

**Detection of Atrial Fibrillation during Pulpal Blood Flow Assessment  
using Doppler Ultrasound : A Case Report**

○ Chan-Hyun Lee<sup>1,2</sup>, Sunil Kim<sup>1</sup>, Dohyun Kim<sup>1</sup>, Euseong Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Conservative Dentistry, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Republic of Korea*

<sup>2</sup>*The Armed Forces Capital Hospital, Seongnam-si, Gyeonggi-do, Republic of Korea*

**Case Report :**

This report describes the case of a 52-year-old male patient who exhibited suspicious pulsation patterns during pulpal blood flow assessment using Doppler ultrasound. Initially, he was not aware of his cardiovascular problem ; however, after referral to a medical clinic, he was diagnosed with atrial fibrillation.

The patient was injured in a motor vehicle accident and referred to our clinic for management of multiple traumatized teeth. On clinical examination, several teeth exhibited negative responses to cold and electrical sensibility tests. To make an accurate diagnosis, pulpal blood flow assessment using a Doppler ultrasound device was performed. During the tests, irregular pulsation patterns were detected, indicating the possibility of a cardiovascular problem. As he denied any history of cardiovascular problems, he was recommended to visit a medical doctor for further evaluation. The following day, he visited a medical clinic, and a 12-lead electrocardiogram was performed. He was ultimately diagnosed with atrial fibrillation with idioventricular rhythm, and was started on anti-coagulant medication for prevention of thrombogenesis, which is a possible complication of atrial fibrillation.

As presented in this case, Doppler ultrasound can provide useful information, not only about blood flow in the dental pulp, but also about an individual's pulsation rhythm. When a patient presents irregular pulsation patterns in certain situations, the possibility of cardiovascular problems should be considered and appropriate referral to a medical doctor should be made.

**Chan-Hyun Lee**

**Department of Conservative Dentistry, Yonsei University College of Dentistry**

army64dent@yuhs.ac

## Effects of S-PRG fillers containing Li ion on the function of pulp cells

○ Manahil. S. Ali, Motoki Okamoto, Shungo Komichi, Masakatsu Watanabe,  
Yoshihiro Ito, Yusuke Takahashi, Mikako Hayashi

*Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontics*

### I. Object :

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) is considered to be a golden standard material in vital pulp therapy, since it showed superior ability to promote the pulp cells' differentiation into odontoblast-like cells and to facilitate tertiary dentin formation. Our previous study reported that surface pre-reacted glass (S-PRG) fillers act as bioactive molecules and induced dentin bridge formation (Okamoto et al., Annual Meeting of the JSCD, 2014). Li ion was reported to repair the pulpotomized pulps in rats (Ishimoto. K et al, J. Biol. Chem, 2015). We have showed that a novel combination of this bioactive S-PRG fillers containing Li+ could promote the healing process of injured pulp tissues after application as a direct pulp capping material in exposed rat pulp (Ali et al., Annual Meeting of the JSCD, 2017). Present study is the first report to evaluate the behavior of pulp stem cells when interact with S-PRG filler containing Li ions. The aim of this study was to evaluate the interaction of S-PRG filler containing Li+ with human dental pulp stem cells in vitro.

### II. Materials & Methods :

Human dental pulp stem cells (hDPSCs) (Lonza, Switzerland) (passage 3-6) were used in this study. Extracted solutions of different concentrations of S-PRG cement containing LiCl were prepared by SHOFU Inc. The extract solution of S-PRG cement without Li ion was used as a control. Trypan blue and hemocytometer were used to count cells to examine the proliferation capability of hDPSCs in direct contact with the different extracts. Lactate dehydrogenase (LDH) assay was done to detect the cytotoxicity of the combination in different concentrations (10,100 and 1000 mM) of the materials. Alkaline phosphatase (ALP) activity was measured by ALP staining and analyzed by Image J software to evaluate the differentiation of the cells. Alizarin red staining was performed to assess the mineralization ability by spectrophotometric analysis. Data were presented as mean  $\pm$  SD of triplicate trials. Statistical analysis was performed using one way ANOVA with Tukey Kramer post hoc test ( $\alpha = 0.05$ ).

### III. Results :

Results of the proliferation assay showed that incorporation of Li ion into S-PRG fillers didn't affect the growth of hDPSCs. LDH assay also showed there were no significant difference among all the groups investigated. The extract of S-PRG cement containing 10 or 100 mM of LiCl promoted the differentiation and mineralization of the hDPSCs. These results could be associated with the release of multiple ions including Li ion from S-PRG cement.

### IV. Conclusion :

Li ion containing S-PRG cement is compatible with the human dental pulp stem cells with no cytotoxic effects. The new combination of S-PRG and Li ion (10 or 100 mM) could enhance both differentiation and mineralization of the pulp cells. Further investigation is necessary such as assessment of markers expression through PCR or gel electrophoresis to assess the possibility of involved mechanism of Wnt/B-catenin signaling pathway.

This study was partly supported by grants from JSPS KAKENHI Grant No. 16K20453, 17K11704.

**Manahil. S. Ali**

**Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontics**

manahilnory91@hotmail.com

# **Laminin111 is an odontoblast-like cell adhesive and conducive to its differentiation toward hard tissue forming phenotype**

○ Jia Tang<sup>1</sup> and Takashi Saito<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Division of Biochemistry, Department of Oral Biology, School of Dentistry,*

<sup>2</sup>*Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,  
Health Sciences University of Hokkaido, Japan*

## **I. Object :**

The present study seeks to investigate the effect of Laminin111 (LN111) on an odontoblast-like cell line-MDPC-23 cell.

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

MDPC-23 cell, a rat odontoblast-like cell line, was used. LN111 (1 mg/mL, L2020, Sigma) was diluted in ultrapure distilled water (10977015, Gibco) to 100  $\mu$ g/mL, 10  $\mu$ g/mL, 1  $\mu$ g/mL, 0.1  $\mu$ g/mL. The protein solution was poured into non-tissue culture treated polystyrene multi-well plates and left dried up with lid open in the clean bench for two consecutive days. The water-coated wells served as control. Cells were seeded to LN111-coated or control well for the evaluation of proliferation (CCK-8 assay), differentiation (ALP activity assay and real time RT-PCR) and mineralization (Alizarin red staining). Data were analyzed by post hoc Tukey HSD test with statistical significance level setting at  $p < 0.05$ .

## **III. Results :**

Cells exhibited concentration-dependent increase of proliferative activity on LN111-coated substrates, especially, a coating concentration of 100  $\mu$ g/mL appears to be the optimum one in eliciting the strongest cell proliferation. Moreover, the same concentration promoted an early spreading and flattening of MDPC-23 cell as shown by the phase contrast microscopy photo. ALP activity in all the LN111 groups was dramatically enhanced on day six. The inducing effect of coated LN111 was further confirmed using real time RT-PCR. Gene expression of DMP-1 ( $2.01 \pm 0.27$  fold), DSPP ( $1.36 \pm 0.06$  fold), OPN ( $2.56 \pm 0.04$  fold), ITGA1 ( $1.29 \pm 0.03$  fold), ITGA3 ( $1.52 \pm 0.05$  fold), ITGA5 ( $1.36 \pm 0.04$  fold), and ITGB1 ( $1.29 \pm 0.04$  fold) was significantly promoted by coated LN111 (100  $\mu$ g/mL) as compared to control. BSP ( $1.29 \pm 0.01$  fold) was enhanced by LN111 (10  $\mu$ g/mL), but to a lesser extent by LN111 (100  $\mu$ g/mL) ( $1.10 \pm 0.03$  fold). OCN expression was slightly augmented in LN111 (10  $\mu$ g/mL and 100  $\mu$ g/mL). In contrary, expression of ALP was slightly down-regulated in LN111 (1  $\mu$ g/mL, 10  $\mu$ g/mL and 100  $\mu$ g/mL). Coating of LN111 accelerated mineralization of MDPC-23 cells as demonstrated by quantification of alizarin red staining intensity, similarly to the proliferation data, the mineralization level was highest in LN111 (100  $\mu$ g/mL).

## **IV. Conclusion :**

The findings showed that a coating of LN111 promotes the spreading, proliferation, differentiation and mineralization of odontoblast-like cells. Specifically, the optimum coating concentration was suggested to be 100  $\mu$ g/mL in MDPC-23 cell. (This study was supported by JSPS KAKENHI Grant Numbers JP15H05024 to Saito T and JP17K17139 to Tang J.)

**Jia Tang**

**Division of Biochemistry, Department of Oral Biology, School of Dentistry,**

**Health Sciences University of Hokkaido**

tangjia@hoku-iryo-u.ac.jp

## 3D imaging of dental caries using swept-source optical coherence tomography

○ Yasushi Shimada<sup>1</sup>, Alireza Sadr<sup>2</sup>, Yasunori Sumi<sup>3</sup>, Junji Tagami<sup>4</sup>, Masahiro Yoshiyama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Operative Dentistry, Okayama University,* <sup>2</sup>*Department of Restorative Dentistry, University of Washington,* <sup>3</sup>*National Center for Geriatrics and Gerontology,*

<sup>4</sup>*Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University*

### I. Object :

Optical coherence tomography (OCT) is a noninvasive imaging method that performs high resolution cross-sectional imaging of internal structure by measuring echoes of backscattered light. Cross-sectional images are generated by multiple axial measurements of echo time delay and scanning of the incident optical beam transversely. Acquiring serial cross-sectional images by scanning the incident light beam in a raster pattern can produce three-dimensional, volumetric data sets.

The purpose of this study was to assess the 3D imaging of dental caries using swept-source OCT (SS-OCT) for the detection and diagnosis in clinic.

### II. Materials & Methods :

Ten unrestored surfaces of premolars and molars with a possibility of caries were selected from the patients in clinic. 3D images of caries were constructed from the surfaces using SS-OCT. The following 4-point rank scale was employed to record the level of caries progression on the basis of bitewing radiographs or SS-OCT images :

0 : Sound tooth surface.

1 : Superficial enamel demineralization without cavitation.

2 : Localized enamel caries. Breakdown due to caries was limited to the enamel thickness.

3 : Dentin caries. The lesion depth was beyond DEJ and penetrated into dentin.

The results were compared with clinical observations obtained after the treatment.

### III. Results :

3D imaging using SS-OCT could detect dental caries present at the occlusal fissure and proximal contacts in clinic. In SS-OCT, caries was imaged as bright zone due to the increase of backscattered signal in gray-scale image.

### IV. Conclusion :

3D SS-OCT could image the dental caries to be a more reliable and accurate method than dental radiographs.

**Yasushi Shimada**

**Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Japan**

shimada.ope@okayama-u.ac.jp

## Optical assessment of dentin de/remineralization from a phosphate-based desensitizer using optical coherence tomography

○ Kumiko Matsuzaki<sup>1</sup>, Yasuo Shinno<sup>1</sup>, Akihito Yokoyama<sup>1</sup>, Yasushi Shimada<sup>1</sup>,  
Alireza Sadr<sup>2</sup>, Yasunori Sumi<sup>3</sup>, Junji Tagami<sup>4</sup>, Masahiro Yoshiyama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Operative Dentistry, Okayama University, <sup>2</sup>Department of Restorative Dentistry, University of Washington, <sup>3</sup>National Center for Geriatrics and Gerontology, <sup>4</sup>Tokyo Medical and Dental University

### I. Object :

Optical coherence tomography (OCT) is a noninvasive imaging device that can provide cross-sectional images of internal biological structure. In addition to offering high resolution morphological images, the OCT signal can be used to estimate attenuation coefficient ( $\mu t$ ) of enamel and dentin. Previous studies have demonstrated a strong correlation between  $\mu t$  determined by swept-source OCT (SS-OCT) signal and mineral changes of demineralized lesions. A new phosphate based desensitizer has been developed that contains zinc-fluoride glass. The purpose of this study was to evaluate demineralization inhibition effects of a new dentin desensitizer using SS-OCT.

### II. Materials & Methods :

Ten dentin slices prepared from caries free human premolars or molars were polished with #600 silicon carbide paper and slightly demineralized using artificial demineralizing solution (pH=5.0) for 5 days. Two areas namely treated (T) and un-treated (UT) were assigned on the demineralized dentin surface as follows ; The half of the surface on each slice was treated by the desensitizer containing zinc-fluoride glass (Zinc-F, GC) for 20 seconds according to the manufacturer's instruction (T), while the other half surface was stayed as UT area. The dentin specimens were then randomly divided into 5 slices each and allocated one of the following treatment groups ; ( i ) further demineralization group was immersed in the demineralizing solution at pH 5.0 ; ( ii ) remineralization group was immersed in remineralizing solution (pH 7.0). After the storage for 3 days, five cross-sectional images of dentin from each dentin slice were obtained using SS-OCT (IVS-2000, Santec) at 1330 nm center wavelength. For image analysis, image analysis software (ImageJ version 1.47n) was used to import the data of SS-OCT. A region of interest (ROI) from the surface (width 1000  $\mu m \times$  optical depth 500  $\mu m$ ) was selected and converted to a signal-intensity depth profile. The signal intensity within the ROI was integrated as the area under curve (AUC500). The  $\mu t$  was also calculated on each average signal-intensity profile. The obtained values were statistically analyzed at significance level of  $\alpha = 0.05$ .

### III. Results :

In the demineralization group, SS-OCT signal from T surface showed slight increase in AUC500 for T surface but no significant difference was observed ( $p > 0.05$ ). However,  $\mu t$  for T surface was significantly lower than the UT surface ( $p < 0.05$ ). Remineralization group showed no significant difference of AUC500 and  $\mu t$  between the T and UT surfaces ( $p > 0.05$ ).

### IV. Conclusion :

The new dentin desensitizer containing zinc-fluoride glass showed less signal attenuation in the demineralization group. The new desensitizer could decrease the further demineralization on dentin after the treatment.

**Kumiko Matsuzaki-Tanaka**

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

tanaka-k@cc.okayama-u.ac.jp

## Effect of Color and Curing Mode of Dual-cure Composite Resin on Polymerization Shrinkage

○ Yi-San Kim, Bin-Na Lee, Yun-Chan Hwang, In-Nam Hwang, Won-Mann Oh, Hoon-Sang Chang

*Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju, South Korea*

### I. Object :

To evaluate whether the color affects the polymerization shrinkage of dual-cure composite resin when light cured or self cured.

### II. Materials & Methods :

Modified bonded-disc method was used to measure the axial shrinkage of the composite resin specimens. Four colors of dual-cure composite resin, namely, Blue, Light, Medium, and White (MultiCore Flow, Ivoclar Vivadent) were selected. Specimens were fabricated in the size of 0.5 mm thickness and 6 mm diameter using 0.5 mm thick orthodontic wire between a slide glass and a cover glass. A linear variable differential transformer (LVDT) sensor was used to measure the axial polymerization shrinkage of the specimens for 1600 seconds. For the light cured specimens, light curing was initiated after 20 seconds of shrinkage measurement which lasted for 20 seconds. For the self cured specimens, light curing was omitted (N=5). Data were analyzed with SPSS (IBM) two-way ANOVA (color and curing mode) and Duncan post hoc test ( $\alpha = 0.05$ ).

### III. Results :

Two-way ANOVA showed significant differences in color as well as curing modes of dual-cure composite resin ( $p < 0.05$ ). Blue colored composite showed significantly lower polymerization shrinkage than the other composites and self curing showed significantly lower polymerization shrinkage than light curing.

### IV. Conclusion :

The color as well as the curing mode affected the polymerization shrinkage of dual-cure composite resin. For MultiCore Flow, Blue color and self curing showed lower polymerization shrinkage compared to other colors and light curing.

**Yi-San Kim**

**Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University**

angelboys85@naver.com

## Polymerization shrinkage stress and flexural properties of low viscosity bulk-fill and conventional resin composites

○ Akimasa Tsujimoto<sup>1,2</sup>, Yuko Nagura<sup>1</sup>, Kie Nojiri<sup>1</sup>, Ryo Ishii<sup>1</sup>,  
Arisa Imai<sup>1</sup>, Takayuki Suzuki<sup>1</sup>, Toshiki Takamizawa<sup>1,2</sup>, Masashi Miyazaki<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Nihon University, Japan*

<sup>2</sup>*Division of Biomaterials Science, School of Dentistry, Nihon University, Japan*

### I. Object :

Recently, low viscosity bulk-fill resin composites have gained popularity with the increased usage of direct chair-side application of resin composite for large cavities in posterior teeth, since they avoid the time consuming incremental restorative process. As more low viscosity bulk-fill resin composites come onto the market in answer to clinicians' demands, a comparison of their cusp deformation and flexural properties to those of low viscosity conventional resin composites is needed to assess the suitability of the material for posterior tooth. The purpose of this study was to investigate polymerization shrinkage stress using the aluminum cusp deflection method, and flexural properties in accordance with International Organization for Standardization (ISO) 4049.

### II. Materials & Methods :

Three low viscosity bulk-fill resin composites : Filtek Bulk Flowable Restorative (3M), Beautifil Bulk Flow (Shofu), Bulkbase High Flow (Sun Medical) ; and six low viscosity conventional resin composites : Supreme Ultra Flow (3M), Clearfil ES Flow (Kuraray Noritake Dental), Clearfil Majesty LV (Kuraray Noritake Dental), MI Fill (GC), Unifill Low Flow Plus (GC), Estelite Universal Flow (Tokuyama Dental) ; were used. Polymerization shrinkage stress was measured with the aluminum cusp deflection method, expressed as microns of deflection 10 minutes after light irradiation. The aluminum block was cut to form a MOD type slot (4×8×4 mm). For the low viscosity bulk fill resin composites, the whole 4 mm depth was filled in one step and light irradiated. The conventional composites were filled and light irradiated in a layered procedure : each 2 mm layer was irradiated separately, and cusp deflection was measured for each layer and added together to give the total stress. The flexural strength and elastic modulus of low viscosity bulk-fill and conventional resin composites were measured using a Teflon mold (25×2×2 mm) in accordance with ISO 4049. Scanning electron microscopy observations of low viscosity bulk-fill and conventional resin composites were also conducted.

### III. Results

The polymerization shrinkage stress, flexural strength, and elastic modulus of low viscosity bulk-fill and conventional resin composites are material dependent. The polymerization shrinkage stress, flexural strength and elastic modulus of bulk-fill resin composites were lower than or similar to those of conventional resin composites. Neither flexural strength nor elastic modulus might be a good predictor of polymerization shrinkage stress in low viscosity bulk-fill and conventional resin composites.

### IV. Conclusion :

Some low viscosity bulk-fill resin composites showed improvements in polymerization shrinkage stress and their flexural properties were similar to their conventional equivalents. The enhanced physical properties of the low viscosity bulk-fill resin composites suggested that these resin composites might perform better for large cavities in posterior teeth.

**Akimasa Tsujimoto**

**Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, Japan**

tsujimoto.akimasa@nihon-u.ac.jp

## Effect of contamination and cleaning methods on bond strength of resin cement to zirconia ceramic

○ Young-Bo Shim, An-Na Choi, In-Hye Bae, Sang-Mi Ahn, Sung-Ae Son, Jeong-Kil Park

*Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Pusan National University, Yangsan, Korea*

### I. Object :

The purpose of this study was to evaluate the effect of contamination and cleaning methods on the shear bond strength of zirconia to resin cement.

### II. Materials & Methods :

Eighty zirconia disk specimens of 15 mm in diameter and 1 mm in thickness were polished and wet-grounded with a 600-grit silicon carbide paper. They were then particle abraded with aluminum oxide and divided into 8 groups (n=10). All groups were first treated with one coat of an MDP primer (Z-prime Plus). Then, all specimens (except the negative control, group 8) were contaminated with saliva. The specimens were cleaned by rinsing with water (groups 1 and 4) or cleaned with cleansing solution (Ivoclean) and rinsed (groups 2 and 5) or cleaned with 1% NaOCl and rinsed (groups 3 and 6). Groups 4 to 6 were treated with one coat of an MDP primer again. All specimens were then bonded to a self-adhesive resin cement (RelyX U200) with 2.5 mm diameter tube was filled with composite (Filtek Z100). All groups were stored in distilled water at 37°C for 24 hours. Shear bond strength test was performed using a crosshead speed of 1 mm/min. The data was statistically analyzed by ANOVA and Tukey's test at  $p < 0.05$  level.

### III. Results :

Group 7 (positive control) showed the lowest bond strength. Groups 1 and 3 showed low shear bond strength and did not show significant difference with group 7. Group 2 showed significantly higher shear bond strength than groups 1 and 3, and did not show significant difference with the group 8 (negative control). A comparison of the single coating of MDP and re-coating of MDP showed a significant difference between groups 1 and 4 and between groups 3 and 6 but there was no significant difference between groups 2 and 5.

### IV. Conclusion :

Within the limitation of this study, water rinsing and NaOCl were found to be ineffective in removal saliva contaminants from the zirconia surface. On the other hand, Ivoclean was found to be effective regardless of the re-coating of MDP. When water or NaOCl is used to remove surface contaminants, a re-coating of MDP has a positive effect on cementation.

**Young-Bo Shim**

**Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Pusan National University**

lightscatter@naver.com



## Color stability of resin infiltration technique on the artificial white spot lesion

○ Young-Hoon Kim, Tae-geon Kim, Bin-Na Lee, Hoon-Sang Chang,  
Yun-Chan Hwang, Won-Mann Oh, In-Nam Hwang

*Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju, Korea*

### I. Object :

The purpose of this study was to evaluate the color stability of resin infiltration technique on the artificial white spot lesion by the accelerated test.

### II. Materials & Methods :

There were two groups : test group was 12 central incisors, control group was restorative composite resin Charisma shade A1 and A3.5. The coronal portion of incisors were cut and embedded in acrylic block with orthodontic self-curing resin, exposing the buccal surface. Composite resin, five each color of resin, was prepared in 5 mm diameter and 3 mm thickness. The artificial white spot lesion was prepared in 12 teeth as a test group and restored with ICON by the manufacturer instruction. All specimens were stored in the distilled water at 60°C for 30 days for the accelerated test. The distilled water was changed every five days and color change was estimated at 5, 15 and 30 days.

The color property of specimens was estimated to the transformed value of CIE L\*, a\*, b\* with the spectrophotometer. Also shade scan was made before and after the accelerated test with the dental colorimeter to evaluate the clinical meaning of color change.

### III. Results :

The amount of color change  $\Delta E^*$  in specimens restored with ICON was 5.55 and in Charisma A1 shade, 6.45 and Charisma A3.5 shade, 4.0.

Shade scan with dental colorimeter showed that guide number (Vita Classical shade) increased in ICON group and the shade increased in Charisma group. This means clinically recognizable color change occurred.

The color change of ICON showed significant difference between 5 days, 15 days and 30 days. But there was no significant difference in the test group and Charisma A1 group as well as test group and Charisma A3.5 group.

### IV. Conclusion :

ICON with resin infiltration technique showed significant difference after the accelerated test. However, there was no significant difference in the color stability compared to the commercial composite resin in this study. Therefore, this study suggests there is no serious problem of color stability in the clinical use of ICON.

**Young-hoon Kim**

**Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University**

dokki09@hanmail.net

# アルミナブラスト処理による金銀パラジウム合金表面の変化と接着に及ぼす効果

<sup>1</sup>九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野、<sup>2</sup>九州歯科大学 口腔機能学講座 生体材料科学分野

○宮原 宏武<sup>1</sup>、吉居 慎二<sup>1</sup>、池田 弘<sup>2</sup>、永松 有紀<sup>2</sup>、清水 博史<sup>2</sup>、北村 知昭<sup>1</sup>

## Effect of alumina air-abrasion on changing and adhesion for Ag-Pd-Cu-Au alloy

<sup>1</sup>Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University <sup>2</sup>Division of Biomaterials, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

○Hirotake MIYAHARA<sup>1</sup>, Shinji YOSHII<sup>1</sup>, Hiroshi IKEDA<sup>2</sup>, Yuki NAGAMATSU<sup>2</sup>, Hiroshi SHIMIZU<sup>2</sup>, Chiaki KITAMURA<sup>1</sup>

【研究目的】 歯科用金属の接着に先立ち、アルミナブラスト処理は極めて重要な前処理のひとつである。この処理は汚染物を機械的に除去し、接着面積を増大させるといわれている。しかしながら、その作用機序の全貌について未だ明らかになっていない。本研究は金銀パラジウム合金に対する接着前処理であるアルミナブラスト処理の作用機序を明らかにすることを目的としている。今回、金銀パラジウム合金にアルミナブラスト処理を行ったときに表面近傍で生じている機械的あるいは化学的变化、およびアルミナブラスト処理した金銀パラジウム合金に対する MMA-TBB レジンセメントの接着性に及ぼす金属接着性モノマーの効果を検証した。

【材料および方法】 本実験で用いた材料を Table 1 に示す。金銀パラジウム合金を通常に従ってディスク状に鋳造し、表面を #600 の耐水研磨紙にて研磨後、蒸留水中にて超音波洗浄を 5 分間行った。研磨した金銀パラジウム合金に、平均粒径 50  $\mu$ m のアルミナ粒子を用い、技工用サンドブラスターで噴射圧 0.6 MPa、処理時間 20 秒にてブラスト処理したものを試料とした。処理した試料表面の真の表面積と表面粗さをレーザー顕微鏡で測定するとともに、SEM-EDX にて表面の形状と化学組成を、XPS にて表面の化学状態を分析した。次に、試料の被着面に貴金属用接着性モノマーである VBATDT、非貴金属用接着性モノマーである MDP あるいは両者を含むプライマーのいずれかを塗布し、十分に乾燥した。その後、被着面に MMA-TBB レジンセメントを筆積法にて接着させ、5℃と 55℃の水に交互に 1 分間浸漬する水中熱サイクル試験を 20,000 回を行い、試験前後の剪断接着強さを測定した。得られた結果については統計解析を行った。

【結果および考察】 レーザー顕微鏡による測定によりアルミナブラスト処理した金銀パラジウム合金の表面粗さと表面積は無処理と比較して有意に増加することがわかった。また、SEM-EDX を用いた元素マッピングによりアルミニウムと酸素が検出されアルミナが処理面に局所的に残存していること、XPS 分析によりブラスト処理した金銀パラジウム合金成分中の銅が 0 価から 2 価に変化していることがわかった。さらに、熱サイクル試験前後の剪断接着試験の結果より VBATDT のみならず MDP もブラスト処理した試料の接着強さを向上させることがわかった。以上の結果は、アルミナブラスト処理した金銀パラジウム合金表面に残留したアルミナあるいは表面に生成した酸化銅に MDP が作用したことによる接着強さの向上を示唆している。

【結論】 金銀パラジウム合金のアルミナブラスト処理後の接着には、合金表面の粗造化という機械的作用機序だけでなくアルミナ成分の残留と表面にある銅の酸化による化学的作用機序もあることが明らかになった。また、非貴金属用接着性モノマーMDP もアルミナブラスト処理した金銀パラジウム合金に対する MMA-TBB レジンの接着に効果があることが示された。

Table 1 Materials used

Material/Trade name	Composition	Manufacturer
Casting alloy		
Castwell M.C.12	Ag 46, Pd 20, Cu 20, Au 12, (mass%)	GC Corp.
Luting material		
Super-Bond Opaque powder	PMMA, Titanium oxide	Sun Medical Co., Ltd.
Super-Bond Catalyst	TBB	Sun Medical Co., Ltd.
Methyl methacrylate (MMA)	MMA 99.8%	Wako Pure Chemical Ind., Ltd.
Primer		
V-Primer	VBATDT, Acetone	Sun Medical Co., Ltd.
Super-Bond PZ Primer (Liquid A)	MDP, MMA	Sun Medical Co., Ltd.
Alloy Primer	VBATDT, MDP, Acetone	Kuraray Noritake Dental Inc.

# 歯科用3Dプリンタへの応用可能な新規エラストマーの物性評価

<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院 歯科学研究分野、<sup>2</sup>東京医科歯科大学大学院 口腔機能再建工学分野

○Qutaiba AlSendi<sup>1</sup>、池田 正臣<sup>2</sup>、二階堂 徹<sup>1</sup>、土田 優美<sup>2</sup>、鈴木 哲也<sup>2</sup>、田上 順次<sup>1</sup>

## Evaluation of physical properties of a new elastomer applicable for dental 3D printer

<sup>1</sup>Cariology and operative dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,

Tokyo, Japan <sup>2</sup>Oral Prosthetic Engineering, Graduate School of Medical and Dental Sciences,

Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

○AlSendi Qutaiba<sup>1</sup>, Masaomi Ikeda<sup>2</sup>, Toru Nikaido<sup>1</sup>, Yumi Tsuchida<sup>2</sup>, Tetsuya Suzuki<sup>2</sup>, Junji Tagami<sup>1</sup>

【Purpose】 Digital technology has revolutionarily advanced and changed clinical application in Dentistry. However, there is little attempt to induce elastomeric materials applied for Digital Dentistry. The aim of this study was to evaluate physical properties of a new elastomeric material applicable for a dental 3D printer.

【Material & Method】 Three thermoplastic elastomers: ABS, PLA (Mutoh Engineering) and an acrylic block copolymer (Kurarity, Kurarity-LM730H, Kuraray) and a dental self-curing resin (PMMA, Unifast 3, GC) were used in this study. The physical properties of these materials were evaluated by measuring water sorption (WS), dimensional accuracy (DA), and shear bond strength to PMMA (SBS). For WS, the specimens (d=50 mm, h=1 mm) were measured by weight after desiccation and immersion in 37°C distilled water for 1 day, 1 week and 1 month. For DA, deformation of the specimens (d=10 mm inside, 15 mm outside, h=10 mm) was measured after desiccation and immersion in 37°C distilled water for 1 day and 1 week. For SBS, the specimens (d=20 mm, h=10 mm) were ground with #600 grit-SiC and a self-curing resin (Unifast 3) was then filled in a teflon ring (d=3 mm, h=4 mm). After storage in 37°C distilled water for 24 hours, they were loaded at a crosshead speed of 1 mm/min by a universal testing machine (AGS-J, Shimadzu). The Data were analyzed by Repeated measures ANOVA and t-test with Bonferroni correction at 95 % confidence level (N=15).

【Result and Discussion】 The results were summarized in Table below. The WS value of PMMA was significantly higher than those of the other materials after 1 day, while the WS values of Kurarity were significantly higher than those of the other materials after 1 week and 1 month (p<0.05). The DA values were influenced by water storage periods except for Kurarity. There were no significant differences in SBS among ABS, PLA and PMMA (p>0.05). The SBS of Kurarity was the lowest among the materials.

【Conclusion】 The acrylic block copolymer demonstrated the unique physical properties, suggesting the potential to apply for a dental 3D printer.

Properties	Period	ABS	PLA	PMMA	Kurarity
WS (μg/mm <sup>3</sup> )	1 day	9.97±1.46 <sup>a</sup>	11.32±0.81 <sup>B,a</sup>	18.92±1.51	13.51±1.88 <sup>a</sup>
	1 week	19.49±3.94 <sup>A,b,c</sup>	16.03±2.27 <sup>B,b</sup>	24.95±4.47 <sup>C,c</sup>	33.43±12.86
	1 month	20.84±4.79 <sup>A,d</sup>	16.06±2.72 <sup>B,d</sup>	24.29±5.48 <sup>C</sup>	41.76±8.72
DA (%)	1 day	-3.71±1.48	-1.02±1.23 <sup>e</sup>	/	-1.33±2.25 <sup>D,e</sup>
	1 week	-1.58±1.22 <sup>f</sup>	0.30±2.37 <sup>g</sup>	/	-0.67±1.49 <sup>D,f,g</sup>
SBS (MPa)	1 day	28.46±3.69 <sup>h</sup>	30.39±4.00 <sup>h</sup>	29.08±6.11 <sup>h</sup>	23.03±2.50

### ナノアパタイト-bFGF 複合体を用いた覆髄剤の開発

<sup>1</sup>大阪歯科大学大学院歯学研究科 歯科保存学専攻、<sup>2</sup>大阪歯科大学 歯科保存学講座、<sup>3</sup>岡山大学大学院 医歯薬総合研究科  
○井村 和希<sup>1</sup>、平井 千香子<sup>2</sup>、三木 秀治<sup>2</sup>、黄地 智子<sup>2</sup>、谷本 啓彰<sup>2</sup>、岡田 正弘<sup>3</sup>、吉川 一志<sup>2</sup>、山本 一世<sup>2</sup>

### Development of hydroxyapatite nanoparticle-assembled powder using basic fibroblast growth factor as a pulp-capping agent

<sup>1</sup>Graduate School of Dentistry, Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University <sup>2</sup>Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University <sup>3</sup>Graduate School of Medicine Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○Kazuki IMURA<sup>1</sup>, Chikako HIRAI<sup>2</sup>, Hideji MIKI<sup>2</sup>, Satoko OUCHI<sup>2</sup>, Hiroaki TANIMOTO<sup>2</sup>, Masahiro OKADA<sup>3</sup>,  
Kazushi YOSHIKAWA<sup>2</sup>, Kazuyo YAMAMOTO<sup>2</sup>

#### 【緒言】

MI の概念が浸透してきたことにより、歯髄温存療法などの治療法が普及し一般化されつつある。元来、覆髄法には水酸化カルシウムが用いられてきた。最近、ナノサイズの多孔を有する人工ハイドロキシアパタイト(ナノアパタイト)が開発された。このナノアパタイトを塩基性線維芽細胞増殖因子(bFGF)溶液に浸漬し、ナノアパタイト-bFGF 複合体を作製し、新規の覆髄剤を開発するために、人工的に露髄させたラットの歯髄を新規覆髄剤にて覆髄し、試作覆髄剤の安全性、抗菌性、歯髄に対する影響を組織学的に評価する目的で行った。

#### 【材料と方法】

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> の水溶液を Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>・H<sub>2</sub>O の水溶液に添加し、このナノアパタイトの水性分散液(ca. 3 wt%) をポリテトラフルオロエチレン皿上にて 60°C で 18 時間加熱する湿性沈殿法を用いてナノアパタイトを作製した。このナノアパタイトのブロックを粉碎することで約 50 μm サイズのナノアパタイト粉末を作製した。このサンプルを走査型電子顕微鏡(SEM; S-4800; 日立ハイテクノロジーズ)を用いて 5kV でサンプルの表面を観察した。フーリエ変換赤外分光光度計 Spectrum One (FT-IR, Perkin-Elmer Inc.) を使用して、FT-IR スペクトルを得た。結晶相は、X 線回折装置(XRD-6100; Shimadzu Corp)によって同定した。Al-Kα 放射線源(15kV)を備えた走査型 X 線光電子分光分析装置 PHI X-tool (XPS, Ulvac-Phi, Inc.)を用いて表面の Ca/P 比を測定した。

8 週齢の Wistar 系雌性ラット 16 匹を使用した。すべてのラットにイソフルランによる吸入麻酔を施し、上顎第一臼歯に塩酸リドカインにて局所麻酔を施し、手術用マイクロスコープ拡大視野下で近心小窩付近にダイヤモンドポイントにて直径 0.5 mm の露髄面を有する窩洞形成を行った。露髄させた窩洞の止血を確認し、窩洞を乾燥させ覆髄を行った。覆髄剤として、ナノアパタイト、ナノアパタイト-bFGF 複合体(bFGF 濃度: 0.1 mg/ml)での覆髄をそれぞれ左側第一臼歯露髄面に施した。反対側は水酸化カルシウム製剤(ダイカル; デンツプライ)にて覆髄し対照とした。いずれも覆髄後、窩洞をスーパーボンド(サンメディカル)で封鎖した。咬合による影響を避けるため対合歯を局所麻酔下にて抜去した。7、14 日後に各群それぞれ 4 匹をベントノールピタールの胸腔内過剰投与によって安楽死させ、10%中性緩衝ホルマリン液を用いて灌流固定を行い、上顎骨ごと被験歯を取り出した。取り出した上顎骨をマイクロフォーカス X 線 CT (SMX-130CT; Shimadzu Corp)を用いて断層撮影を行い、3D 骨質骨形態計測ソフトウェア(TRI/3D-BON; ラトックシステムエンジニアリング)を用いて観察を行った。画像解析後は、通法に従ってヘマトキシリンエオジン(HE)染色を用いた病理組織標本を作製し、光学顕微鏡により歯髄の変化を病理組織学的に観察した。

#### 【結果および考察】

SEM 観察の結果は、ナノアパタイト粒子が直径約 30nm の球形形態を有し、ナノ粒子間にナノサイズの気孔(約 10 nm)が観察されたことを明らかにした。FT-IR および XRD 測定は、上記の手順によって作製されたナノアパタイト粉末が低結晶化ハイドロキシアパタイトから成り、他のリン酸カルシウム相は観察されなかったことを示した。XPS で測定した粉末の Ca / P 原子比は 1.45 であり、粉末表面が不完全なカルシウムであることが示唆された。マイクロ CT および 3D 骨質骨形態計測ソフトウェアの解析ではすべての群において露髄面近傍の窩洞内に幼若な石灰化度の不透過像を認めた。HE 染色による病理組織学的検査では、1 週間で両群の露髄部位の近くの歯髄に炎症細胞がほとんど存在しないことが示された。2 週間後、ナノアパタイト群において、象牙芽様細胞の層で覆われた修復象牙質が観察された。ナノアパタイト-bFGF 複合体群において、炎症細胞の周囲に広範囲にわたる修復象牙質の層を認めた。以上、ナノアパタイト-bFGF 複合体は歯髄の治癒を促進することが示唆された。

(大阪歯科大学・動物実験委員会 (承認番号 17-02012))

# Sub-MIC のグルコン酸クロルヘキシジンが *in vitro* 複合バイオフィーム形成に与える影響

<sup>1</sup>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

○鈴木 裕希<sup>1</sup>、大墨 竜也<sup>1</sup>、長谷川 泰輔<sup>1</sup>、竹中 彰治<sup>1</sup>、野村 由一郎<sup>1</sup>

## Effects of sub-minimum inhibitory concentration of chlorhexidine gluconate on development of *in vitro* multispecies biofilm

<sup>1</sup>Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University  
Graduate School of Medical and Dental Sciences

○YUKI SUZUKI<sup>1</sup>, Tatsuya OHSUMI<sup>1</sup>, Taisuke HASEGAWA<sup>1</sup>, Shoji TAKENAKA<sup>1</sup>, Yuichiro NOIRI<sup>1</sup>

【目的】近年、最小発育阻止濃度以下(sub-MIC)の抗菌剤存在下において、バイオフィーム(BF)形成が促進されるという報告がなされている。口腔においても、洗口液をはじめとする抗菌成分は、唾液により希釈され時間経過とともに sub-MIC となるため、BF 形成を促進する可能性がある。そこで本研究では、う蝕病原細菌である *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* および *Actinomyces naeslundii* の3菌種から成る *in vitro* 複合バイオフィームモデルに対し、sub-MIC のグルコン酸クロルヘキシジン (CHG) を作用させたときのバイオフィームに及ぼす影響について検討した。

【材料及び方法】Tryptone-yeast extract (TYE) 培地にて培養し調製した菌液( $OD_{600}=0.6$ ) を、 $1:1:10^3$  [*S. mutans*: *S. oralis*: *A. naeslundii*] の割合で混合した。調整した菌液を Calgary Biofilm Device (CBD) に  $200\mu l$  分注し、12時間嫌気培養( $N_2$ 85%,  $CO_2$ 10%,  $O_2$ 5%) することで初期付着させ、0.1% sucrose 含有 TYE 培地に移し4日間嫌気培養しBFを形成させた。培地は12時間ごとに交換した。4日後、 $1/10$  MIC ( $0.06\mu g/ml$ ) のCHG (Sigma-Aldrich 社製) 添加TYE液体培地(0.1% sucrose 含有)中に2日間作用させた ( $n = 4$ )。CHG 非添加TYE液体培地中に2日間作用させたものをコントロール群とした。BF形態は、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて観察するとともに、Calcein-AM (Thermo Fisher Scientific 社製) および Rhodamine-B にて蛍光染色を施し、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) を用いて観察した。BFの細菌の生死の割合を解析するため、LIVE/DEAD *BadLight* Bacterial Viability Kit (Thermo Fisher Scientific 社製) を用いて CLSM にて観察するとともに、BFをボルテックスにて回収し生菌数をコロニーカウント法にて測定した。BF中の各細菌の構成比を解析するため、GenElute Bacterial Genomic DNA Kits (Sigma 社製) を用いてDNAを抽出し、リアルタイムPCRにて総菌数を算出した。統計学的有意差は、Kruskal-Wallis および Mann-Whitney U test を用いて行った。

【結果】SEM 観察では、両群とも球菌を主体とするBFが観察された(図1 a, b)。CLSM 画像では、CHG 作用群はコントロール群と比較してBFの厚みが増し、一様な形態を示していた。BF中の生菌数は、 $7.4 \times 10^7$  CFU (CHG 群) および  $7.0 \times 10^7$  CFU (コントロール群) であり両群間に有意な差はなかった。BF中の各菌細胞の割合は、9割以上が *S. oralis* が占めており、*S. oralis* を主体とするBFを形成していた。

【考察】Sub-MIC のCHG 作用後では、BF量の増加が観察されたが生菌数の増加はみられなかったことから、マトリックス量が増加したものと推測された。また、BFの空隙が減少し付着界面を密に覆うようなBF構造の変化が観察され、厚みの増加よりも密度を増加させているように思われた。

【結論】sub-MIC のCHG は、BF中の細菌増殖に影響を与えず、細胞外マトリックスの産生に影響を与えることでBF形成を促進させる。

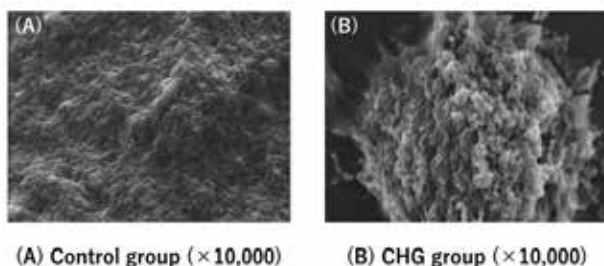


Fig 1. SEM images of biofilms after four days incubation



### 漂白歯面変化の SS-OCT 評価

<sup>1</sup>岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野、<sup>2</sup>Department of Restorative Dentistry, University of Washington School of Dentistry、<sup>3</sup>国立長寿医療研究センター、<sup>4</sup>東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野

○神農 泰生<sup>1</sup>、島田 康史<sup>1</sup>、SADR Alireza<sup>2</sup>、角 保徳<sup>3</sup>、田上 順次<sup>4</sup>、吉山 昌宏<sup>1</sup>

### Assessment of bleached tooth surface using SS-OCT

<sup>1</sup>Department of Operative Dentistry, Okayama University, Okayama, Japan <sup>2</sup>Department of Restorative Dentistry, University of Washington School of Dentistry, Seattle, USA <sup>3</sup>National Center for Geriatrics and Gerontology, Aichi, Japan <sup>4</sup>Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

○Yasuo SHINNO<sup>1</sup>, Yasushi SHIMADA<sup>1</sup>, Alireza SADR<sup>2</sup>, Yasunori SUMI<sup>3</sup>, Junji TAGAMI<sup>4</sup>, Masahiro YOSHIYAMA<sup>1</sup>

#### 【目的】

審美歯科に対するニーズの高まっている中、漂白処置はその中心として認識され、手法の簡便化と共に急速に広がりを見せている。しかし、漂白のメカニズムに関しては色素の分解の他、エナメル質の結晶構造の変化や微小脱灰等の報告があるものの、明確な結論は出ていない。一方で、波長走査型光干渉断層計 (Swept-source Optical Coherence Tomography, SS-OCT) は中心波長 1300nm の近赤外線光の干渉を用いて非破壊・非侵襲的に解像度の高い断層画像をリアルタイムで取得できる装置である。特にエナメル質への透過性が高く、散乱係数の変化による OCT シグナルの増加と減衰係数の変化によって、歯の脱灰と再石灰化の評価に有用である。そこで本研究では、SS-OCT の漂白歯面観察への応用を考え、未漂白の歯面と漂白後の歯面を SS-OCT を用いて観察・解析し、漂白による歯面変化を評価した。

#### 【材料と方法】

10 本のう蝕のないヒト抜去前歯を使用した。唇側エナメル質を正中にて分けし、片側をマニキュアにて被覆した。被覆していない面を SHOFU Hi-Lite (松風) を用いて、通法に従い漂白を行った。漂白は一日に 3 回、9 日間の計 27 回行った。その後、マニキュアを除去し、SS-OCT (IVS-2000;Santec, Komai) を用いて断層画像を未漂白歯面と漂白歯面から各歯 5 カ所取得した。得られた断層画像から画像解析ソフト ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD) を用いて深度 400  $\mu$ m までのシグナル強度の積分値 (AUC400) および減衰係数 ( $\mu_t$ ) を算出し、画像データと併せて検討した。なお、統計学的分析は Wilcoxon/Kruskal-Wallis test および Student's t-test を用い、危険率 5%にて行った。

#### 【結果】

未漂白歯面の  $\mu_t$  は  $0.59 \pm 0.19$ 、漂白歯面の  $\mu_t$  は  $0.87 \pm 0.23$  であり、漂白歯面が未漂白歯面に対して有意に高かった。AUC400 は未漂白歯面で  $96.66 \pm 9.26$ 、漂白歯面で  $102.93 \pm 7.16$  で漂白歯面が未漂白歯面に対して有意に高かった。また、各歯で比較した場合、 $\mu_t$  は 10 本中 6 本で漂白歯面が未漂白歯面に対して有意に高くなっていた。AUC400 は 10 本中 5 本で漂白歯面が未漂白歯面に対して有意に高くなっていた。そのうち、10 本中 5 本が  $\mu_t$ 、AUC400 共に有意に差があり、4 本が共に有意差が認められなかった。1 本は  $\mu_t$  にのみ有意差が認められた。

#### 【考察】

AUC400 の増加が認められたことから、漂白によってエナメル質における光の散乱が増加していることが示された。また、減衰係数も増加しており、漂白によって波長 1300nm の光の透過性が低下していることが示された。これらの変化は、SS-OCT で認められる典型的な脱灰像とは異なる結果であった。AUC400 の増加は、深度 400  $\mu$ m 内での単純なミネラル成分の減少によらないエナメル質結晶構造の変化による散乱が原因の一つとして考えられる。今回の結果からは漂白によって単純なエナメル質の脱灰が起こったとは断定できず、さらなる検討が必要と思われる。また、各歯での比較では、 $\mu_t$  と AUC400 の変化には相関の可能性があり、漂白への感受性が各歯の歯面性質によって異なる可能性が示唆された。

# トルク依存型往復回転を用いた根管形成時に生じた応力の解析：シングルのレングス法とクラウンダウン法の比較

<sup>1</sup>東京医科歯科大学 大学院 歯医学総合研究科 歯髄生物学分野

○木村 俊介<sup>1</sup>、時田 大輔<sup>1</sup>、牧 圭一郎<sup>1</sup>、西条 美紀<sup>1</sup>、宮良 香菜<sup>1</sup>、海老原 新<sup>1</sup>、興地 隆史<sup>1</sup>

## Analysis of stresses developed during root canal shaping with torque-sensitive reciprocal motion: comparison between single-length technique and crown-down technique

<sup>1</sup>Department of Pulp Biology and Endodontics, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan

○SHUNSUKE KIMURA<sup>1</sup>, DAISUKE TOKITA<sup>1</sup>, KEIICHIRO MAKI<sup>1</sup>, MIKI NISHIJO<sup>1</sup>, KANA MIYARA<sup>1</sup>, ARATA EBIHARA<sup>1</sup>, TAKASHI OKIJI<sup>1</sup>

【諸言】 ニッケルチタンロータリーファイルに対する根管形成中の応力負荷を軽減させるため、トルク依存型往復回転を搭載したモーターが開発されている。本研究は、トルク依存型往復回転にてシングルのレングス法（以下SL）あるいはクラウンダウン法（以下CD）で根管形成を行った際に生じるトルクの比較解析を目的とした。

【材料および方法】 透明直線根管模型（END3L001, ニッシン, 根管長 14 mm）を用い、ステンレススチール製 K ファイル（Zipperer）にて#20 まで拡大後、試作型根管形成用モーター（モリタ製作所）を自作型自動根管形成・応力計測装置 1) に装着し、EndoWave（モリタ; 以下EW）にて根管形成中のトルクを計測した。この際、回転様式はトルク依存型往復回転（OTR 機構: 設定トルク値に達すると 90 度非切削回転後 180 度切削回転; 300 rpm, 0.4 N cm; 以下 OTR）または連続回転（300 rpm）とし、上下動は速度 10 mm/min で 2 秒間根尖側方向、1 秒間歯冠側方向の繰り返し動作の設定で形成した。OTR 群はこれに加え、設定トルク値に達すると 0.25 秒間根尖側方向に、3 秒間歯冠側方向へ上下動を行う設定にした。実験群は OTR-SL 群、OTR-CD 群、連続回転-SL 群、連続回転-CD 群の 4 群とした (n=7)。SL 群では EW #25, 0.06 テーパーにて作業長 14 mm で形成した。CD 群では EW #35/0.08 テーパー, #30/0.06 テーパー, #25/0.06 テーパーの順でそれぞれ 7, 11, 11.5 mm の作業長で形成後、#20, #25 (0.06 テーパー) の順に作業長 14 mm で形成した。時計回りを正方向と定義し、最終形成時 (#25/0.06 テーパー) のトルクの各方向の最大値を計測し算出した。統計学的解析はトルクの正および負領域での最大値について、2 元配置分散分析および Bonferroni 法にて有意水準 5% で解析した。

【結果および考察】 結果を図に示す。正方向のトルクは、OTR-SL 群では連続回転-SL 群と比較して有意に小さかった。これは往復回転により正のトルクの増大が抑制されたためと考えられた。また、連続回転-SL 群は連続回転-CD 群より有意に大きかった。これは SL 群では最終形成に用いた EW の根管壁切削量が大きく、ファイルの食い込みによるトルクの増大が原因と考えられた。負方向のトルクは、連続回転-SL 群では OTR-SL 群より有意に大きかった。これは食い込んだファイルが歯冠側方向に動いた際、強制的な食い込みの解除による反動力が生じ、逆回転も含む OTR 群と比較して大きくなったと考えられた。また、連続回転-SL 群が連続回転-CD 群より有意に大きい値を示したことは、SL 群では EW の切削量が大きく、ファイルの食い込みが原因と考えられた。

【結論】 本実験条件下では、トルク依存型往復回転は SL において発生するトルクの軽減に有効であることが示唆された。

【参考文献】 1) 時田大輔ら。ニッケルチタンロータリーファイルの往復回転運動で生じるトルクおよび垂直荷重：トルク依存型および時間依存型往復回転運動の評価。日歯保存誌 2017; 60: 162-9.

## Maximum torque values in the positive and negative domains (N・mm)

	OTR		Continuous rotation	
	SL	CD	SL	CD
Positive domains	11.8 <sup>a</sup>	9.7	41.6 <sup>a, b</sup>	13.5 <sup>b</sup>
Negative domains	5.5 <sup>c</sup>	5.0	29.6 <sup>c, d</sup>	0.8 <sup>d</sup>

\* Same superscript letters in the same row indicate statistically significant differences among groups (P < .05).

### WaveOne Gold NiTi ファイルの機械的特性の評価

<sup>1</sup>東京医科歯科大学(TMDU) 大学院歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野

○童 方麗<sup>1</sup>、牧 圭一郎<sup>1</sup>、木村 俊介<sup>1</sup>、中務 太郎<sup>1</sup>、Pyae Hein Htun<sup>1</sup>、西条 美紀<sup>1</sup>、時田 大輔<sup>1</sup>、宮良 香菜<sup>1</sup>、  
海老原 新<sup>1</sup>、興地 隆史<sup>1</sup>

### Assessment of Mechanical Properties of WaveOne Gold NiTi Rotary Instruments

<sup>1</sup>Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○FANFLI TONG<sup>1</sup>, Keiichiro MAKI<sup>1</sup>, SHUNSUKE KIMURA<sup>1</sup>, TARO NAKATSUKASA<sup>1</sup>, Hein Htun Pyae<sup>1</sup>, NISHIJO MIKI<sup>1</sup>, DAISUKE TOKITA<sup>1</sup>,  
KANA MIYARA<sup>1</sup>, ARATA EBIHARA<sup>1</sup>, TAKASHI OKIJI<sup>1</sup>

**Introduction** The purpose of this study was to compare the cyclic fatigue, stress, and flexibility of WaveOne Gold (WOG; Dentsply Maillefer, 25/0.07, 25mm) with WaveOne (WO; Dentsply Maillefer, 25/0.08, 25mm) and Reciproc (RE; VDW, 25/0.08, 25mm). **Material and methods** Rotary instruments were randomly divided into 3 groups (n=10 each) for tests of cyclic fatigue, cantilever bending, and stress analyzing. A custom-made three-pin device with a 38° curvature and 5mm radius was used for cyclic loading. Time to fracture and fractured length was recorded. For cantilever bending, a universal testing machine was used to apply and record the load. The loading point was set at 2.0 mm from the tip. Bending loads were measured at deflection of 0.5 mm and 2.0 mm during the loading process. An automated root canal instrumentation and torque/force analyzing system was used to prepare canals and detect torque and apical force generated in the blocks during preparation. Maximum torque and apical force values were recorded. **Results** In the cyclic fatigue test, time taken for WOG, WO, and RE to fail under cyclic loading was  $236.11 \pm 17.30$ ,  $107.20 \pm 33.59$ , and  $274.22 \pm 63.26$  seconds, respectively. WOG and RE took longer time to fracture compared with WO ( $P < 0.05$ , one way ANOVA and Turkey test), while no statistical difference was found between WOG and RE. Mean length of the fractured part of the file was not different among all groups. In the bending test, WOG showed the smallest load values among all groups at deflection of 0.5 mm ( $P < 0.05$ , Kruskal Wallis test and Mann-Whitney U Test), while no difference between WO and RE was found. At deflection of 2.0 mm WOG showed the smallest values, followed by RE and WO ( $P < 0.05$ ). In the stress analyzing test, both maximum upward apical force values and maximum counterclockwise torque values in RE were higher than those in WOG and WO ( $P < 0.05$ , Kruskal Wallis test and Mann-Whitney U Test, Table 1), while no difference between WOG and WO was detected. Concerning to the maximum clockwise torque, WOG showed the smallest torque values ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** WOG showed higher cyclic fatigue resistance compared with WO, and higher flexibility compared with WO and RE. WOG generated significantly lower maximum torque and may have advantages in reducing stress generation caused by screw-in forces, when compared with RE.

**Table 1. maximum apical force and maximum torque in two direction**

Group	n	upward apical force	downward apical force	counterclockwise torque	clockwise torque
WOG	10	-3.56 +-0.53 <sup>a</sup>	2.51 +- 0.94 <sup>c</sup>	-12.95+- 2.52 <sup>d</sup>	3.64 +- 1.33 <sup>f</sup>
WO	10	-3.39 +-0.49 <sup>a</sup>	2.41 +- 1.85 <sup>c</sup>	-11.87+- 3.10 <sup>d</sup>	6.63 +- 2.61 <sup>g</sup>
RE	10	-7.26 +-1.49 <sup>b</sup>	1.86 +- 0.77 <sup>c</sup>	-25.86+- 3.14 <sup>e</sup>	9.54 +- 3.64 <sup>g</sup>

Mean values for each group with different superscript uppercase letter (column) are significantly different ( $P < .05$ )  
apical force(N), torque(N.M)



### 培養骨芽細胞細胞膜Caチャンネル活性化のためのMTA溶出液の至適添加濃度の検討

<sup>1</sup>長崎大学 大学院 医歯薬学総合研究科 齲蝕学分野、<sup>2</sup>日宇歯科・矯正歯科

○中国 史子<sup>1</sup>、井川 一成<sup>1</sup>、辻本 真規<sup>1</sup>、大久保 賢亮<sup>2</sup>、山田 志津香<sup>1</sup>、林 善彦<sup>1</sup>

#### Study of the optimum concentration of MTA eluate to Ca channel of cell membrane on cultured osteoblasts

<sup>1</sup>Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences <sup>2</sup>HIU Dental Clinical Institute

○AYAKO NAKAZONO<sup>1</sup>, KAZUNARI IGAWA<sup>1</sup>, MASAKI TSUJIMOTO<sup>1</sup>, KENSUKE OOKUBO<sup>2</sup>, SHIZUKA YAMADA<sup>1</sup>, YOSHIHIKO HAYASHI<sup>1</sup>

【緒言】 Mineral trioxide aggregate (MTA) は、1993 年に米国で開発された歯科用の水硬性セメントであり、諸外国では1998 年以降、髄床底穿孔や歯の亀裂の封鎖などの様々な臨床応用により実績を挙げている。我が国でも2007 年に歯科用覆髄材料として直接覆髄への適応が薬事承認されたことに伴い、ますます研究が盛んに行われ、MTA の良好な封鎖性、抗菌性、生体適合性、硬組織誘導能が報告されている。しかし、これらの研究手法は、多くが MTA 硬化体そのもの、もしくは硬化体からの溶出液をそのまま使用している。今回は、以前の当教室の研究1) においてL 型Ca<sup>2+</sup>チャンネルの存在を確認したヒト骨肉腫由来骨芽細胞であるNOS-1 細胞の細胞内Ca イオン濃度を測定することにより MTA 溶出液の至適添加濃度を検討した。

【材料と方法】1. MTA 硬化体の作製と溶出 MTA (ProRoot MTA, Dentsply) を粉液比0.35 にて蒸留水で1 分間練和し、37℃インキュベーター中に24 時間静置し、直径6mm、高さ2mm の硬化体を作製した。硬化体はISO 規格に従い0.1mg/mL となるよう6well 用の細胞培養インサート (Nunc, ポア径3μm) 中のHEPES [4-(2-HydroxyEthyl)-1-PiperazineEthaneSulfonic acid] に浸漬した。その後、0.2μm フィルターで濾過滅菌した。3 日後、メタロアッセイキット (メタロジェニクス株式会社) を用いてマイクロプレートリーダー (励起/蛍光波長: 690/770nm) にて溶出液中のCa 濃度を計測した。2. NOS-1 細胞培養 NOS-1 細胞を35mm FluoroDish (World Precision Instruments, Inc.) に3×10<sup>5</sup> 個となるように播種した。細胞は5%CO<sub>2</sub> 培養器内で通常通り培養した。3. 細胞内Ca<sup>2+</sup>測定 細胞は3 日間培養し、細胞内Ca<sup>2+</sup>測定試薬であるFluo 4-AM (同仁化学) を細胞内に取り込ませた後、培養皿は共焦点レーザー顕微鏡 (ライカ, TCS SL) ステージに取り付けた顕微鏡ステージ用5%CO<sub>2</sub> 培養器 (Okolab S.r.L., NA, Italy) 内へ装着し励起/蛍光波長: 495/518nm で観察・撮影を行った。4. Ca<sup>2+</sup>蛍光の相対強度変化の解析 Fluo 4-AM で染色した細胞をレコーディング用緩衝液で被覆した後、MTA 溶出原液、3, 4, 5, 8, 10, 15 倍希釈液を滴下した。MTA 溶出液を滴下しないものを対照群とした。培養皿を上述の顕微鏡ステージ用5%CO<sub>2</sub> 培養器に装填後、細胞5~6 個程度の視野を10 秒に1 回の割合でスキャンした。MTA 溶出液添加群、対照群に生じる蛍光強度変化は最小二乗法で回帰直線の傾きを求め比較した。

【結果とまとめ】 HEPES 中に溶出した MTA のCa 濃度は約0.7mM だった。MTA 溶出液原液を添加した実験群の細胞は死滅したが、希釈液添加群中では3 倍希釈液 (0.2mM) を添加した実験群の細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が最も高かった。また、MTA 溶出3 倍希釈液添加群では、対照群と比較して、Ca<sup>2+</sup>蛍光強度の明らかな上昇がみられた。今回の研究で、MTA に含まれる極微量のCa<sup>2+</sup>が骨芽細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入を誘導し、細胞内情報伝達機構を制御する可能性が示唆された。

【参考文献】1) Mark Luigi Fabian Capati, Ayako Nakazono, Kazunari Igawa, Kensuke Ookubo, Yuya Yamamoto, Kajiyo Yanagiguchi, Shisei Kubo, Shizuka Yamada, Yoshihiko Hayashi. Boron Accelerates Cultured Osteoblastic Cell Activity through Calcium Flux. Biol Trace Elem Res. 2016; 174:300-308.

### 新規bioactive glass 配合セメントの直接覆髄材としての効果

<sup>1</sup>九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野

○花田 可緒理<sup>1</sup>、諸富 孝彦<sup>1</sup>、鷲尾 絢子<sup>1</sup>、北村 知昭<sup>1</sup>

#### Effects of new bioactive glass cements as direct pulp capping

<sup>1</sup>Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Science of Oral Functions, Kyushu Dental University,  
Fukuoka, Japan

OKAORI HANADA<sup>1</sup>, TAKAHIKO MOROTOMI<sup>1</sup>, AYAKO WASHIO<sup>1</sup>, CHIAKI KITAMURA<sup>1</sup>

【目的】歯髄保存に重要な直接覆髄材には、優れた封鎖性、操作性、生体適合性、および修復象牙質形成誘導能等の諸性質が求められるが、現在臨床で使用されている覆髄材はこれらの要件を高次元で満たしていない。近年、我々は、高い生体親和性と安定性に優れた歯科領域で骨補填材として用いられている bioactive glass を配合したセメントである NSY-222 および硬化時間短縮型 NSY-222 (S) を国内企業との共同研究において開発した (第 145, 146 回日本歯科保存学会学術大会)。今回、2 種類の bioactive glass 配合セメントが示す歯髄への影響について in vivo および in vitro の実験系で既存の覆髄材と比較検討した。

【材料および方法】[材料] 実験には NSY-222, NSY-222 (S), および比較材料として Dycal (デンツプライ三金), ProRoot MTA (MTA: デンツプライ三金) を用いた。[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規格窩洞を形成し、K-file (#15) にて窩洞最深部を点状露髄させた。露髄部を 5% NaClO, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> および滅菌生理食塩水で洗浄後、各材料を充填し Super-Bond C&B (サンメディカル) にて封鎖した。一定期間経過後に組織を摘出、通法に従い 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 (H-E) 染色および Nestin に対する免疫染色を施し光学顕微鏡にて観察した。各材料直下に形成された修復象牙質の形成量は Image J software を用いて修復象牙質の範囲を計測することにより測定した。[細胞培養実験] 各材料を規格モールド (30 μl) に充填し、37°C、湿潤下で 24 時間静置し硬化させた。24well-plate でラット象牙芽細胞様細胞株 (KN-3) を 1% FBS 含有 αMEM にて培養し、作製した試料を置いたトランスウェルを各ウェルに静置した。比較群には空のトランスウェルを静置した。細胞形態の観察後、トリパンプルー染色による生細胞数の計測を行った。次に細胞を石灰化誘導培地 (50 μg/ml アスコルビン酸, 10mM β-グリセロリン酸添加) にて各試料存在下で培養し、7 日目にアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性と ALP 染色を、28 日目に Alizarin red S 染色を行い分化および石灰化能を評価した。比較群は試料を置かない群とした。

【結果】in vivo モデルでの直接覆髄実験における H-E 染色では各群の修復象牙質形成過程に差異はなく、術後 1 日目では露髄部直下に部分的な壊死層の形成を認め、4 日目では壊死層が露髄部全面に広がっていた。術後 7 日目には一層の薄い新生修復象牙質が形成され、14 日目では厚い修復象牙質が露髄面を覆っていた。術後 7 日目の免疫染色では全群において露髄部直下の象牙芽細胞様細胞に Nestin の発現を認めた。術後 14 日目の修復象牙質形成量は NSY-222 群が Dycal および MTA 群と比較して有意に多く、NSY-222 (S) 群は Dycal および MTA 群と比較して有意差はないものの多い傾向を示した。細胞培養実験において、NSY-222, NSY-222 (S) および MTA 群は比較群と細胞形態および細胞増殖に差異を認めなかったが、Dycal 群では 12 時間で細胞が萎縮し生細胞数は比較群よりも著しく少なくその後も増殖を認めなかった。ALP 活性および ALP 染色では NSY-222, NSY-222 (S) および MTA 群は比較群と有意差を認めなかった。Alizarin red S 染色では NSY-222 (S) 群および MTA 群は同程度の染色性を示したのに対し、NSY-222 群は比較群と同程度の強い染色性を示した。

【考察】NSY-222 および NSY-222 (S) は Dycal および MTA と同様に壊死層を伴う過程で修復象牙質を誘導し、その形成量は Dycal および MTA と同等以上であった。さらに、これらは KN-3 細胞に対して毒性を示さず、分化および石灰化能は MTA と同等以上の効果をもつことが明らかとなった。

【結論】新規 bioactive glass 配合セメントは直接覆髄材として有用である。

## 医療コミュニケーション教育のための動画教材の開発とその有用性の検討—歯の保存を希望する患者への説明—

<sup>1</sup>愛知学院大学 歯学部、<sup>2</sup>岐阜大学 医学教育開発研究センター

○鈴木 一吉<sup>1,2</sup>、堀場 直樹<sup>1</sup>、川合 里絵<sup>1</sup>、江幡 香里<sup>1</sup>、柴田 直樹<sup>1</sup>、中田 和彦<sup>1</sup>

### Development of video cases for medical communication training and examination of the utility—Explanation to patients who wish to preserve teeth—

<sup>1</sup>Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, Nagoya, Japan <sup>2</sup>Medical Education Development Center, Gifu University, Gifu, Japan

○KAZUYOSHI SUZUKI<sup>1,2</sup>, NAOKI HORIBA<sup>1</sup>, RIE KAWAI<sup>1</sup>, KAORI EBATA<sup>1</sup>, NAOKI SHIBATA<sup>1</sup>, KAZUHIKO NAKATA<sup>1</sup>

#### 【目的】

医療面接や説明・指導に関わる医療コミュニケーションは、卒前教育においては初診時場面や病状・治療方針の説明を中心に教育内容が体系化されている。しかし、その教育は基本的な学習内容にとどまり、患者の感情面を配慮した対応についてはまだ十分ではない。特に歯の保存を希望する患者に対して、歯科医師側の治療方針の選択肢の1つが抜歯も考えられる場合、患者からの意思表示が具体的に得られず、歯科医師と患者間でのインフォームドコンセントの構築に苦慮することがある。このようなジレンマを解決するためには診断能力や治療技術の向上はもちろんであるが、医療コミュニケーションスキルの向上が必要である。従って、患者の考えや感情面に対応する医療コミュニケーションを学ぶための教育方法の開発が急務である。

そこで、我々は、医療コミュニケーション教育のための動画教材を作成し、さらにこの動画教材を診療参加型臨床実習直前の歯学部5年生の授業で活用し、その教育的有用性の検討を行ったので報告する。

#### 【方法】

動画教材は、歯科医師による歯の保存可否についての患者への説明の医療コミュニケーション場面と、その後の患者のふりかえり場面で構成した。医療コミュニケーション場面は歯科医師が患者の対応に苦慮する設定とした。ふりかえり場面は、歯科医師が患者の対応に苦慮していた場면을患者自身にふりかえってもらい、その時の感情を患者に聞くインタビュー形式とした。歯科医師役は実際の歯科医師、患者役は模擬患者が担当した。動画撮影に先立ちシナリオを作成し、歯科医師および患者の人物設定や演技の指針の設定を行った。撮影後、映像編集を行い、動画1：歯科医師が対応に苦慮する場面、動画2：動画1に対しての患者のふりかえり場面の2部構成とした。

作成した動画は、診療参加型臨床実習直前の歯学部5年生対象の「医療コミュニケーション実習」で活用した。授業では、まず、動画1を視聴し、その時の歯科医師および患者のセリフの中から問題点の抽出と改善策を考える課題を学生個人で取り組んだ。次に、動画2を視聴し、患者の感情面について注目する点を抽出。その後、再度、動画1を視聴し、あらためて動画1の問題点の抽出と改善策を学生個人で考えた。授業終了時、学生に対して患者への説明の医療コミュニケーションに関連した今後の臨床実習での学習や実践について質問紙調査を行った。

#### 【結果および考察】

動画1視聴に対して学生が抽出した問題点と改善点は、動画2視聴後、改善策の内容が歯科医師の視点中心から患者の視点中心になった。授業受講後の学生に対する質問紙調査では“患者さんとの会話の中で、患者さんの不安や疑問に気づくことができるように気を配る”“自分の言い分よりも患者さんの意見を大事にすることをまず考えたい”などの患者の気持ちへの配慮を心がけることの重要さや、“患者さんが否定的になっていかないように、まずこちらが否定しないようにする”“患者さんに悪いことばかりでなくよい点も伝えられるようにする”などの自身の言葉による患者の感情の動きを察すること、“患者さんの視点でわかりやすくしたい”“患者さんが納得できるように治療を行う理由を説明したい”などの患者に対して理解しやすい説明を心がける重要性に気づき、さらに“客観的に自分の言い方がみられるようにしたい”など自己の学習のモチベーションの向上に結びつく回答があった。今回開発した動画教材は、診療参加型臨床実習直前の歯学生にとって、患者の考えや感情面への配慮、患者視点での医療コミュニケーションの実践の学びにつながる意識を芽生えさせるために有効であることが明らかになった。

#### 【結論】

今回新たに開発した医療コミュニケーション教育のための動画教材は、患者の考えや感情面を反映させたことから、学生に対して適切な時期に活用することで今後の学習に対応した意識の向上や患者の立場を配慮した医療コミュニケーションの重要性の気づきを促す可能性を示した。

(本研究は、平成26年度 科学研究費助成事業 基盤研究C (26463199)：歯学教育における説明・指導場面の医療コミュニケーション教育プログラムの開発 (研究代表者：鈴木一吉) により行った。)

## 低侵襲で行う歯周外科が骨吸収および血管新生に及ぼす影響

<sup>1</sup>大阪歯科大学 歯周病学講座

○東 仁<sup>1</sup>、森田 浩正<sup>1</sup>、津守 紀正<sup>1</sup>、梅田 誠<sup>1</sup>

### The Effects of Minimally Invasive Periodontal Surgery on Bone Resorption and Angiogenesis

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Osaka Dental University, Osaka, Japan

○CHITOSHI AZUMA<sup>1</sup>, HIROMASA MORITA<sup>1</sup>, NORIMASA TSUMORI<sup>1</sup>, MAKOTO UMEDA<sup>1</sup>

【目的】歯間部に限局した骨縁下欠損を対象にした手術法としてCortellini とTonetti は、MIST (minimally invasive surgical technique) やM-MIST (modified-MIST) を発表した。また、Trombelli らもSFA (single flap approach) を報告した。それら術式を、手術用顕微鏡やマイクロ手術用器具を用いながら低侵襲下で行うことは、術後の疼痛緩和やチェアタイムの短縮のみならず、臨床結果に大きく影響することが報告されている。さらにそれらの術式が、再生材料の有無に関わらず、一定の歯周組織再生を促すとして注目を集めた。これらの臨床報告は、低侵襲下でのデブライドメントを行うという“術式”そのものに歯周組織再生につながる潜在力を秘めていることを示唆している。しかしながら、低侵襲手術の優位性を示す組織学的な根拠は、現在のところ報告されていない。そこで我々は、低侵襲の歯周外科が歯周組織の早期創傷治癒に及ぼす影響を検討するために、ラットに歯周外科処置を行い、破骨細胞の発現と血管新生に注目して、組織学的に経過観察した。

【材料および方法】本研究は大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得た(承認番号:第16-04009号、平成28年5月19日承認)。実験動物として、12週齢Sprague-Dawley (SD)系雄性ラット15匹を用いた。手術中は、手術用顕微鏡(10倍)を用いて行った。実験(低侵襲)側として、上顎右側臼歯部を用いた。眼科用メスを用いて第一臼歯部遠心から第三臼歯近心にかけての口蓋側歯肉のみに対して切開後、骨頂から約2mmの骨面が露出するよう粘膜骨膜弁を剥離した。さらに剥離後、露出した根面の歯根膜およびセメント質を除去する目的で、注水下でラウンドバー(直径1mm)にて第二臼歯口蓋側歯根面を切削した。対照側として、上顎左側臼歯部を用いた。眼科用メスを用いて第一臼歯近心から第三臼歯遠心にかけて頬舌側歯肉に歯肉溝内切開後、骨頂から約2mmの骨面が露出するよう粘膜骨膜弁を剥離した。その後実験側と同様に、歯根面を切削した。歯根面切削後、両側とも切削片を滅菌生理食塩水にて洗浄し、歯肉弁を復位、湿綿球にて圧迫止血した。術後1, 3, 5日に5匹ずつラットを安楽死させ、被験歯根を含む歯周組織を一塊として摘出し、試料を作成した。その後、切片を作成し、HE染色、TRAP (Tartrate-Resistant Acid Phosphatase) 染色、抗 von Willebrand 因子抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。また、欠損部におけるTRAP陽性細胞(破骨細胞)数と血管数を計測し、対照側と実験側の比較、統計分析を行った。

【結果および考察】実験側では、対照側を上回るペースで、創傷治癒経過をたどっていることが認められた。TRAP陽性細胞数について術後3, 5日目の実験側では、対照側と比較して有意に低値を示した。この結果は、切開ラインを最小限とした実験側では、欠損部への血液供給の遮断を抑制できたことが大きな要因であると考えられる。また歯周組織欠損部における血管数について、術後3, 5日目の実験側では、対照側と比較して有意に高値を示した。これは、対照側と比較して実験側の創の安定が早期に獲得できていることが要因として考えられる。

【結論】以上より、低侵襲を考慮した歯周外科を行うことで、早期創傷治癒における血管新生が促進され、骨吸収も抑制されることが示唆された。



### ヒト老化歯根膜細胞における microRNA-34a -SATB2 を介した硬組織形成制御

<sup>1</sup>大阪大学歯学部付属病院 口腔治療・歯周科、<sup>2</sup>大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病理学  
(口腔治療学教室)、<sup>3</sup>神戸常盤大学短期大学部 口腔保健学科

○池上 久仁子<sup>1</sup>、山下 元三<sup>1</sup>、中村 友美<sup>1</sup>、鈴木 美麻<sup>2</sup>、西川 有彩<sup>2</sup>、平沼 麻史<sup>2</sup>、三木 康史<sup>1</sup>、北垣 次郎太<sup>1</sup>、  
柳田 学<sup>3</sup>、北村 正博<sup>2</sup>、村上 伸也<sup>2</sup>

#### MicroRNA-34a /SATB2 axis regulates osteoblastic differentiation of senescent HPDL cells.

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Osaka University Dental Hospital, Osaka, Japan <sup>2</sup>Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, Osaka, Japan <sup>3</sup>Department of Oral Health, Kobe Tokiwa Junior College, Hyogo, Japan

○KUNIKO IKEGAMI<sup>1</sup>, MOTOZOU YAMASHITA<sup>1</sup>, TOMOMI NAKAMURA<sup>1</sup>, MIO SUZUKI<sup>2</sup>, ARISA NISHIKAWA<sup>2</sup>, MAO HIRANUMA<sup>2</sup>, KOUJI MIKI<sup>1</sup>,  
JIROTA KITAGAKI<sup>1</sup>, MANABU YANAGITA<sup>3</sup>, MASAHIRO KITAMURA<sup>2</sup>, SHINYA MURAKAMI<sup>2</sup>

#### 【目的】

歯根膜細胞は、豊富な細胞外基質を産生することで歯根膜の生理的特性を担うのみならず、幹細胞能を有し、組織再生の鍵となる細胞集団である。また、老化臓器においては、構成細胞ならびに幹細胞は、その分裂・増殖能の低下により修復、治癒を遷延すること（ステムセルエイジング）が明らかとなっている。歯周病は加齢に伴い罹患率が増加し、歯周組織の喪失を伴う慢性炎症性疾患であることから、歯根膜細胞の生物学的老化は歯周病の進行や重篤度に関与している可能性が強く示唆される。タンパク質をコードしない小分子 RNA である、microRNA (miRNA) は、生体のストレスに際して作動し、様々な疾患発症や老化・寿命の制御に関わることを報告されている。我々は、ヒト老化歯根膜細胞において、細胞周期調節因子 CDK4/6 を負に制御する miR-34a の発現上昇を報告してきた。SATB2 (Special AT-rich sequence-binding protein 2) は、パイオインフォマティクス解析により同定された miR-34a の標的遺伝子であり、頭蓋骨形成異常の疾患関連遺伝子であること、骨芽細胞を分化制御することが報告されている。本研究では、miR-34a による SATB2 の制御に基づいた、高齢者の歯周組織に特徴的な歯根膜の幹細胞性の喪失と、硬組織治癒の遷延機構を検討することを目的とした。

#### 【材料と方法】

##### 1. *in vitro* における歯根膜細胞 (HPDLs) に老化誘導系の樹立

初代培養ヒト歯根膜細胞 (ScienCell 社より購入。以下 HPDLs) に継代培養を重ねることで、*in vitro* において複製老化を誘導した。樹立した老化ヒト歯根膜細胞 (継代数 30 以上) において、老化マーカーである SA- $\beta$  GAL (Senescent-associated  $\beta$ -galactosidase) 活性を確認し、細胞周期調節タンパクである p16、p53 の発現をモニタリングすることで細胞老化の誘導について確認した。

##### 2. 老化 HPDLs における幹細胞能の検討

継代数の異なる HPDLs において、幹細胞マーカーである SSEA-3、CD105 の発現を、フローサイトメトリーを用いて解析した。

##### 3. miR-34a による SATB2 制御機構の解析

老化 HPDLs における SATB2 の遺伝子発現、タンパク発現をそれぞれ qRT-PCR 法、Western Blotting 法を用いて解析した。次に HPDLs に合成二本鎖 miR-34a 模倣オリゴあるいは、相補鎖を持つ合成一本鎖 miR-34a 阻害オリゴを導入し、SATB2 のタンパク発現を検討した。

##### 4. 老化 HPDLs における硬組織形成能の検討

5 mM  $\beta$  グリセリン酸および 50  $\mu$ g/ml アスコルビン酸を添加した石灰化誘導培地を用いて継代数の異なる HPDLs を分化誘導し、アリザリンレッド染色、フォンコッサ染色、ならびにアルカリフォスファターゼ活性を用いて硬組織形成能を評価した。

#### 【結果と考察】

継代数の増加に伴い、幹細胞マーカーである SSEA-3 の発現低下が認められた。老化 HPDLs においては miR-34a の発現上昇と相関して、SATB2 の遺伝子発現、タンパク発現は低下していた。HPDLs に合成二本鎖 miR-34a 模倣オリゴを導入すると、SATB2 のタンパク発現は低下していた。また老化 HPDLs においては硬組織形成能が低下していた。以上の結果より、加齢に伴う歯根膜における幹細胞数の減少ならびに miR-34a の増加による SATB2 を介した硬組織形成細胞分化の制御機構が、高齢者における歯周組織の自己修復能の低下に関与していることが示唆された。

**R-spondin2 はカノニカル Wnt シグナルを介して未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化を促進する**

<sup>1</sup>九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、<sup>2</sup>九州大学病院 歯内治療科、<sup>3</sup>九州大学病院 口腔総合診療科、  
<sup>4</sup>九州大学大学院歯学研究院 OBT 研究センター

○有馬 麻衣<sup>1</sup>、長谷川 大<sup>2</sup>、吉田 晋一郎<sup>2</sup>、御手洗 裕美<sup>1</sup>、友清 淳<sup>2</sup>、濱野 さゆり<sup>4</sup>、杉井 英樹<sup>2</sup>、和田 尚久<sup>3</sup>、  
前田 英史<sup>1</sup>

**R-spondin2 promotes osteogenesis of immature human periodontal ligament cells through canonical Wnt signaling pathway**

<sup>1</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan

<sup>2</sup>Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan <sup>3</sup>Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital, Fukuoka, Japan <sup>4</sup>OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan

○MAI ARIMA<sup>1</sup>, DAIGAKU HASEGAWA<sup>2</sup>, SHINICHIRO YOSHIDA<sup>2</sup>, HIROMI MITARAI<sup>1</sup>, ATSUSHI TOMOKIYO<sup>2</sup>, SAYURI HAMANO<sup>4</sup>,  
HIDEKI SUGII<sup>2</sup>, NAOHISA WADA<sup>3</sup>, HIDEFUMI MAEDA<sup>1</sup>

【研究目的】分泌タンパク R-spondin ファミリー (RSPOs) は、Wnt と協調して Wnt シグナル伝達経路を活性化し、発生過程の様々な現象や疾患の発症に関与している。Wnt シグナル伝達経路にはカノニカル Wnt シグナルとノンカノニカル Wnt シグナルが存在している。特にカノニカル Wnt シグナルは骨形成を誘導していることが明らかにされており、歯の初期発生および歯根形成において重要な役割を担っていることが知られている。また、R-spondin2 (RSPO2) は、マウスにおいて骨芽細胞の石灰化を促進する機能があると報告されている (Zhu et al., 2016)。しかしながら、歯周組織における RSPO2 の機能については未だ報告はない。そこで本研究では、RSPO2 が未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響、ならびにカノニカル Wnt シグナルの関与について検討した。

【材料および方法】当研究室にて樹立したヒト不死化歯根膜細胞 (Fujii et al., 2006) から、限外希釈法により約 80 種類の細胞株を作製し、その中から骨芽細胞、脂肪細胞、および軟骨細胞への分化能を有し、かつ各種幹細胞マーカーを強発現する、未分化なヒト歯根膜細胞株 2-14 を各種解析に用いた。(1) ラット歯根膜組織における RSPO2 発現解析 SD ラット (5 週齢、雌性) の下顎臼歯部の組織切片を用いて、抗 RSPO2 抗体による免疫組織化学的染色を行った。(2) 未分化なヒト歯根膜細胞における RSPOs 関連レセプター発現解析 2-14 における RSPOs 関連のレセプター (LGR4, LGR5, および LGR6) の遺伝子発現を RT-PCR 法にて解析した。(3) RSPO2 が未分化なヒト歯根膜細胞の石灰化能に及ぼす影響 RSPO2 存在下あるいは非存在下の骨芽細胞分化誘導培地 (2mM CaCl<sub>2</sub> 含有 10% FBS/αMEM) にて培養した 2-14 における石灰化物形成能について、Alizarin-red S 染色法にて比較検討した。(4) RSPO2 による未分化なヒト歯根膜細胞の石灰化能にカノニカル Wnt シグナルが及ぼす影響 カノニカル Wnt シグナルの阻害剤である DKK1 が RSPO2 存在下における 2-14 の石灰化物形成能に及ぼす影響について、Alizarin-red S 染色法にて解析した。なお、本研究は九州大学動物実験委員会ならびに九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得て実施された。

【結果】(1) 抗 RSPO2 抗体による免疫組織化学的染色を行った結果、ラット歯根膜組織に強い陽性反応が認められた。(2) RT-PCR 法による解析の結果、2-14 において RSPO2 関連レセプターである LGR4 の発現が最も高かった。(3) RSPO2 (100 ng/ml) 存在下の骨芽細胞分化誘導培地にて培養した 2-14 において、Alizarin-red S 陽性反応の亢進が認められた。(4) DKK1 (200 ng/ml) 添加群において、RSPO2 存在下の骨芽細胞分化誘導培地にて亢進した Alizarin-red S 陽性反応の抑制が認められた。

【考察】本研究の結果から、歯根膜組織中に存在する分泌タンパク RSPO2 は未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化を促進し、その作用には RSPO2 のレセプターである LGR4 が関与することが示唆された。また、カノニカル Wnt シグナルの阻害剤である DKK1 が RSPO2 存在下で促進した石灰化物形成を阻害したことから、その作用にカノニカル Wnt シグナルが介在する可能性が考えられた。このことから、RSPO2 はカノニカル Wnt シグナルを介して未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化を促進することにより、歯根膜に近接した歯槽骨の代謝に寄与する可能性が示唆された。

【結論】(1) RSPO2 は歯根膜組織に強発現している。(2) 未分化なヒト歯根膜細胞は、RSPO2 関連レセプター LGR4 を発現している。(3) RSPO2 は未分化なヒト歯根膜細胞の石灰化を促進する。またその効果は DKK1 によって抑制される。

## 高出力、赤色 light-emitting diode 照射は、ERK signaling 経路を介してヒト歯根膜幹細胞の増殖、骨分化および石灰化を増大する

<sup>1</sup>大阪歯科大学 歯周病学講座

○山内 伸浩<sup>1</sup>、田口 洋一郎<sup>1</sup>、嘉藤 弘仁<sup>1</sup>、梅田 誠<sup>1</sup>

### High-power, red light-emitting diode irradiation enhances proliferation, osteogenic differentiation and mineralization of human periodontal ligament stem cells via ERK signaling pathway

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Osaka Dental University, Osaka, Japan

○NOBUHIRO YAMAUCHI<sup>1</sup>, Yoichiro Taguchi<sup>1</sup>, Hirohito Kato<sup>1</sup>, Makoto Umeda<sup>1</sup>

【目的】 現在、歯周病学の領域では光と色素による光化学反応を利用した抗菌的光線力学療法が応用されており、光源として過去に様々な波長での検討が行われている。我々も過去に 650 nm の高出力赤色 LED を光源として用い、歯周病原細菌に対する抗菌作用を実証した。そして過去の文献によると、波長やエネルギー量を調整すれば、未分化間葉系細胞の増殖能や硬組織分化能を促進させることが示唆されている。つまり光感受性物質を用いずに光源を直接細胞に当てることによって歯周組織再生治療の一部に応用できないかと考えた。そこで本研究では、波長 650 nm の高出力赤色 LED を用いて歯周組織再生への効果を調べるため、歯周組織再生時に重要な役割を果たすヒト歯根膜幹細胞 (hPDLSCs) の増殖および硬組織分化誘導への影響、また増殖および硬組織分化誘導時に重要な細胞内シグナル伝達経路の 1 つである extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 (ERK 1/2) 経路の関与について検討した。

【材料および方法】 hPDLSCs は、ヒト抜去歯より歯根膜組織を採取し、酵素処理を行い、初代培養を樹立し 3~5 代目を供試した。光源は (株) モリタより供与された LedEngin 社製赤色 LED (中心波長: 650 nm) を用い、エネルギー量 (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 J/cm<sup>2</sup>) の調整は照射時間を変えることにより調整した。細胞増殖は、2×10<sup>4</sup> cells/mL の hPDLSCs を播種し、24 時間後に照射を行い、生細胞プロテアーゼ (LCP) とアデノシン三リン酸 (ATP) を対象に検討し、至適エネルギー量を策定した。硬組織分化についての検討は、1×10<sup>5</sup> cells/mL で播種し、コンフルエンスまで増殖後、硬組織分化誘導を開始して至適エネルギー量で LED 照射を行い、Runx2 mRNA, Osterix mRNA の発現量, Alkaline phosphatase (ALP) 活性, Osteocalcin (OCN), Procollagen Type 1 C-Peptide (PIP) 産生量, カルシウム析出量および Alizarin red 染色による石灰化物形成能について検討した。さらに western blot 法で LED 照射の有無による ERK 1/2 タンパクのリン酸化の発現を観察し、ERK 1/2 経路阻害剤 (PD98059) を用いて同様の実験を行った。

【結果および考察】 LED 照射群の方が非照射群に比べ、LCP 活性および ATP レベルは有意に増加し、8 J/cm<sup>2</sup> のエネルギー量で最も高い細胞増殖を示したので至適エネルギー量とした。また硬組織分化誘導後、8 J/cm<sup>2</sup> のエネルギー量で LED 照射を行うと、その後の Runx2 mRNA, Osterix mRNA の発現量, ALP 活性, OCN 産生量, PIP 産生量, カルシウム析出量および石灰化物形成能は有意に増加した。さらに ERK 1/2 経路の関与について、LED 照射群では p-ERK のタンパク発現は増強し、阻害剤 PD98059 を用いることで、LED 照射により増加した hPDLSCs の増殖および硬組織分化は有意に抑制された。

【結論】 高出力赤色 LED 照射は ERK 1/2 経路を介して hPDLSCs の増殖能および硬組織分化能を促進し、歯周組織再生の一助として応用できる可能性が示唆された。

# BMP による骨形成を促進するペプチドの開発を目的とした NF- $\kappa$ B と Smad4 の会合領域の同定

<sup>1</sup>九州歯科大学 口腔保存治療学分野、<sup>2</sup>九州大学 OBT 研究センター、

<sup>3</sup>広島大学大学院医歯薬保健学研究科歯髄生物学研究室

○浦田 真梨子<sup>1</sup>、自見 英治郎<sup>2</sup>、平田-土屋 志津<sup>3</sup>、鷲尾 絢子<sup>1</sup>、諸富 孝彦<sup>1</sup>、北村 知昭<sup>1</sup>

## Identification of the binding region of NF- $\kappa$ B on Smad4 for development of a new peptide promoting bone formation by BMP

<sup>1</sup>Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University <sup>2</sup>Oral health·Brain health·Total health Research Center, Kyushu University <sup>3</sup>Department of Biological Endodontics, Institute of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University

○MARIKO URATA<sup>1</sup>, EIJIRO JIMI<sup>2</sup>, SHIZU HIRATA-TSUCHIYA<sup>3</sup>, AYAKO WASHIO<sup>1</sup>, TAKAHIKO MOROTOMI<sup>1</sup>, CHIAKI KITAMURA<sup>1</sup>

【目的】根尖性歯周炎や歯周病などによって生じた骨欠損に対し、質の高い骨を速やかに誘導することは患者にとって非常に有益である。骨誘導因子 BMP (Bone Morphogenetic Protein) は 1965 年 Dr. Urist によって骨基質中に存在し異所性の骨形成を誘導するサイトカインとして発見された。BMP が細胞膜上の受容体と複合体を形成すると細胞内情報伝達分子である Smad1/5 がリン酸化される。リン酸化により活性化された Smad1/5 は Smad4 とヘテロ 3 量体を形成して核に移行し、標的遺伝子の発現を調節し骨形成を誘導する。現在、BMP2 と BMP7 の臨床応用が試みられているが十分な骨を誘導するためには大量の BMP が必要であること、炎症などにより効果が減弱することなどの理由から期待通りの効果は得られていない。

これまで我々は、炎症時に産生される TNF  $\alpha$  が BMP の効果を抑制すること (Yamazaki M *et al.*, J Biol Chem, 2009), さらにこの抑制効果は TNF  $\alpha$  のシグナル伝達分子である NF- $\kappa$ B のメインサブユニットである p65 が Smad4 と会合し Smad 複合体の DNA 結合を阻害することで BMP による骨芽細胞分化が抑制されることを報告してきた (Hirata-Tsuchiya S *et al.*, Mol Endocrinol, 2014)。我々の最終目標は、副作用が少なく、p65 と Smad4 の結合を競合的に阻害することで BMP による骨形成を増強するペプチドの開発である。本研究では、Smad4 と p65 の結合領域について詳細な解析を行い、その結合に必須のアミノ酸配列の同定を行うことを目的としている。

【材料及び方法】大腸菌発現システムを用いて GST 標識した GST-TA2 タンパク質と His 標識した His-MH1 タンパク質を作製し、タンパク質同士の結合を評価する GST Pull-down assay を行った。次に、TA2 領域と結合する MH1 領域のより詳細な結合領域の解析の為、His-MH1 (19-138) (全長) および MH1 領域をより狭めた 2 種類の欠失変異体タンパク質、His-MH1 (19-105) と His-MH1 (19-68) を作製し、GST-TA2 とそれぞれの MH1 タンパク質が結合するかを GST Pull-down assay で検証した。

【結果】タンパク質同士の結合を評価する GST Pull-down assay から、GST-TA2 タンパク質と His-MH1 タンパク質は直接結合することが明らかとなった。これは、Smad4 と p65 はそれぞれ MH1 領域と TA2 領域で直接結合することが示唆している。また、GST-TA2 と His-MH1 欠失変異体タンパク質を用いた GST Pull-down assay では、GST-TA2 は His-MH1 (19-138), His-MH1 (19-105) と結合するのにに対し、His-MH1 (19-68) との結合は認められなかった。以上の結果は、MH1 領域と TA2 領域の結合には MH1 の 69 番目から 105 番目までの領域が関与する可能性を示唆している。

【考察】以前から NF- $\kappa$ B の阻害は BMP の骨芽細胞分化や骨形成に有利であると考えられてきた。しかしながら、p65 欠損マウスは肝臓のアポトーシスによる胎生致死であることから、NF- $\kappa$ B 阻害剤の長期投与は重篤な副作用を引き起こす可能性がある。我々が開発を目指している p65 と Smad4 の会合部位を特異的に阻害するペプチドは、NF- $\kappa$ B の機能を完全に失うことなく効率良く BMP による骨形成・骨再生の促進効果を発揮できる画期的な薬剤となる可能性がある。今後、p65 と結合する MH1 領域をさらに詳細に特定し、このペプチド開発に繋げていきたい。

【結論】Smad4 と p65 の結合には Smad4 の 69 番目から 105 番目までの領域が関与する。