬆症動物では sclerostin 発現が低下していることを報告した。骨細胞とアポトーシス（細胞死）には骨吸収がおり、その後の骨形成へと続く骨のリモデリングにおいて重要な働きをしていると考えられている。さらにエストロゲン欠乏による骨粗鬆症モデル動物では骨細胞のアポトーシスが亢進しているとの報告があり、骨細胞のアポトーシスと骨の形成への関係における炭酸ガスレーザーの働きについて検討することとした。

【方法】実験動物には 20 週齢 雌 ICR マウスを用いた。骨粗鬆症モデル動物の作製には、奥羽大学動物実験の規定に従い、卵巣摘出術を行った。術後 4 週間経過したマウスを用い、骨量の低下を確認するために二重 X 線吸収測定法 (DEXA) を用いて大腿骨の骨塩量測定を行った。レーザー照射実験には以下の 2 群を用いた。卵巣摘出を行った OVX 群にレーザー照射を行った OVX+レーザー群、擬似手術を行った Sham 群にレーザー照射を行った Sham+レーザー群を用いた。それぞれの群を軟エックス線やヘマトキシリン染色にて新生骨量の組織学的解析、骨細胞についての骨形態計測を用いた解析を行った。また免疫組織染色を行い骨細胞における sclerostin 蛋白質発現とアポトーシスとして Bcl-2 蛋白質発現について比較検討を行った。

【結果】OVX 群と Sham 群の骨塩量の比較では OVX 群で骨塩量が減少していることが確認された。LLLT 条件のレーザー照射実験では OVX+レーザー群に顕著な骨造成は認められなかった。Sham+レーザー群では新生骨の増生が認められた。OVX+レーザー群と Sham+レーザー群の骨細胞の sclerostin 蛋白質発現にも有意差が認められた。骨細胞のアポトーシスについて OVX+レーザー群ではアポトーシスが増加している傾向が示唆された。

【考察】卵巣摘出術を行いエストロゲン減少に伴う、骨粗鬆症モデルマウスでは、レーザーによる著明な骨造成を確認出来なかった。新生骨形成においては OVX+レーザー群では骨量の増加が抑制されている傾向が示唆された。