

Incidence of Isthmus and Dimensions in Mesiobuccal and Mesial Roots of First Molars

○ Huiwen Yu^{1,2}, Sunil Kim¹, Tae-cheol Yun², Euseong Kim¹

¹*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea*

²*Department of Conservative Dentistry, National Health Insurance Ilsan Hospital, Goyang, Korea*

I. Object :

To evaluate the incidence of isthmus and dimensions of mesiobuccal (MB) roots from maxillary first molars and mesial (M) roots from mandibular first molars in order to elucidate their anatomy.

II. Materials & Methods :

Twenty eight MB roots of maxillary first molars and thirty one M roots of mandibular first molars were evaluated regardless of sex or age. Each root was embedded in clear resin and the roots were cut perpendicular to the long axis of the root at 1, 2, 3, 4 and 5 mm from the anatomic apex with a low speed diamond saw and finally stained with 2% methylene blue dye. All sections were examined using a stereomicroscope at 30x magnification.

III. Results :

1. The incidence of isthmus of MB roots of the maxillary first molar was 10.7 to 89.3%, and it was observed more than 70% at all levels except 1 mm. The highest incidence of isthmus was seen at the apical 3 mm with 89.3%. Partial and complete isthmuses were 75% and 14.3%, respectively.
2. The incidence of isthmus in M roots of the mandibular first molars was 16.1 to 100% and it was observed more than 70% at all levels except 1 mm. The highest incidence of isthmus was seen at the apical 3 mm with 100%. Partial and complete isthmuses were 58.1% and 41.9%, respectively.
3. There were no statistically significant differences in the mesio-distal dimensions (MBM, MBD, MLM, MLD, IM and ID) among 3, 4 and 5 mm from MB and M root apices ($p > 0.05$). Based on the root resection at apical 3 mm, the thinnest dimension was 0.78 mm and 0.86 mm in MLD, respectively. The means of MLD and ID of MB roots at apical 3, 4 and 5 mm were 0.85 mm and 0.95 mm, which were less than 1 mm. The mean of MLD and ID of M roots at apical 3, 4 and 5 mm was 0.96 mm and 0.91 mm, which were less than 1 mm.

IV. Conclusion :

The results of this study provide more precise anatomy of first molars which would necessary for success of surgical and nonsurgical endodontic treatment.

Huiwen Yu

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University

Department of Conservative Dentistry, National Health Insurance Ilsan Hospital

cod2@nhimc.or.kr

**C-shaped root canal system in mandibular second molars in Korean elderly people
evaluated Using cone-beam computed tomograph**

○ Mi-Yeon Kim, Sun-ho Kim, Byung-chul Song, Jeong-hee Kim

Department of Conservative Dentistry, Veterans Health Service Medical Center, Seoul, Korea

I. Object :

To evaluate anatomical characteristics of C-shaped canal systems in Korean mandibular second molars using cone-beam computed tomography (CBCT).

II. Materials & Methods :

CBCT images of 824 subjects were evaluated. These patients were taken CBCT for dental implantations from January 1, 2013 to December 31, 2013. 711 mandibular 2nd molars were examined. The configurations of canals were categorized according to modified Melton's classifications. We analyzed the C-shaped canal by gender, tooth position and examined the bilaterality of C-shaped canal in second molar. The cross-sectional image at the level of canal orifice, coronal third portion, coronal middle portion and apical third portion were assessed and classified.

III. Results :

824 individuals with mandibular second molar were examined. 648 were male and 63 were female. In the 824 people, 122 people had a C-shaped canal system (14.8%). 711 mandibular second molars, 154 tooth (21.5%) had C-shaped canal systems. This prevalence did not vary with tooth position. Most of the C-shaped canals was symmetrical (74.4%). The C-shaped roots, the most common configuration Type were Melton's Type I (89%) in the orifice level and Melton's III (83.8%) in the apical level.

IV. Conclusion :

Using the CBCT, a high prevalence of C-shaped canals was observed in Korean mandibular second molars. Thus clinicians need to know the presence of C-shaped root canal systems and their configuration characteristics in order to increase the success rate of endodontic treatment.

Mi-Yeon Kim

Department of Conservative Dentistry, Veterans Health Service Medical Center

cheese0419@naver.com

Effect of Leptin on odontoblastic differentiation and angiogenesis

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

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

I. Object :

Odontoblastic differentiation and angiogenesis in the dental pulp are important in the regenerative endodontic procedure. Leptin is known as a regulator of mesenchymal differentiation and promotes odontoblastic differentiation and angiogenesis. The aim of this study is to examine leptin can induce odontoblastic differentiation and angiogenesis in human dental pulp cells (hDPCs) by which intracellular signaling pathway.

II. Materials & Methods :

Recombinant human leptin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was treated directly at 0.01, 0.1, 1 and 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration to the growth media consisting in α -MEM. Leptin was treated to hDPCs at 2nd day of culture and cells were treated continuously with leptin for 1, 3, 7 and 14 days respectively. The effect of leptin on the viability of hDPCs was examined using a WST-1 assay (Ez-Cytox Enhanced Cell Viability Assay Kit ; Daeil Lab Service Co, Seoul, Korea). The expression of odontogenic and angiogenic markers was detected by real-time PCR and western blot. Alkaline phosphatase (ALP) staining and Alizarin red S staining were performed to evaluate the expression of ALP and the mineralized nodule formation with the treatment of leptin and/or the presence of the MAPK inhibitors.

III. Results :

Leptin at 0.01, 0.1, 1 and 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration didn't have cytotoxicity to hDPCs. The expressed mRNA and protein of the odontogenic and angiogenic specific markers, ALP activity and mineralized nodule formation were significantly increased in the leptin treated group compared to the control group. Leptin improved the phosphorylation of ERK, JNK and p38 within 5 minutes treated. But leptin-induced DSPP and VEGF protein expressions and mineralization were blocked by the MAPK inhibitors.

IV. Conclusion :

Leptin induces odontoblastic differentiation, angiogenesis and mineralization in hDPCs by MAPK signaling pathway activation.

Yu-Seon Kim

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

bogopa903@naver.com

Antibacterial efficacy of a curcumin containing caries detector

○ Juhea Chang¹, Shin Hye Chung²

¹Special Care Clinic, Seoul National University Dental Hospital, Seoul, Korea

²Biomaterials Science, School of Dentistry and Dental Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea

I. Object :

The aim of this study was to evaluate the antibacterial efficacy of a new caries-detector containing curcumin.

II. Materials & Methods :

The experimental caries detector containing curcumin (Group 1 : curcumin solution, Sigma Aldrich) was compared with two conventional caries detectors (Group 2 : Seek Sable, Ultradent, USA ; Group 3 : Seek, Ultradent). To determine the half-maximal inhibitory concentration (IC₅₀) of a curcumin solution, cell cytotoxicity in L929 fibroblasts was evaluated by MTT assay. To evaluate the antibacterial sensitivity in *S. mutans* UA159, an agar diffusion test was applied using the material in each group. Propylene glycol and 20% chlorhexidine solution were used as negative and positive controls, respectively. Bacterial growth assay was performed on *S. mutans* at 30-minute intervals. The depth and pattern of the detectors penetration into the dentinal tubules of carious dentin were evaluated.

III. Results :

The IC₅₀ of curcumin was determined to be 16% and the bacterial diffusion test showed the antibacterial activity of the curcumin solution. The bacterial growth assay showed a mild suppression of *S. mutans* in Group 1, while no significant inhibition was detected in Groups 2 and 3. The experimental caries detector exhibited a similar depth of penetration compared to the conventional detectors.

IV. Conclusion :

A new caries detector containing curcumin showed reliable antibacterial activity against *S. mutans*. An antibacterial caries detector will be useful for maintaining caries-affected dentin and enhancing the clinical success of minimally invasive caries treatment.

Juhea Chang

Special Care Clinic, Seoul National University Dental Hospital

juhchang@snu.ac.kr

Fatigue resistance of nano-composite CAD/CAM crowns

Seung-Woo Lee, So-Hyun Park, Yeon-Jee Yoo, Kee-Yeon Kum, ○ Seung-Ho Baek

Department of Conservative Dentistry, Seoul National University, Seoul, Korea

I. Object :

The objective of this study was to investigate fatigue resistance of the nano-composite computer-aided design/computer-aided manufacturing (CAD/CAM) crowns.

II. Materials & Methods :

Thirty nano-composite CAD/CAM crowns were fabricated from 30 artificial upper premolars with standardized dimensions as full veneer CAD/CAM crown abutments. Scanned images (CEREC Bluecam, Sirona Dental Systems GmbH) from prepared abutments were transferred to CEREC software v. 4.00 and used to design and mill full veneer crowns with either of Mazic Duro (MD, Vericom Co.) and Lava Ultimate (LU, 3M ESTE) according to the manufacturers' recommendations. The restorations were cemented to each abutment by using Multilink N system (Ivoclar Vivadent). Ultimate fracture strength (UFS) was measured by using universal testing machine ($n=5/\text{group}$), and data were used to set up fatigue cycling condition for the half of remaining bonded specimens. Then, tensile bond strength (TBS) was measured initially (24 hr, 37°C) and after aging (300 N, 14 Hz, 1×10^6 mechanical cycles, 37°C) with a crosshead speed of 1 mm/min. Differences between the nano-composite CAD/CAM blocks were analyzed with one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post hoc comparison, and the effect of fatigue cycling within each block was compared with unpaired two sample t-test. Significance level was set at $\alpha=0.05$

III. Results :

MD showed significantly higher UFS than LU ($p<0.05$). TBS of the two CAD/CAM crowns were not significantly different from each other initially ($p>0.05$), but LU showed significantly higher TBS values after fatigue cycling ($p<0.05$). In both blocks, TBS significantly decreased after fatigue cycling ($p<0.01$).

IV. Conclusion :

Within the limitations of this study, LU showed significantly higher TBS after fatigue cycling than MD in premolar full veneer crown design with standardized dimensions

Seung-Ho Baek

Department of Conservative Dentistry, Seoul National University School of Dentistry

shbaek@snu.ac.kr

Effect of silane on bond strength of indirect resin restoration

○ Chul Hoon Jang, Min jeong Kim, Young-Hoon 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 aim of this study was to evaluate the influence of silane type on shear bond strength in cementation of indirect composite resin restorations.

II. Materials & Methods :

Eighty specimens of indirect resin composite were fabricated (Tescera ATL or SIGNUM Ceramis). And bonding area of all specimens were polished with #1200, #1500, and #2000 sandpaper in sequence under irrigation. Different types of silane coupling agent such as Monobond Plus (Ivoclar Vivadent), AZ Primer (SHOFU Inc.), and BIS-SILANE (Bisco) were applied with or without dentin bonding agent (One-Step, Bisco) according to manufacturer's instructions. After bonding a cylindrical shape of composite resin (ESTHET·X HD, Dentsply) on the treated surface, shear bond strength was measured by a universal testing machine (RB Model 301 Unitech MTM, Unitech[®], Daejeon, Korea).

III. Results :

For all specimens tested, shear bond strength of specimens treated with silane and bonding agent were improved ($p < 0.05$). Difference between the control and the silane-treated-only groups was not significant. No significant difference was observed between the two indirect resins except in the group treated with BIS-SILANE and One-step.

IV. Conclusion :

All the evidence points to the conclusion that application of silane and bonding agent can improve shear bond strength in cementation of indirect composite resin restorations.

Chul Hoon Jang

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

Vanguards@naver.com

Effect of adhesive resin flexibility on enamel damage during orthodontic bracket debonding

○ Young Kyung Kim¹, Hyo-Sang Park², Kyo-Han Kim³, Tae-Yub Kwon³

¹*Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu, Korea*

²*Department of Orthodontics, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu, Korea*

³*Department of Dental Biomaterials, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu, Korea*

I. Object :

Bracket debonding procedures in orthodontic treatment may cause the damage on the bonding substrates because conventional dimethacrylate-based orthodontic adhesives have a rigid structure after polymerization due to high crosslinking. To prevent enamel fracture during bracket debonding, more flexible adhesive resins seem to be favorable. Unfilled methyl methacrylate (MMA)-based resins are considerably elastic and flexible, and thus may reduce the stress delivered to the enamel surface during debonding. This study investigated the relationship between the flexural properties of unfilled MMA resin and filled dimethacrylate resin and the debonding behavior of metal brackets bonded to the enamel surface using the resins.

II. Materials & Methods :

A dimethacrylate-based resin (Transbond XT, TX) and two MMA-based resins (Super-Bond C & B, SB ; an experimental light-cured resin, EXP) were tested. Flexural strength and flexural modulus for each resin were measured by a three-point bending test. Metal brackets were bonded to human enamel pretreated with total-etch (TE) or self-etch adhesive using one of the three resins (a total of six groups, $n=15$). After 24 hours of storage in water at 37°C, a shear bond strength (SBS) test was performed using the wire loop method. After debonding, remaining resin on the enamel surfaces and occurrence of enamel fracture were assessed. Statistical significance was set at $P<0.05$.

III. Results :

The two MMA resins exhibited substantially lower flexural strength and modulus values than the TX resin. The mean SBS values of all groups (10.15-11.09 MPa) were statistically equivalent to one another ($P>0.05$), except for the TE-TX group (13.51 MPa, $P<0.05$). The two EXP groups showed less resin remnant. Only in the two TX groups, enamel fractures were observed (three cases for each group).

IV. Conclusion :

When considering the occurrence of enamel fracture during bracket debonding, flexible adhesive resins may be preferable to rigid ones, as long as a clinically acceptable bond strength is guaranteed. In addition, the light-cured MMA (EXP) resin has potential as a new adhesive resin for bracket bonding.

Young Kyung Kim

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Kyungpook National University

wisekim@knu.ac.kr

Treatment of multiple canals in mandibular first premolar

○ Soojin Kim, Mi-yeon Kim, Byung-chul Song, Jeong-hee Kim, Sun-ho Kim

Department of Conservative Dentistry, Veterans Health Service Medical Center, Seoul, Korea

I. Introduction :

Mandibular premolars are difficult to treat because of root canal morphology. Especially mandibular first premolars have large variation in root canal system. This case reports presents two cases of mandibular first premolars with two canals

II. Case presentation :

<Case 1>

1. Sex/age : M/72Y
2. Chief Complaint (C.C) : I have pain on left lower side
3. Past Dental History (PDH) : N. S..
4. Present Illness (PI) : #34 hot (+) ice (+) Per (+), Mob (-), Pal (-), PA lesion (-), PPD≤3 mm, multiple canals (≥2), severe attrition, pulp exposure state
5. Impression : irreversible pulpitis
6. Tx Plan : #34 root canal treatment

<Case 2>

1. Sex/age : M/70Y
2. Chief Complaint (C.C) : I have been treated because of pain on #44, but still have pain.
3. Past Dental History (PDH) : root canal treatment on #44 (10days ago, LDC)
4. Present Illness (PI) : #44 Per (+), Mob (-), Pal (-), PA lesion (+), PPD≤3 mm, multiple canals (≥2), missing canal
5. Impression : Chronic apical periodontitis on #44
6. Tx Plan : #44 root canal treatment

III. Conclusion :

A key for successful root canal treatment outcome is dependent upon careful use of all the available diagnostic aids to locate and treat the entire root canal system. In spite of the morphologic challenges, proper diagnosis and managements lead to the success of the root canal treatment of mandibular first premolars..

Soojin Kim

Department of Conservative Dentistry, Veterans Health Service Medical Center

Sujin5137@hanmail.net

Treatment of external root resorption on mandibular canine

○ Jihee Jung, Mi-yeon Kim, Byung-chul Song, Jeong-hee Kim, Sun-ho Kim

Department of Conservative Dentistry, Veterans Health Service Medical Center, Seoul, Korea

I. Introduction :

External root resorption is the loss of dental hard tissues due to clastic activities within the pulp or periodontal tissue. Treatment aims for the repair of the resorptive lesion and long-term retention of the tooth. This case presents an external root resorption of tooth #33, which is diagnosed using CBCT and treated by non-surgical root canal therapy.

II. Case Presentation :

1. Sex/age : 63/F
2. Chief Complaint (C.C) : I have pain when I press on #33 gingiva
3. Past Medical/Dental History : osteoporosis/N-S
4. Present Illness : #33 external root resorption, sinus tract, Per (+), mob (-), buccal probing depth-7 mm, cold (-), EPT (-)
5. Impression : External root resorption and pulp necrosis on #33
6. Tx. Plan : Root canal treatment on #33 and repair with MTA

III. Discussion and conclusion :

The etiology of external root resorption requires two stages : mechanical or chemical injury to the protective tissues and stimulation by inflammation or pressure. In this case, CBCT could be very useful for evaluating the location and severity of absorption lesion. The resorption lesion was repaired with ProRoot MTA (Dentsply Sirona). MTA can be superior material for its excellent property such as biocompatibility, good sealing ability, and the ability to inhibit bacteria. Also, it has a capacity to promote hard tissue formation and to inhibit osteoclastic bone resorption. Clinically, the canine was asymptomatic, and any further resorption was not found.

Jihee Jung

Department of Conservative Dentistry, Veterans Health Service Medical Center

gtwo1128@naver.com

The management of a complicated crown-root fractured tooth using forced eruption

○ Ji-won Jeong, Su-Jung Park, Seok-Ryun Lee

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Korea

I. Introduction :

Complicated crown-root fractured incisors present a lot of problems in respect of coronal restoration, especially when the fracture margin is located subgingivally. Several treatment options are available, but forced eruption is less invasive and more conservative when patient's cooperation is accepted. Also it does not involve loss of alveolar bone or periodontal support and produces good aesthetic results. However, careful approaches should be considered for traumatized teeth during root canal treatment and forced eruption. This case report was selected forced eruption as the treatment option of complicated crown-root fracture in the maxillary anterior tooth.

II. Case Presentation :

<Case I >

1. Sex/Age : M/23
2. Chief Complaint (C.C) : My anterior tooth was broken.
3. Present Illness (PI) : #11 Complicated crown-root fracture, per (+) mob (-)
4. Impression : Complicated crown-root fracture on #11
5. Tx plan : #11 root canal treatment, forced eruption, post & core and all ceramic crown

III. Conclusion :

Treatment of complicated crown-root fracture with subgingival margin is a big challenge for clinicians. Several treatment options have been proposed for the treatment of complicated crown-root fracture, and forced eruption is regarded as a suitable treatment in many cases. For the successful forced eruption, there are some factors should be considered ; Crown to root ratio, degree of the fracture line extension, orthodontic extrusion force, biologic width for aesthetic restoration and gingival line. In this case, forced eruption was suitable treatment for recovering aesthetic and functional quality safely.

Ji-won Jeong

Department of Conservative dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University

miharu_@naver.com

Management of discolored tooth with CEREC system

○ Kyung-Won Jun, Minju Song, Ho-Jin Moon,
Yong-Bum Cho, Chan-Ui Hong, Dong-Hoon Shin

Department of Conservative Dentistry, School of Dankook University, Cheonan, South Korea

I. Introduction :

Discoloration can occur after endodontic treatment of traumatized tooth. When discoloration occurs, non-vital bleaching can be the first treatment choice. If the discoloration reoccurs after dental bleaching, laminate which mask or reduce the discoloration is frequently used. Ceramic laminate veneer was chosen for its aesthetic, functional, and conservative property for discolored tooth. Recently, many clinicians are using the CAD/CAM system because it is possible to finalize the treatment in a single visit. This case report presents the process of fabricating CAD/CAM ceramic laminate veneer in a single visit using the CEREC system.

II. Case Presentation :

1. Sex/Age : F/25
2. Chief complaint (C.C) : Tooth discoloration on #11, 21
3. Past Dental history (PDH) : Root canal treatment of #11, 21, 22 due to trauma—5 years ago
Non-vital bleaching of #11, 21, 22—2 years ago
4. Present illness (PI) : Per (—), Mob (—), Pal (—), discoloration on #11, 21
5. Impression : Tooth discoloration on #11, 21
6. Tx plan : #11, 21 Ceramic laminate veneer

III. Conclusion :

The single visit protocol for the fabrication of a ceramic laminate veneer using CEREC system makes it easy to control the color and contour, and saves time for both the patient and the clinician. In addition, CAD/CAM ceramic laminate veneer is quite esthetic. Therefore, CAD/CAM system can be readily applied to fabricate esthetic ceramic laminate veneer.

Kyung-Won Jun

Department of Conservative Dentistry, School of Dankook University

Kwjun10@gmail.com

The multiple diastema closure with direct resin composite veneers

○ Sang-Su Lee, Su-Jung Park, Seok-Ryun Lee

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Korea

I. Introduction :

Diastema means a space or gap between two adjacent teeth. There are several treatment options such as orthodontic treatment, direct resin restoration, porcelain veneer or full crown restoration. This case report describes multiple diastema on maxillary and mandibular anterior teeth to be closed with direct resin composite veneers. Direct resin restoration was selected considering the wish of the patient not to prepare tooth.

II. Case Presentation :

1. Sex/Age : Female/46
2. Chief Complaint (C.C) : I think spacing on my anterior teeth is getting larger.
3. Past Medical/Dental history : Thyroid cancer surgery 6 years ago.
4. Present Illness (PI) : Interdental space on #13-12, #12-11 (2 mm), #11-21, #21-22, #22-23, #31-32 (1.5 mm), #42-43, a tongue-thrust-swallowing habit.
5. Impression : Multiple diastema on #13-12, #12-11, #11-21, #21-22, #22-23, #31-32, #42-43
6. Treatment plan :
 - (1) Direct resin restoration on #13-12, #11-21, #21-22, #31-32
 - (2) The education for correction about a tongue-thrust-swallowing habit

III. Conclusion :

When anterior teeth are widened, it may also be necessary to lengthen them to preserve natural anatomical proportions. It can be achieved by adding restorative materials to the incisal edge or surgical crown lengthening. The desired lengths and widths of tooth should be determined using a diagnostic wax-up. A trial application or mock-up may be accomplished with resin composite applied to unetched tooth. Through this approach, aesthetically pleasing results were obtained in this case. In addition, the patient has a tongue-thrust-swallowing habit which is a sign that increases the likelihood of recurrence. Continuous education and recall checks are necessary and important.

Sang-Su Lee

Department of Conservative dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University

consben17@gmail.com

Aesthetic reconstruction of crown-root fractured tooth

○ Ji-Young Moon, Jeong-Bum Min

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chosun University of Gwang-Ju, Korea

I. Introduction :

Crown-root fracture is a common tooth injury which invade the biological width. It is frequently difficult to treat and has a bad prognosis. Therefore, proper endodontic and prosthodontic treatments are required to achieve acceptable clinical outcome. Various treatment options, such as orthodontic or surgical extrusion, crown lengthening and extraction, have been described for managing of crown-root fracture. This case report presents the prosthetic rehabilitation of central incisor with crown-root fracture.

II. Case presentation :

- 1) Age/Sex : 58/M
- 2) Chief complaint : My upper front tooth was broken.
- 3) Past medical/Dental history : N. S.
- 4) Present illness : Crown-root fracture on #21
air (－) per (－) mob (+) EPT (+) pain (－)
- 5) Impression : Crown-root fracture on #21
- 6) Treatment plan : Intentional replantation with 180° rotation on #21
RCT and zirconia crown restoration on #21

III. Conclusion :

Crown-root fractures constitute a restorative challenge due to sub-gingival position of the fracture margin. In this case, the distance from the gingival margin to the buccal fracture line was approximately 4 mm. Gingivectomy or crown lengthening in the anterior teeth may compromise esthetics. However, intentional replantation with 180° rotation allows recovery of the biological width without compromising esthetics. This case demonstrates the functional recovery and esthetic reconstruction of damaged tooth by intentional replantation and prosthetic restoration. Crown-root ratio of the treated tooth was unfavorable, nevertheless it is a valuable treatment option for preserving a natural tooth.

Ji-Young Moon

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chosun University of Gwang-Ju

mjy4669@naver.com

Diastema closure using direct composite restoration and composite veneer in multiple space dentition

○ Jung-Min Hong, Jeong-Bum Min

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chosun University of Gwang-Ju, Korea

I . Introduction :

The factors of diastema are abnormal labial frenum, microdontia, mesiodens, peg lateralis, etc. Treatment options for the closing of diastema are orthodontics, operative dentistry and prosthodontics. Over the past few decades, restorative composite resin and adhesive system have improved. Especially, advantages of operative dentistry are simple, fast, non-invasive, predictable and low-cost.

This case report describes diastema closure using direct composite restoration and composite veneer of anterior teeth.

II . Case presentation :

- 1) Age/Sex : 21/M
- 2) Chief Complaint : There are multiple spaces between my teeth.
- 3) Past Medical History/Dental history : N. S.
- 4) Present Illness : Multiple diastema on anterior dentition
Peg lateralis on #12, 22
- 5) Treatment plan : Diastema closure using direct composite restoration on #11, 21, 31, 32, 41, 42
Direct composite veneer on #12, 22

III. Conclusion :

For successful restoration of diastema or malformation teeth, gingival and tooth esthetics are important. First, in the gingival aspect, interdental papilla formation should be considered. Second, in the tooth aspect, as frequently observed unbalanced proportion of anterior teeth after diastema closure, dental width/length proportion should be considered. Due to many advantages, operative dentistry is a good choice recommended by perspective of minimally invasive dentistry.

Jung-Min Hong

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chosun University of Gwang-Ju

wamasama@naver.com

Tooth Fragment reattachment of complicated crown fractured anterior tooth

○ Hyun-Jin Jo, Su-Jung Park, Seok-Ryun Lee

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Korea

I. Introduction :

Complicated crown fracture in anterior teeth is the one of the common traumatic injuries. Reattachment technique using the original tooth fragment is the most conservative treatment for complicated crown fractured tooth. In addition, there may be some aesthetic advantages because the original shape and shade of the fractured tooth can be recovered. The following two cases describe the management of complicated crown fractured anterior tooth by partial pulpotomy and tooth fragment reattachment technique.

II. Case Presentation :

<Case 1>

1. Sex/Age : M/31
2. Chief Complaint (C.C) : My tooth was fractured by falling down yesterday
3. Present Illness (P.I) : #21 : Crown fracture with pulp exposure, Per (－), Mob (－), EPT (+),
4. Impression : Complicated crown fracture on #21
5. Tx. Plan : Tooth fragment reattachment on #21

<Case 2>

1. Sex/Age : M/12
2. Chief Complaint (C.C) : My teeth were broken by bumping into goal post during soccer game two days ago
3. Present Illness (P.I) : #31, 41 : Crown fracture with pulp exposure, Per (－), Mob (－), EPT (+)
#32 : Crown fracture without pulp exposure, Per (－), Mob (－), EPT (+)
4. Impression : Complicated crown fracture on #31, 41, uncomplicated crown fracture on #32
5. Tx. Plan : Tooth fragment reattachment on #31, 41 and resin filling on #32

III. Conclusion :

If the tooth fragment is available and fractured surface could be isolated with from any contaminant, tooth fragment reattachment should be considered as the first choice for complicated crown fractured tooth. Especially in case of anterior tooth, reattachment of the tooth fragment in a day can give a better aesthetic restoration and psychological stability to the patient. With an appropriate vital pulp therapy, tooth fragment reattachment could be expected a long-term successful result.

Hyun-Jin Jo

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University

diozz@nate.com

Direct composite resin restoration of bilaterally geminated molars

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

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

I. Introduction :

Gemination is a rare morpho-anatomic anomaly that develops when the bud of a single tooth attempts to divide. On the contrary, fusion results from the conjoining of two tooth buds. Occasionally, these two anomalies are commonly called “double tooth” on account of comparable morphology resulting in confusion. The morphological alterations can act as surface irregularity causing plaque accumulation, which leads to dental caries. Previous studies have shown preventive resin restoration, direct composite veneer, root canal treatment and prosthetic procedure as treatment options. The purpose of this case is to report direct composite resin restoration of bilateral maxillary first molar that appeared to have been geminated.

II. Case Presentation :

<Case>

1. Sex/age : F/20
2. Chief Complaint (C.C) : Food impaction, cold sensitivity on #16, 26
3. Past Dental History (PDH) : Non-contributory
4. Present Illness (PI) : Per.(-), Mob.(-), Cold (+), EPT (+, 2) on #16, 26
5. Impression : Dental caries on #16, 26
6. Treatment plan : Direct composite resin restoration on #16, 26

III. Conclusion :

Gemination and fusion are anomalies of shape with close similarity. Thus, they pose diagnostic challenge to clinicians. In this case, computed tomography (CT) was conducted to identify the anatomy of irregularly formed teeth. Both maxillary first molars had supernumerary crown on their buccal surface but their roots and pulps were totally fused that suggests gemination. Due to the presence of grooves in the union area, caries lesion existed between the tooth involved was identified. During first visit of caries excavation, pulp was mechanically exposed so MTA was used as a direct pulp capping material. 1 week later, consecutive bulk-fill and hybrid composite resin restoration was performed. To enhance plaque control ability, smooth surface of restoration on transitional area was formed and tooth brushing method was instructed. Proper oral hygiene management and conservative restoration based on tooth anatomy are crucial for successful outcome of treatment on anomalous teeth.

Bae In-Hye

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Pusan National University, South Korea

danmuji12@hanmail.net

新規亜鉛含有バイオアクティブガラスによる象牙質脱灰抑制効果の検討

¹鹿児島大学学術研究院 医歯学域歯学系 歯科保存学分野

○勝俣 愛一郎¹、星加 知宏¹、丁 群展¹、勝俣 環¹、西谷 佳浩¹

The inhibition of dentin demineralization by new zinc bioactive glass

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Research Field in Dentistry, Medical and Dental Sciences Area,
Research and Education Assembly, Kagoshima University, Kagoshima, Japan

○Aiichiro KATSUMATA¹, Tomohiro HOSHIKA¹, Chun-chan TING¹, TAMAKI KATSUMATA¹, Yoshihiro NISHITANI¹

【目的】

近年、多様化する生活習慣や高齢化により口腔内の象牙質の露出頻度は増加傾向にある。それに伴い、歯冠修復用材料や用いられる接着性材料の開発が進められている。

抗菌性を目的とし化粧品や軟膏等に使用されている亜鉛は、歯質の脱灰抑制に対して効果を認めると多数の報告がなされている。う蝕リスクの高い露出象牙質に対し、脱灰抑制効果の高い材料を開発するため、亜鉛、フッ素、カルシウム、ケイ素を含有したバイオアクティブガラス、Zinc-Fluoride (Zinc-F) ガラスおよび Zinc-F ガラス塗布材を作製した。Zinc-F ガラス塗布材は Zinc-F ガラススラリー液(A 液)とリン酸水溶液(B 液)から構成されており 2 液を混和、歯面に塗布することで Zinc-F ガラス、リン酸亜鉛、フッ化カルシウム、リン酸カルシウム等によるナノ粒子層が形成される。この塗布材はフッ素の他に亜鉛を多く溶出することが確認されている。本研究では Zinc-F ガラスによる象牙質脱灰抑制効果について象牙質硬度を測定することで検討した。

【材料および方法】

本研究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た。歯冠部中央を歯軸に対して垂直に切断し、象牙質面を露出させた後歯軸に対し平行に厚さ約 1mm となるよう精密低速切断機(Isomet, Buehler)を用いて切断し、耐水研磨紙#4000 まで研磨した象牙質面を観察面とした。本研究では未処理の象牙質群(S 群)と、Zinc-F ガラス塗布材(ZFC-03, GC)で象牙質に対し表面処理を行った群(ZIF 群)とを比較した。ZIF 群は露出象牙質に対し、A 液、B 液を等量混和した後に、アプリケーション器を用いて塗布し、水洗した。S 群、ZIF 群いずれも pH を 3 に調整した酢酸溶液に試料をそれぞれコントロールとして浸漬時間 0 分、また、5 分、10 分、15 分、30 分浸漬した条件でビッカース硬さを測定した。ビッカース硬さの測定にはマイクロビッカース硬さ試験器(HM-102, Mitutoyo)を用いて 25g の荷重を加え、負荷時間 10 秒の条件下にて試料に圧痕をつけ、その長さを計測した。各試料につき任意の 8 ヶ所の測定を行った。得られた結果(HV)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、観察面について走査型電子顕微鏡(SEM)により形態観察を行った。

【結果】

各条件におけるビッカース硬さを比較すると、浸漬時間 0 (コントロール)、5、10、15、30 分の順に、S 群では 57.2 ± 1.9 , 53.0 ± 0.8 , 38.3 ± 2.1 , 30.2 ± 0.9 , 29.6 ± 1.0 であり、ZIF 群では 55.9 ± 3.2 , 56.2 ± 0.8 , 48.5 ± 2.3 , 36.2 ± 1.9 , 30.2 ± 0.9 であった。浸漬時間 5、10、15 分では ZIF 群は S 群より有意に高い値を示した。S 群は浸漬時間 0 (コントロール) から 5 分、10 分、15 分と時間経過とともに有意に硬さが低下し、浸漬時間 15 分と 30 分の条件では有意差を認めなかった。一方、ZIF 群においては浸漬時間 0 (コントロール) と 5 分の条件で有意差を認めず、5 分、10 分、15 分、30 分と時間経過とともに有意に硬さが低下した。被着面の SEM 像では、ZIF 群において象牙質観察面に Zinc-F ガラス塗布材によるナノ粒子層を認めた。

【考察および結論】

本研究で用いた新規亜鉛含有バイオアクティブガラス塗布材(Zinc-F ガラス塗布材)を塗布することによって、酸による象牙質脱灰の抑制効果を認めることが示唆された。

UVA 活性リボフラビン処理による象牙質う蝕予防・進行抑制効果の検討

¹大阪大学大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座、²大阪大学 歯学部附属病院 口腔総合診療部、³北海道医療大学 歯学部 う蝕制御治療学分野

○上村 怜央¹、三浦 治郎²、八木 香子¹、松田 康裕³、林 美加子¹

Preventive and progression-inhibiting effect on dentin caries by Ultraviolet-A-activated riboflavin treatment

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, Osaka, Japan

²Division for Interdisciplinary Dentistry, Osaka University Dental Hospital, Osaka, Japan ³Division of Clinical Cariology and Endodontology, Health Sciences University of Hokkaido Graduate School of Dentistry, Hokkaido, Japan

OREO UEMURA¹, JIRO MIURA², KYOKO YAGI¹, YASUHIRO MATSUDA³, MIKAKO HAYASHI¹

【目的】

近年の超高齢社会において、根面う蝕の予防および進行抑制が重要視されている。根面を含む象牙質う蝕の進行は2つのステージがあることが報告されており、まずプラーク中の細菌から産生される酸により、ミネラルが喪失しコラーゲンが露出する。次に、露出したコラーゲンが分解され、さらなるミネラルの喪失を引き起こすという循環を繰り返している。そこで我々は、象牙質コラーゲンを強化することがう蝕の予防および進行抑制に重要な役割を担うと着目し、第142回および第144回学会大会において、眼科領域において既に臨床利用されているUVA活性リボフラビン処理の応用が、象牙質の機械的強度を増加させ、耐酸性を向上させることを報告した。今回は、さらにこのUVA活性リボフラビン処理を用いて、象牙質の耐酸性向上および酵素分解抵抗性向上に寄与する形態学的評価を行い、より口腔内環境を模したpH変動下においても耐酸性が得られるかを検索した。

【方法】

う蝕のないヒト抜去大臼歯のセメントエナメル境付近の頬舌側面を歯軸に平行に切断し、根面象牙質を露出させたブロックを、低速精密切断機 (ISOMET2000, BUEHLER) を用いて採取した。リボフラビン溶液は、リボフラビン-5'-モノホスファートナトリウム (東京化成工業株式会社) を蒸留水に溶解させて0.1%溶液を作製した。UVA照射は、LED紫外線照射装置 (ZUV-C30H, オムロン) を用いて、波長365 nm、出力1600 mW/cm²、照射時間10分の条件で行った。象牙質ブロックから、長軸が象牙細管の走行と平行になるよう切り出した棒状試料を、コントロール群、処理群に分類し、処理群にUVA活性リボフラビン処理を行った後、脱灰溶液 (0.2M Lactic acid, 3.0mM CaCl₂, 1.8mM KH₂PO₄, pH5.0) 中に3日間浸漬した。その後、樹脂包埋し、試料断面を走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察して、脱灰深さおよび象牙細管の構造について評価した。次に、象牙質ブロックから1mm角試料を切り出し、10% EDTA にて2週間脱灰しコラーゲンが露出したものを、同様に2群に分類し、処理群にUVA活性リボフラビン処理を行った後コラゲナーゼ溶液 (*Clostridium histolyticum*) に5日間浸漬した。その後、樹脂包埋し、作成した超薄切片を透過型電子顕微鏡 (TEM) にて観察し、コラーゲンの構造変化を評価した。最後に、口腔内環境を模した自動pHサイクル装置 (Matsuda *et al.*, 2006) を用いた耐酸性の評価を行った。象牙質ブロックを半切後500 μmの厚さに切断し、脱灰面を規定したのち、同様に2群に分類して、試験前にμCTを撮影した。UVA活性リボフラビン処理を行ったのち、脱灰溶液 (0.2M Lactic acid, 3.0mM CaCl₂, 1.8mM KH₂PO₄, pH4.5) および再石灰化溶液 (0.02M HEPES, 3.0mM CaCl₂, 1.8mM KH₂PO₄, pH6.8) を、定めたプログラムに従って2週間浸漬した。その後μCT撮影に供し、各群における脱灰前後でのミネラル密度および脱灰深さの変化を比較検討した。ミネラル密度および脱灰深さの統計的な差はStudent-t検定を用いて危険率を1%として評価した。本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認下で実施した (承認番号: H21-E29)。

【結果および考察】

SEM観察から、UVA活性リボフラビン処理により脱灰深さは明らかに減少し、象牙細管の構造に違いが見られた。TEM観察においては、コントロール群は細管周囲のコラーゲンが著しく分解されていたのに対し、処理群ではコラーゲンの明らかな分解は確認されなかった。μCT解析では、ミネラル喪失量はコントロール群が36.7±5.3 mg/cm²であったのに対し、処理群は25.1±6.2 mg/cm²であり、有意差を認めた。また試料の脱灰深さについては、コントロール群が225.1±18.0 μmであったのに対し、処理群では163.8±26.9 μmであり、同様に有意差を認めた (P<0.01)。この結果から、UVA活性リボフラビン処理は、口腔を想定した環境下においても根面象牙質の脱灰が抑制されることが示された。これらより、象牙質う蝕を想定した場合、う蝕の発生および進行抑制につながることを示唆された。

本研究の一部は科学研究費補助金 (基盤(B) 17H04382, 16H05517, 挑戦的萌芽研究 16K12877) および2017 IADR Innovation in Oral Care Awardの補助の下に行われた。

アミノ酸系人工甘味料が多種菌からなるバイオフィルムのう蝕原生に与える影響

¹神奈川歯科大学 大学院歯学研究科 口腔統合医療学講座、²神奈川歯科大学 大学院歯学研究科 口腔科学講座、³Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA), Amsterdam, The Netherlands
○富山 潔¹、石澤 将人¹、長谷川 晴彦¹、渡辺 清子²、河田 亮²、二瓶 智太郎²、高橋 理²、浜田 信城²、
Exterkate R.A.³、向井 義晴¹

Antibacterial effects of amino acid type of artificial sweeteners on polymicrobial biofilms with different cariogenicity

¹Dept. of Oral Interdisciplinary Medicine, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Yokosuka, Japan
²Dept. of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Yokosuka, Japan ³Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA), Amsterdam, The Netherlands
○KIYOSHI TOMIYAMA¹, MASATO ISHIZAWA¹, HARUHIKO HASEGAWA¹, KIYOKO WATANABE², AKIRA KAWATA², TOMOTARO NIHEI², OSAMU TAKAHASHI², NOBUSHIRO HAMADA², R. A. M. Exterkate³, YOSHIHARU MUKAI¹

【研究目的】齲蝕病原菌の含有量が異なる多菌種入りバイオフィルム (PM バイオフィルム) の形成および代謝に対するアミノ酸系人工甘味料の影響を分析した。アスパルテームは、フェニルアラニンのメチルエステルとアスパラギン酸1がペプチド結合した構造を持つジペプチドのメチルエステルであり、ヒトやサルで、メタノール、アスパラギン酸、フェニルアラニンに代謝され、吸収された後に、タンパク質に併合されてから二酸化炭素として排出されることが報告されている (Trefz F et al., 1994)。アドバンテームは、既存の甘味料であるアスパルテームと 3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニルプロピオンアルデヒドとの還元アルキル化反応により合成されるジペプチドメチルエステル誘導体である。人工甘味料は歯垢形成を起こさず、う蝕の原因となりにくいとする報告が数多く認められるが、本研究の目的は、アミノ酸系人工甘味料であるアスパルテーム、アドバンテームを与える環境、あるいは甘味料を全く与えない環境が、PM バイオフィルムのう蝕原生に及ぼす影響を検討することである。

【実験材料および方法】PM バイオフィルム形成用材料には直径 12 mm 厚さ 0.15 mm のガラス円板 (Menzel, Braunschweig, Germany) を用いた。バイオフィルム培養時に加える甘味料として、アスパルテーム (和光純薬工業)、アドバンテーム (和光純薬工業)、キシリトール (和光純薬工業) を用いた。実験群は、1. no sweetener 群 (cont), 2. 0.2% sucrose 群 (suc), 3. 0.2% xylitol 群 (xyl), 4. 0.2% aspartame 群 (asp), 5. 0.2% advantame 群 (adv) の5群とした。PM バイオフィルムの培養には、St. mutans 含有量の異なる2被験者から採取した刺激唾液を用いた (齲蝕原生の低い唾液群: A, 高い唾液群: B)。培養開始から最初の10時間の時点までは unbuffered McBain 2005 (0.2% スクロース含有) に50倍希釈となるように刺激唾液を混入した。その後の14時間は、唾液非含有の上記培養液を用い、24時間の時点からは、各種人工甘味料を含有する unbuffered McBain 2005 培養液を使用した。培養液の交換は10時間、14時間のサイクルで行ない、培養192時間の時点で培養を停止した。培養液の交換時、pH測定用電極 (9618-10D, F-71, Horiba, Kyoto, Japan) を用いて、使用済み培養液の pH 測定を行なった。また、齲蝕原生の高い唾液を用いて形成したバイオフィルムについては、超音波振動下でバイオフィルムを剥離後、一連の希釈過程を経て血液寒天培地に塗布し、48時間の嫌気培養後、細菌数(CFU/ml)の算定を行なった。その後、測定値の統計分析を one-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準5%にて行なった。

【結果】24時間まで培養したPM バイオフィルムに人工甘味料を使用して192時間まで培養を行なった結果、A群 (低う蝕原生群) とB群 (高う蝕原生群) の cont の平均 pH 値間に差は認められなかった (pH: 6.1)。A群では、suc 群と xyl, asp 群の pH 間に有意差が認められたが (suc: 4.32, xyl: 5.30, asp: 5.76, adv: 5.13)、B群では、suc 群と asp 間の pH 間のみに有意差が認められた (suc: 4.16, xyl: 5.11, asp: 5.62, adv: 4.84)。また72時間の時点では、すべての群の生菌数間に差が認められなかったが (cont: 6.2×10^6 , suc: 1.26×10^7 , xyl: 1.27×10^7 , asp: 1.17×10^7 , adv: 1.10×10^7)、192時間では、cont と suc 群間に差が認められ (cont: 1.5×10^7 , suc: 7.0×10^7 , xyl: 3.77×10^7 , asp: 2.7×10^7 , adv: 2.5×10^7)、cont は72時間の時点に比べ、192時間の生菌数が増加していた。

【考察および結論】齲蝕原生の低い唾液由来のバイオフィルムを用いた suc と xyl, asp 群の pH 間に差が認められ、う蝕原生の高いバイオフィルムでは、asp 群のみが、suc 群と比較して有意に pH 値が上昇した。これは、アスパルテーム由来のアスパラギン酸などの成分がバイオフィルム中の特定菌のアンモニア産生を促進することによりう蝕原性を抑制した可能性がある。また、好気性下では、脱窒素、アンモニア産生に続くクオラムセンシングが減少し、生菌数がプラトーに達することが報告されているが、嫌気性条件下においては、その限りではないことが示された。

Trypsin 前処理による高齢の歯髄再生促進治療法の開発

¹国立長寿医療研究センター 幹細胞再生医療研究部

○庵原 耕一郎¹、中島 美砂子¹

Development of the Method for Pulp Regeneration with Trypsin in Aged Dog

¹Department of Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Aichi,
Japan

OKOICHIRO IOHARA¹, MISAKO NAKASHIMA¹

【目的】

一般に高齢個体では組織治癒・再生能力が低下することが知られている。私どもは、超高齢社会での健康長寿を目指して、対症療法を中心とする医療から再生医療による根治療法へのパラダイムシフトを目指して、高齢個体での組織再生を促進する因子の同定を行ってきた。その中でまず、ヒト高齢個体より幹細胞膜分取法により分取した歯髄膜分取幹細胞では、若齢個体由来のものと比較して幹細胞特性や再生誘導能は変わらないが、高齢イヌ歯髄再生モデルにおいて自家歯髄幹細胞を移植すると、若齢に比べて有意に歯髄再生量が減少することが明らかとなった（第136回日本歯科保存学会）。またその原因は、若齢では移植細胞から分泌される trophic 因子により根尖外から宿主幹細胞が根管内に遊走し分化して歯髄が再生されるが、高齢においては歯根周囲組織の強度の基質化により根管内に遊走できる幹細胞数が減少するためである可能性が示唆された。そこで今回、高齢イヌにおいて、細胞移植前に、根尖周囲の基質を融解できる Trypsin で根管前処理を行ったところ、歯髄再生量の増加がみられた。よって、高齢における歯髄再生を促進するための最適な Trypsin 濃度、時間および適用法を決定した。さらに、臨床研究を目指して、最適条件での非臨床的安全性・有効性試験を行った。

【方法】

1. 若齢および高齢歯髄幹細胞の分取：7か月および5歳のイヌの歯髄幹細胞を分離、培養した。2代目において、膜分取法により歯髄幹細胞を分取し、7代まで増幅後凍結した。幹細胞の品質は幹細胞表面マーカー発現率および生存率にて評価した。
2. 高齢イヌの歯髄再生を促進させる Trypsin 前処理法の最適条件の決定：抜髄根管にフランセチン T パウダー (Trypsin 2,500 USP/10 mg) (持田製薬) の前処理における最適時間 (10分あるいは30分)、最適濃度 (50 μ g/ml あるいは500 μ g/ml)、および希釈溶液 (蒸留水あるいはナノバブル水) を検討した。コントロールとして Trypsin 前処置なしを用いた。前処理後、通法にしたがって歯髄幹細胞 (5×10^6 cells) をアテロコラーゲンに混合して G-CSF と共に根管内に移植し、14日後、歯髄再生量を比較した。また、若齢での Trypsin 前処置の効果を検討した。
3. 高齢イヌにおける Trypsin の前処理後の歯髄再生治療法的安全性・有効性評価：最適条件にて、高齢イヌに移植後12週間における毒性変化を尿検査、血液学的及び血液生化学的検査にて検討した。また、移植後9か月目にX線撮影により、歯の周囲組織の異常の有無を検討した。さらに、有効性を検討するため、移植後14日目に抜歯し、歯髄再生量、血管新生密度、神経突起伸長を前処理なしと比較した。

【結果】

1. 凍結保存細胞の生存率は80%以上であり、CD29、44、73、90 および105 陽性率は95%以上で、CD31 は陰性であった。
2. 高齢イヌの細胞移植後14日目においては、抜髄後根管内に Trypsin 前処理 (50 μ g/ml) を10分行くと未処理と比べて2.5倍に増大し、Trypsin 前処理30分行くと4倍に増大した。また、Trypsin 前処理を500 μ g/ml で適応しても歯髄再生量に差はほとんどみられなかった。さらに、ナノバブル水で希釈した Trypsin で前処理 (50 μ g/ml) を10分行くと、未処理のものに比べて歯髄再生量は4倍に増大した。したがって、最適条件は、50 μ g/ml (ナノバブル水希釈) を10分と決定した。
3. さらに高齢イヌに上記条件で前処理した場合、12週間の毒性変化はみられず、9ヶ月でのX線検査およびCT検査で根尖部周囲の異常はみられず、安全性に問題がないことが示された。また、14日目において、Trypsin 前処理なしと比較して、前処理した再生歯髄は、有意に再生量の増加がみられた。一方、若齢イヌでは前処理にかかわらず歯髄再生量に差がなかった。

【結論】

最適条件50 μ g/ml (ナノバブル水希釈) を10分にて Trypsin 前処理した高齢イヌにおいて、歯髄幹細胞を自家移植すると歯髄再生が促進された。また、非臨床研究にてその安全性と有効性が示唆された。これより、高齢者の歯髄再生治療が促進できる可能性が示唆された。

歯髄創傷治癒モデルラットを用いた Glucose Transporter-1 および runt-related transcription factor 2 の局在と遺伝子発現解析

¹新潟大学 医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野

○竹内 亮祐¹、大倉 直人¹、枝並 直樹¹、遠間 愛子¹、吉羽 永子¹、吉羽 邦彦¹、野村 由一郎¹

Immunolocalization and Gene Expression Analysis of Glucose Transporter-1 and Runt-related Transcription Factor 2 in Rat Model for Wound Healing of Dental Pulp

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Science

○RYOSUKE TAKEUCHI¹, NAOTO OHKURA¹, NAOKI EDANAMI¹, AIKO TOHMA¹, NAGAKO YOSHIBA¹, KUNIHIKO YOSHIBA¹, YUICHIRO NOIRI¹

【目的】骨芽細胞の分化に必須の転写因子である runt-related transcription factor 2 (Runx2) は、グルコース輸送を司る glucose transporter (Glut) 1 によるフィードフォワード制御によって骨芽細胞の分化と骨形成に関与している。また、歯髄創傷治癒時における Runx2 は、象牙芽細胞様細胞への分化や象牙質形成にも関与しているとされているが、この状況下における Glut1 の機能と Runx2 との制御機構についてはいまだ不明である。そこで本研究は、mineral trioxide aggregate (MTA) 断髄した歯髄創傷治癒モデルラットを用いて (Takei E et al, J Endod, 2014)、Glut1 と Runx2 の局在および mRNA 発現量を時空間的に解析し、修復象牙質形成過程における Glut1 と Runx2 の相互連関の一端を解明することが目的である。

【材料および方法】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した(承認番号 27 新大研第 79 号 1)。第 144 回本学会で報告した MTA (White ProRoot MTA; Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK) による歯髄創傷治癒モデルラットを使用して実験を行った。すなわち、8 週齢雄性 Wistar 系ラットの上顎左側第一臼歯をラウンドカーバイドバーで露髄させ、MTA 断髄後、フロアブルコンポジットレジン (Beautiful Flow; Shohu, Kyoto, Japan) で充填を行った。上顎右側第一臼歯は未処置の対照群として用いた。断髄後 1, 3, 5, 7 日後に 4%PFA 溶液で灌流固定を行い、第一臼歯を上顎骨ごと摘出し、10%EDTA 溶液に 4 週間浸漬して脱灰させた後、パラフィン切片を作製した。近心根管を観察対象とし、Glut1 と Runx2 の局在解析は酵素抗体法と、RECA-1 (血管内皮細胞マーカー)あるいは S-100 タンパク β1 サブユニット(S-100:神経線維マーカー)を使用した蛍光二重染色法によって行った。さらに上顎第一臼歯から、RNA 抽出キット (TRIzol, Life technologies) で mRNA を抽出後、real-time PCR 法によって処置群における 1, 3, 5, 7, 14 日後の Slc2a1 (encoding Glut1)、Nestin (象牙芽細胞分化マーカー)および Runx2 mRNA の発現量について、対照群は未処置歯とし、β アクチン発現量を内部標準とした Dunnett 検定による経時的比較解析を行った。

【結果】正常歯髄での酵素抗体法による免疫染色では象牙芽細胞に Glut1 陽性反応がみられ、蛍光二重染色では、RECA-1 あるいは S-100 陽性反応と一部一致する Glut1 陽性反応を認めた。Runx2 は歯根膜細胞の核内で陽性反応がみられた。断髄後の経時的観察では、断髄後 1 日の歯髄細胞では Glut1 陽性細胞は認められなかったが、3 日後で象牙芽細胞を含めた多くの歯髄組織内の細胞が Glut1 陽性反応を示し、5 日後では被蓋硬組織が形成されはじめた断髄部直下で Glut1 陽性の象牙芽細胞様細胞が確認された。7 日後では、被蓋硬組織に沿って円柱状に配列した Glut1 陽性の象牙芽細胞様細胞が認められた。一方 Runx2 は、断髄 1 日後までは陽性反応を認めなかったが、3、5 日後では歯髄細胞における核内に Runx2 陽性反応を認め、さらに Glut1 との蛍光二重染色では、断髄部直下の Glut1 陽性細胞内の核に Runx2 陽性反応を確認した。さらに、断髄後における Slc2a1 の mRNA 発現量は未処置歯群と比較して 3、5 日後に有意に増加し ($P < .01$)、Nestin および Runx2 の mRNA の発現量は未処置歯群と比較して 5 日後に有意に増加した ($P < .01$)。

【考察】MTA 断髄 3、5 日後、断髄部直下で Glut1 と Runx2 の二重陽性を示す象牙芽細胞様細胞が確認されるとともに、遺伝子発現解析において Slc2a1 は 3 日後にピークを認め、Nestin と Runx2 は 5 日後でピークを迎えたところから、Glut1 による創傷部位へのグルコース栄養供給に加え、その後の Runx2 とのフィードフォワード制御に関与し、象牙芽細胞様細胞への分化に導いていることが推察される。

【結論】MTA 断髄後の歯髄創傷治癒過程において、Glut1 および Runx2 とともに処置後 3 日後から 5 日後にかけて局在と遺伝子発現量の時空間的変化が観察された。

難治性根尖性歯周炎関連細菌と Epstein-Barr Virus の関連性

¹ 日本大学 歯学部 歯科保存学第2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、³ 日本大学歯学部細菌学講座、⁴ 日本大学歯学部総合歯学研究所生体防御部門

○氷見 一馬¹、武市 収^{1,2}、羽鳥 啓介^{1,2}、牧野 公亮¹、工藤 洋¹、田中 一^{3,4}、今井 健一^{3,4}、小木曽 文内^{1,2}

Relationship between Epstein-Barr Virus and bacteria associated with refractory apical periodontitis

¹Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan ²Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan ³Department of Microbiology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan ⁴Division of Immunology and Pathobiology, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○KAZUMA HIMI¹, OSAMU TAKEICHI^{1,2}, KEISUKE HATORI^{1,2}, KOSUKE MAKINO¹, HIROSHI KUDO¹, HAJIME TANAKA^{3,4}, KENICHI IMAI^{3,4}, BUNNAI OGISO^{1,2}

【背景】

当講座では、ウイルス感染が根尖性歯周炎の病態に与える影響について検索を行っており、Epstein-Barr Virus (EBV) が歯根肉芽腫組織に浸潤したB細胞に感染していることや潜伏感染したEBVが*Porphyromonas endodontalis*の代謝産物である酪氨酸によって再活性化することなどを明らかにした。すなわち、根尖性歯周炎関連細菌によって再活性化したEBVの関与により、根尖性歯周炎の病態が増悪、難治化する可能性が示唆された。しかし、根尖病巣中には*P. endodontalis*以外にも酪氨酸を産生する菌が存在しており、それらの菌がEBVの再活性化に関与している可能性が考えられるが、根尖性歯周炎の関連細菌とEBVの活性化の関連性及びメカニズムについては報告がなく、未だ詳細は不明である。

【研究目的】

Real-time PCR法を用いて、歯根肉芽腫中の難治性根尖性歯周炎関連細菌及びEBVを検出した。さらに、同組織からEBV再活性化遺伝子であるBZLF1(前初期遺伝子)のmRNA発現を検索することで、難治性根尖性歯周炎関連細菌のEBV再活性化への関与を検討することを目的とした。

【材料及び方法】

1. 供試材料

根管治療を繰り返しても治癒せず、日本大学歯学部付属歯科病院に紹介された患者(34名)を被験者とし、口腔内診査(打診痛、咬合痛、根尖部圧痛、瘻孔の有無)及びエックス線診査に基づき、外科的歯内治療が適応とされた患者から根尖病巣組織を採取した。採取試料は直ちに分割し、一方はDNA及びRNAの抽出、他方はホルマリン固定した後パラフィン切片を作製した。全ての試料に対してHE染色を行い、歯根肉芽腫と病理診断された組織を本研究に用いた。また、完全水平型大型歯の抜去の際に採取した健康歯肉組織をコントロールとして用いた。健康歯肉組織も同様に分割し、DNA及びRNAの抽出、パラフィン切片の作製に用いた。試料の採取にあたっては歯学部倫理委員会の承諾を得て実施した。(倫許2014-6-1)

2. EBV DNAの定量的検出

EBV特異的プライマーを用いてReal-time PCR法により、歯根肉芽腫中におけるEBVを検出した。同時にEBV DNAを10倍希釈したもの($1 \times 10^3 \sim 10^7$ copy)を用いてPCR反応を行い、検量線を作製し、歯根肉芽腫中に検出されたEBV DNAのコピー数を算出した。

3. 難治性根尖性歯周炎関連細菌の定量的検出

本実験では難治性根尖性歯周炎関連細菌として、*Fusobacterium nucleatum* (ATCC25586株)、*Staphylococcus epidermidis* (IID886株)、*Streptococcus mitis* (ATCC49456株)、*Prevotella intermedia* (ATCC25611株)、*Actinomyces naeslundii* (ATCC12104株)の5菌種を用いた。各々を適切な培養条件で培養し、特異的プライマーを用いてReal-time PCR法により検量線を作製し、歯根肉芽腫中における各細菌の定量的検出を行った。

4. BZLF1遺伝子の発現

組織よりmRNAを抽出し、cDNAに変換後、BZLF1特異的プライマーを用いたReal-time PCR法を行い、BZLF1を検出した。またEBV発現量と比較検討した。

【成績】

- Real-time PCR法により、歯根肉芽腫からEBV DNA及び難治性根尖性歯周炎関連細菌である5菌種全てを検出した。
- 歯根肉芽腫中よりBZLF1の発現を認めた。
- F. nucleatum*とEBVの検出量の間に関連性は認められたが、他4菌種の間には顕著な関連性は認められなかった。

【考察】

歯根肉芽腫中に存在する*F. nucleatum*は他の4菌種と比較し、優位にEBVを再活性化させる可能性が示唆された。

歯周炎患者腸内細菌叢における口腔内由来細菌の比率

¹新潟大学大学院 医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野、²新潟大学大学院 医歯学総合研究科 歯学教育研究開発学分野、
³新潟大学大学院 医歯学総合研究科 高度口腔機能教育研究センター、⁴新潟大学大学院 医歯学総合研究科 口腔保健学分野
○山崎 恭子¹、中島 貴子²、高橋 直紀³、宮澤 春菜¹、皆川 高嘉¹、佐藤 圭祐¹、伊藤 晴江²、山崎 和久⁴

The proportion of oral bacteria in the gut microbiome of periodontitis patients

¹Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences ²Division of Dental Educational Research Development, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences ³Research Centre for Advanced Oral Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences ⁴Division of Oral Science for Health Promotion, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○KYOKO YAMAZAKI¹, TAKAKO NAKAJIMA², NAOKI TAKAHASHI³, HARUNA MIYAZAWA¹, TAKAYOSHI MINAGAWA¹, KEISUKE SATO¹, HARUE ITO², KAZUHISA YAMAZAKI⁴

【緒言】我々はマウスを用いた実験により、口腔から投与した *Porphyromonas gingivalis* が腸内細菌叢を変化させ、全身の軽微な炎症を誘導することを報告した (Sci Rep 2014, PLoS ONE 2015, Sci Rep 2017)。また、ヒト歯周炎患者の腸内細菌叢は唾液細菌叢と同様、歯周炎のない健康者とは異なることも報告した (第 60 回春季日本歯周病学会)。近年、特に肝硬変患者において口腔内細菌の構成異常が生じていることや、腸内細菌叢に占める口腔細菌の比率が上昇している等の報告がされている。そこで今回我々は歯周炎患者腸内細菌叢で見られる口腔細菌について解析し、歯周組織が健康な対照者と比較した。

【材料と方法】全身的慢性疾患を有しておらず過去 6 ヶ月間に抗生物質の服用をしていないという条件を満たす中等度から重度歯周炎患者 10 名 (男性 3 名、女性 7 名)、歯周組織に問題の無い成人 10 名 (男性 4 名、女性 6 名) より糞便を採取した。DNA を抽出後、16S rRNA 遺伝子の V1-V2 領域を PCR 増幅し、イルミナ社製 MiSeq にて配列解析を行った。得られた全リードから、プライマー配列を正確に有しているリードのみを抽出し、そこから正確性の高いリードのみを得た。クオリティチェックを経たリードから 3000 リードをランダムに選択し、96%以上の塩基配列相同性が認められる場合を同一 Operational Taxonomy Unit (OTU) として分類した。さらに各 OTU の代表配列データを既知細菌種の 16S 配列データベースと照合することで菌種の帰属を行った。それらを Human Oral Microbiome Database (HOMD; Forsyth Institute) に照合して腸内細菌叢における口腔細菌の有無を解析した。

【結果】全 OTUs のうち、データベース上で対応する細菌種が存在したものは 260 個であり、残りは菌種が不明の配列であった。歯周炎患者腸内細菌サンプルからは平均 60.7 個の OTUs、健康者からは 63.9 個の OTUs が得られた。データベース上で対応する細菌種が存在した 260 個のうち HOMD に登録されていた菌種は 65 種類あり、そのうち歯周炎患者からは 45 種類、健康者からは 42 種類の OTUs が検出された。健康者のみから検出された OTUs から推測された菌種は *Lactobacillus brevis*, *Actinomyces naeslundii* など 13 菌種、一方歯周炎患者のみから検出された菌種は *Helicobacter pylori*, *Veillonella parvula* など 8 菌種であった。歯周炎患者のみ未検出であった菌種は *Lactobacillus casei* など 2 菌種、健康者のみ未検出であった菌種は *Staphylococcus aureus* など 8 菌種であった。また、データベース上で同定できない OTUs が歯周炎群で平均 1372.2 個、健康者群で平均 948.3 個存在していた。

【結論】腸内細菌叢からは口腔由来と思われる細菌種が多数検出され、口腔細菌叢の腸内細菌叢への影響が示唆された。10 例ずつという限られた解析ながら、歯周炎患者群腸内細菌叢で検出される口腔細菌のパターンは健康者におけるそれとは異なることが明らかになったことから、歯周炎患者では腸内細菌叢の全身に及ぼす影響は健康者とは異なることが示唆された。

会員外共同研究者：須田 互 (東京大学大学院 領域創成科学研究科)、服部正平 (早稲田大学 理工学術院)、森田英利 (岡山大学 農学部)

糖尿病ラットにおけるエナメルマトリックスタンパク質の再生効果への影響

¹東京医科歯科大学 大学院医歯総合研究科 歯周病学分野

○武田 浩平¹、水谷 幸嗣¹、松浦 孝典¹、野田 昌宏¹、城戸 大輔¹、三上 理沙子¹、和泉 雄一¹

Low regeneration effect after enamel matrix derivative application in diabetes

¹Department of Periodontology, Graduate school of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○KOHEI TAKEDA¹, KOJI MIZUTANI¹, TAKANORI MATSUURA¹, MASAHIRO NODA¹, DAISUKE KIDO¹, RISAKO MIKAMI¹, YUICHI IZUMI¹

【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。また糖尿病モデル動物において、エナメルマトリックスタンパク質 (エムドゲイン) 適応後も組織再生量が少ないことがいくつか報告されているが、詳細はいまだ不明である。本研究の目的は、糖尿病モデルラットの歯槽骨欠損におけるエムドゲインの再生効果とその影響のメカニズムを検討することである。

【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 A2017-221)。6 週齢の雄 Wistar 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 以上を示した個体を糖尿病群とした。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上顎両側第一臼歯の近心根に接して 1×1×1mm の骨欠損を作製した (n=30)。ルートプレーニング後、片側の根面にはエムドゲインを塗布し (エムドゲイン側)、反対側の根面には塗布せず (非塗布側) に縫合した。また、両群のラットを術後 3、7、28 日に安楽殺した。術後 3、7 日の個体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。そして術後 28 日の個体には創傷治癒の評価として microcomputed tomography CT system (inspeXio SMX-100CT, 島津製作所) により得られたイメージデータから欠損部の新生骨を評価した。また創傷部にお通法に従い連続切片を作製し組織形態学的評価を行った。また歯周組織における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 Erk 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 287.3g、111.3mg/dl で、糖尿病群は 185.9g、421.9mg/dl と有意な体重低下と血糖値の上昇を認めた。術後 7 日の創傷部の mRNA の発現は、糖尿病群の非塗布群において osteocalcin (OCN) がコントロール群より有意に減少し TNF- α が増加した。また同様にコントロール群のエムドゲイン側でも糖尿病群のエムドゲイン側に比べ OCN が有意に減少し IL-6 が増加した。術後 28 日において、コントロール群の欠損部の新生骨 (骨密度、海綿骨体積、海綿骨塩量、組織中のミネラル密度) はエムドゲイン側において増加した。また糖尿病群における欠損部の新生骨はコントロール群より有意に低下していたがエムドゲイン側では増加傾向にあった。同様に組織切片の評価において、コントロール群の欠損部における新生骨の面積、新生セメント質の面積、根尖から新生骨の高さはエムドゲインにより増加し、糖尿病群の欠損部においてもエムドゲイン側が増加を示した。さらにインスリン刺激後の糖尿病群の歯周組織において Akt のリン酸化が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広く用いられている STZ 誘発糖尿病モデルラットを用いた。糖尿病群の歯周組織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。また組織評価と組織形態学的評価においても、糖尿病群での骨欠損部の治癒が低下していた。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、糖尿病群の創傷治癒の低下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、糖尿病状態においては、エムドゲインによる歯周組織再生の効果が低下することが示され、そのメカニズムとして高血糖により歯周組織に生じたインスリン抵抗性が関与している可能性が示唆された。

温度感受性イオンチャネル TRPV4 による口腔上皮細胞の細胞間接着および細胞移動の制御

¹九州大学大学院 歯学府 歯周病学分野、²九州大学大学院 歯学府 口腔病理学研究分野、

³佐賀大学 医学部 組織・神経解剖学分野

○吉本 怜子¹、清島 保²、西村 英紀¹、城戸 瑞穂³

Temperature-sensitive ion channel TRPV4 regulates intercellular junction and cellular migration of oral epithelia

¹Section of Periodontology, Graduate School of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan ²Section of Oral Pathology, Graduate School of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan ³Division of Anatomy and Physiology, Faculty of Medicine, Saga University, Saga, Japan

○REIKO U. YOSHIMOTO¹, TAMOTSU KIYOSHIMA², FUSANORI NISHIMURA¹, MIZUHO A. KIDO³

【目的】口腔粘膜は常に多様な刺激にさらされ、部位に応じたバリア機能を発揮していると考えられるが、そのメカニズムは不明である。歯周病や口内炎などでは、口腔粘膜上皮の損傷に伴う上皮バリアの破綻が病態の悪化に繋がる。近年、温度感受性イオンチャネルである transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) が、細胞間接着タンパクを介して皮膚上皮バリア制御に関与すると報告された。私たちは歯肉上皮に TRPV4 が発現すること、特に口腔上皮基底層及および歯肉付着上皮に顕著に発現することを見出した。そこで、TRPV4 を介した歯肉の上皮バリア維持機構の解明を目指し、実験を行った。

【方法】マウス初代口腔上皮培養細胞及び歯肉上皮不死化細胞株 GE1 細胞において TRPV4 発現を細胞生物学的に確認した。さらに、siRNA を用いた TRPV4 の発現抑制あるいは薬理的な TRPV4 刺激あるいは阻害による細胞間接着・細胞増殖・細胞運動への影響を免疫細胞化学及びライブイメージングにより時間空間的に調べた。

【結果と考察】口腔上皮細胞において TRPV4 は細胞膜及び細胞質に線維状に認められた。上皮細胞間の接着は E-cadherin, β -catenin, actin の緊密なタンパク間相互作用により形成されることはよく知られている。そこで、E-cadherin の局在を観察することで細胞間接着の変化をみた。薬理的な TRPV4 刺激を行うと、16 時間後に E-cadherin は線状を呈し、緊密な細胞間の接着が示唆された。一方、TRPV4 発現抑制あるいは TRPV4 の薬理的な阻害を行うと、細胞間の間隙が広く観察され、E-cadherin は細胞辺縁 filopodia の細胞突起に沿って認められた。細胞間の接着は細胞骨格タンパク actin と myosin の相互作用により産み出される収縮力によることが知られている。そこで、メカノセンサーとしても知られる TRPV4 と actin 及び myosin さらに細胞間接着時の収縮力を表すリン酸化ミオシンの発現変化を調べた。Actin は細胞辺縁に局在し、さらに細胞の角の E-cadherin が不整な部位にリン酸化ミオシンが集中して局在していた。TRPV4 阻害ではリン酸化ミオシンの発現は弱かった。さらに、TRPV4 阻害は細胞移動を活発にし、TRPV4 刺激は細胞移動を抑制した。これらの結果から、TRPV4 が E-cadherin-actomyosin 系を介して細胞間接着・細胞移動を制御することがわかった。また、TRPV4 が口腔上皮バリアの制御の創薬標的となりうることが示唆された。

新規インジェクタブルコンポジットレジン¹の耐着色性

¹株式会社ジーシー

○村田 享之¹、熊谷 知弘¹

Discoloration Resistance of Novel Injectable Composite Resins

¹GC Corporation, Tokyo, Japan

○TAKAYUKI MURATA¹, TOMOHIRO KUMAGAI¹

【研究目的】フロアブルコンポジットレジン¹は特性の多様化に伴い臨床の場で多く使用されている。特に機械的性質が向上したインジェクタブルタイプは、フロアブルタイプと一線を画すものとして認知されてきた。しかしながら、レジン系材料は口腔内での着色が問題となる場合があり、長期の予後においてはより顕著である。レジン系材料の着色の原因の一つはコンポジットレジンの吸水であると考えられている。そこで弊社では、フィラー表面を均一にシラン処理することができる新規表面処理技術を導入することによって従来品以上に吸水性が改善した新規インジェクタブルコンポジットレジンを開発した。本発表では、新規インジェクタブルコンポジットレジン¹の吸水性及び着色性について報告する。

【材料及び方法】試験には弊社新規フロアブルコンポジットレジン（グレースフィルローフロー：GFL、グレースフィルゼロフロー：GFZ）と既存自社製品を使用した。吸水試験はJIS T 6514：2015に従って行った。直径15 mm、高さ1 mmの金属リングに各製品を充填して圧接し、G-ライトプリマII（ジーシー）で9カ所を10秒間照射した。裏面も同様に照射した。金属リングから硬化体を取り出し、デシケーターに入れて37℃で保管した。硬化体が恒量に達した後に37℃の蒸留水中に7日間浸漬し、蒸留水から取り出した直後の硬化体の重量を測定して吸水量を算出した。着色試験は以下の手順で行った。吸水試験と同様の硬化体を作製し、37℃の蒸留水中で24時間保管した。蒸留水から取り出した後に5℃/55℃のサーマルサイクル(TC0及びTC10,000)を行い、0.1 wt%ローダミンB水溶液に24時間浸漬し、取り出して水洗した直後の硬化体の色調を分光測色計(CM-3610d, KONICA MINOLTA)を用いて測定した。

【結果及び考察】吸水試験結果および着色試験結果を表1に示した。GFLおよびGFZは既存製品と比較して吸水量が低減し、着色試験前後の色差も小さかった。GFLおよびGFZは、疎水性の高いモノマーを採用し、さらに配合されているフィラーに新規表面処理技術を導入しており、従来の処理方法よりもフィラー表面が均一に処理され、フィラー表面に残存する水酸基が減少して吸水量が低下したと考えられる。着色試験においては、硬化体の吸水量の低減に伴って蒸留水に溶解した着色物質の吸収・付着が抑制されたため色差が小さくなったと考えられる。また、GFLおよびGFZはフィラー表面が均一に処理されていることから、熱衝撃による劣化への耐性が向上し、サーマルサイクル後の着色試験においても優れた耐着色性を示したと考えられる。

【結論】新規インジェクタブルコンポジットレジン GFL および GFZ は、サーマルサイクル後において優れた耐着色性を示し、長期的な予後においても優れた耐着色性を示すことが期待される。

Table1 Results of water absorption test and discoloration test

	Water absorption $\mu\text{g}/\text{mm}^3$	Color difference ΔE	
		TC0	TC10,000
Gracefil Zero Flo	12.8	13.5	13.0
Gracefil Lo Flo	11.1	13.4	14.5
Product A	21.2	19.8	21.2
Product B	21.2	20.3	21.4
Product C	22.9	35.4	45.9
Product D	32.5	43.1	50.4

新規フロアブルコンポジットレジンの着色変化について

¹昭和大学 歯科保存学講座 美容歯科学部門、²マイスター春日歯科クリニック

○水上 裕敬¹、山田 三良¹、井出 翔太郎¹、菅井 琳太郎¹、小川 弘美¹、水上 英子¹、小林 幹宏¹、遠山 敏成²、
真鍋 厚史¹

Changes in discoloration of newly flowable composite resins

¹Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Department of Conservative Dentistry,
Showa University School of Dentistry ²Meister Kasuga Dental Clinic

○HIROYUKI MIZUKAMI¹, MITSUYOSHI YAMADA¹, SHOTARO IDE¹, RINTARO SUGAI¹, HIROMI OGAWA¹, EIKO MIZUKAMI¹,
MIKIHIRO KOBAYASHI¹, TOSHINARI TOYAMA², ATSUFUMI MANABE¹

【目的】

近年フロアブルコンポジットレジン、物性や操作性の向上および特性の多様化に伴い広く臨床で使用され、そのため多くの製品が市販されている。しかし長期的に見るとレジン系材料は口腔内での着色や変色が問題となる場合があり、その原因の一つはコンポジットレジンの吸水であると考えられている。そこで、Bis-MEPP をベースレジンとし、モノマー配合の最適化を行った新規フロアブルコンポジットレジンと現在市販されている各種フロアブルコンポジットレジンの着色性を比較、評価したので報告する。

【材料および方法】

実験には、新規フロアブルコンポジットレジンとして NMF002 と NMF004 (ジーシー) を、市販製品として MI ローフロー (MILF, ジーシー)、MI フィル (MIF, ジーシー)、クリアフィルマジスティ ES フロー Super Low (CMES, クラレノリタケデンタル)、ビューティフィルフロープラス F00 (BFP, 松風)、フィルテックシュープリームウルトラフロー (FSUF, 3M ESPE) およびエステライトユニバーサルフロー Super Low (EUF, トクヤマデンタル) を使用し、カレーおよびワインに対する着色試験を行った。

着色試験方法は、各社指定の方法によりフロアブルコンポジットレジンにて直径 15mm、厚さ 1mm の円形プレート状の試験用サンプルを作製し、#1500 の耐水研磨紙およびダイヤモンド (ジーシー) で研磨したものを各レジン試料とした。これら試料をカレー粉抽出液 (蒸留水: カレー粉 = 98 : 2 の割合で混合したもの) および赤ワイン (スペイン産) 中に 37℃ で 1 週間浸漬し、分光色彩計 (CM-3610d, コニカミノルタ) と白色板を用いて浸漬前後のサンプルの ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* を求め、色差 ΔE^* を算出した。なお、有意差検定には Tukey 法を用いた ($p > 0.05$)。

【結果および考察】

カレー粉抽出液に対する耐着色試験の結果を図 1 に示す。新規フロアブルコンポジットレジンでは今回使用した各種レジンの中で最も低い ΔE^* を示し、市販製品では製品により ΔE^* に大きな違いが見られることが確認された。また、この傾向はワインに浸漬した試料でも同様に認められた。これらの違いの原因の一つとして、各フロアブルコンポジットレジンのレジン成分によることが考えられ、Bis-MEPP は、構造に OH 基を含む Bis-GMA と比較して吸水が少ないと言われており、より疎水性の成分が使用されることで吸水性を少なくし、着色性の低下に寄与すると考えられる。

【まとめ】

今回新規フロアブルコンポジットレジンと併せて各種フロアブルコンポジットレジンの耐着色性を評価したが、Bis-MEPP を主成分とする新規フロアブルコンポジットレジンでは高い耐着色性を示し、なかでも NMF004 は最も高い耐着色性を示した。

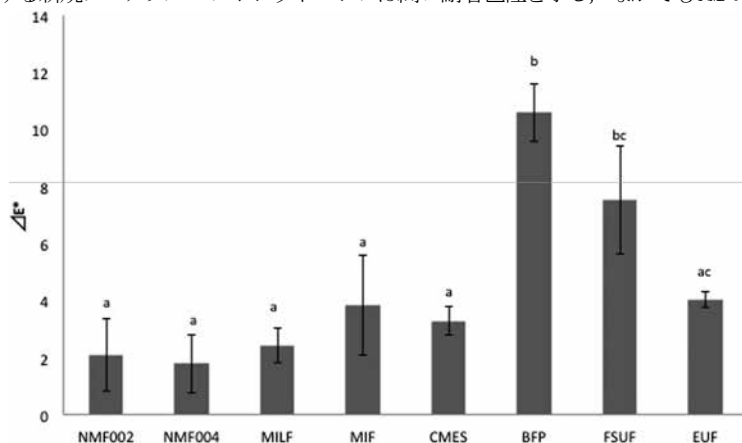


Fig1. Color difference at 1 week after immersion in curry ($p < 0.05$)

各種インジェクタブルおよびペーストタイプのコンポジットレジンの2軸曲げ強さ

¹愛知学院大学 歯学部 保存修復学講座

○岸本 崇史¹、友田 篤臣¹、村田 公成¹、富士谷 盛興¹、千田 彰¹

Bi-axial Flexure Strengths of Various Injectable and Paste Type Composites

¹Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, Aichi, Japan

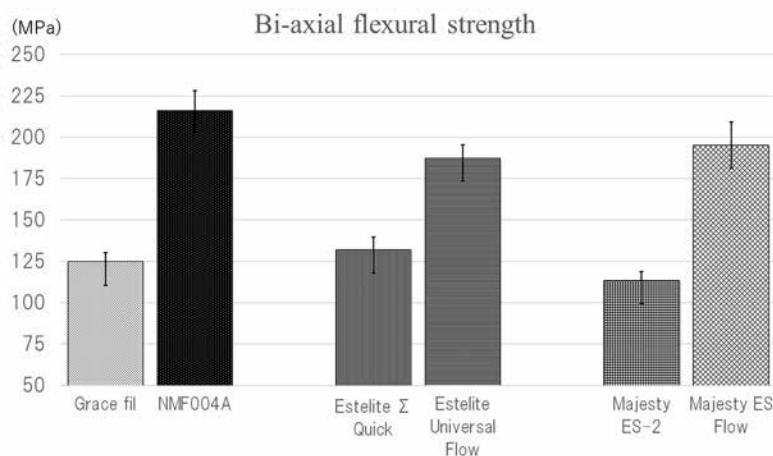
OTAKAFUMI KISHIMOTO¹, SHIGETAKA TOMODA¹, KIMINARI MURATA¹, MORIOKI FUJITANI¹, AKIRA SENDA¹

【目的】 修復用コンポジットレジンにおける技術革新は目覚ましく、従来のペーストタイプのコンポジットレジンではフィラーのナノハイブリッド化が盛んになされている。また、特有のフロー特性をもち、シリンジから直接填塞可能なコンポジットレジン、いわゆるインジェクタブルレジンの開発が進められている。これらは、ベースレジンモノマーの改良、フィラーのナノサイズ化と均一分散化、およびより確実なシランカップリング処理などの先進的技術革新により、フロー特性を示しながらもペーストタイプのものより優れた破壊靱性を示すものとなっている。そこで本研究は、これらのインジェクタブルレジンの2軸曲げ強さについて同一製造業者のペーストタイプのコンポジットレジンと比較検討した。さらに、破折後の破断面形態についても検討を加えた。

【材料および方法】 実験に用いたインジェクタブルレジン (Super LowあるいはZero Flow) とペーストレジンは次の通りである。試作インジェクタブルレジン NMF004A/グレースフィル (ジーシー)、エステライトユニバーサルフロー/エステライトΣクイック (トクヤマデンタル)、クリアフィルマジスティ ES フロー/クリアフィルマジスティ ES-2 (クラレノリタケデンタル) である。また対照として従来型フロアブルレジンとペーストレジンであるユニフィルロー/ソラーレ (ジーシー) についても検討した。これらレジンをテフロンモールド (φ10 mm, H 1 mm) 内に填塞後、20 秒間光照射 (XL3000, 3M ESPE) し、37 °C 蒸留水中に 24 時間浸漬した。次いで、二軸曲げ試験用治具に各種レジン試片を装着し、インストロン万能試験器 (1125 型, INSTRON 社) を用い、クロスヘッドスピード 1.0 mm/m で破壊荷重を求めた (n=10)。得られた数値より二軸曲げ強さを算出し、Student の t 検定により統計処理を行った (p=0.05)。その後、破断面を走査電子顕微鏡 (VE-9800, キーエンス) にて観察した。

【結果】 いずれのインジェクタブルレジンならびにペーストレジンも、従来型フロアブルレジンやペーストレジンに比べ有意に高い2軸曲げ強さを示し、また、同一製造業者の両者の2軸曲げ強さは、いずれもインジェクタブルレジンの方が高い値を示した (p<0.05)。破断面の様相は各種レジンにより異なっており、無機フィラーとマトリックスレジン間での破壊、無機フィラーや有機複合フィラーの脱落、あるいは有機複合フィラー内の破断などが観察された。

【結論】 本研究では各種コンポジットレジンの2軸曲げ強さを検討した結果、インジェクタブルレジンペーストレジンに比べ高い破壊靱性を示すことが明らかとなった。このことは破壊の様相からフィラーの種類、粒径や粒度分布、あるいはフィラーとマトリックスレジンの接合状態などが影響していることが示すものであろう。



新規フロアブルレジンの機械的諸性質および操作性に関する研究

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座、² 日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学部門

○遠藤 肇¹、高見澤 俊樹^{1,2}、崔 慶一¹、柴崎 翔¹、飯野 正義¹、舍奈田 ゆきえ¹、辻本 暁正^{1,2}、宮崎 真至^{1,2}

Mechanical and Handling Properties of New Flowable Resin Composites

¹Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry ²Division of Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○HAJIME ENDO¹, TOSHIKI TAKAMIZAWA^{1,2}, KEIICHI SAI¹, SHO SHIBASAKI¹, MASAYOSHI IINO¹, YUKIE SHANADA¹,
AKIMASA TSUJIMOTO^{1,2}, MASASHI MIYAZAKI^{1,2}

【緒言】

フロアブルレジンは、流れることを特徴とし、ライニングのみならず多くの症例への使用頻度が高いコンポジットレジンである。最近では、機械的性質の向上を図ったフロアブルレジンや解剖学的形態の付与を容易にするために粘調度を調整したものなど、種類も豊富であるとともにその応用範囲も広がっている。フロアブルレジンの機械的性質に関しては、規格化された試験方法を用いることで客観的な性能評価が可能であるものの、操作性に関しては客観的な指標を与える試験法は少なく術者の使用感覚などによる主観的な評価に頼ってきた。そこで、最近のフロアブルレジンの機械的性質を評価するとともにその操作性を客観的に評価するために、新たな試験法からの検討を行った。すなわち、機械的性質の把握には3点曲げ試験を、操作性の評価には臨床操作を模倣した糸曳き試験および押し出し固さ試験を用いた。

【材料および方法】

供試したフロアブルレジンは、MI フィル (MI, GC)、Filtek Supreme Ultra Flow (FS, 3M ESPE)、クリアフィルマジエスティ ES フロー Super Low (ES, クラレノリタケデンタル)、Beautifil Flow PlusS F00 (BF, 松風) および Estelite Universal Flow Super Low (EF, トクヤマデンタル) の市販製品および試作フロアブルレジンの NMF004 (N4, GC) の合計6種類とした。

1) 曲げ試験

四角柱試片 (2×2×25 mm) を製作した後、24 時間水中に保管したものを曲げ強さ測定用試片とした。曲げ試片に対して支点間距離 20.0 mm、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いて3点曲げ強さを測定し、曲げ強さ、曲げ弾性率およびレジリエンスを求めた。なお、試片の数はそれぞれ10個とした。

2) 糸曳き試験

Rheoner II Creep Meter (山電) の測定台に内径 10 mm、高さ 2 mm のアクリル製リングを置き、ここにフロアブルレジンを填塞した。次いで、直径 5 mm の円柱棒をレジンが填塞されたリング内に上面から 1 mm まで埋入し、3 分後に円柱棒を 10 mm/sec の速さで上昇させた。これを動画撮影し、糸曳きが途切れた瞬間の距離を計測してこれを糸曳き距離 (mm) とした。試験は、各レジンペーストに対して6回とした。

3) 押し出し固さ試験

シリンジチップ先端からレジンペーストを押し出す際の強さを把握するために、シリンジの持ち手が固定できるジグ内にシリンジを設置した。次いで、万能試験機を用いてクロスヘッドスピード 10 mm/sec の速度でプランジャーに対して垂直に荷重負荷し、ペーストの押し出し荷重を計測して、これを押し出し固さ値 (kgf) とした。試験は、各レジンペーストに対して6回とした。

【成績および考察】

曲げ試験の結果から、用いたフロアブルレジンの曲げ強さ、弾性率およびレジリエンスは製品によって異なる値を示した。N4 は、供試したフロアブルコンポジットレジンの中でも最も高い曲げ強さを示した。糸曳き試験の結果から、MI は他の製品に比較して有意に高い糸曳き値を、ES および N4 は他のレジンに比較して有意に小さい糸曳き値を示した。一方、押し出し試験の結果から、MI および EF は、N4 および FS に比較して有意に高い押し出し値を示した。

【結論】

本実験で用いた糸曳きおよび押し出し固さ試験法は、フロアブルレジンの操作性に客観的指標を与える試験法として有用であることが判明した。

新規セルフアドヒーシブ型レジンセメントの臨床評価

¹虎の門病院 歯科

○森上 誠¹、柳川 雅子¹、陶山 雄司¹、宇野 滋¹、山田 敏元¹、杉崎 順平¹

Clinical performance of the newly-developed self-adhesive type resin cement

¹Department of Dentistry, Toranomon Hospital, Tokyo, Japan

○MAKOTO MORIGAMI¹, MASAKO YANAGAWA¹, YUJI SUYAMA¹, SHIGERU UNO¹, TOSHIMOTO YAMADA¹, JUMPEI SUGIZAKI¹

【研究目的】

平成 26 年 4 月より、歯冠色補綴物である CAD/CAM 冠が小臼歯においても保険診療の適応となったため、CAD/CAM 冠を合着できる優れた性能の接着性レジンセメントの開発が求められるようになった。これを受けて、ジーセム社より CAD/CAM 冠をはじめ各種歯冠修復物・欠損補綴物の合着に適用可能な新規セルフアドヒーシブ型レジンセメント“ジーセム セラスマート”が開発・市販されるに至った。今回、虎の門病院歯科において、ジーセム セラスマートを用いて各種歯冠修復物・欠損補綴物の合着を行った症例に対して、合着後 18 カ月までの経過経過を評価したので報告する。

【材料および方法】

本研究の対象は、虎の門病院歯科を受診した患者のうち、間接法にて歯冠修復・欠損補綴が必要であり、本研究の趣旨を十分に説明した後に本人から同意を得ることのできた 20 歳以上の患者であった。ジーセム セラスマートを用いて各種歯冠修復物・欠損補綴物を合着した症例について、ベースラインの項目として患者の性別、年齢、部位、歯髄の有無、根管処置の有無、支台築造の有無、歯冠修復物・欠損補綴物の種類、材質、合着日をプロトコルに記録した。経過観察項目としては、術前・合着直後に自発痛・冷水痛・温水痛の有無、歯肉縁の状態・口腔粘膜の状態・歯肉の色調に対する判定を記録した。さらに、定められた経過観察期間（1 週間以降・3 カ月・6 カ月・12 カ月・18 カ月）経過時においては、前述の項目に加えて歯冠修復物・欠損補綴物の脱離の有無、打診痛の有無、二次性蝕の有無について記録した。合着後 18 カ月までの経過観察の済んだ症例について結果を集計し、評価を行った（虎の門病院倫理委員会承認 No. 927）。

また、健全なヒト新鮮抜去大臼歯のエナメル質、象牙質、ジーセム社製 CAD/CAM 冠用ハイブリッドレジン“セラスマート”を #1,000 の耐水シリコンカーバイドペーパーにて研磨した面およびセラスマート研磨面に対してサンドブラスト（粒径 50 μm のアルミナ／噴射圧 0.1～0.2MPa）処理した面を被着面とし、ジーセム セラスマートとの接合界面について SEM 観察を行った（虎の門病院臨床試験的研究審査小委員会承認 No. 926）。

【結果および考察】

SEM 観察より、ジーセム セラスマートには 1～2 μm のフィラーが高密度に均一に分散しており、エナメル質、象牙質およびセラスマート研磨面に緊密に接合しており、接合界面には gap の生成は認められなかった。また、セラスマートのサンドブラスト処理面は、研磨面と比較して若干粗造となっていたがジーセム セラスマートとの接合は緊密であった。

本研究の対象となった患者の人数は 339 名（男性 150 名、女性 189 名）であり、平均年齢は 66.0 歳（男性 65.7 歳、女性 66.2 歳）であった。ジーセム セラスマートを用いて合着された修復物の症例数は、インレー 50 例、アンレー 16 例、クラウン 255 例、ブリッジ 53 例（これらは支台別の症例数であり装置数は 22）、インプラント上部構造 23 例の合計 397 例であり、インプラント上部構造を除いた修復歯のうち、生活歯が 105 例、失活歯が 269 例であった。生活歯に合着されたインレーの症例のうち、術前に冷水痛ありと判定されたものが 1 例（合着直後に消退）、術前・合着直後に冷水痛ありと判定されたものが 2 例（1 週間後に消退）あった。また、インレー 1 例（下顎左側第三大臼歯）およびブリッジ 1 装置（上顎右側中切歯・犬歯支台）に、いずれも合着 10 カ月後での脱離が認められたが、ブリッジ脱離の症例は、ブラキシズムの習癖がある患者であった。これらの症例の他には、合着後 18 カ月までの経過観察期間中に症状が認められた症例はなく、経過良好であった。今回の臨床評価より、ジーセム セラスマートは各種歯冠修復物・欠損補綴物の合着に有用なレジンセメントであることが示唆された。

新規ボンディングシステムの象牙質接着能評価-照射距離による影響-

¹大阪歯科大学 歯科保存学講座

○黄地 智子¹、松田 有之¹、恩田 康平¹、津谷 佳代¹、横田 啓太¹、吉川 一志¹、山本 一世¹

The Evaluation of a Newly-developed Bonding System on the Adhesive Properties to Dentin -Influence on the irradiation distance-

¹Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University, Osaka, Japan

○SATOKO OUCHI¹, TOMOYUKI MATSUDA¹, KOHEI ONDA¹, KAYO TSUTANI¹, KEITA YOKOTA¹, KAZUSHI YOSHIKAWA¹, KAZUYO YAMAMOTO¹

【目的】近年コンポジットレジン修復する機会が増えるなか、その際使用する光照射器や接着システムはめまぐるしい進歩をとげ、新しい商品が次々と開発されている。また光照射器に関しては、従来はハロゲンランプ方式の光照射器が主流であったが、近年では青色発光ダイオード（以下、LED）を光源とする光照射器が臨床応用される機会が増えている。

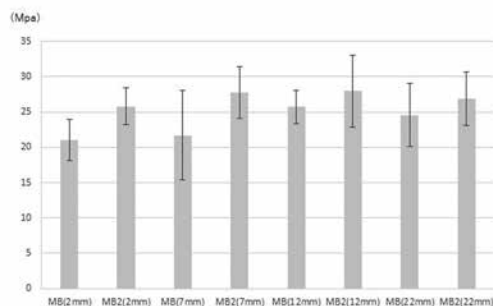
今回、リン酸エステル系モノマーと高活性光重合開始剤を含む新規ボンディングシステムであるメガボンド2（以下、MB2）がクラレノリタケデンタルから開発された。このボンディングシステムは光照射時の重合率を向上させることで高出力LED光照射器使用時間が短縮でき、LED照射器使用時の接着性を向上させることができる。今回、MB2とメガボンド（以下、MB）を用いて照射距離が引張接着強さに与える影響の比較、検討を行った。

【方法】ヒト抜去歯に#600の耐水研磨紙を用いて象牙質被着面を作成し、被着面積を直径3mmに規定した。MBおよびMB2で製造者指示に従い歯面処理を行った後、照射距離を2mm、7mm、12mm、22mmと変えて光照射をペンキュア（LED光源）にて行った。その後MB、MB2ともにクリアフィルAP-X（クラレノリタケデンタル、シェードA3）を充填し、XL3000にて光照射を行った。24時間37℃水中保管した後、引張試験機（IM-20 INTESCO）を用いてCHS0.3mm/minにて引張接着強さ（以下、TBS）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。

【結果】結果をグラフに示す。MB、MB2どちらもTBSにおいて照射距離の違いによる有意差は認められなかった。

【考察】MBとMB2どちらも照射距離を長くしてもTBSに有意差は認められなかったが、MB2はMBより安定して高いTBSが得られる傾向が認められた。これはMB2が高活性光重合開始剤を含むためLED光の吸収が大きく、同じ光エネルギーでも高活性なラジカル反応が多く起こったためと考えられる。

【結論】MB2はLED光照射器を用いた場合、照射距離が長くなっても安定して高いTBSが得られることが判明した。



新規ボンディング材の象牙質に対する接着性能

¹昭和大学歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門

○水上 英子¹、小川 弘美¹、山田 三良¹、小林 幹宏¹、入江 雄一郎¹、真鍋 厚史¹

Bonding efficacy of bonding system and composite resin to dentin

¹Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology,

Showa University School of Dentistry

○EIKO MIZUKAMI¹, HIROMI OGAWA¹, MITSUYOSHI YAMADA¹, MIKIHIRO KOBAYASHI¹, YUICHIRO IRIE¹, ATSUFUMI MANABE¹

【目的】

近年、臨床術式を簡略化する目的でエッチングからボンディング処理まですべての歯面処理を一括で行うワンステップシステムが多数開発・市販されている。そのため、従来盛んに用いられてきた2ステップおよびマルチステップの接着システムの使用頻度は減少傾向にある。しかしマルチステップシステムでは、ワンステップしに比較すると操作は煩雑になるものの、優れた接着性能と接着耐久性を有することが明らかになっている。

この度、リン酸エステル系モノマーを含有する新規ボンディング材がペントロンジャパン社より発売される予定である。このボンディング材は接着性モノマーであるMDPに類似したリン酸エステル系モノマーを含有している。今回我々は、この新規ボンディング材の接着性能の評価をするために、コントラクションギャップの計測・せん断接着試験および接着界面の微細構造の観察を行った。

【材料及び方法】

ヒト抜去大臼歯のエナメル質を除去後、象牙質を平坦にし直径3.0mm 深さ1.5mmの円柱窩洞を形成した。窩洞に歯面処理材(E-lize コンディショナー;ペントロンジャパン社、E-lize プライマー;ペントロンジャパン社)にて処理後、試作ボンディング材をメーカー指示通り塗布し、光重合型コンポジットレジン(パルフィークエスセライト;トクヤマデンタル社)を填塞し硬化させた。

試片を10分間の水中保管後、窩縁を露出・研磨しただちにコントラクションギャップ幅を光学顕微鏡下で計測した。ギャップの計測は、窩縁を均等に8区分し、8箇所のうち最大値となった幅を最大ギャップ幅とした。得られた最大ギャップ幅を窩洞直径に対する百分率として算出した幅をその試片のコントラクションギャップ幅とした。

得られたギャップ幅値は、一元配置の分散分析とFisherのPLSD Testで統計学的検討を行った。対照群として、現行のイーライズデンティンボンド(ペントロンジャパン社)を用いた。試片は各群10個、合計20本ずつ調整した。また、計測の完了した試片は走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて接着界面の観察をし、さらに象牙質に対するせん断接着試験も行う予定である。

【結果及び考察】

試作ボンディング材のコントラクションギャップ幅は $0 \pm 0\%$ 、現行のイーライズデンティンボンドは $0.024 \pm 0.040\%$ であった。統計学分析では、有意差はみとめられなかった($p < 0.05$ Fisher's PLSD test)。

【まとめ】

今回、試作ボンディング材と現行のボンディング材を比較したが、試作ボンディング材ではコントラクションギャップは見られず、高い接着性能を有していることが確認された。

残存象牙質の厚みとスミヤー層の違いが象牙質微小接着引張接着試験に及ぼす影響

¹北海道大学大学院歯学研究院 歯科保存学教室

○リミ シャンミ アカター¹、アハメッド ズバエル¹、丁 世俊¹、サイケオ ピポップ¹、イアムサアード ピンピニー¹、
 ヨウドリー アルマス¹、イスラム ラフィクル¹、戸井田 侑¹、松本 真理子¹、角田 晋一¹、星加 修平¹、川本 千春¹、
 池田 考績¹、田中 享¹、佐野 英彦¹

Effect of remaining dentin thickness and smear layer thickness on microtensile bond strength.

¹Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University, Hokkaido, Japan
 ○SHAMME-AKTER RIME¹, Zubaer Ahmed¹, Shihchun Ting¹, Pipop Saikaew¹, Pimpinee Eamsa-Ard¹, Almas Chowdhury¹, Rafiqul Islam¹,
 Yu Toida¹, Mariko Matsumoto¹, Shinichi Kakuda¹, Shuhei Hoshika¹, Chiharu Kawamoto¹, Takatumi Ikeda¹, Toru Tanaka¹,
 Hidehiko Sano¹

【Objective】 We have previously reported that resin-dentin bond strengths of one-step self-etch adhesives were affected by remaining dentin thickness (RDT)¹⁾. However, the studies were conducted with polished dentin surfaces, so that it is unclear how smear layer affects to the outcome. The objective of this study was to evaluate the effect of RDT and the type of dentin smear layer on micro tensile bond strength by using self-etch adhesives to dentin.

【Materials & Methods】 Forty three non-carious human third molars were used in this study (#2013-7). The occlusal crown was ground to expose flat dentin surface. The obtained surfaces were divided into two groups according to the surface preparation methods; polished by 600-grit silicon carbide paper (SiC) or regular diamond bur (Bur) due to produce thicker smear layer. They were further divided into three groups according to the following adhesives: Clearfil SE bond 2 (SE, Kuraray Noritake Dental), Clearfil Universal bond (CU, Kuraray Noritake Dental) and Scotch bond universal adhesive (SB, 3M ESPE). The adhesives were applied according to the manufacturer's instruction followed by resin composite, Clearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental), were built up. Then, all specimens were stored in distilled water at 37°C for 24 h. Each specimen was cut into 1 × 1 mm beams with a low speed diamond saw under running water and obtained 42 beams per group. RDT of each beam was measured by digital caliper with 10-μm accuracy, then divided into three subgroups according to the thickness; A: <1.0mm, B: 1.0-2.0mm C: >2.0mm. The microtensile bond strength (μTBS) test was subjected at a crosshead speed of 1mm/min. The bond strength data were analyzed by Scheffé's or Games-howel test (α=0.05). Fractured surfaces were observed by a light microscope.

【Results&Discussion】 The results of μTBS are shown in Fig.1. The bond strength of SiC groups were significantly higher than that of Bur groups. Only SE-Bur group, there was no significant difference between A and C. Meanwhile, the bond strength of C was significantly higher than that of A for other groups.

【Conclusion】 Both remaining dentin thickness and smear layer thickness seem to affect on μTBS within the limitation of this study.

1) Effect of remaining dentin thickness on microtensile bond strength of current adhesive systems. S.Ting et al. Dent Mater J 2015; 34: 181-188

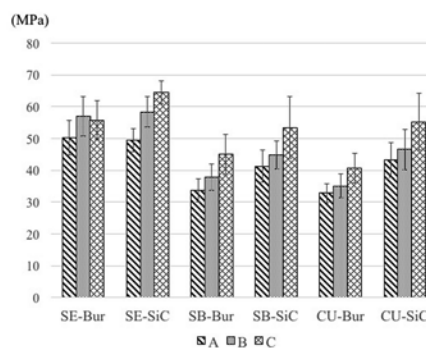


Fig.1 The results of μTBS

MDPの有無がユニバーサルアドヒーズ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総合歯学研究科生体工学研究部門、³福本歯科医院、⁴鈴木歯科医院
○高見澤 俊樹¹、今井 亜理紗¹、辻本 暁正¹、鈴木 崇之¹、坪田 圭司^{1,2}、福本 敬一³、鈴木 敏裕⁴、宮崎 真至¹

Effect of a Functional Monomer (MDP) on Dentin Bond Performance of Universal Adhesives

¹Department of Operative Dentistry, Nihon University, School of Dentistry, Tokyo, Japan ²Division of Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University, Tokyo, Japan ³Fukumoto Dental Clinic, Tokyo, Japan
⁴Suzuki Dental Clinic, Tokyo, Japan
○TOSHIKI TAKAMIZAWA¹, ARISA IMAI¹, AKIMASA TSUJIMOTO¹, TAKAYUKI SUZUKI¹, KEISHI TSUBOTA^{1,2}, KEIICHI FUKUMOTO³,
TOSHIHIRO SUZUKI⁴, MASASHI MIYAZAKI¹

【緒言】 セルフエッチングシステムは、機能性モノマーを含有することを特徴としており、歯質接着性の多くの部分をこのモノマーに依存している。とくに、機能性モノマーのうちで10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (MDP) は、その優れた接着性能から多くの接着システムに採用され、ユニバーサルアドヒーズにおいても多くの製品に含有されている。ユニバーサルアドヒーズは、異なるエッチングモードあるいは様々な被着体にも使用が可能なことを特徴としており、直接法のみならず間接修復における接着システムとしても応用されている。しかし、ユニバーサルアドヒーズに含まれる機能性モノマーMDP の効果については不明な点が多く、とくに異なるエッチングモードで使用した際についての報告は皆無である。そこで、機能性モノマーMDP の有無が異なるエッチングモードで使用した際のユニバーサルアドヒーズの象牙質接着性および接着耐久性に及ぼす影響について、温熱負荷後の接着強さから検討した。また、アドヒーズ処理面、接着界面および試験終了後の破断面の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行った。

【材料および方法】 ユニバーサルアドヒーズとして、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CUと同じ成分に調整しつつMDP未含有とした試作ユニバーサルアドヒーズ (EX, クラレノリタケデンタル) を用いた。接着試験に際しては、ウシ歯冠部象牙質をSiCペーパーの#320まで研磨を行い被着象牙質面とした。歯面処理条件としては、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、アドヒーズ塗布後に5秒間エアブロー、照射を行った。次いで、内径2.38mmのUltradent接着試験用治具を照射したアドヒーズ面に固定し、レジンペーストを充填、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、5~55°C、係留時間1分のサーマルサイクルを5,000, 10,000, 20,000および30,000回負荷した。所定の保管期間が終了した試片については、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード毎分1.0mm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破断面を観察し、界面破壊、レジンあるいは象牙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、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象牙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10kVの条件でSEM観察した。

【成績および考察】 ベースラインとした水中浸漬24時間後の接着強さは、MDP含有CUでは32.5~33.0MPaの値を、MDP未含有のEXにおいては9.9~11.6MPaの値を示し、それぞれのアドヒーズにおけるエッチングモード間に有意差は認められなかったものの、アドヒーズ間においてはCUがEXに比較して有意に高い値を示した。また、温熱負荷の影響については、いずれのアドヒーズにおいてもサーマルサイクル回数の増加に伴って接着強さが低下する傾向を示したものの、その傾向はEX著明であった。

【結論】 本実験の結果から、ユニバーサルアドヒーズに含有されるMDPは、初期接着および耐久性の獲得に重要な役割を果たしていることが判明した。

in vitro バイオフィームモデルを用いた *Helicobacter pylori* の形態学的検索

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

○永田量子, 大墨竜也, 鈴木裕希, 長谷川泰輔, 竹中彰治, 野杵由一郎

Morphological analysis of *Helicobacter pylori* using *in vitro* biofilm models

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○NAGATA Ryoko, OHSUMI Tatsuya, SUZUKI Yuki, HASEGAWA Taisuke, TAKENAKA Shoji, NOIRI Yuichiro

【目的】*Helicobacter pylori* は胃がんの原因であり、胃内でバイオフィーム (BF) を形成することが報告されている。一方で、口腔内にも *H. pylori* が定着しており、いわゆる休眠状態の Viable but Nonculture (VNC) で存在する可能性がある。したがって、口腔内で BF を形成した *H. pylori* が、VNC 状態で持続感染することで、胃内への再感染の温床になりうる。そこで本研究では、*H. pylori* の BF モデルを構築し、その形態学的な特徴について検討した。

【材料及び方法】*H. pylori* IID3023 をピロリ寒天培地(シスメックス・バイオメリュウ)にて微好氣的条件下(85% N₂, 10% CO₂, 5% O₂)で 5 日間培養した。発育した *H. pylori* 菌体をウシ胎児血清 (FBS) 5% 添加ブルセラブロスに播種し、37℃、4 日間、微好気培養を行った。BF 形成観察には、Calgary Biofilm Device (CBD) と底面にハイドロキシアパタイトディスクを静置した 24 ウェルプレート (HA) の 2 つの培養系を用いた。対数増殖期の菌液 (OD₆₀₀=0.05) を、37℃、微好気条件下で 4 日間培養を行った。菌液を含まない FBS 5% 添加ブルセラブロス作用させたものをコントロール群とした。さらに HA 群のみを 2 群に分け、半分のディスクを好気条件に変え、新鮮培地に交換し、37℃、2 日間追加培養を行い、BF を形成した。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、BF の構成細菌の生死の割合を解析するため、LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit (Thermo Fisher Scientific 社製) を用いて蛍光染色を施し、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) を用いて観察した。

【結果】SEM 観察では、微好気条件下では、らせん型と球状型が混在した BF が観察された (図 1A,)。特に HA 群では、らせん状型の表層に乗るように球状型が観察された。CLSM 画像では、緑色の生菌が主体であり、赤色の死菌はほぼ観察されなかった。CBD 群は HA 群と比較し、BF の厚みが小さく、細胞間密度が高い傾向にあった。

【考察】これまで *H. pylori* の実験的 BF 形成には限られた菌株でしか報告がなかった。今回用いた菌株は BF 非形成菌株と考えられ、BF 形成の報告がなかったが、本研究では、*H. pylori* は球状型である VNC 状態が多い BF を形成した。このことから、口腔内の検出には培養法ではなく、PCR 法および抗原測定が有利であることが推察された。BF 中の各菌形態の構成は、細胞間密度などの環境条件における適応とも考えられる。現在、糞便を対象として開発された *Helicobacter pylori* 検出・同定キット (デンカ生研) の唾液・デンタルバイオフィームサンプルでの応用の可能性を検索中である。

【結論】*in vitro* モデルにおいて BF 非形成株と考えられていた *H. pylori* IID3023 は VNC の状態で BF を形成し存在していた。よって、その検出には培養法ではなく、PCR 法および抗原測定が有利であることが示された。

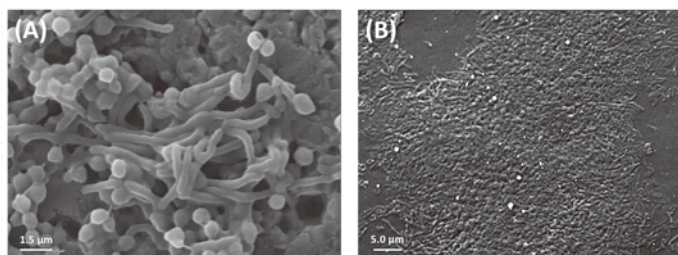


Fig.1 SEM images of *H. pylori* biofilms.

(A) HA group; mixture of spiral form and coccoid form (×20,000)

(B) CBD group; biofilm formation of high cell densities (×5,000)

新規象牙質う蝕細菌 *Propionibacterium acidifaciens* のう蝕原性の解明

¹鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 発生発達生育学講座 予防歯科学分野

○小幡 純子¹、於保 孝彦¹

Investigation of cariogenicity of *Propionibacterium acidifaciens* isolated from carious dentin lesions

¹Department of Preventive Dentistry, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan.

○JUNKO OBATA¹, TAKAHIKO OHO¹

【目的】成人の象牙質う蝕病巣において優位に認められた新規象牙質う蝕細菌 *Propionibacterium acidifaciens* のう蝕原性を解明する為に、本研究では他の口腔常在細菌との競合性と、生育環境がバイオフィーム形成に及ぼす影響について検討した。

【方法】*P. acidifaciens* Downes and Wade 2009 (Riken BRC、以下 *P. acidifaciens* DW とする) を用いて、以下の方法にて検討した。1. 他の口腔常在細菌との競合性について、(1) 寒天培地を用いた competition assay と (2) トランスウェルシステムを用いた dual-species assay を行い、*P. acidifaciens* DW の生育状況を評価した。2. バイオフィーム形成に及ぼす影響について、(1) *P. acidifaciens* DW が産生する主な酸 (プロピオン酸と酢酸) の濃度に応じたバイオフィーム形成と (2) I 型コラーゲンで被覆したマイクロプレート上での *P. acidifaciens* DW のバイオフィーム形成を評価した。

【結果】他の口腔常在細菌との競合性について、competition assay で (1) *P. acidifaciens* DW は、*Streptococcus mutans* MT8148、*Streptococcus sanguinis* ATCC10556、*Streptococcus oralis* ATCC10557、*Streptococcus gordonii* ATCC10558 の 4 菌株にその生育を阻害された。(2) *S. mutans* との dual-species assay を行ったところ、*P. acidifaciens* DW は *S. mutans* MT8148 及び *S. mutans* UA159 の 2 菌株によりその生育が阻害された。寒天培地を用いて *P. acidifaciens* DW の生育に及ぼす過酸化水素の影響を調べたところ、0.5%以上の濃度でその生育を阻害されたため、*S. sanguinis* ATCC10556、*S. oralis* ATCC10557、*S. gordonii* ATCC10558 の過酸化水素産生能が *P. acidifaciens* DW の生育阻害を起こしたことが推測された。しかし、過酸化水素非産生菌である *S. mutans* MT8148 に関しては、過酸化水素以外の抑制因子が考えられた。次に、バイオフィーム形成に及ぼす影響について、(1) *P. acidifaciens* DW は、25 mM 以上のプロピオン酸、50 mM 以上の酢酸でその生育が抑制された。さらに、(2) *P. acidifaciens* DW は I 型コラーゲン被覆マイクロプレート上では、非被覆マイクロプレート上と比較して約 4.5 倍のバイオフィームを形成することが認められた。

【結論】*P. acidifaciens* は、他の口腔常在菌によりその発育が阻害され、それらの菌との共存は困難であることが明らかになった。また、*P. acidifaciens* 自らが産生する酸では、ある程度の濃度を超えるとその生育が阻害されることから、生育に適した濃度の酸を産生していることが推測された。さらに I 型コラーゲンの存在下では厚いバイオフィームを形成したことから、象牙質内の有機質である I 型コラーゲンが *P. acidifaciens* の定着に関与することが推測された。これらの *P. acidifaciens* の特性は、同菌が象牙質う蝕病巣という特殊な環境下に存在することの根拠となる可能性が示唆された。

高脂肪環境下にLPS刺激が加わった際の歯髄細胞の反応

¹東京歯科大学 保存修復学講座、²東京歯科大学 歯内療法学講座

○三友 啓介¹、高田 佳奈²、石塚 久子¹、古澤 成博²、村松 敬¹

Response of cultured human dental pulp cells under lipolysaccharide high fat condition

¹Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology ²Department of Endodontics

○KEISUKE MITOMO¹, KANA TAKADA², HISAKO ISHIDUKA¹, MASAHIRO FURUSAWA², TAKASHI MURAMATSU¹

目的：生活習慣病のひとつである脂質異常症は、血中の脂質量が過剰な状態を示し、後に心筋梗塞や脳梗塞などの起因となりうる疾病である。近年、脂肪が過剰な状態では細菌受容体であるTLR2やTLR4が高発現となり、この状態に細菌感染が加わるとNF- κ B経路を介した炎症性サイトカインの著明な上昇が認められ、炎症が増悪することが報告されている。しかしながら、脂肪が歯髄細胞に対してどのような影響を与えているかは明らかにされていない。本実験では、培養歯髄細胞を高脂肪環境下でリポ多糖(LPS)刺激をした際の炎症性サイトカインの発現を検索した。

方法：研究にはヒト歯髄細胞(HDP、広島大学・高田隆教授より供与)をDulbecco's MEM(10%FBS, 100U/mL penicillin-streptomycin 添加)で培養したものをを用いた。高脂肪環境はWobser(2009)の方法にしたがい、培養液中にパルミチン酸を最終濃度が100 μ Mになるように添加することで作製した。HDPを35mmディッシュに5 $\times$ 10⁴個/mLの密度で播種し、24時間後にパルミチン酸を添加した群(Pal群)、LPS(1 μ g/mL)を添加した群(LPS群)、パルミチン酸とLPSの両方を添加した群(Pal+LPS群)を作製した。刺激24時間後に細胞形態を位相差顕微鏡で観察した後、total RNAを抽出し、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6の発現をRT-PCR法で検索した。

結果および考察：細胞形態に関しては、Pal群、LPS群、Pal+LPS群のいずれにおいても変化は認められなかった。RNAの発現については、すべての群においてTNF- α 、IL-1 β 、IL-6の発現が認められた。Pal群とLPS群では発現に差は認められなかったが、Pal+LPS群においては強発現が認められ、特にIL-1 β についてはこの傾向が強く認められた。以上の結果から、歯髄細胞は高脂肪環境において炎症性サイトカインの発現が上昇し、細菌感染によってその発現が増強されることが示唆された。現在、パルミチン酸の濃度ならびに時間依存性変化、炎症性サイトカインの定量化も検索しているところである。

ピロリドンカルボン酸による象牙質コラーゲンの分解抑制、および象牙質の脱灰抑制に関する検討 (第3報)

¹ライオン株式会社 研究開発本部 オーラルケア研究所、²ライオン株式会社 研究開発本部 生命科学研究所

○中山 志織¹、牧 利一¹、小倉 卓²、藤川 晴彦¹、片岡 伸介²、村越 倫明²、柴崎 顕一郎¹

Effects of pyrrolidone carboxylic acid on dentin collagen degradation and demineralization (The third report).

¹Oral Care Research Laboratories, Research & Development Headquarters, Lion Corporation ²Life Science Research Laboratories, Research & Development Headquarters, Lion Corporation

○SHIORI NAKAYAMA¹, RIICHI MAKI¹, TAKU OGURA², HARUHIKO FUJIKAWA¹, SHINSUKE KATAOKA², MICHIAKI MURAKOSHI²,
KENICHIRO SHIBASAKI¹

【研究目的】

近年、加齢や歯周病罹患等により歯肉が退縮し、その結果露出する歯根面のう蝕(根面う蝕)の増加が懸念されている。これまでに我々は、950ppm フッ化物(以下、F)およびピロリドンカルボン酸(以下、PCA)を配合した歯磨剤が、根面う蝕の予防に重要である、象牙質の脱灰抑制効果と象牙質コラーゲンの保護効果を併せもつことを *in vitro* 評価により明らかにした(第138、143回日本歯科保存学会学術大会)。本研究では、1,450ppmFとPCAを配合した歯磨剤による両効果を、1,450ppmFまたは3,000ppmFを単独配合した歯磨剤と比較した。

【材料および方法】

<実験1:健全象牙質の脱灰抑制評価>

- 1)材料:牛歯根象牙質ディスク(処置面:約2mm×2mm)
- 2)処置剤:歯磨剤(1,450ppmF配合、3,000ppmF配合、1,450ppmF+PCA配合)の水3倍希釈液
- 3)方法:象牙質ディスクを処置剤へ3分間浸漬・水洗浄(2回/日)し、再石灰化液(CaCl₂:1.5mM、KH₂PO₄:5mM、酢酸:100mM、NaCl:100mM、pH6.5)へ3日間浸漬後、脱灰液(CaCl₂:2.2mM、KH₂PO₄:2.2mM、酢酸:50mM、pH5.0)へ6h浸漬
- 4)評価:原子吸光度計(Z-5310、日立)による、脱灰液への溶出Caイオンの定量(μg)(n=4~7)
- 5)解析:Tukey-Kramer 多重比較検定による群間比較

<実験2:A)脱灰象牙質の脱灰進行抑制評価、B)脱灰象牙質コラーゲンの保護評価>

- 1)材料:脱灰液への浸漬によりコラーゲンを露出させた牛歯根象牙質ディスク(処置面:約2mm×2mm)
- 2)処置剤:歯磨剤(プラセボ(FとPCA無配合)、1,450ppmF配合、3,000ppmF配合、1,450ppmF+PCA配合)の水3倍希釈液
- 3)方法:象牙質ディスクを処置剤へ3分間浸漬・水洗浄し、2U/mlのコラーゲナーゼを含む再石灰化液へ5h浸漬後、脱灰液へ3h浸漬
- 4)評価:A.原子吸光度計(Z-5310、日立)による、脱灰液への溶出Caイオンの定量(μg)(n=3~9) B.共焦点ラマン顕微鏡(alpha300R、WITec)による、象牙質ディスク表面におけるヒドロキシプロリン(ピーク面積)の定量(876cm⁻¹)(n=10)
- 5)解析:Tukey-Kramer 多重比較検定による群間比較

【結果および考察】

<実験1>健全象牙質に、1,450ppmF、3,000ppmF、1,450ppmF+PCA配合歯磨剤を処置した場合の溶出Caイオン量(μg)は、それぞれ11.0±2.8、4.7±0.6、7.1±2.2であり、1,450ppmF+PCA群は3,000ppmF群と同様に、1,450ppmF群よりも有意に脱灰が抑制された。

<実験2>A.脱灰象牙質に、プラセボ、1,450ppmF、3,000ppmF、1,450ppmF+PCA配合歯磨剤を処置した場合の溶出Caイオン量(μg)は、それぞれ11.2±2.4、8.0±1.6、6.9±1.0、5.5±0.8であり、1,450ppmF+PCA群は1,450ppmF群より有意に脱灰が抑制され、3,000ppmF群より有意差はないが平均値でCa溶出が抑制された。B.1,450ppmF+PCA群は、1,450ppmF群および3,000ppmF群より有意にヒドロキシプロリン量が多く、象牙質コラーゲンが保護されていることが示唆された。本実験では、3,000ppmF群より1,450ppmF+PCA群のCa溶出量が低い値を示したが、PCAが脱灰象牙質へのF取込量を向上(第2報)させるとともに、象牙質コラーゲンを保護することで象牙質内部への酸の浸透や象牙質内部で溶解したミネラルイオンの拡散を抑制したためと推察される。

【結論】

In vitro 評価において、1,450ppmFとPCAを配合した歯磨剤は、1,450ppmFを単独配合した歯磨剤よりも有意に健全象牙質の脱灰を抑制した。更にコラーゲンを露出させた脱灰象牙質に対しては、象牙質コラーゲンを保護することが示唆され、3,000ppmFを単独配合した歯磨剤と同等以上に脱灰を抑制した。

フッ化物含有知覚過敏抑制材によるエナメル質表面の脱灰抑制効果

¹北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野、²朝日大学歯学部 歯科理工学分野、³大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座、⁴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
○櫻井 雅彦¹、松田 康裕¹、奥山 克史²、山本 洋子³、カトゥーン モーサマツ モーシーダ¹、佐野 英彦⁴、
斎藤 隆史¹

The inhibitory effect of demineralization by fluoride-containing prophylactic agent for dentin hypersensitivity to enamel surfaces

¹Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Hokkaido, Japan ²Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry ³Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry ⁴Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

○Masahiko SAKURAI¹, Yasuhiro MATSUDA¹, Katsushi Okuyama², Hiroko YAMAMOTO³, Mosammat Morsheda Khatun¹,
Hidehiko SANO⁴, Takashi SAITO¹

【緒言】初期エナメル質う蝕で認められる表層下脱灰は再石灰化が可能であり、フッ化物の塗布により再石灰化の促進が期待される。欧米ではフッ化物バーニッシュがう蝕予防塗布材料として広く応用されており、象牙質知覚過敏抑制材としても知られている。これまで、我々は自動pHサイクル装置とTransverse Microradiography (TMR)法をもちいた、齲蝕抑制効果について報告してきた。そこで、今回は脱灰処理したエナメル質にフッ化物含有知覚過敏抑制材を塗布し、エナメル質へのフッ素の取り込みと脱灰抑制効果について自動pHサイクル装置とTMRを用いて検討を行った。

【材料と方法】 フッ化物含有知覚過敏抑制材として、MSコートF(サンメディカル株式会社)(MS)、MSコートHySブロックジェル(サンメディカル株式会社)(HS)、フッ化物バーニッシュ (CTx2 Varnish, Oral BioTech) (FV)を用いた。観察試料は、ヒト抜去大臼歯を7本使用し(n=7)、37°Cの脱灰溶液(0.2M乳酸、3.0mM CaCl₂、1.8mM KH₂PO₄、pH4.5、2%カルボキシメチルセルロースナトリウム)にて72時間脱灰した後に、それぞれ頬舌的、近遠心的に切断して4分割した。分割試料は歯面のCEJを挟んで約3mmの幅を残してスティッキーワックスで約1mmの厚さになるように被覆した。各歯の3分割試料にそれぞれ各材料を塗布し、1分割試料は材料を塗布しないコントロール(C)とした。37°C脱イオン水中に24時間浸漬後、塗布部位が含まれるように歯軸に平行に切断し、厚さ約300μmに調整し試料を作製した。材料を塗布した面を除き、すべての歯面をスティッキーワックスで被覆して、Single-section試料とした。これまで報告と同様に自動pHサイクル装置を用いて脱灰負荷試験を行った。サイクル数は一日に6回で、各サイクル間のインターバルの間及びpHを稼働させない時間(約8時間)は再石灰化溶液に浸漬した。各試料のTransverse Microradiography (TMR)を実験開始前、pHサイクル2週後に撮影し、得られた画像はImage Jを用いた画像解析方法^[3]により解析し、CEJに近接したエナメル質の脱灰量IML(integrated mineral loss)(Vol% x μm)と脱灰深度Lesion depth(Ld)(μm)の変化を検討した。2週後におけるIMLの増加量(ΔIML)およびLdの増加量(ΔLd)をGames-Howellの多重比較検定(p<0.05)を用いて統計解析を行った。本研究は北海道医療大学歯学部・歯学研究科倫理委員会(承認番号47号)の承認を得て行われた。

【結果】ΔIMLによるミネラル喪失量の分析では、コントロール(8920±1454Vol% x μm)と全ての試料群で有意差が認められ、試料群間ではMS(4549±2052Vol% x μm)とHS(4007±988Vol% x μm)は同様の傾向を示し、HSとFV(1514±869Vol% x μm)の間で有意差がみとめられた。また、ΔLdによる脱灰深度の分析ではコントロール(82.5±26.1μm)と比較して全ての試料群で有意差がみとめられ、MS(41.3±27.7μm)とHS(35.0±26.1μm)に有意差は認められず、F(4.7±24.0μm)は最も優位に低い値を示した。

【考察】 今回の結果から、初期脱灰しているエナメルにフッ化物含有知覚過敏抑制剤によってもエナメル質の脱灰が抑制されることが示された。これらのことからフッ化物含有知覚過敏抑制剤材料が象牙質の脱灰だけでなくエナメル質初期う蝕に対する脱灰抑制塗布剤としての有効性が示唆された。本研究の一部は科学研究費補助金(基盤(C)17K11712, 基盤(B)26293403)の補助の下に行われた。

【文献】 [1] H. Komatsu et al., Nucl. Instr. Meth. B 267 (2009). [2] Yamamoto H, et al., Nucle Instr and Meth B210, (2003) [3] Matsuda, Y. et al. (2007). Dent. Mater. J, 2007 26(3)

リンケイ酸ナトリウムカルシウム含有歯磨剤がエナメル質の脱灰抑制および再石灰化に及ぼす影響 —光干渉断層画像法による検討—

¹日本大学 歯学部 保存学教室 修復学講座、²松村歯科医院

○松吉 佐季¹、黒川 弘康¹、村山 良介¹、飯野 正義¹、須田 駿一¹、寺井 里沙¹、宮崎 真至¹、松村 正鴻²

Enamel remineralization effect of a dentifrice containing calcium sodium phosphosilicate: an optical coherence tomography observation

¹Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan ²Matsumura Dental Clinic

OSAKI MATSUYOSHI¹, HIROYASU KUROKAWA¹, RYOSUKE MURAYAMA¹, MASAYOSHI IINO¹, SHUNICHI SUDA¹, RISA TERAI¹,

MASASHI MIYAZAKI¹, MASAHIRO MATSUMURA²

【研究目的】近年、フッ化物以外の再石灰化促進効果を有するものとしてバイオアクティブガラスが注目され、そのひとつである NovaMin (以後、NM) を配合した歯磨剤も市販されている。この NM を含有する歯磨剤は、開口した象牙細管を封鎖する効果があり、臨床的にも象牙質知覚過敏の症状を軽減させることが報告されている。しかし、NM 含有歯磨剤がエナメル質に及ぼす効果については不明な点が多いのが現状である。そこで、NM 含有歯磨剤がエナメル質の脱灰抑制ならびに再石灰化に及ぼす影響について、光干渉断層画像法 (以後、OCT) を用いて検討した。

【材料および方法】

1. エナメル質試片の調整

ウシ抜去下顎前歯の唇側面中央付近におけるエナメル質をブロックとして切り出した後、耐水性 SiC ペーパーを用いて露出面が平坦となるように調整し、超音波洗浄を 5 分間行った。このエナメル質ブロックの底面 (象牙質側) および側面をワックスで被覆したものを試片とした。

2. NM 含有歯磨剤希釈液の調整

NM 含有歯磨剤 (Sensodyne Repair & Protect, GlaxoSmithKline) と脱イオン水を 1:3 (12 g:36 mL), 1:6 (6 g:36 mL) および 1:9 (4 g:36 mL) の比率で混合し、1 分間攪拌したものを NM 希釈液とした。

3. 試片の保管条件

試片は、以下に示す各条件に保管した。

1) コントロール群: 試片を実験期間を通じて、37°C 人工唾液中に保管 2) 未処理群: 試片を実験期間中 1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液 (pH 4.75) に 10 分間浸漬した後、37°C の人工唾液中に保管 3) 処理群: 試片を実験期間中 1 日 2 回、0.1 M 乳酸緩衝液に 10 分間浸漬した後、3、6 および 9 倍の NM 希釈液でそれぞれ 3 分間処理。その後、37°C の人工唾液中に保管

4. OCT による信号強度分布測定

信号強度分布の測定には、time-domain 型 OCT 装置 (モリタ東京製作所) を用いた。照射光線が試片中央付近へ垂直に照射されるように調整し、プローブと試片表面との距離を 2 mm に固定した。人工唾液から取り出した試片は、5 秒間水洗を行った後、試片表面の残留水分をキムワイプを用いて除いた。測定は A-scan mode で行い、測定範囲内の任意の 20 箇所における信号強度情報を得た。なお、信号強度分布の測定時期としては、実験開始前および開始 7、14、21 および 28 日後とした。

5. 最大ピーク強度値、1/e²幅および統合値

A-scan mode の信号強度分布を解析、最大ピーク強度値 (dB) を検出することで、その座標を決定した。次いで、この座標を中心として最大ピーク強度値が 13.5% に減少した際の信号強度が含まれる範囲を算出し、その波形幅 (1/e²幅, μm) を求めた。さらに、最大ピーク強度値および 1/e²幅とから統合値 (dB $\cdot\mu\text{m}$) を求めた。

6. レーザー顕微鏡観察

試片表面の観察は、形状解析レーザー顕微鏡 (以後、LSM, VK-9710, キーエンス) を用いて行った。

【成績および考察】最大ピーク強度値はコントロール群で実験期間を通して変化は認められなかったのに対して、未処理群では実験期間の経過に伴って上昇する傾向が認められた。本研究で用いた OCT は、中心波長が 1,310 nm の近赤外線を歯質に照射して、その表層および内部で反射あるいは散乱した光の様相を光学干渉計によって捉えるものである。したがって、未処理群ではエナメル質表層脱灰が進行することで粗造化し、照射光線の歯質表層での散乱が大きくなることで最大ピーク強度値が上昇したのと考えられた。一方、処理群の最大ピーク強度値は、いずれの NM 希釈液で処理した条件においても実験期間の経過に伴って低下したが、その程度は NM3 倍希釈液で最も大きいものであった。NM によって形成された硬組織様構造物は、酸の透過性を低下させるとともに、耐酸性を有することが報告されている。したがって、処理群では硬組織様構造物が酸に対する抵抗層として機能することで、エナメル質の脱灰抑制効果を発揮したのと考えられた。実験開始 28 日後の LSM 像では、未処理群ではスマイヤー層が除去されエナメル小柱が明瞭に観察されたのに対し、NM3 倍希釈液で処理した条件では、歯質表面に析出物が認められ、粗造な表面性状を呈し、NM 含有歯磨剤の再石灰化効果が示されたのと考えられた。

【結論】本実験の結果から NM 含有歯磨剤は、エナメル質の脱灰を抑制し再石灰化を促進させる効果を有することが明らかとなった。

大気圧低温プラズマの歯科ホワイトニングへの応用に関する基礎的研究—プラズマへの水分供給方法の検討—

¹千葉県立保健医療大学 健康科学部 歯科衛生学科、²東京工業大学 未来産業技術研究所

○金子 潤¹、山中 紗都¹、川野 浩明²、荒川 真¹、宮原 秀一²、沖野 晃俊²

A Basic Study on Application of Atmospheric-pressure Low-temperature Plasma to Dental Whitening: Examination of the Method for Moisture Supply in Plasma Generation

¹Department of Dental Hygiene, Faculty of Health Care Sciences, Chiba Prefectural University of Health Sciences

²Laboratory for Future Interdisciplinary Research of Science and Technology (FIRST), Tokyo Institute of Technology

○JUN KANEKO¹, SATO YAMANAKA¹, HIROAKI KAWANO², MAKOTO ARAKAWA¹, HIDEKAZU MIYAHARA², AKITOSHI OKINO²

【緒言】

近年、プラズマ技術の発展に伴い、大気圧下でのプラズマ生成と低温化が可能となり、プラズマの医療応用に関する戦略的研究が数多く行われている。われわれはこれまでに、大気圧低温プラズマの歯科ホワイトニングへの応用を目的として、様々なガスでプラズマを生成できるマルチガスプラズマ装置を利用した基礎的研究で、窒素 (N₂) をプラズマ原料ガスとして用いると照射対象の漂白効果が向上する可能性を示した。今回、生成するプラズマへの水分供給方法について検討し、より安全で漂白効果の高いプラズマ照射条件を確立することを目的とした。

【材料および方法】

褐色鶏卵を煮沸後、ダイヤモンドディスクで縦断して卵白・卵黄のみ除去し、内面にシリコンパテを挿入・硬化させたものを試料とした。卵殻中央部に直径 5mm のウインドウをビニールテープで設置し、プラズマ照射野に規定した。本実験では生成するプラズマへの水分供給方法として、1) ガスをミリ Q 水中でバブリングさせて水分付与 (Bubbling 群)、2) プラズマ噴出口付近にミリ Q 水を連続的に噴霧して付与 (Spray 群)、3) 水分付与なし (Dry 群) の 3 群を設定し比較した。また、Spray 群では別に 3%過酸化水素水 (H₂O₂) を噴霧する群 (Spray-H 群) を設定し、Spray 群との比較を行った。なお、試料数は各群 5 試料ずつとした。プラズマ源にはダメージフリーマルチガスプラズマジェット PCT-DFMJ02 (プラズマコンセプト東京) を用い、プラズマ原料ガスを窒素 100%、ガス流量 10L/min の条件でプラズマを発生させ、プラズマ照射口を試料表面から 5mm 離隔した条件下で 5 分間照射を行った。

プラズマ照射前後の試料の色彩は、歯科用分光光度計スペクトロシェード (デンツプライ三金) を用いて測色し、色彩変化の程度によって漂白効果を評価した。すなわち、各試料のウインドウ内の中央部および上下左右の計 5 点を測定点に設定して、CIE 1976L*a*b*表色系による L*値、a*値、b*値から色差 ΔE を通法により、白色度差 ΔW は Hunter 白色度計算式を準用して算出し、各群間の漂白効果の比較を行った。

統計解析は、水分供給方法 3 群間の比較を一元配置分散分析および Tukey の検定により、Spray2 群間の比較を *t* 検定により行った ($\alpha=0.05$)。

【結果および考察】

水分供給方法 3 群間について、Bubbling 群では ΔE が 3.95 ± 0.48 、ΔW が 3.79 ± 0.46 、Spray 群では ΔE が 4.91 ± 1.38 、ΔW が 4.70 ± 1.38 、Dry 群では ΔE が 2.59 ± 0.74 、ΔW が 2.05 ± 0.61 となった。水分付与の 2 群 (Bubbling 群、Spray 群) ではかなり強い白色方向への移動を示した。ΔE では Spray 群と Dry 群との間に有意差を認め、ΔW では Bubbling 群と Dry 群、Spray 群と Dry 群との間に有意差を認めた ($p < 0.05$)。以上より、生成するプラズマへの水分供給は、原料ガス段階のバブリング、プラズマ生成直後のジェットへの噴霧とも、水分付与なしの場合よりも照射対象への漂白効果は高くなり、とくにプラズマジェットへの水分の噴霧は色彩変化が最も大きくなった。一方、Spray-H 群では ΔE が 5.71 ± 1.79 、ΔW が 5.25 ± 1.72 となり、いずれも Spray 群よりも大きな値を示したが、両群間に有意差を認めなかった。

Spray 群では、プラズマと水分との接触面積が大きく、水分の供給量も多いため、効率よくプラズマと水分が反応して漂白に有効なラジカルが大量に発生したこと、ラジカルが水系に溶解したことで安定化され、トータルのラジカルの寿命が延びたこと、などが推察される。Spray-H 群として 3%過酸化水素の供給を試みたが、明確な漂白効果の向上には至らなかった。口腔内での連続的な液体噴霧を想定すると、3%以上の過酸化水素水を用いることは現実的でないため、ホワイトニングへの応用には水を利用した窒素プラズマ照射が安全かつ効果的な方法であると考えられた。

【結論】

本実験条件下では、プラズマ噴出口付近に水分を連続的に噴霧して付与する方法が、より安全に漂白効果の向上に寄与しうると考えられた。

親水性が高い基材を用いた試作Home Bleach材の粘稠度と漂白効果

¹昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科部門、²昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 歯科理工学部門

○小川 弘美¹、菅井 琳太郎¹、山田 三良¹、水上 英子¹、東光 照夫¹、田中 智久¹、真鍋 厚史¹、宮崎 隆²

Consistency and Bleaching Efficacy of Experimental Bleaching Agent containing Hydrophilic Base Material

¹Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry ²Oral Biomaterials and Technology, Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry

OHIROMI OGAWA¹, RINTARO SUGAI¹, MITSUYOSHI YAMADA¹, EIKO MIZUKAMI¹, TERUO TOKO¹, TOMOHISA TANAKA¹, ATSUFUMI MANABE¹,
TAKASHI MIYAZAKI²

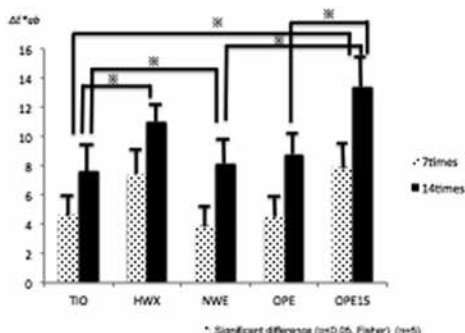
【目的】 本研究は、より効果的な歯の漂白を達成するため、親水性を高めた基材を含む HomeBleach 材を試作し、粘稠度と漂白効果を検討したものである。親水性を高めるために、基材中のプロピレン、グリセリン、セルロース等の水系溶媒とビニルポリマー等の粘度調整材の組成を変化させた。過酸化尿素濃度は市販される HomeBleach 材と同等の 10%である。

【材料および方法】 使用した漂白材は、以下の5種とした。(1)GC TiON Home(GC 社製、以下TIO)、(2)試作漂白材(以下HWX)、(3) Philips Nite White Excel(以下NWE)、(4)Ultradent Opalescence10%(以下OPE)、(5)Ultradent Opalescence15%(以下OPE15、過酸化尿素濃度 15%、非市販品)。漂白材の粘稠度は、垂れ試験と粘度試験により検討した。垂れ試験は、37 度、相対湿度 95%の環境下で、垂直アクリル板上部から2時間で垂れ下がる距離を計測 (n=3) した。粘度試験は、歯科用印象材の粘度試験 (JIS T6513:2005) を参考にし、室温中で水平に置いた2枚のOHPシート間に、試料0.5mLを挟み14.7Nの荷重を5秒間加え、拡大したジェルの最大・最小寸法の平均値を求めた (n=5)。漂白効果の検討は、池見らの方法 (卵殻による漂白効果の評価、日歯保存誌51(4), 2008.) に準じ、被漂白体として褐色鶏卵卵殻を用いた。卵殻に貼付けた1.0mm厚シートに開けた直径5.0mmの穴に、各漂白材を入れ、37度95%の環境下で2時間ごとに漂白材を交換する操作を、7回あるいは14回繰り返した。色差計 松風 ShadeEyeNCC を用い、卵殻の色調を、処置前、7回目および14回目に計測し、色差 ΔE^*ab を算出した。色差 ΔE^*ab は、Fisher 多重比較 ($p<0.05$) で統計的に検討した (n=5)。

【結果】 垂れ試験では、TIOは2時間後に37mm、NWE31mm、OPE15 29mm、OPE4mm、HWX1mmの順に小さくなった。粘度試験では、5秒間の圧接で、TIOが35.9mm、HWXは35.4mm、NWEが32.3mm、OPE30.7mm、OPE15が31.2mmとなった。図は、縦軸に各群の処置7、14回の色差値 ΔE^*ab を示す。図に示すように、14回目のOPE15が最も大きく、次いでHWXの順になった。10%過酸化尿素を含有する群では、HWXが最も大きな色差値を示し、HWXは過酸化尿素15%含有のOPE15と同等な漂白効果が認められた。

【考察】 親水性を改良した試作漂白材HWXと市販漂白材の粘稠度を比較したところ、HWXとOPEが垂れ性が低く、TIO、NWEとOPE15が30mm以上の値を示した。5秒間の粘度試験ではいずれの試料も30.7から35.9mmの間の値を示し、垂れ試験との明確な関連は認められなかった。漂白試験の色差値は、市販のTIO、NWE、OPEの14回目の漂白程度には差がなく、HWXとOPE15は有意に大きな値を示した。

【謝辞】 本研究にあたり、GC(株)社より材料を提供して頂き心より感謝致します。



歯根の外部吸収を伴った下顎第一大臼歯の歯内治療：症例報告

¹松本歯科大学 歯学部 歯科保存学講座、²松本歯科大学 歯学部 歯科放射線学講座

○中村 圭吾¹、宮國 茜¹、岩本 弥恵¹、石田 直之¹、内田 啓一²、吉成 伸夫¹、石原 裕一¹

Endodontic Treatment of a Mandibular First Molar with External Root Resorption: A Case Report

¹Department of Operative Dentistry, Endodontology, and Periodontology, Matsumoto Dental University of Shiojiri, Nagano,

Japan ²Department of Dental Radiology of Matsumoto Dental University of Shiojiri, Nagano, Japan

○KEIGO NAKAMURA¹, AKANE MIYAKUNI¹, EMI IWAMOTO¹, NAUYUKI ISHIDA¹, KEIICHI UCHIDA², NOBUO YOSHINARI¹, YUICHI ISHIHARA¹

【緒言】

歯根の外部吸収は、機械的刺激や炎症に起因することが多い。根尖部が吸収すると、通法での根管長測定やアピカルプレパレーションによる根管治療が困難となる。今回、我々は短期間に著しく歯根吸収を起こした下顎第一大臼歯症例に対して、歯科用CT (3D Accuitomo/モリタ) とMTAを用いて根管治療を行い、良好な治療結果が得られたので報告する。

【症例】

患者は、初診時13歳女性。下顎前突を主訴として2011年6月に松本歯科大学病院矯正科を受診した。2012年9月から2016年4月までマルチブラケット装置により動的矯正治療を行い、2015年3月には上下顎骨切り手術を受けた。その後、下顎右側第一大臼歯の根尖部透過像と歯根吸収が認められたため、2016年4月に同院総合口腔診療部を受診した。患歯に自発痛、打診痛および根尖部圧痛は認めなかった。エックス線写真では、下顎右側第一大臼歯咬合面直下に2次齲蝕、近遠心歯根吸収および根尖部エックス透過像が認められた。なお、2次齲蝕の広がりについて、髄室の狭窄化はあまり認められなかった。患歯は歯髄電気診には正常に反応したため、生活歯と判断し、経過観察することとした。2017年12月に患歯の舌側遠心部に歯肉膿瘍が出現したため、エックス線写真で確認したところ、根尖部透過像は以前より拡大していた。そこで歯科用CT画像にて歯根の吸収程度と根尖病巣との位置関係を精査したところ、遠心根はほとんど吸収されており、遠心舌側根根尖部を原発巣とした根尖病巣と確認された。近心根にも歯根吸収は認められたが、根尖病巣は認められなかった。以上より遠心根の部分的歯髄壊死に伴う慢性化膿性根尖性歯周炎と診断し、感染根管治療を行うこととした。コンポジットレジン充填直下には多量の感染象牙質が認められ、齲蝕検知液とラウンドバーにて慎重に除去した。近心頬側根は通法通り電氣的根管長測定器 (Root ZX/モリタ) で根管長を測定し、#40号まで根管拡大した。残りの歯根は著しく吸収していたため、髄室開放時の髄室底穿孔の対応と同様に化学的清掃と水酸化カルシウム製剤の貼付のみを行った。その後、近心舌側根管、遠心頬側根管および遠心舌側根管については、歯科用CT画像にておよそその歯根長を計測し、根管口から根管内感染象牙質をラウンドバーにて切削・除去した。その後舌側の歯肉膿瘍の消失と、根尖から出血や滲出液を認めなくなったため、根管充填を行うこととした。近心頬側根管は#40号ガッタパーチャポイントと根管シーラーにて側方加圧充填を行った。近心頬側根管以外の根管については、MTAを根管口から穿孔部封鎖のように充填し、グラスイオノマーセメントにて裏層・仮封を行い、自発痛、誘発痛のないことを確認しその後、コンポジットレジン充填を行った。2017年8月に経過観察したところ自発痛、誘発痛はなく、エックス線写真では骨形成を伴う根尖部透過像の縮小と歯根周囲に歯根膜腔様の透過像が認められ良好な予後が得られている可能性が示唆された。

【考察および結論】

矯正治療などの過度な外力に起因する歯根の外部吸収は、その外力を除去することで吸収の停止、そしてセメント質の新生を認めることがある¹⁾。しかし、本症例では外力を除去した後も、2次齲蝕に伴う細菌感染による根尖周囲に炎症により、歯根吸収が持続した。このことは、患者の年齢が若く、根尖周囲での破歯細胞が非常に活性化したためではないかと考えられた。一方、治療の進め方においては、歯髄が生活していたことにより、根管治療を開始する時期が遅くなった点が一番の反省点であり、約1年早く治療を開始していれば、歯根吸収をもう少し抑制できたのではないかと考えられた。遠心根根尖周囲に歯根膜腔が観察されたことは、MTAによるセメント質・歯根膜の再生²⁾によるものではないかと思われた。今後、引き続き経過観察していく予定である。

【参考文献】

1) Cohen S, Burns CR. Pathways of the pulp. 8th ed. Mosby, 2002.

2) Andreas Bartols, et al. First Evidence for Regeneration of the Periodontium to Mineral Trioxide Aggregate in Human Teeth. J Endod. 2017 May;43(5):715-722.

広範なフェネストレーションを認める下顎第一小臼歯に対して意図的再植法を施した一症例

¹福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野

○松本 和磨¹、松崎 英津子¹、赤尾 瑛一¹、西崎 竜司¹、二階堂 美咲¹、中山 英明¹、水上 正彦¹、畠山 純子¹、
松本 典祥¹、泉 利雄¹、中牟田 博敬¹、阿南 壽¹

A Case Report: Intentional replantation of mandibular first premolar with the wide fenestration

¹Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College

○KAZUMA MATSUMOTO¹, Etsuko MATSUZAKI¹, Eiichi AKAO¹, Ryuzi NISHIZAKI¹, Misaki NIKAI¹, Hideaki NAKAYAMA¹,

Masahiko MINAKAMI¹, Junko HATAKEYAMA¹, Noriyoshi MATSUMOTO¹, Toshio IZUMI¹, Hiroyoshi NAKAMURA¹,

Hisashi ANAN¹

【緒言】 日常の臨床で、通常の根管治療を行っても治癒が困難な症例においては、次の手段として外科的歯内療法を選択することがある。今回、歯科用コーンビーム CT (CBCT) 撮影により広範なフェネストレーションを認め、再根管治療を行っても臨床症状が軽減しない下顎第一小臼歯に対して、意図的再植法を施した症例について報告する。なお、発表に際し、患者本人に本症例の主旨を十分に説明し、同意を得ていることを附記する。

【症例】 患者:53 歳、男性。初診:2016 年 7 月。主訴:下顎右側第一小臼歯の排膿及び根尖部圧痛。全身既往歴:特になし。生活習慣:喫煙あり(20 本/日、30 年間)。ブラキシズムあり(ナイトガード装着の既往あり)。現病歴:2010 年、近医にて 44 の抜髄処置を施され全部鋳造冠の装着。2013 年、44 の根尖部歯肉腫脹により近医にて感染根管治療後、全部鋳造冠の装着。2016 年 4 月、再び 44 の根尖部圧痛を自覚し、近医にて再感染根管治療を開始したが、根管内の排膿が改善しないため、同年 7 月福岡歯科大学医科歯科総合病院保存科を受診。臨床所見:44 は自発痛(-)、咬合痛(-)、打診痛(+)、根尖部圧痛(+)、根管からの排膿(+)、瘻孔(-)であった。歯周ポケットは全周 2mm、動揺なし。エックス線所見:44 の根尖周囲に類円形の透過像を認めた。CBCT 所見:44 の遠心側から 45 に及ぶ広範なフェネストレーションを認めた。同部位の中指頭大の透過像は 45 の根尖近くまで拡大しており、病変に近接してオートガイ孔が開いていた。診断:44 難治性根尖性歯周炎(歯根嚢胞の疑い)

【治療】 マイクロスコープ下にて 44 の感染根管治療を開始したところ、根尖孔部は #70 まで過剰に拡大されていた。抗菌薬の投与とともに頻繁な根管洗浄を基にした根管治療を行った。しかしながら、治療開始から 3 カ月経過しても根管内からの排膿は消失しなかった。さらなる根管拡大は歯質の菲薄化を招く可能性があることから、外科的歯内療法を選択することとした。CBCT 像から 44 根尖部には幅 10mm の広範な開窓が認められ、病変に近接してオートガイ孔が開いていたことから、意図的再植法を選択した。根管充填後、歯根膜の保存を考慮し、鉗子のみで注意深く 44 の抜歯を行い、抜歯窩を搔爬した。根尖は約 4mm 切除した後、抜歯窩に再植し糸にて固定した。術後 2 週で抜糸を行い、生着を確認した。3 カ月後、44 は動揺度 1 度、打診痛(-)、根尖部圧痛(-)、エックス線上で歯根外部吸収あるいはアンキローシスの所見を認めなかったため、プロビジョナルレストレーションを施した。10 カ月後、臨床症状は認められなかったため 44 硬質レジンジャケット冠の装着を行い、現在まで予後良好に経過している。

【考察ならびに結論】 本症例では病変部に広範囲にわたる上皮の侵入と根尖部歯根膜の破壊が推測されたため、抜歯後の徹底的な病変搔爬を行うとともに意図的再植法を施した。現在まで 44 の排膿及び根尖部圧痛は消失するとともに知覚麻痺などの偶発症は認められず良好な予後を辿っている。広範なフェネストレーションを認める下顎小臼歯部の難治性根尖性歯周炎における意図的再植法の有用性が示唆された。

薬剤関連顎骨壊死から歯髄疾患を生じたと思われる一症例

¹朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

²朝日大学歯学部口腔病態医療学講座口腔外科学分野

○木方一貴¹, 住友伸一郎², 田中雅士¹, 服部真丈¹, 堀 ちなみ¹, 三上恵理子¹, 加藤友也¹,
長谷川智哉¹, 堀 雅晴¹, 瀧谷佳晃¹, 河野 哲¹, 吉田隆一¹

A Case of pulp disease caused by medication related osteonecrosis of the jaw

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

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Division of Oral Pathogenesis and Disease Control
Asahi University School of Dentistry

○Kazuki Kihō¹, Shinichiro Sumitomo², Masashi Tanaka¹, Masahiro Hattori¹, Chinami Sakai¹, Eriko Mikami¹,
Tomoya Kato¹, Tomoya Hasegawa¹, Masaharu Hori¹, Yoshiaki Takitani¹, Satoshi Kawano¹, Takakazu Yoshida¹

【緒言】

ビスフォスフォネート製剤(以下 BP 製剤)は、破骨細胞を抑制することにより骨吸収を阻害する薬剤で、骨転移を有するがん患者及び、骨粗鬆症患者に用いられてきた。2003 年の Marx らによる報告以降、BP 製剤及びそれに類似した作用を有する薬剤を投与されている患者に、顎骨壊死を引き起こす報告が多数なされている。これらの症例の多くでは拔牙等の外科的処置が発症の誘因となっている。

今回長期経口 BP 製剤内服患者において、拔牙等の歯科的侵襲がないにも関わらず顎骨壊死を起こし、継発症として歯髄疾患を生じたと思われる症例を報告する。

【症例】

患者は 79 歳、女性。骨粗鬆症により 10 年間 BP 製剤を内服。43]部の疼痛を主訴に近医を受診。急性歯周炎と診断され、ブラッシング指導にて経過観察するも改善なく、3]の打診痛増悪したため、根管治療を実施した。根管治療後は疼痛軽減するも、歯肉に瘻孔を形成し排膿していたため、切開・排膿処置を行ったとのこと。その後も軽度自発痛及び瘻孔からの持続的排膿が改善しないため当院口腔外科に紹介により来院した。口腔外科にて再度切開・排膿処置及び抗菌薬の静注を行った。瘻孔からの排膿は軽減するも消失しないため、口腔外科より 3]の根管治療の依頼があり、保存科を受診された。

【治療経過】

保存科初診時、1]間及び 3 2]間に瘻孔を認めた。3]以外は歯髄電気診に反応し、打診痛及び圧痛は認めなかった。上顎前歯部は歯周ポケットが 4~5mm あるも、歯周ポケットからの排膿は認めなかった。瘻孔からガッタパーチャーポイントを挿入しデンタルエックス撮影を行ったところ、1]間歯槽骨及び 2]根尖部にガッタパーチャーポイントが到達。2]は生活歯であるため、歯牙由来での排膿でない可能性を説明し、3]の根管治療を開始した。初回治療時、根尖部付近にてファイル挿入時の疼痛を訴えたため、根尖性歯周炎による排膿ではないと判断し、CT 撮影を行った。CT では、1]近心から 4]近心にかけての骨梁の骨密度が低下しており、その内部には腐骨を疑う像を認めた。追加で、骨シンチグラフィ検査を行ったところ、上顎右側前歯部の集積像を得た。BP 製剤内服の既往と、画像所見より薬剤関連顎骨壊死(以下 MRONJ)と診断した。初診より 3 か月後の再診時に、再度歯髄電気診にて確認したところ、2 1]の歯髄生活反応が消失していたため、2 1]も併せて感染根管治療を行い、根管充填、CR 充填後経過観察を行った。

初診より 9 か月後に再度 CT 撮影した所、骨欠損の範囲が拡大しており、腐骨の分離を認めたため、当院口腔外科にて摘出、搔爬を実施。現在も経過観察を行っている。

【結論】

本症例では 3]の根尖性歯周炎の可能性を疑うも、根尖部歯髄に生活反応が認められたため、追加の画像診査を行い、MRONJ の診断に至った。診断後、再度隣在歯の歯髄電気診を行った所、2 1]の歯髄反応は消失していた。これにより、3]の前医での治療理由も 2 1]同様の逆行性により感染を生じた歯髄疾患であったと推測される。今回の症例を通し、長期間の BP 製剤内服患者では、拔牙等の歯科的侵襲がなくても MRONJ に罹患し、継発症として歯髄疾患を引き起こす可能性が示唆された。

上顎左右両側側切歯に認められた歯根嚢胞の一症例

¹浦添総合病院 歯科口腔外科、²徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯周歯内治療学分野

○梶浦 由加里¹、二宮 雅美²、生田 貴久²、LEW JUNG HWAN²、木戸 淳一²、永田 俊彦²

A Case Report of Radicular Cysts in Maxillary Both Lateral Incisors

¹Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Urasoe General Hospital, Urasoe, Japan ²Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School, Tokushima, Japan

○YUKARI KAJIURA¹, MASAMI NINOMIYA², TAKAHISA IKUTA², JUNG HWAN LEW², JUNICHI KIDO², TOSHIHIKO NAGATA²

【緒言】 歯根嚢胞は顎骨に発生する歯源性嚢胞のなかで最も頻度の高い嚢胞であり、特に上顎側切歯に多くみられる。歯根嚢胞は慢性根尖性歯周炎に続発して発症し、ほとんど無症状に経過するため、局所の歯肉腫脹や排膿といった急性症状を自覚した段階では、すでに進行していることが多い。特に、上顎骨は皮質骨が薄く上顎洞や鼻腔といった空間に囲まれる解剖学的形態を呈するため、病変が容易に拡大しやすく、しばしば良性歯源性腫瘍との鑑別が必要となることもある。今回我々は、徳島大学病院歯科第二保存科を受診した患者で、左右両側の上顎側切歯に歯根嚢胞が形成されている症例に遭遇したため、その治療経過を含めて報告する。

【症例】 患者は58歳男性。2015年7月に上顎前歯部の歯肉腫脹、排膿を主訴として近医を受診した。そこで撮影したデンタルX線写真にて、12根尖部を中心とした境界明瞭なX線透過像がみられ、11根尖部にまで及んでいるのが認められた。消炎のために抗生剤の投与と感染根管治療が継続して行われたが、同部位の病巣が大きく根管からの排膿が持続するという事で、2015年11月に本院第二保存科へ紹介となった。全身既往歴は、高血圧にて投薬治療を受けている。家族歴に特記事項はない。当科初診時、12、11部の唇口蓋側歯肉に軽度腫脹と羊皮紙様感を認めたが、根管からの排膿はおさまっていた。当科にて撮影したパノラマX線写真では、12、11部に切歯管および鼻腔底に近接した拇指頭大のX線透過像を認めた。反対側の22根尖部にも径6mm大の境界明瞭な類円形のX線透過像を認めた。CT画像では、12部の病巣により12、11部の唇口蓋側皮質骨が菲薄化し、唇側皮質骨には大きな骨欠損も認められた。切歯管は12部の病巣に接し、右側壁は一部消失して左方に偏位していた。また、反対側22部の病巣により唇側皮質骨が菲薄化し、部分的に皮質骨の欠損が認められた。以上の検査結果から、臨床診断名は12～11部、22部の歯根嚢胞とした。

【治療経過】 嚢胞摘出術を行う前に、12、11、22部の感染根管治療を行った。感染根管治療中に12、22部の歯肉腫脹は認められなかったが、22部の根管内から少量排膿を認めた。2016年3月に12、11、22部の根管充填を行い、翌日に鎮静麻酔下にて嚢胞摘出術を行った。患部の局所麻酔を行い歯肉弁を剥離すると、12、11、22部の唇側皮質骨は大きく欠損していた。骨面と嚢胞壁との境界を丁寧に剥離したところ、12部は拇指頭大、22部は小指頭大の嚢胞が摘出された。病巣に接していた12、11、22根尖をダイヤモンドポイントで切除し、スーパーボンドで封鎖後、歯肉弁を復位して縫合した。術中に摘出した検体の病理組織所見では、12、22部ともに炎症細胞浸潤を伴うに肉芽および線維性結合組織からなる嚢胞壁が確認された。術後数日は患部歯肉の軽度腫脹や疼痛がみられたが、10日後に症状は消失した。術後6か月のX線写真では、初診時と比較して左右側ともに歯槽骨の回復が認められ、病巣の縮小傾向が確認された。現在、術後1年以上経過したが、病巣の再発は確認されていない。術後1年目のCT画像では、初診時と比較して22部の皮質骨の回復が認められ、12部も唇側皮質骨の一部に骨欠損が残存しているものの、骨の回復所見が認められた。

【まとめ】 本症例は、比較的まれと思われる両側性の歯根嚢胞の症例である。問診およびX線所見から、12部は10年以上前に行った不十分な根管治療が原因で、徐々に病巣が大きく進行したものと推測される。22部は数年前に行った支台歯形成後に歯髄が失活し、病巣が進行したものと推測され、感染の経過年数によって病巣の大きさに差が生じたものと思われる。12部の病巣は2～3歯相当分の大きさが認められたため、一度開窓して病変を縮小することを検討した。しかし、施術前には根管からの排膿が少量となって減圧が図られていたため、鼻腔形成法にて12部の嚢胞を摘出する方法を選択した。術後1年のCT画像にて12部にはまだ一部骨欠損が残存しているため、今後も引き続き長期的経過観察を行っていく予定である。

Enamel Matrix Derivative の血管新生・組織誘導効果

¹明海大学 機能保存回復学講座 保存治療学分野

○中村 裕子¹、宍戸 健宏¹、吉川 智也¹、横瀬 敏志¹

Effect of Enamel matrix to angiogenesis and connective tissue induction

¹Division of Endodontics and Operative Dentistry Department of Restorative and Biomaterials Sciences

Meikai University School of Dentistry

○YUKO NAKAMURA¹, TAKEHIRO SHISHIDO¹, TOMOYA YOSHIKAWA¹, SATOSHI YOKOSE¹

【目的】 エナメルマトリックスタンパク質 (EMD) は、歯周疾患に罹患した患者に対する外科的手術に用いることで、セメント質形成と歯根膜再生を促進し、歯周組織再生において良好な治療成績をあげることが知られている。EMD の組織再生には、血管誘導や細胞遊走促進作用があるのではないかと報告もある。演者らは、歯髄の創傷治癒と再生に応用することを目的として、EMD の血管新生効果についてこれまで報告を行ってきた。一方、歯髄再生療法においては、新鮮な血液供給のために根尖孔を拡大することが推奨されている。しかし、根尖孔の大きさについて詳細に検討した報告は少ない。今回、基礎的な検討として、内径の異なるシリコンチューブ内に EMD を挿入して、チューブ内への血管組織の侵入について検討を行った。さらに、ヒト抜去歯を用いた EMD による根管腔への組織誘導について検討を行ったので報告する。

【方法】 全ての実験は、明海大学倫理規定に従って行われた。

1) 実験には、内径 0.5, 1.0, 1.5 および 2.0mm シリコンチューブを用いた (n=6)。一方の開口部を封鎖し、もう一方の開口部から、EMD、FGF-2 およびプロピレングリコール (PG) を挿入し、ラット背部皮下組織に挿入した。7 日間経過後に試料を摘出し、内径の違いと各試薬による血管および組織の侵入について比較した。

2) ヒト抜去歯の歯冠部を歯頸部下で除去し、根尖孔 1.0mm となるように根管形成した。歯冠方向の開口部を MTA セメントにて閉鎖し、根管内に EMD を挿入した後ラット背部皮下組織に挿入した。4 週間後摘出した試料と内部に侵入した組織対して形態学的に検討した。比較には PG を用いた (n=5)。

【成績】

1) EMD, FGF 添加のシリコンチューブでは、内径の大きいもののほど血管様組織の侵入が高い傾向が認められた。しかし、0.5mm チューブにおいても組織の侵入が認められた。

2) EMD を挿入した抜去歯の根管には、血管組織を含んだ組織の侵入が認められた。PG 群では、わずかな組織侵入と炎症性の細胞浸潤が認められた。

【結論】 今回の実験結果では、EMD, FGF を添加したシリコンチューブにおいて、血管を含んだ組織の侵入が認められた。根尖孔を想定し、早期に豊富な血液供給を誘導するためには、内径大きさを考慮する必要があるのではないかと示唆された。EMD を挿入した抜去歯根管腔に組織の侵入が認められたことから、EMD による血管や組織誘導効果や根管壁への足場的な効果が生じたためではないかということが示唆された。

MTA セメントの黒変が生物学的安全性におよぼす影響

¹YAMAKIN 株式会社、²北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 生体材料工学分野、

³高知大学医学部 歯科口腔外科学講座

○松浦 理太郎¹、加藤 喬大¹、遠藤 一彦²、山本 哲也³

Influence of black discoloration in MTA cement on biological safety

¹YAMAKIN Co., Ltd. ²Division of Biomaterials and Bioengineering, School of Dentistry, Health Science University of Hokkaido ³Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kochi Medical School, Kochi University

○Ritaro Matsuura¹, Takahiro Kato¹, Kazuhiko Endo², Tetsuya Yamamoto³

【目的】

ケイ酸カルシウム系セメント (MTA セメント) は、優れた抗菌性、封鎖性、生体親和性および硬組織誘導性を有し、直接覆髄、穿孔封鎖あるいは逆根管充填などに利用されている。近年、口腔内で用いられた MTA セメントによって、歯質に変色を生じる問題が報告されている。前大会において、酸化ビスマス配合した試作 MTA セメントの露光による黒変の発生について報告した。この変色の原因として、X線造影剤として用いられる酸化ビスマスの還元 ($\text{Bi}_2\text{O}_3 \rightarrow \text{Bi}$) などが推察されている¹⁾。一方、MTA セメントの黒変による生物学的安全性に対する影響は、ほとんど報告されていない。そこで本研究では、表面に黒変を生じさせた酸化ビスマス含有 MTA セメントが、1) 溶出元素、2) 細胞毒性におよぼす影響について検証したので報告する。

【材料および方法】

白色ポルトランドセメントに対して酸化ビスマスを 20 mass% 混合した試作 MTA セメント粉末を調整し、水分率 20 mass% で練和したものをシリコーン製の型に充填し、24 時間硬化させた (37°C, 相対湿度 100%)。簡易的に酸素を遮断するために試料の表面をグリセリンにて被覆後、LED 照射機で 180 秒照射し黒変試料 (Bi-black) を作製した。硬化後、グリセリン塗布のみで光照射を行わなかった黒変のない試料を対照試料 (Bi-n) とし、溶出試験と細胞毒性試験を行った。また、比較のために粉末に酸化ジルコニウム (Zr-n) を 20 mass% 配合した試料を用いた。

1) 溶出試験：試料を 0.1 M 乳酸と 0.1 M 塩化ナトリウムの混合液に浸漬し (1 mL/cm²)、37°C で 7 日間静置した。試料回収後、浸漬液中の溶出成分を ICP 発光分光分析法によって測定した。

2) 細胞毒性試験：ヒト単球性白血病細胞株 (THP.1 細胞) を RPMI1640 培地にて 10.0×10^4 cells/mL に調製し細胞懸濁液とした。24 穴培養プレートのウェルに試料を設置し、細胞懸濁液を 1 mL 添加後、炭酸ガスインキュベーター (5% CO₂, 37°C) 内にて 72 時間培養した。培養後の細胞数を血球計算盤にてカウントした。

【結果および考察】

溶出試験：Bi-black および Bi-n のいずれからも、ビスマス、ホウ素、ナトリウム、カルシウム、マグネシウム、ケイ素、ストロンチウム、バリウムの溶出が認められた。また、Bi-n と比較して Bi-black から溶出したビスマスの溶出量は、若干高い傾向を示した。

細胞毒性：細胞数は、Zr-n > Bi-n > Bi-black の順であり、本試験において酸化ビスマスより酸化ジルコニウムが細胞に対する影響が少ないこと、酸化ビスマス配合試料に生じる黒変が細胞増殖に影響をおよぼすことが示唆された。

1) Vallès M, et al. Color stability of white mineral trioxide aggregate. *Clinical oral investigations*, 2013, 1-5.

機械刺激センサーTRPV4 を介する象牙芽細胞様細胞(KN-3)における石灰化機構の解明

¹福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野、²福岡歯科大学 生体構造学講座 機能構造学分野、

³九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野

○畠山 純子¹、畠山 雄次²、松本 典祥¹、水上 正彦¹、松崎 英津子¹、泉 利雄¹、鷲尾 絢子³、諸富 孝彦³、
北村 知昭³、阿南 壽¹

Mechano-sensor TRPV4 contributes to mineralization in odontoblast-like cells(KN-3)

¹Operative Dentistry and Endodontology, Fukuoka Denatal College, Fukuoka, Japan ²Departments of Molecular Cell Biology and Oral Anatomy, Fukuoka Dental College, Fukuoka, Japan ³Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University, Kitakyushu, Fukuoka, Japan

○JUNKO HATAKEYAMA¹, YUJI HATAKEYAMA², NORIYOSHI MATSUMOTO¹, MASAHICO MINAKAMI¹, ETSUKO MATSUZAKI¹, TOSHIO IZUMI¹,
AYAKO WASHIO³, TAKAHIKO MOROTOMI³, CHIAKI KITAMURA³, HISASHI ANAN¹

【目的】 歯にメカノストレスが加わると、その生体反応により象牙質の石灰化が認められる。この反応性象牙質石灰化過程において、象牙細管にカルシウムが送り込まれるが、その作用機序は不明であった。近年、そのメカニズムの一端をになう要素として、象牙芽細胞の細胞膜に存在するナトリウム・カルシウム交換体が示された。一方、象牙芽細胞にメカノセンサーである TRPV チャンネルが存在し、石灰化過程において機能的な働きをしている可能性が報告された。これらの研究から、メカノストレス受容による TRPV チャンネルの活性化により、象牙芽細胞により象牙質にカルシウムの排出がなされ、反応性象牙質形成が起こると、予想される。しかしメカノストレス受容による象牙質の基質分泌および、象牙芽細胞動態に与える影響についての詳細な知見は、いまだ得られていない。そこで我々は、メカノストレスにより活性化されることが知られている TRPV4 チャンネルに着目し、象牙芽細胞において TRPV4 刺激を与えたときの石灰化の程度を検討した。

【材料と方法】 本研究では、ラット歯髓由来象牙芽細胞様細胞株、KN-3 細胞 (九州歯科大学口腔保存治療学分野 北村知昭教授より供与) を用いた。KN-3 細胞における TRPV4 の発現を、PCR および蛍光免疫組織化学法を用い確認した。TRPV4 動態の KN-3 細胞増殖に与える影響を検討するために、TRPV4 の抑制剤である RN1734、または促進剤である 4 α -PDD (4 α -Phorbol 12,13-Didecanoate) を用いた。それぞれの薬剤を細胞培地に添加培養後、1, 2, 3, および 4 日後に細胞増殖試験を行った。またコンフルエント後、石灰化誘導培地(Ascorbic Acid, 50 μ g/ml および β -glycerophosphate, 10 mM を添加した。)に RN1734 または 4 α -PDD を添加して培養後 3 および 7 日後に ALP 活性を、また、2 日ごとに培地交換し 28 日後にアリザリンレッド染色を行い、TRPV4 の象牙芽細胞石灰化能に与える影響について評価した。

【結果と考察】 PCR 法および蛍光免疫組織化学法にて KN-3 細胞に TRPV4 が発現することを認めた。4 α -PDD、または RN1734 の添加により、KN-3 細胞の細胞増殖に差は認められなかった。KN-3 細胞への TRPV4 促進剤である 4 α -PDD の添加により、アリザリンレッド染色において有意な石灰化の促進を示し、またアルカリフォスファターゼ活性の増加も認めた。しかし TRPV4 抑制剤である RN1734 の添加では、アリザリンレッド染色による石灰化の促進は認められず、アルカリフォスファターゼ活性の抑制を認めた。これらのことから、メカノセンサー TRPV4 は象牙芽細胞様細胞の硬組織形成に関与する可能性が示唆された。

細胞封入デバイスから持続的に供給される GDNF による象牙芽細胞様細胞生存の増強

¹九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野、²広島大学大学院 医歯薬保健学研究院 歯髄生物学研究室、

³Gloriana Therapeutics Inc.

○宮下 桂子¹、西藤 法子²、諸富 孝彦¹、鷲尾 絢子¹、Wahlberg Lars³、Emerich Dwaine³、北村 知昭¹

Enhancement of Odontoblast-like Cell Survival by Sustained Delivery of GDNF from Cell-Encapsulated Device

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Science of Oral Functions, Kyushu Dental University, Fukuoka, Japan ²Department of Biological Endodontics, Institute of Biomedical & Health Science, Hiroshima University, Hiroshima, Japan ³Gloriana Therapeutics Inc., USA

OKEIKO MIYASHITA¹, NORIKO SAITO², TAKAHIKO MOROTOMI¹, AYAKO WASHIO¹, LARS WAHLBERG³, DWANE EMERICH³, CHIAKI KITAMURA¹

【目的】歯髄の局所的再生療法には残存歯髄の細胞生存に必須の因子を再生療法のプロセスにおいて持続的に供給するシステムが必要である。成長因子等の持続的供給システムとして細胞を多孔性カプセルに封入したデバイスを生体内移植する治療法 (Encapsulated Cell Therapy; ECT) について数多くの成果が報告されている。ECT は特定因子をデバイスから持続的に供給することで疾患の進行を抑制する方法である。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治療用デバイスが米国 Gloriana Therapeutic 社により開発されている。本デバイスには VEGF を分泌するヒト網膜色素上皮細胞 (ARPE19 細胞) から GDNF を恒常的に分泌するよう遺伝子改変された細胞が充填 (GDNF 分泌デバイス) されており、細胞が分泌する GDNF がデバイス表面の微小孔から生体局所に溶出するように設計されている。これまでに我々は GDNF 分泌デバイスから持続的に分泌される GDNF が象牙芽細胞様細胞の生存能に与える影響について報告してきた (西藤ら, 第 146 回日本歯科保存学会春季学術大会)。今回、細胞封入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】実験には Gloriana Therapeutic 社より供与された 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 (ARPE デバイス) (直径 0.4-0.7mm、長さ 4.0-7.0mm) 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切歯歯髄より樹立した象牙芽細胞様細胞株 (KN-3 細胞) を用いた。KN-3 細胞は α MEM 培地にて FBS 存在下で継代維持した。KN-3 細胞を 24-well plate に 3×10^3 cells / well 播種し 24 時間 (10%FBS 含有 α MEM) 培養後、培地をデバイスから分泌された各成長因子 (GDNF, VEGF) を含む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 日間培養後、Trypan Blue 染色により生細胞数を測定した。VEGF 阻害剤として soluble Flt-1 (recombinant human VEGF R1/Flt-1 Fc Chimera, R&D systems), GDNF 阻害剤として soluble GFR α -1 (recombinant Rat GFR α -1 Fc Chimera, R&D systems) 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。

【結果】各デバイスの維持培地で 7 日間、0.1%FBS という低血清下で KN-3 細胞を培養したところ、刺激細胞群では細胞生存・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。次に、soluble Flt-1 (VEGF 阻害剤) で ARPE デバイスの維持培地を前処理したところ生存細胞数は有意に減少したが、GDNF 分泌デバイスの維持培地を soluble Flt-1 で前処理しても生存細胞数の減少は認められなかった。一方、soluble GFR α -1 (GDNF 阻害剤) で GDNF 分泌デバイスの維持培地を前処理したところ、生存細胞数は有意に減少していた。

【考察】治療用として開発された GDNF 分泌デバイスの維持培地には大量に分泌された GDNF と少量の VEGF が含まれている。今回得られた結果は、GDNF 分泌デバイスから分泌される GDNF および VEGF が低血清状態における象牙芽細胞様細胞の生存維持に重要な役割を果たしていること、特に GDNF が象牙芽細胞の生存維持に主要な役割を果たしていることを示唆している。

【結論】象牙芽細胞様細胞の生存能・増殖能には、GDNF 分泌デバイスから分泌される GDNF および VEGF のうち、主として GDNF が関与することが示唆された。

セレコキシブの BMP シグナル阻害を介した骨芽細胞分化抑制

¹九州歯科大学 歯学部 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野

○松山 篤史¹、鷲尾 絢子¹、諸富 孝彦¹、北村 知昭¹

The inhibition of osteoblast differentiation by Celecoxib through the inhibition of BMP signaling.

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental

University, Kitakyushu, Japan

○ATSUSHI MATSUYAMA¹, AYAKO WASHIO¹, TAKAHIKO MOROTOMI¹, CHIAKI KITAMURA¹

【目的】非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) はシクロオキシゲナーゼ (COX) を阻害することによりアラキドン酸からプロスタグランジン (PG) 類の合成を阻害して、解熱・鎮痛・抗炎症作用を現し、医療現場で頻繁に用いられている。一方、NSAIDs には COX-2 選択的阻害薬セレコキシブの抗腫瘍活性など、解熱・鎮痛・抗炎症以外の作用を有するものも少なくない。このような作用は一部の NSAIDs で認められることから、COX 阻害を介さない作用機序の存在が予想される。本研究では、NSAIDs の新規標的の同定を目指し、骨芽細胞分化をモデルシステムとして用いて、NSAIDs の COX 阻害以外の効果の有無について検討した。

【材料および方法】マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 を α MEM で継代培養し、10 mM β -グリセロリン酸、50 μ g/ml アスコルビン酸を添加した培地により分化を誘導した。分化誘導培地は2日毎に交換し、誘導開始7日目に ALP 活性の測定、21日目にアリザリンレッド染色を行い、骨芽細胞分化の程度と骨基質の沈着を評価した。各 NSAIDs (セレコキシブ、バルデコキシブ、ジクロフェナク、エトドラク) を分化誘導培地に添加し影響を調べた。細胞内シグナル経路への影響は MC3T3-E1 及びマウス筋芽細胞株 C2C12 を用い、抗リン酸化抗体 (Smad1/5) を使用したウエスタンブロット法により解析した。細胞増殖は WST-8 アッセイを用いて評価した。関連遺伝子の発現量は細胞から調製した総 RNA を用いた RT-PCR 法で解析した。MC3T3-E1 からの PGE2 分泌量は培養上清を回収して ELISA 法 (Cayman chemicals) で分析した。

【結果】MC3T3-E1 の骨芽細胞分化において、セレコキシブ及びバルデコキシブは分化に伴う ALP 活性の上昇および骨基質の沈着を強く抑制したがジクロフェナク及びエトドラクは影響しなかった。COX 阻害活性を持たないセレコキシブ誘導体 2,5-dimethyl (DM)-セレコキシブも ALP 活性の上昇及び骨基質の沈着を抑制した。MC3T3-E1 においてセレコキシブ及び DM-セレコキシブは BMP-2 刺激によって惹起される Smad のリン酸化を抑制した。BMP 受容体を構成する Bmpr1a および Bmpr2 の mRNA 発現は、セレコキシブおよび DM-セレコキシブの影響を受けなかった。

【考察】セレコキシブによる骨芽細胞分化抑制では COX 阻害効果との相関を認めず、COX を阻害しない DM-セレコキシブも、セレコキシブと同等に骨芽細胞分化を抑制していることがわかった。PGE2 添加により、セレコキシブの骨芽細胞分化抑制は部分的に回復した。以上より、セレコキシブによる骨芽細胞分化抑制は、COX 抑制に非依存的な作用を介することが強く示唆された。またセレコキシブは Smad 1/5 のリン酸化を抑制していたことから、セレコキシブによる骨芽細胞分化の抑制には BMP シグナル阻害を介した作用が示唆される。

【結論】骨芽細胞分化モデルを用いた実験から、NSAIDs のうち、セレコキシブは COX 阻害以外の作用機序を通じて細胞機能を修飾することがわかった。今後はセレコキシブの COX 以外の直接的なターゲットを明らかにすることで、副作用の軽減や、抗がん剤などとしての利用法の開発が進む。

*in vivo*研究における新規Bioactive Glass 配合根管用シーラーの根尖歯周組織に対する影響

¹九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野

○諸富 孝彦¹、花田 可緒理¹、鷲尾 絢子¹、吉居 慎二¹、北村 知昭¹

In vivo study for effect of newly-developed bioactive glass root canal sealer on periapical tissue

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Science of Oral Functions, Kyushu Dental University, Kitakyushu, Japan

○TAKAHIKO MOROTOMI¹, KAORI HANADA¹, AYAKO WASHIO¹, SHINJI YOSHII¹, CHIAKI KITAMURA¹

【目的】根管用シーラーに求められる性質は気密性や封鎖性、操作性、接着性、エックス線不透過性、安定性、除去の容易性、そして組織親和性を有することなど多岐にわたるが、現時点で全ての所用性質を高次元で満たす製品が存在するとは言えない。我々は、骨伝導性や高い組織親和性を有しており骨補填材料等に用いられる Bioactive glass (生体活性ガラス: BG) の優れた性質に着目し、国内企業と共に開発した BG 配合根管用シーラー (BG 配合シーラー) の *in vitro* および *in vivo* による性能評価を行ってきた。本研究ではラット臼歯抜髄根管充填モデルを用いて適正な根管形成、またはオーバーインスツルメンテーションにより歯周組織に機械的刺激を与える過剰根管形成後に根管充填を行い、それぞれの条件下における BG 配合シーラーの根尖周囲歯周組織への影響を病理組織学的に比較検討した。

【材料および方法】本研究は九州歯科大学動物倫理委員会の承認を得て行った (実験承認番号: 14-016)。雄性 7 週齢の Wistar 系 SPF ラットに全身麻酔を施し専用固定台に固定後、スチールラウンドバー (#1/2) を用いて上下顎の左右第一臼歯の髓室開拡大を行った。ファイルで遠心根を抜髄後、作業長 3.5 mm (上顎: 適正群), 5.0 mm (下顎: 過剰群) で #25 のサイズまで根管拡大し形成を行った。EDTA 製剤、次亜塩素酸 Na 製剤および滅菌生理食塩水にて根管内を洗浄し、ペーパーポイントで根管内を乾燥させ、BG 配合シーラーおよび比較群として酸化亜鉛非ユージノール系根管シーラー (非 E-Z シーラー) を左右無作為に充填した。髓室は接着性レジンセメントにて封鎖し、咬合による影響を避けるため対合歯を削合した。術後 1 週および 3 週目に全身麻酔下で灌流固定 (4% パラホルムアルデヒド/PBS) を行った後に上下顎骨を摘出し、Morse's 法による脱灰の後に通法通りパラフィン包埋を行い 6 μ m 厚の連続切片を作成した。切片はヘマトキシリン-エオジン重染色を施した後、光学顕微鏡を用いて観察した。また、半定量的に根尖周囲歯周組織の変化を分析するため、根尖部周囲歯槽骨吸収部位の幅径および根尖部歯根外表面セメント質厚さを画像解析ソフトウェア Image J により計測した。

【結果】オーバーインスツルメンテーションにより根尖周囲の歯周組織に強度の機械的刺激を与えた後に根管充填を行った群では、術後 1 週で BG 配合シーラー充填群および非 E-Z シーラー充填群とも好中球を中心とした炎症性細胞の浸潤が根尖周囲歯周組織の広範囲で顕著に確認され、根尖孔付近の炎症性細胞数には両群間で有意差を認めなかった。3 週では炎症性細胞の浸潤範囲が両群とも 1 週と比較して縮小し、その数も減少傾向を示した。根尖周囲歯周組織の歯槽骨吸収範囲は 1、3 週とも両群間に統計解析上の有意差は認められなかったが、BG 配合シーラーではこの期間に歯槽骨吸収範囲の幅径が有意に減少していた。一方、非 E-Z シーラー充填群では有意差が認められなかった。根尖部外表面セメント質の厚さは、術後 1 週では BG 配合シーラー充填群が非 E-Z シーラー充填群より有意に肥厚していた。経時的変化では、BG シーラー充填群でセメント質厚さが有意に増加していたが、非 E-Z シーラー充填群では有意な増加は認められなかった。両群共に、硬組織による根尖孔の閉鎖は確認されなかった。その一方で、根管形成を根管内に留めた後に根管充填を行った群では術後 3 週において、BG 配合シーラー充填群および非 E-Z シーラー充填群の両群ともに根穿孔が硬組織により閉鎖された所見が確認された。

【考察】本研究より、BG 配合シーラーは臨床で高頻度使用される既存の材料のうち比較的生体親和性が高いとの報告がなされている非 E-Z シーラーと比較しても、同程度の組織親和性を示した。また BG 配合シーラーは過剰な根管形成により根尖孔外の歯周組織に機械的刺激を与えた後、根尖孔付近の硬組織形成を誘導し根尖孔の閉鎖を促進する可能性が示された。以上の結果から、BG 配合シーラーは動物実験系においても根管用シーラーとしての良好な性質を有することが示唆された。

【結論】新規生体活性ガラス配合根管用シーラーの生体親和性と根管充填材料としての有用性が示唆された。

コレステロール結晶はNLRP3 インフラマソームを活性化してマウスマクロファージにおける IL-1 β 産生と破骨細胞形成を促進する

¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病学分野
○樋口 賀奈子¹、吉村 篤利¹、白石 千秋¹、原 宜興¹

Cholesterol crystal-induced NLRP3 inflammasome activation promotes IL-1 β production and osteoclast formation in mouse macrophages

¹The Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan
○KANAKO HIGUCHI¹, ATSUTOSHI YOSHIMURA¹, CHIAKI SHIRAIISHI¹, YOSHITAKA HARA¹

【目的】

根尖性歯周炎は、根管からの細菌侵襲に対しての生体防御反応として生じ、根尖周囲の骨吸収を伴う。歯根肉芽腫や歯根嚢胞などの難治性根尖性歯周炎に罹患した歯から外科的に採取した根尖病巣部には、組織学的にしばしばコレステロール結晶が観察される。根尖性歯周炎の18~44%にコレステロール結晶が観察され、その周囲にはマクロファージや異物巨細胞が集積し、IL-1 β などの種々の炎症性サイトカインを産生する。しかしながら、これらの細胞はコレステロール結晶を分解することはできず、持続的な炎症の原因の一つとなる。ところで、IL-1 β の産生は、転写レベルと蛋白レベルの2段階で制御されている。細菌がTLRなどにより認識されると、NF- κ Bが活性化され、IL-1 β 前駆体が合成される。さらにマクロファージが結晶粒子等を貪食すると細胞質内にNLRP3 インフラマソームと呼ばれるタンパク複合体が形成され、IL-1 β 前駆体が切断されて活性型IL-1 β として機能するようになる。IL-1 β は骨吸収に促進的に作用することが知られていることから、我々は根尖周囲に浸潤して根尖孔由来の細菌刺激を受けたマクロファージではIL-1 β 前駆体が合成されており、さらにコレステリン結晶による刺激を受けるとNLRP3 インフラマソームが活性化され、IL-1 β を産生することによって破骨細胞の形成を促進するのではないかと仮説を立てた。本研究では、LPSで前処理したマウスマクロファージをコレステロール結晶で刺激し、IL-1 β 産生の有無と破骨細胞形成への影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】

1. コレステロール結晶の調整

高純度コレステロールを加熱したアセトンに溶解した後、冷却して結晶化させた。溶解と再結晶化を6回繰り返し、最後に10%精製水を加えて水和結晶を調整した。

2. コレステロール結晶によるマウスマクロファージの刺激

C57BL/6 (野生型) およびNLRP3 欠損マウス由来不死化マクロファージ (1×10^5 /well) を96穴プレートに播種し、*E. coli* 由来LPS (100 ng/ml) で前処理した後に、コレステロール結晶 (125, 250, 500, 1000 μ g/ml) で刺激し、8時間後に上清を回収した。培養上清中のIL-1 β 濃度はELISA法で測定した。

3. 培養上清によるマウス単球性白血病由来RAW-D細胞の刺激

RAW-D 細胞 (1×10^4 /well) を96穴プレートに播種し、RANKL (5ng/ml) で2日間刺激した後、コレステロール結晶で刺激した野生型およびNLRP3 欠損マウスマウスマクロファージ培養上清を加えて3日間培養した。培養後にTartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 染色を行い、TRAP陽性細胞数をImage Jを用いて測定した。

【結果】

1. 野生型およびNLRP3 欠損マウスマクロファージの培養上清中のIL-1 β 産生量

LPSで前処理した野生型マウスマクロファージをコレステロール結晶で刺激すると、コレステロール濃度依存的に培養上清中のIL-1 β 濃度は増加した。一方、LPSで前処理したNLRP3 欠損マクロファージの培養上清中にはIL-1 β は検出されなかった。LPSで前処理していない野生型およびNLRP3 欠損マクロファージの培養上清中にもIL-1 β は検出されなかった。

2. 培養上清の破骨細胞形成への影響

RANKLで前処理したRAW-D細胞の培地に、コレステロール結晶で刺激した野生型マウスマクロファージの培養上清を添加するとTRAP陽性細胞数は増加した。一方、コレステロール結晶で刺激したNLRP3 欠損マウスマクロファージの培養上清を添加した場合には、TRAP陽性細胞数は増加しなかった。

【結論】

コレステロール結晶は、NLRP3 インフラマソームの活性化を介して野生型マウスマクロファージにおけるIL-1 β の産生を誘導し、IL-1 β を含む培養上清はRANKLで前処理したRAW-D細胞の破骨細胞形成を促進した。コレステロール結晶によるNLRP3 インフラマソームの活性化は、根尖性歯周炎における骨吸収にも促進的に作用していることが示唆された。

会員外研究協力者：筑波 隆幸先生 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科薬理学分野)

ナノバブルを用いた新しい根管拡大剤の開発

¹国立長寿医療研究センター 幹細胞再生医療研究部

○中島 美砂子¹、庵原 耕一郎¹

Development of enlarging of the root canal agent with Nanobubble

¹Department of Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Aichi, Japan

○MISAKO NAKASHIMA¹, KOICHIRO IOHARA¹

【目的】

抜髄、感染根管治療において、加齢などにより歯髄が石灰化して機械的根管拡大が困難な場合では、根管拡大補助剤を用いて根管治療を行う。根管拡大補助剤は根管内に適応して根管内壁を脱灰することで拡大しやすくするが、根尖まで穿通できないケースが多々ある。一方、私共は、ナノバブルにより薬剤を象牙細管内に深く浸透させる「ナノバブル薬剤導入法」を開発し、根管内を短時間に無菌化できる可能性を明らかにした(第134回, 141回, 142回保存学会)。今回、ナノバブルをEDTAと混合して使用することで、脱灰効果が促進するかを根管壁の硬さを測定することで検討した。

【方法】

1. ブタ抜去歯の抜髄

ブタ新鮮抜去小白歯(名古屋食肉公社)の根管をKファイル(マニー)にて#60まで根管拡大形成し、5%次亜塩素酸ナトリウム(関東化学) 2ml および3%過酸化水素水(健栄製薬) 2ml にて交互洗浄後、5ml 生理食塩水でさらに洗浄、乾燥した。

2. 根管拡大補助剤の適応

17%EDTA 製剤(pH7.3, 17%EDTA リキッド、ベントロンジャパン)、8.5%EDTA 製剤、8.5%EDTA+ナノバブル(50%含有)、ナノバブルのみ、蒸留水(大塚製薬)の5種類を20 μ l ずつ5分間適応した。

3. 根管壁のビッカース硬さの測定

ゼーゲミクロトーム(Leica)にて厚み3mmに調整し、サンドペーパーにて#2000まで研磨し、測定まで生理食塩水に保存した。作成した標本を根管壁から100, 300, 500 μ m地点でのVickers硬さをマイクロビッカース硬度計(明石製作所 MVK-E)にて過重50g、15秒で測定した。

【結果】

ナノバブルのみでは、蒸留水と比較して、全くビッカース硬さに変化はみられなかった。一方、根管壁から100 μ mでのビッカース硬さは、蒸留水あるいはナノバブルと比較して、17%EDTA、8.5%EDTA および8.5%EDTA+ナノバブル(50%含有)ともに、有意に減少がみられた($p<0.05$, $p<0.01$)。さらに、8.5%EDTA+ナノバブル(50%含有)のビッカース硬さは蒸留水あるいはナノバブルと比較して、根管壁から500 μ mでも有意に減少がみられたが($p<0.01$)、17%EDTA および8.5%EDTAでは有意差はみられなかった。さらに、8.5%EDTA+ナノバブル(50%含有)では300 μ mおよび500 μ mのビッカース硬さは17%EDTA、8.5%EDTAと比較して、有意に減少がみられた。

【結論】

以上の結果より、ナノバブルはEDTAと混合することで、500 μ mまでビッカース硬さが有意に減少することから、8.5%EDTA+ナノバブル(50%含有)は、中高齢者等の根管狭窄時の根管拡大形成に有利と考えられる。しかしながら、長時間適用すると、機械的強度を減弱させ、破折の恐れがあるため、短時間で反応をストップさせるように工夫が必要と考えられる。

超音波ファイルから発生するキャビテーションのソノルミネッセンスによる検討

¹ 日本大学 松戸歯学部

○船木 弘¹、渡邊 昂洋¹、五味 博之¹、喜多詰 規雄¹、上田 幾大¹、山浦 賀弘¹、神尾 直人¹、松島 潔¹

Investigation of cavitation generated from ultrasonic file by sonoluminescence

¹Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

OHIROSHI FUNAKI¹, TAKAHIRO WATANABE¹, HIROYUKI GOMI¹, NORIO KITAZUME¹, IKUO UEDA¹, YOSHIHIRO YAMAURA¹, NAOTO KAMIO¹,
KIYOSHI MATSUSHIMA¹

＜緒言＞超音波とは人間の耳には聞こえない高い振動数をもつ音波であり、一般的に周波数が20 kHz以上の音波とされている。液体に超音波を照射すると、キャビテーション、すなわち、多数の気泡の発生とその圧壊現象が見られる。超音波洗浄機はこの効果を応用し、衝撃波の発生によって、直接振動体が触れない隠れた隅々まで洗浄することができる。根管洗浄には種々の洗浄液と超音波の併用が使用され、機械的清掃で除去しきれない有機質や無機質の除去に効果が期待している。根管内に超音波を作用させたときのキャビテーション効果から発生する衝撃波についての検討は少ない。ソノルミネッセンスを用いた研究で#25 ファイルの先端2 mmのところまでキャビテーションが起きていることを報告 (R Macedo et al. Cavitation Measurement during Sonic and Ultrasonic Activated Irrigation. J Endod. 2014;40:580-583) されているが不明なところが多い。我々は第146回日本歯科保存学会において洗浄液内で超音波から発生するキャビテーション効果によって発生する衝撃波を視覚的に捉えるためにキャビテーションの際に発生する発光現象であるソノルミネッセンス (音響発光) を用いて超音波センサを用いてスプレッダー型のチップ (エンドチップ E2, モリタ製作所) から発生する衝撃波を観察した。そこで、本研究では、根管内で効果的に衝撃波が発生・伝播する状況を明らかにする目的で、超音波用ファイル (#15～#40) から発生する衝撃波の広がりをソノルミネッセンス (音響発光) を用いて観察した。

＜材料と方法＞超音波発生装置として、歯科用多目的超音波治療器ソルフィーF (モリタ製作所) を使用し、超音波発生装置の先端に根管治療用のソルフィーウルトラソニックファイル#15～40 (モリタ製作所) を装着した。なお、超音波の出力はメーカーによる規定以内 (6～10) で行った。溶液中に超音波振動によって発生するキャビテーションを測定するためにルミノールを用いたソノルミネッセンスを応用した。ルミノール0.05%, 水酸化ナトリウム0.5%になるように調整した溶液を試験管中に用意し、溶液中で超音波チップを振動させ、フェリシアン化カリウム溶液を滴下し、発光状態をデジタルカメラで記録し、観察した。

＜結果および考察＞規定出力の最大の範囲で#15～40のいずれのファイル周囲1～3 mmの範囲の水中の衝撃波によって発光した発光を認めた。超音波の出力によって発光の強度の変化のあるものの肉眼レベルではその差は不明であった。ファイル先端においても2 mmまで発光を認めた。超音波を用いて根管洗浄の際、ファイル周囲から衝撃波が発生し、有効に作用していることが明らかになった。

象牙質・歯髄複合体および根尖歯周組織の局所再生療法に用いる Bioactive glass-Gelatin composed Sponge の有効性の検討

¹九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野、²日本歯科薬品株式会社、
³京都大学ウイルス・再生医科学研究所 再生組織構築研究部門 生体材料学分野
○鷲尾 絢子¹、手嶋 浩貴²、横田 兼欣²、田畑 泰彦³、北村 知昭¹

Effectiveness Examination of Bioactive glass-Gelatin composed Sponge for the Local Regeneration of Dentin-Pulp Complex and Periapical Tissue

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Science of Oral Functions, Kyushu Dental University, Kitakyushu, Japan, ²Nippon Shika Yakuhin Co., Ltd., Shimonoeki, Japan ³Department of Biomaterials, Field of Tissue Engineering, Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto, Japan
○AYAKO WASHIO¹, HIROKI TESHIMA², KAZUYOSHI YOKOTA², YASUHIKO TABATA³, CHIAKI KITAMURA¹

【目的】現在の歯科医療では、小範囲の歯髄傷害に対しては歯髄創傷治癒と第三象牙質形成を誘導する歯髄保護治療を、感染が広範囲にわたる歯髄傷害では患者の苦痛を除去するとともに健全な根尖歯周組織を維持する抜髄法がとられている。しかし、複雑な歯・根尖歯周組織の解剖学的形態の前では治療にも限界があり、その結果として生じる根尖病変に対し感染根管治療や外科的歯内療法を行うが、期待する治癒が得られず抜歯にいたることも少なくない。このような現状を克服するには象牙質・歯髄複合体や根尖歯周組織に対する局所再生療法の開発が必要となる。確実な組織再生を誘導するには良好な物性・生体親和性・再生誘導能等の諸性質を有する生体材料が必要不可欠である。これまでに我々は、*in vivo*においてラット臼歯断髄部に線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) 徐放性ゼラチンハイドロゲル (Gel) 粒子をコラーゲン・スポンジとともに応用することで残存歯髄組織増殖と骨様象牙質形成が誘導されること (Ishimatsu et al., J Endod, 2009), ヒアルロン酸スポンジが歯髄再生に有用であること (Inuyama et al., J Biomed Mater Res B, 2010) を明らかにした。しかしながら、これらの方法では本来の石灰化度の高い象牙質を再生誘導するには至っていない。今回、より生体に近い象牙質・歯髄複合体や根尖歯周組織の再生を誘導する生体材料の開発を目的として、生体適合性に優れた水溶性高分子であり成長因子徐放性を有する Gel と整形外科領域で既に臨床応用され骨組織再生研究で汎用されている Bioactive glass (BG) とを組み合わせた BG-Gel composed sponge (BG-Gel sponge) を作製し、その特性について検証した。

【方法】3 wt. %Gel (等電点 5、分子量 10 万) 水溶液を 5000 rpm で攪拌後、BG 粉末 (平均粒径 4.6 μm) を 10~50 wt. % の割合で加えてさらに攪拌した。凍結乾燥後、140°C で一定時間 (24, 48, 72, 96 時間) 熱脱水架橋処理することで Gel を架橋し複数の BG-Gel sponge を作製した。各 sponge の形態的特徴については電解放型走査型電子顕微鏡 (FE-SEM) により観察後、sponge 内部に存在する細孔の直径を Image J を用いて測定した。物性については圧縮強度試験および分解性試験により解析した。さらに、擬似体液 (SBF) 中に各 sponge を浸漬後、sponge 表層におけるハイドロキシアパタイト (HAp) 生成量をエネルギー分散型 X 線分析 (EDX) により解析した。

【成績】FE-SEM では BG は各 sponge 内部に BG が埋まることなく線維表面に分散しているのが観察された。各 sponge に存在する細孔の直径は 100~250 μm であった。物性については各 sponge の圧縮強度に大差はなくそれぞれ約 2 kPa であった。また、分解性試験の結果から、BG 含有量および熱脱水架橋処理時間の違いが sponge の分解性に影響を与えることが確認された。さらに、EDX 解析の結果から、各 sponge の BG 含有量が多いほど HAp の生成量が増加すること、および熱脱水架橋処理 72 時間で高い HAp 生成量を示し、BG 含有量および熱脱水架橋処理時間の違いが sponge 内の HAp 生成に影響を与えることが確認された。

【考察】今回作製した BG-Gel sponge は、硬組織局所の再生プロセスにおける細胞の侵入、接着、および増殖・分化の足場として必要十分な性質を有していることが示唆された。また、BG 含有量や熱脱水架橋処理時間を調整することで、足場として各組織環境に適した分解性および HAp 生成量の異なる sponge を作製可能であることが示された。

【結論】作製した Bioactive glass-Gelatin composed Sponge は、象牙質・歯髄複合体および根尖歯周組織の局所再生療法において、空間の保持や局所における細胞の増殖・分化に必須の足場材料として有効である。

ダイレクト・リプログラミング技術を用いた新規骨再生療法の開発

¹京都府立医科大学 医学研究科 歯科口腔科学、²康生会 北山武田病院 歯科口腔外科

○佐藤 良樹¹、山本 健太¹、中井 敬¹、堀口 智史¹、白杉 迪洋¹、足立 哲也¹、足立 圭司¹、大迫 文重¹、雨宮 傑¹、坂下 敦宏²、山本 俊郎¹、金村 成智¹

Development of new bone regeneration therapy using direct reprogramming technique

¹Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science, Kyoto, Japan ²Department of Dentistry, Kouseikai Takeda Kitayama Hospital

○SATO YOSHIKI¹, KENTA YAMAMOTO¹, KEI NAKAI¹, SATOSHI HORIGUCHI¹, MITIHIRO SHIRASUGI¹, TETSUYA ADACHI¹, KEIJI ADACHI¹, FUMISHIGE OSEKO¹, TAKESHI AMEMIYA¹, NOBUHIRO SAKASHITA², TOSHIRO YAMAMOTO¹, NARISATO KANAMURA¹

【研究目的】

顎骨腫瘍手術後の大規模骨欠損や歯周病に伴う歯槽骨吸収による歯牙喪失は QOL (quality of life) を著しく低下させる。近年、線維芽細胞から目的細胞へ直接誘導する技術 (ダイレクト・リプログラミング) が報告された。本技術を最適化した上で、機能的な誘導骨芽細胞を得ることができれば、高品質で均質な誘導骨芽細胞を無尽蔵に調整することが可能となる。しかし、再生療法として用いるには、単なる誘導骨芽細胞の注入では細胞の局所周辺環境が整っておらず、大規模な骨欠損に対しては十分な効果は未だに得られていない。そこで適切なスキャホールドを用いて、骨欠損部に移植細胞を留め、誘導骨芽細胞の足場環境を整える手法に着目した。本研究では線維芽細胞から誘導骨芽細胞への直接誘導法を最適化するとともに、スキャホールドを用いて大規模骨欠損に対応しうる、新たな骨再生療法を確立することを目的とする。

【材料および方法】

線維芽細胞にダイレクト・リプログラミング技術を用いて 2 種類の転写因子の遺伝子を組み合わせて導入し、誘導骨芽細胞を作成。線維芽細胞を基礎培地、誘導骨芽細胞を骨分化誘導培地で培養し、2 週間後に Alkaline phosphatase 染色、4 週間培養後に Alizarin Red S 染色、von Kossa 染色および realtime-RT PCR を行い、得られた誘導細胞の石灰化基質産生能、遺伝子発現の評価を行った。また、スキャホールドを用いて誘導骨芽細胞を三次元的培養し、骨形成能を検討した。さらに、ラットの大腿骨体部を 2mm×2mm×7mm 削合し、大腿骨欠損モデルラットを作成。骨欠損部位にスキャホールドごと誘導骨芽細胞を移植した。その後、移植 4 週間後にラットより移植片を採取、マイクロ CT にて検討を加えた。

【成績】

2 週間骨分化培地で培養された誘導骨芽細胞は、Alkaline phosphatase 染色にて初期骨分化を認め、4 週間培養し、Alizarin Red S 染色、von Kossa 染色にて高い石灰化基質の産生能が確認された。realtime-PCR にて中期骨分化マーカーである Osteopontin、後期骨分化マーカーである Osteocalcin の高発現を認めた。さらに、Alizarin Red S 染色にて様々なスキャホールド内に 3 次的に播種されても 2 次元培養と変わらず誘導骨芽細胞が石灰化基質を産生していることを確認した。また、マイクロ CT 解析の結果から誘導骨芽細胞をスキャホールドごと大腿骨欠損部へ移植したラットでは、移植をしない骨欠損部位と比べて、顕著な骨再生を認めた。

【考察および結論】

線維芽細胞はダイレクト・リプログラミング技術を用い、2 次元培養および 3 次元培養両方の環境下で誘導骨芽細胞へ転換し、石灰化基質が産生されることが示された。なお、3 次元培養が可能なが示されたことにより、スキャホールドごと誘導骨芽細胞を移植することで、移植手術の術式が大幅に簡便となった。3 次元培養された誘導骨芽細胞は、実験動物の大腿骨欠損部にて石灰化した組織が維持され、骨欠損部位に留まり欠損を回復させることが判明した。以上より難治性で治療方法が確立されていない大規模骨欠損が、線維芽細胞を用いてダイレクト・リプログラミング技術により誘導骨芽細胞へ転換され、骨欠損部へ移植することで治療出来る可能性が示された。

【参考文献】

1. Direct conversion of human fibroblasts into functional osteoblasts by defined factors. Yamamoto K. *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 112, 6152-6157, 2015.
2. Generation of directly converted human osteoblasts that are free of exogenous gene and xenogenic protein. Yamamoto K. *et al.* J Cell Biochem, 117, 2538-2545, 2016.

ヒト歯肉線維芽細胞はニコチンを取り込み空胞変性を生じる

¹日本歯科大学生命歯学部 歯周病学講座、²東京慈恵会医科大学 基盤研究施設 (分子細胞生物学)

○五十嵐(武内) 寛子^{1,2}、立花 利公²、沼部 幸博¹

Human gingival fibroblast cell is altered in vacuolization by ingesting nicotine.

¹Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University ²Core Research Facilities for Basic Science (Division of Molecular Cell Biology), The Jikei University School of Medicine

OHIROKO IGARASHI-TAKEUCHI^{1,2}, TOSHIAKI TACHIBANA², YUKIHIRO NUMABE¹

【目的】 第 141 回秋季日本歯科保存学会学術大会において、タバコに含まれる成分であるニコチンをヒト歯肉線維芽細胞に作用すると、細胞内に空胞を生じ変性をすることを報告した。そこで今回我々は ³H-nicotine を用いて空胞変性とニコチンの動態について検索を行った。

【方法】 健康歯周組織を有する患者より歯肉線維芽細胞の分離を行い、培養培地に最終濃度が 0.1 および 1.0 $\mu\text{g/ml}$ となるようにニコチンを添加し 12~48 時間作用させ位相差および走査型電子顕微鏡(SEM)により形態観察を行った。また、最終濃度が上記となるようにニコチンを添加した培養培地にそれぞれ ³H-nicotine を添加し 12~48 時間培養後、液体シンチレーションカウンターにてニコチンの取り込みについて測定を行った。最終濃度が 1.0 $\mu\text{g/ml}$ となるようにニコチンを添加した培養培地にて 1~7 日間培養を行い細胞数の測定を行った。

【成績】 位相差顕微鏡にてニコチン 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 添加群では変性は認められなかったが、1.0 $\mu\text{g/ml}$ 添加群においてニコチン 12 時間後より細胞内に空胞変性を生じ、時間依存的に空胞の大きさおよび数の増加が認められた。SEM による細胞膜表面の観察において、ニコチン作用 24 時間後では細胞膜表面の連続性が保たれた円形の陥凹が認められ、48 時間後では細胞が収縮し、陥凹に加えてより大きな穴状の構造物が多数認められた。1.0 $\mu\text{g/ml}$ 添加群において細胞数は時間依存的に有意な減少を認めた ($P < 0.001$)。培養培地に ³H-nicotine を添加し細胞内へのニコチンの動態について検索したところ、0.1 $\mu\text{g/ml}$ 添加群と比較して 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 添加群において時間依存的に有意な増加が認められた ($P < 0.001$)。

【結論】 今回、位相差顕微鏡で観察された空胞と SEM による細胞膜表面形態に関連が認められた。位相差顕微鏡により細胞の外形に一部陥凹が認められたが、SEM において大きな円形状の陥凹であることが分かった。また、細胞膜表面の連続性が絶たれた大きな穴状の構造物を認めたこととニコチンの取り込み数の結果が一致していたことから、細胞はニコチンの刺激によりニコチンを細胞内に取り込み空胞変性を生ずることが示唆された。

本研究は、学術研究助成基金助成金：若手研究(B)、課題番号：16K20681 の助成を受けて行われた。

新規薬剤開発に向けた細胞における仮足形成、コラーゲンリモデリングおよびコラーゲン分解による評価システムの構築

¹九州歯科大学 歯学科 口腔機能学講座 歯周病学分野

○祐田 明香¹、中島 啓介¹、臼井 道彦¹

A Screening System for Evaluating Cell Extension Formation, Collagen Condensation and Cleavage in Drug Discovery

¹Division of Periodontology, Department of Oral Functions, Faculty of Dentistry, Kyushu Dental University

○ASUKA YUDA¹, KEISUKE NAKASHIMA¹, MICHIOH USUT¹

【目的】 原発巣から遠隔へのがん細胞浸潤による死亡の割合は、がん関連死の約90%を占めることが知られている。近年、がん転移における新しい治療法確立のため、様々な方法が報告されており、有用な方法のひとつとして、薬剤の標的分子識別をベースとする多様な化合物のスクリーニングを行う high-throughput な方法が開発されている (Jeon et al., 2014)。しかしながら、がん細胞による侵入において重要な仮足形成やそれに伴い起こるマトリックスリモデリングに関してスクリーニングを行う方法は、まだ確立されていない。そこで本研究では、仮足形成およびマトリックスリモデリングにおけるスクリーニング方法を検討するため、2014 年、Mohammadi らにより報告されたフローティングコラーゲンおよび多様な化合物を用い、ヒト歯肉細胞および乳がん細胞株における仮足形成、コラーゲンリモデリングならびに細胞外周囲のコラーゲン分解に及ぼす影響について解析した。

【材料および方法】 (1) フローティングコラーゲンゲル (FG) とアタッチドコラーゲンゲル (AG) における仮足形成の解析： FG および AG の硬さの比較を行った。次に、ヒト歯肉細胞 (HGF) を、10%Fetal Bovine Serum 含有 α -MEM (10%FBS/ α -MEM) 中の FG および AG にて培養を行った。播種 3、6、24 時間後、仮足形成数および長さを測定し比較を行った。(2) 仮足形成関連タンパクの抑制剤添加後の仮足形成の解析： 仮足形成関連タンパクの抑制剤添加 10%FBS/ α -MEM or DMEM 中の FG にて、HGF およびヒト乳がん細胞 (MDA-MB-231 および MCF7) の培養を行った。播種 6 時間後、仮足形成数を測定した。(3) HGF における 14 種類の化合物添加後のコラーゲンリモデリングの解析： 160 個のキナーゼインヒビターライブラリーより仮足形成数を有意に抑制した 14 種類の化合物を選出した。これらの化合物添加 10%FBS/ α -MEM 中の FG にて HGF を培養し、6 時間後、コラーゲンリモデリングの解析を行った。(4) MDA-MB-231 における 14 種類の化合物添加後のコラーゲンリモデリングおよび細胞外周囲コラーゲン分解の解析： 化合物添加 10%FBS/DMEM 中の FG にて MDA-MB-231 を培養し、24 時間後、コラーゲンリモデリングおよび細胞外周囲コラーゲン分解産物である 3/4 コラーゲンを免疫染色し解析を行った。

【結果】 FG は AG に比較して、約 28 倍軟性であることが認められた。また、HGF において、播種 6 時間後、FG にて仮足形成数が約 1.4 倍、長さが約 1.3 倍促進された。次に、FG を用い、仮足形成関連タンパクの抑制剤で HGF および乳がん細胞株を刺激し仮足形成数を解析した結果、無刺激群と比較し、Latrunculin B および 4B4 antibody は、HGF および乳がん細胞株の仮足形成数を有意に抑制した。Nilotinib は HGF の仮足形成数を有意に抑制したが、乳がん細胞株において抑制は認められなかった。さらに多種の化合物が添加された HGF において、コラーゲンリモデリングを解析した結果、TGX221、VX680、SB431542、Fasudil、PKC412、SIS3 ならびに GSK650394 は、無刺激群と比較して、有意に抑制した。また、多種の化合物が添加された MDA-MB-231 において、コラーゲンリモデリングおよび細胞外周囲コラーゲン分解を解析した結果、CGP57380、SB431542、PD0325901、Sunitinib、NSC693868、Fasudil、PKC412、SIS3 ならびに GSK650394 は、無刺激群と比較して、有意に抑制した。

【考察】 軟性で仮足形成速度が速い FG は、薬剤スクリーニングにおいて仮足形成の評価に適する材料であることが示唆された。さらに、FG を用い、細胞を仮足形成関連タンパクの抑制剤および多種の化合物にて刺激した結果から、 β 1 インテグリンを介した細胞接着、さらに Smad、ROCK ならびに SGK キナーゼ経路のシグナリングは仮足形成に関与していることが示唆された。以上のことから、FG を用い、多種の化合物のスクリーニングをすることは、細胞の仮足形成解析における評価システムとして有効である可能性が推察された。

【結論】 FG および多様な化合物を用いて、仮足形成、コラーゲンリモデリングおよび分解に及ぼす影響をスクリーニングすることは、薬剤スクリーニング方法として有効であることが明らかになった。

研究協力者： Christopher McCulloch (Matrix Dynamics Group, Faculty of Dentistry, University of Toronto)

歯周病罹患の有無によるアテローム性動脈硬化病変の細菌叢のメタゲノム解析

¹岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野、²岡山大学病院 歯周科
○磯島 大地¹、山城 圭介¹、松永 一幸¹、大森 一弘²、山本 直史²、高柴 正悟¹

Meta-genomic analysis of microbiome in atheroma from the patients with/without periodontitis

¹Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan ²Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

○DAICHI ISOSHIMA¹, KEISUKE YAMASHIRO¹, KAZUYUKI MATSUNAGA¹, KAZUHIRO OMORI², TADASHI YAMAMOTO², SHOGO TAKASHIBA¹

【背景と目的】ヒトの口腔内や腸内には様々な微生物が共生しており、それら微生物叢はマイクロバイオーームと呼ばれている。歯周病は、口腔内の常在細菌が歯周組織に感染することによって発症する感染症であるが、単一の細菌ではなく様々な細菌種の集合体であるマイクロバイオーームによる細菌感染で発症・進展すると近年考えられている。我々は、感染性心内膜炎の起炎菌として複数種の歯周病原細菌、すなわち歯周病原細菌を中心としたマイクロバイオーームの関与が強く疑われた症例について報告した (Isoshima *et al.* Clinical Case Reports, 2017)。しかし、循環器疾患と歯周病の関連性は未だエビデンスが不足しているという報告もある。

アテローム性動脈硬化症は動脈硬化の一種であり、様々な原因によって血管内壁にアテローム性プラークが沈着する循環器疾患である。アテローム性動脈硬化症と歯周病との関連性は、疫学的分析やアテロームプラーク中からの歯周病原細菌の検出によって、相関関係が示唆されている。しかし、両疾患の発症においては、喫煙や糖尿病といった共通交絡因子が多数存在するため、発症のメカニズムに関する決定的な因果関係は明らかになっていない。

そこで本研究では、歯周病の罹患状態を把握した上で、口腔内およびアテローム性プラーク内のマイクロバイオーームを既存の単一菌種の検出法ではなく、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析して、両疾患の関連性を細菌学的に検討することを目的とした。

【方法】内頸動脈狭窄症患者 8 名の被験者 (残存歯数 10 歯以上) を、歯周組織検査および宿主における歯周病原細菌感作の程度を把握する方法である血清 IgG 抗体価検査 (抗 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, 抗 *Porphyromonas gingivalis*) に基づいて歯周病の罹患状態を精査し、歯周病が中等度から重度な群 (Periodontitis 群: 4 名) と非歯周病群 (Control 群: 4 名) に分類した。なお、選別した両群間において、年齢、性別や交絡因子となり得る全身状態の検査値で有意差はなかった。

歯周ポケット内、舌表面唾液、そして外科的に摘出した内頸動脈のアテローム性プラークの各サンプルから細菌 DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いてマイクロバイオーーム解析を行った。また、得られたデータを用いて主成分分析とクラスター分析を行い、歯周病罹患の有無による口腔内とアテローム性プラークのマイクロバイオーームの影響を比較・評価した。

さらに、アテローム性プラークにおいてはマイクロバイオーームの組成を精査し、共起ネットワーク解析を行った。

【結果】歯周ポケット内と舌表面唾液のマイクロバイオーームは、歯周病の重症度によって異なっていた。また、口腔内とアテローム性プラークのマイクロバイオーームの組成は大きく異なっており、アテローム性プラークに存在する口腔内細菌の割合は著しく低かった。しかし、アテローム性プラークのマイクロバイオーームの組成において、Control 群と比較して Periodontitis 群では *Sphingomonadales* 目の割合が増加していた。共起ネットワーク解析の結果、両群ともに高い割合を占める細菌種は類似していたが、*Propionibacterium* 属を中心とした細菌間の相関関係に異なる傾向が見られた。

【考察と結論】本研究の被験者に関して、アテローム性プラークに存在する口腔内細菌の割合は著しく低く、またアテローム性プラークと口腔内のマイクロバイオーームの組成は大きく異なっていたことから、口腔内感染が菌血症を介してアテローム性動脈硬化症を引き起こした可能性は低いと考えられる。しかし、歯周病罹患の有無でアテローム性プラークのマイクロバイオーーム内で *Sphingomonadales* 目の割合や *Propionibacterium* 属を中心とした細菌間の相関関係に変化が見られたことから、歯周感染に伴う宿主の免疫応答がアテローム性プラークのマイクロバイオーームの構成に影響を与えた可能性が示唆される。しかし、その詳細なメカニズムは依然不明であるため、今後より多くの検体を用いた解析が必要と考えられる。

アテローム性動脈硬化症の発症には、血行性に体内に侵入した口腔内細菌が直接影響を及ぼすのではなく、歯周感染に伴う宿主の免疫応答がアテローム性プラークのマイクロバイオーームにおいて細菌の生態系の構成を変化させ間接的に関与している可能性が示唆された。

IL-29 はヒト口腔上皮細胞の CXCL10 産生を増強する

¹徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯科保存学分野、²徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔保健支援学分野

○細川 義隆¹、細川 育子¹、尾崎 和美²、松尾 敬志¹

IL-29 enhances CXCL10 production in human oral epithelial cells

¹Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima, Japan

²Department of Oral Health Care Promotion, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima, Japan

○HOSOKAWA YOSHITAKA¹, IKUKO HOSOKAWA¹, KAZUMI OZAKI², TAKASHI MATSUO¹

【研究目的】 IL-29 は IL-28A と IL-28B とともに interferon (IFN)- λ family に属するサイトカインであり、IL-28 receptor α (IL-28R α) と IL-10 receptor β (IL-10R β) をレセプターとする事が明らかとなっている。また、IL-29 産生細胞として樹状細胞、マクロファージ、Th17 細胞などが報告されている。歯周炎においては慢性歯周炎や侵襲性歯周炎患者の歯肉溝浸出液中において健常人の歯肉溝浸出液と比較し有意に高い濃度の IL-29 が存在する事が報告されている (Arch Oral Biol. 2015(1), 37-44)。しかしながら、IL-29 が歯周組織構成細胞に及ぼす影響に関しては不明である。本研究では、Th1 細胞浸潤に関与している CXCL10 に着目し、IL-29 がヒト口腔由来上皮細胞株 (TR146 細胞) の CXCL10 産生に影響を及ぼすか否かに関して着目し関連するシグナル伝達経路も明らかにするため検討を行った。

【材料および方法】 TR146 細胞は 10%FBS を含む Ham's F12 培地にて 5%CO₂, 37°C の条件下で培養を行った。TR146 細胞は Mark Herzberg 博士 (University of Minnesota, MN, USA) より供与して頂いた。TR146 細胞の IL-29 receptor 発現に関しては western blot 解析、IL-29 刺激が TR146 細胞の CXCL10 産生に及ぼす影響は ELISA 法を用いて検討を行った。また、IL-29 刺激により活性化されるシグナル伝達経路の解析は western blot 解析を用いて解析し、IL-29 誘導 CXCL10 産生に関与するシグナル伝達経路を解明するために阻害物質にて前処理後 IL-29 刺激を行い、CXCL10 産生に関して ELISA 法を用いて検討した。

【成績】 TR146 細胞は IL-29 receptor (IL-10R β 、IL-28R α) を発現していた。また、IL-29 は TR146 細胞の CXCL10 産生を濃度依存的に誘導した。さらに、IL-29 は TR146 の p38 MAPK, ERK, JNK, STAT1, Akt ならびに NF- κ B 経路を活性化した。IL-29 の CXCL10 産生には p38 MAPK および NF- κ B 経路が関与していた。

【考察および結論】これらの結果より歯周炎組織に存在する IL-29 は口腔上皮細胞の CXCL10 産生を誘導する事により歯周炎病変局所への Th1 細胞浸潤・集積を促し、歯周組織破壊に積極的に関与している事が示唆された。

IL-35 は TNF- α が誘導するヒト歯根膜細胞の IL-6 および CXCL10 産生を抑制する

¹広島大学大学院医歯薬保健学研究科 歯髓生物学研究室、²徳島大学大学院 医歯薬学研究部 歯科保存学分野、

³徳島大学大学院 医歯薬学研究部 口腔保健支援学分野

○進藤 智¹、細川 義隆²、細川 育子²、尾崎 和美³、柴 秀樹¹、松尾 敬志²

IL-35 suppressed IL-6 and CXCL10 productions in TNF-alpha-stimulated human periodontal ligament cells

¹Hiroshima University Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Department of Biological Endodontics, Hiroshima, Japan ²Tokushima University Graduate School, Institute of Biomedical Sciences, Department of Conservative Dentistry, Tokushima, Japan ³Tokushima University Graduate School, Institute of Biomedical Sciences, Department of Oral Health Care Promotion, Tokushima, Japan

○SATORU SHINDO¹, YOSHITAKA HOSOKAWA², IKUKO HOSOKAWA², KAZUMI OZAKI³, HIDEKI SHIBA¹, TAKASHI MATSUO²

【研究目的】

歯周炎は歯周病原細菌によって惹起される炎症性疾患であり、宿主の過剰な免疫応答によって骨を含む組織破壊を引き起こすことが知られている。炎症性サイトカインである IL-6 は破骨細胞を活性化し骨吸収に関与することが報告されている。CXC chemokine ligand 10 (CXCL10)はCXC chemokine に属するケモカインであり、Th1 細胞浸潤に関与している事が明らかとなっている。近年、IL-35 は制御性T 細胞から産生される抗炎症性サイトカインとして発見され、そのタンパク分子が歯周炎歯肉溝浸出液から検出されている。(Mitani A et al., J Periodontol . 86(2):301-9, 2015) しかし、IL-35 が歯周組織構成細胞の一つであるヒト歯根膜細胞(HPDLC)に与える影響に関しては明らかとなっていない。本研究では炎症性サイトカインである TNF- α が誘導する HPDLC の IL-6 および CXCL10 産生に与える IL-35 の影響についてシグナル伝達機構も含めて検討した。

【材料および方法】

HPDLC は Lonza 社より購入し、10%FBS を含む DMEM 培地にて培養し実験に用いた。HPDLC を TNF- α にて刺激を行い、IL-35 存在下あるいは非存在下における IL-6、CXCL10 産生を ELISA 法にて、細胞内シグナル伝達 (MAPK-p38, ERK, JNK, NF- κ B) の活性化を western blot 法にて解析した。また、TNF- α 誘導 IL-6、CXCL10 産生に関与するシグナル伝達経路を解明するためにシグナル伝達阻害物質にて処理後、TNF- α 刺激を行い IL-6 および CXCL10 産生を ELISA 法にて検討した。

【結果】

IL-35 は TNF- α 刺激 HPDLC の IL-6 および CXCL10 産生を抑制した。また、MAPK-p38, ERK, JNK inhibitor および NF- κ B inhibitor は有意に TNF- α が誘導した IL-6 および CXCL10 産生量を減少させた。IL-35 は TNF- α によって活性化された I κ B- α のリン酸化を抑制したが、MAPK-p38, ERK, JNK のリン酸化には影響を与えなかった。

【結論および考察】

今回の結果から、TNF- α 刺激による IL-6、CXCL10 産生が HPDLC に誘導されることで、歯周炎病変局所において破骨細胞活性化による歯槽骨吸収、ならびに Th1 細胞の過剰な遊走を引き起こす可能性が示唆された。また、IL-35 は NF- κ B を介するシグナル伝達経路を阻害することによって、TNF- α 刺激 HPDLC の IL-6 および CXCL10 産生を抑制することから、制御性 T 細胞が産生する IL-35 は HPDLC からの IL-6 および CXCL10 産生を抑制することで破骨細胞活性化および Th1 細胞の浸潤を制御し、歯周炎における炎症性骨吸収を抑制している可能性が考えられた。

レーザー照射による焼結水酸アパタイト基材へのフッ素担持リン酸カルシウム成膜と抗菌特性評価

¹北海道大学 大学院 歯学研究院 歯周・歯内療法学教室、²産業技術総合研究所ナノ材料研究部門

○蒔 佳奈子¹、宮治 裕史¹、NATHANAEL A. Joseph²、中村 真紀²、大矢根 綾子²、菅谷 勉¹

Physicochemical and antibacterial properties of F-incorporated calcium phosphate coating on a sintered hydroxyapatite substrate via laser-assisted biomineralization

¹Department of Periodontology and Endodontology Hokkaido University of Dental Medicine ²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, JAPAN

○KANAKO SHITOMI¹, HIROFUMI MIYAJI¹, A. Joseph NATHANAEL², MAKI NAKAMURA², AYAKO OYANE², TSUTOMU SUGAYA¹

【研究目的】人工材料のレーザー照射部位に迅速かつ簡便にリン酸カルシウム (CaP) 被膜を形成できる、レーザーを利用した過飽和液相成膜技術 (LAB:Laser-Assisted Biomineralization 法) が考案された。本法を用いることでエナメル質や象牙質の表面に機能性物質を担持させた CaP 層を構築できれば、歯の表面改質や治療に役立つと考えられる。本研究では、エナメル質や象牙質のモデル材料として焼結水酸アパタイト (sHA) 基材を用い、同基材表面に、フッ素を担持させた機能性 CaP の成膜を試みた。さらに、得られた CaP 膜の構造と組成、フッ化物イオン徐放性ならびに *Streptococcus mutans* に対する抗菌効果を検討した。

【材料および方法】基材として、sHA の平板 (10 mm x 10 mm x 2 mm, Hoya Technosurgical) ならびに円板 (φ5 mm x 2 mm, PENTAX) を使用した。sHA 基材を NaF (F=0, 10, 100, 1000 μM) 添加の CaP 過飽和溶液に浸漬し、溶液中の基材表面に Nd:YAG レーザー光 (355 nm, 6 W/cm²) を非集光で照射 (5 分間あるいは 30 分間) した。照射面を SEM ならびに TEM にて観察し、EDX 分析を行った。次に sHA 表面からのフッ化物イオンの徐放性について評価した。フッ素担持による抗菌効果を調べるため、NaF 添加 (F=0, 1000 μM) CaP 過飽和溶液中で 5 分間レーザー照射した sHA 円板に *S. mutans* (ATCC 35668) を 8 時間生着させた。その後 24 時間嫌気培養し、培地の濁度測定ならびに表面の SEM 観察を行った。

【結果と考察】LAB 処理された sHA のレーザー照射面にはいずれも、CaP 膜の形成を認めた。CaP 過飽和溶液への NaF 添加濃度の上昇に伴って、CaP 膜のフッ素担持量は増大し、膜の構造はリン酸カルシウム (OCP) の板状結晶からより微細で緻密なアパタイトの花弁状結晶へと変化した。得られたフッ素担持 CaP 膜は、生理食塩水中にフッ化物イオンを 24 時間以上にわたって徐放した。*S. mutans* の付着はフッ素担持 CaP 膜上で少なく、フッ素非担持膜と比較して培地の濁度は有意に低い値であった。以上より sHA 基材上のフッ素担持 CaP 膜からフッ化物イオンが徐放され、抗菌性が発揮されたと考えられた。

【結論】LAB 処理により sHA 基材表面にはフッ素担持の CaP 膜が形成され、*S. mutans* の増殖を抑制することが示唆された。

【謝辞】本研究は JSPS 科研費 JP17H02093, JP15F15331 および天田財団の助成を受けて実施された。

神経分化誘導した羊膜上培養歯髄由来細胞シートの作成

¹京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学、²京都中部総合医療センター 歯科・歯科口腔外科、

³宇治徳洲会病院 歯科口腔外科

○山本 俊郎¹、本城 賢一¹、堀口 智史¹、佐藤 良樹¹、遠藤 悠美²、足立 圭司¹、大迫 文重¹、雨宮 傑¹、
中村 亨³、金村 成智¹

Preparation of neuronal differentiation-induced human amniotic membrane cultured dental pulp derived cell sheet

¹Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science, Kyoto,

Japan ²Department of Oral Surgery, Kyoto Chubu Medical Center, Kyoto, Japan ³Department of Oral Surgery, Uji-Tokushukai

Hospital, Kyoto, Japan

○TOSHIRO YAMAMOTO¹, KENICHI HONJO¹, SATOSHI HORIGUCHI¹, YOSHIKI SATO¹, YUMI ENDO², KEIJI ADACHI¹, FUMISHIGE OSEKO¹,
TAKESHI AMEMIYA¹, TORU NAKAMURA³, NARISATO KANAMURA¹

【研究目的】 我々は、抗炎症作用・感染抑制作用等を有した羊膜に注目、羊膜を細胞培養基質として用いた再生医療の研究を実施している。これまでに、羊膜を基質とした培養口腔粘膜上皮細胞シートの作成方法を確立、当科において各種口腔粘膜上皮欠損患者に対して臨床応用を行い、拒絶反応等の異常なく良好な結果を得ている。これより羊膜が細胞培養の基質として適し、また新たな再生医療として有用かつ有効であることを報告している。さらに、この細胞培養系を幹細胞ソースとしても近年着目されている歯髄由来細胞の培養に応用したところ、歯髄由来細胞が羊膜上で増殖し、デスモゾームやタイト結合といった強固な細胞間接着装置が存在、培養歯髄由来細胞シートの作成に成功した。また、骨分化誘導培地を用いた骨分化誘導歯髄由来細胞シートを作成したことを報告している。今回、齲蝕や外傷などの外来刺激により惹起された歯髄炎の新たな再生医療的治療法の開発を目的とし、神経分化誘導した羊膜上培養歯髄由来細胞シートを作成したので報告する。

【材料および方法】 便宜抜歯により抜去された智歯をセメントエナメル境で横断、歯髄組織のみを無菌的に採取した。歯髄組織を細分した後、10%ウシ胎仔血清 (FBS) と抗菌薬を添加したDMEMを用い初代培養を行った。その後3~4継代培養、羊膜上にこれら歯髄由来細胞を播種。10%FBS/DMEM (control 群)あるいは神経分化誘導培地 (神経分化誘導群) にて約2週間培養。その後、組織学的・免疫組織化学的検討を行った。なお、当研究の実施および歯髄組織と羊膜の利用については、該当患者に対して本研究の内容ならびに安全性の説明を行い、同意を得た上で実施した。また、京都府立医科大学医学倫理審査委員会の許可を得ている (RBMR-C-772)。

【成績】 H-E染色にて神経分化誘導した歯髄由来細胞は、羊膜上で層状構造を示していた。さらに、免疫組織学的検討において細胞増殖マーカーであるKi-67陽性であった。以上の結果から、神経分化誘導した羊膜上培養歯髄由来細胞シートの作成が可能であった。

【考察】 歯髄由来細胞は、発生学的に歯根膜と同じ間葉系組織で分化能と表面抗原が類似する。歯の内部に位置するために有害刺激が少なく、酸素濃度が低いために遺伝子への影響が少ない。従来、抜歯後に医療廃棄物として処理されていた乳歯、智歯などの永久歯から比較的簡便に入手が可能で、かつ、歯根膜と比べて細胞増殖能が高く、細菌感染の機会が少ないためにシート作成の再現性が高い。幹細胞ソースとしても着目されている同細胞を用いて、齲蝕や外傷などの外来刺激により惹起された歯髄炎の治療法に応用することを目的としている。本結果から、神経分化誘導した歯髄由来細胞は羊膜上で増殖し、羊膜上に細胞シートを形成しているものと考えられた。これら歯髄由来細胞の神経分化誘導による新たな再生医療的治療法の開発へと繋がる可能性が示唆された。

【結論】 羊膜は神経分化誘導した歯髄由来細胞の培養に適当な足場として機能しており、羊膜上に一枚の細胞シートを形成していた。

クロマチン局在 DMP-1 遺伝子による細胞増殖制御機構の解明

¹広島大学 大学院医歯薬保健学研究科 歯髄生物学的研究室

○鈴木 茂樹¹、吉田 和真¹、中西 惇¹、平田-土屋 志津¹、小武家 誠司¹、永安 慎太郎¹、本山 直世¹、柴 秀樹¹

Chromatin-enriched DMP1 gene mediates cellular proliferation

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

○SHIGEKI SUZUKI¹, KAZUMA YOSHIDA¹, JUN NAKANISHI¹, SHIZU HIRATA-TSUCHIYA¹, SEIJI KOBUE¹, SHINTARO NAGAYASU¹,
NAOYO MOTOYAMA¹, HIDEKI SHIBA¹

【目的】 Dentin matrix protein-1 (DMP-1) は Small integrin-binding ligand N-linked glycoproteins (SIBLINGs) に属する細胞外基質タンパクであり、骨や象牙質といった硬組織形成に必須の役割を果たすことが知られている。一方で、その遺伝子 *DMP-1* は骨芽細胞・象牙芽細胞分化過程後期に発現が上昇し、定常状態で高発現する細胞株が無いため、その発現制御機構については十分に明らかにされてこなかった。このような背景から、当研究室にて、癌細胞を含めた様々な細胞株での *DMP-1* 発現を検討したところ、Ca9-22 や HO-1-u-1 などのヒト口腔扁平上皮癌細胞株にて高発現していることを明らかにしてきた。翻訳産物をコードする mRNA は、一般的に chromatin から転写された後に、核質を経て細胞質に運ばれることから、細胞分画法で mRNA の局在を検討すると、主に核質および細胞質から検出される。しかしながら、*DMP-1* は mRNA でありながら、chromatin に強局在していた。そこで本研究では、*DMP-1* 同様に chromatin に局在する RNA を網羅的に探索するとともに、*chromatin-enriched DMP-1* による chromatin 制御機構の解明並びにその細胞増殖に対する影響について検討を行った。

【方法】 1. 網羅的 chromatin-enriched RNA の探索: *DMP-1* 高発現細胞株である Ca9-22 細胞株を用いて cytoplasm, nucleus, chromatin から RNA subcellular fractionation 法により分画 RNA を精製した。得られた分画 RNA のうち、nucleus および chromatin RNA から Illumina TruSeq standard total RNA library prep kit with Ribo-Zero を用いて cDNA libraries を作製した。続いて、HiSeq 4000 (illumina) にてシーケンスを行い、得られた RNA データを用いて RNA-seq 解析を行った。2. *DMP-1* による細胞増殖制御機構の解明: *DMP-1* 特異的 siRNA を Ca9-22 および HO-1-u-1 細胞株に導入し、導入後の細胞増殖を crystal violet 染色並びに FACS を用いた PI 染色による cell-cycle determination を行った。3. *trans-regulated cell-cycle related gene* の同定: *DMP-1* 発現依存性に制御される cell-cycle related genes を ChIP-qPCR (Epithect ChIP qPCR array) を用いて探索した。

【結果】 Ca9-22 細胞株において RNA-seq 解析により 18,643 種の RNA 発現を認めた。そのうち、2,534 種が chromatin-enriched RNAs (chromatin/nucleus 発現比 FPKM ratio > 2.0) であり *DMP-1* およびその近傍遺伝子である *dentin sialophosphoprotein (DSPP)* はそれぞれ高い FPKM ratio = 5.83, 8.37 を示した (全検出 18,643 種 RNA のうち *DMP-1* は 71, *DSPP* は 5 番目に高い chromatin/nucleus ratio を示した)。 *DMP-1* 発現抑制により Ca9-22 および HO-1-u-1 細胞株の増殖が有意に低下し、S phase への entry が抑制されていた。3. ChIP-qPCR の結果から、cell-cycle regulator である CDKN1B を同定した。 *CDKN1B* 特異的な siRNA 導入により、*DMP-1* 発現抑制による細胞増殖抑制が有意に回復したことから、*DMP-1* は *CDKN1B* の発現調節を介して細胞増殖を制御していることが明らかとなった。

【結論】 *DMP-1* 遺伝子はクロマチンリモデリングの制御を介して各種口腔扁平上皮癌細胞株の細胞増殖に関与していることが示唆された。骨芽細胞・象牙芽細胞の硬組織形成分化や基質分泌における、*DMP-1* 遺伝子による翻訳産物非依存性機能は現在検討中である。

培養ヒト歯髄細胞上清からの炎症促進 Microvesicles の単離

¹広島大学 大学院医歯薬保健学研究科 歯髄生物学研究室、

²九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯周病学分野

○永安 慎太郎¹、鈴木 茂樹¹、中西 惇¹、吉田 和馬¹、小武家 誠司¹、本山 直世¹、土屋 志津¹、西村 英紀²、
柴 秀樹¹

Isolation of proinflammatory microvesicles from human dental pulp cells

¹Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima, Japan ²Department of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, Fukuoka, Japan

○SHINTARO NAGAYASU¹, SHIGEKI SUZUKI¹, JUN NAKANISHI¹, KAZUMA YOSHIDA¹, SEIJI KOBUE¹, NAOYO MOTOYAMA¹,
SHIZU TUTIYA¹, FUSANORI NISHIMURA², HIDEKI SHIBA¹

【目的】歯髄炎の初期反応では、歯髄に浸潤したマクロファージから腫瘍壊死因子 (TNF)- α を主とした炎症性サイトカインが分泌され炎症反応が亢進する。我々の研究グループの先行研究において、初代および不死化培養ヒト歯髄細胞上清をマクロファージに添加すると、添加1時間後からマクロファージにおいて TNF- α などの炎症性サイトカイン遺伝子発現の著しい上昇ならびにサイトカイン分泌促進を認めることを報告してきた。また、これら培養ヒト歯髄細胞上清から exosome を単離し、その炎症促進活性を検討すると、培養上清と同様にマクロファージでの炎症性サイトカイン発現が上昇した。このことから、exosome を含む細胞外微粒子が培養ヒト歯髄細胞上清中の炎症促進活性因子であると考えた。微小小胞 (microvesicles : MVs) は exosome およびアポトーシス小体と共に細胞が放出する細胞外微粒子である。これらはその分泌メカニズムが異なるものの、各特異的マーカーに乏しいため、これらの長径が異なることを利用して遠心法や限外濾過法で分離されている。そこで本研究では、培養ヒト歯髄細胞上清から回収した MVs とマクロファージの炎症促進活性の関連について検討した。

【材料と方法】 1. 供試細胞：マクロファージ：購入したヒト単球様細胞株 THP-1 を PMA で分化させマクロファージ様細胞とした。ヒト歯髄細胞：不死化した DP-1 と本学病院において矯正学的理由で便宜抜歯されたヒト歯牙の歯髄から獲得した4種の dental pulp cells (DPC) を用いた。(本学臨床研究倫理審査委員会、承認番号：81)。2. 歯髄細胞培養上清の回収並びに細胞上清からの細胞外微粒子の除去：DP-1、DPCs をサブコンフルエントまで培養後に、無血清培地で洗浄し、さらに無血清培地で24時間培養した後に回収したものを刺激用培養上清とした。さらに、培養上清を 5.0, 1.2, 0.8, 0.45, 0.22 μm ポアサイズの限外濾過フィルターに通し、各ポアサイズを通過できない細胞外微粒子を培養上清より除去した。3. 歯髄細胞培養上清からの MVs 単離：0.22 μm で限外濾過した牛胎児血清を 10% 含有する培養上清で DP-1 を 24 時間培養し、得られた培養上清を 1.2 μm で限外濾過した後に、16,000g x 45 min 遠心後に DPBS にて洗浄を2回繰り返し、さらに 16,000g x 45 min 遠心を行い、得られた沈殿物を MVs とした。MVs の濃度は BCA assay にて測定した。4. マクロファージへの炎症促進活性の定量的評価：各種培養上清並びに精製した細胞外微粒子を分化 THP-1 に作用させ、TNF- α 産生量を ELISA キットによって測定した。

【結果】 DP-1 および4種の DPC からの培養上清による刺激で、分化 THP-1 から高い TNF- α 産生誘導を認めた。また 5.0, 1.2, 0.8 μm で限外濾過した培養上清は無濾過と同等の TNF- α 産生誘導を認めたが、0.45, 0.22 μm で限外濾過した培養上清には産生誘導能がほとんどなかった。さらに遠心法で得られた歯髄細胞由来 MVs で分化 THP-1 を刺激すると、100 ng/ml の低濃度刺激で培養上清と同等の著明な TNF- α 産生誘導を認めた。一方、ヒト歯肉線維芽細胞から得られた MVs には活性がなかった。

【結論】 0.8 μm 以上ではなく 0.45 μm 以下の限外濾過法での歯髄細胞上清からの細胞外微粒子除去によって、その TNF- α 産生誘導能が喪失したことから、0.45 μm 以上 0.8 μm 以下の長径を持つ微粒子の集団が、産生誘導の主体を為すことが明らかとなった。これは遠心法で得られた MVs と長径が一致していた。今後、歯髄細胞からの MVs や exosome などの細胞外微粒子の放出や、その反応として引き起こされる免疫応答およびその抑制機構を解明することで、歯髄炎のみならず炎症性疾患の成因を明らかにできる可能性がある。

Zinc-Fluoride ガラス塗布材のイオン徐放性と抗菌効果

¹北海道大学大学院 歯学研究院 歯周・歯内療法学教室

○西田 絵利香¹、宮治 裕史¹、蒨 佳奈子¹、菅谷 勉¹

Ion releasing and antibacterial effects of coating material containing Zinc-Fluoride glass

¹Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Faculty of Dental Medicine

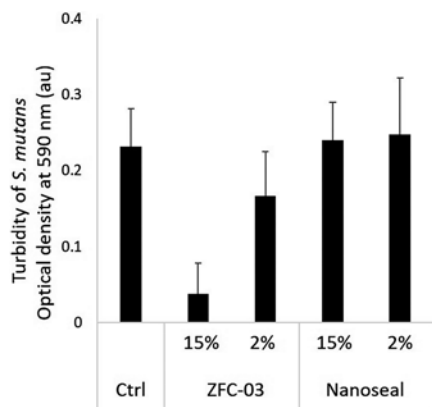
○ERIKA NISHIDA¹, HIROFUMI MIYAJI¹, KANAKO SHITOMI¹, TSUTOMU SUGAYA¹

【目的】露出根面はう蝕リスクが高いため、抗菌性、脱灰抑制、再石灰化促進効果を有する材料の使用が望ましい。近年、知覚過敏抑制材として亜鉛 (Zn) とフッ素 (F)、カルシウム (Ca)、ケイ素 (Si) を配合した Zinc-Fluoride (Zinc-F) ガラスを用いたガラス塗布材が開発された。これは根面に塗布することで根表面に Zinc-F ガラス、 $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ 、 CaF_2 、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 等によるナノ粒子層が形成される。亜鉛やフッ素は抗菌性や脱灰抑制効果を有すると報告されており、Zinc-F ガラスコートによって根面う蝕に対する予防効果が発揮できると考えられる。本研究では、Zinc-F ガラス塗布材からの亜鉛ならびにフッ化物イオンの溶出を測定、また、Zinc-F ガラス塗布材の抗菌効果について *S. mutans* を用いて検討し、市販の知覚過敏抑制材との比較をおこなった。

【材料および方法】評価には Zinc-F ガラス塗布材 (ZFC-03) (A 液; Zinc-F ガラススラリー液, B 液; リン酸水溶液 (12%), ジーシー) と市販の知覚過敏抑制材であるナノシール (A 液; フルオロアルミノシリケートガラス分散液, B 液; リン酸水溶液, 日本歯科薬品) を用いた。各材料をメーカー指示通りに混和し、リン酸水溶液を除去後、蒸留水中で 24 時間攪拌して抽出液を作製した。抽出液中の亜鉛イオンを ICP 発光分光分析法にて、フッ化物イオンをフッ化物イオン電極にて測定した。次にヒト抜去歯から象牙質ブロックを作製 ($5 \times 5 \times 1 \text{ mm}^3$) し、EDTA にて洗浄後、各混和液を塗布、水洗後に *S. mutans* (ATCC 35668) を播種した。24 時間嫌気下にて培養後、SEM にて観察した。また、48well plate に *S. mutans* を播種し、培地に各材料の抽出液を添加 (2%, 15%) して 24 時間嫌気下にて培養後、濁度測定を行った。なお、ヒト抜去歯の採取と評価は北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認を受けて行った (承認番号 自 012-0046)。

【結果と考察】Zinc-F ガラス塗布材から亜鉛イオン (25ppm) ならびにフッ化物イオン (62ppm) 溶出が検出され、ナノシールはフッ素イオン (28ppm) のみ検出された。Zinc-F ガラス塗布材のフッ化物イオンの溶出量はナノシールの約 2 倍であった。細菌培養後の SEM 観察において、Zinc-F ガラス塗布材処理象牙質上の細菌の付着増殖は少なかったが、未処理、B 液 (リン酸水溶液) 処理、ナノシール混和液処理した象牙質では細菌増殖によるバイオフィーム形成を認めた。濁度測定の結果、Zinc-F ガラス塗布材抽出液を添加すると低い濁度を示し、15% 添加ではコントロール (未添加) の濁度の約 1/6 であった。一方、ナノシール抽出液を添加してもコントロールと差は認められなかった (図)。したがって、Zinc-F ガラス塗布材より放出された亜鉛イオンあるいは高濃度のフッ化物イオンが、*S. mutans* に対する抗菌性を発揮したと考えられた。

【結論】Zinc-F ガラス塗布材は亜鉛イオンとフッ化物イオンを放出し、*S. mutans* の増殖を抑制することが示唆された。



S-PRG フィラー抽出液のヒト骨髓由来幹細胞およびヒト歯髄幹細胞の細胞動態に及ぼす作用の検討

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

○井殿 泰鳳¹、川木 晴美²、石博 大嗣¹、越智 葉子¹、清水 翔二郎¹、近藤 信夫²、堀田 正人¹

Effects of S-PRG eluate on the hBMSC and hDPSC activities

¹Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry, Gifu, Japan ²Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure, Function and Development, Asahi University School of Dentistry, Gifu, Japan

○TAIHO IDONO¹, HARUMI KAWAKI², HIROSHI ISHIGURE¹, Youko Ochi¹, Shouzirou Shimizu¹, Nobuo Kondou², Masato Hotta¹

【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、S-PRG フィラー抽出液含有培地を用いてヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) の動態を検討した。

【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：培地の比が1:100、あるいは1:1000 となるよう抽出液含有培地を作製した。また、培地は無血清培地あるいは10%ヒト血清含有培地を用いた。これらの4種の培地を用いてhDPSC、hBMSCを培養し、細胞毒性、細胞接着、細胞増殖および、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性を検討した。

【結果および考察】培養24時間後の細胞毒性を検討したところ、1:100 培地は無血清では2種の幹細胞で顕著な細胞毒性を示したが、ヒト血清添加培地ではhDPSCでは細胞毒性がみられず、hBMSCでもわずかであった。また、細胞増殖は無血清培地では両細胞とも阻害されたがヒト血清添加培地では1:1000 培地で細胞増殖が促進され、1:100 培地でもS-PRG 抽出液を含まないコントロール培地と同等であった。また、播種後12時間の細胞の接着と形態を検討したところhBMSC、hDPSCいずれもヒト血清含有1:100 培地で、伸展した細胞が多数みられ、細胞接着に関与するTalinの発現が顕著にみられた。さらにこの培地ではALP陽性細胞が顕著にみられた。

【結論】ヒト血清を添加することで、1:100 培地でも細胞毒性の影響をほとんど受けずにS-PRG 抽出液の作用を検討することができ、S-PRG 抽出液の濃度の高い1:100 培地では細胞の伸展と接着および骨芽細胞様細胞への分化が促進され、濃度の低い1:1000 培地では増殖促進効果がみられ、異なる細胞応答が示されたことから、S-PRG 抽出液の用途の拡大の可能性が示された。

歯科用ユニット給水管路汚染対策用の自動注水制御シミュレータの評価

¹岡山大学病院 歯周科、²岡山大学病院 新医療研究開発センター、³タカラベルモント株式会社 デンタル事業部 デンタルマーケティング部、⁴タカラベルモント株式会社 開発本部、⁵岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 病態機構学講座 歯周病態学分野
○大久保 圭祐¹、伊東 孝²、山本 一郎³、水谷 元⁴、伊東 昌洋⁵、田井 真砂子⁵、中村 心⁵、岡本 憲太郎⁵、塩田 康祥¹、
河田 有祐¹、大森 一弘¹、山本 直史¹、高柴 正悟⁵

Evaluation of a simulator with automatic irrigation control system designed for countermeasures of internal pollution in dental unit water lines

¹Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital, Okayama, Japan ²Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, Okayama, Japan ³Takara Belmont Corporation, Dental Department Marketing Division, Osaka, Japan ⁴Takara Belmont Corporation, Research & Development Department, Osaka, Japan ⁵Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Okayama, Japan

○KEISUKE OKUBO¹, TAKASHI ITO², ICHIRO YAMAMOTO³, HAJIME MIZUTANI⁴, MASAHIRO ITO⁵, MASAKO TAI⁵, SHIN NAKAMURA⁵, KENTARO OKAMOTO⁵, YASUYOSHI SHIOTA¹,
YUSUKE KAWATA¹, KAZUHIRO OMORI¹, TADASHI YAMAMOTO⁵, SHOGO TAKASHIBA⁵

【緒言】院内感染の防止は、高齢者や周術期に代表される易感染性宿主が増加したことに加え、患者の医療安全に対する意識が向上したことに伴い、近年の重要な問題である。歯科用ユニットは、歯科診療に不可欠な医療機器であるが、その給水管路 (Dental Unit Water Line : DUWL) の内部では、水中の従属栄養細菌を中心としたバイオフィームが経時的に形成され、注水汚染が生じることが広く知られている。また、その中には日和見感染症を惹起する微生物種が存在したという報告 (Wirthlin *et al.*, 2003) もある。しかし、日本では明確な院内感染事例の報告が少なく、対策基準が定められていない。その一方で米国歯科医師会や米国疾病対策センターは DUWL の汚染に対する対策目標値を定め、さらに国際標準化機構でも DUWL 汚染制御に関する試験方法が定められている (ISO16954, 2015)。

上記の背景から、種々の DUWL 汚染制御方法を規格化された環境で検討するために、DUWL を再現したシミュレータを作製した。今回は、DUWL 汚染状態の変化と既存の DUWL 汚染制御方法の有効性から、本シミュレータを評価した。

【材料および方法】

1. 試験装置：歯科用ユニットの設計を模した卓上シミュレータを作製した。自動注水制御プログラムは、ISO16954 と、独自に調査した一般歯科医院におけるフラッシングを含めた使用実態を参考に設定した。試験は、約1年間試験水を滞留させた後、4週連続して実施した。
2. 試験水：試験水は、[1]水道水 (岡山市水道局：陰性対照)、[2]中性電解水 (セルフメディカル、製品名 Poseidon : 陽性対照) を使用した。採水は試験開始から1週毎に行い、DUWL のタービンハンドピースから得たものを用いた。一方、汚染の比較基準としてシミュレータに導水しない水道水 (一般水道水) を使用した。
3. 従属栄養細菌：[1]採水した試験水 100 μ L を R2A 寒天培地 (日本ベクトン・ディッキンソン) に播種し、従属栄養細菌を培養して (20 $^{\circ}$ C, 6日間)、生菌数濃度を算出した (単位: cfu/mL)。[2]採水した試験水 50 mL を 450 mL の R2A 液体培地 (和光純薬) で静置培養して (20 $^{\circ}$ C, 6日間)、培養液中のアデノシン三リン酸 (ATP) 量を測定した。
4. アデノシン三リン酸 (ATP) 量の測定：ATP 量の測定は、ルシフェール HS キットおよびレミテスターC-110 (ともにキッコーマン) を用いて行った。

【結果】

1. ATP 量の経時的変化
各試験水の ATP 量を一般水道水のものと比較した。試験開始時では、各試験水中の ATP 量は 100 倍以上であった。陰性対照は4週後の採水でも約 10 倍以上の ATP 量を示した。しかし、陽性対照は2週後の採水では同程度の ATP 量まで減少した。
2. 寒天培地上のコロニーの性状と生菌数濃度の経時的変化
試験開始時では、各試験水ともに生菌数濃度が 10^4 cfu/mL 以上であったが、コロニーの性状は異なる傾向を示した。陰性対照は一定して 10^4 cfu/mL を超える生菌数濃度であったが、陽性対照は1週後の採水では検出限界以下となった。
3. 液体培地での培養後における ATP 量の経時的変化
試験開始時に採水した試験水を培養したものでは、各試験水ともに一般水道水を培養したものと比較して2倍以上の ATP 量を示した。陰性対照は4週後の採水でも高い ATP 量を示したが、陽性対照では、1週後には一般水道水を培養したものと比較して ATP 量が減少し、さらに経時的に減少した。

【考察・結論】DUWL に水を約1年間滞留させると、生菌数濃度が 10^4 cfu/mL 以上の注水汚染があった。これは、DUWL の注水中には 10^4 cfu/mL 以上の汚染が生じていたとの過去の報告と一致する。この汚染は使用を再開して4週経過しても改善しなかった。しかし、中性電解水を DUWL 汚染制御剤として使用する既存の方法によって、1週経過すると汚染は改善した。このように本シミュレータは、DUWL の汚染制御策を検討する上で有効と考える。

Effects of the Comprehensive Periodontal Treatment Project and Supportive Periodontal Therapy and the Oral Health Attitude and Quality of Life among Smokers and Non-smokers in Taiwan

Yuan-Ting Chiu¹, OYung-Show Chiang², Chia-Wen Hsu², Hsiao-Ling Huang¹

¹Department of Oral Hygiene, Kaoshiung Medical University, ²Department of Dentistry, Tainan Municipal Hospital

I. Objective:

The comprehensive periodontal treatment project (CPTP) has been implemented in Taiwan since 2010. The CPTP includes X-rays, a periodontal examination, oral hygiene instruction (OHI), root planing with plaque control record (PCR), and re-evaluation of probing pocket depth (PPD) and PCR 1month later. Supportive periodontal therapy (SPT) provides 3-month recall for scaling, PCR, OHI, and/or reevaluation of PPD from 2015. The study compared the effects of CPTP and SPT and the oral health attitude and quality of life among smokers and non-smokers.

II. Materials & Methods:

A total of 143 patients who received CPTP and SPT were investigated and divided into smokers (n = 47) and non-smokers (n = 96) groups. Periodontal parameters, including the PPD, bleeding on probing (BOP), and PCR, were collected before root planing (T1), 1 month after root planing (T2) and 3 months after root planing (T3). The first questionnaire at T1 involved general data, smoking behavior, oral care behavior, oral health attitude, oral health knowledge, and oral health impact profile (OHIP-14). The second questionnaire at T2 involved oral care behavior. The third questionnaire at T3 involved OHIP-14. The PPD, BOP, and OHIP at T1, T2, and T3 were statistically analyzed for comparison between smokers and non-smokers. The linear regression in general estimating equating (GEE) was used to analyze the smoking behavior, gender, age, education level, number of visits, and the relation of PPD, BOP, and OHIP.

III. Results:

The average PPD at T1 in smokers was 3.59mm (± 0.69), whereas the average PPD at T1 in non-smokers was 3.32mm (± 0.51). The average PPD at T2 in smokers was 3.02mm (± 0.47), whereas the average PPD at T2 in non-smokers was 2.84mm (± 0.45). The average PPD at T3 in smokers was 2.95mm (± 0.52), whereas the average PPD at T3 in non-smokers was 2.73mm (± 0.38). The reduced surface of BOP in smokers from T1 to T2 was 0.12 (± 0.11), whereas the reduced surface of BOP in non-smokers from T1 to T2 was 0.18 (± 0.13) ($p=0.017$). The psychological discomfort score in smokers from T1 to T2 decreased 0.07 (± 2.59), whereas score in non-smokers from T1 to T2 decreased 0.86 (± 1.89) ($p=0.022$). When the number of visits increased one time, the PPD from T1 to T3 decreased 0.298. In patients with high education level from T1 to T3, the average reduced BOP surface was 0.066 in patients with high education level, and the average diminished BOP surface was 0.049 when the number of visits increased one time.

IV. Conclusion:

The effects of CPTP and SPT were good either in smokers or in non-smokers. However, smoking affected the BOP and the quality of life. In addition, the number of visits was related to the change of PPD, BOP, and OHIP. The smokers should quit smoking to promote the quality of life and diminish the time of treatment.

Contact information of the authors

CHIANG, YUNG- SHOW

Department of Dentistry, Tainan Municipal Hospital

211275@tmh.org.tw