

Zinc-Fluoride ガラス塗布材の細胞親和性評価

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, 宮治裕史, 蓼 佳奈子, 菅谷 勉

Assessments of biocompatibility of coating material containing zinc-fluoride glass

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

○Erika NISHIDA, Hirofumi MIYAJI, Kanako SHITOMI, Tsutomu SUGAYA

<研究目的>

露出根面はう蝕リスクが高く、根面う蝕の予防のために抗菌性、脱灰抑制、再石灰化促進効果を有する材料の使用が望まれる。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。我々はこれまでに、Zinc-F ガラス塗布材は亜鉛ならびにフッ化物イオンを放出し、*S. mutans* の増殖を抑制することを報告した (第 149 回日本歯科保存学会 2017 年度秋季学術大会で発表)。したがって 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た。しかし、抗菌性を有する材料は生体細胞毒性を発揮する可能性がある。そこで今回、Zinc-F ガラス塗布材の抽出液を用いて生体細胞に対する親和性について検討し、市販の知覚過敏抑制材と比較検討したので報告する。

<材料および方法>

評価には Zinc-F ガラス塗布材であるケアダインシールド (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。

細胞親和性試験には線維芽細胞様細胞 (NIH-3T3) と骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) を用いた。48 ウェルプレートに各細胞を 1×10^4 個播種し、培地に各材料の抽出液を 2% もしくは 20% 添加して培養を行った (37°C , 5% CO_2)。24 時間培養後、LIVE/DEAD 染色と、アクチン-ピンキュリン 2 重染色を行い、蛍光顕微鏡で観察した。同様に細胞を 1, 3, 5 日間培養 (37°C , 5% CO_2) 後に CCK-8 アッセイ及び LDH アッセイを行った。

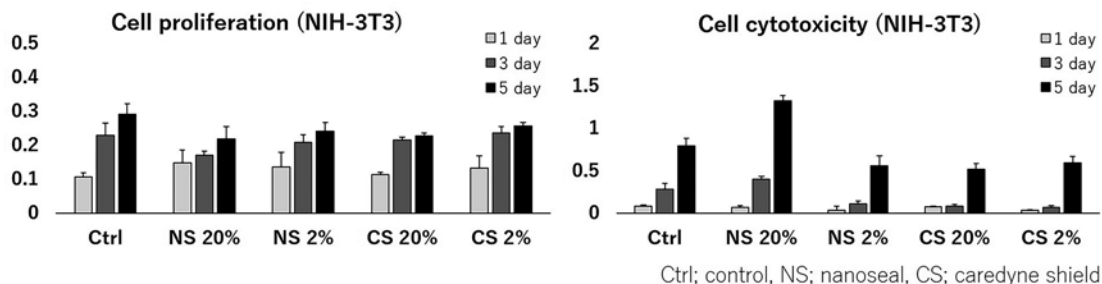
<結果と考察>

LIVE/DEAD 染色の結果、ケアダインシールドおよびナノシール抽出液を添加しても、死細胞の増加は認めなかった。またアクチンフィラメント-ピンキュリン免疫染色の結果においても、同様にケアダインシールドおよびナノシール抽出液は生体細胞の細胞付着伸展を阻害しなかった。

CCK-8 アッセイの結果、ケアダインシールドおよびナノシール抽出液を添加しても、細胞は経時的に増殖しコントロールと同程度の増殖量を示した。一方 LDH アッセイにおいて、ケアダインシールド抽出液を添加しても低い LDH 活性を示したのに対し、ナノシール抽出液を 20% 添加すると経時的に LDH 活性が上昇した (図)。

<結論>

Zinc-F ガラス塗布材であるケアダインシールドは、良好な生体細胞親和性を示した。



亜鉛ガラス含有ガラスアイオノマーセメントの物性および抗菌効果

北海道大学大学院歯学研究院 歯周・歯内療法学教室

○部 佳奈子, 宮治裕史, 西田絵利香, 菅谷 勉

Antibacterial and physical properties of zinc-glass containing glass-ionomer cement

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

○Kanako SHITOMI, Hirofumi MIYAJI, Erika NISHIDA, Tsutomu SUGAYA

【研究の目的】露出根面はう蝕リスクが高く、根面う蝕の治療には抗菌性、脱灰抑制、再石灰化促進効果を有する材料の使用が望まれる。近年、亜鉛 (Zn) とフッ素 (F)、カルシウム (Ca)、ケイ素 (Si)等を配合した亜鉛ガラスが開発された。亜鉛ガラスは Zn, F, Ca イオンを放出することから、亜鉛ガラス含有充填材料は抗菌効果等が期待できる。本研究の目的は亜鉛ガラスを含有した試作ガラスアイオノマーセメントの物性ならびに抗菌性を、市販の歯質保護用ガラスアイオノマーセメントと比較検討することである。

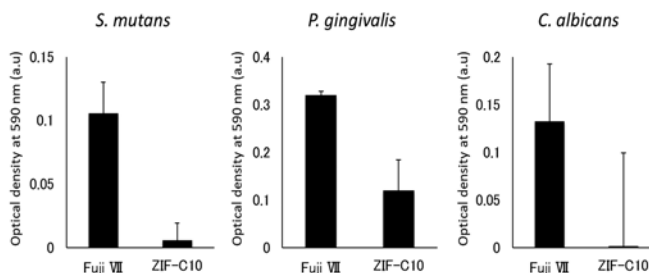
【材料と方法】評価には亜鉛ガラス含有ガラスアイオノマーセメント (ZIF-C10, ジーシー) と Fuji VII (ジーシー) を使用した。各材料の硬化体を作製し、JIS T6607: 1993 に基づいて崩壊率を評価し、JIS T6609-1: 2005 に基づいて酸溶解性、圧縮強度を評価した。また、#320 耐水研磨紙にて研磨した牛歯エナメル質、象牙質包埋体上に ϕ 2.4mm、深さ 3mm の穴の空いたモールド (ULTRADENT) を固定し、各練和物を充填した。37°C、湿度 90%以上の恒温恒湿器内に 5 分間静置した後、モールドを取り外し同環境に 1 時間静置した。その後 37°C の蒸留水中で 24 時間静置し、小型卓上試験機にてクロスヘッドスピード 1 mm/min の条件でせん断接着試験を行った。さらに ϕ 7mm、厚さ 1mm の穴の空いたアクリルブロック 2 つに各練和物をそれぞれ充填し、温度 37°C、湿度 90%以上の恒温恒湿器内で 1 時間静置した。得られた硬化体を蒸留水中および pH4.5 酢酸溶液中 (50mM 酢酸) に浸漬して、1~62 日における Zn, F, Ca イオン溶出量 (ppm) を ICP 発光分光分析装置およびフッ化物イオン電極にて測定した。

抗菌性試験として、ZIF-C10, Fuji VII の練和物をシリコンチューブに充填し硬化体を作製後、*S. mutans* (ATCC 35668) を播種して嫌気下で培養後、SEM 観察と LIVE/DEAD 染色を行った。また硬化体に *S. mutans*, *P. gingivalis* (ATCC33277), *C. albicans* (ATCC 48130) を播種後 24 時間培養し、濁度測定およびコロニーカウントを行い比較検討した。

【結果と考察】ZIF-C10 の操作性、硬化時間は Fuji VII と同等であった。硬化体の崩壊率、酸溶解性、圧縮強度は JIS 基準の範囲内で Fuji VII と同等であった。蒸留水中における Fuji VII 硬化体からは F イオンのみ溶出したのに対し、ZIF-C10 硬化体からは Zn, F イオンの溶出が認められた。また ZIF-C10 の F イオンの溶出量は Fuji VII より多かった。一方、pH4.5 酢酸溶液中における ZIF-C10 と Fuji VII 硬化体のイオン溶出では F イオンはほぼ同等の溶出が検出され、Zn イオンと Ca イオンについては ZIF-C10 からのみ検出された。

SEM 観察において *S. mutans* は Fuji VII 硬化体上でバイオフィルムを形成したのに対し、ZIF-C10 硬化体上で菌体をほとんど認めなかった。LIVE/DEAD 染色では ZIF-C10 硬化体上で多くの死菌を観察した。濁度測定において ZIF-C10 は Fuji VII と比較して濁度上昇を有意に抑制した (図)。さらに ZIF-C10 硬化体はコロニー数も減少させたことから、ZIF-C10 は口腔内細菌に対し抗菌性を発揮したことが示唆された。これは ZIF-C10 から溶出した Zn, F イオンが寄与したと考えられた。

【結論】亜鉛ガラス含有ガラスアイオノマーセメントは Fuji VII と同等の物性を示し、その硬化体は Zn, F, Ca イオンを徐放した。また Fuji VII に比較して強い抗菌性を示した。



S-PRG バーニッシュによる象牙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

○松田康裕¹、奥山克史²、山本洋子³、大木彩子⁴、泉川昌宣¹、伊藤修一¹、林美加子³、佐野英彦⁴、斎藤隆史¹

Demineralize prevention of dentin with S-PRG Varnish via automatic pH-cycling

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

○MATSUDA Yasuhiro, OKUYAMA Katsushi, YAMAMOTO Hiroko, OKI Saiko,
IZUMIKAWA Masanori, ITO Shuichi, HAYASHI Mikako, SANO Hidehiko and SAITO Takashi

【緒言】

歯面に塗布しフッ素を供給する材料として、欧米諸国で広く用いられているフッ化物バーニッシュがある。近年では、多機能性表面処理ガラスフィラー (Surface reaction type pre-reacted glass ionomer filler (S-PR フィラー)) を含有するバーニッシュの開発も進んでいる。この S-PRG フィラーは F⁻をはじめ、Na⁺, B₃O₃³⁻, Sr²⁺, SiO₃²⁻, Al³⁺などのイオン徐放性を持つ。そのため、S-PRG フィラー配合歯面塗布材料であるバリアコートは抗菌性に優れ、歯質の耐酸性や再石灰化効果をもたらすことから根面齲蝕の新たな予防材料となることが期待されている。本教室の自動 pH サイクル装置は、溶液が還流するため、口腔内の pH の変化や歯質周囲のフッ素濃度のシミュレーションが可能である。そこで、今回は自動 pH サイクル装置を用いて、フッ化物徐放性材料を塗布した象牙質の脱灰変化の観察およびフッ化物局所応用としてのフッ化物バーニッシュの有効性について検討した。

【材料と方法】

本研究では健全ヒト抜去臼歯、歯頸部にフッ化物バーニッシュとして Enamel Pro® Varnish, Premier® (EP) と Vanish™ 5% NaF White Varnish, 3M ESPE (WV) を、S-PRG バーニッシュとして S-PRG Varnish, SHOFU (S-PRG) の塗布を行い、材料を塗布しなかったものをコントロールとした。塗布後に材料を含み厚さ 200 μm に切断した切片を Single-Section 試料として用いた。Single-Section 試料は自動 pH サイクル装置を用いた負荷シミュレーションを行う前と、4 週間行った後に Transverse microradiography (TMR) 撮影を行い、得られた画像から Integrated Mineral Loss (IML) を算出した。負荷前から 4 週間後の IML の増加量を ΔIML として脱灰抑制効果の比較を行った。また、マイクロ proton-induced gamma/X-ray emission system (PIGE/PIXE) を使用して、エナメル質内のフッ素量を測定した。

【結果及び考察】

	Control	EP	WV	S-PRG
ΔIML (Vol%* μm)	5136 (2601) ^A	2603 (1443) ^A	1275 (1130) ^B	941 (701) ^B
F uptake (ppm)	422 (93) ^A	1914 (1398) ^B	847 (404) ^A	1399 (609) ^B

ミネラル変化とフッ化物取り込み量の結果を上表に示す (同一文字には有意差なし)。4 週間後のミネラル量の変化 (ΔIML (Vol%* μm)) では WV 群と S-PRG 群がコントロール群と EP 群と比較して有意に少なく、脱灰抑制効果が認められた。フッ素の取り込みでは S-PRG 群と EP 群がコントロール群と比較して優位に多くのフッ素を取り込むことが示された。S-PRG 群のみがコントロールと比較して脱灰抑制効果とフッ素の取り込みの療法で有意差を示した。

【結論】

今回の結果から、S-PRG バーニッシュの歯面塗布によって象牙質の脱灰を抑制することが示され、S-PRG バーニッシュのフッ化物局所応用としての有効性が示唆された。S-PRG バーニッシュはフッ素以外のイオンを放出し抗菌作用を示すことが既に報告されていることから、今後、脱灰抑制と細菌付着作用などを併せ持つ多機能う蝕予防材料の開発が期待される。

ユニバーサルボンディング材の象牙質接着性および吸水性

北海道医療大学口腔機能修復・再建学系 高度先進保存学分野¹

北海道医療大学口腔構造機能・発育学系 小児歯科学分野²

北海道医療大学口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野³

○佐藤幸平¹, 藤田裕介², 尾立達治¹, 伊藤修一³, 斎藤隆史³, 川上智史¹

Dentin bond strengths and water absorption of universal bonding materials

¹Division of General Dental Sciences I, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²Division of Pediatric Dentistry, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

³Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Dentistry, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

○Kohey SATO¹, Yuusuke FUJITA², Tatsuji ODACHI¹, Shuichi ITO³, Takashi SAITO³, Tomofumi KAWAKAMI¹

目的: 近年, 歯科接着技術の発達に伴って操作の簡略化を目的とした 1 ステップボンディングシステムが広く, 歯科臨床で用いられている. さらに, 接着対象が金属やセラミック, ジルコニアなど歯質以外にも対応可能なユニバーサルシステムが開発されたが, 従来の 1 ステップボンディングをユニバーサル化したボンディング材の物性変化についての報告は少ない. そこで, 本研究ではユニバーサルボンディング材の象牙質に対する物性および耐久性の評価を目的として吸水率・溶解率と微小引張試験の比較検討を行った.

材料と方法: 歯牙はう蝕のないヒト抜去大臼歯を用いた. 本研究は北海道医療大学歯学研究科倫理委員会に承認されている(第 138 号). ユニバーサルボンディング材はクリアフィルユニバーサルボンドクイック (UB) とスコッチボンドユニバーサルアドヒーズ (SB), 1 ステップボンディング材としてクリアフィルトライエスボンド ND クイック (TB) を用いた. 歯牙は精密低速切断機にて歯冠部中央を歯軸に対して垂直に切断し, 露出させた象牙質面を #600 耐水研磨紙を用いて研磨した後, 超音波洗浄を行った. 象牙質面を各ボンディング材の添付文書に従って歯面処理を行った後, コンポジットレジン (CR) を 1 mm の高さになるよう築盛し, これを 5 回繰り返して高さが 5 mm となるように築盛した. 築盛した試料は接着面積が 1.0 mm² となるようにスティック状の試料に切り出し, 37°C の蒸留水中に 24 時間保管したものを測定試料とした (n=12). 測定には万能試験機を用いて微小引張試験を行った. 測定後, 試料破断面と接着界面は SEM にて観察を行った.

シリコン製包埋板を用いて各ボンディング材を流し込み, ディスク状の試料を作製し, シリカゲルを含むデシケーター内で 24 時間暗所に静置した (n=5). ディスク状の試料は初期重量を測定した後, 蒸留水中に浸漬させ経時的に重量を測定して最大吸水率を算出した. その後, 蒸留水中から取り出し, シリカゲルを含むデシケーター内で 5 分毎に経時的に重量を測定し最大溶解率を算出した.

結果: 微小引張試験の結果 UB は 66.7 MPa, SB は 49.1 MPa, TB は 57.8 MPa であった. 各試料間に有意差は認めなかった (p<0.05). 接着界面の観察では各試料間に違いは認められなかった. 試料破断面の観察では CR 内での凝集破壊がすべてのボンディング材に共通して最も多く見られた. UB と TB は CR とボンディング層の接着界面での破壊が次いで多く, SB は CR とボンディング材間での界面破壊とボンディング材と象牙質間での界面破壊が同数であった. 最大吸水率は UB が 0.65%, SB が 0.82%, TB が 1.86% であり, 全ての試料間で有意差を認めた. 最大溶解率は UB が 1.43%, SB が 1.09%, TB が 0.25% であり, 全ての試料間で有意差を認めた (p<0.05).

考察と結論: UB, SB, TB との間で吸水率・溶解率に有意差が認められた. ユニバーサルシステムは対象となる被着体を多様化させるとともに, 相分離の抑制や象牙質表層のぬれ性の向上を目的として, シランカップリング剤や HEMA が配合されている. これらの配合成分の種類の違いが接着性能や操作手技に影響を与えることが報告されている. また, HEMA の配合率がボンディング材の物性に影響を与える報告からも, UB と TB 間に認めた吸水率・溶解率の差は, ユニバーサル化のために必要な成分添加による HEMA 配合率低下が原因であると考えられた. また, 同じユニバーサルシステムである UB と SB 間での吸水率・溶解率の差は, それぞれに配合された成分の違いが原因と考えられた. 以上のことから, ユニバーサルボンディング材の象牙質に対する初期接着強さは同等であるが, 吸水によって長期耐久性に低下が生じる可能性があることが示唆された.

各種エッチング材がユニバーサルアドヒーズの歯質接着耐久性に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹⁾、総合歯学研究所生体工学研究部門²⁾、青島歯科医院³⁾

○石井 亮¹⁾、辻本暁正^{1,2)}、名倉侑子¹⁾、須田駿一¹⁾、高見澤俊樹^{1,2)}、宮崎真至^{1,2)}、青島 裕^{1,3)}

Influence of different etching agents on tooth bond durability of universal adhesives

Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾,

Nihon University School of Dentistry, Sato Dental Clinic³⁾

○ISHII Ryo¹⁾, TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, NAGURA Yuko¹⁾, SUDA Shunichi¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)},

MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, AOSHIMA Yutaka^{1,3)}

【研究目的】

近年、光重合型レジン接着システムは、ステップ数の簡略化とともにトータルエッチモードあるいはセルフエッチモードのいずれにも使用可能なユニバーサルアドヒーズの臨床応用が拡大している。その歯質に対する接着性は、リン酸エッチングの有無による有意差は認められないと報告がされている。一方、エッチング処理材としてはリン酸と比較し、マイルドなエッチング材が開発されているものの、ユニバーサルアドヒーズとの併用による接着耐久性に及ぼす影響に関する知見が少ないのが現状である。そこで著者らは、エッチングの有無がユニバーサルアドヒーズの歯質接着耐久性に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

供試したエッチング材は、Ultra-Etch J (UE, Ultradent)、Enamel Conditioner (EC, Shofu) および Multi Etchant (ME, Yamakin) を使用した。また、ユニバーサルアドヒーズは、Scotchbond Universal (SUB, 3M ESPE)、G-Premio Bond (GPB, GC) および Clearfil Universal Bond Quick (CUB, Kuraray Noritake Dental) を用いた。コンポジットレジンとしては、Clearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental) を用いた。

1. 接着試験用試片の作成

接着試片の製作に際して、ウシ下顎前歯歯冠部を常温重合レジンに包埋し、エナメル質あるいは象牙質平坦面を耐水性 SiC ペーパー# 320 を用いて研削し、被着歯面とした。これらの被着面に対し、ユニバーサルアドヒーズの塗布のみを行ったものをコントロールとした。また、ユニバーサルアドヒーズの前処理として各種エッチング材を製造者指示条件に従い塗布、水洗を行った後、それぞれのユニバーサルアドヒーズを製造者指示条件に従って塗布した。

これらの試片を内径 2.38 mm、高さ 2.5 mm の Ultradent 接着試験用ジグを被着歯面に固定し、レジンペーストを填塞、光照射を行い、これを接着試験用試片とした。

2. 接着強さの測定

接着強さの測定に際しては、接着試片を 37℃ 精製水中に 24 時間保管後、あるいは 24 時間保管後にサーマルサイクリング試験機を用いて、温熱負荷を 10,000 回負荷後、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。

3. SEM 観察

表面処理後の歯質表面における形態学的な検討を行うため、通法に従って試片を製作し、SEM を用いて加速電圧 10 kV の条件で観察した。

【成績および考察】

ユニバーサルアドヒーズの歯質接着耐久性については、SUB および CUB では、脱灰性能の高いエッチング材による前処理を行うことで、接着強さおよび耐久性を向上させることが示された。一方、GPB においては、エッチング材の種類の違いは、接着強さおよび耐久性への影響が少なかった。

表面処理後の歯質表面における SEM 観察においては、SUB および CUB では SiC ペーパーの研削によって生じた削状痕が見られるものの、UE を用いることで明瞭なエッチングパターンが観察された。一方、EC および ME では脱灰による凹凸構造は認められなかった。GPB 処理面においては顕著なエッチングパターンが認められ、各種エッチング材を用いても同様のエッチングパターンが観察された。

【結論】

ユニバーサルアドヒーズの歯質に対する接着耐久性および表面性状は、エッチング材の種類によって異なる傾向を示すとともに、アドヒーズの種類の影響を受けることが明らかとなった。

ユニバーサルアドヒーズのエッチングモードの違いが 未切削エナメル質の接着強さに及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹⁾、総合歯学研究所生体工学研究部門²⁾、福石歯科医院³⁾
○今井亜理紗¹⁾、高見澤俊樹^{1,2)}、細矢由美子¹⁾、鈴木崇之¹⁾、須田駿一¹⁾、辻本暁正^{1,2)}、宮崎真至^{1,2)}、福石弘三³⁾

Influence of different etching modes of universal adhesives on uncut enamel bond strength

Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾,

Nihon University School of Dentistry, Fukuishi Dental Clinic³⁾

○IMAI Arisa¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, HOSOYA Yumiko¹⁾, SUZUKI Takayuki¹⁾,
SUDA Shunichi¹⁾, TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, Fukuishi Kouzou³⁾

【緒言】

エナメル質に対する接着性の評価は、その多くがエナメル質表面を一層削除した切削エナメル質を被着面とした接着試験によって検討がなされてきた。しかし、健全エナメル質を切削することなく未切削なエナメル質を被着対象とする臨床場面もあることから、未切削エナメル質への接着性についても詳細な検討が必要であるものの、接着試験片製作の制限から十分な検討がなされていないのが現状である。一方、近年使用頻度が高まっているユニバーサルアドヒーズは、トータルエッチあるいはセルフエッチモードでの使用が可能である。そのため、窩洞の大きさ、深さおよび部位などを勘案し、エッチングモードを変更することで良好な接着性の獲得が期待されているものの、未切削エナメル質への接着性については不明な点が多い。そこで演者らは、接着試験片の製作が簡便であるとともに被着面積を小さく規定できる ISO 29022 Notched-edge shear bond strength test を用いることで、ユニバーサルアドヒーズの未切削エナメル質に対する接着性を明らかにすることを企画とした。すなわち、ユニバーサルアドヒーズのエナメル質接着性について、ヒト抜去歯未切削エナメル質への接着強さおよび試験片の破壊形式の分類から検討した。また、処理面および接着界面の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察を行い、考察資料とした。

【材料および方法】

ユニバーサルアドヒーズとして、Prime & Bond Universal (PB, Dentsply Sirona)、Scotchbond Univesal (SU, 3M ESPE) および Clearfil Universal Bond Quick (CQ, Kuraray Noritake Dental) を、対照として 2 ステップセルフエッチング接着システムの Clearfil Mega Bond (MB, Kuraray Noritake Dental) およびシングルスステップセルフエッチングアドヒーズのクシーノ JP (JP, Dentsply Sirona) の、合計 5 製品を用いた。接着試験に際しては、亀裂あるいは修復物が無く、歯冠部中央が平坦なヒト抜去前歯を選択して用いた。唇側エナメル質表面を SiC ペーパーの #320 まで研削を行ったものと、研削することなく未切削なエナメル質をそれぞれ被着エナメル質面とした。アドヒーズの塗布条件としては、アドヒーズの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) に分けた。次いで、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℃精製水中に 24 時間保管後、万能試験機を用いて C.H.S=1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。破断試片については実態顕微鏡を用いて歯質側およびレジ側破断面を観察し、破壊形式を分類評価した。なお、試片の数は 15 個としてその平均値および標準偏差を求め、二元配置分散分析および Tukey HSD test を用いて有意水準 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エナメル質接合界面について、通法に従って走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察した。ヒト抜去歯の使用に関しては、日本大学歯学部倫理委員会の承認を得ている (#2015-05)。

【成績および考察】

分散分析の結果から、エナメル質の未切削・切削およびアドヒーズの違いは、エナメル質接着強さへの有意な影響因子 ($p<0.001$) であるとともに、それぞれの因子の相互作用についても有意差が認められた ($p<0.001$)。アドヒーズの種類にかかわらず、セルフエッチングモードでの未切削エナメル質への接着強さは、切削エナメル質に比較して有意に低い値を示した。また、いずれのアドヒーズにおいてもエナメル質表面の切削・未切削にかかわらずトータルエッチモードは、セルフエッチモードに比較して有意に高い値を示した。

【結論】

本実験の結果から、未切削エナメル質にユニバーサルアドヒーズを使用する際はリン酸エッチングを行うことで接着性が増すことが示された。

ユニバーサルアドヒーズの表層低重合層がエナメル質接着疲労耐久性および 界面科学的性質に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹⁾, 総合歯学研究科生体工学研究部門²⁾, 岩崎歯科医院³⁾

○大内 元¹⁾, 辻本暁正^{1,2)}, 嶋谷祐輔¹⁾, 名倉侑子¹⁾,
野尻貴絵¹⁾, 高見澤俊樹^{1,2)}, 宮崎真至^{1,2)}, 岩崎圭祐³⁾

Influence of Oxygen Inhibition Layer of Universal Adhesives on Enamel Bond Fatigue Durability and Interfacial Characteristics

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

○OUCHI Hajime¹⁾, TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, NAGURA Yuko¹⁾, SHIMATANI Yusuke¹⁾,
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, IWASAKI Keisuke³⁾

【研究目的】

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

【材料および方法】

供試したユニバーサルアドヒーズは、Adhese Universal (Ivoclar Vivadent), Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE) および G-Premio Bond (GC) の、合計 3 製品とした。また、エッチング処理剤としては、35%リン酸エッチングゲルの Ultra-Etch J (Ultradent Product) を、コンポジットレジンとしては Z100 Restorative (3M ESPE) を使用した。

1. 剪断接着試験

接着試片の製作に際しては、ヒト抜去歯 (#760765-1) を常温重合レジンに包埋し、エナメル質平坦面を耐水性 SiC ペーパー #4,000 を用いて研削し、被着歯面とした。これらの被着歯面に対して供試したユニバーサルアドヒーズを製造者指示に従って塗布、光照射し、表層低重合層を有する試片 (残存群) および表層低重合層をエタノール綿で除去した試片 (除去群) とした。その後、ステンレス製金型をアドヒーズ塗布面に静置し、コンポジットレジンを填塞、光照射を行い、接着試片とした。また、エナメル質の被着歯面においては、35 %リン酸水溶液 (Ultra-Etch J, Ultradent Products) を用いて 15 秒間エッチング処理を行った条件についても同様に接着試片を製作した。これらの試片は、37°C 精製水中に 24 時間保管後、電気式疲労試験機 (ElectroPuls E1000 Machine, Instron) を用いて、剪断接着強さを測定した。

2. 接着疲労耐久性試験

接着疲労耐久性試験に際しては、電気式疲労試験機を用いて Staircase method に従って行った。すなわち、得られた各接着システムの剪断接着強さの約 50 % 荷重を、接着試片に対して 20 Hz の条件で繰り返し 50,000 回負荷した。この規定回数に達する前に試片が脱落した際は、初期荷重の 10 % を減じ、試片が生存した際は、荷重を 10% 増加させ、段階的に荷重を負荷した。試片の脱落個数および段階的に負荷した荷重から、剪断疲労接着強さを算出した。

3. 接触角の測定

接触角の測定は、剪断接着試験に用いた被着面と同様に調整した試片を、接触角測定用試片とした。接触角の測定は、全自動接触角計 (Drop Master DM 500, 協和界面科学) を用い、セシルドロップ法で蒸留水を 3 μ L 滴下し、装置に付属するソフトウェア (FAMAS, 協和界面科学) を用いて $\theta/2$ 法で測定を行った。

4. 走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察

ユニバーサルアドヒーズとエナメル質との接合状態を検討するため、FE-SEM (ERA-8800 FE, Elionix) を用いて、その接合界面を加速電圧 10 kV の条件で観察した。

【成績および考察】

ユニバーサルアドヒーズの残存群におけるエナメル質接着疲労耐久性は、除去群と比較して有意に高い値を示した。一方、ユニバーサルアドヒーズの残存群における蒸留水との接触角は、除去群と比較して有意に低い値を示した。また、コンポジットレジンとエナメル質との接合界面の SEM 観察では、いずれの条件にかかわらず、良好な接合状態が観察されたものの、除去群でアドヒーズ層の厚みが薄くなった。

【結論】

本実験の結果から、ユニバーサルアドヒーズの表層低重合層の存在はその接着疲労耐久性および界面科学的性質を向上させることが明らかとなった。

各種セルフエッチングシステムによる象牙質窩洞面への清掃効果に対する評価

¹奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学分野

²奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野

○山田嘉重¹, 木村裕一², 菊井徹哉¹

Evaluation on cleaning effect on dentin cavity surface by various self-etching systems

¹Division of Operative Dentistry, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

²Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

OYAMADA Yoshishige¹, KIMURA Yuichi², KIKUI Tetuya¹

【目的】齲蝕治療後の修復処置としてコンポジットレジン修復が占める割合は以前より多くなってきている。コンポジットレジン修復が良好な結果を推移するためには接着システムにおける前処理が良好に機能するか否かが大きく関与することは想像に難しくない。現在主流となっているコンポジットレジンの接着システムはセルフエッチングプライマーとボンディングを用いた方法と、それらを1つにまとめたワンステップシステムである。それぞれの成分は接着システムを販売している各企業において差はあるものの、形成されたレジntagの象牙細管内への浸透状態が接着システムの良否に大きく関与することは同じである。そのため確実にスマヤー層の除去を行い、象牙細管内にレジン成分が十分に浸透させる必要がある。現在様々なタイプの酸性モノマーがセルフエッチングプライマーシステムの成分として配合されているが、それらのスマヤー層除去効果については十分に明確にされているとは言えない。そのため本研究では現在臨床で使用されているセルフエッチングシステムの幾つかの製品を用いて、スマヤー層の除去効果を評価することを目的とした。

【材料および方法】本研究では歯頸部に齲蝕を有するヒト抜去歯 24 本を使用した。本研究遂行に際して各患者に研究の趣旨を説明し了解を得た患者からの歯のみを使用した。また実験開始にあたり、本学倫理委員会の了承（承認番号：奥羽 100 号）を得たのちに行った。齲蝕の除去は # 1 の大きさのラウンドエンドのスチールバーを使用した。すべての被検歯は齲蝕除去終了の後、各種セルフエッチングシステムを窩洞内面に塗布した。本研究で使用了セルフエッチングシステムは、2 ステップセルフエッチングシステムから①メガボンド 2（クラレ）②フルオロボンド II（松風）③ユニフィルボンド（GG）を使用した。また 1 ステップシステムからは④ボンドフォーエス II（トクヤマ）⑤アイゴスボンド（ヤマキン）⑥スコッチボンドユニバーサル（3M）を使用した。対照として象牙質エッチング剤である⑦表面処理材グリーン（サンメディカル）、⑧歯科用モルホニン（昭和薬品化工）を使用した。すべての薬剤の作用時間はそれぞれの製品の添付ファイルの使用マニュアルに従った。作用終了後それぞれの試料の窩洞表面の詳細を走査型電子顕微鏡（TM3030 Plus, HITACHI）にて観察した。

【結果】2 ステップと 1 ステップのそれぞれのシステムにおいてスマヤー層の除去程度は異なるが、スマヤー層除去効果が確認された。しかしそれらのすべてにおいてスマヤー層の除去効果は不十分であり、確実なスマヤー層の除去と良好な象牙細管の開口は確認されなかった。一方対照とした象牙質エッチング材である表面処理材グリーンと歯科用モルホニンは確実なスマヤー層の除去と良好な象牙細管の開口が確認された。

【考察】本研究結果より、各種セルフエッチングシステムでは確実なスマヤー層の除去は困難であり、各種接着システム効果の発揮に対しては、不十分に開口された象牙細管内へのボンディング材の高い浸透性に依存していることが推察される。現在臨床で使用されている各種接着システムは、これまで多くの報告にあるように歯質との接着性は大変良好であることは間違いないが、確実なスマヤー層の除去と良好な象牙細管の開口が得られた場合は、その接着効果はさらに向上することは容易に推察される。そのためプライマー処理前に確実にスマヤー層を除去するために象牙質のエッチング処理を行うことは、コンポジットレジンの歯質への接着性を向上させるためには重要な工程であると強く示唆される。

【結論】各種セルフエッチングシステムは、象牙質歯面のスマヤー層除去効果は認められるが、その効果は十分とは言えない。そのため各種セルフエッチングシステムを使用する前には、象牙質歯面処理過程を追加して行うことが推奨される。

マイクロスコープを用いた窩洞形成における診療姿勢の検討 ～ミラーテクニックの影響～

片山歯科医院 1)、関根歯科医院 2) にしきた歯科ふちがみ 3) いそざき歯科 4)
○片山祐 1)、関根源太 2)、徳田進之介 3)、淵上了介 3)、磯崎裕騎 4)

A study of the working position in the cavity preparation using a microscope ～The effect of a Miller technique～

Katayama dental clinic1), Sekine dental clinic2)
Nishikita dental clinic Fuchigami3), Isozaki dental clinic4)
○Tasuku Katayama1), Genta Sekine2), Shinnosuke Tokuda3) Ryosuke Fuchigami3) Hiroki Isozaki4)

【研究目的】

精密な歯科治療には歯科用マイクロスコープ (以下 MS) や拡大鏡、マイクロインスツルメント、コーンビーム CT、超音波発振装置の使用が必須である。中でも肉眼より拡大され鮮明な像が得られる MS は、数多くの歯科治療で利用されている。しかし、MS を用いた治療は鏡像下での処置が多く、直視と比べ作業が困難である。しかし鏡像下においても基本姿勢 (ホームポジション)・手指のポジション・ミラーテクニックを習得することで、チェックングビュー (作業後の確認) とワーキングビュー (見ながらの作業) を用い正確な処置がおこなえることが数多く報告されている。よって MS 下でもこのような適切な技術を習得するにより正確な処置が出来ることが予想される。そこでわれわれは MS 下における適切な技術を習得することが治療の精密性向上にいかに関与するかを、技術習得前後の窩洞形成を評価することにより検討した。

【材料および方法】

初めに MS 使用未経験者である臨床経験 8 年以上 20 年未満の 9 人の歯科医師により、ファントムに装着された顎模型 (P19S-MF.2-U, ニッシン) の上顎第一大臼歯咬合面 (A2-94, ニッシン) に対して、エアータービン (PAR-UEX-0 DI, モリタ) と FG 用カーバイドバー (#330, マニー) およびフロントサーフィスミラー (ダイレクトミラーゼロ, J. Morita Europe) 使用し注水下にて内側性窩洞の形成をおこなった。なお形成時間は 5 分間に限定した。次に、世界 pd ヘルスケアソサエティーの SATV 実習システム 1) による最適な診療姿勢、手指や治療器具のコントロール、ミラーテクニックの講習および練習をおこない、MS を用いた水平位での窩洞形成をトレーニングした。トレーニング後、同条件で再度窩洞形成をおこなった。得られたトレーニング前・後の窩洞形成された人工歯は、窩洞・支台歯形成技能評価システム用測定装置 (VMS-10XR、モリタ製作所) を用い窩洞形成の評価をおこなった。評価は窩洞外形、窩洞深度および総合評価それぞれに対して 100 を満点として窩洞形成評価の得点化をおこなった。なお、得られた得点は講義前と後を比較する目的で検定処理 (t 検定, 危険率 5%) をおこなった。

【結果及び考察】

窩洞外形、窩洞深度、総合評価のすべての項目で講義前に比較して講義後には評価点の上昇を有意に認めた。窩洞深度および総合評価において、講義前は評価点のバラつきが認められたが、講義後は評価点のバラつきも少なくなった。

本研究では、日常的に直視のみで診療をおこなっている歯科医師を対象とした。ゆえに、術野の視野が直視から鏡像下に変ったことが、二次元的な移動には対応が出来ていたが、鏡像を通しての深さや奥行きなどの空間認識が困難であったため、講義前は窩洞外形よりも窩洞深度が低評価につながったと考えられる。

また、MS 下での窩洞形成時、歯牙に求めるレストは被験者全員が第 4 指を使用した。また形成ポジションも 9 時位置から 12 時位置まで様々なポジションで行われていたことも、細かいコントロールが再現出来ていなかったと推測される。実習・講義後は 12 時位置中心としたポジション・ミラーテクニック・第 3 指レストによる形成を実施し、細かな指先のコントロールが再現できた為過不足なく切削が可能になり、Z 軸 (垂直方向) の過切削が少なくなる傾向が見られた。今後 MS の普及が進んでゆくことが推測される。普遍的で汎用性の高い診療姿勢と動きを習得するために、より効率的なシステム化されたシミュレーション教育の導入が必要と考える。

参考文献 1) 谷口敏雄ら：臨床シミュレーション 'SATV システム' による実習の効果：日本人間工学学会・日本人間工学会歯科部会第 10 回講演論文集, 16-24, 1994

S-PRG フィラーのヒト唾液タンパク質との吸着特性解析

¹朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学

²朝日大学歯学部口腔構造機能発育学講座口腔生化学分野

○石樽大嗣^{1, 2}, 川木晴美², 井殿泰鳳^{1, 2}, 越智葉子^{1, 2}, 清水翔二郎^{1, 2}, 村瀬由起¹, 尾池和樹¹,
日下部修介¹, 近藤信夫², 堀田正人¹

Characterization of S-PRG fillers, binding property with the human salivary proteins

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

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

○Hiroshi ISGIGURE^{1, 2}, Harumi KAWAKI², Taiho IDONO^{1,2}, Yoko OCHI^{1,2}, Shojiro SHIMIZU^{1,2}, Yuki MURASE¹, Kazuki OIKE¹,
Shusuke KUSAKABE¹, Nobuo KONDOH², 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、グラスアイオノマー相、ガラスコアの3層構造からなり、表面のグラスアイオノマー相からはフッ化物イオン(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ち、抗菌、抗プラーク形成作用が報告されている。我々は、S-PRG フィラーを含有するレジン試料に吸着する唾液タンパク質が抗プラーク作用に関与することを明らかにし報告してきた。今回は、S-PRG フィラーそのものに吸着する唾液タンパク質について検討した。

【材料および方法】

実験に用いた唾液は朝日大学歯学部倫理委員会の承認(第27003号)を得て、3名のボランティアより同意のもと提供を受けた。また、株式会社松風より提供を受けた、S-PRG フィラー(顆粒サイズ: 3 μm, Lot No. 4202)と比較対照としたシリカフィラー(顆粒サイズ: 3 μm, Lot No. 4A01)を用いた。

フィラーはそれぞれ50mgずつチューブにとり、0.5 mlのヒト唾液と混合して5分間振盪した。その後、生理食塩水にて3回洗浄後に生理食塩水で再懸濁を行った試料と lysis buffer で溶解した試料を作製した。

まず、フィラー浸漬後の唾液中に残存するタンパク質を定量し、次いで電気泳動を行い、泳動パターンを比較検討した。さらに、生理食塩水にて再懸濁した試料を用いてペルオキシダーゼ活性の測定と、トルイジンブルーによる異染色性の検討を行った。

【結果および考察】

S-PRG フィラー浸漬後の唾液中に残存するタンパク質量は洗浄時間の増加に伴い減少した。電気泳動像の比較では、37~40 kDa, 50~60 kDa, 150 kDa 付近に、シリカフィラーに吸着したタンパク質の泳動像と比較して、より明瞭なバンドがみられた。一方で22 kDa 付近にはシリカフィラーに特徴的なバンドがみられた。約40 kDaの唾液タンパク質としてペルオキシダーゼが考えられたため、その活性を生理食塩水にて再懸濁した試料を用いて測定したところ、S-PRG フィラー浸漬後の試料では洗浄時間の増加とともにペルオキシダーゼ活性が有意に上昇し、吸着量が増加していることが示された。また、糖タンパク質吸着の指標として、トルイジンブルーのメタクロマジーを評価したところ、シリカフィラーに吸着したタンパク質試料で、より顕著なメタクロマジーが認められた。

【結論】

S-PRG フィラーおよびシリカフィラーは、それぞれ特定の異なる唾液タンパク質を吸着する性質をもつと考えられた。これらのタンパク質を特定し、詳細な解析を進めれば、S-PRG フィラーを含む歯科材料の抗菌効果をはじめとするさまざまな作用のメカニズム解明の一助となると考えられ、S-PRG フィラーの用途の拡大応用の可能性も考えられる。

形成初期ポリマイクロバイアルバイオフィルムへの S-PRG 溶出液の抗菌効果

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔総合医療学講座 保存修復学分野¹,
口腔科学講座 微生物学分野², 組織学分野³, ACTA⁴

○富山 潔¹, 石澤将人¹, 長谷川晴彦¹, 渡辺清子², 河田 亮³,
高橋 理³, 浜田信城², Exterkate R.A.M⁴, 向井義晴¹

Antibacterial effects of S-PRG eluate on initial polymicrobial biofilms

¹Dep. of Oral Interdisciplinary Medicine, Div. of Restorative dentistry, Dep. of Oral Science, Div. of²Microbiology, ³Histology,
Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University,

⁴Dep. of Preventive Dentistry, Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA)

○ TOMIYAMA Kiyoshi¹, ISHIZAWA Masato¹, HASEGAWA Haruhiko¹, WATANABE Kiyoko², KAWATA Akira³,
TAKAHASHI Osamu³, HAMADA Nobushiro², EXTERKATE R.A.M⁴, MUKAI Yoshiharu¹

【研究目的】

ポリマイクロバイアル (PM) バイオフィルムモデルは、口腔内の細菌叢を口腔外で再現し、抗菌剤や抗菌材料などの効果を迅速に分析するために有用である。本研究の目的は24時間培養PMバイオフィルムの細菌叢に対してS-PRG溶出液による30分間の処理がどのような影響を及ぼすのかを検討することである。

【実験材料および方法】

[PM バイオフィルムの形成] : PM バイオフィルム形成用材料には直径 12 mm 厚さ 150 μ m のガラス円板 (Menzel, Braunschweig, Germany) を用いた。PM バイオフィルムの培養には1被験者から採取した刺激唾液を50倍希釈となるようにbuffered McBain 2005 (0.2 %スクロース, 50 mM PIPES 含有) 培養液に混入後、培養液の交換を10時間の時点で1回行ない、24時間嫌気培養 (CO₂ : 10 %, H₂ : 10 %, N₂ : 80 %, 37°C) によりバイオフィルムを形成した。実験群は ① 脱イオン水処理群 (cont), ② 0.2 %グルコン酸クロルヘキシジン群 (0.2C), ③ S-PRG 溶出液処理群 (SPRG) の3群とした。

[実験 1] : ガラス円板上に形成された24時間培養後のPMバイオフィルムに対し30分間の各処理を行なった後、生・死全細菌検出用の蛍光試薬としてLIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit (Invitrogen) を用いて、暗所、室温下で30分間反応させ、共焦点レーザー顕微鏡 (Nikon, PCM-2000) により生・死全細菌の分析およびバイオフィルム構造の観察を行った。生・死全細菌に対する死菌の割合は、One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5% にて統計学的分析を行ない、各処理剤がPMバイオフィルム中の細菌細胞数に与える影響を比較検討した (n=5)。また、使用済み培養液のpHも測定した。

[実験 2] : 24時間培養後のPMバイオフィルムに30分間の各処理を行なった後、バイオフィルム群集構造の網羅的分析を行なった。次世代シーケンサー (MiSeqTM, Illumina, USA) による網羅的分析は、バイオフィルムからDNA抽出後 (MORA-EXTRACT kit), 16S rDNA を標的とし、プライマーとして Pro341F-Pro805R を用いて、次世代シーケンス・アンプリコン解析を行った。サンプル間の比較解析は、Metagenome@KIN software (World Fusion) を用いて、主成分分析およびクラスター解析により各群のバイオフィルム構造にどのような変動が生じているのかを比較、検討した。

【結果及び考察】

[実験 1] : 使用済み培養液のpHは7.02から6.95の間で推移し、ほぼ中性環境を維持していた。LIVE/DEAD 染色後のバイオフィルム中の全細菌細胞に対する死菌細胞の割合は、cont 群: 3.2 %, 0.2C 群: 81.5 %, SPRG 群: 82.3 %であり、SPRG 群は0.2C 群と同等の死菌数の割合を示した。これらの結果からS-PRG溶出液で30分間処理することにより効果的な抗菌効果が発揮される可能性が示された。

[実験 2] : *Veillonella dispar* および *Veillonella tobetsuensis* の割合が減少し、*Streptococcus salivarius* の割合には変化が認められなかった。*Veillonella dispar* および *Veillonella tobetsuensis* は口臭の発生やプラークの初期形成に関与することが報告されており、細菌数の抑制が口臭抑制に寄与する可能性があると考えられる。

【結 論】

S-PRG 溶出液はトレーなどを用いて30分間使用することにより、形成初期 (24時間培養) のバイオフィルムに対して抗菌的に作用し、細菌叢の変化を誘導できる可能性が示された。

本研究は、神奈川歯科大学 倫理委員会の承認を得て遂行された【研究倫理 審査番号 445】。

口腔細菌叢を変動させない新しいバイオフィルム制御剤の開発

-培養条件の異なる *Ex vivo* モデル上での結核菌表層糖脂質誘導体ビザンチンの抗バイオフィルム効果-

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座う蝕学分野, ²京都薬科大学薬学部 微生物・感染制御学分野
○竹中彰治¹、小田真隆²、長谷川泰輔¹、永田量子¹、鈴木裕希¹、坂上雄樹¹、大墨竜也¹、野杵由一郎¹

Development of an innovative strategy for the control of oral biofilm
based on the concept for preserving the benefits of the normal resident oral microflora

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

²Department of microbiology and infection control science, Kyoto pharmaceutical university

○TAKENAKA Shoji, Oda Masataka, HASEGAWA Taisuke, NAGATA Ryouko, SUZUKI Yuki, SAKAUE Yuuki, OSUMI Tatsuya,
NOIRI Yuichiro

【目的】我々は、結核菌表層糖脂質誘導体ビザンチン (Viz-S) が、免疫活性化作用とともに、*Streptococcus mutans* および歯肉縁上バイオフィルム (BF) モデルに対して剥離効果を有することを報告した (学術大会抄録集, P20: 第 145 回, P35: 第 146 回)。口腔細菌叢を変動させない新しい BF 制御剤として開発を進めているが、抗 BF 効果の菌種特異性の有無や生体為害性および作用機序については十分に明らかになっていない。本研究では、細菌叢の違いが Viz-S の抗 BF 効果に与える影響について、培養条件を変えることで作製した細菌叢が異なる *ex vivo* モデルを用いて検討した。

【材料および方法】全顎的に齲蝕および歯周炎がない健康者のうち、同意の得られた 5 名を被験者とした (承認番号 25-R16-08-15)。無刺激唾液を調整後、実験開始直前に混合し、培地の 2 % 量を試料とした。

(実験 1: ヒト歯肉上皮細胞に対する細胞毒性) 口腔粘膜へ為害作用を与えない Viz-S 濃度を決定するために、96 穴マイクロプレートを用いて、90%コンフルエントとなるよう調整したヒト歯肉上皮細胞株 (Ca9-22) に 0-1mM の濃度の Viz-S を添加し、3 時間培養を行った。細胞生存率は MTT アッセイにて測定した。

(実験 2: 培養条件が異なる *ex vivo* モデル上での BF 剥離効果) 24 穴マイクロプレートを用い、24 時間嫌気培養することで BF を作製した。培地は、低栄養培地 (1/4 濃度 Brain Heart Infusion) に 0.2% スクロースを加えたもの (Cariogenic BF; CBF)、および 10% ウシ胎児血清 (Sigma 社製) を加えたもの (Gingivitis BF; GBF) を用いた。24 時間後、500rpm にて 15 秒震とうし、残存 BF 量をクリスタルバイオレット法 (CV 法) により定量した。

(実験 3: 細菌叢解析) 6 穴マイクロプレートを用い、0 (コントロール) もしくは 50μM の Viz-S 存在下で、24 時間嫌気培養後の CBF および GBF 中の細菌叢について、V1-V2 可変領域を用いて 16S rRNA シーケンス解析 (MiSeq, Illumina 社製) を行った。その後、PCR および qPCR 法を用いて、優位な属の構成細菌種の同定と構成割合を解析した。

(実験 4: 遺伝子発現動態の解析) 付着関連遺伝子および BF 形成関連遺伝子の発現への影響を解析するために、4 時間培養後の浮遊菌および 24 時間培養後の CBF 形成菌を Direct-zol RNA MiniPrep (Zymo Research 社製) を用いて mRNA を抽出後、cDNA を作製した。16S rRNA を内部標準とし、遺伝子発現量を Real-time PCR 法で解析した。

【結果および考察】50μM 以下の Viz-S 存在下では、細胞生存率の有意な減少はなかった ($p > 0.05$, Dunnett's test)。CV 法により測定した残存 BF 量は、CBF 群は濃度依存的に減少し ($p < 0.05$)、50μM の Viz-S 存在下において 51.8% 減少した。GBF 群は 100μM でも変化はなかった ($p > 0.05$)。

細菌叢解析の結果、CBF (Shannon's index=1.31) は、GBF (2.41) と比較して種の多様性が低く、90% 以上が *Streptococcus* 属であった。GBF 群は、*Streptococcus* 属 (52.2%)、*Veillonella* 属 (36.5%)、*Granulicatella* 属 (5%) が優位であり、*Actinomyces*、*Prevotella* および *Porphyromonas* 属も検出された。*Streptococcus* 属の構成細菌は、コントロール群および Viz-S (50μM) 群ともに、*S. salivarius* (36-38%) および *S. oralis* (32-34%) が優位であった。50μM Viz 存在下での CBF 形成細菌の 4 時間培養後の付着関連遺伝子の発現レベルを解析した結果、*S. oralis* の *gtf* および *Pac* の発現は有意に減少した ($p < 0.05$, 1/4 倍および 1/2 倍)。*S. salivarius* の *gtf* の発現は有意に増加したが (2 倍)、*cspA* は 1/3 に減少した。また、その他の *Streptococcus* 属の *gtf* の発現は有意に低下していた。50μM Viz-S 存在下での 24 時間培養後の CBF 群の形成関連遺伝子の発現レベルは、クオラムセンシング (QS) 関連遺伝子 (*comDE* および *luxS*) の発現が有意に減少した。これらの結果から、Viz-S は、*Streptococcus* 属が優位な CBF において、付着関連遺伝子に影響を与えることで付着を減弱させるとともに、QS 系にも影響を与えることで BF 構造を変化させていると考えられた。

【結論】50μM 以下の Viz-S は、口腔粘膜への為害性が低く、*Streptococcus* 属による BF の初期形成を抑制する新しい制御剤としての可能性が示された。

本研究の一部は、科学研究費補助金 (15H05021) の補助を受けて実施された。

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

日本大学歯学部保存学教室修復学講座

○矢吹千晶, 黒川弘康, 白土康司, 柴崎 翔, 高橋奈央, 瀧本正行, 宮崎真至

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

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

○YABUKI Chiaki, KUROKAWA Hiroyasu, SHIRATSUCHI Kouji, SHIBASAKI Sho,
TAKAHASHI Nao, TAKIMOTO Masayuki, MIYAZAKI Masashi

【研究目的】

CAD/CAM レジンブロック (以後, CAD/CAM ブロック) は, フィラー含有量が 60wt%以上に規定されるとともに, 加熱加圧重合によるマトリックスレジンの重合性の向上が図られていることから, 接着操作ではシランカップリング処理が推奨されている。一方, CAD/CAM ブロックのフィラー粒径, 形状および含有量は各製品間で異なることから, 製品によってはシラン処理の効果が十分に発揮されない可能性が考えられる。そこで, CAD/CAM ブロックへの表面処理法の違いがレジンセメントとの接着強さに及ぼす影響について, 剪断接着強さを測定することで検討を行った。

【材料および方法】

レジンセメントは, スーパーボンド (サンメディカル) およびブロック HC Cem (松風) を, CAD/CAM ブロックは, セラスマート (ジーシー), 松風 HC ブロック (松風) および VITA ENAMIC (VITA Zahnfabrik) を用いた。

1. 被着面の調整

CAD/CAM ブロックを SiC ペーパー#180 を用いて研削した後, アルミナ粒子 (50 μm) を用いて 10 mm の距離から垂直に, サンドブラスト処理 (0.2 MPa) を 10 秒間行い, 3 分間超音波洗浄ものを CAD/CAM 試片とした。

CAD/CAM 試片のサンドブラスト面に対して, 以下の条件で処理を行った。

1) スーパーボンドへの処理条件

- ① PZ プライマー (サンメディカル) を用いて, 製造者指示条件でシランカップリング処理 (Silane 群)
- ② クイックモノマー液 (サンメディカル) とキャタリスト V (サンメディカル) を製造者指示条件で攪拌, 活性化液として調整したものを塗布 (Primer 群)
- ③ Silane 群に対して活性化液を塗布 (Si+Pr 群)

2) ブロック HC Cem への処理条件

- ① ポーセレンプライマー (松風) を用いて, 製造者指示条件でシランカップリング処理 (Silane 群)
- ② HC プライマー (松風) を製造者指示条件で塗布 (Primer 群)
- ③ Silane 群に対して HC プライマーを塗布 (Si+Pr 群)

2. 接着強さの測定

内径 2.38 mm, 高さ 3.0 mm の金属モールドの内面をサンドブラスト処理した後, CAD/CAM 試片の各処理面に Ultradent 接着試験用治具を用いて固定した。次いで, スーパーボンドでは, ポリマー粉末 (混和クリア) と活性化液との混和泥を金属モールドに填塞して硬化させたものを, ブロック HC Cem では, 製造者指示条件で練和したセメント泥を金属モールドに填塞, 30 秒間照射して硬化させたものを接着試験用試片とした。接着試験用試片を $37\pm 1^\circ\text{C}$, 相対湿度 $90\pm 5\%$ の条件で 24 時間保管した後, 剪断接着強さを測定した。また, サーマルサイクル 10,000 回負荷後の試片についても, 同様に接着強さを測定した。さらに, CAD/CAM 試片とセメントとの接合界面について SEM 観察を行った。

【成績および考察】

供試したレジンセメントの 24 時間後の接着強さは, CAD/CAM ブロックの表面処理法およびブロックの種類によって異なるものであった。これらは, 表面処理の違いによるレジンセメントのヌレ性, あるいは CAD/CAM ブロックとレジンセメントとの接合界面に形成されたプライマー層などが影響しているものと考えられた。

【結論】

レジンセメントと CAD/CAM ブロックの接着性は, ブロックの種類や表面処理法の違いに影響を受けることが判明した。

支台歯面への臨床的対応が CAD/CAM セラミッククラウン修復の接着に及ぼす影響

日本歯科大学 生命歯学部 接着歯科学講座
○林 孝太郎 前野雅彦 奈良陽一郎

Influence of clinical applications to abutment surface on bonding of CAD/CAM ceramic crown restoration

Department of Adhesive Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
○Hayashi K, Maeno M, Nara Y

【目的】即時象牙質シーリング(IDS)の応用は、メタルフリー材料によるインレー／アンレー修復の接着性増進、適合性向上、象牙質歯髄複合体の保護などに寄与することが明らかになっている。しかし、歯質切削量の多いクラウン修復への挙動や効果についての報告はみられない。また、暫間被覆冠装着(TR)によって生じる接着への影響を把握することは、質の高い医療の具現化に寄与する。そこで、支台歯面へのIDSおよびTRの有無が、CAD/CAM セラミッククラウン修復の接着に及ぼす影響について、繰り返し荷重負荷後の微小引張接着強さ(μ -TBS)によって評価検討した。

【材料および方法】本学部研究倫理委員会の承認を得て、ヒト抜去健全下顎小臼歯 60 本に規格化支台歯形成を行い、IDS 群(S+群)と非IDS 群(S-群)に類別し、S+群には Clearfil Universal Bond Quick と Clearfil Majesty ES Flow Low(Kuraray Noritake Dental)を用いて形成象牙質面に対するIDS処置を行った。その後、CEREC system(CEREC AC Omnicam SW4.3 と CEREC MC XL, Dentsply Sirona)による支台試料の光学印象採得、VITABLOCS Mark II(VITA)のミリングを経て、クラウンを作製した。ついで、S+とS-群それぞれについて、TR 群(T+群)と非TR 群(T-群)に区分し、T+群には Protemp^d Temporization Material(3M ESPE)と TempBond NE(Kerr)によってTRを行い、1週間水中保管した。その後、T+群では低速回転ポリッシングブラシによる支台歯面の注水下清掃を経て、全試料に対し PANAVIA V5(Kuraray Noritake Dental)による臨床的装着、修復試料に対し30万回の繰り返し荷重(37°C水中、118N、90回/分)を負荷した。その後、機能咬頭内斜面における接合界面を含む規格化ダンベル状試料に調整し、 μ -TBS値を測定(n=15)した。データは、二元配置分散分析、Tukeyの検定、メジアンランク法によるWeibull分析によって解析を行った。

【成績】Fig. 1に、IDSおよびTR有無条件下の平均 μ -TBS値(SD)を示す。分析の結果、S+群はS-群より有意に大きな値を示し、T+群／T-群間には有意差を認めなかった。さらに多重比較の結果(Fig. 2)、S+T-群は、S-T-群より有意に大きな値を示した。Fig. 3に、IDSおよびTR有無条件間のWeibull直線、Weibull係数(Wm)さらに累積破壊確率10%における推定破壊応力値(PF10)の違いを示す。分析の結果、IDS有無条件間では、WmとPF10ともにS+群がS-群より有意に大きな値を示した。一方、TR有無条件間のWmとPF10には有意差を認めなかった。

【考察】S+群の μ -TBS値がS-群より大きな値を示したことから、IDS処置はCAD/CAMクラウン内部の接着力担保に有益と推察でき、これはIDSの衝撃緩和効果に帰因すると考える。さらに、接着の“質”的評価といえるWmに基づく接着信頼性およびPF10に依る接着耐久性の観点からも、IDSの応用はクラウン修復の接着向上に有効と思われる。また、One-day treatmentとして捉えることができるT-条件において、IDSの有用性が確認できた。これは、口腔内スキャナーを含めた進歩著しいCAD/CAMシステムの普及に伴うチェアサイド間接修復に際し、IDS処置が質の高い医療の具現化に寄与することを示唆している。一方、TRが接着に影響しなかった結果は、用いる仮着用セメントやその除去方法に注意を要するものの、現行の保険治療におけるCAD/CAM冠修復に際しての意義ある情報と考える。

【結論】即時象牙質シーリングはCAD/CAMセラミッククラウン修復の良好な接着獲得に有益であり、暫間被覆冠装着はその接着に影響を及ぼしていなかった。

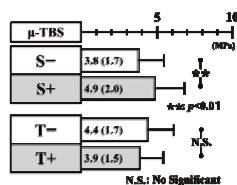


Fig. 1 Differences in the μ -TBS between CAD/CAM restorations with and without IDS and TR

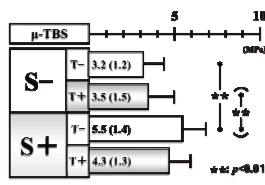


Fig. 2 Differences in the μ -TBS among four CAD/CAM restorations with and without IDS and TR

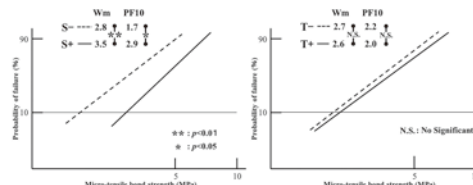


Fig. 3 Differences in Wm and PF10 values between CAD/CAM restorations with and without IDS and TR

本研究の一部は、JSPS17K11719の助成を受けた。

レジンセメントの大白歯用 CAD/CAM Block に対するせん断接着強さ

¹⁾ 岡山大学大学院 歯歯薬学総合研究科 生体材料学分野

²⁾ 岡山大学大学院 歯歯薬学総合研究科 総合歯科学分野

³⁾ 岡山大学病院 新医療開発センター

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

Shear bond strength to CAD/CAM Block for molar of resin cements

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

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

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

【 緒言 】

昨年末、大白歯用 CAD/CAM ブロック（以後ブロック）が保険適用され、各社それぞれのブロックと指定の処理材とレジンセメントが市販されだした。そこでこのシステムを評価する目的から、今回はブロックに対する推奨レジンセメントの接着強さを、硬化直後と 1 日後から検討したので報告する。

【 材料と方法 】

下記の Table に、使用したブロックとその処理材、推奨のレジンセメントを示した。対照として大白歯用の Shofu Block HC Hard を使用した。方法は、ISO の接着強さの測定指針 (ISO/TR 11405) に準じて行った。ブロックをトリミングして被着面（直径約 5 mm、厚さ約 2 mm）を確保した。それぞれの被着面は、600 番の耐水研磨紙で最終研磨後、サンドブラスト処理 (Jet Blast II, J.Morita, 粒子径 50 micro-meter のアルミナを 0.2 mega-pascal, 10 秒間噴射) し、蒸留水で 10 分間超音波洗浄、エアーで十分に乾燥させた。その後、テフロンモールド（内径 3.6 mm、深さ 2.0 mm）を固定し、このモールド内に各セメントを用いてステンレスロッド (Alloy Primer, Kuraray Noritake で被着面を処理, Tokuyama Dental & Kuraray Noritake に関しては、硬化初期の強さの向上を期待して歯質処理材での処理も試みた) を圧接した。光照射 (20 × 2 秒間) して硬化させ、硬化直後と 1 日間 37°C 蒸留水中浸漬後、せん断接着強さを測定した。なお、Super-Bond は 37°C 恒温室に 15 分間保存して硬化させた。

【 結果と考察 】

下記の Table に硬化直後と 1 日後の接着強さを示す。各システムそれぞれ硬化直後は 10 - 20 mega-pascal, 1 日後は 30 - 40 mega-pascal を示した。直後と 1 日後の値を比較すると、いずれのシステムも 1 日後の方が有意に優れた値を示した ($p < 0.05$)。破断面を観察すると、凝集破壊や混合破壊を示し、セメント自体の機械的強さ、重合時の応力緩和や重合率の増加などが考えられる¹⁾。Tokuyama Dental & Kuraray Noritake のシステムでは、ステンレスロッドも歯質処理材で処理した場合、硬化直後において接着強さが有意に向上した ($p < 0.05$)。処理材中の重合触媒の効果が考えられる。Super-Bond の硬化初期の値は、化学重合のためこの程度と思われる。Shofu のシステムでは、破断面の多くが凝集破壊しており、セメントとステンレスロッド間で破壊した影響が考えられる。

Table Shear bond strength between CAD/CAM block and SUS rod (mega-pascal)

CAD/CAM block / Pretreating agent of block / Cement, Manufacturer	Mean (S.D., n=10)		t-Test ^a
	Immediate	After one-day	
CeraSmart 300 / G-Multi Primer / G-Cem ONE, GC	17.5 (2.8)	31.8 (6.0)	S
ESTELITE P Block / BONDMER Lightless / ESTECER II, Tokuyama Dental	15.6 (3.5)	31.6 (5.8)	S
	S ^a	NS	
ESTELITE P Block / BONDMER Lightless / ESTECER II, SUS rod pretreated by BONDMER Lightless, Tokuyama Dental	19.4 (3.4)	32.9 (6.8)	S
KATANA Avencia Block P / Clearfil Ceramic Primer Plus / SA Luting Plus Automix, Kuraray Noritake Dental	17.9 (4.1)	39.0 (6.0)	S
	S	NS	
KATANA Avencia Block P / Clearfil Ceramic Primer Plus / SA Luting Plus Automix, SUS rod pretreated by Clearfil Universal Bond Quick, Kuraray Noritake Dental	22.7 (4.6)	39.4 (4.5)	S
Gamatheta (Yamakin) / Super-Bond PZ Primer / Super-Bond, SunMedical	8.5 (1.9)	33.3 (5.1)	S
Gamatheta (Yamakin) / Scotchbond Universal Adhesive / RelyX Ultimate, 3M	15.0 (2.8)	33.3 (5.0)	S
Shofu Block HC Hard / SI-R21601(Porcelain Activator) / SI-R21302 (Cement), Shofu	12.4 (2.5)	21.0 (5.8)	S

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

【 文献 】

- 1) Irie M *et al.*, Performance of Class I composite restorations when polished immediately or after one-day water storage. **PLoS ONE** 12: e0183381, 2017.

隣接面のプラークコントロールに関する研究

第10報：ゴム製歯間ブラシによる人工歯隣接面のプラーク除去率

鶴見大学歯学部附属病院 歯科衛生士部¹ 鶴見大学歯学部 探索歯学講座² 保存修復学講座³

○引地 清水¹, 大塚 良子², 岡田 彩子², 桃井 保子³

Study on plaque control in interproximal area

Part 10 : Plaque removal efficiency of rubber bristles interdental cleaner in interproximal area of model teeth

Division of Dental Hygienists, Tsurumi University Dental Hospital¹ Department of Translational Research², Department of Operative Dentistry³ Tsurumi University School of Dental Medicine
○HIKIJ I Kiyomi¹, OTSUKA Ryoko², OKADA Ayako², MOMOI Yasuko³

緒言

これまでに私たちは、隣接面のプラークコントロールに関する一連の研究において、歯ブラシ単独使用では隣接面不潔域のプラーク除去が不十分であり、フロスや歯間ブラシの併用が、プラーク除去率を格段に上げることを実証してきた(日本歯科保存学会学術大会 137-141 回、2012-2014 年他)。

臨床現場で意見を聞くと、患者は、歯間ブラシやフロスの使用方法の習得が難しいと感じ、習慣にしづらいこと、また、歯間ブラシの挿入時に歯肉を傷つけてしまうことの不安感を有することがわかる。このことが歯間清掃用具の使用を励行させることを難しくさせている。近年、ゴムでコーティングされ、使用感の良さやプラーク除去率が良いことをうたったゴム製歯間ブラシ製品が各社より発売されており、つまようじ感覚でこれを使用できることが人々に受け入れ始めている。そこで私たちは、市販されている各種ゴム製歯間ブラシにはプラーク除去率に違いがあると仮説をたて、隣接面におけるプラーク除去率を製品間で比較検討することとした。

材料と方法

評価したゴム製歯間ブラシは、8 社 15 種、Tepe イージーピック歯間ブラシ (XS/S、M/L、Tepe)、ガム・ソフトピック (カーブ型 SSS~S、SSS~S、SS~M、SUNSTAR)、デントヘルスやわらかゴムタイプ (LION)、やわらか歯間ブラシ (SSS~S、SS~M、L 字型 SS~M、M~L、小林製薬)、エビスラバー歯間ブラシ (SSS~S、SS~M、エビス)、スマートイン歯間ブラシ (クリエイト)、ソフト歯間ブラシ (DAISO)、ソフトラバー歯間ブラシ (matsukiyo) である。比較対象として、一般的な歯間ブラシ (オリジナル歯間ブラシ SS・S、Tepe) と、市販のつまようじを使用した。

保存修復用顎模型 (D18FE-500E、ニッシン) の着脱式メラミン歯 (ニッシン) の下顎左側第一大臼歯の近心面を被験面とした。被験面に人工プラーク (ニッシン) を塗布したメラミン歯を、ファントムに設置した頬粘膜ボックス内の顎模型に装着した。ブラッシングは頬側から 1 方向に、5 往復とした。試験するゴム製歯間ブラシの順はランダムに、一人の歯科衛生士が、各 5 歯ずつブラッシングした。

デジタルカメラ (Nikon D100) を用いブラッシング前後の被験面を撮影し、画像分析ソフト (Adobe photoshop CS5 Extended) を使用してプラーク除去率 (pixel/pixel %) を算出した。データの有意差検定は、一元配置分散分析の後、Tukey's HSD test により行った (有意水準 5%)。

結果と考察

ゴム製歯間ブラシのプラーク除去率は 5.3~16.4 % の範囲内にあり、15 製品間のプラーク除去率には統計的有意差がなかった。一般的な歯間ブラシとゴム製歯間ブラシの間には統計的有意差を認めた。今回評価したゴム製歯間ブラシのプラーク除去率は、私たちが今までに報告した糸巻きフロス及びホルダー型フロスの隣接面プラーク除去率 (70.1~97.8 %)、一般的な歯間ブラシ (20.0~47.6 %) に比べて低かった。一方、ゴム製歯間ブラシとつまようじの除去率は同等であった。なお、今回使用した顎模型は正常歯列であり、ISO 規格で SS~S 程度までの歯間ブラシが歯間空隙をスムーズに通過した。この点、ゴム製歯間ブラシは徐々に径が太くなる根元に近い部分や太さのあるゴム製歯間ブラシは歯間ブラシ全体が歯間を通過できなかった。

まとめ

ゴム製歯間ブラシのプラーク除去率は一般的な歯間ブラシと比較して低かった。このため、ゴム製歯間ブラシは外出先などでの簡易的な口腔清掃や、歯間ブラシの使用を見越した口腔衛生指導で有効であるものの、プラークコントロールそのものを目的とした用途にはむかないことが示唆された。

機能性 TCP (fTCP)・1450 ppm F 配合歯磨剤が 歯質に及ぼす in vitro の効果

スリーエム ジャパン株式会社 ヘルスケアカンパニー 技術本部 歯科用製品技術部
○田島健一、宮本康司、折谷忠人

In-Vitro Efficacy of Tooth Paste Containing both functional TCP and 1450 ppm Fluoride on Teeth
3M Japan Limited Health Care Company Dental Products Technical Department
○Kenichi Tajima, Koji Miyamoto, Tadato Oritani

【緒言】

本邦では 2017 年 3 月、諸外国で採用されている国際基準 (ISO) と同じく、フッ素が 1500 ppm を上限として配合された歯磨剤が厚生労働大臣により承認された。今後、国民のう蝕予防への関心は益々高まると推測される。エナメル質の初期う蝕に対しては、フッ素に加えて歯質の構成成分であるリン酸やカルシウムによる再石灰化の促進が推奨されている。リン酸三カルシウム (TCP) は骨や歯牙を構成する成分であり、歯科材料分野で多く利用されている一方、溶解度の高いフッ化物 (NaF) との共存下ではフッ化カルシウム (CaF₂) を生成しその効果を減じることも知られている。この対策として、酸化カルシウムのまわりに有機物を存在させた機能性 TCP (fTCP) を用いることにより、1 ペースト内で CaF₂ を生成することなくフッ化物イオンを保護でき、両方の効果を期待できるという技術が Karlinsey¹⁾ によって報告されている。本研究では 1450ppm フッ化物と fTCP とを配合した歯磨剤の人工脱灰歯質に対する効果を in vitro において評価し、歯質のう蝕予防に対する有用性を検討した。

【材料および方法】

＜人工脱灰エナメル質の再石灰化＞

ウシ下顎前歯をダイヤモンドカッターを用いて 10×10×3 mm のエナメル-象牙質ブロックを切り出し、エナメル質表面が露出するようにアクリル樹脂にて包埋した。エナメル質側面を耐水研磨紙 #4000 まで研削後、4×4 mm の処理面をネイルバーニッシュにて規定した。試料は脱灰液 (1.5 mM Ca, 0.9 mM P and 50 mM Acetic Acid, pH 4.5) に浸漬し、人工脱灰エナメル質を作製した。歯磨剤として以下の 4 種を設定し、(1) 950 ppmF (2) 1450 ppmF, (3) 1450 ppmF+fTCP, (4) 2000 ppmF, となるよう常法により調製した。上記試料を用いて、歯磨剤スラリーで 1 分間処置 (①) → 再石灰化溶液に 1 時間浸漬 (②) → 脱灰液に 3 時間浸漬 → ② → ① → 再石灰化溶液に一晚浸漬、からなるサイクルを 4 サイクル実施した。微小硬さ試験器 (HM-220D, ミットヨ) にて測定したサイクル前後の試料表面の硬度からピッカース硬度変化量 (ΔVHN) を算出し、分散分析と Tukey の多重比較で有意水準 5 % にて統計処理を行った。

【結果】

pH サイクル試験前後のエナメル質表面の ΔVHN において、1450 ppmF および fTCP を含む (3) 群を 100 としたときの各試料の比率を右図に示す。950 ppmF を含む (1) 群及び 1450 ppmF を含む (2) 群に比べ、(3) 群は有意に高い歯面硬度の回復を示した。

【考察】

本結果から、歯磨剤に fTCP を加えることにより、フッ化物のみを加えた場合に比べ、エナメル質表面硬度が有意に向上することが明らかとなった ($p < 0.05$)。また、1450 ppmF と fTCP の組み合わせは、2000 ppmF を含む (4) 群と比較し有意な差は見られなかった ($p > 0.05$)。以上のことから、fTCP とフッ化物を配合する歯磨剤は高い歯質強化能を有することが明らかとなり、本歯磨剤のエナメル質う蝕予防の有用性が示唆された。

【文献】 R. L. Karlinsey, A. C. Mackey, *J. Mater. Sci.*, (2009) 44: 346

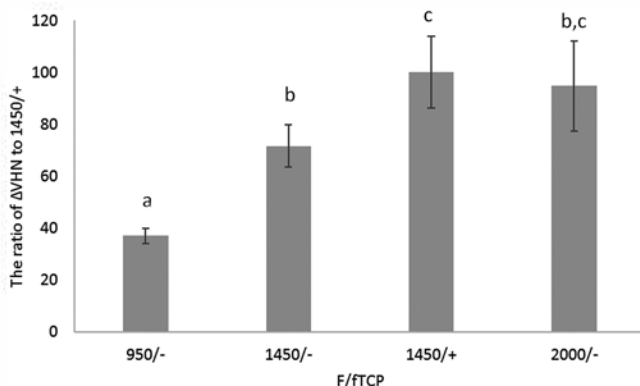


Fig. Mean (±SEM) change in the ratio of ΔVHN to 1450/+ of enamel specimens after pH cycling test (Different letters denote statistical differences using Tukey test.)

ワンステップ PTC ペーストを用いた研磨時間が着色除去性に及ぼす影響

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 日本大学歯学部附属歯科病院歯科衛生室, ³ 横須賀共済病院
○松吉佐季¹, 黒川弘康¹, 寺井里沙¹, 大島美紀¹, 齋藤慶子¹, 川本亜紀², 宮崎真至¹, 宮直利³

Influence of Polishing Time of One-step PTC Paste on Stain Removal Effectiveness

¹ Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

² Dental Hygienist Section, Nihon University Dental Hospital, ³ Yokosuka Kyosai Hospital

○¹MATSUYOSHI Saki, ¹KUROKAWA Hiroyasu, ¹TERAI Risa, ¹OOSHIMA Miki, ¹SAITOU Keiko,

²KAWAMOTO Aki, ¹MIYAZAKI Masashi, ³MIYA Naotoshi

【研究目的】

新規に開発されたワンステップ PTC ペーストは, その pH を弱アルカリ性に調整することで, 歯質表面に形成されたペリクルの主成分であるタンパク質を分解するとともに, 微細な研磨粒子で着色除去効果が得られるよう設計された製品である。すなわち, 機械的除去に主眼が置かれた従来からの製品と比較して, 着色除去効果が異なる可能性が考えられる。そこで, 新規ワンステップ PTC ペーストを用いた研磨時間が, エナメル質の着色除去性に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

ワンステップ PTC ペーストとして, PTC ペースト ルシエロホワイト (以後, RW, ジーシー), クリンプロクリーニングペースト PMTC 用 (以後, CP, 3M ESPE) およびプロフイーペーストプロ clean & polish (以後, PP, クロスフィールド) を用いた。歯面清掃器具としては, 歯面研磨清掃用ブラシ (PTC ソフトブラシ, ジーシー) を用いた。

1. 着色除去用試片の製作

ウシ抜去下顎前歯歯冠部を, 歯冠部唇側面が露出するよう常温重合レジンに包埋した。次いで, 唇側面中央付近に直径 10 mm 程度のエナメル質平坦面が得られるよう, 耐水性 SiC ペーパーの #2,000 を用いて研削し, 超音波洗浄を 5 分間行なった。この試片を, タンニン酸, 硫化鉄あるいはアルブミン含有着色溶液に 10 分間浸漬したものをそれぞれ着色試片とした。

2. 研磨条件

コントラアングルハンドピースに歯面研磨清掃用ブラシを装着し, ブラシが試片に垂直に接触するよう規定した。次いで, 各 PTC ペースト 0.1 g を採取して, 回転数 1,920 rpm, 荷重 100 gf の条件で, 着色試片に対して研磨を行なった。なお, 研磨時間は同一試片に対して 5 秒ごとに 15 秒までとし, 熟練した術者 1 名によって試片中心から行なった。

3. 着色除去効果の測定

研磨前および各研磨時間経過後の着色試片の色調を, D65 光源を用いた高速分光光度計 (Spectro photo meter CMS-35FS/C, 村上色彩) とフレキシブルセンサー (FS-3, 45 度内周照射垂直受光, 照射面積 ϕ 6 mm, 測定面積 ϕ 3 mm, 村上色彩) を用いて測色した。測色に際して, 研磨を行なった歯面の中央付近を 3 回ずつ測色し, その平均値を求めた。XYZ 表色系としては 2 度視野に基づき, 色の表示には CIE 1976 L*a*b* 表色系を用いた。研磨前および各研磨時間での測色値から, その差である ΔE^*ab を求め, これを着色除去効果の指標とした。

4. レーザー顕微鏡観察および表面粗さ測定

各 PTC ペーストによる研磨時間後がエナメル質の表面性状に及ぼす影響について, 形状解析レーザー顕微鏡 (VK-9710, キーエンス) を用いて観察するとともに, 表面粗さ Ra (μ m) を求めた。

【成績および考察】

研磨時間の延長に伴う ΔE^*ab 値は, RW で 5.26~6.12 であったのに対し, CP で 1.61~2.54 を, PP で 1.81~3.26 であり, いずれの研磨時間においても RW で有意に高い値を示した。この理由としては, RW は弱アルカリ性を示すことから, これが着色成分と結合したタンパク質に作用することで, タンパク質分子間の反発力が増加し, 水分を含んで膨張することで溶解性が高まった可能性が考えられた。

【結論】

本実験の結果から, ワンステップ PTC ペーストのうちでも RW は, 短時間の研磨でも着色を除去することが可能であり, その臨床有用性が示された。

BEAUTIFIL Flow Plus X の光沢度と表面粗さ

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⁾さくデンタルクリニック
○尾池和樹¹⁾, 井殿泰鳳¹⁾, 越智葉子¹⁾, 清水翔二郎¹⁾, 日下部修介¹⁾, 作 誠太郎^{1,2)}, 堀田正人¹⁾

Glossiness and Surface Roughness of BEAUTIFIL Flow Plus X

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

²⁾Saku Dental Clinic

○OIKE Kazuki¹⁾, IDONO Taiho¹⁾, OCHI Yoko¹⁾, SHIMIZU Shojiro¹⁾,
KUSAKABE Shusuke¹⁾, SAKU Seitaro^{1,2)}, HOTTA Masato¹⁾

【研究目的】

現在、臨床でフロアブルコンポジットレジンを用いる頻度が増加している。2009年に株式会社 松風より発売された BEAUTIFIL Flow Plus は優れた操作性を有し、S-PRG フィラーによりフッ素をはじめとするイオンリリースによる抗プラーク付着性等が報告されている。また、患者からの審美的要求の高まりから、高い光沢感が求められており、S-PRG フィラーをナノ化した BEAUTIFIL Flow Plus X が2017年に発売された。当研究室では第147回日本歯科保存学会にて開発コード SI-R21510 (BEAUTIFIL Flow Plus X) を耐水ペーパー#10000まで研磨を行い、その光沢度と表面粗さについて検討した。今回は実際の臨床を想定し、耐水ペーパー#1200までの光沢度と表面粗さについて検討した。

【材料および方法】

BEAUTIFIL Flow Plus (以後 BFP, A3, 松風) と BEAUTIFIL Flow Plus X (以後 BFPX, A3, 松風) の2製品の F00 タイプと F03 タイプを用いた。これらのフロアブルレジンを内径10mm、高さ3mmのテフロンモールドに填入し、ガラス板とポリエステルフィルムにて圧接し、歯科用可視光線照射器 (ペンキュアー, モリタ) を用いて1分間光照射して硬化させた。その後、37℃蒸留水中に24時間浸漬した後に注水下にて耐水ペーパー (#600, #800, #1000, #1200) により研磨を行った。なお、圧接面のみのレジンを試料として圧接群とした。これらの試料を15分間超音波洗浄した後、37℃蒸留水中に24時間浸漬した。レジン試料は4個ずつ作製し、浸漬後に光沢度と表面粗さ (Ra 値) の測定に供した。光沢度 (60度鏡面光沢法) は光沢計 (VG-7000, 日本電色工業), 表面粗さはナノスケールハイブリッド顕微鏡 (VN-8010, KEYENCE) を用いて1試料について3回測定した。得られた値は、二元配置分散分析 (ANOVA, $p < 0.05$) と多重比較検定 Fisher の PLSD を用いて有意差検定 ($P < 0.05$) を行った。

【結果および考察】

光沢度においては圧接群の方が研磨群より有意に高かった。また、圧接群では F00, F03 タイプとも BFPX が BFP より有意に高く、研磨群においては F03 タイプで BFPX が BFP より有意に高かった。表面粗さ (Ra 値) においては圧接群より研磨群の方が有意に高く、研磨群において、F00, F03 タイプとも BFPX が BFP より有意に低かった。このように BFPX は BFP に比べて研磨面は光沢が高く、表面粗さは小さかった。以上のことからバイオアクティブ効果を発揮するナノ S-PRG フィラーを含有させた BFPX は優れた研磨性と艶を向上させたものであることが確認できた。

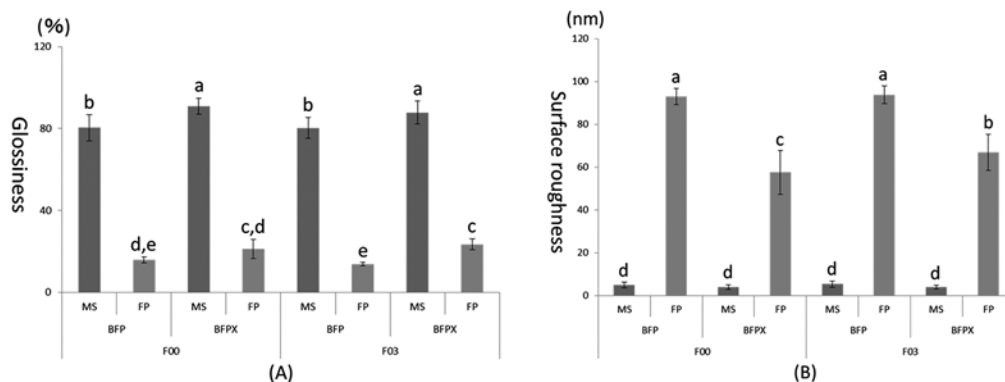


Fig.1 Glossiness(A) and surface roughness(B) of BEAUTIFIL Flow Plus X

BFP : BEAUTIFIL Flow Plus, BFPX : BEAUTIFIL Flow Plus X

MS : specimens surface covered with a mylar strips, FP : specimens surface with a final polishing(#1200)

Error bars indicate standard deviation of the mean,

Superscript(a,b,c,d,e):Means with the different letter are significantly different($P < 0.05$, $n = 4$).

音波式電動歯ブラシがコンポジットレジン of 光沢度および表面性状に与える影響について

昭和大学歯学部歯科保存学講座¹⁾ 美容歯科学部門、²⁾ 歯科理工学部門、³⁾ マイスター春日歯科クリニック
○京泉秀明¹⁾、寺島実華子¹⁾、水上英子¹⁾、遠山敏成³⁾、真鍋厚史¹⁾、宮崎隆²⁾

Effect of the sonic toothbrush on glossiness and surface morphology of composite resin

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

²⁾Division of Biomaterials and Engineering, Showa University School of Dentistry

³⁾Meister Kasuga Dental Clinic

○KYOIZUMI Hideaki¹⁾, TERASHIMA Mikako¹⁾, MIZUKAMI Eiko¹⁾,
TOYAMA Toshinari³⁾, MANABE Atsufumi¹⁾ and MIYAZAKI Takashi²⁾

【目的】

手用歯ブラシや電動歯ブラシは日常的に使用されている。今回用いた歯ブラシは音波式の電動歯ブラシ ソニックケア (フィリップス) で、音波水流を発生させ歯垢を効率的に除去することができ除去効果は非常に優れている。日本歯科保存学会秋季学術大会 (第 147 回) において、歯磨剤 (研磨材入り) を使用して音波式電動歯ブラシで荒研磨されたコンポジットレジンをブラッシングすると、光沢度および表面性状に良い影響を与えたことを報告した。

そこで今回の目的は、様々なコンポジットレジンを用いて、音波式電動歯ブラシがレジンの光沢度および表面性状に与える影響について検討することである。

【材料および方法】

材料は、グレースフィルゼロフロー (GZ, ジーシー)、ビューティフィルフロープラス X F00 (BX, 松風)、エステライトユニバーサルフロー Super Low (EF, トクヤマデンタル)、クリアフィルマジエスティー ES フロー Super Low (CE, クラレノリタケデンタル) の 4 種類のフロアブルタイプのコンポジットレジンを使用した。それぞれの材料は、直径 10mm 高さ 3mm の円柱状の試料とした。試料はシリコンカーバイトペーパー #1000 まで研磨を行い、相対湿度 100%、温度 37℃ の恒温槽中に 1 時間放置した後、37℃ の蒸留水中に 23 時間保管した。

音波式電動歯ブラシは、ソニックケア フレックスケアブラチナ、ブラシヘッドはダイヤモンドクリーン ブラシヘッド スタンダードサイズ (フィリップス)、を使用し、ブラッシング圧は荷重約 100gf で、刷掃時間は 90 秒及び 180 秒まで行った。ブラッシング時の歯磨剤は、ルシェロホワイト (ジーシー) を使用した。スラリーは歯磨剤と蒸留水の割合が重量比 1 : 2 になるように調製した。試料の表面はブラッシング前後での光沢度計 (VG2000, 日本電色) を使用し、60 度鏡面光沢法にて光沢度を測定し、さらに形状解析レーザー顕微鏡 (UK-X250, キーエンス) にて表面粗さの測定及び表面性状の観察を行った。試料数は各群 5 個とした。

【結果および考察】

光沢度の結果を図に示す。ブラッシング前では、GZ が大きい値を示し、EF、CE、BX の順に小さかった。その後、どの材料も 90 秒で大きい値を示し、180 秒では、さらに大きい値となった。表面粗さの結果を図に示す。ブラッシング前では、GZ が小さい値を示し、CE、EF、BX の順に大きかった。その後、90 秒では GZ が小さい値を示し、EF、CE、BX の順に大きい値を示した。180 秒では、さらに小さい値となった。表面性状の観察結果は、ブラッシング前では、どの材料も #1000 で研磨された大きな溝が観察されたが、90 秒、180 秒のブラッシングでは、ほとんど観察されなかった。歯磨剤には、清掃剤 (研磨材) として炭酸カルシウムが入っており、それによってコンポジットレジンの表面が研磨され大きな溝が消失したと思われる。したがって、ブラッシングにより摩耗され表面に出てくる微細なフィラーによってつやが維持され、光沢度が高くなり表面粗さが小さくなったと思われる。光沢度、表面粗さおよび表面性状の観察において、フィラーの種類、大きさ、含有量、マトリックスレジンの種類など様々な要因で結果に違いがでたと思われる。

【結論】

音波式電動歯ブラシを使用して荒研磨のコンポジットレジンにブラッシングを行うと、光沢度が大きくなり、表面粗さが小さくなった。表面性状の観察では、ブラッシング前にあった研磨跡が 90 秒ブラッシングすることにより消失した。そして、90 秒および 180 秒のブラッシングを行うと光沢度および表面粗さは、4 種類のコンポジットレジンの中で GZ が優れた結果となった。

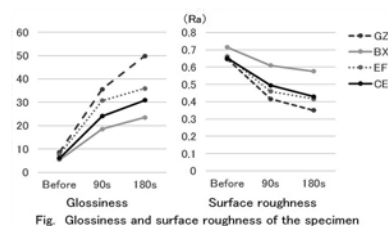


Fig. 1. Glossiness and surface roughness of the specimen

歯髄再生過程における PGP9.5 および CGRP 陽性神経線維の再生 -間葉系幹細胞によるラット冠部歯髄再生モデルを用いた研究-

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座歯髄生物学分野¹

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野²

○Phyo Pyai Sone¹、金子友厚¹、Su Yee Myo Zaw¹、末山有希子²、顧彬¹、村野浩気¹、Zar Chi Thein Zaw¹、
興地隆史¹

Regeneration of PGP9.5- and CGRP-positive Nerve Fibers in a Rat Experimental Model of Coronal Pulp Tissue Engineering with Mesenchymal Stem Cells-

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

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

○Phyo Pyai Sone¹、Tomoatsu KANEKO¹、Su Yee Myo Zaw¹、Yukiko SUEYAMA²、Bin GU¹、
Hiroki MURANO¹、Zar Chi Thein Zaw¹、Takashi OKIJI¹。

Aim: We have established a model of coronal pulp tissue engineering that involves implantation of bone marrow mesenchymal stem cells (BMMSCs) in the coronal pulp chamber of pulpotomized rat molars [1, 2]. However, regeneration process of nerve fibers in this model remains unclear. Thus, the present study aimed to analyze temporal changes of nerve fiber densities and nerve growth factor (NGF; a neurotrophic factor) mRNA expression in the engineered coronal pulp tissue.

Method: All experiments were performed in accordance with the approval granted by the animal care committee of TMDU (A2017-009A) and Niigata University (27-275-6). The maxillary first molars of 5-week-old female Wistar rats (n=32) were subjected to pulpotomy. MSCs (Lonza), biodegradable performed poly-L-lactide acid (PLLA) scaffolds, and hydrogel (Matrigel; Corning) were implanted into the pulp chamber, and the cavities were sealed with mineral trioxide aggregate (MTA: ProRoot, Dentsply Tulsa Dental). Untreated teeth served as controls (n=8). After the implantation for 3, 7 and 14 days (n=4 teeth at each time point), samples were processed for immunoperoxidase staining for protein gene product 9.5 (PGP9.5; a general neuronal marker) or calcitonin gene-related peptide (CGRP; a neuropeptide present in pulpal sensory neurons). To calculate the density of stained neurons, digital images of the randomly selected 5-immunostained coronal areas were taken. The immunostained area from the total area was calculated by using Image J software (Version 1.37v; National Institutes of Health). NGF mRNA (nerve growth factor, beta polypeptide-Rat) and GAPDH mRNA expression were determined with real-time PCR (n=4 teeth at each time point). Data were analyzed with Kruskal-Wallis nonparametric analysis of variance followed by the Mann-Whitney U test with Bonferroni correction.

Results: At 3 days, in the pulpotomized region, mononuclear cells were distributed mainly along the PLLA scaffolds. At 7 days, regeneration of a pulp-like tissue was evident in the implanted region with thin dentin bridge formation. At 14 days, the pulp-like tissue regeneration was further progressed with almost complete dentin bridge formation and most PLLA scaffolds had been resorbed. The density of PGP9.5+ nerve fibers significantly increased until 14 days (p<0.05) but was significantly lower than that of normal coronal pulp (p<0.05). Notably, the density of CGRP+ nerve fibers also showed increases until 14 days (p<0.05), and there was no significant difference with normal coronal pulp. In gene expression analysis, NGF mRNA expression gradually increased until 14 days, but the level was significantly lower than that of the normal coronal pulp (p<0.05).

Conclusion: In the coronal pulp regeneration model of rat molars, increases in the density of PGP9.5+ and CGRP+ nerve fibers were associated with upregulation of NGF mRNA expression and took place with the progress of pulp-like tissue regeneration.

References:

1. Ito T, Kaneko T, Sueyama Y, Kaneko R, Okiji T. Dental pulp tissue engineering of pulpotomized rat molars with bone marrow mesenchymal stem cells. *Odontology*, 105(4):392-397, Oct, 2017.
2. Sueyama Y, Kaneko T, Ito T, Kaneko R, Okiji T. Implantation of endothelial cells with mesenchymal stem cells accelerates dental pulp tissue regeneration/healing in pulpotomized rat molars. *J Endod*, 43(6):943-948, Jun, 2017.

Enterococcus faecalis に対するダイオードレーザーとピオクタニンブルーを用いた光線力学療法の抗菌性について

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野
○増田宜子, 門倉弘志, 山崎崇秀, 上田堯之, 加藤邑佳, 横瀬敏志

Photodynamic Therapy with Piokutanin Blue and Diode Laser for Elimination of *Enterococcus faecalis*
Division of Endodontics and Operative Dentistry, Department of Restorative and Biomaterials
Sciences, Meikai University School of Dentistry
○Yoshiko Masuda, Hitoshi Kadokura, Takahide Yamasaki, Takayuki Ueda,
Yuka Kato, Satoshi Yokose

【目的】 *Enterococcus faecalis* は、根管治療によって治癒しない症例の多くで認められる。今回、ダイオードレーザーを用いた光線力学療法において光増感剤としてピオクタニンブルーを用いて *Enterococcus faecalis* の抗菌効果を調べることにした。また、ピオクタニンブルーの細胞傷害性についても検討した。

【材料と方法】 *Enterococcus faecalis* (Amerikan Type Culture Collection BAA-2128™) を用い BHI 培地 5 ml に 37℃にて 24 時間培養した。2 x 10⁸ 個の菌液 40 μl を 1.5 ml のマイクロチューブに入れた。そこに 1% の pyokutanin blue (PB; 和光純薬) 液 200 μl を入れた。コントロールとして 200 μl の PBS を入れた。ダイオードレーザー (OPELASER Filio; ヨシダ) を用い、3 W, 連続波にてチューブの底から 6 mm の距離から菌液中に照射した。レーザーの波長は 808 nm で Fiber の直径は 0.2 mm を用いた。照射時間は 10, 20, 40, 50, 60 秒で行った。コントロールは、レーザー照射を行わなかった。照射後、菌液から 5 μl を 1 ml の PBS に希釈しさらにそこから 10 μl を 1 ml の PBS に希釈した。最後に 40 μl の菌液を BHI 寒天プレートに播き 37℃、24 時間培養しコロニーを数えた。ピオクタニンブルーの細胞傷害性を調べるためにヒト線維芽細胞 (HDFa; Gibco Invitrogen) を用いた。HDFa を 96-well プレートに播き 96 時間後に培地を 100 μl の様々な濃度の PB 溶液に置き替え 1 分培養器に静置した。PB 溶液を除去し DMEM 培地 (10% FBS) で 2 回洗浄し 48 時間培養した。562 nm の吸光度を測定し MTT 分析を行った。コントロールとして同濃度の DMSO を用い PB 溶液の値から差し引きその値を用いた。

【結果】 レーザーの照射時間が増す毎に *E. faecalis* 菌のコロニー数が減少した。60 秒でほとんどのコロニーが認められなかった。PB を用いたレーザー照射で PB 単独、レーザー単独より多くのコロニーの減少が認められた。レーザー照射 40 秒で PB のみよりも多くのコロニーの減少が認められた。60 秒で 100 % の減少であった。レーザー照射 (-)、PB (-) のコントロールと比較してほとんどの実験群で有意差があった。HDFa にたいするピオクタニンブルーの細胞傷害性は濃度が高くなるにつれて増した。ピオクタニンブルーの CC₅₀ 値は 108 μg/ml であった。

【考察および結論】 ダイオードレーザーとピオクタニンブルーを用いた光線力学療法によって *E. faecalis* 菌を除去出来ることが示された。また、HDFa に対しての細胞傷害性は今回の実験の条件下では 1 分では認められなかった。今回の実験で用いたピオクタニンブルーは洗口剤 (ホンゾウ; ホンゾウ製薬) として販売されており実際の根管治療においても光線力学療法の光増感剤としての使用の可能性が示唆された。

S-PRG フィラー含有根管充填シーラーによる根管充填後の根尖組織治癒

北海道大学病院 歯周・歯内療法科

○宮治裕史, 眞弓佳代子, 金本佑生実, 西田絵利香

Healing of apical periodontal tissue after root filling using S-PRG filler containing root canal sealer

Clinic of Endodontics and Periodontics, Hokkaido University Hospital

○MIYAJI Hirofumi*, MAYUMI Kayoko, KANEMOTO Yukimi, NISHIDA Erika

【研究目的】

S-PRG (Surface pre-reacted glass ionomer) フィラーは、シリカフィラーの表面にガラスアイオノマー相を形成したもので、F⁻をはじめ、Na⁺、Bo₃³⁻、Al³⁺、SiO₃²⁻、Sr²⁺の6種類のイオンを徐放し、再石灰化亢進、抗菌性、炎症作用などの特性を有することが報告されている。我々は第141回秋季日本歯科保存学会において、S-RPG フィラーを含有した根管充填シーラーの生体親和性が、ユージノール系根管充填材料に比べ良好な生体親和性を有することを報告した。本研究ではイヌを用いた非臨床試験として、S-RPG フィラー含有根管充填シーラーを用いた根管充填の根尖部歯周組織に対する影響を、市販の根管充填材料と比較検討した。

【材料と方法】

ビーグル犬の前臼歯の麻酔抜髄を行った後、根尖部を穿通ファイル#40まで拡大、根管を10%次亜塩素酸ナトリウムと3%EDTAにて洗浄してペーパーポイントにて乾燥した。次にガッタパーチャマスターポイントに各種シーラーを塗布して根管充填を行った。シーラーには、S-RPG フィラー含有根管充填シーラー(松風)、ならびに市販の根管充填材料であるプロルート MTA (デンツプライシロナ)、キャナルス N (昭和薬品化工)、AH プラス (デンツプライシロナ) を選択した。術後1カ月および6カ月で組織標本を作製し、根尖部歯周組織の炎症性細胞浸潤スコア (severe;3, moderate;2, mild;1)、ならびに骨欠損面積を計測した。なお動物実験は北海道大学動物実験委員会の審査承認を受けて行った(承認番号13-0122)。

【結果と考察】

炎症性細胞浸潤のスコアリングの結果、S-RPG フィラー含有根管充填シーラーとプロルート MTA は1カ月目のスコアが6カ月目では若干減少し、一方キャナルス N と AH プラスでは6カ月目でスコアが若干増加した(図1)。

骨欠損面積計測の結果、1カ月目では各材料とも同程度で有意差は認めなかったが、6カ月目では S-RPG シーラー、MTA、AH プラスはキャナルス N に比較して有意に小さい骨欠損面積を示した(図2)。

【結論】

S-RPG フィラー含有根管充填シーラーは、プロルート MTA、AH プラスと同様に根尖部歯周組織親和性が良好であることが示唆された。

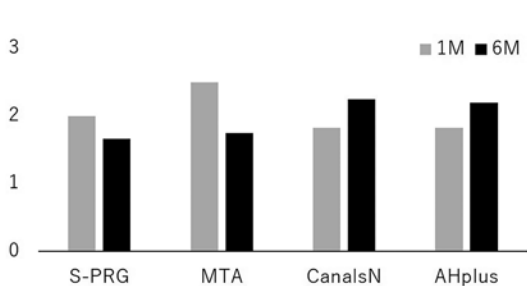


Fig.1 Inflammation score

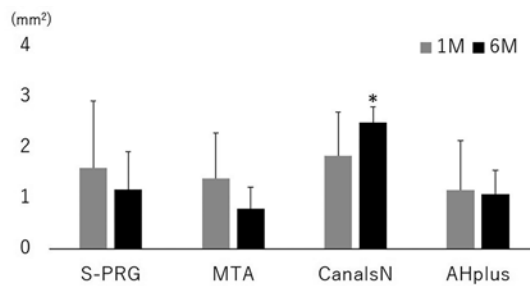


Fig.2 Bone defect area

Effect of S-PRG root canal dressing on periapical repair in rat

¹Department of Oral Rehabilitation, Division of Periodontology and Endodontology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido. ²Department of Advanced Clinical Education, Department of Integrated Dental Education, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido. ³Division of Oral Medicine and Pathology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

○Bin XIONG¹, Kaname SHIRAI^{1,2}, Kousei MATSUMOTO¹, Hiroyuki WATANABE¹, Shintaro SHIMIZU¹, Yoshihiro ABIKO³, Yasushi FURUICHI¹

【Objective】 :Recently, a prototype endodontic root canal dressing was developed by modification of S-PRG filler. The bioactivity of the S-PRG filler has been attributed to its ability to release multiple ions, including B, F, Si, and Sr, etc. Moreover, due to the considerably biological effectiveness such as formation of acid-resistant layer, reinforcement of tooth structure, anti-plaque effect, remineralization of dentin, acid buffer capacity, S-PRG fillers has been reported by various research institutes. The aim of this study was to compare the periapical repair of rat teeth with periapical lesion following root canal treatment by using S-PRG intracanal dressing or Ca(OH)₂ paste.

【Methods】 :The mesial root of maxillary first molars in 18 male Wistar rats were selected for treatments. After chamber open, the root canals were left exposed to the oral cavity for 28 days. The apical delta was perforated by using #8 to #15 K-files at the length of the tooth, thus creating a standardized apical opening. In experiment groups (6 tooth per group), canals were irrigated with 2.5% sodium hypochlorite solution followed by canal drying and filling either with S-PRG root dressing (SHOFU INC., Kyoto, Japan) or Ca(OH)₂ paste, while the negative control group (6 tooth) is subject to the irrigation only. The access openings of the teeth were permanently restored with composite resin. Periodical radiographs, H&E staining and immunochemistry were performed after 3 days of the treatments. Data were statistically evaluated using analysis of variance (ANOVA) with Turkey's HSD tests.

【Result】 :There was no significant difference in the rate of radiographic healing of the periapical lesions between the S-PRG and Ca(OH)₂ group ($p>.05$). But both of them have resulted in a significant reduction in mean size of the periapical lesions in comparison to the irrigation group. These findings could also be observed in histological evaluation.

【Conclusion】 :The use of a intracanal dressing was important for periapical repair in teeth with periapical lesion. Dressing with S-PRG showed similar positive effect as Ca(OH)₂ in healing on experimentally induced chronic periapical lesion models of rat.

3種のメタクリレートレジン系根管充填用シーラーの *in vitro*における細胞毒性の評価

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
○Yadanar Su Phy, 川島伸之, Bakhit A, 倉本将司, 橋本健太郎, 興地隆史

In vitro evaluation of the cytotoxicity of three methacrylate-based resin sealers

○Su Phy Y, Kawashima N, Bakhit A, Kuramoto M, Hashimoto K, Okiji T

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

Introduction: Methacrylate-based resin sealers are generally used for their adhesive properties to the canal wall, but their biocompatibility to osteoblasts has not been fully investigated. The purpose of this study was to evaluate the cytotoxicity of three methacrylate-based resin sealers to an osteoblast cell line, Kusa-A1.

Materials and Methods: Hybrid Root SEAL (HRS; Sun Medical), MetaSEAL Soft (MSS; Sun Medical), Super Bond Sealer (SBS; Sun Medical), and AH Plus (AHP; Dentsply Sirona; an epoxy resin-based sealer) were mixed according to the manufacturer's instructions and were placed in sterile cylindrical plastic rings (Ø7 mm, height 3 mm).

<Fresh group> Samples were immersed in 3 ml of alpha- minimum essential medium (α -MEM) immediately after mixing and were shaken for 24 h at room temperature.

<Set group> Mixed samples were placed in an incubator (37°C, 100% humidity) for 24 h before immersing in the medium for 24 h.

<Light-cure group> HRS and MSS were light irradiated for 20 s before placing in the incubator.

Culture media containing samples (sealer extracts) were sterilized by filtration (0.45 μ m pore size). For cytotoxicity assay, Kusa-A1 cells were seeded in 96-well plates and cultured in α -MEM containing 10% fetal bovine serum (2×10^3 cells/well) for 24 h, and then treated with 1/2, 1/8 and 1/32 diluted sealer extracts for 72 h. Fresh α -MEM without sealer extracts was used as control. Relative number of viable cells was measured with WST-8 assay. One- way ANOVA and Tukey post hoc test were used for statistical analysis.

SEM Analysis: Morphology of Kusa-A1 cells on the mixed samples were evaluated by SEM.

Results and Discussion: The number of viable cells cultured in diluted extracts of fresh AHP (1/2 and 1/8), fresh MSS (1/2 and 1/8), set MSS (1/2 and 1/8), light-cured MSS (1/2 and 1/8), fresh HRS (1/2, 1/8, and 1/32), set HRS (1/2 and 1/8), and light-cured HRS (1/2) significantly decreased compared to that of control ($p < 0.05$). Extracts of fresh AHP (1/32), set AHP (1/2 and 1/8), fresh MSS (1/32), light-cured HRS (1/8), and fresh SBB (1/2, 1/8 and 1/32) did not exert significant reduction of viable cells compared to control ($p > 0.05$). Extracts of set SBB (1/2 and 1/8) significantly increased the cell number compared to control ($p < 0.0001$). SEM analysis revealed that Kusa-A1 cells cultured on set AHP/SBS and light-cured MSS/HRS showed fibroblastic and spherical appearance, respectively. These results indicated that fresh AHP possessed cytotoxicity but set AHP lost its cytotoxicity. Both fresh and set MSS exerted cytotoxicity, which was not improved by light curing. Both fresh and set HRS possessed cytotoxicity, which was improved by light curing. Fresh and set SBS showed no harmful effects on cell growth and cell morphology.

Conclusion: Hybrid Root SEAL possesses relatively high cytotoxicity, which was improved by light irradiation. MetaSEAL Soft showed moderate cytotoxicity, and Super Bond Sealer was not cytotoxic to Kusa-A1 cells.

グライドパス形成中の垂直荷重、トルク、形成量の検討：手用切削と回転切削の比較

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

○Pyae Hein Htun, 牧圭一郎, 木村俊介, 西条美紀, 時田大輔, 海老原新, 興地隆史

Comparison of hand and rotary instrumentation during glide path preparation with regard to apical force, torque and root canal dentin removal

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences,

Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○Pyae Hein Htun, MAKI Keiichiro, KIMURA Shunsuke, NISHIJO Miki, TOKITA Daisuke,

EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

Aim: The purpose of this study was to compare glide path preparation using stainless steel K file (Zipperer, Munich, Germany, SS) and Hyflex EDM glide path rotatory instruments (Coltene/Whaledent, Altstätten, Switzerland, EDM) in terms of (1) values of apical force and torque during preparation; and (2) differences of canal volume before and after glide path preparation.

Materials and Methods: Fourteen extracted mandibular permanent incisors with a straight and narrow root canal were used (approved by the Institutional Review Board, TMDU, No. 923). The tooth crown was removed to get a 11-mm length of the root. Coronal 6 mm of the canal was pre-flared with Hyflex EDM Orifice Opener (#25/0.12 taper, Coltene/Whaledent) by using the X-smart Plus motor (Dentsply Maillefer, Switzerland; 400 rpm). Canal scouting was performed with SS #08 and #10. The teeth were randomly divided into two groups; group SS and group EDM (n = 7, each). In group SS, glide path was prepared manually with watch-winding motion by a single operator using SS (#15/0.02 taper). In group EDM, glide path preparation was performed with EDM (#10/0.05 taper; 300 rpm; Optimum Glide Path (OGP) rotation) using the original automated root canal instrumentation device (Tokita.D *et al*, JOE 2017). The torque/force analyzing device (Tokita.D *et al*, JOE 2017) was used to monitor torque and apical force generated during glide path preparation, and maximum values in positive and negative domains (downward and upward, respectively, for force values; clockwise and counterclockwise, respectively, for torque values) were calculated. During preparation, root canals were filled with RC-Prep (Premier, USA). Micro CT scans were taken before and after coronal pre-flaring, and after glide path preparation. Imaging software (Amira 5.4.4, Visage Imaging GmbH, Berlin, Germany) was used to measure root canal volume in each step. For statistical analysis, Wilcoxon Signed Rank test and Mann-Whitney U-test were used for intra- and inter-group analysis, respectively.

Results: Maximum apical force values (N) in the negative domain in group EDM was significantly smaller than that in group SS (-0.2477 and -1.5426, respectively; $p < 0.05$), while there was no significant difference of maximum apical force values in the positive domain ($p > 0.05$). Maximum torque values (Nmm) in the positive domain of group EDM were significantly larger than that of group SS (1.6604 and 0.6452, respectively; $p < 0.05$). Regarding maximum torque values (Nmm) in the negative domain, group EDM was significantly larger than group SS (-2.3867 and -0.3603, respectively; $p < 0.05$). Root canal volumes in apical 5 mm were not significantly different between the two groups (SS = 6398, EDM = 9012 μm^3 ; $p > 0.05$).

Discussion: The present findings suggest that group EDM generated smaller screw-in forces than group SS, since screw-in force is represented by apical force in the negative domain (Tokita.D *et al*, JOE 2017). In this study, OGP rotation, which is a combination of repeated watch-winding (90 degree forward and 90 degree reverse) and balanced force (90 degree forward and 120 degree reverse) motions, was used, and that motion may have released screw-in force when the motor rotated to the noncutting direction. It is considered that glide path preparation of both groups did not affect volume of dentin wall removal.

Conclusion: During glide path preparation, EDM with OGP rotation generated lower screw-in force than manually-used K file, although there was no significant difference in the amount of dentin removal.

根未完成歯に対する歯根嚢胞摘出及びMTAを用いた根尖閉鎖

大阪歯科大学 口腔治療学講座
○麻生浩章、杉本貞臣、稲本雄之、至田宗泰、前田博史

Endodontic treatment of the apical closure using the MTA and the radicular cyst extraction
for the Immature Permanent Tooth

Department of Endodontics, Osaka Dental University
○ASO Hiroaki, SUGIMOTO Sadaomi, INAMOTO Takeshi, SHIDA Muneyasu, MAEDA Hiroshi

【緒言】根未完成歯に対する処置として Apexification が長らく行われてきた。Apexification は根管内の感染物質を除去し根管内に薬剤を貼布することで根尖周囲の歯根膜組織を刺激してセメント芽細胞の分化、誘導をはかり開口した根尖部にセメント質様もしくは骨様硬組織を形成させて根尖を閉鎖させる方法である。また MTA を用いた根尖閉鎖法もあり、従来の水酸化カルシウム等を用いた Apexification より治療回数を少なくでき、長期間の水酸化カルシウム貼薬により生じる歯の脆弱化を防止できる利点がある。今回、中心結節の破折が原因で歯髄感染から歯根嚢胞となった根未完成歯に対し嚢胞摘出し MTA を用いて根尖封鎖し良好な経過を得た症例を報告する。

【症例】患者は10歳女児。近医から下顎右側第二小臼歯部の精査を勧められ当院当科受診。自覚症状はなく口腔内検査の結果、歯茎部歯肉に瘻孔が認められた。デンタルエックス線写真及び CBCT 撮影を行った結果、解剖学的根尖口はラッパ状で近遠心に5mm、頬舌に7mm 開口していた。また透過像の中に歯牙と思われる不透過像が認められた。根未完成歯の歯根嚢胞と診断し、嚢胞摘出搔爬し、Apexification を行う事とした。根尖がラッパ状に開口している事、治療回数、患者の負担を考慮し、嚢胞摘出までの期間根管洗浄し、嚢胞摘出搔爬と同時に、MTA を用いて根管充填を行う事とした。

【経過】術後1週間後に瘻孔は完全に消失し自発痛や打診痛などの症状もなく経過良好と判断した。コンポジットレジン修復をし経過を診ていく事とした。3ヶ月後デンタルエックス線写真で骨の形成が確認できた。

【考察】根未完成歯に対する感染根管治療では水酸化カルシウムを用いた Apexification が行われてきた。しかし、水酸化カルシウムを用いた Apexification では治療回数がかかり根管感染のリスクが増え、また水酸化カルシウムにより歯牙が脆弱化し、歯根破折を招くという問題点がある。また Regenerative Endodontic Therapy が有用であると考えられているが本症例では根尖に嚢胞があり、根管内に血液供給ができず結合組織の増殖が期待できないとし、MTA による根尖封鎖を選択した。MTA を用いた手法では短期間で治療を終了でき、感染歯質の弱体化を予防でき破折リスクを下げるができる。今回の症例では歯根嚢胞の摘出時に根尖を綿球で押さえ、根管口から MTA で根管充填することで適正な位置で根尖封鎖することができ、骨の形成が確認できた。MTA を用いた根尖封鎖法は根尖の開口が大きく嚢胞を形成している症例に対して有効であると考えられる。

透明 EDTA 系根管切削補助剤のスミヤー層除去と潤滑効果に関する研究

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔統合医療学講座 歯髄生物学分野

○藤巻龍治, 鈴木二郎, 石井信之

Study on Removal of Smear Layer and Lubrication Effect of Clear Colored EDTA Root Canal Conditioner
Department of Oral Interdisciplinary Medicine Division of Pulp Biology Graduate School of Dentistry,
Kanagawa Dental University
○FUJIMAKI Ryuji, SUZUKI Jiro, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】

根管壁表面に生じるスミヤー層は、根管洗浄液の浸透を阻害するとともに、根管充填物の封鎖性を低下させることが明らかにされており、EDTA を含有する化学的清掃剤で除去する必要がある。

本研究は、透明化により根管口視認性に優れた EDTA 系根管切削補助剤の根管象牙質表面スミヤー層除去と潤滑効果を評価し解析することを目的とする。

【材料および方法】

実験 1. 根管象牙質表面におけるスミヤー層除去効果の電顕的評価

ヒト単根抜去歯（倫理審査委員会承認番号 326）の歯冠切除後、垂直方向に切断し断面が上面となるように包埋した。耐水研磨紙を用いて表面が平面となるまで研磨を行い、象牙質表面にスミヤー層を実験的に付与した。試料象牙質面に 17%EDTA アクアジェル（PENTRON JAPAN）および 17%EDTA リキッド（PENTRON JAPAN）を 1 分間作用させた。試験片に白金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡（SS-550, 島津製作所）にて観察を行い Hülsmann らの判定方法¹⁾に従いスミヤー層の除去効果を解析した。

1) Hülsmann et al. : *J Endod.* 23(5): 301-306, 1997.

実験 2. 根管形成時の切削応力に相対する電流値測定

プラスチック製湾曲根管模型（Dentsply Sirona）40 本を 4 群に分け、各群 Ni-Ti ファイル（Dentsply Sirona）を、術者が視認できない状態で #10 K ファイル（マニー）にて作業長を決定、精製水 1ml にて根管洗浄および乾燥後、各種 EDTA 系根管切削補助剤（17%EDTA アクアジェル, Glyde (Dentsply Sirona), RC-Prep（白水貿易））を併用した根管拡大形成を行い、Apex から -5mm, -3mm, -1mm および Apex 位置でのモーター電流値を、データーロガー（midi LOGGER GL820, GRAPHTEC）にて測定した。なお、対照には精製水を用いた。

【結果】

実験 1. 根管口部、根管中央および根尖部において、両製材ともにスミヤー層は除去され象牙細管の開口が確認された。

実験 2. Protaper Next 群では根尖部方向に進むにつれて、電流値の上昇が認められ、Protaper Next X2 File の Apex -1mm の測定部位において各種 EDTA 系根管切削補助剤使用群では精製水に比べて電流値軽減傾向が確認できた。

【考察および結論】

17%EDTA アクアジェルは、作業時間 1 分で各測定部位でのスミヤー層除去効果が確認できた。また、17%EDTA アクアジェルは透明性を有するために、根管形成時のファイル挿入が容易であった。

Robust Principle Component Analysis を用いたノイズ除去とコントラスト強調による 歯科用内視鏡取得画像の視認性向上

¹九州歯科大学口腔保存治療学分野, ²北九州市立大学国際環境工学部情報メディア工学科
³九州大学味覚・嗅覚センサ研究開発センター, ⁴早稲田大学大学院情報生産システム研究科, ⁵西野歯科医院
○藤元 政考¹, 吉居 慎二¹, 奥田 正浩², 池沢 聡³, 植田 敏嗣⁴, 西野 宇信⁵, 北村 知昭¹

Visibility improvements of dental endoscopic image by noise removing with Robust Principle Component Analysis and contrast enhancement

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University, ²Faculty of Environmental Engineering, The University of Kitakyushu, ³Research and Development Center for Taste and Odor Sensing, Kyushu University, ⁴Graduate School of Information, Production and Systems, Waseda University, ⁵Nishino Dental Clinic
○FUJIMOTO Masataka¹, YOSHII Shinji¹, OKUDA Masahiro², IKEZAWA Satoshi³, UEDA Toshitsugu⁴, NISHINO Takanobu⁵, KITAMURA Chiaki¹

【研究目的】現在、歯科用顕微鏡やコーンビーム CT を用いても観察が困難な根管内深部の破折や根管側枝、歯周ポケット深部等の微細構造観察に有用と考えられる歯科用内視鏡が製品化されているが、導入コストや消毒・滅菌の問題もあり普及率は低い。既存の歯科用内視鏡が抱える問題点の克服を目的として、これまでに我々は新規根管観察用内視鏡の設計と開発について報告してきた (Yoshii *et al.*, S2IS, 2013; Fujimoto *et al.*, IEEE Sensors J, 2016)。また、日常臨床に導入しやすい根管内観察システムへの展開を目的として、既に市販され臨床応用されている口腔内カメラと根管用内視鏡プローブとを融合したプロトタイプを報告してきた (藤元ら, 第 147 回日本歯科保存学会秋季学術大会)。一方、試作システムで取得した画像には、内視鏡プローブ内部の微小な傷や気泡に起因するノイズが観察されていた。今回、最先端の画像処理技術である Robust principle component analysis (RPCA) 法を応用し、ノイズ除去処理とコントラスト強調を行うことによる取得画像の視認性の向上を検討した。

【材料と方法】口腔内カメラは市販されている SOPRO LIFE (ACTEON 社)を用いた。根管用内視鏡プローブはイメージファイバ、屈折率分布型レンズ、光ファイバから構成され、作動距離 (焦点の合う距離) が 0.32-0.33 mm の試作内視鏡プローブを用いた。口腔内カメラと試作内視鏡プローブを、三軸芯出しレンズホルダーに固定した光学顕微鏡用の対物レンズを介在させて接続し、口腔内カメラと試作内視鏡プローブから成る微細構造観察システムを構築した。作製した微細構造観察システムを用いて、SOPRO LIFE に付属するソフトウェア SOPRO Imaging によって 10, 20, 50, 100 μm のライン・スペースが描記されているレゾリューションチャートの観察を行い画像取得した。取得した画像は RPCA 法によって、本来取得したい画像とノイズ成分に画像を分解しノイズ除去を試みた。その後、コントラスト強調を行い取得画像の鮮鋭化を行った。

【結果】試作システムで取得した画像は 10, 20, 50, 100 μm のライン・スペースが全て観察可能であった。また、RPCA 法により取得画像を処理したところ、すべての画像でノイズを除去することが可能であった。さらに、ノイズ除去後の取得画像をコントラスト強調することによって、より鮮明に観察できるようになった。

【考察】本実験で構築した微細構造観察システムによる基礎研究では、10-100 μm のライン・スペースの観察が可能であった。この結果は、根管深部の微細構造を観察する上で、市販の口腔内カメラと根管用内視鏡プローブとの適切な組合せが有用であることを示唆している。さらに本実験ではハードウェア面での改善のみではなく、画像処理といったソフトウェア面での改善も試み、RPCA 法とコントラスト強調を行うことで画像の鮮鋭化が可能であることを明らかにした。今後は、これらの画像処理アルゴリズムをリアルタイムで適応できるシステムの構築を検討する予定である。

【結論】口腔内カメラと根管観察用内視鏡プローブを接続することで微細構造観察システムを試作した。試作システムで取得した画像は RPCA 法とコントラスト強調といった画像処理によって、視認性を向上させることができた。

本研究の一部は戦略的情報通信研究開発推進事業 (SCOPE, 平成 29 年度第 3620 号) の補助の下に行われた。

ヒトセメント芽細胞に対する Bioactive Glass 配合 バイオセラミックス系根管用シーラーの生体親和性

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

²日本歯科薬品株式会社

○鷲尾絢子¹, 諸富孝彦¹, 手嶋浩貴², 横田兼欣², 末松美希¹, 北村知昭¹

Biocompatibility of Bioactive Glass-containing Bioceramics-based Root Canal Sealer for Human Cementoblast Cells

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

²Nippon Shika Yakuhin Co., Ltd.

○WASHIO Ayako¹, MOROTOMI Takahiko¹, TESHIMA Hiroki², YOKOTA Kazuyoshi², SUEMATSU Miki¹,
KITAMURA Chiaki¹

【研究目的】

根管用シーラー（以後、シーラー）に求められる性質として、良好な操作性・封鎖性・除去性に加え、根尖部歯周組織への高い生体親和性が根管充填後の理想的な根尖歯周組織の治癒を獲得する上で必要不可欠である。現時点でこれらの所要性質を完全に満たす理想的なシーラーは存在しない。高い生体親和性を示す素材であるバイオマテリアルとしてのシーラー開発を目標として、我々は日本歯科薬品と共にバイオセラミックスのひとつである Bioactive glass を配合した「ニシカキャナルシーラーBG（以後、NCS-BG）」を開発、商品化した。今回、NCS-BG が根尖歯周組織における生体親和性を有することを評価するため、NCS-BG と共に既存のバイオセラミックス系とされるシーラーを対象として、各シーラーが根管充填後の根尖封鎖において重要な役割を果たすセメント芽細胞の細胞遊走能、生存能、および分化能に及ぼす影響について比較検討した。

【材料および方法】

Transwell の下層 well にヒト由来セメント芽細胞（以後、HCEMs, 広島大学 高田 隆先生より供与）を播種・培養後、Bioactive glass を含むシーラーである NCS-BG, Calcium silicates を含むシーラーである EndoSequence BC sealer, 及び Mineral Trioxide Aggregate (MTA) を含むシーラーである MTA フィラベックスの3種類の各シーラーを填入した insert を Transwell に挿入・静置した。一定期間培養後、細胞遊走試験により細胞遊走能を、トリパンブルー染色により細胞生存能を、そしてアルカリフォスファターゼ (ALP) 活性により細胞分化能を測定した。

【結果】

細胞遊走試験において、MTA フィラベックス刺激群では生存細胞が認められず細胞遊走能は測定できなかった。その一方で、NCS-BG 及び EndoSequence BC sealer 刺激群では HCEMs の遊走が認められた。細胞生存試験では、MTA フィラベックス刺激群では細胞生存数は著しく低下したが、NCS-BG 及び EndoSequence BC sealer 刺激群では経時的に HCEMs の生存数は増加した。また、細胞遊走能・増殖能が認められた NCS-BG 及び EndoSequence BC sealer 刺激群で ALP 活性を測定したところ、両群とも Positive control と同程度の ALP 活性が認められた。

【考察】

NCS-BG 及び EndoSequence BC sealer は根管充填後の根尖封鎖で主要な役割を果たすセメント芽細胞の生存能、遊走能、および分化能に影響を与えないことが明らかとなった。

【結論】

新しく開発されたバイオセラミックス系シーラーであるニシカキャナルシーラーBG は根尖歯周組織への高い生体親和性を有するシーラーとして期待される。

愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科における歯科用コーンビーム CT 検査の実態調査
-第1報 2002年から2014年までの分析-

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座
○稲本 京子、柴田 直樹、中田 和彦

A survey of cone-beam computed tomography at endodontic clinic of Aichi Gakuin University Dental Hospital
- Part 1: Analysis of the CBCT performed from 2002 to 2014 -

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Kyoko Inamoto, Naoki Shibata, Kazuhiko Nakata

【研究目的】

歯科用コーンビーム CT (CBCT: Cone-beam computed tomography) は、関心領域の高精細三次元 (3D) 画像を低線量で得ることができ、任意の部位を三方向断面から立体的に観察することができるため、歯内療法領域において、診断精度と予知性の向上に革新的な進歩をもたらしている。愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科では、2002 年より歯科用 CBCT 検査を実施しており、さまざまな臨床例を通じて、歯科用 CBCT 検査の有効性や適応症の設定を試みている。これまでに歯科用 CBCT 検査が、個々の症例で、診査や診断、および治療方針の決定に有効であったとの報告は多数あるが、歯内療法領域全般において実態調査に基づいて歯科用 CBCT 検査の結果を分析した報告はない。そこで本研究では、2002 年から 2014 年までに当科で行われた歯科用 CBCT 検査に関して、適用した症例の内訳や、得られた 3D 画像の診査、診断および治療方針の決定に対する有効性について、実態調査を行い、その傾向を分析した。なお本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認 (承認番号: 206、429) を得ている。

【対象および方法】

2002 年 4 月 1 日から 2014 年 3 月 31 日までの 12 年間に、愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科を受診した患者で、臨床で、歯科用 CBCT 検査が必要であると判断され、かつ本研究の趣旨に同意が得られた症例を対象とした。CBCT 検査で得られた画像データを用いて分析を行い、検査を行った歯科医師に対して、質問票によるアンケート調査を実施し、歯科用 CBCT 検査の①実施件数、②適用症例の内訳、③有効性、④問題点について検討した。なお、実施件数に関しては、検査目的が一つに絞きれない場合のみ「適応症」の選択を 2 つまで可能とし、その場合は 2 件として延べ数の集計を行った。

【結果】

当科における 2002 年から 2014 年までの歯科用 CBCT 検査の実施件数 (延べ数) は、合計 1,995 件だった。実施件数は 2002 年から徐々に増加し、2008 年度の 372 件をピークに、その後減少した。検査を実施した「適応症」の中で、「骨吸収をとともう根尖病変の有無と広がり」の観察 (複根歯の各根、複数歯におよぶ広がりなど) が最も割合が高く (37.3%)、次いで「歯根と根管の数、形態や走行の確認 (上顎第一大臼歯の第四根管や、下顎小臼歯の二根管性、歯内歯など)」 (15.9%) であり、これら 2 つの「適応症」に対する検査が全体の約半数を占めていた。また、最近 5 年間の分析では、「根尖病変の有無と広がり」に対しては、95.4%で著効・または有効であったとの回答が得られた一方、「歯根骨折の有無と位置や方向の確認」に対しては 27.3%が無効または一部有効との回答であった。

【考察および結論】

今回の実態調査から、歯科用 CBCT 検査は、患歯の三次元的情報を得ることができ、また患部の特定のスライス平面像のみを再構成し構造物の重複のない画像を描出することができるため、一般的な診査や従来の X 線検査では診断が難しい症例に関しては有用性が高いことが示された。しかし、根管充填材や補綴装置のメタルアーチファクトが画像診断の際に障害となることや、CBCT の空間分解能に起因する薄い皮質骨の検出限界の問題点も示された。

歯科用 CBCT 装置は、専用機から、現在ではパノラマ撮影やセファロ撮影にも対応した複合機の製品が開発され、一般の歯科医院への普及が進んでいる。また、歯科用 CBCT の保健診療への導入も相まって、撮像の機会は、以前より増加しているものと推測される。しかし、CBCT 検査は、診断・診療に有用な新たな情報が得られるという患者の利益が、被曝のリスクを上回る場合に限定して実施されるべきであり、ルーティンな使用は避けなくてはならない。今後も引き続き調査を続け、その結果を詳細に分析することにより、歯内療法領域における歯科用 CBCT の適用に関する指針を臨床現場に周知徹底することが喫緊の課題である。

インドシアニンググリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーを用いた抗菌光線力学療法 aPDT による *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座¹⁾、歯周病学講座²⁾
○樋口直也¹⁾、佐々木康行²⁾、林 潤一郎²⁾、三谷章雄²⁾、福田光男²⁾、中田和彦¹⁾

Inactivation of *Enterococcus faecalis* by aPDT with ICG nanosphere and diode laser
Departments of Endodontics¹⁾ and Periodontology²⁾, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Naoya Higuchi¹⁾, Yasuyuki Sasaki²⁾, Jun-ichirou Hayashi²⁾, Akio Mitani²⁾, Mitsuo Fukuda²⁾, Kazuhiko Nakata¹⁾

[目的]

近年、特定波長の光線で光感受性物質を励起し、放出される一重項酸素により殺菌する抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy : aPDT) の歯科への応用が注目されている。我々はこれまで、光感受性物質であるインドシアニンググリーン封入ナノ粒子 (ICG-Nano/c) と半導体レーザー (波長 810nm) を用いた aPDT の基礎的研究を重ね、歯周治療への応用を検討し、その有用性を報告してきた。今回、ICG-Nano/c と半導体レーザーを用いた aPDT の根管処置への応用を検討するため、難治性根尖性歯周炎の根管から高率に検出される *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果を調べ、レーザーの照射時間について条件を検討した。

[材料、方法]

被験菌株には、*Enterococcus faecalis* ATCC19433 株 (*E. f.*) を使用した。

① *E. f.* の増殖曲線の作成と菌数の確認

BHI 培地を用いて、CO₂ インキュベーター内で *E. f.* を静置培養し、濁度 (600nm) により増殖曲線を作成した。また、希釈測定法によるコロニーカウントで、菌数と濁度の関係を調べ、実験に適した培養時間を決定した。

② aPDT による殺菌効果の確認

E. f. を 1.0×10^8 CFU/ml となるまで培養し、実験に用いた。ICG-Nano/c は終濃度 10mg/ml になるように調整した。対照群として *E. f.* のみの群、*E. f.* に ICG-Nano/c を添加したがレーザー照射を行わない群、ICG-Nano/c を添加しないで *E. f.* にレーザー照射を行った群、aPDT 群 (*E. f.* に ICG-Nano/c を添加し、レーザー照射を行った群) に分け、aPDT の殺菌効果を調べた。レーザーの照射条件は、出力 0.7W、RPT (リピート) モード (Duty cycle 50%, 100ms)、照射時間 3 分間に設定した。試料より 1cm 上方からレーザーを照射後、希釈測定法により BHI 寒天培地上で各群の生菌数をカウントし、比較検討を行った。

③ aPDT における照射時間の検討

②と同様に *E. f.* を培養し、ICG-Nano/c を調整した。レーザーの照射条件を、出力 0.7W、RPT モード (Duty cycle 50%, 100ms) に設定し、照射時間を 0、1、3、5 分間とした。レーザーを照射後、同様に希釈測定法により BHI 寒天培地上で各群の生菌数をカウントし、比較検討を行った。

[結果]

① *E. f.* の増殖曲線は、対数増殖期内の培養開始 2～3 時間後に濁度 (600nm) が 0.1 となり、その時点で菌数が 1.0×10^8 CFU/ml となることが確認された。

② aPDT 群においてのみ、検出細菌数の有意な減少を認め、殺菌効果を示した。

③ レーザー照射条件を出力 0.7W、RPT モード (Duty cycle 50%, 100ms) に設定した場合、1 分間以上の照射により、検出細菌数の有意な減少を認めた。また、3 分間以上の照射により、さらに著明な検出細菌数の減少がみられ、照射時間の増加に伴い、検出細菌数の減少が認められた。

[結論]

インドシアニンググリーン封入ナノ粒子と半導体レーザー (波長 810nm) を用いた aPDT は、*Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果を示すこと、照射時間の増加に伴い、殺菌効果が増強することが明らかとなった。

新規ケイ酸カルシウム系セメントの開発 (第4報)

—MTA セメントの血液成分および含硫アミノ酸による変色に関する研究—

1 YAMAKIN 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

○中野貴文¹, 加藤喬大¹, 松浦理太郎¹, 遠藤一彦²

The development of new calcium silicate-based cements (Part4)

—Color change of the MTA cement by blood component and sulfur amino acid—

YAMAKIN CO., LTD.¹, Division of Biomaterials and Bioengineering, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido²

○Takafumi Nakano¹, Takahiro Kato¹, Ritaro Matsuura¹, Kazuhiko Endo².

【目的】

ケイ酸カルシウム系セメント (以下, MTA セメント) は, 抗菌性, 封鎖性, 生体親和性, 硬組織誘導性などの優れた機能を有しており, 直接覆髄, 穿孔封鎖, 逆根管充填など様々な用途で使用されている。

しかし, MTA セメントは, 経時的に黒く変色するという問題が報告されている¹⁾。この原因としては, 止血が不十分なことによる血液の付着や, 酸素遮断条件下における紫外線などの露光によって, 酸化ビスマスが還元反応により黒く変色することが報告されている¹⁾。MTA セメントの変色に関する検討として, 前報²⁾では X 線造影材として酸化ビスマスおよび酸化ジルコニウムを添加した試作 MTA セメントについて, 露光による黒変の挙動の違いについて報告した。

一方, MTA セメント以外の口腔内における変色として, 補綴物の代表例として, 金銀パラジウム合金 の変色では, これまでに硫化物の関与が指摘されている³⁾。そこで本研究では, 血液の色素タンパク質であるヘモグロビンおよび生体内に存在する含硫アミノ酸であるシステインの MTA セメントの変色に対する影響について検討を行ったので報告する。

【材料および方法】

試料は, 白色ポルトランドセメントに対して, 酸化ジルコニウムを 20% 混合したセメント (以下, MTA-Zr) および酸化ビスマスを 20% 混合したセメント (以下, MTA-Bi) を作製し, 水分率 20% で練和したペーストを直径 12 mm, 厚さ 1 mm のステンレス型に充填し, 温度 37℃, 相対湿度 100 % の環境下で静置し, 24 時間硬化させ, ペレットを作製した。作製したペレットをそれぞれウシヘモグロビン (ナカライテスク) 15 % 水溶液, L-システイン (ナカライテスク) 0.5 % 水溶液, ブランク測定として蒸留水に浸漬し, 37℃ の保管条件下で試料の色調の変化を経時的に目視で観察した。各溶液は, ウシヘモグロビン水溶液は黒色, L-システイン水溶液は無色透明の液体であった。

【結果および考察】

ウシヘモグロビン水溶液に試料を浸漬したところ, MTA-Zr および MTA-Bi 共に, 浸漬時間 15 分でペレット表面が黒く変色した。また, L-システイン水溶液に試料を浸漬したところ, MTA-Zr は, 浸漬後 24 時間までにペレット表面に変色は認められなかった。一方, MTA-Bi のペレット表面は, 浸漬後 2 時間で黄色くなり, 6 時間で少し灰色になり, 24 時間後には黒色に変色した。また, MTA-Bi を浸漬していた L-システイン水溶液についても浸漬後 24 時間で薄い黒色に変色した。これらの結果から, MTA セメントに血液が付着する環境では, MTA-Zr, MTA-Bi どちらの試料についても黒く変色する可能性があることを確認した。さらに, 含硫アミノ酸である L-システインが存在する場合, 酸化ビスマスが L-システインによる還元反応により黒変する, または L-システイン中の硫黄元素による硫化反応により黒変する可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Journal of Endodontics 2015 41(5) ; P737-741
- 2) 日本歯科保存学会 春季学術大会 2017 ; P82
- 3) J Jpn Prosthodont Soc 2002 46 ; P223-232

根管治療されている下顎左側側切歯に内部吸収を認めた症例

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, ³口腔病理学科学分野

○小栗健策¹, 木方一貴¹, 住友伸一郎², 江原道子³, 田中雅士¹, 堀 ちなみ¹, 三上恵理子¹, 加藤友也¹,
富田昌嗣¹, 長谷川智哉¹, 堀 雅晴¹, 瀧谷佳晃¹, 永山元彦³, 吉田隆一¹, 河野 哲¹

A Case of internal resorption in a root canal treated tooth with mandibular lateral incisor.

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. ³Department of Oral Pathology.

○Kensaku Oguri¹, Kazuki Kiho¹, Shinichiro Sumitomo², Michiko Ehara³, Masashi Tanaka¹,
Chinami Sakai¹, Eriko Mikami¹, Tomoya Kato¹, Masatsugu Tomita¹, Tomoya Hasegawa¹,
Masaharu Hori¹, Yoshiaki Takitani¹, Motohiko Nagayama³, Takakazu Yoshida¹, Satoshi Kawano¹

【緒言】

内部吸収は根管壁の象牙質が歯髄腔側より吸収される疾患である。外傷などの既往のある歯に生じやすいと言われているが、その原因は不明である。内部吸収は無症状に進行するため、歯周治療などのメンテナンス時のエックス線撮影において偶然発見されることが多い。早期に発見できた場合は、抜髄により進行を停止させることができるが、発見が遅れると根管壁穿孔を起こし治療が困難となる。

今回、根管治療が施されている#32に穿孔を伴う内部吸収を認めた症例を経験したため報告する。

【症例、治療経過】

患者は70歳の男性。下顎左側前歯部舌側歯肉の腫瘍を主訴に来院した。#32及び#31は前装鑄造冠にて連結されており、#32の舌側歯肉に長径約4mmの有茎状の腫瘍を認めた。#32には打診痛、圧痛はなく、歯周ポケットは全周約3mmで出血は認めなかった。エックス線撮影を行ったところ、#32は根管充填が施されており、根尖部歯根膜腔の拡大を認めた。また、歯根中央部には歯根吸収を疑う卵円形の透過像を認めた。歯根吸収部の精査のため、歯科用コーンビームCTを撮影した。歯根中央付近に根尖部まで到達する根管充填材があり、歯根中央部の舌側に歯根軸方向に4mm、頬舌方向に2mm、近遠心方向に2mm程の歯根吸収を認めた。歯根吸収の舌側では穿孔が疑われ、同部の歯槽骨は消失していた。#32の内部吸収が原因で生じた慢性化膿性根尖性歯周炎と診断した。

#32の保存的治療を試みるため、#32と#31の連結部を切断したところ著しい動揺を認めた。長期的には予後が不良である旨説明したところ、患者は抜歯を希望されたため、後日口腔外科にて抜歯を行った。抜歯後に腫瘍は消失し、自覚症状、他覚症状ともになく、現在も経過観察を行っている。

患者に本症例発表の趣旨を説明し同意を得たため、抜去歯のマイクロCT撮影を実施した。矢状断像にて歯根中央付近に根管充填材があり、その舌側を中心に内部吸収が生じていた。根管充填材より頬側の歯質には吸収像を認めなかった。また、水平断では、内部吸収の近心側及び舌側で穿孔を生じていた。

その後、抜去歯をEDTAにて脱灰後H-E染色し病理組織検査を実施したところ、内部吸収部は幼若な炎症性肉芽組織が充満していた。

【考察】

下顎側切歯では20%程の割合で舌側根管を認め、また、下顎前歯部の根管治療において、舌側に象牙質の張り出しがあり、舌側根管が見落とされやすいと報告されている。今回の症例では、既に根管治療がされているにも関わらず、内部吸収が発生し穿孔を生じている。内部吸収は舌側を中心に広がっていたことより、この症例の内部吸収は、以前の根管治療時に、舌側根管の見落としに伴う歯髄の残存により、炎症が生じ発現したと推測できる。この症例を通して、抜髄治療での根管の見落としは根尖性歯周炎の継発のみだけではなく、内部吸収を引き起こす可能性が示唆された。

Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)の 象牙芽細胞と骨芽細胞における VEGF 産生誘導機序の解析

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 歯周歯内治療学分野
○蔵本瞳¹、湯本浩通²、平尾功治¹、細川由樹¹、中西正¹、武川大輔¹、松尾敬志¹

The analysis of inductive mechanisms of VEGF production in odontoblastic cells and osteoblastic cells by Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)

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

²Department of Periodontology and Endodontology, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
○Hitomi KURAMOTO¹, Hiromichi YUMOTO², Kouji HIRAO¹, Yuki HOSOKAWA¹, Tadashi NAKANISHI¹,
Daisuke TAKEGAWA¹ and Takashi MATSUO¹

【緒言】

歯髄炎は、主に齶蝕細菌やその構成成分が象牙細管を通じて象牙芽細胞や歯髄細胞を刺激することで惹起され、その発症には自然免疫の関与が示唆されている。歯髄炎が進行すると歯髄組織に不可逆性の変化が生じ、最終的に歯髄除去療法の適応となるが、無髄歯の予後は必ずしも良好ではなく、破折などの転機をたどることも多い。そこで、歯髄保存の観点から新規歯髄保護療法の開発が望まれている。近年、ポリフェノールの一種であるカテキンに抗炎症作用があることが報告されており、我々はこれまでに本学会 (第 142 回春季学術大会)において、ポリフェノールの一種でプロポリス生理活性物質である Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)が、ラット象牙芽細胞株 (KN-3)において NOD1 特異的リガンド (iE-DAP)刺激により誘導されるケモカイン産生を抑制することを報告した。

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)は血管新生に関わる増殖因子として知られており、近年、歯髄幹細胞の活性化や象牙芽細胞への分化に加え、修復象牙質の形成にも関与するという報告がなされている (Zhang J *et al.* Mol Med Rep. 2016)。我々は、本学会 (第 146 回春季学術大会)において、CAPE 処理が KN-3 細胞における VEGF の産生を増強することを報告したが、CAPE 処理による KN-3 細胞での VEGF 産生誘導機序については未だ明らかとなっていない。

今回の研究では、我々は新規歯髄保護療法の開発を目的とし、KN-3 細胞内での CAPE 処理におけるシグナル伝達経路について解析を行うとともに、CAPE 処理における VEGF 産生の増強が KN-3 細胞に特異的なものであるかを確かめるため、マウス骨芽細胞様細胞株 (MC3T3-E1)についても同様に解析を行った。

【方法】

ラット象牙芽細胞株 (KN-3:九州歯科大学、北村知昭教授・西原達次教授より恵与)を 24-well plate に播種し、10% FBS 添加α-MEM 培地にてサブコンフルエントまで培養後、各種シグナル阻害剤と共に CAPE にて 24 時間処理した後、上清を回収し、ELISA 法を用いて上清中の VEGF 産生量を定量した。また、MC3T3-E1 細胞についても同様に培養後、ポリフェノール類の EGCG、CAPE や Caffeic acid で 24 時間処理後、培養上清を回収し、ELISA 法を用いて VEGF の産生量を定量するとともに、各種阻害剤を用いて、そのシグナル経路の解析を行った。さらに、GFP レポーターシステム (QIAGEN)を用いて、NF-κB の転写因子活性を測定した。

【結果】

KN-3 細胞において、CAPE 処理により NF-κB の転写因子活性は増強され、VEGF 産生は、p38MAPK および NF-κB 阻害剤添加により有意に減少した。また、MC3T3-E1 細胞においても、KN-3 細胞と同様に、CAPE 処理群においてのみ培養上清中の VEGF 濃度の増加を認め、さらに CAPE 処理による VEGF 産生は、ERK1/2、p38 MAPK、JNK 阻害剤を添加した群において有意に減少した。

【考察】

今回、MC3T3-E1 細胞において、KN-3 細胞と同様に CAPE のみが VEGF の産生を増強させることが明らかとなった。また、CAPE 処理により、KN-3 細胞では p38MAPK-NF-κB 経路を介して VEGF 産生が増強されるのに対し、MC3T3-E1 細胞では ERK1/2、p38MAPK ならびに JNK 経路を介して VEGF の産生増強が行われていることが明らかとなった。現在、CAPE による両細胞での VEGF 産生誘導に関する転写因子活性を比較・検討しており、今後、新規歯髄保護療法の開発において、象牙芽細胞の特異性に着目した研究の必要性があると考えられた。

Wnt/ β -catenin シグナル伝達経路による根尖病変制御機構の解析

¹⁾大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

○成瀬陽菜¹, 伊藤祥作¹, 伊藤勇紀¹, 鍵岡琢実¹, 林 美加子¹

The analysis of regulatory mechanism of apical lesion by Wnt/ β -catenin signaling pathway

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

○NARUSE Haruna¹, ITOH Shousaku¹, ITOH Yuki¹, KAGIOKA Takumi¹, HAYASHI Mikako¹

【研究目的】

根尖性歯周炎は根管から細菌などの外来性因子が侵入することにより惹起される。このとき、根尖孔外では免疫応答が起こり、それに伴い骨吸収が起こることで根尖病変が形成される。過去に我々は、免疫応答および骨代謝に関連している Wnt/ β -catenin シグナル経路の共役受容体である LRP5 が日本人において根尖病変形成と関連性があることを報告した。そこで、*in vivo* において Wnt/ β -catenin シグナル経路と根尖病変形成との関連性を解析するために Wnt/ β -catenin シグナル経路阻害薬である IWR-1 を投与し解析した。その結果、対照群と比較して IWR-1 投与群は、根尖病変周囲の骨芽細胞の分化が抑制され、根尖病変が拡大することがあきらかとなった。この結果は、Wnt/ β -catenin シグナル経路が根尖病変の形成を抑制することを示唆している。今回、我々は *in vivo* 実験で形成した根尖病変に対して、Wnt/ β -catenin シグナル経路を活性化させることで知られている LiCl を局所投与することで、根尖病変がどのように経過していくのかについて解析し、新しい知見が得られたので報告する。

【材料と方法】

Wnt/ β -catenin シグナルの活性化が根尖病変形成に及ぼす影響についての *in vivo* 実験

Wnt/ β -catenin シグナル伝達経路を活性化する LiCl (GSK β を抑制) 根管貼薬群と非貼薬群の根尖病変を比較した。動物実験は、大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認のもと、大阪大学動物実験規定に則って、実施した (承認番号: 動歯-26-011-0)。

- 1) 8 週齢の C57BL/6J マウスを全身麻酔下にて、下顎左側第一大臼歯を 1/4 ラウンドバーを用いて天蓋除去を行った後、#8 K ファイルを用いて根尖の破壊を行った。露髄 4 週後、#10 K ファイルを用いて根管拡大を行い、① LiCl 根管貼薬群、②非貼薬群に分け、それぞれコンポジットレジンにて仮封を行った。
- 2) 根尖病変体積の測定: マイクロ CT (理学メカトロニクス, R_mCT2) 撮影を行った。根尖病変体積は骨形態計測ソフト (RATOC, TRI 3D-BON) を用いて算出し、3 次元の評価を行った。病変体積の統計学的有意差の検定は Student's *t* 検定 ($\alpha=0.05$) を用いた。
- 3) 組織学的検索: 上記実験に供したマウスを還流固定した後、下顎骨を採取し、脱灰を行った。その後組織切片を作成し病理組織学的観察を行った。

【結果および考察】

貼薬 4 週後において、LiCl 根管貼薬群に統計学的有意差をもって、根尖病変体積の減少が認められた ($p<0.05$)。また、H-E 染色においても LiCl 根管貼薬群の方が根尖病変の縮小を認めた。LiCl による Wnt/ β -catenin シグナル伝達経路の活性化を起点として骨芽細胞の分化が誘導され、根尖病変の治癒を促進したと考えられる。LiCl 根管貼薬群は貼薬後 24 時間後において、 β -catenin の細胞質内での蓄積を認めた。貼薬後 4 週後では *in situ* ハイブリダイゼーション法では、LiCl 根管貼薬群において *Col1a1* および *RUNX2* の発現促進を認めた。免疫染色では、CD3 および F4/80 陽性細胞については、非貼薬群と LiCl 貼薬群の間で差は認めなかったが、CD45R については LiCl 貼薬群において非貼薬群と比較して多数の陽性細胞を認めた。LiCl による Wnt/ β -catenin シグナル伝達経路の活性化は骨芽細胞の分化を誘導し、根尖病変の治癒を促進したと考えられる。

【結論】

Wnt/ β -catenin シグナル伝達経路を活性化することで骨芽細胞の分化を誘導し、根尖病変の治癒を促進することがあきらかとなった。

BMP-1 によりグリコームシフトを生じる歯髄細胞膜タンパク質の同定

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔統合医療学講座 歯髄生物学分野
○室町 幸一郎、石井 信之

Identification of membrane proteins causing glycome-shift by BMP-1 in human dental pulp cells
Division of Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Interdisciplinary Medicine, Graduate School of
Dentistry, Kanagawa Dental University
○MUROMACHI Koichiro, TANI-ISHII Nobuyuki

【目 的】

Bone morphogenetic protein (BMP) -1 は dentin sialophosphoprotein (DSPP) や dentin matrix protein-1 (DMP-1)、I 型 collagen の成熟に関与することで象牙質の基質形成に関与するメタロプロテアーゼであり、BMP-1 のコンディショナルノックアウトマウスでは象牙質の形成量が低下することが報告されている。

これまでに我々は、ヒト齲蝕歯の修復象牙質および象牙芽細胞様細胞に BMP-1 の発現が亢進し、BMP-1 がヒト歯髄培養細胞の膜画分において糖鎖構造の変化すなわちグリコームシフトをもたらすことを lectin microarray による網羅的解析で明らかにし、特に BMP-1 の存在下では N 型糖鎖のひとつである α 2,6-linked sialic acid (α 2,6-Sia) 修飾が減少することを報告してきた (第 143 回・145 回 日本歯科保存学会 学術大会)。本研究では、糖鎖修飾のコアとなるタンパク質の同定を目的とし、 α 2,6-Sia 特異的に結合する lectin を用いたサンプルの精製と質量分析を組み合わせることで解析を行った。

【材料および方法】

治療目的で抜歯予定の患者に研究のインフォームドコンセントを行い、同意を得た後に抜去された健全歯から歯髄を抽出し研究に用いた。なお本研究は神奈川歯科大学倫理委員会の承認を得て行った。(承認番号: 277)

- 1) 細胞培養: ヒト健全歯から歯髄を抽出したのち、3 代継代培養した細胞をヒト歯髄培養細胞として実験に用いた。
- 2) 細胞膜画分の抽出: recombinant human BMP-1 (500 ng/ml) で刺激したのちに、Mem-PER Eukaryotic Membrane Protein Extraction Reagent Kit を用いて細胞膜画分を抽出した。
- 3) 糖タンパク質の精製: α 2,6-Sia 特異的に結合する lectin である sambucus nigra agglutinin (SNA) をカラムに充填した SNA lectin column へ上記の膜画分サンプルを供し、競合糖である sialyl-lactose にて溶出することで α 2,6-Sia 修飾された糖タンパク質を精製した。
- 4) Lectin-probed western blot: 精製後の糖タンパク質サンプルを SDS-PAGE にて展開後、ニトロセルロース膜へ転写し、HRP-conjugated-SNA を用いて lectin blotting を行い精製の確認を行った。
- 5) 液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析 (LC-MS/MS): 精製後の糖タンパク質サンプルを amicon ultra を用いて濃縮し、SDS-PAGE にて展開後に Coomassie Brilliant Blue 染色を行い、切り出したバンドを LC-MS/MS 解析へ供した。

【結 果】

精製前後のサンプルを lectin-probed western blot にて確認したところ、膜画分サンプルと比較して SNA lectin column 精製後では 60~70 kDa 付近のバンドのみが検出されており、 α 2,6-Sia 修飾されている膜タンパク質の精製に有用であると考えられた。また、精製および濃縮後の糖タンパク質サンプルを SDS-PAGE にて展開し CBB 染色後のゲルから切り出したバンドを LC-MS/MS 解析した結果、serotransferrin、serpin A12、glucosylceramidase、InaD-like protein、pyruvate kinase が候補タンパク質として同定された。

【考 察】

今回の結果から、ヒト歯髄培養細胞の膜画分において BMP-1 により α 2,6-Sia 修飾が減少するタンパク質が同定され、BMP-1 を起点とした修復象牙質の形成機序の一端が明らかとなった。酵素やレセプターを構成するタンパク質への糖鎖修飾がその活性を制御することが報告されており、糖鎖構造の変化に着目した硬組織形成機序の解明は新たな覆髄剤開発への手がかりになると考えられた。

本研究は、平成 29 年度科学研究費補助金 (若手研究 (B) No. 16K20469) により行った。

ラット冠部歯髄再生過程における M1 及び M2 マクロファージの動態について

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座歯髄生物学分野¹

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野²

○顧 彬¹, 金子友厚¹, Su Yee Myo Zaw¹, Phyo Pyai Sone¹, 村野浩気¹, 末山有希子², Zar Chi Thein Zaw¹, 興地隆史¹

Kinetic Analysis of M1 and M2 Macrophages in the Regenerative Process of Rat Engineered Coronal Pulp Tissue

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

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

○Bin GU¹, Tomoatsu KANEKO¹, Su Yee Myo Zaw¹, Phyo Pyai Sone¹, Hiroki MURANO¹, Yukiko SUEYAMA², Zar Chi Thein Zaw¹, Takashi OKIJI¹.

(目的)

我々は、間葉系幹細胞をポリ乳酸スキャホールドとともにラット上顎第一臼歯冠歯髄腔に移植すると、14 日間で歯冠歯髄組織の再生が生じることを明らかにした^{1,2)}。また第 147 回本学会において、同動物実験モデルにおける CD163 (M2 マクロファージマーカー) 陽性細胞の動態を解析し、これらが歯髄組織再生の進行に伴い増加することを報告した。本研究では、歯髄組織再生過程でのマクロファージ亜群の動態を詳細に検討するため、各種 M1/M2 マクロファージマーカー発現細胞の動態を経時的に解析するとともに、M2 マクロファージ関連遺伝子発現の変動を定量分析した。

(方法)

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施された (承認番号139号1)。5 週齢 Wistar 系雌性ラット (n=32) の上顎第一臼歯を検索対象とし、既報¹⁾に従い歯冠歯髄腔への幹細胞移植を行った。全身麻酔下で #1/2 ラウンドバーを用いて被験歯を露髄させ歯冠歯髄を削除したのち、窩洞を 2.5% 次亜塩素酸ナトリウム、15% EDTA およびリン酸緩衝食塩液で洗浄後、ラット間葉系幹細胞 (PoieticsTM ラット間葉系幹細胞; Lonza) を添加した Matrigel[®] / ポリ乳酸スキャホールドを移植し、MTA セメント (ProRoot MTA; Dentsply Tulsa Dental) とフロアブルコンボジットレジン (Beautifil Flow; 松風) を積層して窩洞を封鎖した。未処置の正常上顎第一臼歯をコントロールとした (n=8)。移植 3, 7, 14 日間経過後 (各 n = 8)、通法に従い被験歯を固定、脱灰後、凍結切片とし、一次抗体として CD68 (ED1; 汎マクロファージマーカー)、二次抗体として CCR7 (M1 マーカー)、CD163 (M2 マーカー) あるいは CD206 (M2 マーカー)、を用いて ABC 法で免疫二重染色を行い、単位面積あたりの二重陽性細胞数を定量した (各 n = 4)。さらに、CD163、CD206 および GAPDH の mRNA 発現をリアルタイム PCR にて定量解析した (各 n = 4)。統計処理は Mann-Whitney U 検定 (Bonferroni 補正を適用) を用い、有意水準 5% で行った。

(結果)

移植 3 日経過例では、歯冠歯髄腔にはスキャホールドの多くが吸収されずに残存しており細胞の分布は疎であったが、その後組織再生が経時的に進行し、14 日で被蓋硬組織形成を伴う歯髄様組織が観察された。M1 マーカー陽性細胞 (CD68+CCR7+) は 3 日経過例では M2 マーカー陽性細胞より有意に多数観察されたが ($P < 0.05$)、その後 14 日まで有意に減少した ($P < 0.05$)。一方、M2 マーカー陽性細胞 (CD68+CD163+ および CD68+CD206+) は経時的に有意な増加を示し ($P < 0.05$)、14 日経過例では正常歯髄との有意差は見られなくなった ($P > 0.05$)。CD163 および CD206 mRNA の発現レベルも経時的に有意な増加を示し ($P < 0.05$)、14 日経過例では正常歯髄と同等であった ($P > 0.05$)。

(考察)

スキャホールドの多くが残存する移植初期では M1 マーカー陽性細胞が優位であったことから、移植初期では M1 マクロファージが主たるマクロファージ亜群であり、貪食細胞としてスキャホールドなどを吸収する役目を担っていることが示唆された。一方、歯髄組織の再生が進行すると M1 マーカー陽性細胞は減少し M2 マーカー陽性細胞が優位となった。M2 マクロファージは創傷治癒や線維化の誘導に関与することから、再生が進行すると M2 マクロファージが優位となり、組織修復マクロファージとして再生組織の恒常性の維持に関与していることが考えられた。

(結論)

ラット臼歯冠歯髄再生モデルにおいては、スキャホールドの吸収と歯髄組織の再生の進行に伴い、マクロファージ亜群の構成が M1 優位から M2 優位に移行することが示唆された。

文献

Ito T, Kaneko T, Sueyama Y, Kaneko R, Okiji T, “Dental pulp tissue engineering of pulpotomized rat molars with bone mesenchymal stem cells,” *Odontology*, vol. 105, no. 4, pp. 392-397, 2017. Sueyama Y, Kaneko T, Ito T, Kaneko R, Okiji T, “Implantation of Endothelial Cells with Mesenchymal Stem Cells Accelerates Dental Pulp Tissue Regeneration/Healing in Pulpotomized Rat Molars,” *J Endod*, vol. 43, no. 6, pp. 943-948, 2017.

歯髄創傷治癒過程における Protein S100-A7 の局在解析

大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座(歯科保存学教室)
○小道具俊吾, 高橋雄介, 岡本基岐, Manahil. S. Ali, 渡邊昌克, 林 美加子

Temporo-spatial analysis of Protein S100-A7 during wound healing process of pulp tissue
Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology
○KOMICHI Shungo, TAKAHASHI Yusuke, OKAMOTO Motoki, Manahil. S. Ali, WATANABE Masakatsu,
HAYASHI Mikako

【研究目的】

傷害を受けた組織から放出される傷害関連分子パターン (damage-associated molecular patterns: DAMPs) は自然免疫に関与しており、パターン認識受容体 (pattern recognition receptors: PRRs) を介して初期の炎症反応を促進し、その後の組織創傷治癒に重要な役割を果たすことが報告されている。われわれはこれまでに歯髄創傷治癒メカニズム解明を目的として侵害刺激に対する歯髄反応に着目した研究をおこない、傷害を受けた歯髄の創傷治癒を促進する分子として DAMPs の一つである Protein S100-A7 (S100A7) の同定に成功し、第 146 回本学会(青森, 2017 年)にて報告した。歯髄組織の創傷治癒に関与する歯髄幹細胞において PRRs の発現が報告されていることから、侵害刺激により放出された S100A7 を歯髄幹細胞が認識することでダメージセンサーとして機能し、創傷治癒に関与している可能性があるが、歯髄創傷治癒過程における S100A7 の役割は過去に報告がない。そこで本研究では、歯髄創傷治癒過程における S100A7 とその関連タンパクおよび歯髄幹細胞の時間空間的局在を歯髄傷害モデルにて解析することを目的とした。

【材料および方法】

5 週齢雄性 Wistar 系ラットに全身麻酔を施し、上顎第一臼歯近心面に象牙質の半分程度まで至る実験的窩洞を形成し、窩洞形成から 1, 3 および 7 日後に灌流固定をおこない、被験歯を含む顎骨を摘出し、通法に則って脱灰、パラフィン包埋を行い、連続切片を作成した。続いて、窩洞直下における歯髄組織をヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色により、その創傷治癒を病理組織学的に観察した。

さらに、免疫組織化学染色により S100A7 および S100A7 に対応した PRRs の一つである終末糖化産物受容体 (Receptor for Advanced Glycation End Product: RAGE) の時間空間的局在について検討するとともに、これらのタンパクと間葉系幹細胞マーカーである CD146 の局在を比較検討した。

本研究は阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会 (23-005-1) の承認下で実施した。

【結果および考察】

窩洞形成直下の歯髄組織において、窩洞形成から 1~3 日後にかけて S100A7 と RAGE の発現が認められ、その発現量は増加傾向を認めた。7 日後には S100A7 の発現は認められなくなったが、RAGE および CD146 陽性細胞の集積が観察され、第三象牙質の形成が認められた。これらの結果から、窩洞形成により傷害を受けた歯髄組織において S100A7 が放出され、免疫細胞をはじめとした RAGE 陽性細胞が近傍集積することで創傷治癒初期の炎症が拡散し、その後 RAGE を発現する歯髄幹細胞が遊走することで歯髄創傷治癒の一端を担っていることが示唆された。しかし本実験では時間空間的局在のみ解析しており、今後詳細な機能解析をおこなう必要がある。

【結論】

傷害を受けた歯髄における S100A7 および RAGE の時間空間的局在と、続く歯髄幹細胞の集積および第三象牙質形成が認められることから、歯髄における DAMPs とダメージセンサーとして歯髄幹細胞が機能することによる創傷治癒メカニズムが示唆された。

今後は、siRNA を応用した S100A7 および RAGE の *in vivo* ならびに *in vitro* での機能解析を進める予定である。

本研究は JSPS 科研費 17H06848 の助成を受けたものである。

CCR3 拮抗剤を併用した歯髄幹細胞移植による高齢イヌにおける歯髄再生促進

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 中島 美砂子

Enhanced Pulp Regeneration by CCR3 Antagonist for Stem Cell Therapy in Aged Dogs
Department of Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology,
Research Institute
○Koichiro Iohara, Misako Nakashima

【目的】

中高齢個体では若齢に比べて歯髄再生が遅延する。その原因は、歯の周囲に存在する宿主の幹細胞の老化あるいは遊走能の低下および歯の微小環境における歯髄再生の抑制因子の蓄積が示唆される。したがって、中高齢個体に対しても歯髄再生治療が適用できるよう、高齢個体での再生を促進する因子を検討した。そのひとつとして、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ることを発表した(第147回日本歯科保存学会)。また、高齢マウスでは血中の CCL11 の上昇がみられており、高齢マウス異所性歯根移植による歯髄再生モデルでは、CCL11 中和抗体を局所に持続投与すると歯髄再生量の有意な増加がみられることが明らかとなった。そこで今回、高齢イヌにおいて、CCL11 のレセプター、CCR3 に対する拮抗剤 (SB328437) を歯髄幹細胞とともに併用し、その歯髄再生促進効果を検討した。また、そのメカニズムを明らかにするため、in vitro において、老化歯髄幹細胞の培養上清の trophic 効果に及ぼす CCR3 拮抗剤の影響を検討した。

【方法】

1. 高齢イヌでの CCR3 拮抗剤の歯髄再生促進効果：上下顎前歯部を抜髄し、CCR3 拮抗剤を、歯髄再生充填材（同種若齢由来膜分取歯髄幹細胞 (5×10^5 cells)、G-CSF およびアテロコラーゲン）に混合して、根管内に移植し、14 日および 60 日後、歯髄再生量、血管新生密度および神経突起伸長を比較した。また、同様に移植して、若齢での CCR3 拮抗剤の効果を検討した。コントロールとして、CCR3 拮抗剤を含まない歯髄再生充填材を用いた。
2. 高齢イヌでの Trypsin の前処理後の CCR3 拮抗剤の歯髄再生促進相乗効果：移植前処置として Trypsin を 0.05% (ナノバブル水に溶解) を根管内に 10 分反応させ、1 と同様の移植を行い、14 日後の歯髄再生量を比較した。
3. 老化歯根膜幹細胞における老化マーカーおよび血管新生・神経栄養因子 mRNA 発現に対する CCR3 拮抗剤の効果を検討した。
4. HUVEC を用いた血管誘導、TGW 細胞を用いた神経突起伸長、歯髄幹細胞の遊走に対して、ヒト老化歯髄幹細胞培養上清の trophic 効果に及ぼす CCR3 拮抗剤の影響を検討した。

【結果】

1. 高齢イヌの移植後 60 日では、CCR3 拮抗剤を含む歯髄再生充填材では、不含に比べて有意に歯髄再生量の増加および神経突起伸長促進がみられた。若齢イヌでは、CCR3 拮抗剤の効果はみられなかった。
2. Trypsin と CCR3 拮抗剤を併用すると、有意に歯髄再生量が増加した。
3. CCR3 拮抗剤は老化歯根膜幹細胞に対して、老化マーカーの p16、IL6、IL1 β および IL8 mRNA 発現を有意に抑制したが、血管新生・神経栄養因子 mRNA 発現には変化が見られなかった。
4. 老化歯髄幹細胞の培養上清に CCR3 拮抗剤を添加すると神経突起伸長および遊走能が有意に促進された。

【結論】

CCR3 拮抗剤により高齢者の歯髄幹細胞移植による歯髄再生治療を促進できる可能性が示唆された。その効果は、歯根周囲の宿主幹細胞の老化抑制および歯の微小環境の活性化による宿主幹細胞の遊走促進および神経再疎通促進作用によることが示唆された。

ペプチド核酸による *Porphyromonas gingivalis* ならびに *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* に対する特異的増殖抑制法の検討

¹大阪歯科大学 口腔治療学講座、²近畿大学 理工学部 応用化学科

○杉本貞臣¹、前田博史¹、寺本賢史¹、北松瑞生²、至田宗泰¹

Selective growth inhibition for *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* by antisense peptide nucleic acid (PNA)

¹Department of Endodontics, Osaka Dental University,² Department of Applied Chemistry, Kinki University,

○SUGIMOTO Sadaomi¹, MAEDA Hiroshi¹, TERAMOTO Satoshi¹, KITAMATSU Mizuki², SHIDA Muneyasu¹

【緒言】

近年、メタゲノム解析による腸内細菌叢、あるいは口腔内細菌叢とそれら遺伝子構成の解明が進められている。これに伴い、今後、ヒトの健康や疾病と関連性の高い細菌種や遺伝子がより詳細に明らかになると考えられる。それら解析データに基づき、口腔内や腸内の細菌叢をコントロールする方法を開発することができれば、人の健康増進に大きく貢献できる可能性がある。細菌叢のコントロール方法としては、ヨーグルトに代表されるプロバイオティクスが一般的であるが、この方法のみでは菌叢を狙い通りにコントロールすることは困難である。本研究は、細菌叢のコントロール方法として、新しい戦略の必要性を考え、ペプチド核酸 (Peptide Nucleic Acid :PNA) を応用したアンチセンス創薬の開発をめざすものである。今回は、PNA を応用し、*Porphyromonas gingivalis* ならびに *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* を標的とし、菌種特異的な増殖抑制が可能であるか検討した。

【材料および方法】

1. 供試菌 : *P. gingivalis* FDC 381 (Pg)、*A. actinomycetemcomitans* ATCC 29523 (Aa)、*Escherichia coli* K12 (Ec)、*Rothia mucilaginosa* ATCC 25296 (Rm)
2. アンチセンス PNA の設計 : アンチセンス PNA は Pg ならびに Aa の保有する HSP60 を標的遺伝子とした。PNA には Heat Shock Protein (HSP60) の翻訳開始点上流の 12 塩基をアンチセンス鎖として付加するとともに、細胞導入のためのキャリアーペプチド(KFFKFFKFF)を付加した。
3. 細菌増殖抑制試験 : 増殖抑制効果は標的菌種の培養液にアンチセンス PNA (1μM、3μM、10μM) を添加し、培養液の吸光度(660nm)を経時的に測定することで評価した。
4. 標的遺伝子の発現抑制の評価 : アンチセンス PNA による標的遺伝子の発現抑制をウエスタンブロット法により調べた。標的菌種は Aa とし、1 次抗体には抗 HSP60 ポリクロナール抗体を使用した。

【結果および考察】

1. Pg の HSP60 に対するアンチセンス PNA は 3μM 以上の濃度で Pg の増殖を抑制した。また、10μM の濃度では添加後約 5 時間にわたり、増殖を抑制できた。
2. Aa に対するアンチセンス PNA は 10μM の濃度で Aa の増殖を抑制した。1μM、3μM の濃度では菌の増殖に影響を与えなかった。
3. Pg ならびに Aa の HSP60 に対するアンチセンス PNA は標的以外の 3 菌種に対しては増殖抑制効果を示さず、アンチセンス PNA の特異性が高いことが考えられた。
4. アンチセンス PNA の添加によって HSP60 蛋白質量が低下することを確認した。

設計したアンチセンス PNA は標的遺伝子に特異的に作用し、タンパク質発現と細菌増殖を抑制していると考えられる。

【結論】

アンチセンス PNA によって細菌叢中の標的細菌種の増殖を特異的に抑制できる可能性が示唆された。

老化したヒト歯髄細胞の象牙芽細胞様分化におよぼす TNF- α の影響について

¹九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、
²九州大学大学院歯学研究院 OBT センター、³九州大学病院 歯内治療科、⁴九州大学病院口腔総合診療科
○野津葵¹、濱野さゆり^{1,2}、友清淳³、長谷川大学³、吉田晋一郎³、杉井英樹³、
御手洗裕美³、一法師啓太^{1,3}、和田尚久⁴、前田英史^{1,3}

Odontoblast-like differentiation of senescent human dental pulp cells treated by TNF- α

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, ²OBT center, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ³Department of Endodontology, ⁴Division of General Oral Care, Kyushu University Hospital
○Aoi Nozu¹, Sayuri Hamano^{1,2}, Atsushi Tomokiyo³, Daigaku Hasegawa³, Shinichiro Yoshida³, Hideki Sugii³,
Hiromi Mitarai³, Keita Ipposhi^{1,3}, Naohisa Wada⁴, Hidefumi Maeda^{1,3}

<研究目的> 老化に伴う慢性炎症の出現、そしてそれに続く老化の促進という現象は inflammaging と呼ばれており、高齢者では組織傷害や感染が存在していないにもかかわらず、炎症性サイトカインの発現が正常より高く、老化関連疾患の病態形成に関与していることが報告されている (Vasto, S et al. 2007)。一方、老化した歯髄細胞に対する炎症性サイトカインの影響は明らかになっていない。そこで今回、炎症性のサイトカインの一つである TNF- α に着目し、老化したヒト歯髄細胞 (HDPC) の象牙芽細胞分化への影響について検討することとした。

<材料および方法> 矯正治療の為に抜歯を目的に本院を受診し、本研究への同意が得られた3名の患者より採取した歯髄細胞を、HDPC として各々を培養し、継代ごとに細胞分裂回数 (PD: population doubling) を測定した。増殖が活発な PD の低い HDPC (yHDPC) と増殖活性が低下した PD25 を超える HDPC (sHDPC) を以下の解析に供した。

(1) HDPC の PD の増加に伴う老化について senescence associated β -galactosidase (SA- β -Gal) 活性を SA- β -Gal 染色法、老化関連遺伝子 (*p16*, *p21*, *p53*) の発現を定量的 RT-PCR 法にて解析した。(2) HDPC の PD の増加に伴う TNF- α と受容体の *TNFR1* および *TNFR2* の遺伝子発現量の変化について定量的 RT-PCR 法、培養上清中の TNF- α の濃度について ELISA 法を用いて解析した。(3) 2 mM CaCl₂ 添加 10% FBS/ α -MEM を象牙芽細胞誘導培地 (DM) として用いた。HDPC を CM, DM または 10 ng/ml TNF- α 含有 DM (DM+TNF- α) 中で培養し、象牙芽細胞関連遺伝子 (*BSP*, *DSPP*, *Nestin*, *OCN*) の発現を定量的 RT-PCR 法、石灰化をアリザリンレッド S 染色 (ARS 染色) 法、DSPP の発現を western blotting 法にて解析した。(4) sHDPC に、TNFR1 または TNFR2 の siRNA を導入し、各々の遺伝子発現の抑制を確認した後、CM, DM および DM+TNF- α 培地にて培養し、ARS 染色と象牙芽細胞関連遺伝子の発現について解析した。なお本研究は九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得て実施された。

<結果> (1) yHDPC には SA- β -Gal 陽性反応を認めなかったが、sHDPC においては強い陽性反応が観察された。また、sHDPC は、yHDPC と比較して老化関連遺伝子の発現の顕著な上昇を認めた。これらの結果から、sHDPC を老化した細胞として以下の解析に用いた。(2) sHDPC では、yHDPC と比較して TNF- α と *TNFR1* の遺伝子発現が亢進し、培養上清中の TNF- α の濃度が上昇した。一方、*TNFR2* の遺伝子発現は減少した。(3) yHDPC では、TNF- α 添加により DM のみと比較して象牙芽細胞関連遺伝子の発現が抑制され、ARS 染色の陽性反応も低下した。一方、sHDPC では TNF- α 添加により DM のみと比較して象牙芽細胞関連遺伝子の発現が亢進し、ARS 染色の陽性反応が促進した。また、sHDPC において、TNF- α 添加により CM および DM のみと比較して DSPP の発現が亢進した。(4) *TNFR1* の発現抑制は、TNF- α 刺激による sHDPC の象牙芽細胞関連遺伝子の発現および石灰化の亢進を抑制したが、*TNFR2* の抑制では、同様の結果は得られなかった。以上は、3種類の HDPC において同様の結果であった。

<考察> 本研究の結果から、HDPC は老化に伴い、TNF- α および *TNFR1* の発現を亢進し、さらに TNF- α は *TNFR1* を介して老化した HDPC の象牙芽細胞様分化を促進することが示唆された。これまでに老化したラット海馬やヒトリンパ球においても、TNF- α および *TNFR1* の発現が亢進することは報告されており、本研究の結果を支持するものである (Sama, D et al. 2012, Aggarwal, S et al. 1999)。

<結論> (1) HDPC は、PD の増加に伴い、老化関連遺伝子、TNF- α と *TNFR1* 遺伝子および象牙芽細胞関連遺伝子の発現が促進する。(2) TNF- α は、yHDPC では象牙芽細胞様分化を抑制するが、sHDPC に対してはこれを促進する。(3) *TNFR1* の発現を抑制した sHDPC では、TNF- α によって誘導された象牙芽細胞様分化が抑制される。

T字型歯ブラシ (T-STYLE) を用いた歯垢除去に対する臨床評価

¹東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野

²株式会社 東京放送ホールディングス 診療所

○岩渕義之¹, 井川貴博^{1,2}, 鈴木彩¹, 加納千博¹, 須藤毅顕¹, 池田裕一¹, 水谷幸嗣¹, 和泉雄一¹

Clinical evaluation of plaque removal efficacy using T-shape toothbrush

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

²Tokyo Broadcasting system holdings, INC. TBS Health Clinic

○Yoshiyuki Iwabuchi¹, Takahiro Ikawa^{1,2}, Aya Suzuki¹, Chihiro Kano¹, Takeaki Sudo¹,
Yuichi Ikeda¹, Koji Mizutani¹, Yuichi Izumi¹.

【目的】T字型歯ブラシは、従来の歯ブラシよりも横幅が広く、縦磨きに有効な形状を特徴とするため、前歯部の清掃に有効であることが期待されている。本研究では、T字型歯ブラシを用いたプラーク除去率を一般的な形状の歯ブラシと比較し、その有用性を検討することを目的とした。

【材料と方法】被験者は東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯周病学分野に所属する25歳から35歳までの男女30名の歯科医師を対象とした。試験日より24時間前にブラッシングの中止を指示した。歯垢染色液を用いてプラークの染色を行い、側切歯、第一小臼歯、第一大臼歯を対象歯として Rustogi Modification of the Navy Plaque Index: PI を1名の計測者が計測した後、試験群: T字型歯ブラシ (T-STYLE、ときわ商会社製) または対照群: A社歯ブラシ (かたさ: ふつう) を用いて2分間のブラッシングを行った。再度PIを計測しプラーク除去率を算出した。2群の測定は7日間隔で行った。統計学的解析は Wilcoxon signed-rank test ($p < 0.05$) を用いて行った。試験終了後に各被験者にアンケート調査を行い、その使用感について検討を行った。本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会 (D-2016-059) にて承認を得て行った。

【結果と考察】プラーク除去率は前歯部では試験群が85%、対照群が81%。小臼歯では試験群が80%、対照群が77%。大臼歯では試験群が75%、対照群が75%だった。試験群の方が対照群より全部位においてプラーク除去率が高かったものの統計学的に有意な差は認めなかった。部位別では、上顎前歯部の口蓋側および下顎第一小臼歯舌側面において、統計学的に有意な差を認めた (図1、2参照)。アンケート調査では、80%の被験者がT字型歯ブラシを用いた際、口蓋側での磨きやすさを感じる結果を示した。このアンケート調査結果はプラーク除去率との関連が示唆されるものであった。本研究では歯科医師を対象に実施しているため、ブラッシング技術が総じて高いことから除去率の差が小さくなったことが考えられる。ブラッシングの正しい知識を有しない患者を対象とした場合では歯ブラシの形状による磨きやすさがより除去率の向上に寄与することが推察される。

【結論】T字型歯ブラシは従来の歯ブラシと比べ同等またはそれ以上のプラーク除去効率を持つことが示唆された。

Figure 1 Plaque Removal Rate of the Maxillary Lateral Incisor at Palatal Side

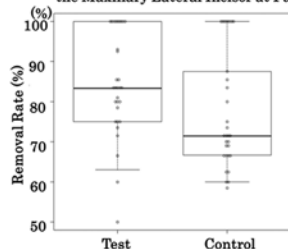
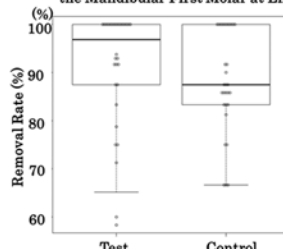


Figure 2 Plaque Removal Rate of the Mandibular First Molar at Lingual Side



Statistically significant difference by Wilcoxon signed-rank test. $p < 0.05$; $n = 30$

棟髪植毛歯ブラシのプラーク除去効果について

¹鶴見大学短期大学部歯科衛生科, ²小林製薬株式会社

○小林一行¹, 渡辺孝章¹, 長谷川友美², 篠原美帆², 梶田恵介², 石黒 梓¹, 玉木裕子¹

Plaque removal efficiency of Mohican-style toothbrush

¹Department of Dental Hygiene, Tsurumi Junior College, ²KOBAYASHI Pharmaceutical Co., Ltd.

○KOBAYASHI Kazuyuki¹, WATANABE Takaaki¹, HASEGAWA Tomomi², SHINOHARA Miho²,
KAJITA Keisuke², ISHIGURO Azusa¹, TAMAKI Yuko¹

【研究目的】歯ブラシの刷毛部形態および植毛状態はプラーク除去に大きく関わる部分であり、様々な形態の歯ブラシが開発されているが、その効果について臨床評価を行った報告は少ない。そこで本研究は、特に歯間部の清掃効果に着目し毛先が歯間部に入る形態を有する棟髪植毛歯ブラシ(小林製薬, 大阪)を用い、歯肉の炎症改善度、プラーク除去効果および使用感について、従来の平切り植毛歯ブラシと比較検討した。

【材料および方法】被験者は、某製薬会社研究所の研究員で歯肉に炎症があり、実験の趣旨を説明し同意が得られた28名とした。平切り植毛歯ブラシ群14名(男性11名, 女性3名, 平均41.86±8.35歳), 棟髪植毛歯ブラシ群14名(男性10名, 女性4名, 平均41.29±7.02歳)の2群に分け臨床評価を行った。また、ブラッシング指導は、個別にリーフレットおよび顎模型を用い十分な説明を行った。歯ブラシ刷毛部の仕様は、平切り植毛歯ブラシ: 毛穴配列3列(つま先部は2列), 毛の長さ10mm。棟髪植毛歯ブラシ: 毛穴配列6列(つま先とかかと部分に向かって減少: つま先部2列, かかと部3列), 毛の長さ14mm(中央: テーパー付与)・9mm(両側: 平切り)。毛のかたさ(座屈強度)は59 N/cm²と同等とした。歯肉の炎症改善度を調べる目的でブラッシングを2週間実施(スクラッピング法, 5分間, 2回/日), 術前・術後のGingival Index (GI)を評価し、術前に対する術後のGIの割合から歯肉の炎症改善度を比較検討した。さらに、プラーク除去効果を調べる目的でブラッシングを1日停止した後、術前のO'LearyらのPlaque control record (PCR)を測定し、5分間スクラッピング法でブラッシングを実施、術後のPCRを測定して術前に対する術後のPCRの割合からプラーク残存率を算出し、プラーク除去効果として比較検討した。併せて両歯ブラシの使用感についての質問紙調査を実施し比較検討した。なお本研究は、実験前に鶴見大学短期大学部倫理審査委員会の承認を得た後に実施した。

【成績】歯肉の炎症改善度について、平切り植毛歯ブラシ群、棟髪植毛歯ブラシ群、両群ともに2週間のブラッシング後ではGIの有意な減少が認められ、歯肉の炎症は改善した(平切り植毛歯ブラシ群: 0.71±0.19 → 0.38±0.09, 棟髪植毛歯ブラシ群: 0.72±0.33 → 0.41±0.11; Wilcoxon signed-rank test, p<0.01)。また、両群間の歯肉の炎症改善度に有意差は認められなかった。プラークの除去効果(プラーク残存率)について、平切り植毛歯ブラシ群と棟髪植毛歯ブラシ群間に有意差は認められなかった(平切り植毛歯ブラシ群: 51.28±10.68%, 棟髪植毛歯ブラシ群: 45.46±19.24%)。歯ブラシの使用感についての質問紙調査では、すべての項目で棟髪植毛歯ブラシ群が平切り植毛歯ブラシ群に比べ満足度が高かった。

【考察・結論】棟髪植毛歯ブラシ群の歯肉の炎症改善度およびプラーク除去効果は、従来の歯ブラシ形態である平切り植毛歯ブラシ群と同等で、隣接面のプラーク除去効果においても有意差は認められなかった。しかしながら、突出している植毛部の毛先が歯間部に到達していることは明白で、歯磨剤使用の際、歯間部位へのドラッグデリバリーによる相乗効果が期待できる。質問紙調査において、棟髪植毛歯ブラシ群が平切り植毛歯ブラシ群に比べ満足度が高く使用感が良好であったことは、被験者において毛先が歯間部に到達していることを実感できたことによるものと考えられる。使用感が良好であることは適切な歯面への接触、使用時間の維持を可能とし、より確実なプラークコントロールの実践に有効と考えられる。

本演題発表に関連し、開示すべき利益相反状態はありません。

卵巣摘出ラットにおける骨増生への PTH(1-34) の間歇投与の影響

日本大学歯学部歯科保存学第 III 講座¹, 日本大学大学院歯学研究科歯学専攻応用口腔科学分野²,
日本大学歯学部総合歯学研究高度先端医療研究部門³

○久保田 達也¹, 蓮池 聡^{1,3}, 津徳 亮成¹, 小澤 康正¹, 山本 崇申¹, 築根 直哉²,
好士 亮介^{1,3}, 高山 忠裕^{1,3}, 西田 哲也^{1,3}, 吉沼 直人^{1,3}, 菅野 直之^{1,3}, 佐藤 秀一^{1,3}

Effects of Intermittent Administration of PTH (1-34) on Guided Bone Augmentation in
OVX rat osteoporosis on bone augmentation in rat calvarium.

¹ Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

² Division of Applied Oral Sciences, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan

³ Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Tatsuya Kubota, Akira Hasuike, Katsuyoshi Tsunori, Yasumasa Ozawa, Takanobu Yamamoto

Naoya Tsukune, Ryosuke Koshi, Tadahiro Takayama, Tetsuya Nishida, Naoto Yoshinuma, Naoyuki Sugano, Shuichi Sato

【目的】

骨粗鬆症は、骨量の減少および骨組織の微細構造劣化によって特徴付けられ、病態生理学は非常に複雑であり、歯科および整形外科領域におけるインプラントの需要が高い高齢の男性および閉経後の女性に高頻度で認められ、その罹患率は増加傾向を示している。日本における骨粗鬆症治療薬の第一選択薬は、破骨細胞の活動を抑えるビスホスホネート製剤である。他にも様々な骨粗鬆症治療薬が登場している。テリパラチド PTH (1-34) は整形外科領域において近年注目されており、これは 単に既存骨の骨密度を増加させるのではなく骨の新生を促進する。現在、PTH (1-34) は骨形成を促進することが示唆されているが、骨粗鬆症患者に対する再生療法やインプラント関連における影響は、不明である。そこで今回、卵巣摘出ラットにおける骨増生への PTH (1-34) の間歇投与の影響を検討した。

【材料および方法】

雌性 Wistar ラット 21 匹を無作為に 3 群 (Sham 群, OVX 群, PTH 群) に分け、6 週齢時に OVX 群, PTH 群の 2 群に、卵巣摘出手術および Sham 群に Sham 手術を行い、8 週間予備飼育をした。14 週齢時に頭頂骨を露出させ、トレファインバーを用いて左右対称に 5 mm の外周溝を形成、ラウンドバーにてその内側に 5 カ所の骨髓穿通孔を形成した。そして、規格化されたプラスチックキャップ (内径 4.4 mm, 高さ 1.5 mm) を設置した。PTH 群に、週 3 回 PTH (1-34) (35μl/kg) を腹腔内間歇投与、Sham 群, OVX 群には、同量の生理食塩水を週 3 回腹腔内投与した。実験動物用 3D マイクロエックス線 CT を用いて、手術日を 0 週とし 12 週まで隔週で撮影し、新生骨様組織の定量分析を行った。また、12 週で屠殺し組織化学切片を作製し、免疫染色を行った。光学顕微鏡下にて組織学的観察を行った。

【結果】

マイクロ CT の観察結果から術後 0 から 4 週まで 3 群全てにおいて、ほとんど新生骨の形成が観察されなかった。また、術後 8 から 12 週では、プラスチックキャップに沿って頭頂骨からプラスチックキャップの約半分の高さまで新生骨の形成を認めた。定量分析の結果、新生骨様組織の体積は、術後 8-12 週において OVX 群が他 2 群と比較し有意に低く、PTH 群は、術後 8-12 週において、他 2 群と比較し有意な増加を認めた。また、PTH 群における体積の値は、術後 0-12 週において他の 2 群と比較し有意に高値を示した。

また、組織学的観察より HE 染色において OVX 群は、新生骨周囲に多くのコラーゲン線維様の構造物を認め、骨の連続性が分断されていた。定量分析の結果、プラスチックキャップ内の面積は、OVX 群が約 12 %, Sham 群が約 23.6 %, PTH 群は 50 % 近く新生骨様組織で満たされていた。

【結論】

今回の実験において、エストロゲンの枯渇は、頭頂骨における骨増生を抑制し、PTH (1-34) を間歇投与することで健康ラット以上に骨の増生が増強されることが示唆された。

OVX ラット GBA モデルにおいて、PTH (1-34) の間歇投与は、エストロゲン枯渇の影響下で骨外側方向への骨増生を有意に促進した。従って、PTH (1-34) の間歇投与は、骨粗鬆症患者における骨増生を増強する可能性が示唆された。

終末糖化産物と LPS は骨細胞由来スクレロスチンを介し 骨芽細胞分化を抑制する

徳島大学大学院医歯薬学研究部歯周歯内治療学分野

○坂本英次郎, 高木亮輔, 稲垣裕司, 木戸淳一, 湯本浩通

Advanced glycation end-products and lipopolysaccharide inhibit the differentiation of osteoblasts via up-regulating of sclerostin in osteocytes

Department of Periodontology and Endodontology,

Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences

○ Eijiro SAKAMOTO, Ryosuke TAKAGI, Yuji INAGAKI, Jun-ichi KIDO, Hiromichi YUMOTO

【研究目的】

歯周病は糖尿病の合併症の 1 つである。糖尿病関連歯周炎患者では、歯周組織の炎症および組織破壊が重症化しやすいことが知られている。骨細胞は骨組織中の約 90 % を占める細胞であり、近年その役割が徐々に解明されつつある。特にスクレロスチン (Sclerostin: SOST) は主に骨細胞が産生する分泌蛋白であり、骨芽細胞の分化を抑制する。また、糖尿病合併症の原因の 1 つである終末糖化産物 (Advanced glycation end-products: AGEs) は歯周組織に蓄積し、炎症反応に影響を及ぼすことが報告されている。我々はこれまでに AGEs および *P. gingivalis* 由来リポ多糖 (*P*-LPS) が骨細胞における SOST の発現を増強すること示した (第 145 回日本歯科保存学会秋季大会)。本研究では、AGEs および *P*-LPS による SOST 発現のシグナル伝達経路を明らかにし、骨細胞により発現誘導された SOST による骨芽細胞の分化への影響について検討した。

【材料と方法】

AGEs は Ogawa らの報告に従い、50 mg/ml BSA と 0.1 M DL-グリセルアルデヒドを用いて調製した。対照群として、非糖化の BSA を使用した。マウス由来骨細胞株 (MLO-Y4-A2) を 10 % ウシ胎児血清を含む α -MEM 培地で培養し、サブコンフルエント後に 100 μ g/ml AGEs または 100 μ g/ml BSA、および 250 ng/ml *P*-LPS を培地に添加し一定期間培養した。AGEs や *P*-LPS を作用させた細胞から RNA および蛋白画分を回収し、リアルタイム PCR 法にて mRNA 発現の検討、ELISA およびウェスタンブロット法にて蛋白発現の検討を行った。AGEs と *P*-LPS のシグナル伝達経路を調べるために MAPK および NF- κ B 阻害剤を添加し、また siRNA を導入し RAGE および TLR2 のノックダウンを行った。さらに骨細胞を AGEs および *P*-LPS の存在下で前培養し、その後、マウス骨芽細胞株 (MC3T3-E1) と共培養を行った。共培養条件下での骨芽細胞分化に対する影響を Alkaline Phosphatase (ALP) 活性の測定により検討した。

【結果】

AGEs は骨細胞における SOST および RAGE の発現を増強し、*P*-LPS は TLR2 発現を増強した。AGEs と *P*-LPS との共存下では、これらの反応はさらに増強する傾向が認められた。RAGE および TLR2 のノックダウンを行うと、AGEs あるいは *P*-LPS による SOST 増加傾向は抑制された。AGEs 誘導性 SOST の発現は ERK, JNK および NF- κ B の阻害剤によって抑制され、*P*-LPS 誘導性 SOST の発現は p38, JNK および NF- κ B の阻害剤によって抑制された。AGEs や *P*-LPS で前培養を行った骨細胞と骨芽細胞との共培養により骨芽細胞の ALP 活性は有意に抑制された。また、この抑制作用は SOST 中和抗体により解除された。

【考察と結論】

AGEs と *P*-LPS は、RAGE あるいは TLR2、および MAPKs と NF- κ B を介して骨細胞での SOST 発現を増加させた。骨細胞において AGEs および *P*-LPS により発現増強された SOST は、骨芽細胞の分化抑制に作用した。AGEs や *P*-LPS により発現制御される SOST は歯槽骨代謝への影響を介して、糖尿病関連歯周炎におけるや重症化に関与している可能性が示された。

FGF 含浸吸収性 β -TCP 含有ゼラチン GBR 膜がラット頭蓋骨上の骨新生に与える効果

¹東京医科歯科大学 歯学部附属病院 歯科総合診療部、²東京医科歯科大学 統合教育機構
○則武 加奈子¹、小田 茂¹、荒木 孝二²

Effects of a rhFGF impregnated gelatin hydrogel GBR membrane containing β -tricalcium phosphate on bone neogenesis in rat calvaria.

¹Oral Diagnosis and General Dentistry, University Hospital of Dentistry, ²Institutes of Education, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan
○KANAKO NORITAKE¹, SHIGERU ODA¹, KOUJI ARAKI²

【目的】

垂直的骨造成 (=オンレーグラフト、OG) 法は、他の骨造成法と比較し治療後のメンテナンスが容易で審美性も高い治療法だが、現法では、治療期間中の粘膜裂開、裂開に伴う感染などの合併症リスクが高いという問題がある。よって、予知性が高く合併症のリスクが少ない新しい OG 法の開発が切望されている。我々はこれまでに、吸収性 β -TCP 含有ゼラチン GBR 膜 (G/T 膜) を開発し、同膜上でのラット骨髄細胞培養実験およびラット頭蓋骨欠損モデルを用いて、G/T 膜の生体親和性および GBR 膜としての有用性を示した¹⁾。近年組み換え型ヒト線維芽細胞増殖因子-2 (rhFGF-2) が歯周組織再生医薬品として臨床応用されている。G/T 膜は、遮蔽膜としてだけでなく、サイトカインキャリアとしても利用できる特性があり、ラット頭蓋骨欠損モデルにおける rhFGF-2 含有 G/T 膜 (F2G/T 膜) の骨新生への効果を検討したが、骨新生は骨断端にのみ認められ、rhFGF-2 濃度に依存し中央部における結合組織形成が顕著に認められる結果となった²⁾。そこで、今回、骨造成部における rhFGF-2 の最適な適用法として、粘膜裂開リスク減少を期待した OG 法への適用ならびに、同じ FGF ファミリーであり FGF-2 よりも骨形成に有利に働くとされる³⁾ rhFGF-18 も OG 法に対する効果を検討した。

【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もとに実施した (承認番号: A2017-315A)。rhFGF-2 または-18 含浸 G/T 膜 (F2G/T 膜、F18G/T 膜、rhFGF-2、-18 含浸量: 各々 30ug/匹) の骨膜と骨への影響を確認するため、全身麻酔下でリタイアラット (オス、Wistar SPF) 頭蓋骨後方に皮膚切開、骨膜切開剥離を行い、F2G/T 膜、F18G/T 膜もしくは G/T 膜のみで頭蓋骨表面を被覆し、骨膜および皮膚縫合を行った。手術後 1, 4, 8 週後の粘膜および、創部の治癒を H-E 染色によって組織学的に評価した。

【結果および考察】

手術後とくに F2G/T 群、F18G/T 群においては良好で早期での粘膜治癒が観察された。また組織学的評価からは、G/T 膜がサイトカインキャリアと骨新生を可能とするスパーサーとして機能し、膜の設置により作り出された骨側縁部の空間にもすべての群で骨新生が術後 1 週より観察された。術後 4 週では、G/T 群、F2G/T 群では未熟な新生骨が観察されたが、F18G/T では成熟した骨組織が観察された。術後 8 週では、全ての群で骨の成熟が認められた。FGF2 と FGF18 は粘膜創傷の治癒を促進し、FGF-18 は新生骨の早期の成熟を促す可能性が示唆された。

【結論】

FGF-2 もしくは-18 を含浸させた G/T 膜は、粘膜創傷治癒を促進するとともに創部における骨新生のスパーサーとしての役割を果たし、垂直的骨欠損部における骨新生に対して有意に働く可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Kanako NORITAKE et al. Use of a gelatin hydrogel membrane containing β -tricalcium phosphate for guided bone regeneration enhances rapid bone formation. Dental Materials Journal 33(5): 674-680; 2014
- 2) 則武加奈子ら. rhbFGF 含有新規生体親和性ゼラチン GBR 膜の、頭蓋骨欠損部における骨新生への効果. 第 32 回日本炎症・再生医学会. 2011 年, 京都.
- 3) Tomoko Nagayama et al. FGF18 accelerates osteoblast differentiation by upregulating Bmp2 expression. Congenital Anomalies 2013; 53, 83-88

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) 誘導性の炎症反応はマウス抜歯窩の骨治癒を促進する

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

○青柳浩明¹⁾, 山城圭介¹⁾, 平田千暁¹⁾, 井手口英隆¹⁾, 山崎睦代¹⁾,
河村麻理¹⁾, 鈴木里紗¹⁾, 山本直史²⁾, 高柴正悟¹⁾

HMGB1-induced inflammatory response promotes bone healing in murine tooth extraction socket

¹⁾ Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

²⁾ Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University

○Hiroaki Aoyagi¹⁾, Keisuke Yamashiro¹⁾, Chiaki Hirata¹⁾, Hidetaka Ideguchi¹⁾, Mutsuyo Yamasaki¹⁾,
Mari Kawamura¹⁾, Risa Suzuki¹⁾, Tadashi Yamamoto²⁾, Shogo Takashiba¹⁾

【目的】

抜歯窩の創傷治癒は、炎症期、肉芽形成期、増殖期そしてモデリング期へと進むと考えられている。したがって、創傷後直ちに生じる急性炎症は、治癒に必須であると考えられる。HMGB1 は、真核生物に存在する非ヒストン DNA 結合タンパク質であるが、組織の損傷や壊死によって細胞外へ放出され炎症性サイトカインの発現を増強する炎症メディエーターとして機能する。一方、HMGB1 は損傷を受けた組織の創傷治癒過程において、組織再生、血管新生そして軟骨内骨化の骨折治癒を促進するとの報告もある。しかし、軟骨内骨化とは異なる抜歯後の創傷治癒において、HMGB1 がどのような影響を及ぼすか、その詳細なメカニズムは未だ明らかになっていない。そこで我々は、抜歯後に創傷組織から分泌された HMGB1 が初期の急性炎症を誘導することで、創傷治癒に関与する免疫細胞の遊走を制御し、その後の治癒を促進すると仮説を立て、HMGB1 が創傷治癒に及ぼす影響について調べた。

【材料と方法】

抜歯モデルマウスの作製：抗 HMGB1 抗体と対照抗体を腹腔内へ投与した (2 mg/ 匹)。全身麻酔後、上顎左側第 2 大臼歯を抜歯したモデルを作成した。抜歯から 1, 3, 5, 7 日が経過した上顎骨を摘出し、以下の解析を行った。

1. 抜歯窩組織の HMGB1 の発現動態：抜歯後 1, 3 日目の HMGB1 の局在を免疫化学染色法で観察した。
2. ミエロペルオキシダーゼ活性 (MPO) の検出：抜歯後 1, 3, 5, 7 日目の抜歯窩周囲組織の炎症反応を評価するため、好中球に特異的な MPO 活性を分子イメージング法で解析した。
3. 抜歯窩組織のマクロファージ (CD68) と血管内皮細胞 (CD31) の局在：抜歯後 5 日目の抜歯窩周囲組織の CD68 と CD31 の局在を、免疫化学染色法で検出した。
4. 抜歯窩組織の破骨細胞とオステオカルシン陽性細胞の局在：抜歯後 7 日目の抜歯窩周囲組織の破骨細胞およびオステオカルシンの局在を、TRAP 染色法および免疫蛍光染色法で検出した。
5. 抜歯窩組織の新生歯槽骨量の定量：抜歯後 7 日目の抜歯窩内周囲組織を、ヘマトキシリン・エオジンで染色し、Image J を用いて新生歯槽骨の面積を計測した。
6. 抜歯窩組織の全 RNA の抽出および遺伝子発現解析：抜歯後 3, 7 日目の抜歯窩周囲組織内の mRNA を抽出し、cDNA Microarray 解析および定量 RT-PCR 解析にて、炎症と組織再生に関わる遺伝子の発現を調べた。

【結果】

対照抗体群では、抜歯後 1 日目に歯肉上皮細胞と炎症性細胞内の HMGB1 は核外へ移行しており、抜歯後 3 日目に再び核内に局在していた。一方、抗 HMGB1 抗体群では、両日ともに歯肉上皮細胞と炎症性細胞内の HMGB1 は核内に局在していた。そして抗 HMGB1 抗体投与によって、抜歯後 3 日目の MPO 活性を示すシグナル値が著しく減弱していた。抜歯後 5 日目では、CD68 陽性細胞数と CD31 陽性細胞数も同様に少なかった。さらに、抜歯後 7 日目では、TRAP 陽性細胞数とオステオカルシン陽性細胞数は有意に減少して、新生歯槽骨の面積は有意に少なかった。また、抜歯後 3, 7 日目の炎症性サイトカイン、血管新生、そして骨に関わる遺伝子の発現量も、有意に減少していた。

【考察】

本研究の結果から、抜歯による組織の損傷によって、歯肉上皮細胞や炎症性細胞での HMGB1 の核外移行が起こることが明らかとなった。抗 HMGB1 抗体投与によって HMGB1 の核外移行が阻害されると、細胞外への分泌が阻害されると考えられ、その結果、好中球の活動性が低下し、創傷治癒初期の炎症反応は抑制されたと考えられる。また、マクロファージ、血管内皮細胞、破骨細胞、そして骨芽細胞の抜歯窩周囲組織への集積も、同様に抑制された。その際、炎症性サイトカイン、血管新生関連因子、そして骨関連因子の遺伝子発現量が減少しており、これらの結果として骨治癒が遅延すると考察した。

【結論】

抗 HMGB1 抗体を投与すると、抜歯後の初期炎症が抑制され、炎症性細胞の遊走、活性、そして血管新生が遅延し、抜歯窩の歯槽骨治癒は遅延した。

S-PRG 溶出液が歯周病原性細菌の相互作用へおよぼす影響

福岡歯科大学総合歯科学講座総合歯科学分野¹⁾
福岡歯科大学口腔保健学講座口腔健康科学分野²⁾

○大曲紗生¹⁾・米田雅裕¹⁾・谷口奈央²⁾・藤本暁江¹⁾・廣藤卓雄¹⁾

Suppression of periodontal bacteria interactions by surface pre-reacted glass ionomer eluate

Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College¹
Section of Oral Public Health, Department of Preventive and Public Health, Fukuoka Dental College²

○Sami Omagari¹⁾, Masahiro Yoneda¹⁾, Nao Taniguchi²⁾, Akie Fujimoto¹⁾, Takao Hirofujii¹⁾

【緒言】

surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーと蒸留水を 1:1 で混合し 24 時間攪拌後に抽出した上清には、フッ化物イオン、ホウ酸イオン、ストロンチウムイオンなど 6 種類のイオンが溶出している。われわれはこれまで、S-PRG 溶出液が *Porphyromonas gingivalis* のプロテアーゼ活性を抑制すること、*P. gingivalis* と *Fusobacterium nucleatum* の共凝集を阻害すること、口腔バイオフィルムの形成を抑制し成熟したバイオフィルムを破壊すること等を報告してきた。また S-PRG 溶出液で洗口すると水による洗口に比べて多くの細菌が口腔外に排出され、優れた口臭抑制効果を示すことを明らかにした。一方、口腔内には多くの種類の細菌が棲息しており、混合感染によって歯周病の増悪、病的口臭の増加が引き起こされていると考えられる。われわれは以前、*P. gingivalis* と *Tannerella forsythia* の相互作用による病原性増強を報告した。今回われわれは歯周病原性細菌の相互作用に及ぼす S-PRG 溶出液の影響を調べ、いくつかの知見を得たので報告する。

【材料および方法】

1. S-PRG 溶出液が細菌の共凝集および自己凝集におよぼす影響:

1) 共凝集: *P. gingivalis* ATCC 33277 株(P.g)と *F. nucleatum* ATCC25585 株(F.n)を培養し、それぞれの菌体を共凝集バッファー(CB)または S-PRG 溶出液含有 CB に懸濁した。両菌の懸濁液を混合し室温で静置し共凝集させた。凝集結果の判定は凝集塊沈殿後の上清濁度を測定することにより行った。2) 自己凝集: P.g および F.n を CB に懸濁し、蒸留水または S-PRG 溶出液を添加し室温で静置し自己凝集させた。自己凝集結果の判定は凝集塊沈殿後の上清濁度を測定することにより行った。

2. *T. forsythia* による *P. gingivalis* 増殖促進に及ぼす S-PRG 溶出液の影響:

T. forsythia ATCC 43037 株(T.f)を超音波で破砕、遠心後、上清を濾過滅菌し抽出物を回収した (T.fSE)。P.g を低栄養培地で培養する際に T.fSE を添加すると P.g の増殖が促進されることを確認した。同様の実験系に S-PRG 溶出液を添加し、T.fSE による P.g の増殖促進効果におよぼす影響を調べた。

【結果】

1. P.g と F.n を混合させると共凝集したが、S-PRG 溶出液存在下では濃度依存的に共凝集が抑制された。一方、P.g および F.n 単独の懸濁液に S-PRG 溶出液を添加すると自己凝集が促進された。

2. 低栄養培地に S-PRG 溶出液を添加すると T.fSE による P.g の増殖促進効果が消失した。

【結論および考察】

P.g と F.n の共凝集は歯周局所への定着および揮発性硫黄化合物産生を促進することが報告されており、S-PRG 溶出液は口臭抑制に効果があると考えられる。一方、S-PRG 溶出液は P.g および F.n の自己凝集を促進したが、これは口腔内からの細菌の排除に有効で、短期的な口臭抑制効果の可能性があると思われる。他の細菌の組み合わせへの影響、凝集の阻害・促進のメカニズムについては現在検討中である。また、S-PRG 溶出液は口腔内での T.f による P.g 増殖促進を阻害したが、これは混合感染による病原性増強を抑制し、結果的に口臭を抑制する可能性が示唆された。

会員外協力者: 福岡歯科大学総合歯科学講座総合歯科学分野 森田浩光

演題発表に関連し、開示すべき利益相反関係にある企業・団体等の有無: 無し

高齢者歯肉溝上皮細胞における細菌性オートファジーの意義

福岡歯科大学・¹高齢者歯科学、²矯正歯科学、³再生医学研究センター
○江頭留依^{1, 3}、山口真広^{1, 3}、安永まどか^{2, 3}、内藤 徹¹、大野 純³

A role of bacterial autophagy in sulcular epithelial cells in aged persons

¹Division of Geriatric Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

²Division of , Department of Oral Growth & Development, Fukuoka Dental College

³Research Center for Regenerative Medicine, Fukuoka Dental College

○Rui Egashira^{1,3}, Masahiro Yamaguchi^{1,3}, Madoka Yasunaga^{2,3}, Toru Naito¹, Jun Ohno³

【研究目的】

歯肉溝上皮細胞は、細菌に対する機械的な障壁機能だけではなく、歯周病菌が産生する LPS 刺激により細菌性オートファジーが誘導され、積極的に細菌を取り込んで処理することが示唆されている。しかしながら、高齢者においては自然免疫の老化破綻に伴い、歯肉溝上皮細胞における LPS 誘導性オートファジー機能も低下し、その結果、歯周病の進行が促進する可能性があると考えられる。本研究は、細胞診を応用した高齢者歯肉溝擦過上皮細胞（ケラチノサイト）と細胞老化を誘導した培養ケラチノサイトにおける LPS 刺激によるオートファジーの誘導性を検索する。さらに、オートファジー誘導ケラチノサイトと細菌との相互作用を検討する。

【実験デザイン】

- 1) 細胞診を応用した高齢者・歯肉溝擦過上皮細胞の動態（福岡歯科大学・研究倫理委員会承認 No. 298）
- 2) 細胞老化を誘導した培養ヒト・ケラチノサイト（HaCaT 細胞）への *P. gingivalis* 由来 LPS (PgLPS) 刺激による細菌性オートファジーの誘導

【結果・考察】

A 高齢者・歯肉溝擦過上皮細胞の動態

細胞診ブラシを用いて高齢者・歯肉溝歯肉から擦過上皮細胞を採取した。

- 1) 擦過上皮細胞における老化細胞群（SA 群）と非老化細胞群（nSA 群）：擦過上皮細胞への細胞老化マーカー（SA-beta-Gal）およびポフスチンの染色態度から、上皮細胞を SA 群と nSA 群に分類した。
- 2) 擦過上皮細胞でのオートファジー誘導と細菌との相互作用：SA 群および nSA 群細胞の細菌感染細胞では、オートファジーが誘導されていることが、LC3 の免疫染色および western blotting により明らかとなった。しかしながら、オートファゴソームへの細菌取り込みは、SA 群では少なく、nSA 群細胞では亢進した。この結果は、SA 群細胞でのオートファジーが細胞内細菌に不応答である可能性を示唆した。

B 細胞老化誘導・培養ケラチノサイト（KC）の動態

培養ヒト・ケラチノサイト（HaCaT 細胞）に過酸化水素あるいはエトポシド刺激を行い、細胞老化を誘導した。

- 1) SA-KC でのオートファジー誘導：細胞刺激により SA-KC では、コントロール KC よりもオートファジー誘導が亢進した。
- 2) PgLPS 塗布 particle 刺激による KC でのオートファジー誘導：KC および SA-KC ともに、LPS 塗布 particle 刺激によりオートファジーが誘導され、細胞内への particles の取り込みが認められた。この取り込みは、オートファジー阻害剤および PMB 投与により抑制された。取り込まれた particles は、KC ではオートファゴソームに移行したが、SA-KC ではオートファゴソーム以外の細胞質に残存した。この結果は、擦過 SA 群細胞と同様に、SA-KC においても、誘導されるオートファジーは細胞内に細菌を誘導するが、分解処理などに対しては不応答である可能性が考えられた。KC と SA-KC でのオートファジー誘導経路の違いが、オートファジー機能に影響を与える可能性が推測された。

【結論】

以上の結果から、高齢者・歯肉溝上皮細胞で誘導されるオートファジーは、侵入細菌に対する防御作用が弱い可能性が示唆された。

Treponema denticola における DNA binding protein 様遺伝子の機能解析

東京歯科大学 歯周病学講座¹

東京歯科大学 口腔科学研究センター²

○山下 慶子¹、吉川 幸輝¹、喜田 大智¹、今村 健太郎¹、勢島 典¹、齋藤 淳^{1,2}

An investigation of the role of a gene encoding a DNA binding protein in *Treponema denticola*

Department of Periodontology¹, Oral Health Science Center², Tokyo Dental College

○Yamashita Keiko¹, Yoshikawa Kouki¹, Kita Daichi¹, Imamura Kentaro¹, Seshima Fumi¹, Saito Atsushi^{1,2}

【目的】

Treponema denticola は、重度の慢性歯周炎病巣から高頻度に検出され、歯周炎の発症に重要な役割を果たすと考えられている。本菌は、らせん形の菌体に鞭毛が巻き付き、その表層を outer sheath が覆う構造を有している。Outer sheath には本菌の病原因子である、major outer sheath protein (Msp), surface antigen BspA (Bsp) などが存在する。我々は以前の研究において、msp 欠損株における bsp の著明な発現低下と、特定の DNA binding protein をコードする遺伝子の発現上昇を認めた。このことから、msp の欠損によるストレスに対し、DNA binding protein 様遺伝子による応答が起きていると考えられた。そこで、この DNA binding protein 様遺伝子がどのようにこれらの応答に関わるかを明らかにするため、本遺伝子の欠損株を作製し解析を行った。

【材料および方法】

標的遺伝子が制御している応答を明らかにするため、欠損株を作製した。*T. denticola* 35405 (野生株) よりゲノム DNA を抽出し、DNA binding protein 様遺伝子を含む領域を PCR 法にて増幅した。これを、プラスミドベクター pGEM-T Easy Vector に挿入し、エリスロマイシン耐性遺伝子 (ermB) を In-fusion cloning により挿入した。得られたプラスミドを、制限酵素で切断し、1 µg/µl になるよう調整した。Mid log phase の *T. denticola* を集菌後、50 mM CaCl₂ 含有 15% グリセロールにて 4 回洗浄し、コンピテントセルとした。これらを混合し、50℃で 1 分間熱処理をした後、40 µg/ml エリスロマイシン含有 TYGVS 寒天培地上で 11 日間、嫌氣的に培養した。形成されたコロニーを培養し、PCR 法にて ermB の挿入を確認した。得られた欠損株を、表現型レベル、遺伝子レベルで、野生株と比較した。表現型では、コロニー性状、増殖能、また outer sheath の構造変化に伴い変動が予想された、疎水性、Dentilisins, および OpdB 活性の比較を行った。遺伝子レベルでは、以前の研究結果より発現量の変化が予想された msp, bsp についてリアルタイム PCR を行った。

【結果および考察】

欠損株に形態的な変化はなく、増殖速度にも変化は認められなかった。0.5% noble agar を含む TYGVS 培地中での欠損株のコロニーの大きさは野生株に比べ有意に小さくなっていた。Dentilisins, OpdB 活性は同じレベルであり msp, bsp の発現にも変化が認められなかった。標的遺伝子がコードするこの DNA binding protein 様タンパクは、in silico の解析で、helix-turn-helix の DNA-binding ドメインをもち、特定の遺伝子上流に結合し発現を調節できる可能性が高いことから、DNA の発現調節に関わる可能性が考えられた。さらに欠損株の性状から、このタンパクが *T. denticola* の運動性もしくはスイッチングに関わることを示唆された。現在、この遺伝子がどのようなメカニズムを介してこれらの形質に関わるかについて解析を行っている。

【結論】

本 DNA binding protein 様遺伝子は、*T. denticola* の運動性や走化性に関与していることが示唆された。

(会員外共同研究者：東京歯科大学微生物学講座 石原 和幸、菊池 有一郎)

歯周炎を誘発した糖尿病モデルマウスに対する glycyrrhizin の作用について

広島大学大学院医歯薬保健学研究科 応用生命科学部門 歯周病態学研究室
○芥川桂一, 藤田剛, 應原一久, 加治屋幹人, 松田真司, 水野智仁, 栗原英見

Effects of glycyrrhizin on ligature - induced periodontitis with *Porphyromonas gulae* infection in diabetes model mice
Department of Periodontal Medicine, Division of Applied Life Science, Institute of Biomedical and Health Science,
Hiroshima University, Hiroshima Japan
○Keiichi Akutagawa, Tsuyoshi Fujita, Kazuhisa Ouhara, Mikihiro Kajiya, Shinji Matsuda,
Noriyoshi Mizuno, Hidemi Kurihara

本研究は広島大学自然科学研究支援開発センター生命科学研究支援分野・ライフサイエンス教育研究支援部動物実験施設の実験指針に基づいて行った。

【目的】歯周病は歯周病原細菌の感染によって引き起こされる慢性炎症性疾患であり、歯周組織の慢性炎症は血中の炎症性サイトカインを上昇させインスリン抵抗性を惹起し糖尿病 (DM)を増悪させる。一方、DM は宿主の易感染性を引き起こし、歯周病の進行・重症化に関与する。そのメカニズムとして、糖化最終産物 (AGEs)の増加及び脂肪細胞が産生する炎症性サイトカインの増加が関与していると考えられる。したがって、DM 患者における歯周組織の炎症の制御は両疾患のコントロールに重要である。核内の非ヒストン性タンパク質である high mobility group box 1 (HMGB1)は、AGEs の受容体である receptor for AGEs (RAGE)に結合し炎症性サイトカイン産生を誘導する。HMGB1 は歯周病の病巣局所で発現量が増加している。glycyrrhizin (GL)は漢方として用いられる甘草に含まれており、HMGB1 に直接結合することで HMGB1 を介したサイトカイン産生を阻害する。本研究では、歯周病を誘発した DM モデルマウスを作製し、HMGB1 を GL で阻害することによって歯周病への影響ならびに糖尿病の指標の一つである血糖値の変化に与える影響を評価することを目的とした。【材料と方法】KK/TaJcl マウスに高脂肪食である HFD32 を 7 週間給餌し DM モデルマウスを作製した。作製した DM モデルマウスに、上顎左側第 2 臼歯に対する 5-0 絹糸の結紮及び動物の歯周病原細菌である *Porphyromonas gulae* (*P.g*)の感染によって歯周病を誘導した。*P.g*の感染は *P.g*を 1×10^8 CFU の密度で 2% carboxymethyl cellulose に懸濁したものを綿球に浸漬させ口腔内に留置し行った。*P.g*綿球の留置は結紮当日から 2 週間、毎週 2 回ずつおこない、これを歯周病 DM モデルマウスとした。対照群として非処置群を用いた。歯周病の評価は 2 週間後の *P.g*に対する血清抗体価、及びマイクロ CT による骨吸収像、歯周組織の病理組織標本で行った。また、歯周病 DM モデルマウスに対する GL の影響を検討するため、GL を 1%の濃度で hydroxyethyl cellulose (HEC) 3%ゲルに溶解し口腔内塗布した。塗布は、結紮と *P.g*感染による歯周病誘導処置開始時から屠殺まで毎日行なった。非処置の DM モデルマウス群、歯周病 DM モデルマウスの HEC ゲルまたは GL 投与群の 3 群を作製し、2 週間後に屠殺した。炎症関連因子の評価を行うため、歯肉・肝臓の total RNA ならびに血清を回収し、tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6, RAGE 及び HMGB1 の mRNA 発現を real-time PCR で評価した。また、血清中の TNF- α , IL-6, C-reactive protein (CRP), Serum Amyloid A (SAA), RAGE 及び HMGB1 の量を ELISA 法によって測定した。また、4 週間飼育した歯周病 DM モデルマウスの 8 時間空腹時血糖を測定した。さらに、HMGB1 阻害が血糖値に与える影響を評価するため、4 週間飼育した群に抗 HMGB1 中和抗体 50 μ g を静脈内投与し 8 時間空腹時血糖の測定を行った。【結果・考察】DM モデルマウスにおいて、絹糸結紮、*P.g*塗布によって血清抗体価の上昇、歯槽骨の吸収ならびに歯周組織中への炎症性細胞浸潤を認めたため、歯周病 DM モデルマウスが確立できた。歯周病 DM モデルマウスでは、歯肉の TNF- α , IL-1 β , IL-6 の mRNA 発現、血清中の TNF- α , IL-6, CRP 及び SAA が増加した。一方、肝臓における TNF- α , IL-1 β , IL-6 の mRNA 発現の上昇は認められなかった。4 週間飼育群では空腹時血糖の上昇が認められた。また、GL 口腔内投与によって歯周病 DM モデルマウスにおける *P.g*に対する血清抗体価が抑制された。さらに、GL は歯肉における TNF- α , IL-1 β 及び IL-6 の mRNA 発現ならびに血清中の TNF- α , IL-6 及び SAA の上昇を抑制し、4 週間飼育後の歯周病 DM マウスの空腹時血糖の上昇を抑制した。歯周病 DM モデルマウスの歯肉における RAGE 及び HMGB1 の mRNA 発現ならびに血清中の RAGE 及び HMGB1 が増加したが、GL 口腔内投与はそれらの増加を抑制した。さらに、抗 HMGB1 中和抗体の投与は空腹時血糖を抑制した。以上から、歯周病 DM モデルマウスにおいて口腔内塗布した GL は、HMGB1 制御を介して歯周組織及び全身の炎症を抑制し、血糖値を改善することが示唆された。

医療用グミゼリーを用いた咀嚼能力評価と HbA1c の関係

広島大学大学院医歯薬保健学研究科 歯周病態学研究室

○藤田 剛, 高橋慶太, 岡信 愛, 竹脇 学, 武田克浩, 松田真司, 加治屋幹人,
應原一久, 岩田倫幸, 水野智仁, 栗原英見

Relationship between Mastication Ability by Glucosensor Gummy and HbA1c

Department of Periodontal Medicine, Graduate School of Biomedical & Health Sciences
Hiroshima University

○Tsuyoshi Fujita, Keita Takahashi, Ai Okanobu, Manabu Takewaki, Katsuhiro Takeda, Shinji Matsuda,
Mikihito Kajiya, Kazuhisa Ouhara, Tomoyuki Iwata, Noriyoshi Mizuno, Hidemi Kurihara

【目的】

歯周炎は慢性炎症疾患であり、慢性的に血中の炎症性サイトカインレベルが高いことが血糖値のコントロールを困難にする。したがって、歯周治療による炎症のコントロールが糖尿病の病態改善につながる。一方で、糖尿病治療において食事療法は重要であるが、糖尿病患者の咀嚼能力の評価という観点は全く欠落している。糖尿病患者では歯周炎が重症化し易く、歯の動揺や欠損が起こり咀嚼能力は低下していると考えられる。その結果、糖尿病患者は炭水化物、脂肪などの軟らかい食物を摂取する傾向が高まり糖尿病リスクが高い食生活となると推察される。糖尿病の食事療法は内科医と栄養士の栄養学的な面からの連携が必須であるが、歯科医師が咀嚼機能回復という視点から医科歯科連携を推進することによって、より質の高い食事療法を行うことができると考えられる。そこで本研究では糖尿病の指標の1つであるHbA1cと、医療用グミゼリーを用いた咀嚼能力との関係について検討した。

【方法】

広島大学病院 歯周診療科通院患者および糖尿病内科に入院し歯周診療科に紹介されたHbA1cのデータがある患者に対して、本研究内容について説明を行い、研究参加に対する同意を得た。咀嚼能力の測定法は、患者に医療用グミゼリー(株式会社ジーシー) 2.0 gを20秒間咀嚼させ、蒸留水10 mlで洗口した後グミゼリーとともに濾過付コップに排出させた。得られた濾液中のグルコース濃度をグルコセンサーGS-1(株式会社ジーシー)によって測定した。HbA1cとグルコース濃度値をスピアマンの相関係数で解析した。

【結果と考察】

95名の被験者のHbA1cの平均値は8.99%,咀嚼能力の平均は、グルコース値164.7 mg/dLであった。被験者の内訳は、糖尿病が強く疑われるHbA1c 6.5%以上が84名(平均HbA1c 9.40%,平均グルコース値161.0 mg/dL),HbA1c 6.5%未満が11名(平均HbA1c 5.84%,平均グルコース値193.0mg/dL)だった。全被験者(95名)のHbA1cとグルコース値には相関が認められなかった。60歳以上(62名)と60歳未満(33名)の2群分けて分析すると、60歳以上ではHbA1cとグルコース値の相関は認められなかったが、60歳未満では、負の相関が認められた(P<0.05)。本研究の結果から、60歳未満では、咀嚼能力が高いとレプチンなどの食欲抑制ホルモンなどが分泌され、カロリー摂取が制限されることによって、HbA1cの低下につながることが推察できる。一方で、60歳以上においては、罹患期間や服薬などの交絡因子がHbA1cに大きく影響を与えている可能性があり、相関を解析するには、さらに条件検討が必要である。以上から、糖尿病の食事療法の際に、内科的、栄養学的な面に加え、咀嚼能力という観点から歯科医師がアプローチし、医科歯科連携の推進が有用であることが示唆された。

Activin A がヒト歯根膜細胞およびヒト前骨芽細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響について

¹九州大学病院歯内治療科、²九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、

³九州大学大学院歯学研究院・OBT 研究センター、⁴九州大学病院口腔総合診療科

○杉井英樹¹、友清淳¹、濱野さゆり^{2,3}、長谷川大学¹、吉田晋一郎¹、御手洗裕美¹、野津葵²、有馬麻衣²、糸山知宏²、小野太雅²、藤野翔香²、一法師啓太²、和田尚久⁴、前田英史^{1,2}

The effect of Activin A on osteoblastic differentiation of human periodontal ligament cells and human pre-osteoblasts.

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

○Hideki Sugii¹), Atsushi Tomokiyo¹), Sayuri Hamano²⁾³), Daigaku Hasegawa¹), Shinichiro Yoshida¹), Hiromi Mitarai¹), Aoi Nozu²), Mai Arima²), Tomohiro Itoyama²), Taiga Ono²), Shoko Fujino²), Keita Ippoushi²), Naohisa Wada⁴), Hidefumi Maeda^{1) 2)}

【研究目的】重度のう蝕、外傷、歯周炎等により歯周組織に重篤な欠損が生じた場合、骨および歯根膜組織の再生は困難となる。したがって、歯周組織の再生を誘導する因子は非常に有用である。Activin A は transforming growth factor- β superfamily に属する inhibin β a の 2 量体蛋白であり、様々な組織の分化に重要な因子とされている。既に私達は Activin A がヒト歯根膜細胞の線維芽細胞様分化を促進する一方、ヒト前骨芽細胞に対しては骨芽細胞への分化を増進し、細胞種によって異なる分化誘導能を有することを報告している (Sugii *et al.*, *Bone*, 2014)。しかしながら、その作用機序については明らかにしていない。そこで本研究では、(1) Activin 受容体をノックダウンしたヒト歯根膜細胞およびヒト前骨芽細胞を用いて、Activin A による骨芽細胞様分化誘導能の解析、ならびに (2) その細胞内シグナルの解析を行った。

【材料および方法】矯正治療を目的に本院を受診し、本研究に同意を得られた患者の抜去歯より歯根膜組織を採取し、10% Fetal Bovine Serum 含有の α -MEM にて 4-7 継代培養した細胞を HPDLC-3S (23 歳男性) とし、ヒト前骨芽細胞として Saos2 (RIKEN) を本研究に用いた。(1) Activin receptor-Like Kinase 4 (ALK4: Activin I 型受容体) を siRNA によりノックダウンした (siALK4)、ヒト歯根膜細胞 (HPDLCs) およびヒト前骨芽細胞 (Saos2) を用いて、Activin A がこれらの細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響について、Alizarin red 染色法を用いて解析を行った。(2) siALK4 を導入した ALK4 ノックダウン HPDLCs および Saos2 を用いて、ウェスタンブロット法にて Smad2/3 および Smad1/5/8 のリン酸化を検討し、Activin A の ALK4 を介した細胞内シグナルについて解析した。(3) ラット歯根膜傷害モデル (5 週齢、雄性、SD ラット) の上顎臼歯部の組織切片を用いて Activin A 抗体 (R&D Systems) ならびに ALK4 抗体 (Abcam) による免疫蛍光染色を行った。なお本研究は九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会および九州大学動物実験委員会の承認を得て実施された。

【結果】(1) HPDLCs において、Activin A 添加により石灰化の抑制効果を認めたが、siALK4 を導入した HPDLCs においては、Activin A 添加による石灰化の抑制効果は認められなかった。一方、Saos2 においては、siALK4 導入の有無に関わらず、Activin A 添加により石灰化の促進効果を認めた。(2) HPDLCs において、Activin A 添加により Smad2/3 のリン酸化の亢進を認めたが、siALK4 を導入した HPDLCs においては、Activin A 添加による Smad2/3 のリン酸化の亢進は認められなかった。一方、Saos2 においては、siALK4 導入の有無に関わらず、Smad1/5/9 のリン酸化の亢進を認めた。(3) ラット歯根膜傷害モデルを用いて Activin A 抗体、ALK4 抗体による免疫組織化学的染色を行った結果、傷害側では創部近傍の歯根膜組織にいずれも強い陽性反応を認め、非傷害側では弱陽性反応を呈した。

【考察】本研究の結果から、HPDLCs における Activin A の骨芽細胞様分化の抑制効果は、ALK4-Smad2/3 を介するシグナル経路が重要な役割を果たしていることが推察された。一方で、Saos2 における Activin A の骨芽細胞様分化の促進効果に関しては、ALK4-Smad2/3 経路を介しておらず、ALK4 以外の受容体を介した経路が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。組織の治癒過程において Activin A および ALK4 の発現が亢進したことより、Activin A-ALK4 を介したシグナル経路は歯根膜組織の創傷治癒に関与していることが推察された。

【結論】(1) HPDLCs において、Activin A 添加により骨芽細胞様分化の抑制効果および Smad2/3 のリン酸化の促進効果を認めた。(2) siAlk4 を導入した HPDLCs において、Activin A による骨芽細胞様分化の抑制効果および Smad2/3 のリン酸化の促進効果は阻害された。(3) 傷害を受けた歯根膜組織において、炎症病態下で ALK4 の発現は亢進した。

Basic Fibroblast Growth Factor および ephrinB2 がヒト歯根膜細胞の増殖に及ぼす影響について

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

○小野 太雅¹、友清 淳²、長谷川 大学²、濱野 さゆり^{1,3}、吉田 晋一郎²、杉井 英樹²、
御手洗 裕美²、有馬 麻衣¹、野津 葵¹、和田 尚久⁴、前田 英史^{1,2}

The proliferative effects of basic Fibroblast Growth Factor and ephrinB2 on human periodontal ligament stem cells.

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University ²Department of Endodontology, Kyushu University Hospital ³OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University ⁴Division of General Oral Care, Kyushu University Hospital

○TAIGA ONO¹, Atsushi Tomokiyo², Daigaku Hasegawa², Sayuri Hamano^{1,3}, Shinichiro Yoshida², Hideki Sugii²,
Hiromi Mitarai², Mai Arima¹, Aoi Nozu¹, Naohisa Wada⁵, Hidefumi Maeda^{1,2}

【目的】 Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) はヒト歯根膜細胞 (HPDLCs) の増殖、遊走、および分化を促進することで歯根膜組織の再生を促進することから、近年歯周組織再生剤として臨床応用が開始された。また、EphA4 は細胞膜の ephrin (EFN) ファミリーリガンドと結合する受容体型チロシンキナーゼの一種であり、腱や靭帯組織において高発現することが知られている。私達は、第 123 回日本歯科保存学会において、bFGF 存在下にてヒト歯根膜クローン細胞株を培養することで、*EphA4* の発現が上昇することを報告した。そこで本研究では、bFGF が HPDLCs の *EphA4* の発現に及ぼす影響を明らかにし、EphA4 のリガンドである EFN2 が、bFGF による HPDLCs の細胞増殖に及ぼす影響について検討することとした。

【材料および方法】

1. 歯根膜細胞および歯根膜組織における *EphA4* および EFN ファミリーの発現解析

(1) 本研究に同意が得られた患者 (5N; 24 歳男性、3R; 24 歳男性) の抜去歯より採取した HPDLC-5N および HPDLC-3R、ヒト歯髄細胞 (HDPC-5N および HDPC-3R)、およびヒト歯肉線維芽細胞 (HGF-5N および HGF-3R) を 10% FBS 添加 αMEM (CM) にて継代培養し、6 継代目の細胞から mRNA を回収したのち、半量的 RT-PCR 法にて *EphA4* および EFN ファミリー (*EFNA1*、*A3*、*A4*、*A5*、*B1*、*B2*、ならびに *B3*) の遺伝子発現を比較検討した。

(2) Wistar ラット (9 週齢、雄性) から上顎臼歯部の組織切片を作製し、抗 EphA4 抗体 (Proteintech) および抗 EFN2 抗体 (Flarebio Biotech LLC) を用いて免疫組織化学的染色を行った。

2. bFGF 存在下で培養した HPDLCs における *EphA4* の発現解析

CM および CM に 0.1~100 ng/ml の bFGF (REPROCELL) を添加した培地にて 6 日間培養した HPDLC-5N および HPDLC-3R から mRNA を回収し、定量的 RT-PCR 法にて *EphA4* の遺伝子発現を解析した。

3. bFGF および EFN2 存在下での HPDLCs の増殖に関する解析

(1) CM、CM に 10 ng/ml bFGF を添加した培地 (bM)、CM に 2 ng/ml EFN2 (R&D Systems) を添加した培地 (EM)、および CM に 10 ng/ml bFGF および 2 ng/ml EFN2 を添加した培地 (bEM) にて 3 日間培養した HPDLC-5N および HPDLC-3R を用いて、WST-1 proliferation assay (TAKARA) を行い、それぞれの細胞増殖に及ぼす影響を検討した。

(2) CM、bM、EM、および bEM にて 6 日間培養した HPDLC-5N および HPDLC-3R を用いて、細胞増殖に関与することが報告されている *EGFR* の遺伝子発現を、定量的 RT-PCR 法にて解析した。

【結果と考察】 HPDLC-5N は、*EphA4*、*EFNA3*、*EFNA4*、*EFNA5*、*EFNB1*、および *EFNB2* を発現した。また 5N および 3R のいずれにおいても、HPDLCs は、HDPCs および HGFs と比較して *EphA4* および *EFNB2* を高発現した。さらに、ラットの歯根膜組織全体に EphA4 および EFN2 の強い陽性反応が認められた。bM にて HPDLC-5N および HPDLC-3R を培養した結果、CM での培養と比較して *EphA4* の発現が有意に上昇した。次に、bM および EM で HPDLCs を培養し、細胞増殖を解析した結果、CM と比較して bM は増殖を促進したが、EM では促進されなかった。さらに、bEM は bM よりも細胞増殖を促進した。一方、bM および EM が *EGFR* 発現に及ぼす影響を検討した結果、CM と比較して bM は *EGFR* の発現を亢進したが、EM では亢進を認めなかった。また、bEM は bM よりも *EGFR* の発現を有意に亢進した。以上の結果より、EFNB2 は、bFGF によって促進される HPDLCs の増殖を、さらに亢進することが示唆された。

今後の心療歯科に関わる資格保有のための一考察（歯科保存領域を中心として）

奥羽大学歯学部口腔衛生学講座¹⁾、歯科保存学講座²⁾
○車田文雄¹⁾、佐藤穂子²⁾、佐々木重夫²⁾、木村裕一²⁾

A consideration for qualified possession related to future psychosomatic dentistry (With dental preservation area as the center)

Dept. Preventive Dentistry and Conservative Dentistry OHU University School of Dentistry
○Fumio KURUMADA, Yasuko SATOH, Shigeo SASAKI, Yuichi KIMURA

【 緒 言 】

本学会で口演・ポスターに限らず、歯科保存領域での「心療歯科」に関する発表は少なく、それらに関する発表は日本歯科心身医学会で多くは為されているものの、歯科心身症と称する疾患を治療する前に臨床心理学、カウンセリング等をベースとした知識・技術・態度の涵養も要求され、更に当然ながらそれをアドバンスするためには関連する資格（公的・民間等）取得の必要性が歯科医師にも重要であることに鑑み、今回日本の「心理学に関する資格」を種々分類し、今後現場において苦慮する場合が少なからずあり益々増加傾向が予想される発達障害者等を含めた多様な患者に対して、保存治療医としての一課題（ダブルライセンス）の重要性の知見を得たのでここに報告する。

【 方法および結果 】

心理職資格を、国家資格、大学・大学院・高等教育機関の資格、学会認定民間資格、団体認定民間資格に分類した。

- ① 国家資格・・・公認心理師（昨年9月施行、今年日本初の心理職国家資格者誕生予定、文科省・厚労省共管）のみ
- ② 大学・大学院・高等教育機関の資格・・・ガイダンスカウンセラー、学校心理士、臨床心理士、臨床発達心理士、産業カウンセラー、認定心理士、以上6資格
- ③ 学会認定民間資格・・・応用心理士、音楽療法士、認定カウンセラー、健康心理士、医療心理士、交流分析士、芸術療法士、家族相談士、ブリーフセラピスト等、現在約19資格
- ④ 民間法人・団体認定民間資格・・・カウンセリング心理士、教育カウンセラー、認定セラピスト、心理支援士、心理カウンセラー、コーチング心理士、自閉症スペクトラム支援士等、現在約77資格

以上のように相当な心理職があるが、特に教育機関の歯科医師のプロフェッショナルな見地（心身症は身体病（口腔疾患等）であるため身体的治療も大切であるが、その発症や経過には心理的因子が密接に関係しているので、治療上心理的側面への配慮が重要であり、心身両面から治療することになる。ただし心理的因子の関与の度合いはケースにより様々であり、治療上必要とされる心理的側面への配慮の度合いもそれにより異なる。薬物療法だけで治癒する場合もあれば、家族関係や職場の状況の調整を必要とすることもある。さらには幼児期に遡り生育歴を検討し直すことが必要な場合もある）からすれば、少なくとも上記①及び②の資格を取得していると現場での心療歯科患者に対する診療がよりスムーズに行われる可能性は大である。

【 考察および結論 】

1. 歯科保存領域では、特に自臭症（口臭関連）や歯科恐怖症の患者に対するアプローチが要求されると考えられ、心療内科医等のチーム医療も視野には入れるが、先ずは上記心理職の有している歯科医師がインテークも含め、カウンセリングマインドの診療をすることが患者とのラポール構築に発展すると考える。
2. また医療系大学でも発達障害の学生が徐々に入学し、彼らに対し合理的配慮（障がいにあった支援）が法的に位置づけられたことを根拠にすれば、発達障害者等を含めた多様な患者に対しても日本歯科心身医学会専門医等だけが関わるのではなく、上記同様の心理職歯科医師も対応することが望ましいと考える。
3. 歯科心身症患者は言語的なアプローチだけでは問題の洞察に至ることが困難な場合が多く、そのため言語的な心理療法と並行して非言語的なアプローチを用いたり、また心身相関という観点から自律訓練法など身体に働きかけることによって心身両面の緊張を和らげ、心身の回復を図ろうとする治療も上記1、2と同様と考える。
4. 今後の課題として、先に掲げた心理職資格保有者の歯科医師のパーセンテージの把握や彼らの心療歯科における保存治療を調査したいと考える。

PTC ペースト ルシエロホワイトの効果的な使用条件に関する検討

株式会社 ジーシー

○鈴木 利弥, 横沼 久美子, 船橋 英利, 熊谷 知弘

Investigation of conditions for effectively using PTC paste ruscello white

GC Corporation

○Toshiya Suzuki, Kumiko Yokonuma, Hidetoshi Funabashi . Tomohiro Kumagai

【目的】

ステインを効率よく除去するためには、PTC ペーストの種類以外にもいくつかの条件が考えられる。本研究では、PTC ペースト ルシエロホワイトにおける効率的な使用条件の検討と、その条件でのエナメル質への影響を確認した。

【材料と方法】

1. 被験 PTC ペースト : PTC ペースト ルシエロホワイト (ジーシー) 使用量 : 0.1g/回

2. 試料の作製 :

- 1) 疑似ステイン除去試験 : 牛歯エナメル質を耐水紙#2,000 まで研磨した後、タンニン酸を主成分とした液に浸漬した。
- 2) 牛歯エナメル質の研磨傷試験 : 牛歯エナメル質をダイヤモンドペースト 1 μm まで研磨した。

3. 試験内容 :

1) 疑似ステイン除去試験 : 各試験条件に従って、ハンディーモーター (ジーシー) を用いて PTC を行い、分光色彩計にて、着色後と PTC 後の牛歯エナメル質を 3 回測定し、色差 (ΔE^*ab) を求め評価を行った。

(1) ツールの違いによる着色除去試験 : $n=15$

ツール : ①PTC カップ II (ジーシー), ②PTC ソフトブラシ (ジーシー), 回転数 : 1,920rpm, 操作時間 : 5 秒

(2) 操作方法の違いによる着色除去試験 : $n=15$

操作方法 : ①ブラシを手動では動かさず固定する, ②小さな円を描くように動かす。

使用ツール : PTC ソフトブラシ, 回転数 : 1,920rpm, 操作時間 : 5 秒

(3) 回転数の違いによる着色除去試験 : $n=15$

回転数 : ①1,920rpm, ②480rpm, 操作時間 : 5 秒, 使用ツール : PTC ソフトブラシ

2) 牛歯エナメル質の研磨傷試験 : $n=12$ 研磨によるエナメル質への影響を確認するため、PTC 前後の算術平均表面粗さ Ra を測定した。ツール : PTC ソフトブラシ, 回転数 : 1,920rpm, 操作時間 : 60 秒

4. 解析方法 : Wilcoxon の符号順位検定

【結果】

1. 疑似ステイン除去試験

- 1) 使用ツールの比較 : ΔE^*ab は、PTC カップ II : 6.1 ± 0.8 (平均 $\pm$ 標準偏差), PTC ソフトブラシ : 14.2 ± 1.9 。
- 2) 操作方法の比較 : ΔE^*ab は、ブラシを動かさず 1 点を磨く : 17.8 ± 2.7 , 小さな円を描くように動かす : 11.6 ± 2.3 。
- 3) 回転数の比較 : ΔE^*ab は、1,920rpm : 12.4 ± 2.8 , 480rpm : 6.0 ± 1.3 。
- 4) 上記 1) ~ 3) の試験において、全てに統計学的有意差が認められた。 ($p < 0.01$)

2. 牛歯エナメル質の研磨傷試験 : 算術平均表面粗さ Ra は、試験前 : $0.056 \pm 0.06 \mu\text{m}$, PTC 後 $0.059 \pm 0.05 \mu\text{m}$ であり、統計学的有意差は認められなかった。

【結論】

PTC ペースト ルシエロホワイトの効果的な使用条件は、ツール : PTC ソフトブラシ, 操作方法 : ステインの上でブラシを手動では動かさず固定, 回転数 : 約 2,000rpm であることが確認できた。またその使用条件は、エナメル質を傷つけないことが示唆された。