

レジンコーティング法がセルフアドヒーシブレジンセメントの CAD/CAM レジンブロックと象牙質接着に及ぼす影響

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⁾、朝日大学歯科保存学分野歯冠修復学²⁾
 ○織田祐太郎¹⁾、高橋礼奈¹⁾、盧山晨¹⁾、二階堂徹^{1,2)}、田上順次¹⁾

Influence of resin coating technique on bonding of self-adhesive resin cement to CAD/CAM resin block and dentin

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

2) Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Sciences and Rehabilitation, School of Dentistry, Asahi University

○Yutaro ODA¹⁾, Rena TAKAHASHI¹⁾, Shin ROZAN¹⁾, Toru NIKAIDO^{1,2)}, Junji TAGAMI¹⁾

【研究目的】CAD/CAM システムの臨床応用により、間接修復法は大きな変革期を迎えている。また、歯質への前処理が不要なセルフアドヒーシブレジンセメントが、その簡便さから臨床の場において広く使用されるようになってきている。これまでの研究から、レジンコーティング法は歯髄保護だけでなく、レジンセメントの象牙質に対する接着強さや内部適合性を向上させることが知られている。そこで、本研究ではセルフアドヒーシブレジンセメントを用いた場合におけるレジンコーティング法が CAD/CAM レジンブロックと象牙質に対する接着強さに及ぼす影響について検討することとした。

【材料及び方法】ヒト健全抜去大白歯の象牙質を注水下にて露出させ、600 番の耐水研磨紙で研削し、ノンコート群とレジンコーティング群に分けた。レジンコーティング群は、象牙質面をクリアフィルムガボンド 2 のプライマーとボンディングで処理し、照射後、クリアフィルムジュスティ ES フローを筆で一層塗布し照射を行った。その後、あらかじめ作製した厚さ 1.5 mm の CAD/CAM レジンブロック (カタナアベンシアブロック) を、2 種のセルフアドヒーシブレジンセメント、SA ルーティングプラスオートミックスもしくは SA ルーティング Multi (すべてクラレノリタケデンタル社製) を用いて歯面に装着した。その際に、照射の有無によりセルフキュア群とデュアルキュア群に分け、セルフキュア群では試料を暗所に 30 分間保存し、デュアルキュア群では 20 秒間照射を行った。すべての試料を 24 時間 37°C にて水中保管後、接着界面が約 1.0×1.0 mm となるようにビーム状試片を作製し、小型卓上試験機 EZ-SX (島津製作所) にてクロスヘッドスピード 1 mm/分にて微小引張接着試験を行った。本研究は、東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認 (D2013-022 号) を得て行った。なお、照射には LED 照射器 (VALO、ウルトラデント:スタンダードモード 1000mW/mm²) を用いた。

【結果・考察】各条件における微小引張接着強さを Fig. に示す。

Three-way ANOVA の結果、レジンコーティングの有無、重合モード、セメントの主効果すべてが有意であった ($p < 0.05$)。レジンコーティングを施すことにより、セルフアドヒーシブレジンセメントに照射が十分に届かない条件においても象牙質と CAD/CAM レジンブロックに対する接着強さを向上させることが分かった。

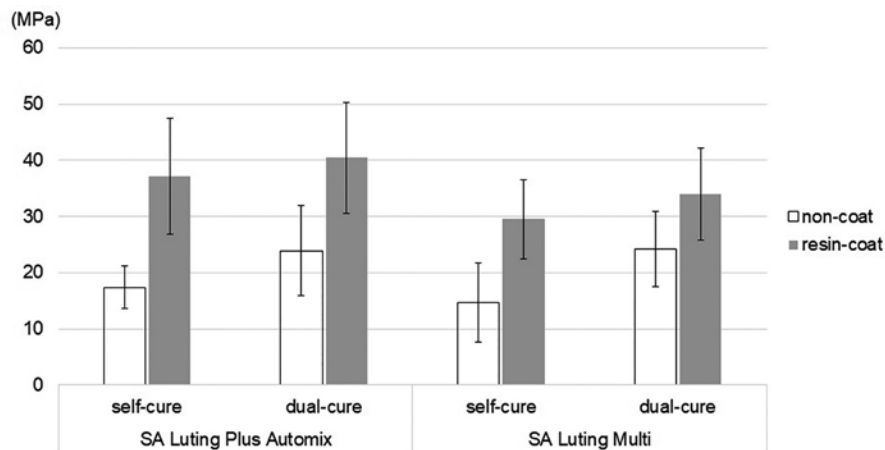


Fig. Microtensile bond strength of self-adhesive resin cement to dentin and CAD/CAM resin block

二ケイ酸リチウムガラスセラミックスへの窩壁適合性に及ぼすシラン含有接着剤への温風乾燥の影響

○Pa Pa Kay Khine¹, Ahmed Abdou¹, 高垣智博², 保坂啓一¹, 中島正俊¹, 田上順次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

Purpose: The removal of solvents with a simple air-drying stream is not easy task to be accomplished under clinical application. The purpose of this study was to evaluate the effect of warm-air treatment to three adhesive systems containing γ -MPTS on adaptation of composite to lithium disilicate ceramic under SS-OCT observation.

Materials and methods: Ten lithium disilicate glass ceramic blocks (E-max CAD; Ivoclar Vivadent) with 4 pre-fabricated cavities diameter of 2 mm at bottom, 4 mm at orifice and depth of 3 mm. Blocks were divided into 3 groups according to the adhesive systems; Clearfil Universal Bond quick ER (CQ, Kuraray Noritake Dental) with Ceramic Primer (CP, Kuraray Noritake Dental), Bondmer lightless (BL, Tokuyama) and Scotchbond Universal (SU, 3M ESPE). The specimens were further divided into two sub-groups with the air-drying method as follows; warm-air treatment (Warm) (60±5°C) with Dyson supersonic dryer for 20 seconds perpendicularly at a distance of 5 cm above the block; normal-air drying (Normal) from the air syringe (0.2MPa) for 20 seconds. After bonding application, light curing was performed for 10 seconds, except for BL, using a light curing unit (3M ESPE Elipar) and then Estelite Flow Quick Σ (FQ, Tokuyama) was filled and light-cured. Gap formation was observed using SS-OCT at the cavity wall and bottom surfaces after immediate filling and storing in distilled water at 37°C for 24 hours. Gap analysis was evaluated by Image J software. Statistical analysis was done by repeated measures ANOVA followed by pairwise comparison with Bonferroni correction ($\alpha=0.05$).

Results: Table showing gap formation of the materials tested

Groups	Bottom				Wall			
	Immediate		24 hours		Immediate		24 hours	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
BL (Normal)	4.4 ^C	1.2	4.2 ^E	1.1	18.1 ^C	0.4	17.8 ^D	0.6
BL (Warm)	8.0 ^{Cb}	3.7	17.6 ^{Ca}	3.8	13.6 ^E	0.9	22.1 ^B	0.5
CP (Normal)+CQ (Normal)	11.5 ^C	1.3	12.4 ^D	1.4	15.2 ^D	0.9	15.7 ^E	1.8
CP (Normal)+CQ (Warm)	5.0 ^C	0.1	4.8 ^E	0.2	12.7 ^{EF}	0.4	12.7 ^F	0.3
CP (Warm)+CQ (Warm)	4.7 ^C	0.2	4.9 ^E	0.2	12.7 ^{EF}	0.3	12.6 ^F	0.4
CP (Warm)+CQ (Normal)	5.2 ^C	0.4	4.9 ^E	0.4	11.3 ^F	1.2	13.0 ^F	0.3
SU (Normal)	81.8 ^{Ab}	11.2	100.0 ^{Aa}	0.0	19.2 ^{Bcb}	1.0	100.0 ^{Aa}	0.0
SU (Warm)	57.4 ^{Bb}	18.1	100.0 ^{Aa}	0.0	21.0 ^{Ab}	0.4	100.0 ^{Aa}	0.0

Different uppercase letter within each column indicate significant difference at $p \leq 0.05$

Different Lowercase letter within each row indicate significant difference at $p \leq 0.05$

Conclusion: Warm-air treatment could activate silane coupling agent in CP and CQ leading to reduction of gap formation on E-max. On the other hand, for BL, warm-air treatment had adverse effect on the adaptation of composite on E-max.

新規コンポジットレジン (オムニクロマ) の光拡散性とフィラー形態の評価

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, 松本 真理子, 川本 千春, 佐野 英彦

Light diffusivity evaluation and filler particle morphology observation of newly developed composite resin (OMNICHROMA)

Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

○Chen Fei, Yu Toida, Islam Rafiqul, Mariko Matsumoto, Chiharu Kawamoto, Hidehiko Sano

【緒言】

現在臨床で使用されている多くの充填用コンポジットレジンには、様々な色調の歯や部位に対して良好な色調適合性を示すために複数のシェードを組み合わせ用いられている。しかしながらその手技は煩雑であり、術者の熟練したテクニックが必要とされる。そこで、単一シェードで審美的な色調再現性を容易にするために、スーパーナノ球状フィラーを用いることで、光拡散性を調整し、構造色を利用する新規コンポジットレジンが開発された。本研究では、各種コンポジットレジンのフィラーの形状と光拡散性についてそれぞれ評価を行った。

【材料と方法】

本実験では新規開発された OMNICHROMA (OMNI, トクヤマデンタル)、Essentia (ESS, ジーシー)、Filtek™ Supreme Ultra (SUP, 3M) の3種のコンポジットレジンを使用した。モールドにコンポジットレジンを充填し、直径 6 mm、高さ 2 mm のディスクを作製、得られた試料を 24 時間 37°C 水中浸漬し実験試料とした。変角光度計 (Model GP-200, 村上色彩技術研究所) を用いて入射角度 -90° ~ 90° の測定条件下で光拡散性の測定を行った。フィラーの観察には、各種コンポジットレジン表面をアセトンで洗浄、乾燥した後、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用い形状および粒径を測定した。

【結果と考察】

Fig. 1 に各試料の透過光線の二次元強度分布測定した結果を示す。OMNI と SUP は ESS と比較し、低い光拡散性を示した。また、Fig. 2 に各コンポジットレジンの SEM 像を示す。OMNI は 260nm の単一球状フィラー、SUP はナノクラスターフィラーと球状フィラー、ESS では粉砕型フィラーが観察された。

光拡散性はフィラーの粒子径やフィラー・マトリックス間の屈折率の差に影響を受けるが、フィラーが 260nm の単一粒径である OMNI は、これらの良好なコンビネーションにより低い光拡散性を示したと考えられる。

【結論】

260nm の単一球状フィラーの OMNI は低い光拡散性を示し、審美性に優れた修復治療が可能となることが示唆された。

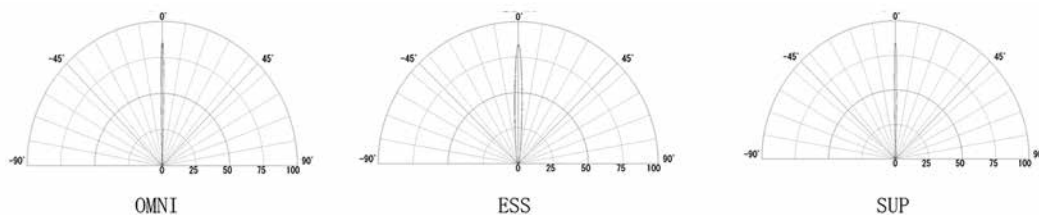


Fig.1 Light diffusivity

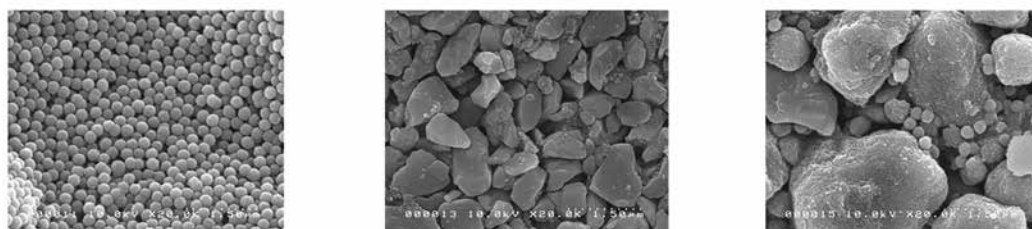


Fig.2 Filler observation

新規漂白材ホワイトエッセンスホワイトニング プロの漂白効果

東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 う蝕制御学分野
 ○大槻昌幸、保坂啓一、平石典子、田上順次

Bleaching effect of a new bleaching material; Whiteessence Whitening Pro
 Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and
 Dental University (TMDU)

○OTSUKI Masayuki, HOSAKA Keiichi, HIRAISHI Noriko, TAGAMI Junji

【緒論】 オフィースブリーチ材 ホワイトエッセンスホワイトニング プロ (エイアイシー) が、歯科用漂白材として製造販売承認を受けたが、その漂白効果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、ホワイトエッセンスホワイトニング プロの漂白効果について評価を行った。

【材料および方法】 抜去ウシ下顎切歯の唇側面中央のエナメル質が約 1mm になるように耐水研磨紙 #280~#1,000 で研削し、約 6 x 6mm の試片を切り出し、内径 10mm の円筒形アクリルチューブに歯科用重合レジンで包埋した。硬化後、エナメル質表面を耐水研磨紙 #1,200 で研磨し被験面とした。紅茶からの抽出液を着色液とし、試料を 40°C で 7 日間着色液に浸漬した。着色後、色彩計 (NR-12、日本電色) で測色を行い、CIE L*a*b*値を求めた。オフィスブリーチ材 ホワイトエッセンスホワイトニング プロ (WEWP) とティオン オフィス (TiON、ジーシー) を用いて、製造業者の指示にしたがって漂白処置を行った。すなわち、WEWP では、液とジェルを混和し、混和物を被験面に塗布して、歯面漂白用活性化装置 WE Light クラス II (エイアイシー) を用いて、High モードで、10 分間光照射を行った。TiON では、リアクターを塗布後、シリンジ A とシリンジ B の混和物を被験面に塗布し、歯科重合用光照射器 G-ライト プリマ II Puls (ジーシー) を用いて、PH モードで 60 秒間光照射後、4 分間静置した。漂白処置後、漂白材を除去して、測色を行った。漂白処置と測色は 6 回繰り返した。各実験群の試料数は 12 とした (n=12)。漂白前の測色値と各回の測色値から色差 (dE) を算出し、二元配置分散分析で有意水準 5%にて統計学的検討を行った (p=0.05)。

【結果および考察】 WEWP、TiON ともに、肉眼で顕著な漂白効果が認められ、漂白処置を繰り返すことによって、漂白効果は増大した。両実験群の色差を Fig 1 に示す。WEWP、TiON ともに、漂白回数が増すにつれて dE 値は増加し、WEWP は TiON に比べて有意に高い dE 値を示した (p<0.05)。したがって、WEWP は TiON と同様に優れた漂白効果が期待できると考えられる。本研究では、製造業者の指示にしたがって、WEWP では多数歯照射用の歯面漂白用活性化装置を用い、TiON では LED 光源の歯科用可視光線照射器を用いた。また、漂白時間も指示にしたがって、WEWP では 10 分間照射し、TiON では 60 秒間照射した後、漂白材の作用時間が 5 分となるように 4 分間静置した。両漂白材の成分が漂白効果に影響を与えたのみならず、照射器の種類、光照射時間および漂白処置時間が漂白効果に影響を及ぼしたものと考えられる。

【結論】 牛歯変色歯モデルを用いて、オフィスブリーチ材 ホワイトエッセンスホワイトニング プロの漂白効果を評価したところ、優れた漂白効果が認められた。

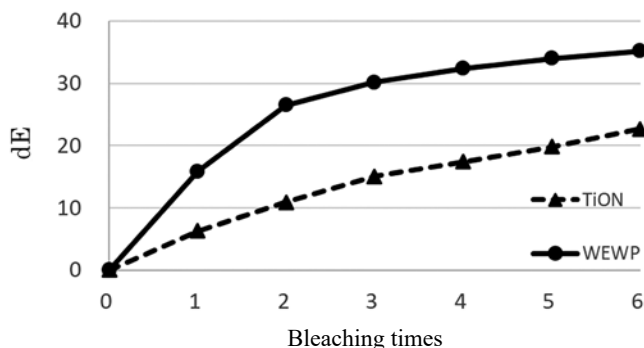


Fig 1. Mean Color differences (dE) of WEWP and TiON

アメロジェニンによるマクロファージによる抗原提示を抑制させる。

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

○四本かれん、田中麗、讃井彰一、大和寛明、中尾雄紀、渡邊ゆかり、福田隆男、西村英紀

Amelogenin inhibits IFN γ -induced MHC class II expression in macrophages

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

○Karen Yotsumoto, Urara Tanaka, Terukazu Sanui, Hiroaki Yamato, Yuki Nakao, Yukari Watanabe, Takao Fukuda, Fusanori Nishimura

【目的】

歯周外科処置時にエナメル基質タンパク質を使用すると術後の炎症反応が少なく治癒機転が良好であることが臨床的あるいは動物実験の結果から示唆されている。演者らはエナメル基質タンパク質の主成分であるアメロジェニンで単球を刺激すると主要組織適合遺伝子複合体クラス II (MHC II) の遺伝子発現が抑制されることを、マイクロアレイ解析の結果から見出した (Sanui et al. 2017 Am J Mol Biol)。一般に歯周炎病巣において、歯周病原細菌に対する免疫応答はマクロファージによる外来抗原の認識と提示が起点となる。本研究では、マクロファージにおいてアメロジェニンが IFN γ 刺激による MHC II の抗原提示にどのような影響を与えるのかを種々の手法で検証するとともに、詳細な分子機序を検討することとした。

【材料及び方法】

ヒトマクロファージ株 THP-1 を用い、アメロジェニンにて 24 時間刺激後、培地交換を行ない、IFN γ にて 24 時間刺激して、以下の解析を行なった。

1. THP-1 細胞表面上の MHC I、MHC II および共刺激分子 CD86 の発現をフローサイトメトリー法にて解析した。
2. IFN γ 受容体から MHC II 発現に至るまでのシグナル伝達経路解析をリアルタイム PCR 法およびウェスタンブロット法にて検討した。
3. MHC II 発現に関連する転写活性を解析する目的で、ヒストン修飾によるクロマチン構造変換をクロマチン免疫沈降法にて検討した。

【結果】

1. THP-1 細胞を IFN γ で刺激した時と比べ、アメロジェニンにて前処理した IFN γ 刺激において MHC II の細胞表面発現量は 2 分の 1 程度まで減少する一方、MHC I および CD86 の細胞表面発現量には差がなかった。また、種を超えてマウスマクロファージ株 RAW264.7 細胞でも同様の現象が確認された。
2. アメロジェニンは IFN γ 受容体下流の JAK および STAT のリン酸化や IFN 制御因子である IRF-1 の活性化に影響を与えなかった。しかしながら、MHC II 分子の転写活性化因子である MHC II トランス活性化因子 (CIITA) の遺伝子発現およびタンパク質発現を抑制した。また、MHC II の遺伝子発現も同様に低下させた。つまり、アメロジェニンによる MHC II の発現抑制は転写レベルで制御される可能性が示唆された。
3. CIITA のプロモーター4 領域において、アメロジェニンによって、転写活性化に重要なヒストン H3 の 27 番目リジン残基のアセチル化 (H3K27ac) が抑制を受けていることを確認した。

【考察および結論】

一般にクロマチンのメチル化は転写抑制を、アセチル化は転写活性の亢進に関わるとされる。今回の結果から、マクロファージにおいてアメロジェニンが H3K27ac というクロマチン構造変換を抑制することで CIITA の転写・翻訳を阻害し、IFN γ 誘導性 MHC II の発現を特異的に抑制している可能性が示唆された。歯周組織再生で臨床応用されているアメロジェニンはマクロファージの抗原提示能を抑制することで、Th1 細胞による細胞性免疫を中心とした免疫応答の発動を抑制し、その結果として外科処置後の創傷治癒を促進させている可能性が示唆される。

アメロジェニンおよび胃潰瘍治療薬テブレノンが歯根膜細胞機能に与える影響

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

○大和寛明、讀井彰一、四本かれん、中尾雄紀、渡邊ゆかり、福田隆男、田中麗、西村英紀

Effects of amelogenin and teprenone on the periodontal ligament cell function

Department of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University
○Hiroaki Yamato, Terukazu Sanui, Karen Yotsumoto, Yuki Nakao, Yukari Watanabe, Takao Fukuda, Urara Tanaka, Fusanori Nishimura

【目的】 演者らはエナメル基質タンパク質であるアメロジェニンが熱ショックタンパク質である Glucose-related protein 78 (GRP78) と直接結合することを発見し、さらに GRP78 を強発現させてアメロジェニンで刺激すると、ヒト歯根膜細胞株の遊走が著しく亢進することを報告した (Toyoda *et al.* 2016 *J Cell Physiol*)。テブレノンは胃粘膜保護薬剤であり、熱ショックタンパク質を誘導することが知られている。本研究では、GRP78 の強発現が歯根膜に好影響を与えると考え、テブレノン単体またはテブレノン+アメロジェニン混合刺激が歯周組織再生に应用可能かを、ヒト初代培養歯根膜細胞 (hPDLcs) を用いた *in vitro* の系で検討することとした。

【材料及び方法】

hPDLcs をテブレノンにて、またはテブレノン+アメロジェニンにて刺激して、以下の解析を行なった。

1. テブレノン単体刺激による GRP78 の遺伝子およびタンパク質発現の経時的変化について検討した。さらに、テブレノン刺激での歯根膜細胞の機能解析 (細胞増殖能・細胞分化能・細胞遊走能) を測定した。
2. DNA マイクロアレイを用いて、無刺激群とテブレノン刺激群を比較した遺伝子発現解析を行なった。さらに得られた結果をリアルタイム PCR 法、ウェスタンブロット法および ELISA 法を用いて遺伝子・タンパク質発現レベルで検証した。また、これらの分子動態が GRP78 の動態と関連するの否かについて siRNA を用いて検討した。
3. DNA マイクロアレイを用いて、テブレノン刺激群とテブレノン+アメロジェニン混合刺激群を比較した遺伝子発現解析を行なった。さらに得られた結果をリアルタイム PCR 法、ELISA 法を用いて遺伝子・タンパク質発現レベルで検証した。

【結果】

1. テブレノン刺激後 15 時間で GRP78 の遺伝子発現が、また 18 時間でタンパク質発現が最も強く誘導された。さらに、無刺激群と比較してテブレノン刺激群では細胞増殖と細胞分化に有意差がない一方、細胞遊走能が有意に促進されていた。
2. 無刺激群と比較してテブレノン刺激群において、血管新生作用のある *angptl4* 遺伝子が最も強く発現していた。次いで上皮細胞成長因子ファミリーの一つであるアンフィレグリンが高発現遺伝子として確認された。*angptl4* とアンフィレグリンはタンパク質レベルでも発現・分泌の増強が確認された。しかしながら、siRNA にて GRP78 を抑制すると、テブレノン刺激による *angptl4* とアンフィレグリンの分泌促進は抑制を受けた。
3. テブレノン刺激群と比較してテブレノン+アメロジェニン混合刺激群において、血管新生誘導因子である IL-8 遺伝子が最も強く発現していた。次いで IL-6 が高発現遺伝子として確認された。IL-8、IL-6 はタンパク質レベルでも分泌の増強が確認された。

【考察および結論】 今回の結果から、hPDLcs においてテブレノンは GRP78 の発現を増強し、細胞増殖と細胞分化には影響を与えない一方、細胞遊走を亢進させることが示唆された。また、テブレノン刺激による GRP78 の強発現が起点となり *angptl4* やアンフィレグリンの産生が促進されることを見出した。さらに、アメロジェニンが添加されると IL-8 や IL-6 による強力な血管新生が誘導される可能性も明らかにした。

以上から、テブレノンとアメロジェニンの混合刺激は創傷治癒に適した環境を創出する可能性があることから、新しい歯周組織再生療法の開発に対して一助を担うことが期待される。

タバコ煙の長期曝露が歯肉線維芽細胞の細胞機能に及ぼす影響

1. 大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)
 2. 神戸常盤大学短期大学部 口腔保健学科
- 辰己真理¹、柳田 学^{1,2}、長谷川詩織¹、鈴木美麻¹、
池上久仁子¹、山下元三¹、北村正博¹、村上伸也¹

Long-term exposure of cigarette smoke affects cellular functions of gingival fibroblasts

1. Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
 2. Department of Oral Health, Kobe Tokiwa Junior College
- Mari Tatsumi¹, Manabu Yanagita^{1,2}, Shiori Hasegawa¹, Mio Suzuki¹,
Kuniko Ikegami¹, Motozo Yamashita¹, Masahiro Kitamura¹, Shinya Murakami¹

【目的】

喫煙は歯周病の進行・悪化に関わる環境的危険因子の一つであり、タバコ煙の曝露により歯周組織を構成する歯根膜細胞や歯肉線維芽細胞の細胞増殖や付着が抑制されることが報告されている。喫煙により体内に摂取されるタバコ煙成分が歯周組織の恒常性維持に変調をきたし、さらに創傷治癒の遅延に関与することが考えられる。また近年、喫煙習慣が老化関連分子の血中濃度を変化させることが報告され、喫煙による老化の進行が分子細胞レベルで明らかになりつつある。これまで喫煙と歯周組織構成細胞に関する研究のほとんどは、*in vitro* の実験において数時間～数日間のタバコ煙曝露後の細胞機能の検討であり、長期にわたるニコチンやタバコ煙存在下での細胞機能の変化に関する研究報告は少ない。本研究では、タバコ煙の長期曝露が歯肉線維芽細胞の細胞機能に及ぼす影響を検討した。

【材料及び方法】

歯肉線維芽細胞 (HGF) を、タバコ煙主成分の一つであるニコチンあるいはタバコ煙濃縮物 (cigarette smoke condensate: CSC) 存在下で長期継代培養した。HGF の細胞老化の検討には X-Gal 染色法を、細胞老化に関連する miRNA の探索には miRNA Array を用いた。またニコチンあるいは CSC の長期曝露が HGF における炎症性サイトカイン、細胞外マトリックスおよび老化関連遺伝子の発現に及ぼす影響を real-time PCR にて検討した。さらにニコチンあるいは CSC の長期曝露が HGF の細胞遊走能に及ぼす影響を Wound healing assay にて検討した。

【結果】

ニコチンあるいは CSC の長期曝露により HGF の SA- β -Gal 陽性細胞の増加を認めた。またニコチンあるいは CSC の長期曝露群は同じ継代数の無刺激群と比較して miR-16、miR-29 および miR-199 の発現が 2 倍以上低下した。さらにニコチンあるいは CSC の長期曝露により HGF において、炎症性サイトカインである IL-6、細胞外マトリックスの発現に関連する MMP-1、COL1A1、COL3A1、フィブロネクチン、老化関連遺伝子である p16、p21、p53 の mRNA 発現は亢進した。一方、ニコチンあるいは CSC の長期曝露により、HGF の細胞遊走能は抑制された。

【考察及び結論】

長期にわたる喫煙習慣は歯肉線維芽細胞において細胞老化を促進し、炎症反応を惹起する一方で、その創傷治癒能力を低下させることで歯周病の病態増悪に関与する可能性が示唆された。なお、細胞老化と miRNA の関連については現在検討中である。

***Porphyromonas gingivalis* が腸管上皮バリア機能へ及ぼす影響の解析**

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

²新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔保健学分野

○都野隆博^{1,2}、高橋直紀¹、竹内麻衣¹、原実生¹、中島麻由佳¹、多部田康一¹、山崎和久²

Porphyromonas gingivalis* disrupts Intestinal Epithelial Barrier *in vitro

¹Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

²Research Unit for Oral-Systemic Connection, Division of Oral Science for Health Promotion, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Takahiro Tsuzuno^{1,2}, Naoki Takahashi¹, Mai Takeuchi¹, Miki Hara¹,
Mayuka Nakajima¹, Koichi Tabeta¹, Kazuhisa Yamazaki²

【背景と目的】

歯周炎が様々な全身疾患に悪影響をおよぼすことは既に広く認識されているが、近年その罹患率の増加が懸念されている炎症性腸疾患との関連については報告が少ない。炎症性腸疾患はクローン病と潰瘍性大腸炎を含む難治性腸疾患の総称であり、その根本的な治療法は未だ確立されていない。抗生物質による臨床症状の改善が報告されていることから本疾患の病態形成における細菌因子の関与も示唆されているが、その詳細は不明である。我々はこれまでに、嚥下された歯周病原細菌が生きたまま腸管まで到達することを確認し (Sato K *et al.*, *Sci Rep.* 2017)、実験的腸炎モデルマウスにおいて歯周病原細菌 *P. gingivalis* 投与が腸炎を悪化させることを報告したが (都野ら、第 62 回春季日本歯周病学会)、その病因メカニズムの詳細については明らかになっていない。そこで本研究では、歯周病原細菌が腸炎を悪化させるメカニズムを明らかにする目的で、腸管上皮細胞のバリア機能に対する *P. gingivalis* の直接的な影響に注目し、*In vitro* で解析を行うこととした。

【材料と方法】

ヒト腸管上皮細胞株 Caco-2 を *P. gingivalis* 菌体 (MOI 100, 1000) および *P. gingivalis* LPS (1 μ g/ml) にて 4 時間刺激を行い、細胞生存率を MTT アッセイにて、細胞の形態変化を光学顕微鏡にて観察した。また、上皮バリア機能に関連する各種細胞間接着分子 (ZO-1, ZO-2) の遺伝子発現とタンパク産生を realtime PCR 法と western blotting 法にてそれぞれ解析した。さらに、腸管上皮細胞のバリア機能を評価する目的で、Transwell インサートとフルオレセインイソチオシアネート (FITC) デキストランを用いて透過性試験を行った。下部インサートに漏出した FITC の蛍光強度を蛍光プレートリーダーにて測定し、上皮バリア機能を比較解析した。

【結果】

各種刺激による Caco-2 への細胞為害性は認められず、顕微鏡下においても細胞の異常な形態変化は認められなかった。LPS 刺激による ZO-1、ZO-2 の遺伝子発現レベルは、非刺激群と比較して有意な変化は認められなかった。菌体・培養上清刺激では非刺激群と比較し、ZO-1、ZO-2 の遺伝子・タンパクレベルでの濃度依存的に有意な減少が認められた。また FITC 透過性試験においては、非刺激群と比較して *P. gingivalis* 菌体刺激群において蛍光強度の有意な増加が認められた。

【考察と結論】

本研究の結果より、*in vitro* においては *P. gingivalis* が腸管上皮細胞に発現する細胞間接着分子の発現を制御することで上皮バリア機能が低下することが示唆された。これらの結果から、嚥下された歯周病原細菌が直接的に腸管上皮のバリア機能を低下させることによって炎症性腸疾患の病態形成に影響を及ぼすことも考えられる。その詳細なメカニズムに関しては今後さらなる検討が必要である。

脂肪細胞に発現する CCL19 が脂肪組織炎症および代謝制御に及ぼす影響

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
○林大翔, 岩下未咲, 西村優輝, 佐野朋美, 山下明子, 西村英紀

The effects of CCL19 expressed in adipocytes on adipose tissue inflammation and metabolic regulation

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

○Masato Hayashi, Misaki Iwashita, Yuki Nishimura, Tomomi Sano, Akiko Yamashita,
Fusanori Nishimura

【目的】

肥満症の脂肪組織にはマクロファージ, 成熟樹状細胞, T 細胞等の活性化免疫細胞が多数浸潤しており, これらの免疫細胞が肥満誘導性の脂肪組織炎症およびインスリン抵抗性に関与することが示唆されている。また, 重度歯周炎患者では高感度 C-reactive protein 値の上昇に反映されるような微細な炎症が脂肪組織を介して全身に波及し, インスリン抵抗性の増悪を引き起こしていることが示唆されている。演者らは先行研究において, 脂肪組織の慢性炎症およびインスリン抵抗性の惹起に関与する因子を網羅的に解析し, *Escherichia coli* lipopolysaccharide (*E.coli* LPS) で活性化されたマクロファージと共培養した脂肪細胞では, ケモカイン C-C motif chemokine ligand 19 (Ccl19) 遺伝子の発現が著明に亢進することを見出した。さらに, 遺伝性肥満および食餌性肥満マウスでは血液中の CCL19 濃度が増大すること, CCL19 の受容体 C-C chemokine receptor type 7 (Ccr7) 遺伝子を欠損させたマウスでは高脂肪食誘導性の肥満, 脂肪肝, インスリン抵抗性, 脂肪組織における炎症性細胞浸潤が抑制されることを示した (*Obesity*, 2015)。

そこで脂肪組織炎症および代謝制御における CCL19-CCR7 経路の関与について更に詳細な分子機序を明らかにするため, 脂肪細胞特異的に Ccl19 遺伝子を過剰発現させたマウスを作製した。本研究では, マウス大腿骨髄から採取し分化させた樹状細胞および, 脂肪細胞特異的に Ccl19 遺伝子を過剰発現させたマウスを用いて, 骨髄由来樹状細胞における CCR7 発現, 脂肪細胞 CCL19 が脂肪組織炎症ならびに代謝制御に及ぼす影響を検証した。

【材料・方法】

①マウス大腿骨から骨髄細胞を採取し, 樹状細胞分化誘導培地を用いて 7 日間培養。その後, 飽和脂肪酸 (パルミチン酸), *E.coli* LPS, *Porphyromonas gingivalis* (*P.g* LPS), tumor necrosis factor alpha (TNF- α) を添加し CCR7 発現への影響を解析した。

②脂肪細胞特異的に発現するアディポネクチン (Adipoq) 遺伝子に対する CRISPR/Cas9 を用いて Adipoq 遺伝子座に Ccl19 遺伝子をノックインし作製したマウスおよび野生型マウスを使用し, 脂肪細胞に特異的に発現する Ccl19 が炎症, 代謝制御に及ぼす影響を検証した。

本研究は九州大学動物実験委員会, 遺伝子組換え実験安全委員会の承認のもと実施した (承認番号: A29-358-2, A29-288-1, 29-44)。

【結果及び考察】

①マウス骨髄由来樹状細胞では, パルミチン酸によって CCR7 発現が増大した。一方, *E.coli* LPS, *P.g* LPS, TNF- α による発現誘導は軽微もしくは観察されなかった。すなわち, 飽和脂肪酸の血中濃度が上昇した状況下で, 血中 CCR7 陽性細胞数が増加する可能性が示唆された。

②脂肪組織のヘマトキシリンエオジン染色, 免疫組織化学染色 (CCR7) の結果, Ccl19 ノックインマウス (homo) では, 野生型マウスと比較し, 褐色脂肪組織中の脂肪滴の増大, 内臓・皮下・褐色脂肪組織中の CCR7 陽性細胞および内臓脂肪組織中の炎症性細胞浸潤の増大を示した。すなわち, CCR7 陽性細胞の浸潤に伴う炎症反応の増大によって, エネルギー代謝が低下し, 脂肪滴の沈着が誘導された可能性が考えられた。

現在解析中のマウス脂肪細胞 CCL19 が炎症および代謝制御に及ぼす影響についてあわせて報告する。

老化ヒト歯根膜細胞における活性酸素産生に及ぼすマイトファジーの役割

大阪大学大学院歯学研究科口腔分子免疫制御学講座歯周病分子病態学
○鈴木美麻、山下元三、池上久仁子、中村友美、西川有彩、橋本康樹、北村正博、村上伸也

Role of mitophagy on excessive ROS production in senescent HPDL cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○M.SUZUKI, M.YAMASHITA, K.IKEGAMI, T.NAKAMURA, A. NISHIAWA, K.HASHIMOTO,
M.KITAMURA, S.MURAKAMI

【目的】 歯根膜細胞は、コラーゲン、ペリオスチンなどの細胞外基質蛋白を大量に産生し、歯根膜-弾性線維組織を構築することで咬合力を緩衝する。また、創傷や組織傷害に際しては、歯根膜に存在している間葉系幹細胞叢集団や血管周皮細胞が多様な細胞に分化・増殖することで治癒、再生に携わる。ミトコンドリアは、細胞代謝の中心となるオルガネラであり、エネルギー源となる ATP を呼吸鎖電子伝達系にて産生する。その一方で、ダメージが蓄積されたミトコンドリアは、過剰な活性酸素種(Reactive Oxygen Species; ROS)を放出し、細胞構成蛋白や DNA を酸化、傷害することで炎症、アポトーシスを誘導することで、歯周病の病態形成へ関与することが報告されている。また、加齢により、ミトコンドリアの ATP 産生異常を伴う代謝不全が亢進し、メタボリックシンドローム、神経変性疾患、循環器系疾患などの成人性疾患の原因の一つになるものとして注目されている。しかしながら、歯周組織における ROS 産生の細胞性機構の詳細は未だ不明である。そこで、本研究では、ダメージを受けたミトコンドリアの細胞内クリアランス機構であるマイトファジーに焦点をあて、老化に伴うヒト歯根膜細胞(HPDL)における過剰な ROS 産生機構に及ぼす影響を検討する事を目的とした。

【材料と方法】 ヒト歯根膜細胞 (HPDL) を継代培養することで複製老化を誘導し、老化 HPDL として供した。また、老化 HPDL におけるミトコンドリアの形態については透過型電子顕微鏡 (TEM) を、膜電位の変化について JC-1 色素を、細胞内の ROS については CMH2DCFDA を用いて染色し、解析を行った。次に、老化 HPDL におけるマイトファジーを mt-mkeima-Red あるいは、低 pH 感受性のミトコンドリア標識試薬である Mtphagy Dye を用いて評価した。老化 HPDL のマイトファジーの機能低下におけるメカニズムの一つとして micro RNA (miRNA) に注目し、解析を行った。HPDL においてマイトファジー関連遺伝子を標的とする miR-181a, miR-137 の発現を検討した。模倣合成オリゴ (mimic) を導入し、標的遺伝子である PARK2、FUNDC1 の発現を qRT-PCR 法にて検討し、細胞内の ROS の変化を ROS 反応試薬 (CellRox Green) による染色により解析した。

【結果】 TEM 解析により、老化 HPDL では断裂、膨潤形態のミトコンドリアが増加することが観察された。また JC-1 標識により、老化 HPDL においては、ミトコンドリア膜電位の低下が認められた。老化 HPDL において細胞内の ROS の増加が認められた。Mtphagy Dye および mt-mkeima-Red を用いたマイトファジーの解析より、老化 HPDL においてマイトファジーの機能が低下していることが明らかとなった。また、老化細胞では miR-181a、miR-137 の発現が増加していた。正常 HPDL への miR-181a、miR-137 mimic の導入により、標的遺伝子 PARK2、FUNDC1 の発現が低下し、細胞内の ROS の蓄積が増加した。

【結論および考察】 老化 HPDL においては、損傷ミトコンドリアの認識機構とオートファジーフラックスの低下からなる、マイトファジーの機能不全が明らかとなった。そのメカニズムの一つとして、miR-181a、miR-137 によるミトコンドリア認識機構の異常が示唆された。その結果、損傷ミトコンドリアより放出された過剰な ROS が DNA の傷害を惹起し、内因性の酸化ストレスとなることが示唆された。加齢に伴う多様な環境ストレスへの暴露により、マイトファジーが低下することで歯周組織の酸化ストレスを誘導し、歯周病病態の増悪に関与することが推察される。

口腔サンプルを用いて作製したバイオフィームの実験モデル間の差に関する検討

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新潟大学医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 (う蝕学分野)

○前歯 葉月¹, クランリアン キッティピット¹, 外園 真規¹, 朝日 陽子¹,
山口 幹代¹, 栗木 菜々子¹, 野杵 由一郎², 林 美加子¹

Different characteristics of oral biofilms among experimental models

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

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

○Hazuki Maezono¹, Kittipit Klanliang¹, Maki Sotozono¹, Yoko Asahi¹,

Mikiyo Yamaguchi¹, Nanako Kuriki¹, Yuichiro Noiri², Mikako Hayashi¹

【背景および目的】う蝕や歯周炎といった口腔バイオフィームが原因で起こる疾患に対する新規抑制・制御法を開発するためには、実際の口腔で効果を試す前に実験的に作製したバイオフィームでの検討が必要不可欠である。口腔バイオフィーム研究のための様々な実験モデルが存在するが、*in vitro* モデルでは実際の口腔環境と隔たりがあり、また、*in situ* モデルは実際の口腔環境が反映されているものの、サンプル数に制限があることなど、いずれも最適なバイオフィームモデルとは言い難いのが現状である。

本研究では、将来的に新たなバイオフィーム制御法を構築するために必要な研究を進めていく上で最適なバイオフィームモデルを開発することを念頭に、実際の口腔サンプルを用い、複数のモデルを用いて実験的に作製したバイオフィーム、および実際の口腔内から採取したプラークに関し、各種検討を加えることで実験的に作製したバイオフィームモデル間の差異に関する検討を行うこととした。

【材料および方法】本研究では2種の *ex vivo* モデル、*in situ* モデルおよびヒト口腔より採取した歯肉縁上プラークを比較検討した。*Ex vivo* モデルでは、ヒト口腔より採取した歯肉縁上プラークサンプルをもとに、24穴組織培養プレートを用いた静置系モデルおよび modified Robbins device (MRD)を用いたフローセルモデル上にて、ハイドロキシアパタイト (HA) ディスク上に複数菌種からなるバイオフィームを37°C、嫌気条件下で3週間培養し作製した。また、*in situ* モデルでは口腔内装置にHAディスクを装着し、実際の口腔内で72時間までバイオフィームの作製を行った。それぞれのモデルで作製したバイオフィームサンプルについて、HAディスク上に形成されたバイオフィーム細菌を回収しBHI寒天培地を用いて生菌数測定を行い、モデル間による差異、および同一モデル内での経時的な変化についての検討を行った。加えて、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて調整したバイオフィーム試料の微細形態学的に観察した。さらに、各モデルと実際の歯肉縁上プラークよりDNAを抽出し、16s rRNAピロシーケンス解析を行って比較した。

【結果】*Ex vivo* モデルでは、静置系およびフローセルを用いたいずれのモデルにおいても、HAディスク上に形成されたバイオフィーム中の生菌数は経時的に増加する傾向を示したが、最終的に得られるHAディスク上の細菌数に有意差を認めなかった。また、SEMでの微細形態学的観察により、バイオフィームは時間の経過とともに厚みを増し、構造が複雑化することが示された。さらに、各実験モデルおよび実際の歯肉縁上プラークを比較した16s rRNAピロシーケンス解析では、構成細菌が*ex vivo* の2モデル間、および*in situ* モデルと歯肉縁上プラーク間でそれぞれ類似した傾向を示すことが明らかとなった。

【結論】口腔サンプルを用い、*ex vivo* および*in situ* モデルでHAディスク上にバイオフィームを作製することに成功した。得られたバイオフィームの性質にはモデル間で差異を認めた。

本研究は大阪大学大学院歯学研究科・歯学部および歯学部附属病院倫理審査委員会により承認の上、実施された(承認番号H30-E25)。また、本研究はJSPS科研費JP17K17133, JP17H04382 およびセコム科学研究費助成金の助成を受けて行われた。

S100A9 は MAPK および STAT3 経路を介して骨細胞における IL-6 と RANKL の発現を調節する

徳島大学大学院医歯薬学研究部歯周歯内治療学分野
○高木亮輔, 坂本英次郎, 稲垣裕司, 成石浩司, 木戸淳一, 湯本浩通

S100A9 regulates the expressions of IL-6 and RANKL in osteocytes through MAPK and STAT3 signaling pathways

Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Biomedical Sciences,
Tokushima University Graduate School
○Ryosuke Takagi, Eijiro Sakamoto, Yuji Inagaki, Koji Naruishi, Jun-ichi Kido, Hiromichi Yumoto

【研究目的】

歯周病は歯槽骨吸収および歯周組織の破壊を伴う慢性炎症性疾患である。S100A8 と S100A9 蛋白のヘテロダイマーであるカルプロテクチン (S100A8/S100A9) は、好中球、単球や上皮細胞から分泌され、傷害関連分子パターン (DAMPs) として炎症反応に関与している。カルプロテクチンは、歯周病部位の歯肉溝浸出液中でそのレベルが高く、また、炎症性サイトカイン、ケモカイン、MMPs の発現を促進することが知られている。一方、骨細胞は骨組織中に最も多く存在する細胞であり、骨形成と骨吸収をコントロールしていることが知られている。しかしながら、カルプロテクチンが骨細胞に及ぼす影響についてはその詳細は明らかではない。そこで、本研究では歯周病における骨吸収メカニズムにおけるカルプロテクチン (特に S100A9) の役割を解明するために、骨細胞に与える影響について検討をおこなった。

【材料と方法】

マウス骨細胞株 MLO-Y4-A2 を、10%FBS を含む α -MEM 培地で培養し、リコンビナント S100A8 または S100A9 (50 nM) で一定時間刺激を行った。ポジティブコントロールとして *P. gingivalis* 由来リポ多糖 (*P. g* LPS; 500 ng/ml) を用いた。刺激を行った骨細胞から RNA や蛋白の画分を抽出し、カルプロテクチンの受容体 (Receptor of AGE; RAGE, Toll-like receptor 4; TLR4), IL-6 および RANKL の発現についてリアルタイム PCR 法, ELISA 法, ウェスタンブロット法でそれぞれ解析を行った。さらにシグナル伝達経路を検討するため、siRNA の導入による RAGE および TLR4 のノックダウン, MAPK および STAT3 の阻害剤の添加を行い IL-6 と RANKL の発現を測定した。リコンビナント S100A8 と S100A9 による細胞生存率への影響は、Cell Counting Kit-8[®] を用いて解析した。

【結果】

S100A8 および S100A9 は、実験に用いた濃度範囲 (0-50 nM) で細胞生存率に影響を与えなかった。S100A9 と *P. g* LPS は骨細胞の IL-6 と RANKL 発現を有意に増加したが、S100A8 は発現に影響を与えなかった。また、S100A9 は RAGE および TLR4 の発現に影響を与えなかった。さらに S100A9 は p38, ERK および STAT3 のリン酸化を促進したが、JNK のリン酸化には影響を与えなかった。また、RAGE と TLR4 のノックダウン、あるいは p38, ERK および STAT3 の阻害剤の添加により、S100A9 誘導性 IL-6 と RANKL の発現が抑制された。

【考察と結論】

S100A9 は骨細胞において、RAGE や TLR4 との結合後、p38, ERK および STAT3 の活性化を介して IL-6 と RANKL の発現を増加した。これらの結果から、S100A9 が骨細胞への影響を介して破骨細胞の分化を誘導し、歯周病による骨吸収に関与している可能性が示唆された。

NIK 阻害剤の破骨細胞分化および骨吸収に対する抑制効果

¹九州歯科大学 口腔保存治療学分野、²九州大学 口腔細胞工学分野、³九州大学 OBT 研究センター
○高倉 那奈^{1,2}、自見 英治郎^{2,3}、松田 美穂²、日浦 史隆²、北村 知昭¹

The inhibitory effect of NIK inhibitor on osteoclast differentiation and bone resorption

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University, ²Laboratory of Molecular and Cellular Biochemistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ³Oral health Brain health Total health Research Center, Kyushu University
○TAKAKURA Nana¹, JIMI Eijiro^{2,3}, MATSUDA Miho², HIURA Fumitaka², KITAMURA Chiaki¹

【目的】

現代社会では健康寿命が延伸し慢性疾患を抱えた患者が増加しているが、中でも慢性関節リウマチや骨粗鬆症等の骨吸収の亢進を伴う疾患が高い有病率を占めている。歯科における骨吸収亢進を伴う疾患として歯周病や根尖性歯周炎が挙げられる。これらの疾患において過度な免疫応答で増悪した骨吸収領域は通常の治療では治らないことも多い。治癒へと誘導するうえで免疫応答を適度に制御する必要があるが、この考え方は新たな骨吸収阻害薬開発の基盤となっている。免疫応答の中心である NF- κ B シグナル伝達経路には I κ B α の分解を伴う古典的経路と NF- κ B inducing kinase (NIK) の活性化を伴う非古典的経路の 2 つが存在すること、破骨細胞分化誘導因子 receptor activator of NF- κ B (RANKL) は両経路を活性化することが知られている。これまでの研究結果より、我々は治療標的としての可能性がある経路として非古典的経路に焦点を当てた研究を進めており、NF- κ B 誘導性キナーゼ (NIK) に変異を有し p100 から p52 のプロセッシングが起きない機能欠失型免疫不全マウス *aly/aly* マウスが破骨細胞数の有意な減少を伴う軽度の大理石骨病を呈することを明らかにしている。この骨量の増加は破骨細胞数の減少に起因することから NIK の機能を阻害することで骨吸収が抑制される可能性が予測された。本研究では、新規 NIK 阻害剤の破骨細胞形成および骨吸収機能に対する抑制効果について検討した。

【材料及び方法】

本研究は九州大学動物実験委員会の承認を得て行った (A30-217-0)。5-6 週令の雄性 C57BL/6J マウスの脛骨および大腿骨より骨髓細胞を調製し NIK 阻害剤で前処理した後、M-CSF および RANKL 存在下で培養して破骨細胞を誘導した。培養 7 日目に酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い TRAP 陽性多核細胞を破骨細胞として計測した。また、カテプシン K や DC-STAMP などの破骨細胞分化マーカーの発現量の変化を Real-time PCR 法で確認した。骨髓細胞を NIK 阻害剤前処理後に RANKL で刺激し経時的にタンパク質を回収した。NIK 阻害剤による古典的および非古典的経路への影響はウエスタンブロッティング法を用いそれぞれ I κ B α 分解と p100 限定分解を解析することで評価した。また、破骨細胞分化関連因子である NFATc1 発現量の変化もウエスタンブロッティング法で評価した。加えて、マウス骨髓間質細胞株 ST2 細胞と骨髓細胞の共存培養における 1 α 25 (OH)₂D₃/デキサメタゾン誘導性破骨細胞形成に対する効果を検討するとともに、骨吸収に対する効果を Pit formation assay で検討した。

【結果】

NIK 阻害剤は骨髓細胞単独培養および共存培養のいずれにおいても細胞増殖に影響を与えず濃度依存的に破骨細胞形成と分化マーカーの発現を抑制した。また、NIK 阻害剤は RANKL 刺激による I κ B α の分解には影響せず、p100 の限定分解を抑制し、NFATc1 の発現も経時的に抑制した。さらに、成熟破骨細胞に NIK 阻害剤を添加したところ、破骨細胞数に影響せずに吸収窩形成を抑制した。

【考察】

NIK 阻害剤は NF- κ B の非古典的経路を選択的に阻害し細胞にダメージを与えることなく破骨細胞分化および骨吸収を抑制した。以上の結果は、骨破壊を伴う疾患の治療において NIK 阻害剤が骨破壊を抑制し治癒を促進する薬剤として応用可能であることを示唆している。

【結論】

NIK 阻害剤は NF- κ B の非古典的経路を選択的に阻害することで破骨細胞分化および骨吸収を抑制する。

象牙質接着界面の SEM 観察：ユニバーサルアドヒーズブと他の接着システムとの比較

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⁾，金丸歯科医院⁴⁾

○ 高見澤俊樹^{1,2)}，今井亜理紗¹⁾，廣兼榮造¹⁾，野尻貴絵¹⁾，
辻本暁正^{1,2)}，宮崎真至^{1,2)}，吉野弘三^{1,3)}，金丸壽良^{1,4)}

SEM Observation of Dentin Bond Interfaces: Comparing Universal Adhesives with Previous Generation Adhesive Systems

Department of Operative Dentistry¹⁾，Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾，
Nihon University School of Dentistry, Fukuishi Dental Clinic³⁾，Kanamaru Dental Clinic⁴⁾

○ TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}，IMAI Arisa¹⁾，HIROKANE Eizo¹⁾，NOJIRI Kie¹⁾，
TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}，MIYAZAKI Masashi^{1,2)}，YOSHINO Kozo^{1,3)}，KANAMARU Toshiro^{1,4)}

【緒言】

歯質接着システムのうち、エッチ&リンス (ER) システムでは、操作ステップの違いによって3および2ステップに、セルフエッチ (SE) システムでは、2および1ステップに分類される。これらの接着システムは、操作ステップとともに接着メカニズムも異なる。ER システムの象牙質接着メカニズムは、比較的厚い樹脂含浸層の形成による微機械的嵌合力を主体とし、SE システムでは機能性モノマーによる化学的接着が重要とされている。一方、近年使用頻度が増加しているユニバーサルアドヒーズブは、SE システムの範疇にあるものの、歯質に対してトータルあるいはセルフエッチモードでの使用が可能であり、その接着強さはエッチングモードの違いに影響を受けないとする報告も多い。しかし、接着界面における微小構造はエッチングモードによって大きく異なるため、エッチングモードの違いによってその接着メカニズムは異なるものと考えられるが詳細は不明である。

そこで、ユニバーサルアドヒーズブの接着メカニズム解明の一環として、異なるエッチングモードで用いた際のユニバーサルアドヒーズブにおける象牙質接着界面の微小構造について、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察を行うことによって、これまでの接着システムと比較、検討した。

【材料および方法】

ユニバーサルアドヒーズブとして、All Bond Universal (AB)、Adhese Universal (AU)、Clearfil Universal Bond Quick (CU)、G-Premio Bond (GP)、Prime&Bond Universal (PU)、OptiBond Universal (OU) および Scotchbond Univesal (SU) を用いた。ER システムとして、3ステップの OptiBond FL (OU) および Scotchbond Multi-Purpose Plus (SP) とともに、2ステップの Single Bond Plus (SB) を用いた。SE システムでは、2ステップの OptiBond XTR (OX) および Clearfil Mega Bond 2 (MB) とともに、1ステップの G-Bond Plus (GB) および Clearfil TriS Bond ND Quick (CT) を用いた。

SEM 観察用試片の製作に際しては、ウシ下顎前歯を使用し、モデルトリマーを用いて平坦な象牙質面を露出、耐水性 SiC ペーパーの #320 を用いて表面を研削し、被着面とした。各製造者指示条件に従って歯面処理、アドヒーズブへの光照射を行った後、光重合型コンポジットレジン (Clearfil AP-X) を填塞、光照射を行った。これを 37°C 精製水中に 24 時間保管した後、エポキシ樹脂に包埋した。樹脂が硬化した後、硬組織精密低速切断機を用いて注水下で縦断し、この面をダイヤモンドペーストの粒径 0.25 μm まで順次研磨した。これらの試片を二群に分け、一方の群は HCL (6 mol/L) に 25 秒間浸漬後、6% NaOCl に 3 分間浸漬した。すべての試片は、tert-ブタノール上昇系列に順次浸漬した後、臨界点乾燥を行い、加速電圧 1.0 kV、イオン流密度 1.2 mA/cm² の条件でアルゴンイオンエッチングを 40 秒間行った後、金蒸着した。次いで、フィールドエミッション 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】

アドヒーズブ層の厚みは、用いた接着システムの種類によって異なるものであった。すなわち、エッチングモードの違いに関わらず、ユニバーサルアドヒーズブでは 8~10 μm の厚みであったものが、AB および PU では 2~3 μm であった。樹脂含浸層の形成は、リン酸エッチングを行ったアドヒーズブでは 1~3 μm の厚みであったものの、2ステップ SE システムでは 0.5 μm 以下の、他の SE アドヒーズブにおいては明瞭な樹脂含浸層は観察されなかった。

【結論】

ユニバーサルアドヒーズブによって形成された象牙質接着界面の微細構造は、SE モードでは 1 ステップセルフエッチアドヒーズブと類似、ER モードでは 2 ステップ ER アドヒーズブと類似した像を呈していた。

デュアルキュアアクチベーターと照射時間が根管壁象牙質に対する接着強さに及ぼす影響

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

○ドウァンダニ ムニ スチ, 中島 正俊、アブドウ アフメド、米倉 和秀、保坂 啓一、田上 順次

Effect of dual-cure activator with extension of photo irradiation time on bonding to root canal dentin

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

○DWIANDHANY Wahyuni Suci, NAKAJIMA Masatoshi, ABDU Ahmed, YONEKURA Kazuhide, HOSAKA Keiichi, TAGAMI Junji

Purpose: Regional bond strengths of photocured adhesive systems to root canal dentin are affected by the photo energy, which decreases with increase of the depth of post cavity. Dual-cure activator has been proposed to enhance the chemical polymerization of adhesive agent with a dual-cure resin composite in the absence of photo energy and expected to provide the sufficient mechanical properties in the adhesive layer before light-polymerization of resin core material because of rapid chemical polymerization reaction with a touch response. The purpose of this study was to evaluate the bond strength of dual-cure composite resin core material to root canal dentin with different photo irradiation time using one and two-step self-etch adhesive system with and without dual-cure activator.

Materials and methods: Thirty human lower premolar tooth were decoronated at the cemento-enamel junction. Pulpal tissue was removed and root canals were enlarged using endodontic files up to size #40. Post cavity was prepared to 8.0 mm in depth; 1.5 mm in diameter using Gates-Glidden drills and fiber post drill. After post cavity preparation, all samples were divided into 6 groups according to adhesive materials with different photo irradiation time: (1) Clearfil Universal Bond Quick (UBQ), (2) Clearfil SE Bond 2 (SEB), and (3) SEB plus Clearfil DC Activator (SEB+DCA). Photo irradiation was performed for 10 s or 20 s from coronal direction. The post cavity was filled with a dual-cure resin core material (Clearfil DC Core Automix ONE) and light cured for 60 s. After 24 hours storage, all specimens were serially sliced to produce 8, 0.6x0.6 mm thick beams (4 coronal and 4 apical). The 20 beams were obtained for each experimental group. One of two interfaces of each beam was randomly selected and subjected to microtensile bond strength test at cross head speed of 1 mm/min. The failure mode was examined using SEM on both dentin and resin side. The bond strength data were analysed using three-way ANOVA followed by post-hoc test with Bonferroni correction for multiple comparisons ($\alpha = 0.05$). The failure mode data were analyzed using the chi-square test ($\alpha = 0.05$).

Results: Table showing microtensile bond strength of the materials tested

Groups	UBQ				SEB				SEB+DCA			
	10s		20s		10s		20s		10s		20s	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
Coronal	54.7 ^{Ab}	12.8	89.0 ^{Aab}	5.4	75.8 ^{Ab}	11.9	80.5 ^{Aa}	10.4	84.3 ^{Aa}	16.4	91.7 ^{Aa}	12.8
Apical	27.0 ^{Bc}	5.9	36.7 ^{Bbc}	10.4	37.3 ^{Bbc}	7.4	44.3 ^{Bab}	3.9	40.0 ^{Bbc}	8.6	56.7 ^{Ba}	7.6

Different uppercase letter within each column indicates significant difference ($\alpha = 0.05$).

Different lowercase letter within each row indicates significant difference ($\alpha = 0.05$).

Conclusion: Microtensile bond strength to coronal region was higher than that of apical region in all tested materials. However, the extension of photo irradiation and the addition of DCA did not improve the bond strengths of SEB to coronal and apical region, except for SEB+DCA with the 20 s photo irradiation to apical region. One-step self-etch adhesive showed lower bond strength than two-step self-etch adhesive.

Er:YAG レーザーハイドロキシアパタイト膜堆積法によるエナメル質小窩の修復

¹近畿大学生物理工学部, ²大阪歯科大学歯科保存学講座,
○本津茂樹¹, 南野智紀¹, 吉川一志², 山本一世²

Repair of enamel pits by Er: YAG laser hydroxyapatite film deposition method

Kinki University¹, Osaka Dental University²

○HONTSU Shigeki¹, MINAMINO Tomoki¹, YOSHIKAWA Kazushi², YAMAMOTO Kazuyo²

【研究目的】

エナメル質は歯の萌出時にはすでにエナメル芽細胞が存在しないため、一度欠損してしまうと二度と再生されない組織である。エナメル質欠損の修復にはこれまでコンポジットレジンが主に使用されてきた。しかし、レジンには歯質からの剥離やアレルギー反応を起こすなどの問題が指摘されている。本来、歯質の修復・保存は歯質の主素材であるハイドロキシアパタイト(HAp)を用いて行うことが望ましいが、セラミックス同士の固着は面粗度の相違のために非常に困難であり、未だ HAp を用いたエナメル質の修復治療は実現されていない。このような中で我々は、Er:YAG パルスレーザーデポジション(Er:YAG - PLD)法を発案し、この手法で堆積した α -TCP 膜が人工唾液中において約4日で HAp 膜になることを確認した。本研究ではエナメル質に人工的に小窩を設け、この小窩欠損を Er:YAG-PLD 法によって堆積された HAp 膜で修復可能かどうかを検討したので報告する。

【材料および方法】

本研究に用いた Er: YAG レーザーは Erwin AdvEri(モリタ製作所)である。レーザーチップには改造型ストレート P400T を用いた。Er:YAG レーザーを照射する膜原料のターゲットとして、HAp の前駆体である α -リン酸三カルシウム(α -TCP)粉末(太平化学産業製)を約 30 MPa でプレス成形した直径 5 mm, 長さ 5.5 mm のバルク体を用いた。また、膜堆積用のエナメル質基板として、ウシ抜去歯をレジン包埋した後、ダイヤモンドカッターで切断してエナメル質表面を露出させ、その後表面にミニルーターにより半径 1 mm の半球の小窩を形成したウシ歯エナメルディスクを用いた。

成膜に用いたレーザーエネルギーは 300 mJ, 繰り返し速度は 10 pps である。成膜の際、エナメル質上に pH4.0 の第一リン酸カルシウム水溶液を塗布することで堆積膜がエナメル質と固着しやすいようにした。また、アブレーション効率を上げるためターゲットに純水を塗布し、Er:YAG-PLD 法でエナメル質小窩上に成膜した。その後、試料を人工唾液中に浸漬させ、37°C の恒温槽内で 4 日間静置することで HAp 膜とした。評価方法として静置 4 日後の試料をレジン包埋し、エナメル質表面に対して垂直に切断した後、堆積膜とエナメル質の界面を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。

【結果および考察】

Fig. 1 にエナメル質上に形成した小窩(a)と Er:YAG-PLD による α -TCP 膜堆積後の小窩(b)の観察結果を示す。図より堆積膜によって小窩が封鎖されていることが確認できる。

Fig. 2 に膜堆積後のエナメル質小窩部の断面の SEM 観察結果および、エナメル質と堆積膜の界面の拡大図を示す。図より、深さ 1mm の小窩が HAp 膜によって完全に封鎖されていることがわかる。また、エナメル質と HAp 膜の界面において、HAp 膜とエナメル質とが密に固着していることがわかる。

【まとめ】

ウシ歯エナメル質上の小窩に Er:YAG-PLD 法で α -TCP 膜を堆積させた結果、深さ 1mm 程度の小窩欠損を完全に封鎖できることを確認した。また、HAp 膜とエナメル質の界面を断面 SEM 観察したところ、HAp 膜とエナメル質は密に固着していることも確認した。以上の結果から、Er:YAG-PLD 法はエナメル質の欠損の修復に対して非常に有用な手法といえる。

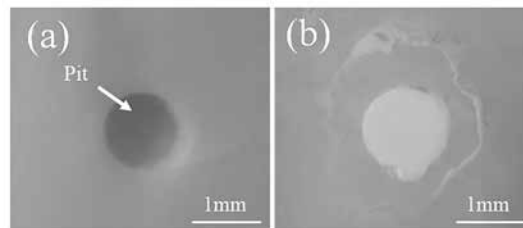


Fig.1. Photographs of pit formed on enamel (a), and pit after α -TCP film deposition by Er:YAG-PLD (b).

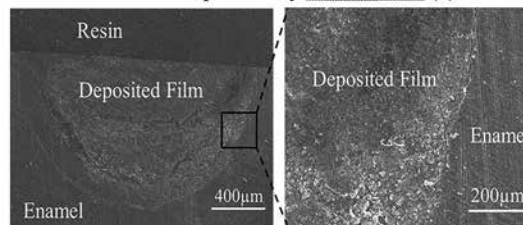


Fig.2. Cross-sectional SEM images of the deposited film-enamel interface of the pit region.

試作 Giomer 系セルフアドヒーシブフロアブルレジンの歯質接着性能および臨床応用

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⁾, 日野浦歯科医院³⁾

○辻本暁正^{1,2)}, 嶋谷祐輔¹⁾, 名倉侑子¹⁾, 野尻貴絵¹⁾,
石井 亮¹⁾, 高見澤俊樹^{1,2)}, 宮崎真至^{1,2)}, 日野浦 光³⁾

Bonding Performance and Clinical Application of Experimental Self-adhesive Flowable Resin Composite

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

○TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, SHIMATANI Yusuke¹⁾, NAGURA Yuko¹⁾, NOJIRI Kie¹⁾,
ISHII Ryo¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, HINOURA Ko³⁾

【研究目的】

近年、コンポジットレジンに機能性モノマーを含有させることで接着材を用いることなく、歯質への接着性の獲得を可能としたセルフアドヒーシブフロアブルレジンの市販されている。一方、その歯質接着性能は、従来のアドヒーシブを用いたシステムと比較して低いとされているところから新たな改良が望まれている。このような背景の下、松風から S-PRG (Surface Pre-Reacted Glass-Ionomer) フィラーを含有し、レジン系材料でありながら修復材からフッ素をはじめとする様々なイオンのリリース&リチャージ能を有する試作 Giomer 系セルフアドヒーシブフロアブルレジンの開発された。そこで、本フロアブルレジンの歯質接着性、窩洞辺縁適合性および臨床応用について検討した。

【材料および方法】

供試した試作 Giomer 系セルフアドヒーシブフロアブルレジンは、SI-R21701 F02 および F10 (松風) であり、対照としてセルフアドヒーシブフロアブルレジンの Constic (DMG), Fusio (Pentron) および Vertise Flow (Kerr) を用いた。

1) 剪断接着試験

ウシ下顎前歯歯冠部のエナメル質および象牙質に対し、供試した Giomer およびフロアブルレジンを製造者指示に従って塗布し、接着試片を製作した。エナメル質については、35%リン酸水溶液 (UltraEtch J, Ultradent Japan) を用いて 15 秒間処理を行った試片も製作した。剪断接着強さの測定は、接着試験用試片を 37 °C 精製水中に 24 時間保管後、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いて、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。

2) 窩洞辺縁適合性試験

窩洞辺縁適合性試験に際しては、ウシ下顎前歯歯冠部に円形窩洞を形成し、供試したセルフアドヒーシブフロアブルレジンを製造者指示に従って塗布し、光照射した。これらの試片を 37 °C 精製水中に 24 時間保管し、温熱負荷を 500 回負荷後に、ローダミン B 溶液に浸漬し、窩洞辺縁部に発生した間隙をデジタルマイクロスコープ (VHX-950F, Keyence) を用いて観察し、マイクロリーケージスコアを測定した。

3) 走査電子顕微鏡 (SEM) 観察

セルフアドヒーシブフロアブルレジンのフィラー性状を観察するため、通法に従って試片を製作し、走査型電子顕微鏡 (ERA 8800-FE, Elionix) を用いて、加速電圧 15 kV の条件で観察を行った。

【成績および考察】

試作 Giomer 系セルフアドヒーシブフロアブルレジンの歯質接着性は、Constic, Fusion および Vertise Flow と比較して有意に高い値を示した。また、窩洞辺縁適合性試験においても、試作フロアブルレジンは他の製品と比較してマイクロリーケージスコアは有意に小さいものであった。一方、セルフアドヒーシブフロアブルレジンのエナメル質に対する接着性および窩洞辺縁適合性は、リン酸エッチングにより有意に向上した。試作セルフアドヒーシブフロアブルレジンの SEM 観察においては、フィラー粒径 <1-15 μm の球状フィラーが多く散見されたものの、他の製品では、フィラー粒径 <1-20 μm (Constic: <1-15 μm; Fusio: <1-3 μm; Vertise Flow: <1-2 μm) の不定形フィラーが観察された。

【結論】

試作 Giomer 系セルフアドヒーシブフロアブルレジである SI-R21701 F02 および F10 は、市販のセルフアドヒーシブフロアブルレジと比較して良好な歯質接着性および窩洞辺縁適合性を有することが明らかとなった。また、そのエナメル質に対する接着性能はリン酸エッチングにより向上することが判明した。一方、セルフアドヒーシブフロアブルレジンの歯質接着性能は、従来のアドヒーシブを用いたシステムと比較してその接着強さは低いことから慎重な臨床応用が望まれるとともに新たな使用法の可能性が示された。

各種歯面処理材が非切削エナメル質接着界面へ及ぼす影響

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 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

○佐藤綾花¹ 馬場 雄大¹, 佐藤 隆明¹, 高垣 智博^{1,2}, ビチェバ マルティナ¹, 二階堂 徹^{1,2}, 田上 順次¹

Influence of tooth conditioners on uncut enamel

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

² Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

○Ayaka SATO¹, Yuta BABA¹, Takaaki SATO¹, Tomohiro TAKAGAKI^{1,2}, Martina VICHEVA¹, Toru NIKAIDO^{1,2}, Junji TAGAMI¹

【緒言】

近年、臨床においては、直接法コンポジットレジン修復を用いた非侵襲的な治療を目的として、非切削エナメル質にコンポジットレジン修復を行う機会が増加している。非切削エナメル質においてリン酸を前処理として用いた場合、セルフエッチングプライマーのみより引張り接着強さが有意に向上することが報告されている。近年、リン酸非含有の歯面処理材が臨床応用されているが、この材料が非切削エナメル質へ及ぼす影響はあまり報告されていない。そこで本研究では、切削、非切削エナメル質に対し各種歯面処理材を用いた際の、表面性状の変化ならびに酸-塩基抵抗性試験後の界面の形態を比較検討することとした。

【材料及び方法】

1) エナメル質表面性状の観察

健全ヒト抜去歯を用い、切削群では、ダイヤモンドポイントFG (F102R, 松風)を用い、注水下にて歯面の表面形態に沿って0.5 mmの深さで切削を行った。非切削群では、メルサージュブラシ (松風)を用い低速 (500 rpm) 注水下で15秒間歯面清掃を行った。歯面処理については、未処理のCT群、エナメルコンディショナー (EC, 松風)にて10秒処理したEC群、Kエッチャントシリンジ (KE, クラレノリタケデンタル)にて10秒処理したKE群とした。各群において、酸処理後の表面性状の観察を走査電子顕微鏡 (SEM, IT-100, 日本電子)にて行った。

2) 酸-塩基抵抗性試験

健全ヒト抜去歯の歯冠部分を上記と同様の方法で処理したエナメル質被着面を、切削群、非切削群とした。さらにCT群、EC群、KE群に分けてそれぞれ歯面処理を実施した後、クリアフィルメガボンド2 (SE2, クラレノリタケデンタル)を用いて、業者指示通りに処理し、LED照射器VALOキュアリングライト (ハイパワーモード、1400mW/cm²、ULTRADENT JAPAN)にて10秒間光照射を実施した。その後、クリアフィルマジエスティESフロー (ローフロー、クラレノリタケデンタル)を充填、光照射後37 °C水中に24時間保管して試料とした。Liら (J Dent, 2010)の方法に準じて酸-塩基処理を施した後、SEM観察を行った

【結果及び考察】

表面性状の観察では、切削群において、CT群では明瞭な切削痕ならびにスミヤーの残留が認められたが、KE群においては切削痕ならびにスミヤーは消失し、エナメル小柱の蜂巢様構造が明瞭に認められた。EC群においては、切削痕はやや不明瞭であり、スミヤーの消失を認めた。非切削群において、KE群においてのみ、エナメル小柱の蜂巢様構造が認められたが、切削群と比較してやや不明瞭であった。酸-塩基抵抗性試験では、切削群では既存の報告と同様にすべての群にAcid-base resistant zone (ABRZ)が観察され、歯面処理材を併用したEC、KE群ではABRZが肥厚する傾向にあった。非切削群ではCT群において、歯質ボンド間の界面に空隙が認められたが、EC群、KE群では認められなかった。

【結論】

各種歯面処理材による表面性状の変化、ならびに酸-塩基抵抗性試験後の界面の形態は、切削エナメル質、非切削エナメル質で異なる傾向を示した。非切削エナメル質においては、別途酸処理なしでは安定した接着界面が形成されない可能性が示唆された。

根面う蝕の硬さをカリオテスターで測定するための予備実験

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○清水明彦

Pilot study for measuring the hardness of root caries lesions using Cariotester

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine

○Akihiko Shimizu

【研究目的】

臨床では、エクスプローラーやプローブを使った触診で、根面う蝕の硬さを soft, leathery, hard などと判定している。しかし、この触診による硬さの判定では、使用される器具の先端形状や、操作法・操作圧などの規定が困難で、術者の主観にも左右される。このように、触診による硬さの評価には大きな限界があり、客観性も高いとは言えない。客観的で信頼性の高いデータを得るためには、機器を使って硬さを測定する必要がある。

本研究の目的は、歯科用硬さ測定器「カリオテスター」の庄子押し込み深さ(μm)をビッカース硬さ(HV)に変換するための換算式を求め、さらに根面う蝕の硬さをより正確に測定するための方策について検討することである。

【材料および方法】

実験1：カリオテスターの庄子の押し込み深さをビッカース硬さに変換するための換算式を求める

抜去歯(2本)の根面う蝕を耐水研磨紙で表面側からすり減らし、う蝕病変部を残した状態で鏡面研磨した。この研磨面のう蝕病変部に計20ヵ所の小領域を設定し、それぞれの小領域内でカリオテスター圧子を100gfで押し込み、その深さ(μm)を測定した。次に、付与されたカリオテスター圧痕の近傍4ヵ所のビッカース硬さを、微小硬度計(明石, MVK-E)を用いて測定しその平均値を求めた。カリオテスターの押し込み深さ(μm)とビッカース硬さ(HV)の散布図から、累乗近似曲線と相関式を求めた。

実験2(その1)：根面う蝕の乾燥に伴う硬さの変化

抜去歯(1本)の根面う蝕表層部の凹凸をラウンドバーで取り除き平坦化し被測定面とした。このう蝕象牙質面のビッカース硬さが、自然乾燥(室温22℃、湿度48%)に伴いどのように変化するかを、10分後、20分後、・・・180分後までカリオテスターで経時的に測定した(各回とも5ヵ所の硬さを測定しその平均値を求めた)。

実験2(その2)：う蝕表層部の凹凸や亀裂への対応

抜去歯(5本)のう蝕面を電動歯ブラシで清掃した面(R面)のビッカース硬さを、自然乾燥10分後と60分後にカリオテスターで測定した(それぞれ測定は12ヵ所)。次いで、う蝕の表層部の凹凸や亀裂をスプーンエキスカベーターやラウンドバーで取り除いて平坦化した面(SP面)について、自然乾燥10分後と60分後に同様に硬さを測定した。

【成績】

実験1より、カリオテスターの押し込み深さ(X μm)をビッカース硬さ(Y)に変換するための式 $Y = 983.17 X^{-1.297}$ ($R^2 = 0.9457$) が得られた。実験2(その1)：う蝕病変部の硬さは自然乾燥60分間までは増加するが、その後の増加は僅かであった。実験2(その2)：R面では凹凸や亀裂が庄子の押し込み深さの正しい判定を阻害するケースが多く、また硬い所と軟らかい所が混在していることもあり、測定値のバラツキが大きかった。一方SP面は、乾燥に伴う硬さの変化は認められるものの、R面に比べるとバラツキの少ない信頼性の高い硬さ値が得られた。

【考察】

抜去歯を使った実験で、カリオテスターを使用すればう蝕象牙質のビッカース硬さ(HV)が求められることが分かった。そして硬さ測定に際しては、う蝕の表層部に存在するさまざまな凹凸や亀裂を取り除いて平坦化するとともに、乾燥方法を規定することの重要性が示された。これらの点に配慮すれば、臨床でフッ化物塗布により根面う蝕が進行停止するのか、あるいは再石灰化するのかなどの問題も、硬さ値により客観的に評価することができるであろう。

【結論】

根面う蝕の硬さ(HV)をカリオテスターで測定する際には、う蝕表層部の凹凸や亀裂を取り除いて平坦化し、乾燥法を規定することにより、信頼性の高い測定が可能となる。

フッ化物含有知覚過敏抑制材の象牙質表層下脱灰病巣に対する再石灰化誘導能

神奈川県立歯科大学大学院歯学研究科 口腔統合医療学講座 保存修復学分野

○荻原 崇, 富山 潔, 飯塚純子, 石澤将人, 向井義晴

Effect of fluoride-containing desensitizer on remineralization of dentin subsurface lesion *in vitro*

Dep. of Oral Interdisciplinary Medicine, Div. of Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry,
Kanagawa Dental University

○OGIHARA Takashi, TOMIYAMA Kiyoshi, IIZUKA Junko, ISHIZAWA Masato, MUKAI Yoshiharu

【研究目的】

根面齲蝕の予防は、高齢者の現在歯数を向上させるために重要である。良好なブラッシングやフッ化物含有歯磨剤の使用は有効ではあるものの、露出歯根面における齲蝕の発症はいまだ数多く認められる。今回、フルオロアルミノシリケートガラスをナノサイズに粉碎したフィラーを原料とするフッ化物含有知覚過敏抑制材(ナノシール：日本歯科薬品)の象牙質再石灰化誘導能を確認するため、フッ化物非含有シール材(F⁻ ナノシール)を比較対象として検討した。

【材料および方法】

ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下から5mm根尖側の位置で水平に切断し、得られた円筒状試片を2分割した後、表面を2000番の耐水研磨紙で研磨して象牙質試料を得た。これら象牙質試料を6群に分け、各試料をプラスチック製円筒状容器の底にスティッキーワックスで固定し、各試料表面を2×3mmの試験面を残して耐酸性ネイルバーニッシュで被覆した。実験群はDem群、Rem群、nano-Rem群、nano(F⁻)-Rem群、nano-DW群、nano(F⁻)-DW群の6群とした(n=6)。各群の試料は酢酸ゲル法(1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 50mM acetic acid, 0.2ppm F, pH 5.0, 37°C)にて10日間脱灰した後、ナノシールまたはF⁻ ナノシールを20秒ごとに混和液を追加しながら計60秒間処理した。その後、Rem群、nano-Rem群、nano(F⁻)-Rem群は再石灰化液(1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 130mM KCl, 20mM Hepes, pH 6.8, 37°C)に、nano-DW群、nano(F⁻)-DW群は脱イオン水にそれぞれ2週間浸漬した。浸漬期間終了後、厚さ300μmの薄切切片を作製し、Transverse Microradiography(TMR)を撮影後(PW3830, Spectris, UK, 管電圧35kV, 管電流15mA, 照射時間15分)、TMR分析ソフト(TMR2006, 2012, Inspektor, The Netherlands)を用いてミネラル喪失量(IML: vol%×μm)、病巣深度(LD: μm)を測定した(p<0.05: One-way ANOVA, Tukey test)。

【実験結果】

Dem群では典型的な表層下脱灰病巣が形成されていた。またIML, LDを比較した結果、いずれもnano-Rem群が最も小さい値を示した(IML: Dem群;2591.3, Rem群;1865.0, nano-Rem群;756.4, nano(F⁻)-Rem群;1576.7, nano-DW群;2861.1, nano(F⁻)-DW群;2664.1), (LD: Dem群;134.3, Rem群;110.0, nano-Rem群;69.5, nano(F⁻)-Rem群;90.0, nano-DW群;152.4, nano(F⁻)-DW群;152.8)。平均ミネラルプロファイルにおいても、nano-Rem群は表層および病巣体部に最も多くのミネラルが残存していた。さらにnano-Rem群とnano(F⁻)-Rem群は、Dem群、nano-DW群、nano(F⁻)-DW群と比較して表層および病巣体部の両方で顕著に高いミネラル密度を示した。また、Rem群とnano-Rem群、nano(F⁻)-Rem群を比較した結果、表層のミネラル密度はいずれも同程度であるが、nano-Rem群とnano(F⁻)-Rem群は病巣体部でのミネラル密度がRem群より高い結果となった。

【結論および考察】

TMR像におけるエックス線不透過性の上昇がフィラーの影響のみによるものだけでないことを確認するため、本実験では処理後に脱イオン水に浸漬する群を設けた。IML, LDおよび平均ミネラルプロファイルの結果から、ナノシールは表層だけでなく病巣体部まで再石灰化を生じさせることが示された。病巣の再石灰化に関してF⁻ナノシールもナノシールに次ぐ良好な値を示したがIML, LDのいずれもRem群との間に有意差を認めなかったことから、ナノシール中に存在するF以外のSiO₂等による再石灰化誘導は僅かであり、再石灰化を生じさせる主体はフッ化物イオンであると考えられた。以上の結果から、ナノシールは露出歯根面に形成された象牙質齲蝕の再石灰化に有用である可能性が示された。

S-PRG フィラー含有材料塗布による根面象牙質へのバイオフィーム形成抑制効果

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

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野修復学²

○山本 志織¹, 高橋 基¹, 平石 典子¹, マティン カイルール¹, 二階堂 徹^{1,2}, 田上 順次¹

Inhibitory effect of biofilm formation on root dentin surface with S-PRG filler-contained coating material

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

² Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

○Shiori YAMAMOTO¹, Motoi TAKAHASHI¹, Noriko HIRAIISHI¹, Khairul MATIN¹, Toru NIKAIIDO^{1,2}, Junji TAGAMI¹

【緒言および研究目的】

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。これに対してマルチイオンを放出し、細菌付着抑制や知覚過敏抑制等の効果を持つ S-PRG フィラーが注目されている。本研究の目的は、S-PRG フィラー含有歯面コーティング材の塗布がウシ根面象牙質に対するバイオフィーム形成抑制効果について解明することである。

【材料および方法】

ウシ前歯歯根を用い、歯根部歯周組織を除去した後、約 4.0mm×4.0mm の象牙質試片を作製した。唇側を耐水研磨紙#600 にて平坦面を露出後、ダイヤモンドペースト 0.25 μm まで研磨を行い試料とした。試料は、コントロール群 (塗布なし: Control)、PRG バリアコート群 (松風, PRG-BC)、S-PRG 非含有バリアコート群 (松風提供, Non-PRG-BC) とし (n=6)、PRG-BC と Non-PRG-BC については業者指示通りとした。菌は *Streptococcus mutans* MT8148 (*S. mutans*) を用い、Brain heart infusion (BHI) にて培養後、リン酸緩衝液 (PBS) 中で再懸濁 (OD₄₉₀=0.55) した。人工口腔装置 (Oral Biofilm Reactor, OBR) 内にてバイオフィームを形成し、*S. mutans* の濁度 (OD) を測定した。非水溶性グルカン量 (WIG) の測定は、フェノール硫酸法を用いて測定した。得られた値は Tukey-HSD 検定を用いて有意水準 5% にて統計処理を行った。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を行った。

【結果および考察】

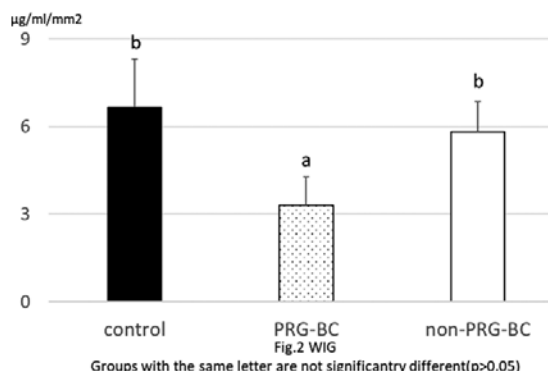
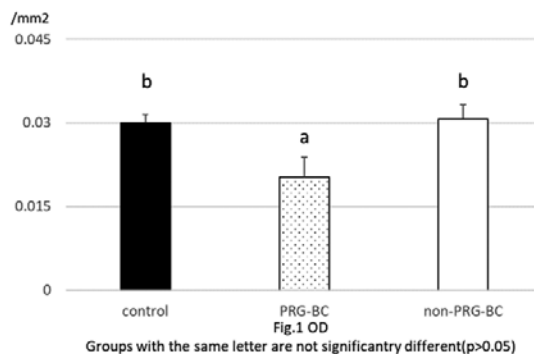
バイオフィーム形成の評価とし 20 時間後の OD (Fig. 1)、WIG (Fig. 2) を示す。

PRG-BC 群は Control 群、Non-PRG-BC 群と比較し、*S. mutans* の OD と WIG は有意に少なく、S-PRG フィラーによるバイオフィーム形成抑制効果が認められた。

SEM 観察により、PRG-BC 群では象牙質がコーティングされており、一部に細菌付着が認められた。Non-PRG-BC 群ではコーティングは認められたものの、その上に球体を主体とするバイオフィーム形成が認められ、Control 群では象牙細管へのバイオフィームの侵入が認められた。Non-PRG-BC 群、Control 群では全面に細菌付着が認められた。PRG-BC 群と Non-PRG-BC 群はともに、塗布後フィラーが象牙質表層にコートされるが、前者に形成抑制効果が付与された。

【結論】

OBR を使用した実験結果から、歯根面への PRG バリアコート塗布はバイオフィーム形成抑制効果が認められ抗菌性を有する S-PRG フィラー含有材料である、PRG バリアコートのう蝕予防への有効性が示唆できた。



S-PRG フィラー抽出液のラット歯髓細胞株・象牙質窩洞への影響

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

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 硬組織薬理学分野²

朝日大学口腔機能修復学講座 歯冠修復学³

○西牧 麻由里¹, 中元 絢子¹, 平石 典子¹, 田村 幸彦², 二階堂 徹³, 田上 順次¹

S-PRG Filler Eluate for Dental pulp Cell and Dentin Cavity

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

²Bio-Matrix (Dental Pharmacology), Tokyo Medical and Dental University

³Department of Operative Dentistry, Asahi University

○Mayuri Nishimaki¹, Ayako Nakamoto¹, Noriko Hiraishi¹, Yukihiko Tamura²,
Toru Nikaido³, Junji Tagami¹

【緒言】

S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、6種類のイオン（フッ化物イオン、ナトリウムイオン、ホウ酸イオン、アルミニウムイオン、ケイ酸イオン、ストロンチウムイオン）が長期的に徐放されることによりバイオアクティブ効果が発現する機能性ガラス素材として注目されているが、深い窩洞に使用した場合、象牙細管を通じ歯髓組織への影響を想定した報告は未だない。本研究では S-PRG フィラー抽出液が歯髓細胞及び象牙質窩洞へ及ぼす影響について、細胞毒性試験と顕微鏡による観察を行い検証した。

【材料及び方法】

i) 細胞毒性試験：ラット歯髓細胞株 (RPC-C2A) を用い、S-PRG フィラー抽出液による細胞増殖/細胞毒性試験、及び細胞中のアルカリホスファターゼ活性試験を行った。S-PRG フィラー抽出液は、抽出液 (Lot.051711) を 1 倍・2 倍・4 倍希釈したものを用いた。S-PRG フィラー抽出液を細胞培養液に添加し、6 時間・24 時間培養後、倒立顕微鏡にて細胞形態を観察し、アッセイ測定を行った。S-PRG 添加なし (培養液のみ) 群を、コントロールとした。測定に用いたキットは Cell Counting Kit-8 (CCK, 同仁化学)・LDH-Cytotoxic Test wako (LDH, 富士フィルム和光純薬)・TRACP & ALP Assay Kit (ALP, TAKARA) であり、CCK と ALP は ANOVA にて、LDH は Kruskal-Wallis にて統計処理を行った。(n=6)

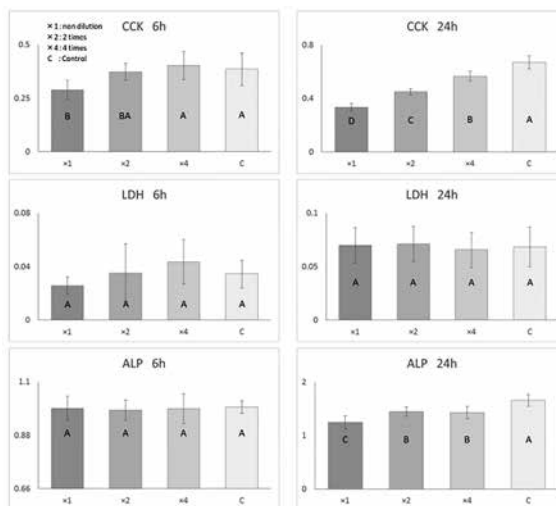
ii) 象牙質窩洞の観察：歯髓に近接したヒト臼歯歯冠部研磨試片を、S-PRG フィラー抽出液中に 6 時間、さらに擬似体液 (SBF) 中に 18 時間浸漬し、これを 7 日間繰り返した。コントロールは MilliQ に 6 時間、SBF 中に 18 時間浸漬し、同様に 7 日間繰り返した。象牙質表層を、SEM (JSM-IT100, JEOL, Tokyo, Japan) にて形状観測を行った。

【結果及び考察】

コントロールと比較し、CCK の結果では 6 時間培養では 2 倍・4 倍希釈のもので有意差はなかった。24 時間後では濃度依存的に有意な毒性作用が認められた。LDH による毒性試験の結果は、6 時間・24 時間ともに群間に有意差はなく、毒性は認められなかった。ALP の結果では、6 時間後では各希釈液間に有意差はなかったが、24 時間後では濃度依存的に有意な毒性作用が認められた。また、象牙質表層の 7 日後の観察において、結晶性の沈着が認められた。

【結論】

希釈 S-PRG フィラー抽出液は歯髓細胞への顕著な毒性が認められず、S-PRG フィラーを含有する製品を歯髓に近接する窩洞へ用いても歯髓への影響は軽微であることが示唆された。濃度依存的に増殖抑制の傾向が見られるが、S-PRG フィラーから放出されるイオンの結晶性沈着により、歯髓への直接刺激が緩和されると推測できた。



Groups with the same letter are not significantly different ($p > 0.05$).

フッ化ジアンミン銀溶液のラット歯髄細胞への毒性及び、グルタチオンによる解毒作用について

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
 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科硬組織薬理学分野²
 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³
 ○金承建¹, 平石 典子¹, 田村 幸彦², 二階堂 徹³, 田上 順次¹

Cytotoxicity of Silver Diamine Fluoride on Pulpal-like Cells and Glutathione Detoxification

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

2 Department of Biostructural Science, Tokyo Medical and Dental University

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

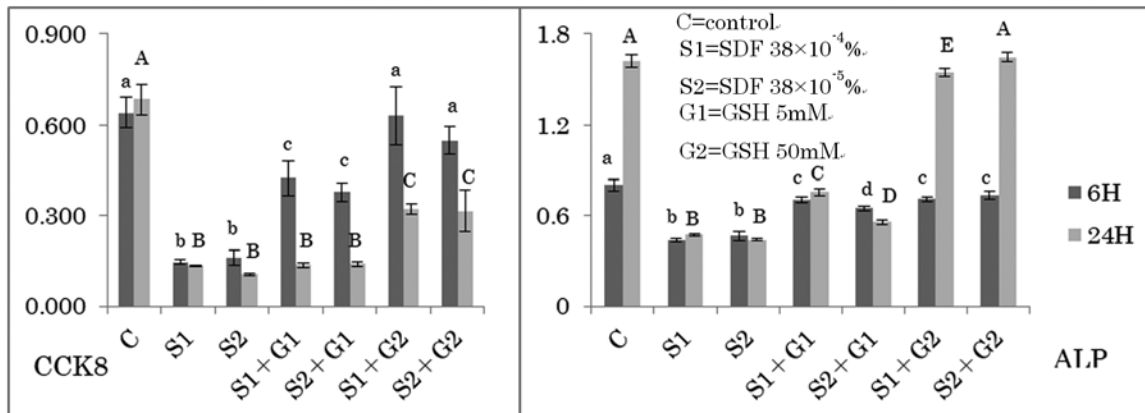
○Seunggun Kim¹, Noriko Hiraishi¹, Yukihiko Tamura², Toru Nikaido³, Junji Tagami¹

【目的】サホライド（フッ化ジアンミン銀溶液）は、銀による蛋白固定、フッ化物による不溶性塩の生成により、う蝕の進行や象牙質知覚過敏を抑制するため、治療に非協力的な小児、通院困難な高齢者に使用されている。一般に臨床で使用されているサホライドは、38%の高濃度であるため、強塩基性を呈し、また含有銀イオンは約 255000ppm の高濃度となる。よって、銀イオン（金属錯体）金属毒性が、象牙細管を經由し、歯髄細胞に対し組織為害性を示していることが懸念される。還元型グルタチオンは非タンパク質チオールトリペプチドであり、生理的機能は主に細胞レベルで水溶性の抗酸化物質として働き、解毒作用に関与する物質である。本研究では、ラット歯髄細胞株(RPC-C2A)にて、細胞増殖/細胞毒性試験、細胞中のアルカリホスファターゼ活性試験を行い、フッ化ジアンミン銀の毒性、及び還元型グルタチオンによる銀の解毒効果を検証した。

【材料及び方法】38%サホライドは、1000 倍希釈、10000 倍希釈し、歯髄細胞の飼育培地に添加後、 $38 \times 10^{-4}\%$ 、 $38 \times 10^{-5}\%$ サホライド含有歯髄細胞飼育培地を作製した。さらに、これらサホライド希釈溶液に、それぞれに 5mM、50mM 濃度の還元型グルタチオン（富士フィルム和光純薬）を添加した培地を作製した。ラット歯髄細胞株（RPC-C2A）を用い、6 時間、24 時間培養後、歯髄細胞の状態を確認し、アッセイ測定を行った。サホライドおよびグルタチオン添加なし（培養液のみ）群を、コントロールとした。測定に用いたキットは Cell Counting Kit-8 (CCK, 同仁化学)、TRACP & ALP Assay Kit (ALP, TAKARA) であり、OD 値は、Tukey-HSD 検定を用いて有意水準 5%にて統計処理を行った。

【結果及び考察】希釈サホライドによる細胞毒性試験で、6 時間、24 時間の培養の結果はともに CCK8、ALP 試験の結果より、細胞毒性が認められた。CCK8 では 6 時間で、還元型グルタチオンの添加により有意なフッ化ジアンミン銀の毒性軽減が認められた。24 時間では 50mM のグルタチオンによる毒性軽減は認められたが、5mM のグルタチオンによる毒性軽減は認められなかった。ALP では 6 時間、24 時間ともにグルタチオンを加えた結果、有意なフッ化ジアンミン銀の毒性軽減が認められた。

【結論】サホライドの $38 \times 10^{-4}\%$ 、 $38 \times 10^{-5}\%$ とかなり低い濃度でも、毒性が呈示されたため、臨床において、深い窩洞に使用した場合、象牙細管を浸透した場合は、歯髄組織への影響が想定される。一方、グルタチオン添加による、細胞毒性軽減は 5mM でみられ、50mM で顕著な解毒効果があったため、深い窩洞にサホライド塗布する場合、解毒作用が期待できるグルタチオンの併用効能が示唆された。今後はグルタチオンの併用によるサホライドのう蝕抑制効果への影響を検討する必要がある。



消毒剤がケイ酸カルシウム系セメント表面硬度に与える影響

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 医療法人くすのき 南光台歯科医院

○須藤 享^{1, 2}、半田 慶介¹、兼平 正史¹、八幡 祥生¹、齋藤 正寛¹

Effect of antiseptic agents on the surface microhardness of calcium silicate based materials

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

² Nankodai Dental Clinic

○SUDO Susumu^{1, 2}, HANDA Keisuke¹, KANEHIRA Masafumi¹, YAHATA Yoshio¹, SAITO Masahiro¹

【目的】ProRoot MTA (PMTA; デンツプライシロナ) を始めとするケイ酸カルシウム系セメント (CSM; calcium silicate based materials) は養生時に湿綿球を留置することが推奨されている。本研究では、消毒剤である2%グルコン酸クロルヘキシジン (CHX) および70%エタノール (Ethanol) と、精製水 (DW) を浸漬させた湿綿球で3種類のCSM (PMTA、EndoSequence BC RRM (ERRM; Brasseler USA, USA)、Endocem MTA premixed (EMTA; ペントロンジャパン)) の養生を行い、各溶液が養生後の表面硬さに与える影響を調べた。また、PMTA表面の結晶構造の分析を行った。

【材料および方法】アクリル棒に形成した円柱状の窩洞に、PMTAはメーカー指示通りにDWで練和し、プレミクスタタイプであるEMTAとERRMはそのまま充填した。試料底面はPBSに浸し、上面には各溶液を浸漬した綿球を留置し、水硬性セメントで封鎖した。37°C、湿度100%の環境下で養生した。《表面硬さ試験》1週間および4週間養生後に養生面をシリコンカーバイドペーパー (#600から#1000) で研磨し、微小硬さ試験機 (HM-102, ミツトヨ) にてヌーブ硬さを荷重10gf、保持時間15secで計測した。試料数は、各CSMと溶液、養生期間2ケースについて各5試料、計90とした。解析は、CSM、溶液、養生期間に対し、2元配置分散分析 (2-way ANOVA) を用いて有意水準5%で解析した。《走査型電子顕微鏡 (SEM) による表面の観察》CSMを各溶液に浸漬し、1週間および4週間養生後に養生面をSEM (JSM-6390LA, JEOL) にて観察した。《XRDによる分析》各溶液に1週間浸漬したPMTAに対し、X線回析装置 (SmartLab, Rigaku) にて、Cuをターゲットとし電圧45 kV、電流200 mA、操作速度10° /minで試料表面の結晶構造の分析を行った。

【結果】《表面硬さ試験》CHXにて1週間養生した場合、全てのCSMで硬化不良により計測不可であった。CHXにて4週間養生した場合、PMTAおよびERRMでは表面硬さを計測できたが、EMTAでは計測できなかった。Ethanolにて1週間養生した場合、PMTAおよびEMTAでは表面硬さを計測できたが、ERRMでは計測できなかった。全ての材料および養生期間で表面硬さを計測できたDWについて、PMTAおよびERRMに対しEMTAは有意に硬さが小さかったが、養生期間では有意差はなかった。《SEM観察》各溶液で表面の結晶構造に違いが認められた。DWでは、いずれのCSMでも立方体状の結晶構造が形成された。CHXでは、いずれのCSMでも薄膜状の構造を認めた。Ethanolでは、PMTAとEMTAでは立方体状の結晶構造を認めたが、ERRMでは結晶がPMTAとEMTAよりも小さくまばらであった。《XRDによる分析》PMTAのXRDパターンは各溶液で異なった。国際回折データベースを参照したところ、DWとCHXでは酸化ビスマス、さらにDWではケイ酸カルシウム水和物と一致した。Ethanolでは一致する物質はなかった。

【考察】CHXで練和したPMTAの強度についての研究では、2%CHXで練和すると硬化不良に陥ったが¹⁾、0.2%以下のCHXでは強度低下は起こらなかった²⁾。CHXによる硬化阻害は濃度依存的であると考えられる。したがって、CSMのCHXによる硬化阻害を避けるためには、CHXで根管洗浄を行った直後は避け、1日以上経過後、残留濃度の十分な低下を待ってから使用することが好ましいであろう。

【結論】CSMにCHXおよびEthanolを接触させると硬化阻害が引き起こされる可能性があるため、養生時の湿綿球には精製水を用いるべきである。CHXで根管洗浄後を行う場合は、根管洗浄から1日以上経過後にCSMを用いるべきであろう。

1) Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. J Endod 2006; 32: 569-72.

2) Bidar M, Eslami N, Naghavi N, Fasihi Z, Attaran Mashhadi N. The effect of different concentrations of chlorhexidine gluconate on the compressive strength of mineral trioxide aggregate. J Dent Res 2015; 9: 1-5.

リン酸化プルラン含有 MTA シーラーが実験的根尖性歯周炎の治癒に及ぼす効果

1 北海道大学 大学院歯学研究院 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室, 2 生体材料工学教室
○河野通俊¹, 大鷲理紗¹, 中塚 愛¹, 中谷充宣¹, 前田良子¹, 下地伸司¹, 菅谷 勉¹, 吉田靖弘²

Effect of phosphorylated pullulan-MTA sealer on the healing of experimental periapical periodontitis

1 Department of Periodontology and Endodontology, 2 Department of Biomaterials and Bioengineering,
Division of Oral Health Science, Hokkaido University Faculty of Dental Medicine
○Mititoshi Kouno¹, Risa Oshima¹, Megumi Nakatsuka¹, Yoshinobu Nakatani¹, Nagako Maeda¹,
Shinji Shimoji¹, Tsutomu Sugaya¹ and Yasuhiro Yoshida²

【研究目的】

Mineral trioxide aggregate (MTA) にリン酸化プルランを添加した試作根管充填用シーラーは、高アルカリ性を維持し Ca^{2+} の溶出に優れ、高い封鎖性を有するとともに、抜髄後の根管充填に用いると根尖孔へのセメント質形成に優れていることを我々は報告した。本研究の目的は、実験的に誘発した根尖性歯周炎の根管充填後の治癒に試作シーラーが及ぼす効果を組織学的に評価することである。

【材料および方法】

ビーグル犬の P1~P4 の 60 歯根を抜髄し、根管内に凍結保存しておいたブランク懸濁液を封入して根尖性歯周炎を誘発した。4 週後、デンタルエックス線画像で根尖に骨欠損が生じていることを確認し、根管拡大形成、洗浄を行って、シーラーとガッタパーチャポイントで側方加圧充填を行った。シーラーには試作リン酸化プルラン含有シーラー (TS 群, ジーシー), AH プラス (AH 群, デンツプライ), MTA フィラペックス (MF 群, アンジェラス) を用いた。2, 6 週後にデンタルエックス線画像で骨欠損面積を計測するとともに、組織学的に根尖歯周組織の治癒状態を評価した。なお、本実験は北海道大学動物実験委員会の承認 (14-0148) を得て行った。

【結果と考察】

根管内にブランク懸濁液を封入して 4 週後の骨欠損面積は 3 群間に有意差 ($p > 0.05$) はなかった。根管充填 2 週後のエックス線画像では、TS 群が根管充填時に比較して多くの歯根で根尖部骨欠損の縮小を示したのに対して、AH 群と MF 群では骨欠損の縮小はほとんどみられなかった。根管充填 6 週後には、TS 群では骨欠損がほとんど消失したが、他の 2 群では改善がみられず、骨欠損面積は 2, 6 週とも TS 群が他の 2 群に比べ有意 ($p < 0.05$) に小さかった。

組織学的観察では、根管充填 2 週後、TS 群の骨欠損内は粗な結合組織で満たされ、わずかにリンパ球や好中球が観察される程度であったのに対して、AH 群と MF 群では多数の炎症性細胞が広範囲に浸潤していた。根管充填 6 週後、TS 群では骨欠損内に炎症性細胞はほとんどみられず骨欠損は縮小し、根尖孔にセメント質様硬組織の形成も観察された。一方、AH 群と MF 群は骨欠損の縮小はほとんどみられず、炎症性細胞が多数浸潤していた。組織学的に計測した骨欠損面積は、2, 6 週後とも TS 群が AH 群と MF 群に比較して有意 ($p < 0.05$) に小さかった。

TS 群で治癒が良好であったのは、TS 群が Ca^{2+} 溶出に加えて pH 12 程度の高アルカリ性が持続することから、これらによる抗菌作用、炎症の改善効果、硬組織形成の促進作用などが有効に発揮されたためと考えられた。

以上の結果から、機械的拡大形成や根管洗浄が困難で根管充填が不十分になりやすい症例に対して、リン酸化プルラン含有 MTA シーラーを用いることによって炎症の改善が促進されるとともに、根尖孔への硬組織形成による封鎖性が高まり、治療成績の向上が期待できると思われた。

【結論】

リン酸化プルラン含有 MTA シーラーは、AH プラスと MTA フィラペックスに比較して根尖性歯周炎の治癒促進効果を有し、硬組織による根尖孔封鎖性に優れることが示された。

ラット臼歯歯髄における創傷治癒時のグルタミン輸送担体の解析

1.新潟大学大学院歯学総合研究科 口腔健康科学講座 歯学分野
2.新潟大学大学院歯学総合研究科 口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野

○大倉直人¹, 吉羽邦彦², 吉羽永子¹, 枝並直樹¹, 遠間愛子¹, 竹内亮祐¹, 白柏麻里¹, 野杵由一郎¹

Analysis of glutamine transporter in rat model for wound healing of dental pulp

- 1.Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, University Graduate School of Medical and Dental Sciences
2. Division of Oral Science for Health Promotion, Department of Oral Health and Welfare, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Naoto Ohkura¹, Kunihiko Yoshida², Nagako Yoshida¹, Naoki Edanami¹, Aiko Tohma¹, Ryosuke Takeuchi¹,
Mari Shirakashi¹, Yuichiro Noiri¹

【目的】グルタミンは生体内で最も豊富な遊離アミノ酸であり、免疫機能の増強 (D Richard *et al.*, Nutrition, 1997) や炎症性サイトカインの調節 (PE Wischmeyer *et al.*, Nutrition, 2003) に寄与しており、歯髄細胞では細胞増殖や象牙芽細胞への分化に関与している (DS Kim *et al.*, J Endod, 2014)。また、グルタミンは system ASC transporter (ASCT) 2 や L-type amino acid transporter (LAT) 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。さらに、グルタミンは mammalian target of rapamycin (mTOR) を活性化させ、細胞増殖やタンパク質合成に関与している (A Cohen *et al.*, Cell, 2009)。これらの知見から本研究では、グルタミンが歯髄創傷治癒時において深く関与していると仮説を立て、その端緒としてグルタミンの輸送担体に対する局在解析を行った。

【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) で覆髄し、その後フロアブルコンポジットレジン (Beautiful Flow; Shohu) 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 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、グルタミン輸送担体である ASCT2 と LAT1、さらに LAT1 のサブユニットである 4F2 heavy chain (4F2hc) 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 1,3,5,7,14 日後の ASCT2、LAT1、4F2hc、mTOR、cyclin D1、dentin sialophosphoprotein (DSPP) および vascular endothelial growth factor (VEGF) に対する mRNA の発現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。

【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の一部に ASCT2、LAT1/4F2hc の陽性反応を認めた。創傷治癒過程では、MTA 覆髄 7 日後で被蓋硬組織に沿って円柱状に配列した ASCT2、LAT1/4F2hc 陽性の象牙芽細胞様細胞が認められた。Real-time PCR 解析では、覆髄後における ASCT2、LAT1/4F2hc および mTOR の mRNA 発現は未処置歯群と比較して 5 日目をピークに有意に増加した (P<.01)。一方で細胞増殖に関与する cyclin D1 は覆髄後 3 日目、象牙質形成過程で関与する DSPP は 14 日目、さらに血管新生に関与する VEGF は 1 日目に mRNA 発現が有意に増加する結果を得た (P<.01)。

【考察】正常時のラット歯髄において、象牙芽細胞に ASCT2 と LAT1/4F2hc が存在していることから、グルタミンの輸送経路を有していることが示唆された。また、MTA 覆髄後 7 日目に ASCT2-LAT1/4F2hc による創傷部位へのグルタミン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 real-time PCR の結果から、歯髄創傷治癒時におけるグルタミンの役割が、mTOR を介した象牙芽細胞様細胞への分化に重要な因子である可能性が示唆された。

【結論】①正常ラットの歯髄組織では ASCT2、LAT1/4F2hc は象牙芽細胞に発現する。②歯髄創傷治癒過程において ASCT2-LAT1/4F2hc は処置後 3 日目から 7 日目にかけて局在と mRNA 発現の時空間的変化が観察され、③mTOR の mRNA 発現と同様の形式をとる。

歯科用 CBCT で観察された根尖部骨欠損形態と Periapical Index および臨床症状との関連性の評価

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 歯髄生物学分野

²東京医科歯科大学(TMDU) 統合研究機構 医療イノベーション推進センター

○笠原 由伎¹, 飯野 由子¹, 海老原 新¹, 佐々木好幸², 興地 隆史¹

Evaluation of the Association of the Periapical Index and Clinical Signs and Symptoms with Periapical Bone Defects Detected with Cone beam Computed Tomography

¹Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences,

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

²Medical Innovation Promotion Center, Institute of Research, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○KASAHARA Yuki¹, IINO Yoshiko¹, EBIHARA Arata¹, SASAKI Yoshiyuki², OKIJI Takashi¹

【緒言】近年、根尖性歯周炎の診断に歯科用コーンビーム CT (以下歯科用 CBCT) が用いられることがあるが、口内法撮影は今なお根尖性歯周疾患の評価に際して第一選択の画像診断法である。しかし、歯科用 CBCT で観察された骨欠損状態と口内法画像における根尖部エックス線透過像の有無や形態との関連性を、臨床症状も加えて検討した報告は少ない。本研究は、口内法画像における根尖性歯周疾患の骨欠損状態の指標として Periapical Index¹⁾ (以下 PAI) を用い、これに年齢、歯種、臨床症状を加えた各種要因と、歯科用 CBCT 画像で判定された骨欠損状態との関連性を検討することを目的とした。

【材料および方法】2015年1月から2017年3月までの期間に東京医科歯科大学歯学部附属病院むし歯外来(歯内)にて口内法撮影と歯科用 CBCT 撮影を行った症例(男性58名,女性211名,計269名)の269本の既根管治療歯を対象とした(東京医科歯科大学歯学部倫理承認番号:D2016-102)。除外条件を歯根破折,穿孔,隣在歯に及ぶ大きな病変,歯槽骨頂と連続した病変(裂開)とした。2名の歯科医師(臨床経験4年と11年)が,歯科用 CBCT で得られた全画像(DICOM データ)を三次元解析ソフト(Amira5.3, Visage Imaging, Austria)にて解析し,骨欠損状態を Yoshioka ら²⁾の報告を参考にして7種に分類した(0;病変なし, I-I;骨の開窓を認めず海綿骨内に骨欠損が局限, I-II;骨の開窓を認めないが皮質骨へ病変が到達, II;頬側へ開窓, III;口蓋へ開窓, IV;頬舌(口蓋)側に開窓(through & through), V;骨の開窓と根尖突出(fenestration))。口内法画像は PAI スコアにより5段階で評価した。年齢(14-49, 50-59, 60-84), 歯種(前小臼歯と大臼歯), 臨床症状(垂直打診痛, 水平打診痛, 根尖部圧痛, 瘻孔), PAI を説明変数とし, 骨欠損状態の7分類を目的変数として多重ロジスティック回帰分析を行った。

【結果】骨欠損分類0は PAI スコアと有意に関連した。骨欠損分類 I-I は年齢(14-49歳), 歯種(大臼歯), PAI, 根尖部圧痛(なし)と有意に関連した。骨欠損分類 I-II は歯種(大臼歯), PAI が有意に関連した。骨欠損分類 II と III には PAI が有意に関連した。骨欠損分類 IV では歯種(前小臼歯), PAI, 垂直打診(有り)との有意な関連がみられた。骨欠損分類 V には歯種(前小臼歯), PAI, 根尖部圧痛(有り)が有意に関連した(いずれも $p < 0.05$)。

【考察】PAI は全ての骨欠損分類で有意な説明変数であった。従って, 口内法画像における骨欠損状態は普遍的な予測因子だといえる。I-I と I-II では大臼歯が有意な因子となったが, 皮質骨は前歯部よりも大臼歯部でより厚くなるため, 開窓が生じにくいと考えられる。また, 分類 IV は骨欠損の範囲が頬舌側に及び他分類の症例と比べて広範囲のため, 垂直打診が生じる症例が多く, 有意な因子となった可能性が考えられる。分類 V では根尖部圧痛が有意な因子であったが, これは過去の報告³⁾と同様であり, 粘膜下への根尖の露出と圧痛との関連を反映したものと考えられる。

【結論】PAI は7種の骨欠損分類のいずれについても有意な関連を示した。また, ある種の症状がある種の骨欠損形態と有意に関連することが示された。

【文献】

1) Ørstavik D. *et al.* Endod Dent Traumatol 1986; 2: 20-34.

2) Yoshioka T. *et al.* Int Endod J 2011 44: 245-252.

3) 古澤成博 他. 日歯保存誌 2012 55: 60-65.

歯根端切除術の教育を目的とした顎模型システムの開発とその評価

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医療法人 CFT クリニック F&T、³医療法人東京堂 港町歯科クリニック

○高見澤 哲矢^{1,2}、鈴木 重人¹、長谷川 達也¹、

佐藤 暢也^{1,3}、八幡 祥生¹、半田 慶介¹、齋藤 正寛¹

Development and evaluation of model for education of periapical surgery

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

² Clinic F&T, ³ AKITA COASTAL CLINIC IN DENTISTRY

○TAKAMISAWA Tetsuya^{1,2}, SUZUKI Shigeto¹, HASEGAWA Tatsuya¹, SATO Nobuya^{1,3}, YAHATA Yoshio¹, HANDA Keisuke¹, SAITO Masahiro¹

【背景】現在の臨床における歯内療法多くの多くは再根管治療である。非外科的歯内療法による再治療は根管形態が維持された場合には良好な治療成績であるが、根管形態の破壊や根尖に病変が存在する場合には外科的歯内療法を併用した治療によって成功率が改善されることが報告されている。すなわち外科的歯内療法が治療成績向上に貢献しているため、その治療技術に関する教育システムの構築が求められている。これまで、歯根端切除術は保険導入されながらも大学における歯科教育では座学に留まり、根尖病変除去から逆根管充填までの一連の術式を教育できるシステムが存在しないのが現状である。予め卒前の基礎教育で実習を行なった後に実臨床で歯根端切除術の見学や補助を行うことでより理解度が高まり効果的な教育が実践できると予想される。そのため実臨床に近い歯根端切除術教育用の顎模型と人工歯の開発が求められている。

【目的】本研究では歯根端切除術に最適な模型システムを構築するため、根尖病変を有する人工歯を付した顎模型を作製し、講義および実習を行い、その教育効果を実習にて教育効果を評価することを目的とする。

【方法】東北大学歯学研究科倫理委員会の承認を得て、歯根端切除未経験者の東北大学病院研修医のボランティアを対象に実施した。研究に用いた顎模型は、1顎に2歯の根尖病変を有する人工歯を付した模型を新規作製した。人工歯は、内部に根管形態を有するニッシン製根管治療用上顎右側中切歯(B22X-END#11)及び上顎左側側切歯(B22X-END#22)の根尖部にシリコンにて根尖病変を付与し、切削感が歯槽骨に近似したエポキシレジンで作製した模型に植立する。根尖病変は一部が歯槽骨から可視できる範囲で露出させる。本研究では歯肉切開は評価しないため、通常の顎模型で付与されているシリコン製の歯肉は付与しなかった。実習に先立ちプレアンケート及び視覚素材を用いて術式と理論を説明した。その後実習の術式は日本歯内療法学会監修の先進技能取得教材実習項目に従い、予め根管充填された人工歯に対して根尖病変の除去のための骨窩洞形成、根尖病変除去、根尖切除、逆根管充填を行った。実習後フィードバックを行い術式に関して知識を確認した後再度実習を行った。2回目の実習終了後、被験者にはポストアンケートを行い、模型の教育効果に関して調査を行った。実習後すべての被験者の後学のため歯根端切除に関する説明、実習のポイントを説明し、被験者間で不利が生じないように配慮した。その後、実習模型の評価として、①骨窩洞の大きさ、②病変除去程度、③根尖切除量、④根尖切除の角度、⑤逆根管充填の深さの各項目を歯根端切除経験者の医局員と比較検討を行った。またアンケート調査の集計を行い、使用感及び実習の効果を評価した。

【結果及び考察】研究の結果、被験者と経験者を比較した場合、有意に経験者の方が骨窩洞の大きさは小さかった。また被験者間でも2回目の実習の方が骨窩洞は小さくなる傾向であった。また根尖切除は経験者よりも被験者の方が理想的な根尖から3mmの根尖切除が実施できていた。一方で根尖切除の角度は、被験者においてほとんどが歯軸と垂直に切除することが困難であった。これらの結果から、未経験者はマイクロミラーや切削器具の取り扱いが不慣れなため、切削に関連する項目の評価は低くなった。一方で経験者は病変の大きさや臨床経験に従った骨窩洞の形成や根尖切除を行ったため、骨窩洞形成は理想的であったが根尖切除量は不足する結果になったと考えられる。またアンケートの集計結果から、これまでの座学における外科的歯内療法の知識を補填することが判明した。

【結論】本研究結果から、未経験者が不得手なプロセスが明確になり、歯根端切除の術式や理論を理解することが可能な教育システムであることが判明した。今後は未経験者の弱点を考慮した教育の実施と実臨床に即した顎模型などの学習資源を提供することによって、より効果的な実践トレーニングができると考えられる。その結果、学習意欲の向上と確実な歯根端切除術の手技取得が可能になると期待される。