

インドシアニン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の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果と歯根の温度変化

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⁾、稲本京子¹⁾、林 潤一郎²⁾、三谷章雄²⁾、福田光男²⁾、中田和彦¹⁾

Bactericidal effect for *Enterococcus faecalis* and thermal effect on root surface by aPDT with ICG nanosphere and diode laser

Departments of Endodontics¹⁾ and Periodontology²⁾, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Naoya Higuchi¹⁾, Yasuyuki Sasaki²⁾, Kyoko Inamoto¹⁾, Jun-ichiro Hayashi²⁾, Akio Mitani²⁾,
Mitsuo Fukuda²⁾, Kazuhiko Nakata¹⁾

[目的]

近年、光感受性物質を特定波長の光線で励起することで、惹起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。これまで、我々は、生体に安全な光感受性物質であるインドシアニンググリーンを封入し、キトサンコーティングしたナノ粒子 (ICG-Nano/c) を作製し、半導体レーザー (波長 810nm) により励起する抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy : aPDT) の基礎的研究を重ね、歯周治療への応用について検討し、報告してきた。また、第 148 回春季学術大会において、再根管治療への応用を検討するために、難治性根尖性歯周炎の根管から高率に検出される *Enterococcus faecalis* に対する殺菌性の有無を調べ、照射時間の影響について報告した。

今回、ICG-Nano/c と半導体レーザーを用いた aPDT による、*E. faecalis* に対する殺菌効果への照射出力の影響、および歯根の温度変化を調べ、再根管治療における根管消毒法への応用を検討した。

[材料、方法]

1. aPDT の殺菌効果におけるレーザー照射出力の影響

被験菌株には、*E. faecalis* ATCC19433 株を使用し、 $1.0 \times 10^8 \sim 9$ CFU/ml となるまで培養し、実験に用いた。レーザーを照射後、希釈平板法により 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。ICG-Nano/c は終濃度 10mg/ml になるように生理食塩水で調整した。

レーザーの照射条件は、出力を 0.7, 1.4, 2.1W とし、RPT モード (Duty cycle 50%, 100ms) に設定した。

2. aPDT による歯根の温度変化

ヒト抜去歯の歯冠を削除し、根管拡大形成した後、実験に用いた。実験 (aPDT) 群の根管内には ICG-Nano/c 溶液 (10mg/ml) を、対照群の根管内には生理食塩水を満たした。レーザー照射中、サーモグラフィーで歯根の表面温度を計測した。レーザーの照射条件は、出力を 0.7, 1.4, 2.1W とし、RPT モード (Duty cycle 50%, 100ms) にて 5 分間計測した。

[結果]

aPDT の殺菌効果におけるレーザー照射出力の影響については、照射出力依存的に検出細菌数の有意な減少を認め、1.4W 以上の出力においては、照射時間が 1 分でも顕著な殺菌効果を認めた。また、aPDT による歯根の温度変化については、どの群においても、照射開始 5 分後でも、臨床的に問題を生じると考えられている歯根の温度上昇は認められなかった。特に 0.7W では温度上昇がより低く抑えられた。

[考察および結論]

本研究により、*E. faecalis* に対し、レーザー照射出力を増大させるほど検出細菌が有意に減少したことから、ICG-Nano/c と半導体レーザー (波長 810nm) による aPDT は、レーザー照射出力依存的に殺菌効果が高まることが明らかになった。また、本実験に用いた照射条件下では、著明な温度上昇は認められなかった。

以上の結果から、さらなる照射条件の検討は必要であるが、難治性根尖性歯周炎に対しても生体に安全な根管消毒法として応用できる可能性が示唆された。

本研究は科学研究費 (No. 16K11572) の助成を受けて行った。

**Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄時に生じる根尖孔外の圧力および根管内蒸気泡の挙動
-照射エネルギーによる影響-**

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
○高野晃, 渡辺聡, 本郷智之, 八尾香奈子, 佐竹和久, 興地隆史

**Generation of apical pressure and intracanal vaporized cavitation bubbles during root canal irrigation activated by
Er:YAG laser: Effect of laser energy**

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

○KOUNO Akira, WATANABE Satoshi, HONGO Tomoyuki, YAO Kanako, SATAKE Kazuhisa, OKIJI Takashi

【目的】近年 Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄 (laser-activated irrigation, 以下「LAI」) の有効性が注目されている。また根管洗浄時に溢出した洗浄液による組織傷害への懸念から、洗浄中に根尖孔外に生じる圧力を解析した報告がなされている (佐竹他. 日レ歯誌 2014; 25: 70-74.)。我々はこれらの点に着目し、LAI で生じる根尖孔外の圧力や洗浄液の溢出量を検討し、これらが照射エネルギーやチップ設定位置に有意に影響されることを報告した (Yao et al. Photomed Laser Surg 2017)。また根管洗浄中の蒸気泡の発生および高速水流は根管清掃効果に寄与し、根管壁に対する剪断応力は水流速度と比例すると報告されている (Ahmad MJ et al. J Endod 1987;13:490-499)。根管内の蒸気泡の挙動は根尖孔外に生じる圧力と関係することも推察される。本研究では、照射エネルギーおよび繰り返しパルス数の相違が、蒸気泡の数、速度および根尖孔外に発生する圧力に及ぼす影響を解析した。

【材料及び方法】根管長 20 mm, 40 号 0.06 テーパーに調整したプラスチックピペットチップ (10 μ L ロングチップ, 深江化成) を模擬根管とし、蒸留水を満たした状態で実験に供した。Er:YAG レーザー装置 (Erwin AdvErl, モリタ製作所) および付属レーザーチップ R200T (円錐状, ϕ 200 μ m) を使用し、レーザーチップ先端を根管模型基底部から 15 mm の位置に固定して 30 mJ 25pps, または 70 mJ 10 もしくは 25pps の条件で 5 秒間レーザー照射した (n = 7)。圧力測定装置 (AP-12S, キーエンス) をビニールチューブで模擬根管の根尖に接続し、根尖孔外に生じた圧力を各群 7 回ずつ測定した。根尖孔外に発生した圧力の測定と同時に、模擬根管内の蒸気泡の発生挙動をハイスピードカメラ (VW-9000, キーエンス) で撮影し、蒸気泡の数、速度を解析ソフト (Dipp-Motion V) を使用し解析した。統計学的解析には一元配置分散分析および Tukey-Kramer 検定を用い、有意水準 5%とした。

【結果】70 mJ-, 25pps 群では他群と比較して有意に蒸気泡の数および速度が増加し ($p < 0.05$)、根尖孔外に生じた圧力においても他群よりも有意に高かった ($p < 0.05$)。30 mJ-, 25pps 群は 70 mJ-, 10pps 群と比較して、蒸気泡の速度は有意に高かったものの ($p < 0.05$)、蒸気泡の数および根尖孔外に生じた圧力は同程度であった ($p > 0.05$)。

【考察】LAI による洗浄液の根尖孔外への溢出については、シリンジ洗浄より根尖孔外に洗浄液が飛散していたという報告 (George R et al. J Endod 2008; 34: 706-708.) が見られる一方、造影剤溶液中で LAI を行った 300 症例で根尖孔外への溢出を認めなかったとの報告 (Peeters H Clin Oral Invest 2013; 17: 2105-2112.) もあり、見解の相違がみられる。本研究結果は照射エネルギーの上昇に伴い根尖孔外への圧力が高くなる我々の過去の報告 (Yao et al, Photomed Laser Surg 2017;35:682-687) と同様の結果であった。また同様の出力であれば、根尖孔外に生じた圧力は同程度であるものの、繰り返しパルス数が高い方が、蒸気泡の速度が高い結果となった。パルス照射の速度が蒸気泡の速度に影響する可能性が推察される。臨床応用に際しては安全性とともに、清掃に適切な照射条件の設定について慎重な研究・検討を要する。

【結論】本実験条件では、Er:YAG レーザーを用いた LAI において、照射エネルギー、パルスが大きいほど蒸気泡の数と速度が増加したものの、根尖孔外に生じる圧力も増加していた。同様の出力であれば、繰り返しパルス数が高いほど蒸気泡速度が高かったものの、根尖孔外の圧力は同程度であった。

Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄がレジジ形成部より根尖側に及ぼす清掃効果 -粒子画像流速測定法による解析-

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
○AUNG Nyein Pyae Sone, 渡辺聡, 高野晃, 本郷智之, 八尾香奈子, 佐竹和久, 興地隆史

Cleaning the apical area beyond the ledge using Er:YAG laser-activated irrigation: A particle image velocimetry analysis

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of
Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○AUNG Nyein Pyae Sone, WATANABE Satoshi, KOUNO Akira, HONGO Tomoyuki, YAO Kanako, SATAKE Kazuhisa,
OKIJI Takashi

Introduction: The presence of a ledge may reduce the possibility of achieving adequate root canal shaping that reaches the ideal working length. If the original canal cannot be renegotiated beyond a ledge, the prognosis depends on cleaning by chemical irrigation to reduce the amount of debris and bacteria left in the unshaped apical area. Recently, laser-activated irrigation (LAI) has gained attention for its potential to efficiently clean the root canal system. LAI exerts improved efficacy through generation of cavitation bubbles, high-velocity water flow, and shock waves, and is significantly more effective in cleaning the root canal with complex structures compared with conventional syringe irrigation (SI)¹⁾. However, efficacy of LAI in cleaning the apical area beyond the ledge has not yet been investigated. Thus, the aim of this study was to evaluate the cleaning potential of Er:YAG laser-activated irrigation in the area beyond the ledge using particle image velocimetry.

Materials and Methods: Plastic root canal models (J-shape, Dentsply Sirona) were instrumented using NiTi rotary files (EndoWave, Morita) up to #35/0.06 and then an artificial ledge of 2.5 mm in depth was created in each canal using an Orifice Shaper instrument (Profile Orifice Shaper #5, Dentsply Maillefer; #60/0.12) at 5 mm from the apical foramen along the outer curvature of the canal. The canals were filled with distilled water and glass beads (Toshinriko, $\phi=50 \mu\text{m}$, 1.0 mg \pm 0.5 mg) used as simulated debris particles to examine liquid velocity. Then they were assigned into four groups. (n = 7 in each group): Group I, LAI using an Er:YAG laser unit (Erwin AdvErl, Morita Manufacturing) with the R200T tip ($\phi=200 \mu\text{m}$, Morita) at 30 mJ/10 pps; Group II, LAI at 30 mJ/20 pps; Group III, LAI at 70 mJ/10 pps; and Group IV, SI in which 0.25 ml of distilled water was delivered manually for a period of 5 seconds through a 27G flat needle. The laser/needle tip was placed at 5 mm from the apical foramen and secured in position with a clamping device during activation or irrigation of 5 seconds duration. The kinetics of glass beads were observed with a high-speed camera (VW-9000, Keyence) set at x50 magnification, 1/1500 shutter speed and 250 frames per second. Velocimetry measurement was performed using Dipp-Motion software (DITECT) and the movement of the glass beads particles was compared in two regions of the original canal; i.e., apical area from the ledge and coronal area to the ledge. Data were analyzed by Two-way ANOVA and Tukey test at a significance level of $p=0.05$.

Results: The average velocity of the particles in the apical area was significantly higher in the LAI groups than in the SI group ($p<0.05$). There were no significant differences among the LAI groups ($p>0.05$). Furthermore, the velocity of the particles in the coronal area was faster than that in the apical area ($p<0.05$).

Discussion: It has been reported the success rate of the retreatment cases with transportation was only 35.6%²⁾. LAI is a potentially effective irrigation method, given that it induces cavitation, which generates high fluid flow and shockwaves inside the complex root canal structures such as the isthmus, lateral canal, and apical transportation. LAI is reported to eliminate debris from canals with isthmus 2.6 times more effectively than SI¹⁾. Our results are consistent with this finding that LAI generated fluid flow in the complex root canal area, i.e., the apical area beyond the ledge, even when the tip was not set within the complex area.

Conclusion: Under the experimental conditions described in this study, results suggest that Er:YAG laser activated irrigation generated faster irrigant flow in the area beyond the ledge, compared with conventional syringe irrigation.

1) Lloyd A, Jonathan P, David J, Garcia-Godoy F. Elimination of intracanal tissue and debris through a novel laser-activated system assessed using high-resolution micro-computed tomography: A pilot study. J Endod 2014; 40: 584-587.

2) Gorni FG, Gagliani MM. The outcome of endodontic retreatment: a 2-yr follow-up. J Endod 2004;30:1-4.

Sub-MIC のグルコン酸クロルヘキシジンが *in vitro* 複合バイオフィーム中の *Streptococcus mutans* の局在と遺伝子発現に与える影響

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野

○鈴木裕希, 大墨竜也, 永田量子, 長谷川泰輔, 坂上雄樹, 竹中彰治, 野杵由一郎

Effects of sub-minimum inhibitory concentration of chlorhexidine gluconate on localization and gene expression of *Streptococcus mutans in vitro* multispecies biofilm

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

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

【目的】近年、最小発育阻止濃度以下(sub-MIC)の抗菌剤存在下で、バイオフィーム(BF)形成が促進されるという報告がある。口腔において洗口液をはじめとする抗菌成分の濃度は、唾液により希釈され時間経過とともに sub-MIC となるため、逆にバイオフィーム形成を促進する可能性がある。そこで本研究では、う蝕病原細菌である *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* 及び *Actinomyces naeslundii* の3菌種から成る *in vitro* 複合バイオフィームモデルに対し、sub-MIC のグルコン酸クロルヘキシジン(CHG)作用時の *S. mutans* の局在と BF 形成量の変化を形態学的に観察するとともに、BF 形成関連およびクオラムセンシング関連遺伝子の発現量の変化について検討した。

【材料及び方法】*S. mutans* は UA159 株と緑色蛍光タンパク発現株(ZsGreen; 筑波大学 野村暢彦博士より分与)の2種類を用いた(新潟大学遺伝子組換え実験承認番号 SD00908)。

Tryptone-yeast extract(TYE)培地にて培養し調製した菌液($OD_{600}=0.6$)を $1:1:10^3$ [*S. mutans* : *S. oralis* : *A. naeslundii*] の割合で混合した。調整した菌液を Calgary Biofilm Device(CBD; innovotech 社製)に 200 μ l ずつ分注し、12時間嫌気培養することで初期付着させたのち、0.05% sucrose 含有 TYE 培地(TYE+S)に移し4日間嫌気培養しBFを形成した。培地は12時間毎に交換した。4日後、sub-MIC (0.06 および 0.24 μ g/ml)のCHG添加TYE+S中に2日間作用させた。CHG非添加TYE+Sに2日間作用させたものをコントロール群とした。

BF 形態は、走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて観察するとともに、Calcein-AM(Thermo Fisher Scientific 社製)及び Rhodamine-B にて蛍光染色を施し、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM)を用いて観察した。さらに、*S. mutans* (ZsGreen 株)の局在を蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH) 法にて観察した。BF中の細菌の生死の割合を解析するため、LIVE/DEAD BacLight Bacterial Viability Kit(Thermo Fisher Scientific 社製)を用いて蛍光染色したのち、CLSMにて観察するとともに、BFを回収し生菌数をコロニーカウント法にて測定した。BF中の各細菌の構成比は定量PCR法により算出した。さらに、*S. mutans* のBF形成関連遺伝子の発現動態を解析するため、Direct-zol RNA MiniPrep Kit(ZYMO RESEARCH 社製)を用いて mRNA を抽出後、逆転写を行いcDNAを作製した。次いで、16S rRNA を内部標準とし、*gtfB*, *gtfC*, *gtfD*, *comD* および *LuxS* の遺伝子発現量をリアルタイムPCRで解析した。統計学的有意差は、Kruskal-Wallis 及び Mann-Whitney U test を用いて行った。

【結果】SEM像では、両群とも球菌を主体とするBFが観察された。CLSM像では、CHG作用群はコントロール群と比較してBFの厚みが増していた。FISH法を用いて構成細菌の局在を観察したところ、初期付着菌群である *S. oralis* と *A. naeslundii* はBF深部に局在し、*S. mutans* (ZsGreen 株)はBF中の表層部に局在していた。CHGの有無による局在の差は認められなかった。BF中の生菌数は、 7.4×10^7 CFU (CHG群) および 7.0×10^7 CFU (コントロール群) で有意差はなかった。BF中の各菌の割合は、9割以上が *Streptococcus* 属が占めていた。

CHG作用群の *S. mutans* は、すべてのBF形成関連遺伝子の発現が増加傾向にあった。とくに、0.24 μ g/ml CHG作用群の *gtfC* および *comD* の発現は、コントロール群と比較し有意に増加していた (1.7 および 2.4 倍)。

【結論】今回作製した3菌種による複合バイオフィームモデルにおいて、sub-MICのCHGは、*S. mutans* のBF形成関連遺伝子に影響を与えることでBF形成を促進させることが示唆された。

病原性の異なるポリマイクロバイアルバイオフィームへのカキタンニンの抗菌効果

神奈川県立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, 東北大学大学院歯学研究科歯科保存学分野⁴, ACTA⁵
○ 富山 潔¹, 石澤将人¹, 渡辺清子², 河田 亮³,
高橋 理³, 浜田信城², 齋藤正寛⁴, Exterkate R.A.M⁵, 向井義晴¹

Antibacterial effects of astringent persimmon on polymicrobial biofilms with different pathogenicity

¹Dep. of Oral Interdisciplinary Medicine, Div. of Restorative dentistry, Dep. of Oral Science, Div. of ²Microbiology, ³Histology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Div. of Operative Dentistry, Tohoku University, Graduate School of Dentistry, ⁵Dep. of Preventive Dentistry, Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA)
○ TOMIYAMA Kiyoshi¹, ISHIZAWA Masato¹, WATANABE Kiyoko², KAWATA Akira³,
TAKAHASHI Osamu³, HAMADA Nobushiro², SAITO Masahiro⁴, EXTERKATE R.A.M⁵, MUKAI Yoshiharu¹

【研究目的】 我々は、第138, 139, 140, 142, 143, 144および145回本学会において、渋柿由来の縮合型タンニンを含む食品原料 (Pancil PS-M : Rilis Co., Ltd., Osaka, Japan) の4.0 vol% 溶液が、0.2% グルコン酸クロルヘキシジンよりも持続的にPMバイオフィームの増殖、乳酸産生を抑制できることや細菌叢を健全に保つことができる天然成分であることを報告した。本研究の目的は、病原性の異なるポリマイクロバイアル (PM) バイオフィームに対するカキタンニンの効果を比較、分析することである。

【実験材料および方法】 [PM バイオフィームの形成] : PM バイオフィーム形成用材料には直径 12 mm 厚さ 150 μm のガラス円板 (Menzel, Braunschweig, Germany) を用いた。PM バイオフィームの培養には *St. mutans* の割合が異なる 2 被験者 (被験者 A: *St. mutans*: not detected, CFU/ml: 3.68×10^9 ; 被験者 B: *St. mutans*: 2.68×10^7 , CFU/ml: 7.30×10^9) から採取した刺激唾液を 50 倍希釈となるように unbuffered McBain 2005 (0.2% スクロース含有) 培養液に混入後、培養液の交換を 10 時間の時点で行ない、その後、培養 24 時間の時点で各処理剤あるいは滅菌脱イオン水 (Cont) に 5 分間浸漬後、10 時間、14 時間毎に培養液を交換して 72 時間嫌気培養 (CO₂ : 10%, H₂ : 10%, N₂ : 80%, 37°C) によりバイオフィームを形成した。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 (C), ③ 4.0 vol% Pancil PS-M 群 (P), 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 バイオフィームに対し 5 分間の各処理を行なった時点および、その後 48 時間培養を行なった時点で、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 バイオフィーム中の細菌細胞数に与える影響を比較検討した (n=6)。また、使用済み培養液の pH も測定した (n=10)。

【実験 2】 : 培養 72 時間の時点での次世代シーケンサー (MiSeq™, Illumina, USA) による細菌叢の網羅的分析は、バイオフィームから 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、主成分分析により行った。

【結果及び考察】 [実験 1] : P および C 群の処理直後における使用済培養液の pH は、バイオフィームの病原性に関係なく cont に比較して有意に上昇し (唾液 A : cont = 4.4, C = 6.7, P = 6.8; 唾液 B : cont = 4.2, C = 6.5, P = 6.8), その後 48 時間培養を継続すると、C 群では pH が下降するものの P 群の pH 下降は有意に抑制された (唾液 A : cont = 4.2, C = 4.8, P = 6.0; 唾液 B : cont = 4.1, C = 4.6, P = 5.9) (p<0.05)。72 時間の時点での LIVE/DEAD 染色後のバイオフィーム中の全細菌細胞に対する死菌細胞の割合は、cont 群: 3.1%, C 群: 60.5%, P 群: 75.8% であり、P 群は C 群より有意に高い死菌数の割合を示した。

【実験 2】 : 唾液 A および B 両群において、P と Cont のバイオフィーム群集構造間には差が認められなかったが、C と他群間には明瞭な差が認められた。また、P と Cont の構成菌は *Streptococcus salivarius* が主体であったが、C 群では、*Haemophilus parainfluenzae* や *Streptococcus anginosus* の割合が増加していたことから、カキタンニン処理は耐性菌などを増やさず、健全な細菌叢のままプラーク形成を抑制できることが示唆された。

【結論】 4.0 vol% Pancil PS-M は、病原性が異なる細菌叢を有するバイオフィームに対しても効果的な抗菌効果を有する。(本研究は、神奈川県立歯科大学 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】)

4種接着性レジンセメントシステムの各種 CAD/CAM 用メタルフリー修復材料に対する接着特性

日本歯科大学生命歯学部 接着歯科学講座

○鴫田 智重, 河本 芽, 岡田 美里, 森 のり子, 前野 雅彦, 柵木 寿男, 奈良 陽一郎

Bonding characteristics of four adhesive resin cement systems to various CAD/CAM metal-free restorative materials

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

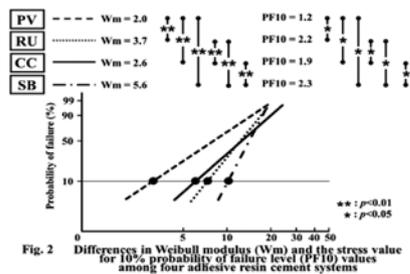
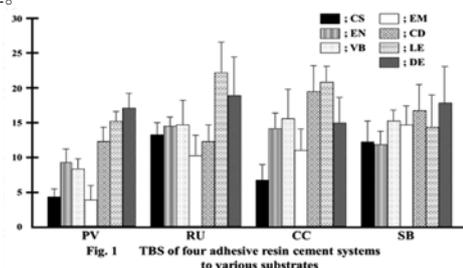
○Tokita Chie, Komoto Mei, Okada Misato, Mori Noriko, Maeno Masahiko, Maseki Toshio, Nara Yoichiro

【目的】 普及進展が目覚ましいメタルフリー修復物の装着に際しては、高品位な接着の獲得が望まれ、最近では、熟考開発された接着性レジンセメントシステムが臨床で用いられている。本研究では4種接着性レジンセメントシステムの各種 CAD/CAM 用メタルフリー修復材料に対する接着特性の検証を目的に引張接着強さに基づき評価検討した。

【材料および方法】 接着性レジンセメントシステムには、コンポジットレジン系接着性レジンセメントシステム3種、すなわちシランカップリング剤とリン酸エステル系モノマーMDP含有の CLEARFIL CERAMIC PRIMER PLUS と新規重合促進剤添加の PANAVIA V5 Tooth Primer を併用する PANAVIA V5 (Kuraray Noritake Dental, PV)、汎用性前処理材 Scotchbond Universal をすべての被着体に応用する RelyX Ultimate (3M ESPE, RU)、専用のシランカップリング剤 Calibra silane coupling agent とボンディング材 Prime & Bond Universal を併用する Calibra ceram (Dentsply sirona, CC) を用いた。また、4-META/MMA-TBB 系接着性レジンセメントシステムとして、PZ プライマーとティースプライマーを併用する Super-Bond (Sun Medical, SB) を選択した。一方、CAD/CAM 用メタルフリー修復材料にはハイブリッド型レジン CAD/CAM ブロック2種、すなわち無機フィラー含有の CERASMART 300 (GC, CS) と無機質ネットワーク構造体にレジンを含浸させた VITA ENAMIC (VITA, EN)、加えてシリカ基材のセラミックブロック3種、すなわち長石系の VITABLOCS Mark II (VITA, VB)、二ケイ酸リチウム含有の IPS e.max CAD (Ivoclar vivadent, EM)、ジルコニア強化型の CELTRA DUO (Dentsply sirona, CD) を、またジルコニア修復材料として Lava Esthetic (3M ESPE, LE) を選択した。対照には本学部研究倫理委員会の承認を経てヒト健全象牙質 (DE) を用いた。接着試験試料の作製は、直径 2.4 mm の円形開孔部を有する厚さ 70 μm のアルミ箔テープによって被着面規定した各修復材料に対し、製造者指定の前処理を経て、規格化レジン硬化体を4種セメントによって接着した。ついで 37°C 水中 24 時間保管後に、1.0 mm/min 条件下の引張接着強さ (TBS) を測定 (n=5) し、得られたデータには二元配置分析、Tukey の検定およびワイブル分析を行った。

【成績と考察】 Fig. 1 に4種セメントシステムの TBS 値を示す。4種システムの DE 値間には有意差を認めず、各システムの対象牙質接着強さは同等であることが判明した。システムに注目した場合、PV では対照である DE 値が最大を示し、これは Tooth Primer の効果が寄与したものと考えられる。RU では EM を、CC では CS を除く5種修復材料値と DE 値間に有意差を認めなかった。また SB では全修復材料値と DE 値間に有意差を認めなかった。以上より、RU、CC および SB は多様な修復材料に対し汎用的な接着強さ獲得能を有すると考える。Fig. 2 に、接着信頼性の指標となる Wm および接着耐久性の指標となる PF10 による4種セメントシステム間の違いを示す。Wm 値、PF10 値ともに SB>RU>CC>PV の順で前後2者間に有意差を認めた。したがって、SB は板状試料を用いたノンストレス条件下では、信頼性・耐久性に長けた接着を獲得していることが確認できた。

【結論】 最近の4種接着性レジンセメントシステムは CAD/CAM 用メタルフリー修復材料によって異なる接着特性を示した。また板状試料を用いたノンストレス条件下では、4-META/MMA-TBB 系システムが接着信頼性・耐久性に長けていた。



グラスファイバー配合強化型レジンを用いた CAD/CAM 間接法ポストコア修復の開発

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)
 2. 大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)
- 須崎 尚子¹, 田中 亮祐¹, 廣瀬 奈々子¹, 山口 哲², 今里 聡², 林 美加子¹

Development of CAD/CAM indirect post-core restoration using glass fiber reinforced resin

1. Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
 2. Department of Dental Materials Sciences, Osaka University Graduate School of Dentistry
- Naoko SUZAKI¹, Ryousuke TANAKA¹, Nanako HIROSE¹, Satoshi YAMAGUCHI²,
Satoshi IMAZATO², Mikako HAYASHI¹

【研究目的】 破壊抵抗性の高い失活歯修復を実現するために、本研究では、グラスファイバー配合強化型レジン材料を用いた CAD/CAM 間接法ポストコア修復の開発をめざしている。第 146 回本学会において、メッシュ状グラスファイバー配合強化型レジン材料は、明らかな異方性を認め、高い破壊抵抗性を示すことを報告した。今回は、このグラスファイバー配合強化型レジン材料を用いて CAD/CAM ポストコアを作製し、修復歯としての破壊抵抗性を評価した。

【材料および方法】 牛歯の歯根を、根尖より歯軸方向に 15 mm となるように低速精密切断機 (ISOMET、BUEHLER) を用いて切断した。続いて、根管長より 0.5 mm 短く設定した作業長にて 60 号まで K ファイルにて拡大、形成した後、ガッタパーチャポイントにて根管充填を行い、タービンにダイヤモンドポイントを装着して、歯根上部より厚さ 1 mm、深さ 10 mm のポスト孔を形成した。シリコン印象の後、超硬石膏にて作業用模型を作製し、グラスファイバー配合強化型レジンディスク (TRINIA、松風) (以下 TR) を用いて、層状に配向するファイバーメッシュが試料の長軸方向に走行するように CAD/CAM ポストコアを作製した。対照群として、支台築造用コンポジットレジンであるビューティコアフローペースト (松風) およびファイバーポスト (1.6 mm) (以下 FP) を使用した。作製したポストコア表面はいずれも接着処理 (HC プライマー、松風) を行い、レジンセメント (レジセム、松風) にて歯根に接着した。室温にて 24 時間放置後、CAD/CAM フルジルコニアクラウンをレジンセメント (レジセム、松風) にて装着した。各試料を人工歯根膜を模したシリコン印象材 (デュプリコン、松風) で覆い、その後、ステンレス製リングに骨を模したエポキシ樹脂 (NER-814、日新 EM) を注入して、各試料がエポキシ樹脂の 2 mm 上方に位置するように包埋した。作製したリングを垂直方向から 45° 傾けて固定し、オートグラフ (AG-IS 20kN、島津) を用いてクロスヘッドスピード 0.5 mm/min にて荷重を加え、破断点における荷重を測定した。その後、試料を取り出し、破断面を実体顕微鏡およびマイクロ CT (R_mCT2、Rigaku) にて観察を行った。得られた結果は、ANOVA および、Tukey-Kramer または t 検定にて有意水準 5% にて分析した。

【結果および考察】

静的破壊試験から、コントロール群として用いた FP 群の破壊荷重が 1143.9±281.6 N であったのに対して、TR 群の破断荷重は 1601.6±256.6 N となり、TR 群は FP 群と比較して大きい傾向を認めた。破折部位については、TR 群では歯頸部での破折が多く認められたのに対して、FP 群ではほとんどの試料が根尖部での破折を示した。これは、高い靱性を有するグラスファイバー配合強化型レジンにより、修復歯根が効果的に補強されたためと考えられる。破折部位に関しては、TR 群ではフェルールのない歯頸部に応力集中を起し破折が生じたと考えられる。

以上より、グラスファイバー配合強化型レジンディスクは、CAD/CAM ポストコアとして臨床応用できる可能性が示唆された。

本研究の一部は科学研究費補助金 (17H04382、16K20454、2017 IADR Innovation in Oral Care Award) の補助の下に行われた。なお、全ての実験は大阪大学倫理委員会の承認 (H21-E29) のもとで行われた。

二ケイ酸リチウムに対する各種表面処理材が微小せん断接着強さへ及ぼす影響

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野

²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔機能再建工学分野

○上田 菜々子¹、高垣 智博¹、佐藤 隆明¹、松井 七生子¹、池田 正臣²、二階堂 徹¹、田上 順次¹

Effect of different surface treatment agents on the micro-shear bond strength to lithium disilicate ceramics

1 Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,

2 Oral Prosthetic Engineering, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○UEDA Nanako¹, TAKAGAKI Tomohiro¹, SATO Takaaki¹, Matsui Naoko¹, IKEDA Masaomi², NIKAIDO Toru¹, TAGAMI Junji¹

【諸言】

近年、審美的需要の増加から、セラミックスが歯冠修復材料として用いられる場面は増えている。その中でも二ケイ酸リチウムガラスセラミックスは高い透明性を有しており、近年広く臨床で用いられるようになってきている。オールセラミックス修復において修復物の保持やマージンからの辺縁漏洩防止、支台歯の破折防止などのためには歯質ならびにセラミックスに対する適切な表面処理が必須である。今日では二ケイ酸リチウムガラスセラミックスに対して多様な種類の表面処理材が商品化されているが、それらが接着強さへどのような影響を及ぼすのか、またそれらの長期耐久性についての報告は未だ少ない。そこで本研究では二ケイ酸リチウムガラスセラミックスに対する各種表面処理材が、接着強さに及ぼす影響について比較検討した。

【材料及び方法】

本研究では二ケイ酸リチウムガラスセラミックスとしてIPS e.max CAD (e.max, Ivoclar Vivadent)、表面処理材としてボンドマーライトレス (BL, トクヤマデンタル)、G-マルチプライマー (GMP, GC)、モノボンドエッチ&プライム (MEP, Ivoclar Vivadent) を使用した。e.maxを縦15 mm、横15 mm、厚さ 2 mmの板状に切り出し、#1000の耐水研磨紙にて表面を研削後、水中にて3分間超音波洗浄を行い被着体とした。その後、それぞれの試料を各表面処理材にて業者指示通りに処理し、内径0.79 mmタイゴンチューブを被着面に設置し、コンポジットレジジン (クリアフィルAP-X, クラレノリタケデンタル) を填入後、LED光照射器にて40秒間光照射 (Bluephase 20i, High Mode, Ivoclar Vivadent) を行った。チューブを除去後、24時間、37 °C水中保管を行い、サーマルサイクル試験0回と5000回の群に分け (TC0, TC5000)、クロスヘッドスピード1 mm/minにて微小せん断接着試験を行った。得られた値は、Dunn's test with Bonferroni correctionを用いて有意水準5%にて統計処理した。

【結果及び考察】

微小せん断接着試験の結果を表に示す。TC0群において、BL、MEPはGMPと比較して有意に高い接着強さを示した。またBL、GMPにおいてはTC0群と比較してTC5000群で有意に接着強さが低下したが、MEPでは両群間で有意な差は認められなかった。BLはシラン処理剤と水ならびに酸性モノマーを2ボトルに分け、処理直前に混和することから有効な接着前処理効果が得られた可能性が示唆された。また、MEPはフッ化アンモニウム化合物を含んでおり、これによって二ケイ酸リチウムガラス表面がエッチングされることで、微小機械的嵌合を得ることが可能であるため、サーマルサイクル負荷後も安定した接着強さを示したと考えられる。

【結論】

二ケイ酸リチウムガラスセラミックスにおいて、GMPと比較してBL、MEPは有意に高い初期接着強さを示した。また、サーマルサイクル負荷後において、MEPでは有意な接着強さの低下は認められなかった。

Table. Micro-shear bond strengths

Mean value(MPa)	BL	GMP	MEP
TC0	30.7 ± 8.5 ^{a,A}	16.0 ± 8.7 ^{b,A,B}	26.2 ± 9.9 ^B
TC5000	17.9 ± 7.5 ^{a,C}	3.1 ± 1.3 ^{b,C,D}	24.0 ± 7.3 ^D

Same superscript capital letters indicate statistically differences among treatment agents. ($p < 0.05$).

Same superscript lowercase letter indicates statistically difference among with or without thermocycle. ($p < 0.05$).

アルミナブラスト処理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

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 総合歯学研究所生体工学研究部門, ³ 花園歯科医院,
⁴ 福本歯科医院

○大内 元¹, 高見澤俊樹^{1,2}, 石井 亮¹, 白土康司¹, 森竹宣之¹, 宮崎真至^{1,2}, 山形哲則³, 福本敬一⁴

Influence of alumina sandblasting methods on bonding durability of universal adhesives to tooth

¹Department of Operative Dentistry, ²Division of a Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, ³Hanazono Dental Clinic, ⁴Fukumoto Dental Clinic

○OUCHI Hajime¹, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, ISHII Ryou¹, SHIRATSUCHI Kouji¹, MORITAKE Nobuyuki¹, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, YAMAGATA Tetsunori³, FUKUMOTO Keiichi⁴,

【目的】

修復物をすべて除去することなく、病変部のみを除去して光重合型レジンを用いて行う補修修復は、健全歯質の保存のためにも有効な修復法である。この補修修復を行う際には、異なる被着体に適した前処理を行うことが必要となるものの、対象とする被着体のみにも前処理を行うことが困難な場合もある。近年、使用頻度の増加しているユニバーサルアドヒーズは、様々な被着体に対して接着性を有するとともにその簡便な操作性から補修修復への応用が期待されている。一方、補修修復の対象が歯科用合金あるいはコンポジットレジンなどの場合は、被着面の清掃性、ぬれ性および機械的嵌合力の向上を目的としてアルミナブラスト処理が行われる。しかし、アルミナブラスト処理を選択的に旧修復物のみに行うことは困難であり、歯質への暴露が考えられるものの、その影響については不明な点が多い。

そこで演者らは、アルミナブラストされた歯質へのユニバーサルアドヒーズの接着耐久性を検討するとともに、考察資料としてアルミナブラスト後の表面粗さ (Ra)、表面自由エネルギー (SFE) 測定、走査電子顕微鏡 (SEM) 観察および元素分析を行った。

【材料および方法】

供試した接着システムは、ボンドマーライトレス (BML, トクヤマデンタル)、Scotchbond Universal Adhesive (SBU, 3M ESPE)、Adhese Universal (ADH, Ivoclar Vivadent)、All Bond Universal (ALB, Bisco) および G-Premio Bond (GPB, GC) の 5 製品とした。光重合型コンポジットレジンとしては、Clearfil AP-X (クラレノリタケデンタル) を使用した。接着試験用試片の製作には、被着体にウシ下顎前歯を使用し、歯冠部のみを常温重合レジンに包埋、唇側表面を SiC ペーパーの #320 まで研削し、被着エナメルおよび象牙質面 (ベースライン) とした。さらに、この被着面に対してアルミナブラスト処理を行ったものをブラスト群とした。これら被着面に対して各製造者指示条件に従ってアドヒーズを塗布した後、ウルトラデント治具を被着面に固定、レジンペーストを填塞、20 秒間光線照射を行ったものを接着試験用試片とした。これらの試片は、37°C 精製水中に 24 時間保管 (24 h 群) あるいは 5~55°C のサーマルサイクルを 30,000 回負荷 (TC 群) した後、その剪断接着強さを測定した。SFE の測定には、得られた接触角を基に各条件における表面自由エネルギーを求めた。すなわち、全自動接触角計を用い、セシルドロップ法で表面自由エネルギーが既知の 3 種類の液滴を 1 μ L 滴下し、 $\theta/2$ 法で測定を行った。なお、ベースライン群およびブラスト群については、表面粗さ測定 (Ra) および元素分析を行うとともに SEM 観察を行った。

【結果および考察】

24 h 群および TC 群の接着強さは、エナメル質においてはアルミナブラストの有無にかかわらず有意差は認められなかった。一方、象牙質の 24 h 群においてはベースラインと比較してブラスト群は有意に低い値を示すとともに、TC 負荷によってその接着強さは低下する傾向を示した。ブラスト群の Ra および SFE は、ベースラインと比較していずれの被着体においても有意に高い値を示した。元素分析の結果から、ブラスト群ではいずれの歯質においても Al が検出された。これらの結果から、アルミナブラストは歯質表面の改質には有効に働くものの、象牙質接着強さの向上には寄与しないことが明らかとなった。この理由として、アルミナブラストによって被着体への傷害あるいはアルミナ粒子の残留が影響を及ぼした可能性が示唆された。

【結論】

本実験の結果から、歯質に対するアルミナブラストはユニバーサルアドヒーズの象牙質接着強さを低下させることが判明した。

マルチモード接着システムの象牙質接着性能に及ぼす デュアルキュアアクティベーター前塗布の影響

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野

²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔機能再建工学分野

○長谷川 真夕¹、千葉 彩香¹、久野 裕介¹、荒岡 大輔¹、佐藤 健人¹、保坂 啓一¹、池田 正臣²、
中島 正俊¹、田上 順次¹

The Effect of Dual-Cure Activator Pretreatment on Dentin Bonding of Multi-Mode Adhesive Systems

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,

²Oral Prosthetic Engineering, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○HASEGAWA Mayu¹, CHIBA Ayaka¹, KUNO Yusuke¹, ARAOKA Daisuke¹, SATO Kento¹, HOSAKA Keiichi¹,
IKEDA Masaomi², NAKAJIMA Masatoshi¹, TAGAMI Junji¹

【研究目的】近年、セルフエッチ及びエッチアンドリンスの両方のモードでの使用が可能なマルチモード接着システムが開発されている。これらのマルチモード接着システムでは、スルフィン酸塩等の重合促進剤を含むデュアルキュアアクティベーター（以下DCA）をボンディング材と混和することにより、ボンディング材への照射なしで各種のデュアルキュア型コンポジットレジンを用いることが可能である。一方で、これらの重合促進剤を象牙質に前塗布することで、ボンディング材の象牙質表面での重合挙動が変化して、特にエッチアンドリンスモードにおいて接着性能を向上させる可能性がある。そこで、本研究ではDCAの前処理が、ユニバーサル接着システムの象牙質接着性能に及ぼす影響について比較検討した。

【材料及び方法】本実験には、マルチモード接着システムとしてクリアフィル ユニバーサルボンド Quick (UBQ) ; クリアフィル DC アクティベーター (UDC) (クラレノリタケデンタル社製) 及びスコッチボンドユニバーサルアドヒーズ (SBU) ; スコッチボンドユニバーサル DCA (SDC) (3M ESPE 社製) を用いた。ヒト健全抜去大白歯歯冠中央を歯軸に対して垂直に切断し平坦面を作製後、#600の耐水研磨紙を用いて仕上げ、被着象牙質被着面とした。実験群として、象牙質被着面をエアー乾燥させ、セルフエッチングモード群、K-etchant GEL (以下KE、クラレノリタケデンタル社製) の15秒塗布によるエッチアンドリンス群を設定し、それぞれDCAの前塗布の有無によって4群を設定した。ボンディング材の塗布方法はそれぞれ業者指示に従い、UBQでは0秒、SBUでは20秒スクラビングした後、LED照射器、Bluephase 20i (Ivoclar Vivadent 社製) で10秒間照射し、クリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル社製) を築盛硬化させた。24時間37℃に水中保管後、被着面積1.0×1.0 mm²のビーム状試片を作製し、クロスヘッドスピード1 mm/minにて微小引張り接着試験を行った。

μTBSのデータはThree-way ANOVA、Two-way ANOVA、Tukey HSD、T-test (有意水準5%)を用いて、統計処理を行った。

【結果及び考察】

Mean Value (MPa)	SE(-)	SE(+)	ER(-)	ER(+)
UBQ	58.8±5.8 ^{Aa}	63.6±5.9 ^{Ba}	31.8±3.8 ^{Ca}	59.9±5.4 ^{ABa}
SBU	55.9±5.4 ^{Aa}	59.0±4.9 ^{Ab}	30.0±3.1 ^{Ba}	67.7±5.3 ^{Cb}

TBSs (n=20, MPa ±SD)

Within the same row, different superscript capital letters indicate statistically differences (p<0.05).

Within the same column, different lowercase superscript letters show statistical differences (p<0.05).

どちらの接着システムもセルフエッチモードのほうがエッチアンドリンスモードよりも有意に高い接着強さが得られた。また、DCAの前塗布により接着性能は向上し、特にエッチアンドリンスモードにおいて接着強さは有意に向上した。

【結論】本研究より、DCAによる前処理はマルチモード接着システムの象牙質への接着強さを向上させることが示された。

フッ化ジアンミン銀系材料塗布後の歯根面におけるバイオフィーム形成の評価

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯制御学分野¹

○高橋 基¹, 松井 七生子¹, マティン カイルール¹, 清水 美透¹, 平石 典子¹, 二階堂 徹¹, 田上 順次¹

Evaluation of biofilm formation on root dentin after application of silver diamine fluoride

¹Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

○Motoi Takahashi, Naoko Matsui, Khairul Matin, Miyuki Shimizu, Noriko Hiraishi, Toru Nikaido, Junji Tagami

【緒言】

我が国は超高齢社会を迎え、歯肉退縮に伴う根面う蝕、知覚過敏を抱える人口が増加している。これに対し根面う蝕の予防、知覚過敏の抑制を目的として、フッ化ジアンミン銀(SDF)系材料の塗布が注目されている。本研究では、3種の SDF 系材料塗布後の歯根面に対するバイオフィーム付着状態を解明することを目的とし、SDF 系材料を塗布したウシ前歯歯根にバイオフィーム形成後、バイオフィームの付着量を、分光光度計を用いて測定した。さらに SDF 塗布後の歯根面におけるバイオフィーム付着前後の形態を走査電子顕微鏡(SEM)により観察した。

【材料及び方法】

試料の作製にはウシ前歯歯根を用いた。歯根部歯周組織を除去した後、約 5.0mm×5.0mm の象牙質試片を作製した。唇側を耐水研磨紙にて平坦面を露出後、ダイヤモンドペースト 0.25μm まで研磨を行い試料とした。試料はコントロール(塗布なし)、サホライド液歯科用 38%、サホライド・RC 液歯科用 3.8%(BeeBrand Medico Dental, Japan)、RivaStar (SDI, Australia)を塗布したものを各々4つ作製した。サホライド液歯科用 38%、サホライド・RC 液歯科用 3.8%はそれぞれマイクロブラシにて 10 秒間塗布、塗布開始から 3 分後に 10 秒間水洗、10 秒間乾燥した。また RivaStar も同様に試料に 38%SDF 溶液を 10 秒間塗布した直後にヨウ化カリウム溶液を溶液の乳白色が透明になるまで塗布し、1 液目塗布開始から 3 分後に 10 秒間水洗、10 秒間乾燥した。

供給細菌として *Streptococcus mutans* MT8148(*S. mutans*)を用い、Brain Heart Infusion(BHI)液体培地にて培養後、リン酸緩衝液(PBS)中で洗菌し、再懸濁した細菌懸濁液(OD₄₉₀=0.55)を準備した。人工口腔装置(Oral Biofilm Reactor ; OBR)内に作製した試料を固定し、上記の *S. mutans* 懸濁液、1%スクロース含有 Heart infusion(HI)、PBS を連続的に 20 時間滴下させ、試料表面に sucrose dependent バイオフィームを形成した。グルカン量(WIG)の測定は、フェノール硫酸法を用い、分光光度計(Model 680 Microplate Reader, Bio-Rad, USA)を用いて測定し、*S. mutans* の濁度(OD)も測定したのち統計処理を行った。

また SDF 系材料を塗布した試料に対し同様に *S. mutans* を連続的に 2 時間滴下させ、初期バイオフィームを形成し、SEM によるバイオフィーム形成前後の試料表面の観察と、LIVE/DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit (Molecular Probes, Invitrogen, USA)を用いた染色による、蛍光顕微鏡(DP70, Olympus, Japan)による生死判定を行った。

【結果及び考察】

コントロール群と比較し、3 群とも *S. mutans* の OD と WIG は有意に少なく、SDF によるバイオフィーム付着抑制効果が認められた。また OD、WIG は共に 38%SDF、3.8%SDF、RivaStar の順に少ない傾向を示した。試料表面の SEM 観察の結果、38%SDF 群では象牙細管の閉鎖が観察された一方、正常のバイオフィームの形成、象牙細管への *S. mutans* の侵入は観察されなかった。3.8%SDF 群、RivaStar 群では象牙細管の閉鎖は観察されなかった一方、正常なバイオフィームの形成、象牙細管への *S. mutans* の侵入が観察された。

BacLight 染色による蛍光顕微鏡観察の結果、38%SDF 群で *S. mutans* の死滅が認められた。これらから 38%SDF はバイオフィームの付着を制御し、さらにう蝕バイオフィーム内に存在するう蝕病原菌に対し殺菌効果を持つことが確認された。

【結論】

歯根面への 38%SDF 塗布はバイオフィーム付着抑制効果を有し、3.8%SDF、RivaStar と比較してバイオフィーム内のう蝕病原菌に対し殺菌効果があることがわかった。

多種イオンによる根面象牙質のう蝕抑制の検討

- 1) 大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)
2) 北海道医療大学歯学部 う蝕制御学分野 3) 朝日大学歯学部 歯科理工学分野
4) 大阪大学大学院工学研究科マテリアル生産科学専攻
○内藤 克昭¹⁾, 八木 香子¹⁾, 山本 洋子¹⁾, 松田 康裕²⁾, 岩見 行晃¹⁾, 奥山 克史³⁾, 林 美加子¹⁾
石本 卓也⁴⁾, 中野 貴由⁴⁾

Investigation of inhibition of dental caries for human root dentin by various ions

- 1.Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology
2.Health Sciences University of Hokkaido Graduate school of Dentistry, Division of Clinical Cariology and Endodontology
3.Asahi University School of Dentistry, Department of Dental Materials Sciences
4. Division of materials and manufacturing science, graduate school of engineering,Osaka university
OKatsuaki NAITO¹, Kyoto YAGI¹, Hiroko YAMAMOTO¹, Yasuhiro MATSUDA², Yukiteru IWAMI¹, Katsushi OKUYAMA³,
Mikako HAYASHI¹, Takuya ISHIMOTO⁴, Takayoshi NAKANO⁴

[研究目的]

根面う蝕を抑制するために、バイオミネラリゼーションを促進する材料開発が進められている。我々は第147回日本歯科保存学会秋季学術大会にて、In-air micro-beam particle induced X-ray/ γ -ray emission (PIXE/PIGE)法を用いた歯質内の多元素分析について、定量測定が可能であることを報告した。本研究では、上記方法を用いてバイオアクティブな材料から歯質内へ浸透したカルシウム(Ca)、フッ素(F)、亜鉛(Zn)、ストロンチウム(Sr)の分布を評価した。さらに耐酸性を μ CTにて検討し、両者の関係を調べた。

[材料および方法]

24歳から31歳までのヒト健全第3大臼歯を使用した(n=8)。セメントエナメル境から歯冠側に0.5mm、歯根側に7mmの位置で歯軸と垂直方向に切断した。次に頬舌側面を歯軸に並行に切断し、根面象牙質を露出させた。頬舌および近遠心方向に半折し、4ブロックに切り分けた。露出根面象牙質以外をスティッキーワックスで被覆し、下記材料[①FujiVII®(Fuji7群)、②FujiVII®の成分からSr/Caのmol%比を50/50に変化させた試作セメント(Fuji7Ca群)、③ZnF₂を含有した試作塗布材:GC社(ZnF群)]を露出根面象牙質に塗布し、材料を塗布しない試料をコントロール群とした。湿度100%、気温37°C下にて1日保管後、生理食塩水10ml中に浸漬した。生理食塩水は一週間ごとに交換した。3ヶ月後、材料をナイフで除去し、各ブロックを露出根面象牙質に対し垂直かつ歯軸と平行になるように厚さ500 μ mに切断し、測定試料とした。

歯質内のCa、F、Zn、Srの面分析を第147回本学会の報告と同様、PIXE/PIGE法にて既報⁽¹⁾に従って行った。

その後、露出根面象牙質を除いてスティッキーワックスで被覆し、脱灰溶液(50mmol/l acetate buffer, 2.2mmol/l CaCl₂, 2.2mmol/l KH₂PO₄, pH 5.0)に3日間浸漬した。脱灰前後の歯質を μ CTで撮影し、各群における脱灰前後でのミネラル密度の変化を比較検討した。さらにミネラル密度と各種イオン濃度との相関関係について、Pearson's correlation coefficient analysisを用いて調べた。

なお、本研究は大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認下で実施した。(承認番号:H25-E28)

[結果および考察]

ZnF群は他の群と比較して、象牙質内の亜鉛濃度が有意に高かった(One-way ANOVA and Tukey multiple comparison tests; $p < 0.05$)。ZnF群とFuji7Ca群は、コントロール群と比較してミネラル喪失量が有意に少なかった。脱灰深さは、材料群とコントロール群との間で有意差を認めた。材料間では、ミネラル喪失量および脱灰深さに有意差は認められなかった。亜鉛濃度とミネラル喪失量において、負の相関関係を認めた。

本研究を通じて、亜鉛は象牙質におけるう蝕抑制に効果があることが示された。今後、各種イオンのう蝕抑制効果のメカニズムを明らかにしていき、バイオミネラリゼーションの理解を促進する新規材料の開発に寄与したい。

[参考文献]

- (1)H.Komatsu et al: Nucl Instr and Meth B 269 (2011): 2274-2277

本研究の一部は科学研究費補助金(JP17H04382,JP17K11705)および2017IADR innovation Oral Care Awardの補助のもとに行われた。

根面う蝕病巣の乾燥による硬さの変化

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○清水明彦

Rehardening of Root Caries Lesions by Drying

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine

○Akihiko Shimizu

【研究目的】

う窩の形成された根面う蝕は、プラークや食渣の停滞・貯留を招きう蝕が急速に進行し歯が破折する危険性も高い。一方根面う蝕は、修復するにしても切削すべき範囲の見極めが極めて難しく、エビデンスに基づいた治療法も確立されていない。そのような状況を踏まえ、演者は第 145 回本学会において、根面う蝕を切削せずに乾燥させ、歯面コーティング材を塗布する治療法を提案した。今回の研究目的は、湿潤状態のう蝕病巣の硬さが乾燥に伴いどう変化するかを、ヒト抜去歯の根面う蝕を用いて調べることである。

【材料および方法】

10%中性ホルマリンに保存されたヒト抜去歯の中から根面にう蝕を有する歯 9 本を選び(兵庫医科大学倫理審査委員会承認番号 2259)、湿潤状態と乾燥状態でう蝕病変部のビッカース硬さ(HV)を調べた。

実験 1 : 5本の被験歯は、う蝕の矢状断面において湿潤状態および乾燥状態での硬さを測定した。即ち、被験歯を根面う蝕の断面が露出するまで注水下ですり減らし鏡面研磨した後、微小硬度計(MVK-E、明石)を用いてう蝕表層部から象牙細管の走行に沿って歯髄方向に50 μ m間隔で硬さを測定し、まず湿潤状態における「硬さ-深さ曲線」を求めた。次いで1時間自然乾燥後の硬さを測定し、先に求めた硬さ曲線と重ね合わせて比較した。

実験 2 : 被験歯をう窩の存在する面から注水下ですり減らし、う窩の底部を構成している軟化象牙質を露出させ鏡面研磨した。このようにして4本の被験歯で得られた研磨面において計21ヵ所の小範囲を設定し、湿潤状態でHVを測定した(ベースライン)。次いで30、60、90、180分間自然乾燥させた後に、それぞれの小範囲内でHVを測定した。

【成績】

実験 1 : 湿潤状態で測定した硬さ-深さ曲線に、乾燥状態で測定した硬さ曲線を重ね合わせたところ、う蝕表層側の軟化部において硬さが回復することが観察された。

実験 2 : 設定した21ヵ所のベースライン(湿潤状態)における平均硬さ(SD)は3.4(2.2)HVであり、自然乾燥180分後の平均硬さ(SD)は9.6(2.8)HVであった。またベースラインの硬さで、5HV未満のう蝕(n=14)と5HV以上10HV未満のう蝕(n=7)の2つのグループに分けると、前者のう蝕の平均硬さ(SD)は2.1(1.1)HVであり、乾燥に伴い平均硬さは4.7(30分後)、5.5(60分後)、8.7(90分後)、9.4(180分後)となった。一方後者のう蝕の平均硬さ(SD)は6.1(1.1)HVであり、乾燥に伴い平均硬さは8.1(30分後)、9.0(60分後)、9.6(90分後)、10.0(180分後)となった。

【考察】

う蝕の硬さはヌーブ硬さで評価されることが多いが、今回は被測定面が乾燥に伴い収縮し凹面になるため、ヌーブ庄子ではなくビッカース庄子を使用した。湿潤状態と乾燥状態で硬さ-深さ曲線を比較したところ(実験1)、う蝕の表層側の軟化部分が乾燥により硬さを回復することが分かった。そこで実験2は、臨床で根面う蝕の硬さを評価する場合を想定し、う窩底部を構成している軟化象牙質の硬さが乾燥に伴いどう変化するかを調べた。すると湿潤状態(ベースライン)で平均硬さが3.4HVであった軟化象牙質は、乾燥により9.6HVまで硬さを回復することが示された。このように、湿潤状態では極めて軟らかいう蝕病巣が、乾燥すると約3倍も硬くなることから、臨床で硬さを指標に根面う蝕の活動性や再石灰化を評価する場合には、それが再石灰化による硬さの回復なのか、それとも単に乾燥によるものを区別できるよう、あらかじめう窩の乾燥方法や乾燥条件を設定することが大切であろう。

【結論】

湿潤状態でビッカース硬さが3.4HVの根面う蝕は、自然乾燥180分後には9.6HVまで3倍近くも硬くなることが、ヒト抜去歯を用いた*in vitro*実験で示された。

Micro-CT を用いたフッ化ジアンミン銀系材料の歯根面象牙質脱灰抑制効果の評価

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野¹

東京歯科大学保存修復学講座²

○清水 美透¹, 松井 七生子¹, 半場 秀典^{1,2}, 大林 翔¹, マハムド サイド¹, 高橋 基¹, 二階堂 徹¹, 田上 順次¹

Evaluation of the effect of silver diamine fluoride on inhibition of root dentin demineralization : A quantitative assessment using Micro-CT

¹ Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

² Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology, Tokyo Dental College

○Miyuki Shimizu¹, Naoko Matsui¹, Hidenori Hamba^{1,2}, Sho Obayashi¹, SAYED MAHMOUD¹, Motoi Takahashi¹,
Toru Nikaido¹, Junji Tagami¹

【研究目的】

我が国は超高齢社会を迎え、高齢者の根面う蝕が増加しており、その予防と抑制が歯科での重要な課題となっている。38%フッ化ジアンミン銀(SDF)には銀イオン 253,900ppm とフッ化物イオン 44,800ppm が含まれ、銀イオンの抗菌作用に加え、高濃度フッ化物イオンによる歯質への脱灰抑制効果が期待され、種々の SDF 関連商品が発売されて臨床応用されている。近年では、SDF 塗布による歯質の変色を抑制する目的で、SDF 塗布後にヨウ化カリウム溶液を追加塗布し、変色抑制を試みる方法も提案されている。しかし、異なる SDF 系材料の脱灰抑制効果を比較検討した研究はまだない。そこで本研究は、各種 SDF 系材料のウシ前歯歯根面象牙質に対する脱灰抑制効果を比較検討することを目的とした。

【材料と方法】

抜去後凍結保存したウシ前歯歯根を用いた。歯根部歯周組織を除去した後、精密低速切断機 (Isomet, Buehler, USA) にて約 3.0×5.0×3.0mm に切り出し、歯根象牙質表面が露出するようにエポキシ樹脂包埋した。次に象牙質表面を耐水研磨紙にて#1500 まで研削後、ネイルパーニッシュ (Revlon, USA) を用いて処理面を 2.0×4.0mm に規定した。試料表面は未処理 (コントロール)、またはサホライド液歯科用 38% (38%SDF)、サホライド・RC 液歯科用 3.8% (3.8%SDF) (BeeBrand Medico Dental, Japan)、Riva Star (38%SDF+KI) (SDI, Australia) にて処理した。38%SDF と 3.8%SDF ではマイクロブラシにて 10 秒間塗布、塗布開始から 3 分後に 10 秒間水洗、10 秒間乾燥した。また 38%SDF+KI 群においては、38%SDF 溶液を 10 秒間塗布した直後にヨウ化カリウム溶液 (KI) を溶液の乳白色が透明になるまで塗布し、1 液目塗布開始から 3 分後に 10 秒間水洗、10 秒間乾燥した。各試料は、人工脱灰液[2.2 mM Ca, 2.2 mM P, 50 mM buffer (acetic acid, pH 4.5, 37°C)] に 7 日間浸漬した (脱灰液は 24 時間ごとに交換した)。試料表面の脱灰前後のミネラルの変化を高解像度マイクロ CT (InspeXio SMX-100CT, SHIMADZU, Japan) にて解析し、TRI/3D-BON, DIF, TMD (RATOC, Japan) にてミネラル喪失量を算出した。統計については一元配置分散分析を行い、多重比較を行った。また、SDF 系材料塗布直後、並びに脱灰後の象牙質表面および断面を走査電子顕微鏡 (SEM) にて観察した。

【結果および考察】

マイクロ CT 像の結果から、38%SDF 群では最表層に高いミネラル密度領域が観察され、脱灰深さは最も小さかった。3.8%SDF 群及び 38%SDF+KI 群ではコントロール群に比べ、脱灰深さの減少を認めた。

ミネラルプロファイルおよびミネラル喪失量の結果から、38%SDF 群は 3.8%SDF 群及び 38%SDF+KI 群と比較して、高い脱灰抑制効果を示すことがわかった。38%SDF+KI 群では、38%SDF 群と同様に 44,800ppm のフッ素を含むが、KI の塗布によって試料表面の変色が抑制された一方で、象牙質に対する脱灰抑制効果の低下が認められた。

【結論】

38%SDF は、3.8%SDF、38%SDF+KI に比べて高い象牙質脱灰抑制効果を示した。

側枝検出可能な電氣的根管長測定器での側枝開放角度検出に関する研究

¹東北大学大学院歯学研究科歯内歯周治療学分野、²岡歯科医院 (仙台市)

○¹庄司 茂、¹丸山顕太郎、¹根本英二、¹山田 聡、²須藤圭一

Comparing study on detection ability to find lateral canal opened direction using an electric apex locator

¹Department of Periodontics and Endodontics, Tohoku University Graduate School of Dentistry,

²Oka dental clinic (Sendai city)

○¹SHOJI SHIGERU, ¹MARUYAM KENTAROU, ¹NEMOTO EIJI, ¹SATORU YAMADA, ²SUDOH KEIICHI

【序文】

我々はこれまで、歯科慢性疼痛原因の一つである側枝を、電氣的根管長測定器で検出するために研究を行ってきた。まず第九回世界歯内療法学会で、人口根管側枝模型を用いて側枝の高さ検出が可能であることを示した。第36回日本歯内療法学会では、側枝の開口方向も検出可能であることを示した。次に、第37回日本歯内療法学会では、実際の臨床で側枝の高さ及び開口方向を検出することが可能であることを示した。ただ、装置の開発について相談に行った独立行政法人 医薬品医療機器総合機構より、術者間の差の検証を指導された。そこで、第38回日本歯内療法学会で、術者間で側枝の高さや開放角度の検出に差はないものの、開放角度の偏差値が50度と大きかったことを報告した。

本研究は、試作電氣的根管長測定器を用いて、人口側枝根管模型での側枝の開放方向を、術者の手と新たに試作した自動回転式開放角度測定器との測定精度を比較した。

【実験方法】

レジンの人工根管 (ニッシン製) に以下の条件で側枝を作製した。根尖孔の太さ : #15、#30、#45、側枝の設定位置 (高さ : 根尖孔から歯冠側方向への長さ) : 2.5mm, 3.5mm, 4.5mm、側枝の太さ : #15, #20, #25 で、これらを組合せて実験を行った。測定者は測定経験、4年、23年、41年の三人が行った。

側枝を含めて人工根管を生理食塩水でみたしたものを電気導線を含んだウォーターバス (生食水) に入れた後、人口根管側枝が見えないように布でカバーをして、手と新たに試作した自動回転式開放角度測定器を用いて側枝開放角度測定を行った。

実験結果の統計解析は、得られたデータの手と装置の比較に関しては独立した2群の差の検定を行い、術者間の比較はパートレット検定後に一元配置分散分析を行った。

【結果】

手で行った測定では、側枝の位置が根尖孔から2.5mmの条件で、根尖孔の太さが#30と#45、側枝の太さが#15の条件では検出が出来なかったが、自動回転式開放角度測定器では測定が可能であった。

設定した側枝開放角度測定の平均値では、手と自動回転式開放角度測定器の差は30度、標準偏差は手で±50度、自動回転式開放角度測定器では±30度であった。手と装置での測定の比較では統計学上有意差はみられたものの、術者間に有意差はみられなかった。

【考察】

今回設定した組み合わせ条件で (根尖孔の太さ : #30と#45で側枝の高さ : 2.5mm、側枝の太さ : #15) では、手での側枝検出が不可能であった。これは、根尖孔の太さが大きいため電流が大きく根尖孔方向へ流れ、根尖孔から2.5mmと近く、太さが#15と細い側枝を流れる電流量との差を手ブレのために検出出来なかったと考えられる。

【まとめ】

今回新たに開発した自動回転式開放角度測定器は、細い側枝であっても測定可能で、術者に関わらず側枝を検出可能であったことから、臨床的に有効な装置を考えられた。

マウスモデルを用いた根尖性歯周炎発症過程の解析

¹ 東北大学大学院歯学研究科口腔修復学講座歯科保存学分野

² 東北大学大学院歯学研究科歯学イノベーションリエンセンター

³ 新潟大学大学院歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野

○長谷川達也¹、半田慶介¹、田中利典¹、矢島健大²、野村由一郎³、齋藤正寛¹

Analysis for developmental process of periapical periodontitis using mice model

¹Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

²Liaison Center for Innovative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

³Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Tatsuya HASEGAWA¹, Keisuke HANDA¹, Toshinori TANAKA¹, Takehiro YAJIMA², Yuichiro NOIRI³, Masahiro SAITO¹

【目的】

根尖性歯周炎の発症メカニズムは根尖孔外への感染で引き起こされる炎症により誘導される免疫細胞と、炎症性サイトカインが引き起こす根尖歯周組織破壊で進行することが一般的に知られている。悪化すると嚢胞を形成し持続的に炎症性サイトカインを産生することで周囲の歯周組織破壊を促進するばかりでなく、自己免疫疾患、循環器疾患、内分泌疾患の悪化に関わることから、全身疾患の増悪因子になることが知られている。このような背景があるにも関わらず、根尖病変発症過程における組織破壊に関わる炎症性サイトカインの同定および免疫細胞の動態等の分子病態機構に関して不明な点が残されている。そこで本研究はマウス根尖性歯周炎モデルを用いて、根尖部歯周組織の破壊過程における炎症性細胞の動態の解析を進めた。

【材料および方法】

本研究は「国立大学法人東北大学における動物実験等に関する規程」を遵守し、国立大学法人東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会の許可のもと実施した（承認番号：2015 歯動 047-1）。

- 1) 歯根完成期と根尖閉塞時期の同定：4～12 週齢雄マウス (C57BL6) 下顎第一臼歯歯根の根管幅径と根管長に関してそれぞれマイクロ CT (ScanXmate-E090) を用いて解析 (TRI/3D-BON) を行なった。
- 2) 根管開放による根尖性歯周炎モデルの確立：10 週齢雄マウスに腹腔内全身麻酔を施した後、マイクロスコープ下で下顎第一臼歯に対して 1/4 径ラウンドバーを用いて髓室開拓を行った。その後、#06 手用ファイルを用いて根管口明露を行い、経時的变化を観察する目的で術後 3, 7, 14, 21, 28 日まで口腔内環境に暴露させた。
- 3) 病変形成過程の観察：2) の実験を実施後に屠殺し、下顎骨を摘出し 4%PFA で 2 日間固定処理を行なった。その後マイクロ CT 解析 (TRI/3D-BON) にて病変形成過程を定量的に評価した。
- 4) 病変の組織学的解析：20%EDTA-PBS にて脱灰後、凍結切片を作製した。免疫細胞の動態を解析するため、H-E 染色、抗 Ly6g および抗 MMP9 抗体を用いた免疫蛍光染色を行ない、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM780) で解析した。

【結果】

マイクロ CT 解析の結果、10 週齢で歯根長が 1.6mm、歯根幅が 0.10mm で閾値に達することから、対象となる週齢を 10 週齢とした。根尖病変の経時的变化に関しては、マイクロ CT 解析により病変体積が Control (非露髄) と術後 28 日で有意差 ($P < 0.05$) があることが確認された。病変体積は経時的に増加することが確認され、特に術後 14 日以降 28 日までに顕著に増加することが確認された。H-E 染色の結果から術後 3, 7 日において血管透過性亢進と炎症性細胞浸潤が顕著に認められ術後 14 日以降は線維性結合組織と毛細血管の増加が確認された。免疫蛍光染色の結果から、術後 3, 7 日において根尖部周辺の歯周組織に Ly6g 陽性の好中球浸潤と MMP9 の発現が確認されたが、術後 14 日ではこれらの反応は低下した。術後 21, 28 日においては Ly6g 陽性の好中球浸潤と MMP9 の発現はいずれも確認されなかった。

【結論】

今回の結果から C57BL6 マウスにおいて形態学および組織学的解析より急性炎症を惹起する根尖性歯周炎モデルを確立できたことが確認された。本モデルでは初期過程で好中球主体の炎症反応を引き起こすが、後半は好中球以外の炎症性細胞が引き起こす慢性炎症により組織破壊が進行する可能性が示唆された。今後、樹状細胞、マクロファージ、B および T リンパ球を含む炎症性細胞の動態を解析し、根尖部歯周組織の破壊機構を明らかにする必要性が示された。

ラット臼歯歯髄における創傷治癒時のアスコルビン酸輸送経路とその機能解析

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

○大倉直人、遠間愛子、竹内亮祐、枝並直樹、吉羽永子、吉羽邦彦、野杵由一郎

Analysis of ascorbic acid transport and function in Rat Model for Wound Healing of Dental Pulp

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

○OHKURA Naoto, TOHMA Aiko, TAKEUCHI Ryosuke, EDANAMI Naoki, YOSHIBA Nagako,
YOSHIBA Kunihiko, NOIRI Yuichirou

【目的】

アスコルビン酸は生体内において、プロリンのヒドロキシル化にとって重要な因子であり、骨や象牙質の有機マトリックスの主成分であるコラーゲンの安定化に深く関与しており、その生合成や分泌に必須である。また、アスコルビン酸は sodium-dependent vitamin C transporter (Svct) 2 や glucose transporter (Glut) 1 と呼ばれる輸送担体によって細胞内輸送を可能にすることが報告されている。本研究では、歯髄創傷治癒時においてもアスコルビン酸が深く関与していると仮説を立て、アスコルビン酸の輸送経路の解明と、アスコルビン酸の機能について遺伝性アスコルビン酸合成不能ラット(ODS ラット)を用いてその機能解析を行った。

【材料および方法】

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した(承認番号;SA00212)。8週齢雄性 Wistar 系ラットの上顎左側第一臼歯をラウンドカーバイドバーで露髄させ、MTA (White ProRoot MTA; Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK)で覆髄し、その後フロアブルコンポジットレジン (Beautiful Flow; Shohu, Kyoto, Japan)で充填を行った。上顎右側第一臼歯は未処置の対照群として用いた。覆髄後 1,3,5,7 日目に灌流固定を行い、上顎骨ごと摘出し、4週間脱灰させた後、パラフィン切片を作製し、Svct2 と Glut1 の局在について酵素抗体法による詳細な解析を行った。また上顎第一臼歯から、RNA 抽出キット (TRIzol, Life technologies)で mRNA を抽出後、real-time PCR 法によって処置群における 1,3,5,7 日後の *Slc23a2* (encoding Svct2)と *Slc2a1* (encoding Glut1) mRNA の発現量について未処置歯を対照群とし、 β アクチン発現量を内部標準とした Dunnett 検定による経時的比較解析を行った。さらに、ODS ラットをアスコルビン酸投与群(n=6, 1mg/ml)と非投与群(n=6, 処置1週間前からアスコルビン酸非投与)に無作為に分類後 MTA 覆髄を施行し、7日後の Nestin(象牙芽細胞の分化マーカー)、Osteopontin, Collagen type I の局在について酵素抗体法によって解析した。

【結果】

正常歯髄での酵素抗体法による免疫染色反応では象牙芽細胞、血管内皮細胞、歯根膜細胞および神経線維の一部において Svct2/Glut1 の陽性反応を認めた。創傷治癒過程では、覆髄後 1 日の歯髄細胞では Svct2/Glut1 陽性細胞ともに認められなかったが、MTA 覆髄 3 日後で象牙芽細胞を含めた多くの歯髄組織内の細胞に Svct2/Glut1 陽性反応を認め、5 日後では被蓋硬組織が形成されはじめた覆髄部直下で Svct2/Glut1 陽性の象牙芽細胞様細胞が確認された。7 日後では、被蓋硬組織に沿って円柱状に配列した Svct2/Glut1 陽性の象牙芽細胞様細胞が認められた。覆髄後における *Slc23a2* および *Slc2a1* ともに mRNA 発現量は未処置歯群と比較して 3 日後をピークに有意に増加した(P<.01)。ODS ラットを用いた免疫組織学的解析では、アスコルビン酸投与群では創傷部直下において被蓋硬組織が形成し、nestin 陽性細胞の象牙芽細胞様細胞が観察され、さらに Osteopontin と Collagen type I の陽性反応を認めた。一方、非投与群での創傷部直下では被蓋硬組織の形成と Collagen type I の陽性反応を認めないものの、nestin 陽性細胞の象牙芽細胞様細胞と肥厚した Osteopontin 陽性の層が確認された。

【考察】

MTA 覆髄3-5日後に Svct2 と Glut1 による創傷部位へのアスコルビン酸供給経路と代謝経路が形成されていたことが示唆された。さらに歯髄創傷治癒時におけるアスコルビン酸の役割が、象牙芽細胞様細胞への分化ではなく、被蓋硬組織形成のスタート時から Collagen type I の産生に重要な因子である可能性が示唆された。

【結論】

歯髄修復過程において、Svct2/Glut1 ともに処置後 3 日後から 5 日後にかけて局在と遺伝子発現量の時空間的变化が観察され、さらに ODS ラットにアスコルビン酸を投与することで Collagen type I の生成が観察された。

Semaphorin 3A による修復象牙質形成過程への Sonic hedgehog シグナルの関与

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 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
○吉田晋一郎¹、糸山知宏²、長谷川大学¹、有馬麻衣²、友清淳¹、
濱野さゆり^{2,3}、杉井英樹¹、野津葵²、和田尚久⁴、前田英史^{1,2}

The involvement of Sonic hedgehog signaling in reparative dentin formation induced by Semaphorin 3A.

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

○Shinichiro Yoshida¹, Tomohiro Itoyama², Daigaku Hasegawa¹, Mai Arima², Atsushi Tomokiyo¹,
Sayuri Hamano^{2,3}, Hideki Sugii¹, Aoi Nozu², Naohisa Wada⁴, Hidefumi Maeda^{1,2}

【背景】口腔内の器官発生に重要な役割を果たす Sonic hedgehog (Shh)シグナルは、修復象牙質形成にも関与することが報告されており、その標的因子である Glioma-associated oncogene 1 (Gli1) は未分化な細胞に発現することが報告されている (Zhao et al., Cell Stem Cell, 2014)。我々はこれまでに、Semaphorin 3A (Sema3A) を過剰発現させたヒト歯根膜細胞において多能性幹細胞関連因子の発現が上昇し、多分化能を獲得することを報告している (Wada et al., Stem Cells Dev, 2013)。一方、ヒト歯髄幹細胞 (hDPSC) においては、Sema3A が Wnt/ β -catenin canonical 経路を介して歯髄幹細胞の象牙芽細胞様細胞分化を促進し、直接覆髄後に象牙細管構造を伴った修復象牙質形成を促進することを明らかにしている (Yoshida et al., J Dent Res, 2016)。そこで Sema3A は、ヒト歯根膜細胞と同様の作用を hDPSC にも示し、hDPSC をより未分化な状態にして象牙芽細胞分化を促進させるのではないかと仮説を立てた。

本研究では、Sema3A による修復象牙質形成過程に Shh シグナルが及ぼす影響について検討することとした。

【材料と方法】細胞は hDPSC (Yoshida et al., J Dent Res, 2016)を用いた。(1) SD ラット(5 週齢、雄性)の上顎切歯部の組織切片を用いて、抗 Sema3A 抗体および抗 Gli1 抗体による免疫蛍光染色を行った。(2) 10 ng/ml の Sema3A 存在下で培養した hDPSC における Gli1 ならびに多能性幹細胞関連因子(Sox2, Nanog, E-cadherin, Oct3/4)の遺伝子発現を定量的 RT-PCR 法にて検討した。また、hDPSC における石灰化物形成能を Alizarin red S 染色法にて検討した。(3) ラット露髄モデル (Wistar ラット、8 週齢、雌性)を用いて Sema3A あるいは PBS (陰性コントロール)による直接覆髄 1, 2, 5 日後の露髄面直下歯髄組織における Gli1 の発現について、免疫組織化学的染色法により検討した。すべての実験は九州大学大学院歯学研究院生命倫理委員会および九州大学動物実験委員会の承認の下で行った。

【結果】(1)免疫蛍光染色の結果、サービカルループに強い Sema3A 陽性反応を認め、根尖部前象牙芽細胞および象牙芽細胞にも Sema3A 陽性細胞が認められた。一方 Gli1 陽性反応はサービカルループをピークに根尖部前象牙芽細胞から切端側象牙芽細胞にかけて、その陽性反応が減弱することが観察された。(2) 10 ng/ml の Sema3A を添加して 24 時間培養した hDPSC では、非添加群と比較して、Gli1 に加えて Sox2, Nanog, E-cadherin, Oct3/4 の遺伝子発現が有意に亢進した。また、1, 10, 100 ng/ml の Sema3A を 2 週間添加し、その後石灰化誘導培地のみで 2 週間培養した hDPSC では、Sema3A 非添加で 4 週間培養した hDPSC と比較して石灰化物形成が促進した。(3)免疫組織化学的染色の結果、Sema3A 群では直接覆髄 1 日後の歯髄組織には Gli1 陽性細胞数は認められなかったが、2, 5 日後の歯髄組織では Gli1 陽性細胞数の増加が認められた。一方、PBS 群では Gli1 陽性細胞数の増加は認められなかった。

【考察】Sema3A 刺激により hDPSC における Gli1 および多能性幹細胞関連因子の発現が上昇し、Sema3A を培養期間 4 週間の最初の 2 週間のみ添加して培養したヒト歯髄幹細胞における石灰化物形成が促進したことから、Sema3A はヒト歯髄幹細胞をより未分化な状態にして分化能を亢進させる可能性が示唆された。ラット切歯のサービカルループ、前象牙芽細胞および象牙芽細胞において Sema3A, Gli1 陽性反応が認められたことに加えて、Sema3A を用いた直接覆髄後の露髄面直下歯髄組織において Gli1 陽性細胞が増加したことから、Sema3A によるヒト歯髄幹細胞の象牙芽細胞分化ならびに修復象牙質形成過程において、Shh シグナルが関与している可能性が示唆された。

【結論】(1) Gli1 は前象牙芽細胞および象牙芽細胞に発現する。(2) Sema3A はヒト歯髄幹細胞における Gli1 ならびに多能性幹細胞関連因子の遺伝子発現を上昇させ、石灰化物形成を促進する。(3) Sema3A を用いた直接覆髄後の歯髄組織において Gli1 の発現は上昇する。

新規コンポジットレジン充填材 (ECM-001) の色調適合性の評価

北海道大学大学院歯学院歯科保存学教室

○陳 菲、 戸井田 侑、 イスラム ラフィクル、 川本 千春、 池田 考績、 佐野 英彦

Color matching of newly developed composite resin (ECM-001)

Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

○Chen Fei, Yu Toida, Islam Rafiqul, Chiharu Kawamoto, Takatsumi Ikeda, Hidehiko Sano

【緒言】

現在、コンポジットレジン修復において、レイヤリングテクニックは様々な色調の材料を組み合わせることによって色調適合性を向上させている。しかしながら、この手法は術者の技術的な影響が大きい。そこで、単一シェードで審美的な色調再現性を可能にするために、フィラーの形状を調整することによる構造色を利用した新規コンポジットレジンが開発された。そこで、本研究では、規格窩洞に各種コンポジットレジンを充填し、色調適合性の評価を行った。

【材料および方法】

ECM-001 (ECM, シェード: U, トクヤマデンタル)、Essentia (ESS, シェード: U, GC)、Filtek™ Supreme Ultra (SUP, シェード A3B, 3M) を充填材として用いた。エステライトΣクイック (シェード: A2, A3, A4) を用いてレジンプロック (直径 10mm, 高さ 5mm) を作成し、中央部に窩洞 (直径 4 mm, 高さ 2 mm) の規格窩洞模型 (直径 10 mm, 高さ 5 mm) を作製した。接着システムとしては、ボンドマーライトレス (トクヤマデンタル) を使い、メーカー指示に従いボンディング操作を行った。次いで、ECM, ESS, SUP, をそれぞれを上記窩洞に充填し、研磨を行った。色調適合性の評価には、二次元色彩計 (RC500, PaPaLaB Co.) を用いて、白色・黒色板背景のもとレジン充填部と窩洞周囲の測定を行った。光源には D65 を使用した。その後、24 時間 37 °C 水中浸漬後、試料の水分を除去し再度測定を行った。測定には CIE LAB 表色系を使用し、レジン充填部と窩洞周囲の色差 (ΔE^*) を算出して評価を行った。統計処理は Two-way ANOVA 及び Bonferroni で補正された t-test を用いて有意水準 5% で統計学的分析を行った。

【結果及び考察】

Two-way ANOVA では ΔE^* は材料と窩洞周囲のシェードに影響された ($p < 0.05$)。ECM の ΔE^* は他の材料 (ESS, SUP) に対して有意に低い値を示した。

【結論】 ECM は様々なシェードの人工窩洞 (A2, A3, A4) において単一シェードで ESS と SUP に対して、良好な色調適合性を示すことが示唆された。

Table1: The ΔE^* values of each product and shade on white and black backing immediately

Immediately White	A2	A3	A4	Immediately Black	A2	A3	A4
ECM	1.02±0.32 ^a	1.64±0.66 ^c	5.42±0.73 ^e	ECM	1.92±1.18 ^a	3.51±1.57 ^c	7.37±1.50 ^e
ESS	2.90±0.33 ^b	2.41±0.63 ^d	8.86±0.64 ^f	ESS	3.6±0.38 ^b	3.46±1.00 ^d	9.95±1.05 ^f
SUP	2.17±0.62 ^b	3.34±0.83 ^d	9.26±0.73 ^f	SUP	3.85±0.59 ^b	5.04±0.48 ^d	10.34±0.64 ^f

Table2: The ΔE^* values of each product and shade on white and black backing after 24 hour

24 hour White	A2	A3	A4	24 hour Black	A2	A3	A4
ECM	1.07±0.48 ^a	0.86±0.24 ^c	4.63±0.72 ^e	ECM	1.06±0.36 ^a	1.97±0.61 ^c	5.70±0.81 ^e
ESS	2.94±0.73 ^b	3.48±0.57 ^d	9.12±0.53 ^f	ESS	3.67±0.87 ^b	4.71±0.75 ^d	10.22±0.14 ^f
SUP	2.70±0.64 ^b	3.47±0.53 ^d	9.34±0.45 ^f	SUP	3.32±0.57 ^b	4.73±0.73 ^d	10.57±0.69 ^f

Same letter indicates no significant difference ($p > 0.05$).

新規ユニバーサルコンポジットレジン「ECM-001」の光学的特性

株式会社トクヤマデンタル

○秋積 宏伸、吉良 龍太、松尾 拓馬、森崎 宏、平田 広一郎

Optical characteristic of new universal resin composite ECM-001

Tokuyama Dental corporation

○Hironobu Akizumi, Ryuta Kira, Takuma Matsuo, Hiroshi Morisaki, Koichiro Hirata

【緒言】

歯科充填用コンポジットレジンを用いた修復治療はその利便性、優れた審美性から広く臨床に受け入れられている。市販されているコンポジットレジンには修復部位や個人差に対応するために、色調、透明性の異なる数種類から数十種類のペーストで構成されており、優れた審美性を得るために煩雑なシェードテイキングを必要としていた。そこで、当社ではスープレナノ球状フィラーの持つ構造発色性を応用し、単一のペーストで幅広い色調適合性を有する新規ユニバーサルコンポジットレジン「ECM-001 (以下、ECM)」を開発した。本研究では、ECMの光学的特性について既存製品と比較評価を行った。

【材料及び方法】

実験には、ECM (トクヤマデンタル)、エステライトフロックイック (シェードCE、以下、EFQ、トクヤマデンタル)、パルフィーククリア (以下、PLC、トクヤマデンタル) 及びエステライトΣクイック (以下、ESQ、トクヤマデンタル) を用いた。

直径10mmの孔を有するポリアセタール製の型にESQ (シェードA1, A2, A3, A3.5, A4) を充填してポリプロピレンフィルムで圧接し、可視光線照射器にて硬化させた。得られた硬化体の表面を#1500の耐水研磨紙を用いて高さ4mmになるように調整した後に、37°Cイオン交換水中に24時間保管し、これを背景用試験片とした。次いで、直径10mm、高さ0.5mmの孔を有するポリアセタール製の型にECM, EFQ, PLC及びESQを充填してポリプロピレンフィルムで圧接し、可視光線照射器にて硬化させた。これを37°Cイオン交換水中に24時間保管し、これを色調適合性測定用試験片とした。各背景用試験片にイオン交換水を滴下し、その上に色調適合性測定用試験片を置いて供試体とし、それぞれの供試体の分光反射率およびL*、a*、b*を分光光度計 (東京電色社製: TC-1800MKII、黒色背景化) を用いて測定した。また、得られたL*値、a*値、b*値を用いて背景用試験片に対する変化量 ΔL^* 値、 ΔE^* 値を算出した。得られた結果は、SPSS Statistics 21 (IBM社) による一元配置分散分析およびTurkeyのHSD検定 (有意水準5%) を用いて統計解析を行った。

【結果】

ECMの ΔE^* 値は全ての背景色において、EFQおよびPLCに対し同等か有意に小さい値を示した。一方、ECMの ΔL^* 値は背景色がA1、A2、A3において、EFQおよびPLCに対し有意に小さい値を示し、A3.5、A4においてはPLCに対し有意に小さい値を示した。

Table 1. Color difference between specimen and background color (left:A1 background, right:A3 background)

	ΔL^*	ΔE^*		ΔL^*	ΔE^*
ECM	-1.93 ± 0.13 ^a	2.34 ± 0.09 ^A	ECM	-0.77 ± 0.13 ^a	1.83 ± 0.06 ^A
EFQ	-2.82 ± 0.09 ^b	6.09 ± 0.07 ^B	EFQ	-1.61 ± 0.17 ^b	8.30 ± 0.10 ^B
PLC	-5.73 ± 0.27 ^c	5.79 ± 0.27 ^C	PLC	-5.38 ± 0.23 ^c	5.39 ± 0.23 ^C
ESQ (A1)	-1.68 ± 0.06 ^a	1.71 ± 0.06 ^D	ESQ (A3)	-1.53 ± 0.11 ^b	1.60 ± 0.12 ^A

(Mean ± SD, n=5, p<0.05)

Same superscript letters indicate no statistically difference in column (p<0.05).

【結論】

ECMの有する幅広い色調適合性により煩雑なシェードテイキングの簡便化が期待される。

新規光重合型コンポジットレジン (ECM-001) のヒト歯牙との色調調和性への フィラー粒径の影響

東京医科歯科大学 大学院 歯学総合研究科 歯蝕制御学分野
○小林 駿、中島 正俊、保坂 啓一、佐藤 健人、田上 順次

Influence of filler particle size on color adaptation of newly-developed resin composite (ECM-001) restored in human tooth

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University, Tokyo Japan

○SHUN KOBAYASHI, MASATOSHI NAKAJIMA, KEIICHI HOSAKA, KENTO SATO, JUNJI TAGAMI

【諸言】

近年、光重合型コンポジットレジンとは、優れた接着性、審美性、耐久性及びコストパフォーマンスにより審美修復材料として、前歯部から臼歯部まで幅広く用いられている。しかしながら、歯の色調は部位や年齢によって様々であり、限られたシェードのコンポジットレジンで周囲歯質と正確に色調適合させることは容易ではない。トクヤマデンタルにより開発された新規光重合型コンポジットレジン (ECM-001) は、260nmの球状フィラーを均一に配合して構造発色させることで、単一のコンポジットレジンであらゆる色調の歯に対し高い色調調和性を持つとされている。そこで本研究では、様々な色調のヒト抜去歯を用い、上顎中切歯の歯頸部に形成された窩洞にECM-001(SiO₂-ZrO₂ 260nm)と、フィラー粒径のみを変えたECM-001R1 (Fumed Silica)、ECM-001R2(SiO₂-ZrO₂ 100nm)を試作し、その色調適合性を視覚全色域カメラ (二次元色彩計RC500) により評価・検討を行った。

【材料及び方法】

実験にはトクヤマデンタル社の ECM-001(SiO₂-ZrO₂ 260nm)、ECM-001R 1 (Fumed Silica)、ECM-001R 2 (SiO₂-ZrO₂ 100nm) の3種類のコンポジットレジンを用いた。健全ヒト抜去上顎中切歯をクリスタルアイ (OLYMPUS) により測色し、A2・3・4、B2・3・4、C2・3・4、D2・4の11種類の色調を持つ歯牙1本ずつ、計11本を選別した。それぞれの歯牙の歯頸部に縦軸方向に4mm、横軸方向に3mm、深さ2mmの窩洞形成を行い、ボンドマーライトレス (トクヤマデンタル) を用いて、業者指示通りにボンディング操作を行った。それぞれランダムにレジンを選び充填し、20秒光照射後、形態修正・研磨を行った。その後37度水中に24時間保管し、測色用試料とした。撮影・測色は二次元色彩計 (RC500, PaPaLaB Co.) を用いて D65 光源下、黒色板背景、湿潤下のもと行われた。測色後、コンポジットレジン窩洞から慎重に除去し、他種のコンポジットレジンと同様に充填し、撮影・測色しこれを繰り返した。得られた CIE XYZ データから CIE L*a*b*値を算出し、充填後の窩洞中央部を通る歯頂側から歯頸側エナメル質までの L*a*b*値を連続的に算出し (幅 1mm)、同一部位における窩洞形成前の歯牙との色差 ΔE₀₀ を 1 ピクセル (0.033mm) ごとに算出した。得られた ΔE₀₀ をマージンから窩洞中心部まで歯頂側と歯頸測に分けて平均値を算出し評価した。それぞれの値は multiple paired t-test with Bonferroni collection を用いて有意水準 5%で統計学的分析を行った。(p<0.05)

【結果及び考察】 Table (ΔE₀₀)

	ECM	R1	R2
Crown side	1.40±0.37 ^A	2.09±0.73 ^B	2.02±0.68 ^B
Cervical side	1.45±0.30 ^a	2.07±0.23 ^b	2.05±0.21 ^b

(n=11, mean ± SD)

Different superscript capital letters indicate statistically differences in column(p<0.05)

Different superscript lowercase letters indicate statistically differences in column(p<0.05)

ΔE₀₀ に関して、材料間で有意差が認められた(p<0.05)。歯牙のシェードや歯頂側と歯頸測に関係なく ECM-001 の方が R1、R2 に比べて ΔE₀₀ が有意に低い値を示し、より元の歯の色調調和性が高いということが示唆された。このことより、ECM の色調調和性はフィラー粒径が大きく影響していることが示唆された。

Effect of smear layer deproteinizing with HOCl solution on micro-shear bond strength of glass-ionomer cements to dentin

¹Department of Conservative Dentistry, University of Dental Medicine, Yangon, Myanmar

²Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

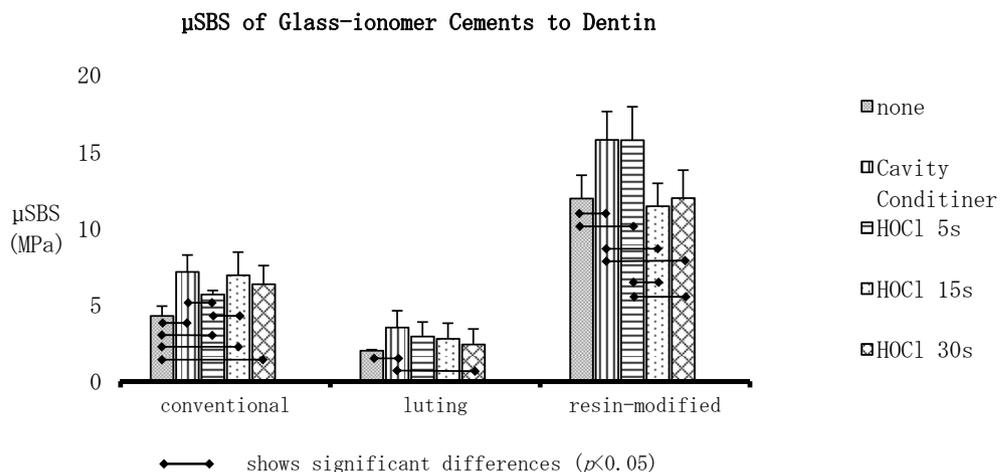
○Soe Yu Paing^{1,2}, Keiichi Hosaka², Masatoshi Nakajima², Junji Tagami²

Objective: To evaluate the smear layer deproteinizing effect of HOCl solution on bonding of glass-ionomer cements to dentin

Materials and Methods: One hundred and fifty human molars were used in this study. After exposing coronal dentin surface, standardized smear layer was prepared using #600 grit SiC paper. Dentin specimens were randomly divided into a control no treatment group and 4 experimental treatment groups ; treatment with 20% polyacrylic acid for 10 s (Cavity Conditioner; GC Corporation, Tokyo, Japan) and 40 ppm HOCl solution (Comfosy; Haccpper Advantec, Tokyo, Japan) for 5, 15 and 30 s. Treated dentin specimens were further divided into 3 subgroups; conventional glass-ionomer cement (Fuji IX GP Extra), luting resin-modified glass-ionomer cement (GC Fuji Luting® EX) and photo-cure resin-modified glass-ionomer cement (GC Fuji II LC EM) (n=10). After 20 s rinsing with running water, 4 Tygon tubes with 1 mm internal diameter and 1 mm height were attached to each dentin surface. Glass-ionomer cements were filled into each Tygon tube and then Tygon tubes were carefully removed after 30 mins. After 24 hr storage in water, the glass-ionomer cemented dentin specimens were subjected to micro-shear bond strength test (μSBS) at a cross head speed of 1 mm/min and fracture modes were examined under an optical microscope. The μSBS datas were analyzed by two-way ANOVA followed by post hoc Tukey HSD test ($\alpha=0.05$).

Results: The effect of smear layer deproteinizing with HOCl solution on μSBS of glass-ionomer cements was dependent upon its application time. Both the etching with polyacrylic acid and smear layer deproteinizing with HOCl solution increased the μSBS when compared with the no treatment, in which there was no significant difference in μSBS values between the etching group and smear layer deproteinizing groups.

Conclusion: Smear layer deproteinizing with 40 ppm HOCl increased the bond strength of glass-ionomer cements to dentin, which was comparable to that of polyacrylic acid etching.



補修修復処理が象牙質接着性能へ及ぼす影響について

¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野

²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔機能再建工学分野

○ビチェバ マルティナ¹、佐藤 隆明¹、高垣 智博¹、馬場 雄大¹、池田正臣²、二階堂 徹¹、田上 順次¹

Effect of Repair Systems on Dentin Bonding Performance

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,

²Oral Prosthetic Engineering, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○VICHEVA Martina¹, SATO Takaaki¹, TAKAGAKI Tomohiro¹, BABA Yuuta¹, IKEDA Masaomi², NIKAIIDO Toru¹, TAGAMI Junji¹

[Objective] The concept of minimum intervention in dentistry has led to development of repair systems, promoting adhesion to both organic and inorganic substances, i.e. metal alloys, porcelain, composite resin etc. However, combination with different primers in self-etching system has been reported to affect dentin bonding performance. Therefore, the aim of this study was to investigate the influence of metal primer, silane coupling agent with/without phosphoric acid etching on dentin bonding performance of a 2-step self-etch adhesive system (Clearfil SE Bond 2, SE2).

[Materials and Methods] This research protocol was conducted with extracted human molars in accordance with TMDU Ethical Committee (D2013-022-02), which was separated into 8 groups (Table 1). Dentin surface ground with #600-grit SiC was divided into two groups; self-etch and acid-etch groups. For the self-etch groups, dentin surfaces were treated with one of four solutions; SE2 primer (control), Alloy Primer (AP) and SE2 primer, mixture of Porcelain Bond Activator and SE2 (PB) and another of AP and PB (AP-PB). Following this, SE2 bond was applied and light cured with a LED light curing unit (VALO Curing Light, high power mode, 1400mW/cm², Ultradent). For the acid-etch group, dentin surface was first treated with 40% phosphoric acid (K-Etchant GEL, K) for 10 s, rinsed and air-dried. The following procedures were the same as described above. A resin composite (Clearfil AP-X) was placed incrementally and light cured for 40 s each. After the specimens were stored for 24 h in water at 37°C, they were sectioned into 1×1 mm beams (n=20) and subjected to microtensile bond strength test (μTBS) using a universal testing machine (EZ-SX, Shimadzu) at a crosshead speed of 1 mm/min. The results were analyzed with three-way ANOVA and t-test with Bonferroni correction ($\alpha=0.05$) where the parameters were as follow: “acid etching”(K), “metal primer”(AP) and “porcelain primer”(PB). Furthermore, the specimens prepared in the same 8 groups were subjected to acid-base challenge to analyze the morphological difference at the dentin-bonding interface by SEM (JEOL, JSM-IT100).

[Results and Discussion] The μTBS results are shown in Fig. 1. Three-way ANOVA indicated phosphoric acid etching (K) did not influence the μTBS results ($p=0.66$). In the self-etch groups, PB and AP-PB showed significant difference in correlation to one another ($p<0.001$). In the acid-etch groups, PB alone affected the μTBS ($p=0.007$), however, there was no evidence of the effect of AP ($p=0.065$). SEM images at the dentin-bonding interface revealed that all groups produced an acid-base resistant zone (ABRZ). The SE2 group showed no signs of erosion, while erosion under ABRZ was observed in some cases for the other groups.

[Conclusion] It was suggested that PB could be a factor affecting dentin bonding performance in SE2. Concerning acid etching and metal primer, there were no evidences in deterioration of μTBSs. However, ABRZ formation without erosion was observed only in the control group. Table 1. Testing Groups

Code	K-etchant GEL (K)	Alloy Primer (AP)	Porcelain Bond Activator (PB)
CONTROL	-	-	-
AP	-	+	-
PB	-	-	+
AP - PB	-	+	+
K	+	-	-
K - AP	+	+	-
K - PB	+	-	+
K - AP - PB	+	+	+

Manufacturer: Kuraray Noritake Dental (Tokyo, Japan)

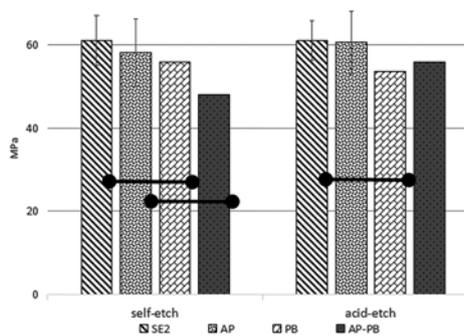


Fig.1. μTBS-test results
The bars indicated significant differences ($p<0.05$)

光線照射の有無が新規オフィスホワイトニング材の漂白効果に及ぼす影響

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⁾

○辻本暁正^{1,2)}, 細矢由美子¹⁾, 嶋谷祐輔¹⁾, 廣兼栄造¹⁾,

名倉侑子¹⁾, 大島美紀¹⁾, 高見澤俊樹^{1,2)}, 宮崎真至^{1,2)}

Influence of light irradiation on bleaching effects of an in-office power whitener

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

Nihon University School of Dentistry

○TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, HOSOYA Yumiko¹⁾, SHIMATANI Yusuke¹⁾, HIROKANE Eizo¹⁾,

NAGURA Yuko¹⁾, OSHIMA Miki¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}

【研究目的】

本邦におけるオフィスホワイトニング材の多くは、35%過酸化水素を主成分とし、これに金属酸化物等の光触媒を添加することで、その漂白効果を獲得している。一方、欧米では様々なオフィスホワイトニング材が市販されており、そのひとつとしてオパールエッセンス BOOST (Ultradent Products Inc.) がある。この製品は、40%過酸化水素が使用されているものの光触媒は添加されておらず、その使用に際して光線照射を必要としないことを特徴としている。この製品をベースとして、本邦においては 35%過酸化水素を使用した新規オフィスホワイトニング材“オパールエッセンス BOOST35%” (Ultradent Products Inc.) が、開発・市販された。そこで演者らは、光線照射の有無が新規オフィスホワイトニング材“オパールエッセンス BOOST35%”の生活歯に対する漂白効果に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

供試したオフィスホワイトニング材は、オパールエッセンス BOOST35% (Ultradent Products Inc.) である。臨床研究の開始にあたっては、日本大学歯学部臨床研究倫理委員会の承認 (EP17D016) を取得し、平成 30 年 2 月から 7 月までに日本大学歯学部附属歯科病院に来院し、本研究の主旨を説明し、同意を得られた 23~66 歳の男性 7 名、女性 23 名の合計 30 名を対象とした。その選択基準として、上顎 6 前歯および第 1 小臼歯に 6 歯以上オフィスホワイトニングが可能な有髄歯があるとともに唇面 1/3 以上を含む歯冠修復物がないものとした。また、除外基準として、齲蝕、重度の歯周病、重度の全身的慢性疾患の治療中、妊娠中または授乳中、その他歯科医師が不適当としたものとした。

上顎 6 前歯および第 1 小臼歯を対象部位とし、術前にウルトラライズトレイ (Ultradent Products Inc.) を 30 分間装着後、対象歯に対して歯面研磨ペースト (メルサーージュファイン, 松風) を用いて歯面清掃を行い、オフィスホワイトニングを行った。オフィスホワイトニングに際しては、開口器およびアイソブロックを口腔内に装着し、歯肉を保護するためオパールダムグリーン (Ultradent Products Inc.) を漂白対象歯より 1 歯遠位である上顎左右第二小臼歯までの歯肉に塗布し、光照射を行った。その後、光線照射を行う条件として、オフィスホワイトニング材を塗布し、5 分間放置後、光照射を 3 分間行い、2 分間放置した (光線照射あり条件)。また、光線照射を行わない条件としては、オフィスホワイトニング材を塗布し、20 分間放置後、これを除去した。これらのオフィスホワイトニング材の塗布および除去を繰り返す手順を、合計 3 回行った (光線照射なし条件)。なお、それぞれの条件における被験者数は 15 名とした。

色調変化の測色は、歯科用分光光度計 Crystaleye Spectrophotometer (Olympus) を用い、術前および術後に行った。上顎右側中切歯の歯面中央部の分光反射率を測定することで L*, a*および b*値を算出し、その数値を用いて術前術後の歯の色差を求めた。

【成績および考察】

色調変化の測定結果において、ホワイトニング後の色差 ΔE は、光線照射を行った条件で 3.295 (1.537) および光線照射を行わない条件で 3.402 (1.583) であり、光線照射の有無による影響は認められなかった。また、L*, a*および b*の変化量は、光照射の有無にかかわらず L*は上昇し [光線照射あり条件: 2.408 (1.073); 光線照射なし条件: 2.343 (1.257)], a* [光線照射あり条件: -0.161 (0.357); 光線照射なし条件: -0.073 (0.555)] および b* [光線照射あり条件: -2.313 (1.143); 光線照射なし条件: -0.840 (2.249)] は低下した。

【結論】

本実験の結果から、新しいオフィスホワイトニング材である“オパールエッセンス BOOST35%”は、光線照射の有無にかかわらず、生活歯の色調改善を図ることが可能であり、その漂白効果は、L*を向上し、a*および b*を低下させることが明らかとなった。今後、リコール時における色調変化の推移を併せて検討する予定である。

歯の漂白の歯質内部への効果について

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野

○湊 洋祐、中島正俊、大槻昌幸、田上順次

Effect of bleaching on the inside of tooth substrate

Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○Yosuke Minato, Masatoshi Nakajima, Masayuki Otuki, Junji Tagami

【目的】

歯の漂白治療は、歯質保存的で費用対効果の高い審美歯科治療である。歯の漂白治療による、歯質内部の漂白の程度については明らかではない。本研究では、牛歯変色歯モデルを用いて、漂白処置による歯質内部の漂白効果について定性的に検討した。

【材料および方法】

抜去ウシ下顎切歯の唇側歯冠部中央を耐水研磨紙を用いて研削し、エナメル質の厚さが約1mmになるように調整し、被験面とした。歯根を切断後、歯冠を紅茶で染色した。試験面からオフィスブリーチ材（松風ハイライト、松風）にて6ないしは9回、製造業者の指示通りに漂白処置を行った。次いで、被験面中央を通るように、軸側方向に半切した。断面を漂白したエナメル質面から象牙細管の走行に沿って、歯髓腔方向に直線的に連続して、色彩計（RC-500、パパラボ）を用いて測色を行った。

【結果および考察】

漂白処置6回後の断面の測色値を Fig. 1 に示す。L*値はエナメル質表面からエナメル象牙境（DEJ）に向かって上昇し、象牙質ではDEJから歯髓側に向かって徐々に低下した。L*に比べて、a*値とb*値の変化は少なかった。漂白処置9回後の、同一歯の漂白処置を行った部位（Bleached）と行わなかった部位（Not Bleached）のL*値の変化を Fig. 2 に示す。いずれの部位においても、漂白処置を行った部位の方が高いL*値を示した。このことから、漂白処置を繰り返すと象牙質深部までその効果が及ぶことが明らかとなった。本研究では、漂白処置後の歯質内部の色調を連続して測定することができた。しかしながら、漂白効果は歯質内部の色調のみならず、エナメル質の光透過性、屈折率なども影響することから、これらの要因も併せて今後検討する必要があると思われる。

【結論】

牛歯変色歯モデルを用いて、漂白処置による歯質内部の漂白効果について定性的に検討したところ、明度（L*）は、エナメル質表層からDEJに向かって上昇し、DEJから歯髓腔に向かって低下した。また、漂白処置を繰り返すことによって、象牙質内部まで漂白効果が及ぶことが明らかになった。

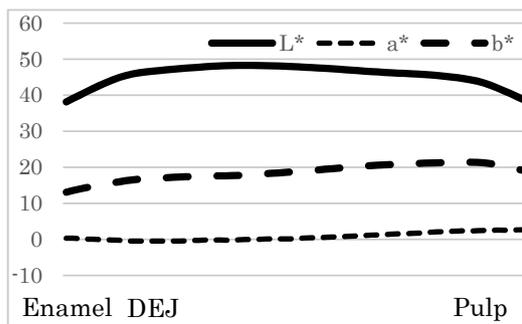


Fig.1 Distribution of L*a*b* after bleaching

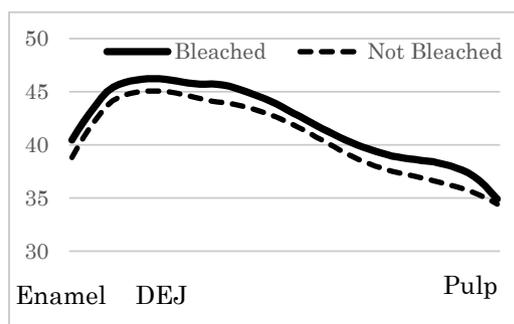


Fig.2 Distribution of L* after bleaching

セラミックス前処理剤の成分比が接着性能に及ぼす影響について

¹ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野

² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科先端材料評価学分野

³ 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔機能再建工学分野

○ミンカンココ¹、高垣 智博¹、高橋 彬文¹、宇尾 基弘²、池田 正臣³、二階堂 徹¹、田上 順次¹

Effect of Silane-MDP ratio in primer on bonding performance to silica-based and zirconia ceramics

1 Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,

2 Advanced Biomaterials, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University,

3 Oral Prosthetic Engineering, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○Min Khant Ko Ko¹, TAKAGAKI Tomohiro¹, TAKAHASHI Akifumi¹, UO Motohiro², IKEDA Masaomi³, NIKAIIDO Toru¹, TAGAMI Junji¹

[Objective]

The clinical success of ceramic restorations depends on durable resin-ceramics adhesion. However, it was one of the challengeable issues in dentistry. The purpose of this study was to evaluate the effect of silane coupling agent-MDP ratio in primer on bonding performance to silica-based and zirconia ceramics before and after thermal aging to improve resin-ceramic adhesion.

[Materials and Methods]

Lithium disilicate (LD) specimens (IPS e.max CAD, Ivoclar Vivadent) and fully sintered zirconia disk-shaped specimens (11 mm diameter; 4 mm thickness) of Y-PSZ (Katana HT, Kuraray Noritake Dental) were ground flat with #600-grit SiC paper. The LD specimens were etched with 40% phosphoric acid (K-etchant gel, Kuraray Noritake) and the Y-PSZ were sandblasted with 50 μm alumina particles from a distance of 10 mm for 20 s at 0.25 MPa respectively. Prior to cementation, blocks were assigned to 5 groups (n=20) according to the chemical pretreatment with different silane-MDP ratio in primer: 1% MDP without silane (0%), 1% MDP+1%γ-MPTS (1%), 1% MDP+2%γ-MPTS (2%), 1% MDP+5%γ-MPTS (5%) and 1% MDP+10%γ-MPTS (10%). After priming, stainless steel rods were bonded to the specimens with a resin cement (Panavia V5, Kuraray Noritake Dental). The bonded specimens were stored in distilled water at 37 °C for 24 hrs or underwent 5,000 thermocycling process prior to tensile bond strength using universal testing machine at crosshead speed of 2 mm/min. Failure modes of the debonded specimens were recorded. The data were analyzed with 2 way-ANOVA with Bonferroni correction ($\alpha=0.05$).

[Results and Discussion]

The results were shown in figure below. For LD, the 5% group provided significantly the higher bond strength than the other groups ($p<0.05$) before and after thermal aging, while the 0% group exhibited the lowest TBS. For zirconia ceramics, addition of γ-MPTS except for 10% in primer demonstrated improvement of early bond strengths, while the bond strength was reduced in the 10% γ-MPTS group before and after thermal aging.

[Conclusion]

The use of 5% γ-MPTS silane with 1% MDP was higher and more reliable bond strength in both silica-based and zirconia ceramic. Application of MDP without γ-MPTS silane in primer have effective bonding to Y-PSZ after thermal aging.

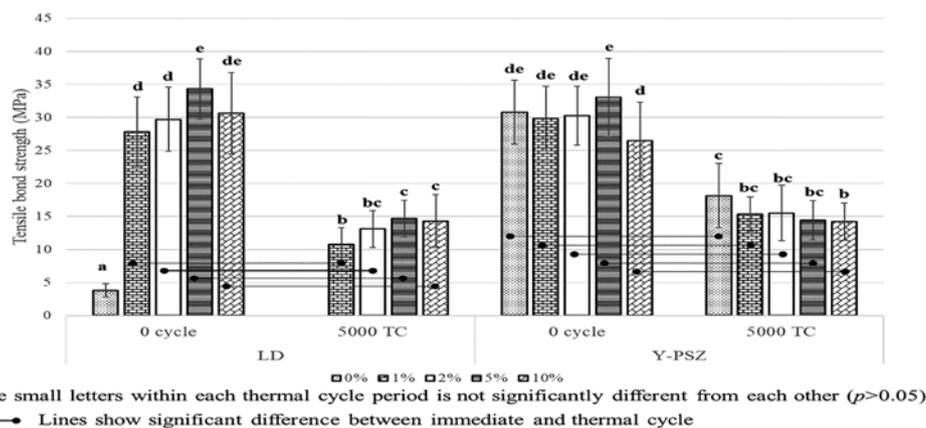


Figure: Tensile bond strength

Effect of Chemomechanical Caries Removal Agents on Sealing Performances of Self-Etch Adhesives

Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
 ○Citra KUSUMASARI, Masatoshi NAKAJIMA, Junji TAGAMI

Purpose: To evaluate sealing performance of self-etch adhesives after application of chemomechanical caries removal agents with papain enzyme-based gel and NaOCl-based gel compared to 6% NaOCl solution under SS-OCT observation.

Methods: Eighty round-shaped cavities (diameter 2.8 mm and depth 2 mm) were prepared at CEJ of bovine anterior teeth. Specimens were randomly divided into four groups: no treatment (control), Papacarie (Formula & Acao, Brazil), Carisolv (RLS Global AB, Sweden), and 6% NaOCl (Jiaen 6%, Yoshida Co., Japan). Papacarie and Carisolv were applied into the cavity for 60s then rinsed with deionized water for 10s, and 6% NaOCl was applied for 15s following to water rinsing for 10s. The treated cavity was applied with 1-step self-etch adhesive; G-Bond Plus (GBP) (GC Corp., Japan) or 2-step self-etch adhesive; Clearfil SE Bond 2 (CSE) (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan) according to manufacturer instruction, and then filled with flowable resin composite; Clearfil Majesty ES Flow (Kuraray Noritake Dental Inc., Japan) followed by light-cured with LED curing unit 1000 mW/cm² for 20s. Gap formation was observed at enamel and dentin lateral walls and dentin cavity floor using SS-OCT (IVS-2000, Santec Corp., Japan) after 24h water storage at 37°C. 2-D SS-OCT raw tomograms were imported to image analysis software (ImageJ 1.51s, NIH, USA) and a median filter was applied to decrease background noise. An experimental threshold determination algorithm developed as a plugin for ImageJ under JAVA was used for image analysis. The region of interest x length (ROI X Length) was selected along the interface to highlight the gap with increased signal value. The percentage of gap length was calculated in each cavity wall of enamel and dentin lateral walls and dentin cavity floor. Data analyzed using Kruskal Wallis test followed by Mann Whitney U test for pairwise comparison ($\alpha=0.05$).

Results: The results are shown in figure 1, application of Papacarie significantly reduced the gap formation with both self-etch adhesives at all the cavity walls, compared with the control no treatment group. However, application of Carisolv and 6% NaOCl, significantly increased the gap formations. Additionally, for the Papacarie and no treatment group, Clearfil SE Bond 2 significantly reduced the gap formation at all the cavity walls compared with G-Bond Plus.

Conclusion: Application of Papacarie could improve sealing performance of 1-step and 2-step self-etch adhesives at enamel and dentin lateral walls and dentin cavity floor.

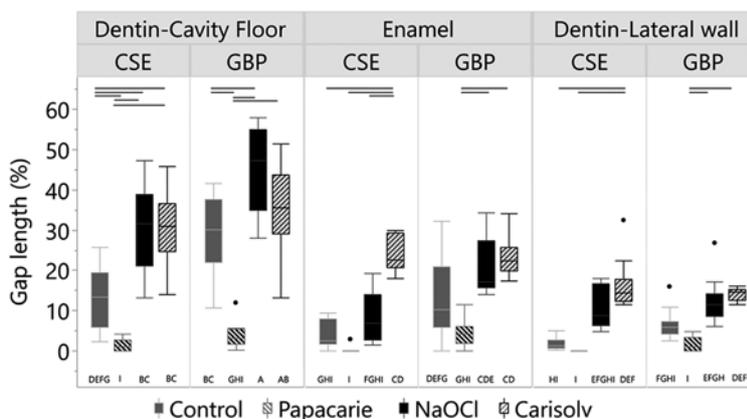


Figure 1: Box plot data for gap length percentage. Different letters and connected lines indicate significant different

細胞外カルシウムはヒト脂肪幹細胞の骨分化を BMP-2 のみでなく BMP-2 レセプターの発現によって促進する

¹九州大学大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座歯周病学分野, ²九州大学大学院歯学研究院 口腔顎顔面病態学講座 口腔顎顔面外科学分野, ³九州大学大学院医学研究院 臨床薬理学分野

○哲翁ふみ¹, 矢内りさ², 梶岡俊一³, 笹栗俊之³, 西村英紀¹

Extracellular stimulates osteogenic differentiation in human adipose stem cells via the expression of not only BMP-2 but also BMP-2 receptor

¹Department of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University,

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Division of Maxillofacial Diagnostic and Surgical Sciences, Graduate School of Dental Science, Kyushu University,

³Department of Clinical Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University

○Fumi Tetsuo¹, Risa Yanai², Shunichi Kajioaka³, Toshiyuki Sasaguri³, Fusanori Nishimura¹

【背景・目的】 骨形成因子 (BMP-2) は骨格形成、骨折治癒などのあらゆる生理的骨形成に重要で、マウス由来脂肪由来間葉系幹細胞 (adipose stem cells: ASCs) においても骨形成を誘導することが報告されている。脂肪幹細胞は、骨髄由来のものと比較して採取方法が簡便で、かつ幹細胞が含まれる量的な優位性がある。よって、脂肪幹細胞を BMP-2 により骨形成を活性・促進することは、骨欠損や形成不全の根治的治療に非常に適していると考えられるが、recombinant human BMP-2 (rhBMP-2) は、大量生産が困難で、非常に高額であり、さらにヒト由来のものとなると、未知のものも含め感染性などを考慮すると、臨床応用への道は困難が予想される。私達は現在までの研究で、ヒト脂肪幹細胞 (human ASCs: hASCs) の骨形成分化は rhBMP-2 によって活性化されること、またその形成過程は、Runx2 及び Osterix の上昇も認め、正常な骨芽細胞分化であること、さらに、細胞外のカルシウムを増加させると、hASCs 自らが、Ca²⁺/NFAT シグナリングを介して濃度依存的に BMP-2 を産生し rhBMP-2 の代用をし得ることを発見した。今回は、更に細胞外カルシウムによる脂肪幹細胞の骨分化を BMP-2 レセプターに焦点をあて、検討することとした。

【方法】 1. 細胞採取および培養方法: ASC は九州大学病院に入院中のインフォームドコンセントを得られた腹部採皮術を施行された患者より採取した。組織を約 1mm³に細削し、PBS で洗浄後 0.075%のタイプ I コラゲナーゼ含有 PBS 中で 37°Cの下、60 分間震盪させ分解した。その後、遠心により脂肪細胞と線維性組織を分離し、DMEM で培養した。

2. 培地中 BMP-2 濃度の測定: ELISA 法により骨分化誘導培地に含まれる BMP-2 濃度を測定した。

3. リアルタイム PCR 法及び Western Blotting 法による BMP-2 レセプター発現の検討: 細胞外 Ca²⁺濃度を 5.0 mM 中で、48 時間後までの BMP-2 レセプター mRNA および蛋白の発現を比較分析、及びカルモジュリン (CaM) 阻害剤である W-7 (10 nM) の BMP-2 レセプター mRNA および蛋白の発現に対する影響を検討した。

【結果】 hASCs を 0.3 mM Ca²⁺含有骨形成分化培地で 48 時間培養した後、培地中に含まれる BMP-2 濃度は ELISA 法により 11.7 ± 2.9 pg/ml (n = 4) であった。[Ca²⁺]_o 濃度を 1.8 mM および 5.0 mM に変化させたところ、培地中に含まれる BMP-2 濃度はそれぞれ 25.0 ± 5.0 pg/ml (n = 4)、45.0 ± 8.7 pg/ml (n = 4) と有意に増加した。しかしながら、骨分化誘導培地中のウシ BMP-2 濃度を測定したところ、103.7 ± 2.8 pM (n = 4) であった。ヒトとウシの違いで BMP-2 の効果に違いがあるとはいえ、もともと約 2 倍の濃度があることから、細胞外カルシウムによる骨分化の促進は、BMP-2 産生の増加のみではないことが示唆されたため、BMP-2 レセプター発現を調べたところ、BMP2 mRNA の発現も時間依存的に増加し 48 時間後で 1.2 ± 0.1-fold (n = 4) と有意に増加し、タンパクレベルにおいても 5.0mM Ca²⁺により BMP2 の発現増強が示された。また、NFAT の脱リン酸化促進に関与するカルモジュリン (CaM) 阻害剤である W-7 (10 nM) を作用させると、有意に発現量が mRNA レベル 0.7 ± 0.1-fold (n = 4)、タンパクレベルともに低下した。以上の結果から、hASCs では細胞外 Ca²⁺刺激によって CaM/NFAT の経路を通じて自ら BMP-2 のみならず、BMP-2 レセプターの産生も促進させ、骨芽細胞へ分化誘導させることが示唆された。

【課題】

今後、高カルシウムのみならず、高リン酸下での骨形成能を検討する。ほかのシグナル経路 (Wnt シグナル、Smad シグナル) についても検討を行う。抗酸化作用や、アルデヒド減少作用を有する骨再生を維持する可能性のある試薬の効果を、脂肪幹細胞から骨分化への過程や骨形成の維持能について検討する。

再生治療における GelMA-RF の足場材料としての新たな可能性について

愛知学院大学歯学部歯周病学講座

○後藤亮真, 西田英作, 小林周一郎, 相野 誠, 黒須康成, 三谷章雄

New possibility of GelMA-RF as a scaffold in the regenerative therapy

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○Ryoma Goto, Eisaku Nishida, Shuichiro Kobayashi, Makoto Aino,

Yasunari Kurosu, Akio Mitani.

【研究目的】

ティッシュエンジニアリングの材料として、柔軟性があり生体環境を模倣しやすいハイドロゲルが近年盛んに研究されている。その中で、光架橋により硬化が可能な Gelatin Methacryloyl (GelMA) は、操作性が高く、用途が広いハイドロゲルで、さらに細胞接着性が高いことから、近年注目されている生体適合材料のうちの一つである。一般的に、GelMA を硬化させるのには、紫外線 (UV) で励起される光感受性物質が使用される。しかしながら、UV 照射は、DNA のニックや細胞の老化やがん化のように安全性での問題が懸念される。そこで我々は、UV より DNA 損傷の可能性が低い可視光線 (VW) で励起することが可能な光感受性物質、riboflavin (RF) を用いて GelMA を作成し、骨芽細胞の培養に用いることで VW、RF が細胞に与える影響を検討した。

【材料および方法】

37°C で溶解した 20% (w/v) GelMA 溶液の中に、UV 光感受性物質である Irgacure 2959 (IR) (BASF ジャパン株式会社) または VW 光感受性物質の RF (SIGMA) をそれぞれ加え、GelMA-IR と GelMA-RF とした。25 μ l の GelMA 溶液を直径 8mm、高さ 0.8mm のテフロンリングに注ぎ、VW または UV を 20 秒もしくは 60 秒間照射し、機械的強度実験を行なった。GelMA の弾性圧縮率は試験機 (INSTRON 万能試験機 INSTRON model 4481) にて測定した。次に、マウス骨芽細胞様株である KUSA-A1 細胞を GelMA 20 μ l に対し 3×10^5 個内包し、VW または UV を照射、架橋後、DMEM 培地中で培養した。24 時間培養後、それぞれの GelMA における細胞生存率を live and dead assay kit (Thermo Fisher) を用いて染色、imageJ (NIH) ソフトウェアを用いて計測、解析した。また、GelMA に内包した KUSA-A1 細胞を 7 日間培養し、形態観察を行なった。

【結果】

20% GelMA-RF の圧縮強さは平均 16kPa であった。GelMA に内包された培養 1 日後の KUSA-A1 細胞の生存率は、GelMA-IR と比べると GelMA-RF の方が有意に高かった。GelMA-RF に内包後、7 日間培養した KUSA-A1 細胞は徐々に伸張、遊走していき、最終的に凝集している様相を呈した。

【考察】

20% GelMA-RF の圧縮強さは、過去の報告において骨芽細胞分化誘導に必要な GelMA 圧縮強さの条件範囲内であったため、細胞を内包し培養する際に、骨芽細胞分化に有用なハイドロゲルであると考えられる。圧縮弾性率のみでなく、水吸収率や分解性、SEM による多孔性など、更なる物性解析が必要である。GelMA-RF と GelMA-IR を比較した live and dead assay の結果より、UV と比較し VW では高い細胞生存率を示し、RF は細胞為害性が少ないと考えられる。GelMA-RF に内包した KUSA-A1 細胞は、培養日数を重ねるにつれ、隣接している細胞と相互にネットワークを形成し骨分化している可能性がある。今後は、GelMA-RF に内包した KUSA-A1 細胞の骨分化に関連した解析が必要である。

【結論】

本実験結果より、GelMA-RF は GelMA-IR と比べ細胞生存率が有意に高く、GelMA-RF は骨組織再生における新しい足場材料としての役割が示唆された。

Er:YAG レーザーによる骨組織蒸散後の新生骨形成の評価と遺伝子発現解析

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 神奈川歯科大学大学院歯学研究科高度先進口腔医学講座歯周病学分野

○大杉 勇人¹, 青木 章¹, 水谷 幸嗣¹, 片桐 さやか¹, 小牧 基浩^{1,2},
野田 昌宏¹, 高木 徹¹, 北中 祐太郎¹, 和泉 雄一¹

Evaluation of new bone formation and gene expression following bone ablation with Er:YAG laser

¹ Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo Japan

² Department of Highly Advanced Stomatology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Kanagawa, Japan

○Yujin Ohsugi¹, Akira Aoki¹, Koji Mizutani¹, Sayaka Katagiri¹, Motohiro Komaki^{1,2},
Masahiro Noda¹, Toru Takagi¹, Yutaro Kitanaka¹, Yuichi Izumi¹

【目的】従来、骨切削はバーなどの回転切削器具によって行われていたが、近年 Er:YAG レーザーも用いられるようになってきている。しかしながら Er:YAG レーザー照射後の骨組織への影響および骨切削後の治癒については未だ詳細は明らかになっていない。本研究では、レーザー照射とバーによる骨切削後の骨組織への影響とその治癒を比較することを目的とした。

【材料および方法】10 週齢の雄性 Wistar 系ラット 66 匹を用い、Er:YAG レーザー (DELIGHT*; HOYA ConBio, Fremont) とバー (ϕ 600 μ m, Meisinger, Dusseldorf, Germany) を用いて切削を行った。頭頂骨を剖出し、右側および左側に 10 mm \times 3.5 mm の範囲で骨膜除去を行い、左側は Er:YAG レーザー照射 (エネルギー密度 30.1 mJ/pulse, 20 Hz), 右側はバー切削 (10000 rpm) により共に注水下にて直線状の骨切削 (約 600 μ m \times 8 mm) を行った。止血確認後に閉創し、抗菌薬を筋注した。処置後は Micro-CT による骨修復率の評価、走査型電子顕微鏡 (SEM) による切削後の表面性状の観察、組織学的、免疫組織化学的評価、肉芽組織中の遺伝子発現の評価を行った。また骨組織の遺伝子発現の評価については、レーザー照射 (エネルギー密度 20.2 J/cm²/pulse, 20 Hz) とバー切削 (同条件) により注水下にて面状の骨切削 (3 mm \times 8 mm) を行った。また頭頂骨前方部の非切削の部位をコントロールとした。Micro-CT による新生骨形成の評価は術直後、2, 4, 6, 8 週後に行った (n = 15)。SEM 分析では安楽殺前後に骨切削を行い骨表面を観察した (n = 2)。組織学的評価は術直後と 2, 4, 6, 8 週後に、脱灰標本を作製した。切削 2 週後には抗オステオカルシン抗体を用いて免疫染色を行い、肉芽組織中のオステオカルシンの発現を比較した (n = 6)。切削 1 週後の肉芽組織 (n = 12) と、切削 6 時間後の骨組織 (n = 7) から RNA を抽出し、逆転写反応後、定量的遺伝子発現解析を行った。骨組織においてはマイクロアレイ解析を行い、得られた遺伝子発現を Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) にて評価した。本研究は東京医科歯科大学動物実験委員会の承認を得て行われた (承認番号 0170227)。

【結果】Er:YAG レーザーは、明かな熱損傷を生じることなく、効果的に骨切削を行うことができた。Micro-CT 解析では、両処置部位でグループ状の骨欠損が観察され、レーザー照射群はバー切削群と比べて、処置後 2, 4, 6, 8 週のすべての観察時点で有意に高い骨修復率が認められた。SEM 観察では、バー切削面はスミア層で覆われるが、レーザー照射面は骨細管や骨小腔の開口を伴った粗造な微細構造を呈し、より多くのフィブリン付着が認められた。組織学的分析では、レーザー照射群ではヘマトキシリン・エオジン染色に濃染される 1-4 μ m の熱変化層が認められた。骨組織のマイクロアレイ解析では、|fold change| が 2 以上かつ P < 0.001 を満たす 21 遺伝子を認めた。GSEA において IL6/JAK/STAT3 signaling と inflammatory response の遺伝子群がバー切削群で上昇していたのに対して、レーザー照射群の骨からは E2F targets 遺伝子群の上昇が認められた。加えて、レーザー照射群ではバー切削群と比べて *Hspa1a* と *Dmp1* の発現が上昇し、*Sost* の発現が減少していた。レーザー照射後に形成された肉芽組織では、*Alpl* と *Gblap* の発現がバー切削群と比較して上昇し、免疫染色においてもオステオカルシン陽性割合の上昇が確認された。

【結論】Er:YAG レーザーは、バー切削と比較して創傷治癒に有利な骨処置面の性状変化や骨組織の細胞反応を生じさせ、早期の新生骨の形成を促進する可能性があることが示唆された。

会員外共同研究者: Walter Meinser, 林 泰誠, 柿崎 翔 (東京医科歯科大学医歯学総合研究科歯周病学分野)

歯髄幹細胞の血管内皮細胞分化における VE-cadherin の役割

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)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)²,
 大阪大学大学院歯学研究科 先端機能性材料学共同研究講座³

○佐々木淳一¹, 堅田千裕^{1,2}, 壺井莉理子³, 今里 聡^{1,3}

Role of VE-cadherin in endothelial differentiation of dental pulp stem cell

¹Department of Biomaterials Science, ²Department of Restorative Dentistry and Endodontology,
³Department of Advanced Functional Materials Science, Osaka University Graduate School of Dentistry
 ○SASAKI Jun-Ichi¹, KATATA Chihiro^{1,2}, TSUBOI Ririko³, IMAZATO Satoshi^{1,3}

【研究目的】

歯髄幹細胞 (DPSC) は発生学的に神経堤由来の細胞であることから血管内皮細胞に容易に分化できることが知られている。生体内において血管は、血管内皮細胞が伸長して既存の血管と吻合することで機能するが、DPSC が血管系細胞として機能化するメカニズムについては明らかになっていない。一方、Vascular Endothelial Cadherin (VE-cadherin) は、血管の発生や維持に重要な役割を担っていることが知られている。本研究では、VE-cadherin が DPSC の血管内皮細胞分化や血管機能の発現に与える影響を明らかにすることを目的として、VE-cadherin の発現を抑制した DPSC を作製し、*in vitro* における機能変化について検討した。

【材料と方法】

ヒト第三大臼歯由来 DPSC の培養には、 α MEM 培地に 15% ウシ胎児血清、および 1% ペニシリン・ストレプトマイシンを加えた通常培地を用い、血管内皮細胞の分化誘導には、内皮細胞用培地 (EGM-2 MV) に血管内皮細胞増殖因子 (VEGF, 50 ng/mL) を加えた分化誘導培地を用いた。VE-cadherin の発現を抑制することを目的として、DPSC に VE-cadherin の short hairpin RNA (shRNA) をレンチウイルスベクターでトランスフェクションした。また、対照群として scramble shRNA を導入した DPSC (DPSC-sh-control) を用いた。VE-cadherin の発現を抑制した DPSC (DPSC-sh-cdh5) を分化誘導培地で 7 日間培養し、VE-cadherin, CD31, VEGF receptor-2 (VEGFR2) の発現量をウェスタンブロッティング法で評価した。また、分化誘導した DPSC の血管内皮細胞としての機能を評価することを目的として、DPSC-sh-cdh5、および DPSC-sh-control を通常培地、あるいは分化誘導培地を用いてマトリゲルで三次元培養した。各条件下で培養した細胞について、培養 7 日目にマトリゲル上における網目状構造の形成について評価した。

【結果および考察】

DPSC-sh-cdh5、および DPSC-sh-control は緑色蛍光タンパク質を発現しており、各 shRNA が導入されていることが確認できた。DPSC-sh-cdh5 を分化誘導培地で培養すると VE-cadherin の発現は減少するが、CD31 や VEGFR2 といった血管内皮細胞マーカーは DPSC-sh-control と同程度に発現することが分かった。このことから、DPSC-sh-cdh5 は VE-cadherin を産生しないものの、血管内皮細胞の表現型を呈することが示された。トランスフェクションした細胞をマトリゲル上で培養したところ、通常培地では DPSC-sh-cdh5、DPSC-sh-control とともに増殖しないことが分かった。一方、マトリゲル上で分化誘導培地を用いて培養すると、DPSC-sh-control は血管内皮細胞に特有の網目状構造を形成するが、DPSC-sh-cdh5 は凝集体様の構造を形成することが明らかとなった (Figure)。これらの結果から、血管内皮細胞様細胞に分化した DPSC の血管様網目状構造の形成には、VE-cadherin が関与していることが明らかとなった。

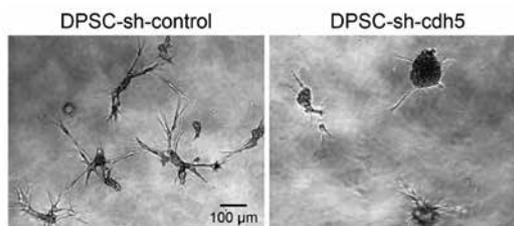


Figure. Endothelial sprouting of VE-cadherin-silenced DPSCs.

【結論】

血管内皮細胞様細胞に分化した DPSC が発現する VE-cadherin は、DPSC が毛細血管様の網目状構造を形成するうえで重要な役割を担っていることが示された。本研究で得られた知見は、歯や歯髄の発生を理解するうえで重要であり、さらに、DPSC を用いた様々な組織の再生医療の確立に有益であると考えられる。

歯髄幹細胞集合体の血管内皮細胞分化誘導による管腔様構造の形成

大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)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)²,
大阪大学大学院歯学研究科 先端機能性材料学共同研究講座³
○堅田千裕^{1,2}, 佐々木淳一¹, 林 美加子², 今里 聡^{1,3}

Luminal structure formation in dental pulp stem cell constructs by inducing endothelial differentiation

¹Department of Biomaterials Science, ²Department of Restorative Dentistry and Endodontology,

³Department of Advanced Functional Materials Science, Osaka University Graduate School of Dentistry

○KATATA Chihiro^{1,2}, SASAKI Jun-Ichi¹, HAYASHI Mikako², IMAZATO Satoshi^{1,3}

【研究目的】

歯髄再生は、従来から行われているガッタパーチャポイント等による根管充填処置にとって代わる画期的な治療法であると考えられており、近年その実現に向けて、組織工学的手法を応用する試みがなされている。しかし、歯髄再生の場である根管内への血流供給は根尖からのみであり、さらにその根尖の大きさが1 mm以下と小さいことから、歯髄の再生は他の臓器や組織の再生と比べて容易ではない。したがって、細胞の生存や増殖、分化をサポートする最適な微小環境を造り出し、歯髄再生を効率よく達成するためには、血管新生が極めて重要である。これまでに我々のグループは、ヒト歯髄幹細胞 (DPSC) からなる三次元細胞集合体を *in vitro* で作製することに成功し、この DPSC 集合体が自己組織化能を有していることを明らかにしてきた。本研究では、DPSC 集合体に血管網を誘導する技術の確立を目指し、DPSC 集合体を血管内皮細胞分化誘導することによる構造と遺伝子発現の変化を検討した。

【材料と方法】

ヒト第三大臼歯由来 DPSC を 100 mm 培養皿で培養し、100%コンフルエントを確認した後、さらに 5 日間培養を行った。セルスクレイパーを用いてシート状になった DPSC を回収し、温度応答性高分子ゲルで作製したモールド (12 mm × 3 mm × 3 mm) に填入して 2 日間培養後、周囲温度を低下させてモールドを拡張することで棒状の DPSC 集合体を得た。DPSC 集合体の血管内皮細胞分化誘導には、内皮細胞用培地 (EGM-2 MV) に血管内皮細胞増殖因子 (VEGF, 50 ng/mL) を添加した培地を用いた。この分化誘導培地で細胞集合体を最長 20 日間まで培養し、実体顕微鏡を用いて経時的な形態変化を観察した。また、同様に培養した試料からパラフィン包埋薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、および血管内皮細胞分化マーカーである CD31 と Smooth Muscle Actin (SMA) の免疫蛍光染色を行った。さらに、細胞集合体の外層、および内層を構成する DPSC の表現型を検討することを目的に、幹細胞マーカーである Nanog、血管内皮細胞マーカーである VEGFA と CXCL1 の mRNA 発現量をリアルタイム PCR 法で評価した。

【結果および考察】

DPSC 集合体を分化誘導培地で培養すると、7日目までは集合体の体積が減少するものの、それ以降は、大きさが維持されることが分かった。また、HE 染色から、集合体の最外層に細胞が密に存在していることが明らかとなった。免疫蛍光染色の結果、ゲルモールドから取り出した直後 (培養 0 日目) では CD31 と SMA は発現していなかったが、培養 10 日目、および培養 20 日目には、CD31 と SMA がともに集合体外層の細胞に強く発現していた。また、免疫蛍光染色の拡大像では、血管内皮細胞マーカーを発現している細胞が、集合体最外層で管腔様構造を形成している様子が観察された。一方、リアルタイム PCR の結果、培養 10 日目までの集合体において、集合体内層の細胞は外層の細胞と比較して Nanog を有意に高く発現していたが、培養 20 日目になると、集合体内層と外層の細胞で Nanog の発現量に有意な差は認められなかった。また、VEGFA および CXCL1 の mRNA 発現量については、20 日間の培養期間を通して、集合体外層の細胞が有意に高い値を示した。以上の結果から、細胞集合体の外層を構成する DPSC が血管内皮細胞へ分化することで、集合体内に管腔様構造を形成したものと考えられた。

【結論】

本研究の結果、DPSC 集合体を血管内皮細胞分化誘導することで、血管網構造をもった集合体を *in vitro* で構築できる可能性が示された。本研究で作製した DPSC 集合体を応用することで、より効率的な歯髄再生が達成できるものと期待される。

関節リウマチ患者におけるカルバミル化蛋白・好中球細胞外トラップの血清レベルと 歯周炎重症度との関連

新潟大学大学院医歯学総合研究科歯周診断・再建学分野¹、新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部²

○金子千尋¹、小林哲夫^{1,2}、杉田典子¹、吉江弘正¹

Association of serum levels of carbamylated protein and neutrophil extracellular trap with periodontitis severity in patients with rheumatoid arthritis

Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital²

○Chihiro Kaneko¹, Tetsuo Kobayashi^{1,2}, Noriko Sugita¹, Hiromasa Yoshie¹

【目的】

近年、関節リウマチ (RA) と歯周炎との双方向性の関連が示唆されている。翻訳後修飾のシトルリン化により産生された環状シトルリン化ペプチドに対する血清免疫グロブリン G 抗体価 (anti-CCP IgG titer) は RA の診断指標として用いられている。また、翻訳後修飾カルバミル化も RA に関与し、カルバミル化蛋白 (CarP) に対する血清 IgG 抗体価は RA 診断指標として有用であり、歯周炎患者歯肉でも CarP は検出されている。さらに、好中球活性化に伴い好中球細胞外トラップ (NET) が形成され、peptidylarginine deiminase (PAD) ・ myeloperoxidase (MPO) の放出により、シトルリン化・カルバミル化の促進や RA の病態形成への関与が示唆されている。これら NET 形成は歯肉溝浸出液や炎症歯周組織でも観察されている。私どもは、歯周炎の全身への影響の観点から、anti-CCP IgG ・ CarP ・ NET の血清レベルに着目し、歯周治療後に低下することを報告してきた。したがって、これらの血清レベルが歯周炎の重症度と関連している可能性が考えられる。そこで、本研究では、歯周炎併発の RA 患者を対象に、anti-CCP IgG ・ CarP ・ NET の血清レベルと歯周検査指標との関連性について検討を行った。

【材料および方法】

1. 対象：新潟大学歯学部倫理委員会・新潟県立リウマチセンター倫理委員会の承認のもと、同センターを受診し、インフォームドコンセントが得られた RA 患者 40 名を対象とした。
2. 歯周検査：O'Leary's ブラックコントロールレコード (PCR)、歯肉炎指数 (GI)、プロービング時出血 (BOP)、プロービング深さ (PD)、ならびに臨床的アタッチメントレベル (CAL) を測定した。
3. RA 検査：RA 活動度 (DAS28)、疼痛・腫脹関節数、Visual Analogue Scale (VAS)、投薬状態 (ステロイド、DMARD、非ステロイド性消炎鎮痛薬) を評価した。
4. 血清検査：CarP、NET、リウマトイド因子 (RF)、C 反応性蛋白 (CRP) の血清濃度、anti-CCP IgG titer を各々 ELISA 法にて測定した。

【結果および考察】

Spearman's rank correlation coefficient にて相関性を解析した結果、歯周炎併発の RA 患者において CarP ・ NET 血清レベルは Pd ・ CAL 平均値と有意な正の相関を示したが ($p < 0.05$)、anti-CCP IgG は相関を認めなかった。多重ロジスティック回帰分析の結果では、CarP ・ NET 血清レベルは中等度～重度の歯周炎と有意に関連することが示された ($p = 0.03$, $p = 0.001$)。これらの結果から、CarP ・ NET 血清レベルと歯周炎重症度との間には正の相関があることが示唆された。また、NET 血清レベルが DAS28 と有意な正の相関を示したが ($p = 0.04$)、CarP 血清レベルと DAS28 との間に相関は認められなかった。これは、CarP 陽性者の頻度が少ない (32%) ことが影響していると考えられる。さらに、NET 血清レベルと anti-CCP IgG titer との間にも有意な正の相関を認めた ($p = 0.007$)。この結果は、NET がシトルリン化蛋白の供給源の 1 つであり、NET 形成とシトルリン化蛋白産生が RA 病態形成に関与していることを支持していると考えられる。

【結論】

本研究の結果から、CarP ・ NET の血清レベルと歯周炎重症度との間には正の相関があることが示唆された。

会員外共同研究者：村澤 章博士、中園 清博士、伊藤 聡博士 (新潟県立リウマチセンター)

***Porphyromonas gingivalis*による内毒素血症が引き起こす、
非アルコール性脂肪性肝疾患への影響と、糖・脂質代謝、腸内細菌叢の変化**

東京医科歯科大学医歯学総合研究科歯周病学分野

○佐々木 直樹、片桐 さやか、駒崎 利奈、渡辺 数基、
前川 祥吾、芝 多佳彦、竹内 康雄、大津 杏理、和泉 雄一

Endotoxemia by *Porphyromonas gingivalis* injection aggravates non-alcoholic fatty liver disease, disrupts glucose/lipid metabolism, and alters gut microbiota in mice

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

○Naoki Sasaki, Sayaka Katagiri, Rina Komazaki, Kazuki Watanabe, Shogo Maekawa,
Takahiko Shiba, Yasuo Takeuchi, Anri Ohtsu, Yuichi Izumi

【背景】非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の発症に関連する多くのリスク因子として、糖尿病や肥満だけでなく、歯周病などが報告されている。歯周治療が行われる際、歯周病原性細菌が産生する内毒素によって一時的な内毒素血症が引き起こされると考えられている。本研究では、超音波破碎した *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) の静脈内投与が糖・脂質代謝、肝臓の脂肪化、およびマウスの腸内細菌叢に及ぼす影響について調査を行った。

【材料と方法】本研究は東京医科歯科大学動物実験委員会の承認のうえ行われた(承認番号 0170225A)。8 週齢の雄の C57BL / 6J マウス 20 匹に高脂肪食 (506.8 kcal/100 g) を与えて飼育した。マウスを無作為に 2 群に分け、10 匹には超音波破碎した 10^8 CFU の *Pg* を含む 100 μ l の生理食塩水 (HFPg) を、残りの 10 匹には 100 μ l の生理食塩水 (HFco) を 12 週間、週 2 回静脈内投与した。投与した *Pg* は超音波破碎により失活していたが、そのエンドトキシンは残存していた (0.7 pg/ml)。12 週後に 6 時間絶食後の経口糖負荷試験、インスリン負荷試験、血漿中のインスリン濃度の測定、micro-CT を用いた体脂肪の体積測定を行った。その後安楽殺を行い、肝臓の凍結切片での oil red O 染色を用いた組織学的評価、肝臓中のグリコーゲン・トリグリセライドの定量を行なった。また、肝臓の RNA を抽出、逆転写後、mRNA の発現を qPCR 法にて解析した。加えて、マイクロアレイ解析を行い、得られた遺伝子発現を KEGG pathway 解析、Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) にて評価した。12 週目に採取した便から 16S rRNA 遺伝子を抽出し、腸内細菌叢解析およびメタゲノム機能予測解析を行った。

【結果】HFco マウスと比較して、HFPg マウスは体重と体脂肪面積の増加、耐糖能異常、インスリン抵抗性および血漿インスリン濃度の上昇を示した。肝臓の組織学的評価では HFPg マウスでの脂肪化の亢進が認められ、グリコーゲン・トリグリセライド共に HFPg マウスでの増加が認められた。また、HFPg マウスにおいて *Glut2*, *G6p*, *Glck*, *Acc1* の増加が認められた。肝臓でのマイクロアレイ解析では、HFco と HFPg マウスとの間で $|\text{fold-change}|$ が 2 以上かつ $\text{FDR } q < 0.05$ を満たす 1278 個の発現変動遺伝子 (DEGs) が認められた。KEGG pathway による pathway 解析では、HFPg マウスにおいて脂肪酸伸長および脂肪酸分解に関与する遺伝子の上昇が認められ、また qPCR 法を用いてそれらの遺伝子 (*Acot1*, *Acot2*, *Acot3*, *Acot4*, *Aldh3a2*, *Cpt1b*, *Cyp4a10*, *Cyp4a14*, *Cyp4a31*, *Ehhadh*) の発現上昇を確認した。GSEA においては、NF κ B を介した TNF α シグナル伝達、脂肪酸代謝、脂質生成および低酸素症に関する遺伝子群が HFPg マウスにおいて上昇していた。腸内細菌叢の評価では超音波処理された *Pg* は腸に直接到達していないものの、HFPg マウスの腸内細菌叢を変化させ、科レベルでは HFPg での *Alcaligenaceae*, *Dehalobacteriaceae*, *Erysipelotrichaceae* の上昇、属レベルでは *Bilophila*, *Dehalobacterium* の減少、*Sutterella*, *Allobaculum* の増加、種レベルでは *Faecalibaculum rodentium*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri* の増加が認められた。腸内細菌叢におけるメタゲノム機能予測解析では、原核生物におけるクエン酸回路および炭素固定経路の増加を示した。

【結論】超音波破碎した *Pg* による内毒素血症は、NAFLD を悪化、インスリン抵抗性を増加、さらにはグルコース代謝を阻害することが示唆された。また、*Pg* の内毒素血症は、高脂肪食による腸内細菌叢の変化を増強する可能性が示された。

光重合型レジン修復物の窩壁適合性への光照射法、接着システムとレジンタイプの影響

¹ 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 歯制御学分野,

² Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, University of Washington

○吉川孝子¹、SADR Alireza^{1,2}、田上順次¹

Effect of Light-Curing Method, Bonding System and Resin Type on Composite/Wall Adaptation

¹ Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), ² Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, University of Washington

○YOSHIKAWA Takako¹, SADR Alireza^{1,2}, TAGAMI Junji¹

【研究目的】 著者は、Slow-start curing 照射法を用いると窩洞内のレジン修復物の重合収縮量が減少することを μ CT-3D Visualization 法により報告している。さらに、コントラスト比が増加するレジンの方が、コントラスト比が減少するレジンよりも Slow-start curing 法を用いると窩底部レジンの重合促進効果が高いことを報告している。本研究では、実験用ランプ電圧可変型光照射器 (GC) を使用し、通常照射法と Slow-start curing 法を用いて、コントラスト比が異なるコンポジットレジンにおけるレジン修復物の窩壁適合性について検討した。

【材料および方法】 直径 3mm、深さ 2mm の円柱窩洞に one-step セルフエッチングシステムの Clearfil tri-S Bond ND Quick (クラレノリタケデンタル) か two-step セルフエッチングシステムの Clearfil Mega Bond (クラレノリタケデンタル) を使用して、Clearfil AP-X (shade A3: クラレノリタケデンタル) か Clearfil Photo Bright (shade US: クラレノリタケデンタル) のレジンを充塞した。レジンのシェードは、その後、①通常照射法: 600 mW/cm² 40 秒と②Slow-start curing 法: 270 mW/cm² 10 秒照射、インターバル 5 秒、600 mW/cm² 30 秒により重合硬化させた。サーマルサイクル後、色素浸透試験により、レジン修復物の窩壁適合性を評価した。データ (n=5) は、Mann-Whitney U test と Kruskal-Wallis test を用いて統計処理を行った。

【成績および考察】 Clearfil Mega Bond を使用すると、どちらのレジンを使用しても 1 群を除いて Clearfil tri-S Bond ND Quick 群より有意に窩壁適合性が向上した ($p < 0.05$)。Slow-start curing 法を用いると、Clearfil Photo Bright の窩壁適合性が、どちらの接着システムを使用しても通常照射法を使用したものと比べ有意に向上した ($p < 0.05$)。Clearfil Mega Bond は、接着強さが高く、ボンディング層が厚い。また、Clearfil AP-X は、重合と共にコントラスト比 (硬化前後の不透明度) が減少し、Clearfil Photo Bright は、重合と共にコントラスト比が増加するタイプのレジンである。このことから、レジンの硬化に伴いコントラスト比が増加するタイプの光重合型レジンである Clearfil Photo Bright の方が、Clearfil AP-X よりも、Slow-start curing 法を用いて重合すると、重合収縮量が減少することと窩底部レジンの重合促進効果により、重合収縮応力を緩和して窩壁適合性が向上したものと考えられる。

【結 論】

光照射に伴いコントラスト比が増加する光重合型コンポジットレジンと two-step セルフエッチングシステムの Clearfil Mega Bond を使用し、Slow-start curing 法を用いて重合すると最も窩壁適合性が向上することが示唆された。

Table Cavity-wall gap formation (%: mean (SD))

Light-curing method / Material	Clearfil AP-X		Clearfil Photo Bright	
	tri-S Bond ND Quick	SE Bond	tri-S Bond ND Quick	SE Bond
600 mW/cm ² 40 s	55.2 (13.5) ^{A, B}	16.7 (9.2) ^{a, A}	28.2 (6.2) ^{a, A, C}	6.2 (4.8) ^{a, B, C}
270 mW/cm ² 10 s + 5-s interval + 600 mW/cm ² 30 s	35.9 (6.9) ^{D, E, F}	4.9 (8.2) ^{a, D}	1.4 (3.1) ^{a, E}	0 ^{a, F}

Intergroup data designated with same superscript lowercase letters for each light curing method are significantly different ($p < 0.05$).

Intergroup data designated with same superscript uppercase letters for each adhesive and composite are significantly different

($p < 0.05$).

紫外線照射処理がレジンセメントの各種被着体に対する引張り接着強さに及ぼす効果

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯蝕制御学分野

○石川 杏子、保坂 啓一、上野 剛史、中島 正俊、若林 則幸、田上 順次

The effect of UV treatment on various substrates using resin cements

Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,

Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo Japan

○KYOKO ISHIKAWA, KEIICHI HOSAKA, TAKESHI UENO, MASATOSHI NAKAJIMA,

NORIYUKI WAKABAYASHI, JUNJI TAGAMI

【諸言】

近年、間接法歯冠修復において、セラミックスや金属といった様々な材料が用いられており、それらの接着処理方法について様々な検討がなされている。しかしながら、被着体の汚染や、不十分な前処理などの理由により、理想的な接着を獲得することは容易ではない。被着体の表面は空気中に置くだけで炭化物によって被覆されることにより汚染されること知られているが、ある特定波長の紫外線を照射することにより接着阻害因子である炭化物を除去することができるとの報告がある。そこで本研究では、各種被着体に対する、紫外線照射の効果について、引張り接着試験を行い評価した。

【材料及び方法】

実験にはメタル (Pd-Au, CASTMASTER12S, トクヤマデンタル)、ジルコニア (TZ-3Y-E, TOSO)、ポーセレン (Super Porcelain AAA, クラレノリタケデンタル)、ニケイ酸リチウムガラス (e-max, Ivoclar Vivadent) の4種類の被着体を使用した。各被着体について#800 耐水研磨紙にて流水下で仕上げ、メタルとジルコニアについてはさらにサンドブラスト処理 (50 μ m 酸化アルミナをもちいて 各被着体 0.4MPa, 0.2MPa の条件にて) を行ない、すべての被着体について2分間の超音波洗浄を行い被着面とした。その後オイル (ヨシダスプレー、吉田製作所) に24時間浸漬し汚染したもの、行わなかったものを汚染群/非汚染群とし、汚染面/非汚染面に対する紫外線照射の有無と合わせ、4つの実験群を設定した。紫外線照射群は、殺菌灯 (UV-C, 240~280nm) を5cmの距離から連続48時間照射した。接着操作については、各種被着体表面にクリアフィルセラミックプライマー (クラレノリタケデンタル) を ϕ 4mmの範囲に塗布し、0.2Mpaのエアーにて均一な層にしたのち十分に乾燥した。メタルロッドにも同様な処理をし、パナビアV5 (クラレノリタケデンタル) にて接着させた後、37度水中に24時間保管したものを測定用試料とし、引張り試験を行なった。得られた結果はそれぞれの値は two way ANOVA 及び Bonferroni の検定を用いて有意水準5%で統計学的分析を行った。(p<0.05)

【結果及び考察】

引張り接着試験の結果、汚染群では全ての種類の被着体において、紫外線照射を行なった試料で有意に高い接着強さが認められた。また非汚染群ではメタル、E-maxにおいて紫外線照射を行なった試料で有意に高い接着強さが認められた。これらのことから、紫外線照射の効果は、被着体表面の炭化物を除去することにより接着強さを向上させることが示唆された。この紫外線照射処理の効果はその強度に影響されると思われ、至適強度についてはさらなる研究が必要である。

【結論】

本研究より、紫外線照射の効果により被着体の接着強さの向上が認められた。

Table. Bond strength to different dental materials obtained in this study.

	Metal		Zirconia		E-max		Porcelain	
	no UV	UV	no UV	UV	no UV	UV	no UV	UV
No Oil	6.2 \pm 1.9 ^{Aa}	9.1 \pm 2.4 ^{Ba}	14.4 \pm 2.1 ^{Aa}	17.2 \pm 3.5 ^{Aa}	4.8 \pm 1.1 ^{Aa}	6.1 \pm 1.3 ^{Ba}	8.3 \pm 2.3 ^{Aa}	10.7 \pm 2.9 ^{Aa}
Oil	4.4 \pm 1.3 ^{Ab}	7.9 \pm 2.1 ^{Ba}	10.8 \pm 3.1 ^{Ab}	14.7 \pm 4.1 ^{Ba}	4.0 \pm 1.2 ^{Aa}	6.1 \pm 1.3 ^{Ba}	5.5 \pm 2.0 ^{Ab}	11.3 \pm 2.1 ^{Ba}

(n=10, mean \pm SD)

Within the same row in each material, different capital superscript letters showare statistical difference (p<0.05).

Within the same column in each material, different lowercase superscripts show statistical difference (p<0.05).