

新規接着性レジンセメントを用いた象牙質とレジンプロックの微小引張接着強さについて

¹鹿児島大学病院 保存科

²鹿児島大学学術研究院医歯学域歯学系歯科保存学分野

○星加知宏¹, 勝俣愛一郎², 勝俣 環², 西谷佳浩²

Microtensile bond strengths of new adhesive resin cements to dentin and resin block

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Hospital

²Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Research Field in Dentistry, Medical and Dental Sciences Area, Research and Education Assembly, Kagoshima University

○HOSHIKA Tomohiro¹, KATSUMATA Aiichiro², KATSUMATA Tamaki², NISHITANI Yoshihiro²

【研究目的】近年、審美への要求が高まるにつれ、歯冠修復用材料やそれに用いられる接着性材料の開発が進められている。それらの一つである接着性レジンセメントについても接着強さの向上とともに、操作性の簡素化も図られてきた。しかしながら接着強さと操作の簡素化の両立は難しく、現時点ではそれぞれの所要性質に合わせ製品を選択しているのが現状である。本研究ではセメント単体でも接着に使用することが可能でありながら、プライマーを用いることで接着性を向上させることも可能となる新たに開発されたプライマー併用可能型セルフエッチングレジンセメント (CSR) の接着性について、プライマーの有無及び現在販売されている製品との比較を行うことで接着性の検討を行った。

【材料及び方法】試料体の作製：接着試験には鹿児島大学倫理委員会の承認のもと集められた新鮮なヒト抜去健全大白歯を用い、歯冠中央部を耐水研磨紙#600 まで研磨した象牙質面を被着面とした。また、被着体には CAD/CAM 用レジン材料セラスマート (GC) を用いた。厚さ 6 mm となるように切断し、平面を耐水研磨紙で #600 で研磨、サンドブラスト後、超音波洗浄を行い、被着面とした。本研究には CSR 単体で接着した群 (CSR 群) と CSR にプライマーを併用した群 (CSR+P 群) およびライエックスアルティットレジンセメント (3M) (以下 RUA) で接着した群 (RUA 群) を、それぞれの接着性セメントをメーカー指示通りに用いた。試料体は 24 時間 37°C で水中浸漬後切断し、半数を TC 0 群として、残り半数を 5°C と 55°C 各 1 分間の熱サイクル (TC) 10000 回負荷を加えた TC 10000 群として試験に用いた。試料体の接着強さの測定および観察：試料体を精密低速切断機 (Isomet, Buehler) を用いて連続切片に切り出し、各切片を接着面積が 1.0 mm² になるように棒型に形成した。接着試料体の一部をランダムに抽出してマイクロテンスイル法による引張接着試験を行った。微小引張試験は卓上万能試験機 (EZ Test, Shimadzu) を用いて、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件下で行った。試料数を各 8 個とし、得られた結果 (MTBS) は Two-way ANOVA と Tukey's test を用いて有意水準 5% にて統計処理を行った。また引張試験後の破断面について走査電子顕微鏡 (SEM) により形態観察を行った。

【結果】引張試験の結果を下表に示す。TC 処理により RUA では有意に MTBS は低かった。CSR はプライマー処理の有無にかかわらず、TC 処理後も差は認められなかった。CSR の初期接着強さはプライマー処理を行うことで有意に高く、RUA と同等の結果を示した。TC 処理後は CSR と RUA は同程度の MTBS を示し、CSR+P 群は有意に高かった。また、破断面分析の結果、CSR 群では混合破壊とセラミックセメント界面での、CSR+P 群ではセラミックセメント界面での、RUA 群では混合破壊が多く認められた。

【考察および結論】RUA 群で TC 処理により MTBS の低下が見られたことについては、TC 前後でも混合破壊が多く観察されたことから、セメント部での TC による物性の低下が推測される。一方、プライマー処理により CSR の接着強

さは向上し、またいずれの方法でも TC 処理後も MTBS の低下は見られなかったことから、新規接着性レジンセメントは強固な接着性を求める場合も簡易な操作性を求める場合もその使用方法によって選択することが可能な材料であることが示唆された。修復物や窩洞・支台に様々な材料が用いられることから、今後レジンプロック以外の被着体における接着性も検討を行う必要がある。

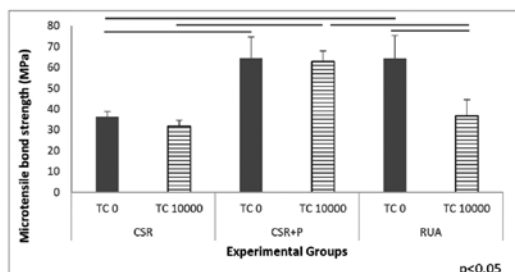


Fig. Microtensile bond strengths of new adhesive resin cements to dentin and resin block

くさび状欠損部へのコンポジットレジン修復に関するランダム化比較試験—10年後の成績

1) 長崎大学病院医療教育開発センター、2) クローバー歯科、3) 長崎大学歯学部総合歯科臨床教育学、4) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齲蝕学分野

○久保至誠¹⁾、横田広彰²⁾、横田春日^{2,4)}、角 忠輝³⁾、林 善彦⁴⁾

Ten-year Randomized Controlled Trial of a Flowable Resin Composite in Non-cariou Cervical Lesions

1) Medical Education Development Center, Nagasaki University Hospital, 2) Clover Dental Clinic, 3) Department for Clinical Education in General Dentistry, Nagasaki University School of Dentistry, 4) Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Science
○KUBO Shisei¹⁾, Yokota Hiroaki²⁾, Yokota Haruka^{2,4)}, SUMI Tadateru³⁾, HAYASHI Yoshihiko⁴⁾

【緒言】

異常な咬合による歯頸部のたわみは、くさび状欠損の成因の一つと考えられている。象牙質に対して十分な接着強さが得られていなかった1990年代初め、マイクロフィラー型コンポジットレジンがハイブリッド型コンポジットレジンより高い保持率を示すことが報告された。低い弾性率による接着界面のストレス緩和がこの理由と考えられ、フロアブルレジンの開発につながった。我々が行ったくさび状欠損部コンポジットレジン修復の基礎研究では¹⁾、フロアブルレジンは、繰り返し曲げ荷重下ではハイブリッド型より優れた封鎖性を示したものの、サーマルサイクリング下では有意に劣った。したがって、大きな欠損を修復する場合には、その予後が懸念された。しかし、フロアブルレジンはその操作性の良さから、エビデンスがないにもかかわらず、多くの臨床家に受け入れられ、適用範囲の拡大がなされた。このような状況に対して、高いレベルのエビデンスを提供するため、ランダム化比較試験を行うことにした。既に短期(3年)の成績は報告しているが²⁾、このたび長期(10年)の成績をまとめたところ、興味ある知見が得られたので報告する。

【材料ならびに方法】

歯学系倫理委員会の承認のもと、筆頭演者の担当患者22名(男性11名、女性11名:平均年齢61.9歳)の協力を得て、くさび状欠損部(98例)の修復を行った。先ず欠損表面を一層削除し、エナメル質にベベルを付与後、歯肉を圧排した。接着システムはS3 Bond(クラレノリタケデンタル)をメーカー指示にしたがって用い、各患者がハイブリッド型のAP-X(AP:クラレノリタケ)とフロアブルのFlow FX(FX:クラレノリタケ)を少なくとも1例有するようランダムに振り分けた。APの場合、非常に大きな欠損以外は一括充填して光を照射(40秒)した。FXでは、小さくて浅い欠損以外は2~3層(各層20秒照射)に積層充填した。ラップジョイントに仕上げ、最終研磨は次回来院日に実施した。その後は、経過を追跡調査するため、写真撮影を行うとともに、問題があっても再研磨することはなかった。ベースライン時および毎年の修復物の成績に関しては、第2,第3演者がModified USPHSの判定基準に基づいてブラインドで評価した。得られたデータの統計検定にはフィッシャーの正確確率検定を用いた($p < 0.05$)。また、生存率と辺縁着色に関しては、カプラン・マイヤー法とCox比例ハザードモデルによる生存分析を行った($p < 0.05$)。

【結果ならびに考察】

10年後のリコール率は86.3%(患者レベル:2人死亡、1人転居)であった。APでは48例中3例、FXでは50例中12例が要再治療と評価され、10年後の生存率はそれぞれ93.3%、74.8%と推計された($p < 0.05$)。4人の患者で脱落した5例はすべてFXの症例であり、1年以内3例、3.3年後1例、8年後に1例生じた。臨床的には辺縁着色が問題であり、18人の患者に辺縁着色が認められ、レジンのタイプにかかわらず年々増加し10年後には50%を超える症例で発生した。また、辺縁着色の発現部位は主にエナメル質窩縁(71.6%)であったが、歯肉退縮の経年的増加に伴って歯肉側象牙質窩縁における発生率も上昇した。さらに、辺縁着色には年齢、歯の部位(上下および左右)が大きな影響を及ぼしていることも明らかとなった。比較的多くの症例で着色の程度は徐々に濃くなったが、長期観察によって溢出したコンポジットレジンが破折して軽症化する症例も認められるようになった。辺縁着色の主原因は、窩壁に沿った微少漏洩ではなく、ステップへの色素沈着あるいは未切削エナメル質と溢出したコンポジットレジン間の微少漏洩と推測されていたが、これらの事象により確認できた。APでは材料の摩耗は全く認められなかったのに対し、FXでは摩耗している症例が散見された。早期脱落はすべて小さくて浅い欠損の修復であったが、接着システムの性能というよりテクニックエラーが原因と考えられ、くさび状欠損の大きさは修復物の臨床成績に影響を及ぼしてはいなかった。

【結論】

初期のフロアブルレジンには脱落例が多く、著しい着色や摩耗が認められた症例もあり、10年後の成績はハイブリッドに比較すると劣る傾向を示した。

1) S Kubo et al. Microleakage of cervical cavities restored with flowable composites, Am J Dent, 17, 33-37, 2004.

2) Kubo S et al. Three-year Clinical Evaluation of a Flowable and a Hybrid Resin Composite in Non-cariou Cervical Lesions, J Dent 38, 191-200, 2010.

象牙質-歯髄複合体の創傷治癒を促進する象牙質基質分解産物の同定と機能解析

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)

○小道俊吾, 高橋雄介, 岡本基岐, Manahil. S. Ali, 林 美加子

Identification and functional analysis of digested dentin matrix components promoted wound healing process of dentin-pulp complex

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

○KOMICHI Shungo, TAKAHASHI Yusuke, OKAMOTO Motoki, Manahil. S. Ali, HAYASHI Mikako

【研究目的】

全身の組織で酸や酵素によって分解された細胞外基質 (Extracellular Matrix: ECM) は、その組織において生理学的活性を持ち創傷治癒を促進させるという報告がある。われわれは、象牙質-歯髄複合体の創傷治癒においても同様の過程が起こりうると考え、歯髄にとつての ECM である象牙質基質タンパク (Dentin Matrix Components: DMCs) が Matrix metalloproteinase (MMP) 分子によって分解を受け、生じた DMCs 分解産物が歯髄の創傷治癒を促進すること、また逆相高速液体クロマトグラフィー (RP-HPLC) にて DMCs 分解産物の分離・回収に成功したことをこれまでに本学会にて報告してきた。そこで本研究では、DMCs 分解産物中における象牙質-歯髄複合体の創傷治癒に重要な役割を果たす分子の同定、ならびに同定された分子の機能解析を目的とした。

【材料および方法】

歯髄創傷治癒を促進することがこれまでに判明している、MMP20 による DMCs 分解産物 (digested DMCs : dDMCs) を RP-HPLC 用いて分画化し、回収した分画を用いて以下の実験をおこなった。なお、コントロールとして未処理の DMCs を用いた。

1. RP-HPLC にて分離された分画を用いたラット直接覆髄実験および micro-CT と病理組織学的評価による第三象牙質形成促進能を有する分画のスクリーニング (n=3)
2. 直接覆髄実験で良好な結果を示した分画が歯髄細胞の増殖、分化、石灰化に与える影響の評価 (n=6)
3. 上記の実験で良好な結果を示した分画に含まれる歯髄創傷治癒を促進するタンパクの、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法を用いた同定
4. 同定された候補タンパクを用いたラット直接覆髄実験および micro-CT と病理組織学的評価 (n=3)
5. 実験 4 にて良好な結果を示したタンパクが歯髄細胞の遊走、増殖、分化、石灰化に与える影響の評価 (n=6)

統計学的有意差は one-way ANOVA および Tukey's test, $\alpha=5\%$ にて検定をおこなった。

本研究は英国 Birmingham 大学歯学部 Tooth Bank Ethics Committee (90/H0405/33) および大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会 (23-005-1) の承認下で実施した。

【結果および考察】

RP-HPLC 解析にて dDMCs に特異的に認められたピークを含む分画を用いた直接覆髄により良好な第三象牙質形成が促進され (dDMCs 分画: $7.43 \pm 2.12 \times 10^{-2} \text{ mm}^3$, コントロール: $2.67 \pm 1.91 \times 10^{-2} \text{ mm}^3$)、さらに同分画存在下で歯髄細胞の分化と石灰化が促進された ($P<0.05$)。その分画を LC-MS/MS 解析した結果、junction plakoglobin (JUP)、protein S100-A7 (A7)、protein S100-A8 (A8)、prolactin-inducible protein (PIP) が歯髄創傷治癒を促進する候補タンパクとして同定された。さらに、同定されたタンパクを用いた直接覆髄実験にて、JUP、A7、PIP を覆髄剤として用いた試料では露髄面を完全に覆う第三象牙質形成が誘導された。また、直接覆髄実験で良好な結果を示した JUP、A7、PIP 存在下において歯髄細胞の分化および石灰化が促進された ($P<0.05$)。

【結論】

象牙質基質分解産物の質量分析および機能解析をおこなうことで、象牙質-歯髄複合体の創傷治癒を促進する分子が同定され、歯髄組織の創傷治癒のメカニズムの一端が明らかとなった。今後は、同定されたタンパクの機能ドメインや関連するシグナル経路を明らかにし、覆髄剤への臨床応用へと展開する予定である。本研究は JSPS 科研費 25462958、16K20453 の助成を受けたものである。

新規バイオガラス配合セメントが示す覆髄材としての有用性

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野, ²ながよし歯科医院
○花田可緒理¹, 諸富孝彦¹, 鷲尾絢子¹, 永吉雅人², 北村知昭¹

The study of usefulness of the bioactive glass cement as a direct pulp capping agent

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Science of Oral Functions,
Kyushu Dental University, ²Nagayoshi Dental Clinic
○HANADA Kaori¹, MOROTOMI Takahiko¹, WASHIO Ayako¹, NAGAYOSHI Masato², KITAMURA Chiaki¹

【目的】露髄に際して行う直接覆髄の成功は歯を保存する上で極めて重要である。直接覆髄材には優れた封鎖性、生体適合性、操作性、および修復象牙質形成誘導能等の多岐にわたる性質が求められるが、これら全ての要件を満たす直接覆髄材は現時点では存在しない。バイオセラミックスの一つであるバイオガラスは高い生体親和性と安定性に優れた材料である。これまでに我々は生体適合性や封鎖性に優れた新規バイオガラス配合歯科用セメントNSY-222(N)を国内企業との共同研究において開発し、その有用性を報告してきた(JBMR partB. 2015, 第142回・第144回日本歯科保存学会学術大会)。本研究では、NSY-222(N)および硬化時間を短縮したNSY-222(S)の直接覆髄材としての可能性について *in vitro* および *in vivo* にて評価した。

【材料および方法】NSY-222(N)およびNSY-222(S)をDycal®(デンツプライ三金株式会社)およびプロロート®MTA(P-MTA:デンツプライ三金株式会社)と比較した。

【細胞増殖能および石灰化能への影響】:各材料を規格モールド(30 μl)に充填し、37°C、湿潤下で24時間静置し完全に硬化させた試料を作成した。ラット象牙芽細胞様細胞株(KN-3)を細胞培養用プレートに播種し10% FBS含有αMEMで12時間培養後、培養液を1% FBS含有αMEMに変更し、挿入したトランスウェル上に各試料を静置した。12, 24, 48, および72時間後に細胞形態の観察とトリパンブルー染色による細胞生存数の評価を行った。次に、KN-3を石灰化誘導培地(50μg/ml アスコルビン酸および10mMβ-グリセロリン酸含有10%FBSαMEM)を用いて各試料下で培養した後にタンパク質を回収し、Lab Assay™ALP(WAKO)によりアルカリフォスファターゼ(ALP)活性を評価した。

【直接覆髄実験】:9週齢雄性Wistar系ラットの上顎第一臼歯歯冠近心面に同一規格の窩洞を形成し、K-file(#15)にて窩洞中心部を点状露髄させた。露髄部を10% NaClO, 3% H₂O₂および滅菌生理食塩水で洗浄後、各材料で覆髄しSuper-Bond C&B(サンメディカル株式会社)にて封鎖した。4% パラフォルムアルデヒドによる灌流固定を行い、組織の摘出・脱灰後、4 μm厚のパラフィン切片を作成しヘマトキシリン-エオジン染色を施し観察した。

【結果】NSY-222(N), NSY-222(S)およびP-MTAと共に培養したKN-3の細胞形態に、コントロール群との差異は認められなかった。NSY-222(N)群およびNSY-222(S)群はP-MTA群およびコントロール群と比較し緩やかな細胞増殖傾向を示したが有意差は認められなかった。Dycal群は12時間後から細胞の萎縮が観察され、生細胞数は他群と比較して著しく少なかった。ALP活性においてはNSY-222(N)群, NSY-222(S)群およびP-MTA群はコントロール群と比較して有意差は認めなかった。直接覆髄実験において、術後4日では各群で血管新生および象牙芽細胞に類似した形態の細胞誘導が認められ、修復象牙質形成も一部認められた。NSY-222(N)群およびNSY-222(S)群は、Dycal群およびP-MTA群と比較して修復象牙質の形成量が多い傾向を示した。術後2週間では全ての群で露髄面を覆う修復象牙質形成を認め、修復象牙質直下には象牙芽細胞に類似した形態の細胞を認めた。術後4日および2週間の全ての群で、炎症は露髄部周囲に局限した軽度なものであった。

【考察】NSY-222(N)およびNSY-222(S)は細胞増殖に影響しないこと、細胞の分化誘導を阻害しないことが明らかとなった。また、歯髄組織に対する刺激も少なく、P-MTAと同等の効果をもつことが明らかとなった。以上の結果から、NSY-222(N)およびNSY-222(S)は組織為害性がなく修復象牙質を誘導する材料であることが示唆された。

【結論】新規バイオガラス配合セメントの直接覆髄材としての有用性が示唆された。

ネフロネクチンは象牙質芽様細胞の増殖と分化を促進する
北海道医療大学歯学部・口腔機能再建修復学系・う蝕制御治療学分野
○唐 佳、斎藤隆史

Nephronectin promotes proliferation and differentiation of odontoblast-like cells

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

○Jia TANG, Takashi SAITO

Introduction:

Nephronectin (Npnt) is a novel RGD-containing extracellular matrix (ECM) protein originally discovered in mouse embryonic kidney that is expressed in a variety of embryonic and adult tissues including tooth germ. Although it has been extensively studied in the morphogenesis process of kidney, the effects of Npnt in odontoblast-like cells remain elusive. The current study seeks to uncover its roles in the regulation of proliferation and differentiation of odontoblast-like cells.

Materials and Methods:

MDPC-23 cell, a rat odontoblast-like cell line, was used. Recombinant mouse Npnt was purchased from R&D systems. The effect of soluble and coated Npnt on MDPC-23 cells was evaluated simultaneously. For the coating experiment, Npnt at the concentration of 10 μ g/mL was coated to non-tissue culture treated polystyrene. Cells were seeded to Npnt-coated or PBS-coated well for the evaluation of proliferation and differentiation. Effect of soluble Npnt on cell proliferation and differentiation was investigated as well. Cytoskeleton formation was assessed using fluorescence microscopy. Calcific matrix formation in Npnt-coated and control was evaluated by alizarin red staining. Tukey's test was used for statistical analysis.

Results and Discussion:

Npnt in its coated form induced a strong proliferation activity of MDPC-23 cells. No differences were found between soluble Npnt-treated cells and control. ALP activity in Npnt-coated wells was dramatically enhanced from day 3 (1.56 \pm 0.06 units/ μ g protein versus 0.70 \pm 0.27 units/ μ g protein of control) and was maintained till day 7 (1.65 \pm 0.04 units/ μ g protein versus control: 1.21 \pm 0.08 units/ μ g protein). In contrast, soluble Npnt (1 and 10ng/mL groups) showed inhibitory effect on ALP activity. The inducing effect of coated Npnt was further confirmed using real time RT-PCR. Gene expression of *BSP*, *OCN*, *ALP*, *OPN*, *Runx-2* and *DMP-1* was promoted by coated Npnt. Moreover, mRNA expression of integrin α 1, α 3, α 5, β 1, and β 5 was found to be augmented on Npnt-coated surface. Interestingly, soluble Npnt displayed concentration-dependent inhibitory effect on some of the odontogenic markers expression. Coating of Npnt accelerated mineralization of MDPC-23 cells as demonstrated by quantification of alizarin red staining intensity. The results therefore suggested that Npnt is biocompatible, allows the up-regulation of odontogenic genes, and may be a promising adjunctive formulation to be incorporated into pulp capping material.

Conclusions:

Collectively, despite the limitations of the experiment, the findings presented here showed that a coating of Npnt promotes the spreading, proliferation, differentiation and mineralization of odontoblast-like cells via the activation of cell surface integrin. (This study was supported by Grant-in-Aid for Scientific Research (B) 15H05024 and 2016-Grant for Young Chinese Researchers, The Japan China Medical Association. Patent Application No. 2016-79544: Caries treatment agent containing nephronectin)

Recommended by: Prof. Yasushi FURUICHI (Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido)

歯肉溝上皮細胞におけるゼノファジーの役割

福岡歯科大学・¹総合歯科学分野、²歯科矯正学、³再生医学研究センター
○萩尾佳那子^{1, 3}、安永まどか^{2, 3}、大野純³、樋口拓哉¹、脇勇士郎¹、山田和彦¹、米田雅裕¹、廣藤卓雄¹

A role of xenophagy in epithelial cells in the gingival sulcus

¹Division of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College
²Division of Orthodontics, Department of Oral Growth & Development, Fukuoka Dental College
³Research Center for Regenerative Medicine, Fukuoka Dental College
○Kanako Hagio^{1,3}, Madoka Yasunaga^{2,3}, Jun Ohno³, Takuya Higuchi¹, Yujiro Waki¹,
Kazuhiko Yamada¹, Masahiro Yoneda¹, Takao Hirofujii¹

【研究目的】

歯周病の発症・進行過程で、歯周病菌は自然免疫（主にマクロファージによる貪食）を回避するために、非免疫系細胞に侵入を図ることが考えられる。近年の研究から、歯肉溝上皮細胞は、細菌に対する機械的な障壁機能だけではなく、メンブレントラフィックを利用して積極的に上皮細胞内に細菌を取り込むことが示唆されている。細菌が侵入した上皮細胞ではゼノファジー（病原体に対するオートファジー効果）が誘導されると考えられる。しかしながら、ゼノファジーが侵入した細菌の分解あるいは増殖のどちらに関与するかは明らかではない。本研究は、細胞診からの歯肉溝擦過細胞および培養ケラチノサイトへの歯周病菌刺激によるゼノファジーの誘導を検索した。また、上皮細胞で誘導されたゼノファジーの細菌への影響を検討した。

【実験デザイン】

- 1) 細胞診を応用した歯肉溝擦過細胞の動態（福岡歯科大学・研究倫理委員会承認 No. 298）
- 2) 歯肉溝擦過細胞およびHaCaT（ヒト・ケラチノサイト）細胞へのPG(*P. gingivalis*)由来LPS塗布particle刺激によるゼノファジーの誘導

【結果・考察】

- 1) 歯肉溝擦過上皮細胞での細菌侵入とゼノファジー誘導：細胞診ブラシを用いて歯肉溝歯肉から擦過細胞を採取した。細菌感染上皮細胞では、LC3陽性オートファゴゾーム内にTLR-4陽性細菌集落が免疫2重染色により確認され、ゼノファジーの誘導が明らかとなった。また、CD68陽性マクロファージ内にもTLR-4陽性集落を認めた。歯肉溝においては、歯周病菌に対して自然免疫の誘導以外に、非免疫系の上皮細胞においても細菌侵入によるゼノファジーの誘導を確認した。
- 2) LPS塗布particle刺激ケラチノサイトでのゼノファジー誘導：歯肉溝擦過上皮細胞およびHaCaT細胞に、LPS塗布および非塗布particleを2時間刺激して各種アッセイを行った。（1）両particleはケラチノサイト内にエンドサイトーシスにより取り込まれた。（2）LPS塗布群においては、オートファジー関連タンパクおよびTLR-4の発現亢進を認めた。（3）塗布群particleはオートファゴゾームに取り込まれたが、オートファジー阻害剤(3-MA)およびLPS阻害剤(PMB)の投与により抑制された。これらの結果は、LPS刺激によりケラチノサイトではゼノファジーが誘導されることが明らかとなった。
- 3) ゼノファジー誘導経路の検討：非塗布群と比較して、塗布群において細胞内ROSの蓄積が認められた。また、細胞内ROSの亢進によりpAMPK発現の亢進がみられたが、Be1-2の発現は抑制された。この結果は、LPS刺激によるゼノファジー誘導は、ROS→AMPK経路の活性化によりBe1-2が抑制され、Beclin-1活性が亢進してオートファジーが促進したと推測した。
- 4) ゼノファジー誘導ケラチノサイトでの細菌分解：細菌の分解はオートファゴゾームとライソゾーム融合・消化により生じる。オートファゴゾームに捕捉されたparticleはライソゾーム内に移行することが明らかとなった。また、融合阻害剤を添加するとparticleはオートファゴゾームに捕捉された状態であった。以上の結果から、ゼノファジーが細菌分解に関与することが推測された。

【結論】

以上の結果から、歯周病菌の刺激により歯肉溝上皮細胞ではゼノファジーが誘導された。誘導されたゼノファジーは、上皮細胞における侵入細菌の分解に関与する可能性が示唆された。

歯周炎モデルマウスにおける歯槽骨吸収及び破骨細胞分化への Decitabine の効果

九州大学病院歯周病科, 九州大学歯学研究院口腔機能修復学講座歯周病学分野
○田中 麗¹, 讃井 彰一¹, 福田 隆男², 西村 英紀^{1,2}

Decitabine regulates osteoclastogenesis and periodontal bone loss in experimental mice
Kyushu University Hospital Periodontics¹, Department of Periodontology Division of Oral
Rehabilitation Faculty of Dental Science Kyushu University²
○Urara Tanaka¹, Terukazu Sanui¹, Takao Fukuda², Fusanori Nishimura^{1,2}

【研究目的】 DNAメチル化修飾はエピジェネティクス変化を引き起こすメカニズムの一つであり, 種々の遺伝子発現を制御している。一般にDNAメチル化はCpG配列上のシトシンで起こるとされており, 遺伝子プロモーター領域のDNAメチル化は転写活性を抑制するといわれている。興味深いことに, 歯周病に対する感受性が, DNAメチル化と関連することが示唆されている。そこで, 本研究では実験的歯周炎モデルマウスを用いることにより, DNAメチル化転移酵素阻害剤であるDecitabineが歯周炎により惹起される歯槽骨吸収に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】 マウスC57BL/6Jの上顎第二大臼歯に絹糸を結紮し, 実験的歯周炎を誘導した。実験期間は5日間とし, Decitabine (1mg/kg)はoral gavage法により1回/日, 計5回投与した。骨吸収は, Nikon Digital Sight DS-U3を用いてセメントエナメル境 (CEJ) から歯槽骨頂 (ABC) 間を6点測定した。また組織切片を用いてTRAP染色, 免疫組織染色を行った。*In vitro*における検討では, CD14陽性単球を用いてDecitabineが破骨細胞分化に及ぼす影響についてTRAP染色を行い評価した。またmRNA発現の検討も行った。さらに, シングルセル解析により, 破骨細胞分化へのDecitabineの1細胞レベルでの遺伝子解析を行った。加えて, キーファクターとなり得る因子のDNAメチル化部位等の遺伝子情報について検索し, ルシフェラーゼアッセイにより標的遺伝子の転写活性への影響を評価した。

【成績】 Decitabineを投与することで歯周炎モデルマウスにおける骨吸収は有意に抑制され, またTRAP活性も抑制された。免疫組織染色においては, Decitabine投与によりRANKL発現の減少とOPG発現の増加が認められた。同様に, CD14陽性単球の破骨細胞分化誘導実験においても, Decitabine刺激でTRAP活性が抑制され, さらに抗炎症サイトカインであるIL-10, TGF- β のmRNA発現の亢進が確認できた。また, CD14陽性単球を用いたシングルセル遺伝子解析の結果から, Decitabineは破骨細胞分化条件下において, 炎症性サイトカインを抑制する可能性が示唆された。次に, Decitabineが及ぼす影響のメカニズム解明の一端として, 炎症反応を制御する転写因子Krüppel-like factor2 (KLF2)に着目した。ゲノムブラウザデータベースより, KLF2においてDNAメチル化の標的部位となるCpG配列が多く存在することを確認した。組織切片, CD14陽性単球におけるKLF2発現はDecitabine投与およびその刺激により亢進し, さらにルシフェラーゼアッセイにより, KLF2はCCAAT/enhancer binding protein beta (CEBPB), 抗炎症サイトカインであるIL-10, TGF- β の転写活性を促進することが確認された。

【考察および結論】 DNAメチル化転移酵素阻害剤であるDecitabineは破骨細胞の活性を抑制することで, 実験的歯周炎モデルにおける骨吸収を抑制し, そのメカニズムとして, KLF2による抗炎症作用の亢進が関与している可能性が強く示唆された。すなわち歯周病の進行にDNAメチル化が重要な役割を担っており, Decitabineは歯周治療に有用である可能性を示した。

会員外研究協力者: Dr.Denis Kinane, Dr.Manju Benakanakere (University of Pennsylvania)

インスリン抵抗性発現による糖尿病ラットの歯肉の創傷治癒への影響

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯周病学分野
○城戸大輔, 水谷幸嗣, 武田浩平, 三上理沙子, 小沼邦葉, 松浦孝典, 和泉雄一

Impact of insulin resistance on impaired gingival wound healing in diabetic rats

Department of Periodontology, Graduate school of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○Daisuke Kido, Koji Mizutani, Kohei Takeda, Risako Mikami, Kuniha Konuma,
Takanori Matsuura, Yuichi Izumi

【研究目的】

糖尿病は歯周病のリスクファクターのひとつであり、糖尿病患者では歯周組織で創傷治癒が遅延することが臨床的に知られている。そのメカニズムについて、歯周組織にインスリン抵抗性が生じることが示唆されているものの、詳細は不明である。本研究の目的は、インスリン抵抗性が歯肉の創傷治癒に与える影響について解明することである。

【材料および方法】

本研究は東京医科歯科大学動物実験委員会の承認のうえ行われた(承認番号 0170207A)。6週齢の雄 Wister 系ラットにストレプトゾトシン(STZ) 60mg/kg を腹腔内投与し、1週間後に空腹時血糖 350mg/dl 以上を示したものを糖尿病群とした。コントロール群には生理食塩水を同様に投与した。STZ 投与後 8週に、糖尿病群とコントロール群のラットの両側臼歯部口蓋側から 5.0×1.5mm の歯肉を切除して粘膜骨膜弁欠損を作製した。創傷治癒の評価として口腔内写真を術後 21 日まで規格撮影し、欠損部の上皮化面積をイメージングソフトにて評価した。また、両群のラットを術後 3、7、21 日に安楽殺し、片側の創傷部は通法に従い連続切片を作製し組織学的評価を行った。反対側は欠損部の組織から mRNA を抽出し、血管新生および創傷治癒に関連した遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法にて分析した。

創傷作製時に切除した歯肉は、組織培養により各群由来の歯肉線維芽細胞を単離し、それぞれ高血糖培地とコントロール培地で培養し、*in vitro* wound healing assay、WST-8 分析により細胞増殖能試験を行った。またインスリン抵抗性の評価のため、インスリン刺激後の Akt と MAPK の活性化をウェスタンブロット法にて解析した。

【成績】

糖尿病誘発後 8週において各群の体重と血糖値は、コントロール群で 302.0g、107.2mg/dl で、糖尿病群は 208.9g、471.9mg/dl と有意な体重低下と血糖値の上昇を認めた。術後 7 日でコントロール群では上皮化面積の平均は 79%で、14 日には多くの個体で上皮化を完了していた。一方、糖尿病群では術後 7 日で平均 40%と有意に遅延が見られ、21 日においても上皮化が完了していない個体も見られた。組織計測においても糖尿病群における上皮組織の伸展は術後 3、7 日でそれぞれコントロール群より有意に低下していた。創傷部の mRNA の発現は、糖尿病群ではコントロール群に比べて vascular endothelial growth factor (VEGF) は術後 3 日では著しく低下しており、術後 7 日で同等となった。また術後 7 日に endothelial nitric oxide synthase(e-NOS)、I 型コラーゲンの発現が糖尿病群で低下していた。

また *in vitro* 試験によって、細胞増殖能と遊走能は糖尿病群で有意に低下していることが示された。さらにインスリン刺激後の Akt のリン酸化が糖尿病群ラット由来の歯肉線維芽細胞において有意に阻害されていることも示された。

【考察】

本研究では高血糖が歯周組織に及ぼす影響を検討するために、糖尿病合併症の研究で用いられている STZ 誘発糖尿病モデルラットを用いた。糖尿病群由来の線維芽細胞ではインスリン刺激に対する Akt 活性化の低下が認められた。Akt は血管新生や細胞増殖能を調節するタンパク質であり、インスリン抵抗性の発現に伴い活性が低下することから、糖尿病群の欠損部の創傷治癒の遅延にインスリン抵抗性の発現が影響をしている可能性が考察された。

【結論】

以上より、高血糖状態において歯肉の線維芽細胞にインスリン抵抗性が生じることで、血管新生や細胞増殖能、遊走能の低下が起き、創傷治癒遅延が起こる可能性が示された。

再石灰化されたう窩を脱灰したときのエナメル質表層の性状変化に関する研究

愛知学院大学歯学部保存修復学講座
○林 真希, 富士谷盛興, 千田 彰

Characteristic Changes of Enamel Surface Layer Following Demineralization of Remineralized Enamel Cavity

Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○HAYASHI Maki, FUJITANI Morioki, SENDA Akira

【研究目的】

エナメル質う蝕において、脱灰と再石灰化の平衡関係が崩れ脱灰に傾くとう蝕は進行する。これまでに演者らは、エナメル質表層下脱灰層を再石灰化し再度脱灰した場合、それより下方のエナメル小柱体部の方が酸の侵襲を強く受け(日歯保存誌, 2012)、とくにう窩を形成した場合は、小柱体部だけでなく耐酸性を獲得した小柱鞘も脱灰されることを報告した(第145回本学術大会)。しかし、さらに脱灰と再石灰化を繰り返したときのエナメル質の性状変化に関する報告はない。そこで本研究は、前述のう窩を再石灰化し、再度脱灰したときのエナメル質表層の微細構造の変化を検討した。

【材料および方法】

新鮮ウシ抜去前歯のエナメル質ブロック(5×4×3 mm)の唇側矩形面(#2000, 3×2 mm)以外をネイルバーニッシュにより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 CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 20 mM HEPES, 150 mM NaCl, pH 7.0, 37°C)に保管する再石灰化処理を施した。その後、pH 4.0の人工脱灰液(50 mM 酢酸, 1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 37°C)に6日間浸漬脱灰しう窩を調製した。これらのう窩において7日間の再石灰化処理後、pH 4.6の人工脱灰液で再度脱灰処理を6日間施した。各種処理後の各試片を通常に従いアルコール脱水・包埋した後、断面(#15000)を走査電子顕微鏡で観察した。

【結果および考察】

形成されたう窩の表層は無定形の構造を呈し、その下部には小柱体部の喪失と小柱鞘の残遺が散見される層が観察された。また、それより下方は脱灰により小柱の境界が明瞭となっており、漸次正常と区別がつかない層に移行していた。う窩を再石灰化すると、無定形構造物から成る表層の形態に変化はほとんど見られず、その下部の層には球状の構造物が多数認められた。また、それより下方の脱灰の影響を被っていた層は3層構造に変化していた。すなわち、その最表層は形態にほとんど変化はなく、また、その下層は小柱の境界が不明瞭になり、さらにその下層は形態に変化があまり認められなかった3層であり、漸次正常と区別がつかない層に移行していた。再度脱灰を施すと、表層の無定形構造物はそのほとんどが消失し小片に変化しており、僅かに最表層が薄層として残存していた。しかし、その下方の3層構造として認められた部分の最表層の形態にほとんど変化は認められず、再石灰化の影響が考えられ、また、その下層は小柱鞘より小柱体部の方が脱灰されており、再石灰化による小柱鞘の耐酸性獲得が考えられた。さらに、その下層の形態にほとんど変化はなく、脱灰の影響がほとんどなかったと思われ、漸次正常と区別がつかない層に移行していた。

以上の結果より、本研究の条件下では、エナメル質表層下脱灰層を再石灰化し、再度脱灰して形成したう窩の最表層を再石灰化し、さらに脱灰すると、う窩のエナメル質表層は残存し、それより下方のエナメル質で脱灰が生じることが判明した。また、脱灰の影響を被った部分を再石灰化すると、耐酸性を示すことが再度確認された。

【結論】

う窩を再石灰化後脱灰すると、エナメル質表層下脱灰層を再石灰化し、再度脱灰した時と同じような形態変化が、う窩のエナメル質表層においても生じることが判明した。

試作齲蝕象牙質除去剤の健全象牙質への影響

鶴見大学歯学部歯内療法学講座¹⁾、保存修復学講座²⁾、口腔解剖学講座³⁾

○南 奈緒¹⁾、湯本琴美¹⁾、山口貴央¹⁾、英 將生²⁾、関水健宏¹⁾、千葉敏江³⁾、中野雅子¹⁾、細矢哲康¹⁾

Effects of Caries Removal Agent on Sound Dentin

Department of Endodontology¹⁾, Department of Operative Dentistry²⁾, Department of Oral Anatomy³⁾,
Tsurumi University School of Dental Medicine

OMINAMI Nao¹⁾, YUMOTO Kotomi¹⁾, YAMAGUCHI Takao¹⁾, HANABUSA Masao²⁾,
SEKIMIZU Takehiro¹⁾, CHIBA Toshie³⁾, NAKANO Masako¹⁾, HOSOYA Noriyasu¹⁾

《目的》

日常臨床において象牙質齲蝕の治療は、ラウンドバーやエキスカベータ等を用いて機械的に軟化歯質の除去を行い、欠損部の修復処置を行う。これらの処置は、機械的な振動や音による患者への負担に加え、歯髄刺激や偶発露髄が生じることが懸念される。化学的齲蝕象牙質除去の実用化は、患者への負担や種々のリスク軽減とともに術者の負担軽減にも繋がると考えられる。本研究の目的は、プロメラインおよびリモネンを配合した試作齲蝕象牙質除去剤の健全象牙質への影響を明らかにするために、ヒト抜去歯と牛歯において各種試験を行い、影響を観察することである。

《材料と方法》

被験材料として、山田ら(日歯保存誌 54; 142-152, 2011)が試作した齲蝕象牙質除去剤を用いた。

①表面硬さ試験：ヒト抜去歯(n=5)の歯冠部を横切断し、2mm厚のディスク状象牙質を作製する。切断面を耐水研磨紙(#600)で研磨後、4分割して健全象牙質試料とした。試料表面に試作齲蝕象牙質除去剤を塗布し、1分ならびに5分後に水洗しビッカース硬さを測定した。②剪断試験：牛歯(n=5)をレジン包埋後、研磨して象牙質表面を露出させた。象牙質表面に試作齲蝕象牙質除去剤を塗布し、5分後に水洗・乾燥し、接着処理を施しコンポジットレジンで築盛した。37℃で24時間水中保管した後、剪断試験を行った。③軟化歯質を手指の感覚で除去した後の齲窩におけるミネラル量の経時変化：象牙質齲蝕を有するヒト抜去歯において、エキスカベータを用いて手指の感覚で軟化歯質を除去した後、齲窩に試作齲蝕象牙質除去剤を塗布して15秒ごとに1分間X線マイクロCTにより同部の撮影(計4回)を行なった。さらに同試料に対して試作齲蝕象牙質除去剤を塗布し、60分経過後にCT撮影をした。既知のミネラル濃度の試料から作成した検量線をもとに、得られたデータから窩洞内面のミネラル濃度を解析した。

《結果》

①表面硬さ試験：試作齲蝕象牙質除去剤塗布1分後のビッカース硬さ(189.7±50.1)は、コントロール(119.4±20.9)と差を認めなかったが、5分後のビッカース硬さ(59.4±6.5)はコントロール(141.4±21.4)との間に有意差を認めた(p<.05)。②剪断試験：試作齲蝕象牙質除去剤を塗布して5分後、象牙質への接着強さは(25.8±3.6 MPa)であり、コントロール(26.5±1.51 MPa)との間に差を認めなかった。③軟化歯質を手指の感覚で除去した後の齲窩におけるミネラル量の経時的解析：X線マイクロCTの解析結果から、試作齲蝕象牙質除去剤塗布後に窩壁表層にミネラル低含有歯質の層を認めた。また塗布60秒後には低ミネラル含有歯質の層の拡大を認めた。さらに塗布1時間後では、層の厚みに変化はないものの含有量の低下を認めた。

《考察》

試作齲蝕象牙質除去剤は塗布から5分に達するところで象牙質表面硬さは経時的に減少したものの、接着強さに影響を与えなかったことから、試作齲蝕象牙質除去剤による表面性状の変化の深度は接着治療における表面処理と同程度もしくはそれ以下であると考えられる。さらに試作齲蝕象牙質除去剤を長時間にわたり適用した場合でも、窩壁表層のミネラル低含有歯質の層の厚みに変化を認められなかったことから、試作齲蝕象牙質除去剤の歯質への浸透性ならびに効果の波及程度は限られていることが推察された。

本研究は、鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認(No.1041, 1306)を受け遂行した。

本研究は、私立大学等教育研究活性化設備整備事業の補助による。COIを開示すべき企業・団体はない。

歯口清掃指導における清掃状況数量化の比較

奥羽大学 歯学部 歯科保存学講座 保存修復学分野

○菊井 徹哉、山田 嘉重

Comparison of Quantification of Cleaning State in Tooth Cleaning Instruction

Division of Operative dentistry, Department of Conservative Dentistry,
Oju University School of Dentistry
○Tetsuya Kikui, Yoshishige Yamada

【諸言】 近年、母親への口腔衛生観念の普及により小児・若年者の齲蝕罹患率は低下傾向にある。一方、中高齢者においては8020運動の効果により歯の保有数が増加する傾向にあり、食生活の充実により健康長寿の延長に寄与していると考えられる^{1,2)}。しかし、中高齢者になると歯周病の罹患率の増加とともに根面齲蝕の罹患率も増加傾向が見られ、高齢者においても齲蝕・歯周病予防に歯口清掃は欠かせない。これまで「歯の衛生週間」において幼少期から学校で歯口清掃を促進する活動が行われたが、患者の多くは自己流のブラッシングであり、歯科医師や歯科衛生士から専門的な歯口清掃指導を受けている場合においても、望まれる歯垢の除去（プラークコントロールレコード<20%）は達成できず歯石にまで発達している。また、唾液の性状などにより歯石のつきやすい患者も多くみられる。

従来、歯口清掃指導にはプラークの染め出しによる0'Rearyプラークコントロールレコード（PCR値）が広く運用されているが、歯面のプラーク付着状況の判定は術者の主観的な要因により変動しやすい。客観的な検査としての齲蝕リスク判定には、唾液中S.mutans菌数、唾液中乳酸杆菌数、唾液緩衝能、刺激唾液量の測定などが行われてきたが、判定結果が出るまで数日を要していた。近年、生理活性物質の測定が容易になり歯垢中細菌のATP生産量を直接測定して口腔内細菌の活動性をリアルタイムで把握できるようになった。2015年に歯口清掃状況測定装置としてCariScreen[®]が日本に紹介された³⁾。PCR値はプラーク付着面数であるのに対して、CariScreen[®]値（CS値）は口腔内細菌の活動性（ATP生産量）を客観的に示す数値である。CS値測定は測定時間が15秒と短く、検査値の客観性と運用性に優れている。海外の資料⁴⁾ではミュータンス菌数とCS値の相関性が示されているが、齲蝕活動性は食習慣にも左右されると思われ、CS値の臨床応用に際して日本人の口腔内修復状況との関係性を調査する必要があると考えられる。

【方法および材料】

- 1) 被検者：(1)奥羽大学歯学部附属病院を受診した患者（30名）、(2)歯科的知識の影響を比較するために医局員・歯科衛生士・歯科学生（20名）を対照とした。本研究は奥羽大学倫理審査委員会の承認（第172号）を得て行った。
- 2) 清掃状況の測定：(1)CS値は①来院時と②次回来院時の2時点で測定した。CS値はCariScreen[®]付属の専用スワブで下顎左側犬歯～右側犬歯の舌側面に付着したプラークを採取して測定した。(2)PCR値は通報に従い1歯冠を4面（唇・頬面、舌・口蓋面、近心面、遠心面）に分割して帯状の歯垢付着を調査した。
- 3) 口腔内修復状況：質問票により食習慣、歯口清掃の習慣、歯の修復状況を調査した。質問票の分析内容と得られたPCR値、CS値を比較し、齲蝕罹患率の知識的相関ならびに地域特性を分析した。

【結果および考察】

来院時の患者のCS値は多くの場合6000以上の高値を示した。普段のブラッシングでは歯垢除去が容易にできていないことを示し、下顎前歯は齲蝕罹患率の低い部分であるが、唾液腺開口部に近い歯垢が付着することで歯石が付着しやすくなる要因と考えられた。プラーク染め出しを行わない状態でブラッシング後のCS値の減少率は10～40%とばらつきがあった。来院時のCS値は6000以上でありCAMBRA[™]の唱える1500以下の清掃状態の達成は困難であるように思えた。一方、PCR値では歯周病予防の目標値である20%を下回る例もみられたが、CS値は比較的高値を示していた。歯口清掃指導時にPCR値に加え、CS値を提示することは患者の歯口清掃のモチベーションの高揚に有効であると思われた。

【参考文献】

- 1)2011年 歯科疾患実態調査報告書；厚生労働省、 2)日本の歯科疾患の実態；Health Care Dent, 2006;8:19-29
- 3)Dental Diamond 2016;9:158-170、4)Pediatric Dentistry, 2009;32:195-204

ポリマイクロバイアルバイオフィームを用いた根面齲蝕モデルの開発

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学分野¹, 微生物感染学分野²

○ 石澤将人¹, 富山 潔¹, 長谷川晴彦¹, 浜田信城², 向井義晴¹

Development of novel dental caries model using polymicrobial biofilm

¹ Div. of Cariology and Restorative Dentistry, ² Div. of Microbiology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University,

○ ISHIZAWA Masato¹, TOMIYAMA Kiyoshi¹, HASEGAWA Haruhiko¹, HAMADA Nobushiro², MUKAI Yoshiharu¹

【研究目的】根面象牙質齲蝕では、細菌の代謝産物が浸透した管間象牙質、管周象牙質の存在、あるいは象牙細管内への細菌の侵入が確認されており、そのような環境における脱灰抑制や再石灰化促進の研究は結果を臨床に反映する上で極めて重要である。ポリマイクロバイアル(PM)バイオフィームモデル (Exterkate R.E.M et al., Caries Res, 2010) は従来のバイオフィームモデルと比較して、固相への強固な付着を得ることができ、多菌種から構成されるバイオフィームを形成することが可能であるという点で、口腔内をより模倣しているモデルである。そこで我々は本モデルをベースとして使用し、培養液中のミネラル量、スクロースの添加・非添加により口腔内に極めて近似した環境下における活動性・非活動性根面象牙質齲蝕ならびに再発齲を再現できるモデルの開発を目指している。今回、一連の研究の第一段階として、PMバイオフィームモデルを利用し、口腔内を模倣した環境下における活動性・非活動性齲蝕病原細菌を形成することを目的とし、糖代謝後のpHの相違と、PMバイオフィーム菌叢の関係について検討を行なった。

【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、バイオフィーム形成用試料とした。2) PM バイオフィームの培養: ガラス円板表面への PM バイオフィーム形成は、Exterkate らの方法に従い行なった。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 unBuffered McBain (0.2% sucrose 含有) 培養液中に加えて 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, CO₂: 10 %, H₂: 10 %, N₂: 80 %) で 10 時間、培養を行った。その後、14 時間、10 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) 試験培養液として unbuffered McBain 培養液 (0.2% sucrose 含有) (A 群) および unBuffered McBain 培養液 (0.2% sucrose 非含有) を用いて、再び 14 時間、10 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 96 時間まで嫌気培養を行った (B 群)。4) それぞれ培養液を交換後、その培養液の pH を測定した。5) 円盤状ガラス試片に付着している PM バイオフィームを次世代シーケンサー (MiSeq™, Illumina, USA) を用いて、各サンプル由来の 16S rDNA からシーケンスデータを得て、部分塩基配列を決定し、次世代シーケンス・アンプリコン解析を行なうことにより、PM バイオフィームサンプルに由来する菌群の帰属分類群を推定した。サンプル間の比較解析は、主成分分析およびクラスター解析 (クラスタリング手法: 群平均法, 距離関数: ピアソンの相関係数) により、各群の PM バイオフィーム構造にどのような変動が生じているのかを比較、検討した。5) シーケンシングを行わない実験群では、超音波下でバイオフィームを剥離後、血液寒天培地に塗抹、4 日間、嫌気培養を行い、生菌数を算定した。

【結果】48 時間培養を行ったのち、さらにスクロース含有、あるいは非含有培地でそれぞれ 48 時間培養を行った場合、両群の細菌叢間には大きな違いが認められた。A 群では、菌叢のほとんどが *Streptococcus* 属で構成され、B 群では *Streptococcus* 属のほか *Veillonella* 属の割合が上昇した。また A 群の使用済み培養液の pH は 4.6~4.1 で推移し、B 群の pH は 6.4~6.8 で推移した。生菌数は、B 群が 1.42×10^8 , A 群は 1.77×10^7 であり、両群間に顕著な差を認めた。

【考察および結論】A 群と B 群は顕著に異なる使用済み培養液の pH および培養終了後の生菌数を示し、その結果は、PM バイオフィームの細菌構造の違いに反映されていた。PM バイオフィームモデルを用いて、スクロースの有無により異なる細菌叢のバイオフィームを形成することができた。また糖代謝の条件を変えることにより *in vitro* で、齲蝕活動を反映するバイオフィームを形成できることが示された。今後、培養条件を精査し、検討を重ねて、より口腔内に近い齲蝕モデルを開発していく所存である。

(本実験は、神奈川歯科大学倫理委員会に研究方法の詳細 (唾液採取を含む) を提出し、許可を得てから行った (承認番号 206))

象牙質知覚過敏鈍麻剤フッ化物配合バニッシュの根面脱灰抑制効果 - 短時間塗布の *in vitro* 評価 -

○林 里香¹⁾、本間 玲奈¹⁾、千葉 敏江²⁾、菅原 豊太郎¹⁾、山本 雄嗣¹⁾、桃井 保子¹⁾
1) 鶴見大学歯学部保存修復学講座、2) 鶴見大学歯学部口腔解剖学講座

Inhibitory effect on root dentin demineralization of fluoride varnish used as desensitizing agent for dentin hypersensitivity - *in vitro* evaluation for short-time application

○Hayashi Rika¹⁾, Honma Rena¹⁾, Chiba Toshie²⁾, Sugawara Toyotaro¹⁾, Yamamoto Takatsugu¹⁾, Momoi Yasuko¹⁾
1) Department of Operative Dentistry, 2) Department of Oral Anatomy
Tsurumi University School of Dental Medicine

【目的】高濃度にフッ化物を含有する歯面塗布剤については、根面う蝕の進行抑制や再石灰化に有効であることが確認されており¹⁾、欧米諸国ではフッ化物配合バニッシュが臨床に広く普及している。わが国で入手可能な高濃度フッ化ナトリウム配合バニッシュは2製品あるが、いずれもその薬効分類が象牙質知覚過敏鈍麻剤であり、欧米のようう蝕の進行抑制や再石灰化治療には用いられない²⁾。そこで、私たちはこれら2製品について、根面象牙質の脱灰抑制に有効か否かを、短時間塗布で *in vitro* 評価することとした。

【材料および方法】冷凍保存したウシ歯を室温で自然解凍し、歯根部のみを用いた。歯根中央部から 2.5 x 3.0 mm の根表面を有する試片を切り出し、これをプラスチックモールドに包埋した。根面を耐水研磨紙 # 1,200 まで研磨し、根面に象牙質が露出していることを確認した。この後、根面の硬さを Cariotester (CT: SUK-971, 三栄エムイー、横浜) を用いて CT 深さ(um) として測定した。次いで、フッ化物塗布群の根面に Table 1 に示すフッ化物配合バニッシュ (FV, DG) を 5 分間塗布し、その後、アセトン綿球でバニッシュを擦り取った。バニッシュ非塗布群をコントロールとした。フッ化物塗布および非塗布群の試片を、調製した脱灰液 (pH5.02) に浸漬 1 日、7 日、14 日、21 日の各群に割り付けた (n=10)。脱灰液に浸漬した試片は 37°C に保たれ、浸漬後は水洗し、湿潤状態で CT 測定した。測定結果は、一元配置分散分析 (Bartlett カイ二乗検定) 危険率 1%、5% で解析した。

Table 1 NaF varnishes (desensitizing agent for dentin hypersensitivity) tested in this study.

Product	Code	F ⁻ concentration	Manufacturer
F Varnish 5 %	FV	22,600 ppm	Oriental Pharmaceutical and Synthetic Chemical (Osaka, Japan)
DIADENT DENTAL GEL 5 %	DG	22,600 ppm	SHOWA YAKUHI KAKO CO., LTD (Tokto, Japan)

【結果】結果を Table 2 に示す。脱灰溶液に 21 日間浸漬した試片根面の CT 深さは、フッ化物非塗布群 (Cont) に比べ、FV と DG 塗布群で統計的有意差 (p < 0.01) をもって小さかった。FV 塗布群の方が DG 塗布群より CT 深さが小さい傾向にあったが、両製品に統計的有意差は無かった。

Table 2 CT depth (um) at each demineralization period (n=10)

	1-day	7-day	14-day	21-day
Cont	74.7 (18.8)	73.9 (27.1)	240.2 (85.4)	448.8 (65.7) a
FV	79.6 (17.3)	77.2 (29.5)	154.5 (77.5)	257.5 (72.1) b
DG	81.0 (31.5)	61.5 (21.8)	203.7 (65.3)	307.0 (84.3) b

* Means of 21-day with same letters of alphabet are not statistically different.

【結論および考察】今回、FV と DG の塗布時間を 5 分間に設定し、短時間塗布での効果を評価したところ、Cont 群と比べ塗布群には明らかな脱灰抑制効果が認められた。FV と DG のメーカー指示塗布時間は、4 から 6 時間と長い。このことから、FV と DG を正規の塗布時間で用いれば、脱灰抑制効果は今回得た結果より高いと推測できる。使用感については、FV は粘性が高く歯面保持性が良く、DG は流れが良く隣接面など細部への塗布に有利と思われた。

【まとめ】象牙質知覚過敏鈍麻剤として市販されている高濃度のフッ化ナトリウムを含有したバニッシュ 2 製品は、明らかな根面脱灰抑制効果を有していた。

文献: 1) Wierichs RJ, Meyer-Lueckel H (2015), Systematic Review on Noninvasive Treatment of Root Caries Lesions. J Dent Res 94 (2), 261-71. 2) 日本歯科保存学会編 う蝕治療ガイドライン第 2 版、p25.

フッ化物配合知覚過敏治療剤による根面齲蝕の予防 —脱灰試験によるミネラル喪失量の測定—

1 神奈川県立歯科大学大学院口腔科学講座口腔衛生学分野

2 神奈川県立歯科大学大学院口腔機能修復学講座う蝕制御修復学分野

○川村和章¹⁾、國松雄一²⁾、中野貴文¹⁾、長谷川晴彦²⁾、向井義晴²⁾、荒川浩久¹⁾

Prevention of root caries by fluoride containing dentin desensitizer - Evaluation of mineral loss values by demineralization test -

1 Division of Oral Health, Department of Oral Science

2 Division of Cariology and Restorative Dentistry, Department of Oral Function and Restoration,
Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○KAWAMURA Kazuaki¹, KUNIMATSU Yuichi², NAKANO Takafumi¹, HASEGAWA Haruhiko²,
MUKAI Yoshiharu², ARAKAWA Hirohisa¹

【目的】

歯周疾患、加齢や不適切なブラッシングなどにより歯根面が露出すると知覚過敏と根面齲蝕の発症リスクが増加する。このため知覚過敏治療剤に脱灰抑制効果を付与することの有用性は高い。本研究の目的はフッ化物配合知覚過敏治療剤塗布後の歯根象牙質の耐酸性について評価することである。

【方法】

実験にはフルオール・ゼリー (F jel) (9,000ppmF、ビーブランド・メディコーデンタル)、MS コート ONE (MS ONE)、MS コート F (MS F 3,000) (3,000ppmF、サンメディカル)、さらに MS F に配合されるフッ化物濃度が異なる MS F 500 (500ppmF)、MS F 1,000 (1,000ppmF)、MS F 2,000 (2,000ppmF) を試作して使用した。

ウシ歯根部象牙質から切り出した象牙質ブロックに耐酸性バーニッシュで 2×3mm の被験面を作製した。被験面に MS ONE、MS F 500、MS F 1,000、MS F 2,000、MS F 3,000 を 1 試料に対して 10 秒間擦り込み 20 秒間静置した。比較として用いた F jel は擦り込みを行わず 30 秒間の塗布を行った。その後、全群とも 10 秒間脱イオン水で水洗、乾燥した。また、非処理のものを control とした (n=6)。試料を 3 個ずつ容器に固定し、1 容器あたり 30ml の脱灰溶液 (1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 50mM 酢酸, 0.2ppmF, pH5.0) を注いで 37°C で静置保管した。脱灰溶液は 24 時間ごとに交換した。4 日間経過後、容器から試料を取り出して脱イオン水にて洗浄後、ワイヤー式精密切断機にて 300μm の薄切片を作製した後、Transverse microradiography を撮影した。撮影したフィルムを専用ソフト (TMR200, Inspektor, Netherlands) を用いて分析し、ミネラルプロファイルからミネラル喪失量を測定した。統計分析は One-way ANOVA ならびに Tukey の検定により、有意水準 5% として実施した。

【結果】

各試料のミネラル喪失量 (vol %×μm) の平均は control (5698.0)、MS ONE (5457.3)、MS F 500 (5352.4)、MS F 1,000 (4417.0)、MS F 2,000 (3608.4)、MS F 3,000 (2853.8)、F jel (3326.3) であった。control、MS ONE、MS F 500 間、MS F 500、MS F 1,000 間、MS F 1,000、MS F 2,000 間、および F jel、MS F 2,000、MS F 3,000 間に有意差はなかったが、それ以外は有意差が認められた (p<0.05)。以上のことから、ミネラル喪失量は MS ONE と MS F 500 は同等であったが、MS F 500、MS F 1,000、MS F 2,000 では配合されるフッ化物濃度の増加に比例して有意に減少することが確認された。これは、フッ化物を含有した MS ポリマー被膜が水洗後も歯面に残存した結果であると考えられ、MS F 2,000、MS F 3,000 は、歯根象牙質に対して F jel と同等な脱灰抑制効果を示す可能性が示された。

【結論】

ウシ歯根部象牙質の脱灰抑制試験において 500ppmF、1,000ppmF、2,000ppmF 配合の MS コート F は濃度依存的にミネラル喪失量が減少し、2,000ppmF および 3,000ppmF 配合の MS F では、9,000ppmF のフルオール・ゼリーと同等な効果が認められた。

新規亜鉛ガラス含有バイオアクティブ材料による根面のコラーゲン分解抑制

株式会社ジーシー
○立花俊彦, 有田明史, 熊谷知弘

Inhibition of collagen degradation of root surface by new zinc glass-containing bioactive material

GC CORPORATION, Tokyo, Japan
○Toshihiko Tachibana, Akishi Arita, Tomohiro Kumagai

【研究目的】

当研究所では根面う蝕の予防・治療を目的とした製品開発に取り組んでおり、第144回日本歯科保存学会にて新規亜鉛ガラス含有バイオアクティブ材料が歯質根面に対する脱灰抑制効果が高いことを報告した。更に、亜鉛イオンにはMMP活性を阻害するとの報告がなされている(1)。これはMMPの中心金属が亜鉛であり、過剰量の亜鉛が存在することでその活性を抑えることができるためである。根面う蝕の進行原因の1つに細菌由来のコラゲナーゼによるコラーゲン分解が報告されており(2)、細菌由来のコラゲナーゼも中心金属が亜鉛であるため、MMPと同様に活性を阻害できる可能性がある。本研究では新規亜鉛ガラス含有バイオアクティブ材料(ZIF-C2)による根面のコラーゲン分解抑制効果を検証した。尚、ZIF-C2は、亜鉛・フッ素・カルシウム・ケイ素を含有するガラスとポリアクリル酸の練和による酸塩基反応で硬化する。この材料はフッ素の他、亜鉛の溶出が確認されている。

【材料および方法】

1. 材料 フジVII(ジーシー)、フジGPIXエクストラ(ジーシー)、ZIF-C2、コントロールとして充填材なしとした。
2. 試験体作製 ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより5mm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で包埋し、#2000耐水研磨紙で象牙質試験面を平坦にした。直径3mmに窓開けしたテフロンシール(厚さ0.1mm)を試験面に張付し、10mlの脱灰液(pH4.5, 酢酸: 50mM, CaCl₂: 1.5mM, KH₂PO₄: 0.9mM)に37℃下で60時間浸漬した。試験窓の半分を材料で充填し、37℃湿度95%のチャンバー中に1時間静置した。1.5mlのコラゲナーゼ溶液(pH6.5, コラゲナーゼ: 0.4U/ml, PIPES: 40mM, NaCl: 150mM, CaCl₂: 5mM)に37℃下で6時間浸漬した。
3. 評価方法 試験窓部を厚さ0.5mm程度にスライスし、#1200の耐水研磨紙でスライス面を平坦にした。位相差顕微鏡にて材料を充填していない露出象牙質のコラーゲン分解深さ(μm)を算出した(3)。

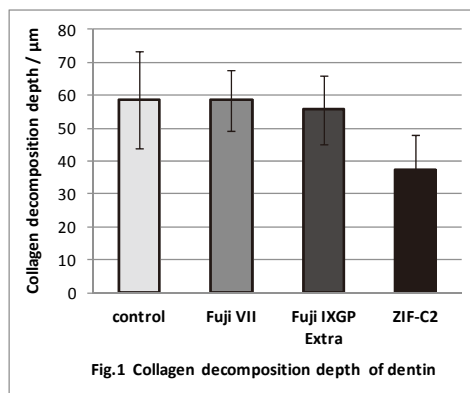
【結果および考察】

各材料のコラーゲン分解深さをFig.1に示す。フジVII、フジIXGPエクストラはコントロールと同等にコラーゲンが分解されているのに対し、ZIF-C2はコラーゲン分解抑制効果を有することが分かった。コラゲナーゼは亜鉛イオンが過剰に存在するとその働きが阻害されることが報告されている(4)。フジVII、フジIXGPエクストラは亜鉛イオンが溶出ししないのに対し、ZIF-C2は亜鉛イオンを溶出するため、コラゲナーゼの亜鉛最適濃度を上まわることでコラゲナーゼが阻害され、コラーゲンの分解が抑制されたと考える。

【結論】

新規亜鉛ガラス含有バイオアクティブ材料ZIF-C2は歯質根面に対するコラーゲン分解抑制効果が高く、根面う蝕の予防・治療に有効な材料であることが示された。

- (文献) (1)R. Osorio et al. Caries Res 2014 48(4):276-290
(2)Jackson RJ et al. Curr Microbiol. 1997 34(1):49-54
(3)Islam MS et al. J Dent 2016 47:94-97
(4)Thanatvarakorn O et al. Dent Mater J. 2016 1;35(5):769-775



フッ化物徐放性コーティング材料適用面下の歯根象牙質脱灰様相

神奈川県川崎市立歯科大学大学院歯学研究科口腔機能修復学講座 齋藤修学 齋藤修学 齋藤修学¹⁾, 短期大学部歯科衛生学科²⁾,
○椎谷 亨¹⁾, 片岡あい子^{1,2)}, 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⁾

Characteristics of Dentin Demineralization under the Fluoride-releasing Coating Materials

Division of Cariology and Restorative Dentistry, Department of Oral Function and Restoration¹⁾,

Department of Dental Hygiene, Junior College²⁾,

Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○SHIYA Toru¹⁾, KATAOKA Aiko^{1,2)}, FUJINO Fukue²⁾, TOMIYAMA Kiyoshi¹⁾, IIZUKA Junko¹⁾,
HASEGAWA Haruhiko¹⁾, MUKAI Yoshiharu¹⁾

【目的】歯根面の齶蝕予防や知覚過敏症治療を目的とした歯面コーティング材料が開発されているが、摩耗・脱離した後も、露出象牙質に浸みこんだフッ化物等が脱灰抑制にどの程度寄与するかについて検討することは重要である。今回、S-PRG (Surface Pre-Reacted Glass-ionomer) フィラーを含有した歯面コーティング材である PRG バリアコート (松風)、およびレジン添加型ガラスアイオノマーセメントであるクリンプロ XT バーニッシュ (3M ESPE) に注目し、上記内容に関して材料を塗布しない場合と比較検討した。

【実験方法】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断し円筒状象牙質歯片を作製後、ワイヤー式精密切断機 (Well 3242, Walter Ebner) にて歯軸方向に 2 分割し、象牙質試料とした。グループは、①材料を塗布しない群 (=CONT 群) ②PRG バリアコート塗布後 7 日間 100%湿度下で静置した群 (=PRG 群) ③クリンプロ XT バーニッシュを同様に静置した群 (=XT 群) を用意した。その後、歯根面を損傷しないよう材料のみをエバンス彫刻刀を用いて慎重に除去した。

これら作製された象牙質試料を、群別に用意されたプラスチック製円筒容器のふたの裏に、スティッキーワックスにて固定した。1×3mm の象牙質表面部分が窓開け (試験面) となるように耐酸性バーニッシュを塗布した後、8% Methocel MC gel (Sigma) 40ml を容器上部より注入、37°C 恒温槽に静置し、24 時間経過後に 50mM 酢酸 (1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 50 mM acetic acid, pH 5.0) 70ml を注入し 1 週間脱灰を行った。試験面中央より厚さ 300μm の薄片を歯軸と垂直方向に切り出し、顕微エックス線装置 (PW 3830, Spectris) および High resolution X-ray glass plate (Konica Minolta) を用いて Transverse Microradiography (TMR) 撮影 (管電圧 25 kV, 管電流 15 mA, 照射時間 20 分) を行った。現像定着後、分析用ソフト (TMR 2000) を用いてミネラルプロファイルの作成および平均ミネラル喪失量 (IML) を計測した。3 群間における IML の比較には、One-way ANOVA および Tukey の多重比較検定 (有意水準 5%) を用いた。なお、n 数は CONT 群および PRG 群が 5、XT 群が 6 であった。

また、2 材料からのフッ化物イオン徐放量の測定も併せて行った。すなわち、約 15mm 四方のプラスチックシート片面を #600 耐水研磨紙にて粗造にした後、直径 6 mm の穴の開いたマスキングテープを貼り付け、その穴の部分に材料を均一に塗布した。材料塗布したプラスチックシートを 5 ml の脱イオン水中に 37°C、7 日間浸漬した。得られた各溶液の 3ml に対し TISAB III を 0.3ml 加え、室温下にて超小型スターラーで攪拌しながら、イオンメーター (Orion STAR A214, Thermo Fisher Scientific) に接続した複合型フッ素イオン電極 (Orion 9609BNWP ionplus Sure-Flow Fluoride, Thermo Fisher Scientific) を用いて直接法にて測定した (n=3)。

【結果および考察】クリンプロ XT バーニッシュは PRG バリアコートと比較し 3~4 倍フッ化物イオンが徐放され、そのイオンが象牙質に浸透することにより、脱灰抑制能に大きな影響を与えたものと考えられた。しかしその一方で、PRG バリアコートの視点から見れば、フッ化物イオン徐放量がクリンプロ XT バーニッシュに比較し 1/3 以下であるにもかかわらず IML の減少は明瞭に認められた。これは、S-PRG フィラーから徐放されるフッ化物イオン以外の緩衝作用を有するイオンが、効果を発揮しているものと考えられた。

得られた 3 群間のミネラルプロファイルにおいて、表層 (Surface) と病巣体部 (Body of lesion) のミネラル量 (volume%) には違いが認められ、IML についてはすべての群間において有意差が認められた。材料の違いにより、象牙質に浸透し取り込まれるフッ化物イオンの動態が異なり、その脱灰抑制能に影響を与えたものと考えられた。

【結論】レジン添加型ガラスアイオノマーセメントであるクリンプロ XT バーニッシュならびに S-PRG フィラーを含有した歯面コーティング材である PRG バリアコートは、塗布面下の象牙質に対し材料を塗布しない場合と比較して、有意な象牙質脱灰抑制効果を示した。

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齲蝕予防効果

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¹⁾
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²⁾, ルイジアナ州立大学ヘルスサイエンスセンター³⁾

○日下部修介^{1,2)}, 堀田正人¹⁾, 中本哲夫³⁾, H. Ralph Rawls²⁾

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

¹⁾Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,
Asahi University School of Dentistry
University of Texas Health Science Center at San Antonio²⁾, Louisiana State University Health Science Center³⁾
○KUSAKABE Shusuke^{1,2)}, HOTTA Masato¹⁾, NAKAMOTO Tetsuo³⁾, H. Ralph Rawls²⁾

【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。第145回、第146回日本歯科保存学会・学術大会では、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、これらのコーティング材がエナメル質や象牙質の硬さを増加させ歯質の再石灰化を促す可能性があること、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を報告した。

今回の研究では、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の脱灰抑制について検討したので報告する。

【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照射により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、1日ごとに新たなpH4.0の乳酸溶液に置き換えた時の1日後～4日後までのpHを測定した(n=5)。

2) コーティング材によるエナメル質・象牙質の脱灰抑制試験

ヒト新鮮抜去歯の歯冠部エナメル質、セメント質を除去した歯根象牙質の2×2mmの部分以外はコーティング材を塗布し、硬化させた後、pH4.0の乳酸溶液にて脱灰を行った。脱灰前および脱灰後24, 48, 72, 96時間に、脱灰部分の経時変化をQLF法 (Inspektor Proシステム, Inspektor Research Systems) のΔF(%) (平均蛍光強度減少度) を用いて測定を行った。脱灰後それぞれのΔFの変化率 (Δ%=[脱灰後のΔF-脱灰前のΔF]/[脱灰前のΔF]×100) を算出した (n=5)。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

1日後および4日後のコーティング材のpH (1日/4日後) は、①6.41±0.04 / 5.98±0.09, ②6.47±0.02 / 6.06±0.08, ③4.25±0.05 / 4.40±0.04, ④4.04±0.07 / 4.36±0.05であった。S-PRGフィラー含有のコーティング材のpHは経時的に上昇した。また乳酸溶液を1日ごとに置き換えることでS-PRG含有のコーティング材のpHは若干減少したものの、S-PRG非含有のコーティング材のpHは僅かに上昇する傾向を認めた。

2. コーティング材に対するエナメル質・歯根象牙質の脱灰抑制

コーティングを行ったエナメル質の脱灰後24, 96時間それぞれのΔFの変化率 (Δ%, 24/96時間) は、①0.87±0.66 / 3.65±1.46, ②0.65±0.46 / 3.74±1.08, ③2.68±2.22 / 10.21±5.52, ④4.43±2.35 / 14.42±4.58, Control (コーティング材なし) 6.78±3.63 / 28.19±13.35であった。また、象牙質の脱灰後のΔFの変化率 (Δ%, 24/96時間) は、①0.95±0.71 / 4.42±2.53, ②0.91±0.67 / 4.08±2.09, ③3.71±1.90 / 8.71±1.56, ④6.96±5.19 / 30.38±11.93, Control (コーティング材なし) 5.39±2.85 / 26.56±4.88であった。

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、酸中和能を有し、コーティングした周囲歯質 (エナメル質, 歯根象牙質) に脱灰抑制を示すことが示唆された。またテオブロミンは酸中和能を有さず、S-PRGフィラーより脱灰抑制能も劣るものの、両者が合わさることでより安定した効果が期待できると思われた。

S-PRG フィラー抽出液の細胞活性および培地中の血清タンパク質への作用の検討

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

○石樽大嗣¹⁾ 川木晴美²⁾ 新谷耕平¹⁾ 近藤信夫²⁾ 堀田正人¹⁾

Effects of S-PRG eluate on the hDPSC activities and the serum proteins in the culture media

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

○ISHIGURE Hiroshi¹⁾ KAWAKI Harumi²⁾ SHINTANI Kohei¹⁾

KONDOH Nobuo²⁾ HOTTA Masato¹⁾

【研究目的】

S-PRG (surface pre-reacted glass ionomer) フィラーは、表層から表面改質層、ガラスアイオノマー相、ガラスコアの3層構造からなり、表面のガラスアイオノマー相からはフッ素イオン (F⁻) をはじめ、ストロンチウムイオン (Sr²⁺)、ナトリウムイオン (Na⁺)、アルミニウムイオン (Al³⁺)、ホウ酸イオン (BO₃³⁻)、ケイ酸イオン (SiO₃²⁻) 等の種々のイオンが放出する特性をもつ。我々は、S-PRG フィラーから徐放されるイオンによる抗菌性や歯質再石灰化作用が付与された新たな歯科材料の開発、あるいは S-PRG フィラーから徐放するイオンを含有する抽出液を歯科材料として応用するための基礎データを集積するために、異なる S-PRG フィラー/溶媒比での S-PRG フィラーから徐放するイオン種と徐放量の検討、異なる S-PRG フィラー/溶媒比で作製した培地を用いたヒト歯髓由来幹細胞の動態検討、さらに S-PRG フィラー抽出液の新たな応用法の検討として、ヒト血清由来タンパク質の塩析効果を検討した。

【材料および方法】

株式会社松風より提供を受けた、S-PRG 抽出液を異なる希釈率となるよう細胞培養培地を添加した抽出液希釈培地と、S-PRG フィラー：溶媒比を変化させて作製した培地を用いてヒト歯髓由来幹細胞 (hDPSC) を培養し、増殖および、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性を検討した。また、S-PRG 抽出液のタンパク質塩析効果を検討するため、ヒト血清と S-PRG 抽出液の混合比を変えて、沈殿するタンパク質の定量と、タンパク質種の変化を検討するため、等電点電気泳動を行った。

【結果および考察】

培養 48 時間後および 7 日後の hDPSC の生存率を検討したところ、ストロンチウムの含有量の多い培地で増殖が促進され、ホウ素の含有量の多い培地で ALP 陽性の hDPSC が顕著にみられた。この結果を詳細に解析するため、S-PRG フィラー抽出液の希釈率を変えて、その効果を検討している。また、S-PRG 抽出液による血清タンパク質の塩析作用の検討と、沈殿したタンパク質、あるいは上清を添加した培地を用いた hDPSC の細胞動態の検討も行っている。

S-PRG 抽出液により沈殿したタンパク質についての詳細な解析を進めれば、培養系での評価の後、沈殿タンパク質、あるいは上清に残るタンパク質と S-PRG フィラー由来のイオンを含む混合液の応用の可能性も考えられる。

【結論】

溶出条件を変化させることで、溶出するイオンの量比をある程度コントロール可能であったことから、目的に応じて、細胞増殖に有利な S-PRG 抽出液、石灰化誘導を目的とした S-PRG 抽出液、あるいは細胞毒性を抑えつつも抗菌作用を期待した S-PRG 抽出液等、様々な用途に応じた S-PRG 抽出液作製の可能性が示された。

S-PRG フィラー含有量が試作自己接着型レジン系直接覆髄材の 象牙質接着強さに及ぼす影響

日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

○川嶋 里貴, 新海 航一

Effect of functional filler contents on dentin bond strength of the experimental self-adhesive resins for direct pulp capping

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

○KAWASHIMA Satoki, SHINKAI Koichi

【研究目的】

S-PRG フィラーは各種イオンを徐放する機能性フィラーであり、このフィラーから放出される Sr、B および Si は石灰化促進作用や骨形成能を有しているため、直接覆髄材として応用できる可能性がある。これまで我々は、S-PRG フィラー含有ワンステップ型アドヒーズレジンを試作しラット露髄面に応用した結果、比較的高い硬組織誘導能を確認したが、覆髄面へのフィラー迷入が観察されたことを報告した(第138回本学術大会)。歯髄内へのフィラー迷入は異物排除機転により覆髄面の治癒遅延を起こす可能性がある。そこで、エアブロー不要で浸透性が低い S-PRG フィラー含有自己接着型レジン系直接覆髄材を開発した。今回、試作材料の S-PRG フィラー含有量が象牙質の剪断接着強さに及ぼす影響について評価した。

【実験方法】

松風社に委託し、S-PRG フィラー含有量を各々30、40、50 および 60wt%に調整した4種類の自己接着型レジン系直接覆髄材を試作した。耐水研磨紙 #120～#600 を用いてヒト抜去大白歯の咬合面に平坦な象牙質面を形成した後、歯頸部で歯根を除去した。即時重合レジンを用いて試料固定用リング内に歯冠部を固定した後、象牙質平坦面に直径2 mmの円形開窓部を有する両面接着テープを貼付し、透明アクリルチューブ(内径3 mm、高さ3 mm)を植立固定した。チューブ内の象牙質面に各試作材料を約0.5mm塗布し、10秒間放置してからLED光照射器 Pencure 2000 (Morita)を用いて10秒間光照射を行った。その後、ビューティフィル フロープラス F03 (A3, Shofu)を約2mm充填し、20秒間光照射を行った。完成した接着試料は、恒温恒湿器中(37°C、相対湿度95%)に24時間保管後、剪断接着試験用治具に取り付け、小型卓上試験機 EZTest 500N (Shimadzu)を用いて、クロスヘッドスピード1.0 mm/minで剪断接着試験を行った(n=10)。得られたデータは一元配置分散分析を行った後、Tukey法による多重比較検定で実験群間の有意差を検定した($p < 0.05$)。各試料の接着破壊様式を実体顕微鏡 EZ4D (Leica)にて判定した。また、走査型電子顕微鏡 S-800 (Hitachi)を用い、各実験群の代表例について接着破壊面の微細構造を観察した。なお、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-R-292)。

【結果および考察】

各実験群における剪断接着強さの測定結果を下表に示す。Group 2すなわち S-PRG フィラーを40wt%含有する試作材料が最も高い接着強さを示したが、多重比較検定の結果では Group 1、Group 2 および Group 3 の間に有意差はみられなかった($p > 0.05$)。Group 4すなわち S-PRG フィラーを60wt%含有する試作材料の象牙質接着強さは、Group 3との間には有意差を認めなかった($p > 0.05$)が、Group 1 および Group 2 と比較して有意に低かった($p < 0.05$)。試作した自己接着型レジン系直接覆髄材は、S-PRG フィラーの含有量が増加するほど酸性モノマーの含有量が減少するため、Group 4で最も低い接着強さを示したと考えられる。試作材料はいずれも低い象牙質接着強さを示したが、自己接着型は塗布後の放置時間が接着強さに影響することが考えられるため、今後はこの点についても検討する予定である。

【結論】

S-PRG フィラー含有量の異なる自己接着型レジン系直接覆髄材を試作し、それらの象牙質に対する剪断接着強さ試験を行った結果、S-PRG フィラーを40wt%含有する試作材料が最も高い接着強さを示した。

Groups	S-PRG filler contents (wt%)	MPa (mean ± SD)
Group 1	30	2.37 ^a
Group 2	40	2.45 ^b
Group 3	50	2.08
Group 4	60	1.86 ^{ab}

Value with the same superscript letters indicate no significant difference ($p < 0.05$)

ボンディング材における void の形成と接着性能

株式会社 ジーシー
○本多弘輔, 有田明史, 熊谷知弘

Voids Formation and Adhesion Performance of Bonding Agent
GC CORPORATON, Tokyo, Japan
OHONDA KOSUKE, ARITA AKISHI, KUMAGAI TOMOHIRO

【目的】

ボンディング材の接着界面には void が形成され得るという報告があるが, void の形成が接着性能に及ぼす影響は不明である。本研究では 1 ステップボンディング材における接着強さと void の形成について評価した。

【材料と方法】

ウシ下顎前歯の歯冠部を象牙質が露出するまで SiC ペーパー#320 で研磨した。G-プレミオ ボンド (ジーシー, GP) を塗布後 10 秒間放置した後に強圧エア (0.35 MPa, st) または弱圧エア (0.05 MPa, we) で 5 秒間乾燥を行った。もしくは製品 A または製品 B を塗布後業者指示の時間放置し, 弱圧エアで 5 秒間乾燥を行った。直径 2.38 mm の穴の空いたモールド (ULTRADENT) をボンディング処理面に置いて被着面を規定した後に, 光照射を行った。クリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル) をモールド内に充填し, 光照射を行って硬化させた。試験体を 37°C 水中に 24 時間保管した後, 小型卓上試験機 (EZ-S, 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min でせん断試験を実施した (N=5)。得られた結果は一元配置分散分析および Tukey の検定により統計処理を行った ($p < 0.05$)。また, せん断試験後に走査電子顕微鏡 (SU-70, 日立ハイテクノロジーズ) を用いて CR 側の破断面の観察を行った。

【結果と考察】

接着強さを Fig.1 に示す。GP st と B we の間にのみ有意差を認めた。Fig.2 に破断面の SEM 画像を示す。全ての接着条件で void が観察された。GP st, A we, B we では直径 1 μm 程度の比較的小さい void であったが, GP we では 5 μm 程度の大きい void も観察された。適切な乾燥条件では void は小さいが, 乾燥が不十分であると水分の残留により void が大きくなると考えられる。接着強さと void の大きさに明確な相関は認められなかった。

【結論】

1 ステップボンディング材は接着界面に void が形成されても十分な接着強さを発揮する。接着耐久性についても今後検討する予定である。

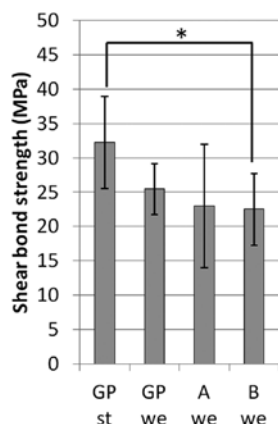


Fig.1 Shear bond strength to dentin
Asterisk indicates significant difference

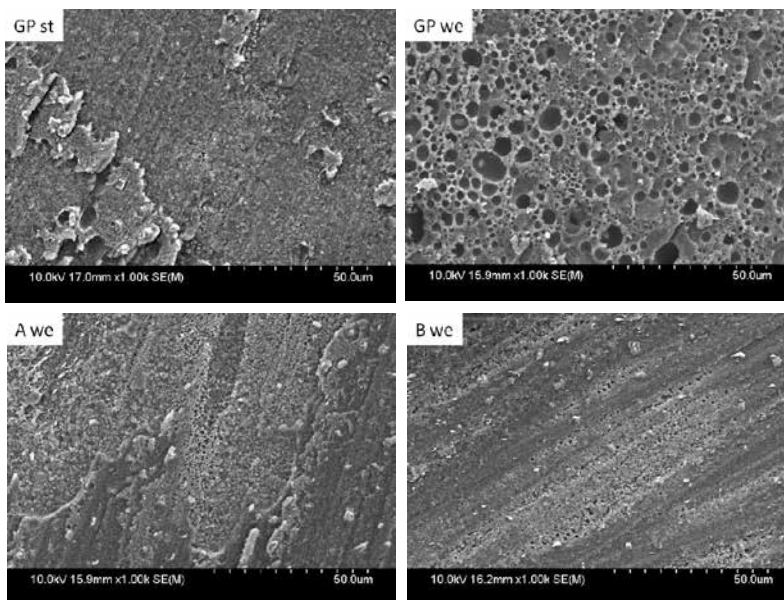


Fig.2 SEM images of fracture surface after SBS test

サンドブラスト処理がユニバーサルシステムの象牙質接着性に及ぼす影響

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 総合歯学研究所生体工学研究部門, ³ 青島歯科医院
○ 舎奈田ゆきえ¹, 高見澤俊樹^{1,2}, 須田駿一¹, 大内 元¹, 村山良介¹, 遠藤 肇¹, 飯野正義¹,
青島 裕³, 宮崎真至^{1,2}

Effect of sandblasting pretreatment on bond strength of universal adhesive systems

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry, Aoshima Dental Clinic³
○ SHANADA Yukie¹, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, SUDA Shunichi¹, OUCHI Hajime¹, MURAYAMA Ryouyuke¹,
ENDO Hajime¹, IINO Masayoshi¹, AOSHIMA Yutaka³, MIYAZAKI Masashi^{1,2}

【研究目的】

近年、コンポジットレジン修復に用いられる接着システムは、歯面処理時間の短縮化および操作ステップの簡便化されたユニバーサルアドヒーズの臨床使用頻度が増加している。しかし、歯質との確実な接着を得るためには、歯質切削時に生じる接着阻害因子であるスミヤー層の除去、あるいは汚染された歯質表層の清掃は必要不可欠である。現在、ユニバーサルアドヒーズを使用するにあたり、様々な前処理法が臨床において用いられているものの、サンドブラスト処理が接着性に及ぼす影響についての報告は少ない。そこで演者らは、サンドブラスト処理がユニバーサルシステムの象牙質接着性に及ぼす影響について、異なる粒径の2種類のアルミナ粒子を用いて、剪断接着試験、接着試験後の破断面の観察および電子顕微鏡観察を行うことによって検討した。

【材料及び方法】

供試したユニバーサル接着システムは、Scotchbond Universal Adhesive (SU: 3M ESPE), G-Premio Bond (GP: GC), 比較対象として Clearfil Mega Bond 2 (MB: クラレノリタケデンタル) の、合計3製品を用いた。コンポジットレジンとしては、クリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル) を使用した。

接着試験は ISO 29022:2013 に準じて行った。すなわち、接着試験片の作製には際しては、被着体としてウシ歯の象牙質を用い、切断した歯冠部を常温重合型レジンに包埋した後、象牙質表面を SiC ペーパー #600 まで研磨した。サンドブラスト処理が接着強さに及ぼす影響を検討するために、27 μm および 50 μm のアルミナ粒子を用いて5秒間サンドブラスト処理を行う群とこれを行わないコントロール群とに規定した。歯面処理後、水洗乾燥を行い、製造者指示条件に従ってエアブローおよび光照射した後、内径 2.38 mm のモールド (ウルトラデント) をクランプで固定してレジンペーストを填塞、照射を行ったものを接着試験用試片とした。次いで、これらの試片は 37°C の精製水中に 24 時間保管後に、万能試験機を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件でその剪断接着強さを求めた。なお、各条件における試片の数は 10 個とし、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。接着試験後の破断面の観察も併せて行った。

また、各条件における象牙質のサンドブラスト処理面に関して、通法に従って SEM 観察を行った。

【成績および考察】

供試した接着システムのコントロール群における象牙質接着強さは 31.3~44.5 MPa であり、アルミナ粒径 50 μm 群で 22.2~35.3 MPa, アルミナ粒径 27 μm 群で 22.5~39.2 MPa の値を示し、いずれの条件においても 50 μm 群で有意に低い値を示した。アドヒーズの種類で比較すると、GP がサンドブラスト処理の影響を受け、接着強さが 27 および 50 μm 群ともに有意に低い値を示した。サンドブラスト処理によって接着強さが低下した理由としては、アルミナ粒子が象牙細管内および脱灰されたコラーゲン線維に残留し、アドヒーズの浸透を妨げた可能性が考えられた。また、アドヒーズによる接着強さの違いがみられたのは、含有されている機能性モノマーの違いによって、アドヒーズの浸透性が異なるためであると考えられた。

【結論】

本実験の結果から、供試した接着システムの象牙質接着強さは、サンドブラスト処理の影響を受けることが判明した。とくに、粒径 50 μm のアルミナにおいてすべての製品において接着強さが低下する傾向が認められた。

異なる歯質接着システムの表層低重合層がエナメル質接着性に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹, 総合歯科学分野², 総合歯学研究所生体工学部門³
日野浦歯科医院⁴, 市石歯科クリニック⁵
○鈴木崇之¹, 辻本暁正^{1,3}, 野尻貴絵¹, 升谷滋行^{2,3},
高見澤俊樹^{1,3}, 宮崎真至^{1,3}, 日野浦 光⁴, 市石芳弘⁵

Influence of oxygen inhibited layer on enamel bonding performance of different dental adhesive systems
Department of Operative Dentistry¹, Department of Comprehensive Dentistry and Clinical Education², Division of Biomaterials Science³, Nihon University School of Dentistry, Hinoura Dental Office⁴, Ichiishi Dental Clinic⁵
○SUZUKI Takayuki¹, TSUJIMOTO Akimasa^{1,3}, NOJIRI Kie¹, MASUTANI Shigeyuki^{2,3},
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,3}, MIYAZAKI Masashi^{1,3}, HINOURA Ko⁴, ICHIISHI Yoshihiro⁵

【目的】

歯質接着システムのアドヒーズシブ表層には、大気中の酸素によって影響を受けた低重合層が存在し、この層は填塞されるコンポジットレジンとの接着には必要と考えられている。一方、低重合層の存在は、接合界面における欠陥となる可能性があるため、これを除去すべきであるとの報告もあり、議論が残っている。そこで、歯質接着システムの表層低重合層がエナメル質接着性に及ぼす影響について、剪断接着試験および界面科学的手法を用いて検討を行った。

【材料および方法】

供試した歯質接着システムは、エッチアンドリンシステムシステムの Scotchbond Multi-Purpose (SM, 3M ESPE), 2ステップセルフエッチシステムの Clearfil Mega Bond (CM, Kuraray Noritake Dental) およびユニバーサルアドヒーズシブシステムの Scotchbond Universal (SU, 3M ESPE) とした。

1. 剪断接着試験

ウシ下顎前歯冠部エナメル質に対して、耐水性 SiC ペーパーの#320 まで研削を行い、これを被着歯面とした。これらの被着歯面に対し、供試した歯質接着システムを製造者指示に従って塗布、光照射し、表層低重合層を有する試片 (以後、残存群) および表層低重合層をエタノール綿で除去した試片 (以後、除去群) とした。これらの試片に対しコンポジットレジンで填塞することによって接着試片を製作し、剪断接着強さを測定した。

2. 表面自由エネルギー測定

剪断接着試験に用いた被着面と同様に調整した試片を、全自動接触角計 (DM500, Kyowa Interface Science) に静置し、ブロナフタレン、ジヨードメタンおよび精製水との接触角を測定し、得られた接触角から拡張 Fowkes の理論式を用いて、表面自由エネルギーを算出した。

3. 走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察

コンポジットレジンとエナメル質との接合状態を検討するため、通法に従って試片を製作し、FE-SEM (ERA-8800 FE, Elionix) を用いて、その接合界面を加速電圧 10 kV の条件で観察した。

4. 統計学的検討

得られた接着強さおよび表面自由エネルギーからその平均値および標準偏差を求め、二元配置分散分析および Tukey の多重比較検定法を用いて、有意水準 5% の条件で検定を行った。

【成績および考察】

SM および CM のエナメル質接着強さは、アドヒーズシブ表層における低重合層の有無に影響を受けなかったものの、SU における残存群の接着強さは、除去群と比較して有意に高い値を示した。歯質接着システムの残存群における表面自由エネルギーは、いずれの接着システムにおいても除去群と比較して有意に高い値を示した。また、残存群における SM および CM の表面自由エネルギーは、SU のそれと比較して有意に高い値を示した。一方、除去群における SM および CM の表面自由エネルギーは、SU のそれと比較して有意に低い値を示した。コンポジットレジンとエナメル質との接合界面の SEM 観察では、いずれの接着システムおよび表層低重合層の有無にかかわらず、良好な接合状態が観察されたものの、その厚さは条件により異なるものであった。

【結論】

歯質接着システムのエナメル質接着性および界面科学的特性は、表層低重合層の有無および接着システムの種類によって影響を受けることが明らかとなった。とくに、シングルステップ接着システムにおいては、表層低重合層の存在はその接着性を向上させることが示された。

止血剤や人工唾液が 新規ユニバーサル1液型ボンディング材の接着に及ぼす影響

クラレノリタケデンタル株式会社
○村山 亮太、野尻 大和、藤村 優介、檜木 信介

Influence of Hemostatic or Artificial Saliva on Bond Strength of Newly Developed One-Step Universal Adhesive

Kuraray Noritake Dental Inc.
○MURAYAMA Ryota, NOJIRI Yamato, FUJIMURA Yusuke, KASHIKI Nobusuke

【研究目的】

近年の歯質修復治療において、操作の簡便性から1液型ボンディング材が臨床に広く受け入れられている。本研究では、クラレノリタケデンタル（以下 KND）より新規に発売されたユニバーサル(多用途)1液型ボンディング材、「クリアフィル ユニバーサルボンド Quick（以下 UBQ）」を用いて、止血剤や人工唾液が接着に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】

- 1) 材料：本研究に使用した1液型ボンディング材は、UBQ (KND) とし、コンポジットレジンとしてクリアフィル AP-X (シェード A3、KND) を使用した。止血剤、人工唾液は、以下を用いた。
ボスミン外用液 0.1% (以下 BS、第一三共)：エピネフリン (アドレナリン) 配合止血剤
TD ゼット液 (以下 TD、ビーブランド・メディコ・デンタル)：塩化アルミニウム配合止血剤
ビスコスタット (以下 VS、ウルトラデントジャパン)：硫酸第二鉄配合止血剤
サリベートエアゾール (以下 SA、帝人ファーマ)：人工唾液
- 2) せん断接着試験：被着体としてウシ下顎前歯を用い、常温重合型レジンに包埋後、象牙質を露出し、表面を#600の耐水研磨紙で研磨した。止血剤 (HS) 又は人工唾液 (AS) による処理は、被着面に対し、(1) 止血剤塗布後 5分放置→エアブロー (HS without rinse)、(2) 止血剤塗布後 5分放置→水洗→エアブロー (HS with rinse)、(3) 人工唾液塗布後 1分放置→エアブロー (AS without rinse)、(4) 人工唾液塗布後 1分放置→水洗→エアブロー (AS with rinse) の4群とした。その後、未処理群 (control) 及び前記処理被着面に UBQ を 3秒処置し、エアブローで乾燥、ペンキュア 2000 (モリタ) で 10秒間光照射した。続いて内径 2.38mm、高さ 2mm のモールド (ULTRADENT) を被着面に固定、AP-X をモールド内に充填後、ペンキュア 2000 で 20秒間光照射を行った。その後、試験片からモールドを取り外し、37°C 水中に 24 時間保管後、オートグラフ AG-I (島津製作所) を用いて、クロスヘッドスピード 1mm/min にて接着強さを測定した (n=5)。測定結果は、one-way ANOVA および Tukey の検定により統計処理を行った (p<0.05)。

【結果および考察】

止血剤や人工唾液を処理した被着面に対する UBQ のせん断接着強さを Table 1 に示す。止血剤については、BS は control 群と有意差は認められなかったが、塩化アルミニウム配合の TD 及び硫酸第二鉄配合の VS は、水洗処理しても control 群と比較して有意に低い接着強さとなることが確認された。また、人工唾液については水洗をしていない群では control 群と比較して有意差に低い接着強さとなるが、水洗することで control 群と同程度に接着強さが回復されることが確認された。

Table 1 Shear bond strength to various contaminated bovine dentin

			MPa (S. D.)
Control			31.0 (3.4) a
Hemostatic (HS)	BS	HS without rinse	26.7 (3.7) ab
		HS with rinse	28.0 (2.0) ab
	VS	HS with rinse	15.7 (3.2) c
		VS	HS with rinse
Artificial saliva (AS)	SA	AS without rinse	20.8 (4.5) bc
		AS with rinse	31.1 (2.1) a

The degrees of statistically significant difference are indicated by different letters (p<0.05)

【結論】

被着面に止血剤が付着した場合、その成分によっては接着に影響を与えることが確認された。また、人工唾液に関しても接着に影響を与えるものの付着面を水洗することにより接着が回復されることが確認された。

ユニバーサルアドヒーズの処理時間短縮がエナメル質接着性に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹⁾、総合歯学研究所生体工学研究部門²⁾、岩崎歯科医院³⁾
○今井亜理紗¹⁾、鈴木崇之¹⁾、細矢由美子¹⁾、高見澤俊樹^{1,2)}、
辻本暁正^{1,2)}、野尻貴絵¹⁾、坪田圭司^{1,2)}、岩崎圭祐³⁾、宮崎真至^{1,2)}

Influence of Reduced Application Time of Universal Adhesives on Enamel Bond Strength

Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾,
Nihon University School of Dentistry, Iwasaki Dental Clinic³⁾

○IMAI Arisa¹⁾, SUZUKI Takayuki¹⁾, HOSOYA Yumiko¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)},
TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, NOJIRI Kie¹⁾, TSUBOTA Keishi^{1,2)}, IWASAKI Keisuke³⁾, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}

【緒言】

歯質に対してトータル、セレクトィブあるいはセルフエッチモードでの使用が可能なユニバーサルアドヒーズの使用頻度が増加している。また、最近では歯面への塗布時間を短縮した製品も臨床応用されており、塗布法の違いと合わせてユニバーサルアドヒーズの臨床操作性は、製品によって異なっている。演者らは、これまで異なるエッチングモードを選択した際にアドヒーズのアクティブ処理の有無が歯質接着性に及ぼす影響について検討してきた。その結果、アクティブ処理の有無はエッチングモードの違いによって、その接着性に影響を及ぼすことを明らかとしてきた。しかし、異なるエッチングモード時の塗布時間の影響に関しては、未だ不明な点が多い。

そこで、ユニバーサルアドヒーズの最適な臨床手技を確立することを目的として、異なるエッチングモードを選択した際の塗布時間の影響について接着試験および破壊形式の分類から検討した。また、処理面および接着界面の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を考察資料とした。

【材料および方法】

ユニバーサルアドヒーズとして、市販の G-Premio Bond (GP, GC)、Scotchbond Univesal (SU, 3M ESPE)、クリアフィルユニバーサルボンド Quick (CU, クラレノリタケデンタル) および Adhese Universal (AU, Ivoclar Vivadent) の 4 製品、試作の K5D-01 (KD, トクヤマデンタル)、SI-R21601 (SI, 松風) の 2 製品、合計 6 製品を用いた。接着試験に際しては、ウシ歯冠部エナメル質を SiC ペーパーの #320 まで研磨を行い被着エナメル質面とした。アドヒーズの塗布条件としては、アドヒーズ塗布に先立ってリン酸エッチングを行った群 (トータルエッチモード) およびこれを行わなかった群 (セルフエッチモード) の 2 群に分けるとともに、各製造者の塗布時間に従いアドヒーズの塗布を行った条件およびアドヒーズ塗布後直ちにエアブローを行った条件の合計 4 群とした。次いで、内径 2.38 mm の Ultradent 接着試験用器具を照射したアドヒーズ面に固定し、レジンペーストを填塞、照射を行ったものを接着試験用試片とした。試片は 37°C 精製水中に 24 時間保管後、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード毎分 1.0 mm の条件で剪断接着強さを測定した。また、剪断接着試験後の破断試片については、その破壊形式の判定のために、実態顕微鏡を用いて 10 倍の倍率で歯質側およびレジン側断面を観察し、界面破壊、レジンあるいはエナメル質の凝集破壊および混合破壊として分類した。なお、試片の数は 10 個としてその平均値および標準偏差を求め、有意水準 0.05 の条件で統計学検定を行った。また、それぞれの条件における処理面およびエナメル質接合界面について、通法に従って走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察用試料を製作し、加速電圧 10 kV の条件で SEM 観察した。

【成績および考察】

供試したユニバーサルアドヒーズのエナメル質接着強さは、いずれのアドヒーズにおいても処理時間の長短にかかわらず、セルフエッチモードに比較してトータルエッチモードで有意に高い値を示した。一方、異なるエッチングモード間で比較すると、その接着強さはアドヒーズおよび処理時間の長短によって異なる傾向を示した。すなわち、トータルエッチモードでの AU および SU においては、処理時間の延長によって接着強さが有意に低下したものの、SI では処理時間の延長によって接着強さが有意に向上した。セルフエッチモードにおいては、いずれのアドヒーズも塗布時間の延長によってその接着強さは向上した。このことは、アドヒーズの処理時間のみならずそれぞれの塗布法もエナメル質接着強さに影響を与える因子であることが示唆された。

【結論】

本実験の結果から、ユニバーサルアドヒーズのエナメル質接着性は、エッチングモードおよび処理時間によって影響を受けることが判明した。

ワンステップボンディング材が歯質の脱灰におよぼす影響

日本大学松戸歯学部保存修復学講座¹, 社会歯科学講座², 生体材料学講座³

○藤田(中島)光¹, 岩井啓寿¹, 熱田 互¹, 並木泰次¹, 内山敏一², 西山典宏³, 平山聡司¹

Effect of one-step adhesive on demineralization aspect

Department of Operative Dentistry¹, Department of Social Dentistry²,
Department of Dental Biomaterials³, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○FUJITA (NAKAJIMA) Kou¹, IWAI Hiroto¹, ATUTA Wataru¹, NAMIKI Yasuji¹,

UCHIYAMA Toshikazu², NISHIYAMA Norihiro³, HIRAYAMA Satoshi¹

【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。

演者らは、これまでに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粉末を反応させ、その上澄み液を解析することによって、MDP カルシウム塩の生成量を決定してきた。このことから MDP カルシウム塩の増加に伴い、歯質接着性が低下することを報告している。

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歯質アパタイトの脱灰を通して生成される反応生成物の解析を固体の³¹P NMR 法および X 線回折法を用いて行い、その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、MDP-Ca 塩の分子種を同定する。また、反応時間を変化させて機能性モノマーMDP と歯質アパタイトの相互作用を検討した。

【材料および方法】

歯質粉末の調整：ダイヤモンドポイントを用いてウシ前歯歯冠エナメル質および象牙質を注水下にて切削し、冷却水をピーカーに集め、デカンテーション法にて、それぞれの切削片を回収した。さらに、切削片を蒸留水で3回水洗した後、20℃恒温室で乾燥させ、歯質粉末を調整した。

反応生成物の解析：ワンステップボンディング材クリアフィルトライエスボンドND Quick(クラレノリタケデンタル)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、³¹P 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³¹P 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。

【結果および考察】

ワンステップボンディング材クリアフィルトライエスボンドND Quickの³¹P NMR スペクトルを測定した結果、反応残渣の³¹P 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、ハイドロ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象牙質ではMDPカルシウム塩の生成量は増大し、さらにエナメル質においてはリン酸カルシウムの新しいピークが生成した。

XRDのピークおよび³¹P 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MDPカルシウム塩が生成された。エナメル質においては反応時間1, 30分および60分でほとんど確認されなかった。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、エナメル質反応を除く象牙質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、30分経過以降ほぼ平行状態となった。

脱灰過程で生成した副生成物は、エナメル質ではリン酸カルシウムが出現した。このように副生成物の経時的な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。

本発表に関連して、開示すべき利益相反関係にある企業はありません。

2 級コンポジットレジン修復で生じる歯質内残留引張応力の直接測定

鶴見大学歯学部保存修復学講座
○岩木達哉, 田崎達也, 英 将生, 山本雄嗣, 桃井保子

Direct measurement of residual tensile stresses in tooth generated by Class 2 resin composite restorations
Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine
○IWAKI Tatsuya, TASAKI Tatsuya, HANABUSA Masao, YAMAMOTO Takatsugu, MOMOI Yasuko

【研究目的】

コンポジットレジン修復では、レジンの重合に伴って接着界面や歯質内、コンポジットレジン内に引張応力が発生する。この応力の減弱・緩和を目的として数多くの検討がなされているが、応力発生抑制には至っていない。

歯質内や接着界面で発生した応力の検討には、有限要素解析による理論値の算出や、応力で生じた歯冠変形量や接着強さからの推測が行われているが、直接に応力測定した報告は見当たらない。そこで本実験では、き裂分析法を用いて、充填方法が異なる 2 級コンポジットレジン修復後の歯質内残留引張応力を直接測定した。

【材料および方法】

1. き裂の導入および窩洞形成

冷蔵保管のヒト抜去上顎小白歯 10 本を使用した (鶴見大学倫理審査委員会承認番号 1306)。頬側エナメル質近遠心ほぼ中央、咬頭頂から約 2 mm の位置に、直径約 1.5 mm の平坦研磨面を形成し、次に 2 級窩洞 (頬舌約 3 mm, 深さ約 3 mm, 近遠心約 4.5 mm) を形成した。研磨平坦面にピッカース圧子を用いて、荷重 9.8 N, 荷重時間 15 秒でき裂を導入した。近遠心方向のき裂長さを測定した。

2. コンポジットレジン充填

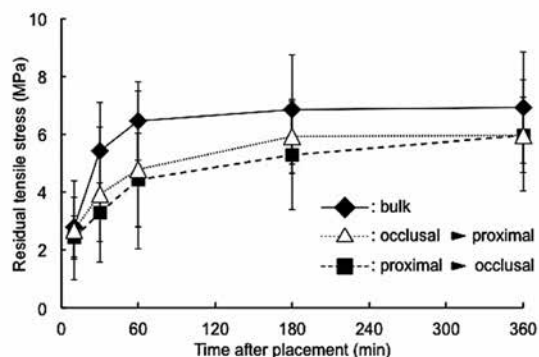
メーカー (クラレノリタケデンタル) の指示に従ってクリアフィルトライエスボンド ND クイックで接着処理し、クリアフィルマジスティ ES-2 (A3) を三種類の方法で充填した: ①一挙充填 (bulk), ②咬合面→隣接面 (occlusal ▶ proximal) の順で充填, ③隣接面→咬合面 (proximal ▶ occlusal) の順で充填。

3. き裂長さの測定

充填直後より試料を 37℃水中保管し、10, 30, 60, 180, 360 分経過時にき裂長さを再度測定した。エナメル質の物性とき裂長さから歯軸方向に発生した引張応力を算出し、統計学的検討を行った ($n=5$, $\alpha=0.05$)。

【成績および考察】

充填後 360 分までの残留引張応力の変化と統計結果を下に示す。



〈統計結果〉

- 二元配置分散分析: 充填方法 $p < 0.05$
経過時間 $p < 0.05$
充填方法 × 経過時間 $p > 0.05$
- Tukey の多重比較: 方法① > 方法③
60 分以降に応力増加なし

隣接面を先に充填すると、歯冠変形が軽減する可能性が示された。また、充填後 60 分で歯質内の応力増加が停止することがわかった。

【結論】

- 2 級コンポジットレジン修復で発生した残留引張応力により、エナメル質内のき裂は進展した。
- 隣接面を先に充填すると、一挙充填よりも残留引張応力は小さくなった。
- 充填後 60 分以降は、引張応力は増加しなかった。

本発表に関連し、開示すべき COI 関係にある企業、メーカーはない。

操作しやすい新規フロアブルコンポジットレジンの開発

株式会社ジーシー
○宮川あずさ, 村田享之, 熊谷知弘

Development of easy handling flowable composite resins
GC CORPORATION, Tokyo, Japan
○MIYAGAWA AZUSA, MURATA TAKAYUKI, KUMAGAI TOMOHIRO

【研究目的】

フロアブルコンポジットレジンとは近年、機械的強度の向上およびペースト性状の多様化に伴い臨床の場で多く使用されている。株式会社ジーシーでは、これまでに様々な窩洞への充填に対応できるよう異なる形態維持性を付与した製品を上市し、好評を得てきた。しかし、さらに押し出し易い製品を要望するユーザーは多く、押し出し易さは改善すべき課題の一つであった。そこで、弊社では従来製品以上の機械的強度、審美性、適度な形態維持性を有しながら、押し出し易さ、糸切れの良さなどの操作性を大幅に改善した新規フロアブルコンポジットレジンを開発した。さらに、スーパーローフロータイプでは、これまで以上の形態維持性を示しながら、従来よりも大幅に押し出し易い特性を獲得した。本発表ではこれら操作性を既存製品と比較して報告する。

【材料および方法】

試験には新規フロアブルコンポジットレジン（スーパーローフロータイプ：NMF 004、ローフロータイプ：NMF 002）、比較対象として弊社既存製品を用いた。押し出し固さはオートグラフ（AG-1S、島津製作所）にシリンジを設置して 10 mm/s でプランジャーを圧縮し、ペーストが吐出され始めた時の荷重を押し出し固さとした。なお、フィリングチップにはニードルタイプを用いた。

【結果および考察】

各製品の押し出し固さとペースト形態を Fig. 1 に示す。NMF 004、NMF 002 のいずれも押し出し固さが既存製品の 1/5 程度と非常に押し出し易くありながら、さらに NMF004 では優れた形態維持性を有している。既存製品では形態維持性を主にフィラー粒径に起因するペースト粘度で制御していることから、形態維持性が高いほど押し出しが固くなっていた。そこで、NMF 004、NMF 002 ではフィラー形状の最適化、新しく開発した独自のナノフィラー表面処理技術を用いることで、ペースト粘度に依存しない高度なチキソトロピー制御が可能となり、自在に形態をコントロールできるようになった。本技術によるペースト粘度の低減、フィラーとモノマー間の濡れ性の向上により、押し出し易さが改善されたと考えられる。

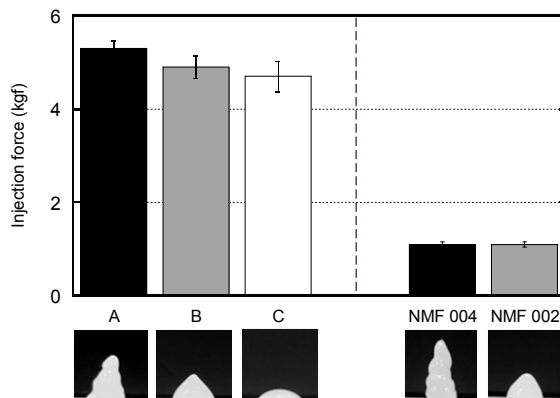


Fig.1 Injection force and shape of NMF 004, NMF 002 and conventional composite resins

【結論】

フィラー形状の最適化、新しく開発した独自のナノフィラー表面処理技術によるチキソトロピー制御、フィラーとモノマー間の濡れ性の改善により、ペーストの自在な形態コントロールとさらなる押し出し易さの付与を実現した。

Comparative Evaluation of TCD-DI-HEA, Bis-GMA or UDMA Resin-based Composites - Basic Mechanical Characteristics -

東北大学大学院歯学研究科口腔修復学講座歯科保存学分野
○兼平正史、遠藤達雄、齋藤正寛
Division of Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry,
Tohoku University Graduate School of Dentistry,
OKANEHIRA Masafumi, ENDO Tatsuo, SAITO Masahiro

【 Purpose 】

In order to decrease massive shrinkage and shrinkage stress during polymerization, TCD-DI-HEA resin-based composite resin was developed. Nano-hybrid composite has been proven to deliver superior surface smoothness for easy polishability, superior polish retention, exceptional wear resistance and outstanding physical properties. The aim of this study was to analyze flexural strengths and moduli of newly developed TCD-DI-HEA resin-based composite restorative material containing nano-hybrid fillers, Bis-GMA or UDMA resin-based composite restorative materials.

【 Materials & Methods 】

Three nano-hybrid composite resin: Exp. Charisma Topaz (**EXP**, TCD-DI-HEA, Heraeus Kulzer), Filtek Supreme XTE (**FIL**, UDMA, Bis-EMA(6), PEGDMA, TEGDMA 3M), Tetric N-Ceram (**TNC**, UDMA, Bis-GMA, Ethoxylated Bis-EMA, Prepolymers, Ivoclar Vivadent), five micro-hybrid composite resin Gradia Direct (**GD**, UDMA, dimethacrylate co-monomers, GC), G-aenial (**GAE**, UDMA, NPG, GC), Esthet · X HD (**EXH**, Urethane modified Bis-GMA dimethacrylate, Polymerizable dimethacrylate resins, Dentsply), XRV Herculite (**XRV**, UDMA, Bisphenol A ethoxylate dimethacrylate, 1,6-Hexanediol dimethacrylate, TEGDMA, HDODA, Kerr), FILTEK Z250 (**Z250**, Bis-GMA, UDMA, Bis-EMA(6), TEGDMA, 3M), one Supra-nano filled composite Estelite ΣQuick (**EQ**, Bis-GMA, TEGDMA, Tokuyama), were tested.

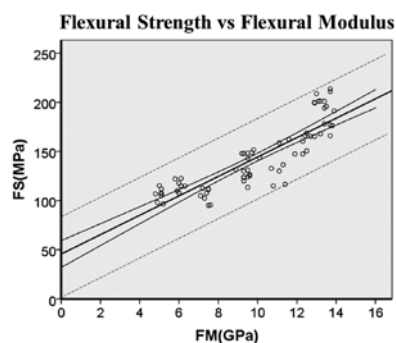
Flexural strengths and moduli were determined with a three-point bending test. Eight specimens per composite were prepared in split steel molds (inner space is 2 mm wide, 2 mm thick, 25 mm long). The specimens were irradiated for 1 min from each side using LED Light (G-Light, GC Corp, Tokyo, Japan, 1200mW/cm²) with slow reciprocating mode. The specimens were then light activated in a laboratory curing unit (Alpha-Light, Morita, Yono city, Saitama prefecture, Japan) for 5 min from upper side. All specimens were stored in distilled 37°C water for 24 h prior to loading in a three-point bending device (20 mm span width) in a universal testing machine (Type 5943, Instron Corp, Canton, MA, USA) at 1mm/min cross head speed. Each resin composite sample was sputter-coated with Pt for SEM examination (Type VE-8800, Keyence Inc.) and photographs were taken of representative areas at 1000x and 3000x magnifications.

【 Results 】

TCD-DI-HEA resin-based composite resin showed the significantly highest flexural strength. On the other hand, the highest flexural moduli were observed by Z250 (≥EXP). There were statistically significant differences in flexural strength and moduli among the composite resins. Relatively small and uniform fillers were observed in EXP, EXH, TNC, Z250, XTE and HRV, whereas various sizes of fillers were observed on SEM photographs of GD, GAE and EQ.

【 Discussion & Conclusion 】

The result of this study showed that flexural strengths and moduli of the composite resins varied among the products tested. This variation might be explained by compositional differences in polymeric matrix, kind and size of fillers, and coupling between fillers and matrix.



充填用コンポジットレジンの色調に関する検討

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野
○大原直子, 小野瀬里奈, 松崎久美子, 澁谷和彦, 横山章人, 神農泰生, 山路公造, 吉山昌宏

Study on the color of direct restorative composite resin

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,
○OHARA Naoko, ONO Serina, MATSUZAKI Kumiko, SHIBUYA Kazuhiko, YOKOYAMA Akihito,
SHINNO Yasuo, YAMAJI Kozo, YOSHIYAMA Masahiro

【目的】

コンポジットレジンの適応範囲が拡大し, 多くの種類のコンポジットレジンが市販されているが, 同一シェードのコンポジットレジンであっても色調が異なる. また, 窩洞の背景色による影響も異なり, コンポジットレジンの種類やシェードの選択が修復の審美的なクオリティを左右すると考えられる. 本研究はコンポジットレジンの指標となる基礎的データを構築することを目的とし, 充填用コンポジットレジンにおける背景色およびコンポジットレジンの厚みに対する色調の検討を行った.

【材料および方法】

ペーストレジンとしてクリアフィルマジスティ ES-2 (クラレノリタケデンタル, 以下, ES2) A3 と OA3, クリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル, 以下, AP) A3, エステライトΣクイック (トクヤマデンタル, 以下, ΣQ) A3 と OA3, ビューティフィルII (松風, 以下, BF2) A3 と A30, フロアブルレジンとしてクリアフィルマジスティ ES フロー Low (クラレノリタケデンタル, 以下, ES フロー) A3, MI フィル (GC, 以下, MI フィル) A3, ビューティフィルフロプラス (松風, 以下, BF フロー) A3 を使用した. モールドにコンポジットレジンを充填し, 上下面をセルロイドストリップスとガラススライドで圧接後, 光照射器 (ペンキュアー2000, モリタ製作所) にて重合を行い, 直径 8mm, 厚さ 1mm, 2mm, 3mm の試料を各 5 個作製した. 背景に白色板あるいは黒色板を用いて, L*, a*, b* の値を分光色彩計 SE6000 (日本電色工業) にて測定し, C*ab 値, TP (translucency parameter) 値を算出した.

【結果及び考察】

L*値は, 黒背景ではコンポジットレジンの種類による差違が明確になり, オペークシェードのΣQ (OA3) と BF2 (A30) が高い値を示した. ES2 (OA3) は, ES2 (A3) の L*値と同程度であった.

a*値は, BF フロー (A3) が高く, MI フィル (A3) が低い値を示した. 厚さ 1mm の BF2 (A30) は, 高い a*値を示したが, 厚みが増すにつれて低下した. これは試料の厚みが 1mm を超えると, オペークの遮蔽効果のために白味が強調されたためと考えられる.

b*値は, ΣQ (A3), ΣQ (OA3), BF2 (A30) が高い値を示した.

C*ab 値は, 黒背景よりも白背景の場合に高い値を示し, 厚さ 1mm の ΣQ (A3), BF2 (A30), ΣQ (OA3) が高い値を示した.

TP 値は厚さ 1mm の ES フロー (A3), MI フィル (A3) が高い値を示した. BF フロー (A3) も高めの値を示したことより, フロアブルレジンは透明性が高い傾向にあると考えられる. 一方, オペークシェードの ES2 (OA3), ΣQ (OA3), BF2 (A30) の TP 値は低い値を示した.

【まとめ】

同一の A3 シェードでも明度, 彩度, 透明性に特色があることが明らかとなった. 各種コンポジットレジンの色調の特徴を生かした修復を行うためにさらなる検討が必要である.

コンポジットレジン「エッセンシア」の色調特性

株式会社ジーシー
○村田享之, 熊谷知弘

Color property of composite resin “Essentia”

GC CORPORATION, Tokyo, Japan
○MURATA TAKAYUKI, KUMAGAI TOMOHIRO

【研究目的】

コンポジットレジンによる修復治療において、優れた審美性を実現するために異なる色調のコンポジットレジンを経層するレイヤリングテクニックが用いられる。しかしながら、従来のコンポジットレジンでは、VITA Classical Shade Guide に準拠した明度、彩度、色相が異なる多数のシェードから歯科医師が最適な色調を選択する方式であり、術者の手技に大きく依存するシステムであった。そこで弊社では、天然歯のエナメル質及び象牙質それぞれの加齢による色調変化を再現する新しい色調コンセプトからなるエナメル色とデンチン色を積層充填するデュオレイヤリングシステム「エッセンシア」を開発した。本発表では、エッセンシアの色調特性について評価したので報告する。

【材料および方法】

試験にはエッセンシア(ジーシー)のライトエナメル(LE)、ダークエナメル(DE)、ライトデンチン(LD)、ミディアムデンチン(MD)、ダークデンチン(DD)を使用した。

直径 15 mm, 高さ 1mm の金属リングに各ペーストを充填して圧接した。G-ライトプリマ II(ジーシー)で9か所を10秒間光照射した。裏面も同様に光照射した。金属リングから硬化体を取り出し、分光測色計(CM-3610d, KONICA MINOLTA)を用いてMunsell 表色系における明度(Value)と彩度(Chroma)を測定した。

【結果および考察】

エッセンシアの各色調の硬化体の測色結果を Fig. 1 に示す。デンチン色である LD, MD, DD においては、LD は明度が高いが彩度は低く、DD は明度が低い彩度は高く、MD はそれらの中間の色調であった。エナメル色である LE, DE も同様に、LE は明度が高いが彩度は低く、DE は明度が低い彩度は高かった。

天然歯は、萌出直後は明度が高く、経年変化によって明度が低下し彩度が高くなることが知られている。エッセンシアはその経年変化に対応できるような色調であり、そのため、少ない色調で多くの症例に対応することができると考えられる。

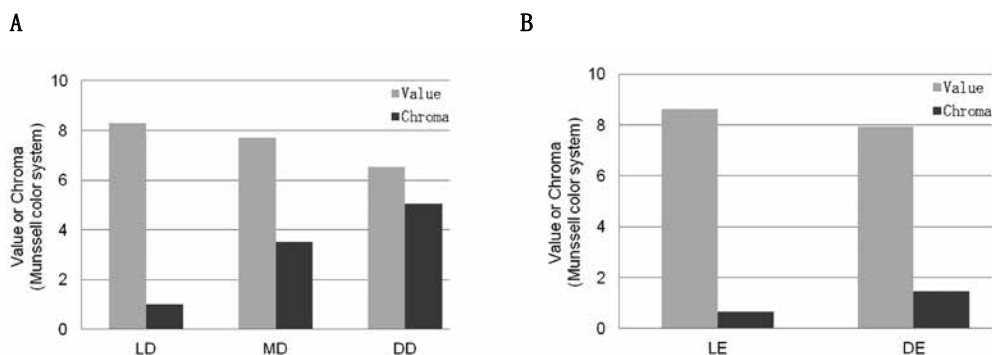


Fig.1 Value and Chroma of Essentia

A : Dentin shade, B : Enamel shade

【結論】

エッセンシアは、天然歯と近似した明度、彩度及び光散乱特性であるエナメル色とデンチン色を積層充填することで、少ない色調で多くの症例に対応でき、優れた審美修復を容易に実現することが可能となった。

異なる種類のフィラーが1液型ボンディング材の 粘性, 耐久性に与える影響

¹岡山大学病院新医療研究開発センター, ²岡山大学歯学部マルチメディア共同利用室
³岡山大学歯学部先端領域研究センター, ⁴北海道大学歯学研究科生体材料工学教室
○¹吉原久美子, ²小河達之, ³長岡紀幸, ³吉田靖弘

The effect of different fillers on viscosity and durability of one-step self etch adhesive

¹Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, ²Dental School Cooperative Research Facilities of Multimedia, ³Advanced Research Center for Oral and Craniofacial Sciences, Okayama University, ³Department of Biomaterials and Bioengineering, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

○Kumiko YOSHIHARA¹, Tatsuyuki Ogawa², Noriyuki NAGAOKA³, Yasuhiro YOSHIDA³

【研究目的】

接着性レジン, 審美的にも優れ, 歯質の侵襲を最小限に抑えた治療が可能のため, 臨床で汎用されている。しかし, 長期的に見ると材料の劣化を避けることはできず, 如何に耐久性を向上するかが今後の鍵となる。劣化の一つの現象として, 歯質接着材に含まれるフィラーが, 長期間に渡って水にさらされることにより脱落しやすくなることが報告されている。これはフィラーのシランカップリング層の劣化によるものだと考えられるが, この分野に関しての研究はほとんど見受けられない。そこで本研究では, フィラーの種類や処理方法がボンディング層内部におけるフィラー耐久性に与える影響について検討した。

【材料および方法】

試作接着材に添加するフィラーとして, 未表面処理シリカフィラー, シランカップリング処理シリカフィラー, アルミナフィラー, ジルコニアフィラーを用いた。それぞれのフィラーの形状を走査電子顕微鏡(SEM)で観察した。

10-MDP含有の1液性の接着材を試作し, それぞれ5%のフィラーを添加した。比較としてトライエスポンドNDクイックを用いた。

試作ボンディング材の粘性は, 音叉振動式粘度計を用いて測定した。また, 接着界面観察サンプルとして岡山大学生命倫理審査委員会での倫理承認を受けた抜去大白歯10本(研1606-08)を用い, 被着象牙質を#600で研磨後, それぞれの接着材を塗布し, 10秒後エアブローし, 10秒間光照射を行った。さらにコンボジットレジンとしてCLEARFIL Protect Liner F(クラレノリタケデンタル)を築盛し, 光照射後37°Cの水中に保管した。24時間後, 幅約1mmの短冊状に切り, 半分はレジンに包埋し, 残りの半分は37°Cの水中に1年保管後レジン包埋し, ミクロトームで薄切後, TEM観察した。

【結果】

右図は, フィラーをSEM観察した結果である。すべてのフィラーで1次粒子が凝集した立体構造であることがわかった。1次粒子は, シリカが大きく, ジルコニア, アルミナの順に小さいが, 大きな差は観察されなかった。

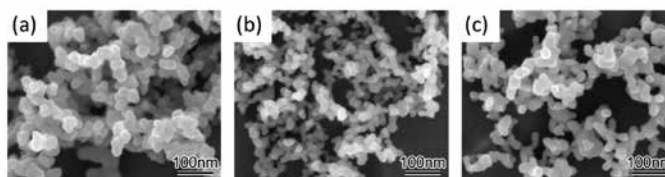


Fig. SEM observation of different fillers. (a) SiO₂, (b) Al₂O₃, (c) ZrO₂

接着材の粘性は, フィラーなし<ジルコニアフィラー<シリカフィラー<アルミナフィラー<シランカップリング処理ありフィラー<トライエスポンドNDクイックの順であった。TEM観察から, シリカフィラーとトライエスポンドNDクイックは, 1年水中保管するとフィラーの脱落が認められたが, アルミナ, ジルコニアフィラーではフィラーの脱落がほとんど認められなかった。

【考察および結論】

フィラーを接着材に添加することで, 増粘性やチキソトロピー性を付与できることが知られている。フィラーの種類により比重が異なることから, 添加されたフィラーの体積が異なるために, 接着材の粘性に大きく影響を与えることがわかった。アルミナ, ジルコニアフィラーの接着界面観察サンプルは, 37°Cの水中に1年保管後でも, フィラー脱落のない耐久性を示した。これは接着材中の10-MDPがフィラーに吸着した, 強固にカップリングされたことが影響していると推察された。

ファイバーポストとコア材の初期の引き抜き強さ

¹⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野

²⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 総合歯科学分野

³⁾ 岡山大学病院 新医療開発センター

○入江正郎¹⁾, 武田宏明²⁾, 鳥井康弘²⁾, 吉原久美子³⁾, 松本卓也¹⁾

Pull out force between fiber post and core materials at initial stage.

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

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

○Masao IRIE¹⁾, Hiroaki TAKETA²⁾, Yasuhiro TORII²⁾, Kumiko YOSHIHARA³⁾, Takuya MATSUMOTO¹⁾

【 緒言 】

最近、レジン系支台築造材料やファイバーポストに関心が高まりつつある、今回はその一環としてポストとコア材の引き抜き強さを検討した。すなわち、レジン修復同様、ポストとコア材による修復処置直後の維持力、接着性は危惧する点である。そこで硬化直後と1日後の引き抜き強さを測定し、硬化初期の維持力を把握することを目的とした。

【 材料と方法 】

下記の Table に使用したコア材と処理材、およびポスト（極力φ1.6 mm）を示す。テフロンモールド（厚さ 5 mm、維持装置の部分は内径 8 mm、植立部分は内径 3.6 mm）にコア材を充填、植立装置を用いて中心部にポストを植立、光照射（20×4 sec.）し、硬化後テフロンモールドから撤去、コア材とポストを試作装置で固定して、硬化直後と1日間 37℃蒸留水中浸漬後の引き抜き強さを測定、値を kgf で表示した。

【 結果と考察 】

下記の Table に硬化直後と1日後の維持力を示す。各システムそれぞれ硬化直後は 19 - 35 kgf、1日後は 25 - 40 kgf を示した。直後と1日後の値を比較すると、有意に優れた値を示したシステムもあれば、有意差がないシステムもあった（ $p=0.05$ ）。ポストの形状（尖頭部の形状、測定時により確実な保持力を発揮させるための長さ）、処理材やコア材の機械的強さ、それらの経時的な変化等いろんな要因が考えられる。よって、今回の結果からは各システム間を単純に比較はできない。今後、長期的な水中浸漬による影響も検討したい。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 Pull out force (kgf) between fiber post and core materials

Core or cement material / Fiber post (Pretreating agent, Manufacturer)	Mean (S.D.)		t-Test ^a
	Immediate	After one-day	
RelyX Ultimate / RelyX Fiber Post (Scotchbond Universal Adhesive, 3M)	25.9 (4.1)	29.2 (2.6)	S
RelyX Unicem 2 Automix / RelyX Fiber Post (3M)	23.5 (2.3)	28.0 (1.5)	S
MultiCore Flow / FRC Postec Plus (Monobond Plus, Ivoclar Vivadent)	21.8 (3.5)	26.0 (2.0)	S
UniFil Core EM / GC Fiber Post (GC Ceramic Primer II, GC)	23.4 (4.1)	23.4 (2.9)	NS
UniFil Core EM / GC MI Core Fiber Post (GC Ceramic Primer II, GC)	24.7 (4.0)	24.2 (3.4)	NS
BeautiCore Flow Paste / BeautiCore Fiber Post (Shofu Porcelain Primer, Shofu)	33.7 (4.7)	41.1 (3.2)	S
ESTECORE / Tokuyama FR Post (K5D-01, Tokuyama Dental)	36.1 (3.3)	39.3 (3.5)	NS
<i>i</i> -TFC system Post Resin / <i>i</i> -TFC system Fiber Post (<i>i</i> -TFC system Fiber Post Primer, Sun Medical)	27.7 (4.2)	33.9 (4.0)	S
Clearfil DC Core Automix ONE / Clearfil AD Fiber Post (Clearfil Bond SE ONE + Clearfil Porcelain Activator, Kuraray Noritake)	29.9 (1.4)	31.8 (2.1)	NS
Clearfil DC Core Automix ONE / Clearfil AD Fiber Post (Clearfil Universal Bond <i>Quick</i> + Clearfil Porcelain Activator, Kuraray Noritake)	30.5 (3.1)	31.3 (3.9)	NS
Clearfil DC Core Automix ONE / BeautiCore Fiber Post (Clearfil Universal Bond <i>Quick</i> + Clearfil Porcelain Activator)	35.6 (4.3)	43.7 (4.4)	S

^a: Significantly different by *t*-Test between the two results. S: Significant difference ($p<0.05$), NS: Not significantly difference ($p>0.05$), N=10

抗菌性表面処理剤の歯科への応用 (Ⅲ)

—抗菌性シランカップリング剤の抗菌効果—

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・バイオマテリアル分野¹, 微生物感染学分野²,

○三宅 香¹, 和田悠希¹, 亀山祐佳¹, 緑野智康¹, 大橋 桂¹, 浜田信城², 二瓶智太郎¹

Application of surface modifier having antibacterial potency in dentistry (Ⅲ)

—Antimicrobial effect of antimicrobial silane coupling agent—

Div. of Clinical Biomaterial¹, Div. of Microbiology², Dept. of Oral Science,
Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○MIYAKE Kaori¹, WADA Yuuki¹, KAMEYAMA Yuka¹, MIDONO Tomoyasu¹,
OHASHI Katsura¹, HAMADA Nobushiro² and NIHEI Tomotaro¹

【研究目的】

急速に高齢化が進む我が国では、口腔常在菌と全身疾患との関連が注目され、口腔ケアの重要性に対する認識の高まりから歯の喪失率は減少傾向にある。しかし、未だ高齢者の半数以上が義歯を使用しており、口腔ケアが必ずしも十分であるとは言えない現状である。義歯はプラークの蓄積を促すことは周知の事実であり、義歯に付着したプラークが原因で細菌感染症を生じ、誤嚥性肺炎やそのほかの全身疾患を引き起こすと報告されている¹⁾。したがって、口腔内のバイオフィルム形成を低減させることにより、齲蝕および歯周疾患の減少に止まらず、高齢者の口腔粘膜疾患、誤嚥性肺炎も減少させることが可能であると考えられ、予防・治療法における新規開発研究の必要性が示唆されている。我々は、材料表面への抗菌性の付与を目的として第4級アンモニウム塩の構造を有するシランカップリング剤 *N*-allyl-*N*-decyl-*N*-methyl-*N*-trimethoxysilylpropylammonium iodide (10-I) を合成し、細胞毒性は有さず、カンジダ菌や齲蝕、歯周病原菌に対し抗菌効果を示すことを報告した^{2, 3)}。本研究では、合成したシランカップリング剤を MMA 系レジンに添加し、カンジダ菌に対する抗菌活性を生菌数により検討した。

【材料および方法】

1. 試料の作製

供試菌は *Candida albicans* ATCC 10231 株 (住商ファーマインターナショナル株式会社) を用いた。超速硬性常温重合レジン (ユニファストⅢ, ジーシー) の液体に 10-I の濃度が 400 および 800 ppm になるよう加え、φ25 mm×5 mm の試料を作製した。室温下で 24 時間放置後、回転研磨機にて耐水研磨紙 #4000 まで研磨した後、30 分間超音波洗浄を行い、乾燥後、接触式表面性状機 (Surfcom 590A, 東京精密) にて表面粗さを測定し、中心線平均粗さが約 0.05 μm 以下である試料を用いた。測定後、エチレンオキサイドガスにより滅菌し実験に供した。また、10-I を添加しない対照試料も同様に作製した。

2. 生菌数測定

前培養した *C. albicans* と各試料を 6 穴ウェルプレートの各ウェルに 1 枚ずつ設置し、一定振盪下で 37°C, 24 時間好気培養した。培養終了後、各ウェルの生菌数を算出し、生菌数を計測した。得られた値は、一元配置分散分析により有意水準 5% で統計処理を行い、有意差が認められた場合にはさらに Tukey's の多重比較検定を行った。

【結果】

各実験群の生菌数は、400 ppm 群および 800 ppm 群は対照群と比較して有意に低い値を示した ($p < 0.05$)。減少率は、400 ppm 群、800 ppm 群ともに約 41% であり減少傾向を示した。

【考察】

義歯性口内炎の原因菌である *C. albicans* は、弱酸性下でも発育する真菌である。義歯床下は唾液による自浄作用を受けにくく、その部位の pH が酸性になるため、*C. albicans* の温床となる。今回供試した 10-I は、義歯材料に添加することが可能であり、また完成後の義歯床に塗布あるいは洗浄剤として用いることも可能である。これまで我々が進めた実験結果より、10-I は *Candida albicans* を含む他の口腔細菌や多種多様な細菌から構成されるバイオフィルムにも抗菌作用を有することを確認している。したがって、本研究結果から、10-I を添加または塗布した義歯床は、義歯性口内炎の予防のみならず、誤嚥性肺炎などの全身疾患の併発の抑制、あるいは予防効果が発揮されることが示唆された。

【参考文献】

1. 米山武義. 老年歯学 1997 ; 35 : 167-171.
2. 三宅 香ら. 日本歯科保存学雑誌, 54 (6) : 393-398, 2011.

接着剤中のシランカップリング剤がシリカ系セラミックスの接着強さに及ぼす影響

株式会社トクヤマデンタル
○滝田京子、岸裕人、秋積宏伸、平田広一郎

Influence of Silane Coupling Agent in Adhesive on Bond Strength of Ceramics

Tokuyama Dental Corporation

○Kyoko Takita, Hiroto Kishi, Hironobu Akizumi, Kouichiro Hirata

【緒言】

近年、治療の簡便化を目指し、歯質と補綴物の双方に対して接着性を有するユニバーサル型の接着剤が開発されている。しかしながら、あらゆる成分を一つにまとめたオールインワン型の接着剤では、シリカ系セラミックスに対して接着するシランカップリング剤の保存安定性に課題が残されている。酸成分及び水との混在により、シランカップリング剤の加水分解反応と脱水縮合反応が進行し、保存に伴い接着性能を失うことが原因である。そこで、トクヤマデンタルではシリカ系セラミックスに対する接着性の高さで良好な保存安定性の両立の達成するため、A液に酸成分を、B液に水と新規に採用したシランカップリング剤 γ -MPTES を配合した新規ユニバーサルボンド「K5D-01」を開発した。本研究では、 γ -MPTES と加水分解速度の異なる二種のシランカップリング剤 γ -MPTS 及び γ -MPTiPS を用いて、「K5D-01」の有用性を確認した。

【材料及び方法】

1. 以下の組成にて A 液, B 液を調製した (Table1)。B 液にはシランカップリング剤 (X) として γ -MPTS, γ -MPTES, γ -MPTiPS を添加したものをそれぞれ調製し、以下の試験に用いた (Table2)。

Table1. Composition of the adhesive materials

Liquid.A	Organic solvent/Phosphoric acid monomer/Methacrylic monomer/Others
Liquid.B	Organic solvent/Water/Polymerization initiator/Silane coupling agent (X)/Others

Table2. Silane coupling agent (X)

γ -MPTS	γ -MPTES (K5D-01)	γ -MPTiPS
Fast←	Hydrolysis rate	→Slow

2. 調製直後のポーセレン引張接着強さの測定：

被着体として #800 の耐水研磨紙で研磨したポーセレンを用いた。調製直後の A 液と各 B 液を混和後、ポーセレンに塗布しエアブローを行い、同液を金属製アタッチメントに塗布しエアブローを行った。エステテム (トクヤマデンタル) を同金属製アタッチメントに塗布し、圧接したものを引張接着試験用試験片とした。これら試験片を 37°C 湿度 100% の恒温恒湿槽で 1h 放置した後、37°C の水中で 24 時間保存し、「調製直後の初期試験片」とした。また、その後熱衝撃試験機 (東京技研社製) に入れ、5°C、55°C の水槽に各 30 秒間浸漬するサーマルサイクルを 3000 回繰り返したものを「調製直後の TC3000 回試験片」とした。それら試験片は万能試験機 (島津製作所製:AG-1) を用いて引張速度 2mm/min にて引張試験を行ない、試験片は 4 個としその平均値を求め、Turkey の HSD 検定 (危険率 5%) を用いて統計解析を行なった。

3. 保存後のポーセレン引張接着強さの測定：30°C の恒温器に 21 カ月間保存した各 B 液と調製直後の A 液を用いて、上記と同様の方法を用いて「保存後の初期試験片」及び「保存後の TC3000 回試験片」を作製し、引張試験を行なった。

【結果】

γ -MPTS では調製直後に高い接着強さを示したものの、加水分解速度が速く、それに続く縮合反応も速く進行したことにより、保存後に低い接着強さを示した。 γ -MPTiPS では加水分解速度が遅いため、保存後には高い接着強さを示したものの、酸が含まれる A 液との混合後も加水分解されにくく、調製直後に低い接着強さを示した。 γ -MPTES は少しずつ加水分解が促進するため、調製直後、保存後ともに高い接着強さを示した。

【結論】

「K5D-01」では酸と水・シランカップリング剤を別包装してシランカップリング剤の保存安定性を向上させた。さらに、シランカップリング剤の種類を検討し加水分解速度をコントロールすることで、シリカ系セラミックスに対して調製直後から長期保存後まで高い接着強さが継続することを見出した。

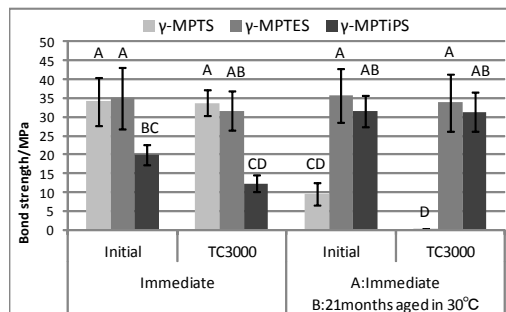


Figure1. Tensile bond strength to porcelain

長期保管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 Prolong-stored Universal Adhesives to Repair Ceramic Restoration.

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 Ryouyusuke, Kudo Yoshiyuki and Noda Mamoru

【目的】

近年, セラミック材料の補修復にユニバーサルタイプの接着システムが使用されることが多くなっている. このシステムは, 歯質, 金属, セラミックなどの異なる被着面に簡便な操作で接着可能であり, 良好な臨床成績が報告されている. 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, 144回本学会で報告を行った. 短期的接着強度は良好であったが, 材料の保管条件の接着強度への影響は不明であった. そこで本研究では, 長期保管後のユニバーサルタイプ接着システムの接着強度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, 使用期限内(室温下保存, NEW)と使用期限経過後(室温下保存, Old) Ceramic Primer II (CP), Scotch bond Universal Adhesive (SU)および Universal Primer (UP)と各種業者指定のボンディング材を使用した. 被着体セラミックは GN Ceram Block (GNC), 補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分間蒸留水中で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)を置き, フロアブルコンポジットレジン1.5mmの厚さで2度積層充填した. 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, 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】

それぞれのユニバーサル接着システムの引っ張り接着強さの結果を Fig. に示す.

すべての接着システムで New と Old 間で有意に引っ張り接着強さは低下した.

接着強さの低下は保管中の容器内での化学変化の影響を示唆しているが詳細な検討が必要と思われた.

【結論】

ユニバーサルタイプ接着システムは保管中に容器内で何らかの化学変化を起こし接着力が低下する可能性がある.

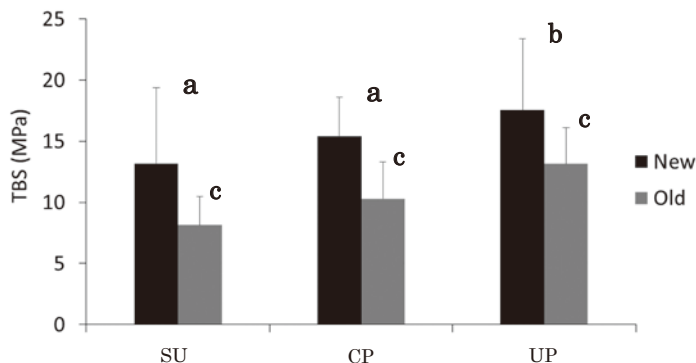


Fig. Tensile Bond Strength of Prolong-stored Universal Adhesives to Repair Ceramic Restoration.

Different letters represent significant differences(P<0.05)

エナメル質，象牙質かつジルコニアに対して有効な水溶性 M-TEG-P™ を含む接着前処理材

山本貴金属地金株式会社

○坂本 猛，水田 悠介，木村 洋明

Pretreatment agent contained a water soluble M-TEG-P™ for adhesion of enamel, dentin and zirconia

Yamamoto Precious Metal Co., Ltd.

○SAKAMOTO Takeshi, MIZUTA Yusuke, KIMURA Hiroaki

【目的】

歯科の接着では，初期接着力の補強と耐久性を強化する目的で前処理材を使用する．各材質の材料に対して専用の優れた性能のエッチャント液，プライマー，クリーナーはあるが，用途が細分化されており，総合的に使用可能な前処理剤がないのが，大きな課題の1つである．

歯質の前処理剤として，酸性の液材であるエッチャント液が使用されるが，エナメル質と象牙質に共通して有効に使用できるわけではない．エナメル質用エッチャント液にはリン酸酸性の液材が多用されているが，これを象牙質の接着前処理に使用すると，接着力低下の原因となり得る．これは，過度の脱灰によるコラーゲン線維の委縮などがおこり，その後の接着材成分の浸透が起りにくくなるからと考えられている．一方で，象牙質用エッチャント液は，リン酸より酸性度の低いカルボン酸などの有機酸が使用されているが，これをエナメル質に適用した場合，短時間では十分な脱灰が起らず，期待した目的で前処理が達成されない可能性がある．さらに，エナメル質と象牙質が混在する窩洞に，このようなエッチャント液を使用する場合，前述の理由で，エッチャント液を塗り分けて処理することが必要である．しかしながら，エッチャント液は最終的に水洗して洗い落とすのが一般的である．従って，たとえ塗り分けたとしても洗浄液が互いの歯質に区別なく接触するので，エナメル質や象牙質の処理の仕分けは物理的な工夫が必要で，接着の前処理ですら煩雑な操作を要することになる．

このような課題を解決するため，試作エッチャント液の酸性成分に水溶性リン酸モノマーである 11-メタクリロイルオキシテトラエチレングリコールジハイドロジェンホスフェート (M-TEG-P™, Fig) を使用し，エナメル質と象牙質にも使用可能な試作エッチャント液を検討した．さらに，ジルコニアに対する接着において，M-TEG-P™ はジルコニア表面に化学吸着することから，ジルコニアに対するプライマーとして試作品の評価を行った．

【方法および材料】

試作エッチャント液は，水溶性リン酸モノマーである M-TEG-P™ を使用し，溶媒として水およびグリセリン，増粘剤としては，アエロジルを用いて作製した．各被接着材料に関して，歯質は牛歯を用い，ジルコニアは KZR-CAD Zirconia (ヤマキン) を用いた．接着方法は，被接着表面に塗布後 30 秒放置した後，10 秒間水洗し，接着材を使用して接着を行った．引張り試験は，小型卓上試験機を (Ez-Graph, 島津製作所社製) を用いて強度の評価を行った．

【結果】

試作エッチャント液の初期接着強さの評価によって，使用しない場合と比べ，エナメル質に対しても象牙質に対しても同等に有効であることを確認し，かつ，同じ試作品でジルコニアに対しても有効であることが確認できた．

さらに，本発表では SEM の観察結果を交えることで，上記の内容について詳細に議論する．

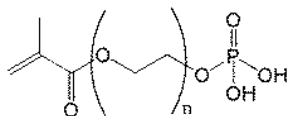


Fig. Chemical structure of M-TEG-P (n = 4)

CAD/CAM 用ハイブリッドレジンブロックに対する接着性レジンセメントの接着性について

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○森川裕仁, 恩田康平, 黄地智子, 藤原秀樹, 三木秀治, 吉川一志, 山本一世

Study on Bonding Properties in the Resin Cement to CAD/CAM Hybrid Resin Block

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○MORIKAWA Yuto, ONDA Kohei, OUCHI Satoko, FUJIWARA Hideki, MIKI Hideji,
YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

【目的】

近年, 患者の審美意識の高まりにより, メタルフリーな治療を希望されることが増えている. 小臼歯の歯冠補綴に CAD/CAM 冠が保険導入され, 患者の審美的要求に保険内で応えることが可能になったため, 今後もレジンセメントの使用頻度は増え続けると考えられる. 本実験では, CAD/CAM 用ハイブリッドレジンブロックに対する各種レジンセメントの接着値の検討を行った.

【材料と方法】

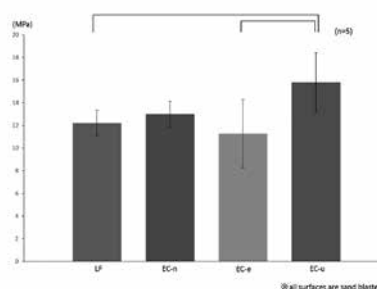
本実験に使用したレジンセメントとして Embrace Resin Cement Medium Viscosity (以下 EC, 白水貿易). エッチング剤として Etch-Rite (以下 Etch, 白水貿易). ハイブリッドレジンブロックとしてセラスマート (以下 SS, GC) を用いて実験を行った. SS を厚さ 3mm に調整し耐水研磨紙 #600 にて研磨を行い, SS 被着面とした. SS 被着面に対し, マイクロエッチャーにて 10mm の距離を保ちながら 5 秒間サンドブラスト処理後, 5 分間超音波洗浄を行った. 被着面に内径 3mm の穴を開けたマスキングテープを張り付け, 被着面積を規定した. コンポジットレジンの AP-X (クラレノリタケデンタル) をテフロンモールドに填塞, 硬化させ CR ブロック治具を作製した. 比較対象として Link Force (以下 LF, GC) は製造者指示に従い前処理を行い, 被着面に CR ブロックを接着させ, EC においては無処理のもの (EC-n) とエッチング処理 10 秒 + 水洗 5 秒のもの (EC-e), エッチング処理後超音波洗浄 5 分間行ったもの (EC-u) に CR ブロックを接着させた. 接着後 24 時間 37°C 水中保管した後, 万能試験機 (IM-20, Intesco) を用いて CHS=0.3mm/min にて接着強さを測定した (n=5). なお統計処理は, 一元配置分散分析および Tukey の検定を行った ($p < 0.05$).

【結果および考察】

前処理有りの LF と EC-n の接着値に有意な差はみられなかった. LF と EC-u では EC-u が有意に高い接着値が示された. EC-e に比べ EC-u が有意に高い接着値を示したことにより, Etch は水洗のみでは十分に洗浄できず, 増粘剤等が歯面に残留する可能性が示唆された. EC-u は A, EC-n に比べ高い接着値を示したため, Etch によって接着値が向上する事が示唆された.

【結論】

EC は無処理でも CAD/CAM 用ハイブリッドレジンブロックに対し, 高い接着値を示し, エッチング後十分にエッチング剤の除去を行えば, さらに高い接着値を有することが示唆された.



新規レジンセメントの象牙質接着性能評価

北海道大学大学院歯学院口腔健康科学講座歯科保存学教室

○イアムサード ピンピニー, 松本真理子, 丁 世俊, サイケオ ピポップ, リミ シャンミン アクター
アハメッド ズバエル, セリモビッチ デニス, 佐野 英彦

Evaluation of A Newly Developed Resin Cement on Dentin Bonding

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

○P. Eamsa-ard, M. Matsumoto, S. Ting, P. Saikaew, S. A. Rime, Z. Ahmed,
D. Selimovic, H. Sano

【Objective】

Various dual-cure resin cements have been developed for better performance in prostheses cementing. Recently, new self-adhesive resin cement was developed that can be used either with or without primer. The aim of this study was to evaluate the dentin bonding of a newly developed cement with primer compared to conventional dual-cure resin cements by micro-tensile bond strength (μ TBS) test and scanning electrical microscope (SEM) observation.

【Materials & Methods】

Fifteen extracted caries free human molars (#2013-7) were used in this study. They were randomly divided into 3 groups: a new cement CSRZAF12 with a tooth primer GCP-01 (CS, GC), Panavia V5(PV, Kuraray Noritake Dental) and RelyX Ultimate with Scotchbond Universal adhesive (RX, 3M). All teeth were cut coronal part, obtained the mid-coronal dentin surface and then polished with 600 grid SiC paper under running water. For all groups, primer and adhesive were applied to dentin according to the manufacturers' instructions as shown in beneath. Then, each resin cement was built up in height of 4 mm and conducted light curing for 20 seconds from 5 directions each. After 24h of 37°C distilled water-storage, teeth were sectioned to 1x1 mm beams, and μ TBS test was performed to tensile force at a crosshead speed of 1 mm/min. for 30 beams per group. The data were analyzed using Games-Howell test ($\alpha=0.05$). The fractured beams were observed by SEM to determine the fracture mode.

Table Primer and adhesive applications

Group	Dentin pretreatment	Light cure
CS	Primer 10s	×
PV	Primer 20s	×
RX	Adhesive 20s	×

【Results】

The bond strength of 61.57 ± 18.69 MPa, 55.01 ± 18.55 MPa and 12.98 ± 8.96 MPa for CS, PV and RX, respectively, were shown in this study. Bond strength of CS and PV were higher than RX. There was no significant difference between CS and PV.

【Conclusion】

The newly developed resin cement seems to have clinically sufficient bond strength within the limitation of this study. It is suggested that the cement could be useful in clinical treatment.

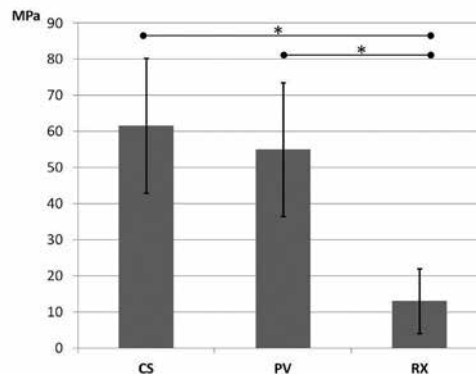


Fig. Micro-tensile bond strength of each group
* Significant difference ($p < 0.05$)

メタルフリー間接修復材料を介した最近の LED 照射器透過光によって重合した 接着性レジンセメントの硬化状態

¹日本歯科大学生命歯学部接着歯科学講座 ²ハーバード大学歯学部修復学・生体材料学講座

○越田清祐¹ 石井詔子¹ 前野雅彦¹ 小川信太郎¹ 長倉弥生¹ 中村昇司¹ 杉山征三¹ 奈良陽一郎¹ I.L.Dogon²

Hardening state of adhesive resin cement cured by recent LED curing units light through metal-free indirect restorative materials

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

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

○KOSHIDA Seisuke¹, ISHII Noriko¹, MAENO Masahiko¹, OGAWA Shintaro¹,

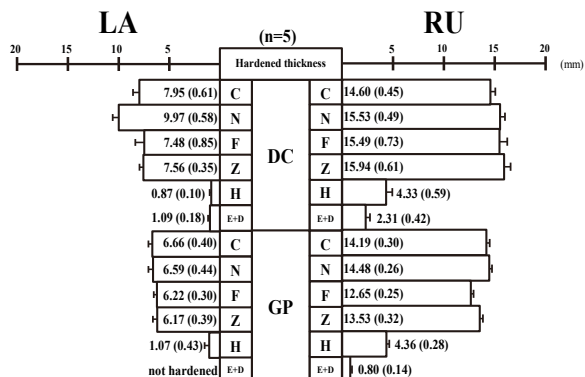
NAKAMURA Shouji¹, SUGIYAMA Masami¹, NAGAKURA Yayoi¹, NARA Yoichiro¹, Dogon I.L.²

【研究目的】近年のメタルフリー間接修復は、器材の改良や接着歯学の進展と相まって、患者の願いである審美歯冠修復の具現化に寄与している。臨床においてメタルフリー修復物の装着に際しては、修復物を介した透過光によってレジンセメントのより確実な重合硬化を期待することが多い。そこで本研究は、最近の LED 照射器の透過光によって重合した接着性レジンセメントの硬化状態を検証するために、5種メタルフリー間接修復材料および歯質を透過体として選択し、代表的な市販レジンセメントの硬化厚さを測定することによって評価検討した。

【材料および方法】LED 照射器には、深部光到達性と広範囲照射性を謳う Elipar Deep Cure LED (DC : 3M ESPE, 平均照射強度 1,130 mW/cm²) ならびに多機能モードを兼備する G-light Prima II (GP:GC, ノーマルモード平均照射強度 1,650 mW/cm²) を用いた。一方、透過体としては、歯科用 CAD/CAM ブロック 4 種、すなわち長石系セラミックの VITABLOCS Mark II (C:VITA, シェード A3C)、無機質ネットワーク構造を特徴とする VITA ENAMIC (N:VITA, シェード 2M2 HT)、高重合ハイブリッド型レジンブロックの Cerasmart (F:GC, シェード A3)、ジルコニアの Lava Zirconia (Z:3M ESPE)、さらに高密度充填型歯冠用硬質レジンの Estenia C&B (H:Kuraray Noritake Dental, シェード DA3) を選択し、厚さ 3.0 mm に調整した。併せて、本学部研究倫理委員会 (NDU-T2016-06) の承認を経て、VITA シェード A3 近似のヒト抜去健全下顎第二大臼歯の頬側最大豊隆部から、厚さ 5.0 mm のエナメル質・象牙質一体試料 (E+D) を切り出し用いた。代表的な市販接着性レジンセメントとしては、G-CEM LinkAce (LA:GC, スターターキット・シェード A2) と RelyX Ultimate (RU:3M ESPE, スターターキット・シェード A1) を選択した。測定に際しては、内径 4.0 mm 高さ 17.0 mm の遮光円筒形モールド内へのセメント填塞を経て、透過体試料を介した製造者指定時間による光照射を行った。ついで直ちに、セメント硬化体は 3 分間のアセトン中超音波洗浄による未重合部除去を経て、測定精度 10 μm の Digimatic Micrometer (Mitsutoyo) を用いて硬化厚さを測定 (n=5) した。得られた値は等分散性の確認後、二元配置分散分析と t-検定による統計学的分析を行った。

【成績および考察】図に、2種 LED 照射器の透過光によって重合した 2種セメントの平均硬化厚さ値 (SD) を示す。分析の結果、セメントにかかわらず、LED 照射器ならびに透過体の違いは、セメントの硬化厚さに有意 (p<0.01) な影響を及ぼすことが判明した。また、セメント硬化厚さに対する照射器による影響は、セメントによって異なることが明らかになった。LED 照射器に注目した場合、H を介した LA、および C・H を介した RU を除き、DC は GP より有意に大きなセメント硬化厚さが獲得できた。これは、照射強度の点で DC は GP より劣るものの、光の拡散を抑制制御した深部光到達性と光エネルギーの位置的均一性を図ったメカニズムが一因と考えられた。一方、透過体に注目した場合、GP による E+D を介した LA の硬化は得られなかったものの、他の透過体の RU 値は、照射器にかかわらず、LA 値より有意 (p<0.01) に大きかった。さらに E+D と H は他の透過体より有意 (p<0.01) に小さい硬化厚さを示した。特に透過体による差違は、組成的・構造的要因に基づくセメント硬化に有効な波長の透過性と強度の違いによって生じたと推察された。

【結論】メタルフリー間接修復材料を介した透過光によって重合した接着性レジンセメントの硬化状態は、最近の 2種 LED 照射器によって有意に異なった。また、各照射器によるセメント硬化状態への影響は、セメントによって異なった。さらに、照射器にかかわらず、歯科用 CAD/CAM ブロック 4 種を介した透過光によるセメント硬化厚さは、E+D と H を介した値より有意に大きな値を示した。



Mean value of hardened cement thickness of two resin cements cured by transmitted light of two LED light curing units

新規プライマー併用可能型セルフアドヒーシブレジンスメントに関する研究

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

Study on novel self-adhesive resin-based cement available with primer.

Div. of Clinical Biomaterials, Dept. of Oral Science,
Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University.

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

【研究目的】

歯質への接着はリン酸処理とボンディング剤によるエナメル接着、セルフエッチングプライマーや接着性プライマーによる象牙質接着と、歯質との一体化を図る接着剤と技法は確立しつつある。近年、歯面処理なしで歯質に接着可能なセルフアドヒーシブレジンスメントが市販されている。しかしながら、その接着操作も様々であり、混乱を招いていると思われる。本研究では、プライマーの併用を可能として開発されたセルフアドヒーシブレジンスメントの歯質接着性について検討した。

【材料および方法】

供したレジンスメントは、プライマー併用可能型セルフアドヒーシブレジンスメントのジーセム ONE (ONE, ジーシー社) とセルフアドヒーシブレジンスメントのジーセム セラスマート (SERA, ジーシー社) とした。被着体はウシ上顎前歯歯冠部を用い、唇面のエナメル質および象牙質表面を平坦に耐水研磨紙#600 まで施し、接着面積を規定するために直径 3mm の穴の開いたメンディングテープを貼付し、ステンレス接着子メッシュ面に約 0.2mg のレジンスメントを貼付し、1kg 荷重で 5 分間保持、接着した。保持直後に接着子とテープより露出したレジンスメントを照射器 (Demetron LC, Kerr) で 2 秒間照射し、硬化したレジンスメントを除去した。また、ONE 群はエナメル質を 37%リン酸ジェル (ジーシー エッチング液, ジーシー) にて 5 秒間エッチング, 30 秒間水洗, エアブローした群 (エッチング群), エナメル質と象牙質ともに支台歯用接着強化プライマーにて 10 秒間塗布 (プライマー群), エアブローした後にレジンスメントを接着する試料も作製した。接着後、各試料は 37°C 蒸留水中に 7 日間保管した後にオートグラフ (AGS-500, 島津製作所) にてクロスヘッドスピード 1.0mm/min にて引張接着試験を行った。なお、各試料数は 10 個とし、得られた値はそれぞれ平均値と標準偏差を求め、一元配置分散分析および Post-Hoc Tukey multiple comparison tests の多重比較検定を行った。

【結果】

エナメル質に対する ONE の接着強さは未処理群で 8MPa (s. d. ;2.5) であり、エッチング群とプライマー群では 16MPa (s. d. ;2.4) と 14MPa (s. d. ;3.8) となり有意に高い値であったが ($p < 0.05$), エッチング群とプライマー群間では有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。また、象牙質に対する接着強さは未処理群で 7MPa (s. d. ;2.4) であり、プライマー群では 20MPa (s. d. ;3.2) と有意に高い値であった ($p < 0.05$)。また、エナメル接着のエッチング群とプライマー群と比較しても有意に高い接着強さであった ($p < 0.05$)。SERA のエナメル質に対する接着強さは 5MPa (s. d. ;1.8) であり、また象牙質に対しては 6MPa (s. d. ;2.3) であり、エナメル試料は ONE と比較して有意に低い値であった ($p < 0.05$)。

【考察】

セルフアドヒーシブレジンスメントは、歯面処理なしで歯冠修復装置を接着可能として、臨床操作を簡便として期待されている。しかしながら、術者の操作により接着強さならびに耐久性にも疑問が残ると思われる。今回、プライマー併用可能として開発された新規のセルフアドヒーシブレジンスメントのエナメル質ならびに象牙質に対する接着性を検討した結果、未処理群と比較してエッチングおよびプライマー処理の方が有意に高い接着強さが得られたことから、歯面処理の方が接着性は向上することが確認された。今後は種々の被着体に対する接着性を検討する予定である。

なお、本研究における利益相反はないことを付記する。

試作ユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントの初期接着挙動

日本大学歯学部保存学教室修復学講座
○矢吹千晶, 黒川弘康, 秋葉俊介, 柴崎 翔, 五條堀真由美,
古市哲也, 陸田明智, 若松英輝, 宮崎真至

Determination of early bonding characteristics of an experimental resin cement utilizing universal adhesive

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry
○YABUKI Chiaki, KUROKAWA Hiroyasu, AKIBA Syunsuke, SHIBASAKI Sho, GOJOBORI Mayumi,
FURUICHI Tetsuya, RIKUTA Akitomo, WAKAMATSU Hideki, MIYAZAKI Masashi

【研究目的】

ユニバーサルアドヒーズブを歯質と修復物に塗布することで、修復物の装着直後から高い接着強さを発揮できるように設計されたレジンセメント接着システムが開発されている。これらレジンセメントシステムの接着性に関しては、試験片製作後 24 時間以上経過した後に評価しているものがほとんどであり、初期接着については不明な点が多い。そこで、試作ユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントの初期接着挙動について、象牙質剪断接着強さを経時的に測定することで検討した。

【材料および方法】

レジンセメント接着システムとして、化学重合型の試作ユニバーサルアドヒーズブである KSD-01 と Estecem Adhesive Resin Cement (トクヤマデンタル) を、対照として、デュアルキュアアクチベーターと混和することで化学重合可能なユニバーサルアドヒーズブである G-Premio Bond と G-CEM Link Force (ジーシー)、およびセメントとの接触によって化学重合可能なユニバーサルアドヒーズブである Scotchbond Universal Adhesive と RelyX Ultimate Adhesive Resin Cement (3M ESPE) を用いた。また、試作ユニバーサルアドヒーズブと同一製造者の化学重合型セルフエッチアドヒーズブである Estelink とシランカップリング剤である Universal Primer (トクヤマデンタル) を用いた場合についても検討することで考察材料とした。

1. 被着歯面の調整

ウシ下顎前歯歯冠部を常温重合レジンに包埋し、唇側中央部に直径 6~8 mm の象牙質平坦面が得られるように研削した。この研削面を、耐水性 SiC ペーパーの#600 を用いて調整し、これを象牙質試片とした。

2. 接着試験用試片の製作

CAD/CAM レジンプロックを直径 4 mm、高さ 2 mm の円柱状に加工した後、アルミナ粒子 (50 μm) を用いて、被着面に対して 10 mm の距離から垂直に、サンドブラスト処理 (0.2 MPa) を 5 秒間行い、3 分間超音波洗浄した。このサンドブラスト面に対して、ユニバーサルアドヒーズブあるいはシランカップリング剤を用いて、各製造者指示条件でシランカップリング処理したものを CAD/CAM 試片とした。次いで、象牙質被着面を、ユニバーサルアドヒーズブあるいはセルフエッチアドヒーズブを用いて各製造者指示条件で処理した後、セメントを塗布した CAD/CAM 試片を圧接した。CAD/CAM 試片を圧接しながら余剰セメントを除去した後、照射を行う条件では、レジン試片の 2 方向から 30 秒間照射を行った。また、照射を行わない条件では、5 分間圧接したものを接着試験用試片とした。

3. 接着強さの測定

照射あり条件では照射終了直後から、照射なし条件では CAD/CAM 試片を圧接した直後から、 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 90 \pm 5% の条件で、15 および 1、12 および 24 時間保管した。所定の時間経過後、剪断接着強さを測定した。

4. 走査電子顕微鏡観察

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

【成績および考察】

供試したレジンセメントの接着強さは、接着操作後の経過時間およびレジンセメントへの照射の有無によって影響を受けるものの、その傾向は製品によって異なるものであった。この理由としては、ユニバーサルアドヒーズブあるいはセメントに使用される重合開始材系の違いなどが影響したものと考えられた。

【結論】

試作ユニバーサルアドヒーズブを用いたレジンセメントシステムの接着強さは、レジンセメントへの照射の有無にかかわらず、接着操作直後から安定した値を示したことから、その臨床有用性が示された。

オフィスブリーチング後のエナメル質に対するフッ素取り込み

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¹,
北海道医療大学歯学部う蝕制御治療学分野², 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野³,
大阪大学歯学部口腔分子感染制御学講座⁴

○福山麻衣¹ 川本千春¹ 大木彩子¹ 松田康裕² 奥山克史³ 山本洋子⁴
デニスセリモビッチ¹ 佐野英彦¹

Fluoride uptake on enamel after In-office bleaching

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine¹
Department of Operative Dentistry and Endodontology, Health Sciences University of Hokkaido²,
Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry³,
Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry⁴
○FUKUYAMA MAI¹, KAWAMOTO CHIHARU¹, OKI SAIKO¹, MATSUDA YASUHIRO²
OKUYAMA KATSUSHI³, YAMOAMOTO HIROKO⁴, DENIS SELIMOVIC¹, SANO HIDEHIKO¹

【目的】

オフィスブリーチングによる漂白処理はエナメル質表層の漂白だけでなく、脱灰も同時に生じるといわれている。脱灰したエナメル質の再石灰化を促進するには、処置直後のフッ化物歯面塗布が有効と考えられる。しかしながら、漂白処理されたエナメル質表面へのフッ化物からのフッ素の取り込みは明らかとなっていない。

そこで、本研究ではオフィスブリーチングによるホワイトニング後のエナメル質表面に対し、塗布したフッ化物歯面塗布剤からの歯質へのフッ素の取り込みを検討した。

【方法】

ヒト下顎前歯 (n=5) を頬舌方向に半切し、分割面をスティッキーワックスより被覆した(北海道大学大学院 歯学研究科倫理委員会: 承認番号 2013 第 7 号にて承認)。試料の処理方法により以下の 4 群に分けた。(1) コントロール群: オフィスブリーチングのみを行った群 (C)、(2) フローデン A 群: オフィスブリーチング直後にフローデン A (サンスター) を綿球にて 3 分塗布した群 (F)、(3) メルサージュ群: オフィスブリーチング直後にメルサージュファイン (松風) をロビンソンブラシにて 10 秒塗布した群。(M) (4) PRG バーニッシュ群: オフィスブリーチング直後にイオン徐放性 S-PRG フィラー含有バーニッシュ タイプ 1 (松風) を筆で一層塗布した群 (PRG)。オフィスブリーチングは 35% 過酸化水素 (Shofu Hi-Lite; 松風) を用いて、添付指示書に従い 3 回の塗布を行った。各材料をそれぞれ塗布し、水洗、乾燥後、各試料を 37°C で 24 時間水中で保管した。保管後、塗布部位が含まれるよう歯軸に平行に切断し、厚さ 200µm の試料を作製した。作製した試料において、In-air μ PIGE/PIXE 分析法によってエナメル質表層から 50 µm までのフッ素の平均取り込み量を測定し、Games-Howel の多重比較検定 ($p < 0.05$) を用いて統計解析を行った。

【結果と考察】

C 群と比較して F 群は多くのフッ素を取り込む傾向は認められたが有意差は認められなかった。M 群、PRG 群は C 群と比較して優位に多くのフッ素の取り込みが認められた。これらの結果から、オフィスブリーチング直後のエナメル質にフッ化物塗布材を塗布することによって、エナメル質内にフッ素が取り込まれることが明らかとなった。

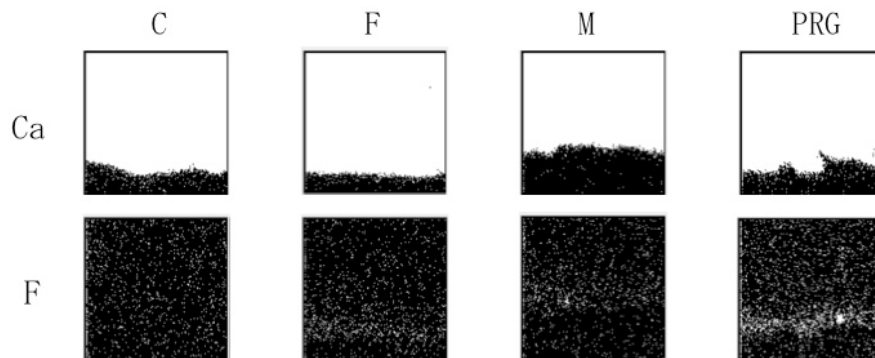


Fig : In-air μ PIGE/PIXE of enamel surface

酸化チタンナノチューブを併用した歯の漂白システムによる漂白効果の検討

大阪歯科大学¹ 歯科保存学講座,²細菌学講座

○澤井健司郎¹, 横田啓太¹, 中野純嗣¹, 平井千香子¹, 吉川一志¹, 王 宝禮², 山本一世¹

Evaluation of the effects of a tooth bleaching system incorporating TiO₂ Nanotubes

¹Department of Operative Dentistry, ²Department of Bacteriology, Osaka Dental University

○SAWAI Kenshiro¹, YOKOTA Keita¹, NAKANO Yoshitsugu¹, HIRAI Chikako¹, YOSHIKAWA Kazushi¹,
WANG Pao-li², YAMAMOTO Kazuyo¹

【緒言】

歯を削ることなく歯を白くできる漂白法が広く盛んに研究されるようになり、新しい漂白剤も多く開発されてきた。歯を切削せずに色調を改善する漂白は、機械的歯面清掃では改善されない外因性着色や軽度のテトラサイクリン歯による変色の場合、office bleaching 法やhome bleaching 法が選択される。office bleaching 法において、従来は高濃度過酸化水素水を主成分とした漂白剤を使用してきたが、現在では酸化チタンを触媒として過酸化水素水の濃度を減少させる製品がいくつか市販されており、さらに触媒の材料サイズのナノ化や様々な形態を利用して、新たな機能性を見いだそうとする研究が盛んに行われている。その中でもTiC Nanotubes (TNT)は特異的なナノチューブ構造とチタニア結晶の持つ多様性との共生により優れた光触媒能や物理化学的機能を示すことが報告されている。本研究では、TNTを配合することで過酸化水素水の濃度を3%に減少させた漂白剤を試作し、その漂白効果への影響を検討したので報告する。

【材料と方法】

冷凍保管牛歯を解冻し、歯根を切断して歯髄を除去した後、煮出した紅茶を着色液とし、被験歯を7日間浸漬し、変色試料とした。術前に変色試料の歯冠部中央で歯科用色彩計(シェードアイ, 松風)にて測色を行った後に、Table 1に示す漂白剤を用いて漂白処理を行った。漂白処理方法については、漂白剤を塗布し、漂白用LED照射器(コスモブルー, GC)で10分照射し、この操作を3回同一部位に行い、漂白処置後、再度測色を行なった(1回目術後)。その後生理食塩水中に保管し、7日間毎に合計4回漂白処置を行い、漂白処置後、再度測色を行なった(2~4回目術後)。測定結果は、色彩分析ソフト(彩チェック ver.4.0, コニカミノルタ)にて変換して、L*a*b*を求め、漂白前との色差を表す ΔE^*ab を算出し、漂白による術前・術後の色の变化から漂白効果を判定した。得られた測定結果は一元配置分散処理およびTukeyの検定により統計処理を行った(n=5)(P<0.01)。

【結果および考察】

実験により得られた ΔE^*ab の結果をFig. 1に示す。

色差値 ΔE^*ab については、毎回の術前・術後の色差値 ΔE^*ab の変化はすべての条件において1回目が有意に大きかった。術前と4回目術後の色差値 ΔE^*ab の変化はTNT 20mgが47.8で最も大きく、続いてTNT 10mgが45.1, Controlが39.3であった。すべての条件間で有意差は認められなかったが、 ΔE がTNTの配合量を増加させるにつれ上昇する傾向が認められた。今後、TNTの配合量を増量し漂白効果への効果を検討が必要である。(大阪歯科大学・動物実験員会(承認番号13-03021))

Table 1 Materials

Material	Manufacturer	Code
① Whitening Agent + 3% H ₂ O ₂ (Control)	VMC	H ₂ O ₂ (3%)
Whitening Agent		
Whitening gel		
(Glycerol)		
Thickener : Xanthan gum 0.1g		
pH regulator : Na ₂ CO ₃ 0.1g		
② TiC Nanotubes (TNT 10mg) + Whitening Agent + 3% H ₂ O ₂	VMC	TNT (10mg)
③ TiC Nanotubes (TNT 20mg) + Whitening Agent + 3% H ₂ O ₂	VMC	TNT (20mg)

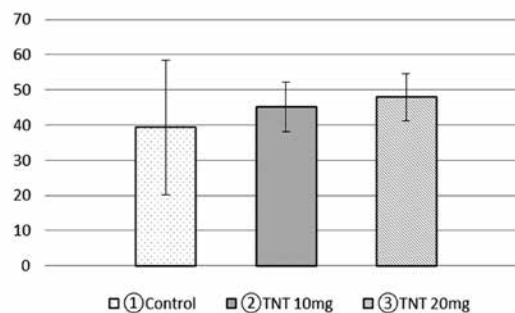


Fig. 1 ΔE^*ab

漂白時に発生するヒドロキシラジカル
—過酸化水素濃度、照射時間を変化させたラジカル発生—
昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門
○黒川千尋、小川弘美、玉岡慶鐘、東光照夫、真鍋厚史
Hydroxyl Radical Generated during Bleaching

— Hydroxyl Radical Generation of each concentration of hydrogen peroxide and irradiation time—

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology,
Showa University School of Dentistry

○Chihiro Kurokawa, Hiromi Ogawa, Keishou Tamaoka, Teruo Toko, Atsufumi Manabe

[目的] 歯の漂白の機序は、Goldstein らによると過酸化水素(hydrogen peroxide; HP)から発生するラジカルにより着色物質が分解され、漂白作用が発現するとされている。(*) 本研究の目的は、HP 濃度と光照射時間を変化させ、HP から発生するヒドロキシラジカル($\cdot\text{OH}$)を電子スピン共鳴装置(electron spin resonance; ESR)にて計測することである。そして、ラジカル発生量が発現する適当な過酸化水素の活性化条件を探すことである。

* : Goldstein RE, Garber DA., Complete Dental Bleaching, Chemistry of bleaching, Quintessence, Chicago, 1995.

[材料および方法] 本実験には濃度 3%、10%、20%、30% HP(Wako)を使用した。過酸化水素の活性化には 440nm のハロゲン光源照射器(Optical ModuleX, USHIO)を使用し、30 秒、1 分、2 分、3 分、5 分、10 分間光照射した。 $\cdot\text{OH}$ の測定は、スピントラッピング剤として 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide (DMP0)を使用し ESR(JES-RE1X, JEOL)により行った。各濃度の HP、DMP0、pH7.41 のリン酸塩 pH 標準液(Wako)を混合し測定対象とした。ハロゲン光源照射器にて過酸化水素を活性化させ、30 秒、1 分、2 分、3 分、5 分、10 分間光照射中の発生する $\cdot\text{OH}$ を測定した。

[結果と考察]

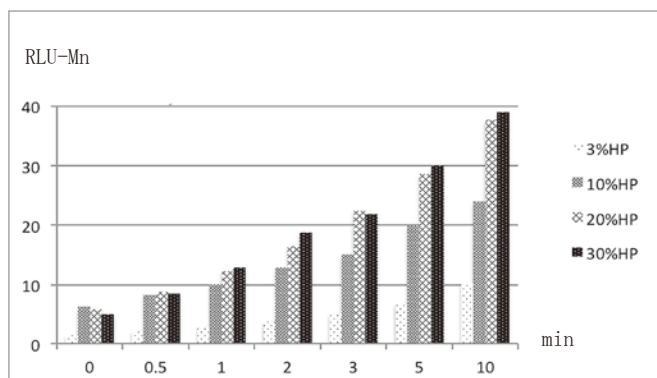


Fig. Hydroxyl radical generation by HP concentration

過酸化水素にハロゲン光源照射器を照射し、発生した $\cdot\text{OH}$ 発生量を ESR にて測定した。 $\cdot\text{OH}$ は 1:2:2:1 の 4 つのピーク高さを持つ波形として検出された。Mn マーカーは条件設定により高さは一定に保たれ、波形の両端に小さな波として現れる。両端の Mn マーカーの高さを A として、 $\cdot\text{OH}$ の 4 つの波形のうち 2 つめの波形の高さを X とする。その相対的な比、X/A の値は $\cdot\text{OH}$ のピーク値 (RLU-Mn) とすることができ、 $\cdot\text{OH}$ 発生量として定量できる。

照射時間を変化させた、HP の濃度別の $\cdot\text{OH}$ 発生量の結果を上図に示す。図の横軸は照射時間(min)、縦軸は $\cdot\text{OH}$ 発生量の相対比 (RLU-Mn) を示す。全ての HP 濃度で照射時間を延長すると $\cdot\text{OH}$ 発生量は増加した。10%、20%、30%HP で 1 分間照射までは $\cdot\text{OH}$ 発生量は同程度であり 13 を超えなかった。2 分間照射の 20%HP と 30%HP を除いて、3%、10%、20%、30%HP の順で $\cdot\text{OH}$ 発生量は多くなった。1 分間照射までの短時間の照射では、 $\cdot\text{OH}$ 量は HP 濃度間での差はほとんどないが、2 分以降から HP 濃度間で差が生じた。さらに照射時間を延長すると、3%、10%HP に比べ 20%、30%HP で $\cdot\text{OH}$ 量が多くなった。しかし全ての照射時間で 20%HP と 30%HP とで $\cdot\text{OH}$ 発生量にほぼ差はなかった。過酸化水素濃度を上げると $\cdot\text{OH}$ 発生量は多くなり、光照射時間を延長すると $\cdot\text{OH}$ 発生量は多くなるとわかった。照射時間を延長すると照射面の温度は上昇するため、10 分以上光照射を行うことは難しい。至適な照射時間と HP 濃度を知ることで安全に効率良く漂白できると考えられる。また、フーリエ変換赤外分光光度計 (FTIR) 分析にて、フリーラジカルによる C=C 結合切断の確認を行う予定である。

[結論] 全ての過酸化水素濃度にて照射時間を延長するほど $\cdot\text{OH}$ 発生量は増加した。20%、30%HP 間では $\cdot\text{OH}$ 発生量にほとんど差はなかった。

ジェル型知覚過敏抑制材の知覚過敏再発症例への臨床評価

- 1) 鶴見大学歯学部附属病院総合歯科 2) 鶴見大学先制医療研究センター医療技能開発学寄付講座
3) アラバマ大学歯学部
○山口博康^{1,2)} 鈴木司郎³⁾

Clinical evaluation of gel type desensitizer for recurrent dentin hypersensitivity

- 1) Department of General Dentistry and Clinical Education, Tsurumi University School of Dental Medicine.
2) Department of Research in Dentistry and Advanced Medical Technology, Institute for Research and Education of Preemptive Medicine, Tsurumi University.
3) Department of Clinical and Community Sciences, School of Dentistry, University of Alabama at Birmingham.
○Hiroyasu YAMAGUCHI^{1,2)} Shiro SUZUKI³⁾

【目的】

本研究の目的はジェル型知覚過敏抑制材の知覚過敏再発症例への臨床評価である。

【緒言】

象牙質知覚過敏症は刺激が加えられることにより誘発される痛みであり、冷水、乾燥、擦過、浸透圧の変化、化学的な刺激により生じる¹⁾。この原因としては誤ったブラッシング方法による歯肉の退縮、スケーリング、ルートプレーニング後のセメント質除去、ブラキシズム、クレンチングによるアプフラクション²⁾、ホワイトニング³⁾による象牙質細管開口部からの刺激等も挙げられている。この治療としては家で行なうことができる知覚過敏抑制効果のある歯磨材の使用、歯科医院で行なう知覚過敏抑制材の歯面への塗布、歯科用レーザー照射による疼痛緩和効果を行なっているが、再発症例も少なくない。そこで知覚過敏症再発症例において、診療室で知覚過敏抑制材を塗布したが、奏功しない症例、歯髄炎との鑑別診断が困難な症例についてジェル型知覚過敏抑制材の塗布を行い臨床評価した。

【方法】

鶴見大学歯学部附属病院総合歯科 2 に来院した象牙質知覚過敏再発症例、歯髄炎との鑑別診断が困難であった 40 歯（前歯 5 歯、小臼歯 9 歯、大臼歯 26 歯）に対してジェル型知覚過敏抑制材（MS Hys-block ジェル、サンメディカル）を使用し取扱説明書に従い応用し、知覚過敏該当部位に対して評価した。痛みの評価については Visual Analogue Scale (VAS) を用いた。

【結果】

被験者の年齢 53.33±12.80、男性 8 名、女性 13 名であった。

VAS 値は術前の 54.05±22.47 に対して術後は 11.32±12.38 であり、Wicoxon sign-rank (p<0.01) で統計的に有意に抑制されていることが認められた。

完全に痛みが消失がしなかった 2 症例中、1 症例は歯周ポケットが深く、歯内—歯周病変となった症例であり、もう 1 症例は知覚過敏症と歯髄炎との鑑別診断が困難な症例で急性化膿性歯髄炎に移行した。

【考察】

本症例の中には 1 回目の処置で 2 週後まで知覚過敏抑制効果が得られ、再発症状が徐々に現れ、処置 1 ヶ月半後に再処置したところ、すぐに知覚過敏抑制効果が得られた症例もあった。また、処置後、半年経過しているが、順調な疼痛抑制効果の症例も認められる。また、Nd : YAG レーザー照射⁴⁾ 症例では照射した結果、疼痛が減少したものの、疼痛が残ったため、ジェル型知覚過敏抑制材を使用したところ改善が得られたが、再発し 3 ヶ月後に再度塗布したところ、疼痛がなくなった症例も認められ、再発を繰り返す症例も認められた。この症例は他院で知覚過敏抑制処置が奏功したかったため、抜髄処置を回避するために本院に来院したが、今では家での歯磨材でのホームケア、診療室でのジェル型知覚過敏抑制材の処置を継続し、定期的に来院し結果的には歯髄保護が可能となった。また歯髄炎との鑑別が困難であり急性化膿性歯髄炎に移行した症例では、疼痛が一時的に軽減しその後、歯髄処置を行なった。このことから歯髄消炎鎮痛効果の可能性も示唆された。このように象牙質知覚過敏の再発症例、難治性の知覚過敏症に対してジェル型知覚過敏抑制剤は再度塗布の必要性もあるが、徐々に知覚過敏症の疼痛が減少し象牙質知覚過敏が原因での歯髄除去療法は避けることが可能とも考えられた。今後、症例数を増やしさらなる再発症例に対して長期経過観察を検討する予定である。

【結論】

本研究では再発知覚過敏症例においてジェル型知覚過敏抑制材は即効性を示すことから、臨床的に有効と考えられた。今後、長期経過観察を予定している。

【文献】

- 1) Holland GR¹, Narhi MN, Addy M, Gangarosa L, Orchardson R. Guidelines for the design and conduct of clinical trials on dentine hypersensitivity. J Clin Periodontol. 24:808-813. 1997
2) Grippo JO. Abfractions: a new classification of hard tissue lesions of teeth. J Esthet Dent. 3:14-19. 1991
3) Rezende M, Loguercio AD, Kossatz S, Reis A. Predictive factors on the efficacy and risk/intensity of tooth sensitivity of dental bleaching: A multi regression and logistic analysis. J Dent. 45:1-6. 2016
4) 小林一行, 山口博康, ら: 歯周治療中に生じた象牙質知覚過敏症に対する Nd:YAG レーザー照射による疼痛緩和効果. 日本歯周病学会雑誌. 41:180-187. 1999

コンポジットレジンによる直接修復の臨床報告

オーラルステーションデンタルクリニック

○山田 満憲, 牧野 千恵子

Clinical Report of Direct Composite Resin Restoration

Oral-Station Dental Clinic

○YAMADA Mitsunori, MAKINO Chieko

【諸言】 Minimal Intervention の普及およびコンポジットレジンの材料学的性質の向上は、従来の間接修復の適応からフリーエナメルを残した直接修復を可能としてきた。しかし、日常の臨床においてオールマイティな治療内容とその技術力、および経営が要求される中、機能性と審美性を兼ね備えた解剖学的形態の回復を得る事は困難な状況とも言える。とくに、より精度の高い解剖学的形態の回復のためには適切な感染歯質の除去と連続性の保たれたエナメル質の保存、およびその複雑な窩洞に対する緊密な充填といった繊細なテクニックが重要である。そこで今回 Minimal Intervention に基づき行われたコンポジットレジンによる直接修復の症例について報告する。

【対象および方法】 う蝕症状を主訴とし来院した患者のうち臼歯部隣接面における接触関係が維持されている症例を対象とした。さらに対象者にはヘルシンキ宣言に基づく主旨説明を含むインフォームドコンセントを行った。各症例拡大鏡下にてアクセスオープニングを出来る限り小さくし (B's MI BUR, UEHARA)、フリーエナメル直下のアンダーカット部を含む感染歯質除去後、2ステップボンドシステムを使用した。隣接面への隔壁器具の装着は、ボンディング材の塗布後光硬化させる前に行った。直視できない隣接面およびフリーエナメル直下のアンダーカット部においては、フロアブルレジンをライニング材として注入し先端が湾曲加工された充填器 (Mi-1, UEHARA) を用いて充填、硬化させた。その後、咬合面に HERCULITE XRV (A2, Enamel, Kerr) を充填、硬化、および形態修正を行った。

【結果】 臼歯部隣接面における接触関係が維持されている症例において Minimal Intervention に基づき行われたコンポジットレジンによる直接修復は、機能性と審美性を兼ね備えた解剖学的形態の回復を得ることが出来た。(Fig) さらに、先端が湾曲加工された充填器の使用によりフリーエナメル直下のアンダーカット部におけるレジン抜けが認められなかった。

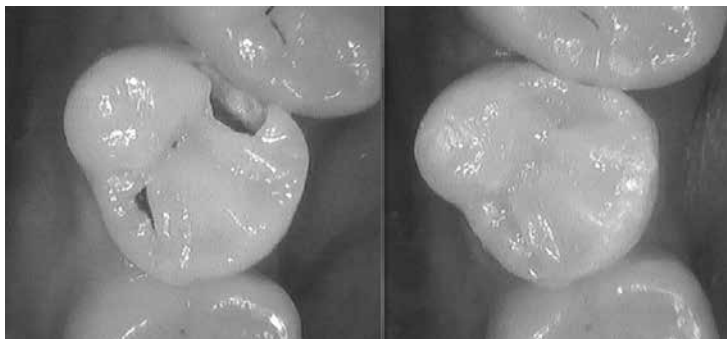


Fig. The original anatomy kept with the concept of minimal intervention was implemented by direct composite resin restoration.

【考察】 コンポジットレジンによる直接修復は、間接修復とは異なり患者によりダイレクトに術者の技術力が伝わる治療である。とくに、Minimal Intervention 成功の是非は、どれだけ連続性が保たれたエナメル質を保存出来たかといっても過言ではないと演者らは考えている。そのためには、いかにアクセスオープニングを小さくし直下の感染歯質が正確に除去出来るのか、および窩洞に対する緊密な充填が出来るのかが重要であると考えられる。すなわち、どんなにアクセスオープニングを小さくても感染歯質が正確に除去できなくては意味がなく、また同様に感染歯質を正確に除去しても窩洞に対する緊密な充填が出来なくては、コンポジットレジンによる直接修復の適応とは言えないと考えられる。そこで今回、フリーエナメル直下のアンダーカット部に対し様々な角度から容易にアプローチできるよう湾曲加工された充填器の使用は、流動性の高い材料と窩壁との間に気泡の巻き込みを防止し、および重力方向への充填材の偏りを防止し緊密な充填が可能であると考えられた。

【結論】 Minimal Intervention に基づき行われたコンポジットレジンによる直接修復は、機能性と審美性を兼ね備えた解剖学的形態の回復を得る有効な手段と考えられた。また、先端が湾曲加工された充填器の使用は、複雑な Minimal Intervention 窩洞に対し流動性の高い材料を緊密に充填できることが示唆された。

保存修復学基礎実習における鑄造修復の新たな試み

大阪歯科大学歯科保存学講座¹⁾, (株)ニッシン²⁾

○谷本啓彰¹⁾, 大西和久²⁾, 竹内 撰¹⁾, 津谷佳代¹⁾, 井村和希¹⁾, 河村昌哲¹⁾, 山本一世¹⁾

A new trying of casting restoration in Basic for Operative Dentistry

1) Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University 2) Nissin Dental Products INC.

○Tanimoto Hiroaki¹⁾, Onishi Kazuhisa²⁾, Takeuchi Osamu¹⁾, Tsutani Kayo¹⁾,
Imura kazuki¹⁾, Kawamura Masaaki¹⁾, Yamamoto Kazuyo¹⁾

【緒言】

保存修復学は齲蝕をはじめとする歯の硬組織疾患の治療を主軸とする学問であり、基礎実習も臨床系科目の中で早期に行われることが多い。近年直接法による審美性修復が多く用いられている中、保存修復学の技能教育においても審美性修復法に重きを置く履修内容にかわりつつある。しかし、歯科医学教育として保存修復学における鑄造修復法も重要な役割を担うのは言うまでもないことである。ただ鑄造修復実習は技工操作が煩雑であるため学生の実習スピードにバラつきが生じやすく、多くの実習時間を費やす実習となるため、苦慮して行っているのが現状である。本学では、保存修復学を講義 28 コマ・実習 27 コマ (実習試験 6 コマ) の日程で第 3 学年にて履修するカリキュラムとなっている。保存修復学実習は、審美性修復 5 課題と鑄造修復 1 課題を行っている。

そこで今回、技工操作を省くことで、チェアーサイドを想定した実習内容に変更し実習に取り入れ検討したので報告する。

【対象と方法】

本学第 3 学年 136 名に対して保存修復学講義後の切削実習で、下顎右側第一大臼歯近心 2 級メタルインレー修復の課題を行った。実習手順を表 1 に示す。使用した人工歯は、齲蝕付き人工歯 (A26A-46N, ニッシン社製, Fig1) とインレー体付き窩洞形成歯 (A50AN-464, ニッシン社製, Fig2) である。

齲蝕付き人工歯で、齲蝕除去、覆髄・裏層、インレー窩洞形成、印象採得、仮封までを行った。そして技工所へ発注を想定し技工指示書を作成した。その後、技工所からの完成品をチェアーサイドでの診療を想定し、インレー体付き窩洞形成歯を用いて合着を行った。

実習中ならびに終了後に教員にヒヤリングを行い評価したので報告する。

【結果および考察】

実習内容について、「煩雑な技工操作がなくなりスピードにバラつきがなくなった」「技工指示書を作成し技工所へ提出を想定してあり、より臨床的で面白い」・「模型上で咬合調整ができればよかった」・「学生が形成した歯のインレー体が出来上がればさらによかった」と評価した。

また、インレー体付き窩洞形成歯について、「インレー体にバラつきがあった」・「適度な調整具合でよかった」・「調整失敗したときにやり直しができない」と評価した。

今回、保存修復学で唯一鑄造修復であるメタルインレー修復を通して、齲蝕除去から合着までチェアーサイドでの診療の流れを教育することができると考えられる。今後、完成したインレー体の改良と咬合調整が可能になるような顎模型の改良を進めるとともに、今年度も導入し、より有効な実習指導内容になるように検討したいと考えている。

Table1. Training Procedure

1. Removal of caries of molar by rotary instruments
2. Setting of matrix band
3. Indirect pulp capping by calcium hydroxide
4. Placement of base of glassionomer cement
5. Cavity preparation of Class II metal inlay
6. Impression taking and bite registration of Class II metal inlay
7. Temporary restoration for Class II metal inlay
8. Self-assessment of Class II cavity for metal inlay
9. Making of working model and laboratory instruction sheet
10. Trial fitting and adjustment of metal inlay at chairside
11. Luting of Class II metal inlay



Fig1

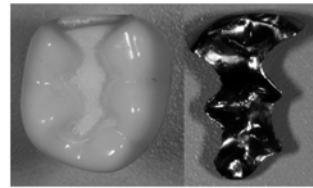


Fig2

ヒト歯髓由来線維芽細胞に対する iE-DAP 刺激の影響

1) 大阪歯科大学 歯科保存学講座 2) 神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔科学講座
○小正 玲子¹⁾, 保尾 謙三¹⁾, 三浦 樹¹⁾, 岩崎 和恵¹⁾, 小正 紀子¹⁾,
合田 征司²⁾, 山本 一世¹⁾

Effects of iE-DAP stimulation in human dental pulp fibroblast like cells

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University¹⁾

Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University²⁾

○KOMASA Reiko¹⁾, YASUO Kenzo¹⁾, MIURA Itsuki¹⁾, IWASAKI Kazue¹⁾, KOMASA Noriko¹⁾,
GODA Seiji²⁾, YAMAMOTO Kazuyo¹⁾

【研究目的】

歯髓では、齶蝕の進行に伴い細菌の浸潤・増殖が生じ、種々の免疫応答が生じる。その過程において、歯髓組織ではさまざまな炎症性サイトカインが産生され、歯髓炎が惹起される。齶蝕の進行が進めば、抜髄処置を施されるのが現状であり歯髓保存を目指す上で、歯髓炎の発症機序の解明は重要であると考えられる。

炎症性サイトカインである tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) や Interleukin-1 β (IL-1 β) は、単球やマクロファージだけでなく歯髓線維芽細胞や象牙芽細胞から産生され、血管内皮細胞に作用し好中球や好酸球などの炎症細胞を局所に浸潤させ炎症反応を引き起こすサイトカインである。

自然免疫に関与するレセプター (Pathogen-associated Molecular Patterns ; PRRs) として Toll like receptor (TLR) や nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) が存在し、様々な病原体由来の構成分子パターンを特異的に認識し、自然免疫にかかわる細胞を活性化して様々な炎症性メディエーターを産生する。NOD は PAMPs 認識部位として Leucine-Rich Receptor (LRR) を持ち、なかでも NOD1 は γ -D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (iE-DAP) を認識し炎症に関与する転写因子を活性化する。

今回、われわれは NOD1 の特異的リガンドである iE-DAP に着目し、ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP 刺激による炎症性サイトカインの発現について検討した。

【方法】

本研究に参加同意を得た患者の健全抜去歯 (大歯医倫 110751 号) を、抜歯後 250 μ g/ml amphotericin B (Sigma-Aldrich), 100 μ g/ml ampicillin sodium (和光純薬), penicillin/streptomycin を添加した PBS にて浸漬し、保管した。イソジン 5 倍希釈溶液にて消毒、PBS にて洗浄後、分割し歯髓組織を採取した。Minimum essential medium alpha modification (α -MEM, 和光純薬) に 10% fetal bovine serum (FBS, Equitech-Bio, USA), および penicillin G sodium 100 units/ml, streptomycin 100 μ g/ml, L-glutamine 292 μ g/ml (Invitrogen, USA) を添加したものを培養液として用いて、採取した歯髓組織を 37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂ 下で 3 日ごとに培地交換し、2 か月間初代培養した。細胞がコンフルエントになった状態で trypsin-EDTA (0.05% trypsin, 0.53 mmol/l EDTA \cdot 4Na, Invitrogen) を用いて細胞を剥離回収し、継代培養を行い 3~10 世代をヒト歯髓由来線維芽細胞として本実験に使用した。

ヒト歯髓由来線維芽細胞を 24 well plate に 5.0 \times 10⁵ cells/well になるよう播種し、24 時間培養後、iE-DAP を 0 μ g/ml, 5 μ g/ml, 10 μ g/ml, 20 μ g/ml, 50 μ g/ml 加え、刺激を行い、上清を回収し ELISA 法を用いて炎症性サイトカインの発現を解析した。

【結果】

ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP 刺激がサイトカイン産生に及ぼす影響について ELISA 法にて検討した結果、ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP 刺激が、炎症性サイトカインである TNF- α を発現したが、IL-1 β の発現は認められなかった。

【結論】

これらの結果より、ヒト歯髓由来線維芽細胞において iE-DAP 刺激により炎症性サイトカインである TNF- α の発現が認められたため、NOD1 のシグナル経路に関与していることが示唆された。

急性歯髄炎により誘導される歯痛錯誤の末梢神経機構

¹⁾ 日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座

²⁾ 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門

○古宮 宏記¹, 清水 康平^{1,2}, 大原 絹代¹, 高橋 なつみ¹, 小木曾 文内^{1,2}

Peripheral mechanisms underlying ectopic tooth-pulp pain associated with acute pulpitis

Department of Endodontics¹,

Division of Advanced Dental Treatment², Nihon University School of Dentistry, Dental Research Center

○Hiroki Komiya¹, Kohei Shimizu^{1,2} and Bunnai Ogiso^{1,2}

【研究目的】

歯髄炎症では、しばしば原因歯の明示が困難となる歯痛錯誤と呼ばれる症状が発症することが知られている。このような症例では、「誤診」や「誤治療」を招く恐れがあり、歯科臨床において大きな問題となっている。この誘因として、末梢神経系の感作や神経回路の可塑的变化などが考えられているが、この詳細なメカニズムには未だ不明な点が多い。歯科臨床において診査診断精度を向上させるためには、このメカニズムを解明することが極めて重要である。そこで、本研究では、急性歯髄炎によって引き起こされる歯痛錯誤の末梢神経機構の一端を解明することを目的とした。

【材料及び方法】

本研究は日本大学動物実験委員会の承認(AP14D032)を得て行われた。ラットを三種混合麻酔薬(2.5 mg/kg butorphanol, 0.375 mg/kg medetomidine および 2.0 mg/kg midazolam の混合液)で深く麻酔し、上顎第一臼歯歯髄(M1)内へ complete Freund's adjuvant (CFA)を投与した。その後、3日目にイソフルラン(1~3%)にて麻酔し、同側顎二腹筋に双極電極を挿入し筋放電量が安定するまで静置し、同側上顎第二臼歯(M2)を十分消毒した後、歯科用電動式ハンドピースと滅菌歯科用スチールバーを用いて歯冠中央部を露髄(直径 0.5 mm)させ、capsaicin (3.0 μM, Wako)あるいはその溶媒を浸漬した滅菌ペーパーポイント(直径: 0.15 mm, 長さ: 1.5 mm, No. 15)を用いて、capsaicin あるいはその溶媒を歯髄に投与した。次いで、投与前後の反射性顎二腹筋活動(d-EMG)を経時的に計測し筋活動量の解析を行った。さらに、M1 への CFA 投与および M2 への Fluorogold (FG)投与 3 日目に、ラットをイソフルラン(4%)にて浅麻酔後、三種混合麻酔薬にて再度深く麻酔し、通法に従い灌流固定を行った。その後、同側三叉神経節(TG)を摘出し、連続組織標本作製し、TG 内において、satellite glial cell (SGCs)の活性化マーカーである Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)および Gap 結合の構成タンパクである Connexin43 (Cx43)発現を免疫組織学的法に検出し、GFAP および Cx43 陽性細胞に取り囲まれた FG 陽性細胞数について解析を行った。さらに、炎症性サイトカインの IL-1β, その受容体である IL-1R, capsaicin 受容体である TRPV1 の発現変化についての解析を行った。また、歯髄炎モデルラット TG 内へ Cx43 阻害薬(Gap26)あるいはその溶媒を CFA 投与前 3 日より 7 日間持続投与し、M2 への capsaicin 刺激により誘発される d-EMG の解析および TG の免疫組織学的解析を行い、筋活動および TG 内での IL-1R および TRPV1 発現に対する Cx43 阻害薬の影響を検討した。

【成績】

M1 への CFA 投与 3 日目において、M2 への capsaicin 投与による d-EMG は、vehicle 群に比べ CFA 群にて有意な増加を示した。さらに、M1 への CFA あるいは vehicle 投与および M2 への FG 投与 3 日目で、Cx43 を発現し GFAP 陽性細胞によって囲まれた FG 陽性神経節細胞数の割合、IL-1β を発現し GFAP 陽性細胞によって囲まれた FG 陽性神経節細胞数の割合および IL-1R もしくは TRPV1 と重複した FG 陽性神経節細胞数の割合は、vehicle 群に比較して CFA 群において有意に高かった。また、M2 への capsaicin 投与による d-EMG および Cx43 陽性細胞に取り囲まれた FG 陽性細胞数は、TG 内への Gap26 前投与により有意に抑制された。

【考察及び結論】

以上の結果から、M1 歯髄炎後に誘導される M2 歯痛錯誤のメカニズムとして、M1 歯髄に炎症が引き起こされることにより M1 支配神経節細胞周囲に存在する SGCs が活性化し、さらに Cx43 の発現増加と Cx43 を介した M2 支配神経節細胞周囲の SGCs 活性化亢進によって、M2 支配神経節細胞の活動性増強がもたらされ、それに引き続いて、M2 神経節細胞における TRPV1 の合成促進が誘導され、結果として M2 に歯痛錯誤が引き起こされるという一連の変化による可能性が考えられた。

咬筋痛に関与した歯髄痛覚過敏発症の神経機構解明

¹⁾ 日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座

²⁾ 日本大学歯学部解剖学教室第Ⅱ講座

³⁾ 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門

⁴⁾ 日本大学歯学部総合歯学研究所高度機能形態部門

○清水 康平^{1),3)}, 渡瀬 哲郎^{2),4)}, 小木曾 文内^{1),3)}

**Mechanisms underlying ectopic persistent tooth-pulp pain
associate with pathological masseter muscle pain**

¹⁾Departments of Endodontics, Nihon University School of Dentistry,

²⁾Departments of Anatomy, Nihon University School of Dentistry,

³⁾Divisions of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

⁴⁾Divisions of Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○Kohei Shimizu^{1),3)}, Tetsuro Watase^{2),4)} and Bunnai Ogiso^{1),3)}

【研究目的】悪習癖や顎関節症により咀嚼筋に慢性痛が発症すると、異所性に歯や歯周組織に異常疼痛を発症することがある。これは非歯原性歯痛や関連痛とも言われ、病因ではない歯への誤診や誤治療が行われる原因となる。そこで本研究では、咬筋痛によって引き起こされる歯髄痛覚過敏発症における中枢神経機構の一端を、Astrocyteの関与に注目し解明することを目的とした。

【材料及び方】本研究における動物実験は日本大学動物実験委員会の承認(AP14D001-1)を得て行った。SD 雄雄性ラット(7w)に深麻酔を施した後、右側咬筋を被覆する皮膚組織内に双極電極を挿入した。その後咬筋に過収縮を引き起こすため、電気刺激(10 mA, 10 Hz)を1日30分間与え、咬筋痛モデルを作製した。その後、同モデルラットの咬筋へ圧刺激を与え、経日的に逃避反射閾値を記録した。刺激開始後14日目に、浅麻酔下でモデルラットの同側上顎第一臼歯歯髄へカプサイシン投与し、反射性オトガイ舌筋活動の変化を記録、およびカプサイシン投与後の三叉神経脊髄路核内のAstrocyteの活性状態を免疫組織化学的に解析した。また、活性型アストロサイト内においてグルタミン合成およびその放出を促すグルタミン合成酵素を特異的に阻害するMSO(methionine sulfoximine)を中枢に14日間持続的に髄腔内投与し、その影響を調べた。同モデルラットへの歯髄カプサイシン投与後、三叉神経脊髄路核内のニューロンに発現するリン酸化 extracellular signal-regulated protein kinase(pERK)は、MSO前投与により、どのような発現変化を受けるか検索を行った。

【結果】咬筋の圧機械刺激に対する逃避反射閾値は、咬筋痛モデル群において3日目から有意な低下を示した。咬筋刺激後14日目における歯髄カプサイシン投与後の反射性オトガイ舌筋活動は、同群において投与後2分間有意な増加を示した。これらの変化はMSOの持続投与により抑制された。また、咬筋刺激後14日目において、咬筋痛モデル群では三叉神経脊髄路核尾側亜核(Vc)における有意なAstrocyteの発現増加が認められた。Astrocyteの活性はMSOの投与による変化を示さなかった。さらに、歯髄カプサイシン投与後のpERK発現は、MSO前投与によりコントロール群と比較して有意な減少が確認された。

【考察及び結論】咬筋の持続的な過収縮により、咬筋における機械痛覚過敏、および歯髄の痛覚過敏が発症することが示された。その発症機構には、VcにおけるAstrocyte活性に伴うグルタミンの合成、および隣在ニューロンへの情報伝達が関与していると考えられる。

LAMP 法を応用した *Rothia mucilaginosa* の迅速・簡易検出法の確立

大阪歯科大学 口腔治療学講座
○中井啓介, 前田博史, 池永英彰, 辻則正

Simple and rapid detection of *Rothia mucilaginosa* by loop-mediated isothermal amplification method

Department of Endodontics, Osaka Dental University
○Nakai Keisuke, Maeda Hiroshi, Ikenaga Hidaeki, Tuji Norimasa

【目的】

R. mucilaginosa は口腔内、ならびに上気道部に生息するグラム陽性菌であり、近年、難治性の根尖性歯周炎と関連することが報告されている。また、この細菌が造血幹細胞移植、肺嚢胞線維症、あるいは腹膜炎患者において重篤な感染症を引き起こすことが報告されるようになってきた。しかしながら、これまで *R. mucilaginosa* は、病原性が弱いと考えられていたため、感染根管における分布状態、あるいは病原性について不明な点を多く残している。本研究は、将来的に *R. mucilaginosa* の口腔内分布状態、そして歯内疾患との関連性を解明するため、等温遺伝子増幅法 (LAMP 法) を応用した迅速・簡易検査法を確立しようとするものである。

【材料と方法】

- 1) プライマーの設計 : Primer Explorer version3 (富士通: the net Laboratory website)、ならびに Genetyx software による alignment 解析によって、*R. mucilaginosa* の 16S rRNA 遺伝子配列をもとに、特異プライマーの設計を行った。
- 2) 供試菌 : *R. mucilaginosa* ATCC 25296、DY-18、*R. aeria* JCM 11412、*R. dentocariosa* BAA-907 をはじめとした 18 菌種を使用した。
- 3) 遺伝子増幅反応 : 遺伝子増幅は *Bst* DNA Polymerase を使用した等温遺伝子増幅法 (LAMP 法) によって行った。各供試菌から抽出したゲノム DNA を鋳型として遺伝子増幅反応を行い、LAMP 法の特異性を調べるとともに、段階希釈した標的菌種 DNA を鋳型として検出感度試験を行った。
- 4) 増幅遺伝子の検出 : 遺伝子の増幅はアガロース電気泳動、あるいは SYBR-Green 添加による目視によって判定した。
- 5) PCR 法 : 従来の PCR 法 (Tsuzukibashi *et al.*, 2013) を実施し、LAMP 法のパフォーマンスを検証した。

【結果】

- 1) 設計した LAMP プライマーによって特異的に *R. mucilaginosa* 遺伝子を増幅することができた。
- 2) 50 分の LAMP 反応は PCR 法と同レベルの検出感度を示した。(10 cells/reaction tube)
- 3) Intact cell を鋳型とした場合には 1000 cells/reaction tube が検出限界となった。
- 4) LAMP 法による遺伝子増幅は SYBR-Green 添加によって目視判定することができた。

【結論】

確立した *R. mucilaginosa* 検出のための LAMP 法は、迅速性と簡便性に優れており、有用な臨床診断ツールとなる可能性がある。

BMP-Smad シグナルに MTI-II Peptide Anti-Inflammatory Drug (MPAID)が与える影響

¹広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 歯髄生物学研究室、
²大阪大学産業科学研究所 生体分子反応科学研究分野、³九州歯科大学 口腔保存治療学分野
○平田-土屋志津¹、岡本一起²、鈴木茂樹¹、本山直世¹、永安慎太郎¹、小武家誠司¹、柴 秀樹¹、北村知昭³

Effects of MTI-II Peptide Anti-Inflammatory Drug (MPAID) on BMP-Smad Signalling.

¹Department of Biological Endodontics, Institute of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University

²Department of Biomolecular Science and Reaction, The Institute of Science and Industrial Research, Osaka University

³Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

○HIRATA-TSUCHIYA Shizu¹, OKAMOTO Kazuki², SUZUKI Shigeki¹, MOTOYAMA Naoyo¹,
NAGAYASU Shintaro¹, KOBUEKI Seiji¹, SHIBA Hideki¹, KITAMURA Chiaki³

【目的】

近年、効果的な骨再生誘導には炎症のコントロールが重要であることが指摘されている。一方で様々な疾患の発症に対する慢性炎症の関与が注目されていることから、根尖歯周組織に生じた骨欠損の再生を確実にするためには、感染制御と再生療法技術に加え慢性炎症制御が重要と言える。これまでに我々は、骨組織再生療法の確立を目的として、炎症反応時の主たるシグナル伝達経路である NF- κ B シグナルと BMP-Smad シグナルの相互作用に着目し、NF- κ B サブユニットである p65 が Smad4 と結合することで BMP シグナルを抑制していることを明らかにした (*Mol Endocrinol*, 2014)。また、ステロイド剤と同等に抗炎症作用を有するステロイド受容体コアクチベーター Macromolecular Translocation Inhibitor II (MTI-II) が炎症の主たるシグナル伝達経路である NF- κ B シグナルを直接抑制すること (*Endocrinology*, 2016)、MTI-II および MTI-II 酸性アミノ酸領域を利用したペプチド (MTI-II Peptide Anti-Inflammatory Drug; MPAID、特許番号: 4874798 日本査定済、US 7932226 米国査定済、特願 2014-257827) が TNF α 刺激による象牙芽細胞様細胞の石灰化抑制を解除することを明らかにした (*J Cell Biochem*, 2016)。骨芽細胞においても MTI-II および MPAID は NF- κ B シグナルの活性を抑制することで TNF α 刺激による炎症性サイトケインの発現を抑制することを報告してきた。今回、TNF α 刺激による BMP 誘導性骨芽細胞分化の抑制を MPAID が解除するメカニズムについて検討した。

【材料と方法】

骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) に NF- κ B ルシフェラーゼ発現プラスミドを遺伝子導入し、MPAID で前処理後、炎症性サイトカイン TNF α (10 ng/ml) で刺激後にルシフェラーゼ活性を測定し、NF- κ B の転写活性を分析した。次に BMP4 (25 ng/ml) で分化誘導した MC3T3-E1 細胞を MPAID と TNF α で刺激後、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性を測定した。また、MPAID 存在・非存在下の培養 MC3T3-E1 細胞を BMP4 と TNF α で刺激後、タンパク質を抽出し、抗リン酸化 Smad1/5/8、抗 Smad1 および抗 Smad4 抗体を用いてウェスタンブロット法により Smad1/5/8 リン酸化と Smad1 および Smad4 の発現を分析した。さらに p65 と Smad4 の結合に MPAID がどのように影響するかを免疫沈降法にて検討した。

【結果】

MC3T3-E1 細胞を TNF α で刺激すると NF- κ B の転写活性が著しく上昇したが、MPAID の添加によって MPAID 濃度依存的に NF- κ B の転写活性上昇が解除・抑制された。次に、BMP4 で分化誘導した MC3T3-E1 細胞を TNF α で刺激すると ALP 活性が抑制されたが、MPAID 添加によりその抑制は解除された。また、細胞を BMP4、TNF α および MPAID で刺激したところ、MPAID 存在・非存在下に関わらず Smad1/5/8 のリン酸化や Smad1 や Smad4 の発現に有為な差は認められなかった。さらに免疫沈降法にて、MPAID は p65 と Smad4 の結合を阻害することなく p65 と Smad4 の複合体と結合することが確認された。

【考察】

MPAID は TNF α 刺激による NF- κ B シグナルを抑制することで BMP による骨芽細胞分化の抑制を解除することが示唆された。また MPAID は、Smad1/5/8 のリン酸化や Smad1 や Smad4 の発現に影響することなく、p65 と Smad4 の結合にも影響を与えなかった。以上の結果は、MPAID による骨芽細胞分化の抑制の解除は、p65 と Smad4 の結合の阻害でなく、より下流に存在する他のシグナル分子を制御している可能性が示唆している。

【結論】

MPAID は根尖歯周組織に生じた慢性炎症を制御する有用な薬剤となる可能性が示された。

Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)のラット象牙芽細胞 (KN-3)における VEGF 産生に与える影響

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 口腔科学部門 歯科保存学分野
○蔵本瞳、湯本浩通、平尾功治、細川由樹、中西正、武川大輔、松尾敬志

The effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) on VEGF production in rat odontoblastic cells (KN-3)

Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
○Hitomi KURAMOTO, Hiromichi YUMOTO, Kouji HIRAO, Yuki HOSOKAWA, Tadashi NAKANISHI,
Daisuke TAKEGAWA and Takashi MATSUO

【緒言】

歯髄炎は、主に齶蝕細菌やその構成成分が象牙細管を通じ象牙芽細胞層に到達することで惹起され、その発症には自然免疫の関与が示唆される。歯髄炎が進行すると歯髄組織に不可逆性の変化が生じ、最終的に歯髄除去療法の適応となる。しかし、無髄歯の予後は必ずしも良好ではなく、破折などの転機をたどることも多い。そこで、歯髄保存の観点から新規歯髄保護療法の開発が望まれている。我々はこれまでに本学会（日本歯科保存学会 2014 年度第 140 回春季学術大会）において、ラット象牙芽細胞株 (KN-3)が PRRs の一種である Nucleotide-binding Oligomerization Domain containing protein (NOD)1 を優位に発現していること、また、KN-3 細胞をその特異的リガンドである D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (iE-DAP)で刺激すると、CINC-1, CCL20, CXCL2/3, MCP-1 といったケモカインの産生が誘導されることを報告している。さらに、2016 年第 37 回日本歯内療法学会学術大会において、ポリフェノール類の一種であるカテキン (EGCG: Epigallocatechin gallate)やプロポリスの生理活性物質である Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)が、iE-DAP 刺激によって KN-3 細胞から産生誘導されたこれらのケモカインを抑制することも報告している。

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)は血管新生に関わる増殖因子として知られており、近年、炎症歯髄組織において発現が増加しているとの報告がなされている (Abd-Elmeguid A *et al.* J Endod. 2013)。今回我々は、新規歯髄保護療法の開発を目的としポリフェノール類ならびに VEGF に着目し研究を行い、興味深い知見を得たので報告する。

【方法】

ラット象牙芽細胞株 (KN-3: 九州歯科大学、北村知昭教授・西原達次教授より恵与)を 24-well plate に播種し、10 % FBS 添加 α -MEM 培地にてサブコンフルエントまで培養後、ポリフェノール類の一種である EGCG、CAPE や Caffeic acid で 24 時間処理後、total RNA ならびに培養上清を回収した。精製 total RNA は逆転写した後 real-time PCR 法を、培養上清は ELISA 法を用いて VEGF の発現・産生量を解析した。さらに、KN-3 細胞を 24-well plate に播種し、24 時間後に石灰化誘導培地 (1 % FBS、10 mM β -glycerophosphate ならびに 50 μ g/ml アスコルビン酸を添加した α -MEM 培地)に交換して、サブコンフルエントまで培養を行い、EGCG、CAPE や Caffeic acid で 24 時間処理後、total RNA ならびに培養上清を回収し、上記と同様に解析を行った。

【結果】

real-time PCR の結果、EGCG、Caffeic acid 処理群においては VEGF の mRNA 発現増強は認めなかったが、CAPE 処理群において有意な VEGF mRNA の発現増強が認められた。また、ELISA 法においても同様に CAPE 処理群においてのみ、培養上清中の VEGF 濃度の増加を認めた。さらに、石灰化誘導培地を用いた KN-3 細胞においても培養上清中の VEGF 産生増加を確認した。

【結論】

今回の研究において、ラット象牙芽細胞 (KN-3)において、CAPE 処理は VEGF を産生増強することが明らかとなった。近年、VEGF は歯髄幹細胞の活性化や象牙芽細胞への分化に関与し、修復象牙質の形成に関与するといった報告がなされており (Zhang J *et al.* Mol Med Rep. 2016)、抗炎症作用を有する CAPE が、さらに VEGF 産生を誘導することは、新規歯髄保護療法の新たな可能性を示唆するものである。

ラット歯髄培養細胞の分化に及ぼす Wnt10a と Ectodin の作用について

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野

○上田堯之、山崎崇秀、門倉弘志、横瀬敏志

Effects of Wnt10a and Ectodin on dentinogenesis of odontoblast-like cell isolated from rat incisor dental pulp

Division of Endodontics and Operative Dentistry, Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry

○UEDA Takayuki, YAMAZAKI takahide, KADOKURA Hiroshi, and YOKOSE Satoshi

目的：我々はこれまでにラットの切歯歯髄より分離した細胞の分化に対して Ectodin がどのように作用するかを調べ、dentinogenesis に対して初期段階から影響し、象牙芽細胞への分化に必須であることを報告してきた。一方、Wnt10a も歯髄組織の象牙芽細胞に発現が認められ、象牙質形成に重要な役割を果たしていることが報告されている。そこで本研究では象牙芽細胞の分化に対する Wnt10a と Ectodin の関係を調べるために歯髄培養細胞を用いて調べることを目的とした。

材料と方法：7週齢の雌ラット5匹から下顎切歯歯髄組織を取り出し、酵素処理 (trypsin と collagenase) により初代歯髄培養細胞を得た。これらの細胞を 10%CS、ascorbic acid (50 μ g/ml)、 β グリセロリン酸 (300 μ g/ml) を含む α MEM にて 21 日間培養して実験に用いた。これらの細胞に対して、Ectodin と Wnt10a の shRNA を作成して発現ベクターに組み込み knock down を行った。コントロールとして Wnt10a と Ectodin のターゲット配列をシャッフルした shRNA を用いた。培養開始から 7, 14, 21 日目に形態学的に von Kossa と ALP 染色を行い、象牙質様石灰化結節の観察を行った。また、各サンプルから total RNA を抽出し cDNA を作成して Real Time PCR を用いて Wnt10a, Ectodin, DSPP, Rnx2 の遺伝子発現を調べた。

結果：培養開始から Wnt10a と Ectodin の mRNA 発現はコントロールに対して 40%未満になり、knock down 効果を確認した。Ectodin, Wnt10a を knock down した細胞では、培養 21 日に DSPP mRNA の発現と石灰化結節の形成がコントロールと比較して有意に抑制され、象牙芽細胞への分化が強く抑制された。また、Rnx2 の発現も Ectodin, Wnt10a を knock down した細胞の両方で発現が抑制された。しかし、Wnt10a を knock down した細胞は Ectodin の発現も抑制されたが、Ectodin を knock down した細胞は Wnt10a の発現が抑制されなかった。

考察：象牙芽細胞の分化と象牙質形成に重要な役割を果たす DSPP が Ectodin, Wnt10a を knock down した細胞において抑制されたことは両者が共に dentinogenesis に重要であることを示している。さらに Rnx2 が DSPP の発現に作用することや、Rnx2 が Wnt10a によって誘導されることを考えると、Wnt10a \rightarrow Rnx2 \rightarrow DSPP の関係が示唆される。さらに Ectodin を knock down した細胞での Wnt10a の発現が抑制されなかったことから Wnt10a は Ectodin の上流でコントロールしていることが考えられ、Wnt10a \rightarrow Ectodin \rightarrow Rnx2 \rightarrow DSPP の関係が示唆された。

結論：Wnt10a と Ectodin は共に dentinogenesis を調節していることが示された。

歯根肉芽腫の創傷治癒における SIRT1 の関与

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²
○工藤 洋¹, 武市 収^{1,2}, 羽鳥啓介^{1,2}, 牧野公亮¹, 氷見一馬¹, 小木曾文内^{1,2}

The involvement of SIRT1 to wound healing in human periapical granulomas

Department of Endodontics¹ and Division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry

○Hiroshi Kudo¹, Osamu Takeichi^{1,2}, Keisuke Hatori^{1,2}, Kosuke Makino¹, Kazuma Himi¹, Bunnai Ogiso^{1,2}

【背景】 SIRT1 は NAD⁺依存性ヒストン脱アセチル化酵素であり, 生体組織内での炎症やアポトーシスに影響を与え, 生体機能の調節役として重要な役割を果たしていると考えられており, がん治療への応用も研究されている。

慢性根尖性歯周炎は口腔内常在菌の混合感染によって根尖部歯周組織に生じる病変であり, SIRT1 が炎症性細胞の活性や根尖病巣の増大に深く関与している可能性がある。歯根肉芽腫は根尖部に肉芽組織を形成する難治性病変であり, 多数の幼若な毛細血管と炎症性細胞浸潤を特徴とする。創傷治癒過程においては血管新生が重要な要素であり, SIRT1 がこれを促進する可能性が示唆される。

【研究目的】 歯根肉芽腫内での SIRT1, Ki-67 タンパクの発現や vascular endothelial growth factor (VEGF) および vascular endothelial (VE)-cadherin の遺伝子発現を検索し, HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) を用いて血管新生と SIRT1 の関連について検討する。

【材料及び方法】

1. 供試試料

口腔内診査(咬合痛, 打診痛, 根尖部圧痛および瘻孔の有無)ならびに根尖部エックス線写真にもとづき, 臨床的に慢性根尖性歯周炎と診断され, 歯内外科処置または抜歯処置が適応とされた患者 (n = 33) を被験者として, 根尖病巣組織を外科的に採取した。採取されたサンプルはただちに分割し, 一方は RNA 抽出, 他方は OCT コンパウンドに包埋, 凍結後, クリオスタットを用いて 5 μm の凍結切片を作製した。すべてのサンプルは HE 染色を施し, 病理組織学的に歯根肉芽腫または歯根嚢胞であることを確認し, 歯根肉芽腫と判定された試料 (n = 25) のみを実験に用いた。また, 完全水平埋伏歯の抜歯の際に採取した健常歯肉組織 (n = 10) をコントロールとして用いた。なお, 試料の採取にあたっては歯学部倫理委員会の承認を得て実施した。(倫許 2014-6 号)

2. Real-time PCR 法

組織から mRNA を抽出し cDNA に変換後, SYBR Green I による Intercalator 法によりヒト SIRT1, VEGF および VE-cadherin 特異的プライマーを用いて遺伝子発現を検索した。

3. 細胞培養

HUVEC (ヒト臍帯静脈内皮細胞) を専用培地を用い, 5%CO₂, 37°C にてインキュベートした。細胞は 2×10⁴/ml に調整し, LPS (*E.coli* 0111:B4 由来), Resveratrol (Sigma-Aldrich) を用いて刺激を行った。

4. 免疫組織化学的検索

凍結切片を用いて, 抗ヒト SIRT1 ウサギモノクローナル抗体及び抗ヒト Ki-67 マウスモノクローナル抗体を用いて蛍光二重染色を行った。

【成績】 歯根肉芽腫中の SIRT1, VEGF および VE-cadherin 遺伝子の発現量は健常歯肉と比較して有意に高かった。免疫組織化学的検索により歯根肉芽腫には SIRT1 が発現しており Ki-67 と共発現していることが確認された。細胞実験により SIRT1 遺伝子は薬剤刺激によりコントロールと比べ有意に高かった。

【結論および考察】 以上の成績から, 歯根肉芽腫中の SIRT1, VEGF および VE-cadherin の発現遺伝子量は健常歯肉組織と比較して有意に高く, HUVEC を刺激した結果, SIRT1 の遺伝子発現が上昇し, 免疫組織化学的検索では SIRT1 と Ki-67 タンパクとの発現位置の一致から SIRT1 発現が血管新生に関与している可能性が示唆された。

歯根肉芽腫中の炎症性細胞における FOXO3A の発現 (第二報)

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²,
○石井 佳笑¹, 羽鳥 啓介^{1,2}, 武市 収^{1,2}, 牧野 公亮¹, 小木曾 文内^{1,2}

Expression of FOXO3A in inflammatory cells of human periapical granulomas (Part2)
Department of Endodontics¹ and Division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry
○Kae Ishii¹, Keisuke Hatori^{1,2}, Osamu Takeichi^{1,2}, Kosuke Makino¹, Bunnai Ogiso^{1,2}

【背景】

Forkhead box O3A (FOXO3A) は, 様々な癌において腫瘍抑制の役割を果たす転写因子であり, 細胞増殖, アポトーシス, 代謝, ストレス応答に関与している。近年の研究から関節リウマチ (RA) をはじめする慢性炎症で発現し, 細胞のアポトーシス誘導性転写因子として知られる Fas ligand (FASL) の伝達機構を制御することで慢性炎症を抑制すると報告されている。演者らは免疫組織学的手法により, 口腔内の慢性炎症である歯根肉芽腫における FOXO3A タンパクの発現を確認し, 歯根肉芽腫の病態に関与している可能性について第 144 回本学会で報告した。

【研究目的】

歯根肉芽腫および健常歯肉における FOXO3A のタンパクおよび遺伝子発現, FASL の遺伝子発現を検索する。

【材料および方法】

1. 供試試料

口腔内診査およびエックス線診査に基づき, 慢性根尖性歯周炎で臨床的に外科的歯内療法または抜歯が適応と診断された患者を被験者として根尖病巣組織を採取した。また, 完全水平埋伏智歯の抜去の際に採取した健常歯肉組織をコントロールとして用いた。なお, 被験者には採取した組織を本研究に用いることを説明し, 文書にて同意を得た。(日本大学歯学部倫理委員会:2014-6)

2. 供試試料の調製および病理組織学的検索

供試試料は採取後直ちに分割してホルマリン固定し, ミクロトームを用いて 4 μ m のパラフィン切片を作製した。通法に従いヘマトキシリン・エオジン染色を行い, 病理組織学的に歯根肉芽腫と診断された試料を本研究に用いた。

3. 免疫組織化学的検索

供試試料中の炎症性細胞での FOXO3A の発現を酵素抗体法にて免疫組織化学的に検索を行った。また, 抗ヒト CD3, CD79 α および Neutrophil Elastase 抗体を用いて T リンパ球, B リンパ球および好中球における FOXO3A の局在を二重蛍光抗体法にて検索し, それぞれの陽性細胞率を算出した。

4. Real time PCR 法

供試試料中の FOXO3A および FASL 遺伝子の発現を検索するために RNeasy mini kit[®]を用いて RNA を回収し, Takara Prime Script[®]を用いて cDNA を作製した。その後 FOXO3A および FASL の特異的プライマーを用い Thermal Cycler Dice[®]にて Real time PCR を行った。なお, 各試料の遺伝子発現レベルは GAPDH により標準化した。

【成績】

1. 免疫組織学的検索において, FOXO3A は健常歯肉組織では発現は認められず, 歯根肉芽腫中のリンパ球, 形質細胞および好中球での発現が認められた。また, FOXO3A 発現の局在は細胞の核内に認められた。
2. Real time PCR 法において, 歯根肉芽腫における FOXO3A 遺伝子および FASL 遺伝子の発現量は, 健常歯肉組織と比較して有意に高かった。

【考察】

以上の成績から, 慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫中の炎症性細胞において FOXO3A が発現し, FASL の伝達機構の制御に関与していることが示唆された。

ラット歯髄再生過程における M2 マクロファージの動態について

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座歯髄生物学分野¹
新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野²

○顧 彬¹、金子友厚¹、末山有希子²、Phyo Pyai Sone¹、Su Yee Myo Zaw¹、興地隆史¹

Kinetic Analysis of M2 Macrophages in the Regenerative Process of Rat Engineered Pulp Tissue

¹Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo Japan

²Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata Japan

○Bin GU¹, Tomoatsu KANEKO¹, Yukiko SUEYAMA², Phyo Pyai Sone¹, Su Yee Myo Zaw¹, Takashi OKIJI¹.

(目的)

我々は、第 142 回および 145 回本学会において、間葉系幹細胞をポリ乳酸スキャホールドとともにラット上顎第一臼歯歯冠歯髄腔に移植すると、14 日間で歯髄組織の再生が生じることを報告した。また、同モデルにおいて、細胞移植 3 日後では移植部位に多数の CD68 (汎マクロファージマーカー) 陽性細胞が出現するが、移植 14 日後ではこれらが減少することを観察している¹⁾。一方、活性化マクロファージの亜群である創傷治癒 (M2) マクロファージが、組織修復・再生に関与することが近年注目されているが、歯髄組織の再生過程における M2 マクロファージの動態の詳細は不明である。そこで本研究では、歯髄再生過程で移植部位に出現する M2 マクロファージマーカー陽性細胞の動態を、免疫組織化学的手法により解析した。

(方法)

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施された (承認番号 139 号 1)。5 週齢 Wistar 系雌性ラットの上顎第一臼歯を検索対象とし、既報¹⁾に従い歯冠歯髄腔への幹細胞移植を行った。すなわち、全身麻酔下で #1/2 ラウンドバーを用いて被験歯を露髄させ歯冠歯髄を削除したのち、窩洞を 2.5% 次亜塩素酸ナトリウム、15% EDTA およびリン酸緩衝食塩液で洗浄後、ラット間葉系幹細胞 (PoieticsTM ラット間葉系幹細胞; Lonza) を混合した Matrigel[®] / ポリ乳酸スキャホールドを移植し、水硬性セメント (Cavit Pink; 3M ESPE) とフロアブルコンポジットレジン (Beautiful Flow; 松風) を積層して窩洞を封鎖した。未処置の正常上顎第一臼歯をコントロールとした。移植 3、7、14 日間経過後、本法に従い被験歯を固定、脱灰後、凍結切片とし、一次抗体として CD163 (ED2; 抗 M2 マクロファージ) を用いて ABC 法で免疫染色を行った。さらに、移植部位における単位面積あたりの CD163 陽性細胞の密度を顕微鏡下で定量し、Mann-Whitney U 検定 (Bonferroni 補正を適用) を用い、有意水準 5% で統計解析を行った。

(結果)

幹細胞移植後、歯冠歯髄腔内で歯髄組織の再生とスキャホールドの吸収が経時的に進行した。CD163 陽性マクロファージは全観察期間を通して歯冠部歯髄腔内に観察され、その密度は、移植 3 日経過例でもっとも低く、その後 14 日まで有意に増加した ($P < 0.05$)。

(考察)

細胞移植 3、7、14 日後の比較において、3 日後では CD68 陽性細胞が最も多数存在するが¹⁾、本研究では CD163 陽性細胞が最も少数観察された。従って、スキャホールドの多くが残存する移植初期に出現するマクロファージとして M1 マクロファージが優位であることが示唆された。一方、移植 14 日後では CD68 陽性細胞の有意な減少が観察されるとともに¹⁾、スキャホールドの吸収と歯髄組織再生が進行したが、この時期では CD163 陽性細胞の有意な増加が観察されたことから、移植部位において M2 マクロファージの割合が増加している可能性が示唆された。

(結論)

スキャホールドが吸収され歯髄組織の再生が進行すると、M2 マクロファージマーカー陽性細胞の増加が観察された。

文献

1. Ito T, Kaneko T, Sueyama Y, Kaneko R, Okiji T. Dental pulp tissue engineering of pulpotomized rat molars with bone mesenchymal stem cells. *Odontology* (in press).

魚コラーゲンを足場材としたイヌにおける歯髄再生療法

1) 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野, 2) 国立長寿医療研究センター再生歯科医療研究部
再生歯科医療研究室

○山田 志津香¹⁾, 山本 耕平¹⁾, 柳口 嘉治郎¹⁾, 林 善彦¹⁾, 庵原 耕一郎²⁾, 中島 美砂子²⁾

Dental Pulp Regeneration using Fish Collagen as Scaffold in Dog Teeth

1) Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 2) Department of Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute.

○YAMADA Shizuka¹⁾, YAMAMOTO Kohei¹⁾, YANAGIGUCHI Kajiro¹⁾, HAYASHI Yoshihiko¹⁾, IOHARA Koichiro²⁾, NAKASHIMA Misako²⁾

【目的】

人獣共通感染症への可能性のない魚由来タイプ I コラーゲン(Fish type I atelocollagen: FAC)を足場材として応用するためこれまで検討を加えてきた。本研究では、FAC の安全性試験と合わせて魚由来コラーゲンの足場材としての安全性ならびに有効性をイヌの歯を使って非臨床試験として評価することである。

【材料と方法】

本研究で用いた、ティラピアの皮膚をペプシンで可溶化したものから生成された FAC は、株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所 (茨城) から供与された。1.5 倍に濃縮された PBS(-)で溶解された最終濃度 0.1%の FAC を足場材として使用した。FAC に関する安全性の検査のため以下に示す 12 項目を実施した。FAC ゲルの無菌性を明らかにするために、ゲルが抽出された。ISO 規格のレベルを精査するために、0.1% FAC 溶液の生物学的研究が行われた。1.5mL の顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) と 20 μ L の FAC を添加した自家歯髄由来幹細胞 (1×10^5 cells) が 2 匹のビーグル犬の抜髄された前歯の根管に移植された¹⁾ (n=2) (愛知医科大学承認番号 2016-5 号)。牛コラーゲンがコントロール群の足場材として使用された(n=2)。両群の歯は 30 日目に抜去した。通法にしたがって脱灰パラフィン切片を作製したのち、ヘマトキシリンエオジン染色法を施し、光学顕微鏡を用いて病理組織学的に検討を加えた。

12 検査項目

- 1) 細菌否定試験 2) 真菌否定試験 3) マイコプラズマ否定試験 4) ウイルス否定試験 5) エンドトキシン否定試験
- 6) 細胞毒性試験 7) 感作性試験 8) 染色体異常試験 9) 皮内刺激試験 10) 急性全身毒性試験 11) 発熱性試験
- 12) 溶血性試験

【結果】

細菌、真菌、マイコプラズマ、ウイルス否定試験はいずれも陰性であった。エンドトキシン残量、細胞毒性、感作性、染色体異常、皮内刺激、急性全身毒性、発熱性、溶血性に関する ISO 規格試験も、すべて基準値内であった。移植 1 か月後に、再生歯髄組織は両群とも同等で、根管スペースの 60%以上を占めていた。脈管構造を含む再生歯髄組織には、炎症反応は見られなかった。本来の歯髄と同様の象牙芽細胞層が、両群で新生された歯髄組織の辺縁に観察された。

【まとめ】

臨床等級の FAC を使用したイヌの歯髄再生に関する本所見では、新生した歯髄組織に拒絶反応を認めなかった。これは、FAC の大動物への応用の安全性と有効性を証明した最初の報告であり、足場材として哺乳類由来のコラーゲンの代替材料として有用であることを示唆した。

【謝辞】

この研究の一部は、長寿医療研究開発費 No.23-10 の助成によって実施した。

【参考文献】

- 1) Iohara K, Murakami M, Takeuchi N, Osako Y, Ito M, Ishizaka R, Utsunomiya S, Nakamura H, Matsushita K, Nakashima M. A novel combinatorial therapy with pulp stem cells and granulocyte colony-stimulating factor for total pulp regeneration. Stem Cells Transl Med. 2013; 2(7):521-533.

骨芽細胞における calcium-sensing receptor を介した mineral trioxide aggregate による骨形成誘導

日本大学歯学部¹ 歯科保存学第II講座,² 生化学講座,³ 衛生学講座
日本大学歯学部 総合歯学研究所⁴ 高度先端医療研究部門,⁵ 機能形態部門
○安川拓也¹, 林 誠^{1,4}, 黄 紀蓉¹, 田邊奈津子^{2,5}, 川戸貴行^{3,5}, 小木曾文内^{1,4}

Osteogenic Induction by MTA via Calcium-Sensing Receptor in Murine MC3T3-E1 Cells

Departments of ¹Endodontics, ²Biochemistry, ³Oral Health Sciences, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan
Division of ⁴Advanced Dental Treatment, ⁵Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon University School of
Dentistry, Tokyo, Japan

○Takuya Yasukawa¹, Makoto Hayashi^{1,4}, Kiyo Kou¹, Natsuko Tanabe^{2,5}, Takayuki Kawato^{3,5} and Bunnai Ogiso^{1,4}

【研究目的】

ケイ酸カルシウムを主成分とした歯内療法用セメント mineral trioxide aggregate (MTA) は、歯内療法領域で多岐にわたって応用されている。これまで、MTA から遊離する Ca²⁺が硬組織形成細胞の遊走、増殖および分化を促進させ、臨床的有用性に寄与することが示されている。一方、calcium-sensing receptor (CaSR) は細胞外 Ca²⁺濃度の上昇を感知する受容体であり、演者らは第 145 回本学会において MTA から遊離した Ca²⁺が骨芽細胞上の CaSR を介して分化に関与する可能性について報告した。そこで今回、本実験の培養条件における MTA から遊離した Ca²⁺濃度を測定し、MTA が骨芽細胞の分化に与える影響と CaSR の発現に及ぼす影響について検討した。

【材料及び方法】

被験材料は MTA (ProRoot, DENTSPLY), 使用細胞は骨芽細胞として MC3T3-E1 細胞を用いた。被験材料は製造者指示通りに混和後、Insert cell culture 法にて MC3T3-E1 細胞と培養した。なお、培養期間は medium を交換する一般的な期間である 3 日間と設定し、被験材料を設置しないものを control とした。

実験 1 : MC3T3-E1 細胞に対する MTA の生体親和性

本実験条件における MTA の生体親和性について、Cell counting kit-8 を用いた細胞数測定と real-time PCR 法による alkaline phosphatase (ALP) の遺伝子発現にて検討した。

実験 2 : 骨形成関連マーカーおよび CaSR の遺伝子発現とタンパク産生

MC3T3-E1 細胞の分化に関与するマーカーとして Runx2 と type I collagen の遺伝子発現とタンパク産生について real-time PCR 法と ELISA 法にて、それぞれ検索した。あわせて CaSR についても同様な方法で検索した。

実験 3 : MTA から遊離する Ca²⁺ 濃度の測定と CaSR の関与

本実験条件における MTA から遊離する Ca²⁺濃度を Calcium E-test Wako を用いて測定した。また、遊離した Ca²⁺濃度に対応して Ca²⁺キレート剤 (EGTA) と CaSR アンタゴニスト (NPS2143) を使用し、骨形成関連遺伝子および CaSR の発現を real-time PCR 法にて解析した。

【結果】

実験 1 では、MTA を設置した MC3T3-E1 細胞の細胞数と ALP の遺伝子発現は、培養 1 および 2 日目において control と有意差は認められなかったが、培養 3 日目で有意に上昇し、本実験系における MTA の高い生体親和性を確認した。実験 2 では、Runx2, type I collagen および CaSR の遺伝子発現とタンパク発現は MTA 存在下で control より有意に増加した。実験 3 では、本培養系における MTA からの遊離 Ca²⁺濃度は経時的に増加し、培養 3 日目で約 2.5 mM まで上昇した。さらに EGTA および NPS2143 を液体培地に添加することによって、MTA 存在下で上昇した Runx2, type I collagen および CaSR の遺伝子発現は control レベルまで減少した。

【考察及び結論】

以上のことから MTA から遊離した Ca²⁺が MC3T3-E1 細胞の CaSR の発現を増強するとともに本レセプターを介して、骨芽細胞の分化を促進する可能性が示唆された。

細胞封入型デバイスから分泌される GDNF および VEGF が 象牙芽細胞様細胞の生存能に与える影響

¹九州歯科大学口腔保存治療学分野, ²NsGene Inc., USA

○西藤法子¹, 諸富孝彦¹, 鷲尾絢子¹, Wahlberg Lars², Emerich Dwaine², 北村知昭¹

Effects of GDNF and VEGF from Cell Encapsulated Device on Viability of Odontoblast-like Cells

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University, ²NsGene Inc., USA
○SAITO Noriko¹, MOROTOMI Takahiko¹, WASHIO Ayako¹, WAHLBERG Lars², EMERICH Dwaine², KITAMURA Chiaki¹

【目的】これまで我々は歯髄組織を局所的に再生することを目標として、断髄後の残存歯髄から象牙質-歯髄複合体を再生誘導する研究を進めてきた。歯髄の局所的再生療法確立には残存歯髄の炎症制御や細胞生存維持が重要であり、そのためには局所に対して必要な因子を持続的に供給する手段が必要となる。従来から成長因子を分泌する細胞を多孔性カプセルに封入したデバイスを生体内に移植する治療法の開発が行われており一部は臨床研究段階にある。そのひとつとしてアルツハイマー病やパーキンソン病の進行抑制を目的とした GDNF を分泌するデバイスが米国 NsGene 社により開発されている。デバイスには GDNF を恒常的に分泌するよう遺伝子改変されたヒト網膜色素上皮細胞 (ARPE19 細胞) が充填されており、デバイス表面の微小孔から分泌された GDNF が溶出するように設計されている。今回、細胞封入型デバイスから分泌される GDNF および ARPE19 細胞が本来分泌している VEGF が象牙芽細胞様細胞の生存能・増殖能・分化能に与える影響について検討した。

【材料と方法】GDNF 分泌デバイスおよび遺伝子改変されていない ARPE19 細胞が封入されたデバイスを用いた。各デバイスは Human Endothelial SFM 無血清培地に浸漬し一定期間毎に培地を交換することで分泌能を維持した。象牙芽細胞様細胞はラットより樹立した象牙芽細胞様細胞株 (KN-3 細胞) を用いた。各デバイスから分泌される GDNF と VEGF は ELISA にて定量した。KN-3 細胞を 24-well plate で 24 時間 (10%FBS 含有 α MEM) 培養後、培地を各デバイスから分泌された GDNF, VEGF が含まれる維持培地が全培養液の 50% (FBS 最終濃度 0.1%) になるよう調製した刺激培地と交換した。一定期間毎に刺激培地を交換して 7, 14 日間培養後、Trypan Blue 染色により生細胞数の割合を算出した。VEGF 阻害剤として soluble Flt-1 を刺激 3 時間前に添加・作用させた各デバイス維持培地でも同様の実験を行った。さらに刺激培地で培養した細胞を 1%FBS 含有培地に変更・培養後、細胞生存能とアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性を測定した。

【結果および考察】ELISA の結果から GDNF 分泌デバイスからの GDNF が 12 か月にわたり継続的に分泌していることが確認された。各デバイス維持培地を用いた KN-3 細胞刺激実験の結果、刺激した細胞群では無血清に近い環境下でも細胞生存・増殖が認められたが、未刺激群では細胞が有意に減少していた。VEGF 阻害剤 (soluble Flt-1) を刺激培地に添加したところ、ARPE19 細胞封入デバイスからの維持培地で刺激した細胞群では有意に生存細胞数が減少したが、GDNF 分泌デバイスからの維持培地で刺激した細胞群は生存細胞数に変化はなかった。刺激終了後の細胞を 1%FBS 存在下で培養したところ細胞生存・増殖能と ALP 活性を有していることが確認された。

【結論】各デバイスから分泌される GDNF および VEGF は象牙芽細胞様細胞の生存能・増殖能や分化能を持続させること、および GDNF 単独でもそれらは維持されることが示唆された。