

新規ユニバーサルシェードレジンのホワイトニング前後における色調適合性の予備的検討

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  
 ○遠山 晏梨、陳 菲、呉 迪、川本 千春、佐野 英彦

Preliminary study of color matching of novel universal composite resin before and after bleaching

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

○Anri TOYAMA, Chen FEI, Wu DI, Chiharu KAWAMOTO, Hidehiko SANŌ

目的：臨床において、ホワイトニング前後で充填物の色調不適合が問題となるケースがある。新規ユニバーサルシェードレジンの充填材である OMNICHROMA は、構造色を利用することで、単一ペーストでありながら幅広い歯質の色調に適合可能である。また Essentia のユニバーサルシェードは光散乱特性を利用し白歯部に単一ペーストで使用できる材料と言われている。今回これらの2種のユニバーサルシェードレジンを使用しホワイトニング前後における色調適合性を評価した。

材料と方法：ヒト抜去犬歯 (n=5) を使用し、その近遠心にⅢ級窩洞を形成した。ヒト抜去歯を用いた研究においては北海道大学大学院歯学研究倫理審査委員会に申請し、承諾を受けている (承認番号：2014 第1号)。接着システムにはボンドマーライトレス (トクヤマデンタル、東京、日本) を使用し、それぞれ一方の窩洞に OMNICHROMA (トクヤマデンタル、東京、日本)、もう一方に Essentia (ESS, GC、東京、日本) を充填した。その後メーカー指示に従って Hi-lite (松風、東京、日本) で漂白を行った。漂白は3日間行い、窩洞形成前、充填直後、漂白1・2・3回直後の写真撮影を行い、その色を画像補正用カラーチャート (Cas Match、ベアーメディック、日本) を用いて計算し、歯冠中央部と充填部との色差をそれぞれ算出した。測定は頬側からあるいは近遠心からの2通りの方法で行った。また個々の歯は測定前に歯科用色彩計 Shade Eye (松風、東京、日本) を用いて最初のシェードを確認した。得られたデータは One-way ANOVA、Tukey HSD test で統計処理を行った。

結果： $\Delta E$  及び Shade Eye で得られたシェードの結果を以下に示す (Figure 1, Table 1)。頬側から撮影した画像により得られた  $\Delta E$  では、3回目の漂白後のみ有意差 ( $P < 0.001$ ) が見られた。近遠心方向から撮影した画像により得られた  $\Delta E$  では1回目の漂白後 ( $P < 0.01$ ) と3回目の漂白後 ( $P < 0.05$ ) に有意差が見られた。頬側の画像から得られた  $\Delta E$  は近遠心方向より全体的に大きい傾向となった。

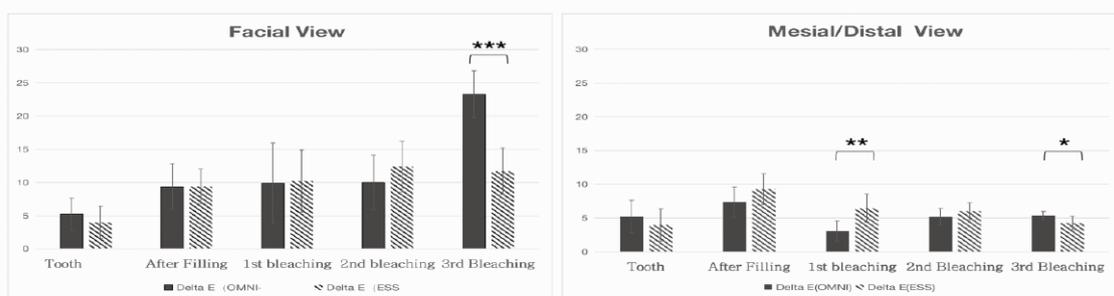


Figure 1. Color difference of universal composite resins (Facial view and Mesial/Distal view)

考察：新規ユニバーサルシェードレジンのホワイトニング前後における色調適合性の予備的検討の結果、頬側から測定した OMNICHROMA の  $\Delta E$  が大きかった。この原因としては、今回用いた窩洞が頬舌的に突き抜けたⅢ級窩洞であり、OMNICHROMA の光の透過性が高いため背景色に影響されて暗くなった可能性がある。そのため、今後オパークシェードのレジンを使用した実験を検討する必要がある。また、使用した歯のシェードのばらつきが大きかったことから、得られた色差の標準偏差が大きくなったと考察され、使用する歯のシェードを加味して実験することを今後の検討課題とする必要がある。

	Guide	Shade	Value	Hue
Tooth1	A3.5	3.5	0	R2
	Guide	Shade	Value	Hue
Tooth2	A3	3	0	Standard
	Guide	Shade	Value	Hue
Tooth3	C3	3.8	-2	R2
	Guide	Shade	Value	Hue
Tooth4	C4	5	-2	R1
	Guide	Shade	Value	Hue
Tooth5	B4	4	1	Y2

Table 1. The shade of central of the tooth before cavity preparation

## 松本歯科大学第4学年保存修復学実習におけるロールプレイング導入の試み

<sup>1</sup>松本歯科大学歯科保存学講座 <sup>2</sup>松本歯科大学病院初診室 <sup>3</sup>東京歯科大学保存修復学講座

○小松佐保<sup>1</sup> 小町谷美帆<sup>1</sup> 内川竜太郎<sup>1</sup> 奥瀬稔之<sup>1</sup> 甲田訓子<sup>1</sup>  
森 啓<sup>2</sup> 安西正明<sup>2</sup> 山本昭夫<sup>2</sup> 春山亜貴子<sup>1,3</sup> 亀山敦史<sup>1</sup>

### Attempt of role-playing in the pre-clinical basic training of Operative Dentistry, 4th grade, School of Dentistry, Matsumoto Dental University

<sup>1</sup>Department of Operative Dentistry, Endodontology, and Periodontology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University, <sup>2</sup>Department of Oral Diagnosis and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University Hospital, <sup>3</sup>Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology, Tokyo Dental College

○KOMATSU Saho<sup>1</sup>, KOMACHIYA Miho<sup>1</sup>, UCHIKAWA Ryutarō<sup>1</sup>, OKUSE Toshiyuki<sup>1</sup>,  
KOHDA Kuniko<sup>1</sup>, MORI Hiroshi<sup>2</sup>, ANZAI Masaaki<sup>2</sup>, YAMAMOTO Akio<sup>2</sup>, HARUYAMA Akiko<sup>1,3</sup>,  
KAMEYAMA Atsushi<sup>1</sup>

#### 【緒言】

臨床実習前の共用試験として診療参加型臨床実習前客観的臨床能力試験 (Pre-CC OSCE) が導入されてからすでに10年以上が経過した。保存修復系の課題としては口腔内状態の記録, コンポジットレジン修復, 修復用隔壁の装着, および触象牙質の除去の4つがあり, 松本歯科大学 (松歯大) では Pre-CC OSCE や診療参加型臨床実習でこれらの内容を実施できるよう, 臨床実習前の基礎実習でトレーニングを行っている。しかし, 限られた時間で与えられた課題を実施するためには, より臨場感のある雰囲気でのトレーニングが必要であるにもかかわらず, 臨床基礎実習の中でそのような雰囲気を作ることは難しい。

2020年度から, 松歯大第4学年の保存修復学臨床基礎実習は内容を一新し, 単なる技能の修得のみならず, 講義で学んだ知識の再確認と定着, および歯科医師としての態度, 特に医療安全や患者の不快感や痛み, 清潔への配慮を身につけることを重視したカリキュラムに変更した。その一環として, 与えられた課題の模擬実演を行い, 学生相互に評価するロールプレイ形式の実習 (RP) を取り入れた。今回は, その内容を紹介するとともに, 実施した学生からの無記名アンケートをもとに, その導入効果について検討した。

#### 【対象および方法】

2020年度の松歯大第4学年で実施した15回 (各3コマ) の保存修復学実習のうち14回目 (2020年8月18日) にRPを実施した。第4学年生81名を5~6名のグループになるようA-1~A-7, B-1~B-7の14班に分けた。実習室内に3つの課題が実施できる7つのステーションを設置し, それぞれにインストラクターを1名配置した。A-1~A-7班をそれぞれのステーションに配置したのち, 指名された1名がアナウンスにしたがって1分間の課題黙読, 5分間の第1課題実施を行い, 残った4~5名の学生が良かった点, 改善すべき点をメモし, これを評価とした。課題終了後, 4分間のフィードバックを学生が中心となって行い, これをインストラクターが補助, 補足した。2番目に指名された学生は, 1番目の学生に対するフィードバック内容をもとに同じ課題に取り組み, 再度4分間のフィードバックを受けた。同様に, 3番目, 4番目の学生は第2課題, 5番目と6番目の学生は第3課題を実施し, それぞれ他の学生からのフィードバックを受けた。A班が課題を実施している間, B班は別の実習室でグループ学修 (間違い探し) <sup>1)</sup> を実施した。A班の課題終了後, B班の学生と接触しないように講義室に誘導し, 次いでB班を実習室に誘導, 同じ3課題のRPを同様の方法で実施した。全ての学生のRP実施後, 学生全員に実施後アンケートを行った。なお, 本RPでの評価はあくまで形成的評価にとどめ, 実習成績の判定には用いなかった。

#### 【結果および考察】

RPで実施した課題について, 88%の学生が「難しかった」あるいは「やや難しかった」と回答した。課題の実施時間 (5分間) について, 38%の学生が「時間が足りなかった」と回答したが, 28%は「ちょうど良かった」, 9%は「時間が余った」と回答した。他の学生からのフィードバックについて, 1名の学生が「あまり役に立たなかった」と回答した以外, 「とても役に立った」あるいは「多少役に立った」と回答した。

4~5名の同学年の学生の前で課題を実施するため, 学生は非常に緊張感を強いられるのみならず, 評価者役も経験することで知識, 技能, 態度の3領域をすべて評価されることへの意識付けを行うことができた。

#### 【文献】

1) 米田雅裕ほか: 「間違い探しテスト」による保存修復処置に関する思い違いの「気づき」。日本歯科保存学会2018年春季学術大会 (第148回), 104, 2018.

## 天然由来架橋剤含有ナノバブル水の無髄歯に対するコラゲナーゼ抵抗性への影響

- 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 歯科補綴学分野 保存修復学部門  
○山田 志津香<sup>1)</sup>, 松裏 貴史<sup>1)</sup>, 中園 史子<sup>1)</sup>, 平 曜輔<sup>2)</sup>, 吉村 篤利<sup>1)</sup>

### Effect of Natural Cross-Linker-containing Nanobubble Water on Collagenase Resistance in Pulpless Teeth

- 1) Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences  
2) Department of Prosthetic Dentistry, Division of Cariology and Restorative Dentistry, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○YAMADA Shizuka<sup>1)</sup>, MATSUURA Takashi<sup>1)</sup>, NAKAZONO Ayako<sup>1)</sup>, TAIRA Yosuke<sup>2)</sup>, YOSHIMURA Atsutoshi<sup>1)</sup>

#### 【緒言】

臨床の場において、抜髄後、歯根破折に至る症例にたびたび遭遇する。生活歯を維持することが破折防止に最良の方法であることは自明の理であるが、齶蝕や補綴的要求によりやむを得ず無髄歯となった場合、歯根象牙質の機械的強度を向上させることが歯の延命につながる。蒸留水を用いてナノバブル発生装置により製造されたナノバブル水は、象牙質の機械的強度を弱めることなく脱灰する効果がある他、象牙細管への薬剤導入作用があることが判明している<sup>1,2)</sup>。一方、クチナシ属の果実の抽出物に見られるゲニポシドのアグリコンであるゲニピンは、急性毒性が低い上に、コラーゲン、ゼラチン、キトサン等に対する天然の架橋剤として研究分野で多用されている。今回、ナノバブル水とゲニピンの混合溶液をウシ切歯の歯根象牙質に作用させ、歯根象牙質の機械的強度向上を評価するための指標の一つとして、歯根象牙質のコラゲナーゼ抵抗性について生化学的手法を用いて検討を行った。

#### 【材料と方法】

歯頸部で水平に切断されたウシの切歯歯根表面に付着している歯根膜を除去後、抜髄を行った(最終拡大号数#80)。根管形成中には6%次亜塩素酸ナトリウム液と17%EDTA溶液で交互洗浄を行い、最終洗浄に超純水を用いた。根尖から試薬が溢出しないように、根尖孔をコンポジットレジンで封鎖した。その後、ウシ切歯歯根を無作為に5本ずつ、以下の8群に分類した。; グループ1. 超純水群, 2. ナノバブル水群, 3. 0.01%ゲニピン+超純水群, 4. 0.1%ゲニピン+超純水群, 5. 0.5%ゲニピン+超純水群, 6. 0.01%ゲニピン+ナノバブル水群, 7. 0.1%ゲニピン+ナノバブル水群, 8. 0.5%ゲニピン+ナノバブル水群。なお、ナノバブル水は国立長寿医療研究センターの庵原耕一郎先生より供与された。その後、上記の8群全てのウシ切歯の歯根長と歯頸部歯根断面長径を測定した。次に、各群の根管内に上述の試薬を添加し、37°Cで24時間保管した。その後、全群の根管内に5%コラゲナーゼ溶液を添加して再度37°Cで保管した。24時間経過後、根管内溶液を2mLチューブに移送して6N塩酸で加水分解後、Hydroxyproline Assay Kit (QuickZyme Biosciences, Netherlands)を用いて、溶液中に遊離するヒドロキシプロリン(HYP)濃度をプレートリーダーで測定した。測定値はone-way ANOVAで検討後、fisherのPLSDテストで多重比較を行った(有意水準5%)。

#### 【結果およびまとめ】

各群の歯根長の測定結果は平均 $23.7 \pm 0.6$ (標準誤差)~ $25.0 \pm 0.5$ mm, 歯根断面長径は $8.0 \pm 0.0$ ~ $8.6 \pm 0.2$ mmでいずれも有意差は見られなかった(それぞれ $P=0.94, 0.49$ )。各群の遊離ヒドロキシプロリン濃度は以下の通りであった(単位は $\mu\text{M}$ )。; グループ1;  $33.6 \pm 2.5$ , 2;  $31.5 \pm 0.4$ , 3;  $29.1 \pm 0.6$ , 4;  $27.3 \pm 0.6$ , 5;  $26.2 \pm 0.2$ , 6;  $27.0 \pm 0.3$ , 7;  $25.2 \pm 0.3$ , 8;  $24.5 \pm 0.5$ 。6つのゲニピン含有群は超純水群やナノバブル水群よりも有意に低い遊離HYP濃度を認めた( $P<0.05$ )。3つのゲニピン+超純水群と3つのゲニピン+ナノバブル水群間では有意差を認めなかったが、ナノバブル水含有群が、超純水含有群よりも遊離HYP濃度が低い傾向を示した。これは、ナノバブル水によりゲニピンが象牙細管内の深くまで送達後、象牙質内のコラーゲン架橋形成が促進され、コラーゲン線維が早期に成熟・安定した結果、歯根象牙質のコラゲナーゼ抵抗性を向上させた可能性が考えられる。以上のことから、ゲニピン含有ナノバブル水の歯根象牙質改質剤としての有用性が示唆された。本研究はJSPS科研費JP16K11557の助成を受けて行われた。

#### 【参考文献】

- 1) 庵原耕一郎, 中島美砂子. 閉塞根管拡大のためのナノバブル水含有EDTAによる脱灰効果促進. 日歯保存誌 2019; 62: 152-158.  
2) 庵原耕一郎, 中島美砂子. ナノバブル水を用いた新規根管洗浄液のスミヤー層除去効果の検討. 日歯保存誌 2019; 62: 159-164.

## 生体組織内へ埋植した Bioactive Glass 配合根管充填シーラーの表面元素分析

1 北海道大学大学院歯学研究院 歯周・歯内療法学教室, 2 北海道大学病院 口腔総合治療部

○宮治裕史<sup>1</sup>, 吉野友都<sup>1</sup>, 加藤昭人<sup>1</sup>, 菅谷 勉<sup>1</sup>, 田中佐織<sup>1,2</sup>

### Elemental composition analysis of root canal sealer containing bioactive glass implanted into rat subcutaneous tissue

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

2 Division of General Dentistry Center for Dental Clinics, Hokkaido University Hospital

○MIYAJI Hirofumi<sup>1</sup>, YOSHINO Yuto<sup>1</sup>, KATO Akihito<sup>1</sup>, SUGAYA Tsutomu<sup>1</sup>, TANAKA Saori<sup>1,2</sup>.

#### 【研究目的】

根管充填シーラーは、根管充填時から長期的に根尖部歯周組織に接触するため、優れた生体親和性を有することが望まれる。我々は第152回日本歯科保存学会において、Bioactive Glassが配合されたニシカチャンネルシーラーBGと、ケイ酸カルシウムを主成分とするEndoSequence BC Sealerの生体親和性が、酸化亜鉛系シーラーに比較して良好であることを示した。過去の報告において、ニシカチャンネルシーラーBGとEndoSequence BC Sealerの硬化体表面にアパタイト様結晶が析出することが示されており(引用文献1)、生体親和性に関与していることが推察された。そこで本研究では生体組織内における根管充填シーラーの表面性状変化を調査することを目的として、ラット背部皮下へ埋植したシーラー硬化体表面の元素分析を行った。

#### 【材料と方法】

被験根管充填シーラーとして、ニシカチャンネルシーラーBG(BG, 日本歯科薬品)、EndoSequence BC Sealer(ES, Brasseler)、酸化亜鉛を主成分とするニシカチャンネルシーラー ユージノール系 ノーマル E-N(NC, 日本歯科薬品)と、ニシカチャンネルシーラーN(NCN, 日本歯科薬品)の4種類を用いた。各シーラーをシリコンチューブ(φ7mm×3mm)に填入後、37°C、100%湿度で3日間静置し、硬化したものを試料とした。ラット背部皮下に各試料を埋植し、術後10日、35日目に試料と周囲組織を取り出し、ホルマリン固定後、通法に従いパラフィン包埋した。その後ミクロトームで組織標本を割断し、シーラーと組織の境界部を走査型電子顕微鏡(型番:JSM-IT500LA, 日本電子)およびエネルギー分散型X線分析にて評価した。なお動物実験は国立大学法人北海道大学動物実験に関する規程に従って行った(承認番号第20-159号)。

#### 【結果と考察】

BGでは硬化体と組織との接合部から硬化体内部へ向かって約200μmの範囲でCaとPを検出した。CaとPの強度は表面が最も強く、内部に向かって徐々に減弱した。CaとPの分布層は35日目のサンプルでより明瞭であった(Figure)。ESは成分にリン酸カルシウムを含んでおり、硬化体全体にCaとPの分布を認めた。さらに35日目において表層に強度の強いCa層を認めたがBGに比較して狭い範囲(約40μm)であった。一方、硬化体外部(組織内)に析出物と思われるCa、Pを含有する領域が見られた。NCおよびNCNでは、硬化体と組織との境界部は不整であり、硬化体表層には組織の侵入と思われるCの分布を認めた。

以上の結果から、BGは配合されるBioactive Glassの特性によって、硬化体表面から内部へ向かって200μmほどの範囲にリン酸カルシウムが析出することで、良好な生体親和性を示すと考えられた。一方ESは成分としてリン酸カルシウムを含有し、またカルシウムイオンを放出することから(引用文献2)、リン酸カルシウムの組織内析出物が多くみられたと考えられた。

#### 【結論】

生体組織内へ埋植したBGとESの表層には、リン酸カルシウムが析出することが示唆された。

#### 【引用文献】

1. 第152回日本歯科保存学会抄録集. 2020;46(P-3).
2. J Endod. 2012;38(6):842-5.

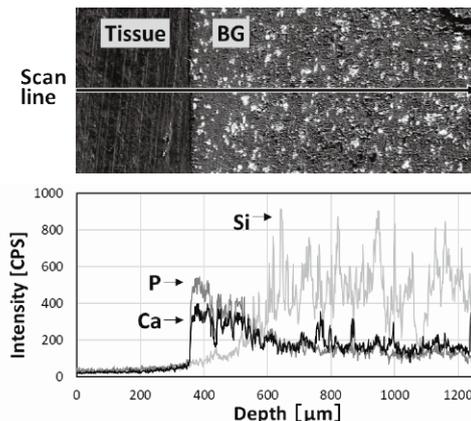


Figure. SEM-EDX line scanning analysis of BG (35 days)

## 新規駆動形式モーターを用いた根管形成能の評価

<sup>1</sup>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), <sup>2</sup>大阪大学歯学部附属病院総合診療部  
<sup>3</sup>兵庫医科大学歯科口腔外科学講座, <sup>4</sup>モリタ製作所  
○岡本基岐<sup>1</sup>, 松本紗也子<sup>1</sup>, 森山輝一<sup>1</sup>, 渡邊昌克<sup>1</sup>, 黄海玲<sup>1</sup>, 三浦治郎<sup>2</sup>, 杉山敬多<sup>2</sup>, 米田直道<sup>3</sup>, 的場一成<sup>4</sup>,  
高橋雄介<sup>1</sup>, 林美加子<sup>1</sup>

### Evaluation of root canal preparation ability using a novel drive system

<sup>1</sup>Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry,  
<sup>2</sup>Division for Interdisciplinary Dentistry, Osaka University Dental Hospital, <sup>3</sup>Department of Dentistry and Oral  
Maxillofacial Surgery, Hyogo College of Medicine, <sup>4</sup>J. MORITA Co,  
○Okamoto Motoki<sup>1</sup>, Matsumoto Sayako<sup>1</sup>, Moriyama Kiichi<sup>1</sup>, Watanebe Masakatsu<sup>1</sup>, Huang Hailing<sup>1</sup>, Miura Jiro<sup>2</sup>,  
Sugiyama Keita<sup>2</sup>, Yoneda Naomichi<sup>3</sup>, Matoba Kazunari<sup>4</sup>, Takahashi Yusuke<sup>1</sup>, Hayashi Mikako<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯内療法における感染源の除去および根管形成は、機械的な切削として手用ステンレススチールファイル (HSS) が用いられている。近年、根管追従性が高く、効率よく根管拡大できる Ni-Ti ファイルが臨床応用されている。しかし、Ni-Ti ファイルはねじれ破折や疲労破折などの原因により、予兆なくファイル破折をきたすことが問題とされる。そのため、トルク制御機構による駆動モーターと組み合わせて臨床応用されてきているが、いまだにファイル破折を確実に防ぐことは難しい。特に小径のファイルによる穿通への応用は困難とされている。これまで我々は、ファイルの破折限界角度に着目して切削回転角度を調整したねじれ破折が生じにくい新規駆動形式機器を開発に携わってきたが、本駆動形式機器を複雑な根管形態を示す抜去歯で評価した報告はない。そこで、本研究では新規駆動形式モーターによる Ni-Ti ファイルにおける根管形成能を評価することを目的とし、HSS ファイルによる手用切削と新規駆動形式モーターによる 2 種類の Ni-Ti ファイルの根管形成能について比較検討を行った。

#### 【材料および方法】

本研究は大阪大学歯学部附属病院倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号: R2-E36)。

上下顎抜去大白歯をマイクロ CT 撮影 (mR\_CT2, リガク) 後、彎曲の強い 30 根管を HSS による手用切削 (以下、HSS 群), と新規駆動形式モーターによる Hyflex EDM (colten, 以下 Hyflex 群) もしくは Reciproc soft (VDW, 以下 Reciproc 群) にランダムに 10 根管ずつ割付し、髓腔開拓後、プロトレイン (シミット) にセットし、穿通・グライドパス・根管形成を行った。HSS 群では、穿通から根管形成までの全過程を HSS である K ファイル (マニー) で実施し、作業長は生理学的根尖から 1 mm 減じた位置とした。Ni-Ti 群では、新規駆動形式を搭載した試作 TriAUTOZX2 (モリタ製作所) を用いて、穿通を EndoWave #10/.02 にて確認し、作業長は試作 TriAUTOZX2 のフラッシュバー位置を “1.5” とした。根管形成終了の目安は #40/.04 のガッタパーチャポイントが挿入可能であることとした。術者は卒後 2 年目の歯科医師 1 名とした。穿通に成功した割合、ファイル破折の頻度、作業時間ならびに根管追従性をマイクロ CT による根管追従性を評価した。統計学的有意差検定は Kruskal-Wallis 検定, Steel-Dwass 検定にて評価した ( $\alpha=0.05$ )。

#### 【結果】

穿通できた割合は HSS 群, Hyflex 群, Reciproc 群それぞれ, 70% (7/10), 100% (10/10), 100% (10/10) であった。HSS で穿通できなかった根管を新規駆動形式を搭載した試作 TriAUTOZX2 で穿通を試みたところ、全数穿通が可能であった (3/3)。ファイル破折はいずれの群においても認められなかった。穿通、グライドパス、根管形成までに要した作業時間は HSS 群, Hyflex 群, Reciproc 群, それぞれ 1271±390 秒, 93±19 秒, 92±28 秒であり、HSS 群が最も多くの時間を要した ( $p<0.05$ )。根管追従性に関して、Ni-Ti 群は根管に追従した根管形成が達成できたが、HSS 群は本来の根管形態からの逸脱が顕著であった ( $p<0.05$ )。

#### 【考察および結論】

新規駆動形式モーターを用いることで、穿通、グライドパス、根管形成までを正確かつ短時間に実施することができた。本駆動形式はファイルの回転角度制御による切削のため、切削方向の制約を受けないため様々な Ni-Ti ファイルに適応可能である。また、HSS で穿通できなかった根管も穿通可能であったことより、新規駆動形式モーターと Ni-Ti ファイルの組み合わせが、歯内療法における新たな治療技術の選択肢となる可能性を示唆するものである。

## 歯髄血管再生療法(pulp revascularization)のマウス実験モデルの確立

東京歯科大学保存修復学講座

○駒田 朋昭、三友 啓介、村松 敬

### Establishment of mice experimental model in pulp revascularization therapy

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

○KOMADA Tomoaki, MITOMO Keisuke, MURAMATSU Takashi

#### 【目的】

根未完成歯に対する歯内療法として近年、歯髄血管再生療法(パルプ・リバスキュラリゼーション)が行われるようになった。この療法の治癒形態としては組織学的に根管内への血管侵入、根尖部や根管壁へのセメント質添加が報告されている。しかしながら、詳細な治癒過程は具体的にまだ解明されていないのが現状である。そこで本研究では、詳細な治癒過程を明らかにするために、歯髄血管再生療法のマウス実験モデルを確立し、治癒過程を形態学的に検討することとした。

#### 【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:202302)。生後6週のC57BL/6雄性マウス(53匹)に対して、三種混合麻酔薬(MMB)を腹腔内注射後、マウス開口器で開口状態を保持した。右側上顎第一臼歯(M1)に対してカーバイドバー(ZIPPERER社)を用いて近心から露髄させ、直下の冠部歯髄を除去し、その後、近心根管に対して実体顕微鏡下にて6号のKファイルによる根部歯髄除去を含めた機械的清掃、次亜塩素酸ナトリウム溶液とEDTAを用いた化学的清掃を行った。その後、6号のKファイルを近心根管内経路でアプローチして根尖孔外から出血させ、根管口部で滅菌ペーパーポイントを用いて止血、血餅を形成させた。次に血餅上部をMTAセメント(Bio MTAセメント、モリタ社)で被覆し、さらにその上部および周囲を接着性レジンセメント(スーパーボンド、サンメディカル社)で封鎖した。対照群は反対側の左側上顎第一臼歯(無処置)とした。術後1時間、1日、3日、7日、14日、21日、28日毎にマウスを4%パラホルムアルデヒド溶液(pH7.4)にて灌流固定し、上顎骨を採取し、同固定液で24時間浸漬固定を行った。10%EDTAで1週間、4°Cで脱灰後、パラフィン包埋し、ブロックを作製した。ミクロトームを用いて厚さ5µmのパラフィン切片標本作製し、通法に従ってH-E染色を行った後、万能写真顕微鏡(UPM Axiophoto2, Zeiss社)で観察、撮影した。また、各術後においてマイクロCT(R-mCT, Rigaku社)の撮影を行い、近心根管内および根尖部周囲の硬組織形成を観察した。

#### 【結果および考察】

術後1時間では近心根管内に血餅様構造物が充満している像が認められた。術後1日では血餅様構造物の減少、紡錘形を呈した線維芽細胞が根尖部から増生している像がみられ、術後3日目には根尖部周囲に塊状の石灰化物の形成が観察されるようになった。術後7日目では根管内には血餅はみられず、石灰化物の形成および紡錘形や多数の突起を有した線維芽細胞と拡張した毛細血管からなる幼若な肉芽組織が充満している像が観察され、術後14日目には根管内に細胞成分に富んだ密な線維性結合組織の形成がみられた。術後21日目では線維性結合組織形成が広範に存在し、根尖部から根管内に石灰化物も認められた。術後28日目では根管壁周囲に細胞を基質内に封入した骨様ないしセメント質様硬組織が増生している像がみられた。また、根尖孔部に新生硬組織が添加された像も観察された。

一方、マイクロCTによる観察では、術後21日、28日目において近心根管内および根尖部周囲に硬組織形成を思わす不透過像が観察された。

歯髄血管再生療法の実験としてはこれまでにイヌを用いた例が多く、組織学的に根管内にセメント質の形成が報告されている(J Endod 2010;36:56-63, J Endod 2015;10:1619-25, Braz Oral Res 2016;18:30)。しかしながら大型動物の実験モデルでは経日的に詳細な組織学的検討が困難であることが問題であり、小型動物での実験モデルが必要であった。今回の組織像の結果はこれまでの報告と類似しており、マウスを用いた実験モデルが確立し、治癒過程の詳細な検討が可能になると考えられた。またマイクロCTによる観察も可能であることが明らかとなり、この実験モデルで画像を用いた検討も可能であることが示唆された。

## 下顎第一大臼歯根分岐部における髄管のマイクロ CT 研究

<sup>1)</sup>東京歯科大学 歯内療法学講座

<sup>2)</sup>東京歯科大学 組織・発生学講座 <sup>3)</sup>東京歯科大学 解剖学講座

○鈴木 穂<sup>1)</sup>、笠原典夫<sup>2)</sup>、松永智<sup>3)</sup>、山田雅司<sup>1)</sup>、阿部伸一<sup>3)</sup>、古澤成博<sup>1)</sup>

### Micro-CT investigation of the accessory canal in furcation area of the mandibular first molar

<sup>1)</sup>Department of Endodontics, Tokyo Dental College

<sup>2)</sup>Department of Histology and Developmental Biology, Tokyo Dental College

<sup>3)</sup>Department of Anatomy, Tokyo Dental College

○SUZUKI Megumi, KASAHARA Norio, MATSUNAGA Satoru, YAMADA Masashi,  
ABE Shinichi, FURUSAWA Masahiro

#### 【緒言】

根管側枝や根尖分岐などのいわゆる副根管は、感染根管治療における機械的清掃のみでは根管内の細菌を完全に除去することが困難であり、予後不良因子となることが知られている。その副根管の一つとして、根分岐部に存在する髄管がある。これまで髄管については、その形態や発生頻度についての報告があるが、それらの研究ではいずれも手法が大きく異なっており、主に組織切片や SEM を用いた、破壊的かつ 2 次元的な調査にとどまっていた。さらに、試料として用いられた歯種にばらつきがあったため、髄管の 3 次元的形態や、歯種別の存在位置、発生頻度については不明な点が多かった。そこで本研究では、マイクロ CT を用いて下顎第一大臼歯における髄管の 3 次元的形態と、その発生頻度について明らかにすることを目的として検討を行った。

#### 【材料および方法】

試料には、東京歯科大学解剖学講座所蔵のヒト下顎第一大臼歯の中から、抜歯時の年齢が 10~70 代であるものを用い、齶蝕や咬耗摩耗、修復物・補綴物を認めない 59 本を試料とした。それらに対して、マイクロ CT ( $\mu$ CT-50、Scano Medical, Switzerland) を用いて以下の条件で撮像を行った。撮像条件はそれぞれ管電圧 70kV、管電流 200 $\mu$ A、撮像分解能は  $x=10\mu\text{m}$ 、 $y=10\mu\text{m}$ 、 $z=10\mu\text{m}$  とした。垂直的観察範囲は CEJ (セメント質-エナメル質境) から分岐部外側面最深点より根尖側 2 mm の範囲とし、水平的観察範囲は、髓室壁とそれに連続する主根管の象牙質壁で囲まれた範囲とした。髄管は、歯の硬組織 (エナメル質、象牙質、セメント質) とは明らかに異なり、歯髄と同等の濃淡を示し、直径が  $10\mu\text{m}$  以上の明瞭な領域と定義し、設定を行った。形態分類には、既存の分類である吉田らの分類 (1975) を用いた。得られたスライス画像より、髄管を形態別にタイプ 1 から 6 に分類し、それぞれの数、割合、1 歯当たりの平均を算出した。また、画像分析ソフトウェア (TRI/3D-BON; RATOC System Engineering Co. Tokyo, Japan) を用いて 3 次元的立体構築を行い、形態学的観察を行った。本研究は東京歯科大学倫理委員会の承認 (承認番号 903) を得て行った。

#### 【結果】

根分岐部の観察により、髄管はほぼすべての歯に発現しており、1 歯あたりの発現数は 0-24 本であった。タイプ別における発生頻度はタイプ 6 が最も高率で、次いでタイプ 3、タイプ 2 の順であった。なお、歯髄と歯根膜とを交通させるタイプ 1 は認められなかった。さらに、既存の分類には当てはまらない分岐や合流をもつ髄管が複数認められた。また、水平断における髄管の断面形態は円形または楕円形であった。

#### 【考察および結論】

今回検索を行ったヒト下顎第一大臼歯における髄管の発生頻度は、過去の報告結果とは異なる傾向を示していた。これは、歯種や年齢をはじめとする種々な要因が関与しているため、これまでのデータが不確実となっていたものと推察される。今回は、以前の報告では観察されなかった分岐や合流をもつ髄管が確認されたが、これはマイクロ CT を用いることで試料の非破壊的かつ 3 次元的な観察が可能となり、さらには、従来の方法では検出することができなかった詳細な形態の発見が可能となったことによるものと考えられた。

## 象牙質形成制御の新規メカニズムの解明

<sup>1)</sup>東京歯科大学 歯内療法学講座 <sup>2)</sup>東京歯科大学 生化学講座  
○中里 晴香<sup>1)</sup>、小野寺 晶子<sup>2)</sup>、東 俊文<sup>2)</sup>、古澤 成博<sup>1)</sup>

### Novel regulatory mechanism in odontogenesis

<sup>1)</sup>Department of Endodontics, <sup>2)</sup>Department of Biochemistry  
Tokyo Dental College, Tokyo, Japan

○Haruka Nakazato<sup>1)</sup>, Shoko Onodera<sup>2)</sup>, Toshifumi Azuma<sup>2)</sup>, Masahiro Furusawa<sup>1)</sup>

[緒言] 歯の発達は、上皮・間葉組織間の連続的かつ相互的な作用によって調節されている。しかし、上皮間葉相互作用を遮断すると直ちに象牙芽細胞の分化できず、その機能が消失することが知られている。象牙芽細胞分化には、Wnt、Bmps、Hedgehog などの様々な分子による調節が報告されているが、分化における主要制御因子とその制御機構は未だ不明な点が多い。

[目的] 本研究は、象牙質特異的タンパク質である象牙質シアロリントタンパク質 (*Dspp*) をマーカーとして、象牙芽細胞分化に関する情報伝達シグナルを明らかにし、その分化機序を解明することを目的とした。

[方法] 生後 1 日齢の C57BL/6J マウスの上下顎第一臼歯部歯胚 (M1) を回収後、上皮と間葉を分離し、Collagenase I 及び 0.05% Trypsin-EDTA を用いて単離した。まず、上皮組織・間葉組織に分けそれぞれ初代培養を行った。次に、単離後の歯胚間葉系細胞のみを 8 日間、初代培養した。サンプルは 0 日、2 日、4 日、6 日、8 日で各々の RNA を抽出し、qRT-PCR 法によって象牙芽細胞マーカー (*Dspp*, *Dmp1*, *Nestin* mRNA) の遺伝子発現を解析した。また、次世代シーケンス (RNA-seq) により、0 日目と 2 日目の遺伝子発現のプロファイルを比較し、TPM (Transcripts Per Million) 15 以上発現した遺伝子で 2 日目に著しく発現を低下させた間葉系細胞転写因子などの候補遺伝子を同定した。抽出された候補遺伝子群をレンチウイルス発現ベクターにクローニングし、レンチウイルスを作製した。マウス歯胚間葉細胞にサイトカイン (Fgf4・Fgf9・CHIR99021・Bmp4・SAG) を添加したのち、作製した候補遺伝子群を遺伝子導入し、7 日間細胞培養を行い遺伝子発現を確認した。結果は平均値±SD として表した。統計は One-Way ANOVA を用い、 $p < 0.05$  で有意とした。また、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:200402)

[結果および考察] *Dspp* mRNA は歯胚間葉細胞でのみ発現を認めた。上皮と分離した間葉組織由来細胞では、培養 2 日目で *Dspp*, *Dmp1* mRNA の優位な発現量の低下を、培養 4 日目で *Nestin* mRNA 発現量の低下を認めた。RNA-seq データにおける、ピアソン分析、階層的クラスタリング解析では、培養開始前後で異なる発現パターンを認めた。RNA-seq で認められた両群の上位 1000 の遺伝子に対し Gene Ontology 解析を行ったところ、培養 2 日目と比べ、培養 0 日目では「Notch binding」や「transcription factor AP-1 complex」で有意な集積が認められた。RNA-seq で得られた 24532 遺伝子で、2 日目のサンプルに比べ、0 日目のサンプルで 5 倍以上発現が高く、発現量 (TPM) が 15 以上のものは 265 個であった。これらの遺伝子には *Notch3*, *Hey1* などの Notch 関連遺伝子、*Fosb*, *Fos* などの Immediate early genes、*Gli1*, *Ptch1* などの Hedgehog 関連遺伝子が含まれていた。Fgf9・CHIR99021 添加後、培養 7 日目で *Dspp* mRNA の発現上昇を認めた。さらに、候補遺伝子 X を導入し、サイトカイン添加培地で培養した細胞群で *Dspp* mRNA の発現上昇を認めた。

[結論] 以前の報告と同様に、象牙芽細胞の維持には上皮間葉組織作用が重要であり、特に Notch 経路・Immediate early genes・Hedgehog 経路により制御を受けている可能性が示唆された。

## S100 タンパクは歯根肉芽腫の病態調節に関与する

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座<sup>1</sup>, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門<sup>2</sup>  
○田村隆仁<sup>1</sup>, 羽鳥啓介<sup>1,2</sup>, 鈴木裕介<sup>1,2</sup>, 氷見一馬<sup>1</sup>, 藪原佑季子<sup>1</sup>, 武市 収<sup>1,2</sup>

**S100 proteins are involved in the pathogenesis of human periapical granulomas**  
Department of Endodontics<sup>1</sup>, Division of Advanced Dental Treatment<sup>2</sup>, Dental Research Center, Nihon University  
School of Dentistry  
○Takahito Tamura<sup>1</sup>, Keisuke Hatori<sup>1,2</sup>, Suzuki Yusuke, Kazuma Himi<sup>1</sup>, Yukiko Yabuhara<sup>1</sup>, Osamu Takeichi<sup>1,2</sup>

### 【背景及び目的】

根尖性歯周炎は、根管内への細菌感染が原因となり根尖部に炎症を生じる。しかし、根管治療を行っても治癒機転を辿らないケースもあり根尖性歯周炎の病態は未だ不明な部分も多い。これまで演者らは、慢性炎症への関与が報告されている S100 タンパクの根尖性歯周炎における関連を検討し、歯根肉芽腫における S100A4, A8, A9 の発現について第 150 回, 第 152 回本学会学術大会において報告した。しかしながら歯根肉芽腫の病態と S100 タンパクとの関連性について詳細は不明である。そこで今回は、Real-time PCR 法と相関係数を用いて歯根肉芽腫における S100 タンパクと炎症関連物質との相関性の検討を行なった。また、培養細胞を用いて IL-1 $\beta$  および LPS 刺激における S100 タンパクの遺伝子発現を Real-time PCR 法を用いて検索した。

### 【材料及び方法】

#### 1. 試料採取・調整

診査に基づき、外科的歯内療法および抜歯処置の際に根尖病巣を採取した (倫許 EP18D014)。試料は採取後直ちに二分割し、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。その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。他方は RNA 抽出のためドライアイス・アセトンにて凍結した。

#### 2. Real-time PCR 法

凍結した試料から mRNA を抽出し、cDNA を作製後、Real-time PCR 法にて S100A4, A8, A9 と炎症関連物質である TNF- $\alpha$ , IL-10, I $\kappa$ B 遺伝子の発現量を検索した。また、標準化には GAPDH を用いた。その後 S100 タンパクと炎症関連物質との間で Pearson product-moment correlation coefficient を算出し有意水準 0.05 で相関性の検討を行なった。

#### 3. 細胞培養

供試細胞は、単球-マクロファージ系の細胞である U937 を使用した。細胞培養後、炎症性サイトカインである IL-1 $\beta$  と *Porphyromonas gingivalis* 由来の LPS (SMB00610-1MG) を用いて、刺激培養を行った。細胞から 24h, 48h と 72h で mRNA を回収し、cDNA に変換後、Real-time PCR 法にて S100A4, A8, A9 遺伝子発現量を検索した。また対照群として無刺激の細胞を準備し、同様の実験を行なった。Steel-Dwass test にて有意水準 0.05 とし統計学的検定を行なった。

### 【結果】

1. 歯根肉芽腫における S100 タンパクと炎症関連物質の遺伝子発現量は S100A4 は TNF- $\alpha$ , S100A8 は IL-10 および I $\kappa$ B, S100A9 は IL-10 に対してそれぞれ有意な正の相関性を認めた。
2. U937 における S100 mRNA 発現量は対照群と比較して有意に高かった。

### 【考察】

歯根肉芽腫中では、炎症性サイトカインや LPS の働きにより S100 タンパクが発現し、S100A4 は病態を増悪の方向へ、逆に S100A8 および S100A9 は抑制の方向へ関与している可能性が示唆された。

### 熱処理加工されたニッケルチタンファイルの回転疲労耐性および曲げ特性

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

#### Cyclic fatigue resistance and bending properties of heat treated NiTi 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)

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

【目的】近年、熱処理加工によりニッケルチタン製ロータリーファイル (以下「NiTi ファイル」) の柔軟性や破折抵抗性が向上すると報告がみられる。ところが、現在報告されている研究の多くは先端径やテーパの異なる NiTi ファイル間で比較されており、条件の規格化の面で追究の余地が残されている。本研究は、熱処理加工された各種 NiTi ファイルの回転疲労耐性、曲げ特性について、先端径およびテーパが同一であるという条件のもとで比較検討することを目的とした。

【材料および方法】1. 実験群: 熱処理加工が施された5種のNiTiファイル [HyFlex EDM (Coltene; 以下 EDM), HyFlex CM (Coltene; 以下 CM), Vortex Blue (Dentsply Sirona; 以下 VB), RE file CT (Yoshida Dentcraft; 以下 RE), JIZAI (MAND)], および従来型 NiTi 合金製の Mtwo (VDW Dental) を被験ファイルとし、全てのファイルとも先端径#40, テーパー4%, 25 mm の器具を以下の実験に供した。

2. 回転疲労試験: 自作型回転疲労試験機および根管形成用モーター (Tri Auto ZX2、モリタ製作所) を使用し、動的回転疲労試験を行った (各群  $n = 10$ )。回転数は EDM, CM, VB, JIZAI, および RE は 500 rpm, Mtwo は 300 rpm とした。曲率半径 3mm, 曲率角度  $60^\circ$  に設計されたステンレス鋼製人工根管内で、潤滑剤としてシリコンオイル (KF-96-100CS, 信越化学) を用い、ハンドピースを毎分 300 mm で 2 mm 上下動させながらファイルを回転させ、破折までの時間を計測した。NCF (number of cycles to failure) を、回転数 (rpm)  $\times$  破折までの時間 (分) として算出した。

3. 曲げ試験: 自作型片持ち梁式抗曲試験機を使用し、曲げ試験を行った (各群  $n = 10$ )。ファイル先端から 7 mm の位置を支点とし、2 mm の位置に荷重をかけ、変位量が 0.5 mm および 2.0 mm における荷重を計測し、それぞれ弾性領域および超弾性領域の代表点とした。

4. 統計学的解析: 動的回転疲労試験で得られた NCF 値を Kruskal Wallis 検定および Games-Howell 検定、曲げ試験の計測値を、一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】回転疲労試験では、EDM の NCF は他の 5 群と比較し有意に大きく ( $P < 0.05$ )、Mtwo の NCF は他の 5 群と比較して有意に小さかった ( $P < 0.05$ )。曲げ試験では変位量 0.5 mm において EDM の荷重値は CM と JIZAI と比較して有意差は認めず ( $P > 0.05$ )、Mtwo の荷重値は他の 5 群と比較し有意に大きい値となった ( $P < 0.05$ )。変位量 2.0 mm における荷重は EDM  $<$  CM, JIZAI  $<$  RE  $<$  VB  $<$  Mtwo であった。

【考察】回転疲労試験の結果、Mtwo よりも他群の NCF が有意に大きかったことから、熱処理加工がファイルの回転疲労耐性の向上に寄与すると従来の見解が支持された。中でも EDM は他の全群と比較して NCF が有意に大きかったことから、放電加工や断面形態の違いが回転疲労耐性をより向上させたと推察された。また、曲げ試験の結果から、熱処理加工によるファイルの柔軟性向上が示されるとともに、特に EDM は超弾性領域において他の器具より高い柔軟性を有すると考えられた。NiTi ファイルの曲げ特性に影響を及ぼす主要な因子として、熱処理加工による相変態温度の変化が挙げられることから、今後、示差走査熱量測定による相変態挙動の解析が必要である。

【結論】本実験条件下では、熱処理加工されたファイルは高い回転疲労耐性と柔軟性を有していた。

### TruNatomy による湾曲根管形成の切削特性

神奈川県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

○糸永和広、下島かおり、樺一之、宇都宮舞衣、許多、清水千晶、原賀裕、徐開元、武藤徳子、石井信之

#### Shaping ability of the TruNatomy Ni-Ti instrument in curved root canal

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

○ITONAGA Kazuhiro, SHIMOJIMA Kaori, TSUBAKI Kazuyuki, UTSUMOMIYA Mai, XU Duo, SHIMIZU Chiaki, HARAGA Hiroshi, JO Kaigen, MUTOH Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

**目的**；歯内療法処置歯(失活歯)は、生活歯と比較して残存歯質の形態や量により破折リスクが高くなることが報告されている。近年 Minimally Invasive Endodontics (MI Endo) が提唱され、根管上部に位置する象牙質隆起を保存する最小限歯質切削による根管形成が、歯内療法後の歯根破折を防止することを報告した (Friedman et al. *J Endod* 2014;40:1160-6)。根管形成の基本術式である根管上部フレアー形成が、根管充填後の歯根破折の要因になりえることを提唱した。本研究は、MI Endo の概念に基づいて開発された Ni-Ti ファイルシステム TruNatomy (Dentsply-Sirona) の切削特性を評価することを目的とした。根管形成の評価は、TruNatomy Glider (Dentsply-Sirona) と ProGlider (Dentsply-Sirona) によるグライドパス形成後、TruNatomy による根管形成を行い根管切削量と中央値変位量を計測し比較検討することを目的とした。

**材料と方法**；J 型エポキシレジン製透明湾曲根管模型(Dentsply-Sirona)40 本を使用し、グライドパス形成後に TruNatomy スモールで形成後、TruNatomy プライムにて根管形成を行った。TruNatomy による根管形成は、グライドパスを TruNatomy Glider 群(n=20)と ProGlider 群(n=20)の 2 群で実施した。根管形成量と中央変位量は J 字型根管模型を実体顕微鏡 Olympus SZX 16 (Olympus, Tokyo) およびデジタルカメラ DP71 (Olympus) を使用し、根管形成前後の透明根管模型をデジタル画像で重ね合わせ、得られた画像データを PC に取り込み、計測用ソフト (WinROOF, Tokyo) を使用して計測を行った。計測箇所は、根尖から 1、2、3、5、8mm の位置を設定し、外湾側・内湾側それぞれの根管幅径増加量 (形成前の根管壁から形成後の根管壁までの距離) と根管形成前後の中央値変位量を計測し統計処理を行った。

**結果**；TruNatomy Glider 群と ProGlider 群の TruNatomy 根管形成量は内湾 3mm、外湾 3、5、8mm で優位差が認められた。また、中央値変位量は TruNatomy Glider 群と ProGlider 群共に根尖より 5 mm 以外は外湾に変位を示し、TruNatomy Glider 群が ProGlider 群より根管変位量が僅かに少なかった。

TruNatomy による根管形態は、グライドパスの種類による影響は殆ど認められず、両グライドパス間の根管切削量は 0.05mm 以下であった。さらに、両グライドパス使用後の根管切削量は、根尖孔から 5mm 以内で内湾で 0.2mm 以下、外湾で 0.25mm 以下であり、内外湾間の根管切削量は極めて低く本来の根管形態を維持することが認められた。

**考察**；根管上部フレアー形成は、解剖学的根管形態を維持するための基本術式として学生教育に導入されている。TruNatomy による根管形成は、根管上部のフレアー形成を実施せずに解剖学的根管形態を維持することが明らかになった。しかしながら、根管形成前のグライドパス形成は重要であり、TruNatomy Glider と ProGlider の使用によって TruNatomy による根管形成時の根管変位量が減少したと考えられる。TruNatomy Ni-Ti File はファイル形状と柔軟性により解剖学的根管形態を維持し、根管形成後の根管変位量を低くすることが示された。

## Gelatin-coated Well 上で培養した象牙芽細胞様細胞株に対する Bioactive glass および FGF-2 の影響

<sup>1</sup>九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

<sup>2</sup>九州歯科大学健康増進学講座分子情報生化学分野

○鷲尾絢子<sup>1</sup>, 古株彰一郎<sup>2</sup>, 北村知昭<sup>1</sup>

### Effects of Bioactive Glass and FGF-2 on Odontoblast-like Cells Cultured on Gelatin-coated Wells

<sup>1</sup>Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,

<sup>2</sup>Division of Molecular Signaling and Biochemistry, Department of Health Improvement,  
Kyushu Dental University

○WASHIO Ayako<sup>1</sup>, KOKABU Shoichiro<sup>2</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

#### 【目的】

我々は象牙質・歯髄複合体を局所的に再生誘導する生体材料の開発を目的として、生体適合性に優れた Bioactive glass (BG), 水溶性高分子であり成長因子徐放性を有するゼラチン (Gel), および細胞増殖・分化を誘導する線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) から成る FGF-2 徐放性 BG 配合 Gel sponge を作製し, sponge 表層におけるハイドロキシアパタイト層形成, および FGF-2 徐放などの物理化学的評価を示してきた (Washio et al., J Biomater Sci, Polym Ed. 2019). 本研究では, 象牙芽細胞様細胞 (KN-3 cells) に対する BG および FGF-2 の影響を Gel-coated well 上で二次元培養することで各因子の複合的な影響を評価した.

#### 【材料と方法】

**<Gel-coated well の作製>** Gel 水溶液 (0.1%) 1 mL を well に加え, 37°C・5% CO<sub>2</sub> にて静置した. 1 時間後に Gel 水溶液を除去し培地 1 mL で 2 回洗浄して Gel-coated well を作製した. **<BG 抽出溶媒の作製>** BG 1 g に対して培地 10 mL を加えて 37°C・5% CO<sub>2</sub> にて静置し, 24 時間後に filtration することで BG 抽出溶媒 (100%試験液) を作製した. その後, 100%試験液が 1/16, 1/12, 1/8, 1/6, 1/4, 1/3, および 1/2 の割合になるよう培地を加え, BG 希釈溶液を作製した. **<BG 抽出溶媒の影響>** 細胞播種から 4 時間後に BG 希釈溶液および 100%試験液で刺激し, 培養 1 日目に位相差顕微鏡で細胞形態を観察, 培養 2 日目に CCK-8 assay で細胞毒性を評価した. **<FGF-2 の影響>** 細胞播種から 4 時間後に FGF-2 (5, 10, 25, 50, および 100 ng/mL) で刺激し, 培養 1 日目に位相差顕微鏡で細胞形態を観察, 培養 1, 2, および 3 日目に CCK-8 assay で細胞増殖を評価した. また, 細胞がコンフルエントになった状態で well 底面を引っ掻き後, FGF-2 で刺激し細胞遊走率を測定した. **<BG 抽出溶媒と FGF-2 の同時刺激による影響>** 細胞播種から 4 時間後に BG 希釈溶液あるいは 100%試験液と FGF-2 (100 ng/mL) を同時刺激し, 培養 1 日目に位相差顕微鏡で細胞形態を観察, 培養 3 日目に CCK-8 assay で細胞毒性および細胞増殖を評価した.

#### 【結果】

**<BG 抽出溶媒の影響>** BG 抽出溶媒は KN-3 cells の細胞形態には影響しないものの, 1/3 以上の希釈溶液刺激群では細胞増殖は有意に低下した.

**<FGF-2 の影響>** FGF-2 刺激により, KN-3 cells には短い突起様構造が形成され細胞増殖は有意に増加した. 一方, FGF-2 刺激は KN-3 cells の遊走率に影響しなかった.

**<BG 抽出溶媒と FGF-2 の同時刺激による影響>** BG 抽出溶媒および FGF-2 で同時刺激された KN-3 cells は, FGF-2 単独刺激された KN-3 cells と同様に短い突起様構造が形成された. また, BG 抽出溶媒刺激の有無に関わらず, FGF-2 刺激により細胞増殖は有意に増加した.

**<Gel コートの影響>** 上記の結果において, Gel コートの有無による有意差は認められなかった.

#### 【考察】

Gel-coated well 上の象牙芽細胞様細胞に対して BG は細胞為害性が低いこと, FGF-2 は細胞増殖能を上昇させることが示唆された.

#### 【結論】

象牙質・歯髄複合体の局所的再生誘導に用いる生体材料および成長因子として BG, Gel, および FGF-2 は有用である.

## X連鎖性低リン血症性くる病を起因とした多発根尖性歯周炎に対し 歯内療法を行った症例の病態考察

<sup>1</sup>岡山大学病院 歯周科, <sup>2</sup>岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野

○佐光秀文<sup>1</sup>, 大森一弘<sup>1</sup>, 坂井田京佑<sup>2</sup>, 亀井千晶<sup>2</sup>,  
小林寛也<sup>2</sup>, 井手口英隆<sup>2</sup>, 山本直史<sup>2</sup>, 高柴正悟<sup>2</sup>

### Pathophysiological consideration for a case of endodontic treatment for multiple periapical periodontitis caused by X-linked hypophosphatemic rickets

<sup>1</sup> Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital, Okayama, Japan,

<sup>2</sup> Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry,  
and Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan

○SAKO Hidefumi<sup>1</sup>, OMORI Kazuhiro<sup>1</sup>, SAKAIDA Kyosuke<sup>2</sup>, KAMEI Chiaki<sup>2</sup>,  
KOBAYASHI Hiroya<sup>2</sup>, IDEGUCHI Hidetaka<sup>2</sup>, YAMAMOTO Tadashi<sup>2</sup>, TAKASHIBA Shogo<sup>2</sup>

**【緒言】** X連鎖性低リン血症性くる病 (X-linked hypophosphatemic rickets: XLH) は、遺伝子異常に伴う線維芽細胞増殖因子-23 (FGF-23) の過剰産生を原因として、低リン血症・小腸でのカルシウムの吸収不良・骨の変形を特徴とする稀な疾患である。歯科的には、①小児期に明らかなカリエスや外傷なく膿瘍が多発する、②広い歯髄腔や象牙質の構造異常、石灰化不全を認める、③プラークコントロールが不良な患者では歯周炎の進行や発症頻度が上昇し、無細胞セメント質の減形成がみられる、といった臨床的特徴が報告されている。しかし、稀な遺伝性疾患であるため、小児期の症例報告が中心であり、成人期における症例報告はほとんどない。今回、40歳代の成人XLH患者における多発根尖性歯周炎に対して感染根管治療を行い、根尖病変の治癒を来す歯がある一方で、歯内歯周病変の急速な進行に伴い喪失にいたった歯の経過を報告し、病態を考察する。

**【現病歴】** 患者は初診時46歳、男性。1990年代頃(20歳代)、原因不明の歯髄炎が頻発し、歯内療法を受けた。2002年頃(31歳)、34が自然脱落したため、近医で同部の歯科インプラント治療を受けた。しかし、インプラント体は自然脱落した。その後、下顎残存歯が自然脱落していったが、仕事が多忙であり、放置していた。2017年2月頃(46歳)、35が自然脱落し、咀嚼困難および審美障害を自覚し近医を受診した。再度、歯科インプラント治療を希望したところ、当院での精査と加療を勧められたため、紹介状を持参して来院した。

**【既往歴】** XLH(プロスマブ;抗FGF-23抗体)、高血圧(アムロジピン:カルシウムチャネル拮抗薬、バルサルタン:アンギオテンシンII受容体拮抗薬)、高尿酸血症(フェブリク:キサンチンオキシダーゼ阻害薬)

**【全身所見】** 身長150cm、体重60kg、BMI=26.67kg/m<sup>2</sup>。下肢と頸椎の変形のため水平位での診察は不可能だった。

**【各種検査所見】** 下顎臼歯部を中心として多数歯に欠損がみられた。上下顎前歯部には叢生がみられ、口腔清掃状態は不良(PCR=87%)であった。残存歯には多数のエナメルクラックを確認した。4mm以上の歯周ポケット深さが占める割合は43%、BOP陽性率は64%であり、PISAは1,009mm<sup>2</sup>であった。デンタルX線画像検査において、全顎的に中等度から重度の歯槽骨吸収像がみられた。13, 15-17, 23, 31-32に根尖部透過像の亢進があり、15には広い歯髄腔と根尖の湾曲が見られた。

**【診断・治療】** 診断は、①汎汎型重度慢性歯周炎(Stage IV, Grade C)、②二次性咬合性外傷、③XLHを原因とした象牙質構造異常に伴う多発根尖性歯周炎と診断した。歯周基本治療として、歯周組織の感染を除去するとともに、臼歯欠損部に部分床義歯を装着して咬合を早期に確保した。その後、感染根管治療を行った。なお、根管湾曲や象牙質の構造異常を伴うため、根管形成・拡大時には穿孔させないように注意を払った。17は座位での感染根管治療中に穿孔したため抜歯となり、31は自然脱落した。16は近心頰側根にトリセクションを行った。他の4歯は、感染根管治療後に根尖周囲のX線透過像が消失した。また、歯周基本治療中に、38に明らかなう蝕がないにもかかわらず自発痛が生じたため、歯髄炎と診断して麻酔抜髄を行った。義歯鉤歯であった45は、歯内歯周病変が急速に進行したため感染根管治療を行ったが、自然脱落した。

**【考察】** 本症例のような成人XLH患者において、象牙質構造異常に伴い発症する歯内疾患の多発が若年における歯牙喪失の主たる原因と考える。一方、解剖学的構造および形態に注意しながら根管治療を行うことで歯の保存に寄与できる可能性も示唆される。また、外傷力といった二次的局所要因が作用すると歯内歯周疾患が急速に進行しやすい可能性も示唆される。そのため、XLH患者では、幼少期から定期的なエックス線画像検査によって、象牙質および歯髄腔の構造変化を注意深く観察する必要がある。そして、根尖病変が形成された場合は早期発見・治療し、欠損拡大を予防することが重要であると考えられる。

ラット脛骨骨欠損部の骨形成に及ぼす Nd:YAG レーザーの影響  
 -マイクロ CT 画像を用いた三次元的解析評価の応用-

明海大学 歯学部機能保存回復学講座 保存治療学分野

○河野宗光, 和田恵, 横瀬敏志

Effect of Nd:YAG Laser on bone formation in rat tibia received bone defect  
 - Application of 3 dimensional micro-computed tomography images-

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

○Munemitsu Kawano, Kei Wada, Satoshi Yokose

【目的】

近年、歯科用レーザーは創傷治癒、組織の切開や蒸散、殺菌などの幅広い使用用途、使用頻度が高まっている。なかでも波長 1.064 μm の Nd:YAG Laser は組織透過性を有していることが知られているが、歯科領域において再生治療の観点から最も重要な組織である骨組織に対して照射した際に及ぼす作用としてはあまり報告が少ない。本研究では、Nd:YAG Laser の LLLT の更なる臨床応用の模索することを目的として、骨組織に対する Nd:YAG Laser の Photobiomodulation についてマイクロ CT の画像を用いて、ラット脛骨の骨欠損部を三次元構築モデル化し解析した。

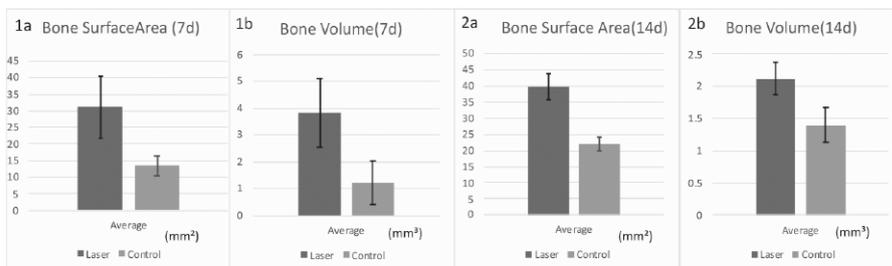
【方法】

実験動物は生後 10 週齢の雌性 SD ラットを 6 匹用いた。イソフルラン(マイラン製薬, ファイザー)による吸入麻酔により無痛に両脛骨の中心部分に直径 3mm のラウンドタイプスチールバーを用いて、長軸に対して垂直に注水下で皮質骨を削合、骨髄まで穿孔させた後縫合し、骨欠損を作成した。翌日、左側脛骨を非照射群、右側脛骨を照射群とし、照射群にはインサイプ Nd:YAG Laser (インサイプ社, インパルスデンタルレーザー®) を出力 1.0W, 周波数 20Hz, 出力密度 50mJ, 照射時間 20 秒の条件下に設定し、経皮下で 7 日間、14 日間の毎日照射を行った。7 日、14 日後に、それぞれ無痛にラットを屠殺し、試料を採取した後、直ちに 10% 中性緩衝ホルマリン (pH 7.4, 和光製薬) で固定を行った。10 μm の解像度でマイクロ CT 撮影を行った。

撮影したマイクロ CT のデータを元に、三次元可視化解析ソフトウェア Amira (Thermo Fisher Scientific) を用いて骨欠損部での新生骨形成の状態を解析した。脛骨の骨欠損部を水平・近遠心・頬舌断面の 3 方向から抽出して、新生骨の三次元モデルを構築し、体積 (Bone Volume) 及び表面積 (Bone Surface Area) を計測し、新生骨に及ぼすレーザーの影響を調べた。本研究は、明海大学研究倫理審査委員会の承認を得て行った。(承認番号: C2003)

【結果および考察】

骨欠損部にみられた新生骨の体積及び表面積を計測した結果、7 日及び 14 日間の照射群は非照射群と比較して有意に高い値を示し、多くの新生骨の増生がみられた。(Fig 1a, 1b, 2a and 2b) 特に 7 日間の照射 (Fig 1a, 1b) で形成された新生骨の割合は 14 日間の照射 (Fig 2a, 2b) より多いことが示された。これらの結果は骨欠損部に Nd:YAG Laser 照射をすることによって、初期の段階での骨形成を強く誘導することが示唆された。



【結論】

Nd:YAG Laser は組織深達型 Laser であるため、皮膚の上からの照射でも Photobiomodulation を骨組織で確認でき、骨形成を誘導した。更にその効果は骨形成の初期段階に有効であることが示された。

## ラット根尖病変の創傷治癒過程に及ぼすニシカキャナルシーラーBGの影響

<sup>1</sup>九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野, <sup>2</sup>花田歯科医院

○諸富孝彦<sup>1</sup>, 花田-宮原可緒理<sup>2</sup>, 鷲尾絢子<sup>1</sup>, 北村知昭<sup>1</sup>

### Effects of Nishika Canal Sealer BG on Wound Healing Process of Rat Periapical Lesions

<sup>1</sup>Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,  
Kyushu Dental University

<sup>2</sup>Hanada Dental Clinic

○MOROTOMI Takahiko<sup>1</sup>, HANADA-MIYAHARA Kaori<sup>2</sup>, WASHIO Ayako<sup>1</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

【目的】生体活性バイオセラミックスである Bioactive glass (BG) を配合したニシカキャナルシーラーBG (CS-BG: 日本歯科薬品) は, 良好な生体親和性や象牙質への結合による高い封鎖性に加え, 最適な操作性, 十分なエックス線不透過性, そして易除去性等, 根管用シーラーとして良好な性質を示す. 本研究ではラット下顎臼歯根尖病変モデルを用い, 根尖病変の創傷治癒プロセスに及ぼす CS-BG の影響を病理組織学的に評価した.

【材料および方法】本研究は九州歯科大学動物倫理委員会の承認を得て行われた (実験承認番号: 16-024). 雄性7週齢の Wistar 系 SPF ラットに全身麻酔を施し, 下顎左右第一臼歯の髓室開拓を行った. 冠部歯髓組織を摘出後, 手用 K ファイル (#15 および #20) を用いて作業長 3.5 mm まで抜髄ならびに根管拡大を行い, その後7日間にわたり根管を開放することで根尖病変を成立させた. 続いて Ni-Ti ロータリーファイル (EndoWave: モリタ) を用いて作業長 3.5 mm, #25 (.06 テーパー) まで根管拡大・形成を行い, EDTA 溶液, 次亜塩素酸ナトリウム水溶液および生理食塩水による根管洗浄・乾燥後, CS-BG および比較群として他の根管用シーラーを用いて根管充填を行った. 比較群には酸化亜鉛ユージノール系シーラーであるニシカキャナルシーラー ユージノール系ノーマル (CS-EZN: 日本歯科薬品), および酸化亜鉛非ユージノール系シーラーであるニシカキャナルシーラー-N (CS-N: 日本歯科薬品) を用いた. 根管充填後, 髓室は接着性レジン (スーパーボンド C&B\*: サンメディカル) にて封鎖した. なお, 咬合による影響を避けるため上顎対合歯は削合した. 術後1週および3週で全身麻酔下にて4%パラホルムアルデヒド/PBSによる灌流固定を行い, 下顎骨を摘出した. Morse 法による脱灰後, 通法通りパラフィン包埋を行い6 μm 厚の連続切片を作成した. ヘマトキシリン-エオシン染色後, 根尖孔周囲の新生硬組織の形成状態, 炎症性細胞の浸潤状態, 根尖付近のセメント質および象牙質の吸収状態を通法に従いスコア化し評価した. さらに根尖部歯周組織の半定量的評価として, 根尖部歯根膜の厚さと根尖部歯根外表面セメント質厚さを画像解析ソフトウェア Image J を用いて計測した.

【結果】[根尖孔の閉鎖状態] 1週ではすべての群で根尖孔の閉鎖は確認されなかったが, 3週では CS-BG 群と CS-EZN 群で CS-N 群より根尖孔閉鎖の進行傾向が見られた. [炎症状態] 1週では CS-BG および CS-N 群が CS-EZN 群と比較し軽度のスコアを示したが, 3週では CS-BG 群が最も軽度のスコアを示した. [セメント質の吸収] 1週では CS-EZN 群が高いスコアを示し, 3週では CS-BG 群が他よりも低い値を示した. [象牙質の吸収] 1週では CS-BG 群が最も低いスコアを示し, 3週では CS-N 群が他よりも高い値であった. [半定量的評価] 1週および3週とも, 歯根膜厚さは CS-BG 群の平均値が他群と比較し最も少ない値を示し, セメント質厚さは CS-BG 群の平均値が他群よりも高い値を示した.

【考察】ラット根尖病変モデルにおける病理組織学なスコア評価では, 根管充填後1週および3週の全ての解析項目で, CS-BG 根管充填群が他群と比較して同等もしくは最も低いスコアを示した. また半定量的解析において, 歯根膜厚さの平均値は最も低く, セメント質厚さは最も高い結果を示した. 以上の結果は CS-BG 充填群における根尖周囲組織の炎症及び硬組織吸収の消退傾向と硬組織形成誘導傾向を示しており, CS-BG が根尖病変の創傷治癒を促進する可能性を示唆している.

【結論】ニシカキャナルシーラーBG は根尖病変の創傷治癒を促進する可能性がある.

## 下顎大白歯近心根管の解剖学的形態を考慮して根管治療した1症例

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  
○石崎 秀隆、山田 志津香、吉村 篤利

### A case of root canal treatment with consideration of anatomical morphology of mesial root canal of mandibular molar

Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University  
Graduate School of Biomedical Sciences

○ISHIZAKI Hidetaka, YAMADA Shizuka, YOSHIMURA Atsutoshi

#### 【緒言】

根尖性歯周炎は根管内の細菌感染が原因で生じることが分かっており、根管治療の成功は根管内からの細菌の除去に依存している。しかしイスマスやフィン、側枝、根尖分岐といった複雑な根管系は根管形成・洗浄を十分に行なっても、細菌の残存に起因した再根管治療が懸念される。

今回下顎右側大白歯において術前の根管形態の診断に基づき治療した症例を紹介したい。

#### 【症例】

患者は64歳男性。数日前より下顎右側大白歯部の歯肉の腫脹を自覚し来院した。自発痛はなく口腔内診査から下顎右側第二大臼歯はメタルインレーで修復されており、分岐部に相当する歯頸部の歯肉の腫脹が観察され、患歯は垂直性打診・根尖部圧痛に反応を示した。歯周疾患による可能性も考えられたが、患歯は電気歯髄診に反応を示さなかった。口腔内 X 線写真から歯冠の遠心には歯髄に近接した修復物が認められ、分岐部から根尖部にかけてびまん性の骨吸収像が、第一大臼歯遠心根根尖部には X 線透過像を認めた。さらに患歯の状態を精査するため、患者の同意のもと CBCT 撮影が行われた。CBCT 所見から近心根管は Vertucci の分類における Type II であり、イスマスが観察され、分岐部から根尖部にかけての歯槽骨は吸収していた。遠心根管は Vertucci の分類における Type I であった。

臨床的に歯髄の状態は歯髄壊死、根尖部歯周組織の状態は慢性根尖膿瘍と診断された。

#### 【経過・予後】

患者に根管治療の必要性を説明し根管治療が行われた。髄腔開拓の後、近心根根管口部の歯質の張り出しを除去すると頬舌側に延びる細長い根管口が確認された。本症例は CBCT 所見から頬側・舌側根管がイスマスを介して繋がっており、既に細菌に感染していると推察されたため、通常ファイルによる根管拡大・洗浄では十分にイスマスの感染源を除去できない可能性が考えられた。このため近心根管は作業長測定後 Ni-Ti ファイル(WaveOneGold)で頬側・舌側根管を拡大し、超音波装置に接続した U ファイルでイスマスを形成し単根管とした。根管形成後に Ni-Ti ファイル(XP-endo Finisher)を用いて根管洗浄を行った。遠心根管は Ni-Ti ファイルにて拡大された。頬側歯頸部に見られた歯肉の腫脹は根管治療中に改善し、根管充填後セラミックアンレーにて歯冠修復が行われ現在問題なく経過している。

#### 【考察】

下顎大白歯の近心根はイスマスや MM (Middle・Mesial) 根が観察されることがあり、遠心根に比べて複雑な形態を呈していることが多い。このため、これらをどのように形成するのか考える必要があるが、根管形成による歯質の過度な切削は歯質を脆弱化させる原因となる。本症例では頬側根管と舌側根管がイスマスで繋がるソラマメ状を呈しており、感染源になっていることが予想された。このため通常 Ni-Ti ファイルによる拡大・形成に加えて、超音波装置に装着した U ファイルによるイスマスの処置を慎重に行なった。また下顎大白歯近心根は遠心側が窪んでおり歯質の厚みも非常に薄いため、過度な歯質の切削や穿孔には十分な注意が必要である。術前に根管形態をよく観察した上で完全に分岐した2根管であるのか、MM 根、イスマス、フィンの有無それらを含めた根管内がすでに細菌感染を起こしているのかなどを診査し、アプローチの方法と治療の可能性を判断した上で、本来の根管形態を考慮した根管形成が推奨される。

#### 【結論】

術前に根管の形態や根管内部の状態を十分観察した上でさらに、治療上のリスクを考慮することで、三次元的に過不足のない根管形成が可能となることにより、緊密な根管充填が実現でき、良好な予後につながると思われる。

**Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄における破折器具根尖側での根管内蒸気泡の挙動  
-繰り返しパルス数および照射エネルギーによる影響-**

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野  
劉嘉懿, 渡辺聡, 高野晃, 興地隆史

**Intracanal vaporized cavitation bubble kinetics in the apical area beyond the fractured instrument  
during Er:YAG laser-activated irrigation: Effect of pulse frequency and pulse energy**

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences,  
Tokyo Medical and Dental University (TMDU)  
LIU Jiayi, WATANABE Satoshi, KOUNO Akira, OKIJI Takashi

**【目的】**

根管内破折器具やレジは根尖部の清掃を困難とするが、その解決のための処置は比較的難易度とリスクが高い。我々は、Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄法 (laser-activated irrigation; LAI) がレジを伴う根管に示す清掃効果を微細粒子の挙動を指標として解析し、レジより根尖側では LAI が超音波洗浄 (passive ultrasonic irrigation; PUI) と比較して有効である可能性を見出した (Aung et al, Photobiomodul Photomed Laser Surg, 2020)。本研究は、異なる繰り返しパルス数および照射エネルギー下で LAI を行った場合に、破折器具より根尖側で生じる蒸気泡の挙動を PUI とともに解析することを目的とした。

**【材料および方法】**

35本のJ字型透明根管模型 (デンツプライシロナ) の模型基底部から3mmの位置に#20 K ファイルの先端3mmを破折させた。模型基底部から8mmの位置までNiTi ロータリーファイル (ProFile Orifice Shaper, デンツプライシロナ, #50/.07) で上部拡大を行った。次いで、破折器具根尖側を含めて根管内に蒸留水を満し、LAI群ではEr:YAG レーザー装置 (Erwin AdvErL, モリタ製作所) に付属円錐状チップ (R200T,  $\phi 200 \mu\text{m}$ ) を装着して30mJ (1, 10, 20 pps) および70mJ 10ppsの条件で5秒間レーザー照射した。PUI群では超音波装置 (OSADA Enac 11W) に超音波ファイル (Uファイル, ピヤス, #15) を装着して設定値3 (推奨最大設定値) にて5秒間発振した (各群  $n=7$ )。レーザーチップおよび超音波ファイルは模型基底部から8mmの位置に固定した。洗浄中の根管をハイスピードカメラ (VW-9000, キーエンス) で撮影した動画を用い、解析ソフト (Dipp-Motion V) にて破折片より根尖側領域の蒸気泡速度と数を求めた。統計学的解析には一元配置分散分析とTukey検定を用いた ( $\alpha=0.05$ )。

**【結果】**

蒸気泡速度において、LAI群はPUI群より有意に大きかった ( $p<0.05$ ) もの、異なる繰り返しパルス数および照射エネルギー条件による有意差を認めなかった ( $p>0.05$ )。また蒸気泡数において、LAI群はPUI群よりも有意に多数であり ( $p<0.05$ )、繰り返しパルス数および照射エネルギー条件に応じて蒸気泡数は有意に増加した ( $p<0.05$ )。

**【考察】**

根管洗浄中の蒸気泡発生に伴う高速水流は根管清掃効果に寄与し、根管壁への剪断応力は水流速度と比例すると報告されている (de Groot SD et al, Int Endod J, 2009)。本研究結果では、破折器具根尖側のLAIによる蒸気泡挙動はPUIよりも著しく、破折器具根尖側の清掃に対してLAIがPUIより有用であることが示唆される。また、蒸気泡速度に照射条件による有意差を認めなかったが、これは、レジより根尖側の水流速度がLAIの照射条件による有意差を示さなかったとする過去の報告と同様の結果であった (Aung et al, Photobiomodul Photomed Laser Surg, 2020)。破折器具の問題点は、それ自体の存在よりも根管清掃が困難なことにあるが、LAIの照射条件の適切な設定により破折器具根尖側の化学的清掃が可能であれば、これを除去できない難症例の成功率向上に寄与する可能性が推察される。しかしながら、LAIによる根管壁や歯周組織への熱的影響や洗浄液の根尖孔外への溢出についても勘案する必要がある。臨床応用に際しては、安全かつ清掃に適切な照射条件の設定について慎重な検討が必要である。

**【結論】**

本実験条件では、Er:YAG レーザーによるLAIは、繰り返しパルス数および照射エネルギーに応じて、破折器具より根尖側においてPUIよりも顕著な蒸気泡挙動を示した。

### RVX-208 の歯髄細胞における機能解析

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)  
○藤原千春, 松本昌大, 島袋善夫, 山本 優, Nantakeeratipat Teerachate, 北垣次郎太, 村上伸也

#### The functional analysis of RVX-208 in human dental pulp cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry  
○Chiharu Fujihara, Masahiro Matsumoto, Yoshio Shimabukuro, Yu Yamamoto,  
Teerachate Nantakeeratipat, Jirouta Kitagaki, Shinya Murakami

【目的】近年、エピジェネティクスな遺伝子発現調節が歯髄細胞の分化や石灰化に関与することが報告されており、これまでに承認されているエピジェネティクス制御化合物を直接覆髄剤に適応する可能性が示唆されている。そこで本研究は、エピジェネティクス関連タンパクを標的とした化合物ライブラリーを用いて、歯髄細胞に毒性を示さない化合物のスクリーニングを行い、スクリーニングにより同定された化合物の歯髄細胞における役割を検討することにより、新規直接覆髄剤の候補を同定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倫理委員会の承認を受けて実施された(承認番号: H18-19-1)。大阪大学歯学部附属病院にて矯正治療のために便宜抜歯された第一小臼歯を抜髄し、outgrowth 法を用いて単離したヒト歯髄細胞(hDPC)を実験に供した。エピジェネティクス関連化合物ライブラリーを用いて、hDPCを1%FCS含有 $\alpha$ -MEM培地にて培養した。培養2日後、歯髄細胞の生存能に影響を及ぼさない化合物をMTTアッセイにてスクリーニングした。化合物スクリーニングの結果同定されたRVX-208がhDPCに及ぼす細胞障害性について、ヨウ化プロビジウム(PI)染色にて検討した。次に、RVX-208がhDPCの増殖に及ぼす影響について、BrdUアッセイを用いて検討した。さらに、hDPCをRVX-208存在下で石灰化誘導を行い、培養18日目における石灰化物の形成を、アリザリンレッド染色法を用いて検討した。加えて、石灰化誘導過程におけるhDPCの象牙芽細胞分化関連遺伝子の発現をリアルタイムPCR法にて検討した。

【結果】MTTアッセイの結果、歯髄細胞の生存能を負に制御しない化合物20個を同定した。同定された化合物を機能別に分類した結果、これまでに歯髄細胞における機能が報告されていないRVX-208に着目した。PI染色の結果、RVX-208(0-100 nM)は、hDPCの死細胞率を増加させなかった。BrdUアッセイの結果、RVX-208(0-100 nM)はhDPCの増殖を損なうことはなかった。一方、アリザリン染色の結果より、hDPCの硬組織形成細胞への分化誘導18日目において、RVX-208(0-100 nM)は濃度依存的にhDPCの石灰化物形成を促進することが明らかとなった。さらに、リアルタイムPCR解析の結果より、hDPCの硬組織形成細胞への分化過程において、RVX-208(0-100 nM)は、hDPCにおけるアルカリフォスファターゼ(ALPL)及びI型コラーゲン(COL1A1)遺伝子の発現を低下させた。一方、RVX-208(0-100 nM)は、hDPCにおける象牙質シアロタンパク(DSPP)及びデンチンマトリックスプロテイン1(DMP1)の遺伝子発現を上昇させた。加えて、石灰化誘導6日目において、RVX-208(0-100 nM)は、hDPCのRunt-Related Transcription Factor-2(RUNX2)の遺伝子発現に影響を及ぼさなかったが、石灰化誘導18日目において、100 nM RVX-208は、hDPCのRUNX2遺伝子発現を有意に抑制した。

【結論】生理活性物質RVX-208は、歯髄細胞に対して毒性を示さず、その増殖を損なうこと無しに、歯髄細胞の硬組織形成細胞への分化及び石灰化を促進することが明らかとなった。すなわち、RVX-208は安全で有効な直接覆髄剤の一候補となる可能性が示唆された。

**Surface-reaction-type prereacted glass-ionomer filler containing root canal sealer down-regulates pro-inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated macrophages**

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

○Htoo Shwe Sin Thein, Kentaro Hashimoto, Sonoko Noda, Nobuyuki Kawashima, Takashi Okiji

**Introduction:** A prototype surface-reaction-type prereacted glass-ionomer (S-PRG) filler containing root canal sealer (S-PRG sealer; Shofu, Kyoto, Japan) has bioactive, biocompatible, and osteogenic potential by the release of multiple ions (B, Al, Si, Na, Zn, Sr, and F). The purpose of this study was to explore anti-inflammatory effects of the S-PRG sealer by examining downregulatory actions of sealer extracts on pro-inflammatory cytokine expression in lipopolysaccharide (LPS) stimulated RAW 264.7 macrophages.

**Materials and Methods:** S-PRG sealer extracts were prepared by immersing set S-PRG sealer in a culture medium (D-MEM high-glucose). RAW264.7 macrophages were cultured with S-PRG extracts in the presence or absence of LPS (100 ng/ml). Cell viability was measured using WST-8 assay. mRNA expression of proinflammatory cytokines including *IL-1 $\alpha$* , *IL-6*, and *TNF- $\alpha$*  was evaluated by the reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction using specific primers. Expression of phosphorylated nuclear factor-kappa B (NF-kB) p65 was detected by western blotting. N,N,N',N'-tetrakis(2-pyridylmethyl)ethane-1,2-diamine (TPEN, 50 $\mu$ M) and ZnCl<sub>2</sub> solution (10  $\mu$ g/ml) were used as a heavy metal chelator and a control zinc solution, respectively. Data analysis was performed by one-way analysis of variance, followed by the Tukey–Kramer test and Student's *t*-test ( $p < 0.05$ ).

**Results:** Set S-PRG sealer extracts induced no harmful effects on the cell growth of RAW 264.7 macrophages. Set S-PRG sealer extracts and ZnCl<sub>2</sub> solution significantly downregulated mRNA expression of *IL-1 $\alpha$* , *IL-6*, and *TNF- $\alpha$*  and protein expression of phosphorylated NF-kB, which were canceled by the application of TPEN.

**Discussion:** Our previous reports have shown that S-PRG sealer extracts contain substantial amount of zinc ions (46 ppm), and four-times diluted set S-PRG sealer extracts may contain similar volume of zinc ions of ZnCl<sub>2</sub> solution. The present findings suggest that the release of heavy metal ions, especially zinc ions, may play an important role in the anti-inflammatory effects of the S-PRG sealer.

**Conclusion:** Set S-PRG sealer extracts down-regulated both mRNA expression of pro-inflammatory cytokines and protein expression of phosphorylated NF-kB, which may be mediated via the release of heavy metal ions.

## キャナルス®ペーストの練和比の違いによる物性への影響評価

株式会社ジーシー 研究所

○三谷 将弘, 小野 一弘, 伏島 歩登志

### Evaluation of the effect of different kneading ratios of Canals® paste on physical properties

R&D Department, GC Corporation.

○MITANI Nobuhiro, ONO Kazuhiro, FUSEJIMA Futoshi

#### 【研究目的】

根管充填シーラーは、練和開始から根管充填終了まで、術者が望む適度なちょう度を有することが望まれる。また、適切な硬化時間、被膜厚さ、X線造影性などの物性も重要である。我々は昨年7月、酸化亜鉛またはユージノールを主成分とする2ペーストタイプの根管充填シーラーであるキャナルス®ペーストを開発した。当シーラーはA材とB材の練和比を変えることで、ペーストのちょう度調節することができる。本研究ではキャナルス®ペーストのA材とB材の練和比の違いによる物性の変化について報告する。

#### 【材料と方法】

被験根管充填シーラーとして、キャナルス®ペースト(昭和薬品化工)を用いた。A材とB材の練和比は2.5:1, 2:1, 1.5:1, 1:1, 1:1.5, 1:2, 1:2.5とした。ちょう度試験、硬化時間、被膜厚さはISO6876 Dentistry-Root canal sealing materials:2012<sup>(1)</sup>を準用し、X線造影性試験はISO13116 Dentistry-Test Method for Determining Radio-Opacity of Materials 7.4 Test procedure for digital equipment<sup>(2)</sup>に準じて行った。

#### 【結果と考察】

練和比の違いによる物性評価の結果を表に示す。ちょう度(Flow)はガラス板に挟んだ時の広がり直径を測定しているため、数値が大きいほど圧を加えた際にペーストが広がりやすいことを示すことになる。練和比1:1(重量比)の場合に最も大きく、A材あるいはB材を増すほど、小さい値となった。A材は固く、B材は柔らかいペーストであり、B材を増すほど、ちょう度が大きくなると考えていたが、異なる結果となった。この原因としてB材に含有するロジンの影響が考えられた。ロジンを増すと、ペーストのちょう度が小さくなる傾向があり、B材の練和比を増すにつれ、その傾向が表れたと推察される。硬化時間(Setting time)はA材が増すにつれ、短く、B材が増すにつれ、長くなる傾向がみられた。キャナルス®ペーストはA材に含有する酸化亜鉛とB材に含有するユージノールとのキレート形成により硬化する。今回の評価の結果、練和比の変化により、硬化調節材であるロジンが増し、硬化が遅延すると推察される。被膜厚さ(Film thickness)は練和比を変えても差がみられなかった。X線造影性はA材の割合が高いほど、高い傾向がみられた。これはA材に含有する硫酸バリウムの影響と考えられた。

Table. The evaluation results of physical properties depending on the difference in the kneading ratio of Canals® paste

Physical properties /kneading ratio of paste A and B (by weight)	JIS standard	2.5:1	2:1	1.5:1	1:1	1:1.5	1:2	1:2.5
Flow (mm)	17 or more	34.76	37.17	38.93	40.64	39.60	39.35	39.02
Setting time (min)	30-240*	83.33	80.00	80.00	93.33	90.00	103.33	106.67
Film thickness (μm)	Less than 50	5	4	5	4	5	5	4
Radio-opacity(mm)	3 or more of aluminum plate	6.2	5.8	5.8	5.4	4.4	3.8	3.7

\* follow the instructions of the manufacturer

#### 【結論】

キャナルス®ペーストのA材とB材の練和比を2.5:1~1:2.5の範囲で変化させた場合において、いずれの試験においてもJIS規格を満たしており、この範囲内であればフローを変えても臨床上問題なく使用できることが示唆された。

参考文献

- (1) ISO6876, Dentistry-Root canal sealing materials :2012.
- (2) ISO13116. Dentistry-Test Method for Determining Radio-Opacity of Materials :2014.

### 日本人における3根性の下顎第一大臼歯の根管湾曲について

1) 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座 2) 日本大学松戸歯学部先端歯科治療学講座

○鈴木 誠<sup>1)</sup>, 辻本 恭久<sup>2)</sup>, 松島 潔<sup>1)</sup>

#### A morphological study of root canal curvatures of the Three-rooted mandibular first molars in a Japanese population

○Suzuki Makoto<sup>1)</sup>, Tsujimoto Yasuhisa<sup>2)</sup>, Matsushima Kiyoshi<sup>1)</sup>

1) Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

2) Department of Advanced Dental Treatment & Microscopic Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

#### 【研究目的】

下顎第一大臼歯は通常、歯根は近心1根、遠心1根の2本の歯根、根管は近心2根管、遠心1根管の形態を呈する。下顎第一大臼歯では3根目となる遠心舌側根が出現することが報告されている。遠心舌側根は他の根より短く、湾曲している。そのため、ファイル破折などの歯内療法における偶発症や根管治療の失敗を引き起こしやすい。また根管治療とは機械的拡大、化学的洗浄をし、根管を密に根管充填材で満たし再感染を防ぐ。根形態、根管形態の知識は歯内療法の成功率の向上になると考えられる。本研究では医療用CTを用いて、現代日本人の下顎第一大臼歯における遠心舌側根の出現頻度および根の湾曲角度を検討した。

#### 【対象】

2009年1月から2011年12月の間に本学附属病院においてCT撮影を施行した20歳代～30歳代かつ、右下顎第一大臼歯が萌出している男性(127名)、女性(136名)。

メタルアーチファクトによる障害陰影のあるもの、カリエス・根管治療にて根管形態が変化しているものは除外した。本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認を得て行った(承認番号: EC 11-037号)。

CTの撮影条件および読影条件

装置: 64列 Multi-Detector row CT(Aquilion<sup>TM</sup>64、(株)東芝メディカルシステムズ)

撮影条件: 管電圧 120 kV、管電流 100 mA、ヘルカルピッチ 41, 1.0 sec/rotation

スライス厚 0.3 mm で再構成した。

読影条件: Window Level 1000、Window Width 3000

3次元再構成は Realia Professional (サイバーネットシステム社) を用いて行った

#### 【方法】

遠心舌側根の出現頻度: 水平断面の画像を用いて遠心根が1根と2根に分岐している歯に分類した。統計分析は $\chi^2$ 検定を行った。

遠心舌側根の湾曲角度の測定: 遠心舌側根を有する下顎第一大臼歯をボリュームレンダリング法にて3D画像を作成し、遠心から近心方向に観察した画像を保存した。その画像を用いて Schneider による方法と Pruett による方法を用いて根管の湾曲角度と半径を測定した。

#### 【結果および考察】

遠心舌側根の出現頻度は男性(29.1%)、女性(29.4%)であった。男女間に統計的な有意差は認められなかった。平均角度は Schneider による方法では男性 36.0度、女性 38.3度、Pruett による方法では男性 3.7mm 49.9度、女性 2.4mm 48.3度であった。

遠心舌側根は特定の民族集団に多く出現する。本研究では男性、女性ともに約29%であり、高い出現頻度であった。この結果はモンゴロイド集団における以前の研究結果に一致している。根管湾曲では小さい角度と小さい半径を示した。この解剖学的変化はファイル破折や穿孔などの偶発症を引き起こす可能性がある。そのため、プレカーブの付与もしくは根管上部の拡大により湾曲している角度を小さくすることが重要であると考えられる。

## 愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科の初診紹介患者に関する実態調査 - 抜歯に至った要因の分析 -

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○江幡 香里、佐藤 渚、今泉 一郎、柴田 直樹、稲本 京子

### Survey on new patients referred to the endodontic clinic of Aichi Gakuin University Dental Hospital - Analysis of the reasons for tooth extraction -

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University  
○Kaori Ebata, Nagisa Sato, Ichiro Imaizumi, Naoki Shibata, Kyoko Inamoto

#### 【研究目的】

愛知学院大学歯学部附属病院は、臨床歯科医学の教育研究機関であるとともに、高次医療機関として東海地方で中心的役割を果たしている。そのため、外部の医療機関から専門的な診査や診断、あるいは治療の依頼も多く、歯内治療科にも多くの患者が紹介により来院している。我々は第143回、146回、149回本学会学術大会において、本学歯学部附属病院歯内治療科宛ての紹介状を持参して来院した初診患者（2014年4月1日～2017年3月31日）を対象に、各種の医療情報を調査し、初診紹介患者の実態について報告した。今回は、2017～2020年度を対象に行った実態調査の結果と、当科初診で抜歯と判断した症例の要因を分析した。なお本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認（承認番号：412、522）を得ている。

#### 【対象および方法】

2017年4月1日から2020年3月31日までの3年間で、愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科宛ての紹介状を持参し来院した患者1567名を対象とした。調査は、本院の診療録の記載内容に基づいて行い、初診時に抜歯と判断した症例の要因と、抜歯を判断するうえでの主要な診査方法を分析した。

#### 【結果】

初診紹介患者数は、3年間で1567名（2017年度：542名、2018年度：524名、2019年度：501名）であった。各年度とも男女比は約3：7の割合で女性患者が多く、年齢構成は、40歳代と50歳代で全体の約50%を占めた。

全1567名（1925歯）のうち、初診時に抜歯と判断した症例は157歯（約8.2%）であった。その要因は、歯根破折（破折の疑いも含む）：35.2%、穿孔：22.8%、縁下カリエス：12.3%、歯周病（重度歯周炎および歯内-歯周疾患）：13.6%、根管治療で対応不可（外部吸収、歯根嚢胞など）：12.3%、その他：3.7%であった。また、抜歯を判断するうえでの主要な診査方法として、口内法エックス線検査：55.0%、肉眼による視診：24.3%、歯科用実体顕微鏡や歯科用コーンビームCTによる精査：20.6%であった。

#### 【考察および結論】

初診時に抜歯と判断された症例が約8.2%と少なくなかった理由としては、紹介元歯科医院で保存不可能と判断されたものの、患者自身が保存を希望し、セカンドオピニオンを目的に紹介来院している症例が含まれていることも影響していると思われる。このような症例には、患者に専門的な立場から意見や判断を提供することで、スムーズに抜歯の同意を得ることができた。抜歯に至った要因として、歯根破折が25.9%、歯根破折の疑いが9.3%で、あわせて35.2%と多く認められた。歯根破折の診断は困難であるが、局所的な深在性歯周ポケットの存在、口内法エックス線画像の骨欠損の形態（暈状の透過像）、臨床症状等から歯根破折が示唆される症例もある。また、補綴装置を除去することで明確な破折線が確認できた症例も多く、これらは一般歯科医院でも対応可能であったと考えられる。一方、抜歯を判断するうえで歯科用実体顕微鏡や歯科用コーンビームCTなどの特殊機器を用いての精査は、高次医療機関として当科の果たす役割であると思われる。

現在、当科では紹介元歯科医院に初診時報告書を返信しているが、今後も具体的に詳細な診査結果などの情報を提供していくことが重要である。また、初診紹介患者に対する実態調査を継続し、地域医療機関とより円滑な病診連携の構築が求められる。

## ***Fusobacterium nucleatum* 感染モデルラットの全身への移行・感染経路の網羅的解析**

<sup>1</sup> 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  
神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔科学講座 <sup>2</sup> 口腔生化学分野, <sup>3</sup> 微生物感染学分野  
○<sup>1</sup> 原賀 裕, <sup>2</sup> 佐藤武則, <sup>3</sup> 渡辺清子, <sup>2</sup> 半田慶介, <sup>1</sup> 石井信之

### **Comprehensive analysis of systemic transfer and infection route of *Fusobacterium nucleatum* infection model rat**

<sup>1</sup> Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University  
Department of Oral Science, Division of <sup>2</sup> Oral Biochemistry, <sup>3</sup> Microbiology, Graduate School of Dentistry, Kanagawa  
Dental University

○<sup>1</sup> HARAGA Hiroshi, <sup>2</sup> SATOH Takenori, <sup>3</sup> WATANABE Kiyoko, <sup>2</sup> HANDA Keisuke, <sup>1</sup> TANI-ISHII Nobuyuki

#### **【諸言】**

大腸癌は、癌統計予測 (2018) において部位別癌罹患数予測で男女合計第 1 位, 死亡数予測で男女合計第 2 位と増加傾向にあり, 早期発見と予防対策が喫緊の課題とされている。 *Fusobacterium nucleatum* は口腔内常在菌の一種で歯周病や根尖病変の発症に関与することが報告され, 口腔内疾患による全身疾患への影響 (歯性病巣感染) が再燃している。特に *F. nucleatum* は大腸癌組織に移行感染していることが報告されたが, 未だ感染経路は不明である。そこで我々は, 根尖病変発症における偏性嫌気性菌の解析を行い, *F. nucleatum* が歯周病や根尖病変症状の進行に伴い分離頻度が高くなることを実験モデルで解析した。本研究は, 実験的感染モデルを作製し *F. nucleatum* の口腔内から大腸または全身への感染経路を明らかにし大腸癌の早期発見と予防に繋げることを目的とした。

#### **【材料と方法】**

本研究は, 神奈川歯科大学動物実験・組み換え DNA 管理委員会の承認を得て実施した (承認番号 19-037)。3 週齢の Wistar 系雌性ラットに対して全身麻酔後, 上顎右側第一臼歯をラウンドバーで穿孔させ生活歯髄切断を行う。歯髄腔内に *F. nucleatum* ATCC 25586 株と 5% カルボキシセメント (CMC) 混合溶液を接種させグラスアियोノマーセメントにて仮封した (Endo 群, n=9)。また, 同週齢 Wistar 系雌性ラット (n=9) に対しても *F. nucleatum* ATCC 25586 株と 5% CMC 混合溶液を口腔より接種させ Perio 群とした。それぞれ接種後 2, 4, 8 週後に深麻酔下で屠殺し, 顎骨ごと摘出, また実験試料となる心臓, 肝臓, 腎臓, 大腸, 血液をそれぞれ採取した。各試料より DNA 抽出後 *F. nucleatum* 特異的プライマーと 16S rRNA ユニバーサルプライマーを用いて PCR 解析, また Illumina Miseq によるシーケンシングを行い, 菌種を特定した。上顎骨はマイクロ CT で根尖病巣と辺縁性歯周炎の形成による骨欠損を確認後, 6 週間 EDTA 溶液を用いて脱灰, パラフィン切片作製後, ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色した。

#### **【結果】**

マイクロ CT による観察では, Endo 群の術後 4 週において顕著に上顎右側第一臼歯根尖周囲に骨欠損が観察され, 術後 8 週においてはさらに顕著な骨欠損が観察された。Perio 群においても術後 4, 8 週で特に左右下顎骨で顕著な水平性骨欠損が観察された。病理組織学的観察でも同週齢において炎症性細胞浸潤と骨欠損が確認された。採取した各サンプルから抽出した DNA をテンプレートとした PCR 解析において, control 群 (n=3) では *F. nucleatum* は全て陰性であったが, Endo 群において術後 2 週後の大腸抽出 DNA サンプルより *F. nucleatum* 陽性との結果を得た。また, 他の採取サンプルから抽出した DNA においてもさらに, Illumina Miseq によるシーケンシングを実施した結果から, 上記のほか Endo 群 8 週の腎臓, Perio 群術後 2 週目の心臓, 肝臓, 4, 8 週の肝臓においても *Fusobacterium* 属が検出された。なお, 施術前のラット口腔スワブから抽出した DNA サンプルからは全てにおいて *F. nucleatum* は検出されなかった。

#### **【考察】**

本研究において, control 群の口腔内および臓器内には *F. nucleatum* の定着は認められなかった。術後, *F. nucleatum* による実験的歯性病巣感染が惹起され, 歯槽骨破壊を伴う根尖性歯周炎と辺縁性歯周炎が観察された。またその炎症が局所に留まらず遠隔の臓器においても観察され, 血行性による起炎菌の移動が推察された。これらの結果は, Komiya ら (Gut 2019) が大腸癌患者の腫瘍組織と唾液に同一の *F. nucleatum* を検出し, 口腔内の *F. nucleatum* が大腸癌に関与することを示唆した成績に支持するもので, 大腸組織への血行性による歯性病巣感染起炎菌移動の可能性が示唆された。

## 3D プリンタを用いて製作した根管分岐や癒合根管を有する槓状根管模型

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座  
○関谷 美貴, 五十嵐 勝

### The C-shaped Root Canal Model Blocks with Ramification or Confluence Produced by 3D Printer

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

#### 【はじめに】

日本人において出現頻度が約 30%と高く、臨床で遭遇する機会が多い槓状根管は、根管口から根尖孔に至る形態の多様さにより、歯内療法の高難易度が高い歯種とされている。当講座では、ヒト抜去歯槓状根の三次元画像データをもとに、透明樹脂を用いて同一形態の単根管性槓状根管模型を製作し、槓状根管の拡大形成に対する器具の有用性や、拡大形成時の根管形態の様相について検討し、本学会にて報告を行ってきた。今回われわれは、槓状根管に対する緊密な根管充填法の評価のために、新たに根管分岐や癒合根管を有する槓状根管模型を製作したので報告する。

#### 【材料と方法】

10%中性ホルマリン水溶液中に保存されたヒト抜去歯から、齶蝕がなく槓状根管形態を有すると思われる歯を 11 本抽出した。抜去歯の使用に際しては、日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認 (NDU-T2015-33) を得た。歯を水洗乾燥した後、マイクロ CT (ELE-SCAN, 日鉄エレックス) を用いて断層撮影を行い、画像処理ソフト (TRI/3D-BON, ラトックシステムエンジニアリング) により三次元画像構築を行った。三次元画像を観察し、根管断面像が Fan ら<sup>1)</sup> の分類 C1~C3 を示す槓状根管歯を選択した。得られた三次元画像から根管形態を抽出した二値画像処理データを作成し、STL 形式データに変換した。なお、STL 形式データに変換する際、TIFF 形式データ上における歯質表面の突起ノイズやくぼみの補整を行った。補整した STL 形式データをもとに設計を行い、3D プリンタと造形用樹脂を用いてヒト抜去歯のセメント-エナメル境から根尖までの根管形態を再現した槓状根管模型を製作した。

#### 【結果とまとめ】

3D プリンタにより製作された槓状根管模型は、ヒト抜去歯の根管形態と比較して外観に大きな差異は認められず、ほぼ同形態であることを確認した。3D プリンタは造形用樹脂を 1 層ずつ積み上げて造形する積層造形方式であり、鋳型に樹脂を流し込む従来の根管模型製作法とは異なり、規格にとらわれず根管形態の自由度が高いだけでなく、短時間かつ 1 回の工程で複雑な立体形状の製作が可能である。今後、積層ピッチや積層造形後の表面処理等の検討を行い、さらに精度の高い根管模型の製作と、複雑な分岐根管を含めた緊密な根管充填法の評価の研究を効率よく進めていく予定である。

#### 【参考文献】

1) Fan B, Cheung GS, Fan M, Gutmann JL, Bian Z. C-shaped canal system in mandibular second molars: part I-anatomical features. J Endod 2004; 30: 899-903.

## マイクロスコープ実習におけるトレーニング方法による学修効果比較

<sup>1</sup>朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯内療法学

<sup>2</sup>朝日大学歯学部口腔病態医療学講座口腔病理学科学分野

○木方一貴<sup>1</sup>, 田中雅士<sup>1</sup>, 宮本侑果<sup>2</sup>, 赤堀裕樹<sup>1</sup>, 横川大輔<sup>1</sup>, 堺 ちなみ<sup>1</sup>, 長谷川智哉<sup>1</sup>, 河野 哲<sup>1</sup>

### Comparative education effect by training method in microscope training for clinical trainees

<sup>1</sup>Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,  
Asahi University School of Dentistry

<sup>2</sup>Department of Oral Pathology, Division of Oral Pathogenesis and Disease Control,  
Asahi University School of Dentistry.

○KIHO Kazuki<sup>1</sup>, TANAKA Masashi<sup>1</sup>, MIYAMOTO Yuka, AKAHORI Hiroki<sup>1</sup>, YOKOKAWA Daisuke<sup>1</sup>,  
SAKAI Chinami<sup>1</sup>, HASEGAWA Tomoya<sup>1</sup> and KAWANO Satoshi<sup>1</sup>

#### 【目的】

朝日大学歯学部では2018年度より保存科臨床実習中の5学年学生に対し、マイクロスコープを使用した体験実習(以下マイクロ実習)を実施しており、マイクロスコープを実際に使用しデモンストレーションやトレーニングを行うことにより、実習前後でマイクロスコープの焦点調整時間が有意に減少したものの、インストラクターほど効率的に焦点調整が行えなかった。そこで、2019年度のマイクロ実習ではグループ学修を導入し、さらなる学修効果の向上を図った。マイクロスコープの構造、使用方法をまとめた資料による事前学修を促し、実習開始時に少人数のグループによりマイクロスコープを用いて、使用方法のディスカッションおよびトレーニングを行った。その後インストラクターによるフィードバックおよびデモンストレーション後に再度グループトレーニングを実施したところ、実習開始時には焦点調整に中央値にて367秒を要していたが、実習後にはインストラクター計測値と同等の42秒まで短縮しており、グループ学修の有用性が確認されたことを報告してきた(第153回日本歯科保存学会学術大会)。

しかし、2020年にはCovid-19の世界的流行により様々な生活様式の変化を余儀なくされた。大学教育の現場でも講義や実習での対応が求められ、マイクロ実習においても多人数が集中するグループ学修を避ける必要が生じた。そこで2020年度のマイクロ実習では、これまで行っていたグループ学修を回避し、教員が指定した時間に個別で実習を行う形式に置き換えた。この実習方法の変化が学修効果に及ぼす影響を比較検討したので報告する。

#### 【方法】

マイクロ実習は5学年学生の保存科臨床実習生の希望者42名に対して実施した。実習の1週前にマイクロスコープの構造、使用方法をまとめた資料を配布し、事前学修を促した。実習開始時に、顎模型に装着した上顎左側第一小臼歯の模型歯の口蓋側根管口に最大倍率で焦点を合わせるまでの時間の計測を行った。その後、マイクロスコープ使用下にて配布資料を確認しながらセルフスタディを10分間行った。次に、インストラクターによるフィードバックおよびデモンストレーションを実施し、再度セルフトレーニングを行う時間を10分間設けた。実習終了時にも焦点調整時間を計測し、Mann-WhitneyのU検定を用いて有意水準5%( $p < 0.05$ )にて統計学的処理を実施した。

#### 【結果および考察】

焦点調整時間(秒)の中央値(25パーセンタイル, 75パーセンタイル)は、実習開始時が480.5(210.1, 1084.8)であったが、実習終了時は51.6(38.1, 89.7)であり有意に減少した。2019年度と2020年度の実習開始時の焦点調整時間は有意差を認めなかった。一方、2020年度のセルフトレーニング後の焦点調整時間は2019年度のグループトレーニング後の焦点調整時間と比較して有意に長かった。個人学修ではインストラクターからの情報のインプットのみであるのに対して、グループ学修では学生間での活発なコミュニケーションにより、インプットとアウトプットの両者が存在し知識の定着に繋がったことや、学生間での操作方法の相互確認が可能であったことが影響したと考える。本研究の結果では焦点調整時間において差を認めたが、これは個人学修が劣ると結論づけるものではなく、グループ学習を単純に個人学修に置き換えるだけでは、個人学修での効果が最大限得られないことを示唆しており、新しい生活様式のなかで対応できる学修方法のさらなる創意工夫が必要と考える。

## 各種逆根管充填材が血管内皮細胞の血管新生に及ぼす影響

福岡歯科大学口腔治療学講座 歯科保存学分野<sup>1</sup>, 福岡歯科大学口腔医学研究センター<sup>2</sup>,

○廣瀬陽菜<sup>1</sup>, 松崎英津子<sup>1,2</sup>, 松本和磨<sup>1</sup>, 水上正彦<sup>1</sup>, 牛尾悟志<sup>1</sup>,  
二階堂美咲<sup>1</sup>, 松本典祥<sup>1</sup>, 阿南 壽<sup>1</sup>

### Effects of root-end filling materials on endothelial tube formation

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Denatal College<sup>1</sup>,  
Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College<sup>2</sup>

○Haruna Hirose<sup>1</sup>, Etsuko Matsuzaki<sup>1,2</sup>, Kazuma Matsumoto<sup>1</sup>, Masahiko Minakami<sup>1</sup>, Satoshi Ushio<sup>1</sup>,  
Misaki Nikaido<sup>1</sup>, Noriyoshi Matsumoto<sup>1</sup>, Hisashi Anan<sup>1</sup>

#### 【目的】

外科的歯内療法の一つである歯根尖切除法においては、根管からの刺激を遮断する目的で、歯根切断面に窩洞形成と填塞を施す逆根管充填を行うことが多い。逆根管充填材料として、従来は金箔やアマルガムが用いられていたが、現在は、封鎖性や安定性に優れた強化型酸化亜鉛ユージオールセメント (EBA セメント)、接着性レジン、mineral trioxide aggregate (MTA) (本邦では歯髄創傷面のみ適応認可) などが用いられている。通常、根尖部の感染源が除去されると、骨窩洞内には骨芽細胞による骨形成が生じるが、その期間は大きな骨欠損であれば 1 年程度を要することもあるため、骨組織形成促進には、骨窩洞局所における担当細胞の賦活化や、骨形成を促進する逆根管充填材料の使用が重要であると考えられる。一方、創傷治癒の過程では、血管内皮細胞による血管新生が認められるが、近年、骨組織において血管内皮細胞が骨の成長と連動しており、骨の成熟と再生に深く関与することが明らかとなった。これまでに、逆根管充填材料が骨芽細胞の増殖に及ぼす影響についての報告はあるが、血管内皮細胞に及ぼす影響についての検討はほとんどない。

そこで今回、血管内皮細胞を用いて、種々の逆根管充填材料が血管新生に及ぼす影響について検討を行うこととした。

#### 【材料および方法】

実験には、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC: PromoCell, Germany) を使用した。逆根管充填材料として、EBA セメント (Super EBA Cement: Bosworth, USA)、MTA (ProRoot MTA: Dentsply, Swizerland)、MMA 系レジン (スーパーボンド: サンメディカル) の 3 種類を用いた。各材料は 0.1g 使用し、96 穴ウェル内で成形、37°C、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 24 時間保管し、硬化させた。その後、細胞培養メディウム (Endothelial Cell Basal Medium: PromoCell) を各ウェルに入れ、1 日または 7 日間静置し、20 倍希釈したものを試料メディウムとして使用した。次に、Endothelial Tube Formation Assay (Cell Biolabs, Inc., USA) を用いて血管新生を評価するため、96 穴ウェルに ECM ゲルを 20 μl 添加し、37°C、5% CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 30 分硬化させた後、HUVEC 細胞を 3×10<sup>4</sup> 個に調整し、各試料メディウムとともに同インキュベーター内で 18 時間培養した。血管形成はカルセイン染色を行い、蛍光顕微鏡 (BZ-X710: キーエンス) を用いて観察し、管腔形成数をカウントした。

#### 【結果】

3 種類の逆根管充填材料のうち、MTA では、1 日目のサンプルにおいて、コントロールと比較して HUVEC 細胞の管腔形成数が有意に増加し、7 日目ではコントロールと同程度であった。MMA 系レジンでは、1 日目、7 日目ともにコントロールと同程度の管腔形成数を認めた。一方、EBA セメントは、コントロールと比較して 1 日目、7 日目ともに管腔形成数は有意に少なかった。

#### 【考察】

これまでの報告では、逆根管充填材を用いた臨床的成功率はアマルガム 75%、Super EBA セメント 95%とされている。また、MTA はコンポジットレジンより治療成績が高く、MTA と Super EBA セメントとでは成功率に差はないとの報告もある。一方、骨芽細胞においては、MTA は、EBA セメントやアマルガムと比較して毒性が低いことが示されている。治療成績の向上には、材料の封鎖性が重要であることはいままでもないが、今回、MTA は血管内皮細胞の血管新生を増加させたことから、骨窩洞局所における担当細胞の賦活化の面において、骨形成を促進する補助的因子として作用する可能性が考えられた。

## ω-3 脂肪酸誘導体の抗炎症作用による歯髄保存の試み

岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野<sup>1</sup>, 岡山大学病院 歯周科<sup>2</sup>  
○米田光宏<sup>1</sup>, Zulema Rosalia Arias Martinez<sup>1</sup>, 中村心<sup>2</sup>, 岡本憲太郎<sup>2</sup>, 伊東昌洋<sup>2</sup>, 田村和也<sup>1</sup>  
井手口英隆<sup>1</sup>, 大森一弘<sup>2</sup>, 山城圭介<sup>2</sup>, 山本直史<sup>1</sup>, 高柴正悟<sup>1</sup>

### Preservation of dental pulp by anti-inflammatory action of ω-3 fatty acid derivative

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University and <sup>2</sup>Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital  
○YONEDA Mitsuhiro<sup>1</sup>, ZULEMA Rosalia Arias Martinez<sup>1</sup>, NAKAMURA Shin<sup>2</sup>, OKAMOTO Kentarou<sup>2</sup>,  
ITO Masahiro<sup>2</sup>, TAMURA Kazuya<sup>1</sup>, IDEGUCHI Hidetaka<sup>1</sup>, OMORI Kazuhiro<sup>2</sup>,  
YAMASHIRO Keisuke<sup>2</sup>, YAMAMOTO Tadashi<sup>1</sup>, TAKASHIBA Shogo<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

う蝕や外傷に起因して偶発的な露髄が発生した場合、歯髄や根尖周囲組織への感染・炎症の波及を防止するため、抜髄による根管治療や歯髄温存療法が行われる。特に近年、根管治療は術後の根尖性歯周炎の発症リスクや歯根破折のリスクなどが問題となることから、露髄面を歯髄自らが産生した硬組織で保護する歯髄温存療法の開発が行われている。現在は生体外由来の水酸化カルシウム製剤や mineral trioxide aggregate などが用いられているが、生体親和性や操作性などが課題となっている。

そこで、食品中の ω-3 脂肪酸から生合成される抗炎症性物質の一種である resolvin D2 (RvD2) に着目した。RvD2 は、ラットの根尖性歯周炎モデルにおいて、これまで報告されていた抗炎症作用やマクロファージ誘導に起因した抗菌作用だけでなく、根尖部の硬組織誘導による根尖閉鎖を引き起こす可能性が報告されている (Siddiqui YD, et al, *Front Immunol*, 2019)。さらに、RvD2 は血管新生促進作用 (Zhang MJ, et al, *Circulation*, 2016) や鎮痛作用を有する (Park CK, *J Neurosci*, 2011) ことが報告されている。

これらのことから、RvD2 が新規の歯髄温存療法材料として有用である可能性を考えた。そこで、RvD2 の歯髄温存療法における有効性を評価し、そのメカニズムを検討することを目的に、*in vitro* と *in vivo* で以下の研究を行った (動物実験計画書 No. OKU-2019575)。

#### 【材料および方法】

##### 1. ラットの断髄モデルを用いた RvD2 の有効性評価

8 週齢の Wister 系雄性ラットの上顎第一臼歯 (M1) を用いた。全身麻酔下で、臨床術式に準じて、髓腔開拓、歯冠部歯髄を除去し、根管口部で歯髄を切断した。切断面を生理食塩水で洗浄し、止血を確認後に、RvD2 (1, 10 ng/μL × 3 μL) を綿球に浸漬して投与した。対照として、リン酸緩衝生理食塩水と水酸化カルシウム製剤を用いた。α-TCP で裏装し、光重合レジンで修復した。4 週および 6 週後に上顎骨を採取して、コンピューター断層撮影 (CT) を用いて X 線学的解析を行った。さらに、組織標本を作製して、H-E 染色および免疫組織化学染色を行い、光学顕微鏡を用いて歯髄組織や形成された硬組織を観察した。

##### 2. 歯髄細胞に対する RvD2 の影響

ラットの下顎前歯を摘出して歯髄を採取した。α MEM 培地中で培養し、3~5 回継代して実験に用いた。培養細胞 (1 × 10<sup>5</sup> 個) に RvD2 (最終濃度 1, 10, 100 nM) を添加し、3 日ごとに培地を交換した。1, 3, そして 7 日後に mRNA を抽出し、cDNA へ逆転写後、real-time PCR で TGF-β1 と VEGF の遺伝子発現量を測定した。

#### 【結果と考察】

ラットの断髄モデルを用いた実験の結果、術後 4, 6 週で、RvD2 群および水酸化カルシウム製剤群で、CT 画像において断髄面での硬組織形成が顕著に観察された。根尖部歯槽骨の破壊像は、CT 画像および組織標本において、すべての実験群で明瞭ではなかった。RvD2 群では、免疫組織化学染色によって RvD2 の受容体とされる GPR18 (Chiang N, et al, *J Exp Med*, 2015) の発現が亢進していた。また、培養歯髄細胞に対して RvD2 を作用させると、概ね濃度依存的に TGF-β1 と VEGF の発現量が上昇する傾向があった。

これらの結果から、RvD2 は歯髄温存療法において硬組織形成を促進する可能性がある。この硬組織形成作用は、RvD2 が、血管新生の促進によって創傷治癒を促し、また修復象牙質形成を促進することによって起因する可能性がある。RvD2 は、生体刺激性が低く鎮痛作用を有する可能性があることから、新規の歯髄温存療法材料として期待できる。

#### 【結論】

本研究の結果から、RvD2 が歯髄温存療法において修復象牙質の形成を促進する可能性が示唆された。

## 新規接着性根管充填用シーラーの接着性評価

サンメディカル株式会社 第二研究開発部<sup>1</sup>, 日本大学松戸歯学部 保存修復学講座<sup>2</sup>

○大槻晴夏<sup>1</sup>, 奥田朝美<sup>1</sup>, 小里達也<sup>1</sup>, 山本隆司<sup>1</sup>, 岩井啓寿<sup>2</sup>, 寺中文子<sup>2</sup>, 山本憲廣<sup>2</sup>, 平山聡司<sup>2</sup>  
Evaluation of Bonding Property of Newly developed Adhesive Resinous Sealer for Root Canal

Sun Medical Co., Ltd. Research & Development Department Region. 2<sup>1</sup>

Department of Operative dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Haruka Otsuki<sup>1</sup>, Asami Okuda<sup>1</sup>, Tatsuya Ori<sup>1</sup>, Takashi Yamamoto<sup>1</sup>

Hiroto Iwai<sup>2</sup>, Ayako Teranaka<sup>2</sup>, Norihiro Yamamoto<sup>2</sup>, Satoshi Hirayama<sup>2</sup>

### 【研究目的】

根管治療の目的は、感染源となる炎症歯髄や感染根管象牙質を除去し、根管系を根管充填材により三次元的に緊密な封鎖によって歯を保存することにある。一般臨床では根管を可能な限り無菌化するために機械的拡大と共に化学洗浄剤が用いられ、その後、緊密な充填と二次感染を抑制する目的でガッタチャポイントと併用して根管充填用シーラーが使用されている。しかし、根管充填用シーラーの多くは歯質接着性が付与されておらず、歯質とガッタチャポイントの隙間を埋めるための材料と位置づけされているのが現状である。そのため長期経過症例では、根尖部からの漏洩による二次感染が生じ再根管治療を行わなければならない症例も少なくない。

一方、2013年から重合・硬化後も除去可能な粉液タイプの接着性レジン系根管充填用シーラーとして「マシール Soft」(サンメディカル, 以下 MSS) が臨床使用され8年が経過し、従来の根管充填用シーラーに代わる材料として、その臨床における有効性が明らかになっている<sup>1)</sup>。2020年7月、「マシール Soft」の基本組成とその生物学的安全性を継承し、操作性を向上させたペースタイプ接着性レジン系シーラー「マシール Soft ペースト」(サンメディカル, 以下 MSSP)が開発された。本研究では、MSSPの根管象牙質に対する接着封鎖性に及ぼす根管洗浄剤の影響を明らかにすべく、根管象牙質との接合界面のSEM観察を行った。また、根管充填材の所要性質として重要なエックス線不透過性についてもマシール Soft との比較検討を行った。

### 【材料及び方法】

本研究は、日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認を得て実施した(承認 EC 20-004号)。抜去後に生理食塩水中に保管したヒト単根管歯を使用し、歯冠部を歯頸部で切断後 K ファイル#15 にて穿通させて通法に従い#60 まで根管拡大を行った。拡大後、根管洗浄は①EDTA 水溶液にて2分間処理後に2.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液(以下 NaOCl) 2.5分間処理群、及び②2.5% NaOCl 2.5分間処理後に EDTA 水溶液2分間処理群の2条件にて行った。両群とも洗浄後に蒸留水で水洗し、ペーパーポイントで根管内部を乾燥した。次に MSS 付属のエントナルを用いて根管内部に MSSP を填入し、#60 マスターポイントによるシグナルポイント法にて根管充填を行った。この試料を37°C 湿潤下にて24時間保管した後に切片を作製し、6 mol/L 塩酸と1% NaOCl 水溶液を用いて表面処理を施し、走査型電子顕微鏡にて歯質界面の SEM 観察を行った。さらに、エックス線不透過性については「歯科材料の X 線造影性試験方法 JIS T 6006 (2018)」に順じて測定を行った。

### 【結果及び考察】

SEM 観察の結果から、いずれの根管洗浄条件においても接着界面では樹脂含浸層とレジソングの形成が認められ根管象牙質と MSSP は良好に接着していた。このことから MSSP は MSS と同様に NaOCl による重合阻害を受けないことが確認された。さらに、ガッタチャポイントと MSSP の接合部においても歯質同様、緊密に接合している像が観察された。エックス線不透過性については、アルミニウム相当 5.7mm のエックス線造影性を示した MSS と比較して、MSSP では同 10.7mm を示したことから約2倍の高いエックス線不透過性が認められた。

### 【結論】

新規ペースタイプ接着性根管充填用レジン系シーラー MSSP は、樹脂含浸層とレジソングの形成によって根管象牙質に接着し、ガッタチャポイントに対しても緊密に接合することが確認された。また、高いエックス線不透過性を有することから根管充填後のエックス線評価において、より鮮明な確認が可能となることが推察された。

1) 金子ら: マシール Soft を用いた根管充填後の臨床成績に関する後ろ向き研究; 日歯保存誌 62, 279-285, 2019.

## 試作根管充填用コンデンサーを用いた粉液比の異なるレジン系シーラーによる 新規根管充填法の検討

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座<sup>1</sup>, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門<sup>2</sup>

○高附 (平) 亜希子<sup>1</sup>, 清水 康平<sup>1,2</sup>, 安川 拓也<sup>1,2</sup>, 勝呂 尚<sup>1,2</sup>, 林 誠<sup>1,2</sup>, 武市 収<sup>1,2</sup>,

### Evaluation of novel root canal obturation techniques using prototype endodontic obturators with a resin-based sealer in various powder-to-liquid ratios

Department of Endodontics<sup>1</sup>, Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center<sup>2</sup>  
Nihon University School of Dentistry

○Akiko Takatsuki-Hira<sup>1</sup>, Kohei Shimizu<sup>1,2</sup>, Takuya Yasukawa<sup>1,2</sup>, Hisashi Suguro<sup>1,2</sup>,  
Makoto Hayashi<sup>1,2</sup>, Osamu Takeichi<sup>1,2</sup>,

#### 【研究目的】

根管充填法には側方加圧充填法, 垂直加圧充填法, continuous wave 法あるいは単一ポイント法など様々な方法があるが, それぞれの欠点を補い, より正確かつ経済的で簡便な方法を見出すために, 試作コンデンサーを用いて根管シーラー (MetaSEAL Soft) を根管内に充填する新規根管充填法に着目した。本研究の目的は, 試作コンデンサーのピッチ数, ピッチ角度および先端径を変更した際の, あるいは MetaSEAL Soft の粉液比を変更した際の根管充填性を検討することである。

#### 【材料および方法】

##### 1. 規格透明根管模型

規格単根透明根管模型 (ニッシン株式会社) を本実験に供した。根管形態は先端径 0.25mm, 07 テーパーで作業長を 18.5mm とし, 模型の根尖を 2mm 穿通させた。

##### 2. 試作コンデンサー

ピッチ数とピッチ角度をそれぞれ 12, 17, 22 および 5 度, 8 度, 11 度とし, 先端の太さを 0.15, 0.20, 0.25 および 0.30mm とした。これらの組み合わせを基に 0.02 テーパーの試作コンデンサー (株式会社マニー) を作製した。

##### 3. 実験方法

試作コンデンサーにシーラーを均一な厚みで塗布し, 回転数 500rpm で作業長-1.5mm の位置まで挿入したのち, 上下運動 (17mm) を 4 回繰り返した。

##### 4. 実験条件

はじめに, ピッチ数 17 でピッチ角度を 5 度, 8 度, 11 度と変更したもの, およびピッチ角度 11 度でピッチ数を 12, 17, 22 と変更したコンデンサーの根管充填性を検討した。その後, ピッチ数 22, ピッチ角度 11 度とし, 先端径のみ 0.15, 0.20, 0.25 および 0.30 mm と変更したコンデンサーの充填性も検索した。なお, 根管充填に使用した MetaSEAL Soft の粉液比は 1.3:1 とした。また, 粉液比を 1.0:1, 1.1:1, 1.2:1, 1.3:1, および 1.4:1 と変更したもの, および根管充填時のコンデンサーの操作時間 (コンデンサー挿入 1 または 2 秒, 静止 2 秒, 引き上げ 2 または 4 秒) を変更したのものについても, 同様に根管充填を行い, 根管充填性を検討した。試料数は各 6 個とした。

##### 5. 填塞性の評価

根管充填後, 根管模型を根尖側 1/3, 根管中央部, および根管上部 1/3 の位置で自動精密切断機 (Isomet, Buehler) を用いて切断した。切断面を実体顕微鏡 (×10) で観察し, スケールと共に写真撮影を行った。その後, 画像解析ソフト (SigmaScan Pro5, Hulinks) を用い, 切断面全体の充填前の面積と充填後の空洞部分の面積 (気泡面積) をピクセル数で計測したのち, それぞれの面積 (mm<sup>2</sup>) を算出した。

##### 6. 統計分析

各条件による填塞前の面積と填塞後の空洞の面積を Steel-Dwass test により比較検討した。

#### 【結果・考察】

コンデンサーのピッチ角度が大きくなるほど, またピッチ数が多くなるほど根尖側 1/3, 根管中央部, および根管上部 1/3 における充填時の気泡面積は減少した。コンデンサーの太さは 0.25mm の時, 粉液比は 1.3:1 とした時に最も気泡の面積は減少した。また, 根管充填時のコンデンサーの操作時間は, いずれの場合も優れた充填性を示した。

以上の結果から, MetaSEAL Soft の粉液比を 1.3:1 とし, ピッチ角度 11 度, ピッチ数 22 および先端径 0.25mm の形状のコンデンサーを用いて根管充填を行うと, 最も優れた充填性を示すことが示唆された。

## 多根歯の歯髄診査および診断法

鶴見大学歯学部口腔顎顔面放射線・画像診断学講座<sup>1)</sup>

鶴見大学歯学部附属病院総合歯科<sup>2)</sup>、鶴見大学短期大学部歯科衛生科<sup>3)</sup>  
○大蔵眞太郎<sup>1)</sup>、山口博康<sup>2)</sup>、野村高子<sup>2)</sup>、小林一行<sup>3)</sup>、市古敬史<sup>1)</sup>、小林馨<sup>1)</sup>

Responses of electric pulp testing and diagnosis in multi rooted teeth

Tsurumi University, School of Dental Medicine,  
Department of Oral and Maxillofacial Radiology and Diagnosis<sup>1)</sup>,  
Department of General Dentistry<sup>2)</sup>, Tsurumi Junior College, Department of Dental Hygiene<sup>3)</sup>.  
○Shintaro Okura<sup>1)</sup>, Hiroyasu Yamaguchi<sup>2)</sup>, Takako Nomura<sup>2)</sup>,  
Kazuyuki Kobayashi<sup>3)</sup>, Takashi Ichiko<sup>1)</sup>, and Kaoru Kobayashi<sup>1)</sup>

### 【研究目的】

臼歯部など多根歯の感染根管治療の際、X線所見で根尖部歯根膜腔拡大像を一部の根尖部に認めても、残りの根管に生活反応を認める場合がある。そのため、多根歯の感染根管の診査では各根で歯髄電気診が重要であると考えて今回の研究に至った。本研究では多根歯の診断方法について、歯髄電気診による歯髄の生活反応の有無、X線像における根管形態、歯髄腔の石灰化による狭窄、根尖部歯根膜腔拡大像の有無、周囲歯槽骨の骨硬化などに分けて比較、それぞれの条件における根管内および周囲の状態を検討する。そして、多根歯における感染根管治療の術前診査の一助となる特徴を明らかにする。

### 【対象と方法】

研究対象者は2011年3月から2014年10月までの期間に鶴見大学歯学部附属病院総合歯科2に来院し、根管治療を実施した臼歯部において、多根歯で生活および失活反応の両方を認める症例かつ研究ならびに画像の利用について同意を得た22症例(男性16名、女性6名)である。いずれの症例も検査項目は性別、年齢、歯冠修復の既往、打診、根尖部圧痛、自発痛、歯髄電気診、口内法X線検査である。生活反応については歯髄電気診Analytic vital Scanner (Sybron dental specialities/USA)で78value以上を失活反応とした。本研究は鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認を得ている(第1829号)。

### 【結果】

被験歯は上顎大白歯(n=14)下顎大白歯(n=7)上顎小白歯(n=1)であった。22症例60根管中、28生活歯根管、32失活歯根管であった。根尖透過像が認められたのは17根管、無しが5症例で、根尖透過像が有り生活反応があったのが4根管であった。症状としては打診痛(+)10、(-)12症例であった。根尖部圧痛(+)3、(-)19症例であった。自発痛は(+)3、(-)19症例であった。

### 【考察】

本研究より多根管である場合、特に歯髄に近接した覆髄がされた部位からの感染が考えられた。多根歯の場合、詳細な歯髄電気診を行わずに根管治療を行った場合、治療中に生活反応を示す場合があり、根管に切削刺激など加えた場合、著しい疼痛を伴う。また、途中から浸潤麻酔処置を行わなければならない、患者の不信感を与えてしまう可能性も考えられ、ラポール形成にも影響を与える可能性がある。近年、先制疼痛抑制の概念より、手術中の疼痛刺激は術後疼痛を及ぼし、難治性疼痛発症の原因になりうることも考えられるため、術中の疼痛刺激は避けることが望ましい。本症例における各根管への電気刺激による検査法は、各根のエナメル歯頸部に限局してプローブを接触させ検査する必要がある。また、唾液などの流入を避け、乾燥状態を保つ必要性がある。さらに金属修復物がある場合は本術式の応用が困難であり術式を改良する必要もあり、多根歯の生活歯髄反応診査として検討する予定である。

### 【結論】

多根歯の診査では根管ごとの歯髄電気診が必要である。

## 新規接着性根管充填用シーラーの細胞毒性

サンメディカル株式会社 第二研究開発部

○奥田朝美, 大槻晴夏, 山本裕也, 小里達也

### Cytotoxicity of a newly developed adhesive root canal sealer

Sun Medical Co., Ltd. Research&Development Department Region.2

○Asami Okuda, Haruka Otsuki, Yuya Yamamoto, Tatsuya Ori

#### 【研究目的】

臨床で使用されている歯科用根管充填用シーラーは古くから多用されている酸化亜鉛(非)ユージノール系シーラーを始めとし、エポキシ系やシリコン系などのレジン系シーラー、更に近年では Bioactive Glass を配合したバイオセラミックス系シーラーが開発されている。根管充填用シーラーの目的は無菌化された根管内を確実に封鎖し、二次感染を抑制することが最大の責務であると共に根尖歯周組織に繋がる根尖部に填入される材料であることから、生体に対する安全性がとりわけ重要視される。

一般的に歯冠部修復や支台築造等に用いられる材料には歯質接着性が付与されており、修復の際に切削された歯質を外來刺激や細菌から保護するために材料への接着性能は必要不可欠な要素となっている。しかし、根管充填用シーラーは非接着性の材料がその大部分を占めているのが現状であり、その要因の一つとしてレジンに対する為害作用への懸念が強く残っていることが考えられる。

2013年に発売を開始した粉液タイプの接着性レジン系シーラー「メタシール Soft(サンメディカル,以下 MSS)」は発売から約8年が経過し、5年間にわたる臨床評価において良好な成績であったことが報告されている<sup>1)</sup>。今回、MSSの基本組成を継承し、操作性を改善したペーストタイプの「メタシール Soft ペースト(以下 MSSP)」を開発し、その生物学的安全性を確認するべく細胞毒性試験を実施した。

#### 【材料および方法】

MSSおよびMSSPを10×10×1mmの孔の開いたテフロンモールドに充填し、ガラス板で挟み37℃湿潤下で24時間および1週間重合させて硬化体を作製した。また、各硬化体25枚を $\alpha$ -modified minimal essential medium( $\alpha$ -MEM),5%fetal bovine serum(FBS),0.05%カナマイシン硫酸塩および $8\times 10^{-3}$ %ピルビン酸からなる10mLの培地に投入し、37℃で24時間抽出した後に培地を用いて希釈し、試験培地を調製した。次にチャイニーズハムスター線維芽細胞株V79を24ウェルマイクロプレートに50cells/well播種し、37℃,5%CO<sub>2</sub>環境下で5時間培養した。培養後、細胞がウェルの底面に接着していることを確認してから培地を除き、各濃度の試験培地を各々のウェルに0.5mLずつ加え、37℃,5%CO<sub>2</sub>環境下で6日間培養した。培養終了後、100%メタノールで細胞を固定し、0.4%トリパンブルー溶液で染色してコロニー数をカウントした。

#### 【結果及び考察】

開発品MSSPの細胞毒性を評価することを目的とし、V79細胞を用いて細胞毒性試験(抽出法によるコロニー形成法)を実施した。被験物質を培地で抽出した抽出液について各種濃度で試験した結果、濃度依存的にコロニー形成を阻害した。また、MSSPの50%コロニー形成阻害濃度(IC50)は13.3%であり、比較対照として実施したMSSのIC50は12.9%であった。MSSPおよびの臨床における生体への為害作用もMSSと同等と推察された。

#### 【結論】

メタシール Soft ペーストの細胞毒性試験を評価した結果、その細胞毒性はメタシール Soft と同等であった。

1) 金子至, 内川宗敏, 松井力, 汲田剛, 三溝泰弘, 丸山慶四郎, 菅谷勉:メタシール Soft を用いた根管充填後の臨床成績に関する後ろ向き研究;日歯保存誌 62, 279-285, 2019.

## 接着性根管充填用シーラーを用いる再治療をシミュレートした 根管封鎖性についての評価

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野

○三浦滉毅, 星加知宏, 西谷佳浩

### Evaluation of sealing ability simulating retreatment with adhesive root canal sealer

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

○MIURA Koki, HOSHIKA Tomohiro, NISHITANI Yoshihiro

【研究目的】根管治療において根管充填材による緊密な封鎖は治療の予後に大きく左右する重要な因子である。複雑な形態を有する根管に対して、根管充填材の主要素であるガッタパーチャのみでは十分な封鎖は困難であり、根管充填用シーラーの存在が不可欠である。本邦ではこれまでいくつかの接着性根管充填用シーラーが臨床応用されており、その諸性質、臨床成績についても報告されている。2010年に公表された1年間の保険診療請求回数次全国集計では抜髄が600万件、感染根管治療が750万件であり、再根管治療の予後成績が48~85%などの報告があることから、臨床における再根管治療の頻度は極めて多く、再根管治療では初回の根管治療と比較した場合予後は悪いとされている。未治療根管の残存や不適切な根管拡大が根管治療結果に影響を及ぼすという報告は既に多くある。根管充填材の残存も予後不良の原因の一つとして考えられるが、このことに関する知見は少ない。そこで我々は根管内に残存する可能性のある根管充填用シーラーに着目した。本研究では、再根管治療の際に残存したシーラーが、新たに施したシーラーの封鎖性に及ぼす影響について、接着性根管充填用シーラーの一つであるメタシール Soft ペースト (サンメディカル) を用いて、象牙質及びシーラー間のせん断接着試験、色素漏洩試験を用い評価した。

【材料および方法】根管充填用シーラーとして、後述の実験のためメタシール Soft ペースト (SW) に赤色色素を添加した試作シーラー (SR) の2種類を実験に供した。被着象牙質は30週齢未満の新鮮ウシ抜去下顎前歯10本を用いた。ウシ前歯を歯冠部にて切断・エポキシ包埋後、前歯唇側面を#600耐水研磨紙にて切削した象牙質面を被着面とした。次亜塩素酸で洗浄した象牙質に対してモールドを設置し、モールド内に各シーラーを填入した後、相対湿度100%、37℃のインキュベーター内で72時間硬化させ、それぞれSW群、SR群とした。また、SW-SR間の接着強さの評価では円柱状のエポキシ樹脂を円形に切削した後、SWを填入・硬化後、#600耐水研磨紙で平坦面を出し、SRを象牙質試料と同様に築盛・硬化した。これをWR群とした。接着試料の一部をランダムに抽出して卓上小型万能試験機 (EZ-SX, SHIMADZU) を用いてせん断接着試験および実体顕微鏡による破断面の観察を行った。得られた結果は One Way ANOVA Tukey' s test を用いて有意水準5%にて統計処理を行った。

色素漏洩試験ではウシ下顎前歯20本の歯根に対し、卓上ボール盤 (PROXXON, キソパワーツール) と工具用ドリルにて歯髓腔を内径4mmに拡大形成し、実験に供した。形成した歯根を長さ10mmで切断し、一端をスーパーボンドティースカラ (サンメディカル) にて封鎖し、各シーラーを填入・硬化させた。SW-SR間の色素漏洩の評価では内径7mmの亚克力パイプを10mmで切断し、一端をスーパーボンドで封鎖し、SWを填入・硬化後、ドリルにて内径3mmに拡大し、SRを填入硬化した。試料表層を耐水研磨紙で切削後、1%メチレンブルー水溶液に24時間浸漬し、切断後色素浸透を実体顕微鏡で観察した。

【結果】せん断接着試験結果はSW群で $0.41 \pm 0.32$ MPa, SR群で $0.71 \pm 0.55$ MPa, SW-SR群で $2.18 \pm 0.33$ MPaであった。SW-SR間のせん断接着試験結果はシーラーと象牙質との接着群と比較し有意に高く、SW群とSR群では有意差は認められなかった。色素漏洩試験では、いずれの群も接着界面への色素の侵入は認めなかった。

【考察および結論】せん断接着試験および色素漏洩試験の結果より、今回の実験条件では色素添加によるシーラーの物性への影響は認めなかった。また、根管充填初期の条件では良好な封鎖を得られていることが示唆された。今後、長期保管試料や根管汚染試料などを用いたより臨床をシミュレートした条件下で比較検討を行う予定であり、本研究で用いた試作シーラーは従来のシーラーと視覚的に明瞭に区別でき、今後の研究においても有効性を示した。

### 顎関節症と咬合性外傷を伴う広汎型慢性歯周炎患者に対する包括的治療の一症例

1) 医療法人社団 内剛会 内田歯科医院 2) 川崎市歯科医師会 3) 鶴見大学歯学部歯周病学講座  
○内田 剛也<sup>1), 2), 3)</sup> 渡辺 寿邦<sup>1)</sup> 武笠 広伸<sup>1)</sup> 星野 淳一郎<sup>2)</sup> 掛川 文子<sup>2), 3)</sup>  
松島 友二<sup>3)</sup> 五味 一博<sup>3)</sup>

#### A case report of comprehensive treatment for generalized severe chronic periodontitis patient with temporomandibular disorders and occlusal trauma.

1)Uchida Dental Clinic 2)Kawasaki Dental Association  
3)Department of periodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine  
○Takeya Uchida<sup>1), 2), 3)</sup> Hisakuni Watanabe<sup>1)</sup> Hironobu Mukasa<sup>1)</sup> Junichirou Hoshino<sup>2)</sup>  
Ayako Kakegawa<sup>2), 3)</sup> Yuji Matushima<sup>3)</sup> Kazuhiro Gomi<sup>3)</sup>

【はじめに】右側顎関節症と右側第臼歯部に咬合性外傷を伴う広汎型重度慢性歯周炎に対し、包括的治療を行い良好な結果の得られた一症例の術後6.5年を報告する。

【初診】2011年11月30日 59歳 女性

右側上下大臼歯部動揺を主訴に来院

【診査・検査所見】PCR: 46.2%, BOP: 38.5%, 4mm以上の歯周ポケットの割合は48.8%, 6mm以上では13.5%であり, 17, 16, 46, 47は著大な歯槽骨吸収のため他院で予後不良のため抜歯の判定を受けた。右側顎関節には相反性クリックが存在した。

【診断】広汎型慢性歯周炎(重度), ステージⅢ グレードB

【治療計画】1)歯周基本治療, 2)再評価, 3)歯周組織再生療法, 4)意図的再植, 5)インプラント, 6)再評価,  
7)歯周補綴治療, 8)SPT

【治療経過】右側顎関節の復位性関節円板障害のために右側顎関節が負担するべき咬合力が右側大臼歯部に外傷性咬合として荷重負担となっていることから、顎関節治療と歯周基本治療を平衡して開始した。2012年4月より歯周外科、意図的再植、インプラントを行い、2013年11月より補綴治療した、その後2014年2月よりSPT開始した。

【考察・まとめ】右側顎関節症による右側大臼歯部の咬合性外傷を有する重度慢性歯周炎患者に対し包括的治療を行い良好な結果を得た。顎関節症が歯周病の進行に直接関連しているという報告はないが、顎関節症が原因で咬合の不調和を生じ、局所的な外傷性咬合を生じた結果、重度の歯周組織破壊に進行してしまう可能性は否定出来ないと感じた。

## ランダム化比較試験による rhFGF-2 製剤と脱タンパクウシ骨ミネラルを併用した歯周組織再生療法の効果の検討：術後 2 年の臨床成績

<sup>1</sup>東京歯科大学歯周病学講座, <sup>2</sup>東京歯科大学口腔科学研究センター

○青木栄人<sup>1,2</sup>, 勢島 典<sup>1</sup>, 吉川幸輝<sup>1</sup>, 吉田 航<sup>1</sup>, 今村健太郎<sup>1,2</sup>, 松上大亮<sup>1</sup>, 喜田大智<sup>1,2</sup>, 齋藤 淳<sup>1,2</sup>

### Clinical outcome of periodontal regenerative therapy using rhFGF-2 in combination with DBBM: 2-year follow-up of a randomized controlled trial

<sup>1</sup>Department of Periodontology, Tokyo Dental College, Tokyo, Japan, <sup>2</sup>Oral Health Science Center, Tokyo Dental College, Tokyo, Japan,

○Hidetoshi Aoki<sup>1,2</sup>, Fumi Seshima<sup>1</sup>, Kouki Yoshikawa<sup>1</sup>, Wataru Yoshida<sup>1</sup>, Kentaro Imamura<sup>1,2</sup>, Daisuke Matsugami<sup>1,2</sup>, Daichi Kita<sup>1,2</sup>, Atsushi Saito<sup>1,2</sup>

【目的】本研究の目的は、垂直性骨欠損に対して rhFGF-2 製剤単独と脱タンパクウシ骨ミネラル(DBBM)を併用した歯周組織再生療法を比較したランダム化比較試験の 2 年後の臨床成績を評価することである。

【材料と方法】東京歯科大学水道橋病院ならびに千葉歯科医療センターを受診した歯周炎患者のうち、歯周基本治療後に、深さ 3 mm 以上の垂直性骨欠損を有する者を対象とした。rhFGF-2 製剤+DBBM(実験群), rhFGF-2 製剤単独(対照群)をランダムに割り当てた。術後 2 年まで追跡可能であった 30 名 38 部位の歯周パラメーターとエックス線画像上での骨欠損改善率 (RBF)を解析し、口腔関連 QOL の評価を行なった。本研究は、本学倫理審査委員会の承認(No.747)を受け、インフォームドコンセントを得て行なった。

【結果と考察】実験群, 対照群あわせて 38 部位を解析対象とした。ベースライン時の臨床的アタッチメントレベル (CAL) は実験群で 7.7±1.7 mm, 対照群で 7.2±1.7 mm, 術後 2 年では実験群で 4.2±1.3, 対照群で 4.1±1.3 であった。また、プロービングポケット深さにおいても両群ともにベースライン時と比較して有意な改善が認められた。術後 2 年の CAL ゲインは実験群で 3.4±1.3 mm, 対照群で 3.1±1.5 mm であり、群間に有意差は認められなかった。RBF は実験群で 56%, 対照群で 41%であり、実験群で有意に高い値が認められた。術後 2 年における口腔関連 QOL は両群ともに基本治療終了後と比較して改善傾向を示したが、各タイムポイントにおける群間差は認められなかった。

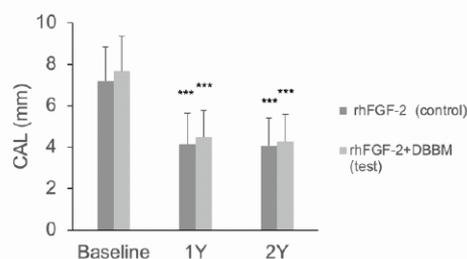


Fig. Change in clinical attachment level (CAL). Data shown as mean±standard deviation (error bars). \*\*\*p < 0.001, compared to baseline

【結論】垂直性骨欠損に対する rhFGF-2 製剤を用いた歯周組織再生療法では、DBBM 併用の有無に関わらず、CAL 改善程度は術後 2 年で同等であった。しかしながら、RBF は併用療法で有意に高い値を示した。rhFGF-2 製剤単独と DBBM を併用した歯周組織再生療法のどちらにおいても、少なくとも 2 年間は良好な臨床効果と口腔関連 QOL の改善が維持されることが示唆された。

(会員外研究者：東京歯科大学歯周病学講座 備前島崇浩, 佐藤正敬, 色川大輔, 北村友里恵, 富田幸代)

## 審美を希望して歯科医院に来院した患者における 歯周病パラメーターと PMTC 経験回数及び間隔日数の関連に関する解析

- 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<sup>1)</sup>、浅木隆夫<sup>1)</sup>、和泉雄一<sup>2)3)</sup>

### Analysis of the relationship between periodontal disease parameters and PMTC experience and interval days in patients who visited the dental clinic for aesthetics.

- 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 Nakahata<sup>1)</sup>, Takao Asaki<sup>1)</sup>, Yuichi Izumi<sup>2)3)</sup>

#### 【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、PMTC 関連メニューの経験回数及び間隔日数と、P.g 数や口腔内状況への影響を解析し、第 152 回日本歯科保存学会で発表を行った。今回は更に、歯周病菌 DNA 検査被験者が過去に受けた PMTC の回数・間隔日数が、唾液中 P.g 数、歯周ポケット深さ、唾液潜血の有無、スピロヘータの有無へ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 1,771 名を対象とした。これら被験者について、DNA 検査結果、各種口腔内検査結果、過去に受けたホワイトエッセンスメニューの内、PMTC 系メニューの経験回数 (以下、P 回数) 及び間隔日数平均 (P 間隔) を使用し、解析を行った。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。口腔内検査結果は、位相差顕微鏡で観察したブラーク内部のスピロヘータの有無 (以下、スピロヘータ)、最大プロービング深さ (以下、PD)、唾液中潜血の有無 (以下、唾液潜血) を解析に使用した。P 回数は、歯周病菌 DNA 検査の唾液採取日より前に、PMTC 系メニューを受けた回数を使用した。P 間隔は、PMTC 系メニューを受けた初回目から最終日までの日数を P 回数で割って算出したものを使用した。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、P0 回での P.g 数に比べ、P1 回以上での P.g 数の方が少ない傾向が見られた。唾液潜血が無い被験者の経験 P 回数は、唾液潜血がある被験者に対し、有意に多いことが示された。一方で、P 間隔については、唾液潜血の有無で有意な差が見られなかった。スピロヘータ陰性者は陽性者に比較し、有意に P 回数が多い結果となったが、P 間隔には有意な差は見られなかった。PD 3mm 以下の被験者の P 回数は、PD 4mm 以上の P 回数に比べ、有意に多いことが示されたが、P 間隔には有意な差は確認されなかった。

#### 【考察】

P 回数が多いほど、P.g 数が少ない傾向が見られたことから、歯科医院での PMTC 経験が多いほど、P.g 数の減少をもたらす可能性が考えられる。また唾液潜血、スピロヘータの有無、最大 PD が、P 経験回数に有意な変化を示したことから、歯科医院での PMTC 経験回数が多いほど、これらの口腔内パラメーターに好影響をもたらす可能性が示唆された。一方で PMTC の間隔日数は、唾液潜血、スピロヘータの有無、最大 PD に有意差をもたらさなかった。従って、PMTC を受ける間隔日数に比べ、PMTC を受ける回数の方がこれら口腔内パラメーターに影響を及ぼしやすい可能性が考えられる。

大豆ペプチドは *Porphyromonas gingivalis* および *Fusobacterium nucleatum* の  
バイオフィーム形成を阻害する

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野  
○Hnin Yu Lwin, 野中 由香莉, 松岸 葵, 多部田 康一

Soybean peptide inhibits biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*  
Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
○Hnin Yu Lwin, Yukari Nonaka, Aoi Matsugishi, Koichi Tabeta

【研究目的】

我々はこれまでにカチオン性を増強したコメ由来ペプチドのアミノ酸置換体が、歯周病原細菌に対して抗菌活性を示し、バイオフィーム形成を阻害することを明らかとしてきた (Matsugishi A, Arch Oral Biol, 2021)。本研究で着目する大豆由来ペプチド BCBS-11 もまた強いカチオン性を有し、*Candida albicans* などの口腔内細菌に対して抗菌活性を示すことが報告されている、食品由来の機能性ペプチドである (Taniguchi M, Biopolymers, 2017) 。本研究では、BCBS-11 が *Porphyromonas gingivalis* および *Fusobacterium nucleatum* のバイオフィームに及ぼす影響について解析した。

【材料および方法】

*P. gingivalis* FDC381 株および *F. nucleatum* ATCC25586 株 ( $2 \times 10^8$  CFU/ml) の培養液に、BCBS-11 ペプチド (RIRLLQRFNKR) を添加し、バイオフィーム形成阻害作用ならびに成熟バイオフィームに対する除去作用をクリスタルバイオレット染色にて解析した。

続いてその抗菌メカニズムを検討するため、 $1 \times 10^7$  CFU/ml の菌に対する BCBS-11 の最小発育阻止濃度 (MIC)、最小殺菌濃度 (MBC) を測定した。また、Live/Dead 染色にてペプチドの膜傷害性を評価した。

【結果と考察】

BCBS-11 は *P. gingivalis* および *F. nucleatum* のバイオフィーム形成を阻害した。

BCBS-11 の MIC および MBC は *P. gingivalis* と比較して *F. nucleatum* に対して低い値を示し、*F. nucleatum* をより強く殺菌的に抑制することが示された。

Live/Dead 染色の結果から、BCBS-11 は *F. nucleatum* に対し強い膜傷害作用を示した。BCBS-11 はカチオン性を有することから、静電的作用により菌膜を傷害し殺菌的に作用することが示唆された。

【結論】

BCBS-11 は、*P. gingivalis* および *F. nucleatum* のバイオフィーム形成阻害作用を示した。また、*F. nucleatum* に対して膜傷害能を有し、殺菌的に作用することが示唆された。

## 吸収性 P(LA/CL) 二層性メンブレンの GTR での有用性評価

株式会社ジーシー

○豊永 恭平, 坂口 祐亮, 有馬 恵美子, 山中 克之, 伏島歩登志

### Evaluation of physical properties of resorbable membrane assuming GTR application

GC Corporation

○Kyohei Toyonaga, Yusuke Sakaguchi, Emiko Arima, Katsuyuki Yamanaka, Futoshi Fusejima

#### 【目的】

我々は L-ラクチドと  $\epsilon$ -カプロラクトンから成る長期吸収性メンブレン(P(LA/CL) Bilayer Membrane、以下 PBM)を開発し、2020年5月に吸収性として国内初の GBR 適応での薬事認可を得て、同年8月にサイトランスエラシールドとして上市した。PBM はしなやかで骨の表面に沿わせやすく、細胞との親和性も高いことが報告されており<sup>1)</sup>、GTR に用いても使用感の良い材料として利用できるのではないかと考えた。本研究では PBM の GTR メンブレンとしての有用性を評価することを目的として糸裂き強度および同評価時の伸展の程度を評価した。

#### 【材料】

糸引き裂き強度試験：

被験試料は PBM、対照試料は市販コラーゲンメンブレン(CM1, CM2, CM3)、ジーシーメンブレン(PM)とした。各試料を幅 6mm、長さ 15mm に切り出し、長さ方向に 2mm 離れた箇所に縫合糸(ソフトレッチ 4-0、ジーシー)を通した。上端は縫合糸、下端は試料断端を 2mm 治具に挟むことで固定し、レオメーター (CR-500DX、サン科学) を用いて試験速度 20mm/min でけん引し、破断するまでの距離と引張荷重の経時変化を測定した。各試料は生理食塩水に濡らした Wet 条件と Dry 条件の 2通りの条件で測定した。

#### 【結果】

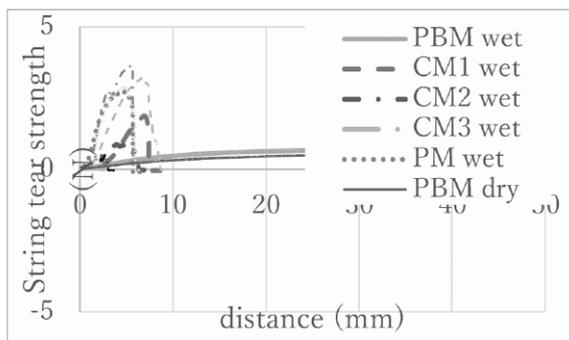


Fig 1. String tear strength test of membranes

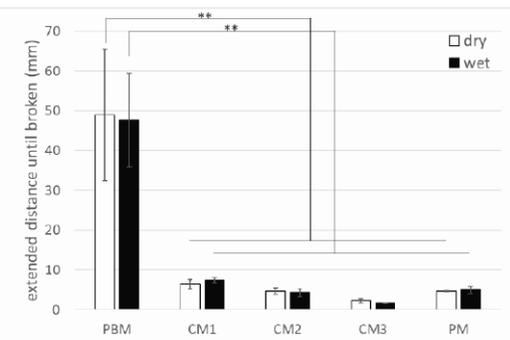


Fig 2. extended distance until broken

PBM は引張荷重が低い状態を維持したまま伸長し、コラーゲンメンブレンの約 8-20 倍伸長することが可能だった。コラーゲンメンブレンは Dry 条件と比較して、Wet 条件では引張荷重が低下する傾向があることが分かった。PBM および PM の評価では、Dry、Wet の条件によって結果に差異を認めなかった。

#### 【結論】

PBM はジーシーメンブレンやコラーゲンメンブレンと比較して伸張距離が有意に長く、破断しにくいことが確認された。また、PBM はコラーゲンメンブレンのように Wet 条件で破断しやすくなることもなく、Dry 条件と Wet 条件で操作性が変化しにくいことが示された。PBM はしなやかで欠損の表面に沿わせやすく、縫合時にも破断しづらい。加えて、血液浸透時も操作感が変わることなく使用可能であるため、GTR 用メンブレンとして有用であることが示唆された。

1) Abe GL et al., *Dent Mater.* 2020; **36**(5): 626-634.

## イオンジェルを用いた局所歯周治療法の開発研究

John A. Paulson School of Engineering and Applied Sciences, Harvard University<sup>1</sup>, 新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野<sup>2</sup>, 日本学術振興会 海外特別研究員<sup>3</sup>  
○中島麻由佳<sup>1,2,3</sup>, Samir Mitragotri<sup>1</sup>, 多部田康一<sup>2</sup>

### Topical Treatment of Periodontitis Using an Iongel

John A. Paulson School of Engineering and Applied Sciences, Harvard University<sup>1</sup>, Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences<sup>2</sup>, JSPS Overseas Research Fellowship<sup>3</sup>  
○Mayuka Nakajima<sup>1,2,3</sup>, Samir Mitragotri<sup>1</sup>, Koichi Tabeta<sup>2</sup>

#### 【研究背景および目的】

歯周病の原因となる細菌性プラークはバイオフィルムを形成し薬剤抵抗性を持つため、機械的除去が基本である。しかし、器具の到達性に限界があるのみならず、急速な高齢化の進行に伴い、全身状態の悪化等により侵襲を伴う機械的除去療法が適応困難な症例も今後増加することが予想される。薬剤を用いた非侵襲的な除去療法の有用性は高いが、繰り返し起こる再感染に対して、安全に継続的に使用可能であり、十分な歯周ポケット底部までの浸透能及び抗菌・バイオフィルム破壊作用を有する局所治療薬の開発には現在のところ至っていない。そこで今回、アメリカ食品医薬品局により GRAS グレードの食品添加物と認定されている材料から、高い浸透能及び抗菌作用を有する Iongel of a Deep Eutectic Antimicrobial (IDEA)を開発し、その歯周炎に対する効果の検証を行った。

#### 【材料および方法】

IDEA はイオン液体 CAGE<sub>12</sub> (1:2 choline: geranic acid)を 30% (v/v) water と混合し作成した。Wistar rat の歯肉表面に 10ul の IDEA を塗布した後、歯肉溝及び歯肉組織中における IDEA 構成成分の濃度を Liquid Chromatography/Mass Spectrometer (LC/MS) にて測定し、*In vivo* 浸透能の評価を行った。*In vitro* における *Porphyromonas gingivalis* に対する抗菌・抗バイオフィルム効果は、最小発育阻止濃度 (MIC) 及び最小殺菌濃度 (MBC) 測定、time-kill assay、クリスタルバイオレット染色、及び走査型電子顕微鏡 (SEM) イメージングにより評価を行った。歯牙結紮及び *P. gingivalis* 経口投与により誘導した実験的ラット歯周炎に対して、IDEA 局所塗布 (10ul、10 分間) を 1 日毎に行い、実体顕微鏡下にて歯槽骨吸収量の測定を行った。また、歯肉における炎症性サイトカインの遺伝子発現及び患歯周囲における *P. gingivalis* 特異的 16S rRNA 遺伝子の定量を Real-time PCR 法にて行った。

#### 【結果と考察】

IDEA は粘稠度が高く、歯肉表面への塗布及び保持が容易であった。*In vivo* 浸透試験及び *in vitro* 細菌学的試験の結果から、IDEA は短時間内 (<1 分) に歯肉溝及び歯肉深層部へ浸透し、同部位における濃度は塗布後 10 分以内に浮遊細菌及びバイオフィルムを破壊するのに十分な濃度 (4.8 µg/µl) へ達し、有効濃度は 20 分以上保持されることが明らかとなった。さらにラット歯周炎モデルにおいて、非治療群と比較して IDEA 治療群の患歯周囲の *P. gingivalis* 量が極めて少なかったことから、高い *in vivo* 抗菌効果が確認されると共に、IDEA 治療群では歯槽骨吸収量及び歯肉の炎症性サイトカインの発現が有意に低く、IDEA の局所治療により歯周炎の進行が有意に抑制されることが明らかとなった。

#### 【結論】

IDEA は操作性が高く、迅速かつ高い浸透能を有することが確認された。また、浸透した IDEA により歯周病原細菌が効果的に除去されることで、歯周炎の進行が有意に抑制されることが明らかとなった。以上の結果より、これまでの局所薬物配送療法 (LDDS) 及び、洗口剤等のセルフケアを含む、薬剤による細菌除去の限界を大きく改善し、新たな局所歯周治療薬としての IDEA の発展性が期待される。

本研究における、全ての動物実験は Institutional Animal Care and Use Committee of the Faculty of Arts and Sciences, Harvard University により承認されたプロトコール(19-06-356)に従って実施した。

## Hyaluronic Acid Could Enhance the Differentiation of Neural Crest-like Cells to Periodontal Ligament Stem Cells

<sup>1</sup>)Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, <sup>2</sup>)Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, <sup>3</sup>)OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University

○M Anas Alhasan<sup>1</sup>), Atsushi Tomokiyo<sup>2</sup>), Sayuri Hamano<sup>1)3</sup>), Daigaku Hasegawa<sup>2</sup>), Shinichiro Yoshida<sup>2</sup>), Hideki Sugii<sup>2</sup>), Tomohiro Itoyama<sup>1</sup>), Taiga Ono<sup>1</sup>), Keita Ipposhi<sup>1</sup>), Kozue Yamashita<sup>1</sup>), Hidefumi Maeda<sup>1)2</sup>)

**【Objective】** Tissue regeneration using induced pluripotent stem cells (iPSCs) is a promising field. We previously induced iPSCs into neural crest-like cells (iPSCs-NC) and then into periodontal ligament stem cells (PDLSCs) (iPSCs-PDLSCs). This process was very time-consuming, therefore we were trying to decrease the time to induce the differentiation of iPSCs-NC into iPSCs-PDLSCs. This study investigated the effect of hyaluronic acid (HA) on the differentiation of a neural crest-like cell line into PDLSCs.

**【Materials and Methods】** **1) Differentiation of a neural crest-like cell line into PDLSCs.** Human periodontal ligament (PDL) cells (HPDLCS-3U and -5L) were isolated from a third molar from a 22-year-old female and a second lower premolar from a 17-year-old female, respectively. They were seeded ( $1 \times 10^4$  cells) on 24 well plates and cultured until confluent. Then, the confluent cells were removed from the plates by 2% ethylenediaminetetraacetic acid (Dojindo, Japan) to leave PDL-derived extracellular matrix (PDL-ECM) on the plates. A neural crest-like cell line (SK-N-SH; RIKEN) was seeded ( $2 \times 10^4$  cells) on the plates coated with PDL-ECM. After 2 weeks of incubation, its PDL-related marker gene (*COL1*, *OPG*, *FBNI*, and *POSTN*) expression was investigated by real-time RT-PCR. **2) Microarray analysis of iPSCs-NC and iPSCs-PDLSCs.** The gene expression of iPSCs-NC and iPSCs-PDLSCs was compared by microarray analysis (SurePrint G3 Human GE; Cell Innovator). **3) Expression of CD44 protein and HA-related genes in iPSCs-NC and SK-N-SH after induction to PDLSCs.** The CD44 protein expression of iPSCs-NC, iPSCs-PDLSCs, SK-N-SH, and SK-N-SH-derived PDLSCs (SK-PDLSCs) was investigated by flowcytometric analysis. Additionally, their HA-related gene (*CD44*, *ACAN*, and *ITIH3*) expression was analyzed by real-time RT-PCR. **4) Differentiation of SK-N-SH into SK-PDLSCs in the presence of HA.** SK-N-SH was seeded on PDL-ECM with or without 0.3 mg/mL low molecular weight (MW) HA ( $8 \times 10^5$  Da; Kikkoman, Japan). After 2 weeks of incubation, its PDL-related gene expression was investigated by real-time RT-PCR. \*All procedures were performed in compliance with the requirements of the Research Ethics Committee at Kyushu University (Approval number: 27-76).

**【Results】** SK-N-SH significantly up-regulated PDL-related gene expression after the incubation on PDL-ECM as with iPSCs-NC. Microarray analysis demonstrated that the expression of *CD44* was 66.7 times higher in iPSCs-PDLSCs than that in iPSCs-NC. In addition, iPSCs-PDLSCs highly expressed other HA-related genes compared with iPSCs-NC. The expression of CD44 protein and HA-related genes were also up-regulated in SK-PDLSCs compared with SK-N-SH. Stimulation of SK-N-SH seeded on PDL-ECM with low MW HA resulted in the significant up-regulation of PDL-related genes as well as HA-related genes.

**【Discussion】** SK-N-SH, as well as iPSCs-NC, showed the potential to differentiate into PDLSCs when it was cultured on PDL-ECM, suggesting that SK-N-SH could be a substitute study model comparable to iPSCs-NC. Microarray analysis results suggest that HA signaling might play important roles in the differentiation of iPSCs-NC into iPSCs-PDLSCs. The up-regulation of PDL- and HA-related genes in SK-N-SH cultured on PDL-ECM with low MW HA suggests that low MW HA could be involved in the differentiation of SK-N-SH into SK-PDLSCs. Our results indicate that low MW HA may have the ability to enhance the differentiation of neural crest-like cells into PDLSCs. Taken together, low MW HA may become a promising factor for reducing the time required to induce the differentiation of iPSCs-NC into iPSCs-PDLSCs.

**【Conclusion】** Low MW HA promoted the differentiation of the SK-N-SH into SK-PDLSCs.

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

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

### The effect of nobiletin on inflammatory mediator production in IL-1 $\beta$ -stimulated human periodontal ligament cells

<sup>1)</sup>Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, <sup>2)</sup>Department of Oral Health Care Promotion, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences  
○ Yoshitaka Hosokawa<sup>1)</sup>, Ikuko Hosokawa<sup>1)</sup>, Kazumi Ozaki<sup>2)</sup>

#### 【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、matrix metalloproteinase (MMP)、接着分子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。

nobiletinはシークワーサーなどの柑橘類果皮に含まれる生理活性物質であり、抗酸化作用、抗癌作用、抗炎症作用など様々な生理活性作用がある事が報告されている。しかしながら、歯周組織構成細胞に対するnobiletinの作用については報告が少なく不明な点が多い。

本研究では、炎症性サイトカインの一つであるIL-1 $\beta$ がヒト歯根膜由来細胞(HPDLC)に誘導するサイトカイン、MMPならびに接着分子発現にnobiletinが影響を与えるか否かに関して検討を行った。また、nobiletin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を明らかにする事も目的とし、特にNF- $\kappa$ 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nobiletin存在下あるいは非存在下に24時間IL-1 $\beta$ 刺激を行い、サイトカイン(IL-6, IL-8, CCL2, CCL20, CXCL10)産生, MMP (MMP-1, MMP-3)産生をELISA法にて、接着分子 (ICAM-1, VCAM-1) 発現をwestern blot法で解析を行った。また、nobiletinで1時間前処理後に15分、30分あるいは1時間HPDLCをIL-1 $\beta$ で刺激し、その後タンパクを回収しwestern blot法を用いて細胞内シグナル伝達 (IKK- $\alpha/\beta$ , NF- $\kappa$ B p65, p38 MAPK, ERK, JNK, Akt) の活性化の解析を行った。

#### 【成績】

nobiletinはIL-1 $\beta$ がHPDLCに誘導したIL-6, IL-8, CCL2, CCL20, CXCL10, MMP-1, MMP-3産生およびICAM-1, VCAM-1発現を濃度依存的に抑制した。また、nobiletinはIL-1 $\beta$ が誘導したHPDLCのIKK- $\alpha/\beta$ , NF- $\kappa$ B p65, p38 MAPK, ERK, JNK, Aktのリン酸化を減弱させた。

#### 【考察および結論】

今回の結果より、nobiletinはHPDLCのNF- $\kappa$ B, p38 MAPK, ERK, JNKおよびAktのシグナル伝達経路を阻害することによって、IL-1 $\beta$ が誘導する様々な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nobiletinを歯周炎病変局所へ投与する事により、HPDLCの炎症性メディエーター産生を抑制し歯周炎病変局所での過剰な炎症反応を減弱させる可能性が考えられた。

パノラマエックス線画像から検討した頸動脈狭窄症と歯槽骨吸収の関連について

<sup>1</sup>松本歯科大学病院初診室 (総合診断科, 総合診療科), <sup>2</sup>松本歯科大学 歯科保存学講座  
○内田啓一<sup>1</sup>、出分菜々衣<sup>2</sup>、石岡康明<sup>2</sup>、岩崎由紀子<sup>1</sup>、喜多村洋幸<sup>1</sup>、高谷達夫<sup>1</sup>、森 啓<sup>1</sup>、吉成伸夫<sup>2</sup>

Relationship between carotid artery stenosis and alveolar bone resorption  
examined from panoramic images

<sup>1</sup>Department of Oral Diagnostics and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University  
Hospital, <sup>2</sup>Department of Operative Dentistry, Endodontology, and Periodontology,

School of Dentistry, Matsumoto Dental University

○Keiichi Uchida<sup>1</sup>, Nanae Dewake<sup>2</sup>, Yasuaki Ishioka<sup>2</sup>, Yukiko Iwasaki<sup>1</sup>, Hiroyuki Kitamura<sup>1</sup>,  
Tatsuo Takaya<sup>1</sup>, Hiroshi Mori<sup>1</sup> and Nobuo Yoshinari<sup>2</sup>

**【緒言】** 動脈硬化性病変はその多くは無症状に進行していき、突然発生すること多いことから、早期発見や予防が重要である。とくに歯科においては、頸動脈狭窄症とは頸部の頸動脈分岐部に石灰化像としてパノラマエックス線写真で診断することができる。この頸動脈石灰化像は心臓血管病変を診断するための指標となることや歯周病と心臓血管疾患、動脈硬化性病変との関連性についても評価できる可能性がある。また、全身疾患と歯周病との関連性については、多くの因子による解析研究が行われてきている。歯周治療を受けている患者においては、糖尿病、高血圧症、高脂血症などの動脈硬化性病変の既往歴が多くあり、動脈硬化との関連について医科への受診や精査を勧めることがある。そこで、我々はパノラマエックス線写真から頸動脈狭窄症と歯周病の歯槽骨吸収との関連について検討を行ったので症例を閲覧し報告する。(本研究は松本歯科大学 倫理委員会 承認番号 0311 にて承認を得て行った。また開示すべき COI はありません。)

**【検討方法】** パノラマエックス線写真から歯槽骨吸収率の検討

検討対象はパノラマエックス線検査と CT 検査を同時に行った男女 295 名 (男性: 167 名, 女性: 128 名) を対象に行った。パノラマエックス線写真を用いて現在歯数の検討と Schei らの方法で、全現在歯近遠心部の歯槽骨吸収率を測定しそれらの平均値を被験者の歯槽骨吸収率とした。

**【結果】** 頸動脈狭窄症は 121 名、頸動脈狭窄症なしは 174 名であった。とくに頸動脈狭窄症では歯槽骨吸収率が高い傾向を示し、さらに年齢が高く、高血圧症、糖尿病、高脂血症、骨粗鬆症などの既往歴があり、現在歯数が少なく傾向であった。

**【症例供覧】** **症例 1** : 患者は 53 歳の女性であり、歯肉腫脹と歯の動揺を主訴として本病院歯周病科へ来院した。高血圧症、糖尿病、高脂血症の既往があり投薬治療を行っている。受診時においては血圧 154/91mmHg、空腹時血糖 237mg/dL、HbA1c 8.6%、総コレステロール 235mg/dL、中性脂肪 278mg/dL を示していた。CT 検査では、両側内頸動脈部の石灰化を認め、パノラマエックス線画像からの歯槽骨吸収率 31.9% であった。**症例 2** : 患者は 68 歳の男性であり、歯の動揺と痛みを主訴として本病院歯周病科を来院した。56 歳時よりより高血圧を指摘され降圧薬を服用しており、現在血圧 138/80mmHg で管理されており経過観察中である。血液検査、検尿などでは異常を指摘されていない。CT 検査では両側内頸動脈部の石灰化を認め、パノラマエックス線画像からの歯槽骨吸収率 38.2% であった。このように歯槽骨吸収率が高い傾向を示し、高血圧症、糖尿病、高脂血症などの既往歴がある患者では歯槽骨吸収率が高い傾向を示した。

**【まとめ】** パノラマエックス線画像から歯槽骨吸収率を測定することにより、頸動脈狭窄症リスクが高い患者を特定するための簡便な測定法として活用できる可能性が示唆された。今後はさらに検討症例数を増やすとともに DICOM から直接的に歯槽骨吸収率を簡便に計測できる AI (Artificial Intelligence) 画像診断支援システムの構築検討と、糖尿病、高血圧症、高脂血症、加齢、喫煙などの様々な動脈硬化性病変の因子と歯槽骨吸収率との相関関係をより詳しく検討を行っていく予定である。

## HMGB1はM1マクロファージの分化を制御して歯周炎の進行に影響を及ぼす

岡山大学医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野<sup>1)</sup>, 岡山大学病院 歯周科<sup>2)</sup>  
○平井 杏奈<sup>1)</sup>, 井手口 英隆<sup>1)</sup>, 山城 圭介<sup>2)</sup>, Zhang Yao<sup>1)</sup>, 青柳 浩明<sup>1)</sup>, 山本 直史<sup>1)</sup>, 高柴 正悟<sup>1)</sup>

### HMGB1 Promotes Progression of Periodontitis by Regulating Macrophage Polarization

○Anna Hirai<sup>1)</sup>, Hidetaka Ideguchi<sup>1)</sup>, Keisuke Yamashiro<sup>2)</sup>, Zhang Yao<sup>1)</sup>, Hiroaki Aoyagi<sup>1)</sup>,  
Tadashi Yamamoto<sup>1)</sup>, Shogo Takashiba<sup>1)</sup>

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

<sup>2)</sup> Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital

以下の実験は、岡山大学動物実験管理委員会の指針に従って、同委員会の承認（OKU-2019364）を得て行った実験である。

#### 【目的】

High Mobility Group Box 1 (HMGB1) は真核生物に存在する非ヒストン性タンパク質であり、組織の損傷や壊死によって細胞外へ放出されて、炎症性サイトカインの発現を増強する炎症性メディエーターとなる。我々はこれまでに、HMGB1 中和抗体をマウスの腹腔内に投与することで、歯周組織の炎症が減弱するだけでなく、歯槽骨の吸収も抑制されることを明らかにした (Yoshihara C. et al., *Infect Immun.*, 2018)。

本研究では、歯周炎の進行における HMGB1 のより詳細な役割を明らかにすることを目的として、HMGB1 が歯周炎組織における炎症性免疫細胞であるマクロファージ (M $\phi$ ) の分化と局在に及ぼす影響を調べた。

#### 【材料と方法】

**In vitro** : 野生型マウス (9 週齢, 雄) の脛骨から採取した骨髄細胞の培養系に granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (100 ng/mL) を添加して、骨髄由来の M $\phi$  を分化誘導した。その後、lipopolysaccharide (*Escherichia coli*, 10 ng/mL), rhHMGB1 (10  $\mu$ g/mL), または HMGB1 中和抗体 (10 ng/mL) を添加して M $\phi$  を刺激した。刺激から 12 時間後に M $\phi$  を回収して、フローサイトメトリー法によって各群における M1 M $\phi$  (細胞表面陽性マーカー: CD45, F4/80, CD80) の割合を解析した。

**In vivo** : 野生型マウス (9 週齢, 雄), M $\phi$  特異的 HMGB1 ノックアウトマウス, または HMGB1 中和抗体を腹腔内投与 (25  $\mu$ g/mouse) した野生型マウスの 3 群を用いて、上顎左側第二大臼歯に 5-0 絹糸を 3 日間結紮した歯周炎モデルを作製した。そして、以下の解析を行った。まず、全身における HMGB1 の影響を調べるために、①腹腔内洗浄液中の M1 M $\phi$  の数と割合をフローサイトメトリー法にて解析した。次に、歯周炎組織における HMGB1 の影響を調べるために、②骨標本を用いた歯槽骨吸収度、③リアルタイム RT-PCR 法を用いた *IL-6* と *CXCL2* の発現比、④フローサイトメトリー法を用いた M1 M $\phi$  の数と割合を調べ、さらに免疫染色法にて歯肉組織中の M1 M $\phi$  (細胞表面マーカー: F4/80, CD80) の局在と数を解析した。

#### 【結果と考察】

**In vitro** : HMGB1 は M $\phi$  の M1 フェノタイプへの分化を促進した。

**In vivo** : 野生型マウスと比較して、M $\phi$  特異的 HMGB1 ノックアウトマウスと HMGB1 中和抗体投与マウスで以下の所見を得た。

- ① 腹腔内洗浄液中の M1 M $\phi$  の数と割合は有意に減少した
- ② 歯周炎の進行による歯槽骨の吸収は有意に抑制された
- ③ 歯周炎組織内の *IL-6* と *CXCL2* の発現比は有意に低下した

④ 歯周炎組織内の M1 M $\phi$  の数と割合は有意に減少し、M1 M $\phi$  は上皮下から骨膜までの間に局在し数も減少した以上の結果から、HMGB1 は歯周炎組織において M1 M $\phi$  が優位となる環境へと変化させることで、炎症性のサイトカインやケモカインの発現量を増幅し、歯槽骨の吸収を促進する環境の構築に関与していると考えられる。

#### 【結論】

High Mobility Group Box 1 は歯周炎組織におけるマクロファージの分化を制御して歯周炎の進行に影響を及ぼす。

## う蝕原性細菌 *Streptococcus mutans* のバクテリオシンに対する 新規耐性因子の同定

広島大学 大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室  
○貞岡 直樹、武田 克浩、柴 秀樹

### Identification of a novel resistant factor against bacteriocin in *Streptococcus mutans*

Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University  
○Naoki Sadaoka, Katsuhiko Takeda, Hideki Shiba

#### 【目的】

う蝕原性細菌である *Streptococcus mutans* は口腔内常在細菌である。口腔内で *S. mutans* は、飲食に伴う温度や浸透圧の変化に加え、生体や口腔常在細菌由来の抗菌物質等に適応し生存している。近年、口腔常在細菌叢は個体差があり、この個体差は生活環境などに起因することが示唆されているが、詳細は明らかではない。口腔細菌叢を構成する細菌はレンサ球菌属が優位である。口腔レンサ球菌は抗菌性因子であるバクテリオシンを産生することが知られていることから、細菌叢の多様性を規定する因子の1つとして、バクテリオシンの可能性が考えられる。*S. mutans* は複数のバクテリオシン産生すること、他菌種のバクテリオシンに耐性を有することが報告されているが、その全容は明らかでない。*S. mutans* はデンタルプラーク形成に重要であることから、*S. mutans* のバクテリオシンはデンタルプラークの構成細菌に影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで、本研究では *S. mutans* のバクテリオシン耐性機構を解明するため、*S. mutans* バクテリオシンの1つである Mutacin K8 産生株のバクテリオシン耐性因子について検証した。

#### 【研究方法】

*S. mutans* mutacin K8 遺伝子保有株 (K8+) 5 株と保有しない株 (K8-) 5 株について、ゲノム解析を行い、mutacin K8 関連遺伝子領域の比較を行った。Mutacin K8 関連遺伝子領域に存在する自己耐性遺伝子と予想される ABC トランスポーターである *scnFEG* について、K8+株である KSM182 および KSM87 と K8-株である UA159 株を用いて、ダブルクロスオーバー法による薬剤耐性遺伝子置換により、遺伝子欠損株を作製した。得られた変異株を用いて、種々のバクテリオシンの感受性を、Direct 法を用いて調べた。

#### 【結果】

K8+株と K8-株の mutacin K8 関連遺伝子領域を比較した結果、K8+、K8-株ともに、自己耐性遺伝子 (*scnFEG*) とその近傍に存在する転写調節性因子である二成分制御系因子 (TCS11) をコードする遺伝子を認めたが、K8-株では、mutacin K8 産生に関与する一連の遺伝子群は認めなかった。K8+株である KSM182、KSM87 と K8-株である UA159 において *scnFEG* の欠損株について、種々のバクテリオシンに対する感受性を検討した結果、口腔からも分離されることがあるブドウ球菌が産生する nukacin に対して、KSM182 および KSM87 の *scnFEG* 欠損株で、野生株に比較し感受性が増加した。しかし、UA159 株の *scnFEG* 変異株では感受性の変化は認められなかった。

#### 【考察】

今回、K8+株と K8-株について mutacin K8 関連遺伝子群の比較を行った結果、自己耐性遺伝子 (*scnFEG*) と制御系因子である二成分制御系 (TCS11) は両株で保存され、mutacin K8 産生に関与する一連の遺伝子群が K8-株では消失していることが明らかとなった。*S. mutans* においては、TCS がバクテリオシン耐性に関与していることが報告されていることから、TCS11 が *scnFEG* の発現調節に関与している可能性が示唆された。バクテリオシン感受性試験の結果から、mutacin K8 自己耐性因子と考えられる *ScnFEG* は、nukacin に対して耐性を獲得できることが明らかとなった。*S. mutans* の nukacin 耐性については、K8-株である UA159 において、ABC トランスポーター (*LctFEG*) の関与が報告されている。今回の実験結果から、nukacin 耐性に関与する新規の因子として、*ScnFEG* ABC トランスポーターがあることが判明した。今後は *ScnFEG* の近隣領域に存在する TCS11 の *ScnFEG* に対する制御について検証することで耐性メカニズムの解明を行う予定である。(会員外共同研究者：広島大学大学院医系科学研究科 細菌学教室 松尾美樹、小松澤均)

$\beta$ -クリプトキサンチンがヒト口腔粘膜由来上皮細胞に及ぼす影響

京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学<sup>1)</sup>

京都府立医科大学大学院医学研究科免疫学<sup>2)</sup>

○山本健太<sup>1,2)</sup>、岸本紗季<sup>1,2)</sup>、山野辺広中<sup>1,2)</sup>、大迫文重<sup>1)</sup>、山本俊郎<sup>1)</sup>、金村成智<sup>1)</sup>

Effects of  $\beta$ -cryptoxanthin on human oral mucosa derived keratinocytes

Department of Dental Medicine<sup>1)</sup> and Immunology<sup>2)</sup>,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

○ Kenta Yamamoto<sup>1,2)</sup>, Saki Kishimoto<sup>1,2)</sup>, Hironaka Yamanobe<sup>1,2)</sup>, Fumishige Oseko<sup>1)</sup>,  
Toshiro Yamamoto<sup>1)</sup>, and Narisato Kanamura<sup>1)</sup>

【緒言】

口腔粘膜炎は、化学療法に伴う代表的な副作用の1つであり、口腔内の疼痛、嚥下痛を引き起こすことで、患者の栄養状態の低下、会話困難などの影響を与え、患者のQOLを著しく低下させる。口腔粘膜炎の発症には多くの因子が関与しており、詳細なメカニズムは未だ不明な部分もあるが、現在のところ化学療法剤による直接的な細胞障害に加え、化学療法剤により惹起される活性酸素(ROS)による障害や炎症性サイトカインによる口腔内局所の炎症などが主な原因として報告されている。

$\beta$ -cryptoxanthin ( $\beta$ -cry) は温州みかんに多く含有されるカロテノイドであり、これまでに抗酸化・抗炎症作用などが報告されており、我々のグループでも歯根膜細胞や歯肉線維芽細胞に対して抗炎症効果を示すことを報告してきた。しかしながら $\beta$ -cryの口腔粘膜炎に対する効果は未だ不明である。

そこで本研究では、頭頸部領域の化学療法によく用いられる5-fluorouracil (5-FU) で口腔粘膜由来上皮細胞を刺激するとともに、 $\beta$ -cryを添加し、その効果について検討した。

【材料および方法】

口腔粘膜由来正常上皮細胞(以下hOMK, Cell Research Corp)を、実験に応じて各種plateに播種し、5-FUならびに $\beta$ -cryの添加を行った。その後hOMKの細胞カウント、Real-time RT-PCRによる炎症性サイトカイン、MMPsの発現解析、ELISAによる炎症性サイトカイン産生の解析、蛍光比色試験でのReactive oxygen species(ROS)活性解析ならびにNF- $\kappa$ Bシグナル解析を行った。さらに、5-FUに加えて*Porphyromonas gingivalis* LPS (*P. g.* LPS)で刺激した場合での炎症性サイトカイン産生の解析も行った。

【結果】

5-FU刺激群では、control群に比べhOMK細胞数の有意な減少を認めた、また $\beta$ -cry添加群ではcontrol群に比べ有意な増大を認めた。

5-FU刺激群では、control群に比べIL-6、IL-8、MMP-2、MMP-9 mRNA発現量とIL-6、IL-8産生量の有意な増大を認めたが、 $\beta$ -cry添加群および5-FU+ $\beta$ -cry群では、control群に比べこれらの有意な増大は認めなかった。またIL-8、MMP-2 mRNA発現、IL-8産生においては、5-FU+ $\beta$ -cry群では5-FU単独刺激群と比べて有意な減少を認めた。

5-FU刺激群および5-FU+ $\beta$ -cry群では、control群に比べROS産生量の有意な増大を認めたが、5-FU+ $\beta$ -cry群での産生量は5-FU単独刺激群に比べ有意に低かった。また5-FU刺激群では、control群に比べ核内NF- $\kappa$ B量は有意に増大した。5-FU+*P. g.* LPS共刺激群では、5-FU単独刺激群に比べIL-6、IL-8産生量が有意に増大したが、 $\beta$ -cryの添加によりIL-6産生は有意に減少した。

【考察】

$\beta$ -cry添加により5-FUによって口腔粘膜上皮細胞に誘発される炎症性サイトカイン、MMPsやROSの増大が抑制されることが判明するとともに、 $\beta$ -cryには上皮細胞の細胞増殖を増大させる作用があることが判明した。また*P. g.* LPSの存在下では5-FUによる炎症性サイトカイン産生が増大することも判明した。本研究より、 $\beta$ -cryには化学療法によって引き起こされる口腔粘膜炎の症状を緩和させる可能性が示唆されるとともに、口腔ケアとの併用が効果的である可能性が考えられた。

下顎第二大臼歯埋伏症例の臨床的検討

<sup>1</sup>松本歯科大学病院初診室 (総合診断科, 総合診療科), <sup>2</sup>松本歯科大学院歯学独立研究科  
硬組織疾患制御再建学講座, <sup>3</sup>松本歯科大学 歯科保存学講座  
○岩崎由紀子<sup>1</sup>、内田啓一<sup>1,2</sup>、金子圭子<sup>1</sup>、岩崎拓也<sup>3</sup>、喜多村洋幸<sup>1</sup>、高谷達夫<sup>1</sup>、出分菜々衣<sup>3</sup>  
吉成伸夫<sup>3</sup>、森 啓<sup>1</sup>

Clinical study of mandibular second molar impacted cases

<sup>1</sup>Department of Oral Diagnostics and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University  
Hospital, <sup>2</sup>Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine, Matsumoto  
Dental University, <sup>3</sup>Department of Operative Dentistry, Endodontology, and Periodontology,  
School of Dentistry, Matsumoto Dental University

○Yukiko Iwasaki<sup>1</sup>, Keiichi Uchida<sup>1,2</sup>, Keiko Kaneko<sup>1</sup>, Takuya Iwasaki<sup>3</sup>, Hiroyuki Kitamura<sup>1</sup>,  
Tatsuo Takaya<sup>1</sup>, Nanae Dewake<sup>3</sup>, Nobuo Yoshinari<sup>3</sup> and Hiroshi Mori<sup>1</sup>

**【緒言】**埋伏歯とは、正常な萌出時期を過ぎても萌出せず顎骨内に留まっている歯のことであり、その発生頻度は永久歯ではとくに下顎第三大臼歯と上顎犬歯でその頻度が高いとされている。しかしながら、下顎第一、第二大臼歯の埋伏は稀であると報告されている。今回われわれは、下顎第二大臼歯が埋伏した2症例を経験したので、臨床的検討を加えてその概要を報告する。

**【症例】**症例1：患者は25歳、女性であり、前歯部叢生と開口の矯正治療のため紹介にて来院した。本学受診時のパノラマエックス線写真では、上顎両側第三大臼歯、下顎両側第三大臼歯の半埋伏と完全埋伏を認め、さらに下顎両側第三大臼歯と重積するように下顎両側第二大臼歯の完全埋伏を認めた。処置および経過：全身麻酔下に上下顎両側第三大臼歯の抜歯を行い、その後、矯正治療を本学の矯正歯科にて開始したが、下顎左側第二大臼歯の牽引が困難であるため下顎左側第二大臼歯を抜歯した。下顎右側第二大臼歯は整直し、全顎的な矯正治療は現在も継続されている。

症例2：患者は16歳、男性であり、下顎左側第二大臼歯の萌出遅延と下顎右側第三大臼歯部の歯肉の違和感を主訴として来院した。既往歴として軽度の精神遅滞を認める。受診時のパノラマエックス線写真では、下顎右側第三大臼歯は下顎右側第二大臼歯の遠心側に近接するように埋伏していた。下顎左側第三大臼歯は逆性埋伏を示し、下顎左側第二大臼歯は、歯軸を頬舌側方向に向けて水平完全埋伏していた。処置および経過：下顎左側第二大臼歯の自然萌出は困難であると判断した。患者の要望により、総合病院歯科口腔外科で全身麻酔下にて下顎両側第三大臼歯と下顎左側第二大臼歯の抜歯術が施行された。その後、本学にて定期検診を継続している。

**【考察・まとめ】**一般的に埋伏歯とは、正常な萌出時期を過ぎても歯冠が萌出せず粘膜下や顎骨内に留まっている状態をいう。その原因としては、全身的因子と局所的因子に大別され、全身的因子としては、鎖骨頭蓋異骨症、くる病、ダウン症候群などがあり、局所的因子としては、乳歯の晩期残存、早期喪失、隣接歯の位置異常・形態異常、骨性癒着、歯槽骨や口腔粘膜の肥厚などがある。自験症例1においては、全身既往歴において全身的因子を示唆する特記事項は認められず、とくに画像所見から隣接歯の位置異常による局所的因子が考えられた。自験症例2においては、軽度の精神遅滞を認めるものの、くる病、ダウン症候群などの全身的因子には該当しないため、局所的因子の可能性が考えられた。下顎第二大臼歯の埋伏の頻度は、本邦では沖津らの1986年～1991年までの検討では埋伏歯および埋伏過剰歯を認めた1591名のうち、14名(0.88%)に第二大臼歯の埋伏を認め、さらには両側下顎第二大臼歯の埋伏は5名(0.31%)であったと報告しており、大守らは、1986年～1996年の10年間に矯正科を受診した2235名の検討では、永久歯の埋伏を認めた207名を検討したが、下顎第二大臼歯の埋伏は認めなかったと報告している。その発生頻度は低いと報告していたが近年ではやや増加傾向にあり、今回我々が2000年以降の本邦における報告例を検索した結果では、2000年以降では自験例を含め29症例が報告され、下顎第二大臼歯の埋伏は増加傾向にあると推測された。治療法としては、下顎第二、第三大臼歯の抜歯を行う外科的処置が多く行われていたが、近年では、第二大臼歯または第三大臼歯を抜歯し、残存した歯を開窓・牽引・整直する外科的処置と矯正治療の両方を行う症例が多数報告されている。

参考文献：沖津光久ら：日口診誌 1992；2：344-354。大守恭子ら：日矯歯誌 1997；56：185-192。

## 大豆発酵食品テンペに含まれる抗菌性物質の単離と同定

<sup>1</sup>岡山大学病院 歯周科, <sup>2</sup>岡山大学病院 新医療研究開発センター, <sup>3</sup>池田食研株式会社, <sup>4</sup>岡山大学大学院自然科学研究支援センター  
分析計測・極低温部門分析計測分野, <sup>5</sup>岡山大学大学院自然科学研究科(理学系)物質化学大講座分析化学研究室,  
<sup>6</sup>岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野

○伊東昌洋<sup>1</sup>, 伊東孝<sup>2</sup>, 中村心<sup>1</sup>, 青木秀之<sup>3</sup>, 西岡功志<sup>3</sup>, 塩川つぐみ<sup>4</sup>, 多田宏子<sup>4</sup>, 竹内祐貴<sup>5</sup>, 武安伸幸<sup>5</sup>, 山本直史<sup>6</sup>, 高柴正悟<sup>6</sup>

### Isolation and identification of antibacterial substances contained in fermented soybean food Tempeh

<sup>1</sup>Department of Periodontics and Endodontics and <sup>2</sup>Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, <sup>3</sup>Ikeda food research Co., Ltd.,

<sup>4</sup>Division of Instrumental Analysis, Department of Instrumental Analysis and Cryogenics, Advanced Science Research Center,

<sup>5</sup>Department of Chemistry, Graduate School of Natural Science and Technology, and <sup>6</sup>Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences Okayama University Graduate School

○ITO Masahiro<sup>1</sup>, ITO Takashi<sup>2</sup>, NAKAMURA Shin<sup>1</sup>, HIDEYUKI Aoki<sup>3</sup>, NISHIOKA Koshi<sup>3</sup>, SHIOKAWA Tsugumi<sup>4</sup>, TADA Hiroko<sup>4</sup>,  
TAKEUCHI Yuki<sup>5</sup>, TAKEYASU Nobuyuki<sup>5</sup>, YAMAMOTO Tadashi<sup>6</sup>, TAKASHIBA Shogo<sup>6</sup>

### 【研究目的】

世界的な高齢化の進展とともに、我が国では誤嚥性肺炎が日本人の死因の7位となるまでになっている。本疾患の主な原因は口腔内細菌の誤嚥であるが、現在の主な予防法は口腔ケアによる感染源の機械的除去であり、時間と労力の問題から十分な対策が行き届いていない。また、補助的な方法として抗菌薬の局所投与など化学的な方法もあるが、菌交代現象や薬剤耐性菌の発現等、長期間の使用には適さないという側面も持ち合わせている。そこで、簡便かつ長期的に口腔感染症を制御するために、日常の食事によって口腔内細菌の付着や増殖を制御するという phytochemical を利用したアプローチを考えた。

本研究では上記の課題解決を目的に、種々の食品から粗抽出物を作成し、口腔内細菌への抗菌性を検討してきた。その中で、口腔バイオフィーム形成の初期から関わる *Streptococcus mutans* に対する増殖抑制能を有した大豆発酵食品であるテンペから、同菌の増殖を抑制する抗菌性物質を精製し、分析・同定した。また、臨床応用を視野に入れて、歯肉上皮細胞への細胞障害性を検討した。

### 【材料および方法】

我々の過去の研究からテンペ粗抽出液の有効濃度は1 mg/mL に設定した。粗抽出液は限外濾過および ODS カラムを用いて精製し、各試験に使用した。陽性対照は塩化セチルピリジニウム溶液(終濃度0.05%)、陰性対照はリン酸緩衝溶液(PBS)とした。

#### 1. テンペ精製液の *S. mutans* への増殖抑制効果

テンペ精製液(終濃度1 mg/mL)を、*S. mutans* ( $1.0 \times 10^6$  cfu/mL)を播種した液体培地に加え、2時間毎に24時間マイクロプレートリーダーを用いて濁度を計測した(660 nm)。また、培養開始12時間後にATP量を測定した。

#### 2. 抗菌性物質の同定

抗菌性物質の同定は、エレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)およびラマン分光分析を用いて行った。ESI-MSは、電源電圧は3,500 V、キャピラリー温度は300°Cに維持した。質量スペクトルは、m/z 100から1,000までのプロファイルモードで記録した。データ処理および分析は、Mass Hunter Workstationを用いて行った。ラマン分光分析は、測定時における励起レーザーは532 nm、対物レンズは20倍(NA=0.45)を使用した。測定時間は200秒であり、積算は2回行った。ラマンスペクトルは、1,000~3,500  $\text{cm}^{-1}$ の範囲で測定した。スペクトルの帰属はInfrared and Raman Spectroscopyを参考にした。

#### 3. テンペ粗抽出液の細胞障害性

テンペ粗抽出液(終濃度1  $\mu\text{g}$ , 10  $\mu\text{g}$ , 100  $\mu\text{g}$ , 1 mg, 5 mg/mL)の歯肉上皮細胞に対する細胞障害性をWST-8 assayにて評価した。

### 【結果】

テンペ粗抽出物を上記の方法で精製したところ、100%メタノール溶出液に抗菌性が見られた。標的成分の単離は、HPLCによって確認した。この成分をESI-MSで分析したところ、m/zは279.234であった。ラマン分光法を使用したさらなる分析により、リノール酸に類似したピークが検出された。分離された成分は、*S. mutans*に対してリノール酸の標準品と同等の抗菌性を有することが確認された。また、テンペ粗抽出液は5 mg/mL以上で歯肉上皮細胞に対する細胞障害性を有し、有効濃度である1 mg/mLでは細胞障害性がない事がわかった。

### 【結論】

テンペに含まれる抗菌性物質はリノール酸であることがわかった。また、有効濃度においては細胞障害性がない事がわかった。今後、抗菌性の機序や抗菌スペクトルについてさらに検討を重ねることで、口腔感染症の制御に使用できる食品としての実装を目指していく。