

二種類のホワイトニング処理によるエナメル質の耐酸性

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門¹

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 歯科理工学部門²

○田中 玲奈¹、真鍋 厚史¹、宮崎 隆²

In vitro demineralization of tooth enamel subjected to two whitening regimens

Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry¹, Division of Oral Biomaterials and Engineering, Showa University School of Dentistry²

○TANAKA REINA¹, MANABE ATSUFUMI¹, MIYAZAKI TAKASHI²

【研究目的】本研究の目的は、10%過酸化尿素を用いたホームブリーチ処理と35%過酸化水素によるオフィスブリーチ処理をヒト天然歯に行い、エナメル質の耐酸性を評価することである。【材料および方法】矯正治療のために便宜抜去した小白歯エナメル質に、10%過酸化尿素(Nite White Excel: PHILIPS)によるホームブリーチ処理を行ったサンプル(HB)と、35%過酸化水素(HiLite: 松風)とハロゲンランプ照射(グリップライト II: 松風)を併用したオフィスブリーチ処理後に人工唾液を作用させたサンプル(OB)、およびハロゲンランプ照射のみを行ったサンプル(LC)を用意し、それぞれのサンプルを脱灰溶液に2週間浸漬後、未処理のエナメル質(Control)と脱灰傾向を比較した。エネルギー分散型 X 線分光法(Shimadzu)によりエナメル質から脱灰溶液へのカルシウム放出量を測定した。さらに、マイクロCT(Shimadzu)を用いて脱灰によるエナメル質のミネラル密度とミネラル分布を測定した。

【結果】HBおよびLCはOBに比較して有意に脱灰傾向を示した。一方、OBは他のサンプルと比較して脱灰に対する抵抗性が向上した。一方、LCはマイクロCTによるミネラル分布の解析から低密度層の増加(ミネラルの減少)による脱灰が明らかであった。

【考察】これまでに活性酸素の生じるところにミネラルの移動が起こることが報告されている^{1,2)}。エナメル質は表層から深層にかけてエナメルタンパクの増加に伴いミネラル密度が減少するため、浸透性の高い35%過酸化水素はエナメル質深層に分散しやすい。したがって、ハロゲン照射はエナメル質の深層で過酸化水素を活性化してラジカルを生じミネラル分配を起こすことにより、エナメル質の潜在的な石灰化が高まる。OBは、LCやHBに比べin vitroでの耐酸性の向上を示すことが明らかになったことからオフィスブリーチは脱灰からエナメル質を保護する作用があると考えられる³⁾。

【結論】OBは、LCおよびHBと比較してin vitroでエナメル質の耐酸性を向上させる。参考文献: 1) PLoS one; 4(6): e5986 2009 2) Archives of Oral Biology; 55 300-308 2010 3) Journal of the American Dental Association; 144 (7) July 2013

演題 P42 (修復)
【3102】

低重合収縮レジン系裏層材「バルクベース」の重合率と重合収縮率について
サンメディカル株式会社 研究開発部
○八尾 勉、土川 益司、今井 啓文

Degree of conversion and polymerized shrinkage of low polymerized shrinkage resin for cavity base 'BULK BASE'
Sun Medical Co., Ltd. Research and development department
○YAO TSUTOMU, Tsuchikawa Masuzi, Imai Hirohumi

【緒言】

サンメディカルは2013年10月に歯科裏層用高分子系材料「バルクベース (BB)」を開発・上市した。BBは光重合型のフロアブルペーストで垂れ性の異なる2種類のペーストがラインナップされている。そして、BBの最大の特長は低い重合収縮性であり、光重合型フロアブルペーストでありながら低い値を示す。
しかし、一般的に光重合系材料の重合収縮は、重合・硬化により生じる現象であるため、重合率と重合収縮率は密接な関係であり重合率が低ければ重合収縮率も低くなると考えられている。
そこで、本研究ではBBH、BBMの重合率を測定し、BBの重合率と重合収縮率の関係について評価した。

【材料及び方法】

本実験ではバルクベースハイフロー(BBH)とバルクベースミディアムフロー(BBM)の2種類を使用した。

1.重合収縮率の測定

重合収縮率の測定は、BBH及びBBMを用いて硬化前と硬化後の密度を乾式密度計(アキュピックII 1340、島津製)で測定し、その密度差から重合収縮率を算出した。重合収縮率の計算式は「 $\text{重合収縮率} = [(\text{重合後密度} - \text{重合前密度}) / \text{重合後密度}] \times 100 (\%)$ 」で行った。なお、各BBの硬化体は歯科用LED照射器(PENCURE2000/モリタ社製)を用いて両面を各20秒照射で作製し、暗所のデシケーター内で16~20時間保管したものを使用した。

2. 重合率の測定

重合率の測定は、FT-IR(Spectrum 100、Perkin Elmer 製)を用いて全反射吸収測定法(ATR法)で行った。重合率の算出は、プリズム上にBBH及びBBMを厚み1mmのテフロン型内に充填し、歯科用LED照射器(PENCURE2000/モリタ社製)で光照射前及び光照射20秒のそれぞれのIRスペクトルを測定し、光照射後の残存二重結合量(RDB)を求めて行った。重合率の計算式は、光照射前のRDBを100%として $100 - \text{RDB} (\%)$ で行った。なお、今回は光照射20秒後に加えて、光照射後16時間経過した重合率も測定し、重合率の経時的変化についても評価した。

【結果および考察】

BBH及びBBMの重合率は、光照射直後でBBHは62.6%、BBMは61.0%で光照射後16時間経過後ではBBH、BBM共に15%以上の重合率の上昇が確認できた。また、一般的な光重合型裏層材及び光重合型フロアブルコンポジットレジンは同様の試験結果から30~60%であったため、BBの重合率はこれらの材料に比べて同等以上であることが示唆された。BBは成分中に顔料を含んでいないことから光の透過性が高くなり、重合率が高くなったと視察する。一方、重合収縮率はBBHで2.8%、BBMで2.6%であり、同様の測定法で算出した一般的な光重合型裏層材及び光重合型フロアブルコンポジットレジンの3.2~4.5%と比較して低い値であることが示唆された。BBの低重合収縮性は、重合率に起因するものではなく成分中のモノマーやフィラーの特性が大きく関わっているものと考えられる。

【結論】

BBは高い重合率と低い重合収縮性を兼ね備えた光重合型のフロアブルペーストであることが示され、この特性を活かした臨床使用への有用性が期待できる。

表.BBの重合収縮率および重合度

	重合収縮率(vol%)	重合率(%)	
		光照射直後(20S)	光照射(20S)16時間後
BBH	2.8	62.6	80.0
BBM	2.6	61.0	76.1

ラット脛骨骨欠損の治癒過程に及ぼす半導体レーザー照射の影響について

奥羽大学 歯学部 歯科保存学講座 保存修復学分野¹

明海大学 歯学部 機能保存回復学講座 歯内療法学分野²

○山崎 崇秀¹、菊井 徹哉¹、門倉 弘志²、横瀬 敏志²

Effects of Low-Level laser irradiation on bone repair of tibiae undergone bone defects in rats

Division of Operative Dentistry Department of Conservative Dentistry School of Dentistry Ohu University, Fukushima, Japan¹, Division of Endodontics, Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry, Saitama, Japan²

○YAMAZAKI TAKAHIDE¹, KIKUI TETSUYA¹, KADOKURA HIROSHI², YOKOSE SATOSHI²

【目的】歯科用レーザーは、歯科診療において応用頻度は高いが、その効果に対する科学的な根拠は多くなく、特に骨代謝領域に対する検討は少ない。骨は、Wolff の法則や Frost のメカノスタット理論等で説明されるように、機械的な刺激(メカニカルフォース)に反応する組織であると考えられている。物理的刺激を感知する骨細胞の働きが重要であることが示唆されてから、それらの関係性に対する研究が多く報告されている。本研究で用いた半導体レーザーは、組織浸透性の高いレーザーとして知られており、特にレーザーの低容量条件である LLLT(Low-Level Laser Therapy)の応用により、慢性疼痛の緩和、組織再生、創傷治癒促進を目的として臨床的に広く利用されている。本研究では、ラット脛骨に骨欠損モデルを作成し、半導体レーザーを LLLT で照射することにより、骨欠損部位における治癒過程にどのような影響を及ぼすかを、組織レベルで調べることを目的とする。

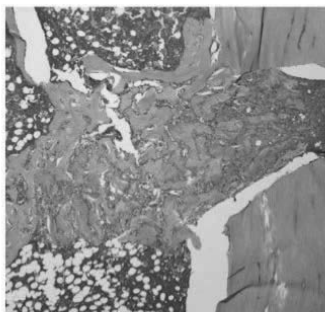
【方法】10 週齢 Sprague-Dawley 雄ラットを実験に用いた。無痛下にて両脛骨を外科的に露出し、デンタルバー(φ1mm)を用いて注水下で皮質骨を穿孔させ、直径 1mm の骨欠損を作成し縫合を行った。半導体レーザー(ウェイブレンクス社 Lumix2)を用い、右脛骨に対して 1 日 1 回、5 分間、出力を 80J 骨欠損部位からの照射距離を 2cm として照射を行った。なお、左脛骨を対照群とした。照射開始後 3 日目、7 日目、11 日目に動物を無痛下にて屠殺し、試料採取を行った。対照群と照射群の脱灰標本を作製し、通法に従い H-E 染色にてレーザー照射部位の組織形態学解析を行い、また画像解析ソフト(ImageJ)を用いて骨形成量の比較を行った。

【成績】組織形態学解析において、3 日目では対照群、レーザー照射群共に、骨欠損部位直下に炎症性細胞が浸潤しており、類骨の形成が認められた。7 日目の照射群は対照群と比較して骨穿孔部位の範囲が縮小しており、骨欠損部位から反対側皮質骨に及ぶ類骨の形成を認めた。11 日目照射群ではさらに骨欠損部位の縮小が認められ、7 日目よりも多くの類骨が認められた。また、対照群と比較してレーザー照射群で骨の形成量が多かった。

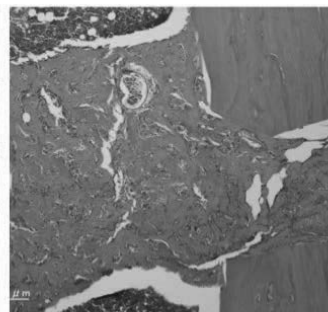
【結論】半導体レーザーの照射によって骨の創傷治癒は促進する。

7日目 ヘマトキシリン-エオジン染色

対照群



レーザー照射群



演題 P44 (修復)
【2605】

光干渉断層装置を用いた歯質の観察 オフィス,ホーム,デュアルを用いたホワイトニング前後の歯質の変化
昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門¹
株式会社吉田製作所²
○水木 ゆき菜¹、松尾 涼子¹、細川 真弓²、鹿熊 秀雄²、真鍋 厚史¹

Teeth surface observation after bleaching by optical coherence tomography

Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Yoshida Dental Mfg, Tokyo, Japan²

○MIZUKI YUKINA¹, MATSUO RYOKO¹, HOSOKAWA MAYUMI², KAKUMA HIDEO², MANABE ATSUFUMI¹

【研究目的】近年、白くて美しい歯は人々の QOL の向上には欠かせない要因となり、ホワイトニングを希望する患者も増加してきている。歯の漂白法として、オフィスホワイトニング(以下オフィス)とホームホワイトニング(以下ホーム)、両者を併用したデュアルホワイトニング(以下デュアル)があるが、ホームはオフィスと比べ自然な白さで効果も高く、副作用や後戻りが少ないと考えられている。しかしホワイトニング剤の歯質に対する影響を画像として捉え常に再現性がある観察は未だ可能となっていない。当教室では以前よりオフィス前後の歯質、特にエナメル質の画像変化を光干渉断層装置(Swept-Source Optical Coherence Tomography;以下 SS-OCT)を用いた観察により報告してきている。そこで、今回はさらに追加して、ホーム、デュアル処置前後の歯質の変化を SS-OCT を用い経時的に観察し、新たな評価法の必要性を検討することを目的とした。

【材料および方法】試料は歯冠部唇側面に齲蝕がなく修復充填物やエナメル質の亀裂のない変色ヒト抜去歯を合計 15 本用いた。なお、本研究で使用した抜去歯は本学歯学部医の倫理委員会の承認を得たものである(承認番号 2011-035 号)。抜歯した歯に付着した歯石等をスクレーパーにて除去した後、歯根を切断し、さらに歯冠を近遠心的に分割した。近心試験片を水中保管すなわちコントロールとし、遠心試験片を漂白対象とした。ホワイトニング前に ShadeEyeNCC(松風)にてそれぞれ測色を行い、吉田製作所製試作 SS-OCT を用いて処置前の試験面を唇側から観察した。オフィスには 35%過酸化水素を主成分とする Shofu Hi-lite(松風)を使用し、週 1 回で 4 週間、計 4 回施術した。ホームには 10%過酸化水素を主成分とする HiLite Shade Up GEL(松風)を使用し、4 週間連続して施術した。デュアルは、施術期間を 4 週間に設定し、オフィスを週 1 回、その間をホームとして行った。すべてメーカー指示に従って薬剤を塗布し、すべてのホワイトニング施術後の歯は、測色と SS-OCT 観察を行い、処置前後の歯質の変化を経時的に評価した。

【結果および考察】SS-OCT を用いたホワイトニング処置前後のエナメル質の観察において、オフィスではエナメル質表面の光反射強度は強くなる傾向を示し、エナメル質内部では象牙質に向かって光透過性が亢進する傾向が得られた。さらに、ホーム、デュアル共に、オフィスと同様の傾向を示した。ホワイトニング前後の $L^*a^*b^*$ から ΔE^*ab を算出した結果、オフィス、ホーム、デュアル共に有意差が認められた(t -test $p < 0.05$)。本研究で SS-OCT 画像によりホワイトニング前後の変化は観察されたが、オフィス、ホーム、デュアルの相互間で明瞭な違いは観察されなかった。しかし SS-OCT はホワイトニング後の歯の内部構造を非破壊的に観察することが可能であり、ホワイトニング効果や色調の後戻りを患者へ説明する新しい評価法として有用性があると思われた。

演題 P45 (修復)
【3102】

各種修復材料におけるポリマイクロバイアルバイオフィルムの付着性

神奈川県立歯科大学大学院 歯学研究科 歯科理工学¹

神奈川県立歯科大学大学院 歯学研究科 う蝕制御学²

神奈川県立歯科大学大学院 歯学研究科 微生物感染学³

神奈川県立歯科大学大学院 歯学研究科 顎咬合機能回復補綴医学⁴

○寺中 文子¹、富山 潔²、熊田 秀文³、三宅 香¹、大橋 桂¹、清水 統太⁴、向井 義晴²、浜田 信城³、
二瓶 智太郎¹

Polymicrobial biofilms formation on restorative dental materials

Department of Dental Materials Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan¹, Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan², Department of Microbiology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan³, Department of Prosthodontic Dentistry for Function of TMJ and Occlusion, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan⁴

○TERANAKA AYAOKO¹, TOMIYAMA KIYOSHI², KUMADA HIDEFUMI³, MIYAKE KAORI¹, OHASHI KATSURA¹, SHIMIZU TOTA⁴, MUKAI YOSHIHARU², HAMADA NOBUSHIRO³, NIHEI TOMOTARO¹

【研究目的】一般的に、デンタルプラークは被着体の表面自由エネルギー (SFE) の影響により付着すると報告 1) されている。さらに、歯表面へのプラーク付着は、SFE が 50 mN/m より低い場合に抑制されるという報告 2) もある。我々は、歯質の SFE を低下させ、プラークの付着ならびに脱灰を抑制させることを目的に、各修復材料に対する研磨後の表面粗さ、接触角、ならびに SFE を測定し、各材料の表面性状の違いについて研究を進めてきた。本研究では、各種修復材料に対する細菌付着性の違いを口腔内に近似した環境を再現できるポリマイクロバイアルバイオフィルムモデルを用いて検討した。

【材料および方法】実験には、glass cover slips (以下、GL; Menzel, Braunschweig, Germany)、キャストウェル M.C. (以下、Pd; 12%Gold, GC)、アパタイトペレット APP-100 (以下、HAP; PENTAX)、およびクリアフィル マジェスティ ES2 (以下 CR; MX, Kuraray Medical) の計 4 試料を実験群とした (n = 4)。GL 以外の各試料は、耐水研磨紙 #2000 まで研磨後、さらにダイヤモンドスラリー Φ0.5 μm まで研磨し、表面付着物を除去するために 30 分間超音波洗浄した。各試料表面を接触式表面形状機 (Surfcom590A, 東京精密) にて表面粗さの測定を行い、中心線平均粗さ (Ra) を求め、均一な表面粗さの試料を以下の培養に用いた。GL は 1 mol/L NaOH と 1 mol/L HCl に各一昼夜浸漬後、30 分間超音波洗浄した。バイオフィルムの形成には、1 被験者から採取した刺激唾液を用いるポリマイクロバイアルバイオフィルムモデルを使用した。buffered McBain 2005 (0.2%スクロース、50 mM PIPES 含有) 培養液に 50 倍希釈となるように刺激唾液を混入し、嫌気条件下 (CO₂:10.0%, H₂:10.0%, N₂:80.0%)、37.0℃、24 時間培養した。なお、培養液は実験開始 10 時間後に交換した。培養終了後、2ml の Cystein Peptone Water (CPW) 中に各試料を浸漬し、超音波処理にて試料から細菌を剥離、分散した。その後、CPW にて段階希釈し、血液寒天培地を用いて嫌気条件下 37℃、4 日間培養して生菌数を算定し、1 mm² 当たりのポリマイクロバイアルバイオフィルムの付着量を算出した。算定値の比較は有意水準 5% で One-way ANOVA および Tukey の検定を用い、各修復材料におけるポリマイクロバイアルバイオフィルムの付着性を比較検討した。また、実験開始 10 時間後と 24 時間後に培地の pH 測定も行った (9618-10D, F-71, Horiba)。

【結果および考察】各培養時間における培地の pH は 4 群ともそれぞれ近似しており、差は認められなかった。この結果は、本研究で用いた培養液中に緩衝作用の強い PIPES を用いていることと培養時間が影響しているためと考えられ、その結果、バイオフィルム形成には酸産性細菌だけでなく、多くの細菌種が関与しているものと思われる。各種修復材料の Ra は、4 群とも 0.05 μm 以下であった。各実験群の生菌数は、GL と CR において有意な差が認められなかったが、Pd、HAP は GL および CR に比較して有意に低い値を示した (p < 0.05)。また、Pd と HAP の間には差が認められなかった。以上の結果より、鏡面研磨した各種修復材料上に形成されたポリマイクロバイアルバイオフィルムは、Ra が各群とも近似しているにも関わらず生菌数に有意差が認められたことから、バイオフィルム形成には Ra 以外の性状が影響している可能性が示唆された。

【参考文献】1) Quirynen M et al. The influence of surface free-energy on planimetric plaque growth in man. J Dent Res 68:796-799, 1989. 2) Busscher HJ et al. Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. Appl Environ Microbiol 48:980-983, 1984. 3) R.A.M. Exterkate, W. Crielaard, J.M. Ten Cate. Different Response to Amine Fluoride by Streptococcus mutans and Polymicrobial Biofilms in a Novel High-Throughput Active Attachment Model. Caries Res 44:372-379, 2010.

【謝辞】本研究は、文部科学省私立大学戦略的研究基盤形成支援事業 S1203004 (平成 24 年～26 年) により実施された。

演題 P46 (修復)
【2604】

二ケイ酸リチウムガラスセラミックスに対する各種前処理方法が接着強さに及ぼす影響

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門¹

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 歯科理工学部門²

○山本 周¹、小林 幹宏¹、山口 麻衣¹、亀井 千瑛¹、真鍋 厚史¹、宮崎 隆²

Effects of Surface Treatment for bond strength to lithium disilicate glass ceramic

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Showa University school of Dentistry¹, Department of Conservative Dentistry, Division of Oral Biomaterials and Engineering, Showa University school of Dentistry²

○YAMAMOTO MEGURU¹, KOBAYASHI MIKIHIRO¹, YAMAGUCHI MAI¹, KAMEI CHIAKI¹,
MANABE ATSUFUMI¹, MIYAZAKI TAKASHI²

【研究目的】近年、ジルコニアに代表される高強度セラミックスの開発によりクラウンのみならずブリッジに対するオールセラミック修復が臨床応用されている。特に二ケイ酸リチウムガラスを主成分とするセラミックスは、従来のセラミックスと比較して強度及び、破断靱性応力が高いため広く用いられている。この材料に対するコンポジットレジン接着処理は、シランカップリング剤が有効とされている。一方では、多目的用接着システムと称するものが開発、市販され、これは歯質のみならず、金属、セラミックス、コンポジットレジンなどにも万能接着すると考えられている。本研究の目的は、多目的用接着システムとシランカップリング剤併用システムを二ケイ酸リチウムガラスに対する剪断接着強さで比較検討した。

【材料および方法】二ケイ酸リチウムガラスは、IPS e.max CAD(ivoclar vivadent) (以下 e.max) を用いた。e.max のブロックは厚さ約 2.0mm にスライスし、表面を粒径 0.3mm のダイヤモンドペーパーで研磨した。その後、焼成炉 (プログラマット P300/G2 ivoclar vivadent) にて 900℃25 分間クリスタライゼーションした。被着面処理として、4 つの接着システムを以下に示す。

1. スコッチボンド (3M ESPE) を塗布した群 (SB)
2. ユニバーサルプライマー (トクヤマデンタル)、ボンドフォース (トクヤマデンタル) を塗布した群 (UV)
3. Ceramic Bond IK (Pentron Japan) と E-Lize Dentin Bond (Pentron Japan) を塗布した群 (IK)
4. クリアフィルフォトボンド (クラレノリタケデンタル)、クリアフィルポーセレンアクチベーター (クラレノリタケデンタル) を等量混和、塗布した群 (HB)

これらの 4 群を e.max の試片被着面に処理し 10 秒間光照射後、直径 3.0mm、高さ 2.0mm のテフロン製モールドにて円柱状になるようクリアフィルマジスティ LV A2 (クラレノリタケデンタル) を注入、接着させた。作成した試験片は、37℃ の水中にて 24 時間保管後、万能試験機 (Instron Model 4302, Instron, USA) を用いてクロスヘッドスピード 1.0mm/min にて剪断接着強さを測定した。接着試験片は各群 10 本、合計 40 本調整した。得られた結果は、Tukey's HSD test を用いて統計処理を行った。(p<0.05)

【結果および考察】剪断接着強さの結果、シランカップリング処理をした HB が最も高い値を示し、次に多目的用接着材の UV が高い値を示した。統計処理の結果、接着前処理として多目的用接着材とシランカップリング剤を比較すると有意差は認められなかったことから、多目的用接着システムはシランカップリング剤併用群システムと同等の接着を有していると考えられる。以上のことから、临床上において多目的接着材は、二ケイ酸リチウムガラスを主成分とするセラミックスに対する修復物や補綴物に対しての接着前処理として有効であることが示唆された。

演題 P47 (修復)
【2604】

知覚過敏症罹患モデル象牙質への光重合型コンポジットレジンの接着性について
大阪歯科大学歯科保存学講座
○服部 泰直、岩田 有弘、保尾 謙三、吉川 一志、山本 一世

Study on Adhesion of Composite Resin using an in vitro Model of Hypersensitive Dentin

Department of Operative Dentistry ,Osaka Dental University

○HATTORI YASUNAO, IWATA NAOHIRO, YASUO KENZO, YOSHIKAWA KAZUSHI, YAMAMOTO KAZUYO

【緒言】象牙質知覚過敏症には歯頸部知覚過敏、根面知覚過敏および窩洞形成後の象牙質面露出による術後性知覚過敏などある。象牙質知覚過敏症の治療法としては、薬液塗布、イオン導入法、レーザー照射や接着性材料による罹患部位の被覆などがある。当講座の研究において、知覚過敏症罹患モデル象牙質を作成し、レーザー照射が象牙質透過性抑制に効果があることを報告している。今回我々は、象牙細管内の湿潤状態を臨床の状態に近づけた知覚過敏症罹患モデル象牙質を作成して光重合型コンポジットレジン充填を行い、象牙質知覚過敏症治療における光重合型コンポジットレジン被覆時における接着状態の研究を行ったので報告する。

【材料及び方法】被験歯としてヒト大臼歯歯冠部象牙質を用い、歯冠側面を耐水紙 #600 まで研磨した厚さ 1mm の象牙質ディスクを作成した。知覚過敏症罹患モデル象牙質の作成方法は、善入らの方法を利用し、再現した (Fig.1)。また、充填材料としては 1 ボトル 1 ステップボンディングシステムとして、BeutiBond Multi (松風, 以下 BB), Scotchbond Universal Adhesive (3M, 以下 SU), CLEARFIL® S3BOND ND Plus (クラレメディカル, 以下 TS) および G-BOND PLUS (GC, 以下 GP), を使用した。光重合型コンポジットレジンとして、CLEARFIL® AP-X (クラレメディカル) を使用した。知覚過敏症罹患モデル象牙質被着面の接着面積を 3mm に規定し、上記の BB, SU, TS および GP を使用し、製造業者指定の方法にて接着操作を行い、罹患象牙質群とした。また、厚さ 1mm の象牙質ディスクを装置に装着せずに上記と同じく接着操作を行い、コントロール群とした。接着後 37℃水中に 24 時間保管したのち、接着試験を行った。接着試験は万能試験機 IM-20 (INTESCO) を用い、クロスヘッドスピード 0.3mm/min にて引張強さの測定を行い、平均値および標準偏差を算出した ($n=7$)。測定結果は一元配置分散処理および Tukey の検定により統計処理を行った ($P<0.01$)。また接着試験後の界面の SEM 観察を行った。

【結果および考察】結果を Fig.2 に示す。BB と SU ではコントロール群と比較し、罹患象牙質群では接着強さが低下する傾向が見られたが、有意な差は認められなかった。TS と GP ではコントロール群と比較し、罹患象牙質群では接着強さが有意に低下した。以上のことより、臨床において象牙質知覚過敏症の治療法として、光重合型コンポジットレジン充填を行い被覆する場合、通常の充填時と比較して、接着強さの低下に留意する必要があることが示唆された。

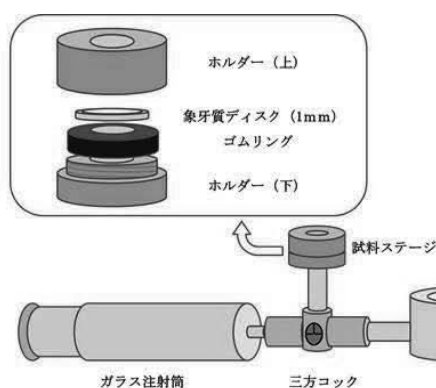


Fig.1

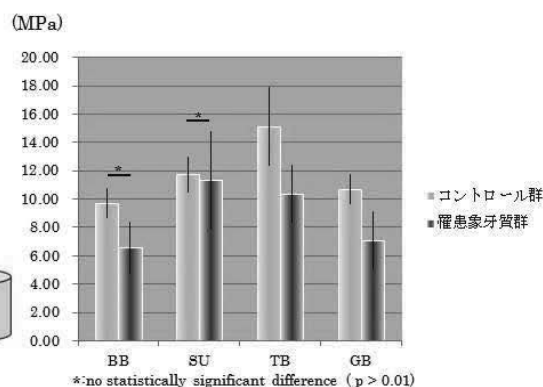


Fig.2 実験結果

ワンステップボンディング材が歯質アパタイトの脱灰におよぼす影響

日本大学 松戸歯学部 保存修復学講座¹

日本大学 松戸歯学部 歯科生体材料学講座²

○藤田(中島) 光¹、関根 哲子¹、岡田 珠美¹、鈴木 英明¹、平山 聡司¹、西山 典宏²、池見 宅司¹

Effect of one-step adhesive on demineralization aspect

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo ,Chiba, Japan¹,

Department of Dental Biomaterials, Nihon University School of Dentistry at Matsudo,Chiba, Japan²

○FUJITA(NAKAJIMA) KOU¹, SEKINE SATOKO¹, OKADA TAMAMI¹, SUZUKI HIDEAKI¹, HIRAYAMA SATOSHI¹, NISHIYAMA NORIHIRO², IKEMI TAKUJI¹

【目的】 コンポジットレジン修復の操作術式の簡略化を図る目的でワンステップボンディング材が開発され、その歯質接着性が検討されている。しかし、ワンステップボンディング材による歯質の脱灰量は極めて微量なため、SEM 観察でその作用機構を解明することは困難である。そのため、歯質との相互作用の詳細について分子レベルでの検討はあまり見受けられない。本研究では、ワンステップボンディング材に配合されている酸性モノマーと歯質アパタイトとの相互作用の詳細について検討することを目的とし、ワンステップボンディング材とエナメル質あるいは象牙質とを相互作用させ、ボンディング材の上澄み液および反応残渣を NMR スペクトル（溶液・固体）で測定する。エナメル質または象牙質のカルシウム塩の生成量および分子構造がエナメル質および象牙質のレジンの圧縮剪断接着強さに及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】 カルシウム塩の生成量の測定：クリアフィルトライエスボンド ND (クラレ)に 2.00 g 中に切削したウシ歯冠エナメル質または象牙質粉末を 0.40 g を懸濁し、10 分間振盪・攪拌した。その後、これらの懸濁液を遠心分離し、上澄み液の液体 ¹³C NMR スペクトルを測定した。さらに、遠心分離して得られた反応残渣をエチルアルコールで洗浄し、固体 NMR スペクトルで測定した。なお、NMR の測定には EX 270 スペクトロメーター（日本電子）を用いた。得られた溶液 NMR スペクトルから、MDP のビニル基のピークの減少率を求め、HEMA 分子内ビニル基メチレンカーボンの NMR ピークに対する相対強度変化から歯質成分の脱灰により生成されたカルシウム塩の生成量を算出した。反応残渣の固体 NMR スペクトルでは、MDP のカルシウム塩の分子構造を調べた。接着試験：ウシ前歯抜去歯の唇側エナメル質を#1000 シリコーンカーバイトペーパーにて研磨し、新鮮なエナメル質および象牙質を露出させた後、試料片を埋没した。内径 3.2 mm の穴の開いた両面テープを貼付け、その内面をワンステップボンディング材で 20 秒間処理後、3 秒間強圧エアブローを行い、10 秒間光照射し、内径 3.2 mm のシリコーンリングを固定し、コンポジットレジンを充填し光照射（20 秒間）を行い、試験体を作製した。その後、24 時間 37 °C 水中保管後、インストロン型万能試験機で、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min にて圧縮剪断接着強さを測定した。

【結果および考察】 ワンステップボンディング材の ¹³C NMR スペクトルを測定した結果、¹³C NMR ピークは、クリアフィルトライエスボンド ND にエナメル質または象牙質を添加し、両者を相互作用させると、MDP が歯質アパタイトを脱灰し、MDP のビニル基メチレンに帰属される NMR ピーク強度は減少し、その減少率はエナメル質では、33%、象牙質では、約 40%を示した。これは、MDP が歯質アパタイトを脱灰し、ボンディング材に不溶性のカルシウム塩を生成して析出したためと考えられる。また、反応残渣の個体の NMR スペクトルでは、反応生成物がエナメル質と象牙質では異なる形状を示した。ワンステップボンディング材中の MDP は、ハイドキシアパタイトの結晶化度の低い象牙質の方がエナメル質より脱灰しやすいと考えられる。エナメル質接着試験において、クリアフィルトライエスボンド ND の接着強さは約 15,04MPa、象牙質の接着強さは、17.39 MPa を示した。本研究は、平成 25・27 年度日本学術振興会科学研究費補助金（基盤研究（C）,課題番号 25462969）により行われた。

演題 P49 (修復)
【3102】

ワンステップ研磨材によるコンポジットレジン表面性状について

神奈川県立歯科大学大学院 歯科理工学

○大橋 桂、芹田 枝里、三宅 香、寺中 文子、原 健一郎、二瓶 智太郎

A Study on Surface Characteristics on Resin Composites by Each One-step Polishing Systems

Department of Dental Materials Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○OHASHI KATSURA, SERITA ERI, MIYAKE KAORI, TERANAKA AYAKO, HARA KENICHIRO, NIHEI TOMOTARO

【目的】 コンポジットレジンの発達、そして MI 治療の概念が広く一般臨床に浸透し、様々なケースでコンポジットレジン修復が施されている。また、コンポジットレジンの最終研磨の表面性状は、プラークの付着や修復物の予後に影響を及ぼす一因として周知している。従来では、コンポジットレジンの研磨は数種類の研磨器具を用い、形態修正、荒研磨、中研磨、および仕上げ研磨・艶出しとステップごとに器具を交換する必要があった。そこで、比較的容易にかつ効果的な光沢感が得られるワンステップの研磨材が各社から市販されている。

今回は、各ワンステップ研磨材を用いて、コンポジットレジンに対する研磨後の表面性状を検討することを目的とした。

【材料および方法】 実験に供した材料は、コンポジットレジンとして、クリアフィルマジエスティ ES-2 (MJ: クラレノリタケ, A3) およびフィルテックシュープリームウルトラ (FS: 3M ESPE, A3B) とした。ワンステップ研磨材として、CR ポリッシャーPS (CP: 松風, No.2), オプチワンステップ (OS: Kerr, ディスク), PoGo (PG: デンツプライ三金, ディスク) およびアイボール (AP: ヘレウスクルツァージャパン, ディスク) をそれぞれ用いた。各コンポジットレジンには、ポリエチレンモールド ($\phi 11\text{mm} \times 3\text{mm}$) に充填し、開放口をスライドガラスで圧接し 1kg の荷重をかけ、各方向から計 60 秒間光照射し試料とした (未研磨群)。試料は、耐水研磨紙にて #600 で研磨し基準面を作製し (#600 群)、さらに各メーカー指示通りにワンステップ研磨材を用いて 30 秒間研磨した。研磨後の試料は、接触式表面形状機 (Surfcom590A, 東京精密) にて中心線平均粗さ (Ra) を求めた。また、表面の光沢度は光沢計 (GM-268Plus, Konica Minolta) にて測定角度 60° により計測した。表面粗さ、光沢度ともに 1 試料につき 3 回測定し、その平均を試料の値とした。なお、試料数は各群 5 個とした。

【結果および考察】 供試したコンポジットレジンの中心線平均粗さと光沢度の結果を Fig. に示した。ハイブリッドフィラータイプである MJ の Ra は、未研磨群では他群と比較し値が大きくなり、ナノフィラータイプである FS の Ra ではすべての群で $0.1\mu\text{m}$ 以下であった。MJ, FS とともにワンステップ研磨材で研磨すると未研磨群、#600 群と比較して、Ra は低下し、光沢度は FS の PG 群を除き増加した。また、MJ と FS の比較では、Ra は各群で MJ が大きくなる傾向がみられ、光沢度は各群で FS が大きくなること示された。

以上の結果より、ワンステップ研磨材によるコンポジットレジン表面性状は、各コンポジットレジンと研磨材の組み合わせにより、中心線平均粗さと光沢度に差は認められるが、比較的短時間で十分な研磨効果が得られる可能性が示唆された。

本研究の一部は、科学研究費補助金基盤研究 (C) 25463057, 25462973 にて実施した。

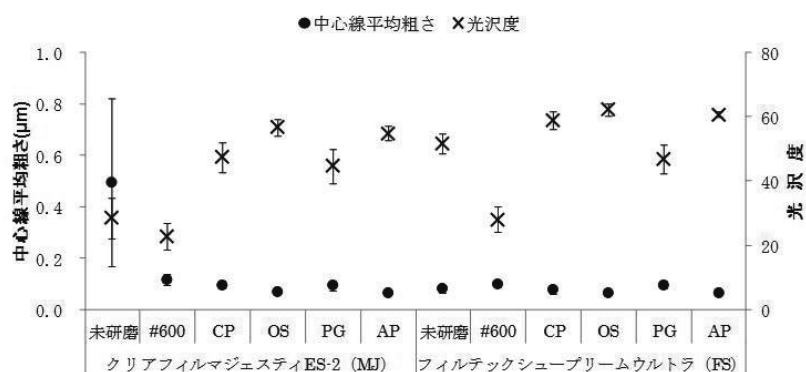


Fig. コンポジットレジンの中心線平均粗さと光沢度

演題 P50 (修復)
【2598】

分野を超えた実習の取り組みー保存科・歯科麻酔科の合同による局所麻酔下コンポジットレジン修復相互実習ー
北海道医療大学 歯学部 口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野
○泉川 昌宣、伊藤 修一、半田 慶介、斎藤 隆史

Education for Practical Dental Training -Joint Education in Composite Resin Restoration by Instructors of Clinical Cariology and Dental Anesthesiology-
Division of Clinical Cariology and Endodontology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan
○IZUMIKAWA MASANOBU, ITO SHUICHI, KEISUKE HANDA, SAITO TAKASHI

【目的】 診療参加型実習に向けた模型実習後の学生相互実習は重要である。本講座では5年生の保存修復学臨床実習において、コンポジットレジン修復の相互実習を行なっている。その際必要に応じて表面麻酔と浸潤麻酔を施行することがある。しかし、従来の臨床実習では専門科目ごとに実習が行われており本学では歯科麻酔学が局所麻酔注射の手技教育を担当するが、カリキュラムの都合により、保存修復学の相互実習が歯科麻酔学の実習に先行することもあり、局所麻酔下の歯科治療（修復、歯内、外科治療など）の一連の実習としては問題があった。そこで、平成23年度から保存修復学と歯科麻酔学による合同実習を開始したので、実施後2年間の実態を報告する。

【方法】 対象は平成24年度の歯学部5年生85名、実習内容は局所麻酔下のコンポジットレジン修復処置とし、学生約15名の班ごとに診療参加型臨床実習前の学生相互実習にて実施した。なお、対象学生全員が本実習以前に両教科個別での模型実習を履修している。本実習では事前に保存修復学の教員指導の下、学生相互でう蝕検査を行い相互実習で処置するう蝕の選定を行なった。また歯科麻酔科の教員による全体的既往歴、麻酔経験およびアレルギーの有無などの問診を行った。相互実習当日は歯科麻酔科教員指導下に表面麻酔と浸潤麻酔を施行した後、保存科教員指導下にコンポジットレジン修復処置を行った。今回、実際に実習を担当した教員および学生を対象としたアンケート調査を実施し、その結果および実習事故件数を集計した。

【結果】 教員に対するアンケート調査は保存科教員7名と歯科麻酔科教員3名の計10名から回答を得た。本実習全体の感想は「とても有用」8名、「有用」1名、「どちらともいえない」1名と概ね好評であった。長所は「一連の診療行為が可能で合理的」「安全」「教育効果は高い」等の回答が多く、短所では大多数が「日程調整が煩雑」を挙げたが、今後に対しては全教員「継続すべきである」を選択した。本実習に際し重篤な事故は無かったが、多くの学生で注射施行時の手の振戦を認め、患者の口唇への誤穿刺6件、片付け時の使用済針の針刺し1件が発生した。学生に対するアンケート調査では本実習全体の感想は「とても有用」12名、「有用」43名であった。長所は「臨床に近い内容で学べる」「流れが分かりやすい」「様々な角度から学べる診療参加型実習につながった」短所では「実習時間と教員数の不足」が挙げられた。

【考察】 従来個別に実施していた2つの実習を合同とすることで、臨床に則した診療の流れとなり教育の質を向上させると多くの教員が実感していた。近年はう蝕罹患率の低下によって局所麻酔経験のない学生も増加しており我々保存科教員としても従来より安全性の高い実習を行なうことが可能となった。2講座の教員間でのスケジュール調整など教員の負担は増大するが、このような取り組みを今後も行なっていきたいと考えている。一方で軽微な実習事故も発生しており、実習事故を防止する浸潤麻酔注射の指導方法が必要と考える。

【研究協力者】北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系歯科麻酔科学分野 工藤勝、大桶華子

演題 P51 (修復)
【3102】

PRG バリアコートが象牙質石灰化に与える影響

北海道医療大学 歯学部 口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野

○伊藤 修一、ノーマン ナヒドアル、斎藤 隆史

Effect of PRG Barrier coat in dentin mineralization

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Japan

○ITO SHUICHI, NOMANN Nahid Al, SAITO TAKASHI

[緒言]口腔内環境を健全化させ歯の延命を図る目的で歯科材料にバイオアクティブ効果を発現させる技術として PRG 技術 (Pre-Reacted Glass-ionomer Technology) を考案した(松風)。これは、ガラスフィラー中に安定なガラスアイオノマー相を形成する。ガラスアイオノマー相は、各種イオンのリリースなどを行い、現在数多くの材料に臨床応用されている。S-PRG フィラーの特徴としては、ナトリウム、ホウ酸、アルミニウム、ケイ酸、フッ化物、ストロンチウムイオンの徐放にある。これらのイオンの徐放により報告されているバイオアクティブ効果としては、歯質強化 (脱灰抑制と再石灰化)、酸緩衝能 (中和作用)、細菌の付着抑制と抗プラーク形成能などがある。現在、予防材料として様々な作用を持った材料が開発、発売されている。松風社より S-PRG フィラーの機能を生かした歯面コーティング材・知覚過敏抑制材として PRG バリアコートが発売された。この材料の特徴は、洗口材やフッ素塗布材のように適用部位を選ばず幅広く適用することができる。さらにシーラントのように、一定期間、口腔内に留まることにより、先程述べた S-PRG フィラーからのイオン徐放性により口腔内を健全な環境に整えることを目的とした材料である。しかしながら、その象牙質石灰化に与える影響については明らかにされていない。本研究の目的は、PRG バリアコートが象牙質再石灰化に対する影響について他のボンディング材との比較、検討を行った。

[材料と方法] ビニルスルフォンを用いてアガロースビーズにホスビチン (Sigma Chem Co., U.S.A.) を架橋結合し、ホスビチン-アガロースビーズ複合体 ($2.56 \mu\text{g}$ ホスビチン/mg アガロースビーズ) を作製した。これを 37°C にてハイドロキシアパタイト (HAP) に対する飽和度 7.59 を有するカルシウム・リン酸溶液中でインキュベートすることにより、象牙質基質による再石灰化をシミュレートする系を作製した (PV)。S-PRG フィラーを含有するボンディング材として PRG バリアコート (BC, 松風)、フルオロボンド 2 (FL, 松風) 及びビューティオーソボンド (BOB, 松風) を用いた。材料の硬化物 (円盤状: 直径 15mm, 厚さ 2mm) を蒸留水 (30ml) 中に 3 日間浸漬して得られた溶液を用いて石灰化溶液を作製した。また、これらの溶出液を ICP 発光分光分析法 (高周波誘導結合プラズマ発光分光分析法およびフッ化物イオン電極を用いて溶出元素を測定したところ、BC, FL からは、 B^{3+} が最も多く溶出し、BOB からは、 Sr^{2+} が最も多く溶出しているのが確認された。それぞれの試料を経時的に回収し、誘導されたミネラル中のカルシウム量を原子吸光分析 (Perkin-Elmer, 5100, U.S.A.) により測定した。走査型電子顕微鏡 (SSX-550, 島津製作所) により形態学的な観察を行なった。同様に得られた試料を X 線回折法 (Rint 2000, 理学電気) により分析を行なった。

[結果および考察] in vitro 石灰化誘導実験系においてインキュベート 24 時間後の誘導されたカルシウム量は、PV, BC, FL が BOB と比較して有意に高い値を示した。SEM 観察では、全ての試料において 24 時間後に板状の HAP 結晶が確認された。得られた石灰化物の X 線回折パターンから HAP に特徴的なピークが認められた。これらの結果から、各種材料から放出されるイオンが脱灰象牙質再石灰化に影響を与える可能性が示唆された。

[結論] PRG バリアコートが象牙質石灰化に有効であることが示唆された。これにより、高齢者などの露出した根面象牙質においても象牙質再石灰化を促進する効果が期待される。

演題 P52 (歯内)
【2503】

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エックス線不透過度に関する検討
日本歯科大学 生命歯学部 歯科保存学講座¹
日本歯科大学 生命歯学部 共同利用研究センター アイソトープ研究室²
○前田 宗宏¹、橋本 修一²、石塚 克巳¹、勝海 一郎¹

A Study on Radiopacity of New Root Canal Sealer Contained Mainly with Oleic Acid, Eugenol and Zinc Oxide
Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo, Tokyo, Japan¹,
Section of Radioisotope Research, Research Center for Odontology, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo²
○MAEDA MUNEHITO¹, HASHIMOTO SHUITI², ISHITSUKA KATSUMI¹, KATSUUMI ICHIROH¹

【目的】

これまで本学会において、含有ユージノール量を低減させた低組織刺激性の新規根管充填用シーラーは、抗菌作用を維持し、従来の酸化亜鉛ユージノールシーラーに比べ高い封鎖能を有することを報告してきた。今回は、粉剤の組成が X 線不透過度に及ぼす影響について比較検討を行った。

【材料および方法】

1. 粉剤の組成 (1g 中)

- A: 酸化亜鉛 0.400g、ロジン 0.400g、硫酸バリウム 0.100 g、次炭酸ビスマス 0.100g
B: 酸化亜鉛 0.300g、ロジン 0.500g、硫酸バリウム 0.200g
C: 酸化亜鉛 0.262g、ロジン 0.437g、硫酸バリウム 0.301g
D: 酸化亜鉛 0.225g、ロジン 0.375g、硫酸バリウム 0.400g
E: 酸化亜鉛 0.187g、ロジン 0.312g、硫酸バリウム 0.501g
F: キャナルス粉末 (昭和薬品化工、コントロール)

A~F の粉剤は、いずれも液剤 (1ml 中: オレイン酸 0.75ml、ユージノール 0.15ml、その他 0.1ml) と粉液比 2.5 で 60 秒間練和した。F はキャナルス液剤と粉液比 3.33 で練和した。練和後のシーラー A~F を実験に使用した。

2. 各シーラーの操作性比較

A~F のシーラーを練和し、シーラーをセメントスパチュラですくい、ガラス練板との間に 2.5cm 程度の糸を引く稠度を最適とした。

3. X 線不透過度の測定

練和した各シーラーを内径 10mm、高さ 2mm のステンレス製リングに満たし、37℃、100%湿度の恒温恒湿器内で 24 時間静置した。軟 X 線用フィルム (Fuji IXFR、富士フィルム) 上に各シーラーを充填したリングおよびアルミニウム階段を置き、軟 X 線発生装置 (M-100W、ソフテックス) を用いて焦点-被写体間距離 30cm、35kV、3mA、180 秒照射で撮影を行った。現像、定着後のフィルムを X 線不透過度の試料とした。フィルムの黒化度はデンシトグラフ (アトー) で解析した (n=3)。

4. 根管充填後の X 線不透過度

2 および 3 の結果から最適としたシーラーを用い、根管充填を行った。根管長 12 mm、D₀ が 0.40 mm でテーパー 7/100 の透明樹脂製の規格化直線根管模型を用いた。15 番の K ファイルを用いシーラーを根管内に少量塗布し、40 番のマスタポイント (ピアス社) が先端に到達していることを確認後、根管スプレダー (D11T、Star Dental) とアクセサリポイント (FF、ピアス) 5 本を用いて側方加圧充填を行った。根管充填後の模型は、軟 X 線用フィルム (Fuji IXFR、富士フィルム) 上に置き、軟 X 線発生装置 (M-100W、ソフテックス) を用いて焦点-被写体間距離 30 cm、35 kV、3 mA、180 秒照射の条件で撮影を行った。現像、定着後のフィルムでの目視による比較を行った (n=2)。

【成績】

- 練和後に最適の稠度を示したシーラーは D であり、次は E であった。
- エックス線不透過度はシーラー F>A>D>C>B>E の順に減少した。
- コントロールシーラー(F) および新シーラーの A, D, C は Al 板 3mm 以上の不透過度を有していた。
- 新シーラーの中で操作性、不透過度から D が最もよい成績を示した。さらに、X 線不透過度は造影剤量のみならず酸化亜鉛の配合量によって影響を受けることも明らかとなった。

象牙質顆粒の骨補填材としての機能評価

朝日大学 歯学部 口腔機能修復学講座 歯科保存学分野¹

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²

○小栗 健策¹、田中 雅士¹、森 春菜¹、川木 晴美²、近藤 信夫²、吉田 隆一¹

Functional assessment of dentin particles as a bone substitute

Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry⁰⁵⁸¹, Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure, Function and Development, Asahi University School of Dentistry²

○Oguri kensaku¹, tanaka masashi¹, mori haruna¹, kawaki harumi², kondoh nobuo², yoshida takakazu¹

【研究目的】我々は生体材料として供給可能な象牙質に着目し、象牙質を粉碎して得た顆粒を根尖封鎖材として応用すべく研究を行ってきた。そして、象牙質が根尖部で凝塊を形成し硬組織様の dentinal plug を形成することを動物実験にて示した (Yoshida et al., 日歯保存誌 1986)。しかし、象牙質顆粒填入後の周囲組織の細胞応答、象牙質に対する幹細胞の応答については未だ不明である。そこで本研究では象牙質存在下での細胞応答をヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) および由来組織の異なる、ヒト骨髄由来幹細胞 (hBMSC)、ヒト脂肪由来幹細胞 (hASC) を用いて、単層培養条件下および象牙質顆粒または既存の骨補填材との凝集複合体における幹細胞の動態について解析した。

【材料および方法】1. 抜去歯の保存：実験に用いた抜去歯は患者の同意のもと、朝日大学歯学部倫理委員会の承認 (第 23111 号) を得て使用した。2. 象牙質、HA、 β -TCP 顆粒の作製：抜去歯から象牙質のみを取り出し粉碎して粒径 $38\mu\text{m}$ 以下に整粒した。比較対照である水酸化アパタイト (hydroxyapatite: HA)、 β -リン酸三カルシウム (β -tricalcium phosphate: β -TCP) としてネオボーン、オスフェリオンにも同様の処理を行った。3. 単層培養での細胞応答の検討：3 種の幹細胞を骨補填材存在下あるいは骨補填材浸漬培地で 48 時間培養後、溶解液にて回収し細胞数算定を行った。また、総 RNA を抽出し、逆転写反応後リアルタイム PCR 法により骨芽細胞及び、象牙芽細胞のマーカー遺伝子の発現解析を行った。さらに骨補填材への細胞の遊走性についても評価した。4. 骨補填材・幹細胞凝集複合体の作成：滅菌した各材料 20mg を 96 ウェルのプレート 8 ウェルに均等に分注し、hDPSC、hBMSC、hASC をそれぞれ 1.25×10^4 個/ウェルの密度で播種して 7 日間培養し、3 と同様に細胞数を算定し、さらにアルカリホスファターゼ (ALP) 活性について解析した。また、一部の細胞塊を 4%PFA 固定して ALP 基質染色を行った。

【結果】各材料を用いて細胞増殖を検討した結果、播種後 48 時間では象牙質顆粒が他の材料と比較して有意に細胞増殖を促進したが 7 日間培養後の骨補填材・幹細胞凝集複合体では材料間で有意な差はみとめられなかった。そこで、各細胞塊の遺伝子発現解析および ALP 活性を測定したところ発現レベル、活性ともにネオボーンが顕著な促進効果を示したが、象牙質顆粒もオスフェリオンと比較して有意に高い値を示した。また、象牙質顆粒を浸漬した培地のみでも 3 種の幹細胞の増殖を促進し、象牙質存在下では 3 種の幹細胞で顕著な遊走が観察された。

【結論および考察】現在臨床の現場では HA や β -TCP が応用されており、骨伝導能を示す材料と位置づけられているが、生体吸収性あるいは生体親和性の点で問題点が指摘されている。本研究では生体吸収性あるいは生体親和性を改善するために多孔質体とした HA としてネオボーンを、 β -TCP としてオスフェリオンを使用して象牙質顆粒の有用性について細胞生物学的検討を試みた。その結果、象牙質顆粒上で 3 種の幹細胞の増殖が促進され、幹細胞との凝集複合体での ALP 活性はネオボーンには劣るもののオスフェリオンと比較して有意に ALP 活性上昇を促進していることから骨補填材として十分に機能するとの示唆を得た。また、幹細胞の遊走が観察され、象牙質顆粒を浸漬した培地のみでも 3 種の幹細胞の増殖を促進したことから象牙質から溶出する成分が関与している可能性が考えられ、現在象牙質中の液性成分等について分析を試みている。

演題 P54 (歯内)
【2503】

非ユージノール系シーラーの諸性質

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 う蝕制御修復学講座²

日本歯科薬品株式会社³

○鈴木 二郎¹、岡田 周策²、横田 兼欣³、石井 信之¹

Effect of Zinc Oxide-Eugenol Root Canal Sealers on Resin Materials

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Japan¹,

Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Japan², Nippon Shika Yakuhin Co., Ltd. Japan³

○SUZUKI JIRO¹, OKADA SHUSAKU², YOKOTA KAZUYOSHI³, TANI-ISHII NOBUYUKI¹

【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 (ZOE) 系が頻用されており、良好な臨床成績をおさめている。一方、ZOE 系シーラー根管充填後のファイバーポスト保持力への影響は低く、臨床使用上の問題は少ないことを報告¹⁾しているものの、レジン材料重合阻害への懸念から、ユージノールを含まないシーラーも使用されている。この非ユージノール系の根管充填用シーラーとしては、粉液タイプの酸化亜鉛非ユージノール (非 ZOE) 系シーラーが頻用されているが、粉液製材特有の問題 (採取比・操作性等) がある。そこで今回、非 ZOE 系ペーストタイプシーラー (CS-N) を開発し、根尖封鎖性、各種物性試験および使用感に関するアンケート調査を行ったので報告する。

【材料および方法】実験には、CS-N (ニシカチャンネルシーラーN, 日本歯科薬品)、対照として市販の非 ZOE シーラー (チャンネルス N, 昭和薬品化工) を供試し、プラスチック製根管模型 (S1-U1 ニッシン) を根管拡大後、側方加圧根管充填法または加熱根管充填法で施術した際の色素浸透距離を実体顕微鏡 (SZX16 Olympus) およびデジタルカメラ DP-71 によりコンピューター DP71-WPCXP に取り込み後、Win ROOF (三谷商事) にて根尖封鎖性の判定を行った。また ISO 6876 : 2012 (Root canal sealing materials) に準じたちょう度・操作時間・硬化時間・被膜厚さ・崩壊率・X 線造影性の各種物性試験、臨床的硬化時間および使用感に関する術者アンケート調査 (採取しやすさ、練和しやすさ、ちょう度) を行い比較検討した。

【成績】CS-N の根尖封鎖性は、側方加圧根管充填法または加熱根管充填法ともに対照群のチャンネルス N と近似した値となった。ISO 6876 : 2012 による物性試験において、CS-N のちょう度・操作時間・硬化時間・被膜厚さ・崩壊率・X 線造影性は、すべて根管充填用シーラーとして適正值であった。臨床的硬化時間は CS-N が約 10 分で、チャンネルス N は 20~30 分であった。CS-N の使用感は、ペーストタイプの簡便な操作性が総合的に評価され高い評価 (96% の支持率) を得た。物性試験 (ISO 6876 : 2012) ちょう度 (mm) 操作時間 (分) 硬化時間 (時間) 被膜厚さ (μm) 崩壊率 (%) X 線造影性 (mm) CS-N 23.1~24.2 10 2.5 6~8 0.11~0.15 4.1 チャンネルス N 26.6~29.0 ≥30 5~6 7~12 0~0.4 4.3 ※チャンネルス N の粉液比は 2.83/1

【考察および結論】新しいペーストタイプの非ユージノール系シーラー (CS-N) は、チャンネルス N と同等の根尖封鎖性および各種物性を有していた。また、臨床的硬化時間が約 10 分であることから、歯冠側漏洩予防にも有用と考えられ、ペースト化による簡便な操作性に高い評価が得られた。

1) 鈴木二郎ら, 日歯保存誌 2011 ; 54 : 297-305.

物性試験 (ISO 6876 : 2012)

	ちょう度 (mm)	操作時間 (分)	硬化時間 (時間)	被膜厚さ (μm)	崩壊率 (%)	X線造影性 (mm)
CS-N	23.1~24.2	10	2.5	6~8	0.11~0.15	4.1
チャンネルス N	26.6~29.0	≥30	5~6	7~12	0~0.4	4.3

※チャンネルス N の粉液比は 2.83/1

演題 P55 (歯内)
【2503】

アルジネート印象材から創製したケイ酸セメントのラット培養歯髄細胞に対する影響について

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 歯内治療学部門¹

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 歯科理工学部門²

昭和大学 歯学部 口腔生化学講座³

○増田 宜子¹、山口 暢章²、山田 嘉重¹、宮本 洋一³、上條 竜太郎³、宮崎 隆²

Effects of the CaO-SiO₂ compounds using materials extracted arginate impressions on the rat cultured dental pulp cells

Division of Endodontology, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Showa University, Tokyo, Japan¹, Division of Oral Biomaterials and Technology, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Showa University, Tokyo, Japan², Department of Biochemistry, School of Dentistry, Showa University, Tokyo, Japan³

○MASUDA YOSHIKO¹, YAMAGUCHI NOBUAKI², YAMADA YOSHISHIGE¹, MIYAMOTO YOUICHI³, KAMIJYO RYUTARO³, MIYAZAKI TAKASHI²

【目的】MTA (mineral trioxide aggregate) は従来行われている水酸化カルシウムを用いる方法より硬組織の誘導が顕著であり、組織親和性が高いことなどにより、諸外国ではパーホレーション、アペキシフィケーションの処置、根管充填剤などに応用されている。今回我々はアルジネート印象材から創製したケイ酸セメント (試作ケイ酸セメント) の培養ラット歯髄細胞への影響を共焦点レーザー顕微鏡を用いて MTA と比較し Connexin 43 の発現を免疫組織化学的に調べることによって検討した。

【材料と方法】ラット歯髄細胞の培養: 5 週齢の雄性 Wistar ラット (同腹) 7 匹の下顎切歯より歯髄組織を摘出し、Collagenase、trypsin、EDTA を含む酵素液にて細胞を分離し 5%CO₂ 条件下にて α -MEM 培地に 10 % FBS を加え培養する。試料の作製: 試作ケイ酸セメントは、チョーク由来の CaCO₃ とアルジネート由来の SiO₂ の混合物を 10:3 の割合で混ぜそれぞれ 850℃、1000℃で焼成した。コントロールとして CaCO₃ (和光純薬) と天然珪藻土由来の SiO₂ を 10:3 で混ぜ 850℃で焼成したものと MTA (ProRootMTA, Dentsply)を用いた。直径 7mm 高さ 3mm の円柱形のチューブに試作ケイ酸セメントを充填し 24 時間、37℃、湿潤下にて硬化させた。サブコンフルエントに達した歯髄細胞に試料を静置し歯髄細胞の象牙芽細胞様細胞分化への影響を調べた。7 日、14 日後に 10%中性ホルマリン固定を行った。免疫組織染色には、1 次抗体として 500 倍希釈のウサギ抗ヒト Connexin43 抗体 (Millipore, Corp.)、500 倍希釈のヤギ抗ヒト Actin 抗体 (Santa Cruz Bio., Inc.) を用いた。2 次抗体として、500 倍希釈の Cy-3 抗ヤギ IgG 抗体 (Vector Lab., Inc.)、500 倍希釈の FITC 抗ウサギ IgG 抗体 (ROCKLAND, Inc.) を用い共焦点レーザー顕微鏡にて観察を行った。

【結果】全ての試料において近傍の歯髄細胞にて Connexin43 の発現が認められた。1000℃焼成のものは、培地にて溶解し他の試料と比較して広がってしまった。7、14 日後にて細胞数は減少はほとんどなく萎縮した球状細胞は認められなかった。コントロールと 850℃焼成では、紡錘形や星状の細胞が多く認められたが、1000℃焼成の試料は、細胞の形が楕円形であった。MTA と比較して全ての試料にて同様にほとんど歯髄細胞への影響はなかった。

【考察及び結論】全ての試料において細胞数の減少がほとんどなく歯髄細胞を象牙芽細胞様細胞に分化誘導する事が示唆された。歯髄への覆髄剤としての有用性が示唆された。1000℃焼成のものは酸化カルシウム以外にケイ酸カルシウムも検出されており (歯科理工学学会にて発表) 細胞の形が楕円形であることに関係するのではないかと推測される。試料が溶解しない工夫及び、成分と歯髄細胞への影響に関してさらに検討していく予定である。

レーザードップラー血流計を用いたヒト歯髄血流測定 of the 改良に関する研究その 2: 低流速用血流計を用いたヒト歯髄血流測定

東北大学 大学院 歯学研究科 口腔生物学講座 歯内歯周治療学分野

○井川 資英、島内 英俊

A study on the improvement of the human pulpal blood flow measurement using laser Doppler flowmetry. Part 2: Measurement of the human pulpal blood flow using a flowmeter modified for low flow

Division of Periodontology and Endodontology, Dept. of Oral Biology, Tohoku Univ. Graduate School of Dentistry

○IKAWA MOTOHIDE, SHIMAUCHI HIDETOSHI

【研究目的】 歯髄血流測定には市販のレーザードップラー血流計が用いられ、その測定結果から外傷歯の生死を鑑別しようという試みが報告されている。しかし、成人の永久歯を測定対象とした場合、得られる血流量はごく小さな値であり(Ikawa et al., 2003)、血流の有無を判定することが困難な場合が多い。我々はこれまでに、成人の歯髄血流速度を測定した結果、それが指尖や歯肉などと比べ有意に低速であり、流速によって生じるドップラーシフトの周波数帯域が低い範囲に分布することを報告した(井川ら、第 137 回日本歯科保存学会 2012 年度秋季学術大会)。すなわち、通常の血流計の測定特性は歯髄血流の測定には至適なものとはいえず、低流速の血流を対象とした特性を有する装置が歯髄血流の検出に適することを示した。そこで、本研究は、低速の血流のみを測定対象とするレーザードップラー血流計(L-LDF、検出対象周波数帯域 24Hz~5KHz、検出血流域 0~10ml/min/100g)と市販のレーザードップラー血流計(S-LDF、検出対象周波数帯域 24Hz~24KH、検出血流域 0~100ml/min/100g)とを用いてヒト歯髄血流を同時測定し、L-LDF の有用性に関する知見を得るために実施した。

【材料および方法】 研究に先立ち、東北大学大学院歯学研究科研究倫理委員会の承認を得た。被験者に、東北大学大学院歯学研究科および東北大学病院スタッフ 28 名(22~55 歳)からインフォームドコンセントを得た上で、生活歯と判定された上顎中切歯 28 本を研究対象とした。血流計は前記のふたつのタイプのレーザードップラー血流計を用いた。歯髄血流の同時測定のために、分光プリズムによって歯からの反射光を二分し、それぞれの血流計に送光できる測定プローブを作製し用いた。歯髄血流信号を測定する際、測定光の散乱によって生じる歯周組織血流由来のアーチファクトの排除のために、測定歯には遮光ラバーシートを装着した。また、比較のために遮光ラバーシートを装着しない場合の測定も行った。さらに、通常の血流計を用いて、歯肉、指尖、前腕の血流量についても測定を行い、その結果を比較した。

【結果】 遮光シートを装着した上で通常の血流計と低速の血流を用いて歯髄血流を同時測定した結果、S-LDF で記録される信号は機器の測定下限付近に値し、28 人中 12 人で脈波を確認した。一方 L-LDF ではすべての歯から脈波を確認した。L-LDF で得られた信号(0.2545 V [0.088 V], median [interquartile range])は S-LDF で得られた信号(0.0062 V [0.013 V])よりも有意に大きかった(Wilcoxon signed rank test, $p < 0.01$)。S-LDF を用いて、指尖、前腕、歯肉の血流量について測定を行なったところ、血流量は指尖で最も大きく、次いで歯肉、歯髄(遮光ラバーシート無しの場合)、前腕、歯髄(遮光ラバーシートありの場合)の順であり、統計学的に有意差が認められた(Steel-Dwass test, $p < 0.01$)。これらは以前報告した平均血流速度と比較的類似したパターンを示した。また、遮光ラバーシート着用による歯髄血流信号の減少は(82.6% [24.7%])であり、統計学的に有意であった(Wilcoxon signed rank test, $p < 0.01$)。

【考察】 低速の血流を測定対象とするレーザードップラー血流計が、通常のレーザードップラー血流計と比較して有意に大きな血流信号を検出した理由として、まず低流速用血流計の検出域を低い血流量に設定したことがあげられる。さらに、ドップラーシフトの周波数帯域を 5KHz 以下に設定し、それ以上の周波数帯域で発生する光電気変換の際に生じる電気信号ノイズを除去できたことで、SN 比が改善したものと考えられる。これまでの研究で、成人の永久歯を測定対象とした場合に得られた血流量はごく小さな値であり、そのためレーザードップラー血流計の測定対象は幼若永久歯が主であった。しかし、本研究の結果が示すように歯髄血流の測定感度を向上させることで、より年齢の高い成人の歯髄血流測定の可能性が示唆された。

演題 P57 (歯内)
【2503】

必須微量元素ホウ素添加によって培養骨芽細胞中で発現が増強する遺伝子

長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野

○林 善彦、山田 志津香、井川 一成、山本 祐也

Up-regulated genes on osteoblasts cultured in supplementation with an essential element, boron

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

○HAYASHI YOSHIHIKO, YAMADA SHIZUKA, IGAWA KAZUNARI, YAMAMOTO YUYA

【緒言】周期表 5 番目の元素であるホウ素は、3A 族の非金属元素であるが、金属と非金属の両方の特徴をもっている。生物への影響についての研究は極めて古く、1942 年 Alexander が、かぼちゃへの影響を形態学的、生理学的に調査している。動物においては、植物とは異なり石灰化との関連で重要な微量元素（おそらく必須？）という認識がなされている。最近では、ホウ素の影響を細胞レベルで検討した報告も行われている。我々の教室では、4-META/MMA-TBB 系レジジンシーラーの溶出成分の培養骨芽細胞への影響を検討した実験結果から TBB の構成成分ホウ素 (B) に注目し、現在培養骨芽細胞増殖・分化への影響を検討する実験を開始している。今回、ホウ素添加によって影響を受ける遺伝子に関して検討したので報告する。

【材料と方法】1) 至適ホウ素濃度 NOS-1 (ヒト骨肉腫由来骨芽細胞株) 細胞をつかった低濃度 TBB を培地に添加した MTT 実験結果から、0.125mM 添加無血清 α -MEM 培地で細胞の増殖蛍光を確認できた。そこで今回はホウ素を 0.1mM 培地に添加した条件で培養実験をおこなった。

2) cDNA マイクロアレイ解析 0.1mM ホウ素を添加無血清 α -MEM 培地で NOS-1 細胞 (1.517×10^6 / 60mm dish) を 3 日間培養した。TRIzol 試薬 (Invitrogen) 内で細胞を回収し、total RNA を抽出した。Total RNA に、Ambion WT Expression Kit、GeneChip WT を用いてラベリング反応を行った。使用したマイクロアレイは GeneChip Human Genome U133 Plus 2.0 Array (Affinity 社) で、Affinity 社推薦のプロトコールで、ハイブリダイゼーション、wash、scan を行った。Expression ConsoleTM を用いて、RNA アルゴリズムによる数値化を行った。また、数値化後のシグナル値を quantile 法により正規化した。3) RT-PCR 解析 マイクロアレイ解析時と同条件で細胞を播種し、培養 3 日目に TRIzol 試薬 (Invitrogen) 内で細胞を回収し totalRNA を抽出した。total RNN から DNA を合成し、RT-PCR (Mx3000P, Strategene) 解析を行った。

【結果と考察】 マイクロアレイ解析の結果、Z スコアが 2.0 以上に増強している遺伝子が 8 個確認できた (CFDP, SDF4, MAP2K1, CTNNA1, COL1A1, CACNA1A, AKT1, AKT2)。いずれも、細胞の増殖、分化と関連した遺伝子である。RT-PCR 解析の結果、初めの 7 個の遺伝子は 1.2 倍以上に発現の増強することを確認できた。今回、初めてホウ素を培地へ添加することで、培養骨芽細胞の増殖・分化を促進することを直接確認することができた。今後、ホウ素の細胞内への影響をイメージング等によってさらに詳細に検討する予定である。

【文献】1) Kawasaki A, Hayashi Y, Yanagiguchi K, Yamada S, Syudo M, Igawa K, Ikeda T, Kubo S, Fujiwara M, Effects of eluted components from 4-META/MMA-TBB adhesive resin sealer on osteoblastic cell proliferation, Journal of Dental Sciences, 7(2), 94-98, 20122) Syudo M, Yamada S, Yanagiguchi K, Matsunaga T, Hayashi Y, Early gene expression analyzed by a genome microarray and real-time PCR in osteoblasts cultured with a 4-META/MMA-TBB adhesive sealer, OSOMOP, 107(3), e77-e81, 2009

【謝辞】本研究は、科学研究費（課題番号：25670812）の助成によって実施している。

ADAM28 によって活性化される IL-1 β 誘導 MMP-13 はヒト骨芽細胞様細胞の増殖を制御する

愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座¹

愛知学院大学薬学部生体機能化学講座²

○木下 佳都栄¹、尾関 伸明¹、茂木 眞希雄²、檜山 太希¹、山口 秀幸¹、長谷 奈央子¹、川合 里絵¹、
中田 和彦¹

IL-1 β -induced matrix metalloproteinase (MMP)-13 is activated by a disintegrin and metalloprotease (ADAM)-28 regulated proliferation of human osteoblast-like cells

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, Aichi, Japan¹, Department of Medicinal Biochemistry, School of Pharmacy, Aichi Gakuin University, Aichi, Japan²

○KINOSHITA KATSUE¹, Ozeki Nobuaki¹, Mogi Makio², Hiyama Taiki¹, Yamaguchi Hideyuki¹, Hase Naoko¹, Kawai Rie¹, Nakata Kazuhiko¹

【研究目的】

これまでに我々は、 $\alpha 7$ integrin 陽性ヒト骨格筋幹細胞を用いた骨芽細胞分化誘導法を確立し (Ozeki et al., Experimental Cell Research, 312 2006, 4162-4180), さらに、このヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞を高純度化した。本細胞を根尖性歯周炎における骨代謝モデルとして用いて精査した結果、炎症性サイトカイン interleukin (IL)-1 β 誘導マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-13 が細胞増殖の促進とアポトーシス細胞死を抑制することで、根尖創傷治癒に関与することを報告した。

ADAM (a disintegrin and metalloprotease) は disintegrin ドメインとメタロプロテアーゼドメインをひとつずつ有しており、タンパク質限定分解だけでなく、細胞外でのタンパク質相互作用による細胞間、細胞マトリックス間の接着に重要な役割を果たしていることが明らかにされている。そして近年、ADAM-28 が癌細胞の浸潤・転移、リウマチ、喘息、アルツハイマー病など、さまざまな病態における機能が報告されているが、非腫瘍組織、とくに骨組織における役割については、いまだ不明な点が多い。

そこで本研究では、 $\alpha 7$ integrin 陽性ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞を用いて、炎症性サイトカイン IL-1 β による根尖性歯周炎モデルを作成し、本細胞における ADAM-28 と MMP-13 の新規な生理的役割を明らかにするため、small interfering RNA (siRNA) を用いて詳細な検討を行った。

【材料および方法】

$\alpha 7$ integrin 陽性ヒト骨格筋幹細胞を用いて新規に確立した骨芽細胞分化誘導法により、骨芽細胞に分化誘導させた後、FACS にて精製高純度化した。本細胞に炎症性サイトカイン IL-1 β (PeproTech) を添加し、Real-time PCR 法により ADAM-28 と MMP-13 発現を評価した。さらに培養液中の MMP-13 活性は、特異的 MMP-13 抗体にて immunoprecipitation 後、ELISA (AnaSpec) により評価した。IL-1 β による細胞増殖は BrdU 標識 cell proliferation ELISA (Roche Applied Science), アポトーシス細胞死は BrdU 標識 DNA fragment ELISA (Roche) により評価した。ADAM-28 および MMP-13 siRNA (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) を用いた遺伝子のノックダウンにより、IL-1 β 誘導根尖性歯周炎モデルにおいて、細胞内で惹起される特異的なシグナルカスケードの検索を行った。

【結果】

$\alpha 7$ integrin 陽性ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞への IL-1 β 添加により、ADAM-28 および MMP-13 遺伝子発現および MMP-13 活性上昇がコントロールと比較して統計学的有意 ($P < 0.01$) に認められた。ADAM-28 および MMP-13 siRNA 処理により、骨芽細胞の細胞増殖の抑制とアポトーシス細胞死が惹起され、コントロールと比較して統計学的有意差 ($P < 0.01$) が認められた。

【考察および結論】

ヒトの組織性幹細胞を用いた細胞導入治療法は、従来のう蝕治療法や覆髄法に代わる有効な手段となる可能性があるが、未だほとんど行われていないのが現状である。さらに ADAM-28 が骨芽細胞増殖に関わることを明示した研究は行われておらず、また、MMP-13 と細胞分化の関連性について、本研究のような $\alpha 7$ integrin 陽性ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞で示した研究はない。炎症の場で産生されたサイトカインによりさまざまな MMP が誘導されることは広く知られているが、これまでの概念では、産生誘導された多くの MMP は骨ならびに周辺組織のマトリックス破壊に関与すると考えられてきた。

本研究結果は、この概念から脱却し、ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞の増殖に関し、ADAM-28 および MMP-13 の発現が必須であること、さらに、MMP-13 発現が細胞増殖から組織再生につながる可能性を明示した。本研究は、ヒト骨芽細胞増殖と ADAM-28 および MMP-13 の関連に着目した基礎的研究であるが、将来的には根尖周囲骨組織の再生機構の解明に繋がる可能性がある。

演題 P59 (歯内)
【2503】

形状記憶ポリマーの根管充填材への応用—3次元有限要素法による応力解析—

鹿児島大学 医学部・歯学部附属病院 成人系歯科センター 保存科¹

鹿児島大学大学院 理工学研究科 情報生体システム工学専攻²

○金丸 憲一¹、塚田 岳司¹、久保 翔平²、徳田 雅行¹、鳥居 光男¹、加藤 龍蔵²

Application of shape memory polymer to root canal filling material - Stress analysis by the 3D finite element method -

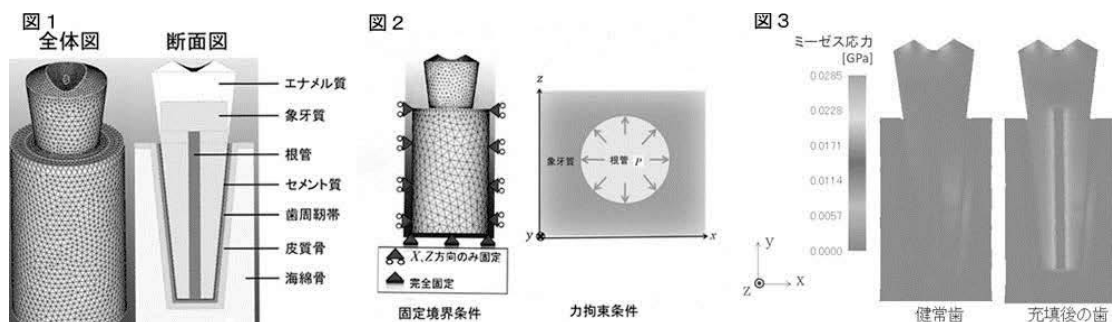
Kagoshima University Medical and Dental Hospital Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima, Japan¹, Kagoshima University Graduate school of Science and Engineering Department of Information Science and Biomedical Engineering, Kagoshima, Japan²

○KANEMARU NORIKAZU¹, TSUKADA GAKUJI¹, KUBO SYOHEI², TOKUDA MASAYUKI¹, TORII MITUO¹, KATO RYUZO²

【研究目的】我々は、形状記憶ポリマーを用いて根管充填用ポイントを試作し、新しい根管充填法の開発を試みている。この根管充填法は、ポイントに備わった形状記憶機能の働きによりポイントの形状を根管の形状へと適合させて根管の封鎖を図ろうというものであるが、その際には、根管充填材～歯牙～歯周組織に発生する応力が相互に複雑に影響し合うと予想され、それらを考慮したより緻密な材料設計を行うことが必要となる。第136回大会では、2次元軸対称モデルでの解析結果を発表した。今回は、さらに、これらの一連の系を3次元でモデル化し、有限要素法を用いてシミュレーションを行い、咬合力の加わった状態における実際の口腔内で起る歯牙の応力やひずみなどを推定した結果を報告する。

【研究方法】解析に使用する3次元・歯牙・歯周モデルは、根管拡大後、形状記憶ポリマーを用いて根管充填した下顎第二小臼歯とその周囲の歯周組織を図1のように汎用的なモデルを目指してモデル化した。下顎第二小臼歯の根管を想定した内径1.0 mmの円筒形モデルで内側から外側に向かって均一な外力をくわえて、応力解析を行った。このモデルでは、TSV-Preを用いて四面体2次要素で要素分割し、節点数64,783個、要素数46,753個とした。固定境界条件として、側面は隣り合う歯牙や組織を考慮してx方向とz方向のみを固定し、底面は完全固定とした。力拘束条件として根充材が象牙質に負荷する外力は、人工根管を用いた封鎖性試験の結果において、良好な封鎖が得られた試料の実測値より近似的に求めた値の10倍の値である7.30 MPaを用いた(図2)。また、モデルに加える咬合圧は44.5 MPaとした。有限要素法による解析は、Fortran95を用いてプログラムを作成してシミュレーションした。

【結果と考察】根充材のみで解析した場合、実測値の10倍の外力を根管に加えたにもかかわらず、応力は根管壁周囲に集中し、最大応力は13.0 MPaであった。根充済みの歯牙に三点咬合で咬合圧を加えた場合、最大応力は28.5 MPaであった(図3)。象牙質の降伏応力は、100 MPaと言われているため、形状記憶ポリマー製の根管充填材が歯牙に与える応力は、根管近傍における象牙質の破壊応力を大きく下回り、安全に使用できる可能性が高いことを明らかにした。また、咬合力のような大きな力が加わった場合、歯周靱帯がクッションのような役割を果たし、応力を緩和していることも示した。今後は、非線形モデルの構築を行い、象牙質の異方性や欠陥も考慮した応力解析を行っていく予定である。



演題 P60 (歯内)
【2503】

ラット実験的歯髄炎における幹細胞関連マーカー発現の経時的検索
新潟大学 大学院 医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野
○伊藤 崇史、金子 友厚、山中 裕介、興地 隆史

Time-course analysis of stem cell-related marker expression in experimentally-induced dental pulp inflammation in rats

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan

○ITO TAKAFUMI, KANEKO TOMOATSU, YAMANAKA YUSUKE, OKIJI TAKASHI

(目的)

我々は、ヒト歯髄組織と同様に、ラット臼歯歯髄組織中にも幹細胞関連遺伝子の発現が認められるとともに、CD146 および MAP1-B を共発現する幹細胞様細胞が存在することを報告した(Kaneko et al., Cell Tissue Research, 2013)。しかし、炎症歯髄における、これらの細胞の動態あるいは幹細胞関連遺伝子発現の詳細は、依然として不明な点が多い。そこで本研究では、ラット切歯に実験的歯髄炎を誘発した場合における幹細胞関連遺伝子発現と CD146/MAP1-B 二重陽性幹細胞様細胞の分布密度の関係を経時的に検索することを目的とした。

(方法)

5 週齢雄性 Wistar ラットの上顎両側切歯 (n = 32)を検索対象とした。実験群の動物に対し、8% chloral hydrate (350 mg/kg) による全身麻酔下で、1/2 ラウンドバーを用いて被験歯を遠心面より切削、露髄させたのち、1μl の LPS(1 mg/ml)を貼付後、水硬性セメント (キャビトン, GC) で窩洞を封鎖した (n=24)。コントロール群として生活断髄を行わない正常歯髄 (n=8) を用いた。実験群については LPS 貼付 3、12 および 48 時間経過後 (各 n=8)、また正常群については全身麻酔後直ちに切歯歯髄組織を摘出し、免疫組織化学的解析(各 n = 4)および mRNA 発現解析 (各 n = 4)に供した。

免疫組織学的解析については、2%パラホルムアルデヒド固定凍結切片を作成し、CD146 および抗 microtubule-associated protein 1-B (MAP1-B)抗体を一次抗体とした酵素抗体二重染色を行った後、CD146/MAP1-B 二重陽性細胞の分布密度を定量した。

また、分子生物学的検解析については、全 RNA を抽出し、cDNA の合成を行った後、RT-PCR を用いて endoglin (CD105)、CD146、および GAPDH mRNA の発現を確認するとともに、ImageJ ソフトウェアを用いて発現量を半定量的に解析した。統計学的解析には Mann-Whitney の U 検定 (Bonferroni 補正) を用いた。

(結果)

免疫組織学的検索において、小型類円形の CD146/MAP1-B 二重陽性細胞の存在が、全ての観察期間において確認された。これらの細胞密度は LPS 貼付 3 時間以降徐々に増加し、12 および 48 時間後では正常切歯歯髄と比較して有意に高値を示した (P<0.05)。

一方、CD105 mRNA の発現レベルは、LPS 貼付 3 時間後に最高であったが (正常歯髄と比較して P<0.05)、12 時間後に一旦低下し、48 時間後再び有意に上昇した (P<0.05)。また、CD146 mRNA の発現レベルは、LPS 貼付 3 時間で最高となったが (正常歯髄と比較して P<0.05)、その後は徐々に低下を示し、3、12 および 48 時間後では正常歯髄と比較して有意に低レベルであった (P<0.05)。

(考察)

間葉系幹細胞は、炎症や組織傷害が生じると、当該部位に集積するとともに、T リンパ球や樹状細胞などとの相互作用により抑制性サイトカイン産生の増加などの免疫調節活性を示すことが知られている。本研究においても、LPS による歯髄炎の惹起後、幹細胞関連遺伝子 CD105 および CD146mRNA の発現量が亢進し、以後、CD146/MAP1-B 陽性幹細胞様細胞の密度が増加した。以上のことから、幹細胞様細胞が炎症歯髄組織の恒常性の維持のために、何らかの働きを有している可能性が示唆された。

(結論)

LPS で誘発したラット切歯実験的歯髄炎においては、幹細胞関連遺伝子の発現亢進に続いて CD146/MAP1-B 二重陽性幹細胞様細胞の密度が増加した。

硬化反応時および硬化終了後の 4-META/MMA-TBB レジンが骨芽細胞に与える影響

九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野

○諸富 孝彦、平田・土屋 志津、北村 知昭

Effect of the 4-META/MMA-TBB Adhesive on Osteoblast at each Cure Phase

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

○MOROTOMI TAKAHIKO, HIRATA-TUCHIYA SHIZU, KITAMURA CHIAKI

【目的】 4-META/MMA-TBB レジンは 1982 年に接着材料として歯科矯正治療に用いられ始めて以来、エナメル質や象牙質に対して優れた接着性を示す一方で生体に対する為害性が少ないことから補綴物・修復物の装着や動揺歯の暫間固定、破折歯の接着修復、さらに根管充填用シーラーなど歯科治療に幅広く用いられ、良好な臨床成績を示している。さらに軟組織である歯髄に直接応用すると浸透したレジン成分と歯髄組織との間に軟組織ハイブリッド層と呼ばれる一層を介しデンティンブリッジが形成される一方で壊死層が出現しないことから、直接覆髄用の材料としても有用であることが示されている。我々は 4-META/MMA-TBB レジンの多岐にわたる有用性に着目し、さらなる臨床応用の可能性について検討した。近年、4-META/MMA-TBB レジンは骨ともハイブリッド層を形成して接着することが報告され、骨接合システムに用いるプレートとしての臨床応用の可能性も検討されている。今回、我々は骨組織への臨床応用の可能性について検討することを目的として、硬化ステージ毎の 4-META/MMA-TBB レジンの骨芽細胞への影響を *in vitro* 研究により検索した。

【材料と方法】 実験にはマウス由来骨芽細胞前駆細胞株 MC3T3-E1 を用いた。また、4-META/MMA-TBB レジンとしてスーパーボンド C&B (サンメディカル株式会社) を用いた。スーパーボンドを使用説明書に従いモノマー液 4 滴、キャタリスト 1 滴、ポリマー粉末 (クリア) 1 杯の割合で混和し実験に供した。細胞を 24 well の培養プレート上に細胞数 3.0×10^4 cell/well で播種し、10%ウシ胎仔血清を添加した石灰化誘導培地を用いて培養した。各 well に挿入した transwell 上に混和開始 1 分後(SB1min)、7 分後(SB7min)、1 時間後(SB1h)、そして 12 時間後(SB12h) のスーパーボンドを静置した。なお、対照群としては transwell 上に何も載せない細胞群を用いた。7 日間にわたり位相差細胞形態を顕微鏡にて観察し、細胞増殖能を WST-8 assay により確認した。また細胞の骨芽細胞分化能および骨形成能を確認するため、アルカリフォスファターゼ(ALP)活性を p-NPP 法にて測定した。

【結果】 MC3T3-E1 はスーパーボンド添加 1 日後、対照群と比較して SB1min で有意に細胞数が減少した。SB7min では細胞数は減少傾向にあるものの有意差は認められず、その後増殖能を示した。また、SB1h, SB12h では細胞数の増減は認められなかった。観察期間を通じて、すべての群において生存細胞に形態的な変化を認めなかった。7 日後の時点で ALP 活性を確認したところ、対照群、SB7min、SB1h、SB12h 各群の間に有意差を認めなかった。

【考察】 スーパーボンドは混和開始直後には骨芽細胞に対する為害性を示すものの、硬化時間の目安とされる 7 分後以降には為害性が低下、もしくは消失することが確認された。今後、*in vitro* 研究における培養細胞に対する影響を詳細に解析すると共に、実験動物を用いた *in vivo* 研究における中・長期的な生体への影響を検討する予定である。

【結論】 4-META/MMA-TBB レジンは硬化反応開始時には骨芽細胞前駆細胞に為害性を持つが、硬化反応末期以降には為害性は消失する可能性が示唆された。

演題 P62 (歯内)
【2503】

根尖部の慢性炎症制御を目的としたヒドロコルチゾン含有 PLGA 粒子の作製

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野¹

京都大学再生医科学研究所生体組織工学研究部門生体材料学分野²

○鷲尾 絢子¹、田畑 泰彦²、北村 知昭¹

Study of Hydrocortisone-Incorporated PLGA Microsphere Targeting the Regulation of Apical Chronic Inflammation

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Science of Oral Functions, Kyushu Dental University, Kitakyushu, Japan¹, Department of Biomaterials, Field of Tissue Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, Kyoto, Japan²

○WASHIO AYAKO¹, TABATA YASUHIKO², KITAMURA CHIAKI¹

【研究目的】難治性根尖性歯周炎の要因として特定細菌の関与が示唆されている一方で、細菌の検出されない難治症例も存在することが知られている。その原因として、細菌除去後においてもなお根尖部に持続している慢性炎症の存在が考えられる。一方、現在の歯内治療に用いられている薬剤は感染除去に重点が置かれており、炎症制御を目的とした薬剤の応用・開発およびその投与方法等については十分に研究されていない。临床上、難治性根尖性歯周炎の治療を目的としてステロイド抗炎症薬の1つであるヒドロコルチゾン等の使用も試みられているが十分な効果は得られていないのが現状である。持続的に存在している慢性炎症を効果的に制御するには、薬剤が一時的にしか局所に留まらない投与方法では不十分であり、長期間にわたり局所で薬剤の効果を最大限に発揮させるための Drug Delivery System (DDS) が重要となる。今回、DDS による根尖部の持続的な慢性炎症制御法の開発を目的として、生分解性ポリマーであるポリ乳酸グリコール酸共重合体 (PLGA) を用いたヒドロコルチゾン含有 PLGA 粒子の作製を試みた。

【材料および方法】PLGA は、ポリ乳酸：ポリグリコール酸 重合比 50:50、分子量 5000 を使用し、1 wt% ポリビニルアルコール (PVA) 水溶液を作製した。クロロホルムに PLGA とヒドロコルチゾンを溶解し、200 rpm で攪拌している PVA 溶液中に滴下し、oil in water エマルジョンを形成し、PLGA 粒子を作製した。その後、MilliQ 水で PVA 溶液を洗い流しながら、遠心分離にて粒子を回収した。液体窒素にて凍結後、凍結乾燥を行い、粒子の回収率を計算した。その後、位相差顕微鏡および走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて、粒子の形態観察を行った。さらに Image J を使用して粒子径を測定した。

【結果】位相差顕微鏡および SEM を用いたヒドロコルチゾン含有 PLGA 粒子の観察を行ったところ、粒子の回収率は約 85% であり、粒子形態は丸状であった。また、Image J を用いて粒子径を 0~10 μm 、10~20 μm 、20~30 μm 、40~50 μm の範囲で測定したところ、それぞれ約 63%、28%、7%、2% の割合で、20 μm 以下の粒子が約 90% 以上作製されていることが示された。

【考察】今回、粒子径が 20 μm 以下の小さいヒドロコルチゾン含有 PLGA 粒子を作製する方法を確立できた。以上の結果は、根管のサイズを考慮した場合、作成した粒子を用いることにより、根管内での流動性がよく目的とする局所に確実に到達させ持続的に薬剤を徐放することが可能になることを示唆している。

【結論】作製したヒドロコルチゾン含有 PLGA 粒子は、歯内療法時の根管貼薬において、これまでにない DDS 機能を発揮する薬剤としての可能性を有している。

根尖孔を介した接着性レジンシーラーの骨内組織反応

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 齲蝕学分野

○柳口 嘉治郎、山本 耕平、吉沢 祐、杉本 浩司、池田 毅、山田 志津香、林 善彦

Intrabony tissue reaction of adhesive resin sealer through apical foramen

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan

○YANAGIGUCHI KAJIRO, YAMAMOTO KOHEI, YOSHIZAWA YUU, SUGIMOTO KOHJI, IKEDA TAKESHI, YAMADA SHIZUKA, HAYASHI YOSHIHIKO

【緒言】根管充填を行う場合、根管壁への緊密性を保つために固形のガッタパーチャポイントと根管充填用シーラーを併用する方法が広く用いられている。現在、根管充填用シーラーとして歯質接着性のない酸化亜鉛ユージノールセメントが多用されているが、ユージノールの組織刺激性も問題視されているため、非ユージノール系の製品の開発が進んでいる。根管充填用シーラーに求められる性質としては組織親和性を有し、根尖歯周組織の生物学的治癒を促進させること、材質が安定であること、容易に除去ができることなどが挙げられる。近年、歯質接着性を有するレジン系材料に急速な進歩がみられている。我々は第134回日本歯科保存学会にて、ラット臼歯の根尖部を用いた根管模型モデル内に根管充填用シーラーを填塞後、ラットの顎骨内窩洞へ移植した研究で、スーパーボンド根充シーラーを用いた場合、速やかに炎症反応の減弱化が起こり早期に同部位に線維芽細胞の増殖が進行するが、AH プラスでは同様の観察期間内では軽度ではあるが炎症反応が持続することを報告した。今回、機械的な除去を可能とした接着性シーラーであるメタシール Soft (サンメディカル株式会社) を同様の実験系を使って根尖周囲の組織反応を経時的に観察し、組織親和性に関して病理組織学的に検討を行った。

【材料と方法】1、根管模型の作製：ウイスター系雄性ラットの上顎第2臼歯根尖部1mmをダイヤモンドディスクで切り出したのち、5%NaOClに8時間浸漬し、有機質の除去を行った(根尖孔は0.45mm程度)。動物実験を行う直前にまず15分間37℃の恒温槽に保管後、5%NaOClと3%OXにて交互洗浄を行いペーパーポイントで乾燥した後、メタシール Soft の充填を行い、直ちにラットの顎骨へ移植した。2、下顎骨への移植：6週令のウイスター系雄性ラットに、ペントバルビタールナトリウム(ネンブタール 25.9mg/kg)の腹腔内麻酔を施した後、術野を3%イソジンと70%アルコールで消毒した。下顎骨に達する切開を加え、皮膚骨膜弁を開き下顎骨の一部を露出させた。滅菌済みラウンドバーを用い低速回転で、オトガイ孔後方の咬筋付着部前縁に円形窩洞を形成し、メタシール Soft を充填した根管模型を移植した後、ガラスアイオノマーセメントで仮封の後、骨膜弁を元の位置に戻し皮膚の縫合を行った。術後1、3、7日目、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内の深麻酔下で0.1M カコジル酸緩衝(pH7.4)2%パラホルムアルデヒドと2.5%グルタルアルデヒド液で灌流固定を行った。リングル液の注水下で、ダイヤモンドディスクを使って根管模型を含む下顎骨を可及的に小さく切り出し、同固定液に1時間、四酸化オスミウムで1時間の後固定を行った。通法により、アルコール脱水、エポキシレジン包埋後、厚さ2μmの切片を作製した。トルイジンブルー染色後、光学顕微鏡にて根管模型周囲の組織反応を観察した。なお、本実験は、事前に内容を長崎大学先端生命研究支援センター動物実験施設に申請し、承認を受けたのち実施した。

【結果とまとめ】術後1日目、根管模型の先端部周囲には好中球を主体とした炎症性細胞の浸潤が確認できた。術後3日目、根管模型先端部付近でメタシール Soft と思われる構造物の一部が周囲組織へ遊離し軽度の炎症性細胞の浸潤が観察されたが、術後7日目には炎症性細胞は観察されず根管模型先端部周囲は線維芽細胞によって満たされていた。今回の結果から一部物質の遊離が生じるものの早期に線維芽細胞の増殖が進行することが明らかになった。これまでの同様の系での実験データと比較して本シーラーは組織親和性に関して優れた材料であると判定される。

演題 P64 (歯内)
【2503】

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 6 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, Part6

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

○AMANO RYOKO, KATSUUMI ICHIROH

【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 5 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、根管の偏平度や根尖部の形態など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。また、第 3 報では根尖から根尖孔までの直線距離を測定したが、根尖孔の開口方向については近遠心・唇舌方向からの観察にとどまっていた。そこで、今回は歯軸中央から根尖孔までの水平距離および、根尖孔の開口方向について観察と分析を行った。

【材料および方法】

実験には、ヒト上顎側切歯抜去歯 50 本と、比較対象用にヒト上顎中切歯抜去歯 50 本を用いた。マイクロフォーカスX線CT装置 (ELE-SCAN、日鉄エレックス) 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。

三次元画像上で歯軸が画面の中央に位置するように調節し、根尖方向から見た画像を観察に用いた。歯軸と垂直な断面を作成し、最初に四方が歯質で囲まれた位置を根尖孔開口部と想定して、歯軸中央からの距離と角度を測定した。角度については、歯軸中央を中点とし、近心方向を 0° 、唇側方向を 90° 、遠心方向を 180° 、舌側方向を 270° の位置に配して値を求めた。また、歯の側面から見た画像を作成し、根尖孔開口部から根尖までの垂直距離を測定した。

【結果とまとめ】

側切歯では根尖孔開口部は遠心舌側方向で多く見られ、平均角度は 205.4° となった。また、根尖孔開口部と歯軸中央が一致した歯は、1 歯であった。歯軸中央からの水平距離は平均 1.58mm 、根尖から根尖孔開口部までの垂直距離は平均で 0.31mm となった。

中切歯では根尖孔開口部は遠心頬側で多く見られ、平均角度は 132.1° 、歯軸中央と根尖孔開口部が一致した歯は 1 歯であった。歯軸中央からの水平距離は平均 0.92mm 、根尖から根尖孔開口部までの垂直距離は平均で 0.38mm となった。

今回の研究から、側切歯の根尖孔は遠心舌側方向に多く、中切歯に比べて歯軸からの距離が離れていることがわかった。舌側方向への根尖孔の移動は歯科用 X 線写真では判別が困難なため、側切歯の根尖孔開口部を知ることの難しさが窺われた。

Semaphorin3A がヒト歯髄幹細胞による硬組織形成に及ぼす影響

九州大学大学院 歯学研究院 歯科保存学研究分野¹

九州大学病院 歯内治療科²

○吉田 晋一郎¹、和田 尚久²、前田 英史²、門野内 聡¹、長谷川 大学¹、御手洗 裕美¹、濱野 さゆり¹、
祐田 明香¹、杉井 英樹¹、赤峰 昭文¹

The effects of Semaphorin3A on hard tissue formation of human dental pulp stem cells

Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan¹, Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan²

○YOSHIDA SHINICHIRO¹, WADA NAOHISA², MAEDA HIDEFUMI², MONNOUCHI SATOSHI¹, HASEGAWA DAIGAKU¹, MITARAI HIROMI¹, HAMANO SAYURI¹, YUDA ASUKA¹, SUGII HIDEKI¹, AKAMINE AKIFUMI¹

【研究目的】

う蝕や外傷による広範囲の象牙質欠損を伴う露髄の場合、従来の直接覆髄用材料では象牙質修復に限界があり、抜髄に至るケースも少なくない。近年、より積極的な象牙質修復を企図した様々な直接覆髄の研究が行われているが、十分な象牙質修復を得るには至っていない。歯髄組織には歯髄幹細胞が豊富に存在し、象牙芽細胞に分化することにより象牙質再生が誘導されと考えられている。分泌タンパク質である Semaphorin3A(Sema3A)は発生過程における中枢神経系の軸索ガイダンス因子として同定された Semaphorin ファミリーの一つで、近年、骨組織においては骨吸収を抑制し、骨形成を促進させることで骨保護作用を示すことが報告されている。また、我々は Sema3A が歯根膜細胞において幹細胞/未分化細胞誘導効果を示すことを明らかにしている(和田ら, 第136回日本歯科保存学会, Wada N et al Stem Cells Dev. 2013)。歯髄組織においては神経支配を制御することが報告されているが、その他の影響については報告されていない。そこで、本研究では Sema3A がヒト歯髄幹細胞による硬組織形成に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

細胞は未分化なヒト歯髄幹細胞(HDPC) clone を用いた。(1) SD ラット(5週齢、雄性)の上顎臼歯部の組織切片を用いて抗 Sema3A 抗体による免疫組織化学的染色を行った。また、半定量的 RT-PCR 法にて HDPC clones (4A-1 and 4A-7) における Sema3A ならびにそのレセプター(NRP1, PlxA1, PlxA2)の遺伝子発現を検討した。(2) WST-1 proliferation assay, Scratch wound healing assay および Chemotactic assay にて Sema3A が HDPC clones の増殖能、遊走能および走化性に及ぼす影響について検討した。(3) Sema3A 存在下で培養した HDPC clones における石灰化物形成能を Alizarin red 染色法、ALP, OCN, OPN, BSP の遺伝子発現量を定量的 RT-PCR にて検討した。

【結果】

(1)抗 Sema3A を用いた免疫組織化学的染色を行った結果、歯髄組織に陽性反応が認められた。また、HDPC clones において Sema3A ならびにそのレセプターである NRP1, PlxA1, PlxA2 の遺伝子発現が確認された。(2)10 ng/ml の Sema3A を加えた HDPC clones では非添加群と比較して細胞増殖能、遊走能および走化性が有意に亢進した。(3)10 ng/ml の Sema3A を含有した石灰化誘導培地にて培養した HDPC clones では石灰化物形成が促進し、ALP, OCN, OPN, BSP の遺伝子発現が有意に亢進した。

【考察】

Sema3A がヒト歯髄幹細胞の増殖能、遊走能および走化性を亢進させ、またヒト歯髄幹細胞による硬組織形成を促進することより、Sema3A は歯髄象牙質複合体の創傷治癒において機能的に作用する因子の一つであることが示唆された。

【結論】

(1)Sema3A は歯髄組織に局在し、また、ヒト歯髄幹細胞は Sema3A ならびにそのレセプター遺伝子を発現する。(2)Sema3A はヒト歯髄幹細胞の増殖能、遊走能および走化性を亢進する。(3)Sema3A はヒト歯髄幹細胞による硬組織形成能および、ALP, OCN, OPN, BSP の遺伝子発現を促進する。

演題 P66 (歯内)
【2503】

上顎左側第一大臼歯 4 根 5 根管の歯内療法

日本歯科大学附属病院総合診療科¹

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座²

○北村 和夫¹、山崎 孝子¹、石井 隆資¹、阿川 透久¹、村田 美香¹、磯田 浩太¹、四方田 拓¹、永井 圭子¹、勝海 一郎²

Endodontic treatment on maxillary left first molar with four roots and five canals

General Dentistry of The Nippon Dental University Hospital, Tokyo, Japan¹, Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo, Japan²

○KITAMURA KAZUO¹, YAMAZAKI TAKAKO¹, ISHII TAKASHI¹, AGAWA YUKIHISA¹, MURATA MIKA¹, ISODA KOTA¹, YOMODA TAKU¹, NAGAI KEIKO¹, KATUUMI ICHIROH²

【はじめに】

上顎大臼歯の過剰根の出現率は、上顎第一大臼歯が 0.3%で、上顎第二大臼歯の 0.9%よりも低い。上顎第一大臼歯の近心頬側根には高頻度で 2 根管が出現するが、近心頬側根が 2 根管で、かつ過剰根を有する症例はほとんどみられない。今回、4 根 5 根管の上顎第一大臼歯の治療を行う機会に遭遇したので、その経過を報告する。

【症例】

患 者：18 歳 男子

主 訴：上顎左側第一大臼歯の咬合時の違和感

現病歴：1 か月前に上顎左側第一大臼歯に自発痛が出現したため抜髄処置を施されたが、咬合時に違和感が残存したため、歯科用コーンビーム C T (C B C T) で精査された。過剰歯根が存在し複雑な形態を呈しているため治療困難と判断され、日本歯科大学附属病院総合診療科に紹介来院した。

既往歴：特記事項なし

家族歴：特記事項なし

現 症：上顎左側第一大臼歯の近心側に歯質の欠損がみられ、咬合面にはセメントによる仮封が認められた。周囲歯肉に瘻孔、腫脹などの異常はみられず、歯髄電気診、温度診により、生活反応は認められなかった。また、歯周ポケット検査の結果、ポケットは全周 3mm 以内で異常所見はなかった。デンタル X 線検査では歯根の形態は不鮮明であったが、持参の C B C T 画像では、口蓋根の近心側に過剰歯根が認められた。顕微鏡下で仮封材を除去し精査したところ、近心頬側根に 2 根管、遠心頬側根に 1 根管、近心口蓋根に 1 根管、遠心口蓋根に 1 根管の 4 根 5 根管歯であることが確認された。

診 断：上顎左側第一大臼歯の慢性根尖性歯周炎

処置と経過：上顎左側第一大臼歯の歯髄は壊死していたため、通法どおり感染根管治療を行うことにより、症状は改善した。根管充填後、ファイバーコアで築造し、紹介医で全部歯冠修復され、良好に経過している。

【考察とまとめ】

上顎第一大臼歯に 4 根 5 根管を認めることは稀であり、複根根歯の治療に有効な偏心投影法を応用しても根と根管の形態の把握は困難であった。今回の症例では、C B C T により根管形態を三次元的に正確に把握してから顕微鏡下で治療を進めたことが治療成功に直結しており、改めて C B C T の有用性が再認識できた。

演題 P67 (歯内)
【2503】

α -TCP/Te-CP セメントに対する培養歯髄由来幹細胞の応答解析

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野¹

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²

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野³

○長谷川 智哉¹、川木 晴美²、武田 進平¹、土井 豊³、近藤 信夫²、吉田 隆一¹

Effects of alpha-TCP/Te-CP cement on the activities of human dental pulp stem cells

Department of Endodontics, Asahi University School of Dentistry¹, Department of Oral Biochemistry, Asahi University School of Dentistry², Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry³

○HASEGAWA TOMOYA¹, Kawaki Harumi², Takeda Shinpei¹, Doi Yutaka³, Kondoh Nobuo², Yoshida Takakazu¹

【研究目的】 歯科保存治療において歯髄の保存は重要である。偶発的な露髄症例では直接覆髄材として主に水酸化カルシウム製剤が用いられているが、水酸化カルシウム製剤は pH 12.5 の強アルカリ性であり歯髄刺激が強く、歯髄の広範囲な壊死を引き起こす可能性が指摘されており、強度および封鎖性の点でも問題視されている。そこで我々はリン酸カルシウムを主成分とする α -リン酸三カルシウム/リン酸四カルシウム (α -TCP/Te-CP) 粉末に種々の練和液を組み合わせたセメントを覆髄材として応用すべく、セメントの物性や動物実験結果を本学会 (135~137 回) にて報告してきた。今回は、これまでに報告してきた条件で作成した α -TCP/Te-CP セメントを覆髄材として応用した際の歯髄細胞の応答について培養系を用いて評価した。

【材料および方法】 α -TCP/Te-CP セメントは、炭酸カルシウムと第二リン酸カルシウム二水塩をモル比 5:6 で機械混合したものを、1500℃で 5 時間加熱し、得られた焼結塊を粉砕したものをセメント粉末とし、1M リン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比 2.0 で練和したもの (以下;A 群)、2M リン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比 1.5 で練和したもの (以下;B 群)、1M クエン酸水溶液と粉液比 2.5 で練和したもの (以下;C 群) を実験に用いた。また、対照として水酸化カルシウム製剤であるダイカル®を用いた (以下;D 群)。アクリル製の内径 10 mm 高さ 5 mm の円筒リングに練和した各種セメントを充填し、 α -MEM に 24 時間浸漬した後フィルター滅菌した。滅菌後の α -MEM を 1/2, 1/4, …… 1/128 と段階的に希釈し実験に用いた。96 well 培養プレートにヒト歯髄由来幹細胞(hDPSC)を 4×10^3 /well の密度で播種し、浸漬培地を用いて細胞毒性および細胞増殖を評価した。対照群にはセメントを浸漬しない α -MEM (以下;NC 群) を用いた。

【結果】 セメントを浸漬した培地の細胞毒性と hDPSC の細胞増殖を検討した結果、A,B,C 群では細胞毒性は認められず細胞増殖も NC 群と同等であったが、D 群では 1/8~1/16 希釈培地まで毒性が認められ、細胞増殖も阻害されていた。また、原培地、1/8 希釈培地、1/64 希釈培地を用いて培養した hDPSC の形態を観察したところ、A,B,C 群ではいずれの培地でも NC 群と同様の伸展した細胞が多数認められたが、D 群では原培地で丸く萎縮した細胞が観察され、1/8 希釈培地で伸展した細胞が少数ながら認められ、1/64 希釈培地で NC 群とほぼ同等の細胞群が観察された。また、セメント塊の形状は A,B 群では培養液中で安定した形状を保っていたのに対し、C 群は崩壊しやすい傾向であった。さらに、X 線回折による解析の結果、A,B 群ではヒドロキシアパタイト(HA)への移行が認められ、SEM 観察でも結晶構造が観察されたが、C 群では HA への移行はほとんど認められなかった。

【結論および考察】 A,B,C 群を覆髄材として応用した動物実験結果より、3 種のセメントが D 群と同様、早期に被蓋硬組織を形成することを本学会に報告してきたが、今回の細胞培養系を用いた実験から、3 種とも細胞毒性は認められずポリプロピレン製細胞培養容器と同等の細胞増殖が認められ、 α -TCP/Te-CP が生体親和性に優れた材料あることが示された。さらに 3 種のセメントのアパタイトへの移行について調べたところ A,B 群でアパタイト結晶への移行が確認されたことから練和液としてはリン酸二水素 Na 溶液が適していることが示唆された。

演題 P68 (歯内)
【3102】

根管充填シーラーのエックス線造影性に関する検討

大阪大学 歯学部附属病院 口腔総合診療部¹

昭和薬品化工株式会社 開発研究部²

○西藤 三紀子¹、水野 亜美¹、長島 正¹、三浦 治郎¹、竹重 文雄¹、渡辺 香里²、野村 文子²、小野 一弘²

Examination about the X ray imaging nature of sheeler for root canal filling

Division for interdisciplinary Dentistry Osaka University Dental Hospital, Osaka, Japan¹, Showa Yakuhin Kako co.,LTD, Tokyo, Japan²

○NISHIFUJI MIKIKO¹, MIZUNO AMI¹, NAGASHIMA TADASHI¹, MIURA JIRO¹, TAKESHIGE FUMIO¹, WATANABE KAORI², NOMURA AYAKO², ONO KAZUHIRO²

【研究目的】 根管充填に用いられるシーラーには、封鎖性、接着性、生体への親和性に加え、エックス線造影性を有している必要があり、JIS 規格では必要な仕様としてアルミ 3mm 以上の造影性を有するものと規定されている。近年、歯科用 CBCT の普及により診断のためにエックス線断層撮影を行う機会が増加しているが、その際に根管充填シーラーのエックス線造影性が障害となり、画像の乱れを生じることが少なくない。そこで本研究では、断層撮影においても画像の乱れを生じることがなく、骨及び歯とも識別が可能となる造影性を有する根管充填材料の開発をめざし、まず根管充填シーラーのエックス線造影性について検討を加えた。

【材料及び方法】 根管充填シーラー「キャナルス®」(昭和薬品化工株式会社)をベースとして、エックス線造影性に影響を及ぼすと考えられる散剤の組成を変化させ、10 種類の試作品を用意した。次に、試作した散剤を液剤と練和し、得られた練和物を根管モデル (0.2ml エッペンチューブ) に充填した。得られた試料を水中に埋没し、長軸に垂直な方向からデジタル CT (GE 社製全身用 CT スキャナ LightSpeed (以下、MDCT とする)、朝日レントゲン工業 (株) 製歯科用 CBCT スキャナ「Alphard VEGA3000」(以下、CBCT1 とする)、朝日レントゲン工業 (株) 製歯科用 CBCT スキャナ「AUGE」(以下、CBCT2) とする) により各試料 6 回ずつスキャンし、MDCT では CT 値を、CBCT ではピクセル濃度を用いて、その造影性を評価した。

【結果及び考察】 MDCT にてスキャンした結果、キャナルス®の粉剤に含まれる成分 (ビスマス塩及びバリウム塩) の組成を変化させることで資料の CT 値が変化している様子が観察できた。すなわち、ビスマス塩もしくはバリウム塩の含有量を増加させることによってエックス線造影性は増大した。同じ混入割合の場合、ビスマス塩よりもバリウム塩の CT 値が高くなった。ビスマス塩の原子番号は 83 でバリウム塩の 56 よりも大きい。CT 値は原子番号と密度によって規定されることから、バリウム塩の密度の高さが影響しているものと考えられる。一方、CBCT にてスキャンした結果、CBCT1、CBCT2 いずれにおいても各試料のピクセル値は最大値 (3071) を示し差は観察できなかった。この結果は、今回用いた試料の原子番号や密度が高く、CBCT のダイナミックレンジを越えているためと考えられた。通常のエックス線写真では、被写体の「原子番号」と「密度」の他に、「厚さ」の因子が関与することから、金属でも「細い」或いは「薄い」場合にはその厚さに応じて「白黒」が判別できる。しかし、CT では MDCT 及び CBCT のいずれにおいても厚さの因子は影響を及ぼさず、そのダイナミックレンジの広さによって白黒が表現されるので、ダイナミックレンジの狭い CBCT では今回用いた各試料の原子番号と密度の差異を白黒として表現することは困難であることが示された。従って、断層撮影においても画像の乱れが生じない根管充填シーラーを開発するためには、その組成について根本的な検討が必要であると思われる。

【会員外共同研究者】村上秀明、岡畑諒子、古川惣平 (大阪大学大学院歯学研究科口腔分化発育情報学講座 (歯科放射線学))

演題 P69 (歯内)
【2503】

新開発の透明樹脂製湾曲根管模型を用いた SS 製手用ファイルと Ni-Ti シングルファイルの同日実習における拡大形成評価

日本歯科大学 新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座¹

日本歯科大学 新潟病院 総合診療科²

日本歯科大学大学院 新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学³

○新井 恭子¹、北島 佳代子¹、横須賀 孝史²、佐藤 友則²、松田 浩一郎²、北野 芳枝¹、朝比奈 壮郎¹、反町 香子¹、三好 敏朗¹、飯野 華絵³、五十嵐 勝¹

Evaluations of endodontic practice of root canal shaping on new models with curved canal using stainless steel hand files and Ni-Ti rotary files on a same day

Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata, Niigata, Japan¹, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital, Niigata, Japan², Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata, Niigata, Japan³

○ARAI Kyoko¹, KITAJIMA Kayoko¹, YOKOSUKA Takashi², SATO Tomonori², MATSUDA Koichiro², KITANO Yoshie¹, ASAHINA Takeo¹, SORIMACHI Kyoko¹, MIYOSHI Toshiro¹, IINO Hanae³, IGARASHI Masaru¹

【緒言】 本学では、平成 20 年から歯内療法学基礎実習でニッケルチタン製ロータリーファイル (Ni-Ti) を用いた実習を実施している。平成 25 年度は、まず、ステンレススチール製手用 K ファイル (SSK) を用い、歯種を変えた一連の根管拡大形成実習を終了した。実習最終日に、新しく開発した湾曲根管模型を用いて SSK と Ni-Ti の同日実習を行い、拡大形成後の各々の拡大結果について評価した。

【材料および方法】 対象は本学第 4 学年の学生 60 名で、拡大形成には、歯冠付きの透明樹脂製 20 度 J 字型湾曲根管模型 (13-20-35、ホクシンエレクトロニクス) を使用した。この模型は作業長 21.0mm、根尖孔直径 0.15mm で、根管の内壁が厚さ 0.1mm の着色樹脂で作製されている。学生は、はじめに SSK による拡大形成を 15 分間で行った。#10 SSK (25mm、GC) で根管穿通後に作業長を確認し、プレカーブを付与した SSK でファイリング主体の拡大形成を #25 まで行うようにした。終了後に自己評価を行い、偶発事故の有無を確認した。次に、Ni-Ti の WaveOne® Primary (25mm、先端直径 #025/テーパー .08、DENTSPLY) を用い、専用コントロールエンジン (X-SMART™ PULS、DENTSPLY) に装着し、#15 SSK でグライドパス (誘導路) を形成した後に、反復回転運動 (レシプロケーティングモーション) によるシングルファイル法で同規格の模型を拡大した。Ni-Ti は 2~3 mm 振幅の弱圧による挿入を行い、総拡大時間と総挿入回数を記録した。終了後に自己評価を行い、偶発事故の有無を確認した。全ての実習終了後に模型を回収し、SSK と Ni-Ti の拡大後の模型を写真撮影し、拡大画像で根管形態と偶発事故の有無を評価し、2 群間を比較した。

【結果】 SSK では、時間内の拡大終了学生は 18 名 (30.0%) で、自己評価では good 2 名 (3.3%)、fair 23 名 (38.3%)、poor 33 名 (55.0%) であった。学生による偶発事故の評価は、刃部の伸び 5 名 (8.3%)、器具の破折 4 名 (6.6%)、ステップ形成 6 名 (10.0%)、穿孔 6 名 (10.0%)、削片の詰め込み 3 名 (5.0%) であった。回収模型の評価では、湾曲が現れる位置から根尖孔部にかけて、ステップ形成 15 例、穿孔 14 例、ジップ形成 7 例、削片の詰め込み 14 例がみられた。一方、Ni-Ti の総拡大時間の平均は 54.3 秒 (最長 97 秒、最短 17 秒)、総挿入回数の平均は 14.7 回 (最大 40 回、最小 4 回) であった。自己評価では good 26 名 (43.3%)、fair 26 名 (43.3%)、poor 1 名 (1.7%) であった。学生による偶発事故の評価は、刃部の伸び 1 名 (1.7%)、器具の破折 0 名 (0.0%)、ステップ形成 0 名 (0.0%)、穿孔 1 名 (1.7%)、削片の詰め込み 1 名 (1.6%) であった。回収模型の評価では、ステップ形成 1 例、穿孔 4 例、ジップ形成 1 例、削片の詰め込み 4 例であった。拡大良好例の模型の着色部の切削状態から、SSK では根管の直線化がみられたのに対し、Ni-Ti では湾曲を残しながら全周が均等に拡大されていた。

【考察】 SSK に比べ Ni-Ti では短時間で適切な拡大形成ができることが示された。アンケート結果からも、多くの学生が SSK と Ni-Ti の違いを理解したと考えられる。また、偶発事故では、学生自身の評価と回収模型の評価に違いがみられたことから、学生は指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、実習後のフィードバックの大切さと、実習期間全体を通しての指頭感覚に対する指導の必要性が示された。今回新しく開発した透明樹脂製湾曲根管模型は、根管全周 0.1mm を着色したことにより、拡大前後の重ね合わせ画像の製作が不要で拡大後の形態変化が簡便にわかり、実習直後に学生自身が拡大形成の形態を確認しやすく、学習効果が上がると考えられる。

【結論】 Ni-Ti による湾曲根管の拡大実習では、Ni-Ti 使用前に SSK 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。また、根管を着色した新開発の根管模型は、拡大後の形態変化がわかりやすく、実習に有用であることが示唆された。

演題 P70 (歯内)
【2503】

ラット象牙芽細胞様細胞 (KN3)における細菌関連病原因子刺激に対する自然免疫反応の解析

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 発達予防医歯学部門 健康長寿歯科学講座 歯科保存学分野¹

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 発達予防医歯学部門 健康長寿歯科学講座 総合診療歯科学分野²

○平尾 功治¹、湯本 浩通¹、中西 正¹、篠原 千尋²、高橋 可奈子¹、武川 大輔¹、細川 由樹¹、松尾 敬志¹

The analyses of innate immune response in cultured rat odontoblastic cells to PAMPs

Conservative Dentistry, Oral Health Science, Human Development and Health Science, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School¹, Comprehensive Dentistry, Oral Health Science, Human Development and Health Science, Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School²

○HIRAO KOUJI¹, YUMOTO HIROMICHI¹, NAKANISHI TADASHI¹, SHINOHARA CHIHIRO², TAKAHASHI KANAKO¹, TAKEGAWA DAISUKE¹, HOSOKAWA YUKI¹, MATSUO TAKASHI¹

【目的】歯髄炎は齲蝕に继发する口腔細菌感染症であり、その発症には自然免疫の関与が示唆されている。歯髄炎は早期に歯髄組織に不可逆性の変化を引き起こし、その結果、歯髄除去を行う必要がある。しかし、失活歯の予後は悪いことが知られており、歯髄保護の観点から歯髄炎の発生機序の解明と、新規治療法の開発が待たれている。歯髄炎の発症においては、歯髄最外層に存在する象牙芽細胞が病原細菌やその因子を最初に認識し、免疫応答を開始させる事が示唆される。我々はこれまでに本学会（第124回日本歯科保存学会春季学術大会）において、ヒト培養歯髄線維芽細胞にTLR2, NOD1, NOD2が発現、機能していることを明らかにしている。今回の研究において我々は、象牙芽細胞に着目し、歯髄炎の発症メカニズムを解明することを目的として、ラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3)の自然免疫応答について解析したので報告する。

【方法】ラット象牙芽細胞 (KN-3: 九州歯科大学、北村知昭教授・西原達次教授より恵与)を24-well plateに播種し、サブコンフルエントまで培養後、自然免疫系レセプター (TLR2, TLR4, NOD1, NOD2) の発現をFACSにて解析した。次に、それらレセプターのリガンドであるPam3CSK4, LPS, iE-DAP, MDPにて一定時間刺激し、total RNAならびに培養上清を回収し、total RNAはreal-time PCR法を、培養上清は抗体アレイ法やELISA法を用いて、炎症性サイトカインの発現や産生量を解析した。

【成績】FACSの結果、ラット象牙芽細胞はTLR2とTLR4の発現は極めて少なく、またNOD2と比較してNOD1の発現が多く認められた。real-time PCRの結果、NOD1リガンドであるiE-DAP刺激において、CCL20, CXCL3, MCP-1 mRNA発現の増加が認められ、Pam3CSK4, LPS, MDP刺激ではこれらサイトカインのmRNA発現の増加は認めなかった。さらに抗体アレイとELISAにおいても、iE-DAP刺激において培養上清中の上記サイトカイン濃度の増加が認められ、その他の刺激においては、サイトカイン発現の増加は認めなかった。

【結論】これらの結果より、ラット象牙芽細胞にはNOD1が優位に発現し機能していることが明らかとなり、感染防御において歯髄最表層に存在する象牙芽細胞は、歯髄内の線維芽細胞とは異なった役割を担うことが示唆された。

Er:YAG レーザーを利用した根管側枝の洗浄：離れた位置からの照射における洗浄効果

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歯髓生物学分野¹

東京医科歯科大学(TMDU)歯学部附属病院 歯科総合診療部²

○八尾 香奈子¹、市川 勝¹、佐竹 和久¹、渡辺 聡¹、安生 智郎¹、海老原 新¹、小林 千尋²、須田 英明¹

Er:YAG Laser-activated Irrigation for Lateral Canals: Induced Cleaning Effect of Lasing Apart From the Lateral Canals

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

○YAO KANAKO¹, ICHIKAWA MASARU¹, SATAKE KAZUHISA¹, WATANABE SATOSHI¹, ANJO TOMOO¹, EBIHARA ARATA¹, KOBAYASHI CHIHIRO², SUDA HIDEAKI¹

【目的】根管洗浄は歯内療法重要なステップの一つである。通常はシリンジを使用する根管洗浄(conventional irrigation, 以下「CI」)や超音波洗浄 (passive ultrasonic irrigation, 以下「PUI」) が用いられている。他方, Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄(laser-activated irrigation, 以下「LAI」)については, その有効性や洗浄液溢出の危険性を示唆する報告があるものの, LAI で生じる側枝への清掃効果を評価した報告はほとんどない。我々の過去の研究において, LAI で生じる根尖孔外への圧力および洗浄液の溢出量は出力およびチップ設定位置に有意差を認め, 根尖孔外への溢出は CI 群よりも小さいことを報告した。本研究では, 低出力による根管模型の側枝から離れた位置における LAI による側枝の洗浄効果を検討することを目的とした。

【材料および方法】 模型底部から 6 mm 側枝 1), 12 mm 側枝 2) の位置に 2 つの側枝を有する J タイプ規格根管模型 (THERMAFIL TRAINING BLOC, Dentsply Maillefer) を模擬根管 (n=30) として用いた。この側枝部に水酸化カルシウム材 (カルシペックス, 日本歯科薬品) を 1.0%メチレンブルーで染色したものを満たし, 以下の 3 種類の洗浄を行った。1) LAI 群: Er:YAG レーザー装置(Erwin AdvErL, モリタ製作所)および付属チップ(R200T, 同)を使用し, 模型底部から 12 mm 手前にチップ先端を設置し, 模擬根管内に満たした蒸留水に対して 30 mJ 10 pps の出力条件で, 各 20 秒×3 回, 計 60 秒間作用させた。なお, 20 秒ごとに 27G 洗浄針およびシリンジ(ニプロブランド針, ニプロシリンジ, ニプロ)を用いて蒸留水で洗浄した。2) PUI 群: 超音波装置 (Piezon Master 400, EMS, 最小設定値)を用い, 超音波チップ (#15 U-file, 松風)の先端を根管模型の底部から 12 mm 手前にチップ先端を設置し, 各 20 秒×3 回, 計 60 秒間作用させ, 20 秒ごとに 27G 洗浄針およびシリンジを用いて蒸留水で洗浄した。3) CI 群: 27G 洗浄針およびシリンジを用い洗浄を行った。27G 洗浄針の先端を根管模型の底部から 12 mm 手前にチップ先端を設置し, 各 20 秒×3 回, 計 60 秒間作用させ, 20 秒ごとに 27G 洗浄針およびシリンジを用いて蒸留水で洗浄した。実験結果は手術用顕微鏡 (OPMI pico with MORA interface, CarlZeiss) および医用動画記録システム (DATA Gen PRO for DENTAL, セブンスディメンジョンデザイン) にて記録し, 画像分析ソフト(Photoshop CS5, Adobe)にて側枝 1 および 2 における実験前後の水酸化カルシウム材の面積を計測し, 側枝の水酸化カルシウム材の除去率を評価した。統計学的解析には一元配置分散分析および Tukey-Kramer 検定を用い, 有意水準を 5%とした。

【結果】根管模型側枝 1 において, LAI 群の水酸化カルシウム材の除去率は, 他の群に比べ有意に高かった ($p < 0.05$)。しかし, 根管模型側枝 2 においては, LAI 群と PUI 群の間に統計学的有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。また CI 群の水酸化カルシウム材の除去率は他の群に比べ有意に低かった ($p < 0.05$)。

【考察および結論】LAI は PUI と同様に根管内にキャビテーション, 高速の水流, 衝撃波を発生させるとされており, 側枝洗浄効果はチップ設定位置周囲において同等に認められたが, LAI はチップ先端から離れた側枝において PUI および CI よりも優れた洗浄効果を認めた。LAI は, 洗浄液溢出の可能性が低いと考えられる低出力による側枝から離れた位置における照射においても, 側枝に対する洗浄効果が根管模型で示された。

演題 P72 (歯内)
[2503]

MTI-II は骨芽細胞様細胞に対し抗炎症作用を示す

九州歯科大学 口腔保存治療学分野¹

聖マリアンナ医科大学 大学院 疾患プロテアソーム・分子病態治療学²

○平田一土屋 志津¹、岡本 一起²、北村 知昭¹

MTI-II suppresses inflammation on osteoblastic cells

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University, Fukuoka, Japan¹, Clinical Proteomics and Molecular Medicine, St.Marianna University Graduate School of Medicine, Kanagawa, Japan²

○HIRATA-TSUCHIYA SHIZU¹, OKAMOTO KAZUKI², KITAMURA CHIAKI¹

【目的】近年、発癌や動脈硬化症の発症に慢性炎症が関与することが注目されており、これらの疾患の治療に炎症制御を目的とした様々なアプローチが行われている。歯内治療においても十分にコントロールされていない慢性炎症が根尖部に持続していることが難治性の根尖性歯周炎の原因の一つになっていることが考えられる。根尖歯周組織に生じた骨欠損の再生を確実にするためには、感染制御と再生療法技術に加え、慢性炎症制御が重要と言える。今回、直接的に炎症の主たるシグナル伝達経路である NF- κ B シグナルを抑制するステロイド受容体コアクチベーターの Macromolecular Translocation Inhibitor II (MTI-II)に着目し、骨芽細胞様細胞における炎症応答抑制効果について検討した。

【材料と方法】骨芽細胞様細胞であるヒト骨肉腫細胞 MG-63 に MTI-II 発現プラスミドを遺伝子導入後、位相差顕微鏡下で細胞形態を観察するとともに WST アッセイにより細胞増殖能を測定し遺伝子導入による影響を検討した。次に、MTI-II 発現プラスミドおよび NF- κ B ルシフェラーゼ発現プラスミドを同時に遺伝子導入し、炎症性サイトカイン TNF α (10 ng/ml)で 12 時間刺激後にルシフェラーゼ活性を測定し、NF- κ B の転写活性を分析した。さらに、MTI-II 発現プラスミド導入細胞を TNF α で刺激後、全 RNA を調整し、逆転写酵素を用いて cDNA を合成し、NF- κ B 標的遺伝子として Matrix metalloproteinase-2,9 (MMP-2,9) と Interleukin-6,8 (IL-6,8) のプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い、発現を分析した。

【結果】MG-63 細胞に MTI-II 発現プラスミドを遺伝子導入し、位相差顕微鏡で観察したところ、コントロールの細胞と比べて、形態的特徴や細胞増殖能に有意差は認められなかった。一方、MG-63 細胞を TNF α で刺激すると、NF- κ B の転写活性が著しく上昇した。しかし、MTI-II を過剰発現させると MTI-II 濃度依存的に NF- κ B の転写活性の上昇が解除・抑制された。また、細胞を TNF α で刺激しても、MMP-2 の発現に変化はあまり認められず、MTI-II を過剰発現させた細胞でも MMP-2 の発現変化は認められなかった。一方 MMP-9 は、TNF α の刺激によって発現増加が認められたが、MTI-II を過剰発現させた細胞では、MMP-9 の発現増加が解除・抑制された。同様に、IL-6,8 は、TNF α の刺激によって発現増加が認められたが、MTI-II を過剰発現させた細胞では、IL-6,8 の発現増加が解除・抑制された。

【考察】今回の結果は、MTI-II が骨芽細胞様細胞の形態や増殖能に影響を及ぼすことなく、TNF α 刺激による NF- κ B の転写活性を抑制することで、炎症を抑制することを示している。このことから、MTI-II がステロイド剤などと同様に抗炎症剤として有効であることが示唆された。

【結論】MTI-II は、NF- κ B シグナルを阻害することで骨芽細胞様細胞が示す TNF α 刺激による炎症を抑制する。
特許番号：4874798 (日本、査定済)、US 7932226 (米国、査定済)

演題 P73 (歯内)
【2503】

試作非接触型電磁式加振装置に関する基礎的研究

・ 埋入深さの変化がレーザー変位計によって測定した力学的パラメーターに及ぼす影響・

日本大学 歯学部 歯科保存学第二講座¹

日本大学 歯学部 物理学教室²

○小林 寛¹、林 誠¹、山岡 大²、小森 規雄¹、清水 康平¹、小林 弘樹¹、小木曾 文内¹

Fundamental study of electromagnetic vibration device

・ Effect of submerged depth on analysis of mechanical parameter by laser displacement sensor・

Departments of Endodontics, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Departments of Physics, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan²

○KOBAYASHI HIROSHI¹, HAYASHI MAKOTO¹, YAMAOKA MASARU², KOMORI NORIO¹, SHIMIZU KOHEI¹, KOBAYASHI HIROKI¹, OGISO BUNNAI¹

【研究目的】

歯周組織の状態を把握することは辺縁性歯周炎のみならず根尖性歯周炎や歯根破折などの診断に必要不可欠である。これまで、歯の動揺を含めた歯周組織の客観的評価方法を確立するため、電磁力を応用した非接触型電磁式加振装置を試作し、実験用植立模型および加速度ピックアップを用いて各種力学的パラメーターによる歯周組織応答について検討を行ってきた。しかしながら、この方法では振動検出器として加速度ピックアップを測定対象物に接着させる操作を必要とするため操作性および検出精度が不安定となる問題があった。そこで、臨床的操作性と精度の向上を目的に、振動検出器としてレーザー変位計を用いた測定方法の開発について第139回本学会にて報告した。今回、演者らは模擬歯の模擬歯槽骨への埋入深さがレーザー変位計にて測定した力学的パラメーターに及ぼす影響について従来から使用してきた加速度ピックアップ方式と比較検討した。

【材料および方法】

実験に供した植立模型は模擬歯、模擬歯根膜および模擬歯槽骨により構成されている。模擬歯としてポリアセタール棒(直径6.0 mm, 長さ25.0 mm)、模擬歯根膜として粘膜調整材であるティッシュコンディショナー2®(松風)、模擬歯槽骨としてニッシン社製の発泡ウレタン模型を用いた。植立模型の作製は、ティッシュコンディショナー2®を粉4.8 gに対して液5.0 mlの粉液比で混和し、底面および側面厚さを0.5 mmとし、模擬歯の歯槽窩内への埋入深さを5.0 mm, 10.0 mmおよび15.0 mmとした。植立模型は室温23±1℃, 湿度50±5%に設定した恒温恒湿室内で作製し、模型作製1時間後、試作非接触型電磁式加振装置にて強制振動を加えた。

振動検出法としては、レーザー変位計(キーエンス)を用いて植立模型の周波数応答特性を測定した。すなわち、振動が加えられた模擬歯に波長655 nmのレーザー光を照射し、その反射光をレーザー変位計にて読み取りFFTアナライザーにて模擬歯の振動状態を解析して力学的パラメーター(共振周波数、弾性係数および粘性係数)を算出した。また、振動検出器に加速度ピックアップを使用した測定値をコントロールとした。実験に供した植立模型数は各条件で5個とし、レーザー変位計と加速度ピックアップの比較はMann-Whitney *U* testを用い、埋入深さの違いはKruskal-Wallis testおよびSteel-Dwass testにてそれぞれ有意水準5%にて統計学的解析を行った。

【成績および考察】

共振周波数、弾性係数および粘性係数は埋入深さが大きくなるに伴って有意に増加した。また、レーザー変位計を使用して算出された全ての力学的パラメーターは、加速度ピックアップを使用した場合と統計学的有意差は認められなかった。これらの結果から、加速度ピックアップに代わる振動検出器としてレーザー変位計を応用することで操作性および精度が向上し、より安定した周波数応答特性を捉えられるものと考えられた。

【結論】

以上のことから、試作非接触型電磁式加振装置における加速度ピックアップ方式に換わる振動検出法として、レーザー変位計を応用した計測法が適用できることが示唆された。

演題 P74 (歯内)
【2503】

Ni-Ti ロータリーファイルで拡大された湾曲根管の断面形状

日本歯科大学 生命歯学部 歯科保存学講座

○永島 万理子、勝海 一郎

Morphological Situation of Cross-sectional Surface in the Root Canal Model after Preparation with Ni-Ti Rotary Files

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

○NAGASHIMA MARIKO, KATSUUMI ICHIROH

【はじめに】ニッケルチタンファイル、WaveOne (VDW) と RECIPROC (Dentsply Maillefer) は、1本のファイルが時計回り・反時計回りの往復回転運動を繰り返すことで、迅速かつ正確な根管形成が可能であるとされている。本研究は、WaveOne と RECIPROC で拡大形成された湾曲根管模型の断面形態を観察することにより、それぞれの切削特性を比較・検討した。

【材料および方法】実験には、歯質と切削感が類似した透明樹脂製の規格化湾曲根管模型（根管長 19.5mm、ニッシン）を用意した。模型は、各 3 本ずつ以下の 3 グループ、1. control として拡大形成していないもの、2. 10 番 K ファイル（マニー）で glide path 形成後 WaveOne primary で拡大形成したもの、3. 10 番 K ファイル（マニー）で glide path 形成後 RECIPROC R25 で拡大形成したもの、に分け使用した。なお、拡大形成は根管長通りに操作を行った。各模型は、自動精密切断機 (Isomet、日本電子) で図 1 のように根尖から 1.5mm、3mm、6mm、9mm の位置で切断した。切断された模型断面像をスキャナー (GT-X970、EPSON) でスキャンし、得られた像を画像処理ソフト (ImageJ、NIH) を使ってそれぞれの根管幅径と断面積を計測した。得られた根管幅径と断面積について、Tukey の多重比較検定を用い、統計学的解析を行った。

【結果とまとめ】結果を図 2～4 に示す。唇舌・近遠心方向とも、全体的に WaveOne primary が RECIPROC R25 よりも切削量は多くなっていた。今後、さらに詳細な解析を進めていく予定である。

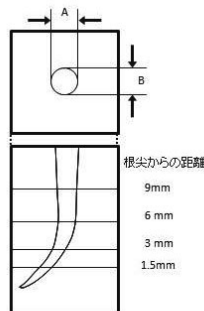


図1

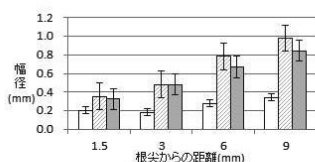


図2 各位置での幅径A

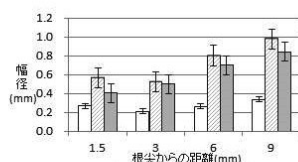


図3 各位置での幅径B

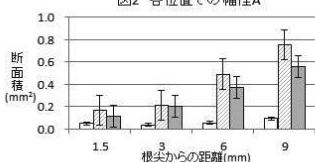


図4 各位置での断面積

Sr 含有生体活性ガラスの骨形成能の病理組織学的検索

福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野

○板家 圭祐、泉 利雄、水上 正彦、松本 典祥、畠山 純子、中山 英明、阿南 壽

Histopathological study on osteogenetic ability of bioactive glass containing Strontium

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

○ITAYA KEISUKE, IZUMI TOSHIO, MINAKAMI MASAHIKO, MATSUMOTO NORIYOSHI, HATAKEYAMA JUNKO, NAKAYAMA HIDEAKI, ANAN HISASHI

【目的】 生体活性ガラス bioactive glass (以下 BAG) は、骨内に埋入すると骨と接着する、いわゆる骨伝導能があることが知られている。in vivo の実験では、骨髄幹細胞の豊富な海綿骨が多く観察される骨組織での良好な骨形成促進能を示す一方、骨髄腔の乏しいラットの頭頂骨骨では BAG による骨形成促進能は示されていない。Strontium (以下 Sr) は骨粗鬆症の経口治療薬として用いられ、Sr イオンが前骨芽細胞の骨芽細胞への分化を促進、活性化する一方で、破骨細胞の分化とその働きを抑制し、骨形成促進作用を示すことが報告されている。そこで我々は、BAG に Sr を添加することで BAG の骨形成能を促進できるのではと考え、Sr を含有する新たな BAG を試作し、第 137 回歯科保存学会で試作 Sr 含有 BAG の良好な生体親和性について報告した。今回、ラット頭頂骨モデルを用いて試作 Sr 含有 BAG の骨形成能を検討した。

【方法】 1. 試料作製 SiO₂ 53wt%、CaO 20 wt%、Na₂O 23wt%、P₂O₅ 4 wt%の組成のガラス (Sr0) 及び Sr0 中の CaO の 20wt%を SrO で置換した組成のガラス (Sr20) を各々熔融法によって合成した後、ガラスを粉砕してふるいに通し粒径 250~300 μ m の粉末を得た。これら試料には、乾熱滅菌 (200℃、20 分) を行った。2. ラットを用いた試作 BAG 粒子の骨形成能の検討 12 週齢、体重 330 g の SD 系ラット 45 匹を用いた。イソフルラン (フォーレン吸入麻酔液、アボットジャパン) による吸入麻酔後、ラット頭頂部を剃毛し切開線を入れ、皮膚を反転し骨膜弁を剥離反転した。外径 8mm のトレフィンバー (GC) をマイクロモーターに装着し注水下に円形の骨欠損を作製した。Sr0 および Sr20 の粒子を欠損部に 80mg 埋入し、骨膜と皮膚をそれぞれ縫合した。何も埋入しないものを対照群とした。処置の 1 カ月、3 カ月および 6 カ月後に屠殺し、4% paraformaldehyde 水溶液で灌流固定を行った。頭部を取り出し、10%EDTA で 4 週間脱灰後、通法に従いパラフィン包埋を行い厚さ 10 μ m の切片を作製し HE 染色を施した。光学顕微鏡 (BX50、Olympus 社) に装着したデジタルカメラ (FX380、Olympus 社) およびデジタルカメラ付属のソフト (FLVFS-LS、Olympus 社) を用い 4 倍の視野で骨欠損部中の新生骨量の断面積量と、BAG 粒子の断面積を計測した。骨欠損部あたりの新生骨量の比率 (%) および骨欠損部あたりの BAG 粒子の断面積の比率 (%) を求め、各データに対し、one way analysis of variance (ANOVA) を行い、引き続き多重検定 Tukey's test を行った。

【結果と考察】1) 対照群 術後 1 カ月では、欠損部は疎な結合組織で満たされており軽度の炎症性細胞浸潤を認めた。3 カ月後および 6 カ月後結合組織の線維成分が増加したが、欠損辺縁部から離れた箇所での新生骨形成を認めなかった。2) Sr0 群 術後 1 カ月では、BAG 粒子周囲を立方形の細胞が取り囲み、一部に多核巨細胞を認めた。粒子間には軽度の炎症性細胞浸潤を伴う疎な結合組織が認められた。欠損辺縁に僅かに反応性の骨形成を認めるが、BAG 粒子周囲には硬組織の形成を認めなかった。術後 3 カ月では、BAG 粒子周囲の細胞数が減少し、BAG 粒子が溶解した結果生じたと考えられるヒビと、その中のエオジン好性の不定形物質の貯留が認められた。術後 6 カ月では、BAG 粒子は密な線維性結合組織で囲まれていた。3) Sr20 群 術後 1 カ月では、Sr0 粒子と同じく周囲を立方形の細胞が取り囲み、一部に多核巨細胞を認めた。Sr20 粒子内には、エオジン好性の不定形物質の貯留が認められた。BAG 粒子周囲には硬組織の形成を認めなかった。術後 3 カ月では、BAG 粒子周囲の細胞数が減少し、BAG 粒子は溶解し、分割され小さくなった。欠損辺縁の反応性骨形成が増加した。術後 6 カ月では、残存粒子はさらに径が小さくなり、一部は消失していた。対照群と Sr0 群の 6 カ月例と比較して、Sr20 群は有意に新生骨量が多かった ($P < 0.05$)。BAG 粒子の断面積は、粒子の溶解性を反映し Sr0 群の 6 カ月例と比べて有意に減少していた ($P < 0.05$)。Sr20 群では、Sr の添加により BAG の溶解度は増し、崩壊した BAG 粒子から放出された Sr イオンが骨膜および硬膜に残存していた未分化間葉細胞に作用し骨芽細胞へと分化させ骨形成を促進した可能性が推察された。

【結論】 BAG に Sr を含有させることで、BAG の骨形成能を向上させる可能性があることが示唆された。

PROTAPER NEXT®と WaveOne®における根管拡大時の荷重と作業時間および根管形態変化に関する研究

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¹

日本歯科大学新潟病院 総合診療科²

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座³

○飯野 華絵¹、松田 浩一郎²、新井 恭子³、北島 佳代子³、五十嵐 勝³

A study of preparation forces, times, and changes of root canal shapes after using PROTAPER NEXT® and WaveOne®

Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata, Niigata, Japan¹, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital, Niigata, Japan², Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata, Niigata, Japan³

○IINO Hanae¹, MATSUDA Koichiro², ARAI Kyoko³, KITAJIMA Kayoko³, IGARASHI Masaru³

【緒言】NiTi ファイルは柔軟性に優れ根管の追従性が高いことから、湾曲根管の拡大形成に臨床応用されている。PROTAPER NEXT® (DENTSPLY、Switzerland、以下 PTN) は、M ワイヤ製のファイルを正回転で使用し、柔軟性が高く、中心から外れた偏心長方形断面を有することで回転時は蛇行運動を呈し、効果的に切削片を排出できる。一方 WaveOne® (DENTSPLY、以下 WO) は、独自の反復回転運動 (reciprocating motion) を行う専用モーターを用い、シングルファイル法で使用される。拡大方法の異なる2種類のファイルを用いて湾曲根管模型を拡大し、拡大時の荷重、作業時間、根管形態変化について検討したので報告する。

【方法】PTN は21mm のX1 (先端直径/テーパー: #017/.04)、X2 (#025/.06) を、WO は21mm の Primary (#025/.08) を使用し、X-SMART™ PLUS (DENTSPLY) に装着して拡大を行った。用いた模型は30度のJ字型湾曲根管を有する透明樹脂製根管模型 (ENDO-TRAINING-BLOC A0177、DENTSPLY) で、使用前にステンレススチール製手用Kファイル (21 mm、Zipperer) の#10で作業長の確認を行い、#15でグライドパスを形成した。PTNはブラッシングモーションによりX1で作業長まで拡大を行い、蒸留水で根管洗浄後に再度手用ファイルで根尖の穿通を確認し、X2で作業長まで拡大した。根管洗浄時間を除いた各ファイルでの作業時間を合計し、総拡大形成時間とした。WOの拡大は1回の挿入振幅が2~3mmのペッキングモーションを3~4回行い、根管内を洗浄した。拡大時にトルクの限界値となり警告音が鳴るか、術者が強い抵抗を感じた場合には引き抜き、同様に洗浄した。これを作業長に達するまで繰り返し行った。術者3名が、各ファイルに対して3ブロックずつ拡大し、使用するファイルと術者の順番はランダムとした。作業中は模型を荷重簡易試験スタンド (FGS-50X-L、日本電産シンボ(株)) に取り付け、最大測定荷重が±5000gのデジタルフォースゲージ (FGP-5、日本電産シンボ(株)) を用いて100ms間隔で経時的に垂直荷重測定を行い、切削圧ソフト (トリエもん USB Ver.2.00、日本海計測特機(株)) で記録した。実験終了後、総拡大形成時間、押し込み時と引き抜き時のピーク時の荷重の平均値を求めた。また拡大前後にメチレンブルー水溶液を根管内に注入しデジタル画像撮影を行い、画像処理ソフト (Adobe® Photoshop® Elements® 7.0、Adobe) にて重ね合わせ画像を作成し、WinROOF (三谷商事(株)) を用いて拡大された外湾と内湾の面積を測定した。各結果はStudent's t-testを用いて統計処理を行った。

【結果と考察】総拡大形成時間の平均値は、PTNで32.4秒、WOで35.9秒であり、2種類のファイル間の有意差はなかった。押し込み荷重の平均値は、PTNのX1で213gf、X2で200gf、WOで401gfであり、X1とWO、X2とWOの間に有意差を認めた。引き抜き荷重の平均値は、X1で308gf、X2で269gf、WOで281gfであり、X1とX2の間に有意差を認めた。PTNで押し込み荷重より引き抜き荷重が大きくなったのは、ブラッシングモーションによる拡大のためと考えられる。また引き抜き荷重がX1よりX2で小さくなったのは、X1使用時にブラッシングモーションによって根管口部から中央部付近までフレア状に拡大され、X2の使用時にはファイルに負荷がかかりにくくなっているためと考えられる。WOで引き抜き時より押し込み時に荷重がかかったのは、テーパーが大きいため挿入時に力が必要となるが、引き抜き時にはテーパー付与により抵抗が少ないためと考えられる。また反復回転運動により、根管への食い込みが断続的に解放されることも要因の一つと考えられる。拡大領域の面積は、外湾部の平均値はPTNで2.04mm²、WOで2.98mm²となり、有意差を認め、内湾部の平均値はPTNで1.95mm²、WOで2.44mm²となり、有意差はみられなかった。WOの形成量が多くなったのは、テーパーが大きなファイルを何度も出し入れするためであると考えられる。拡大形成中はPTN、WOともにファイルの破折やステップ形成などの偶発事故はなかったが、使用後のファイルの変形はWOで2本認められた。1本は他のWOと比較して荷重が約100gf大きくなった。

【結論】湾曲根管模型をPTNとWOを用いて拡大形成した結果、短時間で良好な根管拡大形成が可能であり、PTNの方が根尖方向への荷重をかけずに、より均等な拡大形成ができることが示された。

演題 P77 (歯内)
【2503】

モルホニン歯科用液の効果的な作用時間

昭和大学 歯科保存学講座 歯内治療学部門¹

昭和薬品化工株式会社²

昭和大学 歯科保存学講座 歯科理工学部門³

○鈴木 重紀¹、増田 宜子¹、山田 嘉重¹、中山 乾¹、古川 恵理奈¹、渡辺 香理²、小野 一弘²、宮崎 隆³

Effect time of MORHONINE for dental liquid using two different irrigation technique

Division of Endodontology, Department of Conservative dentistry, Showa University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, SHOWA YAKUHIN KAKO, Tokyo, Japan², Division of Oralbiomaterials and Technology, Department of Conservative dentistry, Showa University School of Dentistry, Tokyo, Japan³

○SUZUKI SHIGENORI¹, MASUDA YOSHIKO¹, YAMADA YOSHISHIGE¹, NAKAYAMA KEN¹, FURUKAWA ERINA¹, WATANABE KAORI², ONO KAZUHIRO², MIYAZAKI TAKASHI³

【目的】根管治療において、複雑な根管形態を機械的操作のみで全て清掃することは困難である。そこで、良好な根管治療の予後を獲得するために化学的洗浄を組み合わせることで清掃することが一般的である。機械的操作によって析出したスメア層は、無機質だけでなく有機質 (necrotic pulp 等) や細菌を含んでおり、象牙細管内への根管洗浄剤の侵入を抑制するだけでなく、微小漏洩を増加させ、レジンコア等の接着強度を減弱させると報告されている。現在、スメア層除去を得るために次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) と Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) を用いることが一般的である。しかし EDTA の有するキレート作用は、長時間作用させるとスメア層の除去のみならず歯質の脆弱さを引き起こすことが知られている。本実験の目的は、2 つの根管洗浄法によるモルホニン歯科用液 (昭和薬品化工株式会社) のスメア層除去効果および象牙質への浸食の有無を評価し、効果的な作用時間を決定する事を目的とした。

【方法】9 本のヒト永久抜去歯 (単根) を用い、セメント・エナメル境にて歯冠を切断した。ゲイツグリッデンドリルにて上部形成し、ステップバック法にて根管拡大・形成を行った。拡大号数を上げるごとに 5.25%NaOCl にて根管洗浄を行った。その後、モルホニン歯科用液の作用時間を 30 秒、60 秒、90 秒とし、Conventional needle method 群 (27 ゲージの洗浄針を用いて 5mL/min の流量で作業長・1 mm の位置で洗浄) と Passive ultrasonic activation 群 (ENAC の Power 1、超音波チップの先端の位置を作業長・1 mm とし 5 秒ごとに洗浄液を補充) の試片を作製した。各試片をエタノールで脱水し凍結乾燥させ蒸着した。走査型電子顕微鏡を用いて各試片の歯冠側 1/3、根中央部 1/3、根尖側 1/3 の根管壁面を 5000 倍にて観察した。得られた画像は Torabinejad らの判定項目を用いて本研究目的を知らない 5 人の歯科医師が判定し、Kruskal-Wallis 検定と Steel-Dwass 多重比較検定を用いて統計学的有意差検定を行った。

【成績】Conventional needle method 群では、歯冠側 1/3・根中央部 1/3 において 60 秒の作用時間が、有意にスメア層が除去できかつ象牙質への浸食が少ないことが明らかになった。しかし、根尖側 1/3 では 60 秒ではスメア層が完全に除去できなかった。一方、Passive ultrasonic activation 群では、歯冠側 1/3 では 30 秒と 60 秒で、有意にスメア層が除去できかつ象牙質への浸食が少ないことが明らかになった。また、根中央部 1/3・根尖側 1/3 では 30 秒で、有意にスメア層が除去できかつ象牙質への浸食が少ないことが明らかになった。

【結論】本実験より Conventional needle method 群では 60 秒、Passive ultrasonic activation 群では 30 秒が効果的な作用時間であることが明らかになった。また、根尖側 1/3 を洗浄するには Passive ultrasonic activation の併用が有効であることが示唆された。

演題 P78 (歯内)
【2503】

シングル Ni-Ti ロータリーファイルによる根管形成の評価—根管湾曲度と根管壁変位量の相関関係—

神奈川歯科大学 大学院歯学研究科 歯髄生物学講座

○田中 美香、下島 かおり、富永 尚宏、武藤 徳子、石井 信之

Evaluation of Single Ni-Ti rotary file on the canal shaping-The relation between curved canal shapes and canal transportation-

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

○TANAKA MIKA, SHIMOJIMA Kaori, TOMINAGA Naohiro, MUTO Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】根管形成に変革を起こした Ni-Ti ロータリー・ファイルシステムは、2007 年に開発された M-Wire によって破折抵抗性を向上させた。2010 年に欧米で発表された Wave One と Reciproc は、M-Wire と往復運動機能エンジンの開発によって 1 本ファイルで正確、迅速な根管形成を可能にした。本研究は、シングル Ni-Ti ロータリーファイル (Waveone, Reciproc) による根管形成において、湾曲度の相違と根管壁変位量との関係を ProTaper と比較検討し、シングル Ni-Ti ロータリーファイルの切削特性を解析した。

【材料および方法】 シングル Ni-Ti ロータリーファイルによる根管形成は Waveone P,L (Dentsply Maillfer) と Reciproc R25,L40(VDW) を用い、対照群として ProTaper (F2、F4) を実験に使用した。供試根管模型は、J 型湾曲根管模型 (湾曲度 10°、20°、30° 根尖孔径 #15、根管長 21mm、ニッシン S4-U1) 90 本を使用し、3 種類の湾曲根管模型を 6 群 (各群 n=5) に分類した。根管形成開始時は #15K ファイルで根尖穿過後、X Smart plus (Dentsply Maillfer) を使用して以下の術式で同一術者 (NiTi ファイル使用経験年数 10 年以上) が根管形成を行った。1 群: Waveone 作業長まで P ファイル(25/08)1 本で往復運動根管形成。2 群: Reciproc 作業長まで R25 ファイル(25/08)1 本で往復運動根管形成。3 群: ProTaper 作業長まで SX,S1,S2,F1,F2 ファイル(25/08)5 本で 250rpm (3.0-1.0Ncm) 根管形成。4 群: Waveone 作業長まで P,L ファイル(40/08)2 本で往復運動根管形成。5 群: Reciproc 作業長まで P25,L40 ファイル(40/08)2 本で往復運動根管形成。6 群: ProTaper 作業長まで SX,S1,S2,F1,F2,F3,F4 ファイル(40/08)7 本で 250rpm (3.0-1.0Ncm) 根管形成。根管壁変位量の解析は根管壁切削量を測定し比較検討した。測定には実態顕微鏡 OlympusSZX16 およびデジタルカメラ DP71 を使用し、根管形成前後の透明根管模型をデジタル画像で重ね合わせ、得られた画像データを PC に取り込み、計測用ソフトを使用して計測を行った。計測箇所は根尖から 1、2、3、4、5mm の位置を設定し、外湾側、内湾側それぞれの根管幅径増加量 (形成前の根管壁から形成後の根管壁までの距離) を計測し、統計処理を行った。

【成績および考察】Ni-Ti ロータリーファイルによる根管壁変位量 (根管幅径増加量) の解析結果は、最終拡大号数#25 では、すべてのファイルにおいて有意差が認められず、最終拡大号数#40 では湾曲度 10° において ProTaper の変量が最も少なく、Waveone と Recipro の変位量は ProTaper と比較して有意に増加した。しかしながら、この傾向は湾曲度 (10° ~ 30°) の増加に従って変位量が減少し、すべてのファイル間で変位量に有意差が認められなかった。一方、根尖側 1mm に設定したアピカルシートは、すべてのファイルで外湾側変位が増加したことから、解剖学的根尖孔を頂点としたテーパ根管形成が根尖部トランスポーター防止となる可能性が示された。

【結論】Waveone, Reciproc による根管壁変位量は、根管湾曲度の増加による変化は認められなかった。

演題 P79 (歯内)
【2503】

歯根肉芽腫における Epstein-Barr virus 感染の検出

日本大学 歯学部 歯科保存学第Ⅱ講座¹

日本大学 歯学部 総合歯学研究所高度先端医療研究部門²

日本大学 歯学部 細菌学講座³

日本大学 歯学部 総合歯学研究所生体防御部門⁴

○牧野 公亮¹、武市 収^{1,2}、羽鳥 啓介^{1,2}、勝呂 尚^{1,2}、平 亜希子¹、今井 健一^{3,4}、落合 邦康^{3,4}、小木曾 文内^{1,2}

Epstein-Barr virus detection in human periapical granulomas

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Division of Advanced Dental Treatment, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan², Department of Microbiology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan³, Division of Immunology and Pathobiology, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan⁴

○MAKINO KOSUKE^{1,2}, TAKEICHI OSAMU^{1,2}, HATORI KEISUKE^{1,2}, SUGURO HISASHI^{1,2}, HIRA AKIKO^{1,2}, IMAI KENICHI^{3,4}, OCHIAI KUNIYASU^{3,4}, OGISO BUNNAI^{1,2}

【背景】

根尖歯周組織の口腔常在菌感染により、根尖周囲の細胞から種々のサイトカインや成長因子が放出され、炎症が憎悪する。しかし、根管内の無菌化をはかっても治癒しない症例が多く存在することから、細菌以外の微生物が関与している可能性も示唆される。近年、Epstein-Barr virus (EBV) が根尖病巣から検出されたとの報告がある。EBVは通常潜伏性であるが、歯周病学細菌の代謝産物により再活性化されることから、根管周囲組織に感染した細菌によりEBVが再活性化され、根尖性歯周炎の病態および全身に様々な影響を与える可能性が示唆される。しかし、EBV感染の有無やEBV感染細胞の局在については報告がなく、未だにその詳細は不明である。

【研究目的】

病理組織学的に診断された歯根肉芽腫におけるEBVの検出とEBV感染細胞の局在を確認する目的で、Real-time PCR法、*in situ* hybridization法および免疫組織化学的方法を用いて検討した。

【材料及び方法】

1. 供試試料

口腔内診査(咬合痛、打診痛、根尖部圧痛、瘻孔の有無)およびエックス線診査にもとづき、慢性根尖性歯周炎と臨床診断され、外科的歯内治療により摘出された根尖病巣組織を供試試料とした。採取された試料は直ちに分割し、一方はDNAの抽出、他方はホルマリン固定した後パラフィン切片の作製に用いた。すべての試料に対しHE染色を行い、病理組織診断により歯根肉芽腫のみを本研究に供試した。また、コントロールとして用いた健康歯肉組織は完全水平埋伏智歯の抜歯の際に採取した。健康歯肉組織も同様に分割し、DNA抽出およびパラフィン切片の作製に用いた。試料の採取にあたっては歯学部倫理委員会の承認を得て実施した。

2. EBV・DNAの定量的検出

EBV特異的プライマーを用いReal-time PCR法により、歯根肉芽腫におけるEBVを検出した。同時に、EBV・DNAを10倍ずつ段階希釈したもの($1 \times 10^3 \sim 10^7$ copy)を用いてPCR反応を行い、検量線を作製し、歯根肉芽腫中に検出されたEBV・DNAのコピー数を算出した。また、放射線学的に歯根肉芽腫の大きさを分類し統計分析を行った。

3. *in situ* hybridization法

EBERに対するプローブ(15-mer)を用いて通法に従い、*in situ* hybridization法を行った。DABで発色を行い、EBER陽性細胞の局在を光学顕微鏡下で観察した。

4. 免疫組織化学的検索

EBER陽性細胞を認めた同サンプルの連続切片を用いて通法に従い、LMP-1の免疫染色を行った。DABで発色を行い、光学顕微鏡下でLMP-1発現細胞を観察した。

【成績】

1. Real-time PCR法による検出結果では、ほとんどの歯根肉芽腫からEBV・DNAを検出し、健康歯肉のEBV・DNAのコピー数は歯根肉芽腫よりも有意に低かった。試料サイズ間での統計学的有意差は認められなかった。

2. *in situ* hybridization法によりEBER陽性細胞を確認でき、免疫染色により同部位でのLMP-1発現細胞の局在を認めた。

【考察】

歯根肉芽腫からEBV・DNAを検出し、*in situ* hybridization法と免疫染色によりEBER陽性細胞およびLMP-1発現細胞の局在が確認されたことから、EBVが歯根肉芽腫内の細胞に感染していることが明らかとなった。

演題 P80 (歯内)
【2503】

NEX MTA セメントが骨芽細胞の石灰化に及ぼす影響

日本大学 歯学部 歯科保存学第2講座¹

日本大学歯学部生化学講座²

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療部門³

日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門⁴

○鈴木 裕介¹、林 誠¹、安川 拓也¹、鈴木 奈お¹、鶴町 保¹、鈴木 直人^{2,3,4}、小木曾 文内¹

Effect of NEX MTA Cement on mineralized nodule formation

Departments of Endodontics, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan¹, Departments of Biochemistry, Nihon University School of Dentistry², Division of Advanced Dental Treatment Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan³, Division of Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan⁴

○SUZUKI YUSUKE¹, HAYASHI MAKOTO¹, YASUKAWA TAKUYA¹, SUZUKI NAO¹, TSURUMACHI TAMOTSU¹, SUZUKI NAOTO², OGISO BUNNAI¹

【研究目的】

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) はケイ酸カルシウムを主成分とした歯内療法用水硬性セメントであり、臨床的有用性に関して多くの研究結果が認められる。現在では様々な特徴を有した MTA が開発され、その適応範囲も徐々に広がりつつある。本邦でも 2013 年より国内生産による MTA (NEX MTA セメント, GC) が入手可能となり、歯内療法の臨床においてさらに応用頻度が高まることが予想される。そこで今回、演者らは MTA の主作用が硬組織形成促進作用であることを踏まえ、NEX MTA セメントが石灰化 nodule 形成に及ぼす影響について他の歯内療法用セメントと比較検討した。

【材料および方法】

被験材料は、MTA として NEX MTA セメントおよび ProRoot® MTA (Dentsply), 強化型酸化亜鉛ユージオールセメントとして SuperEBA® (Bosworth Company) の3種を使用した。材料は製造者指示に従って混和したセメント泥を直径 3.0mm, 厚さ 0.5mm のディスク状に調整し、37°C, 5%CO₂ 下で3日間 α -MEM に浸漬したものを実験に供した。細胞はラット骨肉腫由来の株化骨芽細胞 (ROS17/2.8) を用いて、24 穴 Insert Cell Culture 法を用い α -MEM にて培養した。すなわち lower chamber に 2×10^4 cell/well になるように ROS 細胞を播種し、upper chamber には供試材料を静置させた。また、供試材料を使用しなかったものをコントロールとした。

各材料群とコントロール群で以下の項目を比較した。

- 1) 位相差顕微鏡下での細胞形態
- 2) Cell counting kit 8 を使用した細胞増殖
- 3) p -ニトロフェニルリン酸を基質とした Alkaline phosphatase activity (ALP 活性)
- 4) アリザリン赤染色による石灰化 nodule 形成

【結果】

1) 細胞形態を観察したところ、すべての培養期間で NEX MTA セメント群, ProRoot®MTA 群およびコントロール群に大きな違いは認められなかった。

2,3) 細胞増殖および ALP 活性では、NEX MTA セメント群, ProRoot®MTA 群およびコントロール群において7日目および5日目にそれぞれのピークを示したが、統計学的な有意差は認められなかった。一方、superEBA®群は他の群より有意に低かった。

4) 石灰化 nodule 形成は、NEX MTA セメント群, ProRoot®MTA 群およびコントロール群で同程度の石灰化 nodule 形成が認められたが、SuperEBA®群では認められなかった。

【考察および結論】

以上の結果から、NEX MTA セメントの骨芽細胞に対する生体親和性は、ProRoot®MTA と同程度であると考えられた。今後も、その他の歯内療法用セメントとの比較評価を行ない、NEX MTA セメントの臨床的有用性について検討する必要があると考えられた。