

演題 A6 (歯周)
【2504】

ヒト歯根膜細胞のストレス応答におけるオートファジーの関与

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

○中村 友美、山下 元三、池上 久仁子、柳田 学、竹立 匡秀、山田 聡、北村 正博、村上 伸也

Involvement of Autophagy in the Stress Response of Human Periodontal Ligament Cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, Osaka, Japan

○NAKAMURA TOMOMI, YAMASHITA MOTOZO, IKEGAMI KUNIKO, YANAGITA MANABU, TAKEDACHI
MASAHIDE, YAMADA SATORU, KITAMURA MASAHIRO, MURAKAMI SHINYA

【目的】

歯周組織は細菌感染や咬合圧刺激などの環境ストレスに絶えず暴露されており、歯根膜細胞はこれらの外的環境ストレスに適応することにより歯周組織の恒常性を維持している。オートファジーは、細胞内蛋白分解機構の一つであり、栄養状態に適応して自己の細胞内成分をアミノ酸などへ分解し、エネルギー代謝を調節することで細胞レベルでの自律機構を担っている。近年、オートファジーが細菌感染や酸化ストレス刺激時に作動し、細胞のみならず臓器、個体レベルでの生体の環境適応機構として働くことが明らかとなってきた。本研究では、ストレスに対する歯根膜細胞の適応システムを明らかにするために、さまざまな環境ストレスによりヒト歯根膜細胞に誘導されるオートファジーの動態を *in vitro* にて解析した。

【方法】

初代培養ヒト歯根膜細胞 (ScienCell research laboratories より購入。以下 HPDL) の継代培養数 P8 以下のものを以下の実験に供した。GFP 標識 LC3 発現ベクターを HPDL に遺伝子導入し (GFP-LC3 発現 HPDL)、オートファゴソーム形成過程をイメージング解析した。

1. 栄養飢餓ストレスが HPDL のオートファジーに与える影響

HPDL を無血清下で、アミノ酸非含有である Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS) を用いて培養し、オートファジーの動態を透過型電子顕微鏡 (TEM) にて解析した。また、GFP-LC3 発現 HPDL のオートファゴソーム形成を蛍光顕微鏡で観察した。さらにウエスタンブロット (WB) 法にて、LC3 I/II、p62/SQSTM1 の発現をモニタリングすることで生化学的な検討を行った。

2. 酸化ストレスや炎症性サイトカインが HPDL のオートファジーに与える影響

HPDL と GFP-LC3 発現 HPDL を、 H_2O_2 、 $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ を添加した培地で培養し、オートファジーの動態を蛍光顕微鏡ならびに WB 法を用いて解析した。

3. オートファジーが HPDL の活性酸素種 (ROS) 生成に与える影響

オートファジーが HPDL の細胞内 ROS に及ぼす影響を検討するため、オートファジー促進剤あるいは抑制剤添加下の細胞内 ROS 産生量を、ROS 検出用試薬 (Invitrogen) を用いて、蛍光顕微鏡ならびにマイクロプレートリーダーにて解析した。また、オートファジー抑制下でのミトコンドリアの形態変化を TEM で観察した。オートファジー促進剤として Rapamycin (mTOR 阻害剤)、オートファジー抑制剤として E-64d、Pepstatin A を用いた。

【結果】

栄養飢餓ストレスにより、HPDL の TEM による観察ではオートファゴソームの増加を認め、GFP-LC3 発現 HPDL においては、蛍光顕微鏡で GFP-LC3 の集積として観察されるオートファゴソームの輝点の増加を認めた。WB 法では、オートファジーのマーカーである LC3II の発現上昇と、選択的基質である p62/SQSTM1 の減少を認めた。

酸化ストレスや炎症性サイトカインにより、HPDL のオートファジーは誘導された。また、オートファジーの抑制は細胞内 ROS の蓄積を惹起し、異常な形態を呈するミトコンドリアの増加をもたらした。

【結論】

歯根膜細胞では、栄養飢餓や酸化ストレス、炎症性サイトカインなどの環境ストレスへの暴露に際し、オートファジーが能動的に作動する。この細胞内応答システムは ROS 生成の制御を介して、外的な環境ストレスへの適応に寄与していることが示唆された。

演題 A7 (歯周)
【2504】

新規アメロジェニン会合分子 Grp78 がヒト歯根膜細胞に及ぼす影響
九州大学 大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯周病学分野
○豊田 敬介、後村 亮、福田 隆男、讃井 彰一、西村 英紀

Involvement of Grp78, novel amelogenin-binding protein, in cellular physiology of HPDL cells by amelogenin.
Department of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University
○TOYODA KYOSUKE, ATOMURA RYO, FUKUDA TAKAO, SANUI TERUKAZU, NISHIMURA FUSANORI

【目的】 歯周組織の再生にエナメル基質タンパク質(EMD: Emdogain Gel)が用いられ良好な結果が報告されている。アメロジェニンは EMD の 90%以上を占める主要成分であり、我々は、同分子が再生に果たす分子基盤を解明するために、プロテオーム解析による骨芽細胞における新規アメロジェニン会合分子の検索を行ってきた。その結果、新規アメロジェニン会合分子 Grp78 を同定し、さらに Grp78 がアメロジェニンの骨芽細胞内への取り込みと細胞増殖に重要であることを報告している。(Fukuda et al., PLoS One 2013;8(10):e78129) 歯周組織再生に歯根膜の再生が必須であることを考慮し、本研究では 1-17 ヒト歯根膜細胞株におけるアメロジェニン刺激に対し、アメロジェニン会合蛋白 Grp78 が及ぼす影響について検討した。

【材料及び方法】(1) 歯根膜細胞におけるアメロジェニン刺激および Grp78 が関与する pathway の解析: ヒト歯根膜細胞株 (cell line 1-17)を Grp78 のノックダウンの有無に分け、amelogenin (10 μ g/mL)で 4 時間刺激後、マイクロアレイ (illumina 社 HumanHT-12 v4chip)にて発現変動遺伝子群の解析を行った (DAVID software)。(2) 歯根膜細胞における Grp78 の発現分布の検討: 細胞を免疫蛍光染色時に細胞膜透過処理 (digitonin: 50mg/mL)の有無に分け、細胞質内と細胞膜上の Grp78 の発現を共焦点蛍光顕微鏡で観察した。(3) アメロジェニンと Grp78 の会合: GST pull down assay で歯根膜細胞内の Grp78 とアメロジェニンの結合を検討した。(4) アメロジェニンの細胞内取り込み時の Grp78 の局在確認: 歯根膜細胞へ amelogenin 刺激の前後 (0, 10 min)で、細胞膜上におけるアメロジェニンと Grp78 の局在を共焦点蛍光顕微鏡で比較検討した。(5) アメロジェニンと Grp78 が細胞遊走に及ぼす影響の検討: Grp78 を強発現、または sGrp78 をノックダウンし、amelogenin 刺激時の細胞遊走 (wound healing assay) および細胞増殖 (WST-8 assay、Ki-67 染色)について確認した。

【結果】(1) アメロジェニン刺激により TGF- β 経路の活性化し、さらにアメロジェニン刺激と Grp78 発現量が細胞遊走関連遺伝子群の発現に影響することを確認した。(2) 歯根膜細胞において Grp78 が細胞質のみならず、細胞膜上にも発現している事を確認した。(3) アメロジェニンが歯根膜細胞の Grp78 と in vitro で結合することを確認した。(4) 歯根膜細胞において細胞内へ取り込まれ、細胞膜上に発現している Grp78 と共局在している事を確認した。(5) 歯根膜細胞において、アメロジェニン刺激による細胞遊走能の促進を認めたが、Grp78 強発現による更なる亢進が確認された。しかし、Grp78 のノックダウン時には、アメロジェニン誘導性の細胞遊走促進効果は消失した。歯根膜細胞の細胞増殖においては、アメロジェニン刺激および Grp78 強発現に関わらず有意差は認められなかった。

【考察】マイクロアレイ解析から予想された通り、歯根膜細胞におけるアメロジェニンの細胞遊走促進効果は Grp78 依存性であることが確認された。また、歯根膜細胞のアメロジェニンの細胞内取り込み時に、細胞膜上に発現している Grp78 とアメロジェニンが共局在していることから、両者の会合が細胞遊走のシグナルに影響を及ぼすことが示唆された。今後はその詳細なメカニズムに関して、更なる検討が必要である。

【結論】 ヒト歯根膜細胞において、アメロジェニンは Grp78 を介して細胞遊走を促進させることが示唆された。

演題 A8 (歯周)
【2504】

老化ヒト歯根膜細胞における microRNA 発現の網羅解析

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

○池上 久仁子、山下 元三、中村 友美、東山 弥生、阪下 裕美、山本 智美、柳田 学、野崎 剛徳、山田 聡、北村 正博、村上 伸也

MicroRNA expression profile in senescent human periodontal ligament cells.

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, Osaka, Japan

○IKEGAMI KUNIKO, YAMASHITA MOTOZO, NAKAMURA TOMOMI, HIGASHIYAMA YAYOI, SAKASHITA HIROMI, YAMAMOTO SATOMI, YANAGITA MANABU, NOZAKI TAKENORI, YAMADA SATORU, KITAMURA MASAHIRO, MURAKAMI SHINYA

【目的】

ヒトゲノムにおいて、タンパク質に翻訳される遺伝子の塩基配列は 2%にすぎない。従来、残りの 98%の DNA 領域はタンパク質をコードしない意味のない、ジャンクな塩基配列と想定されてきた。しかしながら、近年の大規模ゲノム解析の結果、Non protein coding RNA (ncRNA) が、タンパク質に翻訳されることなく、生体内でさまざまな機能分子として作用することが明らかとなっている。ncRNA のうち 20~25 塩基の一本鎖の小分子のものが microRNAs (miRNAs) と呼称され、個体の発生、成長、老化をはじめとする様々な生理現象のみならず、成人性疾患や癌の発症等にも深く関わるものとして注目を集めている。

老化に伴い、疾患発症の頻度や病態が増悪する歯周病の病変部においては、加齢に伴いエピジェネティックなゲノムの変異が細胞レベルで集積している。そこで、本研究においては、老化ヒト歯根膜細胞における miRNAs 発現の網羅的解析を行い、miRNAs により制御される歯根膜細胞並びに老化のメカニズムを解析、検討した。

【材料と方法】

1. ヒト老化歯根膜細胞誘導系の樹立

初代培養ヒト歯根膜細胞 (ScienCell 社より購入。以下 HPDLs) に継代培養を重ねることで、in vitro において複製老化を誘導した。樹立した老化ヒト歯根膜細胞 (継代数 30 以上) において、老化マーカーである SA- β GAL (Senescent-associated β -galactosidase) 活性、細胞内の活性酸素 (ROS) の蓄積を確認し、細胞周期調節タンパクである p16、p53 の発現の増強を確認した。

2. HPDLs の miRNAs 発現プロファイルの解析

HPDLs から miRNAs を回収し、miRNA Microarray (Agilent human miRNA Microarray) を用いて miRNAs 発現プロファイルの網羅的解析を行った。継代数の異なる HPDLs の miRNAs 発現プロファイルの類似性、独立性については階層的クラスタリング解析を実施した。継代数に伴う発現変動をパターン分類するために継代数 5 を分母として、各継代数の発現比を算出した後に、K-means クラスタリングを実施した。継代数の増加に伴い 2 倍以上もしくは 1/2 以下に発現が変動した miRNAs を選定し、バイオインフォマティクス解析にて標的遺伝子の探索をおこなった。

3. miRNAs 並びに標的遺伝子の定量

miRNA Microarray にて発現変動が認められた miRNAs 並びに mRNA について qRT-PCR 法にて半定量解析をおこなった。

【結果および考察】

HPDLs では、ヒトにおいて発現が確認されている約 1000 種類のうち、約 360 種類の miRNAs の発現が確認された。さらに、HPDLs の継代数の増加に伴い、老化に伴い変動する miRNAs である miR-34a、miR-148b の発現の変動が確認され、これらは、標的遺伝子である SIRT1、DNMT3B の発現の変動と相関していた。また、炎症性サイトカインの発現を制御することが報告されている miR-146a の発現に大きな変動が認められた。以上のことから、HPDLs は miRNAs の機能を介して、老化に伴うさまざまな生理機能を制御していることが示唆された。

演題 A9 (その他)
【2206】

BMP-Wnt 間のクロストークに対する Dexamethasone の影響

東京歯科大学 歯科保存学講座¹

東京歯科大学 生化学講座²

○月野和 隆¹、小野寺 晶子²、吉澤 佑世¹、篠 宏美²、齋藤 暁子²、間 奈津子¹、東 俊文²、村松 敬¹、古澤 成博¹

The effects of Dexamethasone on BMP-Wnt crosstalk

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College, Tokyo, Japan¹, Department of Biochemistry, Tokyo Dental College, Tokyo, Japan²

○TSUKINOWA TAKASHI¹, ONODERA SHOKO², YOSHIZAWA YUUSEI¹, SHINO HIROMI², SAITOU AKIKO², AIDA NATSUKO¹, AZUMA TOSHIHUMI², MURAMATSU TAKASHI¹, HURUSAWA MASAHIRO¹

【背景、目的】歯周病の治療やインプラント治療において、顎骨欠損部位の新生骨形成を効果的に促進する治療法の開発は重要な課題である。我々は、BMP と Dexamethasone (以下 Dex) を複合添加して培養すると、間葉系幹細胞を多く含むヒト歯根膜(以下 HPDL)細胞から骨芽細胞への分化が促進されることを見いだした。Wnt 経路は骨分化調節機序の一つとして近年、特に注目されている。多くのアンタゴニストが関わることから、骨分化において重要な役割を担っている可能性が示されており、BMP/Smad 経路との相互作用も報告されている。本研究の目的は、HPDL 細胞が BMP 2/7 と Dex により骨芽細胞へ分化する際の骨分化調節機序において、Wnt 経路と BMP/Smad 経路が密接な相互作用を持つことを明らかにすることである。

【方法】HPDL 細胞は Lonza より購入し、SCGM (BulletKit; Stromal cell growth medium, Lonza) を用いて培養した。12well プレートに 1×10^5 cells/cm² で播種し、翌日、培地交換を行った。培地には α -MEM (Life Technologies) を使用し、添加物として、100ng/ml BMP2/7 (R&D Systems)、100nM Dex (Sigma) をそれぞれ単独添加した群と、BMP2/7 と Dex を複合添加した群に分け、72h 培養した。培養後、BCIP/TCP(Roche Diagnostics)にて ALP 活性染色を行い、骨芽細胞への分化を確認した。各群より抽出した RNA から、Wnt 経路抑制因子及び骨分化マーカーについてリアルタイム PCR (7500 Fast, Applied Biosystems) で確認した。さらに、各群よりタンパクを抽出し、Western blot 法を用い、Smad 経路の活性を確認した。

【結果】ALP 活性染色では、BMP2/7+Dex 複合添加群は他の群と比較して濃く染色された。定量的 RT-PCR 法による各群の ALP 発現量は、BMP2/7+Dex 複合添加群はコントロールに比較し約 10 倍増加しており、BMP2/7 単独群に比較し約 2 倍増加していた。この時、Wnt 経路抑制因子である SOST、SFRP2、DKK1、DKK2 発現量は、DKK1 を除き、BMP2/7+Dex 複合添加群で有意に低下していた。特に SOST は、BMP2/7 刺激で発現が増加するが、Dex 添加により著明に(約 1/4 倍)発現が低下していた。SFRP2、DKK2 では、BMP2/7 及び BMP2/7+Dex 複合添加群で段階的に発現が低下していた。Western blot 法より、Smad の活性化の指標であるリン酸化 Smad1/5 を検討すると、BMP2/7 単独群では Smad1/5 の活性が認められるが、BMP2/7+Dex 複合添加群では活性が認められず、BMP2/7 による Smad1/5 の活性化を Dex が著明に抑制していた。

【考察】BMP2/7 と Dex を複合添加することにより Wnt 経路抑制因子である SOST、SFRP2、DKK2 が抑制され、骨芽細胞分化が促進されると示唆された。また、SOST の減少には Smad1/5 の活性化の抑制が関与していることが示唆された。

新規 long non-coding RNA による epigenetic な DMP-1 遺伝子発現制御機構の解析

広島大学大学院 歯歯薬保健学研究科 歯歯薬学専攻 顎口腔頸部医科学講座 健康増進歯学研究室¹

九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯周病学分野²

○星野 博昭¹、鈴木 茂樹¹、小武家 誠司¹、西村 英紀²

Novel long non-coding RNA regulates epigenetic gene expression of Dentin Matrix Protein-1

Department of Dental Science for Health Promotion Division of Cervico-Gnathostomatology Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences¹, Section of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation Faculty of Dental Science, Kyushu University²

○HOSHINO HIROAKI¹, SUZUKI SHIGEKI¹, KOBUE SEIJI¹, NISHIMURA FUSANORI²

＜研究目的＞近年、ヒトやマウスの大規模なゲノム解析が進み、非遺伝子座領域中のゲノム配列から、タンパク質をコードしない non-coding RNA (ncRNA) が転写される事が明らかとなってきた。その中で、long ncRNA は一般的に 200 bp 以上の長さを持つものと定義される。long ncRNA のゲノム上での局在や総数、及び各種組織や細胞での発現パターンは未だ十分に解明されていないものの、幾つかの long ncRNA が、局所のクロマチンリモデリングや DNA のメチル化などの epigenetic な変化を引き起こすことで、その近傍遺伝子の発現を調節する事が明らかとなっている。Dentin matrix protein-1 (DMP-1) は、歯科・口腔領域においては、歯牙及び歯槽骨の形成・成熟に必須の役割を果たす分泌性タンパク質の一つであり、全身的には腎臓近位尿細管でのリンの再吸収を抑制する Fibroblast growth factor-23 (FGF-23) の血中濃度を調節することでリン代謝に重要な役割を果たす。更に、形質転換した癌細胞の浸潤に寄与することが近年明らかとなり、癌細胞マーカーとしても注目されている。このような背景から、DMP-1 の発現調節メカニズムを解明することは、これら研究領域において重要であるものの、これまでの多くの報告は転写因子やその結合部位の同定といった genetic な観点からの解析であった。そこで、我々はこれまで DMP-1 プロモーター領域に着目し、新規 long ncRNA を探索・同定した。12 種類の培養ヒト骨肉腫由来細胞及び口腔・上顎洞扁平上皮癌由来細胞から total RNA を抽出・精製し、oligo dT primer にて cDNA を作製後、同領域中に設計した約 100 bp 間隔の幾つかの primer pair を用いて半定量的 PCR を実施し、増幅の見られた領域を起点に、GeneRacerKit (Life and Technologies) を用いて 5' 及び 3' 末端をクローニングすることで、アンチセンス鎖に存在する全長約 1.2 kbp の新規 long ncRNA を同定した。本研究では、この新規 long ncRNA の機能解析を行うことで、如何にして DMP-1 発現が調節されるのかを解明し、将来的にこれら研究領域・疾患治療への一助とすることを目的とした。

＜材料及び方法＞1. 新規 long ncRNA に対する small interfering RNA (siRNA) の作製：DMP-1 プロモーター領域において、これまでに同定した新規 long ncRNA に対し、siRNA を 4 種類 (+ control siRNA) 作製した。2. 各種 siRNA 遺伝子導入による mRNA 及びタンパクレベルでの DMP-1 発現量の比較検討：ScreenFect™ (Wako) を用いて、Ca9-22 (歯肉癌細胞株) 及び HO-1-u-1 (口腔底扁平上皮癌細胞株) に各種 siRNA を遺伝子導入し、48 時間後に total RNA 及び細胞ライセートを回収・精製した。精製した各種 total RNA から、oligo dT primer を用いて cDNA を作製し、Real-time PCR にて新規 long ncRNA 及び DMP-1 発現量を比較検討した。回収した各種細胞ライセートを SDS-PAGE に展開し、ヒト DMP-1 特異抗体 (Abcam) を用いたウェスタンブロッティング解析により DMP-1 タンパク質の発現量を比較検討した。3. DMP-1 プロモーター領域における DNA メチル化解析：2 と同様に遺伝子導入した細胞から 48 時間後に回収・精製した各種 total DNA を、EZ DNA Methylation Kit (ZYMO RESEARCH) を用いてバイサルファイト処理後、DMP-1 プロモーター領域に設計した約 500 bp の primer pair によりバイサルファイト処理済み DNA を増幅し、TA クローニングにてシーケンス解析を行った。

＜結果＞Ca9-22 及び HO-1-u-1 への siRNA 導入株において、mRNA 及びタンパクレベルにおいて有意に DMP-1 の発現抑制を認めた。また、DMP-1 プロモーター領域における DNA のメチル化は、各種 siRNA 導入株と control siRNA 導入株において有意な差を認めなかった。

＜考察＞以上より、新規 long ncRNA の発現パターンと DMP-1 遺伝子発現パターンの間に正の相関があることが明らかとなった。更に siRNA による遺伝子ノックダウンにより mRNA のみならず、タンパクレベルでの有意な DMP-1 発現抑制を認めたことから、DMP-1 発現レベルが long ncRNA 発現レベルに強く制御されている可能性が示唆された。また、DMP-1 の exon 5 直前部位には DNA のメチル化を介した遺伝子発現制御に重要である CpG island が存在することから、その部位での DNA メチル化解析を現在行っている。更に、これら siRNA 導入株を用いて、ChIP による局所クロマチンリモデリングの解析も現在並行している。

演題 A11 (歯内)
【2503】

骨芽細胞の細胞表面マーカー解析法の開発

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○山本 由美子、伊藤 祥作、松下 健太、池田 峻、山内 裕香子、林 美加子

A novel method for surface marker analysis of mature osteoblasts

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

○YAMAMOTO YUMIKO, ITOH SHOUSAKU, MATSUSHITA KENTA, IKEDA SYUN, YAMAUCHI YUKAKO, HAYASHI MIKAKO

【研究目的】近年、失われた組織の回復を目指した再生医療に関する研究、特に幹細胞に対する研究が多面的に進められ、成果が得られつつある。間葉系幹細胞は、象牙質歯髄複合体や歯根膜そして歯槽骨の源となる幹細胞として考えられており、歯科領域において重要な幹細胞として位置づけられている。間葉系幹細胞は、歯槽骨 (骨芽細胞) や象牙質 (象牙芽細胞) といった硬組織に分化することができるが、どのように分化していくのか、そのメカニズムについては未だに不明である。たとえば骨芽細胞では、間葉系幹細胞から前骨芽細胞を経て骨芽細胞へ分化するというように、いくつかのステップを経て分化が進むと考えられているが、その証明には成功していない。骨芽細胞が分化の途中で分泌する石灰化物が証明を難しくしていたが、その石灰化物を除去し、分化した骨芽細胞を回収する方法の開発に我々は成功した。この方法を用いて、近年、我々が見出した間葉系幹細胞集団 (HipOPs : highly purified osteoprogenitors) と分化した骨芽細胞の細胞表面マーカーについて検索したところ、新しい知見が得られたので報告する。

【材料と方法】1) 生後4~6週齢のC57BL/6Jマウス的大腿骨と脛骨から骨髓細胞を調整し、10%FBS含有 α MEM中で培養する。培養3日目にPBSにて浮遊細胞を除去した。2週間培養の後、トリプシン・EDTA処理により付着細胞を回収した。回収した骨髓ストローマ細胞と、血球系細胞のマーカー分子に対する抗体 (抗CD5、抗CD45、抗CD11b、抗Gr-1、抗7-4、抗Ter-119、抗CD45R) を結合したマグネティックビーズとを反応させた。反応後、細胞をマグネティックカラムに注入し、カラムから流出してきた細胞を回収した (HipOPs)。2) HipOPsを骨芽細胞分化誘導培地 (50 μ g/ml ascorbic acid、10⁻⁸M dexamethasone) にて1週間培養し、回収した (骨芽細胞)。この細胞を10%/40%/70%/90%のバーコールグラジュエントを作成し、遠心分離した。各界面の細胞層を回収し、これらの細胞表面マーカーの発現をフローサイトメーター (guava easyCyte) にて解析した。3) 骨芽細胞の分化について、ALP染色とvon Kossa染色にて評価した。さらに、real-time PCRを行い、骨芽細胞分化マーカーの発現量についても確認した。

【結果】1) 骨芽細胞分化誘導培地にて1週間培養したHipOPsは、CFU-O (Colony-forming units-osteoblast) を形成した。またreal-time PCRにおいても骨芽細胞分化マーカーOCN、ALP、RUNX2の発現上昇が確認された。2) 分化したHipOPsをバーコールグラジュエントにより分離し、フローサイトメーターにて解析したところ、10%より上の層では死細胞のコンタミネーションが生じることを確認した。また、70%と90%の界面の層からは生細胞が検知されなかった。3) 10%/70%のバーコールグラジュエントにより石灰化物の除去が可能であり、そして分化した骨芽細胞を回収することができた。回収した骨芽細胞とHipOPsの細胞表面マーカーの発現量についてフローサイトメーターを用いて比較検討したところ、骨芽細胞に分化するとSca-1、CD106、CD44の発現が減少することがわかった。

【結論】10%/70%のバーコールグラジュエントを利用した簡便な方法により、石灰化物の除去、そして分化した骨芽細胞の回収が可能であることがわかった。そして、骨芽細胞へ分化することによりSca-1、CD106、CD44の発現量が減少することが明らかとなった。

演題 A12 (歯内)
【2205】

歯髄刺激時のラット海馬 CA1 領域に見られたリズムバースト

兵庫医科大学 歯科口腔外科学講座

○長谷川 誠実、藤原 正識、本田 公亮

Rhythmical wave induced by tooth pulp stimulation in rat hippocampal CA1 region

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya, Japan

○HASEGAWA MAKOTO, FUJIWARA MASANORI, HONDA KOUSUKE

【緒言】歯痛の情動記憶メカニズムを追究する目的で、第 129 回から第 139 回の本学会まで、歯髄刺激と海馬活動の応答性について検討してきた。その中で、歯髄刺激により海馬内に遊離した ATP の分解により生じたアデノシンが、シクロオキシゲナーゼ 2 とともに血管内皮細胞に働き、歯髄刺激特有の中樞応答として、海馬血流増加反応を生じることを明らかにした。また、歯髄刺激は侵害刺激であるとともに、繰り返し与えることで内因性オピオイドにかかわる下行性疼痛抑制効果も示すこと、すなわち報酬系の一面も有する可能性について明らかにした。さらに、歯髄刺激による海馬応答の Population spike の増強を確認し、同時に歯髄刺激に対する海馬応答においては Habituation を生じないことを示した。そこで今回は、歯髄刺激による海馬応答に関して、Habituation 抑制の機構に関して、脳波の観点からその特性について検討した。

【実験材料と方法】実験には雄性ウイスター系ラット (10 週齢、体重 290–320 g) 10 匹を用いた。ラットにはウレタン (1.2 g/kg) 腹腔内投与による全身麻酔を施した。下顎切歯に象牙質に至る窩洞を 2 ヶ所形成し、導電性ペーストと電極固定用レジンをを用いて銀線電極を固定し、歯髄刺激電極とした。ついで、ラットを脳定位固定装置に固定し、左右の海馬 CA1 領域内にタングステン電極を、左側海馬 CA3 領域内に双極貼り合わせ電極を挿入し、それぞれ記録電極および刺激電極とした。各刺激電極は、電気刺激装置 (PSS-101、ユニークメディカル社製) に接続し、記録電極はデータ収集システム (UAS-308S-HM、ユニークメディカル社製) に接続した。実験は、まず海馬 Schaffer-commissural fiber に 100 μ s、500–700 μ A の電気刺激を 10 秒ごとに与え、その時の CA1 領域の対照となる Population spike の測定を行った。次いで、従来の実験で得られた、歯髄に海馬血流増加反応を生じる閾値の 3 倍の強度の Pulse duration 0.5 msec、Pulse interval 0.1 msec のパラメーターの電気刺激を 10 秒間与えた (以下 TPS)。その後、10 分ごとに、対照と同レベルに復するまで CA1 領域の Population spike amplitude (PSA) を測定した。その後再度歯髄刺激を与え同様に PSA の測定を繰り返した。また同時に、実験中を通じて CA1 領域の electroencephalogram (EEG) を持続的に測定した。PSA は第 1 および第 2 の Positive peak を結んだ線と Negative peak まで (mV) を測定値とし、EEG は TPS 時の周波数 (Hz) と振幅 (mV) を測定値とした。今回は、Student の T-test で TPS に対する PSA の Habituation の評価を行い、EEG は波形の傾向の観察を行った。

【結果】TPS による PSA は、刺激前後で必ず有意差を認めた。EEG は、TPS に対して TPS 終了直後から約 120 秒までの間に、10 例中 7 例に様々なバースト状リズム波が生じた。周波数は、10 Hz 以下のものと 40 Hz 以上のものが混在した。

【考察および結論】 Θ 波と γ 波が海馬における学習機能に関与する脳波であるとされている。本研究において、TPS により海馬 CA1 領域に、両者に相当する周波数のリズムバーストが認められた。しかしながら、 γ 波は眼球運動などのアーチファクトとして出現しやすいため、本研究結果が、TPS が Habituation を生じない特殊な侵害刺激であることを示すものであるのか、さらに検討を進めたうえで結論付けて行きたい。本研究の一部は、科研費助成、基盤研究 (C) : 課題番号 25462878 により遂行された。

演題 A13 (その他)
【2502】

低濃度フッ化物の作用方法がリン酸カルシウム系知覚過敏抑制材の耐酸性に及ぼす影響

高輪歯科 DCC&DSS

○今村 光志、加藤 正治

Effect of the Low Level of Fluoride Actions on the Acid Resistance of Calcium Phosphate Desensitizer

Takanawa Dent.DCC&DSS,Tokyo,Japan

○IMAMURA KOJI, KATO SHOJI

【研究目的】リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材「ティースメイト®ディセンシタイザー」(クラレノリタケデンタル株式会社製、以下 TMD)は、酸蝕症や根面う蝕の予防処置としての効果も期待できることから、封鎖物(ハイドロキシアパタイト)の耐酸性向上が望まれる。我々は第 139 回本学術大会において TMD 処置後におけるフッ化物配合ジェル塗布は耐酸性を向上させること、そのフッ化物の濃度は高濃度の方がより効果的であることを確認した。また、低濃度でも長時間接触させることにより高い耐酸性を得られることを確認した。そこで今回、TMD へのフッ化物配合ジェル塗布の実用化を目指して、低濃度のフッ化物配合ジェルを短時間、複数回塗布することを検討し、封鎖物の耐酸性におよぼす影響を評価した。

【材料および方法】

1. 材料

TMD をメーカーの指示通りに粉液比 1.2 で混和した後、得られたペーストを用いた。

2. 方法

耐酸性の評価は、JIS T 6609-1:2005 の酸溶解試験に準拠し以下のように行った。

1) TMD のペーストをアクリル樹脂製の型(5mmφ×2.0mm)へ充填し、37℃100%RH 下で 1 時間保持した。

2) TMD が硬化後、#1500 耐水研磨紙にて注水下で研磨後に初期厚み(a)を測定した。

3) その後、フッ化物配合ジェル未塗布群(コントロール)は人工唾液に 37℃、6 日間浸漬した。

4) 一方、フッ化物配合ジェル塗布群は、NaF を 0.2%配合した試作フッ化物配合ジェルを作成し、2 種類の条件にて実施した。条件 1: フッ化物配合ジェルを 60 分間塗布後、蒸留水で水洗・エアー乾燥し、人工唾液に 6 日間浸漬した。条件 2: フッ化物配合ジェルを 10 分塗布後、蒸留水で水洗・エアー乾燥し、37℃で人工唾液に 1 日浸漬。この操作を 6 回繰り返した。

5) フッ化物配合ジェル未塗布群(コントロール)と塗布群を pH2.74 の乳酸水溶液に 37℃24 時間浸漬した。

6) 酸浸漬後の厚み(b)を測定して、(a)－(b)で求められる酸により溶解した厚みを酸溶解度、また、フッ化物配合ジェル未塗布群の酸溶解度に対するフッ化物配合ジェル塗布群の酸溶解度の割合を酸溶解減少率とした。なお、得られた結果は、一元配置分散分析及び Turkey の検定を用いて統計学的に検討を行った(P<0.05)。

表：フッ化物配合ジェルの耐酸性への影響 (n=5)

	未塗布	0.2%NaF 60分	0.2%NaF 10分x6
酸溶解度(mm)	0.823 (0.036)	0.173(0.021)	0.142 (0.027)
酸溶解減少率	—	79.0%	82.7%

括弧内の数値は標準偏差

【結果および考察】

・医薬部外品歯磨剤レベルの低濃度フッ化物配合ジェルを塗布すると、有意に耐酸性が向上し、短時間でも複数回塗布することにより、長時間塗布した場合と同等の耐酸性の向上が認められた。

・脱灰傾向の強いケースや酸蝕症ならびに根面う蝕予防などの高度な耐酸性が要求されるケースにおいて、リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材による封鎖効果を持続させるためには、短時間でもフッ化物配合ジェルを繰り返して塗布することが有効と考えられる。

演題 A14 (歯内)
【2503】

S-PRG フィラー含有試作セメントの覆髄剤としての応用

大阪大学大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座(歯科保存学教室)¹

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座(歯科理工学教室)²

○岡本 基岐¹、高橋 雄介¹、小道 俊吾¹、今里 聡²、林 美加子¹

Application of S-PRG filler-containing cement to direct pulp capping

Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology¹,

Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Biomaterials Science²

○OKAMOTO MOTOKI¹, TAKAHASHI YUUSUKE¹, KOMICHI SYUNGO¹, IMAZATO SATOSHI², HAYASHI MIKAKO¹

【研究目的】臨床で用いられる覆髄剤には水酸化カルシウム製剤や Mineral Trioxide Aggregate (MTA) などがあるが、形成される第三象牙質の不完全性やコストの問題等があり、現時点では理想的な覆髄材は存在していない。S-PRG フィラーはフッ化物、ストロンチウム、ナトリウム、ホウ酸、アルミニウム、ケイ酸等の多種のイオンを放出することが知られており、これらのイオン等の作用による“Bio-Active”な作用を有する材料として期待されている。これまでに S-PRG フィラーの歯髄に対する作用は *in vitro* を中心にいくつかの報告はあるものの、主に S-PRG フィラー単体を用いたものであり、実際の臨床に応用可能なセメントを覆髄材として応用した報告はない。そこで本研究では、S-PRG フィラー含有試作セメントを直接覆髄剤として応用した際のラット歯髄創傷治癒に与える影響を MTA および水酸化カルシウム製剤と比較し、その有効性を病理組織学的に評価した。

【材料と方法】

・ S-PRG フィラー含有試作セメント 1

粉：S-PRG フィラー(約 80%)、その他(以下、S-PRG フィラー含有試作セメント 2、3 の粉成分は共通)

液：ポリアクリル酸-トリカルボン酸共重合体含有溶液、水、その他 (pH=1 以下)

・ S-PRG フィラー含有試作セメント 2

液：ポリアクリル酸-トリカルボン酸共重合体ナトリウム塩、水、その他 (pH=3.96)

・ S-PRG フィラー含有試作セメント 3

液：ポリアクリル酸-トリカルボン酸共重合体ナトリウム塩、水、その他 (pH=4.37)

・ Pro Root MTA (デンツプライ三金)

・ Dycal (デンツプライ三金)

本研究は大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認下で実施した(承認番号：動歯 23-005-1)。9 週齢雄性 Wistar 系ラットに全身麻酔下で左右上顎第一臼歯に #1 ラウンドバーで咬合面より露髄するような窩洞を形成し、洗浄・止血後、S-PRG フィラー含有試作セメント 1~3、MTA もしくは Dycal を用いて直接覆髄を行った。覆髄後、グラスイオノマーセメント(Fuji IX, GC)にて充填した。窩洞形成後 1 週間および 4 週間経過したのちに μ CT 撮影にて仮封の脱離がないことを確認後、4% パラホルムアルデヒド液にて灌流固定を行い、被験歯を上顎骨ごと摘出し、10%ギ酸にて脱灰後、脱水、パラフィン包埋し、連続切片を作成、H-E 染色を施して病理組織学的評価を行った。統計学的有意差検定には、Kruskal-Wallis 検定と Steel-Dwass 検定を用いた。

【結果および考察】窩洞形成 1 週間後では、すべての試料において歯髄に炎症を認めたが、第三象牙質の形成はほとんど認めなかった。4 週間後では、S-PRG フィラー含有試作セメント 1 では歯髄に炎症反応がほとんど認められず、MTA と比較しても炎症の程度は低かった。一方、Dycal では他の試料に比べると炎症の残存が多かった。また、S-PRG フィラー含有試作セメント 1 と MTA による覆髄で形成された第三象牙質量が最も多く、その質も良好であった。一方、S-PRG フィラー含有試作セメント 2、3 および Dycal による覆髄後の歯髄では第三象牙質の形成量は少なく、その質も良好ではなかった。液成分の pH の差によって各々の試作セメントからの溶出イオンに変化が生じたため、このような結果になったと考えられる。以上の結果より、液成分を低い pH に調整した S-PRG フィラー含有試作セメントは MTA と同等の第三象牙質誘導能を有しており、かつ歯髄の炎症の消退も早いことから、覆髄材としての有用性が示唆された。(本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金(25462958)の補助の下にて行われた)

演題 A15 (歯内)
【2503】

Mineral trioxide aggregate の根尖部硬組織誘導過程に及ぼす影響に関する研究

神奈川歯科大学大学院 歯学研究科 歯髄生物学講座

○武藤 徳子、石井 信之

The Study of Hard Tissue Sealing of Apical Foramen with Mineral trioxide aggregate(MTA)

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○MUTOH NORIKO, Tani-Ishii Nobuyuki

目的：根管充填後の理想的な治癒形態は根尖部のセメント質被覆であり、このためには根尖最狭窄部での適切な根管充填を必要とする。しかしながら、根管内無菌性獲得の困難さや不完全根管充填によって、根尖性歯周炎が発症し感染根管治療に移行することが多い。Mineral trioxide aggregate(MTA)は 1990 年代に開発され、日本では 2007 年より保険診療で覆髄に対して使用可能となり、国内外で直接覆髄、穿孔部封鎖、逆根管充填材、Apexification などへの臨床応用において、その表面に硬組織を誘導することで修復部位の組織再生を促すことが多数報告されている。我々はこれまで MTA はセメント芽細胞 (J Endod. 32:210-3, 2006)、象牙芽細胞 (Int Endo J. 38,203-10, 2005)、および骨芽細胞 (J Endod. 33:836-9, 2007)に対して石灰化促進作用を有することを確認した。しかし、残存歯髄組織の存在の可能性もある根尖孔周囲組織における根尖孔封鎖において誘導される硬組織由来等は明らかにされていない。本研究では、根尖孔周囲組織に存在する細胞の MTA セメントにより誘導される硬組織について解析する事を目的とした。

材料と方法：直径 2mm、厚さ 1mm の MTA およびダイカルの試料片を作製し、ヒトセメント芽細胞 (HCEM)、ヒト歯髄培養細胞およびヒト歯根膜培養細胞との共培養を行なった。培養 24、48、96 時間後に細胞を回収し、定量 RT-PCR 法を用いて Bone Sialoprotein、collagen Type1, Osteocalcin, Alkaline phosphatase (ALP), の発現について解析を行った。さらに硬組織形成の解析を行うために、供試細胞と MTA の共培養を 4 週間行い、MTA 周囲に形成された硬組織の解析を行った。

結果：供試した細胞において、ヒト歯髄培養細胞は骨様硬組織および象牙質様組織、セメント芽細胞はセメント質および骨様硬組織の形成能を示す発現が認められたが、その発現時期において差が認められた。さらに硬組織形成の解析に置いては、その形成量に差が認められた。

考察：根尖孔をその周囲の歯周組織細胞により形成された硬組織にて封鎖する為には、その感染範囲に影響を受けるものではあるが、歯髄細胞に置いては、歯髄腔内に残存している歯髄細胞の中の歯髄幹細胞の分化誘導に依存して硬組織の形成が促されることから、効率的な封鎖を行う上で、細胞の分化誘導のみならず機械的な封鎖による細菌感染からの組織保護の為にも MTA は有用な材料である事が示唆された。

演題 A16 (その他)
【2501】

OCT を用いた POs-Ca およびフッ素配合ガムによる口腔内エナメル質初期う蝕の再石灰化臨床評価

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う蝕制御学分野¹

江崎グリコ株式会社健康科学研究所²

国立長寿医療研究センター 歯科口腔先進医療開発センター³

○SADR ALIREZA¹、北迫 勇一¹、島田 康史¹、杉浦 美穂¹、田上 順次¹、小林 隆嗣²、田中 智子²、
釜阪 寛²、角 保徳³

Application of Optical Coherence Tomography for Clinical Assessment of Enamel Lesion Remineralization by POs-Ca and Fluoride Chewing Gum

Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan¹, Institute of Health Sciences, Ezaki Glico Co. Ltd., Osaka, Japan², Department for Advanced Dental Research, Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan³

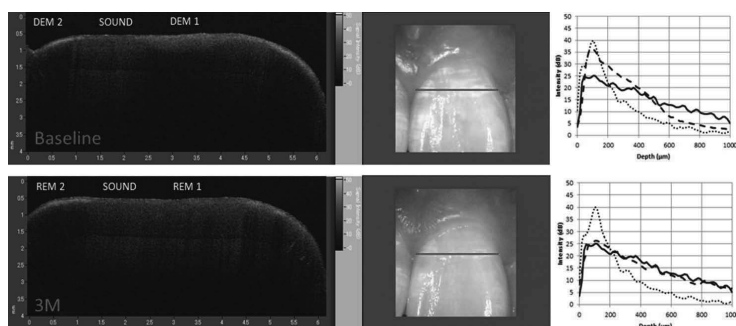
○SADR ALIREZA¹, KITASAKO YUICHI¹, SHIMADA YASUSHI¹, SUGIURA MIHO¹, TAGAMI JUNJI¹, KOBAYASHI TAKATSUGU², TANAKA TOMOKO², KAMASAKA HIROSHI², SUMI YASUNORI³

[Objectives] Besides early detection of enamel lesions, their long-term monitoring and effective remineralization are among the most important research priorities in dentistry today. We investigate the use of a swept-source optical coherence tomography system (OCT) for clinical assessment of natural enamel lesions during consumption of a calcium and fluoride releasing chewing gum.

[Materials and method] Ten visibly non-cavitated white spot enamel lesions in 5 adults (median age: 37 yrs) were selected and imaged by OCT at 1300 nm wavelength equipped with intraoral imaging probe (Dental OCT System Prototype 2, Panasonic Healthcare) at Tokyo Medical and Dental University dental hospital. A calcium and fluoride releasing chewing gum (POs-Ca F®, Ezaki Glico) was given to the subjects for consumption on a twice daily basis, and the subjects were recalled at 1, 2 and 3 months for OCT imaging. 2D OCT scans of the lesions were compared according to three parameters derived from the images using a specially developed software; optical boundary depth (BD), attenuation coefficient (μ) and integrated reflectivity (R). BD is supposed to be correlated with lesion depth, while μ and R are reportedly associated with mineral density of the subsurface enamel lesions.

[Results] Average BD was 190 ± 70 μ m at the baseline. OCT images of the white spot lesions appeared as areas with increased reflectivity. These areas decreased in terms of size and reflectivity intensity in some of the lesions overtime. Out of the 10 cases, 6 lesions that showed a better response were included in further statistical analyses. Repeated measures ANOVA showed significant changes in BD, μ and R over the 3-month period ($p < 0.05$), with 56%, 40% and 31% mean recovery, respectively.

[Conclusions] It was demonstrated that the POs-Ca F chewing gum was effective in remineralization of natural white spot enamel lesions; however, the recovery potential was variable among the cases studied. Clear in-depth images of natural enamel lesions can be clinically obtained by OCT, and OCT data analysis enables quantitative assessment of the lesions over time.



演題 A17 (その他)
【2501】

マイクロ CT 及び OCT における初期エナメル質う蝕の評価

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う蝕制御学分野¹

国立長寿医療研究センター 歯科口腔先進医療開発センター²

○ESPIGARES JORGE¹、サダル アリレザ¹、半場 秀典¹、島田 康史¹、大槻 昌幸¹、田上 順次¹、
角 保徳²

Optical Coherence Tomography compared to μ CT for early enamel lesion assessment

Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan¹, National Center for Geriatrics and Gerontology, Department for Advanced Dental Research, Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, Aichi, Japan²

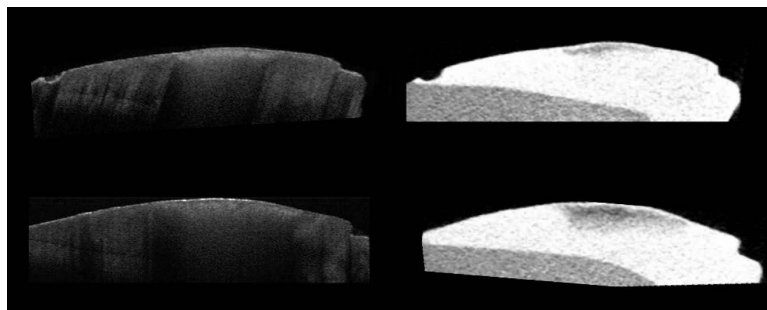
○ESPIGARES JORGE¹, Sadr Alireza¹, Hamba Hidenori¹, Shimada Yasushi¹, Otsuki Masayuki¹, Tagami Junji¹, Sumi Yasunori²

Objectives: A non-invasive technology that can quantify hidden or sub-surface caries, and its progression is needed in daily dental practice. Optical Coherence Tomography (OCT) is a new non-invasive and non-destructive diagnostic method that provides high-resolution cross-sectional images. The aim of this study is to compare OCT with Microfocus X-ray Computed Tomography (μ CT) for assessment of natural enamel lesions *in vitro*.

Methodology: Sixteen human teeth with visible white spot like-changes on enamel smooth surface and no cavitation were selected. The cross-section of interest was marked using two guiding holes created by Er:YAG laser. The samples were then subjected to swept source OCT imaging (Dental OCT Prototype II, Panasonic Health Care) at a wavelength of 1300 nm and μ CT (SMX-100CT, Shimadzu) with beam-hardening correction. The cross-section of interest was visualized in the imaging software from each 3D data stack, following the guiding holes. The resulting cross-sectional images were then analyzed, and the findings were compared between the two systems.

Results: OCT showed the lesions as areas of increased signal intensity beneath the surface, while in μ CT, they appeared radiolucent and dark. The shapes and depths of subsurface lesions could be characterized with both systems. Lesion depth ranged from 161 to 600 μ m. A correlation between OCT and μ CT was found regarding lesion depth ($R=0.84$, $p<0.001$) and also surface layer thickness ($R=0.89$, $p<0.005$), in those cases where a distinct surface layer was visible under OCT.

Conclusions: OCT is a promising technology for clinical assessment of natural subsurface lesions, which can provide comparable images to a laboratory high-resolution μ CT without the use of X-ray.



OCT および μ CT を用いた歯冠歯髄腔の象牙質残りの厚さの評価

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う蝕制御学分野¹

国立長寿医療研究センター 歯科口腔先進医療開発センター²

○MAJKUT PATRYCJA¹、サダル アリレザ¹、島田 康史¹、ビスタ ババ¹、田上 順次¹、角 保徳²

Evaluation of Remaining Dentin Thickness of Pulp Chamber Roof using Optical Coherence Tomography in comparison to Micro-computed Tomography

Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan¹, Department for Advanced Dental Research, Center of Advanced Medicine for Dental and Oral Diseases, National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan²

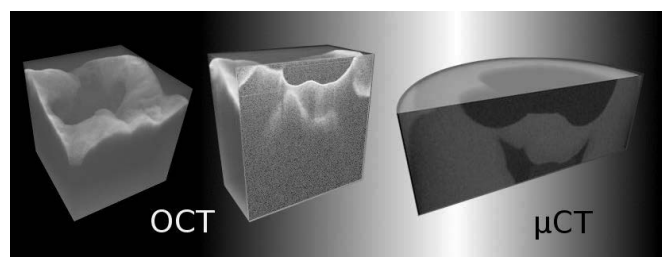
○MAJKUT PATRYCJA¹, SADR ALIREZA¹, SHIMADA YASUSHI¹, BISTA BABA¹, TAGAMI JUNJI¹, SUMI YASUNORI²

[Objectives] optical coherence tomography (OCT) is a non-invasive modality to obtain in-depth images of biological structures. A dental OCT system can potentially become available for chairside application. This in vitro study hypothesized that swept source OCT can be used to measure remaining dentin thickness (RDT) at the roof of dental pulp chamber during excavation of deep occlusal caries.

[Materials and method] 18 human molar teeth with deep occlusal caries were investigated. The infected outer caries layer was excavated using hand instrument and a low-speed steel bur under the guidance of a caries detecting dye (Caries Check, Nishika). 2D and 3D OCT scans were obtained using Dental OCT System (Prototype 2, Panasonic Healthcare). RDT was evaluated by image analysis software. For the confirmation of OCT findings, Microfocus X-ray Computed Tomography (μ CT) images were obtained from the same teeth (SMX-100CT, Shimadzu) to confirm OCT findings.

[Results] Pulpal horns and pulp chamber roof were observed under OCT. OCT and μ CT resulted in comparable images that allowed measurement of dentin thickness; however, in the case of thick (above 2mm) and/or carious dentin tissue, the lower boundary of pulpal roof was occasionally masked.

[Conclusions] This in vitro study found that OCT enables visualization of anatomical structures during deep caries excavation. Condition of dentin can affect OCT measurements; however, accidental exposure of the vital dental pulp due to removal of very thin remaining dentin can be avoided with this novel non-invasive technique.



演題 A19 (修復)
[2603]

コンポジットレジン修復窩洞の X 線不透過性に関するマイクロ CT 解析

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座う蝕制御学分野

○住谷 雄大、半場 秀典、中村 圭喜、二階堂 徹、田上 順次

Evaluation of radiopacity of bonding agents and resin composite using micro-CT

Department of Cariology and Operative Dentistry, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan

○SUMITANI Yuta, HAMBATA Hidenori, NAKAMURA Keiki, NIKAIIDO Toru, TAGAMI Junji

【研究目的】

コンポジットレジン修復物は、二次う蝕、窩壁適合性、ギャップの有無を診査するために X 線不透過性を有することが望ましい。しかし、ボンディング材の X 線不透過性は、一般にコンポジットレジンや歯質よりも低く、周囲との識別が困難である。マイクロ CT は、同一サンプルを非破壊で経時的に撮影することができ、コンポジットレジン修復物の内部や接着界面の観察を可能にする。本研究では、X 線不透過性の異なる 2 種のボンディング材及び 2 種のコンポジットレジンを組み合わせて、高解像度マイクロ CT を用いて、コンポジットレジン修復窩洞における材料と歯質との識別性について検討した。

【材料および方法】

牛歯歯冠部の唇側面にダイヤモンドポイント (FG#202) を用いて直径約 2 mm、深さ約 2 mm の円柱窩洞を形成した。その後、精密低速切断機 (Isomet, Buehler) にて窩洞周囲幅約 1 mm となるようにトリミングを行い、試料を作製し、窩洞表面を #800 の耐水研磨紙で研削した。ボンディング材は、2 ステップセルフエッチングシステムであるフルオロボンド II (松風、以下 FL) とクリアフィルメガボンド (クラレノリタケデンタル、以下 SE) を使用し、コンポジットレジンにはビューティフィルフロー F10 (松風、以下 BF) とクリアフィルマジエスティ ES フロー High (クラレノリタケデンタル、以下 MJ) を使用した。試料は充填材料の組み合わせから、各々 SE-MJ 群、SE-BF 群、FL-MJ 群、FL-BF 群の 4 群に分けた。

マイクロ CT (SMX-100CT、島津) による試料の撮影は、(1)窩洞のみ、(2)ボンディング材光重合後、(3)コンポジットレジン光重合前と、(4)光重合後の計 4 回行った ($5.0 \mu\text{m}/\text{voxel}$ 、ビームハードニング補正)。光照射には、ハロゲン照射器 (OPTILUX 501, Kerr) を用いた。各群の 4 条件において 3 次元解析を行い、コンポジットレジン、ボンディング材、歯質のグレースケール値 (X 線不透過性を示す) を求め、統計学的解析を行った。

【結果および考察】

平均グレースケール値は、エナメル質を 100%とした場合、象牙質で 95.0%、ボンディング材 FL と SE で 97.7%、91.1%、コンポジットレジン BF、MJ で 99.1%、111.1%であった。また、エナメル質と BF との間、BF と FL との間では有意差は認められなかった。窩洞内に塗布されたボンディング材の厚みは、FL で約 10~300 μm 、SE で約 10~200 μm であった。さらに、SE の X 線不透過性は象牙質より低かったが、窩洞内で識別可能であった。一方、FL の X 線不透過性は象牙質よりも高く、識別が容易であった。これは、FL に含まれるフィラーの影響と考えられる。しかし、コンポジットレジン充填後の SE-MJ 群、SE-BF 群では、ともに SE を識別することは困難であった。これは、SE が X 線不透過性のより高いコンポジットレジンと歯質とによって挟まれたためと考えられる。コンポジットレジン充填後、FL-MJ 群ではコンポジットレジンとボンディング材、歯質の識別が容易であった。しかし、FL-BF 群ではコンポジットレジンとボンディング材、コンポジットレジンとエナメル質の識別が困難であった。これは FL と BF、BF とエナメル質の X 線不透過性が近似しているためであると考えられた。高い X 線不透過性を有するコンポジットレジンの場合、アーティファクトの出現が問題となる、MJ ではこのようなアーティファクトは認められなかった。

【結論】

マイクロ CT 解析において、コンポジットレジン修復窩洞の高い識別性を得るためには、材料 (コンポジットレジンとボンディング材) と歯質 (エナメル質と象牙質) の X 線不透過性が各々異なる必要がある。良好な識別性が得られた条件は、X 線不透過性の高い順にコンポジットレジン、次にエナメル質またはボンディング材、最も低い象牙質であった。

【謝辞】

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

データマイニングの手法を用いたう蝕病変発生予測モデルの構築

大阪大学 大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○有野 真澄、伊藤 中、林 美加子

Construction of caries prediction model using data mining approach

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

○ARINO MASUMI, ITO ATARU, HAYASHI MIKAKO

【緒言】 臨床の現場において、患者個々のカリエスリスクに応じた予防および治療計画を立案し、実施することが求められている。我々はこれまでに、一開業歯科医院の臨床データを用いて、各種のカリエスリスク要因がう蝕病変の発生に与える影響について検討し、初発う蝕病変では *mutans streptococci* 数(以下 SM)が、二次う蝕病変では初診時 DMFT、SM、*Lactobacilli* 数(以下 LB)が影響を及ぼす因子であることを明らかにした(Ito et al, J.Dent 2011, Ito et al, JDR 2012)。今回、多施設の臨床データを入手する機会を得て、一連の研究と同様の手法にてう蝕病変発生予測モデルの構築を試み、興味ある知見を得たので報告する。本研究の目的は、複数の一般開業歯科医院の来院患者の臨床データの統計学的分析を通じて、初発または二次う蝕病変の発生に影響を与えるカリエスリスク要因について検討することと、データマイニングの手法を用いてう蝕病変発生のローリスクおよびハイリスク患者を分別することである。

【方法】 一般開業歯科医院(10 医院)において、データベースに臨床データが登録されている患者のうち、初期治療終了後にカリエスリスク検査を実施した、検査時年齢が 13 歳以上 64 歳以下の患者 824 名(男性 264 名、女性 560 名)を分析対象とした。観察期間はカリエスリスク検査日より 3 年以内とし、目的変数を修復を要する歯冠部初発および二次う蝕病変発生の有無、さらに観察期間内に発生したう蝕病変の総数とした。発生の有無に影響を与える各因子を多重ロジスティック回帰分析で、また観察期間中に発生した初発および二次う蝕病変の総数に影響を与える各因子について重回帰分析を行なった。その際、説明変数としてカリエスリスク検査時 DMFT、SM、LB、唾液分泌量、唾液緩衝能、メンテナンス受診状況を用いた。さらに、う蝕病変発生のハイリスク患者とローリスク患者を決める変数を赤池情報量基準(AIC)を参考に抽出するとともに、Classification and regression trees (CART)を応用したう蝕病変発生予測モデルの構築を行った。

【結果および考察】 リスク検査日より 3 年以内でう蝕病変を発生した人数は、初発病変で 197 名(23.9%)、二次う蝕病変で 318 名(38.6%)であった。初発う蝕病変に対して有意に影響を与える因子は、メンテナンス受診状況および LB であることが示された。一方、二次う蝕病変ではリスク検査時 DMFT、SM、LB が有意な因子となった。観察期間内の発生総数において、初発う蝕病変では SM、メンテナンス受診状況、LB、リスク検査時 DMFT が、二次う蝕病変ではリスク検査時 DMFT、SM、LB が影響を与える因子として示された。また、CART により、初発う蝕病変の発生総数では、SM が 10^6 CFU/ml かつメンテナンス受診状況が「やや不良」あるいは「不良」の患者群は、SM が 10^6 CFU/ml 未満の患者群に比較して有意に発生総数が多い($p < 0.0001$)ことが示された。一方、二次う蝕病変の発生総数では、リスク検査時 DMFT が 23 以上の患者群は、リスク検査時 DMFT が 23 未満かつ SM が 10^6 CFU/ml 未満の患者群に比較して有意に発生総数が多い($p < 0.0001$)ことが示された。このように多施設のデータを用いて、う蝕病変発生のハイリスク患者とローリスク患者を分別する閾値を見つけ出すことができた。CART を用いることにより、より少ないパラメーターで患者の将来の初発病変および二次う蝕病変の発生リスクを予測できる可能性を示している。

演題 B6 (修復)
【2501】

カリオテスターを用いた初期エナメル質う蝕 (ICDAS コード 1, 2, 3) のヌープ硬さ測定
兵庫医科大学 歯科口腔外科学講座
○清水 明彦

Knoop Hardness of White-spot Lesions Measured with Cariotester
Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine, Nishinomiya, Japan
○SHIMIZU AKIHIKO

【目的】エナメル質の初期う蝕 (白斑病変) は、ICDAS (国際う蝕診断システム) では、乾燥させた場合に観察される白斑 (ICDAS コード 1)、エナメル質の明らかな変化として観察される白斑 (ICDAS コード 2)、エナメル質の限局性崩壊を伴う白斑 (ICDAS コード 3) に区別される。しかし、それぞれの白斑が、どの程度軟化しているかについては知られていない。そこで、抜去歯の白斑の中から、ICDAS コード 1, コード 2, コード 3 と診断された白斑について、その表面硬さを、カリオテスター・システム (以後、カリオテスター、三栄エムイー社) を使用して測定した。

【方法】カリオテスターには、圧子先端の曲率半径 (R) の違いにより、象牙質用とエナメル質用の圧子がある。今回は $R=10\mu\text{m}$ のエナメル質用圧子を使用した。ヒト抜去歯に認められた白斑の中から、ICDAS コード 1, コード 2 またはコード 3 と診断された白斑について、カリオテスター圧子の押込み深さ ($D\mu\text{m}$) を求め、換算式 $\text{KHN}=6839D^{-1.409}$ (2013 年度秋季学術大会にて発表) を使って、ヌープ硬さに換算した。なおコード 1 と 2 の白斑では、白斑表面の硬さを、コード 3 の白斑については、崩壊部の硬さを測定した。また、健全エナメル質 (ICDAS コード 0) の硬さについてもカリオテスターで測定し、白斑の軟化の程度を調べた。

【結果】ICDAS コード 1, コード 2 と診断された白斑の表面の硬さは、それぞれ $220\pm 20\text{KHN}(n=25)$ 、 $162\pm 24\text{KHN}(n=30)$ 、コード 3 と診断された白斑の崩壊部の硬さは、 $32\pm 18\text{KHN}(n=22)$ であった。一方健全エナメル質 (ICDAS コード 0) の硬さは、 $316\pm 18\text{KHN}(n=16)$ であった。従って、コード 1, 2, 3 の白斑のヌープ硬さは、健全エナメル質より、それぞれ 30%、49%、90% 低下していることが分かった。

【考察】エナメル質の表面には、周波条による凹凸が存在するため、表面硬さをヌープ硬度計で測定することは不可能である。一方カリオテスターの特徴は、被験面に例え周波条のような凹凸があっても、そのまま問題なく硬さ測定ができることである。その結果、乾燥によって観察される白斑 (ICDAS コード 1) では、その表面硬さは 30% 低下し、エナメル質の明らかな変化として観察される白斑 (ICDAS コード 2) では、その表面硬さは約半分まで低下していることが分かった。また、エナメル質の限局性崩壊を伴う白斑 (ICDAS コード 3) で表層の崩壊した部位の硬さは、健全エナメル質の 10% ほどしかなかったが、これは表層下脱灰部の硬さを示しているものと考えられる。ところで、Featherstone ら (1983 年) は、エナメル質のヌープ硬さとミネラル密度との間には、次の関係式、 $\text{Volume percent mineral}=4.3\sqrt{\text{KHN}}+11.3$ が成り立つことを明らかにしている。そこでこの式の KHN に白斑のヌープ硬さを代入したところ、ICDAS コード 1, 2, 3 と診断された白斑のミネラル密度は、それぞれ 75%、66%、36% となった。このように、エナメル質う蝕のヌープ硬さが分かれば、その部のミネラル密度も推定できることから、臨床でカリオテスターを使用すれば、白斑病変の進行、停止あるいは回復 (再石灰化) を、硬さとミネラル密度の両面から定量的に評価することが可能であろう。

【結論】(1)カリオテスターを使って、ICDAS コード 1, 2, 3 と診断された白斑表面のヌープ硬さを測定したところ、それぞれ 220KHN、162KHN、32KHN であった。(2)カリオテスターを使用することによって、硬さとミネラル密度の両面から、エナメル質う蝕を定量的に評価できることが示された。

演題 B7 (修復)
【2501】

フッ化物含有 CPP-ACP ペーストが歯質の脱灰抑制に及ぼす影響

日本大学 歯学部 保存学教室 修復学講座¹

総合歯学研究所生体工学研究部門²

日野浦歯科医院³

近藤歯科医院⁴

○鈴木 崇之¹、村山 良介¹、川本 諒¹、黒川 弘康^{1,2}、高見澤 俊樹¹、宮崎 真至^{1,2}、日野浦 光³、近藤 貢⁴

Effect of Fluoride Contained CPP-ACP paste Application to Demineralization of Tooth Substrate

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Division of Biomaterials Science Dental Research Center², Hinoura Dental Clinic³, Kondou Dental Clinic⁴

○SUZUKI TAKAYUKI¹, MURAYAMA RYOUSUKE¹, KAWAMOTO RYO¹, KUROKAWA HIROYASU¹, TAKAMIZAWA TOSHIKI¹, MIYAZAKI MASASHI¹, HINOURA KO³, KONDOU MITSUGU⁴

【緒言】

ミニマルインターベンションの概念の普及によって、齲蝕治療においては歯質の脱灰および再石灰化という動的平衡をいかにコントロールするかが重要視されている。齲蝕の予防とコントロールには、フッ化物の応用が効果的であることは国内外で研究されており、高い齲蝕予防効果があると確認されている。また、フッ化物以外の齲蝕予防法としてはカゼインホスホペプチド-非結晶性リン酸カルシウム(CPP-ACP)の効果が報告されている。CPP-ACPは、リン酸カルシウムをイオン状態でエナメル質に供給できることを利用して、歯質の再石灰化を促進できることとして臨床的にも注目されている。CPP-ACPはフッ化物と併用することで、より効果的な齲蝕予防効果を得られるという研究報告もされている。最近では、CPP-ACPとフッ化物が同時に含まれているペーストがジーシーにより開発された。そこで演者らは、フッ化物含有 CPP-ACP ペースト(MI ペーストプラス, ジーシー)を用いた時に生じる歯質の変化を、非破壊的に物質の状態変化を測定可能である超音波パルス法を用いて検討した。また、SEM 観察を併せて行うことで考察資料とした。

【材料および方法】

1. 測定用試片の作製測定にはウシ下顎前歯唇側歯冠部エナメル質を用い、これを 4×4×1mm のブロック体に切り出した。次いで、このブロックの全面について耐水性シリコンカーバイドペーパーの #600 から #2000 まで順次研磨し、精製水中で 10 分間超音波洗浄したものを測定用試片とした。試片に対する脱灰条件としては、0.1M 乳酸緩衝液(pH4.75)に 20 分間浸漬した後水洗し、37℃人工唾液中(pH7.0)に保管することとし、これを 1 日 2 回、28 日間行った。この脱灰サイクルに先立って、塗布するペーストとしては、フッ化物含有 CPP-ACP ペースト(MI ペーストプラス, ジーシー)、CPP-ACP ペースト(MI ペースト, ジーシー)およびフッ化物含有歯磨剤(ルシェロ, ジーシー)の、それぞれ 3 倍、6 倍および 9 倍に希釈した水溶液に 1 日 2 回 20 分間浸漬した。また、ペーストを塗布することなく、脱灰サイクルのみ行ったものを脱灰群とした。

2. 超音波伝搬時間の測定超音波測定装置としては、パルサーレシーバー(Model 5900PR, Panametrics)、縦波トランスデューサー(V112, Panametrics)およびオシロスコープ(Wave Runner LT584, LeCroy)から構成されるシステムを用い、励振周波数は 10 MHz とした。測定に際して、試片をサンプルステージに静置してトランスデューサーを垂直に接触させ、試片の厚みとから各試片における縦波音速を求めた。超音波伝搬時間の測定時期としては、溶液浸漬前、浸漬から 7、14、21 および 28 日後とした。測定は、室温 23 ± 1℃、相対湿度 50 ± 5%の恒温室内で行い、試片の数は各条件について 6 個とした。

【成績および考察】

供試した試片の音速は、脱灰群では浸漬 7 日後から浸漬期間の延長に伴ってその音速が低下する傾向が認められた。この音速の減少傾向は、脱灰によってエナメル質の無機質成分が溶出したためと考えられた。一方、MI ペーストプラス適応群では、浸漬 7 日後から浸漬期間の延長に伴ってその音速が上昇する傾向が認められた。この音速の上昇傾向は、MI ペーストプラスを 3 倍希釈水溶液に浸漬した群で最も顕著に認められた。浸漬条件による音速の違いは、MI ペーストプラスに含まれるフッ化物がエナメル質表面に取り込まれることによって耐酸性が高まったことに加えて、CPP-ACP がエナメル質の脱灰抑制作用と再石灰化促進作用を示したためと考えられた。

【結論】フッ化物含有 CPP-ACP ペースト (MI ペーストプラス) はエナメル質の脱灰を抑制するとともに、再石灰化を促進する効果を有していることが示唆された。

演題 B8 (修復)
【3001】

QLF-D 装置の咬合面齲蝕診断特性

岩手医科大学歯学部口腔医学講座予防歯科学分野¹

釜山大学歯学部予防歯科学講座²

延世大学歯学部予防歯科学講座³

○稲葉 大輔¹、ジオン スンハ²、キム ベクイル³

Diagnostic Aspects of QLF-D for Occlusal Caries Lesions

Department of Oral Medicine, Division of Preventive Dentistry Iwate Medical University, Morioka, Japan¹,

Department of Preventive and Community Dentistry, Pusan National University, Pusan, South Korea.²,

Department of Preventive Dentistry and Public Oral Health, Yonsei University, Seoul, South Korea³

○INABA DAISUKE¹, Jeong Seung-Hwa², Kim Baek-Il³

【目的】齲蝕診断装置である従来型の光励起蛍光定量装置 QLF(Inspector Pro、Isnpektor Research Systems) の撮像装置と光源を一眼レフデジタルカメラ (EOS 650D, Canon) および高輝度 LED (波長 405nm) に換装することにより、高解像度の QLF 装置 (QLF-D、Isnpektor Research Systems) を製作した。本研究の目的は、QLF-D の蛍光画像診断測定値を視診 (ICDAS)、DIAGNOdent (KaVo) ピーク値および組織学的診断との間で比較することにより、その診断特性を検討することにある。

【方法】抜去永久歯 122 歯の咬合面を対象に、その状態を 4 種の方法で診断を行った。初めに ICDAS II による診断を行い、ついで DIAGNOdent によるピーク値および QLF-D による蛍光減少率最大値 ΔF_{max} (%) を評価した。最後に、歯冠を歯軸方向に切断して、その断面の組織学的診断を行い、結果を 0 (健全)、1 (エナメル質齲蝕)、2 (EDJ 到達齲蝕)、3 (象牙質齲蝕) に区分して、これを基準確定診断とした。

【成績】齲蝕の診断結果は、ICDAS コードでは 0~4 に、QLF-D による ΔF_{max} は -95~0% に、DIAGNOdent の指示値は 8~99 に分布し、それぞれの組織学診断との順位相関係数 r は 0.68 (QLF-D)、0.58 (ICDAS)、0.46 (DIAGNOdent) であった ($P<0.01$)。また、QLF-D で測定された ΔF_{max} 値は、ICDAS コードとも高い相関を示し ($r=0.75$, $P<0.01$)、さらに組織学的診断区分別の平均値も -28.5% (0)、-53.7% (1)、-68.1% (2)、-84.4% (3) と、齲蝕進行度に依存的であることが確認された。

【結論】QLF-D 測定値は ICDAS 診断結果ならびに組織学的診断と有意な関連を示したことから、QLF-D を併用した視診は初期齲蝕 (白斑) の検出および進行齲蝕の診断精度を向上させることが示唆された。

新規硬さ測定器「カリオテスター」の評価

— フッ化物塗布によるウシ歯根象牙質の脱灰抑制効果について —

鶴見大学 歯学部 保存修復学講座¹

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 う蝕制御学分野²

兵庫医科大学 歯科口腔外科学講座³

○菅原 豊太郎¹、中嶋 省志²、清水 明彦³、田上 順次²、桃井 保子¹

Assessment of a newly developed hardness tester (Cariotester)-

Inhibitory effect of fluoride application for bovine root dentin -

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine, Yokohama, Japan¹, Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Science, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan², Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine, Hyogo, Japan³

○SUGAWARA TOYOTARO¹, NAKASHIMA SYOZI², SHIMIZU AKIHIKO³, TAGAMI JUNJI², MOMOI YASUKO¹

【目的】本研究の目的は、押し込み硬さ測定器カリオテスターによる押し込み深さ(硬さ)と、国際的標準値である TMR(Transverse microradiography)測定値との関係から、根面う蝕の客観的評価に本測定器が有用であるか否か検討することである。

【材料および方法】ウシ歯根象牙質ブロックを、 1.5×2.5 mm の被験面を除いてマニキュアで被覆し試片とした。フッ化物には、フッ化ナトリウム(弗化ナトリウム液「ネオ」、ネオ製薬工業; NaF)、リン酸酸性フッ化ナトリウム(フルオール液歯科用 2%, 東洋製薬化成; APF)を用いた。2 種のフッ化物塗布群(NaF 群, APF 群)とフッ化物非塗布群の 3 群それぞれに、ランダムに 50 試片を割りつけた。NaF 群と APF 群の試片にはメーカー指示に従い臨床に即してフッ化物塗布を行い、その後試片を脱灰液(2.2mM CaCl₂, 2.2mM KH₂PO₄, 50mM 酢酸緩衝液、3.08mM NaN₃, pH5.0)に浸漬した。浸漬後、1,3,7,14,21 日後に脱灰液から 10 個ずつ試片を取り出し、押し込み硬さ測定機(カリオテスター, 三栄エムイー社)を用い、圧子が象牙質に押し込まれた深さ(CT 深さ, μ m)を硬さとして求めた。次いで全ての試片について TMR 画像上でミネラル喪失量(ΔZ , vol.% $\cdot\mu$ m)と脱灰深さ(LD, μ m)を求め、CT 深さと、 ΔZ もしくは LD の相関関係を Pearson の相関係数(r)で検討した。

【結果および考察】フッ化物非塗布群, NaF 群, APF 群全てにおいて、CT 深さと ΔZ との間には $r = 0.988$ (図 1)、CT 深さと LD との間には $r = 0.895$ 、の高い相関があった。Utaka ら¹⁾ はウシ歯根象牙質を用いた再石灰化実験において、CT 深さと脱灰部表層での ΔZ との間に高い相関を確認している。一方、本実験は、フッ化物塗布による脱灰抑制効果を評価したものであるが、Utaka らと同様、CT 深さと ΔZ との間に高い相関を確認した。このように、再石灰化実験と脱灰抑制実験いずれにおいても、カリオテスターによって求めた CT 深さと TMR 測定値との間には良好な相関が認められた。

【結論】カリオテスターによる押し込み深さ(硬さ)と、TMR 測定値との間には高い相関が認められ、根面う蝕の客観的評価にカリオテスターが有用であることが示唆された。

【参考】1) Sachiko Utaka et al. Cariotester, a new device for assessment of dentin lesion remineralization *in vitro*; Dent Mater J 32, 241-247, 2013.

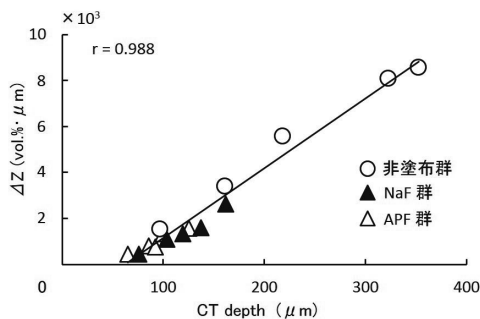


Fig. 1 Correlation between CT depth and ΔZ
Each symbol represents mean of 10 specimens in each demineralizing period.

演題 B10 (修復)
【2501】

牛歯人工脱灰象牙質に対する FCP-COMPLEX の影響

東京医科歯科大学(TMDU) 大学院医歯学総合研究科 歯蝕制御学分野¹

東京医科歯科大学 歯と骨の GCOE²

○増子 律子¹、井上 剛¹、後村 純史¹、ホヴェス ヘラルド¹、中嶋 省志¹、二階堂 徹¹、田上 順次^{1,2}

Effects of FCP-COMPLEX on the surface of bovine artificial caries affected dentin

Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate school of Medicine and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University(TMDU), Tokyo, Japan¹, Global COE Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases, Tokyo Medical and Dental University(TMDU)²

○MASHIKO RITSUKO¹, INOUE GO¹, ATOMURA JYUNJI¹, JOVES GERARDO¹, NAKASHIMA SYOZI¹, NIKAIIDO TORU¹, TAGAMI JUNJI^{1,2}

【緒言】

ADA Foundation, Volpe Research Center (USA) の Chow, Takagi らのグループはカルシウム、フッ素及びリン酸イオンを安定して同一容器内において保存できる配合割合を発見し、これを FCP-COMPLEX として報告した。この溶液塗布によりエナメル質へのフッ素の取り込み量は、通常のフッ化物塗布に比べて大幅に増加することを報告した。しかしながら、象牙質に関する報告は少ない。そこで本研究では牛歯人工脱灰象牙質に FCP-COMPLEX を塗布した場合のミネラル密度や耐酸性に対する影響について検討を行った。

【材料および方法】

人工脱灰象牙質の作製は、Joves ら (2013) の報告を基に行った。牛歯歯冠部中央から象牙質ブロック(10×6×2mm)を切出し、エポキシレジンで包埋後、表面を 280 番の耐水研磨紙で研削しマニキュアを用いて処置面を設けた。人工脱灰液 (pH4.5, 1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 50mM acetic acid, 0.02% NaN₃) に 37℃60 時間浸漬し、600 番の耐水研磨紙でスメア層を形成、人工脱灰象牙質とした。実験群として FCP-COMPLEX (1.2M NaF, 2M CaCl₂, 0.2M H₃PO₄)、2%NaF、脱イオン水を用いた。5 秒間処置面を乾燥後、各溶液を 3 μl ずつ 20 秒間塗擦し 10 秒間水洗、乾燥した。それぞれの溶液塗布による効果を測定する為、脱灰深さ及びミネラル密度を Transverse Microradiography(TMR, CMR-2 ソフテックス)で分析した。また脱灰抑制効果を比較するために酸・塩基抵抗層 (Acid-Base Resistant Zone: ABRZ) の観察を行った。各溶液塗布試料にクリアフィルメガボンド (クラレノリタケデンタル) を用いて接着し、エステライトフロークイック (A3, トクヤマデンタル) でサンドイッチ状に挟んで光照射を行った。37℃24 時間の水中保管後、半切し包埋した。耐水研磨紙で研削後、人工脱灰液 (pH4.5, 2.2mM CaCl₂, 2.2mM NaH₂PO₄, 50mM acetic acid) で 50 分間、6 %NaOCl に 20 分間浸漬した。スーパーボンド C&B (サンメディカル) で試料表層を被覆後切断し、鏡面研磨を行った。アルゴンイオンエッチングを施した後、SEM 観察した。

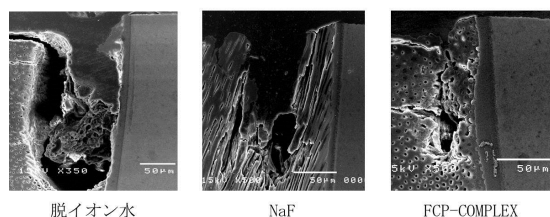
【結果および考察】

TMR 分析において各群の表層 200 μm におけるミネラル密度に有意差は認められなかった。ABRZ 観察では、Outer Lesion はそれぞれ 50 μm 程度観察された。脱イオン水群ではボンディング層直下において幅約 100 μm、深さ約 250 μm の象牙質が顕著に脱灰されていた。NaF 群ではボンディング層直下に約 25 μm の明瞭な ABRZ が観察され、さらにその直下の象牙質は幅約 70 μm、深さ約 150 μm 程度の脱灰を受けていた。FCP-COMPLEX 群ではボンディング層直下に約 25 μm の明瞭な ABRZ が確認され、直下の象牙質の脱灰は殆どなかった。

【結論】

溶液塗布直後の TMR 分析ではミネラル密度の各群での変化は見られなかった。FCP-COMPLEX を用いた場合、明瞭な ABRZ が観察され、NaF に比べて大きい脱灰抑制性の可能性が示唆された。

図1 各群のABRZ観察のSEM画像



演題 B11 (修復)
【2604】

試作リン酸エステル系モノマー含有 all-in-one 接着システムの接着耐久性

虎の門病院 歯科¹

鶴見大学 歯学部 教育探索寄附講座²

○宇野 滋¹、阿保 備子²、陶山 雄司¹、森上 誠¹、杉崎 順平¹、山田 敏元¹

Bonding longevity of an experimental all-in-one adhesive containing phosphoric acid monomers

Toranomon Hospital, Department of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Tsurumi University, School of Dental Medicine, Department of Translational Research²

○UNO SHIGERU¹, ABO TOMOKO², SUYAMA YUJI¹, MORIGAMI MAKOTO¹, SUGIZAKI JUMPEI¹, YAMADA TOSHIMOTO¹

【研究目的】溶媒としてエタノール、アセトンおよび水の3成分を配合した試作 all-in-one 接着システムに関して、その接着強さが被着歯面の湿潤状態に影響されないことを第139回本学会において発表した。今回この試作 all-in-one 接着システムの接着耐久性について、20,000回までのサーマルストレスを負荷して検討した。

【材料と方法】試作 all-in-one 接着システム(ユードント社, 千葉)の主成分はリン酸エステル系モノマーと Bis-GMA であり、溶媒としてエタノール、アセトンおよび水を配合した。

ウシ下顎前歯を#600の耐水研磨紙を用いてエナメル質あるいは象牙質平面を作製し、この面を中圧で5秒間エアブローして乾燥させた。試作接着材を被着面に塗付し10秒間静置、5秒間弱圧にてエアブローして溶媒を揮発させた後、10秒間光照射した。この上にコンポジットレ진을築盛し30秒間光照射して接着試料を作製した。24時間水中保存後の試料を baseline とし、5℃と55℃の水槽に各30秒間浸漬するサーマルサイクリングを5,000, 10,000, 20,000回行った。実施後、引張接着強さを計測した。各条件において6試料を用いた。得られた接着強さは2-way ANOVA および Tukey's multi-comparison test にて危険率5%にて統計分析した。また、接着試験後、破断面を実体顕微鏡(×10)下にて観察した。

【結果】各条件下におけるエナメル質/象牙質に対する引張接着強さ(mean (SD) MPa)は、baseline : 21.1 (1.4) / 20.6 (1.4), 5,000回 : 20.9 (2.6) / 20.1 (2.3), 10,000回 : 19.9 (3.0) / 19.2 (3.3), 20,000回 : 18.4 (3.0) / 17.6 (3.3)であった。2-way ANOVA では被着面の種類とサーマルサイクリングの両因子間に交互作用は認められず、それぞれ独立であった。接着強さは20,000回において減少する傾向があったが、統計学的にすべての条件において有意差は認められなかった($p > 0.05$)。破断様式は、接着材における凝集破壊と界面剥離との混合型が主であった。

【まとめ】試作 all-in-one 接着システムは、本実験条件下において、20,000回のサーマルストレス後においても良好な接着強さを示すことが判明した。

演題 B12 (修復)
【2604】

SEM observation of acid-base resistant zone in newly-developed bonding system

東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 う蝕制御学分野

○グアン ルイ、松井 七生子、佐藤 隆明、高垣 智博、二階堂 徹、田上 順次

SEM observation of acid-base resistant zone in newly-developed bonding system

Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

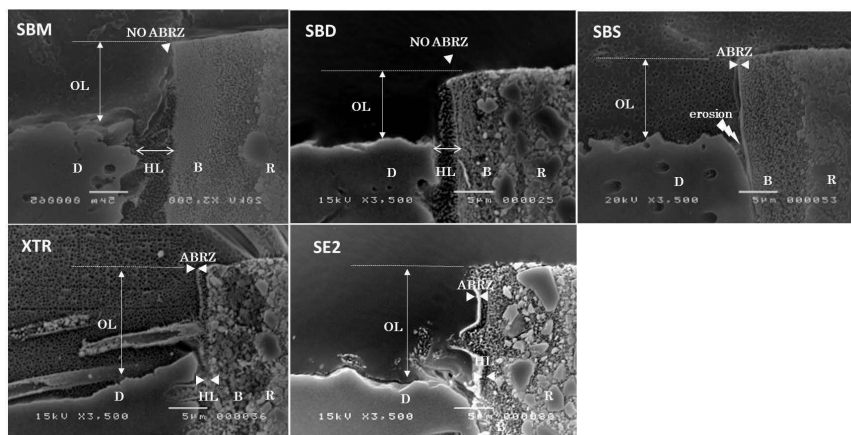
○GUAN RUI, Matsui Naoko, Sato Takaaki, Takagaki Tomohiro, Nikaido Toru, Tagami Junji

【Objective】 The purpose of this study was to investigate the morphological feature of acid-base resistant zone (ABRZ) after newly developed bonding system were applied on dentin.

【Materials and method】 Non-carries human molars were selected to obtain intact dentin discs. Five groups were prepared; Scotchbond Universal (SBU, 3M ESPE) in total-etch mode, with moist-etched dentin (SBM), dry-etched dentin (SBD), self-etch mode (SBS), Optibond XTR (XTR, Kerr) and Clearfil SE Bond 2(SE2, Kuraray Noritake Dental). A flowable resin composite was then placed between pairs of the prepared dentin disks and light-cured to make a dentin disk sandwich. After storing for 24 h in distilled water, the bonded interface was exposed to a demineralizing solution (pH=4.5) for 90 min and then 5% sodium hypochlorite for 20 min. After argon-ion etching, the interfacial ultrastructures were observed using SEM.

【Results】 The results demonstrated that there was no ABRZ detected in SBM and SBD, the hybrid layer (HL) was totally-dissolved by acid-base challenge in SBM and partially dissolved in SBD. In SBS, ABRZ was detected beneath the HL, however, funnel-shaped erosion beneath ABRZ was observed. In both XTR and SE2, uniform ABRZ was detected beneath the HL, and no erosion occurred at bonding interface.

【Discussion】 In SBU, either engaging acid etching or not, the ABRZ is not existing nor thin ABRZ with erosion take place beneath the HL. And in two-step self-etch system (XTR, SE2), the ABRZ were stable against acid-base challenge. Either with or without acid etching, bonded interface with using one-step system (SBU) created a relatively inferior acid-base resistance compare to two step self-etch adhesives.



演題 B13 (修復)
【2604】

セルフエッチシステムのエナメル質接着疲労耐久性

日本大学 歯学部 保存学教室修復学講座¹

クレイトン大学 歯学部 General Dentistry²

○高見澤 俊樹¹、辻本 暁正¹、坪田 圭司¹、宮崎 真至¹、バークマイヤー ウェイン²、ラタ マーク²

Study on Fatigue Limits of Self-etch Adhesives

Department of Operative Dentistry, Nihon University, School of Dentistry¹, Department of General Dentistry, Creighton University, School of Dentistry, Omaha NE, USA²

○ TAKAMIZAWA TOSHIKI¹, TSUJIMOTO AKIMASA¹, TSUBOTA KEISHI¹, MIYAZAKI MASASHI¹, BERKMEIER WAYNE², LATTI MARK²

【目的】 これまで接着試験には、剪断、引張りあるいは μ -TBS 接着試験が用いられてきた。これらいずれの試験法においても、一定荷重を試験片に負荷することで破壊に必要とされた応力からその接着性を評価している。しかし、咀嚼および嚥下等によって口腔内の充填物に負荷される荷重は、最大破折抗力以下の繰り返し荷重負荷であり、接着界面付近での部材の塑性変形あるいは亀裂伝播は、一定荷重負荷試験によるものとは異なる可能性がある。そこで演者らは、最大破折抗力以下の繰り返し荷重負荷が可能な疲労耐久性試験に着目し、セルフエッチシステムの接着性能について検討した。

【材料および方法】 1. 接着試片の製作および保管 ヒト抜去臼歯の歯冠部を近遠心的に切断し、常温重合型アクリルレジンに包埋した。その後、歯冠部のエナメル質に対して耐水性 SiC ペーパーを用いて #4,000 まで順次研磨し、被着面とした。得られた被着面に対して、セルフエッチアドヒーズのうちシングルステップシステムの G&A: nial Bond (GC, 以後 GB), Scotchbond Universal (3M ESPE, 以後 SU) および 2 ステップシステムの OptiBond XTR (Kerr, 以後 OX) を各製造者条件に従って塗布、照射した。その後、内径 2.36 mm、高さ 2.5 mm のステンレス製金型をアドヒーズ塗布面にクランプを用いて静置後、光重合型コンポジットレジン (Z100, 3M ESPE) を填塞、40 秒間照射を行い、これを接着試片とした。また、アドヒーズ塗布に先立って 35 %リン酸エッチング (Ultra-Etch, Ultradent) を 15 秒間行った条件についても同様な手順で接着試片を製作した。製作した試片については、37°C 精製水中に 24 h、6 M あるいは 1 Y 保管した。なお、本実験でのヒト抜去歯の使用に関しては、米国クレイトン大学歯学部倫理委員会の承認を得ている。2. 剪断接着試験 所定の保管期間が終了した接着試片については、ElectroPuls E1000 Machine (Instron) 用いて、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件でせん断接着強さ (MPa) を求めた。試験終了後の試片に関しては、その破壊形式について分類評価した。なお、試片の個数は各条件について 15 個とした。3. 接着疲労耐久性試験 接着疲労耐久性試験に際しては、ElectroPuls E1000 Machine を用いるとともに Staircase method を応用して行った。すなわち、保管期間が終了した接着試片から得られた各条件の剪断接着強さ値の約 50 % 荷重を 10 Hz の条件で繰り返し 50,000 回負荷し、この規定回数に達する前に試験片が脱落した場合は、初期荷重の 10 % を減じ、試験片が生存した場合は、逆に荷重を増加することで段階的にその荷重負荷を変動させた。最終的に試験片の脱落個数および負荷荷重からその疲労接着耐久性強さ (MPa) を計算式から求めた。なお、試片の数は各条件について 30 個とし、試験後の試片については、その破壊形式を分類評価するとともに代表例については SEM 観察を行った。

【結果および考察】 得られた接着試験の結果から、いずれの試験法、保管期間およびアドヒーズにおいてもリン酸エッチング条件は、リン酸エッチング無し条件よりも有意に高い値を示した。また、せん断接着試験の結果から、リン酸エッチング無し条件ではいずれのアドヒーズにおいても、その接着強さは保管期間 6 M で有意に向上した。一方、それぞれのアドヒーズにおける接着疲労耐久性強さは、いずれの保管条件においても有意差は認められなかったものの、保管期間 6 M で高い値を示した。また、リン酸エッチング条件では GB および SU で、そのせん断接着強さはいずれの保管期間においても有意差は認められなかった。一方、接着疲労耐久性強さは、いずれのアドヒーズにおいても 6 M でその値が向上する傾向を示した。これらの結果から、エナメル質へのリン酸エッチングはセルフエッチシステムの初期接着の向上のみならず接着疲労耐久性においても効果的であることが明らかとなった。

【結論】 本実験結果から、セルフエッチシステムのエナメル質接着疲労耐久性は、リン酸エッチングの併用によって向上することが判明した。

演題 B14 (修復)
【2604】

ユニバーサル接着システムの基本的接着性能

日本大学 歯学部 保存学教室修復学講座¹

総合歯学研究所生体工学研究部門²

すずき歯科クリニック³

○白土 康司¹、古市 哲也¹、竹中 宏隆¹、田村 ゆきえ¹、市野 翔¹、山路 歩¹、坪田 圭司¹、宮崎 真至^{1,2}、鈴木 敏裕³

Adhesive performance of a new universal adhesive system

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Division of a Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan², Suzuki Dental Clinic, Tokyo, Japan³

○SHIRATSUCHI KOJI¹, FURUICHI TETSUYA¹, TAKENAKA HIROTAKA¹, TAMURA YUKIE¹, ICHINO SHO¹, YAMAJI AYUMU¹, TSUBOTA KEISHI¹, MIYAZAKI MASASHI¹, SUZUKI TOSHIHIRO³

【研究目的】 近年、歯科臨床において、歯質接着システムの臨床応用頻度が増加している。歯質接着システムは、エッチング、プライミングおよびボンディングという複数のステップから構成されているが、現在では臨床操作時間の短縮を目的として、ステップ数を簡略化するとともに高機能化したシステムが開発、市販されている。これらの接着システムは、実験室環境において比較的安定した歯質接着性を示すと同時に、臨床報告においても良好な成績が報告されている。最近では、トータルエッチあるいはセルフエッチとしても使用可能なユニバーサル接着システムが開発されており、BISCO から ALL-BOND UNIVERSAL が製品化された。今回演者らは、このシステムの基本的接着性能について、とくに歯面の湿潤状態が歯質接着性に及ぼす影響に着目し、剪断接着接着試験、試験後の破断面の観察および走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行うことによって検討した。

【材料および方法】 供試した接着システムは、ALL-BOND UNIVERSAL (ABU) であり、対照として同様のユニバーサル接着システムである Scotchbond Universal Adhesive (SBU, 3M ESPE) を用いた。コンポジットレジンとしては Clearfil AP-X (クラレノリタケ デンタル) を使用した。接着試験用試片の製作には、被着体としてウシの下顎前歯を用い、その歯冠部を常温重合レジンに包埋し、SiC ペーパーの#600 まで順次研磨しエナメル質あるいは象牙質露出面が平坦となるように調整した後、超音波洗浄を 5 分間行った。トータルエッチ条件 (w/Et) では、歯面に 35% リン酸ゲルを 15 秒間塗布し、水洗した。セルフエッチ条件ではこれを行わないものとした (wo/Et)。歯面の湿潤状態として、歯面に付着した過剰な水分を残留させたもの (over wet 群)、キムワイプ (日本製紙クレシア) を用いて目視にて確認できる程度の湿気を保持したもの (blot dry 群) および水分をエアーシリンジにて除去したもの (dry 群) の 3 条件を設定した。被着面に対して、製造者指示条件に従って歯面処理を行った後、内径 2.38mm の Ultradent 接着試験用治具を被着面に固定し、レジンペーストを填塞、照射を行ったものを接着試験用試片とした。これらの試片を 37℃ の精製水中に 24 時間保管した後、万能試験機 (Instron) を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。なお、試片の数は 10 個とし、それぞれの平均値および標準偏差を求めて、各条件間の有意差検定を有意水準 5% の条件で統計学的検定を行った。コンポジットレジンと歯質との接着界面の観察には、接着試片と同様に作製した試片を 24 時間水中保管した後、エポキシ樹脂に包埋し、その縦断面を研磨して観察面とした。また、処理歯面についても同様に観察面とした。これらの試片は、イオンコーターで金蒸着を行い、加速電圧 10 kV の条件で SEM 観察を行った。

【成績および考察】 エナメル質に対する接着強さは、いずれの接着システムにおいても、製品間における有意差は認められなかった。歯面の乾燥状態については、ABU において wo/Et 群の dry 群で有意差に低い値を示した。象牙質に対する接着強さは、いずれの接着システムにおいても有意差は認められなかった。歯面の乾燥状態については、ABU において、w/E 条件における blot dry 群が有意差に高い値を示した。SEM 観察では、エナメル質および象牙質ともに良好な接合界面を認め、とくに w/Et 条件の ABU において象牙質との接合界面においては明瞭なハイブリッド層が観察された。ABU の処理歯面の観察では、エナメル質においては、w/Et 条件ではエッチングパターンが明瞭に観察され、エナメル小柱の針状構造も観察された。一方、wo/Et 条件ではエッチングパターンは不明瞭であり、シリコンカーバイドペーパーの削状痕が一部残留していた。象牙質においては、w/Et 条件では脱灰によってスマヤー層は除去され、象牙細管が開口し、管間象牙質も脱灰されコラーゲンの露出が観察された。一方、wo/Et 条件では一部の象牙細管内にスマヤープラグが残留した像が観察された。

【結論】 本実験の結果から、多目的接着システムである ALL-BOND UNIVERSAL の歯質接着性は良好なものであることが示された。また、歯面の乾燥状態が接着強さに影響を及ぼす因子となることが示唆された。

演題 B15 (修復)
【2603】

補修修復の長期臨床成績

長崎大学 大学病院 医療教育開発センター¹

長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 齲蝕学分野²

○久保 至誠^{1,2}、林 善彦^{1,2}

Long-term Clinical Performance of Repaired Defective Restorations

Medical Education Development Center, Nagasaki University Hospital, Nagasaki, Japan¹, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan²

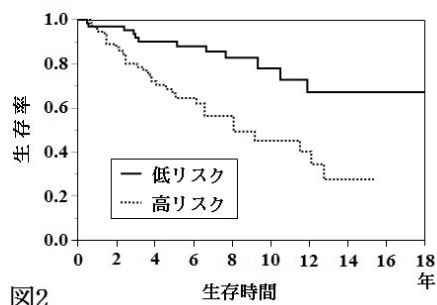
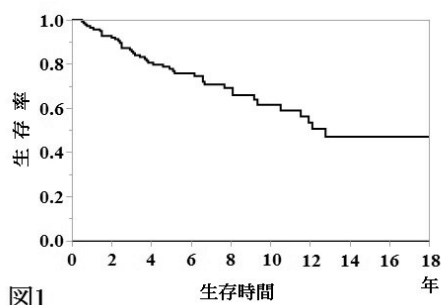
○KUBO SHISEI^{1,2}, HAYASHI YOSHIHIKO^{1,2}

【研究目的】 歯冠修復に関する治療の約 6 割を再治療が占め、必要以上に再治療が繰り返されていることが指摘されている。修復物に臨床的に許容できない何らかの問題が認められた場合、再治療では、旧修復物を全て除去して、新たに修復しなおす再修復が一般的に行われてきた。しかし、原因が除去されなければ、再修復しても再発の可能性は高い。さらに、再修復によって窩洞サイズが大きくなるだけでなく、良好な経過を示していた別部位に問題が生じる危険性も増大する。われわれは Minimal Intervention の理念とエビデンスに基づくう蝕治療の合理的な診療ガイドの構築を目的とし、臨床研究（修復および補修修復の臨床成績、問題点を有する修復物のモニタリング成績、う蝕の進行速度調査など）に取り組んでいる。今回は、補修修復の長期臨床成績に関する調査結果を報告する。

【材料ならびに方法】 1995 年以降、発表者の担当患者 49 名（男性 15 名、女性 34 名、補修時平均年齢 62 歳）に認められた臨床的許容範囲外の問題を有する修復物・補綴物 148 例にコンポジットレジン（CR）またはグラスアイオノマーセメント（GIC）を用いて補修修復を行った。患者は定期的に受診しており、原則的に 1 年ごとに口腔内写真撮影を行いながらフォローアップしている。2013 年 3 月から 12 月までに補修修復物の動向と FDI の基準に基づいた評価を行った。この期間に病気、転居、死亡等で調査できなかった症例や補修修復物に関係ない原因で再治療（補綴治療、抜歯などを含む）が行われていた場合、打ち切りとして扱った。生存時間は補修修復した年月日から再治療された日あるいは最終来院日までとした。カプラン・マイヤー法と Cox 比例ハザードモデルを用いて得られたデータの生存分析を行った。

【結果ならびに考察】 補修修復の対象となった症例は、成形修復が 40 例、インレーやアンレーなどの鑄造修復が 50 例、鑄造冠が 58 例であった。また、う蝕が補修修復に至った原因の 6 割を占めていた。148 例中 112 例は CR、36 例は GIC を用いて補修が行われていた。調査期間中に評価できなかった症例は 12 例あり、打ち切りの総数は 27 例であった。44 例に再治療が行われ、10 年後の生存率は 61.7%と推計された（図 1）。比例ハザードモデル解析により、再治療リスクが臨床成績に大きな影響を及ぼしていることが明らかになり（図 2）、補修修復の適応症に関する検討が必要と思われた。さらに、前歯部の症例が臼歯部に比較すると不良な成績を示したが、これには前装破折症例の成績が関与していたと推測された。一方、補修修復の対象となった修復・補綴物の種類、補修材料の種類、補修面における隣接面の有無、患者の年齢、性別間では有意な差は認められなかった。

【結論】 補修修復によって歯質の保存ができ、修復・補綴物のみならず歯の延命につながることが示唆された。本研究は JSPS 科研費 23592802 の助成を受けたものである。



演題 B16 (歯周)
【2504】

エアーフロータイプの洗浄機器の歯根面への処置効果

松本歯科大学大学院健康増進口腔科学講座¹

松本歯科大学病院総合診療室²

○青柳 恵子¹、音琴 淳一¹、大木 絵美²、藤井 健男¹

Effect of AIR-FLOW Master on Root Surface

Department of Oral Health Promotion, Matsumoto Dental University, Nagano, Japan¹, Department of General Dentistry, Matsumoto Dental University Hospital²

○AOYAGI KEIKO¹, Otogoto Jun-ichi¹, Oki Emi², Fujii Tateo¹

【目 的】

歯周治療において、歯肉退縮を引き起こした部位の歯根面に対する処置は、歯根面が脆弱なため日常のプラークコントロールならびに歯科医院における PMTC などに注意を払う必要がある。今回は AIR-FLOW Master を用いた場合の歯根面への影響について基礎的検討を行ったので報告する

【材料および方法】

1) 材料：埋伏智歯あるいは矯正治療における便宜抜去を行った歯根面を用いた。通法に基づいて抜去後に保存を行った歯根を、歯冠とともに処置面がほぼ水平になるようにレジン包埋して実験に供した。

2) 処置方法：歯冠側から見て右側には AIR-FLOW (松風) を用いた歯根面への照射を行った。照射条件はハンドピースノズル先端から歯面まで 5mm と設定し、15 秒間、最大強さの 1/4 の強さで垂直に噴射して試料を作成し、AIR-FLOW 処理群とした。パウダーはエアーフローパウダー (ペリオ) を用いた。対象群として試料左側の CEJ 付近のやや根尖寄りのセメント質に対して超音波スケーラー (ピエゾンマスター700、松風) を 15 秒間、臨床と同様の条件で歯根面を処理し、超音波処理群とした。試料はその後、超音波洗浄ののち以下の計測を行った。

3) 計測方法：表面性状の分析には非接触 3D 測定レーザー顕微鏡である LEXT・OLS4000 (OLYMPUS 社製) を用いた。LEXT・OLS4000 で撮影した画像は保存し、画像解析ソフトウェア OLYMPUS Stream で粗さ解析を行い、平均粗さ (Ra) を計測した。

4) 統計学的分析：2 群間の比較は paired-t-test を行った。

【成 績】

AIR-FLOW 処理群の平均値 (Ra) は $2.78 \pm 0.66 \mu\text{m}$ 、超音波処理群の平均値 (Ra) は $3.67 \pm 1.33 \mu\text{m}$ で、統計学的に有意に AIR-FLOW 処理群の表面粗さは小さかった。

また、3D 画像では AIR-FLOW の処理は超音波スケーラーと比較して、微小な凹凸が少なく平滑な平面が形成されていることが示された。

【考察および結論】

表面性状の観察から、AIR-FLOW による処置の有効性が示された。これは使用しているパウダーの影響が大きいと考えられた。

今後、他のパウダー等の処置条件ならびに歯根面に対して行うことにより、適切な条件を設定の上、多施設間の臨床検討を行う予定である。

演題 B17 (歯周)
【3103】

ランダムトンネル型 β -TCP 骨補填材を用いた顎堤保存術-イヌでの 8 週および 24 週での評価-

東京医科歯科大学医歯学総合研究科歯周病学分野¹

東京医科歯科大学 図書館情報メディア機構 教育メディア開発部²

東京医科歯科大学 歯学部付属病院 歯科総合診療部³

○井川 貴博¹、秋月 達也¹、松浦 孝典¹、星 嵩¹、小野 彌¹、丸山 起一¹、木下 淳博²、小田 茂³、
和泉 雄一¹

Ridge preservation with the use of random tunnel structured beta-tricalcium phosphate block: A 8 and 24 weeks study in beagle dogs

Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Science, Tokyo Medical and Dental University¹, Department of Educational Media Development, Tokyo Medical and Dental University², Oral Diagnosis and General Dentistry, University Hospital of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University³

○IKAWA TAKAHIRO¹, AKIZUKI TATSUYA¹, MATSUURA TAKANORI¹, HOSHI SYU¹, ONO WATARU¹,
MARUYAMA KIICHI¹, KINOSHITA ATSUHIRO², ODA SHIGERU³, IZUMI YUICHI¹

キーワード：歯槽堤保存術、骨補填材、 β -TCP

【目的】抜歯後の歯槽堤吸収を防ぐ材料として骨補填材が研究されている。これまでに骨形成を促進するとされる孔径 300 μ m のトンネル構造を組み合わせた、ブロック状のランダムトンネル型 β -Tricalcium Phosphate (RT β -TCP) を作製し、本材料の顎堤増大術に対する効果を 3 ヶ月の観察期間で評価し、骨伝導能を認めたことを報告した。本研究では本材料の歯槽堤保存術への効果を短期および長期観察で評価することを目的として実験を行った。

【材料と方法】ビーグル成犬(オス) 12 頭を使用した。上顎左右第一前臼歯頬側に近遠心幅 4mm、CEJ を基準として深さ 6mm の歯根面に至る骨欠損を外科的に作製し、同歯を抜歯し抜歯窩を搔爬した。実験群では RT β -TCP を欠損部に補填し、対照群には何も補填せず、縫合した。術後 8 週および 24 週で 6 頭ずつ標本を採取し micro CT、脱灰切片(HE 染色)で観察した。本研究は東京医科歯科大学動物実験委員会の承認を得て行った。

【結果と考察】術後 8 週および 24 週において、両群ともに臨床的に著明な炎症所見は認められなかった。早期に 24 週の観察期間予定の 1 頭で補填材の脱落を認めた。臨床所見にて両観察期間ともに対照群では歯槽堤に嵌凹を認めたが、実験群では抜歯前と同程度の歯槽堤幅であった。micro CT 画像にて、両群ともにある程度の歯槽骨の再生が認められたが、両観察期間ともに骨欠損中央部および骨頂部で実験群の方が、水平的骨幅が有意に大きかった。両観察期間を比較すると、24 週では 8 週と比べ水平的骨幅に吸収傾向が見られたものの両観察期間の間に有意な差は認められなかった。組織所見にて、実験群では RT β -TCP の周囲および既存の歯槽骨との連続した骨形成像が観察された。また、8 週での組織像と比べ 24 週では β -TCP の歯槽骨への置換が多く認められ、成熟した新生骨が認められた。

【結論】本材料が歯槽堤保存術に有用な材料であることが示唆された。

GCF 中 Hb 検出における IC 法とルミノール法との相関について

日本歯科大学 生命歯学部 歯周病学講座¹

日本歯科大学生命歯学部共同利用研究センター・アイソトープ研究施設²

○伊藤 弘¹、沼部 幸博¹、関野 愉¹、村樫 悦子¹、石黒 一美¹、戸円 智幸²、橋本 修一²

Correlation of immuno-chromatography method and luminal method on hemoglobin detection in GCF

Department of Periodontology, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo, Japan¹, Dental Research Institute, Radio Isotope Center, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry Tokyo, Japan²

○ITO HIROSHI¹, NUMABE YUKIHIRO¹, SEKINO SATOSHI¹, MURAKASHI ETSUKO¹, ISHIGURO HITOMI¹, TOEN TOSHIYUKI², HASHIMOTO SHUICHI²

【目的】 Probing pocket depth (PPD)と bleeding on probing (BOP) は、歯周病の診査・診断において必要不可欠な項目である。これらに加えて、歯肉溝滲出液 (gingival crevicular fluid; GCF) の成分解析は、より精度の高い診断結果を得るためにきわめて重要であることが良く知られている。我々は、PPD と BOP の両検査の限界と、それを補うための新たな GCF 検査項目として潜血反応の観察を提案してきた。今回、臨床パラメータによって検索部位を2群に分け、各群における immuno-chromatography (IC) 法とルミノール法の2つの hemoglobin (Hb) 検出方法の相関関係を検索し、GCF における潜血検出の意義について考察を加えた。

【材料および方法】 1、被験者：定期的に SPT を受診している非喫煙者 55 名 (男性 23 名、女性 32 名) とし、年齢±標準偏差は 63.0±11.3 歳であった。2、検索部位：歯冠修復のない上下顎前歯部 105 部位とした。3、臨床パラメータ：plaque index (PII), gingival index (GI), clinical attachment level (CAL), PPD, BOP, GCF 量とした。GCF 採取は、余剰なプラークを除去後簡易防湿にてペリオペーパー (OraFlow) を同一部位に対して 3 回軽い抵抗感があるまで挿入を行い、ペリオトロン 8000 (OraFlow) にて測定を行った。GCF 量は検量線にて算出した。なお、ペリオペーパーに出血が認められた試料は除外した。4、Hb 検出法 (潜血反応)：ヒトモノクローナル抗体を用いた IC 法 (ワカモト製薬) とルミノール法を用いた。5、相関関係：各臨床パラメータに対する IC 法とルミノール法との相関は、Spearman's correlation を用いた。6、倫理的配慮：本研究は日本歯科大学生命歯学部倫理委員会承認のもと遂行された (承認番号：2111)。

【結果および考察】 1、PPD4mm 以下 BOP(-)群(n=68)と PPD5mm 以上 BOP(+)群(n=15)において、IC 法とルミノール法とは両群において有意な相関を認めた。2、GCF 量 0.2 μ l 以下群(n=21)と GCF 量 1.0 μ l 以上群 (n=19) において、IC 法とルミノール法とは前者において相関は認められなかったが、後者では有意な相関を認めた。3、GI:0 群(n=45)と GI:1&2 群(n=60) において、IC 法とルミノール法とは前者において相関は認められなかったが、後者では有意な相関を認めた。4、59 歳以下(n=62)と 60 歳以上(n=43)において、IC 法とルミノール法とは前者において相関は認められなかったが、後者では有意な相関を認めた。以上の結果から、IC 法とルミノール法の両者が高い相関性を示した Hb 量の多い群は、臨床パラメータにより分類した歯周病の疾患程度が高いグループであることが検証された。従って、既存の歯周病の臨床的分類が Hb 量と相関することが確認され、特に迅速に Hb 量が計測できる IC 法の測定は、有効な診断ツールであることが確認された。本研究は文部省科学研究費助成金：基盤研究 C, 課題番号：23593072・25463267 の一部助成を受けて行われた。

PKR 阻害による TNF- α 誘導性骨吸収の抑制

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部歯周歯内治療学分野¹

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔組織学分野²

○篠原 宏貴¹、寺町 順平²、稲垣 裕司¹、木戸 淳一¹、羽地 達次²、永田 俊彦¹

Inhibition of PKR suppressed TNF-alpha-induced bone resorption .

Department of Periodontology and Endodontology ,Institute of Health Bioscience, The University of Tokushima Graduate School¹, Department of Histology and Oral Histology,Institute of Health Bioscience, The University of Tokushima Graduate School²

○SHINOHARA HIROKI¹, Teramachi jumpei², Inagaki Yuji¹, Kido Jun-ichi¹, Haneji Tatsuji², Nagata Toshihiko¹

【目的】二本鎖 RNA 依存性プロテインキナーゼ (PKR) は、ウイルス二本鎖 RNA、IFN γ 、TNF- α 、LPS などに応答し細胞の防御機構やアポトーシスに関与する蛋白質リン酸化酵素であり、近年 NF- κ B、MAPK などの細胞内情報伝達系にも関与していることが分かっている。また過去の報告で *in vitro* において PKR が骨芽細胞分化や RANKL による破骨細胞形成に重要な役割を果たしていることが報告されている。TNF- α は歯周病など炎症局所において破骨細胞形成を促進し骨破壊に重要な役割を果たしている。しかし、TNF- α による破骨細胞形成における PKR の役割については不明である。そこで、炎症局所における PKR の役割を検討するために、PKR 阻害剤を用いて *in vitro* において TNF- α による破骨細胞形成における PKR の役割を検討した。また *in vivo* においても PKR 阻害剤を用いて TNF- α による骨破壊での骨破壊抑制効果について検討した。

【方法】破骨前駆細胞はマウス脛骨および大腿骨骨髓細胞から、非接着性細胞を選択し、M-CSF を 3 日間刺激したもの及びマウス破骨前駆細胞株である RAW264.7 細胞をそれぞれ使用した。TNF- α 誘導性破骨細胞形成は、上記破骨前駆細胞に RANKL を 24 時間処理後、TNF- α を 3 日間刺激させた系で行った。PKR の破骨細胞形成における役割を検討するため、TNF- α 刺激前に PKR 阻害剤である 2AP で前処理にて行い、破骨細胞形成を TRAP 染色にて解析した。さらに破骨細胞分化関連遺伝子の解析を RT-PCR 法、破骨細胞形成に重要な転写因子の発現と細胞内情報伝達系の解析をウェスタンブロット法にて行なった。また、2AP による破骨前駆細胞障害活性を MTT assay を用いて検討した。加えて、マウス成熟破骨細胞において TNF- α による NFATc1 の核移行への PKR の影響を検討するために、2AP を前処理後 TNF- α で刺激し、NFATc1 の局在を免疫蛍光抗体染色法を用いて解析した。さらに、*in vivo* において PKR 阻害剤を用いた TNF- α による骨吸収抑制効果について検討するため、3 週齢マウスの頭蓋縫合部に PBS のみ、TNF- α (15 μ g)のみ、TNF- α (15 μ g)・PKR 阻害剤 (2.5 μ g)を 14 日間局所投与し、マイクロ CT を用いて解析した。さらに組織学的に観察するためパラフィン切片標本作製し HE 染色、TRAP 染色を施した。

【結果と考察】PKR の発現は TNF- α による破骨細胞分化に伴って上昇した。TNF- α による破骨細胞形成は 2AP の前処理により顕著に抑制された。一方、2AP は破骨前駆細胞への細胞毒性を示さなかったことから、2AP の細胞障害により破骨細胞形成が抑制されているのではないことが分かった。また、2AP は TNF- α に誘導される NFATc1、c-fos など破骨細胞分化に重要な転写因子の発現を抑制した。破骨細胞分化マーカーであるカテプシン K、TRAP、ATP6V0d2 の遺伝子発現も 2AP により抑制された。さらに、破骨前駆細胞において 2AP は TNF- α による NF- κ B、MAPK 経路の活性化も抑制した。また、2AP は成熟破骨細胞において TNF- α による NFATc1 の核への移行を抑制した。*in vivo* において TNF- α は、骨吸収を促進させたが、PKR 阻害剤処理により抑制された。組織学的解析においても TNF- α により誘導される TRAP 陽性破骨細胞の数も PKR 阻害剤処理により抑制されていた。以上より、PKR は歯周病変など炎症性骨破壊局所において破骨細胞形成に重要な役割を果たしており、PKR を標的とした炎症性骨破壊治療の可能性が示唆された。

演題 B20 (歯周)
【2504】

マウス実験的歯周炎モデルにおけるタバコ煙濃縮物及びニコチンの影響

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

○久保田 実木子、柳田 学、森 健太、長谷川 詩織、山羽 聡子、山下 元三、山田 聡、北村 正博、村上 伸也

The effects of cigarette smoke condensate and nicotine on periodontal tissue destruction in a periodontitis model mouse

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, Osaka, Japan

○KUBOTA MIKIKO, YANAGITA MANABU, MORI KENTA, HASEGAWA SHIORI, YAMABA SATOKO, YAMASHITA MOTOZO, YAMADA SATORU, KITAMURA MASAHIRO, MURAKAMI SHINYA

【目的】

歯周病は歯周病原性細菌により歯周組織の破壊が引き起こされる炎症性疾患である。また、歯周病の危険因子には細菌因子だけでなく宿主因子と環境因子があり、中でも喫煙は主要な環境因子の一つといわれており、同年代の非喫煙者と比較して喫煙者の歯周組織は破壊が進行しやすいという特徴がある。タバコの中には様々な有害物質が含まれており、三大有害物質であるニコチン・タール・一酸化炭素の含有量が多いことが知られている。タバコの煙及びニコチンが生活習慣病の重要な危険因子となることは報告されているが、歯周組織の破壊にどのように関与するのかの詳細は未だ十分には明らかになっていない。今回の研究では、マウスの実験的歯周炎モデルを作製し、タバコの煙やニコチンの全身投与が歯周組織や所属リンパ節にどのような影響を及ぼすかを検討した。

【材料および方法】

1. 実験動物と実験方法

実験動物には生後5週齢雄 C57BL/6 マウスを用いた。同マウスを、タバコ煙濃縮物を腹腔内投与する群、ニコチンを腹腔内投与する群、コントロールとしてPBSを腹腔内投与する群の3群に分け、以下の実験を行った。

上記物質を腹腔内に投与後、全身麻酔下で上顎左側第二臼歯歯頸部に絹糸を結紮を行い実験側とし、上顎右側第二臼歯には処置をせず対照側とした。

2. μ CT 撮影

絹糸結紮後5日目に全ての群のマウスを屠殺し、回収した上顎骨を μ CT 撮影し、実験側及び対照側の第二臼歯周辺の歯槽骨の状態を μ CT にて観察した。また、Lin¹らの方法に従い歯槽骨の吸収量を測定ならびに解析し、 $p < 0.01$ で有意とみなした。

3. 組織学的解析

μ CT 撮影後パラフィン包埋及び凍結包埋を行い、歯周組織の切片を作製して、HE 染色及びTRAP 染色を行い、光学顕微鏡にて観察した。

4. Real-time PCR 解析

上記と同様の実験方法で、絹糸結紮後7日目に全ての群のマウスを屠殺し、対照側及び実験側の顎下リンパ節より単核球を採取し、RANKL の遺伝子発現を real-time PCR 解析で行った。

【結果および考察】

絹糸を結紮後5日目において、全ての群の対照側で歯槽骨の吸収が観察されなかったのに対して、全ての群の実験側で歯槽骨の吸収が惹起された。その歯槽骨吸収量は、PBS 投与群と比較してタバコの煙濃縮物の投与群及びニコチン投与群において有意に増加した。組織学的な解析により、PBS 投与群の実験側と比較して、タバコの煙濃縮物の投与群及びニコチン投与群の実験側では第二臼歯近遠心の歯槽骨及び根分岐部において多数の破骨細胞が観察された。また、全ての群において、対照側と比較して実験側では、炎症細胞の上皮内への浸潤及び実験側のリンパ節におけるRANKL の遺伝子発現の増強が認められ、特にタバコの煙濃縮物の投与群においてその傾向が顕著であった。

今回の実験結果より、絹糸をマウスの臼歯に結紮することで惹起された歯槽骨の破壊は、タバコの煙濃縮物及びニコチンの全身投与により一層増悪することが明らかとなった。このことから、タバコの煙濃縮物やニコチンは、絹糸結紮歯周病モデルにおいて歯槽骨の破壊や吸収に強く関与することが示唆された。

参考文献

1) Lin X, Han X, Kawai T, Taubman MA. Infect Immun. 2011 Feb;79(2):911-7

演題 C6 (修復)
【2599】

成人を対象とした Tooth Wear に関する調査 (第二報) 年齢階級, 食生活習慣および酸蝕有無の影響について
東京医科歯科大学大学院 歯制御学分野
○北迫 勇一、佐々木 好幸、高垣 智博、田上 順次

Epidemiological study on Tooth Wear for adult population Part 2: Influence of age, diet and dental erosion on prevalence of tooth wear

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

○KITASAKO YUICHI, SASAKI YOSHIYUKI, TAKAGAKI TOMOHIRO, TAGAMI JUNJI

【研究目的】

近年, 酸蝕症が咬耗・摩耗など他の疾患の進行を促進することが報告されている. 演者らは, 第 139 回保存学会において, 成人を対象とした Tooth Wear に関する調査報告した. 今回, 被験者数を増やし, 年齢階級, 食生活習慣および酸蝕有無と Tooth Wear との関連について検討したので報告する.

【材料と方法】

本研究趣旨に同意が得られた被験者 1108 名 (平均年齢 49.1 歳, 男性 549 名, 女性 559 名) に対し, Tooth Wear に関する口腔内診査を行った後, 食生活習慣に関するアンケート調査を実施した. すなわち, 全顎的に 1 歯 4 歯面 (歯頸部, 唇側・頬側面, 切縁・咬合面, 舌側・口蓋側) における Tooth Wear 状況について, 視診にて 8 段階 (健全, エナメル質 4 段階, 象牙質 3 段階) のスコア付けを行った (修復・補綴・喪失などにより評価出来ない場合は none として評価). 食生活習慣に関するアンケート調査では, 各種酸性飲食物 (グレープフルーツおよびレモン, みかんおよびオレンジ, りんご, 炭酸飲料, スポーツ飲料, 栄養ドリンク, 乳酸飲料, お酢系飲料, 柑橘系飲料, りんごジュース) の摂取状況 (ほぼ毎日摂取・週半分摂取・ほとんど摂取しない) について調査した. Tooth Wear スコア結果は, 10 歳年齢階級, 酸蝕有無 (酸蝕症群・非酸蝕症群) および部位 (前歯・臼歯)・歯面別に, 各種酸性飲食物の摂取頻度に関するアンケート結果は, 10 歳年齢階級および酸蝕有無別に各々 % 表示で集計した. 両結果は, カイ 2 乗検定を用いて統計学的に検討した (有意水準 5% で有意確率を提示).

【結果および考察】

酸蝕症は, 全世代を通じ約 4 人に 1 人の割合 (26.2%) で認められた. Tooth Wear スコアは, 歯面別に様々なスコア分布をした. 前歯の切縁部では, 30 代まで酸蝕症群・非酸蝕症群ともにエナメル質段階を主とした傾向を示すものの, 40 代の酸蝕群において象牙質段階への顕著な変動傾向を認め, 50 代で再度両群同様に象牙質段階を主とした傾向を示した (図 1). この要因として, 酸蝕症群では, 酸性環境により咬耗・摩耗が促進した結果, 1 年齢階級分早期に Tooth Wear が進行し, その後はより加齢の影響が大きくなることで両群同様の傾向を示したものと考えられた. 一方, 酸性飲食物のアンケート結果では, 調査した全ての酸性飲食物において, 酸蝕群の方が非酸蝕群より有意に高い摂取頻度を示した ($p < 0.0001$). 炭酸飲料の摂取頻度では, 非酸蝕群で全世代を通じて摂取頻度が少ないのに対し, 酸蝕症群ではほぼ毎日摂取する頻度が 10 代から 40 代まで高い傾向を示した (図 2).

【結論】

本研究結果より, 年齢階級, 食生活習慣および酸蝕有無が Tooth Wear と関連し, 特に酸蝕有無が咬耗・摩耗の進行過程に強く関連している可能性が示唆された.

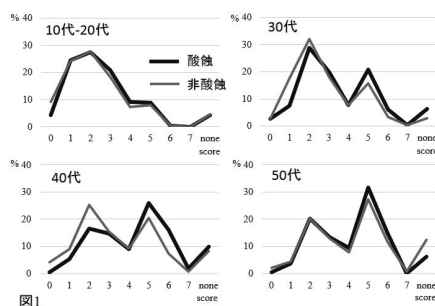


図1

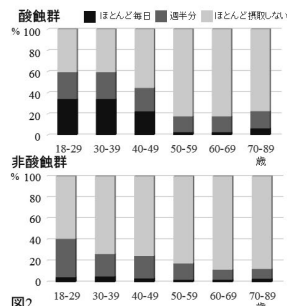


図2

演題 C7 (修復)
[2603]

コンポジットレジン耐摩耗性ならびに対合歯摩耗量の新規評価法の検討

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 咬合機能再構築学講座 う蝕制御学分野¹

東京医科歯科大学 歯学部 口腔保健学科 口腔臨床科学分野²

○成瀬 由己¹、高垣 智博¹、松井 七生子¹、佐藤 隆明¹、二階堂 徹¹、池田 正臣²、田上 順次¹

Wear evaluation of composite resin and antagonistic tooth enamel with Focus variation 3D scanning microscope
Cariology and Operative Dentistry, Graduate school, Tokyo Medical and Dental University¹, Clinical Oral Science, Department of Oral Health Care Sciences, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University²
○NARUSE YUUKI¹, TAKAGAKI TOMOHIRO¹, MATSUI NAOKO¹, SATO TAKAAKI¹, NIKAIDO TORU¹, IKEDA MASAOMI², TAGAMI JUNJI¹

[研究目的]

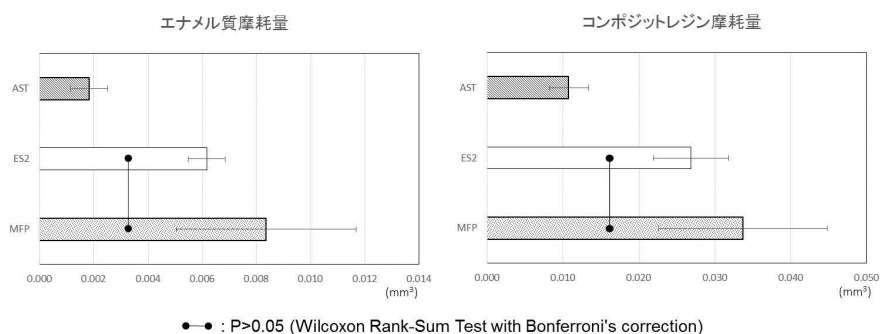
コンポジットレジン耐摩耗性は近年フィラーの改良などにより機械的強度が向上しており、臼歯部咬合面の修復においても広く応用されている。口腔内において機能する歯冠修復物の多くは、対合歯エナメル質との長期的な機械的接触を繰り返す。本研究では、配合フィラーの特徴が異なるコンポジットレジンを用いて耐摩耗性と対合歯エナメル質の摩耗量を Focus variation 3D scanning microscope を用いて評価した。

[材料及び方法]

直径 5 mm の半球状の凹型の石英モールド (イシカワテクノ社製) に 3 種類のコンポジットレジン ; Estelite Asteria (AST, OcE, トクヤマデンタル) 、 Clearfil Majesty ES-2 Premium (ES2, A2E, クラレノリタケデンタル) 、 試作コンポジットレジン MFP-051S1 (MFP, A2, ジーシー) を充填し、砲弾型 SUS 製スタイラスを押し付けて半球状試料を作製した。その後、光照射器 (Optilux501, Kerr) を用いて垂直方向より 30 秒間、水平方向より各面 10 秒間照射後、37℃水中に 24 時間保管し、上部試料とした。下部試料は、内径 22 mm のアクリルチューブ中央にヒト小白歯を頬側上部エナメル質が露出するように包埋した後、耐水研磨紙 # 1500 まで研削し、エナメル質平坦面を露出させた。衝突摩耗試験機 (K655-05, 東京技研) を用いて、37℃水中において荷重 0.5MPa、距離 1 mm より衝突 1 回、スライド 1 回、ストローク幅 1 mm、50000 サイクルで試験を行った。その後、Focus variation 3D scanning microscope (Infinite Focus G4, Alicona Imaging) を用いて、上部試料においてはコンポジットレジンの摩耗量 (mm³)、摩耗部表面粗さ (Ra) を、下部試料ではエナメル質摩耗量 (mm³) を計測した。試料数は n=6 とし、得られた結果は Wilcoxon Rank-Sum Test with Bonferroni's correction を用いて有意水準 5 % にて統計処理を行った。

[結果および考察]

下図に各群のエナメル質摩耗量 (左) およびコンポジットレジン摩耗量 (右) の結果を示す。AST のエナメル質摩耗量とコンポジットレジン摩耗量は ES2、MFP と比較して有意に小さかった ($p < 0.05$)。一方、表面粗さの値は、全ての群の間で有意差が認められなかった。このことから、コンポジットレジンの摩耗量及び、対合エナメル質摩耗量には、配合されているフィラーの特徴が大きく影響することが示唆された。本報の結果からは、AST は高い耐摩耗性を示し、かつ、対合歯エナメルに及ぼす影響も少ないコンポジットレジンと考えられる。また、摩耗量の評価においては Focus variation 3D scanning microscope は有効であることが明らかになった。



演題 C8 (その他)
【2805】

閉塞型睡眠時無呼吸症候群に対する口腔内装置による治療効果

虎の門病院¹

順天堂大学医学部循環器内科²

虎の門病院睡眠呼吸器科睡眠センター³

○陶山 雄司¹、杉崎 順平¹、森上 誠¹、宇野 滋¹、葛西 隆敏²、成井 浩司³、山田 敏元¹

Effect of oral appliance therapy on obstructive sleep apnea syndrome

Department of Dentistry, Toranomon Hospital¹, Department of Cardiology, Juntendo University School of Medicine², Sleep Center, Toranomon Hospital³

○Suyama Yuji¹, Sugizaki Jumpei¹, Morigami Makoto¹, Uno Shigeru¹, Kasai Takatoshi², Narui Koji³, Yamada Toshimoto¹

【目的】閉塞性睡眠時無呼吸症候群（OSAS）は、睡眠時に反復して生じる完全または部分的な上気道の閉塞によって無呼吸や有意な気流の減少が生じる疾患で、その度に覚醒反応が起こり睡眠が分断されることによって日中の傾眠傾向に加え、様々な循環器疾患の原因となる。OSAS の治療において口腔内装置（MAS）は CPAP につぐ治療と位置づけられており、特に OSAS 軽症～中等症に対しては第一選択とされることも多い。MAS は下顎を前方位に保つ事により上気道を拡大させることを目的としている。この MAS には上下一体型（MonoBlock Type）と上下分離型（SomnoDent®）があり、構造的な理由から患者のコンプライアンスと治療効果について、MAS の選択が大きく影響するといわれている。本研究の目的は虎の門病院睡眠呼吸器科睡眠センター、またはその連携施設において MAS による治療を選択され当院歯科に紹介された OSAS 患者を対象に、MAS による治療効果について検討した。

【方法】2012 年 10 月から 2013 年 10 月の一年間に OSAS と診断され虎の門病院歯科を受診した MAS 適応患者 72 人を被験者とした。被験者の性別、年齢、Body Mass Index (BMI)を調査し、MonoBlock Type, SomnoDent®のいずれかの MAS を作製し、Polysomnography (PSG)または簡易モニター（アプノモニター）にて測定した OSAS 治療前後の Apnea-Hypnea Index (AHI)、ならびに血中酸素飽和度(SpO₂)の比較検討を行った。なお MAS 作製時の下顎位は George Gage®（ペントロンジャパン）を用い、最大前方移動量の 70%の位置に決定した。

【成績】被患者の男女の割合は男性 52 人（72.2%）、女性が 20 人（27.8%）で平均年齢は 58.5 歳であった。BMI は軽度（～18.5）2 名、中等度（18.5～25）40 名、重度（25～）20 名であった。OSAS 未治療の被験者の AHI 値は平均 21.9±15.6 で、MAS の治療後において AHI 値は 5.7±5.5 と有意に低下し（ $p<0.05$ ）、50%以上低下した割合は全体の 80.6%を占めた。重回帰分析の結果、AHI 値低下率と相関がみられたのは、術前の AHI 値と術前 SpO₂であり、AHI 値が大きい程、また、SpO₂が高いほど MAS の効果が大きいことが判明した。一方、性別、年齢、BMI、MAS の種類と AHI 値低下率との相関は認められなかった（ $p>0.05$ ）。

【結論】OSAS 患者に対する MAS による治療効果は MonoBlock Type と SomnoDent®の種類に関わらず、両者ともに効果は大きく、OSAS の治療に有効であることが示唆された。SomnoDent®は MonoBlock Type と比較して装着感もよく、患者のコンプライアンスも獲得し易いが、今後、装着による副作用を含めた長期的観察が必要である。

演題 C9 (その他)
【3101】

大気圧低温プラズマジェットにより液中に生成した活性酸素種を用いた殺菌技術

大阪大学大学院 工学研究科¹

大阪府立産業技術総合研究所²

鶴見大学歯学部口腔微生物学講座³

鶴見大学歯学部保存修復学講座⁴

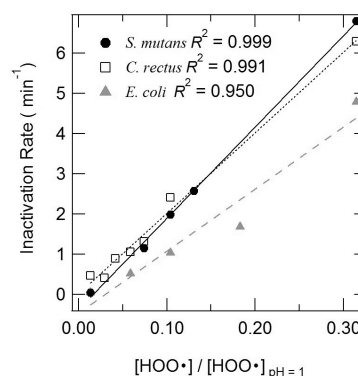
○北野 勝久¹、井川 聡²、山崎 弘光³、臼井 エミ⁴、大島 朋子³、前田 伸子³、桃井 保子⁴

Sterilization technique using reactive oxygen species in liquid induced by atmospheric low temperature plasmajet

Graduate School of Engineering, Osaka University, Suita, Japan¹, Technology Research Institute of Osaka Prefecture, Izumi, Japan², Department of Oral Microbiology, Tsurumi University School of Dental Medicine, Yokohama, Japan³, Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine, Yokohama, Japan⁴

○KITANO KATSUHISA¹, IKAWA SATOSHI², YAMAZAKI HIROMITSU³, USUI EMI⁴, OSHIMA TOMOKO³, MAEDA NOBUKO³, MOMOI YASUKO⁴

“プラズマ”とは固体、液体、気体に次ぐ物質の第4の状態を示す用語であり、電界などにより気体を放電することで、気体がイオンと電子に解離した状態のプラズマになる。プラズマは、化学的・物理的な活性が高く、半導体プロセス等で必須の技術として産業利用されている。一般的には真空圧力下で生成されるが、近年の技術開発により真空容器を必要としない大気圧下のプラズマ生成が容易となってきた。中でも、大気圧低温プラズマは適用範囲が広く、著者らはLF (Low Frequency) プラズマジェットと名づけた新しい大気圧プラズマ生成方法を開発し、各種の医療応用を進めている。プラズマにより空気中の酸素分子は励起され活性酸素種が生成される。活性酸素種の酸化力を活かした殺菌消毒は歯科分野における好適な技術と考える。この技術を医療装置として実用化する場合、その殺菌機構を物理・化学・生物面から検証する事が要である。反応過程は溶液系で検証を進めており、並行してヒト抜去歯の象牙質感染モデルの無菌化などの研究も進めている。これまでの液体殺菌の研究により、液体のpHを中性から4.7以下の酸性条件にすると、殺菌に必要な時間が1/100以下になるという非常に高い殺菌力を得ている。これは、液中のスーパーオキシドアニオンラジカル ($O_2^{\cdot-}$) が酸解離平衡 (pK_a 4.8) によるプロトン化反応で、殺菌力の高いヒドロペルオキシラジカル ($HOO^{\cdot}$) に変化するためと予想している。 $O_2^{\cdot-}$ は低pH下で電気的に中性な $HOO^{\cdot}$ に変化し、細胞内への浸透性を増し、細胞内へ酸化ストレスを与えて細菌を不活化すると考えられる。つまり、pH条件により殺菌因子である $HOO^{\cdot}$ の存在比が変化することが重要である。溶液中に $O_2^{\cdot-}$ が常に一定量供給される反応系を想定すると、不均化反応の式から $HOO^{\cdot}$ 濃度のpH依存が求まる。pHを変化させ殺菌力を評価する実験を行ったところ、特徴の異なる3菌種である大腸菌 (*E.coli*)、ミュータンス菌 (*S.mutans*)、カンピロバクター菌 (*C.rectus*) において、 $HOO^{\cdot}$ の溶液中濃度と殺菌力 (inactivation rate) が高い正の相関関係にあり、殺菌力にはpHが重要な因子である事がわかった (図1)。pHが7程度の中性な人体組織にプラズマ殺菌を行うためには、酸性液を塗布する低pH法は必須技術であるが、プラズマによって作られる活性種の半減時間は一般的な殺菌剤に比べて圧倒的に短いという特徴がある。そのため、活性酸素種と殺菌剤の殺菌力が人体表層においては同程度であっても、活性酸素種は生体内部まで浸透するのが困難なため為害性が少なく済むと考えられる。従来の殺菌技術より優れた特徴を持つ大気圧プラズマを歯科医療分野で実用化するために、物理、化学、生化学、歯学、医療機器メーカーなどと異分野連携による研究体制を構築し研究を進めているところである。



酸化チタンナノチューブの歯の漂白への応用：基礎特性評価 2 光触媒特性評価

大阪歯科大学 歯科保存学講座¹

大阪大学産業科学研究所 先端ハード材料研究分野²

○小松 首人¹、西田 尚敬¹、古澤 一範¹、廣田 陽平¹、恩田 康平¹、竹内 摂¹、宮地 秀彦¹、谷本 啓彰¹、関野 徹²、山本 一世¹

Application of titanium oxide nanotubes to tooth bleaching : Fundamental evaluation 2 Evalution of their photocatalyst ability

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University, Osaka, Japan¹, Tohoku University, Miyagi, Japan²

○KOMATSU OBITO¹, NISHIDA HISATAKA¹, FURUSAWA KAZUNORI¹, HIROTA YOUHEI¹, ONDA KOHEI¹, TAKEUCHI OSAMU¹, MIYAJI HIDEHIKO¹, TANIMOTO HIROAKI¹, SEKINO TOHRU², YAMAMOTO KAZUYO¹

【緒 言】

昨今、二酸化チタンの光触媒特性を応用した二酸化チタン含有の歯科用漂白材が開発され、従来の歯科用漂白材より低濃度の過酸化水素水でも優れた効果が期待できると注目されている。そこで、我々は新規材料である酸化チタンナノチューブを歯科漂白に利用できないかと考え、酸化チタンナノチューブのラジカルの発生量の検討をおこない、通常の酸化チタンよりも多くのラジカルを発生させることを報告した（第 138 回本学術大会）。そこで、今回はメチレンブルーをもちいた UV 照射下での TNT の光触媒特性の評価および TNT に可視光をもちいた漂白効果の検討をおこなったので報告する。

【材料および方法】

出発原料として、TiO₂ 粉末 (P-25, 日本アエロジル社) をもちいた。まず化学合成プロセスをもちいて TNT を作製した。TiO₂ 粉末を 10M NaOH 水溶液に加え、110℃で 24 時間攪拌還流させた。得られた白色のスラリーにイオン交換水を加えよく攪拌し、ろ過により固液分離を行った。この洗浄を 70 μS/cm 以下になるまで繰り返した。この生成物に 0.1M 塩酸を加え、再び洗浄作業を 5 μS/cm 以下になるまで行い乾燥させ、TNT 粉末を得た。TNT 粉末は非加熱と加熱処理を行った試料を用意した。加熱処理は、大気中にて 400℃、2h の条件で行った。

実験 1：メチレンブルー (MB) 濃度変化測定

20mg/L の MB 溶液に TNT 粉末 (非加熱、加熱処理) を加え UV 照射下にて攪拌を行い、規定時間ごとに MB 溶液の吸光度の測定をおこなった。UV 照射には UV 照射装置 (UVF-204S、三永電機製作所)、吸光度測定には紫外可視分光光度計 (UVmini-1240、島津製作所) をもちいた。

実験 2：漂白効果の検討

3 種類 (TiO₂ 粉末、TNT 粉末 (非加熱、加熱処理)) の試料をそれぞれ、3 % の過酸化水素水 1ml に加え、着色歯モデルに塗布し、漂白用 LED 照射器 (コスモブルー、GC) にて 5 分間光照射したのち、歯科用色彩計 (シェードアイ NCC、松風) にて測色をおこなった。この操作を 3 回繰り返しおこなった。また、3 % 過酸化水素水のみのもをコントロールとした。

色彩表示は L*a*b*表色系をもちい、漂白の程度は色差 ΔE と L*a*,b*値で評価した。

着色歯モデルとして市販のハイドロキシアパタイト焼結体 (アパタイトペレット APP-100、PENTAX) をメチレンブルー溶液に 2 週間浸漬し着色させたものをもちいた。

【結 果】

実験 1 において UV 照射下では、加熱処理を行った TNT 粉末は非加熱の TNT 粉末より大きな濃度の変化が確認できた。

実験 2 において、すべての試料において漂白回数が多いほど L*値は大きくなり、a*値は低くなり、b*値は 0 に近づいた。また、それにともない ΔE 値も増加した。コントロールと比較してすべての試料において漂白の効果は増大した。また、その中でも非加熱の TNT 粉末の漂白効果が最も大きくなった。

【考 察】

今回の実験により、加熱処理により TNT 粉末の UV に対する光触媒特性が向上することが明らかとなった。これは加熱処理をおこなうことで、TNT 粉末の結晶性が向上するためと考えられる。また、漂白実験において非加熱の TNT 粉末で最も漂白効果が大きくあらわれたのは、過酸化水素水に TNT 粉末 (非加熱、加熱処理) を入れることで TNT 粉末に色がつくことに関係していると考えられる。もともとは白色の粉末である TNT 粉末を過酸化水素水に入れることで非加熱の TNT 粉末は黄色く色が変化し、加熱処理を行った TNT 粉末はごく薄い黄色に色が変化した。しかし、TiO₂ 粉末は過酸化水素水に入れても色の変化はなく白色のままであった。二酸化チタンの光触媒としての波長の反応域は紫外線領域よりにより可視光への反応は大きくないが、TNT 粉末は黄色く色が変わるために光触媒としての波長の反応領域が可視光線より広がることで漂白効果が大きくなったと考えられる。

【結 論】

TNT の歯の漂白への応用、さらに可視光への応答化の可能性が示唆された。

演題 C11 (修復)
【2501】

ポリマイクロバイアルバイオフィルムモデルを利用した過酸化尿素の殺菌効果

神奈川歯科大学大学院 歯学研究科 う蝕制御修復学講座¹

神奈川歯科大学大学院 歯学研究科 微生物感染学講座²

神奈川歯科大学大学院 歯学研究科 神経組織発生学講座³

○長谷川 晴彦¹、富山 潔¹、熊田 秀文²、河田 亮³、飯塚 純子¹、倉持 江里香¹、椎谷 亨¹、東 一善³、寺中 敏夫¹、高橋 理³、浜田 信城²、向井 義晴¹

Antimicrobial effect of carbamide peroxide on polymicrobial biofilms

Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan¹, Department of Microbiology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan², Department of Histology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan³

○HASEGAWA HARUHIKO¹, TOMIYAMA KIYOSHI¹, KUMADA HIDEFUMI², KAWATA AKIRA³, IIZUKA JUNKO¹, KURAMOCHI ERIKA¹, SHIYA TORU¹, HIGASHI KAZUYOSHI³, TERANAKA TOSHIO¹, TAKAHASHI OSAMU³, HAMADA NOBUSHIRO², MUKAI YOSHIHARU¹

【目的】ホームブリーチング剤は通常ブラッシング後に使用するが、隣接面や歯頸部等にプラーク残存が度々見受けられる。プラークに対してホームブリーチング剤の成分である 10%過酸化尿素が殺菌性を発揮するのであれば、う蝕および歯周病予防が期待できる。本研究では、多菌種で構成される口腔バイオフィルムに近似した細菌叢を再現でき、抗菌剤や抗菌材料の高速スクリーニングである“High Throughput Screening”にも利用可能な“ポリマイクロバイアルバイオフィルムモデル”を用いて過酸化尿素の殺菌効果を検討した。

【材料及び方法】1) 試料作製：24-well culture plate の上蓋内面に取り付けられたクランプにカバーガラス（直径 12 mm、厚さ 0.15 mm）を固定後、121℃で 15 分間滅菌処理を行った。2) ポリマイクロバイアルバイオフィルム形成：バイオフィルムの形成は、健康な被験者 1 名の刺激唾液を用い、Exterkate らの方法（Caries Res 2010）に従った。即ち、buffered McBain 2005（0.2% スクロース含有）培養液中にカバーガラスを懸架し、37℃で 10 時間嫌気培養（CO₂: H₂: N₂ = 10%: 10%: 80%）後、新鮮培養液に交換してさらに 14 時間培養を続けた。3) 殺菌効果の判定：滅菌蒸留水で希釈した 0.5%, 2.5%, 10%過酸化尿素水溶液（0.5CP, 2.5CP, 10CP）および 0.5% HiLite Shade Up（0.5HS, 松風）、0.5% Opalescence Regular（0.5OR, Ultradent Products）および 0.2%フッ化ナトリウム溶液（0.2NaF）を作製し、カバーガラスに付着したポリマイクロバイアルバイオフィルムを 30 分間浸漬した。次に、Cysteine Peptone Water（CPW）にて洗浄し、CPW 浸漬下で超音波により付着バイオフィルムを剥離、分散させた後、血液寒天培地に播種して生菌数（CFU/ml）を算定した（各群 n=10）。算定値の統計処理は有意水準 5% で one-way ANOVA と Games-Howell により行った。なお、陽性対照として 0.2%グルコン酸クロルヘキシジン（0.2CH）、陰性対照として滅菌蒸留水（Cont）を用いた。

【結果】今回の実験において、Cont（1.0×10⁸ CFU/ml）に対して CP および 2 種類のホームブリーチング剤は濃度依存的に細菌数の減少が認められ（0.5CP: 4.0×10⁶ CFU/ml, 2.5CP: 1.2×10⁴ CFU/ml, 0.5HS: 3.3×10⁵ CFU/ml, 0.5OR: 3.5×10⁵ CFU/ml）、0.2CH との間に有意差は認められなかった。また 10CP では細菌の発育が認められなかった。一方、0.2CH（4.4×10⁵ CFU/ml）は、Cont と 0.2NaF に比較して、有意な細菌数の減少が認められたが、0.2NaF は Cont に比較して有意差は認められなかった。

【考察】過酸化尿素は、バイオフィルムに対して濃度依存的な殺菌効果を示した。これは過酸化尿素の分解過程で生じる過酸化水素由来のヒドロキシラジカルやヒドロペルオキシラジカルなどの強いフリーラジカルにより示されたものと思われる。今回、ホームブリーチング剤の処理は 30 分間という比較的短い時間であったにもかかわらず、海外で使用されているクロルヘキシジンと同程度の殺菌効果を発揮することが示唆されたことから、ホームブリーチング剤はヒト口腔内プラークに対して十分な殺菌効果を期待できることが示唆された。

【結論】ホームブリーチング剤は、漂白効果のみならずプラークに対する殺菌効果が期待できることからう蝕および歯周病の予防が期待できることが示唆された。

演題 C12 (修復)
【2501】

ポリマイクロナバイアルバイオフィルムに対する S-PRG フィラー溶出液の抗菌効果

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学講座¹

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 微生物感染学講座²

○倉持 江里香¹、富山 潔¹、熊田 秀文²、椎谷 亨¹、飯塚 純子¹、長谷川 晴彦¹、渡邊 清子²、
浜田 信城²、寺中 敏夫¹、向井 義晴¹

Antibacterial effects of an S-PRG eluate on the polymicrobial biofilms

Dept. of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University¹, Dept. of Microbiology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University²

○KURAMOCHI ERIKA¹, TOMIYAMA KIYOSHI¹, KUMADA HIDEFUMI², SHIYA TORU¹, IIZUKA JUNKO¹, HASEGAWA HARUHIKO¹, WATANABE KIYOKO², HAMADA NOBUSHIRO², TERANAKA TOSHIO¹, MUKAI YOSHIHARU¹

【目的】我々はこれまでに S-PRG フィラー含有歯磨剤による歯質の脱灰抑制ならびにポリマイクロナバイアルバイオフィルム(PMB)に対する抗菌効果について報告してきた。S-PRG フィラー溶出液には、フッ化物、ストロンチウムおよびホウ酸などのイオンが認められている。本研究では、ポリマイクロナバイアルバイオフィルムモデル (Exterkate *et al.*, Caries Res, 2010) を用いて S-PRG フィラー溶出液のバイオフィルムに対する抗菌効果を検討した。

【材料および方法】1) PMB の作製：24-well culture plate の上蓋内面に取り付けられたクランプにカバーガラス (直径 12 mm, 厚さ 0.15 mm) を固定後, 121℃で 15 分間滅菌処理した。カバーガラス表面へのバイオフィルム形成は健康な被験者 1 名の刺激唾液を用い, Exterkate らの方法 (Caries Res 2010) に従った。即ち, buffered McBain 2005 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES 含有) 培養液中にカバーガラスを懸架, 37℃で 10 時間嫌気培養 (CO₂:H₂:N₂ = 10%:10%:80%) し, 新鮮培養液に交換後, 継続して 14 時間嫌気培養した。2) S-PRG フィラー溶出液による PMB への影響：実験開始から 24 時間後と 34 時間後に以下の各種培養液に交換して 48 時間後まで嫌気培養した。3) 試験培養液の作製：S-PRG フィラーを蒸留水に懸濁して各種イオンを溶出させた上清の S-PRG フィラー溶出液 (110.5 ppm F) を用いて S-PRG フィラー溶出液含有培養液 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES 含有) (S 群) を作製後, buffered McBain 2005 培養液で 2 倍および 10 倍希釈した S-PRG フィラー溶出液含有培養液 (0.5S 群, 0.1S 群) を調製した。また, S-PRG フィラー溶出液と同濃度のフッ化物を含む NaF 含有培養液 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES 含有) (F 群) を作製後, buffered McBain 2005 培養液で同様に 2 倍および 10 倍希釈した NaF 含有培養液 (0.5F 群, 0.1F 群) を作製した。対照として, buffered McBain 2005 (0.2%スクロース, 50 mM PIPES 含有) 培養液 (Cont 群) を使用した (n=12)。4) 培養液の pH 測定：各種培養液の pH を 24, 34 および 48 時間後に測定 (9618-10D, F-71, Horiba) した。5) 生菌数測定：培養 48 時間後に PMB が形成されたカバーガラスを 2 ml cysteine peptone water に浸漬し超音波処理によりカバーガラスに付着した細菌を剥離, 分散後, 血液寒天培地に塗抹して生菌数を算定した。6) 統計分析：実験群間の比較は One-way ANOVA および Games-Howell により有意水準 5%で行なった。

【結 果】培養液の pH 変化は, 34 時間培養後で S 群が pH6.8, 0.5S 群が pH6.4 であり, 48 時間培養時においても S 群は pH6.8 であり, 他の実験群に対して有意に高い値を示した。48 時間後の生菌数は, Cont 群 (5.8×10^8 CFU/ml) に比較して S 群 (1.7×10^7 CFU/ml), 0.5S 群 (1.2×10^8 CFU/ml), F 群 (8.6×10^7 CFU/ml) および 0.5F 群 (2.3×10^8 CFU/ml) は有意に低い値を示し, S 群は F 群に比較して有意に低い値であった。

【考察および結論】S-PRG フィラー溶出液を用いた S 群は, Cont 群および F 群に比較して有意に生菌数の減少が認められ, その培養液の pH は有意に高い値を示し, F 群よりも S 群で抗菌効果が強く認められた。これらの結果より, フッ化物イオンを単独で含む材料により影響を受けたバイオフィルムに比較し, S-PRG 溶出液や S-PRG 材料からの溶出イオンによって影響を受けたバイオフィルムでは, 抗菌性イオンが効果的に働き, 生菌数を減じる可能性を示した。今後は, S-PRG 溶出イオンをバイオフィルム中に高濃度に取り込ませるを方策を検討する必要があるものと考えられた。

演題 C13 (修復)
[2501]

カキタンニンのポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する抗菌効果ー 共焦点レーザー顕微鏡による観察 ー
神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学講座¹
神奈川歯科大学大学院 神経組織発生学講座²
神奈川歯科大学大学院 微生物感染学講座³
神奈川歯科大学大学院 歯科理工学講座⁴
リリース科学工業株式会社⁵
東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座 歯科保存学分野⁶

○富山 潔¹、河田 亮²、東 一善²、渡辺 清子³、熊田 秀文³、二瓶 智太郎⁴、椎谷 亨¹、長谷川 晴彦¹、
倉持 江里香¹、寺中 文子⁴、三宅 香⁴、中村 健一⁵、奥原 正國⁵、邊見 篤史⁵、齋藤 正寛⁶、高橋 理²、
浜田 信城³、寺中 敏夫¹、向井 義晴¹

Antibacterial effect of the tannic acid extracted from astringent persimmon on polymicrobial biofilms - Confocal laser scanning microscopic analysis -

Dept. of Cariology and Restorative Dent, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Yokosuka, Japan¹, Dept. of Histology, Embryology and Neuroanatomy, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University², Dept. of Microbiology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University³, Dept. of Dental Materials Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University⁴, Rilis Co., Ltd⁵, Dept. of Restorative Dentistry, Div. of Operative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry⁶

○TOMIYAMA KIYOSHI¹, KAWATA AKIRA², HIGASHI KAZUYOSHI², WATANABE KIYOKO³, KUMADA HIDEFUMI³, NIHEI TOMOTARO⁴, SHIYA TORU¹, HASEGAWA HARUHIKO¹, KURAMOCHI ERIKA¹, TERANAKA AYAKO⁴, MIYAKE KAORI⁴, NAKAMURA KENICHI⁵, OKUHARA MASAKUNI⁵, HENMI ATSUSHI⁵, SAITO MASAHIRO⁶, TAKAHASHI OSAMU², HAMADA NOBUSHIRO³, TERANAKA TOSHIO¹, MUKAI YOSHIHARU¹

【研究目的】口腔バイオフィルムは、常在菌および生体外から伝播される外来菌の影響を常に受けており、生体に害を及ぼさずに、持続的にバイオフィルム形成の抑制効果を発揮することができる抗菌薬の開発は重要である。縮合型タンニンは口腔レンサ球菌の中でも *S. mutans* に吸着し易く、発育阻止への効果や歯質および修復物への付着抑制能の高いことが指摘されている。我々は第 138, 139 回本学会において、渋柿由来の縮合型タンニンを含有させた食品・化粧品等の原料 (Pancil PS-M: リリース科学工業株式会社) が濃度依存的に短期および長期培養ポリマイクロバイアルバイオフィルム形成を抑制することを報告した。今回、ポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する渋柿由来縮合型タンニンのバイオフィルム形成抑制効果を、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察、分析した。

【材料および方法】ポリマイクロバイアルバイオフィルム形成用材料には直径 12 mm 厚さ 150 μ m のカバーガラス (Menzel, Braunschweig, Germany) を用いた。処理剤には、Pancil PS-M, Corsodyl (0.2 vol% グルコン酸クロルヘキシジン: CHX, GlaxoSmithKline), およびそれぞれの処理材を滅菌脱イオン水により希釈した溶液を用いた。実験群は、(1) 非処理群 (陰性対照, cont), (2) 3.0 vol% Pancil PS-M 群 (3P), (3) 4.0 vol% 同群 (4P), (4) 0.05% グルコン酸クロルヘキシジン群 (0.05C), および (5) 0.2% グルコン酸クロルヘキシジン (陽性対照, 0.2C) の 5 群とした (n=3)。ポリマイクロバイアルバイオフィルムの培養には 1 被験者から採取した刺激唾液を用いた。培養液には buffered McBain 2005 (0.2% スクロース, 50 mM PIPES 含有) 培養液を用い、50 倍希釈となるように刺激唾液を混入した後、培養液の交換を 10 時間の時点で 1 回行ない、24 時間まで嫌気条件下 (CO₂: 10.0%, H₂: 10.0%, N₂: 80.0%, 37°C) で培養した。培養 24 時間の時点で各処理剤 (3P, 4P, 0.05C, 0.2C) あるいは滅菌脱イオン水 (cont) に 5 分間浸漬後、円盤状ガラス試片を除去し、生・死全細菌検出用の蛍光試薬として LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit (Invitrogen) を用いて、暗所、室温下で 30 分間反応させた後、共焦点レーザー顕微鏡 (Nikon, PCM-2000) を用いて、生・死全細菌およびバイオフィルム構造の観察を行った。

【結 果】24 時間培養したポリマイクロバイアルバイオフィルムにおいて、非処理群では生菌のシグナルがほぼすべてを占めていた。一方、各濃度の Pancil PS-M あるいはグルコン酸クロルヘキシジンを用いた処理群では濃度依存的に死菌が多く認められた。特に 4P は他群に比較してバイオフィルム構造が薄くなり、蛍光シグナルが低くなる傾向が認められた。また、0.2C では多数の死菌を認めるものの、4P に比較して蛍光シグナルが高い傾向が認められた。

【考 察】固相面に付着したバイオフィルムはほとんどの細菌が死滅したとしても、細胞外多糖体 (EPS: extracellular polysaccharide) で構成される基質構造が残存するとこれがバイオフィルム再形成の起点となることが報告されている。EPS は構造の支持体や防護膜として機能するだけではなく、養分の運搬・保持、酵素、情報の伝達など、内部環境の恒常性を保つ役割を担っており、歯面へのバイオフィルム再形成を制御するにはこれを除去することが極めて重要であると考えられている。本研究において、4P は 0.2C に比較して、生菌、死菌ともに蛍光が弱くなる傾向が認められたことから、Pancil PS-M 処理が、広い抗菌スペクトルならびに *S. mutans* の持続的発育阻止効果が報告されているグルコン酸クロルヘキシジンと同等の殺菌効果を期待できるだけでなく、バイオフィルム残存構造を除去できる可能性も有することが示唆された。

【結 論】Pancil PS-M は口腔バイオフィルムに対して即効性のみならず、持続性も兼ね備えた作用を有する可能性が示唆された。

演題 C14 (修復)
【3102】

超音波透過法を用いたシリコンゴム印象材の硬化特性評価

日本大学 歯学部 保存学教室修復学講座¹

日本大学歯学部総合歯学研究所²

○村山 良介¹、古市 哲也¹、高橋 史典¹、島村 穰¹、黒川 弘康²、陸田 明智²、升谷 滋行²、宮崎 真至²

Setting Characteristic Determination of Elastomeric Impression Materials Using Ultrasonic Devices

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Nihon University School of Dentistry, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²

○MURAYAMA RYOSUKE¹, FURUICHI TETSUYA¹, TAKAHASHI FUMINORI¹, SHIMAMURA YUTAKA¹, KUROKAWA HIROYASU², RIKUTA AKITOMO², MASUTANI SHIGEYUKI², MIYAZAKI MASASHI²

【緒言】

印象材の硬化特性を評価することは、臨床において印象採得時の操作時間および、撤去時間を考慮する上で重要である。臨床的に、製造者指示による操作時間での挿入と硬化終了時間に従った撤去が行われている。しかし、硬化特性の評価は、動的粘弾性を計測したものがほとんどであり、印象材に動的負荷を加えることなく測定したものはほとんどないのが現状である。そこで、演者らは、非破壊による計測が可能な超音波透過法に着目した。

超音波透過法は、被計測物の物性を音響特性から評価する手法の一つである。すなわち、入射波が被計測物を透過する際に要した時間から音速を求めることによって、弾性係数等の音響特性を導き出すものであり、探傷試験等に応用されている。本実験では、各種シリコンゴム印象材の硬化時間の音速変化を、2.25MHz 帯のトランスデューサを用い 23℃および 37℃下にて測定する事によって検討した。

【材料および方法】

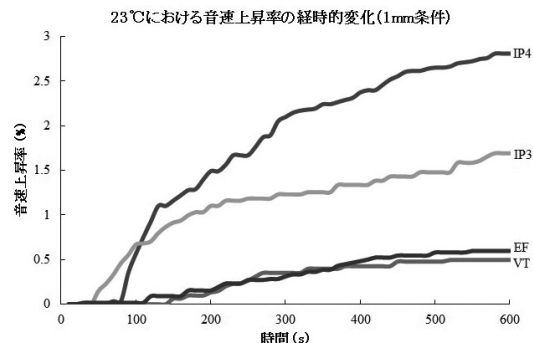
供試したゴム質印象材は、Imprint 4 (IP4, 3M ESPE) Imprint 3 Quickstep (IP3, 3M ESPE), エグザミックスファイン (EF, GC) Virtual (VT, Ivoclar Vivadent) である。超音波測定装置としてパルサーレーザ、縦波用トランスデューサおよびオシロスコープから構成されるシステムを用い、伝搬時間と試料厚みとの関係から縦波音速を求めた。測定には、トランスデューサとレーザ間に内径 5mm、高さ 1mm および内径 5mm 高さ 5mm の二種類のストリップを貼付し、円筒状隔壁として用いた。製造者指示にしたがって練和した印象材を円筒状隔壁内に填塞し、10 秒ごとに 10 分間測定を行った。測定の温度条件は、室温条件として 23±1℃, 相対湿度 50±5%の恒温恒湿室で行った。また、硬化後の印象材はデュロメーターを用い Shore A 硬さの測定を行った。なお、試料数は各条件につき 10 個とした。

【成績および考察】

供試したいずれの印象材においても、23℃条件に比較して 37℃条件の方が音速の上昇開始時間は短縮する傾向を示した。音速の上昇開始時間は、37℃における IP4 で、ミキシング開始後約 40 秒であり、製造者指示による操作時間である 120 秒よりも早かった。さらに、硬化後の音速がプラトーに達するまでの時間は、37℃においては、IP3 が約 210 秒と最も早く、他の 3 製品は 250 秒前後であった。印象材の厚みに関しては、5mm に比較して、1mm 条件で音速の上昇時間は遅延する傾向を示した。印象材の Shore A 硬さは、600 秒経過で、23℃条件に比較して 37℃のほうが高い傾向を示した。

【結論】

ゴム質印象材の縦波音速は、硬化反応が進むにつれて上昇傾向を示した。また、硬化時の温度によって音速の上昇傾向が異なるものであった。硬化中の印象材の縦波音速を測定することによって、超音波透過法による硬化特性の評価が可能であることが示された。



演題 C15 (修復)
【2603】

裏層用バルクフィルコンポジットレジンの基本的諸性質

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹

日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究分野²

福石歯科医院³

○辻本 暁正^{1,2}、野尻 貴絵^{1,2}、佐藤 愛子^{1,2}、清水 裕亮^{1,2}、高見澤 俊樹^{1,2}、瀧川 智義^{1,2}、宮崎 真至^{1,2}、吉野 弘三³

Mechanical Properties of Bulk-fill Base Resin Composites

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry², Fukuishi Dental Clinic³

○TSUJIMOTO AKIMASA^{1,2}, NOJIRI KIE^{1,2}, SATO AIKO^{1,2}, SHIMIZU YUSUKE^{1,2}, TAKAMIZAWA TOSHIKI^{1,2}, TAKIGAWA TOMOYOSHI^{1,2}, MIYAZAKI MASASHI^{1,2}, YOSHINO KOZO³

【目的】 近年、光重合型レジンはその組成成分の改良により機械的強度の向上が図られてきており、今日では大型の臼歯部咬合面窩洞への臨床応用もされている。これまで、大型窩洞に対する光重合型レジン修復においては、硬化深さの制限があるところから積層充填が推奨されてきた。しかし、これらの応用範囲の拡大に伴って、大型窩洞に対して一括で充填できるコンポジットレジンへの臨床的要求も増加するようになっている。このような背景のもとで、その硬化深さの制限を大幅に改善した裏層用バルクフィルレジンの開発、市販されているものの、その機械的性質の詳細については不明な点が多いのも現状である。そこで演者らは、裏層用バルクフィルコンポジットレジン¹の基本的諸性質について、市販されているフロアブルコンポジットレジンと比較するとともにその臨床応用について検討した。

【方法】 供試した裏層用バルクフィルコンポジットレジン¹は、Bulk Base (サンメディカル、以後 BB) および SDR (デンツプライ三金、以後 SD) の、合計 2 製品とした。また、フロアブルコンポジットレジンとして MI Low Flow (GC、以後 ML)、Beautiful Flow Plus (松風、BF)、Majesty ES Flow (クラレノリタケデンタル、以後 ES) および Estelite Σ Quick (トクヤマデンタル、以後 EQ) の合計 4 製品を、バルクフィルコンポジットレジン¹の対照として用いた。

1. 硬化深さ 硬化深さの測定は、ISO 4049 に準じて行った。通法に従って、光硬化したレジンの長径をマイクロメーター (No. 102 - 30, 測定精度 0.01 mm, ミツトヨ) を用いて測定した値を 2 で除したものを硬化深さとした。2. 体積重合収縮率 (vol %) 体積変化の測定は、ガラス管内の水位変化によって求めるディラトメーターを用いて行った。得られた体積変化量から、重合硬化に伴って生じた体積変化率 (vol %) を算出し、これを体積重合収縮率とした。3. 曲げ強さおよび曲げ弾性率 曲げ強さ試験は、ISO 4049 に準じて行った。通法に従って、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いて、3 点曲げ強さの測定とともに、応力 - 歪曲線から曲げ弾性率を算出した。4. フィラー含有量 (wt %) 無機質フィラー含有量の測定は、熱重量測定装置 (TG/DTA 6300, Seiko Instrument) を用い、レジンペーストを加熱後の残存重量を測定し、熱負荷前後の減量 (wt %) を求め、100 - 減量 (wt %) として算出した。5. レジン硬化物のフィラー形状および象牙質との接合界面の SEM 観察 通法に従って試片を製作し、イオンコーター (Quick Coater Type SC-701, サンヨー電子) を用いて金蒸着を施し、フィールドエミッション型 SEM (ERA-8800FE, Elionix) を用いて、加速電圧 10 kV の条件で観察した。

【成績】 供試したコンポジットレジン¹の硬化深さは 2.53 ~ 4.27 mm であり、裏層用バルクフィルコンポジットレジン¹の BB および SD は、ML, BF, ES および EQ と比較して有意に高い値を示した。また、照射開始から 180 秒後のコンポジットレジン¹の体積重合収縮率は、2.27 ~ 4.43 % であり、裏層用バルクフィルコンポジットレジン¹の BB および SD は、ML, BF, ES および EQ と比較して有意に低い値を示した。このことは、裏層用バルクフィルコンポジットレジン¹の光線透過性、ベースレジンの組成あるいは無機質フィラー含有量の多寡に起因するものと考えられた。

【結論】 裏層用バルクフィルコンポジットレジン¹は、フロアブルレジンと比較して有意に高い硬化深さを有するとともに低い重合収縮率を示した。今後、これらの製品がコンポジットレジン開発の一つの方向性を示すものと考えられた。