

**Er:YAG レーザー照射法に関する研究
- チップ損耗性についての検討 -**

大阪歯科大学大学院歯学研究科 歯科保存学専攻

*大阪歯科大学 歯科保存学講座

○廣田 陽平, 岩田 有弘*, 横田 啓太*, 吉川 一志*, 山本 一世*

**Study on Dental Hard Tissue Ablation by Er:YAG Laser
- Evaluation on Tip Wear -**

Graduate School of Dentistry, Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

*Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○HIROTA Youhei, IWATA Naohiro*, YOKOTA Keita*, YOSHIKAWA Kazushi*, YAMAMOTO Kazuyo*

【緒言】

歯の硬組織切削では、Er:YAG レーザーは特に優れた効果を示し、臨床応用されているが、高速回転切削器具と比較し除去効率では到底及ばず、治療時間の延長などが問題となっている。

我々の研究グループはレーザーの注水装置に着眼し、従来の注水機構ではなく、霧状に注水できる装置を利用し、モリタ製作所の協力の下、注水方式を霧状に改良した試作チップを作製し、除去効率や歯髄への熱影響について実験を重ねてきた。当講座の横田らの研究¹⁾により、試作チップは従来のチップと比較し有意に削除量を増加させることができるかと報告されている。

今回、この試作チップを用いてレーザー照射を行い、試作チップの除去効率と損耗性および先端出力への影響についての検討を行ったので報告する。

【材料および方法】

Er:YAG レーザー発振装置として Erwin® Adverl (モリタ製作所、以下レーザー) を用いた。照射条件を 100mJ とし、繰り返し速度は 10pps とした。照射チップは C600F と試作チップを使用した。また先端出力は出力測定器 LaserMate-P (COHERENT) にて計測し、規定した。

被験歯は抜去後、生理食塩水に浸漬し-40℃にて冷凍保存した、う蝕のない健全ヒト大臼歯 (以下、ヒト歯) を実験前に解凍したものを使用した。象牙質をモデルトリマーにて面出し、耐水研磨紙にて#600 まで研磨を行い、試料とし、照射距離を 0.5, 1.0, 2.0mm に規定した。レーザー照射にはムービングステージを用い、試料を 1mm/s で移動させ、4mm×4mm の範囲に均一に照射した。C600F にてレーザー照射を行った群をコントロール群、試作チップにてレーザー照射を行った群を霧状噴霧群とした。照射後の試料およびレーザーチップの先端をレーザーマイクロスコープ VK (KEYENCE) にて観察を行い、試料の切削体積量およびチップ先端の体積量を計測した (n=3)。また照射後の先端出力を計測し、比較した。

測定結果は二元配置分散分析により統計処理を行った ($p=0.05$)。各独立要因については一元配置分散分析および Tukey の検定により統計処理を行った ($p=0.05$)。

なお、本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った。

【結果および考察】

切削体積量においては照射距離 0.5mm では有意な差は認められなかったが、1.0mm, 2.0mm では霧状噴霧群がコントロール群と比べ、有意に切削体積量が増加した。チップ損耗性および先端出力では有意差は認められず、照射距離が離れるにつれ、損耗体積は減少傾向にあることが示唆された。これは照射距離が離れるに従い、飛散する歯質などのダメージが緩和されたためと考えられる。

また、二元配置分散分析の結果、除去効率では照射距離の因子と照射チップの因子それぞれで有意差が認められたが、両因子間による交互作用は認められなかった。チップ損耗性および先端出力では両因子で有意差は認められず、交互作用も認められなかった。

以上の結果から、各条件においての損耗体積量に有意差は認められなかったこと、先端出力に変化がなかったことを併せて考察すると、試作チップは従来のチップと比較し、チップの損耗状態は変わらずに象牙質の除去効率を向上させることが示唆された。

1) Yokota K, Iwata N, Yasuo K, Yoshikawa K, Yamamoto K. Study on Dental Hard Tissue Ablation by Er ; YAG Lazer.

日歯保存誌 2014 ; 57 : 9-18.

UVA 活性リボフラビンによるヒト象牙質の強化効果

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)

○上村 怜央, 新野 侑子, 岡本 基岐, 高橋 雄介, 林 美加子

Strengthening effect of human dentin by ultraviolet-A-activated riboflavin treatments

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

○Reo UEMURA, Yuko SHINNO, Motoki OKAMOTO, Yusuke TAKAHASHI, Mikako HAYASHI

【研究目的】

日常臨床で遭遇する失活歯の歯根破折を防ぐ方法の一つとして、象牙質の強化が挙げられる。我々は、これまでにヒト象牙質の機械的強度が加熱や長波長紫外線 (UVA) 照射により著しく増加することを発見した。[Hayashi *et al.*, *J Dent Res*, 2008, 2010] 今回は眼科領域にて円錐角膜の補強治療法として既に臨床応用されている UVA 活性リボフラビンによるコラーゲンの架橋形成に着目し、その効果を象牙質コラーゲンに応用して歯質強化を図ることを目的として、リボフラビン濃度、UVA 照射強度および照射時間が象牙質の機械的強度に及ぼす影響を検討した。さらに、SDS-PAGE によるコラーゲンの架橋形成の確認、および顕微レーザーラマン分光分析によるコラーゲンの分子構造の変化を検索した。

【材料および方法】

う蝕および破折のないヒト抜去大白歯の歯冠中央部より、 $0.2 \times 1.7 \times 8.0$ mm の棒状試料および厚さ 1.0 mm の円盤試料を、低速精密切断機 (ISOMET2000, BUEHLER) を用いて採取し、HBSS に浸漬した状態で保管した。リボフラビン溶液は、リボフラビン-5' -モノホスファートナトリウム (東京化成工業株式会社) を蒸留水に溶解させて、0.1%、1% 溶液を作製し、棒状試料を 1 分間浸漬した。UVA 照射は、LED 紫外線照射装置 (ZUV-C30H, オムロン) を用いて、波長 365 nm、出力 800、1200、1600 mW/cm²、照射時間 5、10、15 分の条件で行った。曲げ強さは、棒状試料を万能試験機 (AUTOGRAPH AG-IS, 島津製作所) に固定し、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min にて 3 点曲げ試験を行い測定した。得られた結果は、二元配置分散分析法および Scheffe' s *F* 法、あるいは一元配置分散分析法および Tukey 法にて有意水準 95% で検定した。

次に、ウシ皮膚コラーゲン溶液 (Sigma-Aldrich) を用いて、コントロール群、UVA 照射群、リボフラビン浸漬+UVA 照射群に分類し、SDS-PAGE にて UVA 活性リボフラビンによる架橋形成について評価した。さらに、10% EDTA にて脱灰した円盤試料を、顕微レーザーラマン分光分析装置 (RAMANtouch, ナノフォトン) を用いて、レーザー波長 785 nm、レーザーパワー 130 mW、測定時間 120 秒、測定領域 $1.0 \times 1.0 \mu\text{m}^2$ の条件で、リボフラビン浸漬後、UVA 照射を行いながら経時的にラマン分光分析にて、分子レベルでの変化を検索した。

なお、本研究は大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認下で実施した (承認番号: H21-E29)。

【結果および考察】

リボフラビン濃度および UVA の照射条件を変えて曲げ強さを測定したところ、リボフラビン 0.1% 溶液 1 分浸漬、紫外線出力 1600 mW/cm²、10 分照射群において曲げ強さは 295 ± 47 MPa を示し、コントロール群の約 2.2 倍に増加した。SDS-PAGE では、リボフラビン浸漬+UVA 照射群が、他の 2 群では明確に認められなかった 500 kDa を越える大きな分子量を示す位置にバンドが認められ、架橋形成が示唆された。また、顕微レーザーラマン分光分析では、リボフラビン浸漬後の UVA 照射により、 1243 cm^{-1} 、 1267 cm^{-1} 、 1660 cm^{-1} 付近でのピークに変化が認められた。以上の結果より、UVA 活性リボフラビンは象牙質を強化し、それにはコラーゲン分子の架橋結合の増加および構造の変化が関与している可能性が示唆された。

【参考文献】

Hayashi *et al.*, Heat treatment strengthens human dentin. *J Dent Res* 2008, 87(8) 762-6.

Hayashi *et al.*, Effects of rehydration on dentin strengthened by heating or UV. *J Dent Res* 2010, 89(2) 154-8.

本研究の一部は科学研究費補助金 (25293387, 25462958) の補助の下に行われた。

In-air micro-beam PIXE/PIGE を用いた根面象牙質の脱灰評価

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)

○八木 香子, 山本 洋子, 岩見 行晃, 林 美加子

Evaluation of caries progression in root dentin using In-air micro-beam PIXE/PIGE system

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

○Kyoko YAGI, Hiroko YAMAMOTO, Yukiteru IWAMI, Mikako HAYASHI

【研究目的】

近年、著しい高齢化に伴って根面う蝕が増加しており、その予防の重要性が増している。う蝕進行の抑制には歯質の脱灰の評価が必要であり、従来より歯質の脱灰の評価には多くは transvers microradiography (TMR) が用いられてきた。

本研究では演者らが開発してきた歯質内のカルシウムとフッ素を同時に定量測定できる若狭湾エネルギー研究センターの In-air micro-beam Particle Induced X-ray/Gamma-ray Emission (PIXE/PIGE) を用いて、根面象牙質の脱灰の評価およびう蝕予防に効果があると言われていたフッ素と脱灰の関連の評価が可能かを検討した。

【材料および方法】

ヒト健全第三大臼歯 (n=10) のセメントエナメル境付近の頬側面を歯軸に平行に切断し、根面象牙質を露出させた後、頬舌方向に半切した。象牙質露出部を除きスティッキーワックスにて被覆し、一方の象牙質面にアドシールド®GI (クラレノリタケデンタル) を塗布 (以下 GI 群)、他方には何も塗布せず (以下 CO 群)、37°C 下で生理食塩水中に浸漬した。生理食塩水は1週間ごとに交換し、1か月後、材料及びスティッキーワックスを除去して頬舌方向に 0.5 mm 幅に切断し、測定試料とした。切断面の象牙質表層より約 800 μm の部位に厚さ 4 μm の銅箔を貼付し、根面象牙質表層から銅箔まで歯質内方向に歯質内のフッ素およびカルシウム濃度を PIXE/PIGE を用いて線分析を既報⁽¹⁾に従い行った。

その後、再び象牙質表層を除いてスティッキーワックスにて被覆し、脱灰溶液 (0.2 mol/l Lactic acid, 3.0 mmol/l CaCl₂, 1.8 mmol/l KH₂PO₄, pH 4.5) 10 μm に3日間浸漬後、スティッキーワックスを除去、再度 PIXE/PIGE にて同部位の線分析を行った。

脱灰後の試料の健全象牙質の平均カルシウム量の 5% を示す部位を脱灰表層とし、95% までを脱灰病巣とした。また、銅箔を基準として脱灰処理前後の表層の減少深さを測定した。さらに脱灰前の試料の表層から 10 μm ごとにカルシウムおよびフッ素濃度を平均し、500 μm までの間の積算カルシウムおよびフッ素濃度を脱灰前後で比較検討した。

なお、本研究は大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認下で実施した (承認番号: H25-E28)。

【結果および考察】

基準として銅箔を設置したことで、得られた脱灰前後の線分析を重ね合わせることが可能となり、表層の喪失の深さが測定でき、さらに積算カルシウムおよびフッ素濃度の差を計算することができた。GI 群は CO 群と比較して、表層減少量およびカルシウム喪失量が有意に小さかった。GI 群では CO 群より有意にフッ素の歯質への浸透が認められ、脱灰後も表層は減少していても積算フッ素濃度は大きくは変化しなかった。歯質に取り込まれたフッ素量と脱灰後の表層減少量、カルシウム喪失量はそれぞれ負の相関を示した。

以上の結果より PIXE/PIGE で脱灰前後の歯質内のカルシウムとフッ素の動態を検討することが可能であり、う蝕予防の評価には有用な測定法であることが示唆された。

【参考文献】 (1) Yasuda et al. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 2011, 269(20), 2180-2183. 本研究の一部は科学研究費補助金 (25293387, 26462879) の補助の下に行われた。

歯面コーティング材の歯根象牙質への剪断接着強さと脱灰抑制効果

¹ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻

² 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座、³ 日本歯科大学新潟生命歯学部先端研究センター

○有田祥子¹、鈴木雅也²、新海航一²、小出-風間未来³

Shear bond strengths of coating materials to root dentin and their preventive effects for root dentin demineralization

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

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

³Advanced Research Center, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

○ARITA Shoko¹, SHINKAI Koichi², SUZUKI Masaya², KOIDE-KAZAMA Miku³

【研究目的】 歯肉退縮により露出した根面は齲蝕罹患のリスクが高くなり、また知覚過敏を引き起こすことがある。これらの予防あるいは知覚過敏症状の改善に歯面コーティング材が応用されている。しかし露出根面に応用した歯面コーティング材は咀嚼やブラッシングなどのストレスにより早期に脱落する可能性がある。また歯面コーティング材が脱落した際、その材料が応用された根面の耐酸性について検討した研究はほとんどない。そこで本研究は根面象牙質に対し歯面コーティング材を応用し、長期保管後の剪断接着強さを測定するとともに、剪断接着強さ試験後の試料に対して pH サイクリングを行い、接着破壊面（象牙質側）の脱灰深度を測定した。

【材料と方法】 本実験にはヒト抜去上下顎前歯および小白歯の歯根を用いた。唇側を耐水研磨紙（#120、600）にて平坦な象牙質面を形成し歯冠部と根尖を切除した。直径 3 mm の開窓部を有する両面テープにて透明アクリルチューブ（内径 3 mm、高さ 2 mm）を植立した。このアクリルチューブ内の象牙質面に対し下表に示す各材料を用いて歯面コーティングを行い、その後アクリルチューブ内を各フロアブルレジンで充填した。なお、フロアブルレジンには歯面コーティング材と同じメーカーのものを使用した。作製した試料は恒温恒湿器（湿度 95%、37°C）にて 32 日間保管し、その保管期間中、4 日おきに 500 回ずつ合計 4000 回のサーマルサイクルを行った。保管後、即時重合レジン（プロビナイス、松風）で、接着試料固定用金属リングに試料を固定した。その際、接着面がリング底面と平行になるように調整した。試料を固定したリングを剪断接着試験用治具に取り付けヘッドスピード 1.0 mm/min にて剪断接着強さ試験を行った。試験後の試料は実態顕微鏡を用いて接着破壊面を観察し、破壊様式を判定した。剪断接着試験後の象牙質試料は、接着破壊面（2 × 2 mm）を除く歯面全体にエナメルバーニッシュを塗布し、Gao XL らの方法に順じた pH サイクルを 7 サイクル行った。pH サイクル終了後の各試料は、自動精密切断機（ISOMET、BUEHLER）で歯軸に対して垂直方向に薄切し、接着破壊面を含む約 200 μm の厚さの切片を 3 枚作製した。その後ラッピングフィルムシートにて約 100 μm の厚さまで調整し、偏光顕微鏡（ECLIPSE LV100POL、Nikon）を用い、非脱灰面を基準として脱灰最深部までの距離を測定した。得られたデータは One-way ANOVA を行った後、Tukey HSD 検定を用いて実験群間の有意差を検定した。

【結果と考察】 各実験群の剪断接着強さと脱灰深度の平均値と SD を下表に示す。統計分析の結果、FJ は CB 以外の実験群より有意に低い剪断接着強さを示したが、脱灰深度はどの実験群よりも有意に浅かった。CB は FJ 以外の実験群よりも有意に浅い脱灰深度を示した。したがって、レジン系歯面コーティング材は、ガラスイオノマー系と比較して高い象牙質接着強さを示すが、剪断接着試験後の脱灰抑制効果はガラスイオノマー系より低いことが判明した。

Group	Tooth coating materials	Shear bond strength (MPa)	Demineralization depth (μm)
BC1	Experimental PRG Barrier Coat (S-PRG filler content: 0 wt%)	10.6 ± 3.8 ^{ab}	212.6 ± 33.9 ^{bc}
BC2	Experimental PRG Barrier Coat (S-PRG filler content: 17 wt%)	9.7 ± 3.0 ^{ab}	206.4 ± 21.2 ^{bc}
BC3	Experimental PRG Barrier Coat (S-PRG filler content: 33 wt%)	9.6 ± 3.1 ^{ab}	223.6 ± 48.2 ^{abc}
BC4	PRG Barrier Coat (S-PRG filler: 50 wt%)	8.2 ± 1.7 ^{bc}	244.9 ± 39.3 ^{ab}
HC	Hybrid Coat II	10.7 ± 3.2 ^{ab}	253.4 ± 26.7 ^{ab}
SF	Shield Force Plus	12.1 ± 3.0 ^a	263.9 ± 42.9 ^{ab}
CV	Clinpro XT Varnish	6.5 ± 2.6 ^{cd}	182.9 ± 39.3 ^c
FJ	GC Fuji VII	4.3 ± 1.5 ^d	118.5 ± 71.0 ^d
---	None		281.8 ± 44.1 ^a

※Values with the same superscripts indicate no significant difference

リン酸カルシウムとフッ素を含有したペーストによるエナメル質脱灰抑制効果

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野

○中田琢也¹, Alireza Sadar¹, 北迫勇一¹, 中嶋省志¹, 田上順次¹

Effect of a calcium phosphate and fluoride paste on prevention of enamel demineralization

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

○Takuya Nakata¹, Alireza Sadar¹, Yuichi Kitasako¹, Syozi Nakashima¹, Junji Tagami¹

[研究目的]

現在、知覚過敏抑制材等、歯質表層を保護する様々な製品が開発・市販化されている。リン酸四カルシウム (TTCP) および無水リン酸水素カルシウム (DCPA) を配合した知覚過敏抑制剤：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) は、その象牙質細管封鎖性が確認されている。一方、光干渉断層画像 (Optical Coherence Tomography, OCT) は、非侵襲的ならびにリアルタイムに内部構造変化を観察することを可能にした。本研究では、TTCP と DCPA に 950ppm フッ化ナトリウム (NaF) を加えた試作ペースト (クラレノリタケデンタル) の知覚過敏抑制以外の歯質保護効果を検証するため、ウシエナメル質の脱灰抑制に及ぼす影響について OCT を用いて検討した。

[材料及び方法]

ウシ下顎切歯を、精密低速切断機 (Isomet, Buehler) にて 3×3×6mm のエナメル-象牙質ブロックを切り出し、エナメル質表面が露出するようにエポキシ樹脂にて包埋した。エナメル質表面を耐水研磨紙#800 まで研削後、3×3mm の処理面を規定した。下記の各種脱灰抑制処理を行い、pH 4.5 の脱灰液 (CaCl₂ 1.5mM、KH₂PO₄ 0.9mM、CH₃COOH 50.0mM、NaN₃ 3.08mM) に浸漬し 37°C で 24 時間保管した。脱灰抑制処理と脱灰液への浸漬を 7 日間繰り返し続けた。処理する脱灰抑制条件として、(1) TTCP・DCPA・950ppmNaF 含有試作ペースト (TAP, クラレノリタケデンタル) 塗布群、(2) MI paste (GC) 塗布群、(3) NaF 水溶液 (950ppm) 浸漬群、(4) 超純水 (Milli-Q, Millipore) 浸漬群 (pH7.4, Control) の 4 群を設定した。OCT (HSL-2000, SANTEC) にて、脱灰前、脱灰液浸漬 1, 3 および 7 日後における試料の脱灰層同一部位の 2D 画像を撮影し、Image J (Wayne Rasband) を用いてエナメル表層からの脱灰深さを計測した。その後、試料の表面を Icon (DMG) およびエポキシ樹脂にて包埋後、精密低速切断機にて試料を切断し、超微小硬さ測定器 (ENT-1100a, Elionix) を用いて超微小硬さ変化について解析を行った。測定は 10μm 間隔にエナメル質表面から歯髄方向に行った。測定値は、one-way ANOVA を用い有意水準 5% にて統計処理を行った。

[結果および考察]

OCT 解析の結果、脱灰開始から 7 日後の NaF 水溶液 (950ppm) 浸漬群では、Control である超純水浸漬群に比べて有意に脱灰深さが小さかった (Fig.1, Fig.2)。微小硬さ変化解析の結果、NaF 水溶液 (950ppm) 浸漬群では、脱灰深層に比べて微小硬さが高い部分がエナメル表層部に検出され、全群中で最大の微小硬さを計測した。このことから、NaF 水溶液 (950ppm) 浸漬群が、最も高い脱灰抑制効果をもたらすことが示唆される。同様に、TTCP・DCPA・950ppmNaF 含有したペースト塗布群でも脱灰深層に比べてエナメル表層に微小硬さが高い部分が認められた。今後、脱灰抑制や脱灰等の実験条件を変え脱灰抑制効果の機序についてより詳しく調べていく予定である。

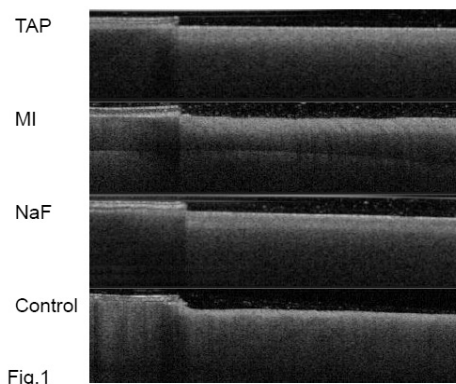


Fig.1

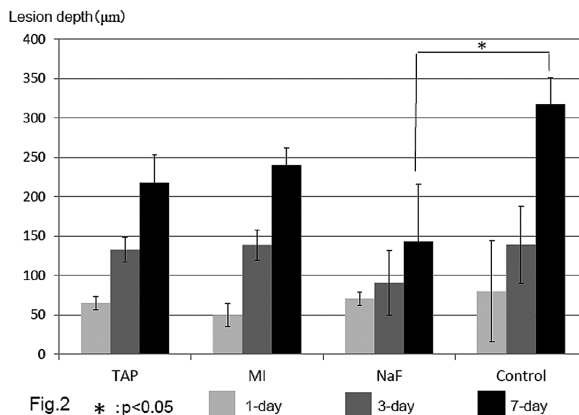


Fig.2

* : p<0.05

■ 1-day

■ 3-day

■ 7-day

ユニバーサル表面処理材に対する光照射の有無が レジンセメントの接着性能に及ぼす影響

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座 歯制御学分野
○荒岡 大輔、佐藤 健人、高橋 真広、池田 正臣、保坂 啓一、中島 正俊、田上 順次

The effect of light curing of universal primer on the bond strengths of dual cure resin cement

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

○ARAOKA Daisuke, SATO Kento, TAKAHASHI Masahiro, IKEDA Masaomi, HOSAKA Keiichi,
NAKAJIMA Masatoshi, TAGAMI Junji

【研究目的】 レジンセメントは優れた接着性能および審美性を有することから、間接法歯冠色修復物のセメンティングに広く用いられている。これらのレジンセメントの表面処理材の中には、歯質ならびに多様な種類の修復材料に適応できるユニバーサル用途の表面処理材が商品化されている。しかしながら光照射の有無がレジンセメントの接着性能にどのような影響を及ぼすかという報告はあまり多くない。そこで本研究では、表面処理材に対する光照射の有無が象牙質-レジンディスク接着試料におけるレジンセメントの接着強さに与える影響について検討した。

【材料および方法】 ヒト抜去大白歯 8 本の歯冠中央を歯軸に対して切断し平坦面を作製後、#600 の耐水研磨紙を用いて研削し象牙質被着面とした。一方、あらかじめ作製しておいた直径 8mm、厚さ 2mm のレジンディスク (パールエステ、トクヤマデンタル社製、シェード DA2) を 1 週間 37°C 水中で保管した後、#600 の耐水研磨紙を用いて表面を研削し、3 分間の超音波洗浄と 15 秒間のリン酸エッチング処理を行い水洗しレジンディスク被着面とした。象牙質、レジンディスクそれぞれの被着面は 2 種のユニバーサル表面処理材、Scotchbond™ Universal Adhesive (以下 SBU、3M ESPE 社製)、CLEARFIL™ Universal Bond (以下 UB、クラレノリタケデンタル社製) で処理し、表面処理剤への光照射の有無で 4 群に分けた (象牙質側、レジンディスク側ともに光照射していないものを A 群、レジンディスク側のみ光照射したものを B 群、象牙質側のみ光照射したものを C 群、象牙質側レジンディスク側ともに光照射したものを D 群とした)。SBU で表面処理を行った試料には、RelyX™ Ultimate Adhesive Resin Cement (以下 RU、3M ESPE 社製) を、一方 UB で表面処理を行った試料には、PANAVIA™ SA CEMENT (以下 PA、クラレノリタケデンタル社製) を用いて象牙質-レジンディスク接着試料を作製した。レジンセメントへの光照射は、レジンディスク側から 40 秒間行った。作製した接着試料は 37°C の水中に 24 時間保管後、低速切断機にて接着面と垂直に 0.7×0.7mm² の微小引張り試験用ビーム状試片を作成し、クロスヘッドスピード 1mm/min の条件で微小引張り接着強さを測定した。得られたデータは Two-way ANOVA およびボンフェローニの補正を用いた t 検定を用いて、有意水準 5%にて統計処理を行った。

【結果】 得られた微小接着強さの結果を右表に示す。SBU+RU 試料では D 群>B 群=C 群=A 群、UB+PA 試料では D 群>C 群>B 群=A 群の順に高い接着強さを示した。

【考察および結論】 本研究では、レジンディスク、象牙質に塗布した表面処理材両方に光照射を行った場合、RU、PA のどちらのレジンセメントにおいても最も高い接着強さを示した。これは、表面処理材への光照射によってレジン成分の重合性が向上し、象牙質・レジンディスクそれぞれに対する高い接着性能

が獲得されたからであると考えられる。本研究の結果から、象牙質側レジンディスク側それぞれに塗布した歯面処理材の両側に光照射を行うことによって、レジンセメントの接着強度を向上できることがわかった。

本研究は東京医科歯科大学倫理審査委員会によって承認され遂行されたものである (725 号)。

[MPa]	SBU + RU	UB + PA
Group A	44.6 ± 10.9 (n=37) ^{Aa}	28.4 ± 8.3 (n=38) ^{Ab}
Group B	49.7 ± 11.8 (n=36) ^{Aa}	31.2 ± 7.3 (n=38) ^{Ab}
Group C	47.6 ± 8.9 (n=41) ^{Aa}	42.4 ± 7.1 (n=35) ^{Ba}
Group D	68.4 ± 11.1 (n=36) ^{Ba}	53.4 ± 12.5 (n=41) ^{Cb}

Table (above). Microtensile bond strength to dentin. N=number of the specimens. All values are mean±S.D. (MPa). Within the same column, different capital superscripts show statistical differences (P<0.05). Within the same row, different lowercase superscript letters show statistical differences (P<0.05).

最近のレジンセメントシステムによる各種被着体に対する接着特性

¹日本歯科大学生命歯学部接着歯科学講座 ²ハーバード大学歯学部修復学・生体材料科学講座
○村田卓也¹ 前野雅彦¹ 小川信太郎¹ 柵木寿男¹ 奈良陽一郎¹ I.L.Dogon²

Bonding characteristics of recent adhesive resin cement systems to various substrates

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

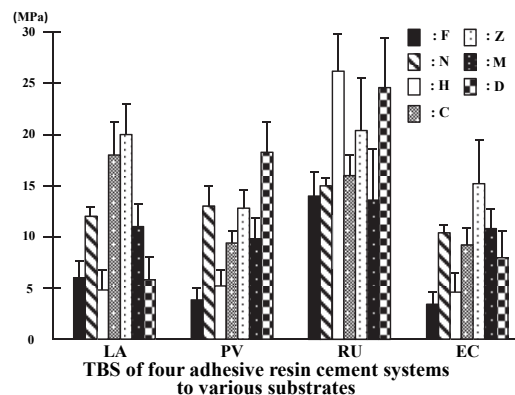
²Department of Restorative Dentistry and Biomaterials Sciences, Harvard School of Dental Medicine

○MURATA Takuya¹, MAENO Masahiko¹, OGAWA Shintaro¹, MASEKI Toshio¹,
NARA Yoichiro¹ and Dogon I.L.²

【目的】 本邦における間接修復に際しては、健康保険適用の 12%Au-Pd 合金が頻用されている。一方、今後の歯科医療の一翼を担う歯科用 CAD/CAM システム活用ブロック材料や有機・無機複合ハイブリッド型材料に代表されるメタルフリー素材は、患者のニーズに応える修復材料であることに疑いの余地はない。また間接修復に際しては、歯質と修復物との強固な接着一体化が求められることから、新規の接着性レジンセメントや前処理材が開発市販されている。そこで本研究では、最近のレジンセメントシステムによる各種被着体に対する接着特性について検証することを目的に、引張接着強さの観点から検討を行った。

【材料および方法】 レジンセメントシステムには、必要に応じて前処理材を追加するセルフアドヒーブタイプの G-CEM Link Ace(GC, LA)、歯面に対しては新規 1 液性プライマーを、その他の修復材料には専用前処理材を併用する PANAVIA V5 (Kuraray Noritake Dental, PV)、汎用性前処理材である Scotchbond Universal をすべての被着体に応用する RelyX Ultimate(3M ESPE, RU)を選択した。対照には、被着体に応じて異なる前処理材を用いる代表的市販システム Clearfil Esthetic Cement(Kuraray Noritake Dental, EC)を用いた。被着体としては、CAD/CAM 用ハイブリッド型レジンブロック 2 種として、無機質フィラーを含有する CERASMART(GC, F)および無機質ネットワーク構造体にレジンを含浸させた VITA ENAMIC(VITA, N)、高密度充填型歯冠用硬質レジンとして Estenia C&B(Kuraray Noritake Dental, H)、長石系ガラスセラミックとして VITABLOCS Mark II(VITA, C)、ジルコニアとして Lava Zirconia(3M ESPE, Z)、修復用金属として 12%Au-Pd 合金 Castwell M.C.(GC, M)を選択した。対照には、本学部研究倫理委員会の承認を経てヒト健全象牙質(D)を用いた。接着試験試料の作製は、直径 2.4mm の円形開孔部を有する厚さ 70 μ m のアルミ箔テープによって被着面規定した各被着体に対し、製造者指定に従い前処理を行い、規格化レジン硬化体を 4 種セメントによって接着した。ついで 37 $^{\circ}$ C 水中に 24 時間保管後、1.0mm/min 条件下にて引張接着強さ(TBS)を測定(n=4)し、得られたデータに対し二元配置分散分析、Tukey の q 検定による統計学的分析を行った。

【成績と考察】 下図に得られた結果を示す。分析の結果、セメントシステムおよび被着体の違いは共に TBS 値に有意な影響を与え、また TBS 値に対するセメントシステムの効果は、被着体によって有意に異なることが明らかとなった。セメントシステムに注目すると、LA では N, C および Z に対する TBS 値が D 値より有意に大きかった。このことから、LA の前処理ならびに自己接着能は、無機質が被着面の主体となる場合に有効であると推察された。PV では対照とした D に対する TBS 値が最大を示し、歯面用前処理材；PANAVIA V5 Tooth Primer の優れた改質効果が認められた。RU では H, C および Z に対する TBS 値が D 値と同等であり、RU の汎用性前処理材；Scotchbond Universal の有効性が認められた。一方、被着体に注目すると、F と H に対しては RU が、N に対しては LA, PV, RU が、C に対しては LA, RU が、対照セメントとした EC による TBS 値より有意に大きかった。さらに Z と M に対してはシステム間に有意差を認めず、D に対しては PV, RU が EC より有意に大きい TBS 値を示し、両システム指定の前処理材による D への効果が確認できた。



【結論】 最近のレジンセメントシステムは、被着体によって有意に異なる接着特性を示すことが明らかとなった。

この研究の一部は JSPS 科研費 26462899 の助成を受けた。

37°C1 週間の保管条件が試作セルフエッチングプライマーの接着強さに及ぼす影響

鶴見大学歯学部保存修復学講座¹⁾, 歯科理工学講座²⁾
○松本 博郎¹⁾, 英 将生¹⁾, 山本 雄嗣¹⁾, 早川 徹²⁾, 桃井 保子¹⁾

Influence of 1-week storage at 37°C on bond strengths of experimental self-etching primers

Department of Operative Dentistry¹⁾, Department of Dental Materials Science²⁾
Tsurumi University School of Dental Medicine
○MATSUMOTO Hiro¹⁾, HANABUSA Masao¹⁾, YAMAMOTO Takatsugu¹⁾, HAYAKAWA Tohru²⁾, MOMOI Yasuko¹⁾

【研究目的】

セルフエッチングプライマーをメーカー推奨の保管温度を超えて、または長期間で保管すると、酸性モノマーの加水分解が起こることにより劣化し、歯質に対する接着性が低下すると報告されている¹⁾。炭酸ナトリウム (Na₂CO₃) をセルフエッチングプライマーに添加すると pH が中性に近付くため、加水分解を抑制できると考えられる。そこで本研究では、試作セルフエッチングプライマーに Na₂CO₃ を添加して 1 週間保管した場合の、ウシ歯象牙質に対する接着強さを検討した。

【材料と方法】

被着体として凍結保存したウシ下顎中切歯を用いた。歯冠部をアクリルレジンで包埋後、#600 耐水研磨紙で平坦象牙質面を作製した。接着面積を直径 2 mm に規定し、接着処理を行った。試作セルフエッチングプライマーは、Na₂CO₃ の添加なしと添加ありの 2 種類を作製した。各プライマーは、調整直後または 37°C で 1 週間保管後に用いた。なおコントロールとして市販のセルフエッチングプライマー (クリアフィルメガボンド プライマー、クラレノリタケデントタル) を用いた。全グループでプライマーを処理後にボンディング材 (クリアフィルメガボンド ボンド) を塗布、10 秒間光照射 (Optilux 501) した。その後、コンポジットレジン (クリアフィル AP-X) を充填し、40 秒間光照射した。試料を 37°C 水中で 24 時間保管後、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min で、せん断接着強さ (MPa) を測定した。得られたデータは、一元配置分散分析と Tukey HSD (有意水準 5%) を用いて、統計処理を行った。

【成績と考察】

せん断接着強さを Figure に示す。Na₂CO₃ 添加なしプライマーで処理した場合、調整直後は 32.7±6.2 MPa であったが、1 週間保管後は 3.3±4.6 MPa となり、接着強さは有意に低下した。また、プライマー液中には沈澱が認められた。Na₂CO₃ 添加プライマーで処理した場合は、調整直後 23.8±4.3 MPa、1 週間保管後 27.1±5.9 MPa であった。Na₂CO₃ 添加なしと比較すると、調整直後は有意に低い接着強さを示したが、1 週間保管後の接着強さは調整直後と同等の接着強さであり、接着強さの低下は見られなかった。加えて、プライマー液中に沈殿物は認められなかった。また、試作セルフエッチングプライマー 2 種の調整直後の接着強さをコントロールのメガボンドと比較すると、添加なしプライマーでは同等の接着強さであったが、添加ありプライマーでは有意に低い接着強さを示した。

【結論】

炭酸ナトリウムの添加により、酸性モノマーの加水分解が抑制され、1 週間の保管でも接着強さが低下しないことが示唆された。

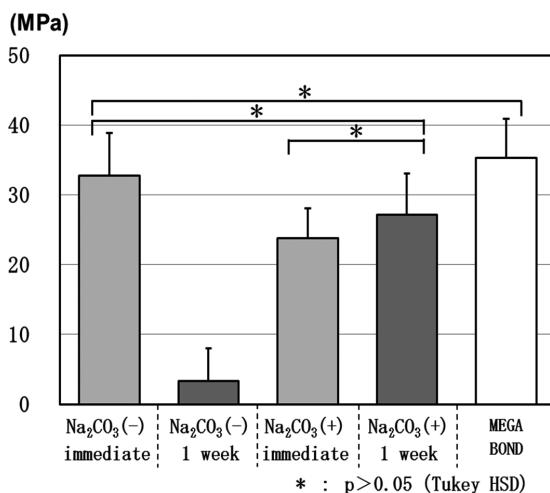


Figure: Bond strengths of experimental and control self-etching primers.

1) 岡崎 恭子: 「光重合型レジンに関する研究-特に 2 ステップシステム製品の保管温度が象牙質接着強さに及ぼす影響について」日歯保存誌, 43 (6) 2000: 1187 - 96.

1 ステップセルフエッチングシステムの根管象牙質接着性能に対する 温風エアブローの効果

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯蝕制御学分野

○田口敬太, 畑山貴志, 佐藤健人, 吉峰斉昭, 高橋真広, 保坂啓一, 中島正俊, 田上順次

The effect of warm air-blowing on the microtensile bond strengths of one-step self-etch adhesive systems to root canal dentin

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

○TAGUCHI Keita, HATAYAMA Takashi, SATO Kento, YOSHIMINE Nariaki, TAKAHASHI Masahiro,
HOSAKA Keiichi, NAKAJIMA Masatoshi, TAGAMI Junji

【研究目的】

支台築造過程で根管窩洞にビルドアップしたコンポジットレジン接着性能は、その歯の予後を左右する重要な因子のひとつである。現在では、操作の簡略化も考慮した 1 ステップセルフエッチングシステムが臨床で多く用いられているが、同接着システムでは含有される溶媒がエアブロー後に残留し、窩洞深部の接着性能が低下することが問題となっている。一方、温風エアブローは溶媒除去効果が高く、接着性能を向上させる手段として注目されている。しかしながら、根管象牙質への接着性能に関する報告はほとんどない。したがって、本研究ではスリーウェイシリンジによる常温エアブロー法とドライヤーを用いた温風エアブロー法を用いて、温風エアブローが 1 ステップセルフエッチングシステムの根管象牙質接着性能に及ぼす効果を検討した。

【材料および方法】

4℃水中に保管した 32 本のヒト健全抜去下顎小白歯を CEJ で歯冠除去した後、歯根部根管内に径 1.5mm、深さ 8mm のポスト窩洞を形成し、1 ステップセルフエッチングシステムとして、クリアフィル DC コアオートミックス ONE キット (クラレノリタケ)、ユニフィルコア EM セット (ジーシー)、エステコア (トクヤマデンタル)、ビューティコアキット EX (松風) を用いて充填した。接着操作は業者指示通り行い、エアブローによる根管乾燥法については、通常のスリーウェイシリンジによる常温エアブローと、ドライヤー (HUGE, コイズミ) を用いた温風エアブローを行った。作製した根管接着試料は 37℃水中に 24 時間保管後、1 窩洞につき歯根軸に対し直角方向に棒状試片 (0.6×0.6 mm) を 8 試料作製し、クロスヘッドスピード 1mm/min にて微小引張り接着試験を行った。得られた結果は 4 試料ずつ歯冠側及び根尖側グループに分類し、材料ごとに 2-way ANOVA および BONFERRONI 法により有意水準 5% にて統計処理した後、走査型電子顕微鏡で破断面形態の観察を行った。なお、本研究でのヒト抜去歯の使用に関しては、東京医科歯科大学倫理審査委員会の承認を受けている (倫理審査番号: 725 号)。

【結果および考察】

	Clearfil DC Core Automix ONE		Unifil Core EM		ESTECORE		BeutiCore	
	normal	warm air	normal	warm air	normal	warm air	normal	warm air
coronal	46.1±11.5 ^{Aa}	50.1±14.9 ^{Aa}	41.4±11.2 ^{Aa}	50.8±15.4 ^{Aa}	25.1±5.4 ^{Aa}	42.1±15.5 ^{Ba}	37.1±10.1 ^{Aa}	50.9±9.3 ^{Ba}
apical	23.1±10.3 ^{Ab}	36.3±7.1 ^{Bb}	25.2±6.5 ^{Ab}	38.1±13.1 ^{Bb}	19.2±6.1 ^{Aa}	26.2±7.5 ^{Bb}	18.9±4.7 ^{Ab}	32.7±9.6 ^{Bb}

Table (above). Microtensile bond strength to root canal dentin (MPa).

All values are mean±SD (n=16). Within the same row in each material, different capital superscript letters showare statistical difference (p<0.05). Within the same column in each material, different lowercase superscripts show statistical difference (p<0.05).

温風エアブローを行った場合、常温エアブローと比較し、根尖側根管窩洞では全ての 1 ステップセルフエッチングシステムで微小引張り接着強さが有意に増加した。さらに 2 種の接着システム (エステコア、ビューティコアキット EX) では、歯冠側根管窩洞でも微小引張り接着強さが有意に増加し、根管内の温風エアブローが根管象牙質への接着性能を向上させることが明らかになった。これは、温風エアブローによる、特に窩洞深部における 1 ステップセルフエッチングシステムの効果的な溶媒除去、さらには根管内環境温度ならびにボンディング材温度上昇による、ボンディング材とコア用コンポジットレジンの重合促進効果が、根管象牙質・ボンディング層・コア用コンポジットレジンから成る接着界面における接着強度を向上させたためであると考えられる。今後、根管内温風エアブロー法の臨床応用が期待される。

新規接着システム G-Premio BOND の接合界面の観察と臨床応用

虎の門病院歯科

○陶山雄司, 山田敏元, 森上 誠, 宇野 滋, 杉崎順平

Interfacial Observation and Clinical Performance with a newly developed adhesive system “G-Premio BOND”

Department of Dentistry, Toranomon Hospital

○SUYAMA Y, YAMADA T, MORIGAMI M, UNO S, SUGIZAKI J

目的) 従来の接着システムにおいて、臨床ステップを簡略化した all-in-one システムが普及している。また、操作時間を短縮するため歯面処理時間の短い製品も市販されており、その簡便性から多くの臨床家に好まれる特性の一つである。GC により開発された G-Premio BOND は処理時間を必要としない、つまり処理時間 0 秒のシステムが登場した。そこで今回我々は、G-Premio BOND について歯質との接合界面の様相を SEM ならびに TEM を用いて観察し、さらに臨床応用を行い検討したので報告する。

材料および方法)

1. 歯質接合界面の SEM 観察

健全なヒト抜去大白歯を用い (虎の門病院臨床試験的研究審査小委員会 No. 926 承認)、歯冠部エナメル質、象牙質を含む平坦面を被着面とした。これらの被着面に対して、水洗、乾燥後 G-Premio BOND を被着面に塗布し、10 秒間放置した後 (以下 GP10S 群)、強圧のエアード乾燥した試料、また、塗布後直ちにエアード乾燥した試料 (以下 GP0S 群) を作製し、MI GRACEFIL を塗布・充填して光硬化したものを接着試片とした。接着試片は水中に 24 時間保管後、垂直に切断され、接着界面が露出するようにエポキシ樹脂に包埋・硬化後研磨し、SEM 観察用の試料とした。試料はイオンシャワー装置 (EIS-200ER, エリオニクス) を用いて 1keV, 1.8mA/cm² の条件でアルゴンイオンエッチングを 35 秒間施した後、白金蒸着を行い、FE-SEM (ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて G-Premio BOND と正常エナメル質、象牙質との接合界面の様相について観察、写真撮影を行った。

2. 歯質接合界面の TEM 観察

SEM 観察と同様の方法で接着試片を作製し、通報に従って 60-80nm の超薄切片を作製し、脱灰、未脱灰・染色、未染色の試料を (JEM-200EX, JEOL) を用いて G-Premio BOND と正常象牙質との接合界面の様相について TEM 観察を行い、写真撮影を行った。

3. 臨床応用

虎の門病院外来受診患者に対して G-Premio BOND と MI Flow, MI GRACEFIL を用いて齶蝕修復処置、審美修復を行い、臨床的に評価した。

結果ならびに考察)

SEM 観察像において GP10S と歯質との界面における接合状態は極めて良好でエナメル質、象牙質との接合界面全面にわたってギャップの形成は認められなかった。象牙質との界面においては 1 μ m 以下の幅でアルゴンイオンによってより粗造感を増した層が観察され、この部分が樹脂含浸層であると考えられた。GP0S も同様にエナメル質、象牙質ともに良好な接合界面が観察された。

TEM 観察における象牙質との界面像においても同様に G-Premio BOND による脱灰の影響でアパタイト結晶が減少し、象牙質表層にレジン成分が含浸した樹脂含浸層が 200~300nm の厚で観察された。

臨床的にも G-Premio BOND の操作性は極めて良好で審美的な修復が可能であった。

結論)

本研究より、G-Premio BOND は歯質に対する良好な接着性能を有していることが明らかになり、臨床で使用するうえでも有望なコンポジットレジン充填システムであることが示唆された。

歯質への作用時間を0秒とした場合の象牙質接着性の検討

北海道大学大学院歯科研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室

○サイケオ ピポップ, チョウドリー アブ ファエム モハammad アルマス, 福山 麻衣, 川野 晋平,
角田 晋一, 星加 修平, 佐野 英彦

Bonding performance of three universal adhesives at zero second application time

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

○SAIKAEW Pipop, CHOWDHURY AFM A, FUKUYAMA Mai, KAWANO Shimpei, KAKUDA Shinichi,
HOSHIKA Shuhei, SANO Hidehiko

Objective: The objective of this study was to evaluate the microtensile bond strength (μ TBS) of three commercial universal adhesives (UAs) at zero second application time.

Methods: Sixty non-carious human third molars were cut to expose mid-coronal dentin and divided into 12 groups ($n=5$) for bond strength test, based on three factors: (1) adhesive – G-Premio Bond (GP, GC CO.), Clearfil Universal Bond (CU, Kuraray Noritake Dental Inc.) and Scotchbond Universal Adhesive (SB, 3M ESPE); (2) bonding application time – zero second application time (0s) or apply adhesive as manufacturer’s instruction (MI); (3) dentin smear layer condition – 600-grit SiC paper preparation or bur cut dentin. After resin composite build-up, specimens were stored in distilled water at 37°C for 24 hours. Three composite/dentin beams per teeth were prepared (1mm^2) and μ TBS was performed. Resin-dentin interface were observed under scanning electron microscope. μ TBS values were analyzed by using Games-Howell analysis.

Results: The μ TBS values of the adhesives are demonstrated in Table 1. All adhesives demonstrated the highest values when applied on SiC prepared dentin according to manufacturer’s instruction. For SiC prepared dentin, μ TBS of CU was dropped at 0s application time. On the other hand, bur cut dentin produced inferior results to SiC prepared dentin. However, only in the case of GP with bur cut dentin, application time influenced the μ TBS values.

Conclusion: Smear layer from bur cut dentin has undesired effect on UAs.

Table 1. The microtensile bond strength values (MPa) of adhesives tested in this study (mean \pm SD).

Adhesive	Surface preparation	Application time	
		0 sec	as manufacturer's instruction
CU	SiC	48.57 \pm 11.82 ^{b,c}	66.33 \pm 10.40 ^a
	bur	14.73 \pm 4.82 ^c	19.59 \pm 6.30 ^c
GP	SiC	61.57 \pm 7.94 ^{a,b}	63.34 \pm 12.07 ^{a,b}
	bur	28.65 \pm 6.66 ^d	46.40 \pm 7.91 ^c
SB	SiC	68.56 \pm 11.14 ^a	68.92 \pm 10.60 ^a
	bur	29.15 \pm 6.67 ^d	35.13 \pm 7.42 ^d

The same letter means no statistical difference ($p<.05$).

新規 1 ステップ接着材の処理時間が微小剪断接着強さに及ぼす影響

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野
○島田康史、三田郁美、手塚弘樹、堀江 圭、荒牧 音、田上順次

Effect of application time of a newly developed one-step selfetch adhesive on microshear bond strength

Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
○Yasushi SHIMADA, Ikumi SANDA, Hiroki TEZUKA, Kei HORIE, Oto ARAMAKI, Junji TAGAMI

【目的】 コンポジットレジン修復における歯質接着材の開発は、セルフエッチングプライマー2 ステップ接着材から 1 ステップ接着材へと移行しつつある。接着材の処理時間の短縮は、臨床操作が手早く行うことができ、また、被着面の唾液や血液による汚染リスクの軽減と抑制という利点がある。新規開発された G-プレミオボンドは、短い処理時間で高い接着性の実現をめざし開発された 1 ステップ接着材である。今回、微小剪断接着試験を用い、G-プレミオボンドの短い処理時間が歯質接着性に及ぼす影響を検討した。

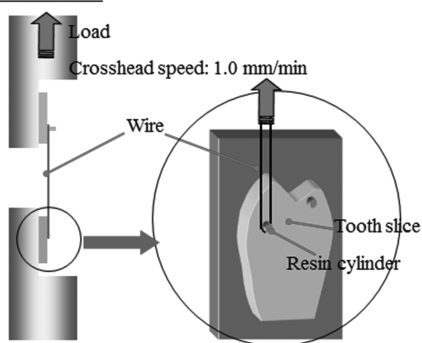
【材料と方法】 ヒト抜去歯の歯冠部から象牙質板を切り出し、耐水研磨紙 #600 にて研磨し、被着体として実験に使用した (東京医科歯科大学倫理審査委員会承認番号 725 番)。接着材として、1 ステップの G-プレミオボンド (PB, ジーシー)、G-ボンドプラス (GB, ジーシー) の 2 種を、また 2 ステップのクリアフィルメガボンド (MB, クラレノリタケデンタル) を用いた。実験群として、

1. PB 10: G-プレミオボンドを塗布、10 秒間後に強圧エアードライ
2. PB 0: G-プレミオボンドを塗布、時間をおかずに (0 秒間後) に強圧エアードライ
3. GB 10: G-ボンドプラスを塗布、10 秒間後に強圧エアードライ
4. MB 20: クリアフィルメガボンドを塗布、20 秒間後にエアードライ

の 4 群を設定し、それぞれの処理を行った象牙質面に幅約 0.5 mm に切出した内径 0.75 mm のタイゴンチューブを設置し、光照射 10 秒間行った (Optilux 501, Kerr)。その後、チューブ内にクリアフィル APX (シェード A2, クラレノリタケデンタル) を充填し、光照射 30 秒間行い、直径 0.75mm の円柱状コンポジットレジン試片を象牙質面に接着させた。試料を 24 時間水中保管後、クロスヘッドスピード 1.0mm/min にて微小剪断接着試験を行った (n = 10)。得られた結果を有意水準 $p = 0.05$ にて統計処理を行った。

【結果・考察】 微小剪断接着試験により得られた結果を表に示す。ヒト象牙質に対する接着強さは PB 10、PB 0、GB 10、MB 20 それぞれ 39.6MPa、39.7MPa、41.8MPa、43.0MPa といずれも高く、統計学的有意差はみられなかった。G-プレミオボンドを用いる場合、象牙質にやや多めに塗布し、強圧エアードライすることによって処理時間の短縮が可能であり、10 秒間の処理時間と同程度の接着強さが得られると考えられた。

Micro-shear bond test



MPa	PB 10	PB 0	GB 10	MB 20
mean	39.6	39.7	41.8	43.0
SD	3.24	3.13	7.70	6.71

最大化にする歯体組織保存のセラミック接着修復

北京大学口腔医学院
○劉峰, 劉詩銘, 程亞麗

To maximize the preservation of ceramic aesthetic repair of dental tissues

Peking university school of stomatology
○LiuFeng, LiuShiming, ChengYali

研究目的：適切な症例と患者を選択し天然歯組織を最大化に保存して、最小限に傷を与え、正確な治療計画を立案し精確な治療操作を行うことを通して機能効果と審美改善を獲得し、審美修復治療を完成して患者に満足できる道と方向を探す

材料と方法：歯に対して審美改善を望む患者に適切な病例を選択して審美情報を集めてデジタル化設計する、研究模型と診断ワックスアップを作製してデザインする、患者に計画目標と治療過程を説明し、患者は同意した後に、口内に mock-up デザインと一時間に体験させる、歯質を削除なし或いは最小限の削除による支台歯を形成した後に、チェアサイズ CAD/CAM システムを用いて即時処理に修復体を完成した、修形後研削、研磨、仕上げ後に歯に接着し、即時的に審美改善を獲得する、術後即時にと再来診療時に患者は治療に満足感の程度を調べる

結果：四年以内 30 例を完成した、400 本歯を無削除或いは微侵襲で修復された。術後即刻診査と再診査時に修復後の色、形態、排列、質感、透明感、マージン適合度など多数指標を評価する。低侵襲と無侵襲完成した修復体の審美効果と使用効果の上で得られた高い成功だ。全体の治療経験からよると、低侵襲快適な治療理念が患者をもっと快適な治療過程を得られた、患者の全体的に認められた。

討論と結論：厳格な設計を通して、最も少ない損傷を代価とすることは美学を獲得して改善できるのは患者が受け取りたい治療効果で、今後歯科治療の“MI 快適な美学歯科”の傾向を一致した。完全な術前設計して多くの症例は微小歯体を削除することを実現することができ、さらに歯体が無侵襲直接に美学治療を完成した。患者の歯の基本美学状況と機能状況に基づいて、“外部修復空間を存在する”と“外部修復空間を存在しない”2種類の状態に分かれることができる、小さい歯、奇形歯、歯体少量欠損、軽い顎側傾く、歯間空隙など状況はすべて歯体以外の空間を利用して修復されることができ、“外部修復空間を存在する”に属して、微小削除或いは無削除で直接に歯を美学修復できる；臨床で歯質の削除量の決定は患者の要求に関する、美学要求高い患者が通常必要とする比較的に大きい程度の歯質を準備して、技師のために十分な修復空間を提供して完璧な修復効果を獲得して、ただし、美学に要求はそんなに高くない患者は、微小削除してさらに完全に削除しない、比較的によい美しい効果のものは前提で、より良いマイクロ傷と快適効果を得られて、もっと患者の歓迎を受ける。チェアサイド CAD/CAM 修復技術は当日修復完成、チェアタイムも短くて治療手順も簡単、大幅に患者の治療を高めて体験して、MI 快適な治療効果の 1 個重要な手段である。

セラミックスに対する表面処理がユニバーサルアドヒーズの接着性に及ぼす影響

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、青島歯科医院³
○辻本暁正^{1,2}、野尻貴絵¹、植田浩章¹、飯野正義¹、高見澤俊樹¹、宮崎真至^{1,2}、青島 裕³

Influence of Ceramic Surface Treatment on Bonding Performance of Universal Adhesives

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science,
Dental Research Center², Nihon University School of Dentistry, Aoshima Dental Clinic³
○TSUJIMOTO Akimasa^{1,2}, NOJIRI Kie¹, UETA Hirofumi¹, IINO Masayoshi¹,
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, AOSHIMA Yutaka³

【目的】

近年、様々な被着体に対して接着性を有するユニバーサルアドヒーズの臨床使用頻度が増加している。これらの接着システムは、その汎用性からセラミック修復物の装着のみならず、これらの修復物辺縁部付近に生じたギャップあるいは齶蝕に対する補修修復を可能としている。一方、セラミックスに対する接着は、ユニバーサルアドヒーズにおいても前処理後の化学的結合を伴った接着の獲得が必要不可欠とされている。しかし、セラミックスに対する表面処理法がユニバーサルアドヒーズの接着性に及ぼす影響の詳細は不明な点が多いのも現状である。

そこで演者らは、セラミックスに対する表面処理法がユニバーサルアドヒーズの接着性に及ぼす影響について検討するとともに、セラミックスに対する表面処理後の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行い、その考察資料とした。

【材料および方法】

供試した接着システムは、ユニバーサルアドヒーズの G-Premio Bond (GP, ジーシー) および Scotchbond Universal Adhesive (SU, 3M ESPE), シングルステップアドヒーズの G-Bond Plus (GB, ジーシー) の、合計 3 製品を用いた。また、セラミックスブロックは、IPS Empress CAD (EP, Ivoclar Vivadent) および IPS e.max CAD (EM, Ivoclar Vivadent) の合計 2 製品を、製造者指示に従って焼成したものを用いた。

1. 接着試片の製作

供試したセラミックスブロックを、SiC ペーパーの#2,000 まで研削し、被着面とした。被着面の前処理法は、水洗 (Control), SiC ペーパーの#180 で研削、フッ酸処理あるいはサンドブラスト処理の、合計 4 条件とした。これらの被着面に対し、シランカップリング材およびアドヒーズを製造者指示に従って塗布した後、光照射を行った。次いで、直径 2.4 mm のデュラコン型を静置し、レジンをペーストを充填、光照射し、接着試験用試片とした。これらの試片は、37 °C 精製水中に 24 時間保管後、あるいは 24 時間保管後にサーマルサイクル試験機を用いて温熱負荷を 10,000 回負荷した後、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いて剪断接着強さを測定した。また、シランカップリング処理を行うことなくアドヒーズ処理のみ行った試片についても測定を行った。

2. SEM 観察

セラミックスブロックに対する表面処理後の形態的な検討を行うため、通法に従って試片を製作し、FE-SEM (ERA-8800FE, Elionix) を用いて、その処理面を加速電圧 10 kV の条件で観察した。

【成績および考察】

EP および EM に対するユニバーサルアドヒーズの接着強さは、SiC#180 研削面、フッ酸処理面およびサンドブラスト面で Control と比較して有意に高い値を示した。また、ユニバーサルアドヒーズの接着強さは、いずれの製品および前処理法においても、シランカップリング処理を行うことにより有意に向上した。温熱負荷後のユニバーサルアドヒーズの接着強さは、24 時間後の接着強さと比較して、いずれの条件においても低下する傾向を示した。セラミックス処理面の SEM 観察においては、前処理法の違いにより異なる像が観察された。このことは、セラミックスの表面性状、シランカップリング処理の有無およびアドヒーズの組成の違いの影響を受けたものと考えられた。

【結論】

セラミックスに対するユニバーサルアドヒーズの接着強さは、前処理法およびシランカップリング処理により向上した。このことから、ユニバーサルアドヒーズのセラミックスに対する接着においては、前処理法およびシランカップリング処理が重要であることが示された。

唾液汚染後のリン酸処理がジルコニアセラミックスの接着に及ぼす影響

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科摂食機能保存学講座う蝕制御学分野

²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

○高橋 彬文¹、高垣 智博¹、佐藤 隆明¹、池田 正臣²、二階堂 徹¹、田上 順次¹

The effect of phosphoric acid etching on the treatment of zirconium ceramics.

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University,

²Clinical Oral Science, Department of Oral Health Care Sciences,
Tokyo Medical and Dental University

○TAKAHASHI Akifumi¹, TAKAGAKI Tomohiro¹, SATO Takaaki¹, IKEDA Masaomi², NIKAIIDO Toru¹, TAGAMI Junji¹

【緒言】

補綴物の口腔内試適時の唾液や血液による修復物内面の汚染は、接着力を低下させる。臨床の場合においては、試適後のクリーニングにはリン酸エッチングが使用されている。ジルコニアセラミックスにおいてはリン酸で処理された表面での接着強さの低下が報告されているが、現在のところ詳細な機序は解明されていない。本研究では、3種のリン酸系機能性モノマーを用い、それぞれにおける唾液ならびにリン酸エッチングの影響を検討することとした。

【材料および方法】

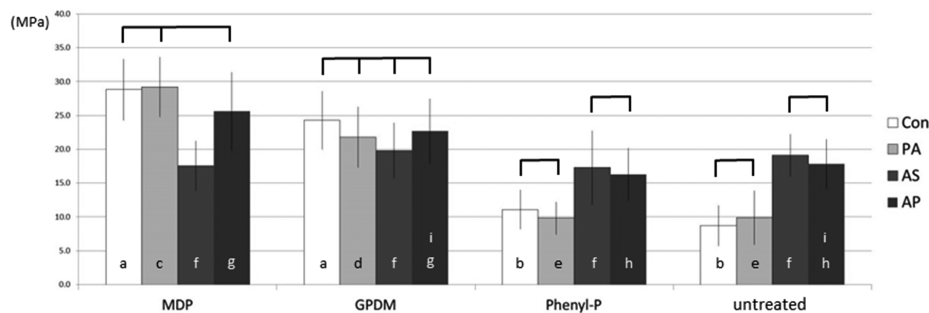
ジルコニアセラミックス被着体 (KATANA HT, クラレノリタケデンタル) 表面を耐水研磨紙 #600 にて研削した後、50 μm アルミナにてサンドブラスト処理し、超音波洗浄 (脱イオン水 5 分, エタノール 2 分) した。人工唾液 (1mM CaCl₂, 3mM KH₂PO₄, 100mM NaCl, 100mM Na acetate, 0.02% NaN₃, pH 6.3) を作製し、リンタンパク質としてカゼインを 100 μg/ml 添加した。コントロール群 (Con), リン酸処理 (K エッチャント, クラレノリタケデンタル) のみ群 (PA), 人工唾液浸漬群 (AS), 人工唾液浸漬後リン酸処理群 (AP) の 4 群に分けた。その後表面処理剤として 3 種のリン酸系機能性モノマー MDP, GPDM, Phenyl-P 1% 溶液 (エタノール 50%, アセトン 50%) を用いて、それぞれ 10 秒間処理を行った群, ならびに未処理群に分けた。接着面はアルミテープを用いて直径 4 mm, 厚さ 100 μm に規定した。エステティックセメント (クラレノリタケデンタル) を用いて被着体にステンレス棒を植立し、光照射にて硬化させた。試料は水中に 24 時間浸漬した後、万能試験機 (AUOTOGRAPH AGS-J 島津製作所) にてクロスヘッドスピード 2 mm/min にて引張接着試験を行った。また、得られた結果については、2 元配置分散分析と t-test を用いて危険率 5% にて検定を行った。また、有意水準の調整にはボンフェローニの補正を用いた。

【結果ならびに考察】

得られた接着強さを図に示した。PA 群では MDP 処理が他群と比較して最も高い接着強さが得られた。AS 群では MDP 処理においてのみ接着強さが有意に低下したが、全ての表面処理剤間で接着強さに有意差は見られなかった。すなわちリンタンパク質が被着面に残留し、各機能性モノマー処理で除去されない可能性が示唆された。AP 群においては MDP 処理において有意に接着強さの回復が認められたが、他の 3 群ではリン酸処理後も有意な変化は見られなかった。

【結論】

リン酸による前処理は、ジルコニアに対する初期接着強さに影響を及ぼさなかった。また、唾液汚染により、機能性モノマーのジルコニアセラミックス表面との反応が阻害される可能性が認められた。唾液汚染後のジルコニアセラミックス表面の処理法については、長期耐久性なども含めたさらなる検討が必要と考えられる。



and same superscript within each treatment group (i.e. PA) are not significantly different from each other ($p > 0.05$)

Fig. Tensile bond strength in each group (n=10)

ボンド中の機能性モノマー濃度が象牙質浸透性へ及ぼす影響

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系専攻摂食機能保存学講座う蝕制御学分野

²東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 医療基盤材料研究部門有機生体材料学分野

○松井七生子¹、高垣智博¹、徐知勲²、二階堂徹¹、由井伸彦²、田上順次¹

A confocal fluorescence microscopic analysis on the effect of the MDP concentration in bonding agent.

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University,

²Department of Organic Biomaterials, Institute of Biomaterials and Bioengineering,
Tokyo Medical and Dental University,

○Naoko Matsui, Tomohiro Takagaki, Ji-Hun Seo, Toru Nikaido, Nobuhiko Yui, Junji Tagami

[研究目的]

レジン-歯質接着界面の酸-塩基処理後に観察される Acid-base resistant zone (ABRZ) の形成には機能性モノマーと HAp との化学的な相互作用が重要な役割を果たすことが示唆されている。現在、臨床で使用されている 2 ステップセルフエッチング接着システムは、セルフエッチングプライマーとボンドの両方に機能性モノマーが配合されている。ボンド中の機能性モノマーは象牙質への浸透性に関与し、良質な接着界面の形成に寄与する可能性が示唆されているが、詳細な機序については未だ明らかになっていない。本研究の目的は、蛍光色素にて修飾した機能性モノマーを用いて、ボンド中の MDP 濃度が象牙質浸透性に及ぼす影響について、共焦点レーザー顕微鏡を用いた蛍光観察を行い形態学的に検討することである。

[材料及び方法]

クリアフィルメガボンド (クラレノリタケデンタル社製) 付属ボンドと MDP 無配合、MDP2 倍量、5 倍量、10 倍量配合の試作ボンドを作製した。蛍光色素 (TAMRA-DBCO, click chemistry Tools) を修飾した 5%MDP エタノール溶液 (MDP-DBCO) を 4 : 1 (ボンド : MDP-DBCO) の割合で混和、各群 M-0、M-1M、M-2M、M-5M、M-10M とし、材料とした。ヒト第三大臼歯を歯軸に垂直に切断して象牙質を露出させ、#600 耐水研磨紙にて研削した。クリアフィルメガボンド付属のプライマーにて 20 秒処理後、各群ボンドいずれかを塗布し、それぞれ 10 秒間光照射を行った。その後、クリアフィルマジスティ LV (クラレノリタケデンタル社製) を築盛、光照射し、37°C 水中に 24 時間保管して試料とした。接着界面に垂直に切断し包埋後、試料を約 50 μm に薄切、研磨後、共焦点レーザー走査型顕微鏡 (FV10i, オリンパス社製) を用いて蛍光観察を行った。

[結果および考察]

全ての群において赤色の蛍光がボンド層ならびに象牙質細管内に侵入したレジntag部に確認された。M-0 群においてはボンド層、レジntag部のみで蛍光が観察された。一方、M-1M 群においては不明瞭であったが、M-2M 群においては接着界面から象牙質側に明らかな蛍光が認められ、さらに M-5M 群、M-10M 群においては、ボンド中の MDP 濃度が高くなるに従って、接着界面から象牙質方向へより深くまで蛍光が観察された。発表者らは、これまでにボンドに MDP を添加することによって、ボンドの親水性が向上し、さらに MDP が象牙質中の水分に溶解することによって、ボンドの象牙質浸透性が向上する可能性について報告した。また、ボンド中の MDP は樹脂含浸層直下の ABRZ の形成に影響し、MDP 未添加のボンドにおいては ABRZ 直下に erosion の形成を認めた。本研究の結果は、セルフエッチングプライマー処理した象牙質に対するボンドの浸透性が MDP の濃度に影響を受けることを示している。M-0 群では接着界面近傍においてのみ蛍光が観察されたことは、M-0 群においてボンドの浸透が界面近傍に限られる。このことは酸-塩基処理後の接着界面において ABRZ 直下に erosion が形成されるメカニズムとの関連性を示唆している。

[結論]

- ・ 蛍光色素による機能性モノマーの修飾による象牙質接着界面の共焦点レーザー走査型顕微鏡による観察は、ボンドの象牙質への浸透性を視覚的に評価するのに有効であることがわかった。
- ・ 2 ステップセルフエッチング接着システムにおけるボンド中の MDP は、従来報告されてきた樹脂含浸層よりも象牙質側へ深く浸透し、象牙質における ABRZ の形成に寄与する可能性が示唆された。

クロスヘッドスピードとフロアブルコンポジットレジンが微小引張接着強さに及ぼす影響の
光干渉断層計による観察

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野, 国立長寿医療研究センター
○ルンダオミングエド、島田康史、サダルアレザ、田上順次、角 保徳

Effect of microtensile bond strength crosshead speed and flowable composite on bond test results using optical coherence tomography

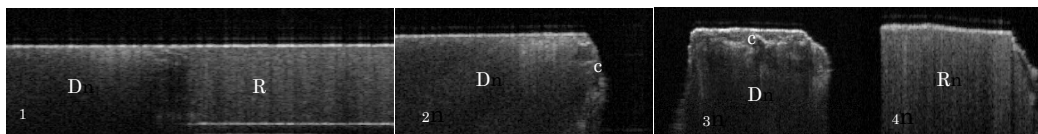
Tokyo Medical and Dental University, National Center for Geriatrics and Gerontology
○Luong Dao Minh Nguyet, Yasushi Shimada, Alireza Sadr, Junji Tagami, Yasunori Sumi

[Objectives] To determine the effect of microtensile bond strength test (MBST) crosshead speed on the bonding interface with and without lining flowable composite using optical coherence tomography.

[Materials and methods] Flat dentin surfaces of human premolars were restored with two step self-adhesive SE Clearfil (Kuraray) in conjunction with a resin composite Clearfil AP-X with or without a flowable composite lining Estelite Flow Quick (Tokuyama), then cured by halogen light curing according to the manufacturer's instructions and restored in 24 hours in water at 37°C. After checking by OCT to eliminate samples with defects and gaps at interface, the specimens were cut into beam of 0.81mm² and 2D scan images before bond test by OCT were recorded. The MBST was performed with crosshead speed of 1mm/min and 10mm/min. The debonded specimens were observed by CLSM and OCT with the scanning beam perpendicular to the interface and to the lateral surface. Five to ten serial 2D scans of both dentin and resin parts were obtained at 1310 nm center wavelength to observe the change of interface. The images of OCT were analyzed using ImageJ to quantify the cracks. The region of interested (ROI) was selected as a rectangle (0.5mmx1mm) with the depth of 0.5mm from the interface, the specimen surface excluded. The percentage of cracks area / ROI area were calculated for cracks quantification. Representative samples with interfacial cracks were embedded in epoxy resin and polished to confirm the presence of cracks under CLSM.

[Results] Two-way ANOVA showed no significant difference in bond strength between the group using crosshead speed of 1mm/min and 10mm/min, while the bond strength value of the groups using universal composite was statistically different to one using flowable composite lining (p<0.05). On OCT viewing, there were bright lines and dots at the interface recorded as cracks and microcracks on the dentin side of the debonded specimens correspondent to CLSM images on the same section which exhibited extended dentinal tubules, whereas no crack were detected on the composite side of the debonded specimens. The group using flowable resin lining with the speed of 10 mm/min showed significantly more cracks than one using same method of lining with the speed of 1mm/min; while there was no difference in quantification of cracks in the groups using only universal composite.

[Conclusions] Flowable composite tend to be more sensitive on the different crosshead speeds in the view point of dentin cracks occurrence after MTBS.



Material/Crosshead speed	MTBS mean value (SD) *	Crack area / ROI (%) (SD) **
Flowable/1mm/min	47.15 (6.41) ^A	1.85 (2.35) ^a
Flowable/10mm/min	46.0 (4.08) ^A	5.92 (4.27) ^b
Universal/1mm/min	37.1 (5.39) ^B	3.2 (2.88) ^{a,b}
Universal/10mm/min	40.3 (5.35) ^B	5.08 (3.77) ^{a,b}

SS-OCT images obtained from microtensile bond test specimens
1: before test
2-4: after test
D: dentin, R: resin, c: cracks

Similar letters indicate no significant differences. * Two-way ANOVA test, ** T-test, p<0.05

2 種の新規象牙質接着材の微小引張り強さ

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室

○チョウドリーアブファエムモハマッドアルマス、サイケオピポップ、丁世俊、福澤尚幸、川野晋平、
角田晋一、星加修平、佐野英彦

Microtensile bond strength of two newly developed commercial self-etch systems

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Graduate School of Dental
Medicine, Hokkaido University, Sapporo, Japan

○Chowdhury AFM A, Saikaew P, Ting S, Fukuzawa N, Kawano S, Kakuda S, Hoshika S, Sano H

Objective: The purpose of this study was to evaluate the microtensile bond strength (μ TBS) of a newly developed two-step self-etch adhesive, Clearfil SE Bond 2 and a one one-step self-etch adhesive, Clearfil Universal Bond to dentin.

Methods: Occlusal dentin surfaces of fifteen sound extracted human molars were exposed and subsequently polished with 600-grit SiC paper under running water. They were then randomly divided into three test groups (n=5): Clearfil SE Bond 2 (CSE2), Clearfil Universal Bond (CU) and Clearfil SE Bond (CSE). The latter was used as the control. Following composite resin (Clearfil AP-X) build up, the specimens were stored in distilled water at 37°C for 24 h. Four teeth from each group were used to prepare composite/dentin beams (cross-sectional area: 1 mm²) and μ TBS test was performed at a crosshead speed of 1mm/min. The data were analyzed with one-way ANOVA followed by Duncan's post-hoc at p<0.05. Resin-dentin interfaces obtained by longitudinal sectioning of the rest of the teeth were observed under scanning electron microscope (SEM).

Results: The mean \pm SD μ TBS of the tested adhesives are shown in the table followed. CSE2 showed significantly higher μ TBS than CU and CSE (p<0.05). However, the latter two showed no significant difference between each other (p>0.05). In SEM, despite of having considerably thinner resin layer than its counter-parts the CSE specimen showed better resin penetration.

Conclusion: Dentin μ TBS of CSE2 is significantly higher than CU and CSE.

Table: Mean \pm SD μ TBS of the tested adhesives

Adhesive	μ TBS in MPa
CSE2	98.63 \pm 8.73 ^a
CU	89.24 \pm 14.17 ^b
CSE	82.11 \pm 10.38 ^b

Same superscript letter indicates no significant statistical difference (p>0.05).

頬側咬頭に対する荷重方向の違いがレジンコア支台築造モデルにおける接合界面のせん断応力分散に及ぼす影響

¹ 東京医科歯科大学大学院 摂食機能保存学講座 う蝕制御学分野

² 東京医科歯科大学大学院 摂食機能保存学講座 部分床義歯補綴学分野

○畑山貴志¹ 中島正俊¹ 保坂啓一¹ 貝ノ瀬公典¹ 若林則幸² 田上順次¹

The influence of load direction on shear stress distribution of adhesive interface in resin build-up tooth

¹ Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

² Removable Partial Prosthodontics, Tokyo Medical and Dental University

○Takashi Hatayama¹, Masatoshi Nakajima¹, Keiichi Hosaka¹, Kimisuke Kainose¹, Noriyuki Wakabayashi², Junji Tagami¹

【目的】

現在、根管治療を行った失活歯において、レジンコア築造を行う場合、レジンコアと歯質の接合界面における接着、とりわけポスト部よりコア底面の接着の方が重要であることが示唆されている。本研究の目的は、歯冠にかかる荷重方向が変わることにより、レジンコアと歯質の接合界面にかかるせん断応力がどう変化するのかについて、ファイバーポストの埋入、ポスト窩洞形成の有無の影響とともに検証することである。

【方法】

根管治療後の下顎第一小臼歯歯根、歯根膜、歯槽骨、根管充填材、レジンコアおよびセラミッククラウンからなる三次元ボリュームを製作した。各部は接着していると仮定し、各部の弾性係数とポアソン比は報告されている実験値を引用した。レジンコア支台築造モデルに関しては、ポスト窩洞 0 mm、6 mm のモデルを作り、6 mm のモデルにはファイバーポストを埋入したモデルとしていないモデルを作製した。計 3 つの各モデルを六面体要素により分割し、収束試験で安定性が確認された節点数約 140000、要素数約 10000 で解析を行った。骨の底面を固定し、クラウン頬側咬頭頂に歯軸に対し頬側に、また舌側に 45° 傾斜した方向からそれぞれ 400N の荷重をかけ、レジンコア底部と歯根の接合界面におけるせん断応力を算出した。

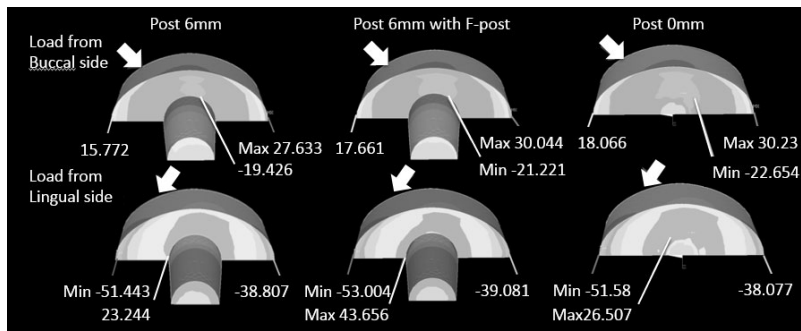
【結果】

1) コア底部外周部: 頬側咬頭頂に頬側方向から荷重がかかった場合と、舌側方向からかかった場合で、コア底部外周接合界面にかかるせん断応力に大きな差があることが判明した。すなわち頬側咬頭頂に舌側方向から荷重をかけた場合、舌側コア底部外周の接合界面に約 40 MPa、頬側の接合界面には 50 MPa を超える大きなせん断応力が生じた。一方、頬側方向から荷重をかけた場合、舌側、頬側のコア底部外接合界面に、それぞれ約 30 MPa、20 MPa のせん断応力が生じた。これらの値はポスト窩洞形成の有無、ファイバーポストの挿入の有無にあまり影響を受けなかった。

2) コア底部中央部: 中央部においては、頬側方向と舌側方向の荷重方向の違いによって、大きな差は認められなかった。

【考察および結論】

頬側咬頭頂に頬側方向から荷重をかけたときはコア底部外周部の頬側接合界面にせん断応力集中が生じ、舌側方向から荷重をかけると、コア底部外周部の舌側接合界面に大きなせん断応力が生じた。ファイバーポスト埋入や、ポスト窩洞形成は、コア底部接合界面にかかるせん断応力を軽減させる効果は認められなかった。しかしながら、算出された接合界面にかかるせん断応力は 30~50 MPa と大きな値であり、レジンコア支台築造歯の破壊強さ測定においては、ポスト窩洞形成は、歯根とポストコアの接合界面の面積が大きくなることにより有効に働く可能性がある。



Er,Cr : YSGG レーザーによる窩洞形成と接着システムがラットの歯髄反応に及ぼす影響

¹ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻

² 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座、³ 日本歯科大学新潟生命歯学部解剖学第2講座

○高田真代¹、鈴木雅也²、羽下-辻村麻衣子³、新海航一²

Effects of cavity preparation with Er,Cr:YSGG laser and adhesive systems on rat-pulp response

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

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

³ Department of Histology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

○TAKADA Mayo¹, SUZUKI Masaya², HAGA-TSUJIMURA Maiko³, SHINKAI Koichi²

【緒言】 Er,Cr : YSGG レーザー一切削面に対するコンポジットレジン接着強さは接着システムによって差があり、象牙質表層の熱変性層の存在により低下したという報告が多い。接着強さが不十分な場合、辺縁封鎖性が低下し細菌漏洩が生じる可能性がある。また、Er,Cr : YSGG レーザーを用いた窩洞形成が歯髄に及ぼす影響についても不明な点が多い。したがって、レーザー一切削された窩洞を各種接着システムで修復した際の歯髄刺激について短期的および長期的に検討する必要がある。そこで本研究は、Er,Cr : YSGG レーザーで形成された窩洞に対し、各種接着システムを用いてコンポジットレジン修復を行い、24時間後と14日後の歯髄反応について病理組織学的に比較検討した。本研究は、本学動物実験倫理委員会の承認を得て行った(整理番号:155)。

【材料および方法】 8~9週齢の雄性SD系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭部にEr,Cr : YSGGレーザーを用いて窩洞形成を行った。レーザーの照射距離はチップ先端から約1.5mmとし、照射条件は予備実験の結果から、ラットの歯の形成に適した40Hz、Water30%、Air50%に設定し、出力はエナメル質で2.5W、象牙質で2.0Wとした。各窩洞に対する接着システムとしてGroup 1: 2ステップセルフエッチングシステム (Mega Bond : MB、クラレノリタケデンタル) を用いてメーカー指示に従い処理後、10秒間光照射を行った。Group 2: 40%リン酸水溶液 (K-etchant : KET、クラレノリタケデンタル) を用いて30秒間処理後に水洗乾燥し、MBを用いて処理後、10秒間光照射を行った。Group 3: KETで30秒間処理後に水洗乾燥、次に10~15%次亜塩素酸ナトリウム溶液 (AD Gel、クラレノリタケデンタル) を90秒処理後に水洗乾燥、さらにMBを用いて処理後、10秒間光照射を行った。Group 4: 1ステップセルフエッチングシステム (Tri-S bond ND Quick、クラレノリタケデンタル) を塗布後にエアブローし、10秒間光照射を行った。各種接着システムを応用した後、Clearfil Majesty LV (クラレノリタケデンタル) を填塞した。またControlは歯面処理を行わず、Fuji VII (GC) を填塞した。修復処置を行ってから24時間あるいは14日間の観察期間を経た後、4%PFA溶液による経心的灌流固定を行い屠殺した。摘出試料は10%EDTA溶液による脱灰後、通法に従ってパラフィン包埋を行い、連続薄切切片を作製しH-E染色を施した。光学顕微鏡を用いて染色した薄切切片を観察し、歯髄組織の変化(PTD)、炎症性細胞浸潤(ICI)および修復象牙質の形成(RDF)について各々4段階で病理組織学的評価を行った。得られたデータは、Kruskal-Wallis testを用いて各評価項目における実験群間の有意差について、また、Mann-Whitney U testを用いて観察期間の間の有意差について統計的に検定した($p < 0.05$)。

【結果および考察】 いずれの実験群も修復処置を行ってから24時間後の試料では、窩底部直下の象牙細管の走行に沿った象牙芽細胞層において象牙芽細胞の消失や配列不正そして比較的大きな空胞形成を認め、歯髄内に若干の炎症性細胞浸潤も認められた。しかし、14日後の試料では、象牙芽細胞層の変化と炎症性細胞浸潤は消失し、窩底部直下の象牙細管の走行に沿った部位に修復象牙質の形成が観察された。また、レーザー一切削された象牙質面にはエオジン好染の熱変性層を認めた。統計分析の結果、いずれの観察期間においてもすべての評価項目で実験群間の有意差は認められなかった($p > 0.05$)。また24時間後と14日後を比較すると、PDTとICIの評価項目ではGroup 1、Group 3およびGroup 4において有意差を認め($p < 0.05$)、PTDの評価項目ではすべての実験群において有意差を認めた($p < 0.05$)。したがって、歯髄はレーザー一切削による熱刺激の影響を受けて象牙芽細胞層に軽度~中程度の変化が生じるが、Controlと同様にいずれの接着システムにおいても時間の経過とともにそれらの変化は消失し、治癒する傾向があることが示唆された。

【結論】 24時間後の試料では、いずれの実験群においても軽度~中等度の歯髄反応がみられたが、実験群間に有意差を認めなかった。一方、14日後の試料では、歯髄反応はほとんど消失し、象牙細管の走行に沿った部位に修復象牙質の形成が認められた。今後は細菌侵入について確認し、さらに免疫組織化学染色を用いて各実験群における歯髄の病理組織学的変化を詳細に比較検討していく予定である。

多種イオン徐放性フィラー含有試作アドヒーシブレジンをを用いた 直接覆髄法に関する研究

¹⁾ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻
²⁾ 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座, ³⁾ 日本歯科大学新潟生命歯学部解剖学第2講座
○川嶋 里貴¹⁾, 鈴木 雅也²⁾, 羽下-辻村麻衣子³⁾, 新海 航一²⁾

Effect of an experimental adhesive resin contained multi-ion releasing fillers on the direct pulp-capping

¹⁾Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata
²⁾Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
³⁾Department of Histology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
○KAWASHIMA Satoki¹⁾, SUZUKI Masaya²⁾, HAGA-TSUJIMURA Maiko³⁾, SHINKAI Koichi²⁾

【研究目的】 S-PRG フィラーは、多機能性ガラス、ガラスイオノマー相および表面改質層の3層からなり、Na, Al, Si, F, Sr および B の6種類のイオンを徐放するという機能性フィラーである。Sr と B は石灰化促進作用を有することから、S-PRG フィラーを配合したアドヒーシブレジンを直接覆髄材として応用できる可能性がある。本研究の目的は、S-PRG フィラー含有試作アドヒーシブレジンをラット露髄面に応用した際、フィラー含有量の違いが露髄面の治癒態度に及ぼす影響について検討することである。本研究は、本学動物実験倫理委員会の承認を得て行った(整理番号:671)。

【材料と方法】 8~9週齢の雄性SD系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭を露髄させ、創面をADゲル(クラレノリタケデンタル)にて5分間処理を行った。次に6%NaClOと3%H₂O₂による交互洗浄を行い、止血を確認してから直接覆髄に移行した。実験群を下表に示す。4種類の試作アドヒーシブレジンは、フルオロボンドシェイクワン(松風)を基本組成とし、各々、S-PRG フィラーを0, 13, 27, 40wt%含有している。まず、A液とB液を1滴ずつ採取して混和した後、露髄面を含む窩洞全面に塗布した。20秒間放置し、エアー乾燥後、Candelux(モリタ)を用いて照射を10秒間行った。ControlはMTAセメント(プロルートMTA:デンツプライ三金)で覆髄後、窩洞内面処理にフルオロボンドシェイクワンを用いたものとした。次いで、コンポジットレジン(ビューティフィルフロープラスF03:松風)を窩洞に充填して照射を40秒間行い、処置を完了した。観察期間(14日と28日)後に屠殺、4%PFA溶液で固定後、摘出した試料を10%EDTA溶液にて脱灰した。通常にてパラフィン連続薄切切片を作製し、H-E染色を行った。光学顕微鏡を用いて、染色した薄切切片を観察し、歯髄組織の変化(PTD)、炎症性細胞浸潤(ICI)および象牙質橋・修復象牙質の形成(RDF)について各々4段階で病理組織学的評価を行った。統計学的解析には、ノンパラメトリック検定を行い、各評価項目における実験群間の有意差検定はKruskal-Wallis test, 観察期間の間の有意差検定はMann-Whitney U testを用いた。

【結果ならびに考察】 いずれの実験群においても歯髄組織に炎症性変化を認めず、ほとんどの試料で修復象牙質の形成を認めたが、形成された修復象牙質の量や形状は実験群によって様々であった。Kruskal-Wallis testの結果、観察期間14日ではRDFの評価項目でGroup 1とControl, 観察期間28日ではRDFの評価項目でGroup 1と2, Group 1とControl, Group 2と4, Group 4とControlの間に有意差を認めた。また、Mann-Whitney U testの結果、RDFの評価項目でGroup 2の観察期間14日と28日の間に有意差を認めた。観察期間28日においてGroup 2と3は、Controlと有意差なく完全象牙質橋を認めたが、その厚みは薄くてControlには及ばなかった。その他の評価項目では、いずれの観察期間においても実験群間に統計学的有意差は認められなかった。また、すべての実験群でシリカフィラーや象牙質切片が歯髄組織内部へ迷入している試料が認められ、とくにGroup 1は他の実験群と比較してシリカフィラーの迷入量が多い傾向を示した。

【結論】 S-PRG フィラーを含有する試作アドヒーシブレジンはS-PRG フィラー無配合のものと比較して早期に修復象牙質を形成し、S-PRG フィラー含有量13wt%と27wt%のアドヒーシブレジンが観察期間28日でControlと有意差なく完全象牙質橋を形成した。また、いずれの実験群においても歯髄の炎症性変化は認められなかった。

Group (n=6)	Experimental adhesive resin	
	Filler contents (wt%)	
	S-PRG filler (3 μm)	Silica filler (1 μm)
Group 1	0	40
Group 2	13	27
Group 3	27	13
Group 4	40	0
Control	MTA cement Fluorobond shakeone	

ラット歯髄炎における MMP-2、MMP-9、TIMP-1、および TIMP-2 の免疫組織学的局在

愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座

○山崎 雅弘、川合 里絵、森本 太輔、今泉 一郎、柴田 直樹、中田 和彦

Histochemical localization of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in rat pulpal inflammation

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University, Nagoya Japan

○Masahiro YAMASAKI, Rie KAWAI, Taisuke MORIMOTO, Ichiro IMAIZUMI, Naoki SHIBATA, and Kazuhiko NAKATA

【目的】

歯髄炎は細菌感染により惹起される歯髄組織の炎症性変化であり、歯髄から歯根膜、さらには歯槽骨へと連なる一連の結合組織の炎症反応として捉えることができる。これらの結合組織は、それぞれの組織に固有な実質細胞と、その間隙を満たす細胞外基質成分 (extracellular matrix: ECM) から構成されている。セリンプロテアーゼやマトリックスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinases: MMPs) などのタンパク分解酵素がこの ECM 分解に関与している。これまで私たちは、ラット根尖病変の成立過程で、種々のタンパク分解酵素の役割を検討してきた。また、MMPs には共通の内因性阻害因子である tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) が存在することが知られている。そこで本研究では、ラット臼歯で実験的に歯髄炎を惹起し、歯髄組織中でゼラチナーゼ (MMPs-2、MMP-9) および阻害因子である TIMP-1、TIMP-2 を免疫組織化学的に検出して比較検討した。

【材料および方法】

ラットの下顎第一臼歯咬合面近心部をラウンドバーで穿通し、歯髄を露出してそのまま放置した。露髄後 2、4、7 および、14 日で動物を屠殺して下顎骨を摘出した。下顎骨を固定、脱灰して凍結切片を作製した。Santa Cruz biotechnologies (Santa Cruz, CA USA) 社製の MMP-2 (sc-6838)、MMP-9 (sc-6841)、TIMP-1 (sc-6832)、および TIMP-2 (sc-6835) に対するポリクローナル抗体を使用して免疫組織染色を施し、下顎第一臼歯近心根の歯髄組織を組織学的および免疫組織化学的に観察した。

【結果】

組織学的には、露髄後 2 日で露髄部に膿瘍が形成され、周囲の歯髄組織には炎症性細胞浸潤が観察された。4 日では露髄部に壊死層が形成され、直下に膿瘍がみられた。周囲組織の炎症性細胞は増加、拡大した。7 日では歯髄の壊死層が根尖側方向に拡大し、残存する歯髄組織の炎症性細胞は、さらに増加して広がった。14 日では歯髄の半分以上が壊死に陥り、残存歯髄には強度の炎症性細胞浸潤が認められた。

免疫組織化学的には、MMP-2 は、露髄後 2 日では膿瘍および露髄部にわずかに観察された。4 日で増加、拡大し、膿瘍および周囲の歯髄組織でも検出された。さらに 7、14 日と増加、拡大した。MMP-9 は、2、4 日では膿瘍および露髄部にわずかに検出された。7、14 日で増加、拡大し、膿瘍および歯髄組織で MMP-2 と同様に認められた。

TIMP-1 は、2、4 日では膿瘍および露髄部にわずかに観察された。7、14 日で増加、拡大し、歯髄組織にもみられた。

TIMP-2 は、2 日で増加して膿瘍および周囲の歯髄組織で広範囲に認められた。そして 14 日まで同様に検出された。

【考察】

歯髄組織の炎症性細胞浸潤と同時に、TIMP-2 は早期に発現、増加した。次いで MMP-2 が増加した。しかし、MMP-9 および TIMP-1 は、歯髄の炎症が拡大後に増加した。歯髄組織の ECM 分解過程で、TIMP-2 は初期に重要な役割を有する可能性が推測された。さらに、MMP-2 との関連性が示唆された。また、MMP-2 が MMP-9 よりも早く増加したのは、前者が組織常在の線維芽細胞などに由来し、後者が好中球などの浸潤細胞に由来することに起因すると推察される。

【結論】

本実験の結果から、ラット臼歯の歯髄炎では、MMP-2、MMP-9、TIMP-1、および TIMP-2 は組織中から検出された。このことから、歯髄の炎症過程に関与することが判明した。さらに、TIMP-2 および MMP-2 は、MMP-9 と TIMP-1 よりも、露髄後、早期に発現して増加した。特に TIMP-2 は最も早く増加が観察された。

Whole mount 免疫染色による Iba1 陽性マクロファージの ヒト歯髄における三次元的解析

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¹ 歯制御学分野² 歯髄生物学分野
○荒牧音¹、川島伸之²、島田康史¹、興地 隆史²、田上順次¹

The 3D analysis of Iba1⁺ macrophages in human dental pulp by whole mount immunostaining

¹Cariology and Operative Dentistry, ²Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○Oto ARAMAKI¹, Nobuyuki KAWASHIMA², Yasushi SHIMADA¹, Takashi OKIJI², and Junji TAGAMI¹

【研究目的】 多くの間質組織にはマクロファージと樹状細胞が存在し、免疫応答あるいは免疫寛容に重要な役割を果たしている。マクロファージは特に老化細胞や壊死した組織片を除去し組織の恒常性維持を担うことがわかっている。また、間葉系組織であるヒト歯髄組織においてもマクロファージが存在すると報告されている。Ionized calcium binding adaptor molecule 1 (Iba1) は脳内においてマクロファージ/ミクログリアに特異的に発現している分子量 17,000 のカルシウム結合タンパク質として同定された¹⁾。Iba1 抗原は脳内のマクロファージ/ミクログリアのみならず、全身のマクロファージにも発現している。今回、Iba1 をターゲットにヒト歯髄内におけるマクロファージの分布様式を検討するとともに、Iba1 陽性マクロファージと神経との関連を、Whole mount 免疫染色により三次元的に検討したので報告する。

【材料および方法】 ヒト健全抜去歯をタービンにより分割し歯髄組織を摘出した後、4%パラフォルムアルデヒドにて固定(4°C, over night)した(東京医科歯科大学 倫理審査委員会承認 #948)。固定した歯髄組織はリン酸塩緩衝液(PBS)にて洗浄し、蛍光免疫染色に供した。一次抗体として抗 Iba1(rabbit IgG, Wako)、抗 neurofilament (2H3: Mouse IgG; Developmental Studies Hybridoma Bank)を使用し、二次抗体として Alexa488 fluorescence-conjugated anti-mouse IgGs (Molecular Probes), Cy5-conjugated anti-rabbit IgGs (Jackson Immuno Research)を使用した。さらに DAPI (Molecular Probes)にて核染色を行った。蛍光画像の観察には共焦点レーザー走査型顕微鏡 FV1000 (Olympus) を用い、三次元画像構築には FV10-ASW (Olympus)を使用した。

【結果】 根部歯髄においては neurofilament 陽性の神経線維の多くは歯軸に平行に走行しているが、冠部歯髄においては複雑に分岐している像が観察された。一方、Iba1 陽性細胞は主に紡錘状の形態を呈し、根部歯髄においてはやや疎に存在し、その多くが歯軸に平行に存在していたが、冠部歯髄においては密に存在するとともに、その細胞の方向性に特に傾向は認めなかった。

【考察】 ヒト歯髄には真皮樹状細胞のマーカーである Factor XIIIa、あるいはマクロファージマーカーである CD14、CD68 を発現する多様なマクロファージ/樹状細胞様細胞が多数存在することが報告されている²⁾。今回我々はマクロファージのマーカーとして広く使用されている Iba1 に対する抗体を用いて、ヒト歯髄内における Iba1 陽性細胞の分布様式を検討したところ、特に歯冠歯髄において Iba1 陽性細胞を豊富に認めた。しかしながら、上述のマクロファージ/樹状細胞様細胞と Iba1 陽性細胞との異同については今後の解析が必要である。また、whole mount 免疫染色によりマクロファージの局在および神経の走行を三次元的に把握することが可能であった。今後、健全歯髄のみならず歯髄に罹患した炎症歯髄におけるマクロファージおよび神経の動態について検討していきたい。

【結論】 ヒト歯髄内において Iba1 陽性マクロファージが多数存在していた。

【参考文献】

- 1) Ito D, et al, *Mol Brain Res.* 1998;57(1):1-9.
- 2) Sakurai K, et al, *J Dent Res.* 1999;78(10):1596-608.

歯髄組織および歯肉組織より得られた間葉系幹細胞の硬組織形成細胞への分化能の比較

国立大学法人 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 歯髄生物学分野

○川島伸之、山本弥生子、橋本健太郎、Alamuddin Bakhit、小泉悠、
辺見浩一、大井智恵、鈴木規元、興地隆史

Comparison of odonto/osteogenic differentiation potential of mesenchymal stem cells isolated from dental pulp and gingiva

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○N. Kawashima, M. Yamamoto, K. Hashimoto, A. Bakhit, Y. Koizumi, K. Henmi, C. Ohi, N. Suzuki, T. Okiji

【緒言】

体性幹細胞は生体の様々な組織に存在し、その組織が侵襲を受けた際の修復に重要な働きを担っており、口腔内では歯髄、歯肉、歯根膜をはじめ多くの組織でその存在が報告されている。中でも歯髄組織由来幹細胞は、口腔内における代表的な間葉系幹細胞として注目を集め、神経、骨、血管をはじめ多様な組織への分化誘導について報告されている。歯髄組織は第三大臼歯などの抜去歯より得られ、廃棄予定の組織より回収可能なことが大きなメリットである一方で、抜去予定歯がない場合は分離出来ないという限界が存在する。今回、歯髄組織以外のソースとして歯肉に着目し、歯肉組織より分離回収した間葉系幹細胞の特徴を、歯髄組織由来間葉系幹細胞と比較したので報告する。

【材料および方法】

実験には患者より同意を得た抜去歯を用いた (n=5、東京医科歯科大学倫理委員会承認#948)。抜去歯より歯肉組織を#15 スカルペルを用い剥離したのち、抗生剤および抗真菌剤入りの Hank's balanced salt solution, (Wako) にて2回洗浄した。その後、#15 スカルペルにて組織の形状がなくなるまで細切した後、細胞分離用の酵素液 (リベラーゼ、Roche) にて37度で激しく浸透し、メッシュ (セルストレーナー、径70um、BD) を通し、細胞培養用ディッシュに細胞密度 10^5 細胞/cm² 以下で播種した。歯髄組織は、歯肉組織を剥離した抜去歯に歯科用ダイヤモンドポイント (AR2、GC) にて歯冠部に歯軸方向に平行に切り込みを入れ、分割した後に摘出した。その後、歯肉組織と同様の方法で細胞レベルまで分離し、細胞培養用ディッシュに播種した。1週間前後培養し、コロニーの形成を確認後、細胞を回収し、間葉系幹細胞としての特性を維持できるよう常にスパースな状況を維持しながらさらに培養を行った。培養液は、抗生剤および抗真菌剤および10%牛胎児血清を添加したアルファ MEM (Wako) を用いた。

次いで、得られた歯髄および歯肉由来の幹細胞を二次元 (24 穴ディッシュ、グライナー) あるいは三次元 (Prime Surface、住友ベークライト) で培養したのち、RNA を抽出し、骨芽細胞・象牙芽細胞特異的な遺伝子 (硬組織マーカー) の発現を RT-PCR にて解析した。また、硬組織誘導培地 (アスコルビン酸、ベータグリセロリン酸、デキサメタゾン添加培地) で培養後、形成された石灰化結節をアリザリンレッド S 染色にて検出した。

【結果および考察】

本手法により、歯髄および歯肉組織より間葉系幹細胞の分離が可能であった。二次元培養において、歯髄由来細胞は歯肉由来細胞と比較してアルカリフォスファターゼ、オステオカルシンといった硬組織マーカー発現が高かった。三次元培養を行うことで、歯髄由来および歯肉由来間葉系幹細胞の硬組織マーカー発現は増加し、さらに石灰化結節形成も誘導された。すなわち、硬組織形成細胞への分化傾向は、歯髄組織由来間葉系幹細胞がより高い傾向を示したが、歯肉由来間葉系幹細胞においても分化誘導は可能であることが明らかになった。

【結論】

歯髄由来間葉系幹細胞は歯肉由来間葉系幹細胞と比較して、高い硬組織形成細胞への分化能を示したが、歯肉由来間葉系幹細胞においても硬組織形成細胞への分化誘導は可能であった。

歯周組織構成細胞から産生される液性因子によるヒストン脱アセチル化酵素の発現および活性への影響

広島大学 大学院医歯薬保健学研究科 応用生命科学部門 歯周病態学研究室
○高橋慶太、岩田倫幸、兼田英里、永原隆吉、吉岡みなみ、水野智仁、藤田剛、栗原英見

Effect on the expression and activity of histone deacetylase by humoral factors secreted by periodontal cells

Hiroshima university Department of Periodontal Medicine Division of Applied Life Sciences Graduate School of Biomedical & Health Sciences

○Keita Takahashi, Tomoyuki Iwata, Eri Kaneda, Takayuki Nagahara, Minami Yoshioka, Tomohito Mizuno, Tuyoshi Fujita, Hidemi Kurihara

【研究目的】 現在、歯周組織再生治療の一つとして間葉系幹細胞(MSC)を用いた細胞移植治療が行われている。移植された MSC は、移植局所において様々な刺激を受けて増殖し、歯周組織構成細胞へと分化するが、この分化に対して、歯周組織構成細胞から分泌される液性因子が影響していると考えられる。これまでに、歯周組織構成細胞である歯肉線維芽細胞(HGF) の液性因子および、歯周靭帯細胞(HPL cells)の液性因子が MSC の骨分化を抑制することが報告されているが、これらのメカニズムは明らかになっていない。

一方、様々な遺伝子発現はヒストンのアセチル化・脱アセチル化によって制御されていることから、ヒストンのアセチル化の制御が MSC の分化に対しても大きな影響を与える可能性が考えられる。

そこで、本研究では、HGF および HPL cells の液性因子中にヒストンのアセチル化を制御する因子が含まれているという仮定の下、その因子がヒストンのアセチル化を介して MSC の分化に及ぼす影響のメカニズムを解明することを目的とした。

【材料と方法】 MSC に対する歯周組織構成細胞との非接触性共培養下での液性因子の影響を検討した。Transwell®を用い、lower compartment に MSC、upper compartment に MSC、HPL cells または HGF を培養して共培養（それぞれ MSC/MSC、MSC/HPL cells、MSC/HGF）を行ない、培地は 10%FBS および 1% penicillin/streptomycin を含む DMEM を用いた。共培養は、lower compartment に MSC を播種し、1 日後に upper component に MSC、HPL cells または HGF を播種することによって開始し、それぞれ培養 0 から 14 日目において total RNA および whole cell lysate を回収し、mRNA 発現とタンパク発現の変化を検討した。mRNA 発現は、bHLH 型転写因子である Twist1、cMyc、HLH 型抑制因子である Id1、Id2 およびヒストン脱アセチル化酵素である HDAC1、HDAC2、HDAC3、HDAC9 についてリアルタイム PCR で検討し、タンパク質発現については、HDAC 活性およびヒストンアセチル化への影響を検討するために、HDAC1、リン酸化 HDAC1、Histone3、アセチル化 Histone の発現の経時的変化をウエスタンブロットティングで検討した。

【結果および考察】 MSC と HPL cells の共培養においては、対照群(MSC と MSC の共培養)と比較して Twist1、Id1、Id2、HDAC1 の mRNA 発現の低下が見られ、MSC と HGF の共培養においては、Twist1 の mRNA 発現の上昇、Id1、Id2、HDAC1、HDAC2 の mRNA 発現低下が見られた。以上の 2 つの共培養において共通しているのは、Id1、Id2、HDAC1 の mRNA 発現の低下であり、Twist1、cMyc、HDAC3 の発現においては対照的な結果であった。タンパク質レベルの発現は、対照群と比較して HPL cells/MSC 共培養においてはリン酸化 HDAC1、アセチル化 Histone3 の抑制が見られた。HGF/MSC 共培養においては、HDAC1 の上昇、リン酸化 HDAC1 の初期抑制が見られた。これらの結果から、HGF および HPL cells との共培養によって、MSC における HDAC 活性やヒストンのアセチル化が影響を受けることが明らかとなり、ヒストンアセチルによって MSC の分化が制御される可能性が示唆された。

【結論】 歯周組織構成細胞から産生される液性因子による MSC の分化に対する影響は、HDAC の発現調整および活性制御を介して制御されていることが示唆された。