

## Cold Plasma Therapy for Enhancing Odontogenesis of Dental Pulp Stem Cells

○Chia-Yung Lin<sup>1,2</sup>, Chao-Yu Chen<sup>3</sup>, Yun-Chien Cheng<sup>3</sup>, Jong-Shinn Wu<sup>3</sup>, Min-Huey Chen<sup>4</sup>, Yi-Jyun Chen<sup>1</sup>, Zong-Wen Chen<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Dentistry Department, Taichung Hospital, Ministry of Health and Welfare, Taiwan (R.O.C)*

<sup>2</sup>*Dentistry Department, National Taiwan University Hospital Hsin-Chu Branch, Taiwan (R.O.C)*

<sup>3</sup>*Department of Mechanical Engineering, National Chiao Tung University, Taiwan (R.O.C)*

<sup>4</sup>*Dentistry Department, National Taiwan University Hospital, Taiwan (R.O.C)*

### I. Object:

In recent years, low-temperature atmospheric pressure plasma becomes a new tool in medical treatment because of its portability, treatment versatility, ingredient adjustability, and penetrative gaseity. Latest papers reported that plasma induces cell differentiation, proliferation and transfection, which paved a new direction for tissue regeneration engineering. In addition, previous study showed that the reactive oxygen/nitrogen species (RONS) produced by cold plasma would influence the inter- and intracellular networks on mammalian cells, and other study indicates that latent transforming growth factor- $\beta$  1 can be induced by reactive oxygen species (ROS) to direct dental stem cells differentiation.

### II. Materials & Methods:

The purpose of this work was to investigate the efficacy of plasma on human dental pulp stem cells (DPSCs) and to measure the ROS in plasma treated solution. The plasma jet was produced with 6 kV and 5 slm helium. DI water, saline and medium were treated by plasma for different time periods (0 s to 300 s) and then the ROS ( $H_2O_2$ ) concentration in medium were assessed with colorimetry. The same plasma jet was applied to human DPSCs, and its effect on the cell differentiation, proliferation and viability of DPSCs were analyzed.

### III. Results:

The result showed that the 10~20 s plasma treatment inhibited proliferation but did not result in significant apoptosis. Besides, the survived DPSCs started to proliferate after 4 days. The treatment of APPJ for 20~40 s enhanced differentiation potential of DPSCs. The concentration of  $H_2O_2$  in DI water and saline increased with time increment of plasma treatment. The result revealed the application potential of APPJ in dental field.

### IV. Conclusion:

The feasibility of our new cold plasma portable device to enhance DPSCs differentiation was confirmed at first step. Although further investigations are required to clarify the reaction of ROS with DPSCs, the results showed a new possible application of cold plasma for stem cell based tissue regeneration therapy. Further examinations including the mechanism or the role of TGF will be evaluated in near future.

## The Diagnosis and Treatment Plan of Primary Caries —Evidence and Dental Practice -based Report—

○Yung-Show Chiang

*Department of Dentistry,  
Tainan Municipal Hospital*

### **I. Object:**

The diagnosis and treatment plan of primary caries are common procedures in general dental practice. In 2002, FDI (World Dental Federation) published a policy promoting that caries be treated by minimal intervention (MI). However, the healthcare payment and practice in Taiwan favor drilling and filling. DPBRN is a consortium of dental practices with a broad representation of practice types and treatment philosophies that directs research across geographically dispersed regions. The objectives of this study are (1) to quantify the diagnostic techniques used by DPBRN dentists before they decide to treat primary caries lesions surgically, and (2) to know thresholds of the restorative treatment for primary caries.

### **II. Materials & Methods:**

The electronic databases was used to search the best scientific evidence for detecting and treating caries.

### **III. Results:**

Radiographs plus clinical examination (47%) and radiographs alone (40%) were used most commonly to detect the posterior proximal caries. Clinical examination (51%) and clinical examination plus radiographs (29%) were the most common detection method for the anterior proximal caries. Clinical examination only (46%) and clinical examination plus radiographs (41%) were the most common approaches for the occlusal surfaces. Clinical examination only was used by major dentists to detect caries on posterior (77%) and anterior smooth surfaces (80%). Visual examination and probing are effective when a cavity has clearly formed. Radiographs have to be done for occlusal caries without cavity formation. Bitewing radiograph or transillumination is efficient in proximal caries without cavity formation. The intervention has to be done immediately where more than one of findings are evident: (1) a cavity visually detected after cleaning and drying, (2) pain or discomfort from cold water or food impaction, (3) unacceptable appearance, (4) radiographs reveal lesions penetrating more than a third of the dentin, (5) A patient at high risk of caries.

### **IV. Conclusion:**

The decision-making of primary caries is very important for avoid an unfortunate cycle of restoration replacement.

## 臼歯部歯冠修復の長期臨床成績 (耐用年数)

<sup>1)</sup> 長崎大学病院医療教育開発センター、<sup>2)</sup> 長崎大学歯学部総合歯科臨床教育学、<sup>3)</sup> 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野

○久保至誠<sup>1)</sup>、角 忠輝<sup>2)</sup>、林 善彦<sup>3)</sup>

### Long-term Clinical Performance and Longevity of Posterior Restorations

<sup>1)</sup> Medical Education Development Center, Nagasaki University Hospital, <sup>2)</sup> Department for Clinical Education in General Dentistry, Nagasaki University School of Dentistry, <sup>3)</sup> Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Science

○KUBO Shisei<sup>1)</sup>, SUMI Tadateru<sup>2)</sup>, HAYASHI Yoshihiko<sup>3)</sup>

#### 【緒言】

「科学的根拠に基づいた医療」が重要視されるようになったのとはほぼ同時期に定期管理システムを始め20年経過した。この間、修復領域でもエビデンスレベルの高い臨床試験が行われるようになってきた。しかし、時間と労力がかかるわりには、得られたエビデンスの適用は限定されることが多い。また、まだ十分な量があるとは言いがたい。このような状況において、少しでも有益な臨床情報を得ることを目的として、われわれはコンポジットレジン修復 (CR) ならびに鋳造修復 (CK) の長期臨床成績に関する後向き調査を行い、その成果を第 114 回および 124 回日本歯科保存学会において発表した。その後も比較的高いリコール率を維持しながら追跡を継続するとともに症例数の増加にも努めてきたが、患者の高齢化に伴いここ 1, 2 年で脱落者も増えてきた。そこで、先の報告から 10 年が経過したことを契機に改めて調査することにした。

#### 【材料ならびに方法】

筆頭研究者 (SK) の担当患者を対象として、長崎大学病院において定期管理を始めた 1995 年以降に処置された臼歯部歯冠修復物の生存時間 (修復後から補修修復または再治療が必要と判定された時点までの機能時間) をカルテに基づいて調査した。ほとんどの患者は年 1 回または数回の定期リコールに応じていた。定期管理期間が短い (5 年未満) 患者や、2003 年以降来院していない患者の症例および歯頸部の修復 (582 例) は解析から除外した。2015 年 5 月より 11 月までの間に長崎大学病院総合歯科診療部に来院した患者に関しては、SK が視診と触診による診察を行い、FDI の判定基準に基づいて修復物の成績評価を行った。また、この期間に歯冠修復物の臨床成績を評価することができなかった対象者患者の修復物に関しては、最後の診察日をもって打ち切りとして処理した。修復時年齢 (60 歳以下・超)、性別、再治療のリスク (高・低)、上下、左右、歯種 (小・大白歯)、術者 (SK・他)、修復物、修復歯面数を説明変数として、カプラン・マイヤー法と Cox 比例ハザードモデルを用いて得られたデータの生存分析を行った ( $p < 0.05$ )。

#### 【結果ならびに考察】

今回の調査は実質的に前向きコホート研究と考えられ、これまでより信頼性が高く、適用範囲も広いエビデンスの提供が期待できる。139 人を調査したが、18 名 (CR:13 人 38 例、CK:5 人 5 例) が除外され、121 人 (修復時平均年齢:57.8 歳、標準偏差:14.0 歳) に 63 名の歯科医師により処置された 539 例 (CR:393 例、CK:146 例) が解析の対象となった。調査期間中のリコール率は既に再治療された症例等を含めると 80%であった。68 名の患者で 181 例の再治療が行われ、その半数は 12%の患者に集中していた。再治療に至るまでの機能時間 (中央値) については、CK (6.2 年) の方が CR (3.8 年) に比較すると有意に長い時間を示したが、10 年後の生存率に有意な差は認められなかった。解析した一部のグループの症例数および再治療数と 10 年後と 20 年後の推計生存率を表 1, 2 に示す。CR では歯種と修復面数が、CK では上下、接着 Br 支台が臨床成績に影響を及ぼしていた。

#### 【結論】

CR と CK の長期臨床成績間に有意な差はなく、修復物の約 60%が 10 年後も機能していると推計された。また、修復物の種類にかかわらず齧りリスクや咬合等による再治療のリスクが臨床成績に大きな影響を及ぼしていた。

Table 1 Number of restorations for each group (No. of retreatments)		Table 2 Survival rates (%)		
			10 yrs.	20 yrs.
CR	393 (123)	CR	62.0	50.7
1 surface	102 (28)	1 surface	61.4	61.4
2 surfaces	251 (71)	2 surfaces	67.7	51.9
>3 surfaces	40 (24)	>3 surfaces	26.5	—
CK	146 (58)	CK	55.3	42.0
1-2 surfaces	58 (19)	1-2 surfaces	62.3	56.7
>3 surfaces	88 (39)	>3 surfaces	50.2	26.2

Groups connected by line are not significantly different.

再石灰化されたエナメル質表層を再度脱灰したときの表層下脱灰層の性状変化に関する研究  
第3報 表層下脱灰層を保存した場合と崩壊した場合の性状変化の違いについて

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○林 真希, 堀江 卓, 長塚由香, 富士谷盛興, 千田 彰

Characteristic Changes of Enamel Surface Layer

Following Demineralization of Remineralized Enamel Subsurface Lesion

Part 3 The Difference of Characteristics Changes when Subsurface Lesion was Conserved or Collapsed

Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○HAYASHI Maki, HORIE Taku, NAGATSUKA Yuka, FUJITANI Morioki, SENDA Akira

【研究目的】

エナメル質う蝕は、脱灰と再石灰化の繰り返しの過程である。しかしその過程で、口腔内では種々の要素が複雑に絡み合うため、エナメル質う蝕の進行の様相はいまだ明確にされていない。これまでに演者らは、その様相を解明するために、脱灰と再石灰化を施す単純化モデルを作成し、再石灰化した表層下脱灰病変をう窩が形成されない程度に再脱灰したときのエナメル質表層における微細構造や元素分布などの変化について報告した(林, 日歯保存誌, 2012)。

エナメル質う蝕は、脱灰と再石灰化の平衡関係が崩れ脱灰が進行し、う窩を形成する場合もある。そこで本研究では、前述の単純化モデルを用い、再石灰化した表層下脱灰病変を再度脱灰する際の脱灰液のpHを変化させ、う窩を形成したときと形成しないときのエナメル質表層の微細構造や元素分布などの経時的な変化を比較検討した。

【材料および方法】

新鮮ウシ抜去前歯唇側エナメル質から切り出したブロック(5×4×3 mm)の唇側面(#2000)において、3×2 mmの矩形面以外をネイルバーニッシュでマスキングし試片とした。試片全体を脱灰ゲル(0.1 M 乳酸, 8% methylcellulose, pH 4.6, 37°C)に10日間浸漬して表層下脱灰層を調製した。次いで、当該面にリン酸酸性フッ化ナトリウムゼリー(フルオール・ゼリー, 東洋製薬)を用いて1日1回(30分)定時に7日間塗布し、処理時間以外は唾液基準ミネラル溶液(1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.9 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 20 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7.0, 37°C)に保管し再石灰化を施した後、再び人工脱灰液(50 mM 酢酸, 1.5 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.9 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 4.6, 37°C。以下、脱灰液A)、あるいは脱灰液AのpHを4.0に調製した脱灰液Bに6日間浸漬し、再度脱灰した(以下、それぞれA群, B群と略す)。表層下脱灰層調製後、再石灰化後、および再脱灰後の各試片を、通法に従いアルコール脱水・包埋した後側視断面観察面(#15000)を調製し、走査電子顕微鏡(以下SEM)観察を行うとともに、電子線マイクロアナライザー(以下EPMA)を用いてCaおよびPの分布状態を分析した。

【結果および考察】

SEM観察: 表層下脱灰層ではエナメル小柱と小柱鞘の両方が、深層部では小柱鞘のみが脱灰されていたが、再石灰化後の試料では、表層下脱灰層とその深層部におけるエナメル小柱の境界がいずれも不明瞭に変化していた。再脱灰後の試料において、A群では表層下脱灰層の変化はほとんど認められなかったが、深層部で無機成分の乏しい小柱鞘が比較的脱灰されず、本来脱灰されにくいエナメル小柱が選択的に脱灰されていた。一方B群では、深層部まで実質欠損が生じ、脱灰の影響は深層部の下方まで及んでいた。残存エナメル質表層は、無定形の構造を呈し、所々エナメル小柱が喪失し、小柱鞘の残遺が認められた。

EPMA分析: 表層下脱灰層ではCaおよびPの濃度低下が認められ、再石灰化処理後、それらの濃度は上昇した。再脱灰後の試料において、A群では表層下脱灰層の濃度変化は認められなかったが、深層部でエナメル小柱部における選択的な濃度低下が認められた。一方、B群では、残存エナメル質表層直下に濃度の低下が認められた。

以上の結果より、表層下脱灰層部では再石灰化により耐酸性が獲得され、それより下方の深層部は何の影響も受けていないエナメル質であるため耐酸性は獲得されず、そのためその部が再脱灰の際に著しく脱灰されたと考えられた。また、再石灰化と再脱灰を繰り返していくと、それらの影響を受けた深層部よりさらに下方の部分に脱灰が進行していき、脱灰と再石灰化の平衡が崩れるとエナメル質に実質欠損が生じ、う窩が形成されることが推察された。

【結論】

エナメル質における脱灰と再石灰化の過程において、脱灰の影響を受けた部分は再石灰化され耐酸性を獲得するが、再度脱灰すると再石灰化された層より深層のエナメル質が選択的に脱灰されることが判明した。

## 齲蝕罹患象牙質における糖化最終産物 AGEs 蓄積に関する研究

大阪大学大学院歯学研究科 口腔総合診療部  
○松田祐輔 三浦治郎 清水真人 久保美寿穂 竹重文雄

**Study on accumulation of Advanced glycation end-products (AGEs) in dentinal caries**  
Division for Interdisciplinary Dentistry, Graduate school of Dentistry, Osaka University  
○Yusuke Matsuda, Jiro Miura, Masato Shimizu, Mizuho Kubo, Fumio Takeshige

【目的】 齲蝕の進展には *S. mutans* をはじめとした齲蝕病因菌によるエナメル質および象牙質の脱灰が関与しているが、無機質だけでなく、基質においても様々な変化が起こることが知られている。本研究では齲蝕罹患象牙質における基質の変化を糖化最終産物（以下 AGEs）の蓄積に着目し、電子顕微鏡や蛍光顕微鏡などを用いた形態学的手法とウエスタンブロットなどの生化学的手法により分析及び検討を行った。

【方法】 本研究は、大阪大学歯学研究科倫理委員会承認のもと、研究に同意された患者の治療歴のない齲蝕罹患歯を対象に行った。抜去された歯は 1mm 厚に切断した後、透過型電子顕微鏡（以下 TEM）用試料は未脱灰のまま観察を行った。それ以外のものについては EDTA にて脱灰した。TEM 用観察試料は固定処理後にエポキシ樹脂に包埋、ウルトラミクロトームで薄切し TEM 観察を行った。免疫電顕法は、低温紫外線重合レジンによる包埋後、超薄切を行い、切片に AGEs 抗体処理および金コロイドを用いた 2 次抗体を反応させた。

光学顕微鏡用の試料は脱灰後にパラフィン包埋を行いミクロトームで薄切した。観察はグラム染色の他、type I コラーゲンと AGEs に対する免疫組織化学染色を行った。

ウエスタンブロット用の試料は脱灰後、黒変している部位を齲蝕罹患部、変色が認められない部位を健全部とし、それぞれから直径 1mm の円柱型試料を採取した。1M 塩酸にて分解した後、アセトン沈殿法にてタンパク質を抽出、回収されたタンパク質についてウエスタンブロット法を用いて I 型コラーゲンおよび AGEs の変化を検出した。さらに、脱灰した齲蝕象牙質に対して Time correlated single photon counting (TCSPC) 法を用いて蛍光寿命の測定を行った。

【結果】 TEM 観察では齲蝕罹患象牙質の細管内に多くの細菌が侵入しているとともに、象牙細管の拡大や管間象牙質への侵入、基質の破壊も認められ type I コラーゲンに特徴的な縞模様が不明瞭になっていることが確認された。免疫電顕法により、齲蝕罹患象牙質の管間象牙質にまで細菌が侵入した部位においては、細管内までもしくは健全部位よりも多くの AGEs の沈着を認めた。

グラム染色では、齲蝕罹患象牙質のエナメル象牙境より歯髄側に向かって細菌が象牙細管に沿って侵入している像が認められた。免疫組織化学染色では、菌侵入部位が抗 AGEs 抗体で強く染まり、また、抗コラーゲン抗体では弱く染まっていた。ウエスタンブロット法においては、齲蝕罹患象牙質における AGEs の蓄積および基質の減少を認めた。さらに、蛍光寿命測定では齲蝕罹患部において顕著な蛍光寿命の短縮および蛍光強度の減少を認めた。

【考察】 菌の侵入により基質の分解と AGEs の沈着が起こり、その沈着量は齲蝕の部位によって変化している。これは、齲蝕により象牙質脱灰が進んでいる表層においては、基質を取り巻く外部環境が大きく変化するため、基質が破壊され、さらに食物由来の還元糖による AGEs の産生が起こっていると考えられる。これらの現象は、菌の侵入のない深部では少なくなっており、齲蝕部位においては、蛍光強度だけでなく蛍光寿命の短縮も起こっていることから type I コラーゲンに比べて蛍光寿命の短い蛍光性 AGEs の比率が増えていると示唆された。今後、齲蝕と AGEs の関連についてさらに研究を進めていく予定である。

オートファジー関連遺伝子 Atg5 と Wnt5 シグナルは  
マウス ES 細胞の象牙芽細胞分化を制御する

- 山口秀幸, 尾関伸明, 長谷奈央子, 檜山太希, 川合里絵, 茂木真希雄\*, 中田和彦  
愛知学院大学歯学部歯内治療学講座  
\*愛知学院大学薬学部生体機能化学講座

Autophagy-related gene 5 and Wnt5 signaling pathway regulates  
differentiation of mouse embryonic stem cells into odontoblast-like cells

- Hideyuki Yamaguchi, Nobuaki Ozeki, Naoko Hase, Taiki Hiyama, Rie Kawai, Makio Mogi\* and Kazuhiko Nakata  
Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University  
\*Department of Medicinal Biochemistry, School of Pharmacy, Aichi Gakuin University

【研究目的】

我々はこれまでに、マウス ES 細胞を用いた象牙芽細胞分化誘導 (Kawai et al., *Oral Dis* 2014) は、 $\alpha 2$  integrin $\rightarrow$ Extracellular matrix metalloproteinase inducer (Emmprin) $\rightarrow$ Matrix metalloproteinase (MMP)-3 を含む特有なシグナルカスケードを介することを報告した (Ozeki et al., *Exp Cell Res* 2015)。さらに、マウス ES 細胞由来高純度象牙芽細胞における MMP-3 が、Interleukin (IL)-1 $\beta$  誘導 Wnt5 シグナルを介して細胞増殖を制御することを報告した (Ozeki et al., *Exp Cell Res* 2014)。また、この IL-1 $\beta$  による細胞増殖が、哺乳類の細胞内大規模分解系であるオートファジー (Autophagy) の関連遺伝子を介して誘導された MMP-3 により制御されることを報告した (Ozeki et al., *PLoS One* 2015)。

オートファジーは、近年、発生や分化、プログラム細胞死 (アポトーシス) など、多様な生理的役割を持つことが解明されている。さらに興味深いことに、根尖性歯周炎の進行や加齢化歯髓細胞において、オートファジー関連遺伝子群の LC3 や Atg5 の動態変化によるオートファジーの活性化が報告されているが、幹細胞を用いた象牙芽細胞分化誘導過程にオートファジー関連遺伝子が関与するとの報告は未だされていない。

そこで、本研究では、マウス ES 細胞から象牙芽細胞分化誘導過程におけるオートファジー関連遺伝子 Atg5 および Wnt5 の新規な生理的役割を明らかにするため、各種 siRNA を用いて遺伝子をノックダウンすることにより詳細な検討を行った。

【材料および方法】

マウス ES 細胞を Collagen type-I scaffold (CS) と Bone morphogenetic protein (BMP)-4 (CS/BMP-4) を用いて培養し、Real time-PCR 法と Western-blot 法により、オートファジー関連遺伝子群 (Atg5, LC3, TFE3, Beclin1 および Atg12) の mRNA ならびにタンパク発現を評価した。Atg5, Wnt5a,  $\alpha 2$  integrin, Emmprin および MMP-3 に対する siRNA を用いて各々の遺伝子をノックダウンすることにより、象牙芽細胞の分化誘導過程に関与するシグナルカスケードの検索を行った。

【結果】

CS/BMP-4 を用いた象牙芽細胞分化誘導において、Atg5, Wnt5a,  $\alpha 2$  integrin, Emmprin, MMP-3 の遺伝子発現、タンパク発現の亢進ならびに MMP-3 活性上昇が認められた。さらに、Atg5 および Wnt5a siRNA 処理により、CS/BMP-4 による象牙芽細胞分化誘導の抑制が観察された。siRNA を用いたシグナルカスケードの検索により、CS/BMP-4 による象牙芽細胞分化は Atg5 $\rightarrow$ Wnt5a $\rightarrow$  $\alpha 2$  integrin $\rightarrow$ Emmprin $\rightarrow$ MMP-3 を介して厳密に制御されることが明らかとなった。

【考察および結論】

CS/BMP-4 を用いたマウス ES 細胞の象牙芽細胞分化誘導は、オートファジー関連遺伝子 Atg5 と Wnt5 シグナルを介して誘導された MMP-3 により制御されることを明示した。さらに、Atg5 がシグナルカスケードの上流域に発現誘導されることから、炎症場における増殖と同様に、分化過程においても Atg5 が強い影響力を持つことが示唆された。

これらのことから Atg5 の発現を人為的に調整することは、象牙芽細胞の分化誘導を介して象牙質再生を制御し歯髄炎に対して創傷治癒を促せる可能性が示唆された。

## 感染根管治療後のラット根尖病変の三次元的および病理組織学的検索

<sup>1)</sup>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)

<sup>2)</sup>大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻

○米田直道<sup>1</sup>, 野杵由一郎<sup>1</sup>, 呉本勝隆<sup>1</sup>, 松井沙織<sup>1</sup>, 恵比須繁之<sup>1</sup>, 石本卓也<sup>2</sup>, 中野貴由<sup>2</sup>, 林美加子<sup>1</sup>

### Three-dimensional and histopathological analysis of periapical lesion after root canal treatment in rat

<sup>1)</sup>Osaka university Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology

<sup>2)</sup>Osaka university Graduate School of Engineering, Division of Materials and Manufacturing Science

○YONEDA Naomichi<sup>1</sup>, NOIRI Yuichiro<sup>1</sup>, KUREMOTO Katsutaka<sup>1</sup>, MATSUI Saori<sup>1</sup>, EBISU Shigeyuki<sup>1</sup>,  
ISHIMOTO Takuya<sup>2</sup>, NAKANO Takayoshi<sup>2</sup>, HAYASHI Mikako<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

根尖性歯周炎の中には通法の感染根管治療では治癒しない難治性根尖性歯周炎が存在するため、今なお様々な新規治療法・治療薬の開発研究が行われている。我々のグループは根尖孔外のバイオフィーム形成がその難治化に関与していることを報告し、さらにラット実験的根尖孔外バイオフィームモデルの作製に成功した。新規治療法・治療薬の臨床導入には実験動物での評価が必要となるが、小動物における感染根管治療モデルの報告はこれまでに存在しない。近年、臨床に導入された歯科用マイクロスコープや専用治療機器による歯内療法の治療技術を駆使することで、小動物にも感染根管治療を確実に行うことができるであろうと考え、ラット感染根管治療モデルの開発を目的として、その根尖病変を三次元的および病理組織学的に検索した。

#### 【材料および方法】

本研究は大阪大学歯学研究科および工学研究科動物実験委員会の承認を得て実施した (承認番号: 22-003-2, 23-2-1)

1. 根管治療に適した根尖閉鎖・根管狭窄状態である週齢を確認するために、4週齢雄性 Wistar 系ラットを用いて、14週齢まで1週ごとに下顎両側第一臼歯のマイクロ CT 撮影を行った。

2. 上記 1. 項の実験結果に基づき、10週齢雄性 Wistar 系ラットを用いて感染根管治療モデルを作製し、評価を行った。下顎両側第一臼歯の4根管全てに根尖性歯周炎を誘発したモデルと4根管のうち1根管のみに根尖性歯周炎を誘発したモデルを作製した。露髄4週後、両モデルとも右側は感染根管治療を行う治療群とし、左側は未処置の対照群とした。感染根管治療はラバーダム防湿を施してマイクロスコープ観察下でKファイルおよびマイクロエクスカベータを用いて行った。4根管感染根管治療モデルの評価は2.1-3)項で行い、1根管感染根管治療モデルの評価は2.2)項にて行った。

1) 根尖病変体積の計測: 露髄後4, 5, 6, 7, 8, 10, 12週にマイクロ CT の撮影を行い、得られたデータから根尖病変体積を算出した。

2) 根管内細菌量の定量: 感染根管治療直後の下顎第一臼歯の近心根のみを凍結後粉碎した後、遺伝子抽出を行った。その後、ユニバーサルプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い、根管内細菌の定量を行った。

3) 病理組織学的観察: 露髄12週後の組織切片を作製し、Hematoxylin-Eosin 染色およびBrown-Brenn 染色を施して光学顕微鏡で観察した。

#### 【結果】

Wistar 系ラットの下顎第一臼歯の歯根完成時期は8週齢以降であることが確認された。根尖閉鎖および根管狭窄程度は10週齢前後が適切であったため、モデルに使用するラットを10週齢に決定した。4根管感染根管治療モデルにおいて、治療群の近心根根尖病変体積は露髄6週後以降有意に縮小し (Welch's *t*-test,  $p < 0.05$ )、露髄12週後の体積は露髄4週後の体積の23%に縮小した (対照群: 48%)。1根管感染根管治療モデルでは治療群と対照群の根尖病変の体積に有意な差は認められなかった。治療群の近心根の細菌量 ( $3.2 \times 10^7$  cells) は対照群 ( $0.8 \times 10^7$  cells)、健全歯 ( $0.2 \times 10^7$  cells) と比較して有意に減少した (Steel-Dwass test,  $p < 0.05$ )。病理組織学的観察の結果、治療群の近心根は露髄12週後において根尖部歯周組織の治癒像が確認されたが、根管内は細菌の残存が僅かに認められた。

#### 【考察および結論】

マイクロスコープを用いた歯内療法技術を導入することにより、ラットの近心根根尖病変は三次元的および病理組織学的に治癒し、ラット感染根管治療モデルの確立に成功した。本実験モデルを用いて新規治療法・治療薬の評価を行うことにより、難治性根尖性歯周炎の治療法の開発研究がさらに進むものと期待される。

(本研究の一部は、JSPS 科研費 15H05021, 26893139 の助成を受けたものです。)

## 不可逆性歯髄炎組織由来歯髄幹細胞を応用した象牙質／歯髄複合体の再生

九州大学大学院歯学研究院<sup>1</sup>歯周病学,<sup>2</sup>分子口腔解剖学  
○園田聡一朗<sup>1,2</sup>, 山座孝義<sup>2</sup>, 西村英紀<sup>1</sup>

### Irreversible pulpitis-derived human dental pulp stem cell-based regeneration of dentin/pulp-complex

Departments of <sup>1</sup>Periodontology and <sup>2</sup>Molecular Cell Biology and <sup>2</sup>Oral Anatomy, Kyushu University Graduate School of Dental Science

○Soichiro Sonoda<sup>1,2</sup>, Takayoshi Yamaza<sup>2</sup>, Fusanori Nshimura<sup>1</sup>

#### (研究目的)

今日、臨床的に不可逆性歯髄炎と診断された歯髄は抜髄処置を受ける。不可逆性歯髄炎組織は再生能力が劣るため、抜髄後は人工物による根管充填処置が通法である。根管充填処置を受けた歯は、血液供給が絶たれるため歯質強度が低下し、末梢神経ならびに象牙芽細胞の喪失による感覚受容や修復象牙質形成などのウ蝕防御機能も失い、歯根破折や2次ウ蝕で抜歯に至る場合もある。従って、歯髄再生療法は、抜髄後の失われた歯髄内環境を再構築するための究極の歯内治療法と考えられる。すでに、歯髄幹細胞を応用した歯髄再生に関して、基礎研究ならびに臨床試験が試みられている。それら多くの研究では、智歯などの健康な歯髄組織由来の歯髄幹細胞を細胞ソースとして用いているが、自家移植での歯髄再生療法では、健康歯髄から歯髄幹細胞を患者から直接採取する機会は非常に限定される。従って、不可逆性歯髄炎と診断され、抜髄された歯髄組織は、自家移植による歯髄再生の場において非常に有望な細胞ソースと期待される。我々は、不可逆性歯髄炎と診断された抜髄組織から歯髄幹細胞 irreversible inflamed dental pulp tissues-derived dental pulp stem cells (IP-DPSCs)の単離に成功した。正常 DPSCs と比較した結果、IP-DPSCs は、幹細胞特性や免疫調節能、さらに象牙質／歯髄複合体の再生能力が低下している事を明らかとした。さらに、ハイドロキシアパタイトをキャリアーとした in vivo 移植実験系にて、移植前のインターフェロン $\gamma$ の処理によって、IP-DPSCs の象牙質形成能ならびに免疫抑制能が回復することを報告した。本研究では、IP-DPSCs の歯髄再生療法への応用の可能性を探るために IP-DPSCs とヒト抜去歯を用い、象牙質／歯髄複合体の再生能力を in vivo 移植実験系にて検証した。

#### (材料および方法)

九州大学病院にて、不可逆性歯髄炎と診断された抜去歯髄組織、および健康埋伏智歯より採取した歯髄組織を用いた。付着コロニー形成法により IP-DPSCs および正常 DPSCs を単離した。IP-DPSCs の in vitro ならびに in vivo での象牙質形成能ならびに in vitro での免疫抑制能を正常 DPSCs のそれらと比較検討した。これら幹細胞のインターフェロン $\gamma$ 処理下における象牙質形成能、免疫抑制能への影響も解析した。さらにインターフェロン $\gamma$ 刺激を施した IP-DPSCs をヒト抜去歯の根管内に充填移植し、免疫不全マウスの皮下へ移植した。移植後8週間にて、移植体内での象牙質／歯髄複合体の再生能を組織学的に解析した。

#### (成績)

正常 DPSCs と比較すると、IP-DPSCs では、象牙質形成能ならびに免疫抑制能ともにその低下が認められた。インターフェロン $\gamma$ 処理群では、IP-DPSCs の象牙質形成能、免疫抑制能に回復が認められた。ヒト抜去歯の根管充填移植法における象牙質の再生能力を組織学的に検討した結果、IP-DPSCs 移植群では象牙質再生能が低かったが、インターフェロン $\gamma$ 処理 IP-DPSC 移植群では、象牙質の再生が顕著に認められた。

#### (考察および結論)

自家移植による歯髄再生治療を考えるにあたり、インターフェロン $\gamma$ により処理された IP-DPSCs を応用することで、象牙質／歯髄複合体の再生をより有効に行える可能性があることが示唆された。

#### (参考文献)

Soichiro Sonoda, Haruyoshi Yamaza, Lan Ma, Yosuke Tanaka, Erika Tomoda, Reona Aijima, Kazuaki Nonaka, Toshio Kukita, Songtao Shi, Fusanori Nishimura & Takayoshi Yamaza. Sci Rep. 2016;6:19462



### TRPV1 受容体の活性化は神経ペプチド産生を介して歯槽骨吸収を抑制する

<sup>1)</sup>日本学術振興会 特別研究員, <sup>2)</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野,  
<sup>3)</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔保健学分野  
○高橋直紀 <sup>1)2)3)</sup>, 松田由実 <sup>2)3)</sup>, 佐藤圭祐 <sup>2)3)</sup>, 多部田康一 <sup>2)</sup>, 吉江弘正 <sup>2)</sup>, 山崎和久 <sup>3)</sup>

### Neuronal TRPV1 activation regulates alveolar bone resorption by suppressing osteoclastogenesis via CGRP.

<sup>1)</sup>JSPS Research Fellowships for Young Scientist  
<sup>2)</sup>Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University  
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan  
<sup>3)</sup>Laboratory of Periodontology and Immunology, Division of Oral Science for Health  
Promotion, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan  
○N. Takahashi<sup>1)2)3)</sup>, Y. Matsuda<sup>2)3)</sup>, K. Sato<sup>2)3)</sup>, K. Tabeta<sup>2)</sup>, H. Yoshie<sup>2)</sup>, K. Yamazaki<sup>3)</sup>

**【背景および目的】** 近年同定された新規陽イオンチャネルである Transient receptor potential (TRP)タンパクは、温度、機械刺激、化学刺激、浸透圧、酸などにより活性化されるユニークな多刺激受容体であり、外界の環境を生体に伝える感覚センサーとして機能する。それらは神経組織に高発現しており、構造や活性条件の違いによって7つのサブファミリーに分類されるスーパーファミリーを形成し、哺乳類では現在28種類が同定されている。それらの中で最も盛んに研究が進められている Transient receptor potential vanilloid 1(TRPV1)タンパクは、温度刺激、酸、カプサイシンなどで活性化され、生理活性をもつ神経ペプチドの産生誘導を介して、様々な炎症性疾患の発症・進行に関与することが知られている。外来因子が最初に体内に入る口腔は、他のどの組織よりはるかに多種の刺激に曝されており、これらのセンサータンパクが選択的に局在して高度に機能していることが予想されるが、歯周炎の発症・進行における報告はほとんどない。そこで本研究の目的は、歯周組織に発現する TRPV1 の歯周炎病態形成におよぼす影響とそのメカニズムを検討することである。

**【材料および方法】** 歯牙結紮歯周炎モデルマウスを用いて、6-8週齢の野生型マウスおよびTRPV1ノックアウトマウスにおける歯槽骨の吸収量を比較検討した。さらにresiniferatoxin (RTX)を投与することによって神経組織に発現するTRPV1の機能を欠失させたマウスにおいても同様の比較検討を行った。TRPV1を介した神経ペプチドの関与を検討する目的で、逆行性トレーサーであるFluoro-Gold (FG)を用いて歯周組織を支配する神経細胞を三叉神経節にて同定し、TRPV1と神経ペプチドCGRPの発現とその局在を蛍光免疫染色にて確認した。また、TRPV1の活性化によるCGRPの産生誘導能をELISA法にて解析した。CGRPが骨代謝能におよぼす影響を検討する目的で、*in vitro*における破骨細胞分化誘導能を検討した。*In vivo*における歯周炎の抑制効果を検証するために、TRPV1のアゴニストであるカプサイシンを食餌に混和し投与を行い、歯牙結紮歯周炎モデルにおいて歯槽骨吸収量を比較検討した。またその詳細を確認するために脱灰組織標本作製し、歯槽骨におけるTRAP陽性細胞数の比較検討を行い、さらに歯周組織における破骨細胞様細胞とCGRP陽性神経組織の局在を蛍光免疫染色にて検討を行った。

**【結果および考察】** TRPV1ノックアウトマウスは野生型マウスと比較して、歯槽骨吸収量が有意に増加することが確認された。RTX投与マウスにおいても同様な結果が認められたことから神経組織に発現するTRPV1が歯槽骨吸収の亢進に関与していることが示唆された。歯周組織を支配する神経線維上にTRPV1およびCGRPが共発現しており、TRPV1の活性化によりCGRPの産生が増加することが確認された。*In vitro*においては、歯周病原細菌由来のLPSで誘導される破骨細胞分化がCGRPの前処理によって有意に抑制されることが明らかとなった。*In vivo*においては、TRPV1アゴニストを投与することで歯槽骨吸収が抑制されることが確認され、歯槽骨におけるTRAP陽性数も有意に少ないことが確認された。歯槽骨表面に存在する破骨細胞様細胞の近傍にはCGRP陽性の神経組織が存在することが確認された。これらのことより、神経組織に発現するTRPV1が局所におけるCGRPの産生を介して歯槽骨吸収を抑制することが明らかとなり、歯周炎の病態形成におけるTRPV1の関与が強く示唆された。

**【謝辞】** TRPV1ノックアウトマウスの分与に関して、自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 富永真琴先生・鈴木喜朗先生にこの場を借りて感謝申し上げます。

iPS 細胞由来の歯根膜幹細胞様細胞の樹立

<sup>1</sup>九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、

<sup>2</sup>九州大学大学院歯学研究院・OBT 研究センター、

<sup>3</sup>九州大学病院歯内治療科、<sup>3</sup>九州大学病院口腔総合診療科

○濱野さゆり<sup>12</sup>、友清淳<sup>1</sup>、和田尚久<sup>4</sup>、長谷川大学<sup>3</sup>、杉井英樹<sup>1</sup>、吉田晋一郎<sup>1</sup>、

芹田俊<sup>1</sup>、水町博之<sup>1</sup>、御手洗裕美<sup>1</sup>、前田英史<sup>13</sup>

Induction of differentiation of human iPS cells into periodontal ligament stem cells.

<sup>1</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, <sup>2</sup>OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University, <sup>3</sup>Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, <sup>4</sup>Division of general dentistry, Kyushu University Hospital

○Sayuri Hamano<sup>1)2)</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>1)</sup>, Naohisa Wada<sup>4)</sup>, Daigaku Hasegawa<sup>3)</sup>, Hideki Sugii<sup>1)</sup>, Shinichiro Yoshida<sup>1)</sup>, Suguru Serita<sup>1)</sup>, Hiroyuki Mizumachi<sup>1)</sup>, Hiromi Mitarai<sup>1)</sup>, Hidefumi Maeda<sup>1)3)</sup>

【研究目的】歯根膜組織は歯牙の植立において重要な役割を担う組織であり、この組織中に含まれる幹細胞は、骨、セメント質および歯根膜線維の修復や再生に働くことが知られている。しかしながら、歯根膜組織から得られる幹細胞はごくわずかであるため、現在、臨床へ応用可能な歯根膜幹細胞の数の獲得が求められている。そこで、宿主の体細胞から樹立可能な induced pluripotent stem cells (iPS 細胞) に着目した。iPS 細胞は ES 細胞様の特徴を持つことが知られており、様々な分野において再生医学の研究に用いられている。本研究では、生体拒絶反応のリスクが少ない iPS 細胞由来の歯根膜幹細胞の樹立について検討した。

【材料および方法】理研より購入したヒト皮膚線維芽細胞由来の iPS 細胞 (HPS No. 0063) を本研究に用いた。iPS 細胞は、歯周組織発生活起源である神経堤細胞 (NC 細胞) へ分化させることで、生体内での腫瘍形成を回避できるとの報告がある (Otsu et al. Stem Cells Dev. 2012) ことから、移植時における生体内での腫瘍化のリスクを考慮し、まずヒト iPS 細胞を NC 細胞へと分化させることとした。Lee ら (Lee G et al. Nat Protoc., 2010) が樹立した方法に基づいて NC 細胞に分化させ、その中から NC 細胞のマーカーの一つである p75NTR を発現する細胞を抽出し、この細胞を NC 細胞様細胞 (iPS-NC 細胞) とした。次にこの iPS-NC 細胞を当教室にて樹立したヒト歯根膜細胞 (HPDLC) の細胞外マトリックス上にて培養し、得られた細胞 (iPS-NC-PDL 細胞) のキャラクター化を、(1) 歯根膜関連因子の遺伝子発現解析、(2) 間葉系幹細胞マーカーの発現解析ならびに (3) 多分化能解析について、RT-PCR 法、免疫蛍光染色、フローサイトメトリー解析、Alizarin red S 染色および Oil red O 染色を用いて解析した。なお本研究は九州大学大学院歯学研究院倫理委員会の許可を得て、患者様の同意の上で行った。

【結果】(1) iPS-NC-PDL 細胞における歯根膜関連因子の遺伝子発現を RT-PCR 法を用いて解析した結果、コントロール群と比較して  $\alpha$ -smooth muscle actin, Collagen I, Fibrillin 1, Osteoprotegerin, Periostin (POSTN) の遺伝子発現が有意に上昇した。また、免疫蛍光染色にてコントロール群と比較して、iPS-NC-PDL 細胞では抗 POSTN 抗体に対する反応が亢進した。(2) 間葉系幹細胞マーカー発現についてフローサイトメトリーを用いて解析した結果、iPS-NC-PDL 細胞は間葉系幹細胞マーカーとして知られている CD29、CD90 および CD146 陽性細胞を多く含む細胞群であることが分かった。(3) iPS-NC-PDL 細胞を骨芽細胞誘導培地にて 3 日培養した結果、Alkaline Phosphatase の遺伝子発現が有意に上昇し、さらに同培地にて 4 週間培養後、Alizarin red S 陽性反応が認められた。また、iPS-NC-PDL 細胞を脂肪細胞誘導培地にて 3 日間培養した結果、C/EBP $\alpha$ 、Lipoprotein lipase、Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  の遺伝子発現が有意に上昇し、さらに同培地にて 4 週間培養後、Oil red O 陽性反応が認められた。

【考察】iPS 細胞由来の NC 細胞を HPDLC の ECM 上に播種することにより、歯根膜関連因子の発現が高い細胞が得られたことから、iPS-NC-PDL 細胞は歯根膜の特徴を有する細胞へと分化したと考えられる。また、iPS-NC-PDL 細胞は間葉系幹細胞マーカーの発現を多く含み、さらに多分化能を有することから、本培養方法は、iPS 細胞から歯根膜幹細胞様細胞への分化誘導を可能にするものであることが示唆された。

【結論】iPS 細胞から樹立した iPS-NC-PDL 細胞は歯根膜関連因子の遺伝子発現が高いことが分かった。また、同時に間葉系幹細胞マーカーを発現している細胞を多く含み、さらに骨芽細胞様および脂肪細胞様細胞への多分化能を持つ細胞であることが分かった。

## ヒト胎盤間葉系幹細胞由来エクソソームは線維芽細胞の分化能力を変化させる

東京医科歯科大学大学院 歯医学総合研究科 歯周病学分野<sup>1</sup>

東京医科歯科大学大学院 歯医学総合研究科 ナノメディスン(DNP)講座<sup>2</sup>

大日本印刷株式会社 研究開発センター 応用技術研究開発本部 ライフサイエンス研究開発部<sup>3</sup>

○遠井政行<sup>1</sup>、小牧基浩<sup>2</sup>、岩崎剣吾<sup>2</sup>、横山尚毅<sup>3</sup>、永田瑞<sup>1</sup>、和泉雄一<sup>1</sup>、森田育男<sup>2</sup>

### Placenta mesenchymal stem cell derived exosomes alter differentiation competence in fibroblasts

Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University<sup>1</sup>, Department of Nanomedicine (DNP), Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University<sup>2</sup>, Life Science Department, Research and Development Division for Applied Technology, Research and Development Center, Dai Nippon Printing Co., Ltd.<sup>3</sup>

○TOOI Masayuki<sup>1</sup>, KOMAKI Motohiro<sup>2</sup>, IWASAKI Kengo<sup>2</sup>, YOKOYAMA Naoki<sup>3</sup>, NAGATA Mizuki<sup>1</sup>, IZUMI Yuichi<sup>1</sup>, MORITA Ikuo<sup>2</sup>

**【目的】**近年、間葉系幹細胞 (MSC) 培養上清 (MSC-CM) の創傷治癒促進効果が注目されている。我々はラット歯周組織欠損モデルにおいて MSC が歯周組織再生を促進することを報告した (第 143 回日本歯科保存学会学術大会)。しかしながら、MSC-CM による創傷治癒促進のメカニズムは十分に解明されていない。エクソソームは、タンパク質、核酸を内包する膜小胞で、細胞遊走、細胞増殖作用などが報告されている。我々は、MSC-CM による創傷治癒促進にエクソソームが関与すると仮説し、ヒト胎盤 MSC (PlMSC) 由来エクソソーム (PlMSC-exo) を用いて細胞分化に対するエクソソームの作用を検討した。

**【材料と方法】**胎盤は、東京医科歯科大学倫理審査委員会の承認と患者の同意に基づき、本学医学部附属病院で出産後に譲り受けた。細胞は、酵素処理法により採取し、MSC 特性を確認した。MSC 内エクソソームは、蛍光標識した CD63 で確認した。通法に従い、PlMSC 培養上清を回収し、超遠心法を用いて培養上清よりエクソソームを回収した (PlMSC-exo)。PlMSC-exo は、透過型電子顕微鏡観察と動的光散乱法 (DLS) で粒子の形態及び粒径を、Western blotting でエクソソームのマーカーをそれぞれ確認した。蛍光標識した PlMSC-exo を用いて、成人ヒト皮膚線維芽細胞 (NHDF) への PlMSC-exo の取り込みを確認した。Oct4 レポーター・マウス由来皮膚線維芽細胞を用いて PlMSC-exo の Oct4 転写活性を検討した。PlMSC-exo を NHDF へ添加後 48 時間で total RNA を回収、リアルタイム PCR にて幹細胞関連遺伝子 (OCT4、NANOG) 発現を検討した。NHDF の分化応答性に対する PlMSC-exo の作用を検討するため、PlMSC-exo の有無による NHDF の骨芽細胞、脂肪細胞への分化を、アルカリホスファターゼ (ALP) 染色、Alizarin red 染色、oil red O 染色、リアルタイム PCR にて ALP、OSX、LPL、aP2 発現をそれぞれ検討した。

**【結果と考察】**PlMSC は紡錘様形態を呈し、コロニー形成能を示した。各種 MSC マーカーの発現は陽性であった。また、各分化誘導条件下にて骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨芽細胞に分化した。蛍光顕微鏡観察により PlMSC の核周辺に CD63 局在が確認された。PlMSC 培養上清より精製したエクソソームは、電子顕微鏡にて膜で包まれた球形の構造物であり、DLS にて粒径は直径 50-100nm の範囲であることが確認された。また、Western blotting にてエクソソームマーカーである CD9、CD63 の発現を確認した。PlMSC-exo は、培養液に添加して 2 時間後、NHDF の細胞質に取り込まれ、NHDF における OCT4、NANOG 発現を上昇させた。PlMSC-exo は線維芽細胞において Oct4 遺伝子の転写活性を上昇させた。また、PlMSC-exo 処理された NHDF は、コントロール細胞に比べ BMP-2 刺激による OSX の発現の上昇と、石灰化誘導による Alizarin red 染色陽性像が増加した。また、脂肪細胞分化誘導により oil red O 染色陽性の脂肪滴形成の増加と aP2 の発現上昇が確認された。PlMSC-exo による線維芽細胞の分化刺激応答性の変化がどのようなメカニズムにより起こるのか、今後さらなる検討が必要である。

**【結論】**PlMSC-exo は、線維芽細胞における幹細胞関連遺伝子の発現を上昇させ、Oct4 の転写活性を上昇させた。また、BMP-2、石灰化誘導培地、脂肪細胞分化培地が誘導する NHDF の骨芽細胞分化、脂肪細胞分化を促進させた。幹細胞エクソソームによる細胞の刺激応答性調節は、幹細胞の新規機能であり、MSC を利用した治療の新たな可能性を示唆するものである。

## 試作ユニバーサル型一液接着材の象牙質接着強さ

鶴見大学歯学部保存修復学講座

○英 將生, 木村紗央里, 伊藤美沙子, 山本雄嗣, 桃井保子

### Bond strength of an experimental one-bottle universal adhesive to dentin

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○HANABUSA Masao, KIMURA Saori, ITO Misako, YAMAMOTO Takatsugu, MOMOI Yasuko

#### 【研究目的】

近年, MI (ミニマルインターベンション) の概念から補修復が臨床で多用されるようになった. 補修復では一窩洞内に歯質および修復物の様々な被着面が存在する. この多様な被着面に適切な前処理を行ってから接着材を塗布するのは操作が煩雑で困難なことが多い. ここ数年, この多様な被着面の接着処理を簡略化したユニバーサル型一液接着材が開発, 市販され始めた. 今回クラレノリタケデンタル社は, 多様な被着面に対する接着処理の簡略化, 短時間の接着処理およびさらなる象牙質接着性能の向上を目的としたユニバーサル型一液接着材 (SKB-100, 試作) を新たに開発した. そこで本研究では, この試作ユニバーサル型一液接着材 SKB-100 の象牙質接着強さを知るために, 微小引張り接着試験による検討を行った.

#### 【材料および方法】

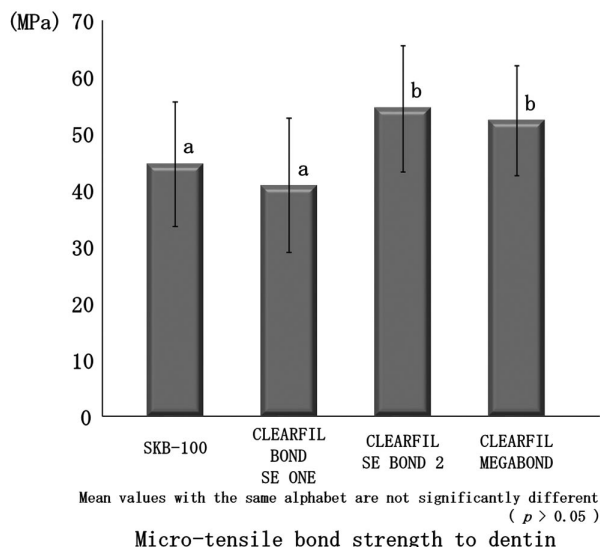
微小引張り接着試験: 抜去ヒト大臼歯の歯冠中央部を歯軸に対し垂直方向にマイクロカッターMC-201 (マルトー) で切断後, 象牙質露出面を耐水研磨紙 #600 で研削し, 被着面とした. 作製した象牙質被着面に1ステップ接着システム2種: 試作ユニバーサル型一液接着材 SKB-100 およびクリアフィルボンド SE ONE, 2ステップ接着システム2種: クリアフィルメガボンドおよび CLEARFIL SE BOND 2 の接着システム (全てクラレノリタケデンタル) をメーカー指示通りに使用し接着処理を行った. SKB-100 の接着処理は, 接着材塗布後ただちにマイルドエアにて乾燥, 光照射の手順で行った. 接着処理後, コンポジットレジジン (クリアフィル AP-X, クラレノリタケデンタル) を積層充填し光照射した. 試料を24時間37°C水中に浸漬後, 接着界面と垂直に1.0 mm × 1.0 mm となるようにマイクロカッターで短冊状に切断し接着試験の試片 (n=45) とした. その後, 万能試験機 (Type 4443, インストロン) を使用し, クロスヘッドスピード 1.0 mm/min にて微小引張り接着試験を行った. 微小引張り接着試験によって得られたデータは, 一元配置分散分析と Tukey の多重比較 ( $\alpha=0.05$ ) にて統計処理を行った.

#### 【成績および考察】

微小引張り接着試験の結果から, SKB-100 の象牙質接着強さは, 同じ1ステップ接着システムのクリアフィルボンド SE ONE と有意差が無かった. したがって, 本実験で使用した試作ユニバーサル型一液接着材 SKB-100 は, 短時間の接着処理で従来の1ステップ接着システムのクリアフィルボンド SE ONE と同等の象牙質接着強さを有する良好な接着システムであることが示唆された.

本研究は, 鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認 (No. 1306) を得て実施した.

本研究に関連し, COI を開示すべき企業・団体はない.



## 試作ユニバーサル型一液接着材の各種被着体に対する接着強さ

鶴見大学歯学部保存修復学

○木村紗央里, 伊藤美沙子, 英 將生, 山本雄嗣, 桃井保子

### Bond strengths of an experimental one-bottle universal adhesive to various materials

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○KIMURA Saori, ITO Misako, HANABUSA Masao, YAMAMOTO Takatsugu, MOMOI Yasuko

#### 【研究目的】

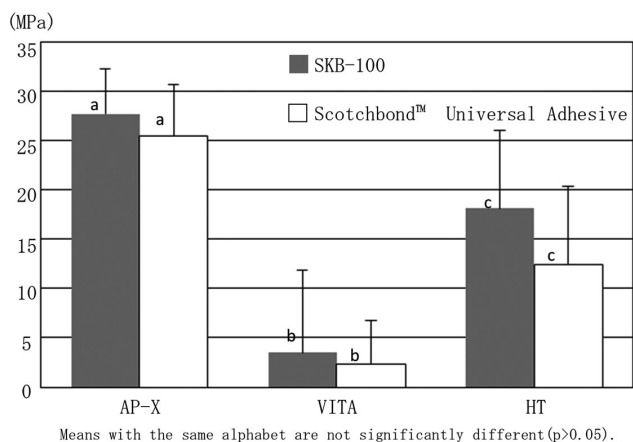
ユニバーサルタイプ接着システムは、近年推奨されている補修修復の複雑な接着処理を簡略化することを目的に開発され始めた。この接着システムは、口腔内にみられる様々な修復物に対して一括で接着処理を行うシステムであることから、この処理法で口腔内の過酷な環境に耐えうる十分な接着強さを備えていなければならない。しかしながら、ユニバーサルタイプ接着システムの様々な被着体に対する接着性能はいまだ不明な点が多い。今回、クラレノリタケデンタルは、様々な被着面に対して一括で接着処理する新規親水性アミド型モノマー配合試作ユニバーサル型一液接着材(SKB-100)を開発した。本研究では、この試作接着システムの各種被着体に対する剪断接着強さを評価した。

#### 【材料と方法】

本実験では2種類のユニバーサルタイプ接着システム：①試作ユニバーサル型一液接着材(SKB-100, クラレノリタケデンタル)、②スコッチボンド™ユニバーサルアドヒーズ(3M ESPE)を用いた。被着体は、コンポジットレジン(クリアフィル AP-X, クラレノリタケデンタル)、ポーセレン(VITABLOCS Mark II, 白水貿易)、ジルコニア(カタナジルコニア HT, クラレノリタケデンタル)の3種類とした。すべての被着体は一面を露出させ常温重合レジンに包埋し1週間37°C水中に浸漬した。その後、露出面を耐水研磨紙#180を用いて研削し、被着面とした。被着面に直径2mmの穴を開けた両面テープを貼り被着面積を規定した。この被着面に各メーカーの指示通り接着処理を行い、内径2.38mm高さ2mmのモールド(ウルトラデントジグ)を設置、コンポジットレジン(クリアフィル AP-X, クラレノリタケデンタル)を充填後、40秒間光照射を行った。その後試片をモールドから除去し37°C水中に24時間保管した。試片は各条件につき10個ずつ作製した。24時間水中保管後、万能試験機(Typr4443, Instron)を用いてクロスヘッドスピード1.0mm/minの条件で剪断接着試験を行った。得られた結果は、二元配置分散分析とTukeyの多重比較( $\alpha=0.05$ )にて統計学的比較を行った。また、接着試験後接着面の破壊様式を40倍の実体顕微鏡下で観察した。

#### 【結果および考察】

剪断接着試験の結果をグラフに示す。接着強さは、AP-Xに対してSKB-100:  $27.7 \pm 4.5$ MPa, スコッチボンド:  $25.5 \pm 5.2$ MPa, VITAに対してSKB-100:  $3.5 \pm 8.3$ MPa, スコッチボンド:  $2.3 \pm 4.5$ MPa, HTに対してSKB-100:  $18.1 \pm 7.9$ MPa, スコッチボンド:  $12.4 \pm 8.0$ MPaであった。剪断接着試験の結果から、各種被着体に対する接着強さは、2種類の接着システム間に有意差はなかった。また、ユニバーサル接着システムの各種被着体に対する接着強さは、すべての被着体間で有意差がみられた。試作ユニバーサルタイプ接着システムSKB-100は、既存の接着システムと同等の接着強さを示した。研究に関連し、COIを開示すべき企業・団体はない。



Shear bond strengths to various materials

## 長期水中浸漬がユニバーサルアドヒーズ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<sup>1</sup>，総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>，青島歯科医院<sup>3</sup>

○島村 穰<sup>1</sup>，高見澤俊樹<sup>1,2</sup>，下山侑里子<sup>1</sup>，田村ゆきえ<sup>1</sup>，  
瀧本正行<sup>1</sup>，坪田圭司<sup>1,2</sup>，宮崎真至<sup>1,2</sup>，青島 裕<sup>3</sup>

**Influence of Long Term Water Storage on Bond Strength of Universal Adhesive**  
Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>, Division of Biomaterials Science Dental Research Center<sup>2</sup>,  
Nihon University School of Dentistry, Aoshima Dental Clinic<sup>3</sup>  
○SHIMAMURA Yutaka<sup>1</sup>, TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2</sup>, SHIMOYAMA Yuriko<sup>1</sup>, TAMURA Yukie<sup>1</sup>,  
TAKIMOTO Masayuki<sup>1</sup>, Tsubota Keishi<sup>1,2</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>, AOSHIMA Yutaka<sup>3</sup>

### 【緒言】

ユニバーサルアドヒーズは、エッチ&リンスおよびセルフエッチいずれのモードにおいても使用可能である。さらに、被着体への前処理を不要としたところから、術式の簡略化および補修修復への応用にも期待がもたれている。これまで、このアドヒーズの初期接着に関しては比較的多くの検討がなされているものの、接着耐久性の詳細については情報が少ないのが現状である。そこで、演者らは、ユニバーサルアドヒーズの接着耐久性に関する研究の一環として、温熱負荷がユニバーサルアドヒーズの接着強さに及ぼす影響について第143回日本歯科保存学会秋季学術大会において報告した。その中で、ユニバーサルアドヒーズは温熱負荷による影響が少ないことを明らかとした。今回、更なる研究の発展を目的として、接着試験片を長期間水中に浸漬した後の接着試験からユニバーサルアドヒーズの歯質接着耐久性について検討を行った。

### 【材料および方法】

#### 1. 接着システム

供試したユニバーサルアドヒーズとしては、Scotchbond Universal Adhesive (以後SU, 3M ESPE), G-Premio Bond (以後GP, ジーシー) および All-Bond Universal (以後AU, Bisco) の合計3製品を、対象として2ステップシステムである Clearfil Mega Bond (以後MB, クラレノリタケデンタル) を用いた。また、レジンペーストとしては、Clearfil AP-X (クラレノリタケデンタル) を用いた。

#### 2. 接着試験

ウシ下顎前歯冠部エナメルおよび象牙質面を、SiC ペーパー#600 まで研磨したものを被着面とした。被着面に対して各アドヒーズを製造者指示条件に従って塗布した後、内径2.38 mm の Ultradent 接着試験用治具を歯質表面に固定し、その高さが1.5mm 程度になるようにレジンペーストを充填し、照射を行ったものを接着試験用試片とした。

これらの試片は37°Cの精製水中に24時間保管したものをBase line とし、この試片を3, 6および12ヵ月間、水中浸漬を行った。所定の保管期間が経過した後、万能試験機 (Type5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード1.0 mm/min の条件でその剪断接着強さを測定した。

剪断接着試験後の破断試片については、その破壊形式を知るために、実態顕微鏡を用いて10倍の倍率で歯質側破断面を観察し、界面破壊、レジンあるいは歯質の凝集破壊として分類した。なお、各条件における試片の数は10個とした。得られた平均値および標準偏差から、有意水準0.05の条件で統計学検定を行った。

### 【成績および考察】

供試したユニバーサルアドヒーズの接着強さは、用いた被着体によって異なる傾向を示した。すなわち、エナメル質に対する接着強さは、SU および GP では3ヵ月で上昇する傾向を示し、6および12ヵ月においても3ヵ月と同程度の接着強さを示した。一方、AU ではいずれの水中浸漬期間においても接着強さへの影響は少なかった。また、象牙質に対する接着強さはSU および AU においては、水中浸漬期間による影響は少なかったものの、GP においては3ヵ月で接着強さが上昇する傾向が認められ、12ヵ月後にBase line と同程度の接着強さを示した。このように、用いたアドヒーズの組成あるいは塗布方法の違いが、その接着耐久性に影響を及ぼしたものと考えられた。

### 【結論】

エナメルおよび象牙質に対するユニバーサルアドヒーズの接着強さは、用いた製品によって異なるものの、いずれの水中浸漬期間においても変化は少なく、良好な接着耐久性を示した。

## 新規動揺歯固定用接着材料のエナメル質に対する接着性能の評価

サンメディカル株式会社 研究開発部  
○宮森沙耶香, 荒田正三

### Evaluation of newly-development mobile tooth fixation adhesive material to enamel

Sun Medical Co., Ltd. Research and development department  
○MIYAMORI Sayaka, ARATA Masami

#### 【研究目的】

暫間固定に用いられる動揺歯固定用接着材料 (以後、固定材) には、化学重合タイプと光重合タイプが挙げられる。化学重合タイプである歯科接着用レジンセメント「スーパーボンド」は、暫間固定を始めとした様々な用途において30年以上にも渡る臨床実績を有している。「スーパーボンド」は高い接着性に加え、硬化物が柔軟性と粘靱性を有することから動揺している歯の複雑な動きに追従できるなど、光重合タイプの固定材とは異なる特長を有する。しかしながら、暫間固定処置の中でも小児外傷歯固定のような施術にスピードが求められる場合には、硬化までの時間が長い化学重合タイプよりも光照射ですぐ硬化する光重合タイプが好まれる場合もある。

そこで、我々は光重合タイプでありながら、「スーパーボンド」に近似した高い柔軟性と粘靱性を有する歯科動揺歯固定用接着材料「ライトフィックス」を開発した。本研究では、「ライトフィックス」のエナメル質に対する接着強さおよび接着界面の観察を評価したので報告する。

#### 【材料および方法】

冷凍保管されたウシ抜去歯を耐水研磨紙 (#180) にて研磨し、エナメル質を露出させた。被着面のエナメル質はエッチャントゲルにて30秒間処理を行い、水洗・乾燥後にφ4.8mmの面積規定を行った。規定面にペーストを充填、圧接しLED光重合器 (Pencure2000, モリタ) にて10秒間光照射を行った後、硬化したライトフィックスとアクリル棒を接着させた。その後、37°C水中24時間浸漬または、5°Cと55°Cの温度条件下で各々20秒浸漬を1サイクルとしたサーマルサイクルを5,000回行った。浸漬後の各試料は、万能試験機 (オートグラフ AG-1S, 島津製作所) を用いて、クロスヘッドスピード2.0mm/minで引張試験を行った。得られた結果は、Student *t* 検定を用いて有意水準5%で統計処理を行った。

ウシ歯エナメル質に対する接着界面観察用の試料は、接着試験と同様に作製した各試料を精密低速切断機 (Isomet low speed saw, Buehler) にて接着面に対して垂直方向に切り出し、得られた薄片を鏡面研磨した。その後、6N塩酸水溶液にてエナメル質を一部脱灰させた試料を白金蒸着し、SEM (JSM-5610LV, 日本電子) にて接着界面の観察を行った。また、臨床を想定した接着性能評価として、ヒト歯未研削エナメル質に対する接着界面の評価も行った。冷凍保管されたヒト健全抜去前歯を歯面清掃 (アドネストファイン, ネオ製薬工業) した後、ウシ歯と同様に試料を作製し、SEMによる接着界面の観察を行った。

#### 【結果および考察】

37°C水中24時間浸漬およびサーマルサイクル5,000回負荷後の接着強さにおいて、ライトフィックスは高い値を示した。37°C水中24時間浸漬と比較してサーマルサイクル5,000回負荷による接着強さの低下は確認されず、接着耐久性に優れていることが示唆された ( $p > 0.05$ )。

ウシ歯研削エナメル質に対する接着界面においてライトフィックスは10 $\mu$ m程度のレジクタグを形成し、エナメル質に対して良好に接着していることが確認された。更に、ヒト歯未研削エナメル質に対しても3 $\mu$ m程度のレジクタグを形成していたことから、エッチャントゲルによって脱灰、粗造化されたエナメル質にライトフィックスが良好に浸透していることが示唆された。

#### 【結論】

新規動揺歯固定用接着材料であるライトフィックスは高い接着耐久性を有し、ウシ歯研削エナメル質およびヒト歯未研削エナメル質に対して数 $\mu$ m程度のレジクタグを形成していたことから、良好な接着性能を有していることが示唆された。

## サーマルサイクル試験後のユニバーサルタイプ接着システムのセラミック接着強さ

岩手医科大学歯学部 歯科保存学講座 う蝕治療学分野  
○伊藤誠之, 岡田伸男, 志賀華絵, 菅徹也, 八木亮輔, 工藤義之, 野田守

Tensile Bond Strength of Universal Adhesives to Repair Ceramic Restoration After Thermal Cycle  
Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry, School of  
Dentistry, Iwate Medical University

○Ito Masayuki, Okada Nobuo, Shiga Hanae, Kan Tetsuya, Yagi Ryosuke, Kudo Yoshiyuki and Noda Mamoru

### 【目的】

近年, セラミック材料の補修修復にユニバーサルタイプの接着システムが使用されている. この接着システムは歯質, 金属, セラミックなどの異なる被着面に対し, 簡便な操作で接着が可能で, 良好な臨床成績を収めていると報告されている. 当分野では各種ユニバーサルタイプ接着システムのセラミックへの接着強さについて第 143 回日本歯科保存学会にて発表した. 接着強度は良好であるが, 耐久性については不明であった. そこで本研究では, セラミック補修修復を想定し, サーマルストレス下でのユニバーサルタイプ接着システムの接着耐久性について比較検討を行った.

### 【材料および方法】

接着システムとして, G-Premio bond (GPB), Scotch bond Universal Adhesive (SU), および, Universal Primer (UP), 対照として従来型接着システムである C&B Repair Kit (RK) を用いた. 被着体セラミックとして, GN Ceram Block (GNC), 補修修復材料としてフロアブルコンポジットレジン (MI LOW Flow, GC 社) を使用した.

セラミックブロックを耐水研磨紙#600 で研磨し 10 分間蒸留水中超音波洗浄を行った. その後, 各種接着システムを業者指示に従い被着体表面に塗布した. ステンレスモールド (内径 4mm, 高さ 3mm) を配置し, フロアブルコンポジットレジンを 1.5mm 厚さで積層充填した. 各層は 20 秒間光照射を行った. 試料は相対湿度 100% で 24 時間保管後をサーマルサイクル非負荷群 (TC0) および 5-55°C, 1,000 回のサーマルサイクル負荷群 (TC1000) に分類し, 引っ張り接着強さを測定した (クロスヘッドスピード 0.5mm/min). 得られたデータは One-way ANOVA および Tukey HSD test にて統計学的分析を行った. (n=12, P<0.05)

### 【結果及び考察】

TC0 群ならびに TC1000 群の引っ張り接着強さの結果を図に示す.

TC0 群において引っ張り接着強さは, 有意差を認めなかった. しかしながら TC1000 群においては GPB と SU は UP と RK に比較し有意に接着力が低下した.

GPB, SU は 1 ボトルタイプあるいはシランカップリング不要な操作簡略タイプであり, これらが接着耐久性に関与していると示唆された.

### 【結論】

セラミック材料の補修修復において, ユニバーサルタイプ接着システムのシステム簡略化は接着耐久性に影響を及ぼす可能性がある.

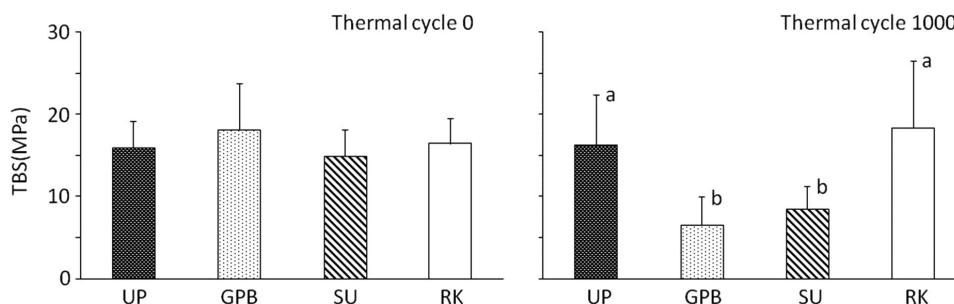


Fig. Tensile Bond Strength of Universal Adhesives to Ceramic Block after Thermal cycle  
Different letters represent significant differences (P<0.05)



## Xe エキシマランプ照射象牙質表面のTEM像

東京医科歯科大学 1 歯学部附属病院 歯科総合診療部, 2 大学院歯学総合研究科,  
歯学教育システム評価学, 3 大学院歯学総合研究科, 口腔機材開発工学

○礪波健一<sup>1</sup>, 佐野和信<sup>2</sup>, 岩崎直彦<sup>3</sup>, 高橋英和<sup>3</sup>, 荒木孝二<sup>2</sup>

### TEM image of dentin after Xe excimer lamp irradiation

○Tonami K<sup>1</sup>, Sano K<sup>2</sup>, Iwasaki N<sup>3</sup>, Takahashi H<sup>3</sup>, Araki K<sup>2</sup>

1) Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital, 2) Educational System in Dentistry,  
Graduate School 3) Oral Biomaterials Development Engineering, Graduate School,  
Tokyo Medical and Dental University

#### 【目的】

Xe エキシマランプは、紫外光 ( $\lambda=172\text{nm}$ ) を照射するが、その光エネルギーは有機化合物の分子結合エネルギーよりも高いため、分子結合を直接切断するとされる。さらに同紫外光が大気中の酸素と反応するとオゾンが発生し、被照射面の有機質化合物にCOやCO(OH)などの官能基を形成する。こうした性質を持つことから、近年 Xe エキシマランプは集積回路の光洗浄や、接着性向上のための材料表面の改質に用いられている。同ランプが歯科応用されれば、歯科臨床や歯科技工における接着処理に大いに資するものと考えられる。演者らはこれまで、Xe エキシマランプ照射により象牙質表面の接触角が減少することを明らかにし、同ランプによる象牙質接着修復への応用可能性を検討してきた。本研究では、Xe エキシマランプ照射象牙質表面のTEM観察を行い、その表面形態に与える影響を検討した。

#### 【材料および方法】

抜去後冷蔵保存したヒト大臼歯3本を用いた。各歯より、低速切断機(Isomet 1000, Buehler)を用いて、咬合面1-2mmの深さから厚さ1mmの歯質平板を歯軸と垂直に切り出し試験片とした。3個の試験片のそれぞれに、以下の3つの表面処理条件を割り振り、咬合面側象牙質面に表面処理を行った。

- 1) Xe エキシマランプ (Min-Excimer SUS713, ウシオ電機) 180 秒間照射
- 2) Xe エキシマランプ 180 秒照射後、クリアフィルムメガボンド・ボンド (クラレノリタケ)を用いてボンディング処理
- 3) 無処理 (コントロール)

表面処理後の試験片について 2.5%グルタルアルデヒド固定液を用いて前固定を行った後、0.1M リン酸緩衝液で洗浄し、1%オスミウム固定液で後固定した。そして、50-100%のエタノールで脱水を行った。次に試片をエボン包埋し、薄切をした切片をTEM観察用試片とした。TEM観察および撮影は、透過型電子顕微鏡(H-7100, HITACHI)を用いて行った。なお処理面表層から深部にかけての構造の変化を検索するため、観察は処理面に対し垂直に切断した面に対して行った。

#### 【成績】

TEM観察により、Xe エキシマランプ 180 秒照射後の象牙質表面に厚さ 250nm の境界明瞭な層が形成されているのが明らかとなった。同層の内部はコラーゲン線維などの構造は観察されなかった。Xe エキシマランプ 180 秒間紫外光照射後にボンディング処理を行った条件では、表層の電子密度は大きくなっていることが確認され、層の境界は不明瞭となり、またその層の厚さは 250nm より厚くなっていた。

#### 【考察】

Xe エキシマランプ 180 秒照射により、象牙質表面のマトリクスコラーゲンが分解・変性していることが考えられた。また、ボンディング処理後に電子密度が大きくなったことより、象牙質表面のXe エキシマランプ作用部にボンディング材が浸透している可能性がある。

#### 【結論】

Xe エキシマランプ 180 秒照射により、象牙質表面に厚さ 250nm の変性層が形成された。同層が象牙質と修復物との接着力に与える影響を明らかにするには、接着試験等さらなる検討が必要である。

## 「iGOS-BOND」の様々な条件による接着性評価

山本貴金属地金株式会社  
○坂本 猛, 大川内 一成, 安楽 照男

### Evaluation of Adhesive Property of iGOS-Bond under Various Conditions Yamamoto Precious Metal Co., Ltd. ○SAKAMOTO Takeshi, OHKAWAUCHI Kazunari, ANRAKU Teruo

#### 【目的】

歯科保存修復の臨床において、1ステップ1液タイプのボンディング材が広く使われるようになってきている。このタイプのボンディング材は接手順が簡便で、患者側にも術者側にも負担が少ない。接着ステップが減ることによりテクニカルエラーのリスクも軽減される。しかしながら口腔内の状態、特に修復面の乾燥状態や術者の違いにより接着力が変化する可能性は十分に残っている。新たに開発した1液タイプボンディング材 iGOS-BOND (以下 iGB : 山本貴金属地金, 以下ヤマキン) は新規リン酸モノマー Methacryloyloxy tetraglycol dihydrogen phosphate (以下 M-TEG-P) を配合しており、両親媒性の特性を持つ。この両親媒性により組成の均一性が保たれることが確認されている。今回は被接着面の湿潤状態とボンディング材の乾燥状態、エアブロー条件に着目し、様々な条件による接着性を評価した。

#### 【材料および方法】

接着対象にはウシ下顎前歯を使用し、耐水研磨紙 (P600) で研磨された Φ3 mm の接着面を作製した。通常の iGB の接着方法に対し、次の条件を変更した。

#### A 接着面湿潤条件 (接着操作中に水を混入させた条件)

- 1) Control (iGB で推奨される使用方法。乾燥歯面に対し、ボンドを塗布、20 秒放置後十分にエアードライを行なった。)
- 2) ボンド塗布前の歯質に蒸留水を規定量マイクロピペットで滴下し歯面を濡らした。
- 3) ボンド塗布後、蒸留水を規定量マイクロピペットで滴下し未重合ボンド面を濡らした。
- 4) 予備重合後に蒸留水を規定量マイクロピペットで滴下し重合ボンド面を濡らした。

#### B ボンディング材溶媒揮発条件 (添付文書通りの操作前にボンド液材を乾燥させた条件)

- 1) ボンドを採液皿に採液後、遮光下で 10 分放置し乾燥させた。
- 2) 使用前のボトルの蓋を 1 時間開放し乾燥させた。

#### C エアブロー条件 (ボンド塗布後のエアブローの強さを変えた条件)

- 1) エアブロー無しで溶媒を揮発させない。
- 2) 弱圧 (風速計で圧を規定) でエアブローし溶媒を揮発させた。
- 3) 強圧 (風速計で圧を規定) でエアブローし溶媒を揮発させた。

予備重合は光照射器 (ペンキュア2000 : モリタ) で 10 秒間光硬化した。接着面上にはゴム製 O リングを設置し、内部に iGOS (Universal A3) 充填後、上から 1 kN の荷重をかけながら十分に光硬化した。試験体は 37°C の水中で一日保存し、万能試験機 (EZ-GRAPH : 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min で引張試験を行ない、エナメル質、象牙質それぞれへの接着強さを評価した。また、小型電子顕微鏡 (TM3030 : 日立製作所) でエナメル質、象牙質それぞれのボンド-歯質間の接着界面の観察を行なった。

#### 【結果】

Control と歯質湿潤面で接着力を比較したところ歯質湿潤面は Control と比較して、2 MPa ほどの低下がみられたが十分な接着力を示した。本発表では、他の条件の結果もあわせて報告する。

#### 【考察】

iGB は外部から水が混入、または溶媒が揮発しても十分な接着力を示す。これは iGB に配合した両親媒性リン酸モノマー「M-TEG-P」の機能により、iGB 中の水や溶媒が増減しても組成の均一性が高度に保たれるためと考えられる。今後、これらの条件の接着耐久性評価も行い、iGB の接着有効性を確認する。

## 「G-プレミオ ボンド」の歯ブラシ摩耗後における象牙細管封鎖性評価

株式会社ジーシー  
○加藤大智, 有田明史, 熊谷知弘

### Evaluation of sealability on dentinal tubule after brushing with "G-Premio BOND"

GC CORPORATION, Tokyo, Japan  
○KATO HIROSATO, ARITA AKISHI, KUMAGAI TOMOHIRO

#### 【研究目的】

弊社から、処理時間ゼロおよび多機能化を実現した「G-プレミオ ボンド」を発売している。G-プレミオ ボンドは知覚過敏抑制材としても使用可能である。作用機序としては、ボンディング材が象牙細管に入り込み硬化することによって、知覚過敏抑制効果を発揮する。また、G-プレミオ ボンドは4-MET, MDP といった機能性モノマーをバランスよく配合しているため、ボンド層と象牙質が強固に接着し、効果の継続も期待される。本発表では、歯ブラシ摩耗後のG-プレミオ ボンドの象牙細管封鎖性を従来製品と比較し、耐久性の評価をすることを目的とする。

#### 【材料および方法】

試験には、G-プレミオ ボンド (GPB, ジーシー), 製品 A, 製品 B を使用した。

ウシ下顎前歯を2mmの厚さでスライスし、スプリントリテーナーレジン(ジーシー)で包埋した。象牙質が露出するように#4000まで順次研磨した。その後、ジーシー エッチャント(ジーシー)を用い、10秒間処理を行い、水中で30分間超音波洗浄し、エアブローで乾燥を行った。各種知覚過敏抑制材を塗布し、添付文書に従い放置、乾燥、光照射を行った。歯ブラシを荷重150gで試験体に押し当て、ホワイト&ホワイト(ライオン): 蒸留水=1:2の混合物をスラリーとして歯ブラシ摩耗試験を行い、0回、3000回、6000回後の被膜厚さをレーザー顕微鏡(VK-X200, KEYENCE)で測定した(n=5)。また、知覚過敏抑制材塗布前(control)と、塗布後歯ブラシ6000回後の表面(GPB-6000, ProductA-6000, ProductB-6000)をSEM(SU-70, 日立ハイテクノロジーズ)にてx2000の倍率で観察を行った。

#### 【結果および考察】

歯ブラシ摩耗後の被膜厚さをFig. 1に示す。歯ブラシ摩耗前の被膜厚さはGPBが最も薄かった。歯ブラシ摩耗後においては、どの製品においても同様の被膜厚さとなった。GPBは薄い被膜厚さで従来製品と同等の摩耗耐久性があると言える。Fig. 2にSEM観察結果を示す。GPBは歯ブラシ摩耗6000回後も剥離がなく、象牙細管を封鎖していた。GPBは歯質に対して高い接着性を有しているため、細管内においても強固に接着し、歯ブラシ摩耗時に剥離が起らなかったと考えられる。以上から、GPBは高い象牙細管封鎖性を有していると言える。

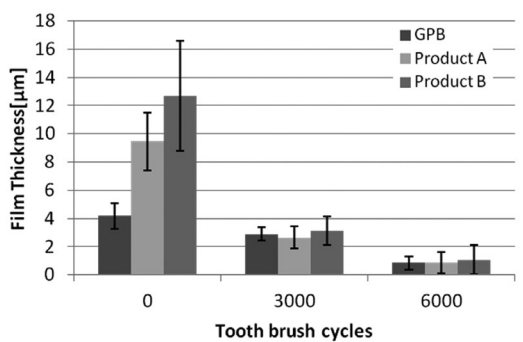


Fig.1 Film Thickness of each Tooth brush cycles

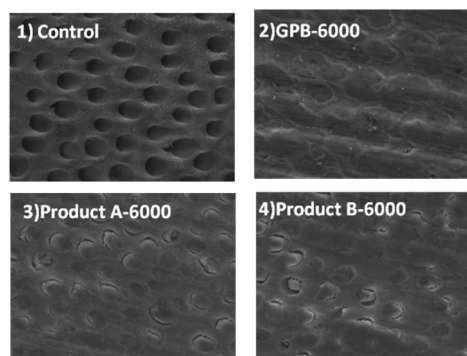


Fig.2 SEM images of tooth surface(x2000)

#### 【結論】

G-プレミオ ボンドは高い象牙細管封鎖性を有し、長期間の知覚過敏抑制効果が期待できる。

### 新規 LED 光照射器がボンディング材の接着強さに与える影響

大阪歯科大学 歯科保存学講座  
○松田有之,吉川一志,山本一世

Influence of a New LED Light Curing Unit on Dentin Bond Strength  
Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University.

○MATSUDA Tomoyuki, YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo.

#### 【目的】

歯質接着システムおよびコンポジットレジン(CR)の物性の向上のより,臼歯のⅡ級窩洞においてもCR修復が広く行われている。しかし,大白歯の深いⅡ級窩洞などでは咬頭や隔壁,ラバーダムクランプなどに阻まれて光照射器を照射面に近接させることが出来ず,斜照射や遠隔照射となる場合が多いと考えられる。そのような遠隔照射時においても十分な接着強さを得るために,3M ESPEによって新規LED光照射器 Elipar™ Deep Cure-Lが開発された。本研究では,新規光照射器がCR修復の接着強さに与える影響について検討するため,ボンディング材およびCRへの照射時の照射距離を規定して光照射する実験を行い,引張接着強さを測定した。

#### 【材料および方法】

抜去牛歯の歯冠部唇側面をモデルトリマーで切削し象牙質平坦面を作成後,耐水研磨紙で#320,#600の順に研磨し,象牙質被着面とした。内径3mm,高さ2mmの金属製治具を両面テープで固定して被着面積を規定し,市販されているボンディング材を用いて製造者指示に従って歯面処理を行った後,光照射した。その後,治具内にCRを充填し光照射した。照射条件は,象牙質被着面から照射器先端までの距離を2mm,7mm,12mm,22mmに規定してボンディング材塗布後に10秒,CR充填後に20秒照射とした。ボンディング材にはScotchbond™ Universal Adhesive(3M ESPE,SB)とG-bond plus(GC,GB)を,CRにはフィルテック™ シュープリーム ウルトラ(3M ESPE)を使用し,光照射器には新規LED型光照射器 Elipar™ Deep Cure-L(3M ESPE,DC)とハロゲン型光照射器 Curing Light XL3000(3M ESPE,XL)を使用した。作製した試料は37℃水中で24時間保管した後,引張試験機IM-20(INTESCO)を用いてCHS=0.3mm/minにて引張接着強さを測定した。試料数は各条件につき5試料とし,一元配置分散分析およびTukeyの検定を用いて統計処理を行った( $p < 0.05$ )

#### 【結果および考察】

SBの結果をFig.1に示す。XLでは,7mmと12mmの間のみ有意差は認められなかったが,2mmの接着強さと比較して照射距離の増加によって接着強さは有意に低下した。DCでは照射距離の増加による接着強さの有意な低下は認められなかった。GBの結果をFig.2に示す。XLでは12mmまでは接着強さは低下しなかったが,22mmで有意に低下した。DCでは照射距離の増加による接着強さの有意な低下は認められなかった。

#### 【結論】

新規LED光照射器 Elipar™ Deep Cure-Lを用いることによって,遠隔照射においても十分な接着強さを得られることが示唆された。

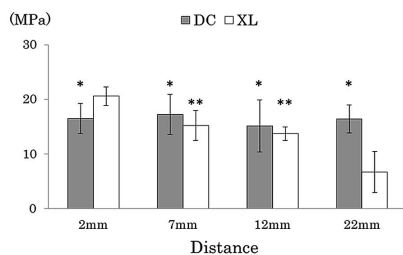


Fig. 1 Tensile Bond strength of SB

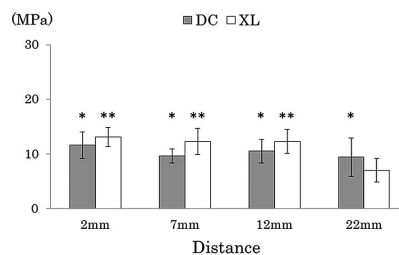


Fig. 2 Tensile Bond strength of GB

### ワンステップボンディング材が歯質アパタイトの脱灰におよぼす影響(第3報)

日本大学松戸歯学部保存修復学講座<sup>1</sup>,社会歯科学講座<sup>2</sup>,生体材料学講座<sup>3</sup>  
○藤田(中島)光<sup>1</sup>, 大塚一世<sup>1</sup>, 岡田珠美<sup>1</sup>, 神谷直孝<sup>1</sup>, 庫山未希<sup>1</sup>, 内山敏一<sup>2</sup>, 西山典宏<sup>3</sup>, 平山聡司<sup>1</sup>

Effect of one-step adhesive on demineralization aspect  
Department of Operative Dentistry<sup>1</sup>, Department of Social Dentistry<sup>2</sup>,  
Department of Dental Biomaterials<sup>3</sup>, Nihon University School of Dentistry at Matsudo  
○FUJITA (NAKAJIMA) Kou<sup>1</sup>, OTSUKA Issei<sup>1</sup>, OKADA Tamami<sup>1</sup>, KAMIYA Naotaka<sup>1</sup>, KURAYAMA Miki<sup>1</sup>,  
UCHIYAMA Toshikazu<sup>2</sup>, NISHIYAMA Norihiro<sup>3</sup>, HIRAYAMA Satoshi<sup>1</sup>

#### 【目的】

セルフエッチングシステムの接着耐久性は含有している機能性モノマーの種類によって大きく異なることが報告されている。しかし、歯質接着のメカニズムすなわち機能性モノマーの違いが樹脂含浸層の形成にどのように影響を及ぼしているかについては明らかになっていない。

そこで、本研究では、機能性モノマーMDPが配合されているワンステップボンディング材とエナメル質および象牙質とを反応させ、反応後における固体<sup>31</sup>P NMRスペクトルの変化から、エナメル質および象牙質の脱灰によって生成される生成物を解析し、反応時間を変化させて機能性モノマーMDPと歯質成分との相互作用を検討した。また、その結果をもとに歯質接着性および接着耐久性においても検討した。

#### 【材料および方法】

反応生成物の解析：ワンステップボンディング材G BOND PLUS (GC)に1.00 g中に切削したウシ歯冠エナメル質および象牙質粉末を0.20 gを懸濁し、各1, 30, 60分間振盪・攪拌した。その後、これらの懸濁液を遠心分離し、得られた反応残渣をエチルアルコールで洗浄し、<sup>31</sup>P NMRスペクトルで測定した。なお、NMRの測定にはEX 270スペクトロメーター(日本電子)を用いた。また、反応時間の変化を反応残渣から固体<sup>31</sup>P NMRスペクトルおよび薄膜X線回折装置XRD(Rigaku RINT-2500)で測定し、反応生成物の解析を行った。

接着試験：ウシ前歯抜去歯の唇側エナメル質を#1000シリコーンカーバイトペーパーにて研磨し、新鮮なエナメル質および象牙質を露出させた後、試料片を埋没した。内径3.2 mmの穴の開いた両面テープを貼付け、その内面をワンステップボンディング材で10秒間処理後、強圧エアブローを行い、10秒間光照射し、内径3.2 mmのシリコーンリングを固定し、コンポジットレジンを充填し光照射(20秒間)を行い、試験体を作製した。その後、24時間37℃水中保管後、サーマルサイクル20000回を行い、インストロン型万能試験機で、クロスヘッドスピード1.0 mm/minにて圧縮剪断接着強さを測定した。

#### 【結果および考察】

ワンステップボンディング材G BOND PLUSの<sup>31</sup>P NMRスペクトルを測定した結果、反応残渣の<sup>31</sup>P NMRピークは、エナメル質および象牙質では、反応生成物が異なる形状を示した。ワンステップボンディング材中のMDPは、ハイドキシアパタイトの結晶化度の低い象牙質の方がエナメル質より脱灰していることが解った。また、反応時間の変化から、エナメル質および象牙質ともに反応時間が長くなるとMDPカルシウム塩の生成量は増大し、エナメル質においてはリン酸カルシウムも生成された。

XRDのピークおよび<sup>31</sup>P NMRスペクトルから、象牙質では反応時間1分でMDPカルシウム塩が生成していることが分り、反応時間30分および60分になるとエナメル質および象牙質ともにMDPカルシウム塩が生成された。その結果、10-MDPのカルシウム塩に帰属する特徴的な回折ピークは、エナメル質反応1分を除くすべての時間で認められ、時間の経過と共にその強度は強くなった。

歯質接着性および接着耐久性試験において、エナメル質では、G BOND PLUSの接着強さは約17.55MPa、象牙質の接着強さは、12.55MPaを示し、20000回のサーマルサイクルでは、エナメル質で15.40MPa、象牙質の接着強さは、15.29MPaと大きな低下は見られなかった。脱灰過程で生成される副生成物は、20000回のサーマルサイクルで、歯質接着性および接着耐久性には、大きな影響を及ぼさなかったが、経時的に相互作用させたときの副生成物の変化から歯質接着性および接着耐久性に関連性があると思われる。

本研究は、平成27年度日本大学松戸歯学部・研究支援費(推進費)により行われた。

## CAD/CAM 用レジンブロックとレジンセメントを用いた象牙質接着性の検討

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

○戸井田 侑, 門脇佳孝, チョウドリアルマス, サイケオビポップ, 丁 世俊, 成徳英理, 勝俣愛一郎,  
川野晋平, 福澤尚幸, 松本真理子, 角田晋一, 星加修平, 池田考績, 田中 享, 佐野英彦

### The effect of dentin adhesion using CAD/CAM resin blocks and resin cements

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

○Y. Toida, Y. Kadowaki, A. Chowdhury, P. Saikaew, S. Ting, E. Seitoku, A. Katsumata, S. Kawano,  
N. Fukuzawa, M. Matsumoto, S. Kakuda, S. Hoshika, T. Ikeda, T. Tanaka, H. Sano

#### 【目的】

近年, 小白歯の歯冠補綴装置として CAD/CAM 冠が保険適用となり, 今後治療選択の機会が増えることが予想される. しかし, CAD/CAM 冠と支台歯が十分な接着強さを得られているかは不明である. そこで, 本実験では各社製品の CAD/CAM 冠へ推奨されている接着材料を用いて象牙質接着強さに与える影響を比較検討した.

#### 【材料および方法】

12 本のヒト抜去小白歯を供した. CAD/CAM 用レジンブロックは KATANA AVENCIA Block (K: クラレノリタケデンタル), SHOFU BLOCK HC (H: 松風), CERASMART (C: GC)を使用した. ブロック被着面の表面処理材としてクリアフィルセラミックプライマー (SP: クラレノリタケデンタル), 松風ポーセレンプライマー (PP: 松風), セラミックプライマーII (SII: GC)を使用した. ブロック被着面と象牙質への接着にはデュアルキュア型レジンセメントを用い, HPC-100 (HPC: クラレノリタケデンタル), ResiCem (RC: 松風), LINKMAX (LM: GC)を使用した. 実験群は以下の3群とした. ①HPC 群 (K+SP+HPC), ②RC 群 (H+PP+RC), ③LM 群 (C+SII+LM). 試料作製は, まず最大豊隆部にて歯冠部を歯軸に対して垂直にモデルトリマーを用いて削除し, 象牙質表面を露出させた後, 耐水研磨紙 (#600)で研削したものを象牙質被着面とした. レジンブロックの試験片は, 縦 5.0 mm, 横 5.0 mm, 高さ 5.0 mm のものを用意し, 被着面にサンドブラスト処理を行った. 各接着材料をメーカー指示に従って処理し, ブロックを象牙質被着面に乗せたうえで光照射を行った. 作製した試料を 24 時間 37°C の水中に保存した後, 精密低速切断機 Isomet により象牙質接着界面が 1 mm<sup>2</sup> となるように角柱型ビームを作製し, 小型卓上試験機 EZ-test を用いて微小引張試験をクロスヘッドスピード 1 mm/min の条件下にて行った (n=20). 統計処理は, 一元配置分散分析と Games-Howell 検定を用いて行った. 有意水準は 5% に設定した. さらに, 拡大鏡を用いて破断面の形態分類を行い, 走査型電子顕微鏡を用いて超微細構造の観察を行った.

#### 【結果】

HPC 群の象牙質接着強さが, 他の群と比較して有意に高い値を示した (Table 1).

Table 1 Results of bond strength

	HPC	RC	LM
MPa (Mean±SD)	45.4±10.2 <sup>A</sup>	29.8±20.0 <sup>B</sup>	25.5±15.4 <sup>B</sup>

Same letters indicate no significant difference (p>0.05)

#### 【考察】

HPC 群が RC 群, LM 群よりも有意に高い値を示したのは, 使用したデュアルキュア型レジンセメントの触媒の改良により, レジンセメントの重合が優れていた可能性が考えられる. これまでの報告にも, HPC-100 は, CAD/CAM 用レジンブロックおよび象牙質への良好な接着が得られることが報告されている (Higashi *et al.*, 2015 IADR, Boston) (Tagami *et al.*, 第 140 回春季日本歯科保存学会). 今後, 長期耐久性を含めた結果についても検討する必要がある.

#### 【結論】

デュアルキュア型レジンセメントの CAD/CAM 用レジンブロック及び象牙質への接着強さは, HPC 群が他群と比較して有意に高い接着強さを示した.

## 新規 CAD/CAM 用レジンセメントの接着性能について

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○恩田 康平、森川 裕仁、初岡 昌憲、宮地 秀彦、三浦 樹、  
三木 秀治、河村 昌哲、山本 一世

### Study of newly composite resin cement for CAD/CAM.

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○Kohei Onda, Yuto Morikawa, Yoshinori Hatsuoka, Hidehiko Miyaji,  
Itsuki Miura, Hideji Miki, Masaaki Kawamura, Kazuyo Yamamoto.

#### 【緒言】

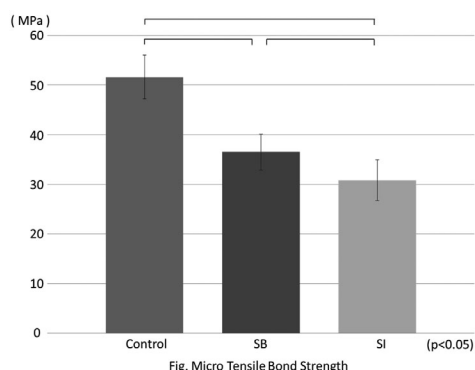
昨年、小臼歯の歯冠補綴に CAD/CAM 冠が保険導入され、今まで保険では金属冠しか選択できなかったところが、審美的に治療したい患者から多くの需要に応えることが可能になっている。CAD/CAM 冠は完全に重合したコンポジットレジンで削り出して製作するため、化学的に安定しており、接着性レジンセメントで装着しても、十分な接着性を得るのが難しい。そこで今回 CAD/CAM 冠用のセメントが松風より試作された。その接着性を検討したので報告する。

#### 【材料と方法】

冷凍保存したウシ歯を解冻後、象牙質平坦面を出し、耐水研磨紙#600 まで研磨した。また CAD/CAM 用ハイブリッドレジン(松風ブロック HC, 松風)を厚さ 3 mm に切断し、切断面を耐水研磨紙で#600 まで研磨し試料とした。試料を 0.2MPa でサンドブラスト処理し、超音波洗浄を 10 分行った後、エッチングし、シランカップリング処理したものをコントロール群とした。試料を同様にサンドブラスト処理し、超音波洗浄した後エッチングしたものを SB 群とした。試料をエッチング後シランカップリング処理したものを SI 群とした。業者指示に従い、試作歯質プライマーでウシ歯研磨面を処理し、試作 CAD/CAM 用プライマーで各群を処理し、試作接着性レジンセメントで接着操作を行った。

24h 37°C 水中浸漬し、各群を被着面が 1.0 × 1.0 のダンベル型となるようにトリミングし、微小引張接着強さを測定した。(n=8) その後、破断面を適法に従い金蒸着し、走査電子顕微鏡にて観察を行った。得られた結果は、一元配置分散分析および Tukey の検定を用いて統計学的に検討を行った(P<0.05)。

#### 【結果および考察】



	Control	SB	SI
Interfacial failure	3	2	5
Cohesion failure of cement	3	2	0
Mixture failure	2	4	3

Table. Failure configuration

結果を上グラフに示す。サンドブラスト処理、シランカップリング処理をそれぞれしたものに比べ、その両方を行ったものは有意に高い接着値を示した。またコントロール群が SB 群より有意に高い接着値を示したことより、試作 CAD/CAM 用プライマーはシランカップリングによりフィラーに接着させるものではなく、マトリックスレジンに接着させるプライマーであり、プライマーとは別にシランカップリングすることが有用であることが示唆された。

#### 【結論】

新規 CAD/CAM 用レジンセメントは CAD/CAM 冠の装着に有用であり、サンドブラスト処理、シランカップリング処理を併用すると、さらに強固な接着を得ることができることが示唆された。

## 新規レジンセメントの性能に関する研究

神奈川県立歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座クリニカル・バイオマテリアル  
○緑野智康, 大橋 桂, 三宅 香, 亀山祐佳, 和田悠希, 二瓶智太郎

Study on performance characteristic of novel resin based luting agent

Division of Clinical Biomaterials, Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry,  
Kanagawa Dental University

○MIDONO Tomoyasu, OHASHI Katsura, MIYAKE Kaori, KAMEYAMA Yuka, WADA Yuki, NIHEI Tomotaro

【目的】近年, CAD/CAM システムの発達により, ジルコニアをはじめセラミックスでの審美修復と補綴処置が著しく増加している. しかしながら, 以前から市販されているレジンセメントの長期予後を診てみると, 内側性修復装置であるセラミックインレーやレジニンレーでは, 修復装置と歯質とのマージン部となるレジンセメントの摩耗が著しく, ギャップや段差が生じていることを見掛ける. このレジンセメントの摩耗により, 審美性の低下, 段差による食片の停滞や二次カリエスの発生, 修復装置の破損, 顎位の安定や顎運動の干渉などを生じる可能性が危惧される.

そこで今回, 現在市販されているレジンセメントとはコンセプトを変えて, セメントの摩耗量を低下させるために開発された新規セメント リンクフォースの特性を評価した.

【材料と方法】新規レジンセメントは, 平均粒径 300nm のシリカフィラーを含有したデュアルキュアタイプのリンクフォース (LF, Lot. A150501-1, B150619-1, ジーシー) を用い. 対照した市販レジンセメントは, パナビア V5 (V5, Lot. 3T0002, クラレノリタケ), レジセム (RC, Lot. 031546, 松風), エステセム (EC, Lot. A003B2, トクヤマデンタル), およびリライエックスアルティメット (RU, Lot. 586732, 3M ESPE) の 4 種を用いて行った. 引張接着試験として, 被着体をウシ下顎前歯部歯冠唇面のエナメル質, 象牙質, セラミックス Vitablocs Mark II for CEREC/in Lab (Vita) およびイットリア系ジルコニア (東ソー) を耐水研磨紙#600 まで平坦に研磨したものとし, 被着面処理は業者指示通りとした. その後, 接着面積を直径 5mm に規定し, 各レジンセメントを接着子に付け, 手圧にて付き合わせ接着した. その後, 接着直後から 30 分後と 37°C 蒸留水中に 7 日間保管した後, オートグラフ EZ tester (島津製作所) にて 1mm/min にて引張接着試験を行った. 被膜厚さ試験は JIS T6602 に準じて測定し, 吸水量も JIS T6611 に準じて測定した. 摩耗試験は ACTA wear machine (ACTA3, Willytec GmbH) を用い, 15N の荷重にて 200,000 サイクル負荷させた後, 3D-scanner (Laserscan 3D Pro, Willytec GmbH) にて摩耗量の測定を行った. また, 衝突摩耗試験機 (K655, 東京精密) を用いて, 37°C 水中で衝突荷重 5kg, 駆動距離を 2mm として摩耗試験を 10,000 サイクル行った後. レーザー顕微鏡 (VK-X250, キーエンス) にて表面観察から摩耗量と摩耗最深部の距離を測定した. 表面硬さの測定は, 各レジンセメントを, 内径 9.0mm, 厚さ 4.0mm の穴開きモールド内に填入し, 作製したものを 24 時間室温大気中で保管後, その上下面および側面を耐水研磨紙にて #1,500 まで研磨の後, 15 分間超音波洗浄して試験片とし. Micro hardness tester DMH-2 (松澤精機) を用いて, 荷重 25g, 負荷時間 30 秒間の条件でヌープ硬さを計測した. フィラー含有量は熱重量測定装置 (TG/DTA 6300, セイコーインスツル) を用いて算出した. 得られた値は平均値と標準偏差を求め, 一元配置分析を行い, その後多重比較検定にて統計学的分析を行った.

【結果と考察】新規レジンセメントのリンクフォースのフィラー含有量は, 市販レジンセメント 4 種と比べて有意に低い値であったため ( $p, 0.05$ ), 吸水量は高く, 被膜厚さも薄く, 表面硬さも低い傾向であった. 水中 7 日保管後の接着性はエナメル質で 17.2MPa と若干低い値であったが, 象牙質では 22.9MPa と比較的高値であった. また, セラミックスに対する接着強さは 21.6MPa と最も高い値であり EC, RU に対して有意に高く, ジルコニアに対しても 21.6MPa と V5 以外の市販レジンセメントと比べて有意に高い値であった ( $p < 0.05$ ). また, 摩耗試験においても, ACTA wear test ではリンクフォースが 27  $\mu\text{m}$  で市販レジンセメント (V5:37, RC:35, EC:26, RU:28  $\mu\text{m}$ ) よりも低い摩耗量であった. 以上の結果より, 新規レジンセメントのリンクフォースは, 現在市販されているレジンセメントと同等の性能を有し, 低い摩耗量を有することが示唆された.



## セルフアドヒーズ・レジンセメントの歯質接着強さ：処理材の併用効果

<sup>1)</sup>岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野

<sup>2)</sup>岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 総合歯科学分野

<sup>3)</sup>岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野

○入江正郎<sup>1)</sup>, 田仲持郎<sup>1)</sup>, 松本卓也<sup>1)</sup>, 武田宏明<sup>2)</sup>, 鳥井康弘<sup>2)</sup>, 吉原久美子<sup>3)</sup>

Shear bond strength to tooth substrate of self-adhesive resin cements: effect of pretreating agent.

<sup>1)</sup>Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.

<sup>2)</sup>Department of General Dentistry, <sup>3)</sup>Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital

○Masao Irie<sup>1)</sup>, Jiro Tanaka<sup>1)</sup>, Takuya Matsumoto<sup>1)</sup>, Hiroaki Takeda<sup>2)</sup>, Yasuhiro Torii<sup>2)</sup>, Kuniko Yoshihara<sup>3)</sup>

### 【 緒言 】

セルフアドヒーズ・レジンセメント (SARC) は、接着のシステムの簡素化のみならず、重合触媒の改良によって高性能、高機能化してきている。しかしながら SARC の歯質接着強さは、プライマーやボンドを併用するアドヒーズ・レジンセメント (ARC) と比較すると劣ることが、著者らの報告で明らかとなっている。そこで今回は SARC の歯質接着強さの向上を図ることを目的として、モノマー組成を工夫し新規親水性アミド系モノマーを採用した試作の一液性ボンド (SKB-100) との併用が歯質接着性に及ぼす影響について検討したので報告する。

### 【 材料と方法 】

SARC である SA Cement Plus Automix と RelyX Unicem 2 Automix を単独又は試作の一液性ボンド (SKB-100) を併用させ評価を行った。また、一液性セルフエッチング・プライマーである Panavia V5 Tooth Primer を併用の ARC である Panavia V5 Paste と、Scotchbond Universal を併用した RelyX Ultimate を比較対象とした。ヒトエナメル質および象牙質を対象として、ISO の接着強さの測定指針 (ISO/TR 11405) に準じて接着強さの測定を行った。すなわち、被着面を#600 の耐水研磨紙で最終研磨後、被着面にボンド・プライマー併用系は各歯面処理剤の塗布後、20 秒間処置しマイルドエアにて乾燥 (SKB-100 の接着処理は、接着材塗布後ただちにマイルドエアにて乾燥) し、ボンドのみ 10 秒間光照射した。その後、テフロンモールド (内径 3.6 mm, 深さ 2.0 mm) を固定し、モールド内に各セメントを用いてステンレスロッドを圧接し、20 秒間の光照射により硬化させた。試料は 1 日間 37°C 蒸留水中浸漬後にせん断接着強さを測定した。

### 【 結果と考察 】

SARC (RelyX Unicem 2 Automix および SA Cement Plus Automix) では、SKB-100 を併用した場合にはエナメル質と象牙質に対する接着強さは有意に向上した ( $p < 0.05$ )。そして、凝集破壊数も僅かながら増加した。一方で、SARC に SKB-100 を併用した系は、Panavia V5 や RelyX Ultimate と比較すると、エナメル質や象牙質に対しては有意差を示さず ( $p > 0.05$ )、ボンド・プライマー併用系と同等まで SARC の歯質接着強さを向上させることが明らかとなった。

本研究に関連し開示すべき COI 関係にある企業などはありません。

**Table Shear bond strength to tooth substrate after one-day storage (MPa)**

Self-adhesive resin cement / Pretreating agent (Manufacturer)	Mean (S.D.), N=10	
	To Enamel	To Dentin
SA Cement Plus Automix (Kuraray Noritake Dental)	16.9 (2.3) A*	16.4 (2.8) C
SA Cement Plus Automix / SKB-100 (Kuraray Noritake Dental)	21.5 (3.6) B	20.6 (4.4) D
Panavia V5 Paste / Panavia V5 Tooth Primer (Kuraray Noritake Dental)	24.0 (3.4) B	23.3 (3.6) D
-----		
RelyX Unicem 2 Automix (3M ESPE)	16.6 (3.5) E	16.3 (3.8) G
RelyX Unicem 2 Automix / SKB-100	20.7 (5.1) F	22.1 (4.5) H
RelyX Ultimate / Scotchbond Universal (3M ESPE)	20.5 (5.2) F	19.5 (4.2) H

\*: Values designated with the same letters (A–H) were not significantly different by Duncan's Multiple-Range Test ( $p > 0.05$ ).

## 新規コンポジットレジン(EBF-001)の機械的性質および重合収縮

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1)</sup>, 総合歯学研究so生体工学研究部門<sup>2)</sup>,  
かなまる歯科クリニック<sup>3)</sup>

○野尻貴絵<sup>1)</sup>, 鈴木崇之<sup>1)</sup>, 遠藤 肇<sup>1)</sup>, 辻本暁正<sup>1,2)</sup>,  
高見澤俊樹<sup>1,2)</sup>, 陸田明智<sup>1,2)</sup>, 宮崎真至<sup>1,2)</sup>, 金丸壽良<sup>3)</sup>

### Mechanical Properties and polymerization shrinkage of Newly Resin Composite

Department of Operative Dentistry<sup>1)</sup>, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center<sup>2)</sup>,  
Nihon University School of Dentistry, Kanamaru Dental Clinic<sup>3)</sup>

○NOJIRI Kie<sup>1)</sup>, SUZUKI Takayuki<sup>1)</sup>, ENDO Hajime<sup>1)</sup>, TSUJIMOTO Akimasa<sup>1,2)</sup>,  
TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2)</sup>, RIKUTA Akitomo<sup>1,2)</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2)</sup>, KANAMARU Toshiro<sup>3)</sup>

#### 【緒言】

含有されるフィラー、ベースレジンおよび重合触媒の改良に伴い、操作性あるいは機械的性質が向上することで光重合型コンポジットレジンの臨床応用範囲は広がっている。一方、いまだ大型窩洞へのコンポジットレジン修復は、重合時に生じる収縮および応力によって術後の疼痛、コントラクションギャップあるいは歯質の亀裂発生などの不快事項が懸念されている。これを防ぐには、積層充填による充填操作が推奨されているものの、修復操作が煩雑であるとともにその効果にも疑問の余地が残る。そこで、形状が球状の有機無機複合フィラーを採用することで、重合収縮応力の低減化を図ったフロアブルタイプのバルクフィルコンポジットレジンが開発された。演者らは、この新規バルクフィルコンポジットレジンの機械的性質および重合収縮を把握することを目的として、市販されているバルクフィルタイプのコンポジットレジンと比較、検討をおこなった。

#### 【材料および方法】

試作バルクフィルコンポジットレジンとして、EBF-001 (トクヤマデンタル, 以後 EB) を用いた。またバルクフィルフロアブルレジンとして、SureFill SDR (デンツプライ三金, 以後 SF), Filtek Bulk Fill Flowable (3M ESPE, 以後 FF), x-tra base (Voco, 以後 XB) の合計 3 製品を、バルクフィルユニバーサルコンポジットレジンとして、Tetric EvoCeram Bulk Fill (Ivoclar Vivadent, 以後 TE), Filtek Bulk Fill Posterior (3M ESPE, 以後 FP), SonicFill (Kerr, 以後 SF) の合計 3 製品を用いた。また、対照として従来型フロアブルレジン Estelite Flow Quick (トクヤマデンタル, 以後 EF) および従来型ユニバーサルコンポジットレジン Estelite  $\Sigma$  Quick (トクヤマデンタル, 以後 ES) を用いた。

1. **体積重合収縮率** 重合時の体積変化の測定は、ガラス管内の水位変化によって求めるディラトメーターを用いておこなった。得られた体積変化量から、重合硬化に伴って生じた体積変化率 (vol%) を算出し、これを体積重合収縮率とした。
2. **曲げ特性** 曲げ強さ試験は、ISO 4049 に準じて行った。通法に従って、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いて、3 点曲げ強さの測定とともに、応力-歪曲線から曲げ弾性率およびレジリエンスを求めた。
3. **無機フィラー含有量** 無機フィラー含有量の測定は、熱重量測定装置 (TG/DTA 6300, Seiko Instrument) を用い、レジンペースト加熱後の残存重量を測定し、熱負荷前後の減量 (wt%) を求め、100 - 減量 (wt%) として算出した。
4. **硬化深さ** 硬化深さの測定は、ISO 4049 に準じて行った。通法に従って、光硬化したレジンの長径をマイクロメーター (No. 102-30, 測定精度 0.01mm, ミツトヨ) を用いて測定した値を 2 で除したものを硬化深さとした。
5. **SEM 観察** 供試コンポジットレジンのフィラー性状を観察するため、通法に従って試片を製作して SEM 観察を行った。

#### 【成績および考察】

供試したコンポジットレジンの曲げ強さは、114.3~159.8 Mpa であり、用いた製品によってその値は異なるものであった。また、照射開始から 180 秒後の体積重合収縮率においては、従来型に比較してバルクフィルタイプの収縮率は有意に小さい値を示した。一方、硬化深さの結果からは、従来型に比較してバルクフィルタイプは有意に大きな硬化深度を示した。これらの結果は、それぞれのコンポジットレジンが有する光線透過性、ベースレジンの組成あるいは無機フィラー含有量などに起因するものと考えられた。

#### 【結論】

臨床使用にあたっては、それぞれのコンポジットレジンの有する特徴を把握した上での使用が望まれる。

## Bioactive glass フィラー含有コンポジットレジンの表面性状の検討

<sup>1</sup>岡山大学病院新医療研究開発センター, <sup>2</sup>岡山大学歯学部先端領域研究センター, <sup>3</sup>北海道大学歯学研究科歯科保存学教室, <sup>4</sup>北海道大学歯学研究科生体材料工学教室  
○<sup>1</sup>吉原久美子, <sup>2</sup>長岡紀幸, <sup>3</sup>佐野英彦, <sup>4</sup>吉田靖弘

### Surface property of bioactive glass filler composite resin

<sup>1</sup>Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, <sup>2</sup>Advanced Research Center for Oral and Craniofacial Sciences, Okayama University, <sup>3</sup>Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University, <sup>4</sup>Department of Biomaterials and Bioengineering, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

○Kumiko YOSHIHARA<sup>1</sup>, Noriyuki NAGAOKA<sup>2</sup>, Hidehiko SANNO<sup>3</sup>, Yasuhiro YOSHIDA<sup>4</sup>

#### 【研究目的】

Bioactive glass は、体内に入れても毒性、発癌性がなく、生体親和性に優れ、体内で長期にわたって劣化しないなどの特性を有する。ガラスから種々のイオンを溶出することから、アパタイトの形成能を促進したり、細胞接着を向上させたりすることが知られている。さらに、放出されるイオンによっては、抗菌性を発揮するものもあり、歯科材料への応用が検討されている。しかしながら、長期的な抗菌性や、材料自体の安定性についてはほとんど検討されていない。そこで、本研究では Bioactive glass が用いられているコンポジットレジンのイオン溶出による表面性状の変化について従来のコンポジットレジン、ガラスアイオノマーセメントと比較、検討した。

#### 【材料および方法】

Bioactive glass フィラーが用いられているコンポジットレジンとして、S-PRG filler (Surface Pre-Reacted Glass-ionomer) 含有 Beautifil II (松風, 京都, 日本)を用いた。また、比較として、従来型コンポジットレジン Herculite XRV Ultra (Kerr, Orange, CA) とガラスアイオノマーセメント FujilX GP Extra (GC, 東京, 日本)を用いた。直径10mm 厚み3mmのシリコンモールドで上記のサンプルを成型し、レジン材料は、光重合させた。サンプルのうち半分を pH=4 の乳酸溶液に、残りの半分を蒸留水に浸漬した。それぞれ 24 時間ごとに溶液を換え、3 日間浸漬した。

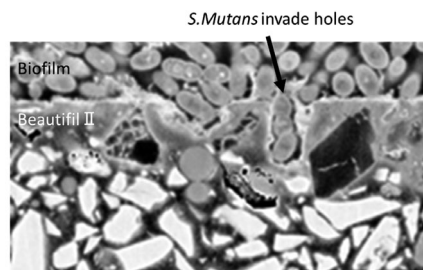
それぞれのサンプルの表面状態を走査電子顕微鏡 (SEM) で観察した。また、それぞれのサンプルに *S. mutans* 添加した BHI 培地を加え、24 時間細菌増殖を吸光度で測定した。さらに、1%スクロース添加した *S. mutans* 添加した BHI 培地を加え、24 時間培養し、バイオフィルムの形成について SEM で観察した。それぞれのサンプルに 2ml の蒸留水を添加し、1 日後の溶液のボロン、ストロンチウム、フッ素の溶出量を測定した。

#### 【結果】

Herculite XRV Ultra と FujilX GP Extra は、蒸留水でも pH=4 の乳酸溶液に浸漬しても、表面性状に違いは認められなかったが、pH=4 の乳酸溶液に浸漬した Beautifil II は表面の凹凸が観察され、フィラーが溶出したことがわかる。細菌増殖試験ではいずれのサンプルも、抗菌性を示さなかった。バイオフィルムの形成の表面の観察でも、サンプル間に違いはなかった。断面観察では、いずれのサンプルでも材料表面に *S. mutans* が存在しているのが観察できた。特に、pH=4 の乳酸溶液に浸漬した Beautifil II は表面の凹凸に *S. mutans* が進入しているのが確認できた。ボロン、ストロンチウム、フッ素の溶出量測定では、Beautifil II が一番多かったものの、1-2.5ppm 程度であった。

#### 【考察および結論】

抗菌性を示すとされる、S-PRG filler 含有 Beautifil II だが、本研究では抗菌性を示さなかった。その理由として、本研究で用いたサンプルが小さく溶出量が少なかったことが考えられる。一方、3 日 pH=4 の乳酸溶液に浸漬した Beautifil II は、表面が凸凹形状となり、バイオフィルムが形成されやすくなることがわかった。微小な環境下では、抗菌性を示す可能性は否定できないが、実際に口腔内では、飲食による酸などの影響を受けることを考えれば、短期的な抗菌効果だけでなく長期的な表面性状の安定性の検討も重要である。抗菌材料の開発において抗菌効果のみならず、長期的な安定性の評価も検討が必要であることが示唆された。



Cross-sectional observation of Biofilm-Beautifil II.  
Beautifil II was immersed in pH=4 lactic acid.

## 新規コンポジットレジン「アイゴス」の力学的物性 およびフッ素徐放性の評価

山本貴金属地金株式会社  
○水田 悠介, 坂本 猛, 安楽 照男

**Mechanical and fluoride release evaluation of new composite resin “iGOS”**  
Yamamoto Precious Metal Co., Ltd.  
○MIZUTA Yusuke, SAKAMOTO Takeshi, ANRAKU Teruo

### 【目的】

フッ化物イオンを徐放する歯科材料は、二次う蝕の予防や歯の再石灰化促進など様々な効果を示すことが知られている。一方で、フッ素徐放性を有する歯科材料は、フッ化物イオン徐放後に材料自体が劣化しやすく、強度が低下する傾向がある。これは、フッ素徐放性フィラーが材料の強度を高める機能を同時に合わせもつことが難しいという課題がある。新規コンポジットレジン「アイゴス」にはセラミックス・クラスター・フィラーとフッ素徐放性フィラーを配合することで、レジンの強度維持と効果的なフッ素徐放性の両立を実現している。

本検討では、アイゴスの特徴であるフッ素徐放性と強度について詳細な評価を行うとともに、サーマルサイクル試験による耐久性について評価した。

### 【材料および方法】

・フッ素徐放性の評価：直径 12 mm、厚み 1.0 mm の金型にコンポジットレジンを充填し、光重合器にて硬化させ、硬化後の試験片表面を耐水研磨紙で整えた。作製した試験片は、流水で十分に洗浄し、15 mL の蒸留水に浸漬させ、所定時間後に試験片を取り出し、再度新たな蒸留水に浸漬させた。試験片を取り出した後の浸漬水のフッ化物イオン濃度は、イオンメーター (F-55, 堀場製作所) にて測定した。

・曲げ強さ・耐久性の評価：コンポジットレジンに 2.0 mm × 2.0 mm × 25 mm の金型に充填し光硬化後、耐水研磨紙でバリを除去し、試験片とした。試験片を 37°C の水中に 1 日間保管後、小型卓上試験機を用いて曲げ強度の評価を行った。また、コンポジットレジンの耐久性評価として、5°C と 55°C の蒸留水に交互に浸漬させる工程を 5000 回もしくは 20,000 回繰り返し行った試験体の強度測定を行った。

### 【結果】

アイゴスは他のフッ素徐放性を有する市販コンポジットレジンと比べても同等以上のフッ化物イオン徐放量が確認され、且つ長期的にも安定した徐放を行う可能性が示唆された。フッ素徐放性と材料強度の両立のために各々のフィラーを特殊分散技術を用いて配合した結果、セラミックス・クラスター・フィラーの機能性を干渉することなく安定したフッ素徐放性を維持した。また、20,000 回後のサーマルサイクル試験でも比較的高い強度を示したことから、アイゴスは高強度と高耐久性を有したフッ素徐放性コンポジットレジンを実現した。

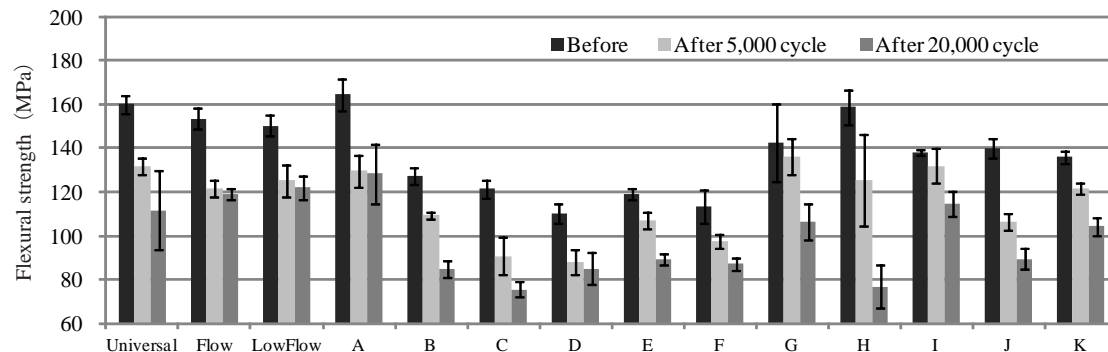


Fig. 1 Flexural strength of composite resins before and after thermal cycle test

## 新規開発コンポジットレジンにおける対牛歯エナメル摩耗特性の評価

株式会社ジーシー  
○伊藤小町, 鄭優意, 熊谷知弘

### Enamel antagonist wear property of newly developed composite resin

GC Corporation, Tokyo, Japan  
○ITO KOMACHI, TEI YUI, KUMAGAI TOMOHIRO

#### 【研究の目的・背景】

近年, 歯冠修復材料において様々な製品が販売されている。コンポジットレジンに関しても修復部位や症例に応じて多岐にわたり, 特に審美性を保ちながら優れた機械的特性を持つ, 前歯白歯に使用できるユニバーサルタイプのコンポジットレジンが主流になっている。

弊社では, MI フィルに代表されるナノフィラーテクノロジーを用いたユニバーサルタイプのコンポジットレジン「MI グレースフィル」を新たに開発した。本研究では, 対合を牛歯エナメル質とした三体摩耗試験を実施し, コンポジットレジン及び対合である牛歯エナメル質の摩耗量を評価したので報告する。

#### 【材料と試験方法】

本研究では, MI グレースフィル, 従来型ペーストタイプの既存製品である Product A~C を使用した。試験片は, 専用の金型にペーストを充填し上下面からそれぞれ 10 秒ずつ照射して調製した。試験片は 37°C の水中に 24 時間浸漬後, 試験片突起部分に #1000 の耐水研磨紙を用いて左右往復 300 回の面出しを行い, 試験片の高さを測定した(コントロール)。対合は, 牛歯をユニファスト II で包埋し水中で硬化させた後, 包埋体を #600, 1000, 1500, 2400, 4000 の順で耐水研磨紙を用いて研磨し, エナメルを露出させることで調製した。得られた試験片, エナメル包埋体を使用して三体摩耗試験を実施した(各製品 n=4)。また, 本試験ではグリセリンと PMMA を 1:1 で混合したスラリーを疑似食物として使用した。摩耗後の試験片の高さを測定し, 面出し後(コントロール)と摩耗後の高さから試験片の摩耗量を算出した。対合に関しては, 試験後における包埋体の窪みをレーザー顕微鏡で解析することで摩耗量を評価した。

#### 【結果と考察】

三体摩耗試験におけるコンポジットレジン, 対合(牛歯エナメル)の摩耗量を Fig. 1, Fig. 2 にそれぞれ示した。Fig. 1 から, コンポジットレジン自身の摩耗量に関しては MI グレースフィルが最も少ないことがわかる。このことからナノフィラーを高充填・均一分散した組成により, 対合に関わらず咬合で抜け落ちるフィラー量が少なく, 耐摩耗特性に優れることが確認できる。また, 対合の摩耗量は, コンポジットレジンによらずほぼ同じ値を示した。これは, 疑似食物に使用したスラリー中の PMMA 粒子が緩衝材となり, 一定の値になったと考えられる。

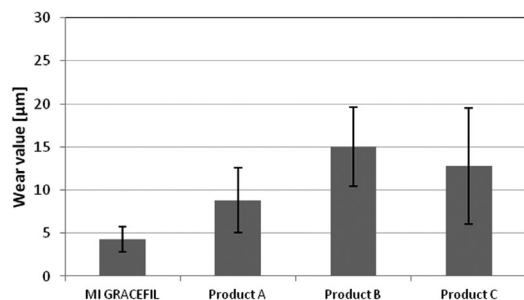


Fig.1 Wear value of composite resin

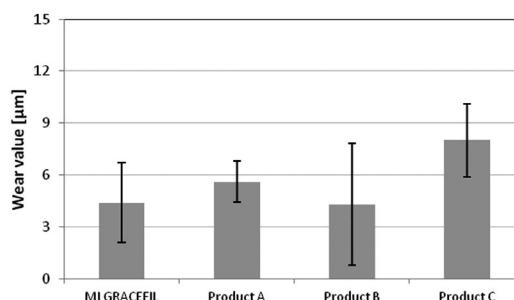


Fig.2 Wear value of bovine enamel antagonist

#### 【結論】

新規開発したコンポジットレジン「MI グレースフィル」は, 高分散したナノフィラーにより, 従来既存製品と比較して優れた耐摩耗特性を示し臨床的にも優れていることが確認できた。

## 薄膜状自己接着フロアブルコンポジットレジンの人工酸蝕症歯に対する引張り接着強度

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学<sup>1</sup>

さくデンタルクリニック<sup>2</sup>

○村瀬由起<sup>1</sup>, 日下部修介<sup>1</sup>, 小竹宏朋<sup>1</sup>, 作誠太郎<sup>2</sup>, 堀田正人<sup>1</sup>

### Tensile bond strength of thin film self-adhesive flowable resin composite to artificial tooth erosion

Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University, School of Dentistry<sup>1</sup>

Saku Dental Clinic<sup>2</sup>

○MURASE Yuki<sup>1</sup>, KUSAKABE Shusuke<sup>1</sup>, KOTAKE Hiroto<sup>1</sup>, SAKU Seitaro<sup>2</sup>, HOTTA Masato<sup>1</sup>

【研究目的】これまで我々は、酸蝕症歯を人工的に作製し、自己接着フロアブルコンポジットレジンとの接着評価を、薄膜接着強度と引張り接着強度を用いて行ってきた。酸蝕症は酸性飲食物の過剰摂取が主な原因と考えられ、浅く広範囲な脱灰が特徴である。そこで、今回は自己接着フロアブルコンポジットレジンで脱灰表面を覆うコーティング材として応用することを目的とし、薄膜状にした自己接着フロアブルコンポジットレジンの引張り接着強度を測定し、比較検討した。

【材料および方法】1. 人工酸蝕症歯の作製：朝日大学歯学部倫理委員会の承認 (No. 25148) を得ている抜去歯を耐水研磨紙 #600 にて研磨し、エナメル質 (E) と象牙質 (D) の平面を作製し、室温蒸留水中に一時保管した。前処理として Sieck らの方法により人工唾液を作製し、pH7.0 に調整し、37°C、2 時間 1Hz で振盪した後、Table 1 に示す方法で 3 回、強酸性炭酸飲料 (コカ・コーラ、以下コーラ)、蒸留水、人工唾液に浸漬して人工酸蝕症歯を作製した。人工酸蝕症歯と同時間、人工唾液に浸漬したものを再石灰化歯とした。2. 接着試験用試料の作製：歯面コーティング材として自己接着型フロアブルコンポジットレジンである fusio™ Liquid Dentin (Pentron Clinical, 以下 fusio) と、プライムフィルのプライマーと LLB-CR6 (試作フロアブルコンポジットレジン, トクヤマデンタル, 以下 LLB) を使用した。自己接着フロアブルコンポジットレジンによるコーティングは、人工酸蝕症歯 (De, Ee), 再石灰化歯 (D, E) とともに、歯面を弱圧エアールにて乾燥し、コーティング後に透明アクリル板で荷重 200g, 30 秒間圧接し、20 秒間光照射して 30 μm 程度の薄膜にした。LLB は両歯の歯面を弱圧エアールにて乾燥し、プライマー塗布後も弱圧エアールにて乾燥し、コーティング後に fusio と同様に圧接し、20 秒間光照射を行った。硬化したコーティング表面に内径 3.0 mm, 深さ 3.0 mm のテフロンモールドを静置後、コンポジットレジンを填入し、20 秒間光照射した。各試料は 10 個作製した。3. 引張り接着強度測定：De, Ee と D, E を fusio と LLB でコーティングした試料について万能試験機にてクロスヘッドスピード 0.5mm/min の条件で引張り、接着強度とした。得られた値はすべて一元配置分散分析 (ANOVA) 後、Scheffe の多重比較検定 (p<0.05) を行った。

【結果】引張り接着強度測定の結果を Fig 1 に示す。Ee-LLB が 13.7±3.8 (mean±SD) MPa で最も大きい値を示し、D-fusio は 1.9±1.9MPa, De-fusio は 1.4±1.2MPa と低い値を示した。有意差検定の結果、D-fusio と De-fusio の間には有意差を認めず、最も低い値であった。

【考察】LLB は 9.2~13.7 (mean)MPa を示したが、fusio は象牙質への接着強度が大きく低下した。自己接着性フロアブルレジンである fusio は材料中に接着性モノマーを含むため、薄膜にすると接着性モノマー量が減少し、象牙質への接着性が劣ったものと思われた。今後、酸蝕症に対しての耐久性のある進行抑制用歯面コーティング材料を開発し、検討を行いたいと考えている。

solution	immersion time	temperature	shaking cycle
Coke	5 min	4°C	1Hz
D. W.	5 min	room temperature	1Hz
A. S.	6 h 30min	37°C	1Hz

D.W. :distilled water, A.S. : artificial saliva

(This process was repeated 3 times)

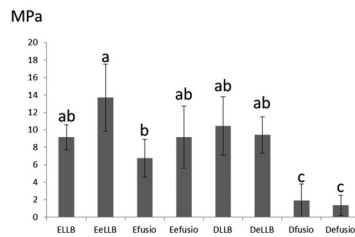


Fig 1 Tensile bond strength of thin film self-adhesive resin composite to artificial tooth erosion  
Difference letters are significantly different (p<0.05)

## 新規バイオアクティブセメントのイオン放出および生物学的性質の比較検討

北海道医療大学 歯学部 \*口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野,  
\*\*口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野, \*\*\*口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野  
○近藤有紀\*, 伊藤修一\*\*, 植原 治\*\*\*, 倉重圭史\*, 斎藤隆史\*\*, 齊藤正人\*

### Study on Released Ions and Biological Properties of Newly Developed Bioactive Cements

\*Division of Pediatric Dentistry, \*\*Division of Clinical Cariology and Endodontology, \*\*\*Division of Disease Control and Molecular Epidemiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido  
○Yuki Kondo\*, Shuichi Ito\*\*, Osamu Uehara\*\*\*, Yoshihito Kurashige\*, Takashi Saito\*\*, Masato Saitoh\*

#### 【研究目的】

高齢社会において、グラスアイオノマーセメント(GIC)修復の頻度が高まっている。一方で、小児歯科臨床においては、GIC系のシーラント材が広く用いられている。そこで、GICの優れた歯質強化作用・抗菌作用をより向上すべく、カルシウムイオン、リン酸イオン、フッ化物イオンが従来型GICよりも多量に溶出される新規バイオアクティブセメントを開発した。これまで、従来型GICと同様の機械的強度をもち、各種イオン徐放性が向上することを報告した。本研究では、イオン徐放量、フッ化物のリチャージ能、抗菌作用、バイオフィーム形成抑制能について、従来型GICおよび市販のレジン系シーラント材料と比較検討したので報告する。

#### 【材料および方法】

実験材料として、GIC系シーラント材のフジVII<sup>®</sup> (フジVII, GC), フジIII<sup>®</sup> (フジIII, GC) および試作材料(以下SPP), レジン系シーラント材のティースメイトF-1 2.0<sup>®</sup>(TM, クラレノリタケデンタル), ビューティシーラント<sup>®</sup>(BS, 松風)を用いた。SPPは、フジVIIの粉末であるフルオロアルミノシリケートガラスの組成成分AlPO<sub>4</sub>やCaF<sub>2</sub>の配合量を増加させて作製した。

#### ①イオン徐放量およびフッ化物リチャージ能の測定

直径20mm×高さ2mmの亚克力製円盤状モールドに練和試料を填入し、加圧器で固定してディスクを作製した。ディスクを15mlの蒸留水、乳酸、クエン酸に浸漬し、カルシウムイオン溶出量を原子吸光光度計(AAnalyst 200, Perkin Elmer), リン酸イオンをp-メチルアミノフェノール還元法、フッ化物イオンをフッ化物イオン電極法にて測定した。また、フッ化物リチャージ能の測定では、同様に作製したディスクを乳酸水溶液(pH5.0)へ浸漬し、1, 3, 6, 12, 24および168時間後にフッ化物イオン徐放量を測定した。測定毎に新たな乳酸水溶液へ交換した。168時間経過後に試料を取り出し、リン酸酸性フッ化ナトリウム溶液(APF)へ浸漬した。新たな乳酸水溶液中へ試料を浸漬し徐放量を測定した。

#### ②抗菌作用およびバイオフィーム形成抑制能の測定

TY培地に*S. mutans* JCM5705株を播種後、ディスクを浸漬し37°C, CO<sub>2</sub>下で24時間培養した。この上清をTY平板培地にて培養後CFUを測定した。また、0.5%スクロース添加TY培地に菌液播種後、ディスクを浸漬し培養した後、バイオフィームをCalcein-AM染色し共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

#### ③統計学的解析

一元配置分散分析法を用いTukey's testにて危険率を5%未満とし検討した。

#### 【結果】

カルシウム、リン酸イオンの徐放量は蒸留水、乳酸、クエン酸の全てにおいてSPPが最も多かった。フッ化物イオン徐放量はTMが最も高い値となった。新規材料を含めたGICおよびBSはフッ化物のリチャージ能を有していた。徐放速度を求めた結果、チャージング前は浸漬開始1時間で最も高い値となり、経時的に減少していた。チャージング後も、浸漬開始1時間で最も高い値となり、チャージング前と比較し高かった。TMは徐放量が最も多かったが、リチャージ能はなかった。バイオフィーム形成抑制能においてSPPは既存のGICと比較し有意に高かった(p<0.05)。

【考察】 試作材料SPPは、カルシウムとリン酸イオンの徐放量が高いため再石灰化効果が期待でき、歯質強化において既存のGICおよびレジン系よりも優れた性質を持つことが示唆された。SPP、既存のGICおよびBSはフッ化物のリチャージ能を有し、チャージング前後で放出傾向が異なることが推測された。また、既存のGICと比較しSPPは有意に高いバイオフィーム形成抑制能を持つことが示唆された。

## CAD/CAM セラミックアンレー修復の接着に対するレジンコーティングの効果

日本歯科大学 生命歯学部 接着歯科学講座

○村田卓也 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

### Effect of resin-coating application on bonding of CAD/CAM ceramic onlay restoration

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

○MURATA Takuya, MAENO Masahiko, OGAWA Shintaro, KAWAI Takatoshi,

NAKAMURA Shoji, MASEKI Toshio, NARA Yoichiro

**【目的】** レジンコーティングの応用は、メタルフリー間接修復における窩洞適合性の改善やレジンセメントによる接着性の向上などに寄与する。そこで本研究では、CAD/CAM セラミックアンレー修復の接着に対するレジンコーティングの効果について明らかにすることを目的に、咀嚼環境想定の動的荷重負荷条件下における窩洞内微小引張接着強さ( $\mu$ -TBS)を測定することによって評価検討を行った。

**【材料および方法】** 被験歯には、本学部研究倫理委員会の承認を得てヒト抜去健全上顎大白歯 15 本を用いた。レジンコーティング材料には Scotchbond Universal Adhesive と Filtek Supreme Ultra Flowable Restorative (3M ESPE)を、切削加工用ブロックには、長石系セラミックスである VITABLOCS Mark II (VITA) を選択した。まず、被験歯の 3 咬頭頂に基づく規格化植立を行い、各被験歯固有の歯冠形態をミリング修復物に再現するため、CEREC AC Omnicam (SW 4.3) (MC XL, SIRONA Dental Systems) を用いた光学印象採得を行った。ついで、広範な実質欠損症例を想定した規格化 MODP-L 字状窩洞を形成後、Fig. 1 に示す 3 群、すなわち象牙質窩壁に対するフロアブルレジンによる薄層コーティング (T) 群、咬合面側から歯肉側に至るスロープ状コーティング (S) 群、さらに対照としての非コーティング (N) 群に類別し、試料を調整した。その後、各窩洞の光学印象を行い、事前印象データに基づく MODP アンレーの製作、PANAVIA V5 (Kuraray Noritake Dental) によるアンレー体の接着を経て、37°C 水中に 1 時間保管した。ついで、37°C 水中 157N×30 万回 (90 回/分) の動的荷重ストレスを負荷後、植立軸に平行かつ頬側壁窩縁に直行する 3 回の縦切断と頬側壁窩縁に平行な 3 回の縦切断を行い、1 修復試料から断面積 1.0mm<sup>2</sup> のビーム状試料 4 片を得た。全ビーム状試料は、crosshead-speed 1.0mm/min の条件下で  $\mu$ -TBS 値 (s.d.) を測定 (n=20) し、得られた値は、一元配置分散分析、Tukey の q 検定およびメジアンランク法による Weibull 分析を行った。なお、ビーム状試料調整中に離断 (ptf) が生じた試料は、通法に則り、一元配置分散分析と Tukey の q 検定では OMPa としてデータに含め、Weibull 分析では解析対象から除外した。

**【成績】** Fig. 2 に 3 群の  $\mu$ -TBS (s.d.) を示す。T/S/N 群の各 ptf 数は 3/0/2 であった。分析の結果、T 群と N 群との間には有意差を認めなかったものの、S 群は T・N 群より有意に大きい値を示した。Fig. 3 に  $\mu$ -TBS 値に基づく 3 群の Weibull 分析の結果を示す。T/S/N 群の Weibull 係数は、T・S 群が N 群より有意に大きい値を示した。さらに、臨床的示唆に富む累積破壊確率 10% に対する推定応力値は、T 群が N 群より、さらに S 群が T・N 群より有意に大きい値を示した。

**【考察】** レジンコーティングの応用は、CAD/CAM セラミックアンレー修復における窩洞内接着強さ、接着信頼性および接着耐久性の点において、非コーティング症例と同等または優れた効果をもたらすことが確認された。特に、本実験で設定した広範な実質欠損症例では、スロープ状コーティング (S 群) の有効性が示唆された。これは、コーティング材の厚みによる荷重ストレスの衝撃緩和効果が一因と考える。一方、薄層コーティング (T 群) や非コーティング (N 群) では ptf 試料が散見されたため、堅固かつ一体化がなされた確実な接着の獲得には至っていないことが推察された。

**【結論】** CAD/CAM セラミックアンレー修復に際してのレジンコーティングの応用は、接着強さ・接着信頼性・接着耐久性を向上させる効果があり、特にスロープ状コーティングは、確実な接着の獲得に有益であると推察できた。

本研究の一部は JSPS 科研費 26462899 の助成を受けた。

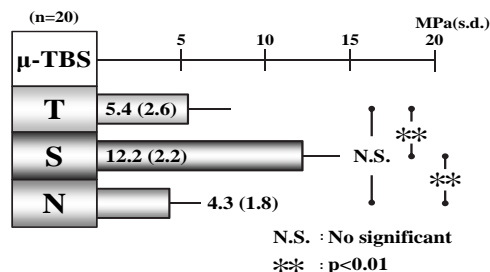


Fig. 2 Difference in mean  $\mu$ -TBS among three restorations with and without resin coating application

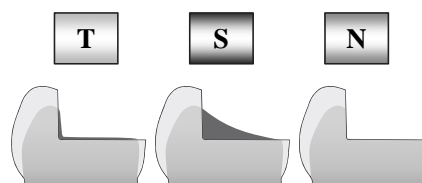


Fig. 1 Three types of cavity pretreatment with and without resin coating application

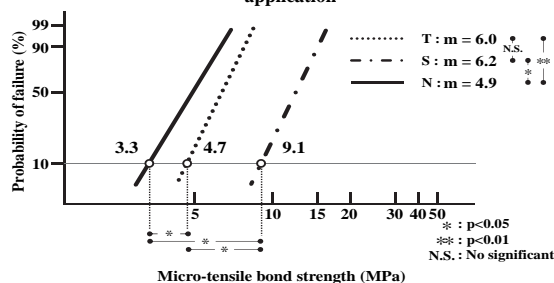


Fig. 3 Difference in the Weibull modulus (m) and the stress values for the 10% probability of failure among three restorations with and without resin coating application



## 従来型ガラスアイオノマーセメントの電子顕微鏡観察

<sup>1)</sup> 岡山大学歯学部先端領域研究センター, <sup>2)</sup> 岡山大学病院新医療研究開発センター,  
<sup>3)</sup> 北海道大学大学院歯学研究科生体材料工学教室  
○長岡紀幸<sup>1)</sup>, 吉原久美子<sup>2)</sup>, 吉田靖弘<sup>3)</sup>

### Electron microscope observation of conventional glass ionomer cement

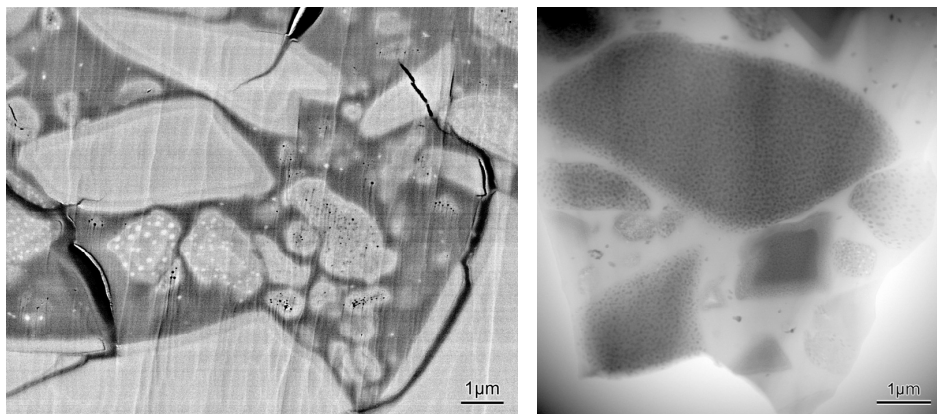
<sup>1)</sup> Advanced Research Center for Oral and Craniofacial Sciences, Okayama University, Dental School,  
<sup>2)</sup> Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, <sup>3)</sup> Department of Biomaterials  
and Bioengineering, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University  
○Nagaoka N. <sup>1)</sup>, Yoshihara K. <sup>2)</sup>, Yoshida Y. <sup>3)</sup>

目的 従来型ガラスアイオノマーセメントは、フルオロアルミノシリケートガラスとポリカルボン酸との酸・塩基反応により硬化する。硬化した従来型ガラスアイオノマーセメントを透過電子顕微鏡観察し、元素分析した。フルオロアルミノシリケートガラスの反応層に注目し、硬化反応に伴う各元素の分布状態を検討した。

材料と方法 従来型ガラスアイオノマーセメントには、Fuji IX GP Extra (ジーシー, 東京) を用いた。ガラスアイオノマーセメントを練和し、37°Cの湿潤環境下で1週間保管した。硬化体は自然乾燥させ、エポキシ包埋した。さらに、ガラスアイオノマーセメント粉末をエポキシ包埋した。アルゴンイオン研磨で透過電子顕微鏡 (TEM) および走査電子顕微鏡 (SEM) 観察用試料に加工した。SEM 観察は反射電子による組成像観察した。走査透過電子顕微鏡 (STEM) 観察は、明視野法 (BF) および高角度散乱暗視野法 (HAADF) を用いた。さらに、エネルギー分散型 X 線分光法 (EDS) を併用し、定性分析および元素マッピングした。

結果と考察 従来型ガラスアイオノマーセメント硬化体を SEM による組成像観察した。フルオロアルミノシリケートガラスは、硬化させることで周辺部に反応層が観察された。フルオロアルミノシリケートガラスの一部は、白いコントラストの析出物が観察された。STEM 観察結果でもフルオロアルミノシリケートガラス周辺部に反応層が観察された。

Fuji IX GP Extra 硬化体は、EDS 分析結果から、炭素、酸素、ナトリウム、フッ素、アルミニウム、ケイ素、リン、ストロンチウムが検出された。元素マッピングから、フルオロアルミノシリケートガラス反応層は、アルミニウム、フッ素の濃度低下が観察された。アルミニウムは、液相中に溶出し、ポリカルボン酸の架橋結合に寄与したと示唆された。フッ素も、ポリマーマトリクス中に分散し、接着した歯質や口腔内への徐放に寄与すると考えられる。一方、ケイ素は、反応層と未反応部で濃度の差が見られなかった。ケイ素は、硬化反応後もフルオロアルミノシリケートガラスの骨格を形成していると示唆された。フルオロアルミノシリケートガラス中の析出物は、フッ化物であった。このフッ化物は、反応層でも形態変化が見られず、水や酸に安定な相と示唆された。この析出物は、SEM の組成像、STEM の HAADF 像で白いコントラストとして観察されており、原子番号の大きな元素を含み、高密度である。このため、X 線撮影において、造影効果に寄与する。



A SEM composition image (left) and a STEM bright field image (right) of Fuji IX GP Extra

## PMTC ペーストの使用がセラミックス表面性状に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1</sup>, 日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2</sup>,  
日野浦歯科医院<sup>3</sup>

○川本 諒<sup>1,2</sup>, 五條堀真由美<sup>1</sup>, 高見澤俊樹<sup>1,2</sup>, 松吉佐季<sup>1</sup>,  
水口未穂<sup>1</sup>, 瀧川智義<sup>1,2</sup>, 宮崎真至<sup>1,2</sup>, 日野浦 光<sup>3</sup>

### Influence of Polishing with PMTC Pastes on Surface Roughness of Ceramics

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry<sup>1</sup>,  
Division of Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry<sup>2</sup>,  
Hinoura Dental Office<sup>3</sup>

○KAWAMOTO Ryo<sup>1,2</sup>, GOJUBORI Mayumi<sup>1</sup>, TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2</sup>, MATSUYOSHI Saki<sup>1</sup>  
MIZUGUCHI Miho<sup>1</sup>, TAKIGAWA Tomoyoshi<sup>1,2</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2</sup>, HINOURA Ko<sup>3</sup>

#### 【目的】

機械的歯面清掃 (PMTC) は、齲蝕あるいは歯周病を予防する処置として日常臨床で広く行われている。これを効率よく行うために PMTC ペーストが使用されているが、PMTC ペーストに配合されている研磨粒子の成分や粒径は製品によって異なっている。したがって、製品の種類によって研磨対象物の表面性状に影響を及ぼす可能性がある。近年ではオールセラミックスによる審美修復を行う頻度が増加しているものの、PMTC がセラミックスの表面性状に及ぼす影響については不明な点が多い。そこで、レーザー走査顕微鏡観察による表面性状の観察および表面粗さを測定することによって検討した。

#### 【材料および方法】

##### 1) PMTC ペースト

PMTC ペーストとしては、クリンプロクリーニングペースト PMTC 用 (3M ESPE, CP), コンクールクリーニングジェル (ウェルテック, CJ), リナメルトリートメントペースト (サンギ, RT), PRG フィラー含有試作歯面研磨材 (松風, PG), メルサージュレギュラー (松風, MR), メルサージュフェイス (松風, MF) およびメルサージュプラス (松風, MP) の合計 7 種類を使用した。

##### 2) 試片の製作

セラミックス試片として、IPS e.max CAD (Ivoclar Vivadent) を切り出し、10×10×1 mm の平板を作製した。それぞれの試片表面を耐水性 SiC ペーパーの #2,000 まで順次研磨し、これらを PMTC 用試片とした。なお、試片の数は各条件について 6 個とした。

##### 3) 研磨器具

コントラアングルにメルサージュブラシ No.1 (松風) を装着し、それぞれの PMTC ペーストを用いて回転数 2,000 rpm, 荷重 250 gf の条件で 15 秒間研磨を行った。

##### 4) レーザー走査顕微鏡観察および表面粗さ測定

研磨が終了した試片は、十分に水洗した後、試片表面の形態的な観察をするために、レーザー走査顕微鏡 (VK-8700, キーエンス) を用いて観察するとともに、装置に付属するソフトウェア (VK Analyzer, キーエンス) を用いて試片の表面粗さ Ra (μm) を求めた。測定は、試片中央部付近の異なる 5 点について行い、その平均をもってその試片の Ra 値とした。

##### 5) PMTC ペーストの観察

各種 PMTC ペーストについて、その希釈液を定性濾紙 (No. 1, アドバンテック東洋) で濾過した後 37°C インキュベーターで乾燥させ、その粒子を走査電子顕微鏡 (ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて観察した。

#### 【成績および考察】

歯面研磨後のセラミックスの表面粗さは、製品によって異なるものであった。とくに、MR は他の製品と比較して、表面粗さが大きくなる傾向が認められた。また、走査電子顕微鏡による研磨粒子の観察では、製品によってその粒径は異なり、MR で最も大きかった。

#### 【結論】

本実験の結果から、セラミックス表面の研磨後の性状は、用いるペーストによって異なることが明らかとなった。また、配合されている研磨粒子の成分および粒径に影響を受けるため、PMTC を行う際には研磨対象物や歯面研磨材の特性を考慮する必要があることが示唆された。

## 新規亜鉛含有バイオアクティブガラスによる根面の脱灰抑制

株式会社ジーシー

○立岩里美, 福島庄一, 有田明史, 熊谷知弘

### Inhibition of dentine demineralization by new zinc bioactive glass

GC CORPORATION, Tokyo, Japan

○Satomi Tateiwa, Syoichi Fukushima, Akishi Arita, Tomohiro Kumagai

#### 【研究目的】

根面う蝕は予防の難しさ, 進行の速さなどから臨床現場で大きな問題となっており, 当研究所でも根面う蝕を予防, 再発を防止する材料を開発することが課題となっている。

長年, 亜鉛は抗菌性を目的とし化粧品や軟膏等に使用されてきた。一方で, 歯質の脱灰抑制に対して効果があるとの報告も多数なされている。そこで, う蝕リスクの高い根面に対して脱灰抑制効果の高い材料を開発するため, 亜鉛・フッ素・カルシウム・ケイ素を含有するバイオアクティブガラス (ZIF ガラス) を作製した。当該ガラスはポリアクリル酸と練和することで酸塩基反応を起こし硬化する。この硬化体はフッ素の他, 亜鉛を多く溶出することが確認された。そこで, 本研究では ZIF ガラスとポリアクリル酸のセメント硬化体 (ZIF-C) の根面脱灰抑制効果を検証した。

#### 【材料および方法】

1. 材料 フジ VII (ジーシー), ZIF-C, コントロールとして充填材なしとした。

2. 試験体の作製 ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより 5 mm 根尖側の位置で水平に切断した。象牙質片をユニファスト II にて包埋し, #1200 の耐水研磨紙で象牙質試験面を平坦にした。象牙質面に直径 3 mm に窓開けしたテフロンシール (厚さ 0.1 mm) を張付し, 試験窓の半分に材料を充填した。充填後, 37°C 湿度 95% のチャンバ一中に 1 時間静置し, 10 ml の脱灰液 (pH4.5, 酢酸: 50 mM, CaCl<sub>2</sub>: 1.5 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 0.9 mM) に 23 時間浸漬した。

3. 評価方法 試験窓部を厚さ 0.1 mm にスライスし, Transverse microradiography (TMR) 法にて, 材料を充填していない露出象牙質のミネラルロス (vol%・ $\mu\text{m}$ ) を算出した。

#### 【結果および考察】

各材料のミネラルロスを Fig. 1 に示す。フジ VII, ZIF-C はコントロールと比較してミネラルロスが少なく, 周辺象牙質に対して脱灰抑制効果を有することが明らかとなった。さらに, ZIF-C はフジ VII よりもミネラルロスが少なく, 脱灰抑制効果がより高かった。フジ VII はフッ化物イオンの溶出を有するため, フッ化物イオンによりヒドロキシアパタイトがフルオロアパタイトとなり, 脱灰抑制が起きたものと考えられる。一方, ZIF-C はフジ VII よりもフッ化物イオン溶出量は少ないが, 亜鉛イオンを溶出する。本試験での亜鉛イオンが果たす役割の詳細は調査中であるが, 亜鉛が脱灰液中に存在するとヒドロキシアパタイト表面にリン酸亜鉛の結晶  $\alpha$ -hopeite が生成して耐酸性が向上すること (1), リン酸, カルシウム, フッ化物, 亜鉛イオン含有溶液を象牙質に塗布すると象牙細管を封鎖する結晶が生成し, 結晶には耐酸性があること (2) が報告されており, 同様の現象が起こっている可能性がある。

#### 【結論】

新規亜鉛含有バイオアクティブガラスを使用したセメント硬化体 ZIF-C は歯質根面に対する脱灰抑制効果が高く, 根面う蝕の予防・再発を防止する材料として有用であることが示された。

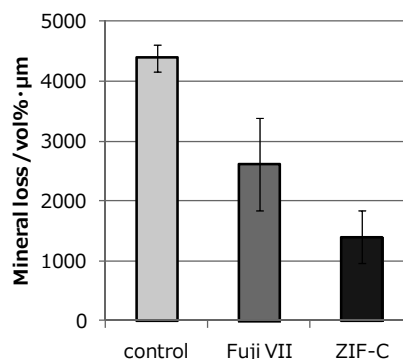


Fig. 1 Mineral loss of dentine around restorations.

(文献) (1)Mohanmed, N. 2014, J Dentistry, 42, 1096-1104

(2)Gu, H. 2011, Am J Dent, 24, 169-175

## S-PRG フィラー配合バーニッシュの象牙質脱灰抑制能 —再石灰化溶液浸漬後の脱灰抑制能 (第2報) —

神奈川県立歯科大学大学院歯学研究科口腔機能修復学講座 1) 歯科制御修復学分野 1), 短期大学部歯科衛生学科 2),  
○片岡あい子 1,2), 椎谷 亨 1), 藤野富久江 2), 富山 潔 1), 飯塚純子 1), 長谷川晴彦 1), 向井義晴 1)

### Anti-demineralization effect of S-PRG filler containing varnishes on dentin after the immersion of remineralization solution (2nd report)

Division of Cariology and Restorative Dentistry, Department of Oral Function and Restoration 1),  
Department of Dental Hygiene, Junior College 2),  
Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University  
○KATAOKA Aiko 1,2), SHIYA Toru 1), FUJINO Fukue 2), TOMIYAMA Kiyoshi 1), IIZUKA Junko 1),  
HASEGAWA Haruhiko 1), MUKAI Yoshiharu 1)

【研究目的】我々は、第141～143回日本歯科保存学会学術大会において、S-PRG フィラー配合バーニッシュの歯根象牙質脱灰抑制能を *in vitro* にて明らかにしてきた。第143回では、フッ化物濃度を0.1 ppmF に設定した再石灰化液中にバーニッシュを浸漬し、その後の象牙質脱灰抑制能を明らかにした。今回は口腔内での材料劣化の影響を反映した実験系として、その口腔液中フッ化物濃度を唾液中フッ化物濃度とされる  $10^{-2}$  ppm オーダーの低値に設定した上で、バーニッシュの象牙質脱灰抑制能を検討することを目的とした。

【材料および方法】ウシ下顎切歯歯根部から幅5 mm の円筒状象牙質片を切り出し、歯軸方向に2分割した上で、#2,000 の耐水研磨紙により象牙質試験面を平坦に仕上げた。その後、5本のプラスチック製容器の底に、6つずつその象牙質試料を固定した。象牙質試験面に  $3 \times 1$  mm に窓開けしたマスキングテープを貼付し、MI Varnish (GC America; MIV) もしくは PRG バーニッシュ I (松風; PV) (S-PRG フィラー40%含有) を専用チップにて塗布し、プラスチックスパチュラにて成形した。テープ除去後、塗布材料に隣接する部位に新鮮象牙質試験面が  $3 \times 1$  mm 露出するように耐酸性ネイルバーニッシュ処理を行った。その上で、材料を100%湿潤下で1時間静置した群をそれぞれ MIV 0 日経過群 (MIV0 群) および PV 0 日経過群 (PV0 群) とした。一方、再石灰化溶液 (1.5mM CaCl<sub>2</sub>, 0.9mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 130mM KCl, 20mM HEPES, 0.01 ppm F, pH7.0) に3日間浸漬した群をそれぞれ MIV 3 日経過群 (MIV3 群) および PV 3 日経過群 (PV3 群) とした。再石灰化液は毎日交換した。なお対照群として、被験面以外をすべて耐酸性ネイルバーニッシュで被覆し、3日間再石灰化液に浸漬する群を CONT3 群とした。脱灰試験は50mM 酢酸ゲルを使用して37°Cで1週間行った。その後、厚さ300  $\mu$ m の薄切片を切り出し、TMR 撮影 (PW 3830, 管電圧25 kV, 管電流15 mA, 照射時間20分)、ミネラルプロファイルの作成後、表層および病巣体部のミネラル密度 (vol%), 平均ミネラル喪失量 (IML: vol%  $\times$   $\mu$ m) を測定した。5群間におけるミネラル密度、IML の比較には、Steel-Dwass の検定 (有意水準5%) を用いた。

【結果および考察】平均ミネラルプロファイル: CONT3 群ではミネラル密度の低い表層と顕著な病巣体部が認められた。MIV0 群では深さ約10  $\mu$ m 付近にミネラル密度30 vol% を越える明瞭な表層が観察されたが、深さ約30～40  $\mu$ m 付近に存在する病巣体部が顕著であった。MIV3 群では深さ約10  $\mu$ m 付近にミネラル密度25 vol% に及ばない比較的低い表層が観察されたが、顕著な病巣体部は示さなかった。PV0 群と PV3 群では深さ約10  $\mu$ m 付近にミネラル密度30 vol% を越える明瞭な表層が観察され、病巣体部の軽微なほぼ同様の形を示した。MIV では0日と3日浸漬群において表層と病巣体部に大きな違いが認められた一方、PV については0日と3日浸漬群においてその形に顕著な違いは見られなかった。表層のミネラル密度: MIV0 群, PV0 群, PV3 群は CONT3 群と比較して有意に高く ( $p < 0.05$ )、MIV0 群は MIV3 群と比較して有意に高い値であった。また PV0 群, PV3 群は MIV3 群と比較して有意に高かった ( $p < 0.05$ )。病巣体部のミネラル密度: PV0 群, PV3 群は MIV0 群と比較して有意に高い値であった ( $p < 0.05$ )。平均 IML: CONT3 群, MIV0 群, MIV3 群, PV0 群, PV3 群のそれぞれで、 $3,951 \pm 429$ ,  $3,437 \pm 289$ ,  $2,897 \pm 673$ ,  $2,760 \pm 416$  および  $2,790 \pm 453$  であった。PV0 群は CONT3 群, MIV0 群と比較して有意に低い値であった ( $p < 0.05$ )。その一方で PV0 群と PV3 群の有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。このように PV3 群のミネラルプロファイルの形が PV0 群に類似しており、表層や病巣体部のミネラル密度も両群において有意差が見られなかったのは、PV に含有される S-PRG フィラーのフッ化物リチャージ能により、フッ化物イオンが再徐放されているためと考えられ、MIV 群に劣らない良好な結果が得られたものと思われた。

【結論】S-PRG フィラー配合バーニッシュは、3日間の再石灰化液浸漬後もその象牙質脱灰抑制能を十分維持していた。

## S-PRG フィラーから溶出する各種イオンに対するヒト歯髄由来幹細胞の動態

1) 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学

2) 朝日大学歯学部口腔構造機能発育学講座口腔生化学分野

○新谷耕平<sup>1)</sup>, 川木晴美<sup>2)</sup>, 森田侑宜<sup>1)</sup>, 玄 太裕<sup>1)</sup>, 近藤信夫<sup>2)</sup>, 堀田正人<sup>1)</sup>

### Behavior of human dental pulp stem cells to various ions released from S-PRG filler

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

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

○SHINTANI KOHEI<sup>1)</sup>, KAWAKI HARUMI<sup>2)</sup>, MORITA YUKI<sup>1)</sup>, GEN TAIYU<sup>1)</sup>, KONDOH NOBUO<sup>2)</sup>, HOTTA MASATO<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

表面改質層、ガラスアイオノマー相、ガラスコアの3層構造からなる surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーのガラスアイオノマー相からはフッ化物イオン (F<sup>-</sup>) をはじめ、ストロンチウム (Sr<sup>2+</sup>)、ナトリウム (Na<sup>+</sup>)、アルミニウム (Al<sup>3+</sup>)、ホウ酸 (BO<sub>3</sub><sup>3-</sup>)、ケイ酸 (SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) 等の種々のイオンが放出される。これらのイオンのいくつかは抗菌性や歯質再石灰化等の作用をもつと報告されている。我々は S-PRG フィラーのイオン徐放特性に着目し、この特性を発揮する新たな歯科材料を開発するために、S-PRG フィラーと抽出溶媒の量比によるイオン徐放量の変化の検討と、S-PRG フィラーより各種イオンを溶出させた抽出液に対するヒト歯髄由来幹細胞の応答を評価した。

#### 【材料および方法】

S-PRG フィラーおよびフィラー抽出液は株式会社松風より提供を受けた。4種のフィラー：溶媒比 (1:1, 1:10, 1:100, 1:1000) からなるフィラー抽出液およびα-MEM を用いたフィラー抽出培地を作製し、フッ素イオン電極および ICP 発光分析により溶出したイオンの組成を検討した。ヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) は 96 well あるいは 6 well 培養プレートに 1.2 x 10<sup>4</sup>/cm<sup>2</sup> の密度で播種し、各種フィラー抽出培地を用いて培養した。培養 24 時間後、72 時間後の細胞増殖および骨芽細胞マーカーの mRNA 発現を評価した。

#### 【結果】

S-PRG フィラーと抽出溶媒の量比によるイオン徐放量は、S-PRG フィラーの重量比が大きい場合 (フィラー：溶媒比 (w/v), 1:1 - 1:10) はホウ酸イオンの溶出比が増加し、フィラーの重量比が小さい場合 (1:100 - 1:1000) はストロンチウムイオンの溶出比が増加した。また各種 S-PRG フィラー抽出液に対する hDPSC の細胞動態を検討した結果、ストロンチウムイオンの溶出量の多い培地では細胞増殖が促進されており、一方で、ホウ酸イオンの溶出量の多い培地では ALP 活性陽性細胞がみとめられ、リアルタイム PCR 法による mRNA 発現量の検討でも、いくつかの骨芽細胞マーカーで上昇がみられた。

#### 【結論および考察】

S-PRG フィラーと抽出溶媒の量比を変化させることで、種々のイオンバランスの S-PRG フィラー抽出液を作製することができた。また、S-PRG フィラー抽出液に含まれるホウ酸イオンは抗菌性に関与すると考えられているが、ある濃度では hDPSC の骨芽細胞様細胞への分化を促進した。一方で、骨芽細胞や軟骨細胞の分化を促進すると報告されているストロンチウムイオンの溶出量が多い培地では、hDPSC の増殖が促進されていた。以上より、個々のイオンの作用についての詳細な検討が必要であるが、S-PRG フィラー抽出液作製条件を絞り込むことで、細胞増殖や石灰化促進等の作用が期待できる S-PRG フィラー抽出液が作製可能であることが示され、S-PRG フィラーそのもの、あるいは抽出液を応用した新たな歯科材料開発の可能性が示唆された。

## テオブロミンおよび S-PRG フィラー含有歯面コーティング材の予防効果

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学<sup>1)</sup>  
テキサス大学ヘルスサイエンスセンターサンアントニオ校<sup>2)</sup>, ルイジアナ州立大学ヘルスサイエンスセンター<sup>3)</sup>

○日下部修介<sup>1,2)</sup>, 堀田正人<sup>1)</sup>, 中本哲夫<sup>3)</sup>, H. Ralph Rawls<sup>2)</sup>

### Enhanced Protective Effect of Tooth Coating Materials Containing Theobromine and/or S-PRG Filler

<sup>1)</sup>Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,  
Asahi University School of Dentistry  
University of Texas Health Science Center at San Antonio<sup>2)</sup>, Louisiana State University Health Sciences Center<sup>3)</sup>  
○KUSAKABE Shusuke<sup>1,2)</sup>, HOTTA Masato<sup>1)</sup>, NAKAMOTO Tetsuo<sup>3)</sup>, H. Ralph Rawls<sup>2)</sup>

#### 【研究目的】

齲蝕予防には歯面コーティング材がその一助となり、コーティング材に齲蝕を抑制する機能を発揮させることが有効と考える。歯面コーティング材には、フッ化物を含有するもの、多種類のイオンを徐放し、抗プラーク性などを有するS-PRGフィラーを含むもの等が市販されているが、齲蝕予防・抑制効果を十分に発揮できるものはない。欧米では、歯の再石灰化を促し、歯質を強化する効果が強いと報告されているカカオに含まれる物質、テオブロミンが注目されている。また、テオブロミンはフッ化物より生体に安全で、齲蝕や象牙質知覚過敏症の予防に有効であるとされている。そこで、テオブロミンおよびS-PRGフィラーを含有させた歯面コーティング材を開発・試作し、その齲蝕予防・抑制効果が増強されるかどうか検討した。

#### 【材料および方法】

##### 1. 供試コーティング材料

以下の①～④の歯面コーティング材を試作し、実験に供試した。

①S-PRGフィラー含有コーティング材, ②S-PRGフィラー含有コーティング材+5.0%テオブロミン, ③シリカフィラー含有コーティング材+5.0%テオブロミン, ④シリカフィラー含有コーティング材

##### 2. 実験方法

###### 1) 乳酸中における各試作コーティング材の緩衝能試験

直径10mm, 厚さ1mmのテフロンモールドにそれぞれのコーティング材を硬化させたディスクを試料とした。これらの試料をpH4.0の乳酸溶液中に浸漬し、pHの経時的変化を24時間、さらに2日後～6日後まで測定した(n=5)。

###### 2) エナメル質と象牙質の硬さ測定

ヒト新鮮抜去歯のエナメル質および歯根象牙質に対して、耐水研磨紙(#600～#1500)を用いて、平坦な平面を作製した。各コーティング材を塗布し、光照射器にて硬化させて、ロックウェルスーパーフィシャル硬さ試験機(Wilson社)にてそれぞれコーティングしたエナメル質および歯根象牙質に対して3回ずつ硬さを測定した。測定後、人工唾液(Biji and Waal)中に4週間保管し、再度硬さを測定し、その変化率( $\Delta\% = \frac{[\text{人工唾液浸漬後の平均硬さ} - \text{浸漬前の平均硬さ}]}{[\text{浸漬前の平均硬さ}] \times 100}$ )を算出した(n=5)。得られた値は、一元配置分散分析と多重比較検定Schefféを用いて有意差検定( $p < 0.05$ )を行った。なお、本実験で使用した抜去歯は、朝日大学歯学部倫理委員会の承諾(受付番号23112)を得たものである。

#### 【結果および考察】

##### 1. コーティング材の緩衝能

6日後のそれぞれのコーティング材のpHは、①6.80±0.07, ②6.86±0.05, ③3.74±0.06, ④3.64±0.04であった。

##### 2. エナメル質・象牙質の硬さ

それぞれコーティングした歯の変化率(エナメル質/歯根象牙質)は、①2.64±0.36 / 3.56±1.12, ②5.56±2.30 / 7.39±1.57, ③3.34±1.00 / 5.34±0.94, ④-1.32±2.14 / 0.72±1.68, Control(コーティング材なし)-1.51±1.93 / 0.36±1.28であった。エナメル質および象牙質の硬さは、④およびControl以外は有意に増加した( $p < 0.05$ )。

以上のことから、S-PRGフィラーを含有する歯面コーティング材は、酸中和能を有することが確認された。またテオブロミンおよびS-PRGフィラーは、コーティングした歯質の硬さを増加させ、歯質の再石灰化を促したと考えられた。さらに両者を併用することで相乗効果が期待できることが示唆された。

## S-PRG フィラー溶出液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 —リアルタイム定量 PCR 法による解析—

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学分野<sup>1</sup>, 微生物感染学分野<sup>2</sup>,  
○石澤将人<sup>1</sup>, 富山 潔<sup>1</sup>, 長谷川晴彦<sup>1</sup>, 浜田信城<sup>2</sup>, 向井義晴<sup>1</sup>

### The effects of S-PRG eluate on the diversity of polymicrobial biofilms — Analysis of Real-time qPCR —

<sup>1</sup> Div. of Cariology and Restorative Dent, <sup>2</sup> Div. of Microbiology,  
○ ISHIZAWA Masato<sup>1</sup>, TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1</sup>, HASEGAWA Haruhiko<sup>1</sup>, HAMADA Nobushiro<sup>2</sup>,  
MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>

【研究目的】 Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーは多数種のイオンを放出する機能性フィラーであり、現在の臨床において、充填材、歯磨剤など、さまざまな歯科疾患の予防を目的とした機能材料などに使用されている。第 140 回本学会において倉持らは、S-PRG 溶出液のポリマイクロバイアルバイオフィルムモデル (Exterkate et al., Caries Res, 2010) に対する抗菌効果について検討し、S-PRG 溶出液の存在する環境下においては、S-PRG 溶出液と同濃度のフッ化物を含む環境下に比較し、生菌数を有意に抑制することを報告した。今回、S-PRG フィラーがポリマイクロバイアルバイオフィルム構成菌中の特定菌種に対しどのような影響を与えるのかをリアルタイム定量 PCR 法を用いて検討した。

【材料および方法】 1) 試料作製：直径 12 mm, 厚さ 0.15 mm のガラス円板を 24 well culture plate に適合する Lid に取り付けられたクランプに固定後、オートクレーブで滅菌し、バイオフィルム形成用試料とした。2) ポリマイクロバイアルバイオフィルムの培養：ガラス円板表面へのバイオフィルム形成は、Exterkate らの方法 (Caries Res 2010) に従い、行なった。健全な被験者 1 名から採取した刺激唾液を 50 倍希釈となるよう Buffered McBain (50mM PIPES, 0.2% sucrose 含有) 培養液に加えて 24 well 中に分注した後、培養液中にガラス円板を懸架し、嫌気条件下 (37 °C, CO<sub>2</sub> : 10 %, H<sub>2</sub> : 10 %, N<sub>2</sub> : 80 %) で 10 時間、培養を行った。その後、10 時間、14 時間のタイムスケジュールで培養液 (唾液非含有) を交換し、継続して 48 時間まで嫌気培養を行った。3) 試験培養液の作成：S-PRG フィラーを蒸留水に懸濁して各種イオンを溶出させた上清の S-PRG 溶出液 (110.5 ppm F) を用いて S-PRG フィラー溶出液含有培養液 (50mM PIPES, 0.2% sucrose 含有) を作製した (PRG 群)。また S-PRG フィラー溶出液と同濃度のフッ化物を含む NaF 含有培養液 (50mM PIPES, 0.2% sucrose 含有) を作製した (F 群)。4) S-PRG 溶出液によるポリマイクロバイアルバイオフィルムへの影響：培養開始から 24 時間および 34 時間の時点で、各種試験培養液に交換して培養開始から 48 時間後まで嫌気培養を行なった。コントロールとして、標準培養液を用いて、同様に嫌気培養を行なった (Cont 群)。5) 円盤状ガラス試片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 時間培養して形成したポリマイクロバイアルバイオフィルムを標準培養液、フッ化物含有培養液、あるいは S-PRG フィラー溶出液を混入させた培養液で 48 時間後まで培養を継続し、リアルタイム定量 PCR 法により分析を行った結果、全細菌コピー数は、PRG 群が他群に比べて抑制されており、Cont 群と F 群は同等であった (Cont 群 :  $8.24 \times 10^9$ , F 群 :  $4.68 \times 10^9$ , PRG 群 :  $8.30 \times 10^8$ )。また、*Streptococcus* 属 および *Actinomyces* 属についても、PRG 群が他群に比べて強い抑制を示し (*Streptococcus* 属 : Cont 群 :  $2.10 \times 10^9$ , F 群 :  $1.19 \times 10^9$ , PRG 群 :  $3.83 \times 10^8$ )、(*Actinomyces* 属 : Cont 群 :  $8.69 \times 10^6$ , F 群 :  $3.27 \times 10^6$ , PRG 群 :  $4.23 \times 10^5$ )、特に *Veillonella* 属に対する抑制が顕著であった (Cont 群 :  $2.06 \times 10^9$ , F 群 :  $1.90 \times 10^9$ , PRG 群 :  $7.58 \times 10^7$ )。

【結論及び考察】 今回の実験により、S-PRG フィラー溶出液は、ポリマイクロバイアルバイオフィルム全菌種、そしてバイオフィルム中に存在する *Streptococcus* 属、*Actinomyces* 属、特に *Veillonella* 属に対して、抑制効果を有することが示された。S-PRG フィラー溶出液は、溶出液に含まれるフッ化物単体よりも高い抗菌性を示したことから、S-PRG フィラーから徐放されるフッ化物以外のイオンの特定菌種に対する抗菌効果が確認された。今後の展開としては、S-PRG フィラーから徐放される各イオンがポリマイクロバイアルバイオフィルム中に存在する特定菌に与える影響についての検討を行っていく予定である。

### 感染象牙質モデルに対する antimicrobial Photo Dynamic Therapy (a-PDT) の殺菌効果

<sup>1</sup>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

<sup>2</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部歯科 保存学第2講座

<sup>3</sup>日本歯科大学新潟生命歯学部 微生物学講座

○永井悠太<sup>1</sup>、新海航一<sup>1,2</sup>、葛城啓彰<sup>3</sup>

#### Disinfectant effect of antimicrobial Photo Dynamic Therapy (a-PDT) on infected dentin model

<sup>1</sup>Advanced Operative Dentistry・Endodontics,

<sup>1</sup>The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

<sup>2</sup>Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

<sup>3</sup>Department of Microbiology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

○NAGAI Yuta<sup>1</sup>, SHINKAI Koichi<sup>1,2</sup>, KATSURAGI Hiroaki<sup>3</sup>

#### 【研究目的】

抗菌的光線力学療法 (antimicrobial Photo Dynamic Therapy, a-PDT) は光感受性の高い薬剤 (Photosensitizer) に対して半導体レーザーや LED による光を照射することで生じる活性酸素 (一重項酸素) を利用した治療法であり、歯周病を中心に根管治療、インプラント周囲炎などに応用されている。齶蝕治療においても a-PDT の効果を検討した報告はあるが、感染象牙質モデルを用いた研究は少なく、また齶蝕病巣の無菌化には至っていない。例えば、深在性齶蝕において、露髄回避のために深部の感染象牙質 (齶蝕象牙質外層) を残存させた際、齶蝕病巣内の細菌を殺菌することができれば、MI をベースとした齶蝕治療にさらなる革新性をもたらすことが期待できる。

そこで本研究の目的は、作製した感染象牙質モデルに対する a-PDT の殺菌効果を評価・検討することである。

#### 【材料および方法】

本研究は本学倫理審査委員会の承認を得て行った (許可番号: ECNG-H-243)。

被験歯はチモール液中に冷蔵保存しておいたヒト抜去大白歯で、齶蝕および修復処置のないものを使用した。Isomet4000 (Buehler) を用いて歯頸部で歯根を切除し、髓室直上の象牙質から 3.0×3.0×1.0 (縦×横×厚さ) mm の象牙質プレートを 1 歯から 2 枚作製した。作製した象牙質プレートはオートクレーブ (2atm, 121°C, 15min) を用いて滅菌した。本学微生物学講座所有の *Streptococcus mutans* (ATCC27175) の菌液を吸光度 0.3 に調節した。滅菌した象牙質プレートの表面を 40%リン酸 (K-etchant, Kuraray Noritake) で脱灰して象牙細管を開口させ、96 マルチウェルプレート (Falcon) の各ウェルに 100μl の菌液を分注して、その中に象牙質プレートを浸漬した。ローテーションテーブルに載せて 37°C、5%CO<sub>2</sub> 環境下で 3 時間培養した。実験群は①Laser (波長 940nm を有する半導体レーザー (eZlase, Biolase) に先端径 0.3mm のチップを装着し、照射モード: CW、照射出力: 1.5W、照射距離: 10.0mm、照射時間: 60s の条件で、象牙質プレート上にレーザーを照射した)、②Methylene Blue (0.01%Methylene Blue に象牙質プレートを浸漬、5min 放置後、10mMsPBS で洗浄した)、③PDT (0.01%Methylene Blue に象牙質プレートを浸漬、5min 放置後、①と同じ条件でレーザーを照射した。その後 10mMsPBS で洗浄した)、④Control の 4 群とした (n=6)。なお、Methylene Blue は 1.0% に調整した後、遠心分離にかけて 0.2μl Membrane で濾過滅菌をして、使用する前には 0.01% に調整した。処置終了後、象牙質プレートを 10mMsPBS 5.0ml 中に浸漬し、超音波発生機 (UR-200P、トミー精工) を用いて 30W、5s の条件で細菌を剥離した。10 倍に段階希釈を行って brain heart infusion (BHI) 培地に塗抹した。37°C、5%CO<sub>2</sub> 環境下で 48 時間培養して Colony Count を行った。得られたデータは ANOVA と Tukey HSD 検定を用いて実験群間の有意差を統計的に検定した。

#### 【結果と考察】

48 時間後の検出結果を右表に示す。ANOVA の結果、有意差が認められた ( $p < 0.01$ ) ので実験群間の有意差を検定した結果、Laser と Methylene Blue 間を除き、すべての実験群間に有意差を認めた ( $p < 0.01$ )。すべての実験群においてコロニー形成が認められたが、PDT は Laser、Methylene Blue および Control と比較してコロニー形成が有意に少なかった。Laser や Methylene Blue のみでもある程度の殺菌効果を示すが、

両者を併用した場合に強い殺菌効果が得られることが明らかとなった。これは、Laser と Methylene Blue の光化学反応で発生した活性酸素 (一重項酸素) によって *Streptococcus mutans* が破壊された結果によるものと推察される。

Experimental Groups	cfu/ml
Laser	$(6.5 \pm 3.5) \times 10^4$
Methylene Blue	$(5.7 \pm 5.4) \times 10^4$
PDT	$(3.0 \pm 0.8) \times 10^4$
Control	$(7.9 \pm 2.1) \times 10^4$



## Er, Cr: YSGG レーザーで窩洞形成中に露髄したラット歯の歯髄反応

<sup>1</sup> 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座  
<sup>2</sup> 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

○新海航一<sup>1,2</sup>、高田真代<sup>2</sup>

### Reaction of rat dental pulp exposed during cavity preparation with Er, Cr: YSGG laser

<sup>1</sup> Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata  
<sup>2</sup> Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata  
○SHINKAI Koichi<sup>1,2</sup>, TAKADA Mayo<sup>2</sup>

#### 【緒言】

Er, Cr: YSGG レーザーを用いた歯の切削は非接触で行うため、ハンドピースの微妙なコントロールが難しい。照射条件（照射出力、照射角度、スプレアのエアとウォーターの相対比率など）によってエナメル質や象牙質の切削効率が異なるため、適切な照射条件の設定が重要である。また、照射条件によっては、レーザー切削といえども、Er, Cr: YSGG レーザーを用いるとエアタービン並みの切削スピードが得られる。したがって、臨床では、レーザー切削時の照射条件が不適切であったり、切削時にハンドピースのコントロールミスが生じたりした場合、偶発露髄をきたす危険性がある。そこで本研究は、Er, Cr: YSGG レーザーを用いて窩洞形成中に、偶発的に露髄していたラット歯における24時間後と14日後の歯髄反応について病理組織学的に検討した。本研究は、本学動物実験倫理委員会の承認を得て行った（承認番号：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面に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40Hz、Water30%、Air50%に設定、出力はエナメル質で2.5W、象牙質で2.0Wとした。セルフエッチシステムで歯面処理後にコンポジットレジンを用いて、あるいは歯面処理を行わずFuji VII (GC)を用いて窩洞を填塞した。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、偶発的に露髄していた試料について、歯髄組織の変化、炎症性細胞浸潤および第三象牙質の形成について病理組織学的な観察を行った。

#### 【結果および考察】

修復処置を行ってから24時間後の試料では、露髄面表層に茶褐色の薄い炭化層が認められ、その直下にはエオジン好染の壊死層が認められた。さらに、歯髄の一部に炎症性細胞浸潤を認めたが、深部の歯髄組織はほぼ正常であった。14日後の試料では、露髄径の大きさにより歯髄反応が異なっていた。すなわち、露髄径が小さい場合、象牙質橋の形成とともに歯髄は治癒する傾向がみられたが、露髄径が大きい場合、歯髄は癒痕治癒を示すものの著しい歯髄容積の減少を認めた。24時間後で露髄面に観察された炭化層はレーザーの熱作用により形成されたものと推察され、その炭化層の直下には壊死層も形成されていた。また、露髄面表層に炎症性変化を認めたが、深部の歯髄組織はほぼ正常な所見を示したことから、露髄面の炭化層や壊死層は直下に存在する歯髄の保護層として働くのではないかと思われた。しかし、露髄径が大きい場合、14日後の歯髄所見では、線維化による著しい歯髄容積の減少を認めたため、やがて歯髄は壊死に至るのではないかと推察される。修復材料の成分による歯髄への影響も考えられるが、Er, Cr: YSGG レーザー照射による熱作用の影響が強く歯髄に及んだ場合、歯髄にとって不可逆的な変化が生じる可能性が示唆された。

## 大気圧低温プラズマの歯科ホワイトニングへの応用に関する基礎的研究 —漂白効果の高いガス種の検討—

千葉県立保健医療大学健康科学部歯科衛生学科<sup>1</sup>, プラズマファクトリー株式会社<sup>2</sup>,  
東京工業大学大学院総合理工学研究科創造エネルギー専攻<sup>3</sup>  
○金子 潤<sup>1</sup>, 山中紗都<sup>1</sup>, 保坂 誠<sup>1</sup>, 大下貴也<sup>2</sup>, 沖野晃俊<sup>3</sup>

### A basic study on application of atmospheric-pressure low-temperature plasma to dental whitening —Examination of bleaching effect by multi-gas plasma jet—

Department of Dental Hygiene, Faculty of Health Care Sciences, Chiba Prefectural University of Health Sciences<sup>1</sup>, Plasma Factory Co.,Ltd.<sup>2</sup>, Department of Energy Sciences, Interdisciplinary Graduate School of Science and Engineering, Tokyo Institute of Technology<sup>3</sup>

○KANEKO Jun<sup>1</sup>, YAMANAKA Sato<sup>1</sup>, HOSAKA Makoto<sup>1</sup>, OSHITA Takaya<sup>2</sup>, OKINO Akitoshi<sup>3</sup>

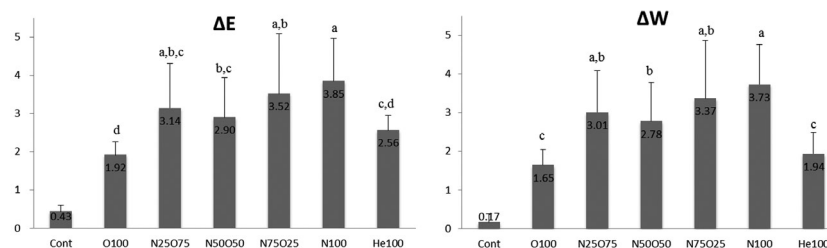
**【研究目的】** 歯科ホワイトニングは、過酸化水素 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) が分解して発生する OH ラジカル (・OH) などのフリーラジカルを利用して歯質中の有色有機物を分解・無色化するメカニズムである。一方、近年プラズマ技術の進歩に伴い大気圧でのプラズマ生成と低温化が可能となり、プラズマの医療応用に関する研究が急速に発展している。なかでも様々なガス種で生成可能なマルチガスプラズマを利用すれば、発生する活性種の違いによって照射対象への効果も変化することが予想される。そこで、大気圧低温プラズマの歯科ホワイトニングへの応用を目的として、様々なガス種により生成されたプラズマを褐色鶏卵卵殻に照射し、漂白効果の高いプラズマを生成できるガス種について検討した。

**【材料および方法】** 褐色鶏卵を煮沸後、ダイヤモンドディスクで縦断して卵白・卵黄のみ除去し、内面にシリコンパテを挿入・硬化させたものを試料とした。卵殻中央部に直径 5mm のウインドウをビニールテープで設置し、プラズマ照射野に規定した。本実験では、窒素 (N<sub>2</sub>)、酸素 (O<sub>2</sub>)、窒素と酸素の混合ガス、およびヘリウム (He) について漂白効果を検討した。すなわち、窒素 100% (N100)、窒素 75%-酸素 25% (N75O25)、窒素 50%-酸素 50% (N50O50)、窒素 25%-酸素 75% (N25O75)、酸素 100% (O100)、ヘリウム 100% (He100)、プラズマ照射なし (Cont) の各群を設定し、N 数は 5 とした。プラズマ源にはダメージフリーマルチガスプラズマジェット PF-DFMJ01 (プラズマファクトリー) を用い、ガス流量 10ℓ/min で照射口を試料表面から 5mm 離し 5 分間照射を行った。また、各ガスは水で満たされたバブリング容器を通過させることで水分の付与を行った。

プラズマ照射前後の試料の色彩は歯科用分光光度計スペクトロシェード (デンツプライ三金) を用いて測色し、色彩変化の程度によって漂白効果を評価した。すなわち、各試料のウインドウ内の中央部および上下左右の計 5 点を測定点に設定し、CIE1976L\*a\*b\*表色系による L\*値, a\*値, b\*値から色差 ΔE を通法により、白色度差 ΔW は Hunter 白色度計算式を準用して算出し、各ガス種間の漂白効果の比較を行った。

**【結果および考察】** 各群のプラズマ照射前後の ΔE および ΔW の結果 (平均値±SD) を下図に示す。ΔE では N100 が 3.85±1.11 で最も大きな値を示し、ついで N75O25 が 3.52±1.56, N25O75 が 3.14±1.16 を示した。ΔW でも同様に N100 が 3.73±1.03 で最も大きな値を示し、ついで N75O25 が 3.37±1.49, N25O75 が 3.01±1.08 を示した。ΔE および ΔW の結果から、プラズマ照射各群はいずれも Cont に比べて有意な色彩変化を認め、その変化はほぼ白色方向への移動であることが確認された。各ガス種間の比較では、窒素を含む場合に色彩変化がより顕著となり、とくに窒素 75%以上では肉眼

でも感知できるレベルの漂白効果を認めた。マルチガスプラズマにより生成される OH ラジカル量は、ガス単体の場合窒素が最も多いとの報告<sup>1)</sup>もあり、窒素濃度の高いプラズマ照射により、漂白効果をさらに向上させようと考えられた。



Figs. Mean difference in ΔE and ΔW by each gas plasma. There is no significant difference between the same letters in each figure (Tukey's HSD test: p>0.05).

**【結論】** 大気圧低温プラズマの歯科ホワイトニングへの応用の可能性が示唆された。

本研究は、平成 27 年度千葉県立保健医療大学学内共同研究費 (2015-E03) の助成を受けて行われた。

**【参考文献】** 1) Takamatsu T, Okino A, et al, RSC Adv., 4 : 39901-39905, 2014