骨組織におけるアンジオポエチン様タンパク質 2 の役割の解明

九州大学大学院歯学研究院　歯周病学分野[1]
福岡歯科大学口腔治療学講座　歯科保存学分野[2]
○高野　愛子[1]、福田　隆男[1]、新城　尊徳[1]、岩下　未咲[1]、讃井　彰一[1]、松﨑　英津子[2]、
山道　研介[1]、竹下　正章[1]、西村　英紀[1]

The role of Angiopoietin like protein 2 in bone tissue

Department of Periodontology, Faculty of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan[1]
Department of Operative Dentistry and Endodontology, Fukuoka Dental College, Fukuoka, Japan[2]
○Aiko Takano[1], Takao Fukuda[1], Takanori Shinjo[1], Misaki Iwashita[1], Terukazu Sanui[1], Etsuko Matsuzaki[2], Kensuke Yamamichi[1], Masaaki Takeshita[1], Fusanori Nishimura[1]

［背景及び研究目的］ アンジオポエチン様タンパク質 2 (Angptl2) は、メタボリックシンドロームの病態に関与する炎症性メディエーターとして注目されてきた。歯周炎における骨破壊も炎症性に進行するが、これまで骨組織での Angptl2 の動態に関する報告はない。骨組織の Angptl2 の恒常的発現レベルは不明だが、本分子は元来脂肪組織に多く発現しているとされてきた。炎症性サイトカインの一つである Tumor necrosis factor-α (TNF-α) を 3T3-L1 細胞に添加すると内在性 Angptl2 の発現が減少し 3T3-L1 の脂肪分化は抑制され、結果として善玉ホルモンの産生が減少する。この事が脂肪組織の恒常性破綻につながる。 (Kitazawa M *et al*., Endocrinology, 2011) 。さて、骨組織を構成する　破骨細胞やその前駆細胞であるマクロファージが造血幹細胞由来であるのに対し、骨芽細胞は脂肪細胞と同じ間葉系幹細胞由来である発生学的共通点がある。私は、この点に着目し MC3T3-E1 細胞と脂肪分化 3T3-L1 及び RAW 細胞の内在性 Angptl2 の発現を確認したところ、RAW でのその発現が極めて低レベルであったのに対し、MC3T3-E1 のそれは、ほぼ脂肪分化 3T3-L1 に匹敵する発現を認めた。そこで、本分子が骨芽細胞分化や骨組織の恒常性維持において重要な役割を果たしているとの仮説を立て、骨芽細胞における Angptl2 の役割の解明を行う事とした。

［材料及び方法］ ①細胞：MC3T3-E1 （マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株）; 前駆骨芽細胞、並びに分化骨芽細胞として使用した。3T3-L1 （マウス線維芽細胞株）; 通法に従い脂肪細胞分化誘導させ脂肪細胞として用いた。RAW264 （マウス破骨前駆細胞株）; マクロファージとして使用した。②試薬 : recombinant human TNF-α、E.*coli* Lipopolysaccharide (LPS)③siRNA 導入による Angptl2 のノックダウン： Mouse Angptl2 siRNA およびその control siRNA を用い、Lipofectamine RNAiMAX により siRNA を導入した。ノックダウン効果を確認後以降の実験を行った。④mRNA の発現解析 : リアルタイム PCR 法で Angptl2、Alkaline phosphatase **(**ALP)、Runt-related transcription factor 2 **(**Runx2)、Osteocalcin (OCN)、Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)の遺伝子発現解析を行った。⑤タンパク質の発現解析 : ウエスタンブロッティング法により Angptl2 の発現を解析した。培養細胞における ALP タンパクは TRAP/ALP 染色キットを用いて染色した。⑥石灰化の確認 : von Kossa 染色によった。

［成績］ ①MC3T3-E1 における Angptl2 の遺伝子並びにタンパクの発現は、脂肪分化 3T3-L1 にほぼ匹敵するレベルであり、その発現は骨芽細胞分化に伴って減少した。RAW264 における Angptl2 の発現は低レベルであった。②MC3T3-E1 を TNF-α 刺激すると、前駆骨芽細胞期では Angptl2 の発現は減少し、骨芽細胞分化期では Angptl2 の発現は影響を受けなかった。この傾向は TNF-α の代わりに LPS を用いた場合でも同様であった。③MC3T3-E1 前駆骨芽細胞期において内在性の Angptl2 をノックダウンすると、ALP の mRNA 発現量が減少し、通常骨芽細胞分化に伴って上昇する ALP はコントロール siRNA を導入した細胞に比べ、低レベルであった。④一方同様の操作で、 ALP の重要な転写制御因子として知られる Runx2 の mRNA 発現量は不変であった。⑤さらに同様の操作で、OCN の mRNA 発現は抑制され、von Kossa 染色で石灰化の抑制が観察された。

［考察および結論］ MC3T3-E1 において Angptl2 は、骨芽細胞分化に必須の因子である可能性が示唆された。骨芽細胞においては、炎症環境下で TNF-α 刺激を受けることにより Runx2 や Osterix を介した ALP の発現低下の報告があるが、本研究結果から少なくとも Runx2 を介さない Angptl2 が関わる石灰化の制御経路が存在する可能性が示唆された。今後、Angptl2 による石灰化の制御機構に関して、シグナル伝達の面から詳細な機序の解明を進めて行く予定である。

外傷性咬合により誘導される歯槽骨吸収に対する Resveratrol の影響

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔保健学分野 [1], 歯周診断・再建学分野 [2], 歯学教育研究開発学分野 [3]
○松田 由実 [1,2], 皆川 高嘉 [1,2], 高橋 直紀 [1,2], 佐藤 圭祐 [1,2],
横地 麻衣 [1,2], 山田 実生 [1,2], 多部田 康一 [2], 中島 貴子 [3], 山崎 和久 [1]

Effect of Resveratrol on alveolar bone loss induced by the experimental occlusal trauma in mice

Laboratory of Periodontology and Immunology, Division of Oral Science for Health Promotion [1],
Division of Periodontology [2], Division of Dental Educational Research Development [3],
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○Matsuda Y [1,2], Minagawa T [1,2], Takahashi N [1,2], Sato K [1,2],
Yokoji M [1,2], Yamada M [1,2], Tabeta K [2], Nakajima T [3], Yamazaki K [1]

【研究目的】

Resveratrol (RSV) は、赤ワインやピーナッツに多く含まれる抗酸化作用を有するポリフェノールのひとつであり、糖尿病や動脈硬化症などの老化関連性疾患に対する抑制効果が報告されている。近年、RSV による炎症応答および骨吸収の抑制効果が報告されていることから、細菌感染による炎症性の歯槽骨吸収を特徴とする歯周炎においてもその効果が期待される。

我々の検討において、RSV はヒト歯肉上皮細胞における *P. gingivalis* 刺激に誘導される NF-κB シグナルを阻害することで抗炎症作用を有することが明らかとなった (Minagawa T *et al*. *J Periodontal Res*. 2014) 。また、細菌感染による炎症性の歯槽骨吸収を想定した結紮誘導歯周炎モデルにおいて、RSV 投与が歯肉の炎症性サイトカインの遺伝子発現および歯槽骨吸収を抑制することが報告されている。しかし、RSV の直接的な骨吸収抑制効果と作用機序の詳細は明らかとなっていない。

そこで我々は、非感染下のメカニカルストレスによる歯槽骨吸収を想定したマウス咬合性外傷モデルにおける、RSV 経口投与の効果と作用機序について検討することとした。

【材料および方法】

10 週齢雄 C57BL/6 マウスにカルボキシメチルセルロースに懸濁した RSV あるいは基剤のみを 15 日間毎日経口投与した。投与開始 5 日後に上顎左側第一臼歯にレジンを築盛することで咬合性外傷を誘導した。マウスは未処置である Control 群、咬合性外傷を誘導した Occlusal trauma (OT) 群、咬合性外傷の誘導および RSV の投与を行った OT + RSV 群の 3 つに分類した。投与開始 15 日後にマウス下顎骨を採取し、下顎第一臼歯根分岐部を対象部位としたマイクロ CT 画像解析により骨吸収を測定した。また、歯周組織のパラフィン切片を作製し、組織学的解析を行った。さらに、歯肉および抜歯後に採取した歯根膜における遺伝子発現を Real-time PCR 法により解析した。

【結果】

マイクロ CT 画像解析にて Control 群と比較して OT 群における有意な歯槽骨吸収が観察された。そして、RSV の投与により歯槽骨吸収は有意に抑制された。歯周組織のヘマトキシリン・エオジン染色において、Control 群、OT 群ともに辺縁歯肉への炎症性細胞浸潤は認めなかった。歯根膜における遺伝子発現は OT 群において、IL-1β、プロスタグランジンの合成酵素である COX-2、および破骨細胞分化因子である RANKL の有意な上昇を認め、RSV 投与によって IL-1β は有意に抑制された。一方、歯肉におけるこれらの遺伝子発現レベルに変動は認めなかった。

【考察】

今回の結果から、RSV は細菌感染による歯槽骨吸収だけではなく、咬合性外傷を想定した非感染下の歯槽骨吸収も抑制することが動物モデルにおいて示された。RSV 投与が IL-1β 下流の遺伝子発現を抑制することが明らかとなり、抗炎症作用と共通する作用機序によって、マウス咬合性外傷モデルにおける歯槽骨吸収の抑制が惹起されたと考えられる。

【結論】

RSV はマウス咬合性外傷モデルにおける歯槽骨吸収を抑制する。

ヒト歯肉線維芽細胞に対する Nd:YAG レーザー照射の効果

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座
○大久保　美佐、村樫　悦子、石黒　一美、沼部　幸博

The effect of Nd:YAG laser irradiation on human gingival fibroblast

Department of Periodontology, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○Misa Ohkubo, Etsuko Murakashi, Hitomi Ishiguro, Yukihiro Numabe

【緒言】

歯周組織に Nd:YAG レーザーを照射する際、レーザーの照射条件（照射出力、時間、距離）を調節することで、組織や細胞に様々な影響が生じる。Nd:YAG レーザーを治療に用いた臨床症例は多く報告されているが、歯周組織を構成する細胞に対する生物学的効果については依然として不明な点が多い。

そこで本研究において、低出力 Nd:YAG レーザー照射後の効果を細胞レベルで検討するために、ヒト歯肉線維芽細胞に対する Nd:YAG レーザー照射後の影響を細胞増殖、細胞の活性化に関連する細胞増殖因子の産生、細胞遊走能、さらに細胞の恒常性維持に関与する Heat shock protein 47（HSP47）の発現について検索することを目的とした。

【材料と方法】

材　料

細胞はヒト正常歯肉線維芽細胞株(Gin-1、DS ファーマバイオメディカル、大阪)、Nd:YAG レーザー器機は歯科用パルス Nd:YAG レーザーネオキュア 7200 SPL-7200（(株) 松風、京都）を本研究に使用した。

方　法

96 ウェルプレートに 1000 個/ウェルの Gin-1 を播種し 24 時間培養を行った後に Nd:YAG レーザーを照射、照射後 3、5、7 日目の細胞増殖率について MTT 改良法（WST-8）を用いて検索を行った。

96 ウェルプレートに 2500 個/ウェルの Gin-1 を播種し 24 時間培養を行った後に Nd:YAG レーザーを照射、照射 24、48、72 時間後に培養上清を回収し、ELISA 法による FGF-2 および TGF-beta1 産生量について検索を行った。

8 ウェルカルチャースライドに Gin-1 を播種し、サブコンフルエント状態で Nd:YAG レーザー照射し、蛍光免疫染色を行って、共焦点レーザー顕微鏡を用いて HSP47 発現を観察した。

60 mm ディッシュにコンフルエントになるまで Gin-1 を培養して、チップにてスクラッチ作成後にレーザー照射を行い、レーザー照射直後、5 時間、24 時間のスクラッチエリアにおける細胞の遊走状態を写真撮影した。各観察時間のレーザー非照射群と各照射群のスクラッチエリアの面積比を計測し、細胞遊走について検索を行った。

なお、レーザー照射条件は、Pulse energy 100、200、400 mJ、Pulse rate 5 pps、照射距離 20 mm、照射時間 30 秒とした。

【結果および考察】

レーザー非照射群と比較し、3、5、7 日のすべてのレーザー照射群において有意な細胞増殖率の増加が認められた。

レーザー非照射群と比較し、24 時間後の 100、200、400mJ レーザー照射群、48 時間後の 100mJ、200mJ、400mJ 照射群、72 時間後の 100mJ レーザー照射群において有意な FGF-2 産生量の増加が認められた。また、24 時間後の 200mJ レーザー照射群、48 時間後の 200mJ レーザー照射群、72 時間後の 100、200mJ レーザー照射群において有意な TGF-beta1 産生量の増加が認められた。

レーザー非照射群および各レーザー照射群共に Gin-1 内の細胞質において、顆粒状の HSP47 発現が観察された。

レーザー非照射群と比較し、レーザー照射群において、有意な細胞遊走能の亢進が認められた。

以上より、ヒト歯肉線維芽細胞に低出力レーザー照射を行う事により、レーザーで懸念される熱や光の影響で細胞の恒常性が阻害されることなく、細胞は賦活化され、細胞内の代謝活性を助長する可能性が示唆された。

ヒト象牙芽細胞における TRPM8 発現

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
○田澤　建人，池田　英治，川島　伸之，興地　隆史

TRPM8 expression in human odontoblasts

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○TAZAWA Kento, IKEDA Hideharu, KAWASHIMA Nobuyuki, OKIJI Takashi

【緒言】

象牙質感覚受容機構として動水力学説が広く認められている。しかし、象牙細管内容液の動水圧により生じる神経発射と冷刺激によりヒトで惹起される感覚との関連に疑問を呈する研究結果もある。近年、象牙芽細胞に温度感受性 Transient receptor potential（TRP）チャネルが発現しており、象牙芽細胞が温度感受性を有している可能性が示唆されている。なかでも TRP melastatin 8（TRPM8)は冷刺激により活性化することが知られており、内臓痛覚過敏症にも関与していることが示されている。これまでの研究では象牙芽細胞様株化細胞を用いて TRPM8 発現の有無が検討されてきたが、ヒト新鮮単離象牙芽細胞での発現を調べた報告はない。そこで本研究では形態を保持して単離された象牙芽細胞を用いて、TRPM8 の発現を検証した。さらに、単離した象牙芽細胞と歯髄細胞との *TRPM8* mRNA 発現レベルを比較検討した。

【材料および方法】

実験には齲蝕のないヒト新鮮抜去歯を用いた。免疫組織染色を行うために、抜去歯を歯頚部で水平に切断し 4%パラホルムアルデヒドにて 24 時間固定後、0.5M EDTA にて 8 週間脱灰した。脱灰後、試料を OCT コンパウンドに埋入し、凍結切片（厚さ 10 μm)を作成し、抗 TRPM8 抗体を用いて免疫染色（ABC 法)を行った。また、抜去歯を歯頚部で水平に切断後歯髄を摘出し、シリンジを用いて歯冠内側を水洗し象牙芽細胞を単離した。単離した象牙芽細胞は 4%パラホルムアルデヒドにて 24 時間固定後、TRPM8 と dentin sialoprotein (DSP)あるいは Nestin との免疫蛍光二重染色を行った。さらに、単離した象牙芽細胞と歯髄細胞について、*TRPM8* および dentin matrix protein 1（*DMP1*）mRNA 発現量の比較を定量 RT-PCR を用いて行った（N＝4)。なお、本研究は東京医科歯科大学歯学部ヒト倫理委員会(975 号)を得て実施した。

【結果】

単離した細胞は長い突起を有しており、象牙芽細胞様の形態が保持されていた。免疫細胞染色では単離した象牙芽細胞は TRPM8、DSP、Nestin に陽性であった。歯牙組織切片においても象牙芽細胞の体部および突起に TRPM8 陽性反応を認めた。また、単離した象牙芽細胞は歯髄細胞に比べ、有意に *TRPM8*、*DMP1* の mRNA 発現が高かった。

【考察】

これまで象牙芽細胞様株化細胞の TRPM8 発現には肯定、否定双方の結果が報告されており、象牙芽細胞の TRPM8 発現について統一見解はなかったが、本研究からヒト象牙芽細胞が単離後においても TRPM8 を発現すること確認された。また、象牙芽細胞の方が歯髄細胞より TRPM8 mRNA 発現レベルが有意に高いことから、歯髄最外層に位置する象牙芽細胞が歯髄細胞に比べ外部からの冷刺激を強く受容する可能性が示唆された。

【結論】

ヒト新鮮単離象牙芽細胞における TRPM8 発現が、タンパクおよび mRNA レベルで確認された。また、これらの細胞は歯髄細胞に比べ TRPM8 mRNA を高レベルで発現していた。

アメロブラスチンはヒトマクロファージ様細胞において LPS 誘導炎症性サイトカイン産生を増強する

九州歯科大学口腔保存治療学分野
○大塚麻衣、西藤法子、北村知昭

Recombinant human ameloblastin enhances IL-1β expression in LPS-treated human macrophage cells

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University
○Mai Otsuka, Noriko Saito, Chiaki Kitamura

【目的】

アメロブラスチン(AMBN)はエナメルマトリクスタンパクの一つであり、エナメル質形成をはじめとした歯の形成に深く関与することが知られている。また、AMBN が骨芽細胞分化に伴う骨形成や象牙芽細胞様細胞分化に伴う修復象牙質形成の促進など、多様な生物学的機能を担う可能性が近年明らかになってきている。一方、局所の創傷治癒や組織再生に炎症反応は必須のプロセスであり、マクロファージをはじめとする様々な炎症性細胞が AMBN の影響を受けることが考えられる。今回、AMBN の新しい生理学的機能を明らかにすることを目的として、ヒトマクロファージ様細胞の Lipopolysuccharide(LPS)誘導炎症性サイトカイン産生における rhAMBN の影響について検証した。

【材料と方法】

ヒト単球様細胞株（U937 細胞）を phorbol-12-myristate-13-acetate（PMA:50 ng/ml)でオーバーナイト刺激することによりマクロファージ様細胞へ分化誘導した。その後、10%FBS 含有 RPMI1640 下で 24 時間培養を行った後、*Eschericha coli* 由来 LPS(100 ng/ml)、rhAMBN(0, 10, 50, 100 ng/ml)で刺激した。ATP(5 mM)処理に関しては細胞回収前の 30 分間作用させた。刺激後、real time RT-PCR 法を用いて炎症性サイトカイン Interleukin-1β(IL-1β)遺伝子の発現を、Western blot 法を用いてタンパクレベルでの IL-1β発現を分析した。また、IL-1βの mature form 形成に重要な caspase-1 の発現に関して Western blot 法を用いて検証した。さらに、細胞外への IL-1βの分泌量に関して細胞培養上清を回収し、ELISA 法を用いて解析を行った。

【結果】

マクロファージ様細胞に対する LPS 刺激により刺激後 6 時間で IL-1βの遺伝子発現上昇を認めた。一方、rhAMBN 刺激単独では IL-1βの遺伝子発現に影響を与えなかったが、LPS との同時刺激により LPS 誘導性 IL-1βの遺伝子発現が顕著に増加した。Western blot の結果では、ATP 処理により mature IL-1βと活性化型である caspase-1 p10 の発現が更新することが確認された。rhAMBN 刺激においても同様に、mature IL-1βと caspase-1 p10 の発現増強が認められた。ELISA の結果では、刺激後 12 時間において細胞上清中の IL-1β量の上昇が認められ、rhAMBN 刺激群において最も高い IL-1β量が検出された。

【考察】

マクロファージにおける mature IL-1βの産生には、LPS 誘導性 IL-1β precursor の発現とそれに続く caspase-1 によるプロセシングという 2 段階のステップが必要であることが知られている。また、caspase-1 もはじめは precursor として産生されたのち、種々の病原因子・機械的因子などのセカンドシグナルにより活性化することが知られている。今回、rhAMBN が LPS 誘導性 IL-1βの遺伝子発現を増強するとともに、活性化型 caspase-1 の発現と mature IL-1βの発現・細胞外分泌を増強することを明らかにした。これは、rhAMBN が caspase-1 の活性化を介して、LPS 誘導性 IL-1βの発現を増強する可能性を示唆している。

【結論】

rhAMBN はヒトマクロファージ様細胞において LPS 誘導性 IL-1βの産生を増強する。

フッ化ナトリウムの応用がオフィスブリーチに及ぼす影響

東京医科歯科大学大学院 う蝕制御学分野
○キン ユーパー キョー，大槻昌幸，田上順次

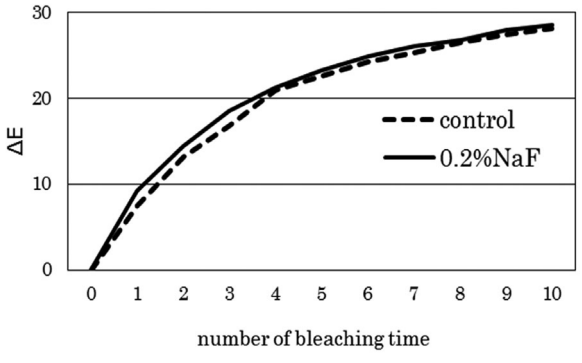
Effect of application of sodium fluoride on in-office bleaching

Tokyo medical and dental university, Cariology and Operative Dentistry
○Khin Yupar Kyaw, Masayuki Otsuki, Junji Tagami

Background: The tooth bleaching has become popular for esthetic dental treatment. Tooth bleaching is one of the most conservative and cost-effective dental treatments improve or enhance a person's smile. However, tooth bleaching is not risk-free (2009, American Dental Association). Sometimes postoperative hypersensitivity was induced after the tooth bleaching procedure. The use of fluoride is effective for reducing it. However, some office bleaching materials do not recommend to use the fluoride-containing abrasive paste before bleaching. The aim of this study was to evaluate the effect of sodium fluoride (NaF) on office bleaching *in vitro*.

Materials and methods: Extracted bovine incisors were used in this study. Labial surfaces were ground by an abrasive paper leaving approximately 1mm thickness of enamel. Two specimens with approximately 5 x 5 mm were prepared from each tooth. Each specimen was embedded in plastics tube with acrylic resin and the enamel surface was polished upto #1,200 abrasive paper. The samples were stained with the black tea extract for 7 days and were divided into two groups of each of 10 (n=10). For the first group (0.2% NaF group), samples were immersed in 0.2% NaF solution for 30 min and then bleached by an office bleaching material (Shofu Hi-Lite, Shofu) according to the manufacture's instruction. For the second group (control group), samples were bleached without application of NaF solution. CIE L*a*b* of each specimen were measured using a dental color meter (Shade Eye NCC, Shofu) after each bleaching procedure. The bleaching and color measurement were repeated 10 times in each group. The color difference (ΔE) between baseline (before bleaching) and each experimental period was calculated from L*a*b* values. Obtained data was subjected to statistical analysis with Two-way ANOVA at 0.05 level of significance.

Results and Discussion: After bleaching procedure, L* value was increased and a* and b* values were slightly decreased by bleaching times and the bleaching effect was visually obvious in both groups. ΔE values gradually increased by bleaching times (Fig.1). There was no statistical differences between 0.2% NaF group and control group ($p>0.05$). The postoperative hypersensitivity after home bleaching and office bleaching was often reported (2009,Matis BA,2005,Haywood VB). Many studies showed that the application of fluoride (2009,Armenio RV,2009,Liadia Yileng), potassium nitrate (2008,Browning WD,2009,Liadia Yileng) or potassium oxalate (2004,Pillon FL) was effective for this. The bleaching material used in this study (Shofu Hi-Lite) prohibits to use fluoride-containing abrasive paste for teeth cleaning before tooth breaching procedure by the manufacture's instruction and the reason is not clear. In this study, application of sodium fluoride before tooth bleaching did not hinder the bleaching effect. It was suggested that the fluoride-containing abrasive paste might be able to use before bleaching procedure for the bleaching material used in this study.



Conclusion: It was concluded that the application of sodium fluoride before bleaching procedure did not impede the bleaching effect.

Fig 1. Color difference by bleaching procedure

エナメル質の物質透過性に対する酸処理材・ホワイトニング材処置の影響

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
○池田　英治,サリマン　アルキン, 田澤　建人,興地　隆史

Quantitative Evaluation of the Effects of Etching/Whitening Materials on Enamel Permeability

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○IKEDA Hideharu, AIERKIN Salima, TAZAWA Kento, OKIJI Takashi

【緒言】

エナメル質は皮膚や粘膜と同様に外胚葉由来で外界と生体内の境界をなし、ことにその最表層は緻密な構造を示し、物質の侵入に対する防御能を有していると考えられている。我々は健全象牙質、う蝕下の象牙質、エナメル質の物質透過性を定性的および定量的に計測して報告してきた。これらの結果から、ヒトの歯は外来物質の分子量、濃度、歯髄側への圧、電荷依存性の透過性を有することがわかった。歯科保存領域において、エナメル質表面処理を化学的に行うことがあるが、その処理後にエナメル質の物質透過性がどれほど影響を受けるかという報告はされていない。そこで本研究は、第一に、酸処理材とホワイトニング材を用いたエナメル質の表面処理前後における、神経刺激物質カプサイシンの歯質透過性を定量評価すること、第二に、その透過性に対する交流イオン導入法の効果を評価することを目的として行った。

【材料および方法】

実験には矯正治療を目的として抜歯されたう蝕のない新鮮抜去歯（n=74）を用いた。各歯をセメント／エナメル境で切断し、歯冠側部分を二重 O-リングを用いて２つの容器間に固定した。エナメル質側容器にはカプサイシン溶液を満たし、歯髄側容器には超純水を満たした。容器の両端には白金製板状電極を固定し、交流イオン導入を可能にした。歯はランダムに以下の４群に分けた。１．エナメル質表面を処理しない群、２．リン酸ゲル（K-etchant、クラレノリタケデンタル；20 秒）処理群、３．ホワイトニング材（Pyrenees®、モリタ；LED 照射）処理群、４．ネイルポリッシュによる被覆処理群（ネガティブコントロール群）である。歯質を通過したカプサイシン量を分光光度計で 30 分毎に計測し、エナメル質表面処理条件の違いとイオン導入の有無により比較解析した。なお、この研究は東京医科歯科大学歯学部ヒト実験倫理委員会（承認番号第 975 号）の承認を得て実施した。

【結果】

象牙細管内容液の外向き流に抗してエナメル質／象牙質を通過するカプサイシンは時間とともに増加した。K-etchant 処理と Pyrenees®処理後 30 分から 6 時間の間のどの時点においても、カプサイシンの歯質透過量が対照群に比べて増加した（*One-way ANOVA*, $P<0.05$）。K-etchant 処理と Pyrenees®処理後５時間で、両者にカプサイシン透過量の差はなかった。交流イオン導入法は有意にカプサイシンを歯髄に移動させた（*Two-way ANOVA*, $P<0.05$）。

【考察】

これまで K-etchant 処理や Pyrenees®処理後の歯質物質透過性を解析した報告はなかった。本研究からこれらの歯科材料がエナメル質物質透過性を有意に増加させることを示している。カプサイシンは食品にしばしば含まれる辛味成分であり、低濃度で神経刺激性を示し、高濃度では細径神経への伝導遮断性がある。この物質が歯髄に到達できるようになることは、酸処理材やホワイトニング材による歯面処理を行う際に念頭に置く必要があると考えられる。

【結論】

エナメル質最表層は物質の歯髄内進入を妨げており、エナメル質の酸処理とホワイトニング材はこのバリア機能を低下させることが明らかになった。また、交流イオン導入はこの物質の歯髄進入を促進できることが明らかになった。

Total Solusion for Esthetic Management in Diastema Closure

○Kevin Yi-Jyun Chen

Dental Department, Taichung Hospital, Taiwan
Dental Department, National Taiwan University Hospital, Taiwan.
Department of Orthodontics, School of Dentistry, Chung Shan Medical University, Taiwan
National Taichung University of Science and Technology

I. Object:

Many esthetic procedures that we provide can actually improve the structural integrity of tooth and also facilitate better health of the surrounding gingiva. Unfortunately, the esthetic diastema closure often results in significant compromises in the root or crown architecture, and increase plaque retention with subsequent deterioration in periodontal health and poor “pink” esthetics. A correct differential diagnosis and subsequent treatment plan should be well designed to achieve esthetic result and better long-term prognosis.

II. Case Summary A:

The 48-year-old female presented for treatment with chief complaints of the 3-mm diastema. Angle’s Class I malocclusion was presented. The Bolton tooth ratio analysis showed smaller upper anterior teeth proportion compared to the lower anterior teeth.

III. Case Summary B:

The 25-year-old female presented for treatment with chief complaints of the 1-mm diastema. Angle’s Class III malocclusion with uneven gum line was presented.

IV. Conclusion:

The esthetic diastema closure should be based on proper diagnosis. There are several keys to achieve the esthetic diastema closure: anatomy of the diastema, tooth proportion, tooth shape, surface texture, color, number of teeth planned for treatment, and soft tissue considerations. Clinical results showed that a well-designed plan not only did great help to esthetic result, but also healthier surrounding soft tissue.

切削および非切削エナメル質の酸蝕感受性に関する比較

東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野[1] 外務省歯科診療所[2]
○ワ タン リン[1]、北迫勇一[1,2]、中島省志[1]、田上順次[1]

A comparative study of the susceptibility of cut and uncut enamel to erosive demineralization

[1] Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
[2] Dental clinic, the Ministry of Foreign Affairs
○Wa Than Lin[1], Yuichi Kitasako[1], Syozi Nakashima[1], Junji Tagami[1]

Background and Purpose:

Dental erosion became to be one of the big problems due to increase consumption of soft drinks worldwide. There were many reports focused on chemical aspects of the erosive potential of acidic foods and beverages. These reports usually used the cut (polished) enamel surface for comparing the erosion depth to un-eroded surface. Therefore, the acid resistance against the dental erosion of uncut (natural) enamel surface is not clear. To understand the erosive progression under the intraoral condition, the aim of this study is to evaluate the susceptibilities of cut and uncut enamel surfaces to acidic dissolution.

Materials and Methods:

Freshly extracted, non-damaged human incisors were used for preparation of enamel samples. The crown portion was divided into two specimens using a low-speed diamond saw under water-cooling. One of them was used as uncut group (natural enamel, n=10) and the other was ground to obtain polishing surface for the cut group (polished enamel, n=10). All specimens were coated with adhesive tape leaving an approximately 3×3 mm window of enamel. Enamel specimens were subjected to erosive challenge in 6 ml of 1% citric acid (pH 3.6) for 60 seconds (s). The samples were rinsed in distilled water for 60s and dried for 5s and subjected to the erosive challenge. After 3 cycles (total of 3 min) and 6 cycles (total 6 min) of erosive challenges, the values of the enamel surface loss (SL) and the surface characteristics/morphological changes were evaluated by the Focus variation 3D scanning microscopy (Infinite Focus G5 Microscope, Alicona Imaging, Grambach, Austria). Calcium released (CA) after erosive challenges was measured by using calcium-sensitive electrode (HORIBA Ltd, Japan), and surface hardness (SH) of non-erosive and after 6 cycles erosion challenges were also measured with Cariotester (SUK-971, SaneiME Corp., Yokohama, Japan). The differences of mean SL, CA and SH were statistically analyzed by t-test ($p<0.05$).

Results and Discussion:

Uncut enamel showed significantly lower SL than that of the cut enamel ($p<0.01$). Calcium released from cut enamel was higher than those from uncut enamel. Surface hardness of uncut enamel was significantly higher than cut enamel ($p<0.001$). Erosive challenges showed morphological changes on 3D images of both cut and uncut enamel surfaces. Superficial layer of uncut enamel might have acid resistant layer which could show the higher hardness than the cut enamel.

Conclusion:

The cut enamel was susceptible to acidic dissolution than uncut enamel which showed more resistance to erosive challenges.

Table.1. All measurement values of cut and uncut enamel (Ave ± SD)

	Surface loss (nm)		Calcium released (μg/mm$^{2)}$		Surface hardness (KHN)	
	3 cycles	6 cycles	3 cycles	6 cycles	No erosion	6 cycles
Cut	574.9±106.5	853.6±118.4	2.7±1.2	1.9±0.7	269.6±4.7	207.1±6.4
Uncut	431.4± 96.3	660.7±124.7	1.7±0.7	1.3±0.5	313.6±6.2	263.6±5.7
p value	0.008	0.003	0.027	0.053	<0.001	<0.001

カキタンニンがポリマイクロバイアルバイオフィルムの群集構造に与える影響

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学分野 [1]，微生物感染学分野 [2]，神経組織発生学分野 [3]，
クリニカル・バイオマテリアル分野 [4]，東北大学大学院歯学研究科歯科保存学分野 [5]，
Department of Preventive Dentistry, Academic Center for Dentistry Amsterdam (ACTA) [6]
○富山　潔 [1]，長谷川晴彦 [1]，石澤将人 [1]，椎谷　亨 [1]，渡辺清子 [2]，河田　亮 [3]，二瓶智太郎 [4]，齋藤正寛 [5]，
高橋　理 [3]，浜田信城 [2]，Exterkate R.A.M [6]，向井義晴 [1]

Effects of condensed tannin extracted from astringent persimmon on diversity of polymicrobial biofilms

[1] Div. of Cariology and Restorative Dent, [2] Div. of Microbiology, [3] Div. of Histology, Embryology and Neuroanatomy,
[4] Div. of Clinical Biomaterial, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University,
[5] Div. of Operative Dentistry, Tohoku University, Graduate School of Dentistry,
[6] Department of Preventive Dentistry, Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA), The Netherlands
○ TOMIYAMA Kiyoshi [1], HASEGAWA Haruhiko [1], ISHIZAWA Masato [1], SHIIYA Toru [1], WATANABE Kiyoko [2], KAWATA Akira [3],
NIHEI Tomotaro [4], SAITO Masahiro [5], TAKAHASHI Osamu [3], HAMADA Nobushiro [2], Exterkate R.A.M [5], MUKAI Yoshiharu [1]

【研究目的】バイオフィルム内の細菌に対する殺菌効果は浮遊菌に比較して低いことが示されている．生態学的プラーク説 (ecological plaque hypothesis) によれば，乳酸産生量の増加，pHの低下などの環境変化が，バイオフィルムの病原性を増加させつつ常在細菌叢を病原細菌叢にシフトさせ，結果として齲蝕や歯周病を引き起こすとされる．このようなバイオフィルム中の病原性菌の割合を人体に害を及ぼさずに，しかも持続的に抑制できる抗菌薬を開発することは重要である．縮合型タンニンは*S. mutans*の発育阻止や，歯質および修復物への付着抑制能を有することが指摘されている．我々は第138，139，140，142および143回本学会において，渋柿由来の縮合型タンニンを含有させた食品・化粧品等の原料（Pancil PS-M：リリース科学工業株式会社）が緑茶タンニンや0.2%グルコン酸クロルヘキシジンよりも持続的にバイオフィルムの増殖および乳酸産生を抑制できることを報告した．今回，Pancil PS-Mがバイオフィルムの構成菌にどのような影響を及ぼしているのかを分析する目的で，特定菌種の定量分析を行った．

【材料および方法】ポリマイクロバイアルバイオフィルム形成用材料には直径 12 mm 厚さ 150 μm のガラス円板（Menzel, Braunschweig, Germany）を用いた．処理剤には，4%Pancil PS-M，Corsodyl（0.2 vol%グルコン酸クロルヘキシジン，GlaxoSmithKline），およびタンニン含有量を 4%Pancil PS-M と同量に調整した緑茶抽出物（リリース科学工業株式会社）を用いた．実験群は，(1) 非処理群（Cont），(2) 4.0 vol% Pancil PS-M 群（P），(3) 0.2%グルコン酸クロルヘキシジン群（C），(4) 緑茶抽出液群（G）の 4 群とした．ポリマイクロバイアルバイオフィルムの培養には一被験者から採取した刺激唾液を用いた．培養液には unbuffered McBain 2005（0.2%スクロース含有）培養液を用い，50 倍希釈となるように刺激唾液を混入した．培養液の交換は 10 時間，14 時間のサイクルで行ない，培養 24 時間の時点で各処理剤あるいは滅菌脱イオン水（Cont）に 5 分間浸漬後，72 時間まで嫌気条件下（CO_2 : 10.0%，H_2 : 10.0%，N_2 : 80.0%，37℃）で培養した．その後，ガラス円板に付着しているバイオフィルムから DNA 抽出後（MORA-EXTRACT kit），DNA 濃度を 10 ng/μl に調整し，Rotor-Gene Q (Qiagen 社製)を用いたリアルタイム定量 PCR 法（インターカレーター法）により，形成されたポリマイクロバイアルバイオフィルム中の，*Streptococcus* 属，*Actinomyces* 属，*Veillonella* 属の遺伝子コピー数を推定し，各群のデータを比較，検討した．

【結　果】24 時間培養したポリマイクロバイアルバイオフィルムに Pancil PS-M（P），グルコン酸クロルヘキシジン（C），緑茶抽出物（G）のいずれかを用いて処理を行い，その後，バイオフィルム培養を 48 時間継続して行った結果，すべての処理群における生菌数（CFU/ml）は非処理群と比較して有意に低かった．C 群と G 群は，同等のポリマイクロバイアルバイオフィルムの増殖抑制効果を示したが，P 群のポリマイクロバイアルバイオフィルムの増殖抑制効果は C 群および G 群に比較し有意に高かった（$p<0.05$）．リアルタイム定量 PCR 法による分析結果は，バイオフィルム中の細菌中，*Veillonella* 属の生菌数が P および G 群において，顕著に，持続的に抑制され（Cont：3.28×10^5，P：not detected，C：1.43×10^5，G：not detected），さらに *Streptococcus* 属は，P 群で，他群に比較し最も抑制されていることが示された（Cont：9.48×10^8，P：2.54×10^8，C：3.20×10^8，G：6.66×10^8）．培養液の pH drop は，P 群において最も抑制されていた．【考　察】今回，タンニン量を統一したにも関わらず，渋柿由来の縮合型タンニンは緑茶タンニンと比較して高いバイオフィルムの増殖抑制効果を示した．また，渋柿由来の縮合型タンニンと緑茶タンニンは，バイオフィルム中の *Veillonella* 属を顕著に抑制することが示され，これは両群のタンニンの効果であると考えられた．また，渋柿由来タンニンは，最も *Streptococcus* 属を抑制し，さらに pH drop も抑制したことから，Pancil PS-M 処理は細菌群のセレクションを抑え，高病原性化を防ぐだけでなく，バイオフィルム形成を防ぐ可能性が示された．

【結　論】Pancil PS-M は口腔バイオフィルム中の生菌数を減少させ，特に *Veillonella* 属および *Streptococcus* 属を抑制することが示された．

異なる水中浸漬期間のコンポジットレジンのリペアに及ぼす表面処理法の影響

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　う蝕制御学分野[1]
○永野　大樹[1]、高橋　真広[1]、中島　正俊[1]、野田　有佳里[1]、佐藤　健人[1]、保坂　啓一[1]、田上　順次[1]

The effect of surface treatment on repairing procedure of aged resin composite in the different term of water immersion

[1]Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○NAGANO DAIKI[1] ,TAKAHASHI MASAHIRO[1], NAKAJIMA MASATOSHI[1], NODA YUKARI [1], SATO KENTO[1]
HOSAKA KEIICHI[1], TAGAMI JUNJI[1]

(研究目的)

コンポジットレジン修復物の補修が必要な場面に遭遇した場合、Minimal Intervention の概念に基づきレジン全てを除去して補修することより、部分的補修修復が推奨されている。部分的補修修復におけるフィラーに対する表面処理としてシランカップリング処理が有効とであると報告されている。さらに、マトリックス中の未重合モノマーもまたコンポジットレジン同士の接着に有効であることが知られている。しかし口腔内においては水分が存在することから、経時的にコンポジットレジンは吸水し、未重合モノマーが溶出することが予想される。それゆえ、旧コンポジットレジン修復物に含まれる未重合モノマーの多寡が、修復物リペアにおける接着強さに影響を与える可能性がある。しかしながら、未重合モノマーの溶出と補修に関する報告はなされていない。本研究では重合硬化後、異なる水中浸漬期間を経過したコンポジットレジンを用い、水中浸漬期間と表面処理材が接着強さへ及ぼす影響を比較検討した。

(材料および方法)

本実験では 4 種類のコンポジットレジン（Clearfil AP-X(APX)/クラレノリタケ社製、Beautifil Ⅱ(BF)/松風社製、Filtek Supreme(SP)/3M ESPE 社製、Estelite Sigma Quick(ES)/トクヤマデンタル社製）を用いた。4 種類のコンポジットレジンディスク（厚さ 1mm、直径 15mm）を作成し、異なる期間（0 日、1 週間、2 週間）水中浸漬を行い被着試料とした。水中浸漬を行った試料を#1000 の耐水研磨紙にて表面を研磨後、表面処理を行わない群(control)、ボンディング材(Clearfil SE One(SE)/クラレノリタケ社製)で処理を行った群(SE)、SE とシランカップリング材(Porcelain Bond Activator(PB)/クラレノリタケ社製)の混合物で処理を行った群(SE+PB)に分けた。その後、プラスチックチューブ（直径 0.8mm、高さ 0.5mm）を置き、その中にレジンディスクと同じ種類のコンポジットレジンを填入後、40 秒間光照射を行った。チューブを除去後 24 時間 37℃にて水中保管し、クロスヘッドスピード 1mm/min の条件で微小せん断接着試験を行った。なお試料数は各実験群ともそれぞれ 10 とし、得られたデータは有意水準 95%にて統計処理を行った。

(結果ならびに結論)

2 週間水中浸漬後の APX、ES、SP への接着強さは control 群において有意に低下した。一方、BF への接着強さは全ての表面処理群において水中浸漬の影響を受けなかった。また、全てのコンポジットレジンにおいて水中浸漬後のコンポジットレジンへ表面処理を行った群（SE 群と SE+PB 群）は control（無処理）群と比較して有意に高く、重合硬化後の水中浸漬後の表面処理が接着強さを有意に向上させることが明らかになった。さらに、APX においては SE 群と SE+PB 群の間にも有意差が認められ、シラン処理が有効に働くことが示唆された。

		0 day	1 week	2 week
APX	control	20.7 (3.4)^{Aa}	11.7 (3.2)^{Ba}	11.2 (3.0)^{Ba}
	SE	27.7 (2.3)^{Ab}	24.2 (4.3)^{ABb}	20.9 (3.8)^{Bb}
	SE+PB	39.2 (3.7)^{Ac}	37.4 (5.0)^{Ac}	37.3 (3.2)^{Ac}
BF	control	14.0 (4.0)^{Aa}	13.3 (2.5)^{Aa}	12.8 (3.7)^{Aa}
	SE	24.4 (1.7)^{Ab}	21.6 (2.4)^{Ab}	19.7 (4.9)^{Ab}
	SE+PB	20.0 (5.6)^{Ab}	22.5 (5.0)^{Ab}	19.7 (3.1)^{Ab}
ES	control	20.9 (1.3)^{Aa}	14.1 (1.3)^{Ba}	11.2 (2.0)^{Ca}
	SE	22.4 (3.2)^{Aa}	19.9 (2.7)^{Bb}	17.0 (2.7)^{Cb}
	SE+PB	20.9 (2.1)^{Aa}	16.1 (0.9)^{Bab}	16.0 (2.1)^{Cb}
SP	control	10.2 (1.3)^{Aa}	8.2 (2.1)^{Aa}	7.4 (2.4)^{Aa}
	SE	17.2 (2.8)^{Ab}	17.0 (2.3)^{Ab}	16.8 (3.9)^{Ab}
	SE+PB	25.1 (3.0)^{Ac}	12.9 (2.1)^{Bc}	13.0 (2.4)^{Bc}

Value = micro shear bond strength (MPa), In parentheses figures standard deviation

In the resin of the same type, significant differences are indicated by different capital letters (within same water immersion period), or different lower case (within same surface treatment method). ($p > 0.05$).

サーマルサイクリングが試作コンポジットレジンの色調変化に及ぼす影響

昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科学部門[1)]，株式会社松風[2)]，
昭和大学歯科保存学講座歯科理工学部門[3)]

○井出翔太郎[1)]，山口麻衣[1)]，真鍋厚史[1)]，中塚稔之[2)]，宮崎隆[3)]

Effect of thermal cycling on the discoloration of trial manufacture composite resin

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical cariology, Showa University School of Dentistry[1)], SHOFU INC[2)], Department of conservative Dentistry, Division of Biomaterials and Engineering, Showa University School of Dentistry[3)]

○IDE Shotaro[1)], YAMAGUCHI Mai[1)], MANABE Atsufumi[1)], NAKATSUKA Toshiyuki[2)], MIYAZAKI Takashi[3)]

＜緒言＞

光重合型コンポジットレジン（以下 CR）は Minimal intervention を基本とする修復処置には必要不可欠な修復材である。修復直後は歯との色調が一致しており、さらに研磨性も優れている。しかしその表面性状が長期間の口腔内温度刺激や歯ブラシ摩耗、咬耗による変化に関しては不明な点が多い。前回の発表ではシラン処理したフィラー含有の CR と未処理フィラーの CR を着色性に関して比較検討し、フィラー表面をシラン処理することで着色の影響を受けにくくなると報告した。そこで今回はシラン処理と未処理フィラーの CR を用いて、サーマルサイクリング負荷後の CR の表面性状を、経時的色調変化、表面粗さ、吸水量、SEM 画像の結果から検討することでシラン処理又は未処理の効果を観察することを目的とした。

＜材料・方法＞

今回の試作 CR（SSIP-1,SSIP-2）は松風から提供されたものを用いた。試作 CR は未重合状態のものを直径 8.0mm、厚さ 1.2ｍｍのステンレスモールドのリングに填入し、その上にセロファンを介して万能平圧器にてプレパラートを圧接後、60 秒間光照射（G-Light 出力：1200mw/㎠）を接触状態で行い重合硬化させた。SSIP-1 を 40 個、SSIP-2 を 40 個作製し計 80 個とした。試験片作製後、表面は注水下で耐水研磨紙＃600,1000,1500,4000 で研磨後、酸化アルミナ粉末とバフにより鏡面研磨を行った。試験片は吸水量測定用試験片として 40 個を 37 度大気中に 24 時間保管、残り 40 個は色調変化、表面粗さ測定用試験片として 24 時間 37 度蒸留水に浸漬した。今回使用した色素はコンポジットレジンに対する色素の浸透を観察する為に、色素としてローダミン溶液を用いた。試験片はローダミン 0.01%水溶液に各 24 時間、48 時間、72 時間、7 日間浸漬した。サーマルサイクル試験ではローダミンに浸漬した状態で、5-60℃を 1 サイクルとして、各温度における係留時間を 60 秒間で 1000 回と 10000 回行った。浸漬後及び、サーマルサイクル後、測色器（シェードアイ,松風）にて表面中心部付近を測色後、ΔE とコントラスト比を算出した。表面粗さの計測は接触型表面粗さ計を用いて、表面粗さ（中心線平均表面粗さ（Ra））を算出した。吸水量は JIS 規格に基づき、浸漬前後、サーマルサイクル負荷前後の試験片の重量を計測し、初期重量に対する重量変化の百分率を算出し吸水量とした。走査型電子顕微鏡（TM3000, HITACHI）によりレジン試験片の表面性状の観察を行った。

＜結果・考察＞

ΔE とコントラスト比はサーマルサイクル負荷を行った未処理群が最も高い値を示し、色素の浸透を認めた。表面粗さの値はサーマルサイクル負荷を行った未処理群が最も高い値を示し、SEM 画像よりフィラー表面の露出を認め、ベースレジンとフィラーの間に亀裂が認められた。吸水量も同様にサーマルサイクル負荷を行った未処理群が最も高い値を示した。

＜結論＞

CR の色調は口腔内の温度環境すなわち温度差が大きい程劣化することが明らかとなった。CR の深部における着色の原因は、シランカップリング処理方法が大きく関与していると示唆された。

shade matching 実習を伴った全学モジュール教育

日本大学歯学部　保存修復学講座[1]，　一般社団法人細矢[2]，　飯田橋なかしま歯科医院[3]
○ 細矢由美子[1, 2, 3]，　池田　毅[3]

Trial of shade matching practice in the module curriculum

Nihon University School of Dentistry, Dept. of Operative Dentistry[1],
HOSOYA General Incorporated Association[2],　Iidabashi NakashimaDental Clinic[3]
○ Yumiko Hosoya[1, 2, 3]，　Takeshi Ikeda[3]

[目的]：現在の社会では、語学力、創造性、柔軟性、自立性、チームワーク力、コミュニケーション力、批判的思考力、自己管理力など、特定の枠組みを超えた状況下で適用可能な高次のスキルが求められている。社会で役立つ基盤的な知識や経験を身につけ、また、国際社会で活躍する為に多くの大学で教育改革が行われている。

演者は、学生が自ら興味のある分野を選び、学び、考え、議論し、評価し合う学生参加型教育の新プロジェクトとして開始されたモジュール教育中の選択科目である“全学モジュール”の１テーマを 2013 年 12 月に長崎大学で担当する機会を得た。モジュール教育は全学と学部モジュールに分かれており、全学モジュールはモジュールⅠ（基本的内容：１クラス 100 名程度）とモジュールⅡ（細分化されたテーマ：１クラス 50 から 70 名程度）から構成されていた。演者が担当したのは、モジュールⅠの“健康と医療の安全・安心”中の“美と健康Ⅱ：口と健康”に関する２コマ／12 コマ(1 コマ：90 分)であった。

演者は、口と歯の健康を学生が興味深く楽しく理解する事を目的に、学生による実習、発表と討議を必須とする本プロジェクト中に歯の色彩教育と歯の色選びを導入した。

[方法]：受講した長崎大学の学生の所属学部は、工学部、環境科学部などであり、歯学部は含まれない。最初の授業のテーマは、“歯の色と歯の変色”であり、あらゆる原因別に症例と処置例の実際と理論をスライドで提示した。歯の構造や歯の色、色彩の基礎理論の講義も行った。２回目の授業のテーマは、“歯の色の比較分析法と白い歯”であった。まず、歯の色と色彩の復習および正しい shade matching の方法を説明した。受講生は５グループにわかれ、２名１組のペアーになり、お互いの歯の色を Vita 3-D shade guide から選出した。shade matching 実習後にグループ別の発表を行い、さらに総合討論を行った。

[結果並びに考察]：学生の受講数が予想を超えて高く、発表は活発であり、受講した学生の歯の色に対する関心度と理解度の高さが伺えた。さらに歯の色彩講義と shade matching 実習の両者ともに、歯の健康教育に極めて有効である事が確認できた。

演者が歯科衛生士学校,歯科技工士学校と歯学部学生（１年生）に対して行った調査の結果、自分の歯の色に興味がある者の割合は 90%，64%と 82%であった。自分の歯の色に自信がある者は 5.2%,5.3%と 6.8%のみであり、歯をきれいにしたいと回答した者の割合は 90%，81%と 91%であった。

演者は,入学直後の歯学部１年生に対する分光高度計と 3D Master shade guide を用いた歯の色彩教育，全学教育選択科目中での“歯の色・白い歯”をテーマとした講義,歯学部以外の学生への 3D Master を使用した shade matching 実習を含む歯の色彩教育の経験がある。これらの講義や今回報告する全学モジュール講義後のアンケート並びに shade matching 実習の結果から,歯の色彩教育は学生にとってインパクトが高く,自分の歯の色を知る事は自分の歯と口腔への関心を高め,定期的な歯科受診による口腔管理の意義を理解する上で有効である事がわかった。

[結論]：shade matching を取り入れた歯の色彩教育は歯の健康教育に極めて有効であった。

[文献]：1). 細矢由美子：早期体験実習“歯の色と測色”受講後の新入生に対するアンケート調査、歯科の色彩 13: 63-67、2007.　2). 細矢由美子：歯と変色歯をテーマとした全学教育（第２報）レポート用紙の形式と配布時期が学生の理解度に及ぼす影響、歯科の色彩、11: 29-33，2005.　3). 細矢由美子：歯の色と変色歯をテーマとした全学講義に対する評価、歯科の色彩、9: 4-9，2003.

新しいレジンコーティング材料を用いたレジンセメントの象牙質接着の向上効果

[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
○明橋冴[1]、高橋礼奈[1]、二階堂徹[1]、田上順次[1]

Enhancement of Dentin Bond Strength of Resin Cement using New Resin Coating Materials

[1]Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○Sae AKEHASHI, Rena TAKAHASHI, Toru NIKAIDO, Junji TAGAMI

【研究目的】

レジンコーティング法は、間接法修復における歯髄保護やレジンセメントの象牙質に対する接着性の向上に有効である。しかし、その接着強さは直接法修復と比較して依然として低く、レジンコーティング法を用いたより高く安定した接着性の獲得が喫緊の課題である。本研究の目的は、間接法修復に用いるレジンコーティング材料について検討し、レジンセメントの象牙質に対する接着強さをコーティングの有無、及び直接コンポジットレジン修復との比較検討することである。

【材料及び方法】

抜去後、冷凍保存した36本のヒト健全大臼歯象牙質を注水下にて露出し、耐水研磨紙＃600で研削した。間接法修復では、レジンセメントとして Panavia F2.0 もしくは Panavia V5 を用いた。象牙質に対してレジンコーティングなし(Non-coat)では、業者指示に従い象牙質に接着した。レジンコーティング群では、まず象牙質を Clearfil SE Bond 2(SE2)で接着後、さらに3種のコーティング材料；Clearfil Protect Liner F(PLF)、Clearfil Majesty LV(Majesty)、V5（セメントのみ）を用いてコーティングした。その後、37℃水中に 24 時間保管後、間接法コンポジットレジンディスク（Estenia C&B）（直径 10 mm、厚さ 1 mm）を用いてレジンセメントで接着し、さらに37℃水中に24時間保管後、ディスク表面をシラン処理後、象牙質面からの試料の高さが3 mmとなるようにAP-Xを充填した。一方、直接法修復(Direct)では、SE2を用いてClearfil AP-X(AP-X)を1 mmの厚みで充填を行った（上記の使用材料はクラレノリタケデンタル社製である)。その後、試料をビーム状試片（約 1.0×1.0 mm）にトリミングし、EZ-SX（島津製作所社）にて微小引張り接着試験（クロスヘッドスピード 1 mm/min）を行った。得られた値は、one-way ANOVA 及び Dunnett's C test を用いて有意水準5%にて統計処理を行った。本研究は、東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認（725号）を得て行った。

【結果・考察】

微小引張り試験の結果を Fig.に示す。Non-coat 群において Panavia V5 は Panavia F2.0 と比べて有意に高い値を示した。コーティング群においては、Panavia V5 を用いた場合、SE2＋Panavia V5 群においては他の群と比べて有意に高い値が得られたが、Non-coat 群と SE2＋PLF 群、および Non-coat 群と SE2＋Majesty 群との間に有意差は認められなかった。一方、Panavia F2.0 を用いた場合、コーティングを行うことによって Non-coat 群と比べて有意に高い値が得られ、SE2＋Panavia V5 によるコーティングによって最も高い接着強さを示し、この値は Direct 群と同等であった。以上の結果から、間接法修復においてコーティング材の選択は象牙質接着強さに影響を及ぼすことが明らかとなった。さらに SE2＋Panavia V5 をコーティング材として用い、レジンセメントに Panavia F2.0 を用いた場合、特に高い接着性を示すことがわかった。

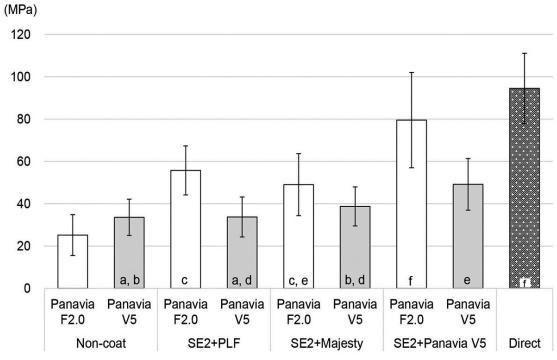


Fig. Microtensile bond strength to dentin
The same small letters are not statistically different (p>0.05).

象牙質の部位とフロアブルレジンライニングが微小引張り接着強さならびに象牙質クラックに及ぼす影響

[1]東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野
[2]国立長寿医療研究センター
○高橋 那緒[1]、島田 康史[1]、ルン・ダオ・ミン・グェド[1]、角 保徳[2]、田上 順次[1]

Effect of dentin location and flowable lining on the microtensile bond strength and internal dentin crack

[1] Tokyo Medical and Dental University, Cariology and Operative Dentistry
[2]National Center for Geriatrics and Gerontology
○Nao Takahashi[1], Yasushi Shimada[1], Luong Dao Minh Nguyet[1], Yasunori Sumi[2], Junji Tagami[1]

【目的】

コンポジットレジンの歯質接着性は、被着体の部位や使用する材料の影響を受けることが知られている。本研究の目的は、被着象牙質の部位の違いとフロアブルコンポジットレジンによるライニングの有無が、微小引張り接着強さならびに象牙質内部の破壊形態に及ぼす影響を評価した。

【材料と方法】

ヒト抜去臼歯の歯冠部象牙質(coronal)と歯頚部象牙質(cervical)を被着面として咬合面に平行に切り出し、#600 耐水研磨紙を用いて平滑面を作製した。クリアフィルメガボンド（クラレノリタケデンタル）による２ステップセルフエッチングシステムをメーカー指示通りに塗布し、エステライトフロークイック（トクヤマデンタル）によるライニングを行ったもの(lining)と行わなかったもの(no lining)の２群を作製し、クリアフィル AP-X（シェード A2、クラレノリタケデンタル）を象牙質に接着した。37℃恒温槽中に 24 時間保管し、1.0mm^2 クロスビーム状試片を作製し、波長走査型光干渉断層計（SS-OCT）を用いてコンポジットレジン及び象牙質の試料内部の状態を観察した。その後クロスヘッドスピード 1.0mm/min にて微小引張り試験を行い、接着強さを測定した。接着試験の後、コンポジットレジンならびに象牙質の破断面の内部に生じた変化を SS-OCT にて観察し、試料内面に生じたクラックの面積を評価した。また、接着試験による破断面の破壊形態を**共焦点レーザー顕微鏡**(CLSM）により観察した。

【結果・考察】

微小引張り試験の結果、歯冠部象牙質において歯頚部象牙質よりも有意的に接着強さは高くなった(Fig1)。歯冠部象牙質を被着面とした群では、フロアブルレジンのライニングによる違いはみられなかった。また歯頚部象牙質では、フロアブルレジンのライニングによって接着強さの有意差がみられ、ライニング行った群の方が低い接着強さを示した。CLSM にて破壊形態を観察すると接着界面付近での破壊が多くみられた。SS-OCT を用いて試料内部のクラックの状態を観察すると、歯頚部象牙質において歯冠部象牙質よりもクラックが多くみられた(Fig2)。歯冠部象牙質ではライニングを行わなかった群の方においてクラックが増加し、歯頚部象牙質ではライニングを行った群にクラックが多くみられた。

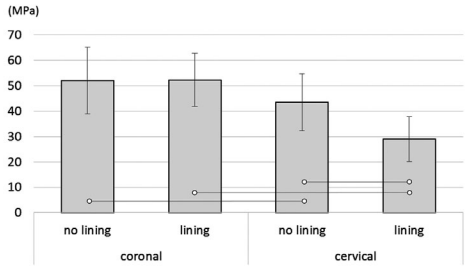


Fig1. Mean of microtensile bond strength with standard deviation(MPa)
○———○ Significant differences between results (P<0.05, T-test, Two-way ANOVA)

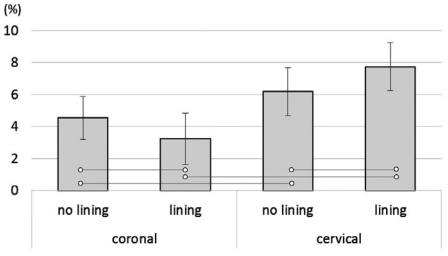


Fig2. Mean of crack area percentage with standard deviation(%) according to evaluation of SS-OCT images by ImageJ
○———○ Significant differences between results(P<0.05, T-test, Two-way ANOVA)

【結論】

本実験結果から、象牙質の部位とライニングの有無によりコンポジットレジンの微小引張り接着強さに違いがみられた。また、接着試験後の象牙質内部を SS-OCT 観察すると、クラックの面積にも違いがみられた。

In-air micro-beam PIXE/PIGEによる根面象牙質の耐酸性評価 -pHおよびフッ化物の影響に関する検討-

1．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）
2．朝日大学歯学部　歯科理工学分野 3．北海道医療大学歯学部　う蝕制御学分野
4．若狭湾エネルギー研究センター
○八木　香子[1]，山本　洋子[1]，上村　玲央[1]，奥山　克史[2]，松田　康裕[3]，鈴木　耕拓[4]，林　美加子[1]

Evaluation of acid resistance of root dentin using In-air micro-beam PIGE/PIXE system. -Effects of pH and fluoride releasing materials-

1. Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
2. Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry
3. Division of Clinical Cariology and Endodontology, Health Sciences University of Hokkaido Graduate school of dentistry
4. The Wakasa Wan Energy Research Center
○Kyoko YAGI[1], Hiroko YAMAMOTO[1], Reo UEMURA[1], Katsushi OKUYAMA[2], Yasuhiro MATSUDA[3], Koutaku SUZUKI[4] and Mikako HAYASHI[1]

[研究目的]超高齢社会において重要視されている根面う蝕の予防については，う蝕の発症・進行メカニズムの分子レベルでの理解に基づく対応が期待されている．演者らは，従来より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，根面象牙質の脱灰および再石灰化に関与しているフッ素の新たな評価法を確立し，第142回日本歯科保存学会春季学術大会にて報告した．今回は，この評価法を用いて，フッ化物を作用させた根面象牙質におけるカルシウムとフッ素濃度の経時的変化，および異なるう蝕リスクを想定した条件でのフッ化物のう蝕の進行抑制効果について比較検討を行った．

[材料および方法]ヒト健全第三大臼歯 25 本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3ブロックを各歯より切り出し，2ブロックの象牙質露出部に，Fuji Ⅶ(GC)，(以下F7群)，MI Varnish(GC)(以下MI群)を各々塗布した．一方，材料を塗布しない1ブロックをコントロール(以下C0群)とした．37℃で1カ月(各群19ブロック)もしくは3カ月間(各群6ブロック)生理食塩水中に浸漬後，塗布材料を除去し，各ブロックを露出根面象牙質に垂直，歯軸に平行かつ頬舌方向に 0.5 ㎜幅に切断し，測定試料とした．切断面の象牙質表層より 800 ㎛の部位に厚さ 4 ㎛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 を用いた線分析を既報(Yasuda et al., NIM B 260, 2007)に従い行った．PIXE/PIGE 測定後，1 か月塗布試料を脱灰溶液A(50 mmol/l acetate buffer, 2.2 mmol/l $CaCl_2$, 2.2 mmol/l KH_2PO_4, pH 5.0)(各群 n=10)あるいは脱灰溶液B(0.2 mmol/l Lactic acid, 3.0 mmol/l $CaCl_2$, 1.8 mmol/l KH_2PO_4, pH 4.5)（各群 n=9），また3か月塗布試料は脱灰溶液A(各群 n=6)10 ㎛に 3 日間浸漬した後，再度 PIXE/PIGE にて脱灰前と同一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，脱灰前の試料の表層から 10 ㎛ごとにカルシウムおよびフッ素濃度を平均し，積算カルシウムおよびフッ素濃度量を脱灰前後で比較検討した(Kruskal-Wallis, and Scheffe tests, α=0.05)．さらに，歯質内に取り込まれたフッ素濃度量とカルシウム喪失量との相関を検定した(Spearman’s rank correlation coefficient, α=0.01)．

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]脱灰液A(pH 5.0)に浸漬した1カ月および3カ月材料塗布群は，いずれも C0 群と比較して，フッ素の歯質への有意に高い浸透が認められた(中央値(四分位範囲)；1ヶ月：F7 群=5777(4924)ppmF, MI 群=12717(8459)ppmF, C0 群=1(1)ppmF, 3 ヶ月：F7 群=10357(3403)ppmF, MI 群 18495(15054)ppmF, C0 群=282(326)ppmF)．また， C0 群と比較して，カルシウム喪失量が有意に少なかった(1ヶ月：F7 群=50(211) wet%･㎛, MI 群=47(175) wet%･㎛, C0 群=410(162) wet%･㎛, 3ヶ月：F7 群=128(161) wet%･㎛, MI 群=59(41) wet%･㎛, C0 群=415(327) wet%･㎛)． 1ヶ月試料脱灰液B(pH 4.5)浸漬においても，材料塗布群が C0 群と比較して，フッ素の歯質への有意に高い浸透が認められた(F7 群=2379(1832)ppmF, MI 群 7457(8199)ppmF, C0 群=240(439)ppmF)．カルシウム喪失量は， MI 群が C0 群と比較して有意に少なかった(F7 群＝730(426) wet%･㎛, MI 群＝489(426) wet%･㎛, C0 群＝1198(514) wet%･㎛)．いずれの試験条件においても，歯質に取り込まれたフッ素量は，脱灰深さ，カルシウム喪失量に対してともに負の相関を示した($p<0.01$)．酸性度が高い条件においては，より高濃度のフッ化物材料の根面象牙質への塗布がう蝕進行抑制に効果的であることが示された．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．

CAD/CAM レジンブロックの被着面に対する化学的処理方法の効果

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]
○新妻由衣子[1]、小林幹宏[1]、市川琴奈[1]、稲垣里奈[1]、宮﨑隆[2]、真鍋厚史[1]

Effect of chemical treatment on CAD/CAM resin block

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology,
Showa University School of Dentistry[1]
Department of Conservative Dentistry, Division of Oral Biomaterials and Engineering,
Showa University School of Dentistry[2]
○Yuiko Niizuma[1], Mikihiro Kobayashi[1], Kotona Ichikawa[1], Rina Inagaki[1], Takashi Miyazaki[2] ,Atsufumi Manabe[1]

【目的】

CAD/CAM レジンブロックを用いた歯冠修復が保険導入され、その普及が期待されているが被着面の処理方法に関しては確立されておらず、様々な検討がなされている。CAD/CAM レジンブロックの被着面処理方法としては、アルミナサンドブラスト処理が推奨されているが、機械的な表面構造の変化だけでなく化学的処理の併用が接着性の向上に有効であると考えられる。本研究の目的は CAD/CAM レジンブロックに対するフッ化水素酸処理の効果を剪断接着試験およびその破壊形態、さらに走査電子顕微鏡（SEM）による観察から検討した。

【材料および方法】

CAD/CAM Block

	Code	Material	Manufacturer
CAD/CAM resin block	EL	ESTELITE	Tokuyama Dental
	CS	CERASMART	GC
	EN	ENAMIC	VITA
Ceramics block	SP	SUPRINITY	VITA

Surface Pre Treatment

Code	Material	Main Components	Manufacturer
PA	Phosphoric Acid Etching Gel	37% Phosphoric acid	Pentron
5%	Ceramics Etch	5.0%Hydrofluoric acid	VITA
9%	Porcelain Etch	9.0% Hydrofluoric acid	ULTRADENT
9.5%	Porcelain Etchant Gel	9.5%Hydrofluoric acid	BISCO

各ブロックを厚さ 2 ㎜に調整後、耐水研磨紙＃600 にて研磨し、内径 20 ㎜のアクリルリング内に化学重合レジンパラプレスバリオ(ヘレウスクルツァー)にて埋入固定した。その後、被着面に対し上記の各処理行いクリアフィルマジェスティ LV(Kuraray Noritake Dental)を接着させた。ボンディング材、シランカップリング剤としてはそれぞれクリアフィルフォトボンド、ポーセレンアクチベーター(Kuraray Noritake Dental)を用いた。製作した試験片を 24 時間 37℃水中保管した後、万能材料試験機（type 5500R,Instron）を用いてクロスヘッドスピード 1 ㎜/min の条件下で剪断接着試験を行った(n=10)。得られた接着強さの値は Tukey's multiple comparison test を用いて、有意水準 0.05 の条件で統計学的分析を行った。

【結果および考察】

剪断接着試験では全てのブロックで PA、5%、9%、9.5%順に高い接着性を示した。EL では PA と 9.5%、5%と 9.5%、CS では PA と 9%、PA と 9.5%、5%と 9%、5%と 9.5%で有意差が認められた。破壊形態は EL、CS では界面破壊と混合破壊が多く見られたが EN では凝集破壊が多く観察された。

CAD/CAM レジンブロックの被着面処理としてフッ化水素酸は有効であることが示唆されたがブロック毎に組成が異なりその効果には差があると言える。

CAD/CAM レジンブロックへの表面処理法の違いが新規レジンセメントとの接着強さに及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座
○柴崎　翔，黒川弘康，白土康司，佐々木奈央，竹中宏隆，宮崎真至，安藤　進，市石芳博

Influence of surface conditioning to CAD / CAM resin block on shear bond strength of newly resin cement

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry
○SHIBASAKI Sho, KUROKAWA Hiroyasu, SHIRATSUCHI Koji, SASAKI Nao,
TAKENAKA Hirotaka, MIYAZAKI Masashi, ANDO Susumu, ICHIISHI Yoshihiro

【研究目的】

CAD/CAM レジンブロック冠を用いた歯冠修復処置の臨床報告では，不快事項として脱離を生じることが問題とされている。この背景のひとつには，CAD/CAM レジンブロックの臼歯部での応用に際して，機械的性質が一定以上の基準をクリアする必要があることから，マトリックスレジンを加熱加圧条件下で重合しており，レジンセメントとの接着には不利な条件であることが挙げられる。CAD/CAM レジンブロックの表面処理は，サンドブラスト処理後にシランカップリング剤を塗布することが推奨されているが，各メーカーで市販されている CAD/CAM レジンブロックのレジンモノマーの種類，フィラー形状あるいは含有量は異なるものであり，レジンブロックの種類によっては，これらの表面処理法では良好な接着性を獲得することが困難な場合もある。このような臨床的背景のもと，CAD/CAM レジンブロック対応新規レジンセメントシステムとしてブロック HC セムが松風から発売された。本システムは，デュアルキュア型のレジンセメントと歯質用プライマーおよびレジンブロック用プライマーで構成されており，とくにレジンブロック用プライマーは，マトリックスレジンとの接着に重点をおいて開発がなされている。そこで演者らは，CAD/CAM レジンブロックに対する表面処理法の違いが，新規レジンセメントシステムの接着強さに及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】

1. CAD/CAM 試片被着面の調整

松風ブロック HC をジグに対して垂直にスライスした後，スライス面が平坦となるよう，耐水性 SiC ペーパー#2000 を用いて厚さ 2.0 mm に調整，常温重合レジンに包埋したものを CAD/CAM 試片とした。この CAD/CAM 試片に対して，以下の条件で処理を行った。

1) SiC ペーパー#180 を用いて研削（Control 群）
2) Control 群に対してアルミナ粒子（50 μm）を用いて，被着面に対して 10 mm の距離から垂直に，サンドブラスト処理（0.2 MPa）を 5 秒間行い，3 分間超音波洗浄（SB 群）
3) SB 群に対して Porcelain Primer（松風）を用いて製造者指示条件でシランカップリング処理（Silane 群）
4) SB 群に対してレジンブロック用プライマーを用いて製造者指示条件で処理（Primer 群）

2. 接着強さの測定

処理面に対して内径 2.38 mm の Ultradent 接着試験用冶具を被着面に固定した後，練和したレジンセメントを填塞，30 秒間照射を行ったものを接着試験用試片とした。接着試験用試片を 37 ± 1℃，相対湿度 90 ± 5%の条件で 24 時間保管した後，万能試験機を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。

3. 走査電子顕微鏡観察

各処理面および CAD/CAM 試片とレジンセメントとの接合界面について，通法に従って FE-SEM を用いて観察した。

【成績および考察】

レジンセメントの 24 時間後の接着強さは，Primer 群で最も高く，次いで，Silane 群，SB 群および Control 群の順であった。この要因としては，処理法によるレジンブロックの表面性状の変化およびレジンセメントのヌレ性の違いなどが影響したものと考えられた。

【結論】

新規レジンセメントの CAD/CAM レジンブロックへの接着強さは，表面処理法の違いに影響を受けることが判明し，新たに開発されたレジンブロック用プライマーの有効性が示された。

レジンコーティングの有無条件下におけるメタルフリーCAD/CAM アンレー修復の接着

日本歯科大学 生命歯学部 接着歯科学講座
○石井詔子　前野雅彦　小川信太郎　河合貴俊　中村昇司　柵木寿男　奈良陽一郎

Bonding of metal-free CAD/CAM onlay restoration with and without resin coating application

Department of Adhesive Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
○ISHII Noriko　MAENO Masahiko　OGAWA Shintaro　KAWAI Takatoshi
NAKAMURA Shoji　MASEKI Toshio　NARA Yoichiro

【研究目的】メタルフリ―CAD/CAM アンレー修復に際してのレジンコーティングの応用は、良好な窩洞適合性の獲得に寄与することが確認されている[1)]。また近年では、異なる機械的・構造的性質を有した歯科用 CAD/CAM ブロックが臨床に応用されている。そこで本研究では、レジンコーティングの有無条件下におけるメタルフリーCAD/CAM アンレー修復の接着を明らかにすることを目的に、咀嚼環境想定の動的荷重ストレス負荷後の窩洞内微小引張接着強さ(μ-TBS)を測定することによって評価検討した。

【材料および方法】被験歯には、本学部倫理委員会の承認を得てヒト抜去健全下顎大臼歯 24 本を用いた。歯科用 CAD/CAM ブロックには、ハイブリッド型レジンブロック 2 種：Lava Ultimate（3M ESPE, **L**）と VITA ENAMIC（VITA, **E**）を、対照ブロックとして長石系セラミックブロック 1 種：VITABLOCS Mark II（VITA, **V**）を選択した。まず、各被験歯の形成前歯冠形態をミリング修復物に反映させるため、歯科用 CAD/CAM システム CEREC AC Omnicam（sw4.3）(MC XL，SIRONA Dental Systems)による光学印象採得を行った。ついで、被験歯をレジンコーティング(**C**＋)群と非レジンコーティング(**C**－)群に類別し、Fig.1 に示す規格化 MODB 窩洞の形成(n=12)を経て、**C**＋には Scotchbond Universal Adhesive と Filtek Supreme Ultra Flowable Restorative（3M ESPE)を用いたコーティングを行った。その後、各窩洞の光学印象採得、事前光学印象データに基づく MODB アンレーの作製、RelyX Ultimate（3M ESPE)による装着を行った。ついで、37℃水中における 157N×30 万回の動的荷重ストレスの負荷、1 修復試料からビーム状試料 4 本の切り出しを経て μ-TBS 値の測定(n=16)を行った。測定値に対しては、t 検定、Kruskal-Wallis 検定、Steel-Dwass 検定およびメジアンランク法による Weibull 分析を $p<0.05$ で行った。

【成績】3 修復の中央値/平均値(MPa)は、**C**－群では **L**：23.7/21.2、**E:** 15.5/15.2、**V**: 3.9/3.5，**C**＋群では **L**：29.2/26.6、**E**：15.5/15.5、**V**：5.0/5.1 であった。分析の結果、ブロックの違いにかかわらず、**C**＋群は **C**－群に比べ同等または有意に大きな μ-TBS 値を示した。一方、コーティングの有無にかかわらず、ブロックの違いは μ-TBS 値に対し有意な影響を与え、**L** と **E** は **V** に比べ有意に大きな μ-TBS 値を示した。Fig.2 に、各修復における **C**－と **C**＋群間のワイブル係数(Wm 値)と累積破壊確率 10%における推定破壊応力値(PF10)の違いを示す。分析の結果、ブロックの違いにかかわらず、**C**＋群は **C**－群に比べ同等または有意に大きな Wm 値を示した。また、3 修復間の Wm 値に注目した場合、**C**－群では **E**>**L**>**V** の、**C**＋群では **E**>**V**>**L** の大小関係を示し、コーティングの有無にかかわらず、ブロック固有の μ-TBS 値獲得のための信頼性は、**E** が最も優れていた。さらに、PF10 に注目した場合、**E** と **V** の **C**＋値は **C**－値に比べ有意に大きく、**L** では有意差を認めなかった。また、PF10 はコーティングの有無にかかわらず、**L** と **E** の値は **V** 値に比べ有意に大きかった。

【考察】ブロックの違いにかかわらず、接着強さ、接着信頼性および耐久性は **C**＋群が **C**－群に比べ同等または優れ、レジンコーティングの有用性が確認できた。これは、コーティングによる窩洞適合性の向上に加え、荷重ストレスの緩衝効果によると考える。また、コーティングの有無にかかわらず、ブロックの違いが接着強さと接着信頼性に影響を与えていたことは、ブロックの母材や構造による機械的・物理的性質に起因していると推察できる。

【結論】レジンコーティングの応用は、メタルフリーCAD/CAM アンレー修復の接着強さ、接着信頼性および耐久性の向上に有効であった。

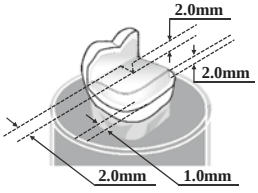


Fig.1 Standardized MODB cavity

1) 林 孝太朗，小川信太郎，前野雅彦，I.L. Dogon，奈良陽一郎．スキャナーの違いとレジンコーティングの有無が CAD/CAM セラミックアンレー修復の窩洞適合性に及ぼす影響．2015 年度日本歯科保存学会秋季学術大会（第 143 回）プログラムおよび講演抄録集（Web 版）2015；124.

本研究の一部は JSPS 科研費 26462899 の助成を受けた。

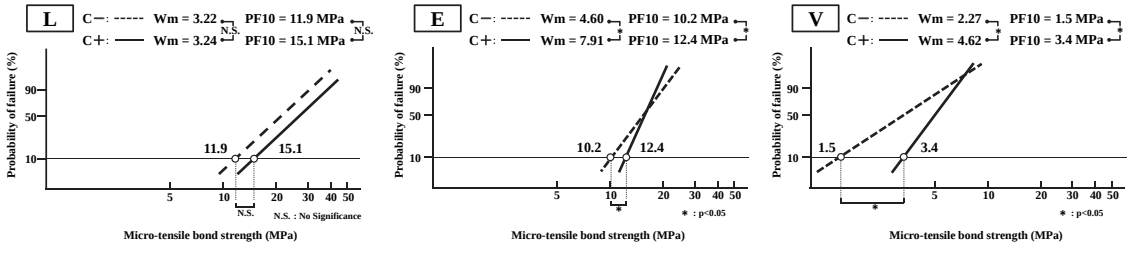


Fig.2 Differences in the Weibull modulus (Wm) and the stress value for the 10% probability of failure (PF10) level between restorations with and without resin coating

光重合型レジン修復物の窩壁適合性への光照射法とレジンタイプの影響

[1] 東京医科歯科大学(TMDU)大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座う蝕制御学分野,
[2] Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, University of Washington
○吉川孝子[1]、SADR Alireza[1,2]、田上順次[1]

Effect of Light-Curing Method and Resin Type on Composite/Wall Adaptation

[1] Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), [2] Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, University of Washington
○YOSHIKAWA Takako[1], SADR Alireza[1,2], TAGAMI Junji[1]

【研究目的】

著者は、コントラスト比が増加するレジンの方が、コントラスト比が減少するレジンよりも Slow-start curing 法を用いると窩底部レジンの重合促進効果が高いことを報告している。本研究では、実験用ランプ電圧可変型ハロゲンランプ光照射器（GC）を使用し、通常照射法と Slow-start curing 法を用いて、各種レジンにおけるレジン修復物の辺縁封鎖性と窩壁適合性について検討した。

【材料および方法】　ウシ下顎前歯唇側面に直径 3mm、深さ 2mm の円柱窩洞を形成した。Clearfil tri-S Bond ND Quick（クラレノリタケデンタル）を使用して、Clearfil AP-X（shade A3: クラレノリタケデンタル）か Clearfil Photo Bright（shade US: クラレノリタケデンタル）のレジンを充塡した。レジンのシェードは、Vita classical shade の A3 に相当するものを使用した。その後、①通常光照射法：600 mW / cm^2 40 秒と②Slow-start curing 法：270 mW / cm^2 10 秒照射、インターバル 5 秒、600 mW / cm^2 30 秒により重合硬化させた。この際、μCT を用いてレジンの硬化前後のレジン修復物の観察を行った。サーマルサイクル後、色素浸透試験により、レジン修復物の辺縁封鎖性と窩壁適合性を評価した。データ（n=7）は、Mann-Whitney U test を用いて統計処理を行った。

【成績および考察】　辺縁封鎖性は、どの群の間にも有意差は認められなかった（$p > 0.05$）。Slow-start curing 法を用いると、Clearfil Photo Bright の窩壁適合性が通常照射法を使用したものと比べ、有意に向上した（$p < 0.05$）。μCT の観察では、Slow-start curing 法を用いると、Clearfil AP-X 、Clearfil Photo Bright 共に通常照射法を使用したものと比べ重合収縮が減少することが認められた。Clearfil AP-X は、重合と共にコントラスト比（不透明度）が減少し、Clearfil Photo Bright は、重合と共にコントラスト比が増加するタイプのレジンである。これらのことから、光照射に伴いコントラスト比が増加するタイプの光重合型コンポジットレジンである Clearfil Photo Bright の方が、コントラスト比が減少するレジンである Clearfil AP-X よりも、Slow-start curing 法を用いて重合すると、重合収縮が減少し、さらに、窩底部レジンの重合促進効果により重合収縮応力を緩和して窩壁適合性が向上したものと考えられる。

【結　論】

光照射に伴いコントラスト比が増加する光重合型コンポジットレジンの方が、コントラスト比が減少するレジンよりも、Slow-start curing 法を用いて重合すると、重合収縮応力を緩和し窩壁適合性が向上することが示唆された。

Table 1 Marginal defect and Cavity-wall gap formation　(%: mean (SD))

	Clearfil AP-X		Clearfil Photo Bright	
Light-curing method	Marginal defect	Cavity-wall gap formation	Marginal defect	Cavity-wall gap formation
600 mW/cm^2 40 s	36.8 (22.9)	63.4 (10.4) ^{A}	41.7 (22.6)	32.9 (9.5) $^{a, A}$
270 mW/cm^2 10 s + 5-s interval + 600 mW/cm^2 30 s	35.2 (17.2)	45.2 (11.1) ^{B}	37.2 (15.6)	1.0 (2.6) $^{a, B}$

Intergroup data designated with same superscript small letters for each light curing method are significantly different ($p < 0.05$).
Intergroup data designated with same superscript capital letters for each resin composite are significantly different ($p < 0.05$).

バルクフィルフロアブルレジンの Ultimate Tensile Strength に対する窩洞深さの影響

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
○井手久留美，中島正俊，保坂啓一，高橋真広，關奈央子，田上順次

Effect of cavity depth on Ultimate Tensile Strength of bulk fill flowable resin

Cariology and Operative Dentistry, Graduate school, Tokyo Medical and Deantal University
○Kurumi IDE, Masatoshi NAKAJIMA, Keiichi HOSAKA,
Masahiro TAKAHASHI, Naoko SEKI, Junji TAGAMI

【目的】

近年、光重合型コンポジットレジン修復は機械的性質と歯質接着性の向上によって臨床範囲が拡大し、使用頻度の高い材料となっている。その中で、バルクフィルフロアブルレジンは硬化深度が深いコンポジットレジンであり、深い窩洞に対して一括充填が可能であるとされている。今回、トクヤマデンタルから新規バルクフィルフロアブルレジン EBF-001 が開発された。本研究では EBF-001 を含む 3 種のバルクフィルフロアブルレジンとコントロールとして従来のフロアブルレジンの Ultimate Tensile Strength(UTS)に対する窩洞深さの影響の評価検討を行った。

【材料・方法】

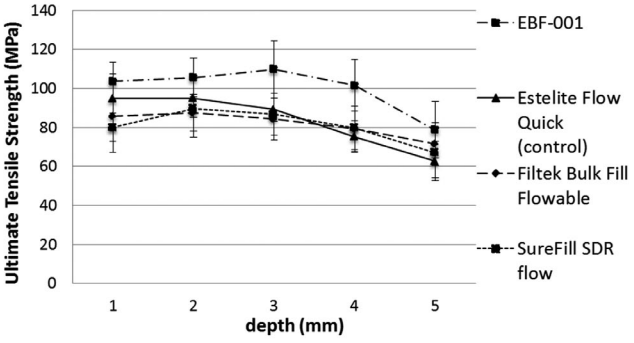
新規材料としてバルクフィルフロアブルレジンの EBF-001(Universal)；トクヤマデンタル、市販のバルクフィルフロアブルレジンの Filtek Bulk Fill Flowable(Universal)；3M、SureFill SDR flow(Universal)；DENSPLY、コントロールとしてフロアブルレジンの Estelite Flow Quick(Incisal)；トクヤマデンタルの 4 製品を使用した。

デュアルキュア型コンポジットレジン(エステコア)を用いて、直径 8mm 深さ 5mm の円柱窩洞を備えた 10mm×10mm×10mm のブロックを作成した (N=5)。窩洞開口面以外を黒の遮光テープで覆ったあと、窩洞に上記フロアブルレジンを充填し、窩洞上部から Optilux501(600mW/cm^2)にて 20 秒間光照射を行った。37℃水中に 24 時間保管した後、円柱窩洞中央部の縦方向に 2mm の幅の切片を切り出し、さらに窩洞上部から下底まで分割して厚さ 0.65mm の棒状試料を 5 本採取した。歯科用タービンにて棒状試料の中央に 0.65mm 幅のくびれを入れて砂時計型試料とし、EX-SX(島津製作所)にてクロスヘッドスピード 1mm/min で引張試験を行い UTS の値を得た。得られた値は two-way ANOVA を用いて有意水準 5%にて統計処理を行った。

【結果および考察】

光量 600mW/cm^2 のハロゲン照射器で 20 秒間光照射を行った場合、上記 Estelite Flow Quick の硬化深度は 2mm を目安としており、Filtek Bulk Fill Flowable、Sure Fil SDR flow の硬化深度は 4mm を目安としている。

右図に各レジンの窩洞深さにおける UTS の平均値と標準偏差の結果を示す。Estelite Flow Quick の UTS は、窩洞深さが深くなるにしたがって下がる傾向を示し、1mm、2mm と比較し 4mm、5mm で有意に低下した。EBF-001 の UTS は、4mm の窩洞深さまで有意な差は認められなかったが、5mm では有意に低下した。一方、Filtek Bulk Fill Flowable と SureFill SDR flow の UTS は、3mm の窩洞深さから低下したが、有意な差は認められなかった。また、Filtek Bulk Fill Flowable と SureFill SDR flow の UTS は、コントロールの Estelite Flow Quick と比べて各深さで有意な差は認められなかった一方、EBF-001 の UTS と比べて、3mm と 4mm の窩洞深さにおいて有意に低い値を示した。



【結論】

新規バルクフィルフローレジン EBF-001 の UTS は、4mm の窩洞深さまで有意な差は認められず、Filtek Bulk Fill Flowable と SureFill SDR flow と比較して高い値を示した。

CO_2 レーザー（波長 9.3 μm）照射したエナメル質の表面性状変化に関する研究
第 1 報　微細形態学的変化について

愛知学院大学歯学部保存修復学講座
○長塚由香，八谷文貴，林　建佑，鶴田あゆみ，掘江　卓，冨士谷盛興，千田　彰

Characterisitic Changes of Enamel Surface Irradiated with CO_2 Laser at a Wavelength of 9.3μm
Part 1 Micromorphological Changes

Aichi Gakuin University, School of Dentistry, Department of Operative Dentistry
○Nagatsuka Yuka, Yatagai Yoshitaka, Hayashi Kensuke, Tsuruta Ayumi,
Horie Taku, Fujitani Morioki, Senda Akira

【緒言】　波長 10.6 μm の CO_2 レーザー（以降，$10.6CO_2$ と略す）を歯質に照射し，エナメル質や象牙質の構造の変化，あるいは耐酸性の獲得など歯質の改質を図った研究は数多くある．しかし，これらの研究の多くで使用したエネルギーは，歯質に炭化層や大きな亀裂，あるいは微小な欠損などを生じるレベルであり，歯質への侵襲が大きいものである．歯のリン酸カルシウムの吸収波長は 9 μm 帯に存在する．したがって，波長 9.3 μm の CO_2 レーザー（以降，$9.3CO_2$ と略す）の歯質に対する作用は，$10.6CO_2$ の場合に比し，より効率的に生じると考えられている．演者らも，$9.3CO_2$ と象牙質との相互作用については，表面の硬さの増加や耐酸性の発現が $10.6CO_2$ の場合より効果的に生じることを確認した（Suzaki ら 1998, 福田 2012）．しかしながら，エナメル質に対する作用については，炭化や亀裂などを生じさせないエネルギーレベルで $9.3CO_2$ を照射した場合の，エナメル質の性状の変化を図ることを $10.6CO_2$ の場合と比較検討した研究はあまりみられない．そこで本研究においては，$9.3CO_2$ による低侵襲でより効率的なエナメル質表面の改質を図ることを目的として，種々のエネルギーで $9.3CO_2$ を照射したエナメル質の表面の形態学的変化について $10.6CO_2$ の場合と比較しつつ検討することとした．

【材料及び方法】　新鮮抜去ウシ前歯の唇側エナメル質に平坦面（#2000）を調製し，蒸留水で 30 分間超音波洗浄したものを照射面とした．当該面に，波長 9.3 μm の CO_2 レーザー（試作：タカラベルモント）を用いて，3 種のエネルギー密度（119.0 J/㎠，158.7 J/㎠，238.1 J/㎠）で各々につき 1 パルス（0.1 s）ずつ 6 点照射した（それぞれ 9.3L 群，9.3M 群および 9.3H 群）．また，波長 10.6 μm の CO_2 レーザー（ベルレーザー，タカラベルモント）を同様の条件で照射し，これらを対照とした（それぞれ 10.6L 群，10.6M 群および 10.6H 群）．これら照射面の形態学的変化を走査電子顕微鏡（SEM）にて詳細に観察した．

【結果および考察】　10.6L 群では，照射野中央部に限局した有鱗状構造物が多数観察され，その間を縫うような短い亀裂が数本認められた。10.6M 群では，10.6L 群に比し有鱗状構造物の認められる範囲が広くなり，また亀裂の数も多く一部の亀裂は照射野外まで延びていた．10.6H 群では，照射野全体に有鱗状構造物が観察されるようになり，また亀裂の数もさらに増えており，照射野外に延びる亀裂は長さも幅も増していた．さらに，エナメル質表面が熔融したような硝子様の構造物（硝子様構造物）が散見され，その中央にクレーター状の構造物が観察された．

一方，9.3L 群では，10.6M 群とほぼ同様の微細構造変化が観察されたが，亀裂の発生は照射野内に限局していた．また，9.3M 群に認められた有鱗状構造物と亀裂は 9.3L 群のそれらとほぼ同じ様相であったが，クレーター状構造物を有する硝子様構造物数個が融合したような像が観察され，それを分断する亀裂が数本生じていた．9.3H 群では，数個の融合した硝子様構造物が認められる範囲が 9.3M 群よりもさらに広がり，それらを分断する亀裂が多く，また長さが増していた．また，クレーター状構造物も大きく，さらに硝子様構造物の周囲には熔融した歯質が飛散したような小滴様構造物が認められた．なお，いずれの形態変化も照射野内に限局していた．

9.3 群と 10.6 群に認められたこれらの形態学的変化の相違は，エナメル質に対する CO_2 レーザーの吸収程度，すなわちエネルギーの取込み効率の違いが影響したものと推察される．

【結論】　本研究の条件下では，歯質無機成分の吸収帯に近接する波長を有する CO_2 レーザー（波長 9.3 μm）をエナメル質に照射すると，波長 10.6 μm の CO_2 レーザーに比べて，同じエネルギー密度でも形態学的に異なった変化が生じることが判明した．

光干渉断層法（Optical Coherence Tomography）による低粘度レジンのエナメル質浸透状態の観察

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]
岩崎歯科医院[3]
○古市哲也[1]，村山良介[1]，飯野正義[1]，佐藤愛子[1]，黒川弘康[1,2]，升谷滋行[1,2]，宮崎真至[1,2]，岩崎圭祐[3]

Observation of low viscosity resin penetration into enamel using optical coherence tomography

Department of Operative Dentistry[1], Division of Biomaterials Science Dental Research Center[2],
Nihon University School of Dentistry, Iwasaki Dental Clinic[3]
○FURUICHI Tetsuya[1], MURAYAMA Ryosuke[1], IINO Masayoshi[1], SATO Aiko[1]
KUROKAWA Hiroyasu[1,2], MASUTANI Shigeyuki[1,2], MIYAZAKI Masashi[1,2], IWASAKI Keisuke[3]

【緒言】近年，MI の概念が普及するのに伴って，エナメル質初期齲蝕の処置として低粘度レジンを適用した手技が提唱されている。これは，初期齲蝕病変に対して切削を行わずに低粘度レジン系材料を歯質に浸透させることで，齲蝕病変の進行を抑制するものである。しかし，本材料が市販されて間もないこともあり，その耐久性に関する詳細については不明な点が多い。そこで演者らは，エナメル質に低粘度レジンを応用し，サーマルサイクル試験を行った試片に対して OCT を用いて非破壊的に観察することによって，歯面への残存性を経時的に検討した。

【材料および方法】ウシ抜去エナメル質に平坦部を作製し，耐水性シリコンカーバイドペーパーの#2000 まで順次研磨した後，超音波洗浄後人工唾液中に保管したものを試片として用いた。この試片に対して，製造者指示に従ってエッチングを行い，レジン浸透性材料（Icon, DMG）を塗布した。試片はサーマルサイクル試験装置（B type, トーマス科学）用いて 5℃～55℃を 1 サイクルとして，各温度における係留時間を 60 秒に設定した温熱負荷を 10000 回負荷した。サーマルサイクルを行った試片は温熱負荷 5000 回および 10000 回の時点で OCT を用いて信号強度分布を得ることで，そのピーク波形の変化を経時的に評価した。さらに，ピーク波形の基底幅（$1/e^2$ 幅）と積分値を求め，OCT イメージ像の経時的変化に対する変化量との関連性について検討した。また，試片表層の観察には形状解析レーザ顕微鏡（VK-9700, KEYENCE）を用いた。サーマルサイクルを終了した試片は割断し，走査電子顕微鏡（SEM, ERA-8800FE, エリオニクス）を用いてその断面を観察した。なお，試片の数は 10 個とし，同一試片について経時的に観察を行った。

【成績および考察】OCT イメージでは，エナメル質表面に応用した低粘度レジン系材料は試片表層に帯状の高い輝度を示すシグナルとして観察され（Fig.1），信号強度分布は塗布前に比較して減衰した。これは，試片表層に浸透した低粘度レジン系材料が，エナメル質との屈折率を近似させたためと考えられた。サーマルサイクル試験開始前の試片において，OCT の信号強度分布はエナメル質表面で約-70dB であり，低粘度レジン材相当部では約-50dB であった。これが，サーマルサイクルの期間の延長に従って，信号強度分布は歯質との境界面において有意に変化するとともに，$1/e^2$ 幅が減少する傾向を示す部位がわずかであるが観察された。また，$1/e^2$ 幅はサーマルサイクル試験開始前は約 90μm であったのに対し，試験後は約 70μm であった。この様相が認められた試片は，温熱負荷 5000 回の条件では 1 個であったのに対し，温熱負荷 10000 回の条件では 6 個に増加し，その SEM 像からは，低粘度レジン系材料とエナメル質表面に間隙を認めた。すなわち，サーマルサイクルによる温熱負荷によって低粘度レジン系材料がエナメル質から剥離し，その間隙を OCT が捉えたものと考えられた。また，この傾向を示す部位は，サーマルサイクルの回数に伴って増加した。これらのことから，エナメル質に塗布した低粘度レジン系材料は温熱負荷が加わることによって，歯面からの剥離がわずかに生じることが明らかになった。また，温熱負荷の期間が長くなるほど，その数は増加することが分かった。剥離の原因としては，低粘度レジン系材料と歯質との熱膨張係数の違いが考えられた。つまり温熱負荷によって，エッチングされたエナメル質表面とその凹凸に侵入したレジンとの間にギャップが生じ，これが進展することで剥離が引き起こされたものと予想された。

【結論】エナメル質に塗布されたレジン浸透材は，エッチングされたエナメル質表面に浸透し，温熱負荷後も良好な耐久性が維持されているものの，温熱負荷によって歯面から剥離する部が存在し，その程度は温熱負荷の期間に影響されることが示された。

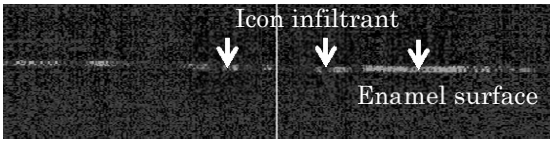


Fig.1 OCT image

試作 S-PRG filler 含有根管貼薬用ペーストに関する研究
－根管壁象牙細管封鎖及び元素の取り込みについて－

[1]新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座う蝕学分野，[2]山本歯科クリニック，
[3]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
○山本信一[1,2]，韓 臨麟[1]，興地隆史[3]

Evaluation of a prototype S-PRG filler-containing endodontic material:
Dentinal tubule occlusion and element incorporation into the root canal dentin

[1]Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan;
[2]Yamamoto Dental Clinic; [3]Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan,
○YAMAMOTO Shinichi[1, 2], HAN Linlin[1], OKIJI Takashi[3]

緒言

生体機能性材料の S-PRG フィラー（松風）は，硬組織の耐酸性向上作用を有するフッ化物（F），細菌増殖抑制作用を有するホウ素（B）や石灰化誘導効果を有するストロンチウム（Sr）などのマルチイオン徐放能を有することが認められており，歯内療法分野においても応用する試みがなされている．著者らは，S-PRG フィラー添加の試作根管充填用シーラーが B, F および Sr の根管象牙質への取り込みや静菌効果を有すること，あるいは，S-PRG フィラーのイオン抽出液をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) とともに象牙質面に適用すると，析出物による象牙細管の封鎖が生じることを確認している．

本研究では，根管貼薬材としての応用を想定して試作された S-PRG フィラー含有歯内療法ペーストを牛歯根管に適用し，象牙細管開孔部封鎖効果，および F, Sr の根管壁象牙質への取り込み分布を検討した．

材料及び方法

S-PRG フィラー 70 % (wt) 含有試作歯内療法ペースト（以下 S-PRG ペースト；G3-70, 071401, 松風）を被験材料とした．被験歯として，冷蔵保管 (4℃) の牛歯歯根部を用いた．

牛歯歯根に対して 2.5 %に希釈した次亜塩素酸ナトリウム液（ネオクリーナー，セキネ），3 % EDTA 溶液（スメアクリーン，日本歯科薬品）で洗浄しながら手用ファイル（マニー）で#140 まで根管形成を行ったのち，S-PRG ペーストを根管内に注入し，グラスアイオノマーセメント（ベースセメント，松風）で仮封した．無貼薬の試片を対照とした．

これらの試片を Ca, Mg 不含 PBS に濡らせたガーゼに植立させ 1～3 週間 37℃で保管後，縦断あるいは横断し，走査電子顕微鏡 (SEM；S2300，日立）にて微細構造観察を行い象牙細管封鎖率を求めた．さらに縦断面試片を用いて，波長分散型 X 線マイクロアナライザー（EPMA；EPMA1610, 島津）にて根管壁象牙質表層部における F，Sr の取り込みを解析した．

結果

対照試片では管間象牙質，管周象牙質におけるコラーゲン線維層の露出や象牙細管の開孔が明瞭に観察されたが，S-PRG ペーストによる処置後では沈着物の形成によりコラーゲン線維層の露出は観察されず，象牙細管の開孔径の縮小や封鎖が認められた．また，貼薬期間の長い試片ほど象牙細管封鎖率が像大する傾向にあった．F，Sr の取り込み深さも貼薬期間の延長に応じて増加傾向を示した．

考察

S-PRG ペーストを PBS 存在下で作用させた場合、管間象牙質や象牙細管が被覆・封鎖されることが観察された。本材を根管貼薬に応用した場合に、機械的・化学的な根管清掃後の根管壁や象牙細管内に残存する細菌を封入し不活化させる効果を示す可能性が推定される。また，F，Sr の取り込みによって,歯質の脱灰抑制効果が根管壁象牙質に及ぼされることも推察される．F,B などの作用による抗菌性もある程度備えている可能性が推測されるが、詳細については今後の検討が必要である．

結論

S-PRG ペーストを PBS 存在下で作用させた牛歯根管壁象牙質において，析出物の沈着と象牙細管開口部の封鎖，および F，Sr の移行が生じることが確認された．

往復回転運動による根管形成時に歯根に生じる応力の解析

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　歯髄生物学分野
〇時田大輔，西条美紀，宮良香菜，海老原新，興地隆史

Analysis of stresses developed on the root during root canal shaping with different reciprocal motions

Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○TOKITA Daisuke, NISHIJO Miki, MIYARA Kana, EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

【研究目的】近年，ニッケルチタンロータリーファイルの破折を防止するためにエンジンの回転方式の工夫がなされているが，それに伴う歯根における応力のかかり方については十分検討されていない．そこで本研究ではこの方面の基礎的資料を得ることを目的として，回転運動の差異に応じて歯根に生じる応力の特徴を解析した．

【材料および方法】

1. 実験群: 試作自動根管形成装置 (モリタ製作所) を用い，トルク依存型往復回転 (OTR 機構: 設定トルク値に達すると 90 度非切削回転, 180 度切削回転; 300 rpm, 0.4 Ncm; 以下 Group 1)，時間依存型往復回転 (180 度切削回転, 90 度非切削回転; 300 rpm; 以下 Group 2)，および連続回転 (300 rpm; Group 3) で根管形成を行った 3 群とした（各 n = 7）．

2. 根管形成: 透明直線根管模型 (END3L001, ニッシン) をステンレススチール製 K ファイル（Zipperer, Germany）にて #10 から#20 まで形成した後、試作自動根管形成装置を用いて EndoWave #25, .06 テーパ (FKG Dentaire Switzerland)にて，RC-Prep™ (Premier, Canada) を根管内に満たして根管形成し，垂直方向応力 (apical force) と回転方向応力 (トルク) を下記の自作根管形成時応力解析装置で計測した．この際, Group 1 では OTR motion（設定トルク値に達すると 0.25 秒間根尖方向に挿入し 3 秒間歯冠側へ引き上げる上下動作），Group 2 および 3 では pecking motion（トルク値に関係なく 1 秒間根尖方向に挿入し，2 秒間歯冠側へ引き上げる上下動作）に動作設定し，また予め自動根管形成装置と根管形成時応力計測装置に使用している電動計測スタンド (MX2-500N; イマダ) を連動させ，各動作を再現した．動作速度は 10 mm/min で定速とした．

3. 応力解析: 自作根管形成時応力計測装置は, apical force 計測にトルクセンサ(LUX-B-ID; 共和電業)，トルク計測にストレインゲージ (KFG-2-120-D31-11; 共和電業) を用いた．根管模型をトルクセンサ上に固定しトルクセンサ間にストレインゲージを貼り付けた．エンジンは電動計測スタンドに固定し、挿入方向は根管軸に一致させた．

4. 統計学的解析: apical force，トルクの正，負領域での平均値について，一元配置分散分析および Games-Howell 法にて有意水準を 5%で解析した．

【結果】 結果を Table 1, 2 に示す．同一小文字英字間に有意差を認めた．

Table 1

Apical force (N)	Group 1	Group 2	Group 3
Positive domain	0.29	0.26	0.17
Negative domain	-0.27a	-0.13a, b	-0.26b

Table 2

Torque (N･mm)	Group 1	Group 2	Group 3
Positive domain	1.47c	0.44 c	0.98
Negative domain	-1.05	-1.15d	-0.13d

【考察】Group 1 の apical force（負領域）が Group 2 に比べて有意に負に大きかったが，これは，Group 1 では設定したトルク値を感知するまでは連続回転かつ連続挿入しており，Group 2 と比べて”Screw-in-effect”が明瞭に生じたためと考えられる．また Group 2 が Group 3 と比較して有意に負に小さいことは，非切削回転の作用で”Screw-in-effect”が生じにくかったためと思われる．またトルクについては、正領域で Group 1 が Group 2 より有意に大きかったが、これは, OTR motion がトルク検知するまで連続挿入であったこと，またトルク検知後も切削回転を強制的に行ったためと考えられる．負領域では Group 2 は Group 3 と比較して有意に負に大きかったが，これは非切削回転時にエンジンを挿入する動作が生じていることによると考えられる．

【結論】本実験条件下では，トルク依存型往復回転運動では切削回転方向のトルクが大きかった．また”Screw-in-effect”が生じた．時間依存型往復回転運動では，“Screw-in-effect”が小さい反面，非切削回転方向のトルクが大きかった．連続回転運動では“Screw-in-effect”が生じた．

根管観察用内視鏡の設計と製作

[1]九州歯科大学　口腔保存治療学分野
[2]早稲田大学大学院　生産情報システム研究科
○藤元　政考[1]，吉居　慎二[1]，池沢　聡[2]，植田　敏嗣[2]，北村　知昭[1]

Design and fabrication of the dental endoscope observation systems for the root canal

[1]Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University
[2]Graduate School of Information, Production and Systems, Waseda University
○FUJIMOTO Masataka[1], YOSHII Shinji[1],IKEZAWA Satoshi[2],UEDA Toshitsugu[2],KITAMURA Chiaki[1]

【研究目的】現在の歯科治療では歯科用顕微鏡やコーンビームCTの登場によって診断，治療の精度が大きく向上している．しかし，歯根の根尖部付近や深い歯周ポケットの治療は盲目的に行うことがほとんどであり，根管内深部の破折や根管側枝の検出も未だ困難である．本研究の最終目標は深部齲蝕，歯周ポケット及び根尖部付近の根管内壁の観察に有用な歯科用内視鏡の開発である．今回我々は，プロトタイプの 2 種類の歯科用内視鏡を製作し，画像取得・解析を行った．

【材料と方法】今実験では外部から照明光を確保する外部照射型プローブと内視鏡のプローブから照明光を得る内部照射型プローブの二種類を製作した．外部照射型プローブはイメージファイバーと屈折率分布型（GRIN）レンズのみからなり，内部照射型のプローブはイメージファイバー，屈折率分布型（GRIN）レンズに加え光源用の光ファイバーを使用した．また内部照射型のプローブに使用したGRINレンズは外部照射型のものに比べ，より作動距離を延長したものを採用した．観察実験ではCMOSセンサーにて取得した画像を，モニター上でリアルタイムの観察を行いながら画像取得を行った．取得した画像はビジビリティを解析し，解像度を計測した．また観察対象とプローブ先端がどの程度距離があるときに最も効率よく画像を取得できるかを検証した．またレゾリューションチャート以外にも紙幣のカラーパターンや微細な文字の観察も行った．

【結果】外部照射型のプローブは作動距離0.0㎜で画像取得を行った．取得した画像では10，20，50，100 μmのライン・スペースが観察可能であった．画像を解析した結果ライン・スペースの幅が増える程，ビジビリティは増加傾向にあった．内部照射型のプローブでも取得した画像では10，20，50，100 μmのライン・スペースが観察可能であった．解析の結果，外部照射型と同様にライン・スペースの幅が増える程，ビジビリティは増加傾向にあった．またこの内視鏡の作動距離をビジビリティを0.01 ㎜毎に算出し計測した．その結果，0.32-0.33 ㎜で最大のビジビリティを得ることができた．また紙幣に印刷されているカラーパターンと微細な文字の観察も行ったが，300 μmのサイズの格子状のパターンと文字を観察することが可能であった．

【考察】今実験で製作した内視鏡は二種類とも10-100 μmの解像度があることがわかった．また観察した画像の中央部は辺縁部に比べ焦点が合っており，また外側に行くほど画像のボケが観察された．これはGRINレンズの屈折率分布のために起こる歪曲収差が原因と考えられ，微細なレンズの収差の観察が可能であった．しかし光源用のファイバーのみの照明光下での画像取得は困難であり，得られた作動距離も想定していた値よりも短い結果となった．上記の問題はプローブ内部での光源用ファイバー，GRINレンズの配置の微細なズレが原因で起こったと考えられる．紙幣を観察した結果，製作した内視鏡により 300 μm 程の模様や文字の観察さらにカラーキャプションも対応可能であることが確認できた．

【結論】今実験で製作した内視鏡は良好な解像度を持つことが分かった．しかし，確保できる照明光の光量や作動距離には改善の余地があった．今後はプローブ内部のファイバーやレンズのオフセットの最適化を目指し，より精度を向上させていく予定である．

MEST はヒト歯根膜幹細胞における幹細胞特性の維持に関与する

[1]九州大学病院 歯内治療科、[2]九州大学病院 口腔総合診療科、
[3]九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野
○長谷川大学[1]、和田尚久[2]、濱野さゆり[3]、友清淳[1]、吉田晋一郎[3]、
御手洗裕美[3]、園田麻衣[3]、杉井英樹[3]、前田英史[1,3]

MEST participates in maintaining the stemness of human periodontal ligament stem cells.

[1]Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, [2]Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital, [3]Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University
○Daigaku Hasegawa[1], Naohisa Wada[2], Sayuri Hamano[3], Atsushi Tomokiyo[1], Shinichiro Yoshida[3], Hiromi Mitarai[3], Mai Sonoda[3], Hideki Sugii[3], Hidefumi Maeda[1,3]

【研究目的】

近年、歯周組織再生の手段として歯根膜幹細胞が有用なツールになることが報告されているが、いまだその実用化には至っていないのが現状である。その理由の一つとして、歯根膜幹細胞における幹細胞特性（多分化能および自己増殖能）の維持に関与する因子についての報告が少ないため、歯根膜幹細胞を効率よく分離あるいは誘導する方法が確立されていないことが挙げられる。そこで我々は、当研究室にて樹立した多分化能を持つ細胞株（2-23 細胞株）と持たない細胞株（2-52 細胞株）を用いてマイクロアレイ解析を行い、発生時における中胚葉転写産物として知られる mesoderm specific transcript （MEST）という因子に着目した。本研究では、MEST がヒト歯根膜幹細胞における幹細胞特性の維持に関与するかについて検討した。

【材料および方法】

当研究室で樹立した"多分化能を持つ未分化なヒト歯根膜細胞株 2-23”を歯根膜幹細胞様細胞として用いた。

1. 2-23 細胞株ならびに幹細胞特性を獲得した細胞株における MEST 発現解析

多分化能を持つ 2-23 細胞株、ならびに多分化能を持たない 2-52 細胞株における MEST の発現量を、定量的 RT-PCR 法にて比較検討した。また、2-52 細胞株に幹細胞誘導因子 Sema3A を遺伝子導入することで幹細胞特性を獲得した 2-52_Sema3A（Stem Cell Dev 2014）における MEST の発現量を定量的 RT-PCR 法にて解析した。

2. MEST をノックダウンした 2-23 細胞株における幹細胞特性の検討

siRNA により MEST の発現をノックダウンした 2-23 細胞株における間葉系幹細胞（MSC）表面抗原マーカーの発現を、フローサイトメトリー分析法にて解析した。また、多分化能解析として、骨芽細胞および脂肪細胞分化能について、各誘導培地を用いた分化アッセイを行った。さらに、自己増殖能解析として、WST-1 proliferation assay および細胞増殖マーカーKi-67 抗体を用いた免疫蛍光染色法を行った。

【結果】

1. 多分化能を有する 2-23 細胞株、ならびに Sema3A を遺伝子導入することで幹細胞特性を獲得した 2-52_Sema3A における MEST の遺伝子発現量は、多分化能を持たない 2-52 細胞株における発現量と比較して有意に高かった。
2. MEST をノックダウンした結果、2-23 細胞株における MSC 表面抗原マーカー（CD90、CD105、および CD146）の発現が低下した。
3. MEST をノックダウンした 2-23 細胞株を骨芽細胞誘導培地および脂肪誘導培地にて一定期間培養した結果、骨関連遺伝子（ALP、BSP、および Osterix）および脂肪関連因子（PPARγ、LPL、および CEBPA）の発現がそれぞれ有意に低下した。

4.MEST をノックダウンした 2-23 細胞株において、細胞増殖能および Ki-67 陽性細胞数が減少した。

【考察】

以上の結果より、MEST は幹細胞特性を有する歯根膜幹細胞様細胞において発現が高く、MSC 表面抗原マーカー発現、多分化能、および自己増殖能といった幹細胞特性の維持に関与する因子であることが示唆された。このことから、MEST は幹細胞を用いた歯周組織再生研究を発展させうる、“新規幹細胞関連因子”であると考えられる。

【結論】

MEST はヒト歯根膜幹細胞における幹細胞特性の維持に関与する。

未分化骨芽細胞移植を用いた歯周組織再生療法に関する研究

[1]東北大学大学院歯学研究科口腔修復学講座歯科保存学分野、[2]口腔生物学講座歯内歯周治療学分野
○半田　慶介[1]、二木　正晴[1]、丸山　顕太郎[2]、折本　愛[1]、石河　真幸[1]、根本　英二[2]、齋藤　正寛[1]

Establishment of immature osteoblast transplantation for bone regeneration therapy

[1]Department of Restorative Dentistry, [2]Department of Oral Biology,
Tohoku University Graduate School of Dentistry,
○Keisuke HANDA[1], Masaharu FUTAGI[1], Kentaro MARUYAMA[2], Ai ORIMOTO[1], Masaki ISHIKAWA[1],
Eiji NEMOTO[2], Masahiro SAITO[1]

【背景】

歯周病は炎症性崩壊を引き起こす感染症であり、特に 50 歳代以上の中高年齢層で水平性骨欠損を伴う歯周組織崩壊が引き起こされる。この水平性骨欠損に対応するため、多くの骨再生療法が開発されており、中でも細胞移植療法が期待されている。これまで骨再生療法には間葉系幹細胞が用いられてきたが、より大きな骨欠損を再生するには未分化骨芽細胞を用いた効率の良い骨再生技術の開発が必要になってくる。今回我々は、Aino ら(Expert Opin Biol Ther. 2014, 14(12):1731-44)が報告したヒト歯槽骨由来骨芽細胞様細胞(Human alveolar bone derived immature osteoblast：HAOB)を用いて、水平性骨欠損にも対応可能な再生医療技術の開発を目指すこととした。そこで本研究では、HAOB を新たな骨再生医療用細胞製剤として前臨床研究を推進するため、ブタモデルを用いて歯槽骨由来骨芽細胞様細胞の分離培養および骨原性を含む細胞製剤としての特性を解析した。

【方法】

１．PAOB の分離培養

永久歯の萌出が確認された 2 歳齢のマイクロミニピッグの臼歯頬側歯槽骨を 5mm 角のサイズで採取し、細菌性コラゲナーゼを用いて連続的に消化を行い、MF start 培地 (TOYOBO) を用いてブタ歯槽骨由来前骨芽細胞様細胞(PAOB)を分離培養した。得られた PAOB の骨芽細胞分化能力を検討するため、rhBMP2(200ng/mL)を含む MF 培地（TOYOBO）を主とする骨芽細胞分化誘導培地で 10 日間および 21 日間培養を行った。

２．PAOB の骨原性の検討

骨芽細胞への分化誘導の判定としてアルカリフォスファターゼ活性（ALPase）を染色法にて検討を行った。またアリザリンレッド染色法にて石灰物形成能力の判定を行った。また、ISOGEN を用いて total RNA を回収し、M-MLV によって cDNA を作製した。この cDNA を用いて骨形成関連遺伝子群の発現（Runx2、Osterix、Osteocalcin、Osteopontin, Type I collagen）をリアルタイム PCR 法にて解析した。

３．間葉系幹細胞との骨原性能力の比較

マイクロミニピッグから採取した間葉系幹細胞を用いて PAOB との骨原性能力を比較検討するため、各種濃度の rhBMP2 存在下で培養を行い、ALPas 染色法による骨芽細胞への分化誘導能およびアリザリンレッド染色法による石灰物形成能力に関して解析を行った。

【結果および考察】

PAOB は HAOB と同様に歯槽骨よりコラゲナーゼ処理、MF 培地を用いることにより生体外増幅が可能であった。PAOB に関して継代 7 代まで生体外増幅しても ALPase 活性と石灰化能を維持していることが分かった。また PAOB は骨芽細胞分化誘導後に、Runx2、Osterix、Osteocalcin、Osteopontin, Type I collagen を含む骨形成関連遺伝子群の発現も確認され、HAOB と同等の骨原性を有している事が確認された。次に MSC との骨原性能力を比較検討した結果から、PAOB は MSC よりも低濃度の rhBMP2 応答性によって石灰化誘導が認められた。このことから PAOB は優れた石灰化能を有し、細胞移植のソースとして利用可能と考えられる。

【結論】

本研究の結果から、ヒト由来 HAOB と同様のブタ由来 PAOB を採取することが可能であった。今後はヒト歯槽骨由来前骨芽細胞様細胞移植の実施にむけた前臨床研究を行うため、PAOB を用いたブタ歯周病モデルへ移植し、骨再生能力に対する有効性を検証する予定である。

高周波電流刺激の電流値と通電期間が骨再生に及ぼす影響

北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室[1)]、とみなが歯科[2)]
○佐藤賢人[1)]，菅谷 勉[1)]，中谷充宣[1)]，前田良子[1)]，川浪雅光[1)]， 富永敏彦[2)]

Effects of the electric current values and stimulation periods of high-frequency electrical stimulation on bone regeneration

Department of Periodontology and Endodontology, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University[1)] , Tominaga Dental Clinic[2)]
○Takahito Sato[1)], Tsutomu Sugaya[1)], Mitsunori Nakatani[1)], Nagako Maeda[1)], Masamitsu Kawanami[1)], Toshihiko Tominaga[2)]

【諸言】 再生療法は，細胞や成長因子，足場材料を用いる方法が広く研究されているが、細胞を電気的に刺激することで再生を促進できる可能性も報告されている。我々は、ラット頭蓋骨に作製した骨欠損部に高周波電流刺激を加えることが、骨再生に有効であることを第 143 回秋季保存学会で報告した。本研究の目的は、高周波電流刺激の電流値や通電期間が骨再生に及ぼす影響を検討することである。

【材料と方法】 Wister 系ラット(10 週齢)の頭皮を切開、剥離して骨膜を切除後、外径 4.8 ㎜のトレフィンバーを用いて頭蓋骨に骨欠損を左右に 1 ヶ所ずつ作製した。電流刺激は、左耳付近の皮膚に対極を刺入し、左側骨欠損中央に能動電極を設置して、520KHz、Duty70％、１秒間の通電を５回行い、実効電流値をオシロスコープで計測した。S 群では出力を 18.9W、W1 群では 1.4W として 0,4,7,11,14,18,21,25 日目に通電し、W2 群では 1.4W で 0,4,7,11 日目に通電した。0 日目は骨欠損内に能動電極を設置し、4 日以後は骨欠損上の皮膚に能動電極を刺入して電流刺激を加えた。なお、対照群は電流刺激を与えなかった。

8 週後に頭蓋骨を摘出、ホルマリンで固定してマイクロ CT 撮影を行い、画像を 3 次元構築して硬組織の形成率を計測した。さらに、脱灰薄切標本を作製してヘマトキシリン-エオジン染色を行い、骨欠損の長さと新生骨の長さを計測して新生骨形成率を求めた。

計測結果は SPSS を用いて Kruskal-Wallis 検定、Mann-Whitney U 検定を行った。なお、本実験は北海道大学動物実験委員会の承認を得て行った。

【結果】 マイクロ CT による硬組織形成率は、対照群の中央値（四分位範囲）が 14.2（7.5-16.2）%であったのに対し、実験群ではいずれも対照群より有意（$p<0.05$）に高い硬組織形成率で、とくに S 群右側は 46.1（39.9-59.4）%、W2 群左側は 51.7（46.9-70.8）%と高い値を示した。骨欠損部の不透過像は不整形なものが多く、母床骨とは連続しない孤立したものが多数みられた。

組織計測による骨形成率はマイクロ CT とほぼ同様の結果で、すべての実験群は対照群に比べて有意に高い新生骨形成率を示し、骨欠損内には母床骨とは連続しない孤立した新生骨の形成が多く認められた。とくに S 群右側や W2 群左側では W1 群左側や右側、W2 群右側より有意に高い骨形成率を示し、骨欠損が新生骨で完全に再生している標本もみられた。

【考察】 骨形成率は S 群左側より W１群左側の方が高かったことから、電流値が高すぎると骨再生効果が減弱すると考えられた。また、低い電流値で長期間通電した W1 群は、短期間の W2 群に比べて有意に骨形成率が低かったことから、通電期間が長くなりすぎても骨再生効果は減弱すると考えられた。さらに、S 群では能動電極を設置した左側より設置しなかった右側の方が骨形成率は高かった。これは、左側に通電した電流が右側にもわずかに流れたためと考えられ、再生効果を高めるには生体内での電流の分布を把握することも必要と考えられた。

【結論】 高周波電流刺激による骨再生は、電流値が高くなったり通電期間が長期になると、再生量が減少することが明らかになった。

エクソーム解析を用いた日本人侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索

大阪大学　大学院歯学研究科　口腔分子免疫制御学講座（口腔治療学教室）
○宮内静香、北垣次郎太、山下元三、柳田学、山田聡、北村正博、村上伸也

Identification of genetic risk factors of aggressive periodontitis in a Japanese population

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○Shizuka Miyauchi, Jirouta Kitagaki, Motozo Yamashita, Manabu Yanagita, Satoru Yamada, Masahiro Kitamura, Shinya Murakami

＜目的＞

侵襲性歯周炎は、全身的に健康であるが、急速な歯周組織破壊、家族内発症を認めることを特徴とする歯周炎である。その発症には遺伝的要因の関与が高いと考えられていることから、炎症性サイトカイン等の一塩基多型（SNP: Single Nucleotide Polymorphism）が疾患発症要因の一つである可能性が示唆されているが、詳細は不明なままである。これまでの侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索は、機能が既に報告されている単一遺伝子の遺伝子多型解析にとどまり、網羅的な遺伝子多型解析を行っていないことが本疾患の疾患関連遺伝子の解明に至っていない原因と考えられる。そこで本研究では、日本人侵襲性歯周炎患者のエクソーム解析を行い、ゲノムワイドアプローチによる日本人侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索を行った。

＜方法および結果＞

大阪大学歯学部附属病院を受診し侵襲性歯周炎と診断された患者のうち、本研究に対するインフォームドコンセントが得られた患者 58 名の血液を採取した（大阪大学ヒトゲノム研究承認番号 533）。侵襲性歯周炎患者の平均年齢は 32.51 歳、平均ポケット値は 4.20mm、歯周組織の平均炎症面積（PISA: Periodontal Inflamed Surface Area）は 1250.87mm^2 で、Schei のルーラーを用いた歯槽骨の平均吸収度は 37.91%であった。

血液よりゲノム DNA 抽出後にエクソーム解析を実施し、遺伝子多型解析を行ったところ、侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子として、生体膜リン脂質の主要構成成分スフィンゴ脂質の分解酵素 Shingomyelin phosphodiesterase 3（SMPD3）における SNP rs145616324（c.412C>T, p.Leu138Phe）を同定した。侵襲性歯周炎疾患群でのマイナー対立遺伝子頻度（MAF: Minor allele frequency）が 11.4%であったのに対し、日本人の遺伝子リファレンスライブラリーデータベースにおける対照群での MAF は 4.6%であり、p 値は 0.0009、オッズ比は 2.7、95%信頼区間は 1.47~4.98 となり、SNP の出現頻度に統計学的有意差を認めた。

SMPD3 ノックアウトマウスで骨格形成の遅延を認めることや、骨形成不全症モデルマウス fro/fro マウスにおいて SMPD3 遺伝子の一部欠失を認めることから、SMPD3 が硬組織形成に重要な役割を担っていることが報告されている。そこで、歯根膜細胞の骨芽細胞分化における SMPD3 の効果を検討した。すなわち、ヒト歯根膜細胞株（HPDL）をβ-グリセロリン酸（5 mM）とアスコルビン酸（50 μg/ml）を含むαMEM 培地にて長期培養した後、RNA を回収し、SMPD3 の発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。その結果、HPDL の分化誘導に伴い、SMPD3 の発現が上昇することが明らかとなった。さらに HPDL に野生型 SMPD3 もしくは、SNP rs145616324 を含む変異型 SMPD3 を遺伝子導入し、石灰化関連因子であるアルカリフォスファターゼ、骨シアロタンパク、I 型コラーゲンの発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。その結果、野生型 SMPD3 はこれらの石灰化関連因子の発現を上昇させた。一方で、変異型 SMPD3 では、石灰化関連因子の発現上昇を認めなかった。

＜結論＞

本研究では、ゲノムワイドアプローチを用いて、日本人侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索を行った。その結果、日本人侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子として SMPD3 を同定した。野生型 SMPD3 は HPDL における石灰化関連因子の発現を上昇させたのに対し、SNP rs145616324 を含む変異型 SMPD3 を過剰発現させた HPDL では、石灰化関連因子の発現上昇が認められなかった。以上の結果より、SNP rs145616324 により SMPD3 のシグナル伝達が抑制されると、HPDL の骨芽細胞分化が認められないことが明らかとなった。本研究結果より、SMPD3 依存性の歯根膜組織の恒常性の維持が破綻をきたし、侵襲性歯周炎が惹起される可能性が示唆された。

歯周病患者に対する簡易 HbA1c 検査の有効性について

日本歯科大学附属病院　総合診療科
○小堀瑛一、小川智久

The validity of a simple HbA1c test for the periodontal disease

Department of General Dentistry, The Nippon Dental University Hospital at Tokyo
○KOBORI Eiichi, OGAWA Tomohisa

【研究目的】

現在我が国では、糖尿病患者が 300 万人以上、予備群も合わせると 1000 万人以上の患者がいると推測されている。疾病に無自覚で生活している予備群が、将来糖尿病患者として複数の合併症を併発し、結果的に医療経済の更なる圧迫が考えられる。一方、歯周病と糖尿病との関連性が多数の研究で明らかになっている。本研究は、歯周病患者を対象として、糖尿病の自覚がなく、さらに過去 1 年以上健康診断を行っていない患者に対し、歯科臨床現場で HbA1c 簡易検査を行った。糖尿病の早期発見を目的として、医科への受診を勧奨し、歯科・医科相互間で歯周病・糖尿病を通して、円滑な医療連携の実現を期待し、本研究を行った。

【材料および方法】

対象は、19～80 歳の男女 32 名（歯周病軽度：3 名、中等度：26 名、重度：3 名）で、本院で歯周病と診断された患者とした。本研究の主旨を説明し同意を得て、HbA1c 測定と測定前後でアンケート調査を行った。測定前のアンケート調査では、全身疾患の有無、糖尿病の自覚症状、家族に糖尿病者がいるかなどの項目を質問形式にて行った。HbA1c の結果を 3 群に分け、高値群：～6.5%、境界群：6.4～5.6%、低値群：5.5%～、とした。検査方法は、指趾より採血を行い、「メディダス HbA1c S」を用いて、「グリコヘモグロビン A1c Gear S」にて測定した。検査時に口頭にて歯周病・糖尿病の関連性についての説明を行った。測定後のアンケート調査では、医科受診への行動変容などの項目を質問形式にて行った。本研究は、日本歯科大学附属病院臨床倫理委員会の承認を得て行った。

【成績】

HbA1c 測定結果は、高値群：3 名、境界群：12 名、低値群：17 名であった。高値群では、歯周病中等度 2 名、重度 1 名であった。境界群では、中等度 11 名、重度 1 名であった。低値群では、軽度 3 名、中等度 13 名、重度 1 名であった。アンケート調査の結果、9 名が歯周病と糖尿病の関連性を理解していた。測定前後のアンケート調査から、両疾患の関連性について理解が高まったとの結果が得られた。

【考察】

本研究で、中等度以上の歯周病患者では半数が高値群もしくは境界群であった。一方、軽度では全例低値群であった。アンケート調査の結果、当初、歯周病と糖尿病との関連性について、患者の認知・理解は必ずしも高くなかったが、検査に加えて両疾患の関連性についての口頭での説明により、両疾患の理解度は高まった。中等度以上の歯周病患者に対し、チェアサイドでの HbA1c 簡易検査の迅速な結果が、糖尿病予備群を早期発見し、医科への連携のきっかけになる可能性が示唆された。歯科が医科と連携を密にとり、生活習慣改善、健康管理、早期治療の役割を担える可能性が認められた。

【結論】

歯科の診療室で中等度以上の歯周病患者に対して、HbA1c 簡易検査を導入することは、無自覚・未治療の糖尿病予備群の早期発見につながる可能性が示唆された。チェアサイドでの HbA1c 検査導入は、糖尿病の公衆衛生的見地において有益であると考えられた。