

う蝕深さとコンポジットレジン修復後2年間における歯内治療発生率の関係性

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野

○佐藤隆明¹, 田上順次¹**Quantitative evaluation in relation to caries depth and prognosis of resin composite restoration**¹ Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University○Takaaki Sato¹, Junji Tagami¹

【諸言】これまでの諸研究から「う蝕治療ガイドライン」をはじめとして、いくつもの臨床指針が示されている。その中で、深在性う蝕は術中露髄や術後歯髄炎などにより歯内治療が必要となるケースが少なくなく、歯髄温存療法が推奨されている。しかし、どの程度進行したう蝕をもって歯髄温存療法を行うべき深在性う蝕とするか定義は一定ではない。そこで本研究では、術前レントゲン写真によるう蝕深さと、う蝕完全除去・直接法コンポジットレジン (CR) 修復を行った治療後2年間における歯内治療発生率の関係性を検討した。

【方法】本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認を受けて実施した(承認番号: D2019-015)。電子カルテより、東京医科歯科大学歯学部附属病院むし歯外来にてCR修復治療された成人316人507本のデータを収集、分析を行った。う蝕深さは術前のレントゲン写真における歯質外側(A点)、う蝕最深部(B点)、歯髄(C点)より距離の割合(AB/AC)%として測定した。CR修復治療後の歯内治療施行をアウトカムとしてCoxハザード分析を実施し、Kaplan-Meier曲線を作成した。統計学的有意水準は5%とした。

【結果】本研究の対象者は316名(52.6±16.3歳、女性64.2%)であった。歯内治療発生率はう蝕深さ80%未満において0.2%、80-89%において10.4%、90%以上において27.3%であった。Coxハザード分析の結果、う蝕深さ80%未満に対するハザード比(95%信頼区間)は、80-89%において36.78(4.53-299.00)、90%以上において104.39(12.19-894.04)であった(p<0.01)。

【結論】このことより、う蝕完全除去・直接法コンポジットレジン修復を行う際、術前のレントゲン写真におけるう蝕深さが80%以上の症例においては術後2年以内における歯内治療発生率が高くなることが示唆された。

Table Prognosis following composite resin restoration

	Total n (column %)	No root canal treatment n (row %)	Root canal treatment n (row %)	Tooth-month followed Mean
Total	507 (100)	491 (96.8)	16 (3.2)	17.07
Cavity lesion size				
<30%	37 (7.3)	37 (100.0)	0 (0.0)	15.49
30%-39%	48 (9.5)	48 (100.0)	0 (0.0)	17.94
40%-49%	54 (10.6)	54 (100.0)	0 (0.0)	18.72
50%-59%	81 (16.0)	80 (98.8)	1 (1.2)	16.31
60%-69%	90 (17.8)	90 (100.0)	0 (0.0)	16.34
70%-79%	98 (19.3)	97 (99.0)	1 (1.0)	18.24
80%-89%	77 (15.2)	69 (89.6)	8 (10.4)	17.23
≥90%	22 (4.3)	16 (72.7)	6 (27.3)	13.86

SD, standard deviation

低ホウ素濃度 S-PRG フィラー抽出液がヒト歯髄由来幹細胞の動態に及ぼす影響 —陰イオン交換材によるホウ素濃度の制御—

¹⁾ 朝日大学歯学部歯科保存学分野歯冠修復学, ²⁾ 口腔生化学分野, ³⁾ 歯科理工学分野, ⁴⁾ 朝日大学
○巽勇介¹⁾, 川木晴美²⁾, 上野恭平²⁾, 新谷耕平³⁾, 近藤信夫²⁾, 堀田正人⁴⁾, 二階堂徹¹⁾

Effects of S-PRG eluate with reduced boron concentration on the human dental pulp stem cell activities

¹⁾ Department of Operative Dentistry, ²⁾ Department of Oral Biochemistry,
³⁾ Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry, ⁴⁾ Asahi University
○TATSUMI Yusuke¹⁾, KAWAKI Harumi²⁾, UENO Kyohei²⁾, SHINTANI Kohei³⁾,
KONDOH Nobuo²⁾, HOTTA Masato⁴⁾, NIKAIDO Toru¹⁾

【研究目的】

Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーは、表層から表面改質層、グラスアイオノマー相、ガラスコアの3層構造からなり、表面のグラスアイオノマー相からはフッ素イオン (F⁻) をはじめ、ストロンチウムイオン (Sr²⁺)、ナトリウムイオン (Na⁺)、アルミニウムイオン (Al³⁺)、ホウ酸イオン (BO₃³⁻)、ケイ酸イオン (SiO₃²⁻) 等の種々のイオンを徐放する特性をもつ。このような性質をもつ S-PRG フィラー由来の抽出液を新たな歯科材料として応用するためには、溶媒中での S-PRG フィラーからのイオンの徐放挙動や、徐放したイオンに対する生体の応答、体液中の成分の S-PRG フィラーへの吸着挙動を明らかにする必要がある。

我々はこれまでに、S-PRG フィラー由来の溶出物でホウ素の濃度が顕著に高く、その他の溶出成分が微量な S-PRG フィラー抽出液を作製し、これを添加した培地がヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性を上昇させることを見出した。しかし、この結果が、ホウ素単独の作用であるのか、他の成分共存下でのホウ素の作用であるのかは不明である。そこで本研究では、多成分系におけるホウ素の細胞動態に対する作用を解明するため、ホウ素を選択的に除去する陰イオン交換材であるアンバーライトを用い、ホウ素濃度を低下させた改変型 S-PRG フィラー抽出液を作製し、hDPSC の動態評価に用いた。

【材料および方法】

S-PRG フィラー抽出液は、S-PRG フィラー/蒸留水(DW) = 1 : 1 で作製したものを株式会社松風より提供を受けた。アンバーライトはホウ素選択性の高いアンバーライト IRA743 (オルガノ) を用いた。まず、陰イオン交換材アンバーライトの使用量と S-PRG フィラー抽出液への浸漬時間を最適化するために、S-PRG フィラー抽出液に対してアンバーライトを添加し、室温にて 1-24 時間振とうし、処理後の S-PRG フィラー抽出液中の元素量を ICP 発光分析 (島津製作所) およびフッ素イオン電極法 (Orion Research) により測定した。さらに、以上の方法により調製したホウ素含有量の異なる改変型 S-PRG フィラー抽出液を用いて、hDPSC の細胞増殖および ALP 活性を評価する予定である。

【結果および考察】

S-PRG フィラー抽出液に対するホウ素選択性アンバーライト IRA743 のイオン交換能について検討したところ、最も除去効率の良い条件では、抽出液中のホウ素濃度は 1354.63 ppm から 1.55 ppm へと大きく減少した。一方、その他のイオン濃度についてはほとんど変化が認められなかった。このことからホウ素選択性アンバーライトは、抽出液中のホウ素のみを選択的に吸着除去可能な材料であることがわかった。また、イオン交換時間の影響を検討したところ、アンバーライトの浸漬時間の増加に伴い、抽出液中のホウ素濃度が低下したことから、イオン交換時間により任意のホウ素量を含む改変型 S-PRG フィラー抽出液の作製が可能であることもわかった。この結果をもとに、様々なホウ素含有量の改変型 S-PRG フィラー抽出液を作製し、hDPSC の細胞増殖および ALP 活性を評価し、多成分系でのホウ素が細胞動態に与える影響について報告を行う。

4-META/MMA-TBB 系レジンセメント接着阻害因子に対する プラチナナノコロイドの影響及びアクセルとの比較

北海道大学 歯学研究院 口腔健康科学分野 歯科保存学教室

○鈴木 一矢 袁 媛 星加 修平

モニカ ヤマウチ 佐野 英彦

The effect of Colloidal Platinum Nanoparticles and Accel on adhesion inhibitor of 4-META/MMA-TBB resin

Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

○Kazuya SUZUKI Yuan YUAN Shuhei HOSHIKA

Monica YAMAUTI and Hidehiko SANO

目的：本研究では、化学重合型で最も有名な接着性レジンセメントの1つであるスーパーボンドC&B(サンメディカル)の次亜塩素酸ナトリウム処理による著しい接着阻害をリカバーする手段について検討した。アクセル(サンメディカル)を使用する事で接着強さは回復するとされているが、ナノテクノロジーの歯科医療における応用が叫ばれる昨今、プラチナナノコロイド(CPN(アプト))を用いた歯面処理が注目されている。CPNは強い還元作用・抗菌作用を持ち、単独では象牙質に対するスーパーボンドの接着強さ向上が示されている。そのCPNと、アクセルによる処理をした際の象牙質とスーパーボンドとの接着強さを微小引張り試験(μ -TBS)により比較し、根管充填後に当日直接法にて支台築造を行う場合などの臨床的な背景を鑑みて比較した。

材料と方法：抜歯後2週間以内のヒト抜去臼歯(n=16)象牙質を接着するにあたり、咬合面からトリマーを用いて注水下にてエナメル質を削除し#600のシリコンカーパイドペーパーで研磨後、歯質を表面処理剤グリーン(サンメディカル)で10秒エッチング後に水洗・乾燥し混合法にてスーパーボンドで接着するコントロール群、10%NaOCl(ネオクリナー『セキネ』(ネオ製薬工業))で15秒処理の上、コントロール群と同様の方法にて接着する群(NaOCl群)、10%NaOClで15秒処理の上、CPNで30秒処理後に水洗し以降はコントロール群と同様の方法にて接着する群(NaOCl-CPN群)、10%NaOClで15秒処理の上、アクセルで10秒間処理しその後コントロール群と同様の方法で接着する群(NaOCl-Accel群)の4群とし、ダイヤモンドカッターを使用し上下の2面が1mm四方となるようそれぞれ抜去歯の大きさに応じて6本から12本のビーム型試料を切り出した。その後、それぞれ微小引張り試験を行いその接着強さを比較し、拡大鏡にて破断面の確認・分類を行い、破断面・接着界面を走査型電子顕微鏡(SEM)で観察した。

結果：コントロール群は16.7MPa(S.D.:6.3)、NaOCl群で平均値が最も小さく14.3MPa(S.D.:8.7)、NaOCl-CPN群は19.4MPa(S.D.:11.5)、NaOCl-Accel群は平均値が最も大きく31.7MPa(S.D.:14.0)であった。分散分析(one-way ANOVA)後に行なった最小有意差検定(LSD)において、NaOCl-Accel群はコントロール群、NaOCl群、NaOCl-CPN群のいずれの群とも有意差が認められた($P<0.05$)。コントロール群と比較しNaOCl-CPN群でやや数値が大きい傾向があるが、有意差は認められなかった。それに加えて、上記以外の全ての群において有意差は認められなかった。また、SEMによる観察においては、コントロール群ではスーパーボンドが象牙細管内に150 μ m前後入り込んでいるのに対して、NaOCl-Accel群では200 μ m程度であった。

考察：今回の結果から、NaOCl処理に対してAccel処理した群においては、平均値は上昇し、コントロール群との有意差が認められた。NaOCl処理に対してCPN処理した群においては、平均値は上昇したものの有意差は認められなかった。以上の結果は、それぞれの群に対して、NaOCl処理の時間が15秒つまり、スーパーボンドの添付文書において許容されている範囲の限界内であったため、コントロール群と比較した際にNaOCl群において有意差のある程度の接着強さの低下を招いていないためであると思われる。NaOCl-Accel群及びNaOCl-CPN群における接着強さの回復を確認するためには、今後、NaOCl処理時間をより長時間にした群を作成し、コントロール群より有意に接着強さの低下したNaOCl群を作成し比較することが必要であると考えられる。

結論：ヒト象牙質に対して、15秒間の10%NaOCl処理後にAccelを使用する事で接着強さはコントロール群、NaOCl群、NaOCl-CPN群と比較して向上する事が示唆された。

架橋形成抑制コラーゲンにおける魚由来コラーゲンペプチドの *in vitro* 石灰化に及ぼす影響

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

○山田 志津香, 山本 耕平, 松裏 貴史, 中園 史子, 石崎 秀隆, 柳口 嘉治郎, 吉村 篤利

Effect of Fish Collagen Peptides on Cross-linking Suppressed Collagen In Vitro Model for Calcification
Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
○YAMADA Shizuka, YAMAMOTO Kohei, MATSUURA Takashi, NAKAZONO Ayako, ISHIZAKI Hidetaka,
YANAGIGUCHI Kajiro, YOSHIMURA Atsutoshi

【緒言】

これまで、当教室では魚由来コラーゲンペプチド (FCP) を用いて、MC3T3-E1 細胞におけるコラーゲンの合成およびコラーゲン翻訳後修飾関連酵素であるリシルヒドロキシラーゼ (LH) 1~3, リシルオキシダーゼ (LOX), LOXL1~4, グリコシルトランスフェラーゼ 25 ドメイン 1 (GLT25D1) の遺伝子発現に対する影響を生化学的手法により調査してきた。その結果、FCP は 0.2% という低濃度で、最もコラーゲン合成を増加させ、LH1~3, LOXL2~4 および GLT25D1 の遺伝子発現増加を介してコラーゲン架橋形成を促進することにより、石灰化を誘導することが判明した。その後、FCP 粉末を分子ふるいクロマトグラフィーにより分画化して、MC3T3-E1 細胞における LH および LOX への FCP の分子量の影響を検討している。上記酵素を介したコラーゲンの生理的架橋は、強靱なコラーゲン線維の形成をもたらし、石灰化に必要な三次元的テンプレートとなり、ミネラルの沈着と成長を制御する。今回は、ミノキシジル (Mx) により LH 発現を抑制することで生理的架橋形成が低下したコラーゲンにおいて、FCP が石灰化にどのような影響を及ぼすのかを *in vitro* で検討した。

【材料と方法】

本研究では、分画した FCP での実験結果に基づき、株式会社ニッピより供与された分子量約 2.8 kDa の FCP 粉末を使用した。細胞は、American Type Culture Collection (CRL-2593) から購入したマウス頭蓋骨由来前骨芽細胞である MC3T3-E1 細胞 (subclone 4) を用いた。

まず、S. Murad らの報告^{1,2)}を参考に 25, 50, 100 μ M の Mx 溶液を添加した培地で MC3T3-E1 細胞を培養した。培養 3 日目に細胞を回収し、total RNA から mRNA を精製、cDNA を合成後、RT-PCR 解析により LH1, 2 が最も抑制された濃度を、Mx の至適濃度と決定した。

次に、MC3T3-E1 細胞を 6 well 皿に 5×10^4 個/well 播種後、5%CO₂, 37°C で 10%FBS 含有 α -MEM を用いて培養し、サブコンフルエント後、3 群において、それぞれ「総濃度 0.2% FCP」、「同濃度 FCP+至適濃度の Mx」、「至適濃度の Mx」を添加した 10%FBS+5mM β グリセロリン酸 (β -GP) 含有 α -MEM に交換し、上記条件下で培養を行った。FCP 不含の β -GP 添加 α -MEM で培養した MC3T3-E1 細胞をコントロール群とした。各群の培地は 3 日おきに交換した。培養 21 日目に、ホルマリン溶液で細胞を固定後、Alizarin Red S 染色を行った。

【結果とまとめ】

25, 50, 100 μ M Mx 溶液で細胞培養し、RT-PCR 解析を行った結果、100 μ M の Mx 溶液が LH1, 2 の遺伝子発現を抑制したため、100 μ M を至適濃度と決定し、以降の実験に用いた。

Alizarin Red S 染色では、コントロール群、FCP 添加群ともに石灰化塊の形成が見られたが、FCP 添加群が最も高い石灰化度を示した。FCP 不含の Mx 添加群には殆ど石灰化塊が認められなかった。FCP+Mx 添加群では、FCP 不含の Mx 添加群よりもわずかに高い石灰化度を認めた。これらの結果から、FCP は低濃度で、脆弱化したコラーゲンの架橋形成を誘導することにより、石灰化を改善する可能性が示唆された。これまでの FCP に関する報告も併せて考慮すると、FCP は骨再生において、生体材料としての潜在的有用性が高いことが推察される。

【参考文献】

- 1) S Murad, S R Pinnell. Suppression of fibroblast proliferation and lysyl hydroxylase activity by minoxidil. J Biol Chem 1987; 262(25): 11973-11978.
- 2) S Murad, M C Tennant, S R Pinnell. Structure-activity relationship of minoxidil analogs as inhibitors of lysyl hydroxylase in cultured fibroblasts. Arch Biochem Biophys 1992; 292(1): 234-238.

ラット歯根未完成失活歯に対する PRP を応用した歯髄・象牙質再生の可能性

○北島佳代子^{1,2)}、湊 華絵¹⁾、新井恭子¹⁾、佐藤友則¹⁾、清水公太²⁾、鎗田将史²⁾

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

Possibility of dental pulp and dentin regeneration using PRP for immature molars in rats

○KITAJIMA Kayoko^{1,2)}, MINATO Hanae¹⁾, ARAI Kyoko¹⁾, Sato Tomonori¹⁾, SHIMIZU Kota²⁾ and YARITA Masashi²⁾

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

【緒言】歯根未完成失活歯では、従来アペキシフィケーションが適用されてきた。しかし、根尖部の硬組織による封鎖は期待できるが、歯根の伸長と根尖部根管壁の厚みの増加は期待できず、歯根破折の危険を伴う。そこで当講座では、根尖部から血餅を誘導して血管を再生する revascularization を試みている。根管壁の一部に象牙芽細胞様細胞の存在を確認しているが、根尖部周囲から根管内に形成される組織は不規則な骨様硬組織、セメント様組織、血管を含んだ線維性組織等である。そのため歯根の伸長と根管壁の厚みの増加は期待できるが、血流を維持したまま規則的な象牙質形成を継続する理想的な硬組織再生には至っていない。そこで本研究では、ラット歯根未完成歯に対し PRP (Platelet-Rich Plasma) を応用し、血流を維持したまま根管壁面に沿った規則的な象牙質様硬組織形成による歯根の伸長と根管壁の厚径の増加を導くことを目的とした。

【材料および方法】実験動物として6週齢のWistar系雄性ラットを使用し、上顎右側第一臼歯(M1)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、歯冠部歯髄の除去を行った。近心根管の歯髄を作業長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ープ下で除去後、Ni-Tiファイル(PROTAPER® F1, DENTSPLY MAILLEFER, USA)を用いて根管拡大を行った。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。EDTAを応用後、NaClOで洗浄し、ペーパーポイントで乾燥した。ラットから採取した全血から遠心分離2回法によりPRPを作成し、近心根管の歯頸部まで滴下した。近心根以外の根管は生活断髄を行った。術面上にMTA(ProRoot MTA, Dentsply Sirona, USA)を貼付し、上部をレジン系裏層材で裏層後、コンポジットレジン充填を行い、対合歯との接触を回避するよう咬合調整した。術後4週と10週にsacrificeし、パラホルムアルデヒド固定、脱灰、パラフィン包埋し、5μmの連続薄切切片を作製し、HE染色とSchmorl染色を行い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194)を得て実施された。

【結果】4週例では根管内に血管を伴う線維性結合組織の増生がみられ、根尖部根管壁を中心とした硬組織形成が確認された。10週例では根管壁を広く覆う規則的な硬組織形成が確認され、顕著なものでは象牙質様硬組織による根管壁の厚径増加と歯根の伸長が確認された。MTA直下の象牙質様硬組織との間に明瞭な髄角様構造を示すものもみられた。

【考察】これまでフェレット、イヌ、カンクイザル等にPRPを応用したrevascularizationの報告例があるが、形成された組織はいずれも不規則な骨様硬組織、セメント様硬組織、あるいは血管を含んだ線維様組織と報告されている。根管壁や根管内に不規則に形成された硬組織は、再生血管を圧迫し正常な血流にダメージを与える懸念があり、歯髄炎の発現や歯髄壊死の危険も危惧される。臨床において根管治療が必要になった場合には、形態学的な複雑性から根管治療が困難になることも推測される。歯根未完成歯失活歯においても、規則的な象牙質様硬組織による歯根の伸長と根管壁の厚径増加、根尖孔の狭小化を図ることが可能となれば、高齢化社会における歯の寿命の延長の一助として期待できると考えられる。

【結論】ラット歯根未完成失活歯にPRPを応用したところ、根管壁に沿った象牙芽細胞様細胞と規則的な象牙質様硬組織形成による歯根の伸長と歯根厚径の増加を示す例が確認され、PRPによる歯髄・象牙質再生の可能性が示唆された。今後、被験歯数を追加して術式の確立を図るとともに、免疫染色等による詳細な組織学的検討を行う予定である。本研究の一部はJSPS科研費17K11720の助成を受け行ったものである。

ニッケルチタン製ロータリーファイル形成時の根尖方向荷重の違いが 根管追従性、根管形成中の応力、形成時間に与える影響

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

○牧圭一郎, 海老原新, 春日柚香, 大森智史, 雲野颯, 中務太郎, 木村俊介, 興地隆史

Effect of different apical-load on shaping ability, stress generation, and instrumentation time of nickel-titanium rotary instruments

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

○MAKI Keiichiro, EBHARA Arata, KASUGA Yuka, OMORI Satoshi, UNNO Hayate,
NAKATSUKASA Taro, KIMURA Shunsuke, OKIJI Takashi

【目的】ニッケルチタン製ロータリーファイル (以下「NiTi ファイル」) の臨床使用において、根管形成中に根尖方向にかける荷重に明確な指標はなく、根管形成との関係性についてはいまだ検討されていない。そこで本研究では、異なる根尖方向の荷重で根管形成を行い、その相違が根管形成能、形成中に生じる応力、形成時間に与える影響について比較検討した。

【材料および方法】1. 根管形成: J 字型透明根管模型 (#10/17mm, Dentsply Sirona, 以下「根管模型」) に対し、根管上部形成およびグライドパス形成を行った。その後、ProTaper NEXT (Dentsply Sirona) を X1, 2, 3 の順に連続回転 (300 rpm) で、自作型自動根管形成・応力解析装置 (既報¹⁾ の装置を改造、以下「形成装置」) にて根管形成を行った。形成装置は、Dentaport ZX (モリタ製作所) で計測したトルク値に応じて、以下のような動作をするよう設計した。

①0.2 Ncm 未満の場合: 50 mm/min の速度で、2 秒間根尖側、1 秒間歯冠側方向へ上下動を行う。

②0.2 Ncm 以上 2.0 Ncm の場合: ハンドピースに載せた重りにより設定した荷重で自由落下しながら根管形成を行う。

③2.0 Ncm 以上の場合: 自由落下を解除し、50 mm/min で 3 秒間、歯冠側に引き上げる。

自由落下時の荷重を 1, 2, 3 N とする 3 つの実験群を設定し、各群 10 根管形成した。

2. 根管形成能の評価: 形成前後の根管模型をデジタルマイクロスコープ (VH8000, キーエンス) を用いて、20 倍で撮影し、画像解析ソフトウェア (Photoshop 7.0, Adobe Systems) を用いて重ね合わせ、根尖から 0, 0.5, 1, 2, 3 mm の centering ratio を (外彎切削量・内彎切削量)÷形成後の根管の直径 にて算出した。各群のファイルの破折、ねじれおよびレッジを生じた数、その種類を記録した。

3. 応力解析および形成時間の計測: 形成装置にて根管形成中の垂直荷重 (根尖, 歯冠側方向) およびトルク (切削, 非切削方向) を計測し、その最大値を求めた。切削方向のトルクの値が 0.2 Ncm 以上を示した時点から形成完了までの時間を算出し、形成時間とした。

4. 統計学的解析: centering ratio, 垂直荷重およびトルク, 形成時間を、二元配置分散分析および Tukey 法にて、有意水準 5% で解析した。

【結果】根尖から 0 mm の centering ratio は、3 N 群が有意に小さい値 (偏位が小さい) となった ($P < 0.05$)。根尖側方向の垂直荷重は、1, 2, 3 N 群の順に大きい値となった ($P < 0.05$)。歯冠側方向の垂直荷重は、X2 形成時に 3N 群が有意に大きい値となった ($P < 0.05$)。切削方向のトルクは 3 群間で有意差を認めなかった ($P > 0.05$)。X3 の形成時間は 3 N 群で最も短く ($P < 0.05$)、すべての挿入圧において、X2 での形成時間が最も長かった ($P < 0.05$)。

【考察】3N 群において、根尖部の偏位が小さく、X3 の形成時間が短かったことから、形成時の荷重を大きくすることによって X3 の形成時間が短縮し、その結果根尖部の偏位が小さくなった可能性が示唆された。しかし、形成時の荷重が大きい場合は、歯冠側方向の垂直荷重 (screw-in force) が大きくなる可能性に留意すべきと思われる。1~3 N の範囲の形成時の荷重の違いは、形成中に模型に生じるトルクには影響を与えないことが示唆された。

【結論】本実験条件下では、ProTaper NEXT による根管形成時の荷重は、根管形成能、形成時間および垂直荷重 (根尖, 歯冠側方向) に影響を与えるが、形成中に生じるトルクには影響を与えないことが示された。

文献 1) Tokita D, *et.al.* Dynamic torque and vertical force analysis during nickel-titanium rotary root canal preparation with different modes of reciprocal rotation. J Endod 2017; 43: 1706-1710

歯肉幹細胞由来エクソソームは miR-1260b による RANKL 阻害により歯槽骨吸収を抑制する

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯周病学分野

○中尾雄紀、福田隆男、渡邊ゆかり、林千華子、川上賢太郎、豊田真顕、四本かれん、大和寛明、新城尊徳、田中麗、讃井彰一、西村英紀

Exosomes from TNF- α -treated human gingiva-derived MSCs inhibit periodontal bone loss via miR-1260b-mediated RANKL inhibition

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

○Yuki Nakao, Takao Fukuda, Yukari Watanabe, Chikako Hayashi, Kentaro Kawakami, Masaaki Toyoda, Karen Yotsumoto, Hiroaki Yamato, Takanori Shinjyo, Urara Tanaka, Terukazu Sanui, Fusanori Nishimura

[目的]

歯肉幹細胞 (GMSCs) は、採取が比較的容易であり、他の幹細胞に比べエクソソームをより多く分泌するという特性をもつ。先行研究において、GMSCs 由来エクソソームによる M2 型マクロファージの誘導効果が、GMSCs への TNF- α 刺激によりいっそう増強されることを確認した。すなわち、GMSCs 由来エクソソームには、抗炎症効果があると考えられた。一方で、歯周炎における歯槽骨吸収そのものに対する作用は不明である。本研究では、まずマウス歯周炎モデルを用いて GMSCs 由来エクソソーム注入時の歯槽骨吸収抑制効果について検討した。さらに、骨吸収抑制効果の分子基盤を解明するため、in vitro の系を用い、GMSCs 由来エクソソームがヒト初代歯根膜細胞 (PDLcs) の破骨細胞活性化因子 RANKL の発現に及ぼす影響を検証すると同時に、TNF- α 刺激で誘導されるエクソソーム内包 miRNA に着目し、GMSCs の炎症刺激に対するネガティブフィードバック機構に重要な miRNA の同定とその標的シグナルの解析を試みた。

[材料及び方法]

ヒト GMSC を単離し、同細胞の培養上清から回収したエクソソーム、および PDLcs 用いて、以下の実験を行った。

- ① GMSCs の幹細胞特性の評価: CFU-F assay、Flow cytometry、骨・脂肪・軟骨分化
- ② GMSCs 由来エクソソームの性状評価: 電子顕微鏡撮影、粒子径分布測定
- ③ 絹糸結紮マウス歯周炎モデルでの GMSCs 由来エクソソーム局所注入の影響: 組織学的評価、TRAP 染色
- ④ TNF- α 刺激により変動するエクソソーム由来 miRNA のスクリーニング: マイクロアレイ解析
- ⑤ PDLcs における RANKL 発現の検証: LPS 刺激およびエクソソーム処理時の分子の挙動
- ⑥ シグナル伝達経路の検証: シグナル分子の qRT-PCR、ウェスタンブロッティング
- ⑦ エクソソーム由来 miRNA の機能解析: 標的 miRNA mimic およびコントロール miRNA 導入による性状比較

[結果および考察]

分離 GMSCs を用い MSC の特性である幹細胞マーカー発現、コロニー形成能、多分化能を確認した。同細胞の培養上清から精製した GMSCs 由来エクソソーム (無刺激: Exo-Ctrl、TNF- α 刺激: Exo-TNF) がともにエクソソームの典型像を示した。さらに TNF- α 刺激によりエクソソーム分泌量の有意な増加が確認された。

歯周炎モデルマウスにおいて、GMSCs 由来エクソソーム注入により歯槽骨の吸収が抑制された。Exo-TNF 投与群では Exo-Ctrl 投与群より有意な抑制効果が示され、TRAP 染色においても破骨細胞数の減少が確認された。ヒト PDLcs において、GMSCs 由来エクソソームは LPS 誘導性の RANKL 発現を抑制した。このうち、Exo-TNF 処理群では Exo-Ctrl 処理群よりも著明な RANKL 抑制効果を示すと同時に、RANKL/OPG 比の減少が確認された。

GMSCs への TNF- α 刺激によるエクソソーム内包 miRNA の発現変動をマイクロアレイ解析で検証し、Exo-TNF での変動上位群の miRNA mimic を PDLcs へ導入した。その結果、miR-1260b による RANKL の発現抑制効果が確認された。miR-1260b は miRNA 標的検索 (TargetScan、miRanda) により Wnt5a、JNK を標的遺伝子とする可能性が示唆されたことから、miR-1260b mimic を導入した PDLcs において、TLR シグナルを制御する Wnt5a と JNK の活性化状態を確認したところ、リン酸化が抑制されることを確認した。

以上より、歯肉幹細胞由来エクソソームによる歯槽骨吸収抑制効果が確認された。また、エクソソーム内包 miR-1260b による Wnt5a-JNK 経路の抑制を介した RANKL 発現阻害がその効果の一端を担っていることを明らかにした。

(九州大学医系地区倫理審査委員会承認済: 承認番号観察研究: 2019-37、動物実験: A19-284-04)

真菌代謝産物(+)-terrein がマウス骨粗鬆症モデルにおける骨代謝に及ぼす影響

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

○坂井田京佑¹, 大森一弘², 中川沙紀², 佐光秀文², 亀井千晶¹,
山本総司², 小林寛也¹, 山城圭介², 山本直史¹, 高柴正悟¹

Effects of Fungal Metabolite (+)-Terrein on Bone Metabolism in Mouse Osteoporosis Model

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

○SAKAIDA Kyosuke¹, OMORI Kazuhiro², NAKAGAWA Saki², SAKO Hidefumi¹, KAMEI Chiaki¹,
YAMAMOTO Satoshi², KOBAYASHI Hiroya¹, YAMASHIRO Keisuke², YAMAMOTO Tadashi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【目的】

超高齢社会を迎えた日本では骨粗鬆症患者数は約 1,280 万人に達し, 病的骨折リスクの低下を目的とした医療を提供することが喫緊の課題である。一方, 骨粗鬆症治療薬として主に用いられるビスフォスフォネート製剤等には顎骨壊死の副作用が多数報告されている。近年, 8020 運動の効果もあり, 口腔内に多数の歯が残る高齢者数は激増しており, 同剤を使用中的高齢者に対する歯科治療の機会が増加している。そのため, 顎骨壊死のリスクのない生体に優しい新たな骨破壊抑制薬の開発が望まれている。

我々は, 真菌 *Aspergillus terreus* が産生する二次代謝産物(+)-terrein (TER) の抗炎症効果に着目し研究を進めている。これまでに, ① TER の有機化学的大量合成経路の確立, ② 抗 interleukin-6 効果, ③ receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) 誘導性破骨細胞分化抑制効果を報告した。そして, TER の骨破壊疾患治療薬としての応用を検討しているが, TER の骨代謝に及ぼす機序は未だ不明な点が多い。

本研究では, マウス卵巣摘出骨粗鬆症モデル (OVX マウス) を用いて, TER の大腿骨骨代謝に及ぼす影響を X 線学および組織学的に検討するとともに, マウス骨髄由来マクロファージ様細胞 (mBMMs) を用いて, TER の RANKL シグナル伝達系に及ぼす影響を検討した (岡山大学動物実験委員会承認番号: OKU-2018756 および OKU-2017317)。

【方法】

OVX マウス (雌性, C57BL/6J, 10 週齢で卵巣摘出) は通法に従い作製し, TER (10-30 mg/kg, 岐阜医療科学大学 萬代大樹博士から供与) を週 2 回, 6 週間にわたり腹腔内に投与した。対照群は PBS を投与した。卵巣摘出 8 週後に安楽死させ, 大腿骨および血清を採取した。大腿骨は X 線学的画像評価 (μ CT) ならびに組織学的評価 (TRAP 染色, 免疫組織染色: cathepsin-K) を行った。血清中のサイトカイン量は市販の ELISA キットを用いて定量した。

また, 雄性 C57BL/6J マウス (5 週齢) から得た mBMMs に, TER (10 μ M) を添加後, RANKL (100 ng/ml) とマクロファージコロニー刺激因子 (100 ng/ml) を添加して破骨細胞分化を誘導した。添加 10-30 分後総タンパク質を, 48 時間後に全 RNA を回収し, protein kinase C (PKC) のタンパク質リン酸化は Western blotting 法を用いて, 7 種の破骨細胞分化因子 [osteoclast stimulatory transmembrane protein (*Ocstamp*), dendritic cell-specific transmembrane protein (*Dcstamp*), calcitonin receptor (*Calcr*), v-type protein ATPase subunit d2 (*Atp6v0d2*), osteoclast-associated receptor (*Oscar*), integrin β 3 (*Itgb3*), c-fos] の mRNA 発現は定量性 RT-PCR 法を用いて解析した。

統計解析は, one-way ANOVA/Turkey-Kramer test を用いた。

【結果】

OVX マウスへの作用

- 骨密度, 骨量, そして骨梁数を改善した ($p < 0.01$)
- 破骨細胞の分化および cathepsin-K の発現を抑制した ($p < 0.01$)
- 体重変化と血清中サイトカイン (TNF- α , IL-1 β , IL-6, M-CSF) 量は, 対照と差がなかった

mBMMs への作用

- RANKL 誘導性の Phospho-PKC α/β II の発現を抑制した ($p < 0.05$)
- 破骨細胞分化因子である *Ocstamp*, *Dcstamp*, *Calcr*, *Atp6v0d2*, *Oscar* の発現を抑制した ($p < 0.01$)

【考察】

TER は, RANKL によって誘導される PKC α/β II のリン酸化を抑制することによって破骨細胞分化を抑制した。そして, マウス骨粗鬆症モデルにおける大腿骨の骨吸収が抑制された。本結果から, TER は新たな骨破壊疾患治療薬として応用できる可能性が示唆される。

根管治療と外科的処置を併用した Invasive Cervical Resorption の 1 症例

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⁾岡口歯科クリニック

○石崎 秀隆^{1,2)}、山田 志津香¹⁾、吉村 篤利¹⁾

A case of Invasive Cervical Resorption treated with root canal and surgical treatments

1) Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University

Graduate School of Biomedical Sciences

²⁾Okaguchi Dental Clinic

○ISHIZAKI Hidetaka^{1,2)}, YAMADA Shizuka¹⁾, YOSHIMURA Atsutoshi¹⁾

【緒言】

Invasive Cervical Resorption (ICR) は歯頸部から始まる侵襲性の歯根外部吸収であり、初期には症状がないため発見が遅れると歯髄や歯自体の保存が困難になることがある。また吸収を引き起こしている病態を理解して治療を行わなければ吸収が再発することもある。今回左上第一小臼歯に発生した ICR に対し根管治療をした後、外科的に吸収部の修復を行った症例を供覧したい。

【症例】

患者は 43 歳男性。2019 年 1 月にかかりつけ医で左上第一小臼歯の近心歯頸部に歯髄へ達する透過像がデンタルエックス線写真上で認められ抜髄処置が行われたが、根管充填・ファイバーコアによる支台築造後に痛みを訴えたため、岡口歯科クリニックへ紹介された。口腔内診査の結果、自発痛や咬合痛はなく打診に違和感を訴え、デンタルエックス線写真からは不十分な根管充填と根尖部に透過像が認められた。また近心歯頸部の透過像部は修復されていないように思われた。詳細な診断のためインフォームドコンセプトの後 CBCT 撮影が行われ、近心歯頸部は大きく歯質が欠損し歯髄腔へ穿孔していること、根管は根尖で 2 つに分岐しており舌側根管は未処置で根尖病変を形成していることが確認された。診断は歯頸部の外部吸収 (ICR: Invasive Cervical Resorption) Class3、Previously Treated Tooth, Symptomatic Apical Periodontitis とされた。

【経過・予後】

まず再根管治療が行われ、ファイバーコアを除去すると歯頸部の穿孔部から根管内へ出血を認めた。ラバーダム防湿下にて根管治療を行うため、穿孔部は根管内からスーパーボンドを使って封鎖された。その後、ラバーダム防湿下にてガッタパーチャを除去し作業長測定、Ni-Ti ファイル (WaveOne Gold) にて根管形成が行われた。根管拡大形成・洗浄の後、臨床症状の消退を確認して Gutta Core Pink にて根管充填され、グラスファイバーとコア用レジンで支台築造が行われた。根管治療により患者が術前に訴えていた症状は消退したが、頬側近心の歯頸部には吸収窩が残存しているため、外科的に歯肉を剥離し吸収窩にある吸収性組織の搔爬を行いフロアブルレジンにて修復を行った。

現在術後 7 ヶ月であるが、症状はなく良好に経過している。

【考察】

ICR は外傷や矯正治療、歯冠漂白などにより発生すると考えられているがその原因は明確に分かっておらず、この症例も発生原因は不明である。ICR は吸収の程度に応じて Heithersay GS により Class1~4 まで分類されている。その発生部位は歯肉縁下であるため発見が難しく、吸収窩には吸収を引き起こしている吸収性組織 (resorptive tissue) が存在する。また ICR は歯周組織から始まるため通常歯髄は生活反応を示すが、吸収が進行し歯髄へ及ぶと根管治療が必要になる。ICR の基本的な治療法は①吸収を引き起こしている吸収性組織 (resorptive tissue) の徹底的な除去と②吸収部の修復である。

また診断にあたっては歯頸部カリエスや炎症性の外部吸収である External Inflammatory Root Resorption などの鑑別も必要である。

【結論】

ICR は早期に発見できれば歯髄や歯の保存の可能性が高くなる。また進行度合いと病態を考慮して治療を進めることで良好な経過が期待される。

松本歯科大学病院臨床研修プログラムにおける保存修復症例

松本歯科大学病院初診室 (総合診療科)
○音琴淳一, 山本昭夫, 安西正明, 森 啓

Restorative Cases for Dental Caries by Several Teaching Program at Postgraduate Education Courses in Matsumoto Dental University Hospital

○Jun-ichi OTOGOTO, Akio YAMAMOTO, Masaaki ANZAI and Hiroshi MORI
Department of General Dentistry, Matsumoto Dental University Hospital

【緒 言】歯科医師臨床研修において、保存修復症例 (修復症例) は、「高頻度治療」に位置し、行動目標として「齲蝕の基本的な治療を実践する」の一部として位置づけられている。松本歯科大学病院 (本病院) における臨床研修プログラムは病院体制や指導方法が変化しながら、この目標を達成してきた。今回は修復症例の種類と実施症例数を指導方法や研修プログラムにより検証したので報告する。

【対象および方法】

- 1) 調査対象者: 松本歯科大学病院臨床研修を行った臨床研修歯科医 144 名
- 2) 調査期間: 松本歯科大学病院における歯科医師臨床研修 2014~2019 年度の 6 年間
- 3) 指導体制比較: 本病院における臨床研修指導歯科医は全て臨床研修指導歯科医の資格を持つ
 - ①指導歯科医の専門性: 保存修復専門医 (39 名) かそれ以外の専門医 (105 名)
 - ②研修プログラム: 単独型臨床研修 (119 名) か複合型臨床研修施設 (25 名)
 - ③必修症例数: 症例数を課した期間 (2014~2017 年度: 103 名) 症例数を課さない期間 (2018~2019 年度: 41 名)
- 4) 保存修復症例比較: ①コンポジットレジン修復 (単純窩洞/複雑窩洞)
 - ②インレー修復 (レジニンインレー・ポーセレンインレー/メタルインレー)
- 5) 統計学的分析: 各群間の比較は保存修復症例毎に統計学的検討を行った。

【結 果】

- 1) 保存修復専門医か否かによる比較
 - ①コンポジットレジン修復症例数においては、単純窩洞においては指導医の専門性による有意な差を認めなかった。複雑窩洞においては保存修復専門医の指導下において有意に症例数が多かった。それぞれの結果は全体の総数比較でも、年度毎に比較した場合も同様に保存修復専門医による指導において複雑窩洞症例数が有意に多かった。
 - ②インレー修復症例数においては、各年度の症例数が平均 3 弱 (2.4~2.86) であり、統計学的に有意な差を認めなかった。実施症例はメタルインレーが殆どであったが、調査の後半に従って、レジニンインレー症例の増加は認めた。
- 2) 単独型臨床研修か複合型臨床研修による比較
 - ①コンポジットレジン修復症例数は、単純窩洞においては、複合型臨床研修において、単独型臨床研修と比較して有意に症例数が多かった。しかしながら複雑窩洞においては、両研修における症例数の有意な差を認めなかった。各年度の比較においても同様の傾向を認めた。
 - ②インレー修復症例数においては、単独型および複合型臨床研修間における実施症例数の有意な差を認めなかった。レジニンインレー・ポーセレンインレー症例数は、複合型臨床研修は 2014-2015 年度に有意に実施症例数が多かった。
- 3) 必修症例を課したか否かによる比較
 - ①コンポジットレジン修復症例数は、必修症例数を課した年度と必修症例を課さなかった年度における実施症例数の有意な差を認めなかった。単純窩洞と複雑窩洞ともに同様の傾向を認めた。
 - ②インレー修復症例数においては、メタルインレー実施症例数において、必修症例数を課さなかった年度において必修症例数を課した年度と比較して有意に症例数が少なかった。逆にレジニンインレー症例数の増加傾向を認めた。

【考察および結論】

最も単純な修復症例である単純窩洞のコンポジットレジン修復においては、指導医の専門性や研修プログラムに関わらず一定の症例数を行っていたことが示され、その症例数は毎年 10 症例を越えていた。一方ではメタルインレー修復症例数は減少し、1~2 症例でも困難な年度もあり、必修症例として課すことは時代にそぐわないことも示された。

構造発色性を有する試作フロアブルコンポジットレジン (OCF-001) の表面性状の評価

—表面粗さ, 光沢度, 変色の程度ならびにアルカリ環境下における微細構造特性について—

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○岸本崇史, 前迫真由美, 水野綾香, 鈴木未来, 堀江 卓, 友田篤臣, 富士谷盛興

Evaluation of Surface Characteristics of an Experimental Flowable Resin Composite (OCF-001) with Structural Color

—Surface Roughness, Glossiness, Color Change, and Microstructural Characteristics under Alkaline Deterioration—

Department of operative Dentistry, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○KISHIMOTO Takafumi, MAESAKO Mayumi, MIZUNO Ayaka, SUZUKI Miki, HORIE Taku, TOMODA Shigetaka, FUJITANI Morioki

【目的】近年, 構造発色性を有するフィラーを配合し, 色素を含まず単一ペーストで歯に対し高い色調適合性を有する新型レジン OMNICHROMA (トクヤマデンタル) が開発された. 本レジンでは, $\phi 260$ nm の球状無機フィラーの均一分散化や各種フィラーとベースレジンの緊密接合などの先進技術革新が導入され, 様々な特長的性質を有することを演者らは報告してきた (第 149, 150 回日本歯科保存学会). 最近, このレジンの構造発色性を含めた構造特性を踏襲し, フィラー組成を変化させた試作フロアブルレジン (OCF-001, トクヤマデンタル) が開発された. 最新のフィラー技術が導入された OCF-001 の表面性状や構造特性について検討することの臨床的意義は大きいと考えるが, 本レジンに関する基礎的研究はほとんど見受けられない. 本研究では, OCF-001 の表面性状について総合的に評価することを目的とし, 表面粗さ, 光沢度ならびに変色の程度の関連性について検討するとともに, アルカリ環境下における加速劣化試験を行い, とくに各種フィラーとベースレジンの接合状態に注目した微細構造特性について検討した.

【材料および方法】本研究では, OCF-001 (以下 OCF) ならびに色素を含有する $\phi 200$ nm の無機フィラー, および球状有機複合フィラーからなる従来のフロアブルレジン Estelite Universal Flow (Medium) (トクヤマデンタル, 以下 EUF) を用いた. 各レジンプロック ($10\text{ mm} \times 20\text{ mm} \times 4\text{ mm}$) を作製し, その一面 ($10\text{ mm} \times 20\text{ mm}$) を自動回転研磨機 (Ecomet3000, Buehler) で耐水研磨紙を用いて注水下で #2000 まで順次仕上げ, 酸化アルミナ粉 ($1.0 \rightarrow 0.3\text{ }\mu\text{m}$) と研磨パフを用いて鏡面研磨面を調製した. 当該面において表面粗さ, 光沢度および変色の程度について計測し (後述), それらの相関について Pearson の積率相関係数検定 ($\alpha=0.05$) により解析した ($n=10$). また, 鏡面研磨試料を 0.1 N NaOH 水溶液 ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH } 12.7$) に 1 日間浸漬し, 走査電子顕微鏡 (VE-9800, Keyence, 以下 SEM) にて侵蝕面の微細形態を観察した.

表面粗さ: 表面粗さ計 (Surfcom130A, 東京精密) により送り速度 0.15 mm/sec で算術平均粗さ (R_a) を求めた.

光沢度: ハンディ型光沢計 (PG-1M, 日本電色工業) により JIS 規格に準じ 60 度鏡面光沢度を測定した.

変色の程度: 紅茶液に浸漬した ($37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 7 日間) 各レジン表面の浸漬前後の色調を歯科用分光光度計 (SpectroShade, Dentsply Sirona) により標準黒色板・標準白色板を用いて各々測色し, その測定値から色差 (ΔE^*ab) を算出した.

【結果および考察】OCF の表面粗さは $0.058\text{ }\mu\text{m}$, 光沢度は 67.05% , 変色の程度は 5.75 (黒色板) あるいは 8.92 (白色板) であり, EUF の表面粗さは $0.048\text{ }\mu\text{m}$, 光沢度は 72.47% , 変色の程度は 2.54 (黒色板) あるいは 3.98 (白色板) であった. これらの測定値間にはいずれも相関関係は認められなかった ($p>0.05$). また, アルカリ環境下で判明した微細構造については, いずれのレジンも球状の有機複合フィラーとそれを取り巻くベースレジンとの接合は強固であることが特徴的であった. OCF および EUF の球状無機フィラーとそれを取り巻くベースレジン, ならびに OCF の有機複合フィラー内無機フィラーとベースレジンにおける劣化はほぼ同じ様相で, いずれも無機フィラーの脱落が散見されるのみであったが, EUF は有機複合フィラー内無機フィラーがほぼ脱落していた. アルカリによる劣化の影響は, OCF に比べ EUF の方が大きいことが SEM 像より判明したが, 劣化の様相と負の関連性を示す表面性状も認められ, これらについてレジン表面のぬれ性や表面自由エネルギー等の検討を含めさらなる考察が必要である.

【結論】構造発色性を有する $\phi 260$ nm の球状無機フィラーと種々の粒径の球状有機複合フィラーが含有された試作フロアブルレジン OCF-001 の表面性状を評価するとともに各種フィラーとレジンの接合状態について従来型フロアブルレジンと比較検討した. 表面粗さ, 光沢度ならびに変色の程度に相関は認められなかったが, 各種フィラーとベースレジンの接合状態は異なっており, 各種フィラーの粒径, 粒度分布や分散密度, およびベースレジンとの接合状態などが影響していることが示唆された.

血液汚染後の歯冠修復物の接着強さ
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野
○岩田知幸, 勝俣愛一郎, 星加知宏, 西谷佳浩

Bond strengths of crown restorations with resin cement after blood contamination
Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate School of
Medical and Dental Science
○IWATA Tomoyuki, KATSUMATA Aiichiro, HOSHIKA Tomohiro, NISHITANI Yoshihiro

【目的】

歯冠修復物をレジンセメントで歯質に接着する際に、血液や唾液が接着強さの阻害因子となることはよく知られている。修復物が血液や唾液で汚染された場合には、汚染除去を行ってから接着操作を行う必要がある。そこで今回は、歯冠修復物の一つであるハイブリッドレジンプロックとレジンセメントの接着に関して、レジンプロック被着面をウシ血清を用いて汚染した後に、複数の方法で汚染除去を行った場合の接着強さについて検討した。

【材料および方法】

材料：被着体としてアベンシア P (クラレノリタケデンタル)、リン酸処理材として K エッチャントシリンジ (クラレノリタケデンタル)、汚染物としてウシ血清 (F7254, Sigma-Aldrich)、汚染後の表面処理材としてカタナクリーナー (KC, クラレノリタケデンタル)、接着性レジンセメントとしてパナビア V5 (クラレノリタケデンタル)、シランカップリング剤としてセラミックプライマープラス (クラレノリタケデンタル) をそれぞれメーカー指示通りに使用した。
試料作製：アベンシア P を用いて被着面にサンドブラスト処理 (SB) 後、超音波洗浄 (US) した後にリン酸処理、水洗乾燥、シラン処理をしてレジンセメントにて接着したものを①コントロール群とした。この工程においてリン酸処理後に水洗乾燥しシラン処理するまでを ST とする。また、レジンプロックを SB, US の後にウシ血清を 100 μ l 滴下した被着面を汚染モデル (Surface contamination) とした。汚染後の被着面処理方法を②汚染群 (SC) ③カタナクリーナー群 (KC) ④超音波群 (US) ⑤サンドブラスト群 (SB) に分類した。各処理方法と手順を表に示す。供した試料を 24 時間 37 $^{\circ}$ C で水中保管後、測定した。

接着強さの測定：試料は精密低速切断機を用いて切り出し、各切片を接着面積が 1.0 mm² になるように棒型に成形して、マイクロテンサイル法による微小引張試験を行った。微小引張試験は卓上万能試験機 (EZ-SX, Shimadzu) を用い、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件下で行った。

【結果】下の表に示す。

【考察および結論】

②の SC 群では接着強さが①の CO 群と比較して有意に低く、汚染による影響が認められた。汚染除去を行った群は SC 群と比較して全て有意に高い値を示したため、いずれの方法でも接着強さが CO 群の方向に回復する傾向がみられた。今回行った方法では、汚染除去にサンドブラストを使用しない 3 群の中において③の KC 群が高い接着強さを示すことから、血液汚染が生じた場合の歯冠修復物の表面処理材として有効ではないかと推察される。

Table Bond strength of crown restorations with resin cement after blood contamination

	Procedure	Mean ($\pm$ S.D.)
①CO	SB $\rightarrow$ US(2min.with distilled water) $\rightarrow$ ST $\rightarrow$ cementation	95.39 ($\pm$ 6.05) a
②SC	Surface contamination $\rightarrow$ ST $\rightarrow$ cementation	58.25 ($\pm$ 13.80) c
③KC	Surface contamination $\rightarrow$ KC (10sec.) $\rightarrow$ washing $\rightarrow$ dry $\rightarrow$ ST $\rightarrow$ cementation	86.06 ($\pm$ 9.67) ab
④US	Surface contamination $\rightarrow$ US(2min.with distilled water) $\rightarrow$ ST $\rightarrow$ cementation	78.21 ($\pm$ 10.39) b
⑤SB	Surface contamination $\rightarrow$ SB $\rightarrow$ US (2min.with distilled water) $\rightarrow$ ST $\rightarrow$ cementation	100.4 ($\pm$ 17.84) a

Means with the same letters were not significantly different by Tukey test ($p > 0.05$).

松本歯科大学第3学年での保存修復学教育における 能動的学習の試みとその評価

¹松本歯科大学歯科保存学講座

²松本歯科大学病院初診室 (総合診断科・総合診療科)

○小松佐保¹ 森 啓² 小町谷美帆¹ 内川竜太郎¹ 奥瀬稔之¹ 小林 彩¹ 呉佳瑩¹ 亀山敦史¹

Attempt of Active Learning and its Evaluation in Education of Operative Dentistry for 3rd Year Students of Matsumoto Dental University

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

²Department of Oral Diagnostics and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University Hospital

○Saho Komatsu¹, Hiroshi Mori², Miho Komachiya¹, Ryutaro Uchikawa¹, Toshiyuki Okuse¹,
Aya Kobayashi¹, Chia-Ying Wu¹, Atsushi Kameyama¹

【研究目的】

松本歯科大学 (以下、松歯大) の保存修復学講義は第3学年時に通年で行われる。従来松歯大の保存修復学講義では、一方的に教員の講義を聴く受動的なスタイルであった。そのため学生は、長期的な知識の定着が浅く、また有している知識を基に分析をする能力や問題を解決する能力が乏しい傾向にあった。従って、教科書に記載されている内容の知識で不足している項目や理解不足・誤認・誤解を自発的に学生に気付かせることで、学習意欲をより向上させ、問題分析能力や問題解決能力の修得を目指す必要があると思われた。そこで、松歯大第3学年保存修復学講義で○×方式の小テストを行い、さらにスモールグループディスカッション (SGD) で学生自らが解答を導き出すことで、お互いの認識不足や誤認・誤解を発見する試みを行った。

【方法】

2019年度松本歯科大学第3学年72人の保存修復学講義で、50分間30問の○×方式の小テストを2回実施した。なお、知らない単語がある場合にはマーカーを引くよう指示した。解答後、3~4人のグループを無作為に形成し、15分間の一次SGDにより、各々の解答を照合させた。さらに、15分間で2つのグループを合体させ、二次SGDを行い両グループの解答を照合させた。なお、2回とも同じメンバーでグループを構成し、小テストは1回目と2回目で異なる内容を実施した。また、SGDでは、単に○×で解答するのみではなく、問題文が誤っている場合にはそれを訂正し、さらに正答が教科書のどこに記載されていたかを調べた。SGD後、学生に対して無記名アンケートを行った。また、日本語が母国語でない留学生に対しては、日本語でのSGDへの感想についてもあわせて調査した。

【結果】

1回目の小テストでは、17.8±3.5点 (30点満点)、一次SGDを行った後の修正解答は27.2±2.3点、二次SGD後は27.5±5.2点であった。2回目は15.5±3.4点、一次SGD後は23.6±3.2点、二次SGD後は23.5±8.5点であった。実施後アンケートでは、本演習に対して有意義であると回答した学生が半数以上であった。また、90%以上の学生が自身の足りていなかった知識へのフィードバックにもなったと回答した。韓国人留学生のうち56%、台湾人留学生のうち60%、中国人留学生のうち85%が、日本語力の向上に役立ったと回答した。

【考察】

SGDを通し、これまで受動的な講義を受けていた学生にとって、松歯大でのSGDははじめての体験であったが、知識の把握、他者との意見・知識の共有による問題解決能力の向上に寄与したと思われる。

【結論】

一次SGDで解答を持ち寄り、お互いの認識の違いを各々が自覚し、さらに学生が分担して教科書の記載箇所を探し、情報共有することで学習意欲が向上した。また、留学生の日本語力向上にも寄与した。

フッ化物歯面塗布剤による根面象牙質の脱灰抑制効果

東京歯科大学 保存修復学講座
○宮吉美仁, 半場秀典, 石塚久子, 中村圭喜, 村松 敬

Inhibitory effects of demineralization of root dentin by fluoridated materials

Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology, Tokyo Dental College
○MIYAYOSHI Yoshihito, HAMBА Hidenori, ISHIZUKA Hisako,
NAKAMURA Keiki, MURAMATSU Takashi

【目的】

近年, 根面齲蝕が増加傾向になっており特にセルフケア困難な患者への対応が課題である. セルフケアはブラークコントロールとフッ化物応用が推奨されているが, プロフェッショナルケアは明確な指針が示されていないのが現状である. 根面齲蝕が多発するような口腔内環境で予防効果を得るには, フッ化物バーニッシュなどの高濃度フッ化物の応用が必要となる. フッ化物バーニッシュは, フッ化カルシウム (CaF_2) が象牙質表面に形成されることによって耐酸性を獲得することが示されている. また, 機能性ペータリン酸三カルシウム (fTCP) の歯表面への Ca および P イオンの送達を制御し, フッ化物と相乗的に作用させる性質に着目した. そこで, 本研究では各種フッ化物歯面塗布剤による根面象牙質の脱灰抑制効果について検討することを目的とした.

【材料および方法】

抜去後凍結保存したウシ下顎切歯歯根を精密低速切断機 (Isomet, Buehler) にて $3 \times 5 \times 3 \text{ mm}$ に切り出し, 歯根象牙質表面が露出するようにエポキシ樹脂にて包埋した. 次に象牙質表面を耐水研磨紙 #1500 まで研削後, 5 分間超音波洗浄を行った. ネイルバーニッシュ (Revlon, USA) を用いて処理面を $2 \times 4 \text{ mm}$ に規定した. 実験群 ($n=10$) は (1) 対照群; DW 群, (2) 9000ppmF 配合リン酸酸性フッ化ナトリウムゲル (Fluor Jelly, Bee Brand); FJ 群, (3) 22600ppmF 配合フッ化物バーニッシュ (F Varnish, Bee Brand); FV 群, (4) Tricalcium phosphate, 22600ppmF 配合フッ化物バーニッシュ (Clinpro White Varnish, 3M); WV 群とした. FV 群および WV 群は業者指示通りに試料表面に塗布し, 人工唾液 (pH 7.0) に 4 時間浸漬後に綿棒および歯科用探針にて除去した. FJ 群は試料表面に 5 分間塗布し, 水洗後に人工唾液に 4 時間浸漬した. いずれの群も脱灰液 (pH 5.0) に 5 日間, 10 日間浸漬後にマイクロ CT 装置 (SMX-100CT, Shimadzu) で撮影した. 3D 評価ソフト (TRI/3D-BON, Ratoc) を用いて, ミネラル密度を測定し, ミネラル喪失量 (ML) を算出した. ML は二元配置分散分析および多重比較検定により有意水準 5% で統計処理を行った. また, 一部の試料は走査型電子顕微鏡 (SEM, SU-6600, Hitachi) で試料表面及び縦断面の微細構造を観察した.

【結果および考察】

脱灰後のマイクロ CT 像の結果より, 5 日後, 10 日後共に DW 群は表層が喪失した脱灰を示したが, FJ 群, FV 群, WV 群は表層が残存した表層下脱灰を示した. 脱灰 5 日後の ML は高い方から順に DW 群, FJ 群, FV 群, WV 群であった. FJ 群, FV 群, WV 群の ML は DW 群と比較して有意に低かった ($p < 0.05$). また, FJ 群と FV 群間, FV 群と WV 群間で有意差を認めなかったが, FJ 群と WV 群間で有意差を認めた ($p < 0.05$). 脱灰 10 日後の ML は WV 群が有意に低く ($p < 0.05$), FJ 群と FV 群間で有意差を認めなかった.

SEM 観察では, FV 群, WV 群は脱灰後にの結晶沈着による象牙細管内の封鎖が観察され, FJ 群は象牙細管内の結晶沈着による細管の部分的な封鎖が観察された. また, WV 群では一部に象牙細管の内壁にバーニッシュとみられる構造物の形成が観察された. これらの結果から, フッ化物歯面塗布剤の応用により, F イオンが歯根象牙質表面へ浸透し, 管周象牙質の耐酸性が向上し, 根面の脱灰抑制効果に寄与したものと考えられた. さらに fTCP を含むフッ化物バーニッシュは fTCP を含まない同濃度 NaF を含むフッ化物バーニッシュよりも多くの F を取り込み, Ca, P イオンの徐放により結晶形成が生じた可能性が考えられた.

新規レジンセメントの接着性

スリーエム ジャパンイノベーション株式会社 歯科用製品技術部
○宮本康司, 本松大喜, Joan Wu

Bond strength of experimental resin cement
Oral Care Solutions Division R&D Department, 3M Japan Innovation Limited
○Koji Miyamoto, Daiki Motomatsu, Joan Wu

【緒言】

CAD/CAM 冠の急速な普及もあり、セメントには、簡略化したシステム、ならびに高く安定した接着性が求められている。スリーエムでは新たに、種々の歯質・修復物に適用可能な前処理剤試作品 (Experimental Adhesive)、およびレジンセメント試作品 (Experimental Cement) を開発した。本研究では、その前処理剤の併用が可能なレジンセメントの接着性能を評価したので報告する。

【材料および方法】

包埋したウシ下顎前歯を切削し象牙質を露出後、#320 研磨を行い、弱いエアードライで乾燥し Moist 状態の象牙質表面を得た。必要に応じて、前処理剤を塗布し乾燥させた。サンドブラスト処理とシラン処理(エスピー ジル, 3M)を行ったステンレススチールロッド(φ4mm)と、セメントを塗布した象牙質を、20g/mm²の力で圧着後、10 秒×4 か所光照射(エリパーディーブキュア LED 光重合器, 3M)を行い試験体とした。試験体を 5 分、24 時間それぞれ 37℃・相対湿度 100% の状態に放置後、クロスヘッドスピード 0.75mm/min にてせん断接着試験を行った。

【結果】

試作品と現行品(RelyX Ultimate Resin Cement, 3M 及び RelyX Unicem 2, 3M)を比較した結果、レジンセメント試作品は、前処理剤を併用する場合、しない場合のそれぞれにおいて、24 時間後の接着力の平均値が高くなった。特に前処理剤を併用する場合、5 分後の接着力は有意に高かった。

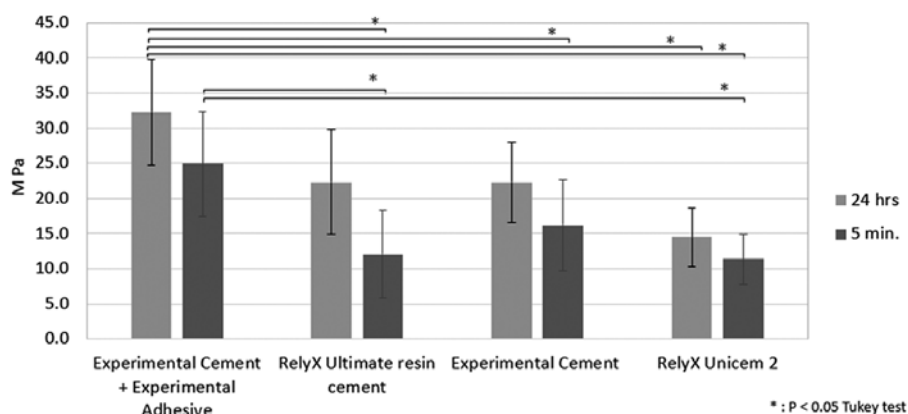


Fig. Result of Shear bond strength

【考察】

試作品は、臨床においても、より安定した接着力が期待できる。

う蝕と味覚の敏感さの相関 続報

千葉県立保健医療大学健康科学部・歯科衛生学科
○荒川 真、金子 潤

Relationship between dental caries and taste sensitivity (Part 2)
Department of Dental Hygiene, Chiba Prefectural University of Health Sciences
○ARAKAWA Makoto, KANEKO Jun

【目的】

ショ糖は「う蝕発症に最も影響を及ぼす食物」と考えられており、これを頻回もしくは多量に摂取するとう蝕リスクが高まることは周知の事実である。しかしながら「その摂取量や頻度はどう決定されているのか？」という点に関しては今まで不明な点も多かった。

実は先天的な味覚の鋭敏さが摂食行動に影響している事は以前から報告されていた。例えば、味覚の鋭敏な子供は、味の濃い食べ物を好まないことが報告されている。また、近年では苦味や甘味に鈍感な子供は、ショ糖の摂取回数および頻度が高く、結果的にう蝕リスクが高まる可能性があることも報告されている。

そこで味覚に対する敏感さを調べることにより、う蝕リスクを判定することが可能ではないかとの仮説の下、本研究を遂行した。

【方法】

対象は千葉県立保健医療大学・歯科診療室を受診中の患者で、研究参加へ同意を得られた方とした。まず最初に、研究対象者を「PROP test」という方法により、「Super-taster」(＝味覚がとても敏感な人)、「Medium-taster」(＝同じく中程度の人)および「Non-taster」(＝敏感ではない人)の3群に区分した。具体的には6-n-propylthiouracil (PROP)という薬剤を染み込ませた濾紙のディスクを舌背部に乗せ、それをどの程度の濃度まで認識出来るかを調べた(濾紙ディスク法)。本法はごく一般的な味覚検査法であり、PROP に対して敏感な人は苦味および甘味に敏感であるという事実に基づく。

その上で、視診により各群における研究対象者のう蝕歯数および DMFT 指数をカウントした。得られた結果は Fisher's exact test にて統計学的検討を行った。統計ソフトには JMP Pro. 13 を使用した。

なお、本研究は千葉県立保健医療大学研究等倫理委員会の承認を得て実施した(承認番号: 2018-11)。

【成績】

各群の存在比率は概ね Super-taster: 約 14 %、Medium-taster: 約 40 %、Non-taster: 約 46 %であった。平均う蝕歯数は Super-taster 群: 0 本、Medium-taster 群: 約 0.2 本、Non-taster 群: 約 1.3 本であった。(同じく DMFT 指数は 3 群とも約 19 であった。)

すなわち、「Super-taster」はう蝕が少なく、「Medium-taster」、「Non-taster」の順でう蝕が多くなる傾向が引き続き認められた。

【結論】

以上より、「味覚がとても敏感」である群ではう蝕が少なく、敏感でなくなるにつれ、う蝕が増加する傾向がみられた。ただし、今後さらなる検証が必要と考えられた。

(本研究は科学研究費補助金: 基盤 (C)、課題番号 18K09579 の助成を受けて実施した。)

象牙質レジンコーティング面に対するレジンセメントの接着性評価

株式会社ジーシー

○佐藤 慶太, 平野恭佑, 伏島 歩登志

Evaluation of Cement Adhesion to Resin Coated Dentin Surface

GC Corporation

○Keita Sato, Kyosuke Hirano, Futoshi Fusejima

【目的】

2020 年 4 月に象牙質レジンコーティング法が保険収載された。う蝕に感染した歯質を取り除いた後に、象牙質レジンコーティング処置を行い、セメントを用いて補綴物を接着するため、レジンコーティング面に対するセメントの接着性は重要である。しかし、象牙質レジンコーティング面に対するセメントの接着性・耐久性の評価はあまりなされていない。そこで、本研究では象牙質レジンコーティング面に対するレジンセメントの接着性を評価することを目的とした。

【材料及び方法】

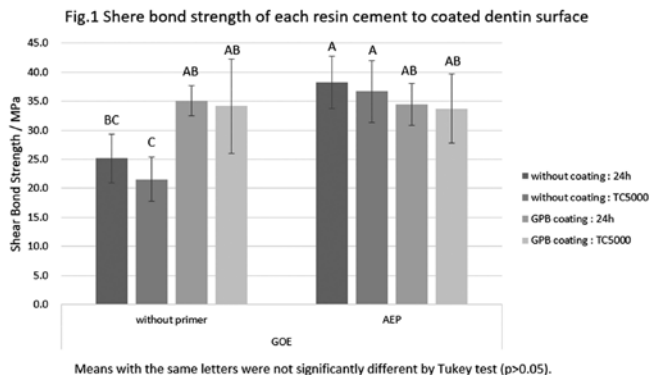
牛歯象牙質を包埋し、象牙質の被着面を耐水研磨紙#600 を用いて研磨した。レジンコーティングなしの条件では、#600 研磨した牛歯象牙質を被着体とした。レジンコーティングありの条件では、歯科用シーリング・コーティング材として、新たに保険適用となった G-プレミオボンド（GC、以下 GPB）を象牙質被着面に、製造業者指定の方法で塗布、乾燥した。G-Light Prima II（GC）の F5 モードにて光照射を行った後、エタノール綿球で表面の未重合層を除去し、レジンコーティング面を作製した。被着面にΦ3.0mm、厚さ 100μm のテフロンシールを貼付し、セメント層の面積と厚さを規定した。歯質用プライマー処理を行う場合、接着面積規定後に製造業者指定の方法でプライマー処理を行った。アルミナサンドブラストしたステンレスロッドにセメント練和物を塗布し、10N で 10 秒間圧接し、試験体とした。レジンセメントとして、ジーセム ONE EM（GC、以下 GOE）を、歯質用プライマーとしてジーセム ONE 接着強化プライマー（GC、以下 AEP）を用い、プライマーなしの条件と、プライマーありの条件で試験体を作製した。試験体を 37℃の水中で 24 時間保管した群（24h）と、24 時間保管後に 5℃、55℃のサーマルサイクル 5000 回実施した群（TC5000）を準備した。オートグラフ（AG-IS、島津製作所）を用いて、クロスヘッドスピード 1mm/min でせん断接着試験を実施した。

【結果及び考察】

結果を Fig. 1 に示す。プライマーなしの場合、GPB コーティングにより接着強さが向上した。GPB コーティングにより、GPB の高い歯質接着性が作用するとともに、レジンセメントの濡れ性が向上したためであると考えられる。また、物理的な接着であればサーマルサイクルによる熱ひずみにより接着強さは低下するが、サーマルサイクル後も接着強さは維持されたことから、レジンコーティングとレジンセメントが化学的に結合していると考えられる。一方、GOE と AEP と組み合わせた場合、コーティングの有無により接着強さに有意差はみられず、サーマルサイクル後も接着強さは維持された。また、プライマーの有無にかかわらず、GPB コーティング面に対する接着強さは同等であった。

【結論】

GPB によるレジンコーティングによって、コーティングなしの場合に比べ、レジンセメントの接着強さが同等以上となることが確認された。GPB レジンコーティングにより、歯質用プライマーであるジーセム ONE 接着強化プライマーと同等の高いセメント接着性・耐久性を示したことから、GPB レジンコーティングは良好な臨床結果をもたらすと考えられる。



新規 2 ステップセルフエッチングボンディング材の接着性能の評価

株式会社ジーシー
○酒井翼，平野恭佑，伏島歩登志

Evaluation of bond strength of the new 2-step type self-etch adhesive

GC CORPORATION, TOKYO, JAPAN
○Tsubasa Sakai, Kyousuke Hirano, Futoshi Fusejima

【研究目的】

2 ステップセルフエッチングボンディング材は1 ステップ目のセルフエッチングプライマーと2 ステップ目のボンドから構成され、一定の接着強さを示すことから臨床において信頼を得ている。従来、ボンディング材は象牙質との親和性向上のため親水性モノマーである HEMA が多用され、2 ステップセルフエッチングボンディング材においても例外なく、プライマー、ボンド両者に配合されていることが多い。しかし、HEMA はボンディング層の吸水を促進するおそれがあることが知られている。その吸水が原因となって加水分解によりポリマーの分解が生じ、ボンディング層の機械的強度が低下し、接着性能の低下が懸念される。そこで弊社ではプライマー、ボンドともに HEMA を含まない新規 2 ステップボンディング材 (BZF-29) を開発した。本研究では、2 ステップセルフエッチングボンディング材として BZF-29 および市販製品 A を用い、せん断接着強さを評価した。

【材料および方法】

ISO29022 に準拠して試験体作製およびせん断接着試験を実施した。ウシ下顎前歯歯冠部を SiC 製耐水研磨紙 (#400) により注水研磨し、エナメル質または象牙質を露出させ被着面とした。被着面をエアブローした後、BZF-29 はプライマーを塗布し 10 秒間静置後に強圧エアブローした後、その上にボンドを塗布し弱圧エアブローにより均一なボンド層を形成した。製品 A は製造業者指示に従って塗布した。被着面に内径 2.38mm のモールドを固定し G-ライトブリマ 2 (ジーシー) で 10 秒間光照射しボンドを硬化させた。モールド内にクリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル) を充填し、20 秒間光照射しコンポジットレジン硬化させ試験体を作製した。試験体を 37℃ 水中に 24 時間保管 (Immediate) した後、または 24 時間保管した後にサーマルサイクル (5-55℃, 各 30 秒間) を 20000 回 (Long term) 実施した後、小型卓上試験機 (EZ-S, 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード 1mm/min でせん断接着試験を実施した (n=15)。得られた結果を、各試験条件においてサンプル間を t 検定により統計処理した (p<0.05)。

【成績】

せん断接着試験の結果を Table 1 に示した。BZF-29 は製品 A と比較して、対エナメル質では Immediate および Long term, 対象牙質では Long term において有意に高い接着強さを示した。

Table 1 Mean(±SD) value of share bond strength

	Immediate		Long term	
	Enamel	Dentin	Enamel	Dentin
BZF-29	38.1(±4.7)	47.6(±8.6)	41.0(±8.2)	52.6(±7.0)
Product A	33.7(±2.8)	40.2(±11.7)	35.0(±5.2)	46.9(±4.9)

【考察】

BZF-29 は Long term において顕著に、製品 A と比較してより高い接着強さを示したことから、高い接着耐久性を有すると考えられる。

【結論】

BZF-29 は高い接着強さ、接着耐久性を示し、臨床においても優れた接着性能を示すことが期待される。

CAD/CAM 用二ケイ酸リチウムガラスセラミックブロックに対するレジンセメントの 接着耐久性

株式会社ジーシー

○秋山茂範, 伏島歩登志

Bonding durability of adhesive resin cement to lithium silicate glass ceramic block for CAD/CAM

GC CORPORATION, TOKYO, JAPAN

○Shigenori Akiyama, Futoshi Fusejima

【研究目的】

近年デジタルデンティストリーの発展とともに、チェアサイド CAD/CAM 加工機を使用した One Visit Treatment が普及しつつあり、高い審美性と強度を両立した二ケイ酸リチウムガラスセラミックブロックが広く用いられている。一方、以前よりガラスセラミックスを長期的に安定して接着させるには、フッ酸前処理による粗面化が有効であることが知られている。しかしながら、フッ酸は毒物及び劇物取締法において毒物と定められている薬物の 1 つであるため取り扱いについては注意が必要であり、日本ではチェアサイドにおけるフッ酸の使用は一般的ではないため、プライマー含めたセラミック修復システムの選択がより重要である。そこで本研究では、フッ酸処理をしない場合の接着耐久性を評価することを目的として、各社セラミック修復システムを用いたせん断接着強さを測定した。

【材料および方法】

各社ガラスセラミック材料をアクリルレジンを包埋し、被着面を #320 SiC 耐水研磨紙にて研磨した後に 50%リン酸エッチング液 (ジーシー エッチング液) で 30 秒間処理した。続いて、被着面に製造業者指定の方法でプライマーを塗布後、厚さ 0.1mm、φ3.0mm の穴をあけたテフロンテープを貼り付けることで接着面積を規定した。各社レジンセメントを、アルミナサンドブラスト処理を行った φ10mm のステンレスロッドに塗布し、接着面積を規定した被着面に 10N の力で 10 秒間かけて圧接した後、ステンレスロッド周囲の余剰セメントを除去した。その後、37℃水中に 24 時間浸漬した「24 時間後」と、さらにサーマル負荷 (5℃-55℃水中、各 30 秒間浸漬を 1 サイクルとして 5000 回) 後の「5000TC」を接着試験体とした。せん断接着強さは万能試験機 (島津製作所、AG-IS 1kN、クロスヘッドスピード 1 mm/min) を用いて測定 (n=5) し、サーマル負荷前後の試験結果を t-test (*: p<0.05) にて統計処理を実施した。

【結果および考察】

せん断接着試験の結果を Figure1 に示した。24 時間後の接着強さは、どのシステムにおいても 30MPa 以上の高い接着強さを示した。

また、他のシステムとは異なり、イニシャル LiSi ブロックとジーセム ONE EM、もしくはジーセム リンクフォースを用いたセラミック修復システムでは、サーマル負荷前後におけるせん断接着強さに統計的な有意差は確認されなかった。これは、各セラミック修復システムに使用したプライマーに含まれるシランカップリング剤の活性は一樣ではなく、ガラスセラミックスとレジンセメントの間での化学結合の強さに影響していることが示唆される。

【結論】

イニシャル LiSi ブロックとジーセム ONE EM、もしくはジーセム リンクフォースを用いたセラミック修復システムはフッ酸処理を行わない場合のチェアサイドでの臨床使用においても有用であることが示唆される。

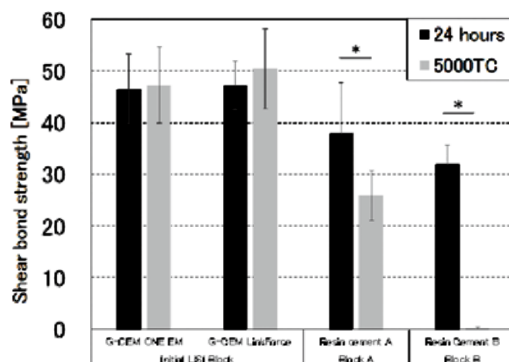


Figure 1 Shear bond strength to lithium silicate glass ceramic block

構造色発色フロアブルコンポジットレジンの色調適合性

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野

○小野 瀬里奈, 大原 直子, 松崎 久美子, 澁谷 和彦,
横山 章人, 高橋 圭, 山路 公造, 吉山 昌宏

Color matching evaluation of flowable structural color composite resin

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○Serina ONO, Naoko OHARA, Kumiko MATSUZAKI, Kazuhiko SHIBUYA,
Akihito YOKOYAMA, Kei TAKAHASHI, Kozo YAMAJI, Masahiro YOSHIYAMA

【目的】

近年、構造色発色コンポジットレジが開発され、我々は今までにその優れた色調適合性について報告してきた。構造色発色コンポジットレジは色素や顔料を含んでおらず、フィラーの構造色による発色により残存歯質の色調を再現し、単一のペーストであらゆる色調に適合するように設計されている。本研究では新たに試作された構造色発色フロアブルコンポジットレジについて、窩洞形態が色調適合性に与える影響を検討した。

【材料および方法】

構造色発色フロアブルレジ OCF-001 (トクヤマデンタル) を使用した。ヒト健全抜去大臼歯は Vita イージーシェード V (VITA Zahnfabrik) を用いてシェードテイキングを行ない、B3、B4、A2、A3、A4 のシェードのものを選択した。各歯を垂直方向に 3 分割し、それぞれが歯冠側面の平滑面を含み、厚み 3mm となるように調整した試料を 1 つの歯に対し 3 個作製し、無作為に 3 グループに分配した。グループ 1 は直径 2mm、深さ 2mm の窩洞、グループ 2 とグループ 3 には直径 2mm、深さ 3mm の裏打ちのない円柱状窩洞を形成した。その後、ラウンドベベルを付与し、窩洞形成を終了した。次に製品添付文書に従いボンドマーライトレス (トクヤマデンタル) にて歯面処理を行なった。グループ 1 とグループ 2 には OCF-001 を、グループ 3 には OCF-Blocker (トクヤマデンタル) を 1mm 厚さで充填したのち、OCF-001 を積層充填した。形態修正はホワイトポイント (松風)、研磨はコンポマスター (松風) およびスーパースナップ (松風) を用いた。

コンポジットレジと抜去歯の色調適合性の評価は試料 15 個を白色および黒色のアクリル板を背景として並べ、湿润状態で観察し、当講座の医局員 10 名が Visual Analog Scale (以下 VAS) を用いて実施した。VAS 評価の基準は評価ごとに各評価者が最良の適合と考えるものを 10、最も不満足なものを 0 として評価し、統計解析は一元配置分散分析および Tukey HSD test を用いて有意水準 5% で解析した。

なお、ヒト抜去歯の使用に関しては、本学の倫理委員会の審査を経て承認を得ている。(承認番号 189 号)

【結果および考察】

白色背景ではどのタイプの窩洞も 5 以上の値を示し、構造色発色フロアブルコンポジットレジは歯との色調適合性が良いことが示された。黒色背景ではグループ 2 の評価が最も低かったが、裏打ちとして OCF-Blocker を使用したグループ 3 の評価は向上した。この結果は、OCF-Blocker が裏打ちのない窩洞において入射光が透過するのを防ぎ、拡散反射光を増加させたためと考えられる。グループ 1 では、白色背景時、黒色背景時ともに他のシェードに比べて A3 シェードの歯に対する色調適合評価が最も高い値を示した。構造色発色は A3 シェードに最も近い発色であると考えられた。グループ 1 の A4、B4 シェードに対する色調適合評価は低い値を示したが、グループ 3 では OCF-Blocker を使用することでグループ 1 よりも良い値を示した。

【結論】

構造色発色フロアブルコンポジットレジは、すでに報告したペーストタイプの構造色発色コンポジットレジと同様に優れた色調適合性を示した。本研究で実施した窩洞では、構造色発色は A3 シェード窩洞に対し最も良い色調適合を示した。OCF-Blocker の併用は裏打ちのない窩洞で黒色背景時の色調を改善させるとともに、明度の低い色調の歯への色調適合性を向上させることが明らかとなった。

リン酸三カルシウム配合フッ化物バーニッシュによる根面象牙質の脱灰抑制効果

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)

○上村 怜央、山本 洋子、須崎 尚子、内藤 克昭、天羽 萌、神田 ひかる、林 美加子

Evaluation for acid resistance of root dentin using a fluoride varnish containing tricalcium phosphate

Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology
OUEMURA Reo, YAMAMOTO Hiroko, SUZAKI Naoko, NAITO Katsuaki, AMO Megumi, KANDA Hikaru, HAYASHI Mikako

【研究目的】 近年の超高齢社会において、根面う蝕の予防および進行抑制が重要視されている。これまでに、根面う蝕の予防にフッ化物が有効であることは数多く報告されており、日常臨床において広く用いられている。フッ素イオンをより効率的に作用させるために、われわれは歯の構成成分でもあるリン酸カルシウムを同時に適用することによって、フッ化物単独と比べてより象牙質の再石灰化が促進するのではないかと考え、う蝕の予防のみならず、既に進行した初期う蝕病変に対してもより効果を発揮するとの着想を得た。

今回は、リン酸三カルシウムを配合したフッ化物バーニッシュを作用させた根面象牙質における、フッ素の浸透深度および浸透濃度を In-air micro-beam Particle Induced X-ray/ γ -ray Emission (PIXE/PIGE) 法 (高崎量子応用研究所) を用いて評価し、また本材料を適用した象牙質の耐酸性が向上するかどうかをマイクロ CT を用いて検索した。

【材料および方法】 う蝕のないヒト抜去大臼歯のセメントエナメル境付近の頬舌側面を歯軸に平行に切断し、根面象牙質を露出させた 3 ブロックを各歯より切り出し、2 ブロックの象牙質露出部にリン酸三カルシウム配合フッ化物バーニッシュ (以下 WV 群)、F バーニッシュ (以下 FV 群) を各々塗布した。一方、材料を塗布しない 1 ブロックをコントロール (以下 CO 群) とし、これらを健全試料とした。また、別のヒト抜去大臼歯から同様に根面象牙質ブロックを切り出し、露出象牙質面以外をワックスにて被覆後、pH5.0 の脱灰溶液 (50 mmol/l acetate buffer、2.2 mmol/l CaCl_2 、2.2 mmol/l KH_2PO_4) に 3 日間浸漬させ、初期う蝕を想定した脱灰病変を作成した。その後、健全試料と同様に各材料を塗布し、これらを脱灰試料とした。健全、脱灰試料のいずれも 37℃ で 1 ヶ月生理食塩水中に浸漬後、塗布材料を除去し、各ブロックの露出象牙質面を 0.5 mm 幅に切断し、測定試料とした。切断面の根面象牙質表層から歯質内方向にフッ素およびカルシウム濃度を PIXE/PIGE 法を用いて面分析を行い、歯質内に取り込まれたフッ素濃度を比較検討した (Kruskal-Wallis、Mann-Whitney's U -test、 $\alpha=0.05$)。PIXE/PIGE 法で測定後、脱灰溶液に 3 日間浸漬し、脱灰前後にてマイクロ CT 撮影を行い、それぞれの群においてミネラル喪失量および脱灰深さを解析した (Kruskal-Wallis、Mann-Whitney's U -test、 $\alpha=0.05$)。さらに、取り込まれたフッ素濃度と、ミネラル喪失量および脱灰深さとの相関を検定した (Spearman's rank correlation coefficient、 $\alpha=0.05$)。

なお、本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認下で実施した (承認番号: H30-E36)。

【結果および考察】 PIXE/PIGE 法による分析の結果、健全試料および脱灰試料のいずれにおいても、取り込みフッ素濃度積算量およびフッ素イオン浸透深さは、WV 群および FV 群は CO 群と有意差を認めた。また、WV 群および FV 群ともに、脱灰試料への取り込みフッ素濃度積算量は健全試料よりも有意に多いことがわかった。

マイクロ CT 解析の結果では、ミネラル喪失量については健全試料では FV 群が CO 群と有意差を認めた一方、脱灰試料では WV 群および FV 群はいずれも CO 群と有意差を認めた。脱灰深さについては、健全試料では WV 群および FV 群は CO 群と有意差を認めた。また、健全試料および脱灰試料のいずれにおいても、フッ素濃度積算量と、ミネラル喪失量および脱灰深さとは負の相関を示した。

これらの結果から、リン酸三カルシウム配合フッ化物バーニッシュを根面象牙質に塗布することによって、フッ素が浸透し、試料表面が脱灰されている方がより多くのフッ素イオンを取り込むことができることがわかった。そのフッ素取り込み量は、フッ化物単体である従来からのバーニッシュの方がより多くなるが、リン酸三カルシウムを配合することによって、脱灰抑制量は従来のバーニッシュと同等の効果があることがわかり、新たなう蝕予防・進行抑制材料として有用であることが示唆された。

本研究の一部は科学研究費補助金 (20H00552、20K18533、平成 31 年度公益財団法人セコム科学技術振興財団一般研究助成金) の補助の下に行われた。

連合印象用アルギン酸塩印象材の細線再現性評価および消毒による影響

株式会社ジーシー

○新関 尚史，立野 敦史，伏島 歩登志

Evaluation of detail reproduction and effect of disinfection of alginate impression material for combined impression

GC Corporation

○Naofumi Niizeki, Atsushi Tachino, Futoshi Fusejima

【研究目的】

寒天印象材は日本の歯科診療において広く使用されているが，多数歯などの連合印象する場合，注入ポイントが多く，操作時間が短いためアルギン酸塩印象材との接着不良が起きる可能性がある。また，複数回ボイリングを行うことで安定した性状で使用できないケースがある。そこで寒天印象材に替わるペーストタイプのアルギン酸塩印象材を連合印象用に開発することで前述の臨床上的の問題が回避できると考えた。本開発品はカートリッジタイプのアルギン酸塩印象材であり，ミキシングチップを使用しオートミックスで練和される機構となっている。超高齢社会である日本において歯科診療も訪問あるいは在宅診療が増えている中，この連合印象用アルギン酸塩印象材を用いることで歯科施設ではない場所での精密印象が可能となることが期待できる。そこで本発表では，連合印象用アルギン酸塩印象材の細線再現性と消毒後の印象体が石膏表面へ及ぼす影響について報告する。

【材料および方法】

連合印象用アルギン酸塩印象材(ANN131)の比較として，従来の粉液タイプのアルギン酸塩印象材(Product①)および寒天印象材(Product②)を用いた。

・細線再現性試験

金属ブロックに各印象材を注入し，恒温水槽(35℃)に ANN131 は 90 秒，①は Product120 秒，Product②は 180 秒静置した。静置後、恒温水中から取り出し，マイクロ스코プにて細線再現性について確認した。

・石膏との適合性試験

JIS T6505:2016 の石膏との適合性試験に準拠してサンプルを作製した。金属ブロックに各印象材を注入しアクリル板で圧接させ，恒温水槽(35℃)に ANN131 は 90 秒，Product①は 120 秒，Product②は 180 秒静置した。金属ブロックから硬化体を取り出してから水洗し消毒を実施した。消毒には 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液，2%グルタラル溶液，過酢酸溶液の 3 種類を用いた。消毒時間は日本補綴歯科学会感染対策指針より引用し，それぞれ 30 分・15 分・5 分浸漬させた。消毒した印象体にニュープラストーンⅡを注入しその表面粗さ(Ra)をレーザー顕微鏡(KEYENCE, VK-X200)にて測定した。

【結果および考察】

ANN131 は精密印象材である寒天印象材 Product②と同等の 20 μ m の細線再現性を示すことが明らかとなった。したがって，ANN131 は精密印象が可能であり連合印象に適していることから，寒天印象材の代替として使用できることが示された。ANN131 は 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液および 2%グルタラル溶液で消毒を行っても石膏表面への影響がないことを確認した。一方で，過酢酸溶液では印象体の表面を荒らすことが明らかとなり従来のアルギン酸塩印象材と同様であることを確認した。

Table Roughness of gypsum surface(Ra, μ m)

Disinfectant/Product	ANN131	Product①	Product②
Before disinfection	4.4(±0.4)	5.5(±0.4)	4.7(±0.3)
0.5%Sodium hypochlorite solution	2.9(±0.2)	2.5(±0.3)	3.6(±0.3)
2%glutaral solution	3.3(±0.2)	4.7(±0.2)	12.6(±3.2)
Peracetic acid solution	12.6(±8.8)	8.4(±8.3)	3.2(±0.2)

【結論】

連合印象用アルギン酸塩印象材である ANN131 は寒天印象材と同等の精密性を有しており，消毒も可能であることから寒天印象材の代替として有用性があることが示された。

低結晶性ハイドロオキシアパタイト粒子配合製剤による象牙質知覚過敏抑制効果

¹サンスター株式会社 研究開発本部、²一般財団法人サンスター財団附属千里歯科診療所
○清水 都¹、井手上 拓¹、三宅 直子²、鈴木 秀典²

Effects of product containing a low crystalline hydroxyapatite (HAp) particle on dentin hypersensitivity.

¹Sunstar Inc. R&D、²Sunstar Foundation
○Sato Shimizu¹, Taku Ideue¹, Naoko Miyake², Hidenori Suzuki²

【目的】

2016年の歯科疾患実態調査では8020達成者は5割を超え、残存歯数は年々増加傾向にあるが、一方でう蝕や歯周病も増加している。また加齢や歯周病等で歯肉退縮が生じると歯根面が露出し、象牙質知覚過敏症が生じるリスクが高まる。知覚過敏はQOLの低下に繋がるだけでなく、その部位のブラッシングが疎かになることで、根面う蝕の発症および歯周状態の悪化を助長する可能性がある。知覚過敏の緩和方法として、硝酸カリウム(以下、硝酸Kとする)、乳酸アルミニウム(以下、乳酸Alとする)を配合する歯磨剤等のセルフケア製剤の使用があるが、これら有効成分による疼痛緩和は効果実感までに期間を要するため、より早期に効果を発揮し、かつ知覚過敏を持続的に抑制できるセルフケア製剤が求められる。本研究では、既存2種の知覚過敏抑制成分(硝酸Kおよび乳酸Al)に加え、低結晶性ハイドロオキシアパタイト粒子(以下、低結晶性HApとする)の配合により象牙質細管封鎖力を高めた被験製剤の知覚過敏抑制効果を明らかにすることを目的とした。

【試験方法】

本研究は試験参加に同意の得られた、根面が露出しており知覚過敏症状(Schiff Air Indexの分類2以上)の歯を1本以上有する成人61名を対象とした。使用した被験製剤は試験群(低結晶性HAp製剤使用群):低結晶性HAp+硝酸K+乳酸Al配合製剤、対照群1:硝酸K配合製剤、対照群2:硝酸K+乳酸Al配合製剤とし、被験者は試験開始時の冷気痛・擦過痛(VAS法)が群間で均一となるように、3群に割り付けられた。試験期間中は被験者に、指定のハブラシおよび歯磨剤での口腔清掃後、被験製剤をタフトブラシおよび歯間清掃具で被験部位に対して1日2回、4週間継続使用させ、1、2、4週間後の冷気痛・擦過痛(VAS法)を測定した。また、被験製剤を4週間使用後、使用を中止させ、さらに2週間後の冷気痛・擦過痛(VAS法)を同様に測定した。冷気痛・擦過痛(VAS法)の試験開始時からの減少量の中央値について、Kruskal-Wallis検定およびFriedman検定を用いて統計解析を行った。本研究の実施および解析はサンスター株式会社内の、臨床研究に関する妥当性評価委員会の承認(承認番号:17下-07)を受けて行った。

【結果】

規定を遵守し試験を完了した59名(男性:18名、女性:41名、年齢:47.7±9.26歳)を最終解析症例とした結果、冷気痛については、いずれの群においても試験開始時と比較して試験開始4週間後に有意に減少した($p<0.01$)。擦過痛については、試験群のみにおいて試験開始時と比較して試験開始4週間後に有意に減少した($p<0.05$)。また、試験開始1週間後に試験群は対照群2と比較して擦過痛が有意に改善し($p<0.05$)、対照群1と比較して改善度合いが大きかった。冷気痛・擦過痛ともに、被験製剤の使用中止2週間後において群間差は認められなかったが、試験群および対照群2では試験開始時と比較して、有意に減少した($p<0.05$)。

【結論】

低結晶性HAp配合製剤を4週間継続使用した結果、試験開始時と比較して冷気痛・擦過痛ともに群内で有意に減少し、対照群2と比較して、擦過痛において早期の知覚過敏抑制効果が認められた。

唾液汚染された象牙質に対するレジンセメントの接着性

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

天野歯科医院³⁾

○石井 亮^{1,2)}, 横山宗典¹⁾, 田村友彦¹⁾, 高見澤俊樹^{1,2)}, 甘利佳之¹⁾, 宮崎真至^{1,2)}, 天野 晋³⁾

Share bond strength of Resin cements to Saliva contaminated Dentin

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

○ISHII Ryo^{1,2)}, YOKOYAMA Munenori¹⁾, TAMURA Tomohiko¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)},
AMARI Yoshiyuki¹⁾, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, AMNO Susumu³⁾

【研究目的】

近年、審美性の高いコンポジットレジンやセラミックスを用いた間接修復処置を行う頻度が増加している。これらの審美性歯冠修復物を口腔内で長期間機能させるためには、高い機械的性質および接着性を有するレジンセメントの使用が必要となる。しかし、接着操作時の唾液汚染あるいは照射光が到達しにくい条件においてはレジンセメントの重合硬化反応が影響を受け、歯質接着性が低下することが懸念される。

そこで演者らは、レジンセメントの接着性に関する研究の一環として、照射光線が到達しにくい環境を想定した際の初期接着強さの経時的な変化とともにレジンセメントの重合硬化挙動を測定することによって、象牙質に対する接着性について検討した。また、レジンセメントの接着阻害因子である唾液汚染が生じた際の影響についても併せて検討を行なった。

【材料および方法】

供試したレジンセメントは、ジーセム ONE EM (GE, GC), SA ルーティング Multi (SL, クラレノリタケデンタル), パナビア V5 (PV, クラレノリタケデンタル) およびリライエックスアルティメット (RU, 3M Oral Care) の4製品を使用した。また、セメント接着時の歯面処理材としてはジーセム ONE 接着強化プライマー (GC), ユニバーサルボンド Quick (クラレノリタケデンタル), パナビア V5 トゥースプライマー (クラレノリタケデンタル) およびスコッチボンドユニバーサルアドヒーズ (3M Oral Care) の4製品を製造者指示条件に従い各レジンセメントと併用した。

1. 接着強さの測定

接着試験用試片の製作に際しては、ウシ下顎前歯歯冠部を常温重合レジンに包埋し、象牙質平坦面を耐水性 SiC ペーパー# 600 を用いて研削し、被着歯面とした。これらの被着歯面に対し、ヒト唾液を 10 μ l 滴下してこれを汚染面とした (S(+))。汚染面に対し直径 3 mm の穴をあけた、厚さ 100 μ m のテフロンテープを貼付し、被着面積を規定した。被着体としてはアルミナサンドブラスト処理を行なったステンレスロッド (直径 10.0 mm) を用いた。ステンレスロッドにレジンセメントを塗布し、被着歯面に 10 N で 10 秒間圧接した。余剰セメントを除去した後、37°C 相対湿度 100% 湿潤下に 5 分または 24 時間保管した。所定の保管時間が終了した試片は、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。なお、用いた試料の数は各条件で 15 個とした。また、ヒト唾液の使用に関しては、本学倫理委員会の審査を経て承認を得ている (倫許 EP19D01)。

2. スープ硬さの測定

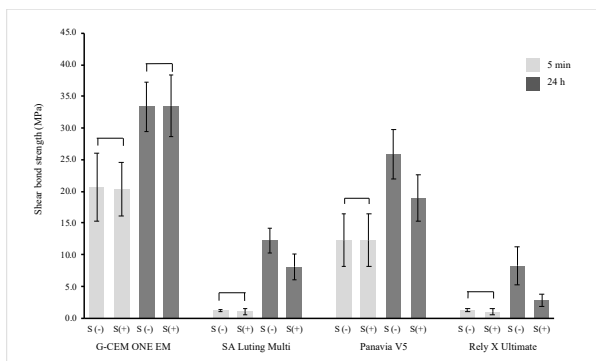
マイクロビッカース硬度計 (HMV-2, 島津製作所) を用い、荷重 0.493 N, 荷重保持時間 15 秒の条件で測定した。

【成績および考察】

得られた接着強さ試験の結果から、初期接着強さは唾液汚染の有無にかかわらず GE において有意に高い値を示した。24 時間後の接着強さでは SL, PV および RU においては唾液汚染によって影響を受けたものの、GE は影響を受けなかった。スープ硬さは、いずれのレジンメントにおいても経時的に上昇したものの、各レジンセメントで異なる傾向を示した。

【結論】

唾液汚染された象牙質に対するレジンセメントの接着強さは、GE において有意に高い値を示した。



n = 15, Values connected by horizontal lines show no significant difference (P > 0.05)

Fig 1 Share bond strength of Resin cements to Saliva contaminated Dentin

歯原性上皮細胞株と歯髄幹細胞の共培養による自発的 Ca^{2+} 応答の解析

北海道医療大学歯学部口腔生物学系薬理学分野

○石田 成美、谷村 明彦

Analysis of spontaneous Ca^{2+} response by co-culture of odontogenic epithelial cell line and dental pulp stem cells

Department of Oral Biology, Division of Pharmacology, School of Dentistry,

Health Sciences University of Hokkaido

○Narumi Ishida, Akihiko Tanimura

【目的】近年、先天的免疫不全症の原因として、細胞内カルシウム応答に関与する Stim1 と Orai1 遺伝子の変異が明らかになった。この遺伝子疾患はエナメル質形成不全も生じることから、 Ca^{2+} 応答が歯の発生に関与することが示唆されている。歯の発生においては、上皮系細胞と間葉系細胞の相互作用が重要な働きをしている。この相互作用によって上皮系細胞がエナメルマトリックスタンパク質を分泌するエナメル芽細胞に分化し、間葉系細胞は歯髄へと分化する。本研究では、エナメル芽細胞の前駆細胞である前エナメル芽細胞の細胞株(SF2 細胞)と歯髄幹細胞株(DPSC)を用いて、細胞間相互作用による Ca^{2+} 応答の役割を明らかにするために、単独、共培養条件下での Ca^{2+} 応答を長時間ライブセルイメージング解析にて観察した。

【方法】カルシウムセンサータンパク質(G-GECO、R-GECO)を安定発現する歯原性上皮細胞株(G-GECO-SF2)および歯髄幹細胞(R-GECO-DPSC)を作製して実験に用いた。37℃、5% CO_2 の培養条件下で、蛍光顕微鏡(Nikon Ti2E)を用いた長時間ライブセルイメージングを行い、G-GECO-SF2、R-GECO-DPSCの単独培養とそれらの共培養による Ca^{2+} 応答や、それらに対する各種阻害薬の作用を解析した。阻害薬の作用を調べる実験では、まず阻害薬を含まない条件で自発的 Ca^{2+} 応答を観察した後に阻害剤を添加して、同じ細胞の Ca^{2+} 応答への影響を比較した。また一部の実験では、SF2 細胞の培養上清を DPSC に加えたり、DPSC の培養上清を SF2 細胞に加えて Ca^{2+} 応答に対する作用を調べた。

【結果】G-GECO-SF2 単独培養では、間欠的な Ca^{2+} 濃度の上昇が認められた。この自発的な Ca^{2+} オシレーションは、P2Y 受容体阻害剤の Suramin (10 μM) や EGF 受容体阻害剤の Gefitinib (10 μM) によって抑制された。この自発的な Ca^{2+} オシレーションは、FGF 受容体阻害剤である FIIIN-2 (1 μM) でも抑制されたが、TGF β 受容体阻害剤 (2.5 μM , 10 μM) には強い抑制作用は見られなかった。R-GECO-DPSC 単独培養でも自発的 Ca^{2+} オシレーションが観察されたが、これらは Suramin や Gefitinib では抑制されなかったが、PLC 阻害剤の U73122 や SOCE 阻害剤の Synta66 によって Ca^{2+} オシレーションの頻度が低下した。興味深いことに、G-GECO-SF2 との共培養によって R-GECO-DPSC の自発的 Ca^{2+} オシレーションの頻度が約 3 倍に増加した。また、その Ca^{2+} 応答の頻度は Gefitinib の添加によって徐々に低下した。G-GECO-SF2 の培養上清で 12 時間処理した R-GECO-DPSC では、 Ca^{2+} 応答に大きな変化は見られなかったが、マイグレーションの促進が観察された。Gefitinib はこの Ca^{2+} オシレーションの頻度を低下させ、マイグレーションを抑制した。

【考察】阻害剤の作用から、SF2 細胞の自発的 Ca^{2+} オシレーションに対する P2Y 受容体と EGF 受容体の関与が示唆された。一方、これらの受容体は DPSC 単独培養時の自発的 Ca^{2+} オシレーションには関与しないと考えられた。また SF2 細胞との共培養による DPSC の自発的 Ca^{2+} オシレーションが Gefitinib 感受性に变化した。DPSC における Gefitinib 感受性の自発的 Ca^{2+} オシレーションは、SF2 細胞の培養上清でも誘導されたことから、SF2 細胞から放出される何らかの因子が DPSC の遺伝子発現を介して Ca^{2+} オシレーションを質的に変化させた可能性が示された。

【今後の展望】SF2 細胞の培養上清中の誘導因子とそれに伴う DPSC の遺伝子発現変化を明らかにする事によって、歯の発生に関与する遺伝子発現の制御機構を解析する。これらによって、エナメル質形成不全のメカニズムの解明が期待される。

各種象牙質知覚過敏抑制材がレジンの接着性に及ぼす影響

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

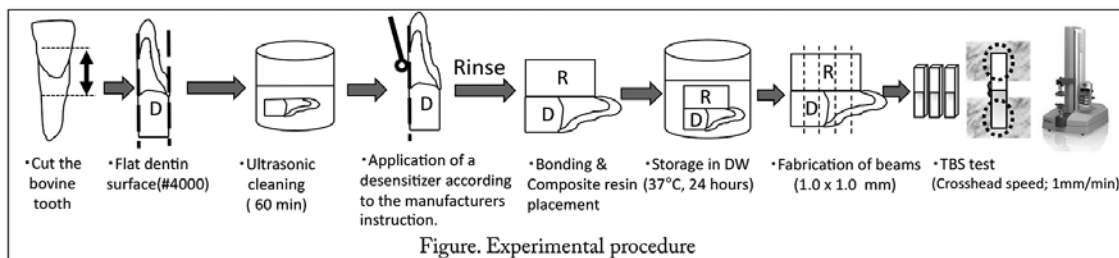
○中野健二郎, BATZORIG Bayarmaa, 村田公成, 井上和穂, 小田切ゆかり, 松井 治, 河合利浩,
友田篤臣, 富士谷盛興Adhesive effects of various desensitizing agents to *in vitro*-produced hypersensitive dentin

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

○NAKANO Kenjiro, BATZORIG Bayarmaa, MURATA Kosei, INOUE Kazuho, ODAGIRI Yukari, MATSUI Osamu,
KAWAI Toshihiro, TOMODA Shigetaka, FUJITANI Morioki

【研究目的】近年、生活習慣の変化により象牙質知覚過敏症の患者が激増しており、それに伴い種々の知覚過敏抑制材が市販されている。なかでも、くさび状欠損など実質欠損を伴う象牙質知覚過敏症の処置においては、まず知覚過敏抑制材の塗布により感覚鈍麻を図ってから、レジン修復を施す場合がある。ところが、最近の知覚過敏抑制材を塗布した後のレジンの接着性に関する研究は少ない。そこで本研究は、脱灰によることなく象牙細管が開口した知覚過敏象牙質モデルを用いて、各種象牙質知覚過敏抑制材がレジンの象牙質接着性に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】ウシ抜去前歯の唇側歯頸部に、#4000 (アルミナ耐水フィルム, 3M ESPE) の象牙質平坦面を注水下で作製し、超音波洗浄 (40 kHz, アズワン) を 60 分間施し、象牙細管が開口した知覚過敏象牙質モデルを調製した。当該面に、ケアダイン シールド (CS, ジーシー), ナノシール (NS, 日本歯科薬品), ティースメイト ディセンシタイザー (TD, クラレノリタケデンタル) および MS コート Hys ブロックジェル (MS, サンメディカル) の 4 種の象牙質知覚過敏抑制材をそれぞれ業者指示に従って塗布した。その後、直ちに水洗乾燥し、ボンディング処理 (スコッチ ボンドユニバーサルアドヒーズィブ, 3M ESPE) 後コンポジットレジン (クリアフィル AP-X, クラレノリタケデンタル) を充填した。なお、対照として、抑制材を塗布していない#600 (シリカ耐水研磨紙, リファインテック) および#4000 調製の象牙質面を用いた。これらの試料を 37°C 蒸留水中に 24 時間保管後、微小引張試験用試片 (1 mm×1 mm) を調製し、クロスヘッドスピード 1 mm/分 で接着強さを測定した (EZ Test, 島津製作所)。得られた接着強さ (μ TBS) は、一元配置分散分析と Tukey's test を用いて統計学的処理を施し ($n=10$, $\alpha=0.05$)、また、接着試験後の破断面を走査電子顕微鏡 (VE-9800, KEYENCE) により観察した。これらの実験手順を図に示す。



【結果および考察】得られた μ TBS を一括して表に示す。対照の μ TBS は、#4000 は 31.4 ± 9.0 MPa, #600 は 34.9 ± 4.3 MPa でほぼ同等であり ($p > 0.05$)、いずれもボンディング材内およびレジン内凝集破壊を示す混合破壊であった。一方、NS と TD の μ TBS は、それぞれ 45.5 ± 5.8 MPa および 40.7 ± 4.3 MPa で、#4000 より有意に高く ($p < 0.05$)、いずれもボンディング材内、象牙質内およびレジン内の凝集破壊を示す混合破壊であった。ところが、CS の μ TBS は、対照より有意に低い 8.4 ± 3.4 MPa であり、ボンディング材内凝集破壊がすべての試片に認められ、CS がボンディングレジンの重合を阻害している可能性が考えられた。なお、MS では、試片作製時にレジンが脱落し μ TBS 測定が不可能であり、MS ポリマーエマルジョンによる被膜形成がレジンの接着を阻害していることが考えられた。このように、知覚過敏抑制材と象牙質の相互作用による放出イオン、沈着物、脱灰抑制効果あるいは被膜形成などがレジンの接着性に大きく影響していることが示唆された。今後は、抑制材を塗布して 1 週間後の経過観察時に知覚過敏が軽快した場合の臨床を想定して、同様の実験を進める予定である。

Table. Microtensile bond strengths (MPa)

Control		Desensitizers			
#600	#4000	Caredyne shield	Nanoseal	Teethmate desensitizer	MS Coat Hys Block gel
34.9(4.3) ^a	31.4(9.0) ^b	8.4(3.4) ^{a,b}	45.5(5.8) ^{a,b}	40.7(4.3) ^b	— [§]

Bond strengths are shown as the mean (SD). $n=10$ * Significant differences between values marked with the same letter ($p < 0.05$).

§ Test could not be performed because of interfacial dissociation that occurred during sample preparation.

【結 論】脱灰によることなく象牙細管が開口した知覚過敏象牙質モデルにおいて、最近の象牙質知覚過敏抑制材の中にはレジンの接着性を促進、あるいは阻害する抑制材があることが判明した。

最近の接着性レジンセメントシステムに対する質的接着評価 —メタルフリーCAD/CAM 修復材料および象牙質への接着強さに基づく検討—

日本歯科大学生命歯学部 接着歯科学講座
○中澤美和, 越田清祐, 前野雅彦, 柵木寿男, 奈良陽一郎

Qualitative bonding evaluation for recent adhesive resin cement systems —Investigation based on the bond strengths to metal-free CAD/CAM restorative materials and dentin—

Department of Adhesive Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
ONAKAZAWA Miwa, KOSHIDA Seisuke, MAENO Masahiko, MASEKI Toshio, NARA Yoichiro

【目的】メタルフリー修復は接着性レジンセメントによる装着を必須とし、CAD/CAM 修復の進展と共に、広く臨床応用されている。本研究では、最近の接着性レジンセメントに対する質的接着評価を図るために、各種メタルフリーCAD/CAM 修復材料への引張接着強さ(TBS)を測定し、ワイブル分析による検討を行った。

【材料および方法】接着性レジンセメントには、被着体前処理を不要とするセルフアドヒーズレジンセメントの SA Luting Multi (Kuraray Noritake Dental, SA)、修復物に対し Clearfil Ceramic Primer Plus を、象牙質に対し PANAVIA V5 Tooth Primer を用いた処理を経て装着する PANAVIA V5 (Kuraray Noritake Dental, PV) およびオールインワンアドヒーズレジンセメント Scotchbond Universal を用いた処理後にセメンティングする RelyX Ultimate (3M, RU) を選択した。一方、被着体としたメタルフリーCAD/CAM 修復材料には、酸化ジルコニウムブロックの Lava Esthetic (3M, Z)、シリカ基材のセラミックブロック 2 種、すなわち長石系の VITABLOCS Mark II (VITA, V)、二ケイ酸リチウム含有の IPS e.max CAD (Ivoclar vivadent, E)、加えてハイブリッド型レジンブロックの CERASMART 300 (GC, C) を選択した。また、被着体の対照には、本学部研究倫理委員会(NDU-T-2019-23)承認を経て、ヒト抜去健全大臼歯の歯冠部水平研削象牙質(D)を用いた。接着試験試料の作製は、直径 2.4 mm の円形開孔部を有する厚さ 70 μ m のアルミ箔テープによって被着面規定し、製造者指定の術式の下、規格化レジン硬化体を接着させた。ついで 37°C 水中 24 時間保管後に、1.0 mm/min 条件下の TBS 値を測定(n=6)した。得られたデータは、メジアンランク法によるワイブル分析を行った。

【成績と考察】3 種セメントシステムの 5 種被着体 Z/V/E/C/D に対する平均 TBS(SD) 値[単位 MPa]は、SA: 14.9(2.8)/8.5(1.9)/7.5(3.9)/10.8(3.0)/5.6(1.9), PV: 14.7(1.4)/8.6(1.7)/5.8(2.7)/6.8(3.0)/16.4(2.3), RU: 20.2(4.8)/14.3(3.2)/9.4(3.1)/12.8(1.7)/17.4(5.6)であった。Fig. 1 に、3 種セメント間の 4 種 CAD/CAM 修復材料への TBS に基づく平均 TBS 値とワイブル係数(Wm)および 10%/90% 推定破壊応力値(PF10 / PF90)の違いを示す。今回は、特に接着信頼性の指標である Wm 値と接着耐久性の点で臨床的示唆に富む PF10 値に着目し評価を図った。セメントシステムに注目すると、Wm 値の大小関係は RU>SA $\geq$ PV を、PF10 値は RU>SA>PV を示した。したがって、RU はメタルフリーCAD/CAM 修復材料を対象とする場合、良好な接着強さ獲得能に加え、優れた接着信頼性・耐久性を兼備し、また SA は、各種前処理を要する PV に比べ、接着耐久性に長けた自己接着能を有するシステムと評価できた。Fig. 2 に、5 種被着体間の 3 種セメントシステムの TBS に基づく各評価値の違いを示す。Z は、Wm・PF10 において最大値を示し、さらに他の被着体値に比べ同等または有意に大きな値を示すことから、確実に堅固な接着が獲得できる被着体であることが判明した。一方、臨床で多用されている E は、他の CAD/CAM 修復材料より接着信頼性・耐久性に劣る傾向にあり、臨床応用に際してはセメントシステムの選択に留意すべきことが示唆された。また、対照とした D との接着信頼性と耐久性は、CAD/CAM 修復材料に比べ劣る傾向にあり、今後、メタルフリー修復材料と象牙質の両者に対し、量的にも質的にも優れた接着一体化を果たすセメントシステムの開発改良が期待される。

【結論】最近の 3 種接着性レジンセメントシステムの接着信頼性および耐久性は、接着対象となる 4 種メタルフリーCAD/CAM 修復材料と象牙質によって異なる挙動を示した。また、D との接着信頼性と耐久性は、CAD/CAM 修復材料に比べ劣る傾向にあり、量的・質的に優れた接着一体化を果たすセメントシステムの開発改良が期待される。

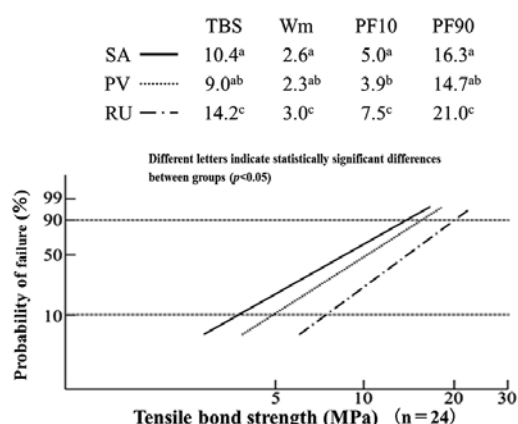


Fig. 1 Differences in Weibull parameters among the three adhesive resin cement systems

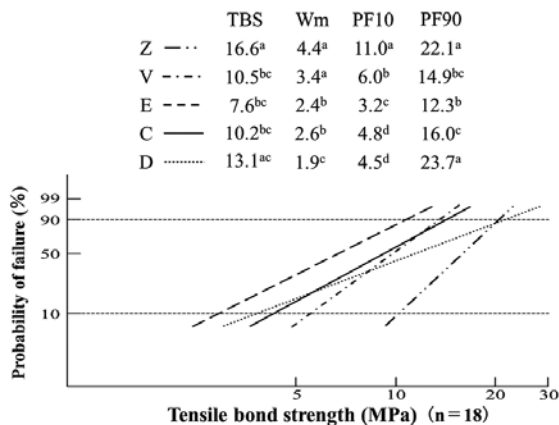


Fig. 2 Differences in Weibull parameters among four restoratives and human dentin

過飽和液中レーザー照射法によるセメント質へのフッ素担持リン酸カルシウム成膜

¹北海道大学病院 口腔総合治療部, ²北海道大学大学院歯学研究院 歯周・歯内療法学教室, ³北海道大学大学院歯学研究院 歯科保存学教室, ⁴北海道大学大学院歯学研究院 臨床教育部, ⁵産業技術総合研究所 ナノ材料研究部門
○田中 佐織^{1, 2}, 宮治 裕史², 田中 享³, 井上 哲⁴, SANTHAKUMAR Syama⁵, 大矢根 綾子⁵

Fluoride-incorporated calcium phosphate coating on human tooth cementum by laser irradiation in supersaturated solutions

¹Division of General Dentistry Center for Dental Clinics, Hokkaido University Hospital, ²Department of Periodontology and Endodontology, ³Department of Restorative Dentistry, ⁴Division of Clinical Education, Hokkaido University Faculty of Dental Medicine, ⁵Nanomaterials Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology
○TANAKA Saori^{1,2}, MIYAJI Hirofumi², TANAKA Toru³, INOUE Satoshi⁴, SANTHAKUMAR Syama⁵, OYANE Ayako⁵

【研究目的】

歯肉退縮に伴う露出根面のう蝕が多発し、その予防・進行抑制、さらに治療は歯科臨床において大きな課題となっている。過飽和液中レーザー照射法は、材料のレーザー照射部位に迅速かつ簡便にリン酸カルシウム (CaP) 膜を形成する技術である。本法を用いることでセメント質の表面に機能性物質を担持させた CaP 膜を構築できれば、セメント質の表面改質や根面う蝕予防、治療に役立つと考えられる。我々は第 152 回日本歯科保存学会において、過飽和液中レーザー照射によりヒト象牙質表面にフッ素担持アパタイトを成膜できたこと、同膜は *Streptococcus mutans* に対する抗菌性を持つことを報告した。本研究では過飽和液中レーザー照射法により、ヒト歯根セメント質上にフッ素担持 CaP 成膜を試みた。

【材料と方法】

患者の同意を得て提供された抜去歯牙の歯冠と歯根膜を除去し、歯根セメント質基材を得た。フッ化ナトリウム (1 mM) を添加した CaP 過飽和溶液 (Ca: 3.75 mM, P: 1.50 mM) 中にセメント質基材を設置し、同基材表面の一部 (直径約 5 mm) に Nd:YAG ナノ秒パルスレーザー (30 Hz, Quanta-Ray LAB-150-30, Spectra-Physics 製) の非集光ビーム (355 nm, 6 W/cm²) を 10 分間照射した後、超純水で洗浄、風乾した。未処理の基材、および処理後の基材のレーザー照射面および非照射面を SEM-EDX によって分析した。なお、本実験は北海道大学病院自主臨床研究審査委員会 (登録番号:自 16-72)、および産業技術総合研究所生命倫理委員会の承認 (整理番号:ヒ 2016-217) を受けて実施された。

【結果】

処理前後の基材の SEM 観察の結果、レーザー照射面にはサブミクロンサイズの凹凸構造が新たに観察された。EDX 分析の結果、照射面には Ca と P に加え新たに F が検出され、Ca/C 元素比の上昇 (処理前: 0.03 ± 0.01 → 処理後の照射面: 0.47 ± 0.31) も認められた。

これらの結果は、照射面にフッ素担持 CaP が生成したことを示している。一方非照射面では、表面構造および組成の顕著な変化は認められず、Ca/C 元素比は 0.05 ± 0.05 であった。また F は検出されなかった。

【結論】

過飽和液中レーザー照射法によりヒト歯根セメント質上にフッ素担持 CaP を成膜できる可能性が示唆された。

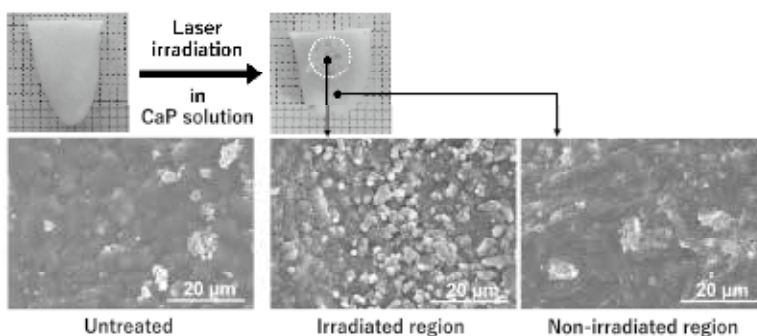


Fig. SEM images of the surfaces of the cementum substrates before and after laser irradiation in the CaP solution

本研究は KAKENHI (19K10103, 20H04541) の助成を受けて実施された。

フッ化物配合バーニッシュと歯磨剤の併用が根面象牙質に及ぼす効果

スリーエム ジャパン イノベーション株式会社 歯科用製品技術部

○田島健一, 宮本康司, Joan Wu

Combination Effect of Fluoride Varnish and Toothpaste on Root Dentin

Oral Care Solutions Division R&D Department, 3M Japan Innovation Limited

○Kenichi Tajima, Koji Miyamoto, Joan Wu

【緒言】

8020 運動の成果により残存歯数が多くなっている一方、加齢による歯肉退縮が原因の根面う蝕が増加している。また、歯周外科処置後の急な根面の露出により、根面う蝕が発生してしまうケースもある。根面象牙質は臨界 pH がエナメルよりも高いことからう蝕リスクが高く、また知覚過敏症も併発することが多い。高濃度フッ化物配合バーニッシュは根面う蝕リスクを抑制することが知られており、う蝕治療ガイドライン¹⁾においてもその使用が奨励されている。2020 年夏に本邦でも発売となったクリンプロ™ ホワイト バーニッシュ F (以下バーニッシュ) は 22,600ppm のフッ化物を配合しており、海外において 10 年以上の臨床実績のある知覚過敏抑制剤である。本研究ではバーニッシュ単体およびバーニッシュと歯磨剤(クリンプロ™ 歯みがきペースト F1450)との併用による根面象牙質への効果を検証した。

【材料および方法】

ウシ下顎前歯歯根をダイヤモンドカッターにて 3×5×3mm に切り出し、歯根面が露出するようにアクリル樹脂にて包埋した。象牙質表面を耐水研磨紙#8000 まで研削後、4×4mm の処理面をネイルバーニッシュにて規定した。試験体は、バーニッシュ塗布の有無及び歯磨剤処理の有無の 4 群に分類した。すなわち、1) バーニッシュ塗布あり、歯磨剤処理あり (+/+), 2) バーニッシュ塗布あり、歯磨剤処理なし (+/-), 3) バーニッシュ塗布なし、歯磨剤処理あり (-/+), 4) バーニッシュ塗布なし、歯磨剤処理なし (-/-) とした。1 及び 2 群においては、バーニッシュを塗布し再石灰化溶液 (1.5mM Ca, 0.9mM P, 20mM HEPES buffer, pH7.0) に 24 時間浸漬した。その後、全ての群に対して、歯磨剤スラリーで 1 分間処置 (①) →再石灰化溶液に 1 時間浸漬 (②) →脱灰液 (1.5 mM Ca, 0.9 mM P and 50 mM Acetic Acid, pH 4.5) に 3 時間浸漬→②→①→再石灰化溶液に一晩浸漬、からなるサイクルを 10 サイクル実施した。微小硬さ試験器 (HM-220D, ミツトヨ) にてビッカース硬度 (VHN) を測定し、分散分析と Tukey の多重比較で有意水準 5 %にて統計処理を行った。

【結果】

バーニッシュ塗布前後、pH サイクル試験 5 日目、および 10 日目の VHN を右図に示す。pH サイクル試験 10 日目において、(+/-) 群は (-/+) 及び (-/-) 群に比べ有意に高い値を示した。さらに、(+/+) 群は他の全ての群よりも有意に高い値を示した。

【考察】

本結果から、バーニッシュの単回塗布は歯磨剤の 10 日間使用よりも根面象牙質の脱灰を有意に抑制することがわかった。さらに、バーニッシュに加え歯磨剤も併用することにより、その根面象牙質脱灰抑制効果はバーニッシュ単体よりも有意に高くなることが明らかとなった。以上の結果は、ホームケアでの歯磨剤使用に加えて、定期的なオフィスでのバーニッシュ塗布により、露出根面のう蝕リスクが抑制できることを示唆している。

【文献】1)日本歯科保存学会編 う蝕治療ガイドライン 第2版, 2015 年

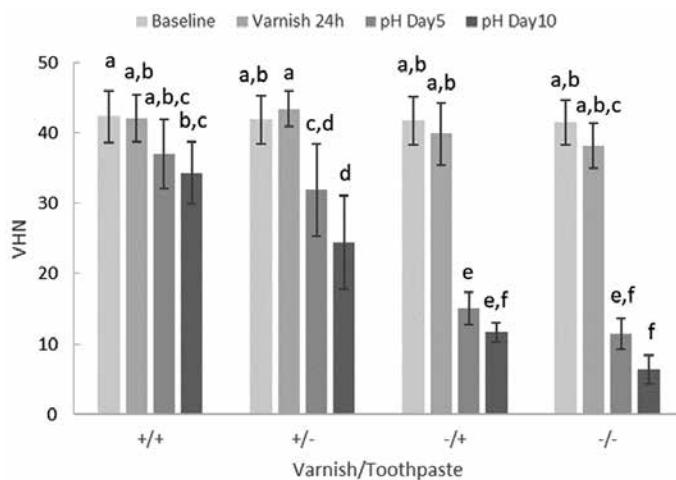


Fig. Vickers hardness number before and after varnish application and day5 and day10 of pH cycling test. Different letters denote statistical differences using Tukey test.

新規レジンセメントの歯質接着性からの検討：各種処理材の影響

¹⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野²⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 総合歯科学分野○入江正郎¹⁾, 岡田正弘¹⁾, 武田宏明²⁾, 鳥井康弘²⁾, 松本卓也¹⁾

Shear bond strength to tooth structure of new resin cements: Effect of various primers

¹⁾ Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.²⁾ Department of General Dentistry,○Masao IRIE¹⁾, Masahiro OKADA¹⁾, Hiroaki TAKETA²⁾, Yasuhiro TORII²⁾, Takuya MATSUMOTO¹⁾

【 緒言 】

最近のレジンセメントは、ユニバーサル化した処理材が試みられ、高性能、多機能化してきた。そこで今回は、新規発売予定の処理材を限定しないレジンセメントについて、種々の市販処理材の併用効果を歯質接着強さから検討した。

【 材料と方法 】

レジンセメントは新規発売予定の Nexus Universal (KaVo/Kerr) を使用、下記の Table に使用した処理材を示した。方法は、ヒトエナメル質や象牙質面を対象として使用（岡山大学研究倫理審査専門委員会：承認番号 研 1901-036）、ISO のせん断接着強さの測定指針（ISO 29022）に準じて測定した¹⁾。すなわち、被着面を#400の耐水研磨紙で最終研磨後、各社の処理材で歯質を処理、テフロンモールド（内径 3.6 mm、深さ 2.0 mm）を被着面に固定し、テフロンモールド内にセメントを塗布後、ステンレスロッドを圧接、光照射（20×2 sec.）して硬化させ、1日間 37℃蒸留水中浸漬後、せん断接着強さを測定した。併せて従来のレジンセメントシステムと比較とした。

【 結果と考察 】

下記の Table に1日後の接着強さを示した。いずれの処理材もエナメル質と象牙質に対する接着強さは有意な差はみられず、効果が確認された。OptiBond Universal, OptiBond eXTRa Universal, Scotchbond Universal Adhesive 処理においては、コントロールとした Panavia V5 / Panavia V5 Tooth Primer と比較して、両歯質に対する接着強さに有意差がなかった点から、この効果が確認できた。

演題発表に関しまして、開示すべき COI 関係にある企業はありません。

Table Shear bond strength to enamel and to dentin substrates after one-day storage (MPa)

Cement / Pretreating agent (Manufacturer)	Mean (S.D., n=10)		t-Test ^a
	To Enamel	To Dentin	
Nexus Universal / OptiBond Universal (KaVo / Kerr)	21.2 (4.6) *	22.4 (2.8) *	NS
Nexus Universal / OptiBond eXTRa Universal (KaVo / Kerr)	26.0 (3.7) *	26.4 (2.6) *	NS
Nexus Universal / Scotchbond Universal Adhesive (3M)	24.9 (4.1) *	25.5 (2.4) *	NS
Nexus Universal / G-Premio BOND (GC)	19.3 (3.4)	17.6 (2.6)	NS
Nexus Universal / Clearfil Universal Bond <i>Quick ER</i> (Kuraray Noritake)	18.5 (3.5)	18.6 (3.3)	NS
Nexus Universal / BONDMER Lightless (Tokuyama Dental)	16.4 (3.8)	15.3 (3.2)	NS
Nexus Universal / BeautiBond Universal (Shofu)	21.1 (2.6) *	19.5 (3.3)	NS
Nexus Universal / Adhese Universal (Ivoclar Vivadent)	20.1 (3.4)	20.1 (3.0) *	NS
As a control:			
Panavia V5 / Panavia V5 Tooth Primer (Kuraray Noritake)	24.1 (4.2)	24.4 (6.5)	NS

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

*: Not significantly different compared to Panavia V5 / Panavia V5 Tooth Primer (t-Test, p>0.05)

【 文献 】

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

新規ボンディング材の歯質接着性からの検討：湿潤 vs. 乾燥

¹⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野²⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 総合歯科学分野○入江正郎¹⁾, 岡田正弘¹⁾, 武田宏明²⁾, 鳥井康弘²⁾, 松本卓也¹⁾

Shear bond strength to tooth structure of new bonding agent: moist dentin vs. dry dentin

¹⁾Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.²⁾Department of General Dentistry,OMasao IRIE¹⁾, Masahiro OKADA¹⁾, Hiroaki TAKETA²⁾, Yasuhiro TORII²⁾, Takuya MATSUMOTO¹⁾

【 緒言 】

昨今、市販されているボンディング材は、ユニバーサル化が試みられ、高性能、多機能化している。象牙質への接着については、臨床上的水分のコントロールが難しく、十分接着させることが難しいケースも多い。そこで今回は、新規市販予定のボンディング材について、このような環境下を想定して湿潤象牙質に対する接着強さを検討した。

【 材料と方法 】

新規市販予定のボンディング材、ADH-XTE (3M) を使用、比較として下記の Table に使用したボンディング材を使用した。方法は、ヒト湿潤象牙質面を対象として使用（岡山大学研究倫理審査専門委員会：承認番号 研 1901-036）、コンポジットレジン Filtek Z250 (3M) を使用、ISO のせん断接着強さの測定指針 (ISO 29022) に準じて測定した¹⁾。すなわち、被着面を #400 の耐水研磨紙で最終研磨後、湿潤状態に保ち、各社の処理材を各メーカー指示に従って処理、テフロンモールド（内径 3.6 mm、深さ 2.0 mm）を被着面に固定し、テフロンモールド内にコンポジットレジン を充填、光照射（20 sec.）して硬化させ、光照射直後と 1 日間 37 °C 蒸留水中浸漬後のせん断接着強さを測定した。同様に通常の乾燥象牙質面と比較検討した。

【 結果と考察 】

下記の Table に両象牙質に対する光照射直後と 1 日後の接着強さを示した。1 日後ではいずれの処理材も湿潤象牙質面および乾燥象牙質面に対する接着強さは有意な差はみられなかった。新規市販予定のボンディング材、ADH-XTE は湿潤象牙質に対する接着強さも乾燥象牙質面に対して 1 日後は有意差のない値を示し、乾燥象牙質及び湿潤象牙質に対しても接着することが確認された。また、すべてのボンディング材において光照射直後と比較して 1 日後の方が優れた値を示した。

演題発表に関しまして、開示すべき COI 関係にある企業はありません。

Table Shear bond strength to moist and to dry dentin substrates (MPa)

Bonding agent (Manufacturer)	Mean (S.D., N=10)					
	Immediately after light-activation			After one-day storage		
	To moist dentin	To dry dentin	t-Test ^a	To moist dentin	To dry dentin	t-Test ^a
ADH-XTE (3M)	11.8 (1.8)	14.2 (2.1)	S	17.0 (3.3)	20.1 (2.9)	NS
Scotchbond Universal Adhesive (3M)	11.5 (1.9)	14.6 (1.8)	S	17.2 (4.1)	19.2 (2.7)	NS
G-Premio BOND (GC)	11.4 (3.2)	14.9 (4.0)	S	18.4 (3.8)	18.9 (3.3)	NS
Clearfil Universal Bond Quick ER (Kuraray Noritake Dental)	10.6 (3.8)	13.3 (3.4)	NS	16.6 (2.6)	19.1 (4.1)	NS
BeautiBond Universal (Shofu)	11.4 (2.9)	12.6 (2.7)	NS	19.5 (3.5)	19.1 (3.0)	NS
BONDMER Lightless (Tokuyama Dental)	8.7 (2.5)	11.9 (3.7)	S	15.6 (2.8)	17.9 (2.5)	NS

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

【 文献 】

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

汚染除去材が接着性レジンセメントのせん断接着強さに及ぼす影響

¹⁾岡山大学病院 総合歯科, ²⁾岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体材料学分野
○矢部 淳^{1,2)}, 入江正郎²⁾, 岡田正弘²⁾, 野崎高儀¹⁾, 武田宏明¹⁾, 鳥井康弘¹⁾, 松本卓也²⁾

Shear bond strength of self-adhesive resin cement: effect of Cleaning Agent.

¹⁾Comprehensive Dental Clinic, Okayama University Hospital,
²⁾Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.
○Atsushi Yabe^{1,2)}, Masao Irie²⁾, Masahiro Okada²⁾, Nozaki Takayoshi¹⁾, Hiroaki Taketa¹⁾, Yasuhiro Torii¹⁾, Takuya Matsumoto²⁾

【緒言】 審美修復に対する需要に応じて、接着の重要性も増している。臨床において試適後の修復物内面や、被着歯面が唾液汚染されることによる接着力低下は、看過しえぬ問題である。今回、ヒト唾液で汚染された被着面において、汚染除去材 (Cleaning Agent : CA) が接着性レジンセメントの接着強さに及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】 4 種の汚染除去材 (KATANA Cleaner : Kuraray Noritake Dental : KC ; Ivoclean : Ivoclar Vivadent : IC ; 37 % aq. phosphoric acid : Kuraray Noritake Dental : PA ; ZirClean : Bisco : ZC) が、接着性レジンセメントと、2 種類のヒト唾液汚染セラミックス (IPS e.max : Ivoclar Vivadent : e.max ; Katana HT, Kuraray Noritake Dental: HT) あるいはヒト象牙質とのせん断接着強さに及ぼす影響を比較した。接着性レジンセメントとして、SA Luting Multi (Kuraray Noritake Dental) と RelyX Unicem 2 Automix (3M)を用いた。方法は、ISO の接着強さの測定指針 (ISO/TR 11405) を参考として行なった。セラミックスおよびヒト象牙質は、# 400 の耐水研磨紙で最終研磨後、IPS e.max は IPS Ceramic Etching Gel (20 s, Ivoclar Vivadent) にて前処理を行い、Katana HT はサンドブラスト (粒子径 50 μ m のアルミナを 0.3 MPa, 10 秒間) で処理した。全てのサンプルは蒸留水で水洗、エアーで十分に乾燥させた。ヒト唾液を塗布 (10 sec), エアーにて乾燥させたサンプルを、各種 CA で処理した。テフロンモールド (内径 3.6 mm, 深さ 2.0 mm) を固定し、モールド内に上記セメントを用いてステンレスロッド (粒子径 50 μ m のアルミナを 0.3 MPa10 秒間噴射サンドブラスト処理後、Alloy Primer: Kuraray Noritake Dental で処理) を接着させた。40 秒間光照射して硬化させ、24 時間 37 $^{\circ}$ C 蒸留水中に浸漬後、せん断接着強さを測定した。

【結果】 ヒト唾液で汚染された 2 種のセラミックスについて、いくつかの汚染除去材の使用後に、Base と同程度の接着強さに回復した。汚染された IPS e.max に対する SA Luting Multi の接着強さも、KC においては Air-dry と比較して有意に強い接着力を示した。また、ヒト象牙質に対しては、いずれの接着性レジンセメントにおいても PA と比較して、KC にて Base と同程度の接着強さに回復した。同汚染除去材の歯質接着性の向上への寄与が示唆された。

本演題内容は、本学倫理審査委員会 (研 1912-014) で承認を受けている。発表に関連しまして、開示すべき COI 関係にある企業などはありません。

Table Shear bond strengths [Mean (S.D.), MPa], of self-adhesive resin cement to ceramics and dentin contaminated with saliva.

Bonding site / Self-adhesive resin cement		Base	Air-dry	Cleaning agent			
				KC	IC	PA	ZC
To IPS e.max	SA Luting Multi	38.1(5.0) a*	20.4(3.4) b	32.1(6.4) c	28.2(6.4) bc	24.1(3.7) b	25.1(3.6) bc
	RelyX Unicem 2 Automix	32.4(4.2) d	25.4(3.6) e	30.1(4.0) de	29.0(5.3) de	28.4(3.6) de	26.7(4.4) de
To HT	SA Luting Multi	36.2(6.3) f	19.2(5.3) g	29.4(3.7) fg	27.3(4.9) fg	24.7(4.3) fg	23.2(4.4) fg
	RelyX Unicem 2 Automix	30.8(4.9) h	13.9(2.9) i	24.5(5.0) hj	18.1(4.0) ij	21.9(4.8) j	24.5(4.1) hi
To Dentin	SA Luting Multi	15.9(2.0) k	10.5(3.8) l	13.8(2.6) kl	-	5.0(3.1) m	-
	RelyX Unicem 2 Automix	17.8(3.5) n	8.8(2.1) o	17.7(5.1) n	-	9.2(3.2) o	-

*: Means with the same letters were not significantly different (Tukey Test, $p > 0.01$, $n=10$)

咬合面まで一括充填可能なバルクフィルコンポジットレジンの サーマルサイクル後の機械的強度

株式会社ジーシー
○船山直矢、伏島歩登志、熊谷知弘

Mechanical property after thermal cycle of bulk fill composite resins used as a one-step application for bulk filling up to the occlusal surface

GC Corporation, Tokyo, Japan
○FUNAYAMA NAOYA, FUSEJIMA FUTOSHI, KUMAGAI TOMOHIRO

【研究目的】 深い窩洞に一括充填できるバルクフィルコンポジットレジン(以下、バルクフィル CR)は、短時間で充填修復が可能であり、チェアタイム短縮といった利便性から需要が高まっている。フロアブルタイプのバルクフィル CR は窩壁との馴染みが良い一方で、硬化深度の向上や硬化収縮の低減が基本設計となっており、従来型 CR に比べて強度が劣る傾向にある。また、一般的にコンポジットレジンは口腔内において、吸水や熱的ストレスに起因する経時的な劣化が懸念される。本研究では、5℃/55℃、10,000 回のサーマルサイクル前後の各種バルクフィル CR の曲げ試験を実施し、サーマルサイクル後の機械的強度について評価したので報告する。

【材料と方法】

1. 曲げ試験；試験にはグレースフィルバルクフロー(以下 GBF、ジーシー)とバルクフィル CR 製品 A、B、C を使用した。JIS T 6514:2015 に従って、オートグラフ(島津製作所製)を用いて3点曲げ試験を行い、曲げ強さの測定を行った。曲げ強さの測定に際し、サーマルサイクル試験の実施/未実施試験体それぞれ(n=5)にて測定を行った。得られた結果は、Turkey-Kramer の検定(有意差水準1%)によって統計処理を行った。

2. サーマルサイクル試験；上記の曲げ試験において、JIS T 6514:2015 に従って試験体の作製と一日の 37℃水中浸漬を行った後、水中 5℃⇄55℃のサーマルサイクル(10,000 回)を行った後、同様に曲げ試験を行った。

【結果と考察】 Fig. 1 に曲げ試験結果を示した。既存製品に比べて、GBF はサーマルサイクル前後においても曲げ強度が高かった。GBF に配合されているナノフィラーにシランカップリング処理が均一に施されており、結果としてフィラーの剥離・脱離による機械的強度の低下が起こりにくかったと考えられる。

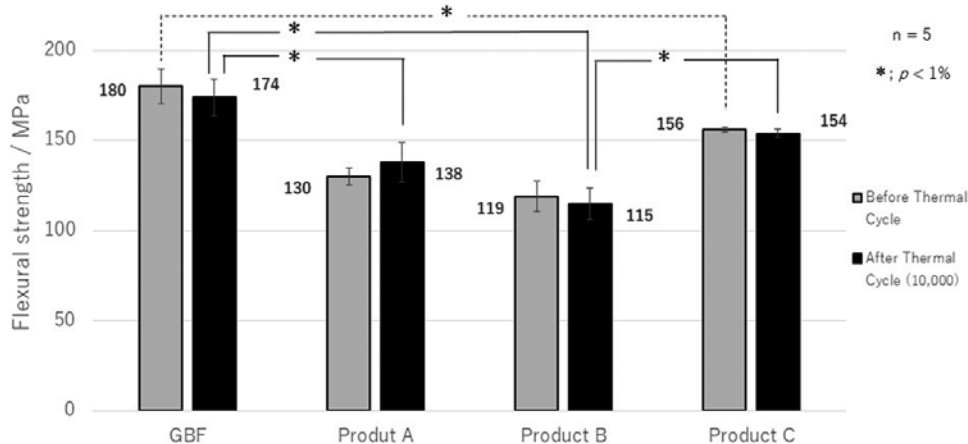


Fig. 1. The results of flexural strength (before/after thermal cycle)

【結論】 バルクフィルコンポジットレジン GBF は、サーマルサイクル後も優れた機械的物性を示した。よって、口腔内における長期的な予後においても、高い耐久性が期待される。

Effect of the chloramine-T solution on the bond strength of one-step self-etch adhesives to dentin

¹Hokkaido University, Graduate School of Dental Medicine, Dept. of Restorative Dentistry

²Hokkaido University, Faculty of Dental Medicine, Dept. of Restorative Dentistry

Liu Yunqing¹, Alma Arefin¹, Chowdhury Abu Faem Mohammad Almas², Yamauti Monica², Sano Hidehiko²

The purpose of this study was to evaluate the effect of the chloramine-T solution on the bond strength of one light-cure and one chemical-cure one-step self-etch adhesives to dentin. The study was approved by the Ethics Committee of the Hokkaido University Faculty of Dentistry (#2018-09). Forty-eight freshly extracted permanent human molars were sectioned to expose flat mid-coronal dentin, ground with #600-grit SiC papers and randomly allocated to eight groups (n = 5) according to a) adhesive - Bond Force II (BF; light-cure, Tokuyama, Japan), and Bondmer Lightless (BL; chemical-cure, Tokuyama, Japan); b) pretreatment solution - distilled water or 0.5% chloramine-T solution; and c) dipping time - 5 min or 60 min before adhesive application. The adhesives were applied as per the manufacturers' instructions, followed by composite resin (Clearfil AP-X, Kuraray Noritake; Japan) build-up and water storage (37° C, 24 h). Then, the bonded teeth were sectioned to obtain 1-mm² resin-dentin beams that were subjected to the microtensile bond strength (μTBS) test. Additional eight teeth (n = 1) were prepared to observe the resin-dentin interface using SEM (x800). μTBS data were analyzed using a Three-way ANOVA, followed by Tukey's test (α = 0.05). Adhesives ($F = 332.765$, $p < 0.001$) and dentin pretreatment solutions ($F = 275.293$, $p < 0.001$) exerted significant effects on the μTBS, but the effects of dipping time was not significant ($F = 28.390$, $p = 0.059$). The mean μTBS values of the tested BF groups were significantly higher than those of BL groups (Table; $p < 0.05$). In BF, regardless of the dipping time, the chloramine-T solution did not result in significant differences from those obtained with distilled water ($p > 0.05$). However, in BL groups, 60 min dipping in chloramine-T solution resulted in a significant difference from its distilled water counterpart ($p < 0.05$). SEM of the adhesive interface showed that the adhesive penetrated the dentin by forming long and dense resin tags with a thick and uniform adhesive layer in BF. Conversely, shorter and more sparse resin tags could be detected in BL with an uneven adhesive layer. The bond strength of chemical-cure adhesive might be affected by dipping in chloramine-T solution.

Table - Mean μTBS values (MPa±SD) of the tested adhesives (n = 5)							
BL				BF			
0.5 % Chloramine-T		Distilled water		0.5 % Chloramine-T		Distilled water	
5 min	60 min	5 min	60 min	5 min	60 min	5 min	60 min
17.4±2.3 ^b	12.2±3.3 ^a	21.3±2.0 ^{b,c}	25.6±5.3 ^c	34.3±2.0 ^d	33.6±1.8 ^d	36.2±2.0 ^d	33.7±2.9 ^d
Different superscript lowercase letters indicate statistically significant differences (Tukey's post-hoc test, $p < 0.05$). BL: Bondmer Lightless; BF: Bond Force II.							

フッ素含有知覚過敏抑制材を塗布した歯質中のフッ素分布測定

¹北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 口腔制御治療学分野

²朝日大学歯学部 口腔機能修復学講座 歯科理工学分野

³大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座

⁴北海道大学大学院歯学研究科 歯科保存学教室

○松田康裕¹, 櫻井雅彦¹, 奥山克史², 山本洋子³

佐野英彦⁴, 林美加子³, 斎藤隆史¹

The fluoride uptake to dentin surfaces by Fluoride varnish

¹Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

²Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry

³Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

⁴Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine Hokkaido University.

○MATSUDA Yasuhiro¹, OKUYAMA Katsushi² SAKURAI Masahiko¹, YAMAMOTO Hiroko³, Hidehiko⁴,
SANOHAYASHI Mikako³, SAITO Takashi¹

【緒言】

歯面にフッ素を塗布・供給する材料としてフッ化物バーニッシュが知られている。フッ化物バーニッシュは 22,600ppmF という高濃度のフッ化物を含有する材料であり、象牙質知覚過敏の治療だけでなく齲蝕や酸蝕症の予防に用いられている。しかしながら、これまで用いられてきた F バニッシュ歯科用 5% やダイアデント歯科用ゲル 5% は 22,600ppmF のフッ素を含有する塗布剤でありながら操作性が悪いことが難点であった。欧米で広く使用されているフッ化物バーニッシュは操作性がよく粘着性があるため、切削することなく薄く塗布するだけで簡単に歯面上に保持される。このフッ化物バーニッシュはアメリカ歯科医師会でも根面齲蝕の予防に推奨されている。そこで本研究ではフッ化物バーニッシュを塗布した健全象牙質へのフッ素供給について検討を行った。

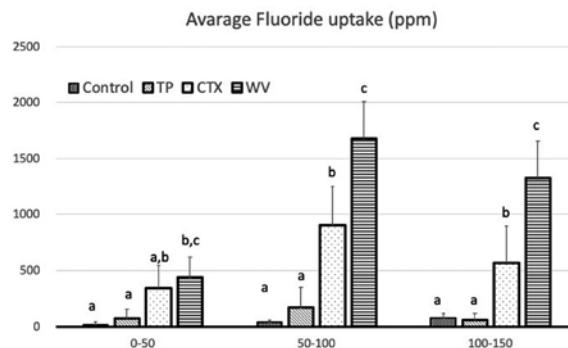
【材料と方法】

フッ素含有バーニッシュとしてホワイトバーニッシュ (3M、以下 WV)、CTx2Fluoride Varnish (Oral Biotech、以下 CTX) を、フッ化物含有歯磨材としてクリンプロTM 歯みがき パースト F1450 (3M、以下 TP) を使用した。牛歯を 4 本使用し (n=4)、それぞれ頬舌的、近遠心的に切断し 4 分割した。分割後、根面の表層を #1000 の耐水ペーパーを用いて研磨し健全象牙質を露出させ、露出した面に各試料を塗布した (WV, CTX, TP 群)。塗布しなかったものをコントロール (control 群) とした。各試料は 37°C 脱イオン水中に 24 時間浸漬後、露出象牙質含み厚さ 300μm の Single-section 試料を作製した。得られた観察資料は In-air μPIXE/PIGE 法を用いて、表層から 50μm 毎の象牙質表層に取り込まれたフッ素量を測定した。コントロール群と HYS 群間の測定したフッ素量は One-way ANOVA followed by Scheffe's test (p<0.05) を用いて統計分析を行った。

【結果及び考察】

象牙質表層 50μm でのフッ素の取り込みではコントロールと比較して CTX 群, WV 群共に有意差を示し、50~100μm 100~150μm では CTX 群、WV 群間でも有意差が認められた。このことから、フッ化物バーニッシュ WV 群がより深部にフッ素を供給することが確認された。

本研究の結果から、ホワイトバーニッシュは 5% NaF 含有する他のフッ化物バーニッシュと比較して、より多くのフッ素を健全象牙質へ供給することが示唆され、知覚過敏抑制材だけでなく象牙質脱灰抑制材として有効に応用できる可能性が示唆された。



グラスアイオノマーセメントによるマトリックスメタロプロテアーゼ抑制

¹北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 口腔制御治療学分野

²北海道大学大学院歯学研究科 歯科保存学教室

○櫻井雅彦¹, 松田康裕¹, 泉川昌宣¹, 佐野英彦², 斎藤隆史¹

Matrix metalloproteinase inhibition by glass-ionomer cement

¹ Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

² Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine Hokkaido University
○SAKURAI Masahiko¹, MATSUDA Yasuhiro¹, IZUMIKAWA Masanobu¹, SANO Hidehiko², SAITO Takashi¹

【緒言】

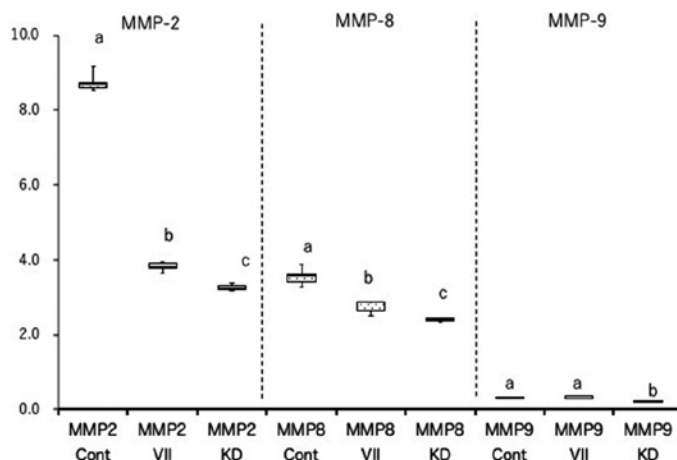
近年、高齢者に根面う蝕が増加している。根面象牙質でのう蝕の進行は酸による脱灰だけでなく、象牙質のコラーゲンの分解も関与している。コラーゲンを分解するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の活性を抑制しコラーゲンを保護することはアパタイト結晶核を保護し、バイオミネラル化による再石灰化を促進すると考えられている。MMP の阻害物質としてフッ素や亜鉛が報告されている。最近、フッ素のみならず亜鉛を含有し徐放するグラスアイオノマーセメントが広く知られている。亜鉛含有グラスアイオノマーセメントには亜鉛による細菌付着抑制効果や、抗菌効果、脱灰抑制効果が報告されている。そこで本研究ではグラスアイオノマーセメントのイオン徐放能に着目し、グラスアイオノマーセメント溶出液による MMP 抑制効果についての検討を行った。

【材料と方法】

グラスアイオノマーセメントとして Fuji VII (ジーシー、以下 VII)、ケアダイネストア (ジーシー、以下 KD) を使用した。VII、KD をそれぞれ練和し、シリコンモールドに充填後、6 分間ガラス練板で圧接し硬化させることによってグラスアイオノマーセメントディスクを作製した。それぞれの試料を脱イオン蒸留水 1ml に浸漬し 37℃ の恒温槽で 72 時間保持した。遠心分離 (2000rpm, 10 分間) 後、上清 500μl を採取しサンプルとした。MMP 抑制効果はリコンビナント MMP-2、MMP-8、MMP-9 を用いて、MMP fluorometric assay kits (SensoLyte assay kits; AnaSpec, USA) を用いて行った。採取されたサンプルと 1mM 4-aminophenylmercuric acetate (APMA) で活性化された MMP は 5-FAM/QXLTM 520 fluorescence resonance energy transfer (FRET) と共に 96 ウェルプレートに分注し 37℃ で 1 時間インキュベートした後、LightCycler® 96 システムを用いて FAM (470/514nm) の蛍光強度測定を行った。得られたデータは One-way ANOVA followed by Scheffe's test ($p < 0.05$) を用いて統計処理を行った。

【結果及び考察】

KD 群では MMP-2、MMP-8、MMP-9 の全てに対して抑制効果が認められ、VII 群では MMP-2、MMP-8 に対して抑制効果が認められた。今回の結果から、グラスアイオノマーセメント溶出液に MMP 抑制効果があることが示され、グラスアイオノマーセメントによる象牙質コラーゲンの分解抑制と、それに伴う象牙質劣化抑制効果の可能性が示唆された。



Sr²⁺量が異なる改変型 S-PRG フィラー抽出液のヒト歯髄由来幹細胞に対する作用 ーゼオライトによる Sr²⁺濃度の制御ー

¹⁾ 朝日大学歯学部口腔生化学分野, ²⁾ 朝日大学歯学部歯科理工学分野

³⁾ 朝日大学歯学部歯科保存学分野歯冠修復学, ⁴⁾ 朝日大学

○上野恭平¹⁾, 川木晴美¹⁾, 新谷耕平²⁾, 巽勇介³⁾, 堀田正人⁴⁾, 二階堂徹³⁾, 近藤信夫¹⁾

Effects of modified S-PRG filler eluate with controlled Sr²⁺ content using zeolite on the human dental pulp stem cell activities

¹⁾ Department of Oral Biochemistry, Asahi University School of Dentistry

²⁾ Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry

³⁾ Department of Operative Dentistry, Asahi University School of Dentistry

⁴⁾ Asahi University

○UENO Kyohei¹⁾, KAWAKI Harumi¹⁾, SHINTANI Kohei²⁾, TATSUMI Yusuke²⁾,
HOTTA Masato³⁾, NIKAIIDO Toru²⁾, KONDOH Nobuo¹⁾

【研究目的】

Surface pre-reacted glass ionomer (S-PRG) フィラーは、表層から、表面改質層、ガラスアイオノマー相、ガラスコアの3層からなり、表面改質層から種々のイオン (Na⁺, Sr²⁺, Al³⁺, F⁻, SiO₃²⁻, BO₃³⁻) を徐放する特性をもつ。我々は S-PRG フィラー抽出液を含む培地が種々の細胞の増殖を促進することを見出しているが、この作用はフィラーから徐放される複数のイオンの組合せに影響され则认为している。そのため、S-PRG フィラーから徐放される特定のイオン種の効果を検討するためには、徐放された複数のイオン種からある特性のイオンを選択的に除去することや、その含有量を調整し、細胞応答を確かめることが有効であると考えられる。

そこで我々は、改変型 S-PRG フィラー抽出液の調製のために、陽イオン交換能を有するゼオライトに着目した。ゼオライトとは多孔性の結晶性アルミノケイ酸塩の総称であり、その骨格は一般に負に帯電しており、電気的中性を保つために細孔内に電荷補償陽イオンが存在する。これらの陽イオンは、ゼオライト骨格中に取り込まれていないため、他の陽イオンと容易に交換が可能 (イオン交換能) といった特徴を有している。本研究では、この「陽イオン交換能」を利用し、Sr²⁺吸着能が高いゼオライト種を使用することで、Sr²⁺を制御した改変型 S-PRG フィラー抽出液の調製を行い、その抽出液による細胞生理活性を検討した。

【材料および方法】

S-PRG フィラー抽出液は株式会社松風より提供を受けたものを用いた (S-PRG フィラー: 蒸留水=1:1)。ゼオライトペレット (東ソー, Zeolum®, 1.5 mmφ pellet) への Sr²⁺吸着能を検討するため、細孔サイズおよび電荷補償陽イオンの異なるゼオライトペレット (NaA 型, NaX 型, CaA 型, CaX 型) を使用し、S-PRG フィラー抽出液に対するゼオライト量、イオン交換時間を変化させた。ゼオライトペレットはイオン交換に使用する前に、蒸留水を用いて数回洗浄し、50°C のオーブンで1晩乾燥させた。イオン交換は、遠濾管に S-PRG フィラー抽出液およびゼオライトペレットを導入し、室温でゆっくりと任意の時間回転させることにより行った。イオン交換後、ゼオライトと抽出液を分離し、抽出液はメンブレンフィルターを用いてさらに精製した。様々な条件で得られた改変型 S-PRG フィラー抽出液中のイオン組成は ICP 発光分析装置 (島津製作所) およびイオンメーター (Orion Research) を用いて評価し、この抽出液を含む培地を作製してヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSCs) の増殖を評価した。評価の結果は、一元配置分散分析 (One-way ANOVA) を用いて各種抽出液による比較を行い、その後多重比較検定 (Scheffé) を用いた有意差検定 (P<0.05) を行った。

【結果および考察】

種々のゼオライトを用いて、S-PRG フィラー抽出液のイオン交換を行ったところ、用いたゼオライト種によらず S-PRG 抽出液中の上記 6 種のイオンの中で Sr²⁺が選択的に吸着除去された。しかし、ゼオライトの持つ陽イオン種やゼオライト骨格によって、イオン交換後に得られる S-PRG フィラー抽出液の組成は変化し、F や B イオンの減少したサンプルもみられた。なかでも NaX 型ゼオライトは、S-PRG フィラー抽出液中から Sr²⁺のみを選択的に吸着除去することが可能であり、S-PRG フィラー抽出液中へのゼオライト添加量およびイオン交換時間を変化させることにより、他の元素濃度を変化させることなく S-PRG 抽出液中の Sr 量を任意に制御できることが判明した。ポスターでは、この結果をもとに調製した様々な Sr²⁺含有量の改変型 S-PRG フィラー抽出液を用いて培地を作製し、hDPSCs の細胞増殖および ALP 活性を評価し、多成分系での Sr²⁺が細胞動態に与える影響についての報告も行う。

連続回転あるいは OTR モーション時の回転速度が応力発生・形成能に与える影響

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

○Moe Sandar Kyaw, 牧圭一郎, 木村俊介, Pyae Hein Htun, 海老原新, 興地隆史

Influence of Rotational Speed on Torque/Force Generation and Shaping Ability during Root Canal Instrumentation with Continuous Rotation and Optimum Torque Reverse Motion

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

○Moe Sandar Kyaw, MAKI Keiichiro, KIMURA Shunsuke, Pyae Hein Htun,
EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

Aim: Optimum torque reverse (OTR) motion is a torque-sensitive reciprocal motion in which the motor rotates in alternating 90°counterclockwise and 180°clockwise rotation when the torque exceeds a predetermined value. The purpose of this ex-vivo study was to evaluate how different rotational speeds affect the torque/force generation and shaping ability of rotary root canal instrumentation using JIZAI (MANI, Japan) nickel-titanium instruments in continuous rotation (CR) and OTR motion.

Materials and Methods: Mesial roots of human mandibular molars with a 15° to 20° curvature were selected (approved by the Institutional Review Board, TMDU, No. D2014-033-01). The coronal 6 mm of the canal was flared with a #25/.14 JIZAI Orifice Opener (MANI, Japan; 500 rpm) by using a prototype motor (J Morita, Kyoto, Japan). After glidepath preparation using a #15/.02 K-file (Zipperer, Munich, Germany), the root canal was subsequently instrumented with a #25/.04 JIZAI instrument (MANI) to standardize the canal shape. Forty anatomically matched canals were finally selected based on the preliminary micro-computed tomographic (micro-CT) analysis of canal's morphologic parameters (volume and surface area). The canals were instrumented with #25/.06 JIZAI instruments using CR or OTR motion and were further subdivided according to the speed (300 rpm or 500 rpm, n = 10 each). An automated root canal instrumentation and torque/force analyzing device was programmed to permit a simulated pecking motion, i.e., down for 2 seconds and up for 1 second at 50 mm/min. (Maki.K et al, JOE 2019). During preparation, root canals were filled with RC-Prep (Premier, USA). Micro-CT scan was taken before and after root canal instrumentation and imaging software (Amira 5.4.4, Visage Imaging GmbH, Berlin, Germany) was used to measure root canal volume changes and transportation values at 1, 3, 5 and 7 mm from the apical foramen. Maximum clockwise/counterclockwise torque and downward/upward force were recorded. Data were analyzed using 2-way analysis of variance followed by the Bonferroni test ($\alpha = 5\%$).

Results: Maximum upward force values (representing the screw-in force) in 500 rpm groups were significantly smaller than 300 rpm groups ($P < .05$); however, there was no significant difference between CR and OTR motions ($P > .05$). There was no significant difference of maximum downward force and clockwise/counterclockwise torque values ($P > .05$). Canal volume changes and centering ability did not show significant differences among the groups ($P > .05$). There was no file separation in all groups.

Discussion: During shaping the curved canal, generation of large screw-in forces occurs because of appreciable contacts between the cutting blades and the root canal wall. The present findings suggest that 500 rpm may have benefits over 300 rpm in reducing stress generation caused by uncontrolled apical movement (screw-in forces). Our study failed to detect any significant differences in the maximum apical force and torque values between CR and OTR motion, which could be explained by the advanced metallurgical properties of NiTi alloys like the R-phase alloy of JIZAI instruments. No difference in shaping ability of the four tested groups could be explained by the fact that standardization of canal was performed sufficiently with #25/.04 instrument before final preparation with #25/.06 file.

Conclusion: Under the present experimental conditions, JIZAI instruments operated with 500 rpm generated significantly lower maximum screw-in force and similar torque value compared with those with 300 rpm. The JIZAI instrument performed similarly in shaping ability when CR or OTR motion was used.

ラット切歯歯髄幹細胞とラット骨髄間葉系幹細胞における NF- κ B 関連血管新生因子発現の比較

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
○Zar Chi Thein Zaw、金子友厚、Su Yee Myo Zaw、岡田大和、村野浩気、Peifeng Han、
興地隆史

Comparison of NF- κ B pathway-related angiogenic factor expression between rat incisor dental pulp stem cells and rat bone marrow mesenchymal stem cells

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo Japan
○Zar Chi Thein Zaw, KANEKO Tomoatsu, Su Yee Myo Zaw, OKADA Yamato,
MURANO Hiroki, Peifeng Han, OKIJI Takashi.

Introduction: We have recently reported that crosstalk between stem cells from human exfoliated deciduous teeth and endothelial cells enhances proangiogenic factor expression and *in vitro* angiogenesis via nuclear factor-kappa B (NF- κ B) dependent pathways.¹ In the present study, to get further insight into the stem cell-endothelial cell crosstalk, gene expression of NF- κ B pathway-related angiogenic factors was examined in rat dental pulp stem cells (RDPSCs) and rat bone marrow mesenchymal stem cells (RBMMSCs) co-cultured with rat dermal microvascular endothelial cells (RDMECs) by using quantitative gene expression analysis.

Materials and Methods: RDPSCs were derived from both sides of mandibular incisors of female Wistar rats weighing approximately 100 g (n = 12). RBMMSCs and RDMECs were purchased from Lonza (Basel, Switzerland) and Cell Biologics (Chicago, IL), respectively. Flow cytometry analysis for CD90 and CD34 was done for RDPSCs and RBMMSCs. Experimental groups were divided into five groups; i, single culture of RDPSCs; ii, single culture of RBMMSCs; iii, single culture of RDMECs; iv, RDPSCs co-cultured with RDMECs; and v, RBMMSCs co-cultured with RDMECs. After 96 hours, vascular endothelial cell growth factor (VEGF) secretion in each cultured cell was measured with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and expression of *BCL2 binding protein 3 (BBC3)*, *NF- κ B*, C-X-C motif chemokine ligand 1 (*CXCL1*), C-X-C chemokine receptor 1 (*CXCR1*) and C-X-C chemokine receptor 2 (*CXCR2*) genes was analyzed quantitatively with real-time polymerase chain reaction with TaqMan Probes (StepOne, Thermo Fisher). The experiments were conducted under the approval of the Animal Care Committee, TMDU, A2019-193A.

Results: RDPSCs and RBMMSCs at 5th passage expressed mesenchymal stem cell markers CD90 (98% for both cells), whereas CD34 expressing cells were rarely detected (0.6% and 0.5%, respectively). The VEGF level in co-cultures was significantly higher compared to that of the single cultures. RBMMSCs/RDMECs co-culture showed higher VEGF level than RDPSCs/RDMECs co-culture. Co-cultured RBMMSCs expressed higher levels of *BBC3*, *NF- κ B* and *CXCR1* mRNAs as compared with co-cultured RDPSCs. In contrast, *CXCL1* and *CXCR2* mRNA expression was not significantly different between co-cultured RDPSCs and co-cultured RBMMSCs.

Discussion: Expression of *CXCL1* and *CXCR1* is promoted by NF- κ B and Bcl-2, and VEGF secretion is upregulated by *CXCL1* and/or *CXCL8*. In this study, RBMMSCs/RDMECs co-culture secreted more VEGF and induced higher levels of *CXCR1* expression in both cells, as compared with RDPSCs/RDMECs co-culture. These findings indicate that RBMMSCs are able to interact with RDMECs more efficiently than RDPSCs, and suggest that *CXCR1* plays a more important role than *CXCR2* in the NF- κ B-dependent VEGF secretion during stem cell-endothelial cell crosstalk-induced autocrine/paracrine signaling leading to the upregulation of VEGF.

Conclusion: RBMMSCs/RDMECs co-culture secreted higher level of VEGF than RDPSCs/RDMECs co-culture, and co-cultured RBMMSCs expressed higher levels of *BBC3*, *NF- κ B* and *CXCR1* compared with co-cultured RDPSCs.

Reference:

1. Zaw SYM, et. al. (2020). Crosstalk between dental pulp stem cells and endothelial cells augments angiogenic factor expression. *Oral Diseases*. In press.

血管内皮細胞と共培養した歯髄幹細胞の VEGF 依存性血管新生シグナル伝達経路関連因子発現について –マイクロアレイを用いた網羅的解析–

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

○岡田大和、金子友厚、Su Yee Myo Zaw、村野浩気、Zar Chi Thein Zaw、
Peifeng Han、興地隆史

Expression analysis of VEGF-dependent angiogenic signaling pathway-related genes in dental pulp stem cells co-cultured with endothelial cells: A comprehensive microarray analysis

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

○Yamato OKADA, Tomoatsu KANEKO, Su Yee Myo Zaw, Hiroki MURANO,
Zar Chi Thein Zaw, Peifeng Han, Takashi OKIJI

【目的】

我々は、これまでに歯髄再生促進機構におけるヒト血管内皮細胞/ヒト脱落乳歯幹細胞 (SHED) 間のクロストークに着目し検索を行い、これらの細胞を共培養すると、単独培養と比較して、幹細胞において NF- κ B 依存性血管新生シグナル伝達経路の遺伝子発現が亢進することを確認した¹⁾。一方、VEGF レセプターを介する血管新生シグナル伝達経路には、細胞生存に関係する PI3K/AKT や細胞増殖能に関係する PLCG1/MAPK1 経路などの伝達経路が知られているが、共培養条件下における幹細胞の VEGF 依存性シグナル伝達経路の遺伝子発現の詳細は不明である。そこで本研究では、血管内皮細胞と、ヒト歯髄幹細胞 (DPSC) あるいは SHED 間のクロストークが、この VEGF 依存性シグナル伝達経路の遺伝子発現にどのような影響を及ぼすかについてマイクロアレイを用いて網羅的に解析した。

【材料および方法】

培養細胞は、ヒト歯髄幹細胞 (DPSC, AllCells)、ヒト脱落乳歯幹細胞 (SHED, AllCells)、ヒト皮膚微小血管内皮細胞 (HDMC, ScienCell Research Laboratories) を用いた。DPSC あるいは SHED を、pore membrane (径 0.4 μ m) を介して HDMC と接しない状態で 96 時間共培養した (播種細胞数 0.1x10⁵)。96 時間単独培養した DPSC および SHED をコントロールとした。96 時間培養後の培養液より細胞培養上清を調整し ELISA を用いて VEGF 発現を定量した。96 時間培養後の各細胞よりトータル RNA 抽出後、血管新生関連遺伝子をマイクロアレイで解析し、データ解析ソフトウェア (TAC Ver4.0, ThermoFisher 社) WikiPathways ツール Angiogenesis (Homo Sapiens) を用い各実験群における幹細胞の遺伝子発現を定量した。

【結果】

ELISA 法において、VEGF 発現は、単独培養群よりも共培養群で有意に増加していた。SHED/HDMC 共培養群と DPSC/HDMC 共培養群を比較すると、SHED/HDMC 共培養群において VEGF 発現が有意に増加した。マイクロアレイ解析において、Mitogen-Activated Protein Kinase 1 (MAPK1) および AKT1 (Threonine Kinase 1) mRNA の発現は単独培養群よりも共培養群で上昇していた。SHED/HDMC 共培養群と DPSC/HDMC 共培養群を比較すると、SHED/HDMC 共培養群において MAPK1 および AKT1 mRNA の発現上昇が観察された。

【考察】

単独培養よりも共培養において VEGF 発現が上昇し、MAPK1 と AKT1 mRNA の発現上昇が認められたことから、歯髄幹細胞と血管内皮細胞間のクロストークは、NF- κ B 伝達経路だけでなく VEGF シグナル伝達経路にも依存していることが示唆された。一方、単独/共培養の SHED において VEGF 発現、および MAPK1 と AKT1 mRNA の発現上昇が認められたことから、DPSC よりも SHED において細胞増殖能と細胞生存率が亢進していることが示唆された。

【結論】

血管内皮細胞と歯髄幹細胞とのクロストークは VEGF シグナル伝達経路に依存し、特に MAPK1 および AKT1 の mRNA 発現を上昇させる事が示された。

【文献】

- 1) Su Yee Myo Zaw, Tomoatsu Kaneko, Zar Chi Thein Zaw, Phyto Pyai Sone, Hiroki Murano, Bin Gu, Yamato Okada, Peifeng Han, Ken-ichi Katsube, Takashi Okiji. Crosstalk Between Dental Pulp Stem Cells and Endothelial Cells Augments Angiogenic Factor Expression. Oral Dis. 2020 Apr 5. doi: 10.1111/odi.13341.