

スーパーMTA ペースト®が歯髄の創傷治癒に与える影響

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)

○松本紗也子, 岡本基岐, 渡邊昌克, Ali Manahil, 黄海玲, 小道俊吾, 高橋雄介, 林 美加子

Effect of Super MTA Paste® on the wound healing process of pulp tissue

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

○MATSUMOTO Sayako, OKAMOTO Motoki, WATANABE Masakatsu, ALI Manahil, HUANG Hailing, KOMICHI Shungo, TAKAHASHI Yusuke, HAYASHI Mikako

【研究目的】

直接覆髄は深在性のう蝕除去後や窩洞形成中における偶発性の露髄, 外傷による露髄に対する歯髄保存療法の一つとして用いられる. 覆髄に用いる材料として, ポルトランドセメントを主成分とする Mineral trioxide aggregate (MTA) が有用であることが示されているが, 操作性や変色などの欠点も指摘されている. そのため, 近年バイオセラミックス材料の開発が盛んにおこなわれており, その中で, 硬化触媒トリブチルボラン (TBB) を硬化触媒とし, ポルトランドセメントと組み合わせた, レジン複合型バイオセラミックス材料であるスーパーMTA ペースト® (サンメディカル) が発売された. 本材料はこれまでに, 持続的なカルシウムイオン徐放性を有していることが報告されているが, 動物実験モデルを用いた, 直接覆髄材料としての有用性を評価する報告は少ない. そこで本研究では, ラット直接覆髄モデルを用いてスーパーMTA ペースト®および既存の直接覆髄材料の硬組織誘導能をマイクロCTによる定量評価および病理組織学的手法により比較, 検討することで, 直接覆髄材料としての有用性を評価することを目的とした.

【材料】

- ・スーパーMTA ペースト® (サンメディカル, 以下 MTA ペースト) Lot number 液材:TR1, ペースト材:TV31.
- ・スーパーボンド C&B® (同上, 以下スーパーボンド) Lot number ラジオペーク粉材:RV1, 液材 TKI, TG22.
- ・ProRoot MTA® (Dentsply Sirona, 以下 MTA セメント) Lot number 191140.
- ・TheraCal LC® (BISCO, 以下セラカル) Lot number 190003448.

【方法】

本研究は大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認下で実施した (承認番号: 動歯 29-028-0).

8 週齢雄性 Wistar ラットの upper 第一臼歯咬合面に対し露髄を伴う窩洞形成を行い, 上記に示す 4 種の材料をメーカーの指示に従い調整し, 直接覆髄材料として貼付した. その後, グラスアイオノマーセメント (Fujilix®, GC) にて仮封を行った (n=8). 4 週間経過後, 灌流固定を行い, 誘導された硬組織の体積をマイクロCT (R_mCT2, RIGAKU) にて計測した. その後同試料を用いてパラフィン包埋を行い, 連続切片を作成し, H-E 染色を施し, 誘導された硬組織および硬組織直下の歯髄の炎症状態について評価した. 統計学的有意差検定として One-way ANOVA and Tukey's post hoc test, Kruskal-Wallis and Steel-Dwass test を用いた ($\alpha=0.05$).

【結果および考察】

MTA セメントを用いて直接覆髄を行った試料では覆髄材料および歯の変色を引き起こしていた. 他の 3 種の材料ではいずれも変色を認めなかった. マイクロCT による評価から, いずれの材料で直接覆髄を行った場合でも, 硬組織形成を認め, MTA ペースト®および MTA セメントはセラカル®およびスーパーボンド®と比較し, 多くの硬組織形成を示した ($p<0.05$). 病理組織学的観察により, すべての試料において硬組織直下の歯髄組織に異常な炎症性反応は観察されなかった.

【結論】

MTA ペースト®は MTA セメントと同等の硬組織誘導能を示し, 材料および歯質の変色を引き起こさないことから, 直接覆髄材料として有用である可能性が示唆された.

本研究は科研費 17K11704, 19K18995, 19K19025 の研究支援を受けて実施された.

取り下げ

骨密度による根尖性歯周炎の治癒過程の評価

¹朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

²朝日大学歯学部口腔病態医療学講座歯科放射線分野

○三上恵理子¹, 瀧谷佳晃¹, 勝又明敏², 河野 哲¹

Evaluation of healing process of apical periodontitis by bone mineral density

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

²Department of oral radiology, Oral Pathogenesis and Disease Control Asahi University, School of dentistry

○MIKAMI Eriko¹, TAKITANI Yoshiaki¹, KATSUMATA Akitoshi², KAWANO Satoshi¹

目的:

慢性根尖性歯周炎は根尖部に X 線透過性病変 (以後, 根尖病変と呼ぶ) が存在する. 根尖病変の本態は骨の吸収破壊であるため, 適切な治療が施された場合は病変周囲からの骨新生により縮小し治癒する. しかし, 根尖病変の治癒過程で, どの程度骨新生が進行しているかを客観的に評価する方法は確立されていない.

そこで我々は, デジタル口内法 X 線画像から計測した根尖部の骨密度 (Bone Mineral Density, BMD) が根尖病変の治癒の評価に利用可能であるかを実験的に検討した.

材料および方法:

根尖部の BMD 計測には, 我々の施設で開発中の画像解析システム (DentalSCOPE) を用いた (朝日大学歯学部倫理委員会承認番号 26173). DentalSCOPE は参照体と一緒に撮影された口内法 X 線画像から歯槽骨の密度を求めるシステムで, 以下のエレメントより構成されている (Figure 1).

1) 参照体モジュール

参照体は 20, 60, または 100% の炭酸カルシウムを粉体成形機で圧縮して作製した 3 x 3 x 10 mm の四角柱 (ブロック) である. 三種類の参照体を樹脂製のケースに収めた参照体モジュールには, ソフトウェアが参照体の BMD 相当量により自動的に検量線を作製するための X 線不透過性マーカーが付いている.

2) 参照体ホルダ

プラスチック製の参照体ホルダは, 口腔内でイメージングプレート (Imaging Plate, IP) を保持するとともに参照体の長軸に平行に X 線を入射させるインジケータの役割を持つ.

3) ソフトウェア

デジタル口内法撮影システムから出力された DICOM, JPEG, BMP および PNG 形式のデジタル X 線画像データを入力し, 顎骨の任意位置に密度を求める関心領域 (Region Of Interest, ROI) を設定して BMD を計測する. ソフトウェアは, 異なるメーカーの口内法撮影装置個々の特性による影響を補正するため, BMD が既知の標準被写体を撮影した画像を用いて校正する機能を備えている.

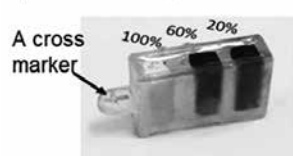
本研究は, 乾燥下顎骨の第一大臼歯部に大きさの異なる模擬根尖病変を形成し, ソフトウェアで病変を含む領域の ROI を設定して BMD を計測した.

結果および考察:

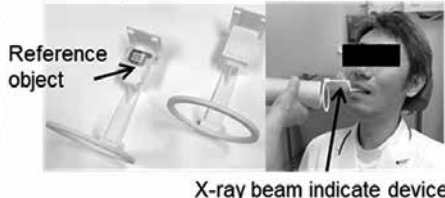
同一乾燥下顎骨の同一部位における模擬根尖病変では, 小さな病変ほど高い BMD 値を示した. 以上より初診時の根尖病変の大きさにあわせた ROI で経時的に BMD を計測することにより, 根尖性歯周炎の治癒における骨新生の評価が可能と示唆された. 慢性根尖性歯周炎で根尖病変を有する症例における検討が, 次の課題であると考えている.

Figure1: Dental SCOPE system

1) Reference object module



2) X-ray detector holding device



3) Software



機能性モノマー含有レジン添加型覆髄材の開発

1 産業技術総合研究所 健康工学研究部門, 2 岡山大学大学院医歯薬総合研究科免疫病理学,
3 岡山大学歯学部先端領域研究センター, 4 北海道大学歯学研究科生体材料工学教室

○1,2 吉原久美子, 3 長岡紀幸, 4 吉田靖弘

Development of self-adhesive pulp-capping agents containing functional monomer

1National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Health Research Institute,
2Okayama University, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,
Department of Pathology & Experimental Medicine, 3Advanced Research Center for Oral and Craniofacial
Sciences, Okayama University, 4Department of Biomaterials and Bioengineering,
Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University
○Kumiko YOSHIHARA1,2, Noriyuki NAGAOKA3, Yasuhiro YOSHIDA4

【研究目的】

ケイ酸カルシウムを主成分とした, mineral trioxide aggregate (MTA) セメントは生体親和性や封鎖性, 石灰化促進作用, 抗菌性に優れており, 覆髄材料として用いられている。さらに硬化時間の短縮による操作性向上や歯質接着性に優れた光重合型レジン添加型 MTA 系覆髄材が発売されている。しかしながらレジン添加型覆髄剤は歯質との接着力が十分でなく, カルシウムの溶出量も高くない。これまでの研究で, 多官能のモノマーや親水性アクリルアミドモノマーを用い最適化することで, 硬化性, カルシウムの溶出性を十分に備えかつ細胞毒性が低い光硬化レジン系覆髄材を試作できた。さらに, 機能性モノマーとして 4-methacryloxyethyl trimellitic acid(4-META)を添加することで歯質接着性を有することができたが, 歯質接着性の耐久性は高くなかった。そこで, 本研究では, 多官能モノマー, 親水性モノマーの配合を再検討し, さらに機能性モノマーとして 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate(10-MDP)を用いることで, 歯質接着性の耐久性向上を図った。

【材料および方法】

試作覆髄材の作製: ベースレジンとして, Bisphenol A-glycidyl methacrylate (Bis-GMA), Trimethylolpropane triacrylate (TMPTA), Glycerol dimethacrylate (GDM), N-(2-hydroxyethyl)acrylamide (HEAA) を用いた。camphorquinone (CQ) と 4-dimethylaminobenzoic acid-ethyl ester (DMBE)を光重合触媒として, また dibutylated hydroxytoluene (BHT) and hydroquinone monomethyl ether (HQME)を重合阻害剤として用いた。機能性モノマーとして, 10-MDPを用い, カルシウム剤として硬化させた Tricalcium Silicate と X線造影剤としてジルコニア粉末を用いた。比較として機能性モノマーとして 10-MDP を 4-MET に代えたものも作製した。比較として, 光硬化型レジン添加覆髄材 Theracal LC (Bisco), MTA セメントである ProRoot MTA (Dentsply Sirona)を用いた。

それぞれの覆髄材の機械的強度試験として, 3 点曲げ試験を行った。2 x 2 x 25 mm のシリコンモールドにそれぞれの試料を充填し, 硬化後モールドから外し曲げ強さを測定した。また試料からの Ca の溶出量を ICP-AES を用いて測定し, さらに V79 細胞を用い MTT アッセイにて毒性を測定した。接着試験はヒト抜去大臼歯 (岡山大学生命倫理審査委員会, 承認番号: 研 16-020) をエポキシ樹脂に包埋し, それぞれ被着象牙質を露出後, #600 で研磨後被着面とした。被着面に直径 3.4 mm のモールドを置き, それぞれの試料を充填し硬化後, モールドから除去し 37°C の湿潤環境下で 24 時間保管の後, それぞれのグループの半分の試験片はせん断強さ試験を行った。また, 残りは水中保管し, 1 週間後に接着試験を行った。

【結果】

10-MDP 含有試作覆髄材も 4-MET 含有試作覆髄材も, 光照射で十分に硬化し, 曲げ強さは, 既存の覆髄材 Theracal LC, Proroot MTA よりも高い値を示した。Ca の溶出は, Proroot MTA > 4-MET 含有試作覆髄材 > 10-MDP 含有試作覆髄材 > Theracal LC であった。細胞毒性は, 4-MET 含有試作覆髄材, 10-MDP 含有試作覆髄材ともに既存覆髄材よりも低かった。接着試験は, 24 時間後は 4-MET 含有試作覆髄材も 10-MDP 含有試作覆髄材もほぼ同等の接着強さを示したが, 水中保管したものは 10-MDP 含有試作覆髄材のほうが高い値を示した。

【考察および結論】

試作覆髄材は, 機械的強度, Ca 溶出, 低細胞毒性を有していた。特に 10-MDP を用いることで水中保管でも安定な接着強さが得られることがわかった。

ラット臼歯冠部歯髄再生組織における神経線維再生/再構築の経時的解析

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

○Phyo Pyai Sone, 金子友厚, Su Yee Myo Zaw, 顧彬, 村野浩気, Zar Chi Thein Zaw,
岡田大和, Peifeng HAN, 興地隆史

Time Course Analysis of Neural Regeneration/Remodeling in Engineered Coronal Pulp Tissue in the Rat Molar
Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental
University (TMDU), Tokyo Japan

○Phyo Pyai Sone, Tomoatsu KANEKO, Su Yee Myo Zaw, Bin GU, Hiroki MURANO,
Zar Chi Thein Zaw, Yamamoto OKADA, Peifeng HAN, Takashi OKIJI.

Introduction: Neural regeneration/remodeling is crucial for engineered pulp-like tissue to serve as a substitute for the native pulp tissue, whereas the mechanisms associated with this process are still obscure. Therefore, in the present analysis, immunohistochemical and gene expression analysis was performed for neural regeneration/remodeling in a model of rat coronal pulp tissue engineering by using mesenchymal stem cells with scaffolds [1,2].

Materials and Methods: After anesthesia with 8% chloral hydrate, the maxillary first molars of female Wistar rats (n = 45) were pulpotomized, and preformed biodegradable porous poly L-lactic acid (PLLA) scaffolds and hydrogel carrying rat bone marrow mesenchymal stem cells were implanted into the pulp chamber according to the previous protocol [1,2]. Normal rats (n = 15) served as control. After 3, 7, and 14 days (n = 15, each), the implanted teeth were processed for histological analysis, immunoperoxidase staining for protein gene product 9.5 (PGP9.5; a general neuronal marker), calcitonin gene-related peptide (CGRP) or substance P (SP), and real-time PCR for nerve growth factor (*NGF*), growth-associated protein 43 (*GAP-43*) expression. Data were analyzed with the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney U test with Bonferroni correction. All experiments were conducted under the approval of the Animal Care Committee, Tokyo Medical and Dental University, A2017-009A and Niigata University, 27-265-6.

Results: At 3 days after the implantation, when cells were located mainly around the PLLA scaffolds, PGP9.5+ nerve fibers appeared around the scaffolds. At 7 days, when regeneration of pulp-like tissue was promoted in the implanted region with a thin dentin bridge-like structure, PGP9.5+ nerve fibers were distributed under the dentin bridge-like structure. At 14 days, when the regeneration further progressed with dentin bridge-like structure, PGP9.5+ nerve fibers were distributed in most of the implanted region. PGP9.5+ and CGRP+ nerve fibers showed the lowest density at 3 days and increased up to 14 days. SP+ nerve fibers showed highest density at 7 days and decreased to the normal level at 14 days. *NGF* mRNA increased with time, whereas *GAP-43* mRNA peaked at 3 days and subsequently decreased until 14 days.

Discussion: The results clearly demonstrated that neuronal regeneration/remodeling occurred with the progress of coronal pulp regeneration. SP and CGRP are known to contribute to peripheral nerve regrowth, and are often co-expressed in sensory neurons of normal dental pulp. In the present analysis, however, SP+ and CGRP+ nerve fibers did not show a similar growth, suggesting that SP and CGRP play a role in neural regeneration in different phases of coronal pulp regeneration. *NGF* showed a time-dependent increase, suggesting its crucial role in promoting reinnervation during the pulp regeneration process. *GAP-43* gene in specific sensory neuron is an important modulator of the sensory nerve activity during neuronal growth, and the early elevation of *GAP-43* expression suggests its association with the initial phases of neuronal regeneration/remodeling.

Conclusion: In the coronal pulp tissue engineering model using mesenchymal stem cells, regeneration/remodeling of PGP9.5+, SP+ and CGRP+ nerve fibers occurred, and was associated with increased *NGF* and *GAP-43* expression.

References

1. Ito T, Kaneko T, Sueyama Y, Kaneko R, Okiji T. Dental pulp tissue engineering of pulpotomized rat molars with bone marrow mesenchymal stem cells. *Odontology* 2017;105(4):392-397.
2. Kaneko T, Sone PP, Zaw SYM, et al. In vivo fate of bone marrow mesenchymal stem cells implanted into rat pulpotomized molars. *Stem Cell Res* 2019;38:101457.

**Nuclear Factor Kappa B シグナル伝達による
歯髄幹細胞と血管内皮細胞におけるクロストークの促進について**

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

○Su Yee Myo Zaw, 金子友厚, Zar Chi Thein Zaw, Phyo Pyai Sone, 村野浩気, 顧彬, 岡田大和, Peifeng HAN, 興地隆史

**Crosstalk between Dental Pulp Stem Cells and Endothelial Cells Is
Promoted via Nuclear Factor Kappa B Signaling Pathways**

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

○Su Yee Myo Zaw, Tomoatsu KANEKO, Zar Chi Thein Zaw, Phyo Pyai Sone, Hiroki MURANO, Bin GU, Okada YAMATO, Peifeng HAN,
○Takashi OKIJI.

Introduction: In our previous study, co-implantation of mesenchymal stem cells with endothelial cells promoted coronal pulp tissue regeneration and healing with upregulation of angiogenic factors ⁽¹⁾. In the present analysis, we hypothesized that a stem cell-endothelial cell crosstalk enhances angiogenic factor expression via nuclear factor kappa B (NF-κB) signaling pathways. Thus we conducted proangiogenic and proapoptotic gene expression analysis using contact-independent co-cultured of stem cells and endothelial cells *in vitro*.

Methods: Human dermal microvascular endothelial cells (HDMECs) and stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHEDs) were cultured with a stem cell growth medium (Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)/F12, Gibco, Grand Island, NY). The cells were divided into four groups; i. single culture SHEDs; ii. single culture HDMECs; iii. SHEDs/HDMECs co-cultured with NF-κB decoy oligodeoxynucleotides (ODN) (50 nM, Cosmo Bio), which selectively block the NF-κB activity; and iv. SHEDs/HDMECs co-cultured with NF-κB decoy scramble (50 nM, Cosmo Bio) as a control. SHEDs (0.1×10^5 cells/ml) were seeded onto the bottom of 6-well plates, and HDMECs (0.1×10^5 cells/ml) were seeded onto hanging cell culture inserts with 1 μm pores (Millicell) and cultured for 96 hours. VEGF levels in the supernatant were measured with ELISA (Abcam). Total RNA was extracted from the cells in all four groups and microarray analysis was performed to analyze proangiogenic and proapoptotic gene expression. *Bcl-2*, *CXCL8* and *GAPDH* mRNA expression in all groups was confirmed with real-time PCR.

Results: The VEGF level was significantly higher in the co-culture with NF-κB decoy scramble than in single-cultures and co-culture with NF-κB decoy ODN ($p < 0.05$). In microarray analysis, co-cultured SHEDs and HDMECs with NF-κB decoy scramble showed upregulation of proangiogenic genes such as *Bcl-2*, *NF-κB1*, *VEGFA*, *CXCL8*, and *CXCR1*, and downregulation of proapoptotic genes such as *Bax* and *Caspase 9*, compared to the cells single-cultured or co-cultured with NF-κB decoy ODN. Real-time PCR confirmed significantly increased *Bcl-2* and *CXCL8* mRNA levels in SHEDs and HDMECs co-cultured with NF-κB decoy scramble than in single cultures and co-cultured with NF-κB decoy ODN ($p < 0.05$).

Discussion: The increased secretion of VEGF in SHEDs and HDMECs co-cultured with NF-κB decoy scramble suggests that an interaction between these cells is required for the VEGF secretion. Inhibition of NF-κB caused the reduction of VEGF, downregulation of angiogenic-related genes and upregulation of apoptotic genes, which suggests that the SHED-HDMEC crosstalk involving NF-κB signaling pathways is responsible to upregulation of proangiogenic genes such as VEGF, *Bcl-2*, and *CXCL8*.

Conclusion: Bidirectional SHED-HDMEC crosstalk induced upregulation of proangiogenic genes and downregulation of proapoptotic genes via NF-κB signaling pathways.

Reference 1) Sueyama Y, Kaneko T, Ito T, Kaneko R, Okiji T. Implantation of endothelial cells with mesenchymal stem cells accelerates dental pulp tissue regeneration/healing in pulpotomized rat molars. *J Endod* 2017; 43: 943-948.

***Fusobacterium nucleatum* により再活性化された Epstein-Barr virus は interferon- γ の発現を誘導する**

日本大学歯学部歯科保存学第II講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²
日本大学歯学部細菌学講座³, 日本大学歯学部総合歯学研究所生体防御部門⁴
○氷見一馬¹, 武市 収^{1,2}, 羽鳥啓介^{1,2}, 岡田将司¹, 田村隆仁¹, 今井健一^{3,4}

Epstein-Barr virus reactivated by *Fusobacterium nucleatum* induces interferon- γ expression
Department of Endodontics¹, Division of Advanced Dental Treatment², Department of Microbiology³ and Division of Immunology and Pathobiology⁴, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry
○Kazuma Himi¹, Osamu Takeichi^{1,2}, Keisuke Hatori^{1,2}, Masashi Okada¹, Takahito Tamura¹, Kenichi Imai^{3,4}

【背景】

当講座では、ウイルス感染が根尖性歯周炎の病態に与える影響について検索を行っており、Epstein-Barr virus (EBV) が歯根肉芽腫組織に浸潤した B 細胞に感染していることや潜伏感染した EBV が *Porphyromonas endodontalis* の代謝産物である酪酸によって再活性化することなどを明らかにした。我々は第 147・149 回本学会学術大会において、難治性根尖性歯周炎関連細菌である *Fusobacterium nucleatum* が EBV を再活性化させている可能性を報告した。根尖病巣中の EBV が再活性化されることにより、サイトカイン発現を誘導している可能性があるが、未だその詳細は不明である。

【目的】

根尖病巣内に感染した EBV が再活性化することにより、interferon- γ (INF- γ) の発現を誘導する可能性について検討すること。

【材料・方法】

1. *F. nucleatum* 上清中の LPS 消去と濃度測定

F. nucleatum の上清を MustangTM E Membrane, 0.2 μ m, 25mm を用いて濾過処理を行った濾過群及び濾過を行わなかった無濾過群を作製した。

濾過群は、control (negative control), *n*-butyric acid (positive control, 1.0, 2.0mmol/L, Wako), 濾過した *F. nucleatum* 上清 (0.5, 1.0, 2.0mmol/L), 無濾過群は control (negative control), *n*-butyric acid (positive control, 1.0, 2.0mmol/L, Wako), 濾過を行わなかった *F. nucleatum* 上清 (0.5, 1.0, 2.0mmol/L) とし、濾過群及び無濾過群に対して、Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Lipopolysaccharide (LPS) を用いて *F. nucleatum* の上清中の LPS 濃度を測定した。

2. 細胞培養

6Well プレートに 1 \times 10⁶ cell/well になるよう Daudi cell を播種し、10%PBS と 1%PSN を加えた RPMI-1640 を用いて、12 時間培養後、濾過群、無濾過群で示した条件で、24 時間刺激した。その後、細胞を回収し、ELISA 法および Real-time PCR 法を用いて IFN- γ 発現を検索した。

3. Daudi cell からの IFN- γ タンパク発現の検出

Human IFN- γ ELISA Kit を用いて細胞溶解物中の IFN- γ タンパク発現を測定した。

4. Daudi cell からの IFN- γ mRNA 発現の定量的検出

全 RNA を抽出したのち、PrimeScript RT reagent kit を用いて相補的 DNA を合成した。その後、相補的 DNA を SYBR® Premix Ex Taq および 20 μ M の IFN- γ の Forward (TGAACGCTA CACACTGCATCT TGG) 及び Reverse (CGACTCCTTTTCCGCTTCCTGAG) の PCR primer を含む 25 μ l 反応混合物を PCR 反応で増幅した。

5. 統計分析

SPSS software を用いて統計分析を行い、Mann-Whitney U test ならび Steel-Dwass test を使用して有意水準 0.05 の条件で統計学的検定を行った。

【成績・結論】

LPS を除去した *F. nucleatum* の上清を Daudi cell に添加したところ、IFN- γ の発現が誘導されたことから、歯根肉芽腫内 B 細胞に潜伏感染した EBV が *F. nucleatum* 由来の酪酸の関与により IFN- γ 発現を誘導し、根尖性歯周炎の病態に関与している可能性が示唆された。

歯根肉芽腫における S100A8, A9 タンパクの発現

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²
○田村隆仁¹, 羽鳥啓介^{1,2}, 氷見一馬¹, 永井彩加¹, 船崎さやか¹, 武市 取^{1,2}

Expression of S100A8, A9 protein in periapical granuloma

Department of Endodontics¹, Division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center, Nihon University
School of Dentistry

○Takahito Tamura¹, Keisuke Hatori^{1,2}, Kazuma Himi¹, Ayaka Nagai¹, Sayaka Funasaki¹, Osamu Takeichi^{1,2}

【背景及び目的】

カルシウム結合タンパク S100 は、様々な細胞から発現され約 20 種類のサブクラスが報告されている。近年の研究で S100 ファミリーのうち、7 種類の S100 タンパク (S100A4, A6, A8, A9, A12 および S100β) は健常者に比べ、慢性炎症性疾患である関節リウマチの患者の血清中で高く発現し、患者のリウマチ組織内においてもその発現が認められている。その中でも、S100A8, A9 は炎症組織内において好中球やマクロファージに発現し、病態の調節に関与していることが報告されている。そこで、口腔内の慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫においてもその病態に関与しているのではないかと考え、免疫組織化学的検索および Real-time PCR 法を用いて S100A8, A9 局在の検索を行うこととした。

【材料及び方法】

1. 試料採取・調整：口腔内診査およびエックス線診査に基づき慢性根尖性歯周炎と診断され、外科的歯内療法または抜歯の適応となった患者から根尖病巣を採取した。また完全埋伏智歯の抜歯の際に採取した健常歯肉組織をコントロールとして試供した (倫許 EP18D014)。採取した試料は直ちに二分割し、一方を 10%ホルマリンにて固定後、パラフィン包埋を行った。他方は OCT-Compound (Sakura Finetek Japan Co., Tokyo Japan) に包埋後、ドライアイス-アセトンで凍結し凍結試料を作製した。
2. 病理組織学的検索：パラフィン包埋後、パラフィン薄切切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色にて病理組織学的検索を行い、歯根肉芽腫と診断した組織を本実験に供試した。
3. Real-time PCR 法：凍結した試料から RNeasy Mini kit(QIAGEN, Hilden Germany)を用いて RNA を抽出し、Takara Prime Script (Takara Bio Inc., Shiga Japan) にて相補的 DNA を作製した。その後、Real-time PCR 法にて S100A8, A9 遺伝子の発現量の検索を行った。その際、Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を用いてサンプル間の標準化を行った。
3. 免疫組織化学的検索：作製したパラフィン薄切切片を使用し、抗ヒト S100A8 マウスモノクローナル抗体および抗 S100A9 ウサギモノクローナル抗体を用いた蛍光二重免疫染色を行った。
4. 統計学的分析：Real-time PCR 法の結果を基に歯根肉芽腫および健常歯肉組織の 2 群間での統計学的有意差を Mann-Whitney U test 用い有意水準 0.05 で判定を行った。

【結果】

1. 病理組織学的検索では 46 サンプル中、37 サンプルで幼弱な線維芽細胞と毛細血管に富む肉芽組織を認めたため、歯根肉芽腫と判定した。
2. Real-time PCR 法において歯根肉芽腫における S100A8, A9 遺伝子発現量は健常歯肉群と比較して有意に高かった。
3. 免疫組織化学的検索において、歯根肉芽腫では S100A8, A9 タンパクの発現を認めた。一方、健常歯肉では S100A8, A9 タンパクの発現を認めなかった。

【考察】

慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫において S100A8, A9 が発現し、病態の調節に関与している可能性が示唆された。

マウス歯髄・歯根膜における Type H 毛細血管の局在

¹東京歯科大学保存修復学講座 ²東京歯科大学口腔科学研究センター
○三友 啓介¹、西田 大輔²、溝口 利英²、村松 敬¹

Localization of type H capillary in mouse pulp and periodontal ligament

¹Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology, Tokyo Dental College

²Oral Health Science Center, Tokyo Dental College

○Keisuke Mitomo¹, Daisuke Nishida², Toshihide Mizoguchi² & Takashi Muramatsu¹

【緒言】

骨は、骨髄において動脈・静脈・毛細血管を含む血管ネットワークを構成している。その役割は酸素や栄養素などの運搬のみならず、骨の成長や恒常性に寄与している。近年、マウスにおいて血管マーカーである CD31^(high)Endomucin^(high)の毛細血管 (Type H 毛細血管) が骨形成に寄与することが報告された。すなわち、Type H 毛細血管は、前骨芽細胞の近傍に局在し、成熟骨芽細胞への分化に重要な役割を果たしていることが明らかとなった (Kusumbe *et al.* Nature 507(7492):323-328, 2014)。

一方、歯髄や歯根膜も骨髄と同様に血管に富んだ組織であり、硬組織形成に寄与する細胞が血管周囲に存在していることが報告されている (Vidovic *et al.* J Dent Res 96(3):323-330, 2017)。以上の形態学的な所見から、歯髄・歯根膜においても、血管網が硬組織形成に働くことが予想されるが、歯髄・歯根膜血管網にはどのような血管サブタイプが存在し、どのような分布を示しているのかは明らかとなっていない。そこで本研究は、歯髄・歯根膜血管網における Type H 毛細血管の存在の有無を調べ、その分布を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】

本研究は東京歯科大学動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号: 192302)。6週齢の C57BL/6 マウスを 4% パラホルムアルデヒドリン酸緩衝液で灌流固定し、上顎骨採取後浸漬固定を行った。モールズ液で脱灰後、凍結ブロックを作製した。クリオスタット (CM3050 ライカ社) にて凍結切片標本を作製し、抗 CD31 抗体・抗 Endomucin (Emcn) 抗体を用いた二重蛍光免疫染色を行った。標本の観察には共焦点レーザー顕微鏡 (LSM880 Airy NLO カールツァイス社) を使用した。

【結果および考察】

歯髄では、CD31^(high)Emcn^(high) 血管は歯冠部に少なく歯根部に多い傾向であった。またいずれの部位も CD31^(high)Emcn^(high) 血管は象牙芽細胞の直下に存在した。歯根膜では CD31^(high)Emcn^(high) 血管が広範に認められたが、CD31^(high)Emcn^(high) 血管は歯根膜の歯槽骨寄りに位置していた。一方、根尖部において、歯根膜から歯髄に向かって走行している血管は CD31⁺Emcn⁻ 血管が主であった。

6週齢では歯根部で象牙質形成がまだ行われていると考えられる。歯髄では CD31^(high)Emcn^(high) 血管は歯根部の象牙芽細胞直下に認められ、歯根膜では CD31^(high)Emcn^(high) 血管は歯槽骨寄りの位置に多く認められたことから Type H 毛細血管は硬組織代謝が活発な部位に存在することが示唆された。歯髄・歯根膜に存在する Type H 毛細血管は、骨組織と同様に硬組織の形成に寄与すると考えられた。今後はこの点について更なる検討を重ねる予定である。

ラット歯根未完成歯の抜髄群とリバスクラリゼーション群の組織学的観察-第2報-

1) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座

2) 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学

3) 日本歯科大学生命歯学部 歯科保存学講座

○湊 華絵¹⁾、清水公太²⁾、山田理絵¹⁾、新井恭子¹⁾、佐藤友則¹⁾、北島佳代子^{1, 2)}、五十嵐 勝³⁾

Histological observations after pulpectomy and revascularization of immature molars in rats -part2-

1) Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

2) Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University
Graduate School of Life Dentistry at Niigata

3) Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo
○MINATO Hanae¹⁾, SHIMIZU Kota²⁾, YAMADA Rie¹⁾, ARAI Kyoko¹⁾, SATOH Tomonori¹⁾, KITAJIMA Kayoko^{1, 2)}
and IGARASHI Masaru³⁾

【緒言】当講座では、ラットの歯にリバスクラリゼーションを行い、根管内と根尖歯周組織の術後経過を長期にわたって組織学的に観察し、リバスクラリゼーションに伴う組織変化を解析することを試みている。第150回大会では、抜髄のみを行った1例と抜髄後にリバスクラリゼーションを施した1例について組織学的に観察した結果を報告した。今大会では1群6例で抜髄のみを行った群をコントロールとし、リバスクラリゼーションを施した群と組織学的に観察し比較した結果を報告する。

【材料および方法】実験動物として6週齢のWistar系雄性ラットを各群6匹使用し、上顎右側第一臼歯の近心根を用いた。全身麻酔後、ラバーダム防湿下で髓室開拓、歯冠部歯髓の除去を行った。6%次亜塩素酸ナトリウムと3%過酸化水素水で髓室内を交互洗浄し、近心根管の歯髓を作業長3.5mmで#10、15、20のHファイル及び抜髄針を用いてマイクロスコブ下で除去後、Ni-Tiファイル(Protaper F1、DENTPLY Maillefer)で根管拡大を行った。根管を生理食塩液で洗浄、ペーパーポイントで乾燥後、根管内に内容物がなく、止血していることを確認した。コントロール群では、根管の止血確認後、根管内の操作を行わずに根管口に小綿球を置き、コンポジットレジン充填を行った。リバスクラリゼーション群では#10のHファイルをオーバーインスツルメントさせて出血を起こし、根管口までの血餅形成を確認後、血餅上にMTAを貼付し、上部をレジン系裏層材で裏層して、コンポジットレジン充填を行った。近心根以外の根管は生活断髄を行った。術後8週に4%パラホルムアルデヒド溶液にて全身灌流固定を行い、根尖歯周組織を含め被験歯を摘出し、さらに浸漬固定を行った。10%EDTAで脱灰し、通法に従いパラフィン包埋後、厚さ5 μ mの連続切片を作製し、HE染色を施し光学顕微鏡にて観察した。なお本研究は、日本歯科大学新潟生命歯学部動物実験倫理審査委員会の承認(承認番号197)を得て実施された。

【結果】コントロール群のすべてで根管内に血管を伴う線維性結合組織の増生がみられ、3例で根管口部まで組織で満たされており、いずれも線維性結合組織であった。またすべてでセメント質と連続した骨様硬組織が根尖孔から根管中央までの根管壁に沿って観察され、根尖孔の狭窄がみられた。4例で根尖歯周組織に炎症性細胞浸潤がみられた。リバスクラリゼーション群のすべてで歯頸部付近までの根管内の広範囲にセメント質と連続した新生硬組織が観察され、その中に新生血管を含む線維性結合組織がみられた。根尖部はセメント質と骨様硬組織の形成が著しく、根尖孔の狭窄がみられた。根尖歯周組織に炎症所見はみられなかった。

【考察】コントロール群と比べてリバスクラリゼーション群では広い範囲で硬組織形成がみられたことから、根管内を血餅で満たすことで新生硬組織の形成が促進されることが考えられる。また根管口部の硬組織形成がリバスクラリゼーション群のみにみられたことから、MTAを貼付することにより根管口部の石灰化が促進され、硬組織の形成に関与した可能性が示唆された。コントロール群で根尖部の炎症所見がみられたことから、炎症性細胞浸潤はMTAによって抑制できることが考えられる。今後は根管内に形成された組織の同定を行う予定である。また、今回はEDTAを用いて洗浄を行っていないため、今後はEDTAを用いて洗浄を行った群を追加する予定である。

【結論】リバスクラリゼーション群は、コントロール群と比較して根尖部から根管口部までの広範囲に大量の骨様硬組織が形成され、根尖歯周組織に炎症所見がみられなかったことから、歯根未完成歯の根管治療法としての有用性が期待される。

本研究の一部はJSPS科研費18K170078の助成を受けて行ったものである。

間葉系幹細胞が高発現する MXRA5 が持つ細胞増殖能・遊走能への効果

広島大学大学院医系科学研究科歯髄生物学研究室¹

東北大学大学院歯学研究科口腔生物学講座歯内歯周治療学分野²

○吉田 和真¹, 鈴木 茂樹², 中西 惇¹, 平田-土屋 志津¹, 山田 聡², 柴 秀樹¹

Proliferative and migratory actions of highly expressed MXRA5 in MSC

Dept. of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University¹

Dept. of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry²

○Kazuma Yoshida¹, Shigeki Suzuki², Jun Nakanishi¹, Shidu Hirata-Tsuchiya¹, Satoru Yamada², Hideki Shiba¹

【目的】 間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cell, MSC) は多分化能を持つ体性幹細胞であり, 分化細胞と比較して, 独自の未分化性マーカーを発現しており, 未分化性を示す遺伝子によって MSC はその未分化性を維持していると考えられている。歯髄組織には, 多分化能をもつ歯髄幹細胞 (Dental pulp stem cell, DPSC) が含まれており, DPSC は象牙芽細胞, 神経前駆細胞, 骨芽細胞, 軟骨芽細胞, 脂肪細胞などに分化する。これまでの報告から, DPSC の発生学的起源は MSC と同じであり, 基本的には同一の細胞であると考えられ, 似た性質 (細胞マーカーや細胞分化能など) を具備している。しかし, DPSC の単離方法には統一された方法が存在せず, DPSC のプロファイルは細胞ソースによって異なる。歯髄組織をプロテアーゼ等で処理し, 接着性を指標として増殖してきた歯髄細胞 (Dental pulp cell, DPC) はヘテロな細胞集団であり, 線維芽細胞や DPSC が含まれている。当研究室の予備的検討から, MSC と DPC が機能未知の同じマーカー (Matrix Remodeling Associated-5, MXRA5) を発現することを見出した。このマーカーの遺伝子的解析から, 分泌タンパク質として細胞外基質 (ECM) に多く含まれること, MSC において未分化性の高い細胞に高発現すること, そしてマトリクスリモデリングの際に発現が上昇することが判明している。以上から, MXRA5 は歯髄組織内のマトリクスリモデリングにおいて重要な役割を果たすと推定した。DPSC のモデルとして, 本研究では, MSC を用いて, 新規マーカー MXRA5 の細胞増殖能・遊走能に与える影響について検討した。

【材料および方法】 1. 各種細胞における MXRA5 の遺伝子発現: 以下の Cell line (ヒト骨肉腫細胞: MG63, ヒト胎児腎細胞: 293-EBNA, ヒト骨髄由来 MSC (2 つのソース由来): hMSC, ヒト DPC (4 つのソース由来): hDPC) の MXRA5 遺伝子発現を real-time PCR によって解析した。2. TGF- β による MXRA5 遺伝子発現への影響: hMSC を 10 ng/ml TGF- β で刺激した際の遺伝子発現を real-time PCR によって調べた。3. MXRA5 が hMSC の細胞増殖能に与える影響: MXRA5 特異的 siRNA (siMXRA5) をトランスフェクションした hMSC を TGF- β で刺激後, MTT cell proliferative assay によって調べた。4. MXRA5 が細胞遊走能に与える影響: siMXRA5 をトランスフェクションした hMSC を TGF- β で刺激後, Boyden chamber 法によって解析した。5. MXRA5 が hMSC の骨分化誘導に与える影響: siMXRA5 をトランスフェクションした hMSC を骨分化誘導培地で骨分化誘導した後, Alkaline phosphatase activity を測定した。なお上記実験は, 当施設組換え遺伝子実験計画書 (承認番号: UK31-52) および当施設倫理審査委員会 (承認番号: E-133) に従い実施した。

【結果】 1. 2 種類の hMSC は MXRA5 を高発現していた。hDPC は細胞ソースによって MXRA5 発現が異なった。MG63 と 293-EBNA は MXRA5 を発現していなかった。2. TGF- β は hMSC の MXRA5 の発現を上昇させた。3. MXRA5 をノックダウンした hMSC の細胞増殖能は有意に低下した。TGF- β はこの増殖能の低下を回復しなかった。4. MXRA5 をノックダウンした hMSC の細胞遊走能は有意に低下した。TGF- β はこの遊走能の低下を一部回復した。5. MXRA5 をノックダウンした hMSC の骨分化能は有意に低下した。

【結論と考察】 内在性 MXRA5 のノックダウンによって生じる細胞増殖および遊走能の低下や, 象牙質内に多量に存在する TGF- β によって MXRA5 の発現が上昇することは, 歯髄組織内で MXRA5 がマトリクスリモデリングに関与していることを示唆する。DPC のプライマリ細胞における MXRA5 発現が異なる理由として, ヘテロな細胞集団である DPC において, DPSC が占める割合が異なることが考えられる。今後, DPSC を用いて, 歯髄組織内での MXRA5 のマトリクスリモデリングについての検討を行う予定である。

ヒト歯髄における MIF の CXCR4 を介した PGE₂ 産生による炎症促進作用

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座
○渡邊 昂洋、神尾 直人、葉山 朋美、深井 謙滋、松島 潔

MIF promotes inflammation by PGE₂ via CXCR4 in human dental pulp

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba, Japan
○WATANABE TAKAHIRO, KAMIO NAOTO, HAYAMA TOMOMI, FUKAI JOJI, MATSUSHIMA KIYOSHI

【研究目的】

Macrophage migration inhibitory factor (MIF) はリンパ球により産生されるケモカインとして同定され、好中球や好酸球の浸潤を促す遊走能やマクロファージの機能を制御する働きを有する。現在では様々な組織の細胞においても発現が認められ、ケモカインとしての機能に加え、炎症性サイトカインとしての機能や炎症性サイトカインの機能を増強させる働きを持つことが明らかとなっている。以前我々はヒト歯髄培養細胞において MIF 刺激により cyclooxygenase (COX) -2 遺伝子発現が用量・時間依存的に上昇することを報告しており、歯髄炎において MIF が PGE₂ などの炎症性脂質メディエーター産生の核心を担う可能性が示唆される。

本研究はヒト歯髄組織を用いて、MIF およびその受容体の一つとして知られる C-X-C chemokine receptor-4 (CXCR4) の局在を免疫組織化学染色によって明らかにするとともに、ヒト歯髄培養細胞における MIF による PGE₂ 産生の検討を行ったので報告する。

【材料および方法】

ヒト歯髄組織は日本大学松戸歯学部付属病院に治療のために来院した 10-20 歳代の男女 4 名の患者の、臨床的に急性全部性歯髄炎と診断され抜歯となった第三大臼歯から得られた。抜歯後、直ちに試料をホルマリンにて固定し、その後 EDTA にて 4 週間脱灰を行った。脱灰組織を段階的エタノールおよびキシレンを通して処理し、パラフィン包埋した後、ミクロトームにて厚さ 4 μm に薄切したものを免疫組織化学染色に使用した。ヒト歯髄培養細胞は、矯正学的理由によって抜去された 10-20 歳代の男女 4 名の健康な歯牙から歯髄組織を無菌的に取り出し、10%牛胎児血清を含む α-MEM を用いて 5~9 代継代し、37℃、5% CO₂ 条件下で培養を行った。MIF 刺激時のヒト歯髄培養細胞における PGE₂ 産生量の変化を ELISA 法にて検討した。いずれも日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認 (承認番号:EC19-19-003-1 号) を得ている。

【結果】

化膿性歯髄炎の病態を呈するヒト歯髄組織において、炎症性細胞の浸潤を認め、炎症が惹起されている領域の歯髄組織で抗 MIF 抗体陽性の細胞が検出された。さらに抗 MIF 抗体陽性の細胞と一致して CXCR4 の局在が認められた。対して、炎症性細胞の浸潤を認めず、正常歯髄を呈する領域ではそれらのシグナルは検出されなかった。

ヒト歯髄培養細胞に MIF (10-200 ng/ml) を 180 分間作用させると、培養上清中の PGE₂ 量は用量依存的に増加し、100 ng/ml でほぼ最大値に達し、以後減少傾向を示した。また 100 ng/ml MIF を作用させると、培養上清中の PGE₂ 量は時間依存的に増加し、作用後 60 分でほぼ最大値に達し、360 分では減少傾向にあった。さらに、CXCR4 阻害剤である WZ811 の前処理は、MIF 刺激による PGE₂ 産生を明らかに抑制した。

【結論】

ヒト歯髄組織において炎症性の侵害刺激によって MIF とその受容体の一つである CXCR4 の発現が誘導され、その結果、MIF がパラクリン的に細胞に作用し、PGE₂ の産生が引き起こされることが示唆された。PGE₂ は歯髄における炎症反応の亢進のみならず、低濃度であれば硬組織形成にも関与する可能性が報告されており、MIF や CXCR4 をターゲットとした抗炎症剤および覆髄剤の開発によって歯髄組織内の PGE₂ 量をコントロールすることができれば、修復象牙質やデンティンブリッジの形成を促進できる可能性がある。

Oxytocin Receptor KO 歯髄培養細胞による dentinogenesis へ及ぼす影響について

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野
○加藤 邑佳、門倉弘志、山崎崇秀、市村 葉、横瀬敏志

Effect of oxytocin receptor KO on dentinogenesis in cultured dental pulp cells

Department of Restorative and Biomaterials Sciences Division of Endodontics and Operative dentistry
Meikai University School of Dentistry

○KATO Yuka, KADOKURA Hiroshi, YAMAZAKI Takahide, ICHIMURA Yoh, YOKOSE Satoshi

『目的』Oxytocin は、脳下垂体後葉から分泌されるペプチドホルモンであり、授乳や分娩時の子宮収縮作用のあることでよく知られている。近年、oxytocin 受容体は様々な部位で確認されていることから、様々な作用シグナル伝達に複雑に関与していることが分かってきている。しかしながら、歯髄組織に関連する oxytocin の研究報告はまだ少ない。さて、我々は以前の研究で歯髄組織に Oxytocin 受容体が存在することを確認した。さらに歯髄細胞に oxytocin を添加すると Wnt 経路を介して象牙質形成を調節することを突き止めた。そこで本研究では、歯髄細胞の象牙質形成に対する oxytocin の作用およびそのメカニズムを探るため、CrisperCas9 を用いて oxytocin KO 細胞を作製し、oxytocin を添加した場合に歯髄細胞ならびに象牙質形成へどのような影響をもたらすかについて検討した。

『材料と方法』本研究は、明海大学実験動物倫理委員会の承認 (No. A1925)、明海大学歯学部遺伝子組換え実験安全委員会の承認 (0129) を得た。実験は 10 週齢の雌 SD ラットを使用した。ラットの下顎骨切歯から歯髄組織を取り出し、酵素処理法にて歯髄細胞を分離後、実験に使用した。培地は、10%仔牛の血清、 β グリセロリン酸、アスコルビン酸を含んだ α MEM を使用し、7 日間および 2 1 日間培養した。また、培養 1 日目において CrisperCas9 を用いて oxytocin receptor を KO した実験群を KO 群とし、CrisperCas9 とランダム遺伝子配列を用いた対照群を Cont 群とした。培養後、アルカリフォスファターゼ染色と von Kossa 染色の二重染色をして石灰化結節形成を形態学的に観察した。

また、歯髄培養細胞からトータル RNA を抽出後、cDNA を作製し、Real-Time-PCR より Wnt カノニカル経路に関する遺伝子発現を検索した。

『結果』Oxytocin receptor を KO した場合、培養歯髄細胞は象牙質形成が Cont 群に比較して有意に抑制された。また、KO 群では Wnt 経路に関わりの深い *Ectodin* の遺伝子発現が有意に抑制された。これに伴い、*Wnt10a* と *Axin2* の発現は逆に亢進する傾向が見られた。また、KO 群にリガンドである oxytocin を添加しても *ectodin* や *wnt10a* の発現には影響が見られなかった。

『考察』これらの結果から培養歯髄細胞では oxytocin が象牙質形成に対して重要な役割を果たしていることが確認できた。さらに、oxytocin の作用は細胞膜に存在する受容体を介して、wnt カノニカル経路を介して象牙質形成に関与していることが分かった。これらの知見から今後 oxytocin が歯髄保護のための新たな治療薬の開発につながる可能性が示唆された。

『結論』Oxytocin は歯髄培養細胞において wnt カノニカル経路を介して象牙質形成を調節している。

ストレス誘導性細胞死に対するアクアポリンの関与

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野
○高 裕子, 宮下桂子, 達山祥子, 星加知宏, 西谷佳浩

Involvement of Aquaporins against stress induced cell death

Department of Restorative Dentistry and Endodontology,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○TAKASHI Yuko, MIYASHITA Keiko, TATSUYAMA Shoko, HOSHIKA Tomohiro, NISHITANI Yoshihiro

【研究目的】

これまで様々なストレスのなかでも特に浸透圧ストレスに着目し, 1) スクロースを用いた高浸透圧刺激は MAPK 経路, 特に p38 MAPK を介して象牙芽細胞の細胞死を誘導すること (Fujisawa *et al*, J Endod. 2012), 2) 象牙芽細胞において transient receptor potential (TRP) チャネルである TRPV1, 3, 4 および水チャネルであるアクアポリン (AQP) 2 が発現していること (Tokuda *et al*, Connect Tissue Res. 2015) など, 主に象牙芽細胞における浸透圧ストレスと細胞死の関係について当分野では明らかにしてきた. 一方, アストロサイトにおいては, PKC 活性化によって AQP4 および 9 の発現が低下すること (Yamamoto *et al*, Brain Res Mol Brain Res. 2001), マンニトールによる高浸透圧刺激で上昇する AQP4 および 9 の発現は, p38 MAPK を介することなども報告されており (Arima *et al*, JBC. 2003), 口腔内以外の組織における浸透圧ストレスによる細胞死と AQP の関与も示されている. 更に, 浸透圧以外のストレスとして酸化ストレスにより, 活性酸素種 (ROS) が増大し, 細胞膜の脂質の過酸化が起こり細胞死に至るという機序が知られている. ミトコンドリア DNA 欠損細胞 (ρ^0 細胞) は, がん細胞由来であり ROS の 1 つである過酸化水素 (H_2O_2) に感受性であることから, 本研究では ρ^0 細胞を用いて酸化ストレス誘導性細胞死における AQP の関与について検討を行った.

【材料および方法】

材料はヒト子宮頸部がん (HeLa) およびヒト舌がん (SAS) 細胞由来の ρ^0 細胞を用いた. ρ^0 細胞は, 低濃度のエチジウムブロマイド (50 ng/mL) を 1 か月以上曝露させることにより各親株より樹立した. 親株と ρ^0 細胞における AQP の発現について, 特に H_2O_2 を透過すると報告がある AQP5, 8 についてその遺伝子発現を定量 PCR, タンパク質の発現をウエスタンブロットおよび免疫蛍光染色にて解析した. 遺伝子発現量は, RNA 抽出後の逆転写産物を StepOne Plus™ を用いて解析し, ウエスタンブロットおよび免疫蛍光染色は 1 次抗体として抗 AQP5 抗体もしくは抗 AQP8 抗体を使用した. さらに免疫染色時には核を染色するために DAPI (0.5 μ g/mL) を用いた. ウエスタンブロットは, ECL にて発光させた後 ChemiDoc™ XRS Plus を用いてシグナルを検出し, 免疫染色は BZ-8000 蛍光顕微鏡を使用して蛍光画像を撮影した.

【結果】

定量 PCR の結果, HeLa および SAS いずれの細胞株も, 親株細胞に比較して ρ^0 細胞での AQP5, 8 の発現の上昇が認められた. また, ウエスタンブロットにおいて ρ^0 細胞での AQP5, 8 の発現の上昇が認められた. 免疫染色においても, ρ^0 細胞での AQP5, 8 の発現の上昇が認められ, また AQP5, 8 の細胞膜への局在が観察された.

【考察】

今回の結果より, ρ^0 細胞では酸化ストレスにより AQP の発現が上昇し H_2O_2 の膜透過性が亢進することから, H_2O_2 処理における感受性が高まり, その結果, 細胞死が惹起されると考えられた. AQP は水や H_2O_2 以外にグリセロールなども透過することが知られているが, これまでの研究結果および本研究結果により, 浸透圧や酸化ストレスにより AQP の発現上昇が認められ, ストレス誘導性の細胞死への関与が示唆された. 本発表ではがん細胞を用いたが, 今後は象牙芽細胞, 歯髓細胞, 歯根膜細胞におけるストレスによる AQP 発現の機序についても検討を進めていく予定である.

歯牙移植術および複数の歯周外科手術が奏功した限局型重度慢性歯周炎の一症例

1) 日本鋼管福山病院・歯科

2) 広島大学大学院医系科学研究科歯髓生物学研究室

3) 広島大学大学院医系科学研究科歯周病態学研究室

○永原 隆吉¹⁾, 武田 克浩²⁾, 白輪地 聡美²⁾, 岩田 倫幸³⁾, 柴 秀樹²⁾

A case report of localized severe chronic periodontitis treated with tooth transplantation and multiple periodontal surgical procedures.

1) Nippon Kokan Fukuyama Hospital, Dental.

2) Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University.

3) Department of Periodontal Medicine, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University.

○Takayoshi Nagahara¹⁾, Katsuhiko Takeda²⁾, Shirawachi Satomi²⁾, Tomoyuki Iwata³⁾, Hideki Shiba²⁾

【症例】患者：65歳女性。初診：2013年4月。主訴：歯が揺れだした。現病歴：初診半年前から複数の歯の動揺を自覚するようになるも放置していた。動揺が増大したため、不安になり、専門的な治療を求めて受診した。全身既往歴：定期的な健康診断では低体重 (BMI=16.7) を指摘された。入院や継続的な投薬治療が必要な治療歴、喫煙歴、飲酒習慣はない。

【口腔内および検査所見】14：舌側傾斜，12と22：矮小歯，25と35：欠損，17と27：唇側傾斜，14と24：捻転，45：舌側転位，36，38および46：近心傾斜，31と41：翼状捻転，17と47，16と46，24と34，および27と38：早期接触と咬頭干渉を認めた。臼歯部を中心に深いPPDが存在し，36舌側にⅡ度の根分岐部病変が認められた。動揺度Ⅲ度の37と47からは排膿があった。4-5mmのPPDは18.5%，6mm以上のPPDは18.5%，BOPは24.1%，PCRは33.3%であった。X線所見では，37と47は根尖までに広がる混合型骨吸収，16と17に水平性骨吸収，27遠心と36近心には垂直性骨吸収を認めた。CBCT画像は，27遠心の3壁性骨欠損および36の近心（2壁性骨欠損）から舌側根分岐部に及ぶ骨吸収を示した。全顎の唇側側に骨隆起、および頬側骨板の肥厚が認められた。

【診断】限局型重度慢性歯周炎，咬合性外傷

【治療方針・経過】1) 歯周基本治療：TBI，スケーリング・ルートプレーニング，う蝕処置（44），抜歯（37，47），咬合調整（16と46，24と34）。2) 歯牙移植術：咬頭干渉のある38を移植歯とする遅延型歯牙移植術（37抜歯；歯根破折しており周囲に多量の炎症性肉芽組織を認めた。抜歯5週後に38を37抜歯部位に移植した。受容部位の頬側付着歯肉・角化歯肉幅を増大するために，舌側寄りの歯槽頂に切開をした後、全層・部分層弁を作製し38を移植。）。3) 再評価。4) 歯周外科：36にBone swaging法を併用したGTR法と遊離歯肉移植術（FGG），27にGTR法，16と17に歯肉剥離搔爬術。5) 再評価。6) 口腔機能回復治療。7) 再評価。8) SPT。

【考察】歯牙移植術は即時型（受容部の歯を抜歯し，同時に移植），遅延型（受容部の歯を抜歯し，1～2ヶ月後に移植），異時（受容部の歯を抜歯し，約6ヶ月以上経過した後に移植）に分類¹⁾され，即時型と比べ遅延型は有意差がないものの移植歯の生存率が低いという報告¹⁾がある。しかしながら，抜歯適応歯の状況や歯周組織環境の理由から遅延型を選択せざるを得ない場合がある。本症例のように歯根破折による強い炎症の除去や付着歯肉・角化歯肉幅の増大術を伴う遅延型歯牙移植術は，高齢者においても咬合再建と歯周組織改善に有効なオプションといえる。特に咬頭干渉の原因であった38を移植歯として利用できたことは効果的であった。骨隆起や頬側骨板の肥厚から咬合力が強いことが推測され，特定の歯にかかる外傷性咬合を軽減させるためにも咬合調整の必要な症例であった。咬合性外傷は歯列不正，特に歯の位置異常に起因していたため，早期接触と咬頭干渉に対する咬合調整を実施した。深い歯周ポケットを有する垂直性骨欠損に対してはアタッチメントゲインを目的とした歯周組織再生療法が適応されるが，2～3壁性垂直性骨欠損およびⅡ度の根分岐部病変が適応症であるGTR法を27と36に実施した。36には2壁性で舌側分岐部に及ぶ大きい非内側性骨欠損が存在していたことから，Bone swaging法を併用したGTR法^{2, 3)}を行った。術後，36周囲の付着歯肉/角化歯肉の幅の不足を認めたため，FGGによって口腔環境を改善し，口腔衛生管理を容易にした。

【まとめ】歯周基本治療，歯牙移植術，歯周組織再生療法およびFGGによって，限局型重度慢性歯周炎に罹患した歯周組織を改善することができた。

1) 阿部結奈 他：北海道歯誌，2016. 2) Kodama T et al：Int J Periodontics Restorative Dent. 2013. 3) 児玉利朗：日歯周雑誌，2019.

垂直性歯根破折歯の接着修復法における各種歯面処理の検討

¹⁾日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学

²⁾日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第1講座

³⁾日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

○清水公太¹⁾、佐藤友則²⁾、新海航一^{1,3)}

Study on various tooth surface treatments for adhesive restoration of vertical root fractured teeth

¹⁾Advanced Operative Dentistry-Endodontics,

The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

²⁾Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

³⁾Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

○SHIMIZU Kota¹⁾, SATOH Tomonori²⁾, SHINKAI Koichi^{1,3)}

【緒言】

垂直性歯根破折歯は抜歯が適応とされてきたが、近年、接着材料で破折歯根を接着して保存を図る術式(接着修復法)が報告されている。接着修復法を行った歯を長く保存するには、微小漏洩や接着耐久性が重要となる。また、再植術を併用する場合、操作性が良好で歯質との境界が明瞭となる接着材料が望ましい。支台築造用コンポジットレジンであるエステコア(トクヤマデンタル)は、ハンドタイプで操作性が良く、ブルーペーストは歯質の色と鑑別しやすい。したがって、エステコアは接着修復法に適した材料と考えられる。従来の接着修復法は、化学重合型接着性レジンセメントであるスーパーボンド(サンメディカル)を使用する機会が多いが、接着修復法の術式が確立されているとは言いがたい。そこで、垂直性歯根破折歯の保存的治療として、エステコアを使用した新たな接着修復法の確立を目指すこととした。本研究では、ウシ歯の破折歯根を各種歯面処理とエステコアで接着した試料、あるいは従来法のスーパーボンドで接着した試料(コントロール)に対し繰り返し荷重を負荷した後、微小漏洩と破折歯根間の微小引張接着強さ(μ TBS)を測定した。本研究の目的は、破折歯根の接着に関して従来法と比較した新規接着修復法の有効性ならびに新規接着修復法における最も有効な歯面処理法を明らかにすることである。

【材料と方法】

被験歯としてウシ下顎前歯を使用し、事前のエックス線撮影で歯根歯質の厚みが1.3mm未満のものは除外した。精密切断機(Isomet)を用いて、エナメル-セメント境に沿ってウシ歯を切断して歯冠は除去し、切断面から長軸方向に17mmまで幅約0.3mmの溝をIsometで形成した後、溝に沿って金属スパチュラで分割し、破折歯根を作製した。実験群は、(1)10%クエン酸-3%塩化第二鉄溶液(表面処理材グリーン)+スーパーボンド(SB-G群)、(2)化学重合型ボンディング材(ボンドマーライトレス)+エステコア(EC群)、(3)表面処理材グリーン+ボンドマーライトレス+エステコア(EC-G群)、(4)40%リン酸溶液(KエッチャントGEL)+ボンドマーライトレス+エステコア(EC-P群)、(5)3%次亜塩素酸ナトリウム溶液(クロルシッドJ)+ボンドマーライトレス+エステコア(EC-N群)の5群(n=16)とした。各群の接着方法に従って破折歯根の接着試料を作製した後、根尖部を切断して歯根長を17mmに統一した。試料は37°C温水中に24時間保管した後、繰り返し荷重(70N・5回回・2Hz)を37°C温水中で負荷した。その後、微小漏洩試験のため、50%硝酸銀溶液に24時間浸漬後洗浄し、エックス線写真現像液に8時間浸漬し洗浄した。Isometで試料の歯冠側から根尖側に向かって1mm、7.5mm、14.0mmで切断し、それぞれの切断面上で微小漏洩度を評価した。この後、接着面積1mm²の角柱状接着試料を作製し、破折歯根間および破折歯根-コア間の μ TBSを測定した。

【結果】

微小漏洩度は、すべての実験群の間で有意差を認めなかった。歯質と接着材料の間に明らかなギャップを認めた試料は、コア部までの微小漏洩を示した。それ以外で微小漏洩を認めた試料は、歯根歯質の厚みの半分以下の微小漏洩に留まっていた。破折歯根間および破折歯根-コア間の μ TBSは、すべての実験群の間で有意差を認めなかった。

【考察】

エステコアを用いた新たな接着修復法における微小漏洩や接着耐久性は、スーパーボンドを用いた従来法と比較して有意差なくほぼ同等であった。歯質の色と鑑別しやすいエステコアを用いた接着修復法は、従来法より臨床的操作性に優れ、垂直性歯根破折歯の再植を併用した治療への応用が期待される。

【結論】

ウシ歯破折歯根をエステコアと各種歯面処理で接着した試料の荷重負荷後における微小漏洩度と接着強さは、いずれの歯面処理法においても、スーパーボンドで接着した試料と比較して有意差なくほぼ同等であった。

Endodontic Management of a Mandible Premolar with 3 root canals - A Case Report -

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

2) Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital

○Arias Martinez Zulema Rosalia¹, Keisuke Yamashiro², Yuki Shinoda-Ito²,
Tadashi Yamamoto¹, Shogo Takashiba¹

Keywords: Lower 1st premolar, Dental operating microscope, Ultrasound endodontic tips

Background: It is one of the most difficult tasks to locate all the root canals, especially when the surface where we have to look for them is a narrow space as it is in a lower premolar. Frequently, the use of a conventional dental X-ray photo makes the task of observing all the details of root canals very difficult, especially when the root canals are overlapped.

Objective: We report a case of the 1st mandible premolar with 3 root canals, and discuss the methods to locate them.

Clinical Presentation and Intervention: A fifty-three-year old female complained about acute pain in the mandible at right 1st premolar. Conventional dental radiography revealed that the root canal existed at the coronal third, but then disappeared at the apical third (Fig. 1). Thus, it was suspected that there was more than one root canal. Firstly, a distal canal was found, later a mesial canal was located by using both a dental operating microscope (DOM) and an endodontic ultrasound tip. Both root canals were chemo-mechanically prepared using sodium hypochlorite at 2.5% and Hy-Flex rotary files (Coltene, France), finally obturated with lateral condensation technique (Fig. 2). After taken a post-operative X-ray photo, the presence of an additional root canal was clearly observed (an arrow in Fig. 2). This 3rd root canal was unveiled at last by using DOM and endodontic ultrasound tip, then it was prepared and obturated (Fig. 3). Five years later for follow-up, the tooth has been asymptomatic since it was rehabilitated with a post and a metal-ceramic crown. No sign of recurrence was confirmed also by a cone beam computed tomography (CBCT) (Fig. 4).

Discussion and Conclusion: When an abrupt interruption of a root canal is observed on a conventional dental X-ray photo, there are high probabilities of the existence of more than one root canal. Lower premolars have been found to possess a very complex root canal system. There are many studies that confirmed a high incidence of the presence of more than one root canal on these teeth (over 40%). With the aid of the DOM, we were able to search for the probable entrance of the root canals. In addition, using the endodontic ultrasound tips, we successfully removed the tertiary dentine covering the entrance of root canal. The use of both chemical debridement and rotary file system helped us to prepare root canal much easier than using manual instrumentation. After five-years follow-up, we confirmed that the tooth has been restored and functioning with no trouble. We conclude that it is important to diagnose root canals of mandibular 1st premolar by careful conventional dental radiography. In addition, chemical debridement and rotary file system under DOM is useful for complexed canal systems such as this case.

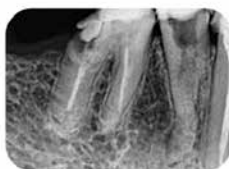


Fig. 1
Pre-operative

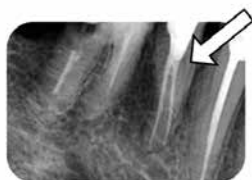


Fig. 2
After obturation of distal &
mesial canals
A 3rd canal was observed.



Fig. 3
Post-operative

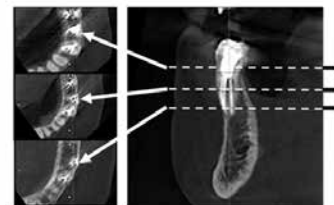


Fig. 4
Five-year follow-up CBCT
Left: axial views from coronal
to apical third
Right: sagittal view

直接覆髄材の有効性に関する長期臨床評価：メタアナリシス

¹ 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周歯内治療学分野

² 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 硬組織疾患基盤研究センター

○松裏貴史¹, S. M. Ziauddin¹, 松裏恵子², 杉本浩司¹, 山田志津香¹, 吉村篤利¹

Long-term clinical evaluation of the effectiveness of direct pulp-capping materials: a meta-analysis

¹ Department of Periodontology and Endodontology,

Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

² Basic and Translational Research Center for Hard Tissue Disease,

Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Takashi Matsuura¹, S. M. Ziauddin¹, Viviane K. S. Kawata-Matsuura², Kouji Sugimoto¹,
Shizuka Yamada¹, Atsutoshi Yoshimura¹

【背景】

今現在、mineral trioxide aggregates (MTA) などのケイ酸カルシウム系覆髄材をはじめとした様々な覆髄材が臨床の現場で直接覆髄に用いられており、それらの材料に関して安全性や有効性を評価すべく世界中で多くの研究がなされている。しかし、動物実験などの基礎研究や比較群がない症例集積研究など、臨床的有効性を評価するには適当でない研究が多い。また、術後の追跡期間が数カ月と短期間の臨床研究も多く、そのような研究では、長期的な予後評価することは難しい。そこで我々は、ヒト露髄歯への直接覆髄材の長期臨床成績を評価するために系統的レビューを行った。その結果、水酸化カルシウム系覆髄材 (CH) およびケイ酸カルシウム系覆髄材 (CS) において、それぞれ 10 以上ものランダム化比較試験でその臨床成績が検証されていることがわかった。また CS の中でも、Biodentine (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France) は複数のランダム化比較試験で直接覆髄の成功率が著しく高く報告されていることがわかった (96.4-100%)。しかし以前の研究では質の評価のみを行い、統計学的手法を用いた有効性の評価は行ってこなかった。そのため本研究では、CH と CS の間で、および Biodentine と MTA の間で、ヒト露髄歯への直接覆髄の長期臨床成績を比較するために、メタアナリシスを行った。

【方法】

上記の目的に合致する適格基準および除外基準を設定し、2019年6月21日に、6つのデータベース (PubMed, Google Scholar, The Cochrane Library, Scopus, EBSCOhost, ProQuest) にて電子的文献検索を行い、また、2000年から2019年6月までの間に出版された4つの学術紙 (Journal of Dental Research, Journal of Endodontics, Journal of Conservative Dentistry, American Journal of Dentistry) からハンドサーチを行い、設定した基準を満たす文献を収集・選別した。その後、選別した文献からデータ抽出を行った後、The Cochrane Collaboration's risk-of-bias assessment tool を用いてバイアスリスクの評価を行った。また、Review Manager 5 (RevMan 5; Cochrane Collaboration software) を用いて統計学的異質性および公表バイアスの評価を行い、リスク比 (RR) と 95%信頼区間 (CI) を使用してメタアナリシスを行った。

【結果・考察】

630本の文献が収集され、そのうち設定した基準を満たす7本の文献が本研究に組み込まれた。これらの文献は対象となる集団や研究デザインが様々であるため、臨床的・方法論的異質性は低いとは言えない。そのため、選別された文献の研究結果がメタアナリシスを通じて統合可能かどうかを判断するため、RevMan 5 を用いて統計学的異質性の評価を行った。そして解析の結果、高度な統計学的異質性は認められなかったため、CH と CS の間、および Biodentine と MTA の間で直接覆髄の成功率を比較するためにメタアナリシスを行った。解析の結果、CH と CS の成功率の間には有意差が認められた (RR, 1.20; 95%CI 1.06-1.36; P = .005)。一方、Biodentine と MTA の成功率の間には有意差は認められなかった (RR, 1.03; 95%CI 0.96-1.10; P = .40)。また、両解析において公表バイアスは認められなかった。

【結論】

本研究によって、直接覆髄材のヒト露髄歯への長期臨床成績に関して、CH と比較して CS の成功率が有意に高いことが示された。この結果から、CS は CH と比較してより効果的で予知性の高い直接覆髄材であるように思われる。しかし、この結果を支えている全ての文献でバイアスリスクが高いことから、得られた結果は慎重に解釈する必要がある。

小野寺の分類IV型の歯内歯に起因する根尖周囲組織に炎症を呈する生活歯

松本歯科大学歯科保存学講座

○三好 弥恵、宮國 茜、中村 圭吾、岩崎 拓也、朝倉 莉紗、増田 宜子

Living teeth with inflammation in the periapical tissues caused by Onodera's type II endodontic teeth

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

○Yae Miyoshi, Akane Miyakuni, Keigo Nakamura, Takuya Iwasaki, Risa Asakura, Yoshiko Masuda

【緒言】

歯内歯は象牙質の一部がエナメル質とともに歯髄内に陥入した形態異常歯である。小野寺の分類では陥入の程度により I～IV型に分類され、もっとも陥入度が深いIV型は陥入部が歯根を貫通し根尖部歯根膜に達する。また、Oehlersは陥入の程度や歯根膜腔との交通の有無を基準に 1～3 型に分類し、3 型は陥入が根尖まで到達し根面で開口しているものと分類¹⁾している。今回蕾状を呈した歯冠の盲孔部から根尖歯周組織に達する陥入があり、同部を感染経路として生じたと思われる慢性炎症を分岐部に有する生活歯の良好な治癒経過を得られたので報告する。

【症例】

患者：17 歳女性

主訴：歯肉の違和感。

現病歴：2019.7 月終わり頃から瘻孔を認めるようになり、8 月初めに開業医受診。2¹⁾ 彎曲奇形歯であることを指摘され紹介状を持参し 9 月に松本歯科大学附属病院保存科を受診。

現症：2¹⁾ 違和感、電気診に正常に反応。病的歯周ポケットなし。

既往歴：特記事項なし

【治療経過】

2019.10 月より治療を開始した。治療前に CBCT 撮影し、歯根膜腔の拡大と炎症症状の無い歯髄は保存することとした。当初歯髄への感染が疑われたが、歯髄に生活反応がありデンタルエックス線写真および CBCT で確認しても歯根膜腔に明確な拡大が認められなかったことから、可及的な歯髄除去はそれを行うだけの十分な根拠に乏しいと判断し経過を見ることとした。マイクロ下にて盲孔より陥入部へ穿通行ったところ、大量の排膿を認めた。生理食塩水にて洗浄しペリオフィールを貼薬した。2 回目来院時に打診痛と冷水痛を認めるようになり、浸麻下にて陥入部拡大後、洗浄および貼薬を行った。その 1 ヶ月後の 3 回目来院時には、打診痛は消退し軽度の冷水痛が残存したが電気診では生活反応を示した。陥入部より出血排膿は認められなかったため、同部に MTA セメント充填し仮封を行った。4 回目来院時に冷水痛の消退を確認し電気診は生活反応を示していた。CBCT 所見では炎症像の縮小傾向が認められた。

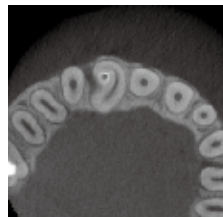
【考察および結論】

瘻孔があることにより失活していると安易に考えがちだが、CBCT 画像をもとに診査を行った結果、根尖部歯根膜に達し陥入が根尖まで到達し開口していること、かつ極度の彎曲を有し歯根が 2 根に分岐していることが判明した。また、電気診で生活反応を確認し反応を示したため陥入部が原因の根尖病変であることが確定された。このことから、歯内歯においては瘻孔が認められた場合でも電気診は行うべき検査であり、CBCT を用いることによって正確な処置が可能になることが再確認できた。

1) Oehlers FA:Dens invaginatus(dilated composite odontome).I. Variations of the invagination process and associated anterior crown forms.Oral Surg Oral Med Oral Pathol,10:1204-1218,1957.



術前 CBCT-Sagittal



術前 CBCT-Axial

3D 解析による新たな歯内治療実習用模型の評価

福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野¹, 口腔医学研究センター²,
総合歯科学講座 総合歯科学分野³, 口腔医療センター⁴

○廣瀬陽菜¹, 松崎英津子^{1,2}, 松雪 稜¹, 松本和磨¹, 水上正彦¹, 畠山純子³, 牛尾悟志¹, 小嶺文誉¹,
河村 隼¹, 二階堂美咲¹, 松本典祥¹, 泉 利雄⁴, 阿南 壽¹

A new assessment of for endodontic phantom practice by 3D morphological analysis

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology¹,
Oral Medicine Research Center², Section of General Dentistry, Department of General Dentistry³,
Center for Oral Diseases⁴, Fukuoka Dental College

○Haruna Hirose, Etsuko Matsuzaki, Ryo Matsuyuki, Masahiko Minakami, Kazuma Matsumoto,
Junko Hatakeyama, Satoshi Ushio, Fumitaka Komine, Jun Kawamura, Misaki Nikaido,
Noriyoshi Matsumoto, Toshio Izumi, Hisashi Anan

【目的】

日常の臨床において、根管内部は電氣的根管長測定器を用いて治療を行うため、直接目視することができず、模型実習等を通じて根管や根尖部の解剖学的形態を十分に理解することは必須である。そのため、歯内治療実習においては、アピカルシート形成の意義をはじめ理想的な根管拡大・形成について、学生が視覚的に確認・理解でき、かつ客観的な評価が可能なモデルづくりが必要である。

そこで今回、根尖最狭窄部の径が異なる 2 種類の歯内治療実習用模型歯を使用し、手用ファイルを用いた抜髄、根管拡大・形成操作を行った後、3D モデルを作成し、根管拡大・形成範囲（体積）を解析するとともに、模型歯間における根管形成の形態について三次元的な比較を行うこととした。

【材料および方法】

実験には、歯髓腔を赤く染色させた 2 種類の大白歯根管模型歯（ニッシン：A-END3B001 #16, S12A-500 #26）を使用した。術者は臨床経験 1-2 年の歯科医師 2 名とし、初回作成模型歯と数回の練習後に作成した模型歯を実験に使用した。カーバイドパー（#1557）を用いて髓腔穿孔を行い、ダイヤモンドポイント（EX-24）にて天蓋除去後、ピーソーリーマー（#1, #2）で根管口部を拡大、#10 のステンレススチール K ファイル（マニー：25 mm）で根管長を測定した。その後、ステンレススチール K ファイル（マニー：25 mm）を使用して本学基礎実習書に従い #40 または #45 まで根管拡大・形成操作を行った。根管内は蒸留水湿潤下で作業し、ファイル号数を大きくする毎に蒸留水にて根管洗浄を行った（ウルトラデント：エンドイーズチップ 31G）。その後、根管内に造影剤（イオヘキソール）を注入して歯科用コーンビーム CT（モリタ製作所：3DX MULTI-IMAGE MICRO CT）撮影を行った。撮影データは stl データに変換し（レキシー：ZedView Ver. 9.0）、3D モデルソフト（システムクリエイト：Geomagic Freeform Plus）を用いてデータ構築および解析を行った。なお、比較対照として、形成前の根管に造影剤を注入したものを使用した。

【結果】

3D 解析により、初回作成模型歯においては形成前の模型歯と比較して、全周にわたるファイリング不足と根管充填に適したテーパ付与の不足を認めた。一方、練習後作成模型では初回と比較して根管拡大・形成できている部分が増加していた。一方、2 種類の模型歯のうち根尖最狭窄部の径が小さいモデルでは、2 名の術者ともに適切な作業長のもとアピカルシートが付与されていたが、根尖最狭窄部の径が大きいモデルでは、根尖部を破壊したものも認められた。

【考察】

根管拡大・形成前後の根管を 3D 解析することにより、根管拡大・形成量の範囲（体積）を数値化して評価することが可能となった。また、今回は臨床経験年数の少ない術者が行ったが、根尖最狭窄部の径が大きい場合には根尖部の破壊も認められたことから、アピカルシート形成の重要性について 3D 画像による視覚的な理解が深まり、根尖部の形成に対する習熟到達度が向上すると推察された。

研究協力者：福岡歯科大学医科歯科総合病院放射線科診療放射線技師 坂元英知、稲富大介、橋本歩美、
福岡歯科大学医科歯科総合病院歯科技工士 一志恒太

参考文献：二階堂美咲、松崎英津子他. 日歯内誌 2019; 40(1): 14-19.

愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科来科患者の 根管破折器具に関する後ろ向き調査

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○北村成孝, 江幡香里, 稲本京子, 堀場直樹, 中田和彦

Retrospective study of broken root canal instruments on new patients referred to the endodontics clinic of Aichi Gakuin University Dental Hospital

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○Naritaka Kitamura, Kaori Ebata, Kyoko Inamoto, Naoki Horiba, Kazuhiko Nakata

【緒言】

日常臨床において根管内の器具破折に遭遇する事は少なくない。根管内に器具が破折していると、それより深部は根管処置が困難なため予後に影響を及ぼすことになる。近年マイクロスコープの普及によって、肉眼では見えない部分を拡大視することにより、超音波機器を併用した根管破折器具の除去の方法が確立されている。しかし、一般の歯科診療所等におけるマイクロスコープの普及率は未だ低く、また手技も困難で時間がかかる処置であるため、高次医療機関への依頼が多いのが実状である。そこで今回私たちは、愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科に来院された患者における根管破折器具について後ろ向き調査を行い、マイクロスコープと超音波機器を併用した除去の有用性について評価を行った。なお、本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認(承認番号:583)を得ている。

【対象および方法】

2014~2016年度に愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科に来院した患者について、根管破折器具の有無を調査した。根管破折器具の除去は、超音波機器(ENAC, OSADA・スプラソン P-MAX, SATELEC)に根管内異物除去用チップ ST-21(OSADA)やエンドサクセス ET-25チップ(SATELEC), AM#30を接続し、マイクロスコープ(OPMI111, CARL ZEISS・CLS150MR, LEICA)を併用して行った。

【結果】

愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科の初診紹介件数は2014年度509件であり、そのうち根管破折器具が存在していたものは29件6%であった。29件中未来院が6件、除去完了したものが12件、経過観察としたものが9件、外科的処置となったものが2件であった。2015年度においては、初診紹介件数は517件、根管破折器具は43件8%であった。43件中未来院が3件、除去完了したものが23件、経過観察としたものが13件、外科的処置となったものが5件であった。2016年度においては、初診紹介件数は517件、根管破折器具は27件5%であった。27件中未来院が3件、除去完了したものが12件、経過観察としたものが8件、外科的処置となったものが4件であった。根管破折器具の除去が必要と診断し、同意を得て除去を試みた77%(47/61)の症例において根管破折器具を除去することができた。しかし、彎曲が大きく彎曲の先で破折している症例や根尖付近で破折している症例、根尖孔外に突出している症例では除去できなかった症例もあった。また30件の症例で経過観察としたが、除去できなかったもののバイパス形成や根管処置により症状軽減または消失したため除去せずに根管充填まで行い経過観察としたもの、臨床症状および根尖部透過像が認められなかったため経過観察としたものもあった。11件の症例で抜歯またはヘミセクション等の外科的処置となったが、歯根破折が認められたため抜歯と診断した症例も3件あった。

部位に関しては、上顎右側24件、上顎左側27件、下顎左側24件、下顎右側24件と大きな差は認められなかった。歯種別では、第一大臼歯が最も多く、全体の56%(55/99)を占めていた。とくに上顎左側第一大臼歯と下顎左側第一大臼歯が最も多かった。

【考察】

根管破折器具に関して、破折器具の有無による根管治療の成功率に統計学的な差はなく、破折器具の存在が治療の失敗には繋がらないという報告もある。しかし、今回と調査では臨床症状や根尖部透過像が認められた症例は多く、根管破折器具の除去が必要と診断し、除去することが可能であった。したがって、根管内に破折器具が認められる場合には、まず根管の感染状況と根管の解剖学的形態、歯質削除による穿孔、歯根破折のリスクを考慮して、除去の可否を判断し、必要に応じて歯科用コーンビームCTによる三次元的画像診断もを行い、慎重に除去を試みる必要がある。

日本の歯科大学・歯学部附属病院における根管洗浄に関する調査 第2報 2003年と2018年に実施したアンケート結果の比較

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

○木方一貴, 田中雅士, 長谷川智哉, 赤堀裕樹, 堺 ちなみ, 小島莉里, 林 智佳子, 瀧谷佳晃,
斎藤達哉, 吉田隆一, 河野 哲

A Survey on Root Canal Irrigation at University School of Dentistry in Japan

2. Comparison of the results of questionnaires in 2003 and 2018

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

○KIHO Kazuki, TANAKA Masashi, HASEGAWA Tomoya, AKAHORI Hiroki, SAKAI Chinami, KOBATA Riri,
HAYASHI Chikako, TAKITANI Yoshiaki, SAITO Tatsuya, YOSHIDA Takakazu and KAWANO Satoshi

【諸言】歯内療法は、ニッケルチタンロータリーファイルや、歯科用コーンビームCT、実体顕微鏡などの応用により、近年大きく変化してきた。使用器具や器材は変化しても、機械的清掃のみでは根管内の感染のコントロールは不十分であり、根管洗浄や根管貼薬が必要であると考えられる。しかし、根管洗浄の方法は様々であり統一した手法がないのが現状であり、我々はこれまでに、2003年および2018年の2度にわたり日本の歯科大学・歯学部附属病院に対し、実際に臨床で用いる根管洗浄法に関するアンケート調査を行いその実態を報告した。そこで今回、15年間における根管洗浄の実態に変化があるか比較し検討したため報告する。

【方法】アンケート調査は2003年5月ならびに2018年6月に実施した。日本の歯科大学および歯学部の歯内療法に関わる講座に対して、代表者宛に「臨床で用いられている根管洗浄法についての調査」と題しアンケートを送付し、回答を求めた。その中から、同一内容のアンケート調査を抜粋し、比較検討を行った。

【結果】アンケート結果を以下に示す。(2003年/2018年)

アンケート回収率：93%/88%であった。「根管洗浄を行いますか？」に対しては両年ともに100%の講座が「行う」と回答した。「根管洗浄をいつ行いますか？」に対して、「拡大サイズの上昇時に毎回必ず行う」：11%/30%、「拡大サイズの上昇時に適宜行う」：86%/80%、「拡大中は行わず、最終拡大終了後（貼薬前）に行う」：4%/3%の回答であった。「根管洗浄器としてどのような器具を使用していますか？」に対して、「シリンジ」：96%/93%、「超音波発振装置」：60%/87%、「可聴域振動装置」：17%/13%であった。「どのようなシリンジや洗浄針を使用していますか？」に対して、「ルートキャナルシリンジ」：37%/32%、「シリンジと先端開口型洗浄針」：59%/64%、「シリンジと側孔開口型洗浄針」：33%/32%、「その他」：0%/11%であった。「シリンジでどのような薬剤や溶液を使用しますか？」に対して、「次亜塩素酸ナトリウム溶液」：96%/96%、「EDTA溶液」：44%/96%、「過酸化水素水」：82%/32%、「生理食塩水」：37%/32%、「精製水」：7%/4%であった。「どのような超音波発振装置を使用していますか？」に対して「ENAC (ヨシダ)」：82%/54%、「ソルフィー (モリタ)」：17%/54%、「スプラソン P-MAX (Satelec, France)」：5%/31%、「バリ奥斯 (ナカニシ)」：17%/12%であった。「超音波発振装置でどのような薬剤や溶液を使用しますか？」に対して「デンタルチェアーからの給水」：88%/62%、「次亜塩素酸ナトリウム溶液」：24%/54%、「EDTA溶液」：24%/50%、「滅菌精製水」：0%/12%、「生理食塩水」：0%/4%であった。「どのような可聴域振動装置を使用していますか？」に対して、「ルーティー (ヨシダ)」：100%/100%の回答であった。「可聴域振動装置でどのような薬剤や溶液を使用しますか？」に対して、「デンタルチェアーからの給水」：100%/100%、「EDTA溶液」：40%/50%、「次亜塩素酸ナトリウム溶液」：0%/25%であった。

【結論】今回のアンケート調査にご回答頂いた全ての講座が両年とも根管洗浄を実施しており、根管洗浄の重要性は確認できた。その方法はシリンジを用いた根管洗浄ではEDTAの使用率が上昇した一方、過酸化水素水の使用率は低下していた。超音波発振装置の使用率は大きく上昇しており、その使用薬液はチェアーからの給水が減少し、次亜塩素酸ナトリウム溶液やEDTA溶液、滅菌精製水の使用率が上昇していた。

根管洗浄の基本方針に関しては大きな変化はなかったものの、洗浄効果の更なる期待のため、使用器材や使用薬液には変化が認められたと考えられる。

Ni-Ti ロータリーファイルの湾曲根管形成修得における教育効果 —ProTaper Next を使用した学生実習の評価—

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学分野

○下島かおり, 武藤徳子, 鈴木二郎, 室町幸一郎, 藤巻龍治, 宇都宮舞衣, 山田寛子,
木庭大規, 許多, 佐藤イ・テヒョン, 清水千晶, 田中 俊, 林田優太郎, 石井信之

The Education Effect of Curved-root Canal Preparation by Ni-Ti ProTaper Next File for Student Practice

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○SHIMOJIMA Kaori, MUTOH Noriko, SUZUKI Jiro, MUROMACHI Koichiro, FUJIMAKI Ryuji, UTSUMOMIYA
Mai, YAMADA Hiroko, KOBATAKI Koba, Duo Xu, SATO Leetaehyung, SHIMIZU Ciaki, TANAKA Shun, HAYASHIDA Yutaro,
TANI-ISHII Nobuyuki

目的 ; Ni-Ti ロータリー (以後 Ni-Ti) ファイルはステンレス・スチールファイルと比較して柔軟性に優れ本来の根管形態を維持した根管形成が可能である。しかしながら、Ni-Ti ファイルの使用においては常に破折リスクを考慮して適切な操作を必要とする。グライドパス形成は円滑なファイル誘導路を作成することで Ni-Ti ファイルによる根管形成時の切削応力を減少させ、ファイル破折やレッジを未然に防止する事が期待されている。Ni-Ti ファイル使用時にグライドパス形成は必須操作であり、適切な根管形成を行うために重要な役割を担っている。本研究は、歯学部学生実習に ProGlider(Dentsply-Sirona)と手用 K ファイルによるグライドパスを形成後 ProTaper Next(Dentsply-Sirona)にて根管形成を行い、偶発事故(ファイル破折やレッジ) 発生の有無を解析することによって Ni-Ti ファイルの教育効果を評価することを目的とした。

材料と方法 ; 歯学部 3 年歯内療法学実習 (2018 年 100 名、2019 年 101 名) において、学生 201 名を対象に J 型エポキシレジン製透明湾曲根管模型(Dentsply-Sirona)402 本を使用し、グライドパス形成後に ProTaper Next X1,X2 で根管形成を行った。ProTaper Next による根管形成は、グライドパスを ProGlider 群(n=201)と #15 K ファイル群(n=201)の 2 群で実施した。ProGlider と ProTaper Next X1,X2 は、ロータリーエンジン Smart X Plus((Dentsply-Sirona) を使用して根管形成を行った。学生に対する教育方法は、講義でグライドパスの意義、および Ni-Ti ファイルの特徴を説明後、学生 10 名に対してインストラクター1 名が ProGlider と ProTaper Next X1,X2 の使用法を説明し、デモンストレーションを行った後に根管形成を実施した。偶発事故発生の解析は、肉眼的観察と実体顕微鏡 Olympus SZX を使用し、いずれも 2 名の評価者でファイル破折とレッジ発生を確認した。

結果 ; 学生 201 名を対象に ProTaper Next による根管形成を行い偶発事故の発生を観察した結果、レッジ発生は #15 K ファイル群 19 根管 (9.5%)、ProGlider 群 18 根管 (9.0%) に認められた。一方、ファイル破折は両群ともに全症例を通じて認められなかった。グライドパスの相違による適切な根管形成は、#15 K ファイル群 182 根管(90.5%)、ProGlider 群 183 根管(91.0%)を示し、両実験群間に統計学的有意差 (P<0.05) は認められなかった。

結論及び考察 ; 本研究では、学生実習にグライドパスと Ni-Ti ファイルを導入することによって本来の根管形態を維持した適切な根管形成が可能であり、クラウンダウン法の理解を深める上でも有効な教育効果を得ることが示された。Ni-Ti ファイルの臨床使用に消極的な歯科医師の大多数は、ファイル表面に金属疲労が表れないために破折が予知できないことが理由と考えられている。グライドパスと ProTaper Next による本研究結果は、Ni-Ti ファイル初心者に対する根管形成評価結果でもあり、適切な根管形成が 90% の対象者で可能になることを示し、さらにファイル破折は認められなかった。以上のことから、ProTaper Next はファイル柔軟性に加えてファイル形態が根管壁への応力を減少することが示され、学生実習においても優れた教育効果を示すことが明らかになった。

根尖狭窄部を有する樹脂製根管模型を用いた電氣的根管長測定法における根管洗浄液の影響に関する研究

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座
○関谷 美貴, 中山 竣太郎, 五十嵐 勝

Study on the Influence of Root Canal Irrigation Liquids on Electric Measuring Method of Root Canal Length Using Plastic Root Canal Model with Apical Constriction

Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo
○Miki SEKIYA, Shuntaro NAKAYAMA, Masaru IGARASHI

【はじめに】

根管処置で根管長測定を正確に行うことは、apical limit を根尖狭窄部に設定する上で重要であり、その結果創傷部位を最小限にとどめ、早期に最良の治癒を得ることができる。また、術中における根管のトランスポートーションや不十分な根管清掃、過剰な根管充填などの防止にも繋がるため、作業長測定は極めて重要なステップである。近年、エンジン駆動のニッケルチタン製ファイルと電氣的根管長測定器を連動させることにより、根管内のファイル先端位置を視覚的に確認できるだけでなく、作業長に到達すると自動的に停止または逆回転を行うことで過剰な拡大を防止し、根管長を測定しながらの根管形成が可能となった。そこでわれわれは、正確な apical limit 確立のために、根尖狭窄部を有する透明樹脂製根管模型を作製し、根管模型上で電氣的根管長測定に用いる根管洗浄液の影響を評価した。

【材料と方法】

作製した根管模型は、高さ 14.5 mm のブロックで、基底面から 1 mm 歯冠寄りに $\phi 0.15$ mm の根尖狭窄部があり、根管は 2% テーパーが付与されている (ホクシンエレクトロニクス)。基底面の開孔部は $\phi 0.2$ mm とした。根管模型に対して、#10 K ファイル (READYSTEEEL フレクソファイル, Dentsply Sirona) でネゴシエーションを行い、電氣的根管長測定器 (Propex IQ 根管長測定器, Dentsply Sirona, Switzerland) を用いて、根管洗浄液を満たした状態で作業長測定を行った。模型スタンド (ホクシンエレクトロニクス) のラバーコネクター内に 0.9% 生理食塩液を満たし、根管模型を植立した。模型スタンドと電氣的根管長測定器間に電流が流れる回路を確立し、電氣的根管長測定器に接続した #10 K ファイルを 3 種の根管洗浄液: ① 0.9% 生理食塩液 (以下 NaCl)、② 3% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (以下 NaClO, クロロシッド J, ウルトラデントジャパン)、③ 18% EDTA (ウルトラデント EDTA18%, ウルトラデントジャパン) のいずれかを満たした根管内に挿入した。ファイル先端がメーター上の作業長基準点に到達し、メーターが安定して作業長基準点を指示する位置でラバーストッパーを合わせた。ファイル先端からラバーストッパーまでの距離を測定値とした。一連の操作を各根管模型に対して 3 回ずつ行い、デジタルノギスを用いて測定値を計測した。計測結果は、統計処理ソフト (IBM SPSS Statistics 25, IBM) を用いて Steel-Dwass 検定で統計学的分析を行った。

【結果と考察】

各根管洗浄液における測定値は、0.9% NaCl (14.51 ± 0.04 mm) で有意に長かった ($P < 0.01$)。一方、3% NaClO (13.51 ± 0.08 mm) と 18% EDTA (13.58 ± 0.09 mm) 間では統計的有意差はみられず、また、ファイル先端が根尖狭窄部までの位置と同程度の値を示したことから、本研究で用いた電氣的根管長測定器の精度に大きな影響はなかった。

以上より、根尖狭窄部付き根管模型は、天然歯の根尖部形態を再現しており、3% NaClO または 18% EDTA との併用下で、根管形成における電氣的根管長測定のための研究に有用であることが示唆された。今後は、この模型を用いて、歯周組織に類似した根管模型植立条件の設定や、ハンドピースと電氣的根管長測定器を連動させた状態での根管形成などについて詳細な検討を進めていく予定である。

多機能型根管洗浄溶液による象牙質接着能に対する評価

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔統合医療学講座 歯髄生物学分野
○藤巻龍治, 鈴木二郎, 石井信之

Evaluation of Adhesion Ability by Multifunctional Type Root Canal Irrigants
Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○FUJIMAKI Ryuji, SUZUKI Jiro, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】

歯内療法における根管洗浄は、機械的に除去できない感染源を化学的に除去する重要な操作で、重要な治療ステップである。EDTA 製材は、根管内に残留した無機質の溶解作用を担い臨床頻用されている。EDT をアルカリ性に調製した多機能型洗浄溶液で洗浄した根管象牙質では、無機質脱灰作用、スミヤー層およびバイオフィルムの効果的除去を示すことを報告した。

本研究では多機能型洗浄溶液による根管象牙質表面の洗浄処理が、根管充填後の支台築造時に使用するレジンセメント接着性に及ぼす影響を解析した。

【材料および方法】

実験にはウシ下顎前歯を用いた。冷凍保存ウシ歯を解凍後、歯頸部で歯冠部と歯根部を低速精密切断機 (ISOMENT, BUEHLER) で切断分割し、流水洗浄後の歯根部を用いた。調整したウシ下顎前歯歯根の歯髄を抜去後、歯軸方向に歯根を2分割し、根管象牙質が上面となるように常温重合レジンに包埋した。耐水研磨紙 #600 を用いて表面が平面となるまで研磨を行い、象牙質表面に実験的にスミヤー層を付与し接着試験用試料とした。

実験 1. 根管象牙質表面における引張接着試験

接着試験用試料は溶液別に、多機能型洗浄溶液 (MRI 群)、スメアクリーン (SC 群)、未処置 (コントロール群) の3群に分類し、各溶液をマイクロブラシにて象牙質面に塗布し2分間処理した後、水洗、乾燥を行った。その後、各試料に接着面積を規定するため直径3mmの穴の開いた厚さ約60 μ mのメンディングテープ (3M) を貼付した。接着用レジンセメントにはパナビア V5 (クラレノリタケ) を用いて、業者指示通りにトゥースプライマーにて被着象牙質面を20秒間処理後、エアにて乾燥させ、セメントを直径5mmのステンレス製接着子に盛り、手指にて被着面に圧接し、その後1kgの荷重を垂直に5分間負荷した。負荷中に余剰セメントの除去および左右2方向から可視光線照射器にて各30秒間光照射し硬化させた。その後、直ちに37°C100%湿度環境中に24時間保管した。保管後、卓上型万能試験機 EZ Test (EZ-S500N 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード1.0mm/minにて引張接着試験を行った。統計学的解析は、One-way ANOVA および Bonferroni 法による多重比較検定を行った。

実験 2. 接着面に対する電顕的評価

引張接着試験後の試験片接着面に白金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡 (JCM-6000Plus NeoScope, JEOL)にて破断面の観察を行った。

【結果および考察】

引張接着試験の結果、MRI 群、コントロール群、SC 群の順に接着性が高い結果となり、SC 群と比較し MRI 群は有意に高い接着強さを示したが ($p < 0.05$)、コントロール群と比較したとき、MRI 群、SC 群では有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

また、MRI 群ではスメア層が除去され象牙細管が開口し接着性レジンセメントの割合が多く観察された。

多機能型洗浄溶液による根管洗浄後の象牙質表面は、支台築造時におけるレジンセメントの接着性を増強することが示された。

新たな音波チップの根管洗浄効果は超音波チップに匹敵する

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座
樋口直也、○白川 肇、藤田将典、中田和彦

A newly developed sonic tip stands comparison with ultrasonic tip in the effect of root canal cleaning.

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
HIGUCHI Naoya, ○SHIRAKAWA Hajime, FUJITA Masanori, NAKATA Kazuhiko

研究目的

根管象牙質の切削粉を除去するためには、超音波洗浄法の方がシリンジを用いた方法よりも効果的かつ効率的であることはよく知られている。超音波機器では主にステンレススチール (SS) 製チップが使用されており、そのチップが根管壁に接触すると過剰な切削が起こるリスクがある。昨年 (2019)、柔軟性のあるポリアミド製の根管洗浄チップ (EDDY®, VDW Dental, Germany) が開発された。本チップはエアスケーラーに装着し使用することで、根管壁を損傷することなく、根管の音波洗浄することが可能である。そして、その根管洗浄における有用性が報告されている。しかし、①比較対照である超音波機器の設定条件 (機器の種類、出力、チップの先端の位置、洗浄時間、注水の有無など) や②シリンジを用いる際の条件 (薬液の使用の有無、ニードルの種類、洗浄液量、洗浄時間など)、③使用する試料に付与された根管形態がそれぞれ異なり、各研究成果の比較は困難であることから、本チップの性能評価にはさらなるデータの蓄積が必要である。そこで、今回、私たちは本チップを用いた音波洗浄法と SS 製チップの超音波洗浄法について、実臨床で応用できる基本条件を設定し、根管象牙質の切削粉およびスマイヤ層の除去効果を検討した。

材料および方法

抜去したブタの下顎第一、第二臼歯を用い、歯の長さを 13mm に調整した。髄室開拓後、60 番まで根管拡大形成を行い、根尖孔を即時重合レジンで封鎖した。次いで根管洗浄は、以下の 3 群で行った。

グループ 1 (EDDY®を用いた音波洗浄) : 滅菌水を根管に注入後、20 秒間、-1mm までゆっくり上下に動かした。滅菌水を追加した後、同様の操作を繰り返し、計 3 回 (60 秒間) 音波洗浄した。

グループ 2 (超音波洗浄) : ピエゾン 250® (EMS, Switzerland) と、専用の松風 U ファイル® (#30) (松風、東京) を使用し、出力メモリを 3 に合わせ、作業長-1mm まで挿入し、注水下で 30 秒間超音波洗浄した。チップは根管壁に当たらないように保持した。

グループ 3 (シリンジ洗浄) : 30G のニードル (open-end) を作業長-1mm まで挿入し、滅菌水 5ml を 1 分間かけて注入し、根管洗浄した。

各条件で根管洗浄後、根管内バキュームで根管内を乾燥した。歯を歯軸に沿って半分に分割し、4%パラホルムアルデヒドと 5%グルタルアルデヒドの混合液で固定した。上昇エタノール系列で脱水後、t-ブチルアルコールに置換し、凍結乾燥を行った。歯頸部、根中央部、根尖部の 3 箇所を走査型電子顕微鏡下で組織学的観察を行い、根管象牙質の切削粉とスマイヤ層の除去性について肉眼的に評価した。

結果

根管象牙質の切削粉については、超音波および音波洗浄は根管のどの部位においてもシリンジ洗浄よりも除去できていた。また、超音波洗浄と EDDY®による音波洗浄の間に明らかな差は認められなかった。

一方、スマイヤ層については、今回の条件下では、いずれの方法でも完全に除去することはできなかった。なお、EDDY®による音波洗浄では、他の 2 つの洗浄法よりも象牙質細管が開口している部位が多く観察された。

考察および結論

新しい根管洗浄用チップ EDDY®は、今回の条件下で受動的超音波洗浄と同等以上の洗浄効果を示したことから、根管壁を損傷しない利点を考慮すると、非常に有用といえる。しかし、滅菌水との併用ではスマイヤ層を完全に除去できなかったため、薬液を用いた化学的清掃と併用することが必要であり、今後、最適な使用条件を検討する予定である。

根管切削補助材の Ni-Ti ファイル切削特性に対する効果

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 歯髄生物学分野

○鈴木二郎, 藤巻龍治, 石井信之

Effect of Root Canal Conditioner on Cutting Properties of Ni-Ti Files

Department of Oral Interdisciplinary Medicine Division of Pulp Biology Graduate School of Dentistry,
Kanagawa Dental University

○SUZUKI Jiro, FUJIMAKI Ryuji, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】

Ni-Ti ファイルは湾曲根管の拡大形成に有効な器具として臨床応用され、根管の湾曲に沿った拡大形成が可能で根尖部根管の偏位が少ないと報告されている。従来、切削工程のみで作製していた Ni-Ti ロータリーファイルの熱処理工程を変化させ、非切削ねじり工程にて作製することでファイルの疲労変化が視認できる等の改善がなされているが、根管形成時の潤滑作用によるファイル破折予防と根管内清掃効果を併せ持つ EDTA 系根管切削補助材の使用が推奨されている。本研究では、根管形成時の各種 EDTA 製材が切削応力に及ぼす効果について、応力に対応するエンドモーター電流値測定によりトルク値を算出するとともに、歪応力可視化によって解析することを目的とした。

【材料および方法】

供試根管模型は、40本の J type プラスチック製湾曲根管模型 (Dentsply Sirona) を4群に分け、EDTA 製材 Glyde (Dentsply Sirona)、EDTA アクアジェル (Pentron Japan) または RC-Prep (白水貿易) で満たし、対象群には精製水を使用した。その後 Ni-Ti ファイル (Dentsply Sirona) をメーカー指示に従い根管拡大形成を行った。

実験1: 根管形成時の切削応力に対応するモーター電流値測定

プラスチック製湾曲根管模型を術者が視認できない状態で #10 K ファイル (マニー) にて作業長を決定後、各々の切削補助材を併用した根管形成を行い、Apex より -5mm, -3mm, -1mm および Apex でのモーター電流値をデータロガー (midi LOGGER GL820, GRAPHTEC) にて測定、Proglider (Dentsply Sirona) 使用によるグライドパス時と ProTaper NEXT X1・X2 (Dentsply Sirona) ファイル使用による根管拡大時の抵抗変化よりトルク値を算出、また作業時間についても検証を行った。

実験2: 根管形成時応力の可視化

実験1と同様の条件で根管形成を行い、プラスチック製根管模型の応力陰影を偏向歪検査装置 (MRV330) にて撮影した。なお統計学的解析については、Non-repeated measures ANOVA および Bonferroni 法による多重比較を行い、有意水準 1% 未満で統計学的有意差が認められた。

【結果】 実験1

- ・各群とも根管形成の進捗に伴いトルク値の上昇が認められたが、X1 ファイルでは Apex に近接するに連れトルク値が増加したのに対し、X2 ファイルでは -1mm および Apex 部で同等の上昇傾向を示した。
- ・EDTA アクアジェル群では、根管湾曲部始点から Apex 部においてファイル潤滑によるトルク値低下を認めたが、統計学的有意差は認められなかった。

実験2

- ・対照群下での根管形成では、内側湾と外側湾間での不均一な応力陰影を認めたのに対し、EDTA 系根管切削補助材使用群では、ほぼ均等な陰影を示す症例が散見された。

【考察および結論】

根管形成時の切削応力を軽減するには、被切削物の延性およびすくい面の摩擦による影響が大きいことが報告されており、EDTA 製材の持つ無機質溶解作用による根管象牙質の軟化、高速低荷重での切削および潤滑効果を根尖部に作用させることが重要である。本研究結果より、根管形成時に EDTA 製材を根尖部に到達させることは、切削応力減少によるファイル保護作用に有用であることが示された。

静的/動的回転疲労試験による

連続回転および往復回転ニッケルチタン製ロータリーファイルの回転疲労耐性

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
○Myint Thu, 海老原新, 西条美紀, 牧圭一郎, 興地隆史

Cyclic Fatigue Resistance of Rotary and Reciprocating NiTi Instruments Subjected to Static and Dynamic Tests

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

○Myint Thu, EBIHARA Arata, NISHIJO Miki, MAKI Keiichiro, OKIJI Takashi

Introduction: Our previous study investigated the impact of pecking motion with three different speeds [low (10 mm/min), medium (50 mm/min) and high (100 mm/min)] on the canal centering ratio, vertical force and torque during root canal preparation, wherein the high speed induced the better centering ratio, larger upward and downward force, and clockwise torque than those of low and medium speed groups ⁽¹⁾. In the present study, we compared the static and dynamic cyclic fatigue resistance of rotary and reciprocating NiTi instruments using different speeds between axial ascending and descending movements.

Methods: ProTaper Gold (PTG, 25/.08), Hyflex EDM (EDM, 25/.08), Reciproc Blue (RPB, 25/.08) and WaveOne Gold (WOG, 25/.07) were included in the present study (n = 20, each). Each file system was equally divided into 2 groups with 10 files each for the static cyclic fatigue resistance (SCFR) and dynamic cyclic fatigue resistance (DCFR) tests. A stainless-steel artificial canal with 1.5 mm in internal diameter, 60-degree angle and 3 mm radius of curvature was used. The working length was set at 17.5 mm for the SCFR and 14.5 mm for the DCFR tests with 3 mm axial dynamic motion to reach 17.5 mm working length. The speeds were set at 100 mm/min for descending motion and 200 mm/min for ascending motion. The files were operated in accordance with the manufacturer's instructions. The number of cycles to fracture (NCF) was calculated by multiplying time to fracture and rotation per minute used for each file system. The fractured lengths (FL) were measured using a digital caliper. Two fractured instruments of each file system from both tests were collected for fractographic analysis with scanning electron microscopy.

Results: RPB and EDM showed the significantly highest NCF in the SCFR and DCFR tests, respectively. Significantly greater increases of NCF were detected in the DCFR test compared with the SCFR test for continuous rotary file systems, but not for reciprocation file systems. FL of PTG was the longest among all groups in the SCFR test, and showed significant differences compared with that of EDM and WOG. As opposed to the SCFR test, DCFR test exhibited no significant difference of FL among the tested file systems. Fractographic analysis showed typical features of cyclic fatigue fractures such as crack initiations and voids in all tested fractured files. Abrupt breakages were detected on EDM and RPB in the SCFR test. Crack propagations were established in WOG in the SCFR test and RPB in the DCFR test. Striations and abrasive marks were also observed in EDM and WOG in the SCFR test, respectively.

Discussion: In this study, the ascending speed was set faster than the descending speed. This is because, during clinical root canal preparation, the withdrawal speed of a file may be faster than the apically-directed speed due to the release of resistance. Non-significant differences between the SCFR and DCFR tests for reciprocation file systems may be because the reciprocating movement induced a close to sufficient amount of tensile stress release with limited additional stress release by the ascending and descending movements.

Conclusion: Within the limitation of the study, in contrast with the SCFR test, the DCFR test with different speeds for axial ascending and descending movements lengthen the fatigue life of the continuous rotary file systems, but not for reciprocation file systems.

References:

- 1) Maki K, Ebihara A, Kimura S, Nishijo M, Tokita D, Okiji T. Effect of Different Speeds of Up-and-down Motion on Canal Centering Ability and Vertical Force and Torque Generation of Nickel-titanium Rotary Instruments. J Endod 2019;45(1):68-72. e1.

取り下げ

ナチュラルオイルによる根管洗浄効果の検討

○東條紘樹¹、原口晃²、中山詩織¹、御手洗裕美²、祐田明香²、神谷治伸²、Fakatava Naati²、和田尚久²
¹九州大学歯学部、²九州大学病院 口腔総合診療科

Root canal irrigation effect by Natural Oil

○Hiroki Tojo¹, Akira Haraguchi², Shiori Nakayama¹, Hiromi Mitarai², Asuka Yuda²,
Harunobu Kamiya², Naati Fakatava², Naohisa Wada²
1 Faculty of Dental Science, Kyushu University
2 Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital, Kyushu University

【背景】

歯内治療における根管洗浄には従来次亜塩素酸ナトリウム、EDTA、過酸化水素水が使用されてきた。次亜塩素酸ナトリウムは強力な殺菌作用を持っている反面、歯周組織に対しては強い為害性を持っており、光刺激により分解され効果は減弱していくことが知られている。Natural Oilは天然成分由来の精油であり、今回使用したManuka Oil、Tea Tree Oilは抗菌性を有する一方で、組織に対しての為害性は低いことが知られているが、根管を想定して検討されたことはない。今回難治性根尖性歯周炎で頻繁に検出される *Enterococcus faecalis* を使用して、バイオフィルムに対してManuka Oil、Tea Tree Oilの洗浄、増殖抑制効果を検討し、既存試薬との非劣等性を検討した。

【材料及び方法】

E. faecalis ATCC29212を対数増殖期まで培養し、96-well plateに希釈分注し、2日間培養することでバイオフィルムモデルを作成した。*E. faecalis* バイオフィルムに対するManuka Oil、Tea Tree Oilの最小発育阻止濃度を検討した。バイオフィルムに対してManuka Oil (株式会社TNC)、Tea Tree Oil (Tea Tree Therapy)、アンチホルミン (次亜塩素酸ナトリウム、日本歯科薬品株式会社)、スメアクリーン (3% EDTA、日本歯科薬品株式会社)、コントロールとしてBHI、Jojoba Oilにより処理し、PBSで洗浄後、BHIを分注し増殖阻害実験を行った。剥離効果を検証するため増殖阻害実験同様処理し、PBSで洗浄後、1% CVにて染色しエタノール抽出後、595nmで吸光度を測定し残存バイオフィルム量を定量化した。PSプレート上に同様にバイオフィルムを形成させ、Oil、PBSで洗浄後SEMにより細菌の形態を観察した。

【結果及び考察】

E. faecalis のバイオフィルムに対して最小発育阻止濃度はManuka Oilで50%、Tea Tree Oilで100%の濃度で増殖を阻害した。増殖阻害実験ではコントロール、スメアクリーンは影響を受けなかったが、Manuka Oil、Tea Tree Oilはアンチホルミンと同程度に増殖は阻害した。SEMによる観察ではアンチホルミンで処理したサンプルはプレート上からバイオフィルムは剥離されていたが、Manuka OilおよびTee tree Oilでは、バイオフィルムの剥離は認められなかったが、菌体外膜の損傷が認められた。

Natural Oilは菌体の付着を阻害する効果は認められなかったが、殺菌効果を示した。これらのことより、Natural Oilは根管内の洗浄剤として補助的に有効であることが示唆された。根管は無細胞のため歯根膜細胞等に対する影響は検討していないが、今後検討していく予定である。また、Oilの構成成分の検討をはじめ、除去方法、象牙細管内に対する浸透度、象牙質脱灰性についても検証し、既存の試薬との非劣性について検討を行っていく予定である。

高周波電流によるファイル未到達根管内容物の焼灼

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

○内沢英作、熊谷広道、百海 啓、菅谷 勉

Cauterization of substance in inaccessible root canal using high frequency current

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,

Hokkaido University Faculty of Dental Medicine

○Eisaku UCHIZAWA, Hiromichi KUMAGAI, Kei DOKAI, Tsutomu SUGAYA

【研究目的】

根尖病変があり、レヅジなどによりファイルが根尖孔を穿通できない場合、機械的清掃が困難なため根尖切除術や拔牙が必要となることが多い。しかし、ファイルが根尖孔まで到達できない根管でも、高周波電流の通電が可能であれば、未到達部分でジュール熱が発生して、根管壁が焼灼され、象牙質が溶融可能であることを第 151 回保存学会で報告した。しかし実際の臨床では、ファイルが穿通できない根管には細菌やシーラー、削片など異物が存在することがあり、これらによって電気抵抗が大きくなって通電が困難になり、焼灼できない可能性がある。そこで本研究は、ファイルが到達しない根管に異物を充填して通電し、除去や焼灼が可能であるかを検討した。

【材料および方法】

冷凍保存したウシ抜去歯の歯根象牙質より厚さ約 1mm の象牙質ブロックを作製し、#2000 の耐水研磨紙で表面を研磨した。エンジンリーマー#10 にて象牙質ブロックを穿通し直径約 0.10 mm の模擬根管を作製後、Plank-Rychlo 溶液で 5 分間脱灰した。脱灰した象牙質ブロック周囲に高さ約 3mm の隔壁を作製し、模擬根管にはブドウ糖のペーストを充填した。象牙質ブロック下面是生理食塩液に浸漬、上面の隔壁内には 10%NaClO を約 1 mm の高さまで満たした。電動電極は #50K ファイルを用い、模擬根管から 1mm 以上離れた象牙質ブロック上面にファイルを接触させ、根管長測定装置を内蔵した高周波発生装置 (モリタ製作所) を用いて、周波数 500kHz、Duty70%、電圧は 225V、通電時間 1 秒の条件で高周波電流を通電した。

通電時の模擬根管における突沸や放電の有無、通電前後の根管長測定器の指示値、通電回数を記録し、通電後象牙質ブロックを模擬根管に対して垂直に切断して根管を露出させ、実体顕微鏡および SEM で根管内容物の残存状態や根管壁の焼灼状態を観察した。

【結果】

通電前は模擬根管のインピーダンスが大きく、根管長測定器の指示値はほとんど反応しない状態であっても、通電を繰り返すことによって指示値が低下したり、突沸や放電がみられた。しかし、その通電回数に特定の傾向はみられなかった。根管長測定器の指示値の低下や、模擬根管での突沸や放電がみられた時点では、実体顕微鏡観察において模擬根管の根管壁に大きな変色はみられず、SEM ではブドウ糖ペーストの残存や根管壁の脱灰層が多く観察された。しかし、通電回数をさらに増加すると、模擬根管壁が茶褐色や黒色に変色し、ブドウ糖ペーストの残存が減少した。また、根管壁の脱灰層が消失して象牙細管が露出したり、模擬根管壁の象牙質面が溶岩上に溶融凝固したりした。

これらの結果から、ファイルが到達しない根管のブドウ糖ペーストは、高周波電流の通電を繰り返すことで徐々に焼灼され、そこに NaClO が流入して導電性が向上し、電流量が増加することで発熱、突沸してブドウ糖ペーストがさらに除去されるとともに、電流量が大きく増加することで放電が生じて、ブドウ糖ペーストや根管壁の脱灰層が焼灼されたり象牙質面の溶融が生じたのではないかと考えられた。

【結論】

高周波電流の繰り返し通電により、ファイルが到達しない根管に充填したブドウ糖ペーストや根管壁の脱灰層の消失、根管壁の溶融が可能であった。

歯科診療時における診療用実体顕微鏡の光源の違いによる視覚機能への影響

神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔統合医療学講座歯髄生物学分野

○武藤徳子、石井信之

Influence on visual function by a difference of light source of dental operating microscope.

Department of Oral Interdisciplinary Medicine, Division of Pulp Biology,

Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○Noriko MUTOH, Nobuyuki TANI-ISHII

研究目的 パーソナルコンピューター(PC)やスマートフォン(スマホ)使用者は、「IT(Information Technology)眼症、VDT(Visual Display Terminals)症候群」として眼精疲労を生じることが従来から知られており、歯科用実体顕微鏡による長時間の診療においても、限局した視野内で精密な作業を30分以上継続するため、生涯を通じての診療を継続する際の視覚機能に及ぼす影響が懸念される。歯科用実体顕微鏡で使用する光源は、LED(Light emitting diode:発光ダイオード)やQTH(Quartz Tungsten Halogen:石英タングステンハロゲン;以下ハロゲン)であり、それぞれ青色光波長(ブルーライト)を含んでいる。歯科診療時の歯科用実体顕微鏡による視覚機能への影響は、これまで明らかにされておらず、光源としてハロゲンとLED光源で視覚機能に及ぼす影響について検討した。

材料および方法 予備実験として、矯正視力1.0以上で、眼科医によって屈折異常以外の器質的眼疾患を有しないと判定された23歳~35歳(平均26.83歳)の神奈川歯科大学学生(3名)、研修医(2名)、その他(1名)、男性4名、女性2名の計6名、本実験では予備実験の条件に等価球面値±4D以下、乱視1D以下を加えた、25歳~30歳(平均27.4歳)の神奈川歯科大学学生(4名)、研修医(2名)、その他(3名)、男性5名、女性4名の計9名を対象者とした。(神奈川歯科大学研究倫理審査委員会承認番号(383番))。全ての実験は、全員に適正矯正を行い、歯科用実体顕微鏡として可搬型手術用顕微鏡にLED光源、ハロゲン光源をそれぞれを設置したものを1台ずつ使用した。予備実験では、歯科治療としての作業時間を30分と設定し、作業前後で疲労度の目安として、自覚症状アンケート、単純計算、握力測定、また眼科的検査は、裸眼、矯正視力、屈折値、非接触型眼圧計(NCT)、調節機能検査(A/A)、瞳孔径、限界フリッカ値(暗順応なし赤、黄で測定)、コントラスト感度(MTF)、BUT(break up time:涙液破壊時間)、開眼時間、角膜上皮スコアを行った。予備実験において調節緊張者と弛緩不良者が存在したため、対象者を増加させて調節機能検査において本実験を行った。本実験では、予備実験と同様の機器、方法を用い、作業前後での調節機能検査、自覚症状の評価を行った。

成績 歯科用実体顕微鏡下の作業前後における眼科検査の比較において、疲労度、また調節検査を含む眼科検査結果は、LEDとハロゲンの両光源ともに作業前後、また光源間で有意差は認められなかったことからLEDは顕微鏡光源としてこれまで使用してきたハロゲン光源と同等に使用できうと思われる。しかしながら、作業後BUTが短縮し、ドライアイ傾向を認め、またLED光源では羞明を訴える傾向が認められた。

考察 それぞれの光源における色温度の違いがあるため、LED光源は、色温度が高いことによって照度が低くても明るく見える。LEDでは顕微鏡使用時にそのまぶしさにより目の不快感を認めるため、顕微鏡使用時に反射率の高いエナメル質などを観察するには光量を落としたり、まぶしさの原因の一つであるブルーライトを、フィルターを用いてカットしたりするなどの対策が必要であることが示唆された。

結論 歯科用実体顕微鏡に使用されるハロゲン光源とLED光源は術者の眼精疲労への影響は同程度で視覚機能においても優位な変化は認められなかったため、両光源は同等に使用可能であると考えられた。

Sudachitin はヒト歯根膜由来細胞の IL-1 β 誘導炎症性メディエーター産生を抑制する

¹⁾徳島大学大学院医歯薬学研究所 歯科保存学分野 ²⁾徳島大学大学院医歯薬学研究所 口腔保健支援学分野
○細川義隆¹⁾、細川育子¹⁾、尾崎和美²⁾

The effect of Sudachitin on inflammatory mediator production in IL-1 β -stimulated human periodontal ligament cells

¹⁾Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School, ²⁾Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School
○Yoshitaka Hosokawa¹⁾, Ikuko Hosokawa¹⁾, Kazumi Ozaki²⁾

【研究目的】

歯周炎は歯周病関連細菌により惹起される慢性炎症性疾患であり、細菌に対する免疫応答が歯槽骨吸収をはじめとする歯周組織破壊に関与している事が報告されている。特に、歯周炎病変局所で産生されるサイトカインやMMPなどの炎症性メディエーターが歯周組織破壊の中心的役割を担っている事が示唆されている。

sudachitinはスタチ果皮に含まれる生理活性物質であり、我々は近年TNF- α が誘導するヒト歯根膜由来細胞(HPDLC)のMMP産生をsudachitinが抑制することを報告した(Inflammation, 42, 1456-1462, 2019)。しかしながら他の炎症性サイトカイン刺激やMMP以外の炎症性メディエーター産生にsudachitinが影響するか否かに関しては不明であった。

本研究では、炎症性サイトカインの一つであるIL-1 β がHPDLCに誘導するMMPおよびサイトカイン産生にsudachitinが影響を与えるか検討を行った。サイトカインとして炎症性骨吸収に関与するIL-6、好中球浸潤に関与するIL-8、マクロファージ浸潤に関与するCCL2、ならびにTh1細胞浸潤に関与するCXCL10産生に着目した。また、sudachitinが炎症性メディエーター産生に関与しているシグナル伝達経路に与える影響に関して明らかにする事も目的とし、特にNF- κ B, MAPKs (p38 MAPK, ERK, JNK) およびAktの活性化に及ぼす影響に着目し実験を行った。

【材料および方法】

HPDLCはLonza社より購入し、10%FBSを含むDMEM培地にて培養し実験に用いた。HPDLCをsudachitin存在下あるいは非存在下にて24時間IL-1 β 刺激を行い、IL-6, IL-8, CCL2, CXCL10, MMP-1, MMP-3, TIMP-1産生をELISA法にて、細胞内シグナル伝達 (IKK- α/β , NF- κ B p65, p38 MAPK, ERK, JNK, Akt) の活性化をwestern blot法にて解析を行った。

【成績】

sudachitinはIL-1 β が誘導したHPDLCのIL-6, IL-8, CCL2, CCL20, MMP-1およびMMP-3産生を濃度依存的に抑制した。また、sudachitinはIL-1 β が誘導したIKK- α/β , NF- κ B p65およびAktのリン酸化を減弱したが、p38 MAPK, ERKならびにJNKのリン酸化には影響を与えなかった。

【考察および結論】

今回の結果より、sudachitinはHPDLCのNF- κ BおよびAktのシグナル伝達経路を阻害する事により、IL-1 β が誘導する炎症性メディエーター産生を抑制できる事が明らかとなった。この事はsudachitinを歯周炎病変局所に投与する事によりHPDLCの炎症性メディエーター産生を抑制する事で歯周炎病変局所での過剰な炎症反応を抑制できる可能性が示唆された。

Carnosic Acid はヒト歯根膜由来細胞の IL-1 β 誘導炎症性サイトカイン産生を抑制する

¹⁾徳島大学大学院医歯薬学研究所 歯科保存学分野 ²⁾徳島大学大学院医歯薬学研究所 口腔保健支援学分野
○細川育子¹⁾、細川義隆¹⁾、尾崎和美²⁾

The effect of Carnosic Acid on inflammatory cytokine production in IL-1 β -stimulated human periodontal ligament cells

¹⁾Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School, ²⁾Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School
○Ikuko Hosokawa¹⁾, Yoshitaka Hosokawa¹⁾, Kazumi Ozaki²⁾

【研究目的】

歯周炎は歯周病関連細菌により惹起される慢性炎症性疾患であり、過剰な免疫応答が歯槽骨吸収をはじめとする歯周組織破壊に関与していることが明らかとなっている。特に、歯周炎病変局所で産生される過剰な炎症性サイトカインが歯周組織破壊の中心的役割を担っていることが示唆されている。

Carnosic acidはローズマリーやセージに含まれる生理活性物質であり、我々はIL-27が誘導するヒト口腔上皮由来細胞 (TR146) のCXCR3リガンド産生をCarnosic Acidが抑制することを近年報告した(*Inflammation*, 42, 1311-1316, 2019)。しかしながら歯周組織構成細胞の一つであるヒト歯根膜由来細胞 (HPDLC) に対するCarnosic Acidの影響に関しては不明であった。

本研究では、炎症性サイトカインの一つであるIL-1 β がHPDLCに誘導するサイトカイン産生に及ぼすCarnosic Acidの影響に関して検討を行った。誘導される炎症性サイトカインとして骨吸収に関与するIL-6、Th17細胞浸潤に関与するCCL20、ならびにTh1細胞浸潤に関与するCXCL10産生に着目した。また、Carnosic Acidが炎症性サイトカイン産生に関与しているシグナル伝達経路に与える影響に関して明らかにすることも目的とし、特にNF- κ BおよびMAPKs (p38 MAPK, ERK, JNK) の活性化に及ぼす影響について実験を行った。

【材料および方法】

HPDLCはLonza社より購入し、10%FBSを含むDMEM培地にて培養し実験に用いた。HPDLCをCarnosic AcidまたはNF- κ B阻害剤 (SC514) 存在下あるいは非存在下にて24時間IL-1 β 刺激を行い、IL-6, CCL20ならびにCXCL10産生をELISA法にて、細胞内シグナル伝達物質 (IKK- α/β , NF- κ B p65, I κ B- α , p38 MAPK, ERK, JNK) の活性化をwestern blot法にて解析を行った。

【成績】

Carnosic AcidはIL-1 β が誘導したHPDLCのIL-6, CCL20およびCXCL10産生を濃度依存的に抑制した。また、Carnosic AcidはIL-1 β が誘導したIKK- α/β , NF- κ B p65およびI κ B- α のリン酸化を抑制したが、p38 MAPK, ERKならびにJNKのリン酸化には影響を与えなかった。さらに、NF- κ B阻害剤はIL-1 β が誘導したIL-6, CCL20, CXCL10産生を有意に抑制した。

【考察および結論】

今回の結果より、Carnosic AcidはHPDLCのNF- κ Bシグナル伝達経路を阻害することにより、IL-1 β が誘導する炎症性サイトカイン産生を抑制できることが明らかとなった。このことは歯周炎病変局所へのCarnosic Acidの投与によりHPDLCの炎症性サイトカイン産生が抑制され、歯周炎病変局所での過剰な炎症反応を抑制できる可能性が示唆された。

ペプチドグリカンおよびリポ多糖投与マウス歯槽骨面上の破骨細胞形成における IL-10 の役割

¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周歯内治療学分野、²福岡歯科大学口腔医療センター
○尾崎幸生¹、山下恭徳¹、前めぐみ¹、大平真之¹、Ziauddin SM¹、Alam IM¹、樋口賀奈子¹、金子高士²、吉村篤利¹

The role of IL-10 in osteoclast formation on alveolar bone surface in mouse injected with peptidoglycan and/or lipopolysaccharide

¹Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences,
²Center for Oral Disease, Fukuoka Dental College

○Yukio Ozaki¹, Yasunori Yamashita¹, Megumi Mae¹, Masayuki Oohira¹, Ziauddin SM¹, Alam IM¹, Kanako Higuchi¹,
Takashi Kaneko², Atsutoshi Yoshimura¹

【目的】

歯周炎における炎症の主要な原因はプラーク中の細菌であり、菌体に含まれるペプチドグリカン(PGN)は Toll Like Receptor (TLR)2 を介して、リポ多糖体 (LPS)は TLR4 を介して自然免疫系を活性化する。我々は、PGN と LPS をマウス歯肉に投与した場合、それぞれ単独で歯槽骨前縁に破骨細胞を誘導するが、これらを同時に投与した場合、破骨細胞形成は相乗的に促進され、骨吸収も増加することを報告した。これらの現象に、炎症性サイトカインである TNF- α や IL-17 が促進的に関与することも報告してきた。これに対し、抗炎症性サイトカイン IL-10 は、炎症反応を抑制し、破骨細胞の分化も抑制すると言われているが、種々の菌体成分によって刺激された歯周組織において IL-10 がどのように関与しているかは明らかでない。そこで、PGN と LPS を単独または同時に投与したマウス歯肉における IL-10 の発現と、PGN および LPS で刺激された破骨細胞前駆細胞の破骨細胞への分化における IL-10 の影響を検討することにより、これらの菌体成分による歯周組織の炎症反応および歯槽骨吸収における IL-10 の役割について検討した。

【材料および方法】

本実験は長崎大学動物倫理委員会の承認を得て行われた (承認番号: 1602181284)。8 週齢の雄性マウスの下顎第一臼歯近心歯肉に、*Staphylococcus aureus* 由来の PGN および *Escherichia coli* 由来の LPS を、それぞれ単独または同時に 1 回につき 5 μ g ずつ 13 回隔日投与した。対照のマウスには PBS を同頻度で投与した。最終投与から 1 日後に下顎を摘出し、固定・脱灰・パラフィン包埋して 4 μ m の組織切片を作製し、HE 染色、TRAP 染色および抗 IL-10 抗体を用いた免疫染色を行った。その後、マイクロメーターを用いて歯槽骨前縁の根尖相当部から歯冠側方向へ骨に沿って縦 750 μ m \times 横 500 μ m の歯槽骨に接する歯肉領域における全細胞数および IL-10 陽性細胞数を測定した。また、TRAP 陽性細胞が骨吸収窩に接している活性骨吸収面数も測定した。次に、マウス大腿骨および腓骨から採取した骨髄マクロファージを M-CSF および RANKL で前処理し、マウス IL-10 存在下および非存在下で、1 μ g/ml の PGN および 20 ng/ml の LPS 単独もしくはは同時刺激し、形成される TRAP 陽性多核細胞を破骨細胞として測定した。

【結果】

対照の PBS 投与群では弱い炎症性細胞浸潤のみみられたものの破骨細胞および骨吸収はほとんど観察されず、IL-10 陽性細胞もほぼ検出されなかった。実験群では、炎症性細胞の浸潤が PGN+LPS 投与群>LPS 投与群>PGN 投与群の順で認められ、活性骨吸収面は、PGN+LPS 投与群>LPS 投与群 \approx PGN 投与群の順であった。一方、IL-10 陽性細胞率は、PGN+LPS 投与群>LPS 投与群>PGN 投与群の順であった。また、PGN および LPS 単独もしくはは同時存在下でマウス骨髄マクロファージから誘導される破骨細胞数は、どの群においても IL-10 の濃度依存的に減少した。

【考察】

本研究において、炎症性細胞浸潤が PGN 投与群よりも LPS 投与群で多いのに対し、活性骨吸収面は PGN 投与群と LPS 投与群でほぼ同程度であった。IL-10 の発現は PGN 投与群よりも LPS 投与群で多く、骨髄マクロファージから誘導される破骨細胞はどの群においても IL-10 によって抑制されたことから、LPS 投与群においては IL-10 による破骨細胞の形成抑制が PGN 投与群よりもより強く働いていたことが示唆された。

また、文献的に *in vitro* において IL-10 は破骨細胞形成早期の TRAP 陽性化の段階を抑えることが報告されているが、今回の実験では PGN および LPS 刺激後の多核化の段階も抑制することが明らかにされた。

β-クリプトキサンチンが骨代謝制御機構に与える影響

¹⁾京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学

²⁾京都中部総合医療センター 歯科口腔外科

³⁾康生会 北山武田病院 歯科口腔外科

⁴⁾宇治徳洲会病院 歯科口腔外科

○佐藤良樹¹⁾, 大迫文重¹⁾, 宮本奈生¹⁾, 中井 敬¹⁾, 雨宮 傑^{1, 2)},
坂下敦宏^{1, 3)}, 中村 亨^{1, 4)}, 山本俊郎¹⁾, 金村成智¹⁾

Effect of β-cryptoxanthin on bone metabolic regulation

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

²⁾Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kyoto Chubu Medical Center

³⁾Department of Dentistry, Kouseikai Takeda Kitayama Hospital

⁴⁾Department of Oral Surgery Dentistry, Uji Tokushukai Hospital

○Sato Yoshiki¹⁾, Fumishige Oseko¹⁾, Nao Miyamoto¹⁾, Kei Nakai¹⁾, Takeshi Amemiya^{1, 2)},
Nobuhiro Sakashita^{1, 3)}, Toru Nakamura^{1, 4)}, Toshiro Yamamoto¹⁾, Kanamura Narisato¹⁾

【研究目的】

歯周病や骨粗鬆症は、破骨細胞と骨芽細胞による連関した制御システムのバランスに破綻が生じることが原因でおきる疾患である。骨代謝制御機構において、間葉系幹細胞由来の骨芽細胞と血球系細胞由来の破骨細胞は、全く起源の異なる細胞で、骨吸収量と骨形成量をカップリングすることにより骨量を保っている。我が国が迎えている超高齢化社会において、骨吸収と骨形成の共役（カップリング機構）の不良が原因で骨が脆弱になる高齢者が多くなると考えられる。我々は、以前の研究で天然由来の食物化合物であるβ-クリプトキサンチン（以下、β-cry）が破骨細胞分化因子であるRANKLの発現を抑制することを報告した。β-cryは、温州みかんなどの柑橘類に多く含有され、さらに無味無臭であるため、食品に添加が可能で、サプリメント、機能性食品への応用が可能である。そこで、β-cryが骨代謝制御機構に与える影響が明らかとなれば、骨代謝性疾患の新たな予防になり得ると考えた。本研究の目的は*in vitro*の系において、β-cryが骨代謝制御機構に与える影響を明らかにすることである。

【材料および方法】

マウス間葉系幹細胞（KUSA-A1）およびマウス骨芽細胞様細胞（MC3T3-E1）をDMEM培地、骨分化誘導培地、β-cry添加骨分化誘導培地で培養し、alizarin red S染色、免疫蛍光化学染色およびQT-Realtime PCRを実施、石灰化基質産生能、遺伝子発現の評価を行った。また、マウスマクロファージ（RAW264.7）を播種し、RPMI培地、sRANKL添加破骨細胞分化誘導培地、sRANKL添加破骨細胞分化誘導培地にβ-cryを添加したもので培養し、TRAP染色およびActin染色を行い、ダブルポジティブを示した細胞を示し、破骨細胞数を定量比較、検討を加えた。

【結果】

マウス間葉系幹細胞（KUSA-A1）およびマウス骨芽細胞（MC3T3E-1）はDMEM培地において骨分化を認めなかったのに対して、骨分化誘導培地により骨分化をalizarin red S染色にて認めた。さらにβ-cryを添加した群は濃度依存的により強い石灰化物基質産生および骨分化マーカーの発現を認めた。また、マウスマクロファージ（RAW264.7）はRPMI培地にて破骨細胞分化を認めなかったが、sRANKL添加破骨細胞分化誘導培地では破骨細胞分化をTRAP染色にて認め、Actin染色を加えることで破骨細胞特有のActin ringが検出された。ダブルポジティブを示した細胞をセルカウントしたところ、破骨細胞数の現象は認めたものの、有意差は認めなかった。また、β-cry添加による破骨細胞の割合に変化は認められなかった。

【考察および結論】

マウス間葉系幹細胞（KUSA-A1）およびマウス骨芽細胞（MC3T3E-1）は、β-cryによって濃度依存的に、強い骨形成を示すため、β-cryは骨芽細胞を活性化する効果があると考えられる。また、マウスマクロファージ（RAW264.7）はβ-cryにより濃度依存的に分化破骨細胞数は減少するものの、割合は減少しなかった。今回の結果から、β-cryは骨代謝制御機構の骨形成作用を活性化する可能性がある。

Transgelin は、Integrin を介した細胞外基質への接着に関与する

九州大学病院 口腔総合診療科¹⁾、九州大学大学院 歯学府 総合歯科学講座²⁾、
九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存研究分野³⁾
○御手洗裕美¹、祐田明香¹、Naati Fakatava²、長谷川大学³、前田英史³、和田尚久¹

Transgelin is involved in adhesion to Extracellular Matrix through Integrin

Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital¹⁾,
Division of Interdisciplinary Dentistry, Graduate School of Dental Science, Kyushu University²⁾,
Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University³⁾
○Hiromi Mitarai¹, Asuka Yuda¹, Naati Fakatava², Daigaku Hasegawa³, Hidefumi Maeda³, Naohisa Wada¹

【緒言】

歯根膜組織は、線維芽細胞や間葉系幹細胞を含む細胞と細胞外基質、結合組織で構成された緊密な組織であり、特に歯根膜中の細胞は、細胞外ドメインである接着分子インテグリンを介して細胞外基質と接着し、歯根膜組織の構成のみならず、内部の細胞骨格関連因子と関連して細胞内シグナルの活性化や、遺伝子発現変化を誘導すると考えられている。インテグリンと細胞外基質の結合の調節は、細胞分化や遊走などの細胞表現型の変化を引き起こすことが報告されている (Discher, D.E et al. Science 2009) ことから、歯根膜組織の恒常性維持に関与することが考えられる。今回我々は、細胞骨格骨格関連因子 transgelin (TAGLN) に着目した。我々は、過去に TGF- β シグナル経路を介したヒト歯根膜細胞の増殖に、transgelin が関わっていることを報告した (Mitarai et al. 2017)。近年 transgelin が、胚が胎盤に接着する時に重要な因子であることが報告された (Xiaoling Liang et al. FASB J 2019) ことから、今回、ヒト歯根膜細胞における transgelin の細胞外基質との接着への関連について検討することとした。

【材料・方法】

矯正治療を目的に本院を受診し、本研究に同意を得られた患者の抜去歯より歯根膜組織を採取し、10% Fetal Bovine Serum 含有の α -MEM にて 4~7 継代培養したヒト歯根膜細胞 (HPDLC) を用いた。また、当大学の歯内治療科にて樹立したヒト不死化歯根膜細胞 (Fujii et al. 2006) から、限外希釈法により作製した約 80 種類の細胞株の中から歯根膜関連因子 (Periostin, α -SMA, Fibrillin 等) を強く発現するヒト歯根膜細胞株 (2-33 細胞株) を各種解析に用いた。

- (1) HPDLC を 35mm dish に播種し、2 時間後の transgelin の発現を、抗 transgelin 抗体を用いた免疫蛍光染色で解析した。
- (2) transgelin を siRNA によりノックダウンした (si TAGLN) HPDLC を用いて、transgelin がこれらの細胞の Integrin 発現に及ぼす影響について、定量的 RT-PCR 法を用いて解析を行った。
- (3) Cellmatrix Type I-P (Collagen) (新田ゼラチン) ならびに Fibronectin (Corning) を用いてコーティングした 96well plate に、siTAGLN を導入したヒト歯根膜細胞株 2-33 を播種し、3 時間後に接着した細胞をクリスタルバイオレットで染色後、590nm における吸光度を測定した。なお本研究は九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会 (番号: 30-167) ならびに九州大学遺伝子組み換え実験安全委員会 (番号: 27-76) の承認を得て実施された。

【結果】

- (1) 抗 Transgelin 抗体を用いて、HPDLC に対し免疫蛍光染色を行ったところ、細胞が接着する部分に transgelin の強発現が認められた。
- (2) siTAGLN を導入した HPDLCs において、Integrin $\beta 1$ ならびに $\beta 3$ の遺伝子発現が有意に減少した。
- (3) siTAGLN を導入した 2-33 を用いて細胞接着実験を行ったところ、Fibronectin コーティングした plate において、siTAGLN を導入した 2-33 の細胞接着が有意に減少した。しかしながら、Cellmatrix Type I-P でコーティングした plate においては、細胞数の有意な減少を認めなかった。

【考察】

本研究の結果から、transgelin はインテグリンを介した細胞外基質、特に Fibronectin との接着に関与している可能性が示唆された。しかしながら、collagen との接着には関与しない可能性が考えられた。

【結論】

HPDLC において、transgelin は細胞接着時に発現した。HPDLC の transgelin 発現を抑制すると Integrin $\beta 1\beta 3$ の発現が減少し、さらに Fibronectin に対する細胞接着が抑制された。

High Mobility Group Box 1 が抜歯窩治癒過程の間葉系幹細胞の遊走に及ぼす影響

¹⁾岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野

²⁾岡山大学病院 歯周科

○京嶌里紗¹⁾, 井手口英隆¹⁾, 山城圭介²⁾, 平井杏奈¹⁾, 青柳浩明¹⁾, 山本直史¹⁾, 高柴正悟¹⁾

Effect of HMGB1 on MSC Migration during Healing Process in Tooth Extraction Socket

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

²⁾Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital

○Risa Kyoshima¹⁾, Hidetaka Ideguchi¹⁾, Keisuke Yamashiro²⁾, Anna Hirai¹⁾, Hiroaki Aoyagi¹⁾, Tadashi Yamamoto¹⁾, Shogo Takashiba¹⁾

【目的】

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は、組織の損傷などによって細胞外へ放出されて炎症メディエーターとして機能するユニークな性質を持った核内タンパク質である。我々は、HMGB1 が抜歯窩組織における間葉系幹細胞 (MSC) の局在に影響を及ぼすことで創傷治癒を促進することを、すでに報告している (Hirai, 第 62 回秋季歯周病学会)。また近年、MSC とマクロファージ (M ϕ) は相互に機能調節しており、MSC を遊走させるケモカインである CCL2 がその調整に関与しているという報告がある。本研究では、抜歯窩治癒過程における M ϕ , CCL2, そして MSC の関係を明らかにすることを目的に、マウスの抜歯モデルで HMGB1 中和抗体を投与して 3 者の変化を観察した (承認番号第: OKU-2019383)。

【材料と方法】

1. 抗体とマウス: 抗ラット HMGB1 中和抗体と対照抗体 (本学薬理学分野の西堀教授から供与) を、上顎左側第二臼歯を抜歯した C57BL/6J 雄性マウス (9 週齢) に、抜歯時とその後隔日に腹腔内へ投与した (いずれかを 2 mg/匹, 各群 6 匹)。抜歯後 5 日後に、腹腔 M ϕ と抜歯窩周囲の歯周組織を回収した。なお、これら抗体を未投与の未抜歯マウス (3 匹) と、抗体は未投与だが化学物質である CCL2 阻害剤 (100 μ g/匹) を口蓋側歯肉に注入した抜歯マウス (3 匹) も、設定した。
2. 抗体未投与・未抜歯マウスの腹腔内 M ϕ の分化誘導: 得た腹腔内 M ϕ の培養系に rmGM-CSF (最終 20 ng/mL) を、あるいは rhIL-4 と rhIL-13 (ともに最終 20 ng/mL) を添加して、それぞれ M1 M ϕ と M2 M ϕ を誘導し、フローサイトメトリーで確認した。その培養系に *E. coli* lipopolysaccharide (LPS: 最終 10 ng/mL) を添加して CCL の分泌量を ELISA によって測定した。
3. 抗体投与・抜歯マウスの腹腔内と歯周組織内の M ϕ フェノタイプ: フローサイトメトリーで両組織の M ϕ のフェノタイプを調べた。そして両組織内で CCL2 の発現を、定量 RT-PCR によって mRNA レベルで、二重免疫蛍光染色によってタンパク質レベルで調べた。さらに、CCL2 を発現する M ϕ フェノタイプをフローサイトメトリーで調べた。
4. 歯周組織内の MSC 数の定量解析: 抜歯窩周囲の歯周組織から得た細胞から、フローサイトメトリーによって CD45⁻CD31⁻CD14⁺CD44⁺CD140a⁺細胞数を定量した。
5. 統計解析: one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test を用いた。

【結果】

1. M ϕ フェノタイプと CCL2 の関係: 抗体未投与・未抜歯マウスの腹腔内 M ϕ から分化誘導された M1 M ϕ は、M2 M ϕ と比較して、LPS 誘導性の CCL2 分泌量が多かった ($p < 0.05$)。
2. HMGB1 中和抗体が M ϕ フェノタイプと CCL2 産生に及ぼす影響: HMGB1 中和抗体投与群では、対照抗体群と比較して、腹腔内 M ϕ の M1 フェノタイプの割合が減少していた ($p < 0.05$)。そして、抜歯窩周囲組織中の M ϕ でも M1 フェノタイプの割合が減少している傾向がみられた。さらに、CCL2 の mRNA 発現とタンパク質産生、および CCL2 を発現する M1 フェノタイプの割合が減少していた ($p < 0.05$)。
3. CCL2 inhibitor が抜歯窩周囲組織の MSC 数に及ぼす影響: HMGB1 中和抗体投与群と CCL2 inhibitor 投与群では、対照抗体投与群と比較して、抜歯窩周囲組織における MSC の数が減少していた ($p < 0.05$)。

【考察】

本研究の結果から、HMGB1 は M ϕ の M1 フェノタイプへの分化を亢進し、抜歯窩周囲組織の M ϕ が産生する CCL2 の産生を増強していることが示唆された。その結果として、CCL2 誘導性の MSC 数を増加させると考えられる。

【結論】

HMGB1 は、M ϕ の M1 フェノタイプを増加させて CCL2 の産生を増強し、抜歯窩組織中の MSC 数を増加させ、抜歯窩の創傷治癒を促進すると考えられる。

インテグリン $\alpha 3$ の選択的阻害による微小環境の構築と歯槽骨再生

¹⁾岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野

²⁾岡山大学病院 歯周科

○森彩乃¹⁾, 山本直史¹⁾, 河村麻理²⁾, 井手口英隆¹⁾, 青柳浩明²⁾, 中村心²⁾,
岡本憲太郎¹⁾, 平井杏奈¹⁾, 山城圭介²⁾, 大森一弘²⁾, 高柴正悟¹⁾

Construction of Periodontal Microenvironment and Alveolar Bone Regeneration Mediated by Integrin $\alpha 3$ Blocking in Rodent Bone Defect Model

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

²⁾Department of Periodontics & Endodontics, Okayama University Hospital

○MORI Ayano¹⁾, YAMAMOTO Tadashi¹⁾, KAWAMURA Mari²⁾, IDEGUCHI Hidetaka¹⁾, AOYAGI Hiroaki²⁾,
NAKAMURA Shin²⁾, OKAMOTO Kentaro¹⁾, HIRAI Anna¹⁾, YAMASHIRO Keisuke²⁾, OMORI Kazuhiro²⁾, TAKASHIBA Shogo¹⁾

【目的】

組織再生のための幹細胞の動員と分化調節には、増殖因子と細胞外基質 (ECM) と周囲細胞とのネットワーク作用によって規定される微小環境の構築が必須である。我々は ECM とインテグリンが制御する微小環境に着目し、インテグリン $\alpha 3$ 阻害ペプチドがヒト歯根膜細胞の *in vitro* 遊走を促進することを明らかにした (Kawamura, *et al*, *J Cell Mol Med*, 2019)。このインテグリンの選択的制御は、組織再生に最適な ECM を集積することによって理想的な微小環境の構築に繋がると考えられる。そこで、本研究では、インテグリン $\alpha 3$ 阻害ペプチドによる ECM 再構成を介した微小環境の構築機構と組織再生効果を齧歯類モデルにおいて調べた。インテグリンペプチドは、ECM のみならず増殖因子のシグナリングをも活性化することによって、組織再生を誘導する幹細胞の微小環境を構築し得ると考えられ、ひいては現在の歯周組織再生療法の適応症拡大と有効性向上に繋がる可能性がある。

【材料と方法】

1. マウス歯周炎モデル

- 1) モデル作製：実体顕微鏡下で C57BL/6 マウスの第二大臼歯に、*Porphyromonas gingivalis* 培養液に浸漬した絹糸を7日間結紮することによって歯周炎モデルを作製した。結紮除去後、試験群としてインテグリン $\alpha 3$ 阻害ペプチド ($\alpha 325$)、陽性対照群として FGF-2、そして陰性対照群として遊走能を有しないスクランブルペプチド (Sca325) をマイクロシリンジにて乳頭歯肉に注入し (全て 0.05 nmol; 既報での 0.3% FGF-2 使用量の体重換算値)、3日後に上顎骨と結紮周囲歯肉を回収した。
- 2) 骨量解析：骨標本の第二大臼歯のセメントーエナメル境から歯槽骨頂までの距離を画像計測し、結紮除去直後の歯槽骨レベルを基準とした骨再生量を調べた。
- 3) 遺伝子発現解析：歯肉組織から全 RNA を回収し、組織再生に関わる遺伝子群の発現量をリアルタイム RT-PCR 法によって調べた。
- 4) 免疫組織学的解析：結紮部周囲の組織切片を作製し、ECM と組織再生に関わる蛋白の発現局在を免疫染色法によって調べた。

2. ラット骨欠損モデル

実体顕微鏡下で、Sprague-Dawley ラットの第一大臼歯近心から第二大臼歯遠心まで口蓋側歯肉を剥離し、カーバイトバーで口蓋歯槽骨に 1.0 mm の水平性骨欠損を作製し、コラーゲンパウダー (5 mg) を担体として、 $\alpha 325$ 、FGF-2、そして Sca325 (全て 0.58 nmol; 体重換算値) をそれぞれ填入して縫合した。8週後に回収した上顎骨をマイクロCTにて撮影し、骨量を画像計測した。

3. One-way ANOVA と Tukey-Kramer test を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。

【結果】

1. マウスの $\alpha 325$ 試験群では、骨量が FGF 群と同等であり、Sca325 陰性対照群と比較して約 1.5 倍増加した ($P < 0.05$)。
2. 同群では、炎症性サイトカイン *Il-10* と *Tgf- $\beta 1$* の遺伝子発現量が、Sca325 群と比較して約 2 倍増加した。また、幹細胞マーカーである *Oct-4* と骨形成因子である *Runx2* の遺伝子発現量が、同様に約 3 倍増加した ($P < 0.05$)。
3. さらに同群では、歯根膜組織中ではコラーゲン I と間葉系幹細胞マーカーの CD146 が、そして骨再生部位ではオステオカルシンが強く発現した。
4. 一方、ラット骨欠損モデルのマイクロCT画像解析では、 $\alpha 325$ 群試験群での骨量は、FGF 群と同等に再生し、Sca325 陰性対照群と比較して約 1.2 倍増加した。

【考察】

歯根膜細胞の遊走促進作用を有するインテグリン $\alpha 3$ 阻害ペプチドは、再生局所の炎症を抑制するとともにコラーゲン I を中心とした ECM 再構成を介して組織再生に有利な微小環境を整えることによって、再生機転を促進すると考えられる。

【結論】

インテグリン $\alpha 3$ の選択的阻害は、コラーゲンの再構成を伴う微小環境の構築と組織再生に有効である。

【本研究は動物実験委員会での承認 (OKU-2018800) と AMED の課題番号 JP18lm0203008 (Y.T.) の支援を受けた】

The Role of ACTA2 in Periodontal Ligament cell stimulated with TGF-β1

九州大学大学院 歯学府 総合歯科学講座¹⁾、九州大学病院 口腔総合診療科²⁾、
九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存研究分野³⁾
○Naati Fakatava¹、御手洗裕美²、祐田明香²、長谷川大学³、前田英史³、和田尚久²

The Role of ACTA2 in Periodontal Ligament cell stimulated with TGF-β1

Division of Interdisciplinary Dentistry, Graduate School of Dental Science, Kyushu University¹⁾,
Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital²⁾,
Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University³⁾
○Naati Fakatava¹, Hiromi Mitarai², Asuka Yuda², Daigaku Hasegawa³, Hidefumi Maeda³, Naohisa Wada²

【Background】

Alpha-smooth muscle actin (α -SMA, ACTA2) is the actin isoform that predominates within vascular smooth muscle cells. It plays an important role in fibrogenesis, cell motility and contraction, and regulating signaling process during wound healing in vivo (Don C. Rokey et al. 2013). ACTA2 is also known as one of the important markers in human periodontal ligament (PDL) tissue. TGF-β1 is a multifunctional cytokine that regulates a broad range of cellular processes such as proliferation, migration, ECM protein production. We have reported that this cytokine induces expression of ACTA2 in human PDL cells (Fuji et al. 2010), but little is known about the potential function of ACTA2 related with TGF-β1. Thus, the present study's aim is to find out the role of ACTA2 via TGF-β1 signal in human PDL cells.

【Materials and Methods】

We used a human periodontal ligament cell line, 2-33 established in the Dept. of Endodontology and Operative Dentistry. We examined the expression of ACTA2 in 2-33 with semi-quantitative RT-PCR and immunofluorescence staining. The expression of ACTA2 and PDL related markers in 2-33 stimulated with TGF-β1 at various concentration for 24hrs was examined by quantitative RT-PCR. To analyze the function of ACTA2 in 2-33, we transfected 2-33 with ACTA2 siRNA. After 48 hours transfection, we stimulated these cells with 0.5 ng/ml TGF-β1 for 24hours and examined the expression of PDL related markers by RT-PCR. All procedures were performed in compliance with requirements of the Institutional Review Board for Human Genome/Gene Research (approval number: 30-167) and Research Ethics Committee (approval number : 27-76) at Kyushu University.

【Results】

Semi quantitative PCR and immunofluorescence staining showed that ACTA2 was strongly expressed in 2-33. Quantitative RT-PCR showed that expression of *ACTA2* in 2-33 was significantly upregulated with TGF-β1, especially at 0.5ng/ml. At that concentration, the expression of PDL related markers, *Collagen I A1 (Col I A1)*, *COL III*, *Col XIII*, *FBNI*, and *Periostin (POSTN)* was also significantly upregulated. Quantitative RT-PCR showed that *ACTA2* expression was significantly downregulated in 2-33 transfected with *ACTA2* siRNA. Our results demonstrated that knockdown of *ACTA2* by siRNA significantly downregulated *Col I A1* and *FBNI* expression, but not *POSTN*, while control siRNA transfected 2-33 with 0.5ng/ml TGF-β1 induced *Col I A1* and *FBNI*. In *ACTA2* siRNA transfected-2-33 stimulated with TGF-β1, the expression of *Col I A1*, *FBNI*, and *POSTN* were upregulated, not so much as control siRNA with TGF-β1.

【Discussion】

From our results, we found that downregulation of ACTA2 in human PDL cell line affect the expression of some PDL related genes which are upregulated with TGF-β1. ACTA2 may have a crucial roles involved in homeostasis maintenance of PDL tissue.

【Conclusion】

ACTA2 is related with the expression of PDL markers via TGF-β1 signaling.

歯肉上皮細胞における抗酸化ストレス応答を活性化させる食物由来ペプチドの探索

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

³新潟大学大学院医歯学総合研究科 微生物感染症学分野

○峯尾 修平¹、高橋 直紀¹、都野 隆博^{1,2}、野中 由香莉¹、田村 光^{1,3}、多部田 康一¹

Exploration of food-derived peptides that activate antioxidant stress responses in gingival epithelial cells

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

³Division of Microbiology and Infectious Diseases, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Shuhei Mineo¹, Naoki Takahashi¹, Takahiro Tsuzuno^{1,2}, Yukari Nonaka¹, Hikaru Tamura^{1,3}, Koichi Tabeta¹

【目的】

生体内における酸化ストレス応答と抗酸化ストレス応答の不均衡は、様々な疾患の原因や増悪因子となることが知られている。歯周炎の発症や進行においても、酸化ストレス応答の関与が報告されているが、その詳細は不明である。歯周組織の最外層に存在する歯肉上皮細胞は、外来因子に対する生体防御の最前線であり、歯周炎の病態制御に大きく関わっている。これまでの研究から食物由来ペプチドが口腔内において、抗菌作用や抗炎症作用などの様々な生理活性作用をもつことは明らかになっているが、歯肉上皮細胞の抗酸化ストレス応答に対する作用は不明である。そこで本研究の目的は、歯周炎の病態形成に関与する歯肉上皮細胞において抗酸化ストレス応答を活性化させる食物由来ペプチドの探索を行うことである。

【材料と方法】

本実験に用いた食物由来ペプチドは、米糠と米胚乳、トウモロコシ2種、大豆、納豆、ローヤルゼリーの7種類から等電点電気泳動にて各20分画を精製した。まず、抗酸化ストレス応答の有無をスクリーニングする目的で、抗酸化ストレス応答関連遺伝子発現に関わる抗酸化剤応答配列 Antioxidant Response Element (ARE) の制御下にルシフェラーゼ遺伝子が組み込まれたベクターをヒト胎児由来腎臓上皮細胞 HEK293 細胞にトランスフェクトし、安定発現株の樹立を行い実験に供した(新潟大学遺伝子組換え実験 承認番号 SD00806)。96穴プレートに細胞を 1×10^5 で播種し、各種食物由来ペプチド分画を0.5mg/mLの濃度で添加4時間後にルシフェラーゼアッセイを行った。また、抗酸化ストレス応答の相乗効果を検討する目的で、既知の抗酸化誘導物質 Sulforaphane (SFN) と各種食物由来ペプチド分画との共刺激を行い、同様の解析を行った。有意な変化を認めたペプチド分画においては、ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 を用いて単独刺激もしくはSFNとの共刺激を行い、抗酸化ストレス応答関連遺伝子発現およびタンパク産生をPCR法およびウェスタンブロットング法にて解析を行った。

【結果】

スクリーニング用 HEK293 細胞において、各食物由来ペプチド分画の単独刺激では未刺激群と比較して有意なルシフェラーゼ活性の上昇はいずれも認められなかった。一方、SFN と米糠ペプチド分画のいくつかの共刺激においては、SFN 単独刺激と比較して有意な活性上昇が認められた。Ca9-22 細胞においては、有意な上昇がみられた4種の米糠ペプチド分画とSFNの共刺激において、主要な抗酸化ストレス応答関連因子である Heme Oxygenase-1 (HO-1) の有意な発現上昇が遺伝子レベルおよびタンパクレベルで確認された。

【考察および結論】

いくつかの食物由来ペプチド分画にはSFN誘導性抗酸化ストレス応答における相乗効果があることが示唆された。その詳細なメカニズムおよび歯周炎の病態形成への関与は、今後更なる検討が必要である。

【謝辞】

本研究にあたり、食物由来ペプチドを提供していただきました新潟大学工学部の谷口正之先生には心より感謝申し上げます。

歯肉上皮細胞に発現する TRPV1 活性化による抗炎症性作用の解析

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

³新潟大学大学院医歯学総合研究科 高度口腔機能教育研究センター

○都野 隆博^{1,2}、高橋 直紀¹、峯尾 修平¹、原 実生^{1,3}、野中 由香莉¹、多部田 康一¹

Anti-inflammatory function by TRPV1 activation in gingival epithelial cell line *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

³Research Center for Advanced Oral Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Takahiro Tsuzuno^{1,2}、Naoki Takahashi¹、Shuhei Mineo¹、Miki Hara^{1,3}、Yukari Nonaka¹、Koichi Tabeta¹

【目的】

歯周炎は歯周病原細菌と宿主細胞の相互作用の結果生じる過度の炎症によって、歯周組織の破壊が生じる疾患である。歯周ポケット内において歯周病原細菌に直接対峙する歯肉上皮細胞は、外来因子に対する物理的および免疫的バリアとして、歯周組織の恒常性維持に大きく貢献しており、そのバリア機能の破綻は歯周炎の発症・進行に関与することが知られている。近年同定された Transient receptor potential (TRP) チャネルタンパクは、温度、機械刺激、化学刺激などで活性化される細胞膜センサータンパクとして知られ、腸炎や皮膚炎など様々な炎症性疾患の病態形成に関与することが報告されている。我々はこれまでに、TRP チャネルタンパクファミリーのひとつである TRPV1 が歯肉上皮に発現していること、細胞増殖能に関与することを報告しているが、免疫学および物理的バリアにおける TRPV1 の関与は十分に検討されていない。そこで本研究の目的は、ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 を用いて TRPV1 を介した炎症性サイトカイン産生やバリア関連タンパク発現への影響を検討することで、免疫的・物理的バリアにおける TRPV1 の機能を明らかにすることである。

【方法と材料】

ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22 に TRPV1 アゴニストであるカプサイシン (0.1-10 μ M) で刺激後、LDH アッセイおよび顕微鏡的観察にて細胞為害性の解析を行い、試適濃度を検討した。またカプサイシン刺激による各種バリア関連因子やケモカイン、炎症性サイトカインの遺伝子発現を real-time PCR にて、タンパク発現変化を Western Blotting もしくは ELISA にて解析を行った。さらに、抗炎症作用を検討する目的で、カプサイシンで前処置を行った後に TNF- α で刺激を行い、ケモカインおよび炎症性サイトカインの遺伝子発現とサイトカイン産生を real-time PCR および ELISA にて解析を行った。

【結果】

Ca9-22 細胞のカプサイシン刺激における細胞為害性は認められず、顕微鏡下にて異常な形態変化は観察されなかった。また、カプサイシン刺激群は未刺激群に比較して、バリア関連因子と炎症性サイトカインに有意な変動を認めた。また、カプサイシンによる前処置によって TNF- α 誘導性の炎症性サイトカイン産生が有意に抑制されることが確認された。

【考察と結論】

本研究の結果より、歯肉上皮細胞において TRPV1 を介した抗炎症作用が確認されたことから、免疫学的バリア機能に TRPV1 が関与することが示唆された。今後、細胞内シグナリング経路を含めた更なる詳細メカニズムの解析が必要である。

無細胞蛋白質合成系を用いた抗菌ペプチドの合成とリポソーム封入

¹徳島大学大学院医歯薬学研究部歯周歯内治療学分野

²徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔微生物学分野

○木戸淳一¹, 廣島佑香², 木戸理恵¹, 稲垣裕司¹, 成石浩司¹, 湯本浩通¹

Synthesis of anti-bacterial peptide using cell-free protein synthesis system and its enclosure into liposome

¹Department of Periodontology and Endodontology, ²Department of Oral Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School

○Kido Jun-ichi¹, Hiroshima Yuka², Kido Rie¹, Inagaki Yuji¹, Naruishi Koji¹, Yumoto Hiromichi¹

【研究目的】

抗菌ペプチドは口腔上皮細胞や免疫細胞などで産生され、自然免疫システムとしてオーラルケアばかりでなく全身の感染予防に貢献しており、健康維持に重要な働きをしている。最近、細胞に依存せず蛋白質を合成する系（無細胞蛋白質合成系）が確立され様々な蛋白質の合成が行われており、細胞生物学的な問題を伴う方法や異種の遺伝子を用いた方法と比較して簡易に目的の蛋白質の合成が可能となっている。一方、疾患治療用薬剤をターゲット組織へ送達するドラッグデリバリーシステムとしてリン脂質からなるリポソームの応用が研究されている。そこで、本研究では、抗菌ペプチドを用いた感染予防法の開発を目指して、無細胞蛋白質合成系を用いて抗菌ペプチドを合成し、これをリポソームに封入する系の検討を行った。

【材料と方法】

ヒト骨髄 RNA から逆転写反応により cDNA を合成した。PCR 法により抗菌ペプチドである Secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) の遺伝子を増幅し、鋳型 DNA を作製した。無細胞蛋白質合成キットを用いて SLPI 鋳型 DNA から SLPI 蛋白質を合成した。合成した SLPI は、抗 SLPI 抗体を用いた Western blotting (WB) 法により同定を行った。2 重層のリポソームは、外層を dioleoyl-L- α -phosphatidylcholine (DOPC) とグルコースで、内層を Egg-PC とシュークロースを用いて自発的転移法により調製した。合成した SLPI 蛋白質をリポソーム内層のシュークロース中に混和し、作製したリポソームを限外ろ過法にて回収し、WB により分析を行った。

【結果】

ヒト骨髄 RNA から 530 bp のサイズの SLPI 鋳型 DNA を調製した。この鋳型 DNA と無細胞蛋白質合成キットを用いて合成した蛋白質を WB 分析したところ、分子量が約 15 kDa 位置に SLPI に相当するバンドが認められた。DOPC と Egg-PC のリン脂質から直径 14-170 μ m サイズのリン脂質 2 重層のリポソームが調製された。また、合成 SLPI 蛋白質を混和させたリポソームを限外ろ過にて回収し、WB を行ったところ、リポソーム中の SLPI も合成 SLPI 蛋白質と同じ分子量を示す位置にバンドが確認された。

【考察と結論】

口腔内上皮細胞が発現している抗菌ペプチドである SLPI を無細胞蛋白質合成系により合成した。合成した SLPI は、リン脂質リポソームに封入可能であることが確認された。これらの実験系は、抗菌ペプチドを用いたオーラルケア法の開発に応用できる可能性が示唆された。

低侵襲で行う歯周外科が血管新生および骨吸収に及ぼす影響

大阪歯科大学 歯周病学講座

○東 仁、津守 紀昌、高橋 貫之、森田 浩正、三木 晴加、梅田 誠

Effects of Minimally Invasive Periodontal Surgery on Angiogenesis and Bone Resorption.

Department of Periodontology, Osaka Dental University, Osaka, Japan

○HITOSHI AZUMA, NORIMASA TSUMORI, TSURAYUKI TAKAHASHI,
HIROMASA MORITA, HARUKA MIKI, MAKOTO UMEDA

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

【材料および方法】 本研究は大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得た (承認番号: 第 19-04003 号、2019 年 4 月 3 日承認)。実験動物として、12 週齢 Sprague-Dawley(SD)系雄性ラット 15 匹を用いた。手術中は、手術用顕微鏡 (10 倍) を用いて行った。実験 (低侵襲) 側として、上顎右側臼歯部を用いた。眼科用メスを用いて第一臼歯部遠心から第三臼歯近心にかけての口蓋側歯肉のみに対して切開後、骨頂から約 2mm の骨面が露出するよう粘膜骨膜弁を剥離した。さらに剥離後、露出した根面の歯根膜およびセメント質を除去する目的で、注水下でラウンドバー (直径 1mm) にて第二臼歯口蓋側歯根面を切削した。対照 (オープンフラップ) 側として、上顎左側臼歯部を用いた。眼科用メスを用いて第一臼歯近心から第三臼歯遠心にかけて頬舌側歯肉に歯肉溝内切開後、骨頂から約 2mm の骨面が露出するよう粘膜骨膜弁を剥離した。その後実験側と同様に、歯根面を切削した。歯根面切削後、両側とも切削片を滅菌生理食塩水にて洗浄し、歯肉弁を復位、湿綿球にて止血した。術後 1, 3, 5 日に 5 匹ずつラットを安楽死させ、被験歯根を含む歯周組織を一塊として摘出し、試料を作成した。その後、切片を作成し、HE 染色、TRAP (Tartrate-Resistant Acid Phosphatase) 染色、抗 von Willebrand 因子抗体を用いた免疫組織化学的染色を行い、光学顕微鏡下で観察した。また、欠損部における TRAP 陽性細胞 (破骨細胞) 数と血管数を計測し、対照側と実験側の比較、統計分析を行った。

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

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

血中肝機能マーカーと抗 *Porphyromonas gingivalis* 抗体価の関連性

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、口腔保健学分野²、

新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部³

○杉田 典子¹、高見澤 圭¹、葭原 明弘²、小林 哲夫^{1,3}、吉江 弘正¹、多部田 康一¹

Association of serum IgG antibody levels to *Porphyromonas gingivalis* with liver function markers: A cross-sectional study in Sado Island

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science¹, Department of Oral Health and Welfare², Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences,

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital³

○SUGITA Noriko¹, TAKAMISAWA Kei¹, YOSHIHARA Akihiro²,

KOBAYASHI Tetsuo^{1,3}, YOSHIE Hiromasa¹, TABETA Koichi¹

【研究背景および目的】

近年、非アルコール性肝疾患に対する歯周炎の関与を示唆する報告があり、またマウスに *Porphyromonas gingivalis* の経口投与を行った結果より、腸内細菌叢の変化を介して肝細胞に障害を与える可能性が示された。そこで我々は *P. gingivalis* 感染と肝機能の関連性を血中マーカー濃度にて解析する横断研究を行った。

【方法】

本研究は新潟大学の、人を対象とする研究等倫理審査委員会の承認を得て実施された(承認番号 511)。2008年から2010年の間に佐渡総合病院外来に受診し、佐渡コホート研究 PROST (Project in Sado for Total health)に参加することに同意した733名より、無歯顎、透析治療、ステロイドあるいは免疫抑制療法を受けている患者、B、C型肝炎、肝硬変患者、欠損データのある者を除いた373名(男性183名、女性190名、平均年齢68±9歳)を対象とした。

P. gingivalis 381株に対する血清IgG抗体価をELISA法にて測定し、肝機能マーカーとしてアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、ガンマグルトミルトランスフェラーゼ(GGT)、コリンエステラーゼ(ChE)、尿素窒素(BUN)、乳酸脱水素酵素(LDH)および総ビリルビン(T-BIL)を測定した。過去あるいは現在において飲酒習慣、喫煙習慣のある者を、それぞれ習慣ありとした。肝機能マーカーをアウトカムとし抗 *P. gingivalis* IgG抗体価を説明変数として、年齢、歯数、BMI、飲酒習慣、喫煙習慣とともに強制投入した重回帰分析にて関連性を解析した。p<0.05を有意とした。

【結果】

女性においては、AST(標準化係数 $\beta=0.243$, p=0.001)、ChE($\beta=-0.219$, p=0.007)、LDH($\beta=0.205$, p=0.005)およびT-BIL($\beta=0.293$, p=0.001)濃度と抗 *P. gingivalis* IgG抗体価との間に有意な関連性が認められた。その他の肝機能マーカー、および男性においては、いずれも抗 *P. gingivalis* IgG抗体価と関連性を示さなかった。

有意な関連性を示したモデルでは、抗 *P. gingivalis* IgG抗体価が他の説明変数と同程度あるいはより強い関連性を示していた。男性においては肝機能マーカーと年齢、BMIあるいは飲酒習慣との関連性のみが認められた。

【結論】

病院外来をベースとした横断研究の結果、成人女性において、*P. gingivalis*感染が肝機能低下と関連している可能性が示唆された。

バイオ 3D プリント技術を応用した未分化なヒト歯根膜クローン細胞株および生体活性材料コアを用いた
バイオハイブリッドインプラントの作製

¹九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、²九州大学病院 歯内治療科、

³九州大学大学院歯学研究院 OBT 研究センター

○小野太雅¹、友清淳²、小川真里奈¹、長谷川大学²、濱野さゆり^{1,3}、吉田晋一郎²、杉井英樹²、

一法師敬太¹、山下梢¹、前田英史^{1,2}

**Generation of biohybrid implants using a multipotent clonal human periodontal ligament cell line
and a bioactive core material by bio three-dimensional printing technology.**

¹Department of Endodontics and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University ²Department of Endodontics,

Kyushu University Hospital ³OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University

○Taiga Ono¹, Atsushi Tomokiyo², Marina Ogawa¹, Daigaku Hasegawa², Sayuri Hamano^{1,3}, Shinichiro Yoshida², Hideki Sugii²,

Keita Ippoushi¹, Kozue Yamashita¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【目的】現在の歯科インプラント治療で用いられるインプラント体は、主に生体不活性材料で構成されており、骨に直接結合することで支持を得ている。しかし、骨との間に歯根膜を介さないインプラント体においては、バリア機構が存在しないため細菌感染が生じやすい。また、歯根膜に由来する感覚が無いため、咀嚼刺激による咬合圧の調整が困難である。そのため、歯根膜を有する人工歯根の開発が望まれている。近年、生細胞を三次元的に積層することで、複雑な構造の積層体を作製する 3D プリント技術が報告された (Yurie H et al. 2017)。我々は 2018 年日本歯科保存学会秋季学術大会において、未分化なヒト歯根膜クローン細胞株 (line 1-17) の三次元的積層によりチューブ型構造体を作製したことを報告した。そこで本研究では、3D プリント技術を利用して作製したチューブ型構造体と生体活性材料の一種であるハイドロキシアパタイト (HA) の焼成体または生体不活性材料であるチタン (Ti) 材料を組み合わせることで、歯根膜の機能を有するバイオハイブリッドインプラントを作製することを目的とした。

【材料および方法】 1. line 1-17 由来チューブ型構造体の作製：(1) line 1-17 を 10% fetal bovine serum 添加 α MEM (CM) 含有 U 底 96 well プレートに 2.5×10^4 cells / well で播種し、2 日間培養した。形成されたスフェロイドを、三次元細胞積層システム (株式会社サイフューズ) を使用して 9×9 針の剣山上にチューブ型に積層した。それらを CM にて 10 日間培養することで、チューブ型構造体を作製した。また、チューブ型構造体の中央に HA また Ti を挿入したのち、CM にて 7 日間培養することで、コアを挿入していないチューブ型構造体 (WOC)、HA および Ti コアを挿入した構造体 (HAC, TIC) を作製した。なお、本演題は当大学の倫理規定 (承諾番号: 20A-3) に沿って行われた研究である。

2. WOC、HAC および TIC を構成する line 1-17 における生細胞の検出：WOC、HAC および TIC を 4%パラホルムアルデヒドにて 1 日間固定した。固定後の WOC、HAC および TIC を包埋・薄切することで $7 \mu\text{m}$ 切片を作製したのち、ヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色および生細胞染色 (NucSpot™ Live 488; Biotium) を行い、WOC、HAC および TIC を構成する line 1-17 における生細胞の検出を行った。

3. WOC、HAC および TIC を構成する line 1-17 における歯根膜関連遺伝子の発現解析：3D 構造体を構成する line 1-17 から mRNA を回収し、定量的 RT-PCR 法にて歯根膜関連因子 (*COL3*, *PLAPI*, *SDCI*)、血管関連因子 (*VEGFA*, *HGF*)、セメント質関連因子 (*CEMP1*) 及び骨関連因子 (*OCN*) の遺伝子発現を、3D 積層していない line 1-17 と比較した。

4. WOC、HAC および TIC におけるコラーゲン線維の検出：2. にて作製した WOC、HAC および TIC の $7 \mu\text{m}$ 切片を使用し、マッソントリクローム (MT) 染色キット (武藤化学株式会社) を用いてコラーゲン線維の検出を行なった。

5. WOC、HAC および TIC における HGF、VEGFA および SDC1 の発現解析：2. にて作製した WOC、HAC および TIC の $7 \mu\text{m}$ 切片を使用し、抗 HGF 抗体 (Abcam)、抗 VEGFA 抗体 (Abcam) および抗 SDC1 抗体 (Abcam) を用いて免疫組織化学的染色を行い、それらの HGF、VEGFA および SDC1 の発現比較を行った。

【結果と考察】HE 染色および生細胞染色の結果、line 1-17 が WOC、HAC および TIC にて緊密に分布し、ほぼ全ての細胞が生細胞として検出された。さらに 3D 積層された line 1-17 は、3D 積層していない line 1-17 と比較して *COL1*, *PLAPI*, *SDCI*, *VEGFA*, *HGF*, *CEMP1* および *OCN* を有意に高発現した。MT 染色の結果、WOC、HAC および TIC 全体にコラーゲン線維が強く検出された。また HGF、VEGFA および SDC1 は、WOC、HAC および TIC 全体に強く発現した。

以上より line 1-17 は三次元的積層培養されることにより歯根膜関連因子、血管関連因子、セメント質関連因子及び骨関連因子の歯周組織再生に関係すると考えられる因子の発現が促進し、構造体内にコラーゲン組織を形成することが明らかとなった。また、それらの発現は HA コアおよび Ti コアの挿入による有意差は認められなかった。本研究結果から、3D プリンターを用いた三次元立体積層により作製した line 1-17 由来チューブ型構造体と HA コアや Ti コアの複合体が、歯根膜機能を有するバイオハイブリッドインプラントとして機能する可能性が示唆された。

侵襲性歯頸部外部吸収を発症した上顎中切歯の症例

広島大学大学院医系科学研究科歯髄生物学研究室

○武田克浩、白輪地聡美、土屋志津、西藤法子、進藤 智、芥川桂一、吉田和真、中西 惇、柴 秀樹

A case report of invasive cervical resorption of maxillary central incisor

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

○Katsuhiko Takeda, Satomi Shirawachi, Shizu Tsuchiya, Noriko Saito, Satoru Shindo, Keiichi Akutagawa, Kazuma Yoshida, Jun Nakanishi and Hideki Shiba

【緒言】

外部吸収の一つに分類される侵襲性歯頸部外部吸収（以下 ICR）は、歯頸部付近の歯根吸収を示す疾患で、明らかな原因は不明であるが矯正治療、外傷、パラファンクション、歯周治療などが要因として示唆されている(1)。疾患の進行とともに予後は不良となる。今回、侵襲性歯頸部外部吸収を発症した上顎右側中切歯に対し、歯周外科治療で炎症性肉芽組織を除去し、同時に外部吸収によって失われた歯頸部歯質をコンポジットレジンで修復し保存を試みた症例を報告する。

【症例】

患者：43 歳 女性。主訴：上顎前歯部の違和感および歯肉腫脹。現病歴：初診 2 か月から、同部位の違和感と歯肉腫脹を自覚し近在の歯科を受診した。治療困難とのことで当科紹介受診。既往歴：特記事項なし。家族歴：特記事項なし。現症：上顎左右中切歯の歯間離開。上顎右側中切歯に加えて他の上顎 5 歯全ての切端に軽度の摩耗有り。上顎右側中切歯には、軽度の打診痛が認められたが、自発痛はなかった。歯髄電気診と温度診によって、生活歯髄歯であることがわかった。口蓋側中央部の辺縁歯肉は発赤・腫脹が認められ、歯周ポケットの深さは 6 mm で BOP (+) であったが、その他の部位は 2 mm であった。デンタル X 線写真は、歯頸部に歯髓腔と重なる透過像を示した。コーンビーム CT (CBCT) では、歯髓腔に近接する口蓋歯頸部歯根の外部吸収像が三次元的に認められた。

【診断】

上顎右側中切歯の侵襲性歯頸部外部吸収 (Heithersay の分類：Class 3、Patel の分類：3Ad)

【治療経過】

歯周外科処置中の露髄を考慮し、上顎右側中切歯の便宜抜髄をラバーダム防湿下にて行った。根管充填後、同歯の口蓋側歯肉弁を剥離し、歯頸部歯根吸収部位の炎症性肉芽組織を外科的に搔爬した。ラウンドバーにて窩洞を形成し光重合型コンポジットレジンである GRACEFIL LoFlo (GC) を用いて吸収部を封鎖した。その後、歯肉弁を復位し、5-0 ナイロン糸で縫合した。術後 9 カ月が経過し、辺縁歯肉に明らかな炎症所見はなく、歯周ポケットは全周 3 mm であった。CBCT で口蓋側に明らかな歯槽骨吸収は認められなかった。

【考察とまとめ】

本症例の患者は矯正治療や外傷の既往は無く、当科受診時、患歯に対する明らかな外傷性咬合は認められなかった。また、全身疾患は有していなかった。上顎前歯部の切端がやや摩耗していること、仕事上のストレスが多いとのことで何らかのパラファンクションが ICR の原因と推察される。ICR は進行すると治療の成功率が低下するが(2)、本症例では CBCT によって ICR の範囲を適切に診査・診断し、速やかに処置方針を決定することができた。吸収窩は骨縁下であったが出血が少なく光重合型コンポジットレジンで充填することができた。術後 9 ヶ月の CBCT でコンポジットレジンに近接する歯槽骨は良好な状態を維持しているが、今後も経過観察が必要である。

【引用文献】

(1) Mavridou AM, Bergmans L, Barendregt D, Lambrechts P., Descriptive Analysis of Factors Associated with External Cervical Resorption. J Endod. 43(10):1602-1610, 2017.

(2) Heithersay GS: Treatment of invasive cervical resorption: an analysis of results using topical application of trichloacetic acid, curettage, and restoration. Quintessence Int. 30:96-110, 1990.

血清制限下における *Treponema denticola* の応答機構の解明

東京歯科大学歯周病学講座¹, 東京歯科大学口腔科学研究センター²

○深澤 俊也^{1,2}, 松上 大亮^{1,2}, 山下 慶子¹, 喜田 大智¹, 今村 健太郎¹, 勢島 典¹, 齋藤 淳^{1,2}

Investigation of response mechanism in *Treponema denticola* under serum restricted condition

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

○Toshiya Fukasawa^{1,2}, Daisuke Matsugami^{1,2}, Keiko Yamashita¹, Kita Daichi¹, Kentaro Imamura¹, Fumi Seshima¹, Atsushi Saito^{1, 2}

【目的】

口腔内において、細菌は温度や浸透圧の変化などの環境ストレスに曝されている。それらに対する応答は、細菌の遺伝子発現調節により行われている。*Treponema denticola* は重度慢性歯周炎の患者の歯周ポケット内から高頻度で検出される。本菌が歯周ポケット内に生存し、病原性を発揮する際にも様々な環境ストレスに曝されている。我々は血清制限ストレス条件下での本菌の培養において、*T. denticola* TDE_1382 を含む複数の遺伝子の発現変化が起きることを報告している。TDE_1382 はアミノ酸配列より、遺伝子発現調節に関わる可能性がある DNA binding protein と配列類似性を示す。そこで、本研究の目的は、*T. denticola* の環境ストレス応答における TDE_1382 の役割について検討することとした。

【材料および方法】

T. denticola ATCC 35405 株 (野生株) を供試し、エリスロマイシン耐性遺伝子の相同組み換えにより TDE_1382 の遺伝子欠損株を作成した (東京歯科大学組み換え DNA 実験委員会 承認番号: DNA1901)。DNA マイクロアレイにより欠損株の遺伝子発現の変化を解析した。環境ストレス下における野生株と欠損株の表現型について解析を行った。血清制限ストレス下における増殖能について 1%, 10%, 20% 血清添加培地で、0-96 時間まで培養し、各タイムポイントで OD 値を測定した。また血清制限ストレス下での酵素活性について、合成基質 (SAAPNA: Dentilisin, BAPNA: アルギニン特異的オリゴペプチダーゼ) を用いて測定した。酸素ストレス耐性の検討として好気条件下で、熱ストレス耐性の検討として 42 °C の条件下で、低浸透圧ストレス耐性の検討として培地に滅菌水を加え培養した。それぞれ 1, 2 時間経過後、本菌の生菌割合を ATP の蛍光強度により測定した。

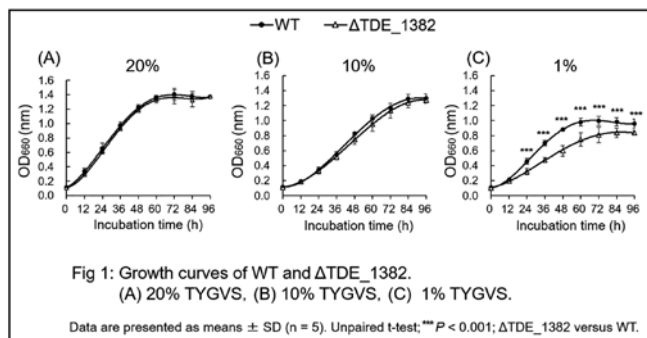
【結果および考察】

マイクロアレイ解析では、環境ストレスに応答する可能性のある遺伝子群の発現に変化が認められた。増殖能においては、10%, 20% 血清添加培地 (Fig. 1A, 1B) で培養したところ、野生株と欠損株の培養液の濁度に変化は認めなかったが、1% 血清添加培地 (Fig. 1C) においては欠損株の濁度は、培養後 24-96 時間で有意に低い値を示した ($P < 0.001$)。酵素活性は、10% 血清添加培地においては有意差を認めなかったが、1% 血清添加培地において欠損株の dentilisin 活性は、野生株と比較して有意に低かった。酸素ストレス下での生菌割合は曝露後 1, 2 時間とも野生株と比較して欠損株で有意に低い値を示した ($P < 0.01$) が、熱ストレス下、低浸透圧条件下では有意差を認めなかった。これらの結果から、*T. denticola* TDE_1382 は血清制限による低栄養状態のストレスに応答して本菌の増殖や dentilisin の活性に関わり、好気状態のストレスでの生存に関わることが示唆された。現在、この遺伝子がどのようなメカニズムを介してこれらの応答に関わるかについて解析を行っている。

【結論】

TDE_1382 は *T. denticola* の血清制限、好気培養等のストレスにおいて本菌の増殖や病原性、生存に関わることが示唆された。

(会員外共同研究者: 東京歯科大学微生物学講座 石原 和幸)



PMTC 経験回数と間隔による 歯周病原細菌と歯周病パラメーターへの影響

- 1) ホワイトエッセンス株式会社 ヘルスケア事業部
- 2) 東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 歯周病学分野
- 3) 総合南東北病院 オーラルケア・ペリオセンター
○中畑亜加音¹⁾、浅木隆夫¹⁾、和泉雄一²⁾³⁾

The effects of PMTC frequency and interval on periodontopathic bacteria and periodontal disease parameters

- 1) WHITE ESSENCE CO., LTD.
- 2) Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
- 3) Oral Care and Perio Center, Southern TOHOKU General Hospital
○Akane Nakahata¹⁾, Takao Asaki¹⁾, Yuichi Izumi²⁾³⁾

【背景・目的】

歯周病予防には、歯科医院での定期的なクリーニング (PMTC) によって歯の周囲のバイオフィルムを除去することが重要である。予防目的の来院者、いわゆる「健常者」と呼べる患者が、継続的な PMTC により口腔内の歯周病原細菌や口腔内環境にどのような変化をもたらすか、大規模に解析した例はほとんどない。

歯のホワイトニング・自費のクリーニングをフランチャイズ展開するホワイトエッセンスでは、歯周病原細菌の一つである *Porphyromonas gingivalis* (以下、P.g) を遺伝子検査で検出する「歯周病菌 DNA 検査」を、歯周病予防を目的としたメニューとして展開している。この被験者について、年齢や生活環境による P.g 菌への影響を前回の日本歯科保存学会 (日本歯科保存学会 2019 年度秋季学術大会 (第 151 回)) にて発表した。今回は更に、歯周病菌 DNA 検査被験者が過去に受けた PMTC 関連メニューの回数及び PMTC を受けた間隔から、PMTC の回数・間隔が歯周病原細菌数、口腔内状況にもたらす影響について解析することを目的とした。

【材料・方法】

ホワイトエッセンス加盟医院に来院し、ホワイトエッセンスメニューである歯周病菌 DNA 検査 (対象菌種: P.g) を受諾・実施した被験者 1,151 名を対象とした。これら 1,151 名について、DNA 検査結果、各種口腔内検査結果、問診情報、過去に受けたホワイトエッセンスメニューの内 PMTC 系メニューの施術回数、平均施術間隔を使用した。施術回数は、歯周病菌 DNA 検査の唾液採取日より前に、施術を受けた回数 (以下、P 回数) を抽出した。平均施術間隔は、PMTC 系メニューを受けた初回日から最終日までの日数を P 回数で割って算出した (以下、P 間隔)。口腔内検査結果は、唾液 1ml 中の P.g 数、最大プロービング深さ (以下、PD)、唾液中潜血の有無 (以下、潜血) を解析に使用した。唾液中 P.g 数は、ガム咀嚼による刺激唾液と検体保存液 (DNA/RNA Shield (2X concentrate)、ZYMO Research 社) の混合物から DNA を抽出し、リアルタイム PCR 法により算出した値を使用した。唾液 1ml 中の P.g 数が 10,000 以上を「陽性」、10,000 未満を「陰性」として判定した。検査結果を含む全ての情報は、既に連結不可能で匿名化され抽出した情報のみを用いて解析を行った。尚、歯周病菌 DNA 検査の受諾者からは、インフォームド・コンセントを受け検査を行っている。

【結果】

P 回数における P.g 数平均を比較したところ、0 回と 2 回、0 回と 4 回の組み合わせにおいて、P 回数が多い方が有意に P.g 数が少ないことが示された。更に P.g 陽性者と P.g 陰性者の P 回数の比較では、P.g 陽性者の P 回数が陰性者に比較し、有意に少ない結果となった。PD に関しては、PD4 以上の被験者が PD3 以下の被験者に対し、P 回数が少ない傾向が見られた。潜血陽性者と潜血陰性者では、P 回数に有意な差は見られなかった。

P 間隔には、P.g 数、PD、潜血ともに有意差は見られなかった。

【考察】

P.g の陽性・陰性の判定結果が、P 回数に有意な変化を示したことから、歯科医院での PMTC 経験が多いほど、P.g 数に影響をもたらす可能性が示唆された。また、PMTC 経験回数は歯周ポケットの深さにも影響する可能性があると考えられる。一方で PMTC の間隔は、P.g 判定結果、最大 PD、潜血に有意差をもたらさなかったが、今後被験者数が増えることで傾向に変化が見られるのではないかと予測する。

高強度トレーニングによる主観的疲労・唾液免疫指標の変化と歯周組織炎症指標の関係

1) 東京医科歯科大学 スポーツ医歯学分野, 2) 東京医科歯科大学 歯周病学分野, 3) 公益社団法人日本トライアスロン連合 オリンピック対策チームコーチ, 4) 公益社団法人日本トライアスロン連合 情報戦略医科学委員会, 5) 公益社団法人日本トライアスロン連合 メディカル委員会, 6) 福島大学 人間発達文化学類, 7) 早稲田大学 スポーツ科学研究科, 8) 文化学園大学

○田邊元¹⁾, 蓮沼哲也³⁾⁶⁾, 稲井勇仁⁴⁾⁷⁾, 中禮宏¹⁾, 林海里¹⁾, 神谷菜々¹⁾⁵⁾, 深沢慎太郎¹⁾, 竹内康雄²⁾, 小林宏明²⁾, 森谷直樹⁴⁾⁸⁾, 岩田隆紀²⁾, 上野俊明¹⁾

The influence of changes in the subjective fatigue and salivary immunological parameter during high-intensity training on periodontal inflammation

1) Department of Sports Medicine/Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, 2) Department of Periodontology, Tokyo Medical and Dental University, 3) Japan Triathlon Union, Olympic Project Team, 4) Japan Triathlon Union, Intelligence and Medical and Science Committee, 5) Japan Triathlon Union, Medical Committee, 6) Faculty of Human Development and Culture, Fukushima University, 7) Graduate School of Sport Sciences, Waseda University, 8) Bunka gakuen University

○Tanabe G¹⁾, Hasunuma T³⁾⁶⁾, Inai Y⁴⁾⁷⁾, Churei H¹⁾, Hayashi K¹⁾, Kamiya N¹⁾⁵⁾, Fukasawa S¹⁾, Takeuchi Y²⁾, Kobayashi H²⁾, Moriya N⁴⁾⁸⁾, Iwata T²⁾, Ueno T¹⁾

【緒言】

アスリートは自分の持っている能力を最大限に発揮することという目標に向け、心身ともに極限の状態で競技やトレーニングを行うため、慢性疲労状態に陥り、オーバートレーニング症候群や上気道感染などに罹患しやすいことが知られている。実際にアスリートに体調や活動状況を問診すると、「強化合宿後で疲労がかなり溜まっています」「減量中で口の中カラカラです」「歯肉が腫れた」「口内炎ができた」といった話をよくきく。このような事象から、一定期間の激運動によるアスリートのコンディションの変動が口腔にも表出する可能性が考えられる。

本研究では、高強度トレーニングなどから構成されるトライアスロン代表合宿前後での選手の口腔内の炎症についての変化を観察・測定し、その変化・変動についての知見を集めたので報告する。

【方法】

2019年5月、8月、12月年に行われたトライアスロンU-23代表合宿(合宿期間は各計7日間)に参加した選手(3回計 男8名, 女5名)に対して、自覚的疲労度(11段階; 0-10)のセルフコンディションチェックを合宿中毎日聴取し、期間内の運動強度の代用として Session-rating of perceived exertion (RPE)(自覚的運動強度×時間)を算出した。合宿2日目をベースラインとし、合宿6日目と比較する歯周組織炎症指標として、歯周組織検査, Gingival Index (GI), 口腔内写真撮影を行った。検査結果から Bleeding On Probing (BOP) 率, と Periodontal Inflamed Surface Area (PISA) を算出した。8月と12月の合宿では唾液中の S-IgA 濃度(Cube reader SOMA 社)を同じく合宿2日目と6日目に測定した。各項目について合宿2日目と6日目の測定値には、対応のある t 検定にて、そして合宿2日目の PISA 値と合宿終盤での自覚的疲労度、S-IgA 濃度の変動値について相関関係を解析した($p < 0.05$)。統計解析には JMP14 (SAS Institute Inc)を用いた。本研究は東京医科歯科大学倫理審査委員会(承認番号 2019-031)の承諾のもと行なった。

【結果】

- ・合宿2日目と6日目のデータを比較したところ、歯周組織検査値、BOP 率、PISA、GI の測定値に有意な変化はみとめなかった。
- ・合宿2日目の PISA 高値の選手(すなわち広い炎症面積の有する選手)ほど、合宿6日目の自覚的疲労度が強くなり($r = 0.59$ $p < 0.05$)、唾液の S-IgA 濃度が減少($r = 0.49$ $p > 0.05$)する傾向が認められた。

【考察】

代表合宿の期間中における高強度トレーニングは、歯周組織の炎症変化に大きな影響は与えなかった。一方、PISA の値の大きな選手ほど、合宿終盤での疲労度の蓄積や唾液中 S-IgA 濃度の減少傾向を認めた。これらの結果より、口腔内の慢性炎症が選手自身の疲労や免疫反応に影響する可能性が示唆され、アスリートに対して大会や合宿での良好なコンディションを維持するための施策のひとつとして、口腔内の炎症を改善しておく重要性が考えられた。今後、運動負荷量や環境などがコントロールされた条件で追加検討し、アスリートコンディションと口腔内環境に関して詳細に検討していく予定である。

LLLT(低反応レベルレーザー治療)による歯周組織への影響

- 1) 日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座
- 2) 日本歯科大学新潟生命歯学研究科歯周機能治療学
- 3) 日本歯科大学新潟病院総合診療科
- 4) 日本歯科大学先端研究センター再生医療学

○丸山 昂介¹⁾ 佐藤 柚香里²⁾ 清水 豊³⁾ 両角 祐子¹⁾ 佐藤 聡^{1),2),3),4)}

Analysis of LLLT on periodontal tissue

- 1) Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
- 2) Field of Advanced Conservative Dentistry and Periodontology, Course of Clinical Science, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
- 3) Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital
- 4) Division of Cell Regeneration and Transplantation, The Nippon Dental University

○Kosuke Maruyama¹⁾ Yukari Sato²⁾ Yutaka Shimizu³⁾ Yuko Morozumi¹⁾ Soh Sato^{1),2),3),4)}

【目的】

Nd:YAG レーザーは、組織に照射する際にレーザーの波長や出力を調整することにより、組織表面や内部に与える効果が異なることが知られている。歯科診療の現場では、切開、止血、凝固や血流の改善・促進、抗炎症および創傷治癒促進効果を目的として使用されている。また、レーザーの出力は、深部組織へ到達しやすいとされる、可視光に近い波長が主に選択されている。この波長によるレーザーは、照射部位組織が蛋白変性を起こす温度まで上昇せず、組織活性を促し、疼痛緩和・治癒促進に効果があると考えられている。

血管内皮細胞は、血管壁の内側に存在し、細胞の再生や物質の透過等の重要な役割を果たしている。つまり、血管内皮細胞の活動を活性化させることは、損傷した組織の治癒過程において重要である。歯周病や外傷により損傷した歯周組織の治癒過程において、歯周組織内の血管内皮細胞や線維芽細胞が活性化することは、創傷治癒が促進すると考えられる。一方で、レーザーを口腔内に使用した臨床報告は多くあるが、細胞に対する影響について検討した報告は少ない。そこで本研究では、Nd:YAG レーザーの照射出力・回数の変化に伴い、歯周組織由来細胞の生理学的変化について検討することとした。(日本歯科大学新潟生命歯学部倫理委員会承認番号: ECNG-H-163)

【材料と方法】

使用した細胞は、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF)、ヒト歯根膜由来血管内皮細胞 (PDLEC) を用いた。対照としてヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を使用した。各細胞の培養を行い、96well-plate に播種した。播種後、24 時間の培養を行った。レーザーは Nd:YAG レーザー (インパルス・デンタルレーザー、インサイシブジャパン株式会社) を使用した。照射条件は、Pulse energy 0~200mJ, Pulse rate 5PPS, ワンショット (1 秒間) とし、照射回数は 1 回、3 回、5 回とした。培養は 7 日間行い、細胞増殖・形態変化について検討を行った。細胞増殖は、Alamar Blue を用いたミトコンドリア還元染色後に、プレートリーダーにて蛍光度測定を行い、検討した。形態変化の観察は、倒立位相差顕微鏡にて行った。さらにランダムに選択して撮影した画像を用いて、イメージングソフトウェアにて細胞長径の測定を行った。統計学的分析は、一元配置分散分析を行い、その後の検定は、Tukey の検定を用いた。

【結果】

HGF, PDLEC は、レーザー照射 1 回、3 回、5 回の群ともにコントロールと比較し、細胞増殖の活性を認めた。また、形態学変化では、コントロールと比較し、レーザーを照射した群では細胞の幅径の増加を認めた。本研究の結果より、Nd:YAG レーザーを照射することにより、ヒト歯周組織由来血管内皮細胞・ヒト歯肉線維芽細胞の活性が増加し、創傷治癒促進に効果があると考えられる。

掌蹠膿疱症に対する歯性感染症治療の有効性の検討

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おしむら歯科、
³広島大学大学院医系科学研究科 口腔保健疫学
○押村憲昭 ^{1,2} 大嶋 淳¹、有野真澄¹、内藤真理子³、林 美加子¹

Study on efficacy of dental treatments for palmoplantar pustulosis

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry,
²Oshimura Dental Clinic

³Department of Oral Epidemiology, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University
○OSHIMURA Noriaki ^{1,2}, OHSHIMA Jun ¹, ARINO Masumi ¹, NAITO Mariko ³, HAYASHI Mikako ¹

【緒言】

掌蹠膿疱症 (palmoplantar pustulosis : PPP) は手掌と足底に無菌性の小膿疱が多発し、緩解と増悪を繰り返す慢性難治性の皮膚疾患である。PPP は皮膚科にて診断される疾患ではあるものの、近年では発症要因として口腔内の慢性病変 (根尖性歯周炎、辺縁性歯周炎等) が疑われるなど、歯科疾患との関連性が示唆されている。しかし、未だその因果関係については完全な証明には至っておらず、PPP に対する歯科治療の効果についての報告も少ない。そこで本研究では皮膚科で PPP と診断され歯性感染病変を有する患者に歯周治療、根管治療を行なった症例について、治療前後に収集したデータを分析することにより PPP に対する歯科治療の有効性を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

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の承認 (H30-E29) を得て行われた。対象は 2001 年 4 月から 2017 年 6 月に皮膚科において PPP と診断され、おしむら歯科を受診し歯科治療を受けた患者 165 名とした。対象患者は皮膚科において PPP の診断、扁桃摘出のアセスメントおよび金属アレルギーのパッチテストが行われた後、おしむら歯科にて歯性感染病変の診断および歯科治療を受けた。治療前後に得られた皮膚症状の改善について、後ろ向きに検討した。歯周病については PISA (Periodontal Inflamed Surface Area) を用いて歯周治療の奏功と皮膚症状の改善について統計学的な解析を加えた。

【結果】

対象となった患者 165 名のうち男性は 38 名、女性は 127 名であった。同意が得られた 28 名の患者で扁桃摘出が行われ、そのうち 25 名において皮膚症状の改善が認められた。金属パッチテストでは 165 名中 74 名で歯科金属に陽性反応がみられ、25 名で金属除去治療が行われ、そのうち 16 名で皮膚症状の改善を認めた。歯性感染病変は 165 名中 118 名の患者に認められた。慢性根尖性歯周炎に起因する根尖病変を有する患者 58 名中 30 名で治療後に皮膚症状の改善を認め、歯周疾患を認める 106 名中 62 名が治療後に皮膚症状の改善を示した。

歯周病についてはさらに治療前の PISA 値をもとに重症度分類を行い、歯周治療による歯周病の改善度についても PISA を用いて評価した。軽度～中等度歯周病 (治療前 PISA 値 2000 未満) の患者 49 名のうち 17 名、重度歯周病 (治療前 PISA 値 2000 以上) の患者では 57 名のうち 39 名で皮膚科症状の改善を認めた。PISA 値の治療前後の変化と PPP の皮膚症状の改善有無についてロジスティック回帰分析を行ったところ、治療前後の PISA 値の変化量の大きさと皮膚症状の改善に有意な関連が認められた。

【考察と結論】

口腔内の慢性炎症が原因となり炎症性のサイトカインが発現し免疫反応の結果、掌蹠膿疱症が発現すると考えられる。そのため、拔牙や歯肉剥離搔爬術などの炎症面積を大きく減少させるような処置を行うことで口腔内の炎症が消退し、掌蹠膿疱症の治癒に影響すると考えられる。本研究の結果からも、歯周治療前後の PISA 変化量が大きいほど皮膚症状の改善が認められ、重度な歯周疾患に対する治療が掌蹠膿疱症の改善に有効である可能性が示唆された。

Hmga2 の下顎切歯歯胚での発現と伸長への関与

日本歯科大学生命歯学部 歯科保存学講座
○小玉裕樹、根岸翼、前田宗宏、五十嵐勝

Expression of Hmga2 in lower incisor germ and its involvement in growing
Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo
○Yuki Kodama, Tsubasa Negishi, Munchiro Maeda, Masaru Igarashi

【目的】

筆者は以前、未分化間葉細胞特異的転写因子であるHigh mobility group A2 (Hmga2) が、幹細胞因子の発現を誘導することで、マウス臼歯の形成と伸長に働くことを報告した。本研究では、持続的に成長するマウス切歯に焦点を絞り、Hmga2と歯根形成伸長の分子背景について明らかにすることを目的とする。これらの分子メカニズムの詳細を明らかにすることは、より有効な再生歯内療法確立に向けて重要なテーマとなる。

【方法】

胎生13日から18日までのマウス胎仔の矢状断での組織切片を作製した。マウス下顎切歯でのHmga2の発現動態を蛍光免疫染色で確認し、マウス切歯におけるHmga2の発現解析を行った。そして2、4、8、12週の野生型マウスとHmga2ノックアウトマウスの下顎切歯をマイクロCTで撮影し、3次元画像処理ソフトを用いて、切歯の全長や歯根形成の違い等について観察した。

また、hmg2関連因子の特定については、象牙芽細胞に分化可能なマウス細胞株 (MC3T3-E1細胞) のhmg2遺伝子をCRISPR/Cas9システム (guide RNAと関連タンパク質を電気穿孔法で導入する方法) で破壊し、3種類のクローンを作製した。その後、リアルタイムPCRを用いて遺伝子の解析を行った。

本実験は動物実験の承認番号16-08-2および遺伝子組換え実験従事者承認番号1802-024である。

【結果】

免疫染色の結果、歯胚形成の初期 (13 dpc、蕾状期) では、原始口腔上皮細胞と周囲間葉細胞に強いHmga2陽性反応がみられた。帽状期 (14 and 15 dpc) 後でも、原始口腔上皮細胞の染色反応は強く認められた。エナメル器、歯乳頭、歯小囊の細胞、周囲の間葉細胞も強く反応した。15 dpc以降のエナメル器および原始口腔上での染色反応は口腔側で強く反応していたが、頬側は反応が減退した。鐘状期 (16-18 dpc) では外エナメル上皮、cervical loopおよび歯小囊において反応は高く維持され、特に舌側での反応は強いままであった。しかし内エナメル上皮の陽性反応は低下した。また周囲の間葉細胞の染色は18 dpcでも維持され、特に根尖部付近での間葉の反応が強かった。

μCTを用いて生後2、8、10、12週齢Hmga2ノックアウトマウス下顎切歯形態を野生型マウスと比較した。歯冠および歯根形態には明らかな違いを認めなかった。しかし歯冠先端部から根尖までの長さはノックアウトマウスで有意に減少した。

CRISPR/Cas9システムを用いた細胞によるHmga2関連因子特定については、クローンを作製後ウェスタンブロットにおいてhmg2のタンパク質発現を確認した。リアルタイムPCRでは、hmg2の低下と共にSox2およびNanogの低下を確認した。

【結論】

Hmga2は下顎切歯歯胚に発現し、成長段階に応じてその発現が変化していくことが分かった。未分化間葉系細胞に強く発現することから、幹細胞因子等に関与し、下顎切歯の歯胚、歯冠、歯根の形成に影響を与えることが確認された。またHmga2遺伝子の発現が停止することで、歯の成長が遅延することも分かった。in vitroアッセイの結果からも、幹細胞因子であるhmg2が他の幹細胞因子であるSox2やNanogと作用し歯の形成に大きな役割を果たしていることが示唆された。今後、ノックアウトマウスのさらなる歯牙の解析やPCR等のin vitroアッセイを行い、Hmga2と歯根伸長の関与について詳しく解析していく予定である。

本研究はJSPS科研費 JP19K24157の助成を受けたものである。

歯科用チェアユニット水回路における微生物汚染の迅速検査法

○中野雅子、高尾亜由子*、細矢哲康
鶴見大学歯学部 歯内療法学講座、口腔微生物学講座*

A rapid inspection method for microbiological contamination in dental unit water lines.

○NAKANO Masako, TAKAO Ayuko*, HOSOYA Noriyasu
Depts. of Endodontology and Oral Microbiology*, Tsurumi University School of Dental Medicine

[背景]

超高齢社会を迎えた日本では、易感染性宿主が歯科診療を受診する機会が増加しており、歯科用チェアユニットを経由して給水されるユニット水の微生物汚染対策は公衆衛生上の重要な課題である。鶴見大学歯学部附属病院では、ユニット水の管理を目的に、歯科用チェアユニットから定期的に採水し、遊離塩素濃度と従属栄養細菌数を測定している。しかし、従属栄養細菌数の測定には、培養期間に1週間程度を要するため、ユニット水の使用管理に十分に反映することができない。また、検査が整っていない医療機関では、水回路の消毒やフラッシングの効果の確認することができない。今後、ユニット水の管理や消毒を広く普及させるためには、簡単に迅速に微生物汚染の検査法が必要である。

[目的]

歯科用チェアユニット水回路における微生物汚染を迅速に検査する方法の確立を目的として、すでに様々な分野で、衛生管理状況の検査法として応用されているATP測定法を用いたユニット水の汚染状況の検査法を検討することとした。

本研究では、従来の水質検査項目の遊離塩素濃度ならびに従属栄養細菌数に加え、ユニット水に含まれるATP量を測定した。測定結果から、従属栄養細菌数とATP量の関係を解析し、ユニット水における微生物汚染の検査法としてのATP測定法の有用性を検討した。

[材料と方法]

被験試料は、鶴見大学歯学部附属病院の39台の歯科用チェアユニットから供給されるユニット水である。遊離塩素濃度の測定(Mini Direct; セントラル科学)、従属栄養細菌数の測定(R2A 寒天培地、ニッスイ)、ならびにATP測定(ルミテスター Smart、ルシパック A3 Water、キッコーマンバイオケミファ)を行った。総菌数とATP量との関係は、Spearmanの相関性検定により解析した。ユニット水から検出された従属栄養細菌が2,000 CFU/mL以上(水道水における暫定基準値)の場合を汚染状態として、ATP量との間でROC曲線を作成した。すべての統計処理にはEZRを使用した。

[結果]

すべての被験試料において総菌数とATP量の間には有意な相関($\rho=0.773$; $P<0.001$)が認められた。ATP量39RLU以上を汚染のカットオフ値とした場合、ROC曲線下面積は0.906(95%信頼区間 0.814-0.999)で、感度は0.941、特異度は0.773であった。

[考察]

ユニット水の微生物汚染は、主に従属栄養細菌によりユニットの水回路に形成されるバイオフィームが原因と考えられている。ATP測定法は、衛生管理状況の検査として様々な分野で応用されていることから、歯科臨床におけるユニット水の微生物汚染の迅速検査法として利用することを検討した。検出菌数とATP量間には有意な相関が認められ、39RLUをカットオフポイントとすると、汚染状態の偽陰性が6%、擬陽性は約23%であったことから、ユニット水の検査法としても有効であると考えられる。

[結論]

既存検査キットを用いるATP測定は、ユニット水の汚染状態を迅速に数値化できることから、すべての臨床現場において検査が可能であり、衛生管理において非常に有用である。

口腔内カメラの映像を見ながら治療する方法の根拠とテクニック

藤江デンタルクリニック¹, 鶴見大学歯学部保存修復学講座²

○藤江英宏^{1,2}, 山本雄嗣²

Basis and techniques of dental treatments with viewing images of intraoral camera.

Fujie Dental Clinic¹,

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine²

○FUJIE Hidehiro^{1,2}, YAMAMOTO Takatsugu²

【緒言】

演者は2002年に口腔内カメラの映像を見ながら診療する方法を開始した。それ以来、口腔内診査・歯周基本治療・保存修復・歯内療法・補綴治療などの日常診療でその手法を実践してきた。またその手法に関する研究について保存学会にて報告してきた。今回の発表では、映像を見ながら治療できる根拠となるアイデアを提示し、さらにその手法を実践するための口腔内カメラの基本テクニックについて解説したい。

【根拠となるアイデア】

12時の位置から口腔内カメラで撮影すると、通常「モニター画面に映った歯の上下左右の方向」と「実際の歯の上下左右の方向」は一致していない。その2つの方向を一致させると、映像を見て実際の被写体の上下左右の方向が直観的に分かるようになり、映像を見ながらスムーズに撮影し、診療器具を意図した方向に動かして治療できるようになる。

【使用機材】

口腔内カメラ (Einstein lumica, RF system lab.)・マイクロ波受信機 (Morse type S, RF system lab.)・液晶テレビ (LC-19K30, Sharp)を用いる。この口腔内カメラは映像を左右反転と180°回転ができる。

【部位別撮影方向】

術者は12時の位置で撮影することを基本とし、口腔内を2種類の撮影部位に分け、それぞれの部位に合わせて一定の方向から撮影するようにする。直視可能な部位は口腔内カメラのレンズを術者に背を向けて撮影し、直視不可能な部位はレンズを術者に対面させて撮影する。

直視可能部位 術者と対面している部位。障害物がなければ直視できる部位である。下顎の歯列全体や上顎前歯唇側面がこれに相当する。この部位は上顎や口唇などの陰に隠れなければ直視可能である。

直視不可能部位 術者の位置からは裏面になる部位。上体を大きく前傾しない限り直視できない位置である。上顎臼歯咬合面や上顎前歯舌側面がこれに相当する。

術者に背面方向 口腔内カメラのレンズを術者と反対方向に向けて撮影。直視した実物の歯と画面上の歯の上下・左右・前後の方向がすべて一致する。(映像の向き:180°回転)

術者に対面方向 口腔内カメラのレンズを術者方向に向けて撮影。実際の歯と画面上の歯の上下・左右の位置関係が一致する。前後方向は逆になる。(映像の向き:180°回転+左右反転)

【基本テクニック】

モニターの被写体の方向と実物の方向を一致させ、映像を見ながら治療するための方法を下記に記す。

- ①患者は診療台の上で上顎咬合平面が床面に対して垂直になるようになら水平位になる。
- ②術者は12時の位置に座って、前方のモニター画面を見ながら診療する。
- ③口腔内カメラのヘッドを左右に傾けず、下方へ向けながら非利き手で持って撮影する。
- ④前歯部唇面以外の上顎の撮影では映像を180°回転+左右反転、下顎と上顎前歯部唇面では180°回転させる。

研修医キャリア教育における資格保有の一考察 第4報 (Matching 合格へ導いた二例目)

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

A study Dental intern of career education qualification –Part 4–(Second case that led to matching pass)

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

【 緒 言 】

先の151回本学会において、学生のキャリア教育の際に、キャリアコンサルタント国家資格を有する歯科医師(教員)が実施した学生の希望する研修医施設マッチング合格に向けての目標と対策、すなわち先事例では自衛隊歯科医官(初任実務研修)採用のための国家公務員試験(学科+面接試験)成功例のプロセスの知見を報告したが、今回は、その二例目について希望研修施設においての具体的なキャリアデザインを描いて貰い、補欠合格(現時点)までのコンサルティングをキャリアコンサルタント(歯科医師)が行い、その道程を考察したのでここに報告する。

【 方 法 】(151回本学会の【方法】に準拠)

- ① 5年次院内生へ上記試験に関するキャリアガイダンスの実施。(自衛隊○○地方協力本部○○地域事務所所員:幹部自衛官からのアナウンス)。リクルーターとして母校卒の歯科医官および演者(元・歯科医官)からの説明。
- ② キャリアガイダンス終了後、入隊希望者への意思確認。(陸上・海上・航空自衛隊からの選択:各々、自衛隊中央委病院、横須賀病院、岐阜病院→入間病院+防衛医科大学校病院歯科口腔外科の研修施設選択を決める。)
- ③ 6年次の5月中旬の一次試験(筆記試験:国数理社英の国家公務員特別職・多岐選択問題および論述試験:専門科目)に向けて、約二か月間で合格可能なレベルに達するような指導。(過去問題を含めた傾向と対策)
- ④ 同年6月中旬の二次試験(面接試験+身体検査)に向けて、約一週間で合格可能なレベルに達するような指導。(模擬面接のロールプレイを含めた傾向と対策)及び心身の自己管理(一次試験前からセルフコントロール)。
- ⑤ 上記合格者(同年8月上旬発表)に対して、キャリア(自衛隊歯科医官の職歴)に関するモチベーション維持を図りながら、卒業試験ならびに歯科医師国家試験に向けての自己肯定感・自己効力感を涵養していく。

【 結 果 】

上記ケースでは、2名受験→1名補欠合格(50%内定合格率)である。(海上自衛隊採用:臨床研修医マッチングにおける繰り上げ合格になるため、現在経過観察中の状況である。)

【 考 察 】

1. 歯科医師のキャリアデザインにおいては前年度同様、年々その就職が、公務員志向へと高まってきている。当然ながら現時点では、29歯学部・歯科大学においても6学年の学修に関しては「公務員試験受験のための講座」が開設されていないのが現状であることに鑑み、今後、公務員試験を考える学生は、低学年から自己啓発の一環として、専門科目に支障を来さない程度に勉強していくことが望まれるのではないかと考える。その対応策として今回は国家公務員過去問題を前回よりボリュームアップしキャリアコン(歯科医師)自ら質問等に応じた事が功を奏したと考える。
2. 心身面のバランスの維持、特に身体面のボディイメージ(身長に見合った体重管理)が、二次試験の身体検査に影響を与えるため、平日頃の食事・運動・睡眠等の生活習慣指導を積極的に行ったことが功を奏した半面、擁護的が強すぎる帰来から、鬱陶しさの印象をうかがえる学生もいたことにより、今後の改善点として挙げられると考える。
3. 入隊後のキャリアデザインを受験生に描いてもらうこと、すなわち陸海空選択の意義、各研修施設の特徴、全国区への命令による異動等の事前キャリアプランニングをしてもらったことで、自律的な選択決定が出来たと考える。

【 結 論 】

以上のことから、今回は補欠合格(繰り上げ合格待ち)の段階による経過観察中ではあるものの、キャリアコンサルタントの有資格者(歯科医師の教員)が積極的にマッチング更には卒業試験および歯科医師国家試験を控えた学生への今後のキャリアデザインやライフプランニングに関わったことにより、キャリアコンサルティングの目的でもあるところの生き生きとした前向きな就職活動の自己決定(受験生の弁)ができる道標を支援することができた。

Effect of Silane Content on the Chemical Interactions of MDP-base Adhesive/primer with Zirconia: a NMR Study

Shu-Ye¹, ○Shu-Fen Chuang^{1,2*}, Sheng-Shu Hou³, Jui-Che Lin³

¹*School of Dentistry and Institute of Oral Medicine, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan*

²*Department of Stomatology, National Cheng Kung Hospital, Tainan, Taiwan*

³*Department of Chemical Engineering, National Cheng Kung University*

I. Objective: The effectiveness of MDP monomer in universal adhesives on promoting zirconia adhesion has been confirmed. However, recent studies have revealed the impairment of bonding between zirconia and MDP primer due to the presence of silane. In this study, the effects of different silane contents on the P-O-Zr bond conditions generated by MDP-base adhesive/primer were investigated by using magic angle spinning (MAS) solid-state nuclear magnetic resonance (NMR).

II. Materials & Methods: One silane-free MDP base adhesive (All-Bond Universal, ABU) and one primer (Clearfil SE Bond, SB) were adapted to prepared four silane-containing experimental adhesives/primers by adding 2.5% and 5% silane (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) respectively: ABU-S2.5, ABU-S5, SB-S2.5, and SB-S5. These adhesives/primers were individually mixed with 0.6g zirconia power (Tosoh, Japan) and acetone, then agitated for 20 min via ultrasonic vibration. All solutions have been left for 30 min followed by a centrifugation procedure. After the supernatant has been mostly removed, the samples were examined by using a 400MHz NMR Spectrometer (Bruker Avance III HD, Bruker Biospin, Rheinstetten, German). A ³¹P solid-state NMR examined the types of chemical bonds between zirconia and MDP including hydrogen bonding and ionic bonding.

III. Results: All the adhesives/primers showed several types of P-O-Zr or P-OH-Zr bonding on zirconia particles. Both ABU and SB presented two separate resonances at -2.6 ppm and -7.7 ppm, which represented the successfully chemisorbed MDP monomers. These two shifts indicated either the pure bridging P-O-Zr or hydrogen-bonding interactions with zirconia via P=O (oxo group). Additionally, ABU showed a higher resonance shoulder peak at -13.7 ppm assigned to physisorbed MDP dimer compared to SB. With the increased silane contents, the strengths of their ionic bonds (-2.6 ppm) and physisorbed dimer decreased, while the effect of hydrogen-bonding interactions (-7.7 ppm) was enhanced. Both ABU-S5 and SB-S5 did not revealed the presence of MDP dimer.

IV. Conclusion: The solid state NMR analysis revealed that 10-MDP can be adsorbed onto the zirconia particles in either monomer and dimer forms. NMR also provided a detailed information about the chemical state of zirconia-phosphate bonding. The silane-free ABU and SB presented higher P-O-Zr ionic bonds, which was affected by the silane content. A high silane content accelerated the P-OH-Zr bond formation, and also diminished the existence of physisorbed dimers.

Chemical Interactions of Universal Adhesives with Zirconia: a Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS) Study

○Shu-Ye^{1*}, Shu-Fen Chuang^{1,2}, Li-Li Kang^{3,4}, Jui-Che Lin⁵

¹*School of Dentistry and Institute of Oral Medicine, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan*

²*Department of Stomatology, National Cheng Kung Hospital, Tainan, Taiwan*

³*Institute of Manufacturing Information and Systems, National Cheng Kung University*

⁴*Department of Dental Laboratory Technology, Min-Hwei College of Health Care Management, Tainan, Taiwan*

⁵*Department of Chemical Engineering, National Cheng Kung University*

I. Objective: MDP-based universal adhesives have been developed to improve the bonding quality between zirconia and resin cement by establishing P-O-Zr bonding. However, this reaction may be compromised by the co-existence of silane. The purpose of this study was to investigate the interaction of silane and MDP in universal adhesives and its effects on zirconia bonding by using Time-of-flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS).

II. Materials & Methods: Four commercial universal adhesives were included in this study: two silane-containing adhesives Scotchbond Universal (SBU) and Clearfil Universal Bond (CUB); and two silane-free ones All-Bond Universal (ABU) and Clearfil SE Bond (SB) primer. Zirconia disks (Cercon ht, Dentsply) were fabricated and individually treated with these adhesives/primer. Ultrathin coatings of these adhesives/primer were prepared on zirconia. A high-resolution ToF-SIMS spectrometry performed a depth-profiling sputtering and analysis. The distributions of P-O and P-O-Zr related ions at the interfacial layers and their possible penetrations into zirconia has been examined.

III. Results: The silane-containing adhesives (SBU and CUB) exhibited high silane-related ions on the top layer, while half of these ions were hydrolyzed. The contents of these silane-related ions decreased at the interfacial layer. The presence of $ZrO_2(OH)$ ion above zirconia in CUB indicated the absorption of hydroxyl group because of the presence of silane. All the universal adhesives/primer showed the presences of PO related ions on the interface with zirconia. CUB and SE primer presented higher PO_3^-/PO_2^- proportion compared to ABU and SBU, while this proportion has been considered as an indicator of zirconia phosphate compound formation. The SE primer also displayed greater amounts of P-O-Zr ions at the interface, and deeper infiltration of PO-ions into zirconia in the depth-profiling analysis.

IV. Conclusion: The ToF-SIMS analysis is capable to reveal the distribution of silane- and MDP-related ions in the adhesive layers, and their chemical interactions to zirconia. Silane-free primer SB presented higher concentration of PO-related ions on the interface and deeper penetrations which might relate to good bond performance. The amount of P-O-Zr bond decreased in silane-contained universal adhesives, which indicated the interaction of MDP and zirconia may be impaired by the silane content.

Restoring Maxillary Left Central Incisor with a Zirconia Crown after Bleaching on the Maxillary Dentition: a Case Report

○Yung-Show Chiang

Department of Dentistry, Tainan Municipal Hospital (Managed by Show Chwan Medical Care Corporation), Taiwan

I. Introduction:

It is difficult to achieve complete symmetry when restoring unilateral maxillary central incisor. In the case of discolored dentition, bleaching is useful to reach an overall whitening outcome.

II. Case:

A 50-year-old healthy, non-smoking male patient needed to remove the old porcelain-fused-to-metal (PFM) crown on his maxillary left central incisor for the root canal therapy because he had an abscess tracing to the periapical radiolucency. Owing to his discolored dentition, he accepted bleaching on his maxillary teeth. A crown with a core of zirconia was fabricated to hide the dark shade. Outside veneering porcelain was used for the translucency. In view of his anterior open-bite, the fracture of porcelain seldom happens. However, the concern of biting hard food was told to the patient.

III. Discussion:

All ceramic crowns overcome the esthetic limitation of conventional PFM crowns by improving the translucency and eliminating the greyish shade. Bleaching is helpful to achieve an overall whitening outcome in the case of discolored dentition. The patient accepted bleaching on his maxillary teeth first because of the financial concern. He was satisfied with the effect after bleaching on his maxillary dentition. A crown with a core of zirconia was fabricated to hide the dark shade. Outside veneering porcelain was used for matching the translucency and the color of the contralateral central incisor. Nevertheless, the bond strength between the zirconia and the veneering porcelain was less than that between the metal and the veneering porcelain. The patient needs to avoid biting hard food.

IV. Conclusion:

A zirconia crown provided for the ability to hide the dark shade of the tooth. The veneering porcelain matched the translucency and the color of the contralateral central incisor. In the case of discolored dentition, bleaching is helpful to reach an overall whitening outcome. Keeping away from biting hard food was indicated for the zirconia crown with veneering porcelain despite anterior open-bite.

The Effects of Chlorhexidine on the Retention of the Composite Resin Filling Using Etch-and-rinse Adhesive

○Gi-Tsin Li¹, Hui-Ping Sun², Yun-Ju Ma¹, Yung-Show Chiang¹

¹*Department of dentistry, Tainan municipal hospital (Managed by Show Chwan Medical Care Corporation), Taiwan*

²*Department of nursing, Tainan municipal hospital(Managed by Show Chwan Medical Care Corporation),Taiwan*

I. Object:

The purpose of this study was to investigate the effects of chlorhexidine (CHX) on the retention of composite resin filling. It has been demonstrated that CHX solutions are capable of inhibiting matrix metalloproteinases (MMPs) and reducing collagen fibril solubility in an aqueous medium. CHX has been recommended by various authors as an effective agent to disinfect dentin. It is also effective in reducing the levels of *S. mutans* found on exposed carious root surfaces. Therefore, the purpose of the study is to investigate whether using CHX after total etching could maintain the retention of composite resin filling.

II. Materials & Methods:

According to evidence-based dentistry, PICO format was as follows: the patient or problem—the patients who need composite resin filling, the intervention—using CHX, comparison of interventions—not using CHX or placebo solution, the outcome—maintain the retention of composite resin filling. Utilizing English key words by Boolean logic, excluding in vitro studies and non-etch-and-rinse adhesive, the results were as follows: 2 randomized controlled trials (RCTs) and 2 cohort studies.

III. Results:

The first RCT was designed as randomized, split-mouth and triple-blind clinical trial. The primary clinical outcome was to evaluate the retention of the restoration of non-carious cervical lesions. After 36-month of follow-up, the result showed that there was no difference between experimental group and control group($p=0.968$).The second RCT was a randomized, split-mouth and triple-blind clinical trial. The primary clinical outcome was to evaluate the retention of the restoration of non-carious cervical lesions. As for retention rate, after 6 months of follow-up, there was no statistically significant difference between control and test treatments ($p=0.920$). The incidence of no retention in test group is 3.29% and that of control group is 3.57%, Number needed to harm (NNH)=357.1.The first cohort study was a randomized and split-mouth clinical trial. There was no statistical difference between two groups regarding to retention rate after 36 months follow up. The incidence of no retention in test group is 24% and that of control group is 12%,NNH=9.The second Cohort study was a randomized and split-mouth clinical trial. Children presenting at least one pair of contralateral primary molars with occlusal carious lesions were enrolled in the study .There was no statistical significant differences of bond strength between control group and test group.

IV. Conclusion:

According to these 4 studies by the method of evidence-based medicine, we could get a conclusion that CHX did not enhance the retention of composite resin filling when using etch-and-rinse adhesive.