

M2 マクロファージの培養上清が歯髄幹細胞の石灰化に及ぼす影響

¹九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野、
²九州大学病院 歯内治療科、³九州大学 大学院歯学研究院 OBT 研究センター

○門脇正敬¹、吉田晋一郎²、糸山知宏²、友清淳²、濱野さゆり^{1,3}、杉井英樹¹、長谷川大学¹、前田英史^{1,2}

The effect of culture supernatant of M2 macrophage on mineralization of dental pulp stem cells

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

² Department of Endodontology, Kyushu University Hospital,

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

○Masataka Kadowaki¹, Shinichiro Yoshida², Tomohiro Itoyama², Atsushi Tomokiyo², Sayuri Hamano^{1,3},
Hideki Sugii¹, Daigaku Hasegawa¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【研究目的】マクロファージは、M1 マクロファージと M2 マクロファージの 2 種類に大別される。M1 マクロファージは、IL-6 等の炎症性サイトカインを放出して初期炎症応答に関与し、M2 マクロファージは、抗炎症性サイトカインや成長因子を産生し、皮膚や骨等の様々な組織の修復・再生に関与することが報告されている。しかしながら、M2 マクロファージが直接覆髄後の修復象牙質形成に及ぼす影響については十分な解明がされていない。そこで本研究では、ラット直接覆髄後の歯髄組織における M1 および M2 マクロファージの発現を解析し、M2 マクロファージの培養上清が歯髄幹細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】(1)ラット(Wistar ラット 8 週齢、雄性)の上顎左側第一臼歯の近心頰側咬頭を点状露髄させた動物実験モデルを作製し、MTA セメントを用いて直接覆髄処置を行った。1, 2, 3, 5, 7 および 14 日間飼育後屠殺し、組織切片を作製した。M1 マクロファージ関連因子である CD86 および M2 マクロファージ関連因子である CD206 の露髄面直下歯髄組織における発現について免疫組織化学的染色法を用いて検討した。(2) ヒト単球 cell line (THP-1) を PMA (100 ng/ml) で 24 時間刺激して、M1 および M2 マクロファージの前駆細胞である M0 マクロファージに分化させた。その後、LPS (100 ng/ml) と IFN- γ (40 ng/ml) で 48 時間刺激して M1 マクロファージに、また一方で、IL-4 (40 ng/ml) で 48 時間刺激して M2 マクロファージへと分化させた。その後、M1 マクロファージ関連因子である CD80 および CD86、ならびに M2 マクロファージ関連因子である CD163 および CD206 の遺伝子発現について定量的 RT-PCR 法を用いて解析した。(3) 象牙芽細胞分化誘導培地に M0, M1 あるいは M2 マクロファージの培養上清を添加して、ヒト歯髄幹細胞 (Yoshida et al., J Dent Res, 2016) を培養した。Alizarin Red S 染色を行い、マクロファージの培養上清がヒト歯髄幹細胞の石灰化に及ぼす影響について検討した。本研究は九州大学動物実験委員会の承認 (承認番号: A20-210-0) を得て実施された。

【結果】(1) 免疫組織化学的染色の結果、CD86 陽性細胞は直接覆髄 3 日後の露髄面直下の歯髄組織において最も高い集簇が認められた。その後 CD86 陽性細胞数は減少し、修復象牙質形成が完了した直接覆髄 14 日後の歯髄組織においては、正常歯髄組織と同程度の局在を示した。一方、CD206 陽性細胞については、直接覆髄 1, 2, 3, 5 日後と経過するにつれて露髄面近傍の歯髄組織に集簇する細胞数が増加し、修復象牙質形成が開始する直接覆髄 7 日後において最も高い集簇が認められた。修復象牙質形成が完了した直接覆髄 14 日後の歯髄組織においては、正常歯髄組織と同程度の局在を示した。(2) 定量的 RT-PCR の結果、M1 マクロファージにおける CD80 および CD86 の遺伝子発現は、M0 および M2 マクロファージと比較して有意に上昇した。一方、M2 マクロファージにおける CD163 および CD206 の遺伝子発現は、M0 および M1 マクロファージと比較して有意に上昇した。(3) Alizarin Red S 染色の結果、M0 および M1 マクロファージの培養上清はヒト歯髄幹細胞の石灰化に影響を及ぼさなかったのに対し、M2 マクロファージの培養上清は、ヒト歯髄幹細胞の石灰化を有意に亢進した。

【考察】本研究結果から、直接覆髄後早期の歯髄組織においては M1 マクロファージが集簇し、修復象牙質形成が進むにつれて M2 マクロファージが露髄面直下の歯髄組織に集簇することが示唆された。また、これまでに歯髄幹細胞が象牙芽細胞様細胞に分化して修復象牙質形成を行うことが報告されており (Sangwan et al. 2012)、本研究結果において M2 マクロファージの培養上清が歯髄幹細胞の石灰化を亢進したことから、M2 マクロファージが直接覆髄後の修復象牙質形成に関与している可能性が示唆された。

【結論】直接覆髄後の歯髄組織においては、露髄後早期に CD86 陽性細胞が露髄部位に集簇し、修復象牙質形成が進むにつれて CD206 陽性細胞が増加する。また、M2 マクロファージの培養上清はヒト歯髄幹細胞の石灰化を亢進する。

ヒト歯髄培養細胞におけるフラクタルカインの炎症作用の検索

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座¹⁾ 日本大学口腔科学研究所²⁾
○五明夏子¹⁾, 岡部達^{1,2)}, 神尾直人¹⁾, 葉山朋美¹⁾, 深井謙滋¹⁾, 渡邊昂洋¹⁾, 松島潔^{1,2)}

Search for the inflammatory effect of fractalkine in cultured human dental pulp cells

Department of Endodontics¹⁾, Research Institute of Oral Science²⁾

Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○GOMYO Natsuko¹⁾, OKABE Tatsu^{1,2)}, KAMIO Naoto¹⁾, HAYAMA Tomomi¹⁾,
FUKAI Joji¹⁾, WATANABE Takahiro¹⁾ and MATSUSHIMA Kiyoshi^{1,2)}

【目的】

フラクタルカイン/C-X3-C motif chemokine (CX3C) ligand 1 は主に活性化血管内皮細胞上に発現し、ケモカインとしての遊走活性と接着分子としての機能を併せ持つケモカインである。組織の炎症や損傷によって血管内皮細胞が活性化されるとフラクタルカインが膜結合型として誘導され、フラクタルカインと炎症性細胞中の CX3C receptor 1 が結合することで血管内皮細胞との接着を強固にし、複数の炎症の基点を形成するといわれている。現在、フラクタルカインはヒトおよびマウスの破骨細胞や滑膜線維芽細胞、骨髄内皮細胞からも発現が認められ、破骨細胞の分化促進や滑膜への炎症性細胞浸潤に関与していることが報告されている。歯髄炎の際に歯髄組織においてもフラクタルカインが産生され、炎症基点の形成を増加させることで歯髄炎が増悪している可能性があるが、前述の研究報告はされていない。本研究ではヒト歯髄における炎症時のフラクタルカインの働きを解明する一助として、炎症性サイトカイン作用時のフラクタルカインの発現と、炎症時に増加したフラクタルカインが COX-2 の発現に関与し、歯髄炎の際に炎症カスケードを惹起する可能性について解明することを目的として行った。

【材料及び方法】

ヒト歯髄培養細胞は、日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認（承認番号:EC20-19-19-003-2 号）に基づき、研究のインフォームドコンセントを十分に行って同意を得られた患者の、矯正学的理由で抜去された健康な歯牙から無菌的に抽出し、10%牛胎児血清 (FBS) を添加した α -MEM を用いて 5~9 代継代し、37°C, 5%CO₂, 95%気相下にて培養した。歯髄細胞における フラクタルカイン、COX-2 の mRNA 発現量を RT-PCR 法 と real-time RT-PCR 法 にて観察した。タンパク質発現量は Western Blot 法にて観察した。

【結果】

1. ヒト歯髄培養細胞において、IL-1 β 刺激によりフラクタルカイン mRNA 発現量は IL-1 β の濃度依存的に促進し、100 pg/ml で最大となった。
2. ヒト歯髄培養細胞において、IL-1 β 刺激によりフラクタルカイン mRNA 発現量は IL-1 β の時間依存的に促進し、刺激後 3 時間で最大となった。
3. ヒト歯髄培養細胞において、フラクタルカイン刺激により COX-2 mRNA 発現量、タンパク質発現量は促進した。

【考察】

フラクタルカインは IL-1 β 刺激ヒト歯髄培養細胞での発現の増強が認められ、歯髄の炎症反応に関与していることが示唆された。また、フラクタルカイン刺激ヒト歯髄培養細胞での COX-2 発現の増強が認められ、フラクタルカインは COX-2 産生調節にも関与していることが示唆された。

高出力 LED 照射はヒト歯髄幹細胞の硬組織分化を促進する

大阪歯科大学 ¹口腔治療学講座, ²歯周病学講座
○田口麗子¹, 嘉藤弘仁², 至田宗泰¹, 梅田誠², 前田博史¹

High-Power light emitting diode irradiation promotes hard tissue differentiation of human dental pulp stem cells.

¹Department of Endodontics, Osaka Dental University

²Department of Periodontology, Osaka Dental University

○¹Reiko Taguchi, ²Hirohito Kato, ¹Muneyasu Shida, ²Makoto Umeda, ¹Hiroshi Maeda

【目的】

Light Emitting Diode (以下, LED と略す) を用いた抗菌的光線力学療法において歯周炎やインプラント周囲炎に対する有効性が示され, メチレンブルーなどの光増感剤を併用しての臨床応用が模索されている。近年, LED を用いた光線力学療法による再生医療への応用が検討されている。これは再生の3要素の一つである宿主の活性化の一手法として「光」を利用しているわけであるが, 我々も従来より光感受性物質を必要としないLEDの使用方法を模索して, ヒト歯根膜幹細胞に対し高出力赤色 LED を適切な照射条件の下で照射することで硬組織分化を促進することを報告している。また, 骨髄間葉系細胞や骨芽細胞に LED を照射し硬組織分化を促進することも確認できており, 歯周組織再生治療やインプラント埋入手術の際に用いる自家骨移植の補助的ツールとしての活用方法が考えられる。

未分化間葉系幹細胞の細胞源の一つとしてヒト歯髄幹細胞 (以下 DPSCs) は硬組織を再生させる細胞治療の候補の一つである。本研究では, 高出力赤色 LED の硬組織再生への影響を明らかにするため, DPSCs の細胞増殖および硬組織分化について検討を行った。

【材料および方法】

DPSCs は Lonza 社から購入し実験に供試した。光源として (株) モリタより供与された LedEngin 社製高出力の赤色 LED (中心波長: 650nm) を用いて, 照射時間を変えることでエネルギー量を調節し照射した。DPSCs を24穴プレートに 5×10^4 個ずつ播種し, コンフルエントになったのち分化誘導培地に交換し, その後特注の装置に設置して6Jのエネルギー量になるようLED照射を行い, 照射後1, 2週のAlkaline phosphatase (ALP) 活性, ALP 染色, カルシウム析出量, Alizarin red 染色, Osteocalcin 産生量, *Runx2* mRNAの遺伝子発現及び 蛍光免疫染色によりDentin sialophosphoprotein (DSPP) のタンパク発現について検討した。

【結果】

LED 照射により, 硬組織分化誘導後に LED 照射を行うと, 硬組織分化能および石灰化物形成能は有意に上昇する傾向を示した。また, LED 照射により, DSPP の発現が促進する傾向を示した。

【考察および結論】

以上の結果により, 高出力赤色LED照射はDPSCsの硬組織分化能と石灰化物形成能を促進することが認められ, 第二象牙質の形成に役立つものと示唆される。

**BCL9 依存性 Wnt/ β -catenin シグナルの活性化が
ヒト歯髄幹細胞における低酸素誘導性の骨芽・象牙芽細胞分化を促進する**
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
○折笠紫音、川島伸之、藤井真由子、野田園子、橋本健太郎、田澤健人、興地隆史

**BCL9-mediated Wnt/ β -catenin signaling activation is involved in
hypoxia-induced osteo/odontoblastic differentiation of human dental pulp stem cells**
Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○Shion ORIKASA, Nobuyuki KAWASHIMA, Mayuko FUJII, Sonoko Noda,
Kentaro HASHIMOTO, Kento TAZAWA, and Takashi OKIJI

【緒言】

外傷歯では歯髄腔内にしばしば骨様、象牙質様硬組織が形成されるが、その詳しいメカニズムは不明である。そこで本研究は、歯髄の血流遮断に伴う低酸素状態が骨芽・象牙芽細胞の分化誘導に関与するとの仮説のもと、低酸素特異的転写調節因子である低酸素誘導因子1 α (Hypoxia-inducible factor 1 α : HIF1 α)、および、HIF1 α の下流で発現が誘導される Wnt/ β -catenin 転写補助因子 B-cell CLL/lymphoma 9 (BCL9) に着目し、ヒト歯髄幹細胞 (hDPSCs) の低酸素下での骨芽・象牙芽細胞分化に対する HIF1 α および BCL9 の作用の解析を目的とした。

【材料および方法】

hDPSCs はヒト健全智歯より分離培養し (TMDU 倫理審査番号#D2014-039-03)、通常酸素 (20% O₂) または低酸素 (1% O₂) で培養後、HIF1 α の発現を western blotting 法で解析した。HIF1 α と BCL9 の強制発現、および BCL9 の発現抑制を、それぞれ発現ベクターおよび siRNA のトランスフェクションにより行い、vascular endothelial growth factor (VEGF)、骨芽・象牙芽細胞分化マーカー [RUNX2, alkaline phosphatase (ALP), osteocalcin (OC)], BCL9, および Wnt/ β -catenin 標的遺伝子 [AXIN2, T-cell factor 1 (TCF1)] の mRNA 発現をリアルタイム PCR にて解析した。また Wnt/ β -catenin シグナルの活性を TCF/LEF luciferase assay、BCL9 と β -catenin の結合を Protein G PLUS-Agarose を用いた共免疫沈降法にて検討した。さらに、6 週齢 ICR マウスの切歯歯髄組織を通常酸素、低酸素下で 48 時間培養後 (動物実験番号#A2021-251A)、Hif1 α 、Bcl9、 β -catenin の発現と細胞内局在を免疫蛍光染色で解析した。

【結果】

低酸素培養および HIF1 α 強制発現により hDPSCs における VEGF, BCL9, RUNX2, ALP, OC, AXIN2, TCF1 の mRNA 発現亢進を、また BCL9 強制発現により hDPSCs における RUNX2, ALP, OC, AXIN2, TCF1 の mRNA 発現亢進を認めた。また、BCL9 強制発現により TCF/LEF 転写活性が増加した。共免疫沈降実験では BCL9 と β -catenin の結合が確認された。一方、BCL9 の発現抑制により RUNX2, ALP, OC, AXIN2, TCF1 発現の減少を認めた。マウス歯髄組織を低酸素培養したところ、Hif1 α の発現増加と核内移行、Bcl9 の発現増加、および Bcl9 と β -catenin の核内移行が確認された。

【考察】

低酸素培養および HIF1 α 強制発現で hDPSCs の骨芽・象牙芽細胞分化マーカー発現が亢進したことから、HIF1 α の骨芽・象牙芽細胞分化誘導への関与が示唆される。さらに、HIF1 α 強制発現で Wnt/ β -catenin 標的遺伝子の発現が亢進したことから、HIF1 α が Wnt/ β -catenin シグナルの亢進を介して骨芽・象牙芽細胞分化を誘導したと思われる。しかし、HIF1 α は Wnt/ β -catenin シグナルの活性化を直接誘導しないことが知られている。このため本研究では BCL9 に着目し、その低酸素培養や HIF1 α 強制発現での発現亢進を確認するとともに、BCL9 と β -catenin の結合、BCL9 の強制発現/発現抑制による Wnt/ β -catenin 標的遺伝子や骨芽・象牙芽細胞分化マーカー発現の亢進/抑制、さらには、*ex vivo* での Bcl9 と β -catenin との核内共存などの所見を得た。したがって、BCL9 が HIF1 α 下流で発現誘導され、Wnt/ β -catenin シグナルの活性化を介して hDPSCs の骨芽・象牙芽細胞への分化を誘導する可能性が示唆された。

【結論】

ヒト歯髄幹細胞の低酸素誘導性骨芽・象牙芽細胞分化には、HIF1 α による BCL9 の発現誘導と、続いて生じる BCL9 依存性 Wnt/ β -catenin シグナルの活性化が関連することが示された。

S1P および BMP-9 がマウス歯乳頭由来幹細胞の 骨芽細胞/象牙芽細胞分化に及ぼす影響

福岡歯科大学口腔治療学講座 歯科保存学分野¹, 福岡歯科大学口腔医学研究センター²
○松崎英津子^{1,2}, 廣瀬陽菜¹, 藤政清志朗¹, 二階堂美咲¹, 水上正彦¹, 松本典祥¹, 阿南 壽¹

Effects of sphingosine-1-phosphate and BMP-9 on osteo/odontoblastic differentiation of immortalized mouse dentin papilla mesenchymal stem cells

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College¹,
Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College²

○Etsuko Matsuzaki^{1,2}, Haruna Hirose¹, Seishiro Fujimasa¹, Misaki Nikaido¹,
Masahiko Minakami¹, Noriyoshi Matsumoto¹, Hisashi Anan¹

【目的】

近年、歯髄や歯根周囲の幹細胞賦活化による再生歯内療法に関する研究が活発に行われている。なかでも、幼若永久歯における Pulp Revascularization は、空疎な根管に血餅を導くことにより、根尖部に存在する歯乳頭由来幹細胞 (SCAP) の賦活化を介して骨様硬組織の形成を期待するものである。しかしながら、本法により根尖部に形成される硬組織は象牙質ではなく、骨またはセメント質であると報告されている。また、根管内の過度の石灰化、骨性癒着および血管再建組織の機能障害が生じることも示されており、真の組織再生については不明な点が多い。

生体内に存在する脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、細胞分化制御因子として作用し、骨芽細胞分化促進、未分化間葉系幹細胞の骨芽細胞分化促進と脂肪細胞分化抑制に関与する。一方、Bone morphogenetic protein (BMP)-9 は、歯乳頭由来幹細胞の骨芽細胞/象牙芽細胞分化に関与する可能性が示されている。そこで、本研究では、S1P および BMP-9 がマウス不死化歯乳頭由来幹細胞の骨芽細胞/象牙芽細胞分化に及ぼす影響について検討することとした。

【材料および方法】

実験には、マウス不死化歯乳頭由来幹細胞 (iSCAP: Abm, Canada) を使用した。骨芽細胞/象牙芽細胞分化を誘導する因子として、S1P (Sigma-Aldrich, USA)、BMP-9 (R&D systems, USA) を用いた。iSCAP 細胞を 6 cm dish に 2.0×10^5 個播種し、24 時間後、S1P (1 μ M)、BMP-9 (1 ng/ml)、S1P+BMP-9 を添加した。その後、37°C、5% CO₂ インキュベーター内で 1、7、14 日間培養した。各タイムポイントで total RNA を抽出し、cDNA を作製して、骨芽細胞分化マーカー、象牙芽細胞分化マーカーならびに S1P 受容体 (S1PR1 および S1PR2) の遺伝子発現について、Real-time PCR 法を用いて検討した。

【結果と考察】

骨芽細胞分化マーカーのうち、Runx2 mRNA 発現は、1、7、14 日目のいずれにおいても、S1P、BMP-9、S1P+BMP-9 添加による影響は認められなかった。Alkaline phosphatase (ALP)、Osteocalcin (OCL) mRNA 発現においては、1 日目で変化は認められなかったが、7 日目でコントロールと比較して、BMP-9 および S1P+BMP-9 添加により発現が増加した。S1P 添加ではコントロールと同程度であった。Bone sialoprotein (BSP) は、1、7、14 日目のいずれにおいても発現を認めなかった。

象牙芽細胞分化マーカー Matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) mRNA 発現は、1 日目で発現が認められなかった。一方、14 日目では、S1P、BMP-9 および S1P+BMP-9 添加により mRNA 発現が著明に増加した。Dentin matrix acidic phosphoprotein 1 (DMP-1) mRNA 発現は、1、7 日目で S1P、BMP-9、S1P+BMP-9 添加による影響は認められなかったが、14 日目では、S1P、BMP-9 および S1P+BMP-9 添加により mRNA 発現が増加した。

また、S1P 受容体である S1PR1 および S1PR2 の mRNA 発現は、7 日目で S1P 添加により増加したが、S1PR1 発現が顕著に増加した。一方、BMP-9 添加による影響は認められなかった。

以上の結果から、iSCAP において、S1P による S1PR1 受容体発現増加に伴う象牙芽細胞分化促進、BMP-9 による骨芽細胞/象牙芽細胞分化促進の可能性が示唆された。

Regenerative Endodontic Procedure 後の歯髄の治癒に関する臨床的考察

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)

○永山智崇、林美加子

Clinical Insights of Pulp Healing Process after Regenerative Endodontic Procedure : A Case Report

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

○NAGAYAMA Tomotaka, HAYASHI Mikako

【緒言】

根末完成歯に対する歯内療法における治癒形態のひとつとして、Regenerative Endodontic Procedure (REP) が起こることが知られている (Iwaya S *et al.* Dent Traumatol, 17: 2001)。すなわち、一旦壊死した歯髄組織に根尖孔から毛細血管が増殖し、それに伴い歯髄組織由来の細胞が再生着するような治癒のメカニズムを指す。そして新生した組織は電気歯髄診に正の応答を示し、やがて急激な石灰化を起し歯髄腔が閉塞するのが最終的な治癒像であることが知られているが、その生物学的なメカニズムの詳細については不明な点が多い。今回は結果的に REP を経験した症例において、材料学的ならびに文献的視点からも類推して、その本質を臨床的に考察することを目的とした。

【症例】

8歳男児。2015年12月初診。不定期だが、半年～1年間隔で来院されていた。2019年1月(12歳)に右下の奥がしびれるみたいに痛いという主訴で救急来院。デンタルX線を撮影したところ、右下Eが交換期で残存していたため、急性歯肉炎と診断して抜歯した。すると、その下で萌出してきていた右下5の咬合面に中心結節の破折を発見したため、CR充填にて対応した。しかし、同年3月に来院されたときには右下5に打診痛と瘻孔を認め、デンタルX線ならびにCBCTにおいて根尖部に透過像を確認したため慢性化膿性根尖性歯周炎と診断し、根管治療を行うことで合意した。

【結果】

2019年4月に根管治療を開始したが、浸潤麻酔下にもかかわらず痛みが強く、根管内からは多量の出血が認められた。その後Microscope下で数回根管治療を行い、歯髄組織を可及的に除去した。根末完成歯のため、電氣的根管長測定器の値はつねに不安定であった。根管洗浄は2.5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液ならびにEDTAで行った。同年6月に根管内の感染源を徹底的に除去する目的でEr:YAG Laserを照射して水酸化カルシウム(単味)を貼薬した上で、グラスイオノマーセメントで仮封して経過観察を行うことにした。その後、同年12月(貼薬後6か月)にデンタルX線ならびにCBCTで再評価したところ、根管内のDentin Bridgeの形成と歯根の成長を認めたため、臨床的にREPが達成されていると判断した。そして、2020年3月に根管充填を行い、CRにて修復を行った。ところが、2021年7月(貼薬後2年1か月)に経過観察のためデンタルX線ならびにCBCTで再評価したところ、根尖病変を確認した。

【考察】

根末完成歯に対するREPの治癒形態は、基礎研究により多様であることが明らかにされている (Edanami N, Noiri Y *et al.*, Sci Rep, 10: 2020)。そしてその要諦は、感染制御と根尖孔の径、すなわち血流の確保にあると推測している。本症例においては、抗菌剤(3Mixなど)やVitapexあるいはMTAを用いることなくREPを達成しているため、① Er:YAG Laserによる根管清掃ならびに根尖付近の創傷治癒機転の促進効果が大きいこと、そして② 水酸化カルシウムの成分のみでDentin Bridgeの形成が可能であることが示唆された。一方で、当初は感染根管であるため水酸化カルシウム貼薬による経過観察の後にアペキシフィケーションを計画していたにもかかわらず、結果的にREPを達成したことから、その診査・診断・治療方針については、いまだに不確定な部分があると言わざるを得ない。また根尖病変の再発については、歯髄腔の閉塞過程において血流(すなわち免疫=ホスト)と根管内バイオフィーム(=パラサイト)のバランスの変化により起こったものと考えられるが、現時点ではその詳細は推測の域を出ない。したがって、今後も再評価をしながら経過観察を行っていき、臨床と基礎研究の整合性を追究していきたいと考えている。

【結論】

REPについては臨床と基礎の両面において未だに不明な点が多く、今後のエビデンスの蓄積が期待される。

糖尿病モデルマウスを用いた実験的歯髄炎における歯髄防御反応の解明

神奈川歯科大学 歯科保存学講座歯内療法学分野
○佐藤 イテヒョン、武藤 徳子、石井 信之

The mechanism of the pulp defense response in experimental pulpitis induction on diabetic model mice
Department of Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University
○SATO Lectachyung, MUTO Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】

マクロファージは細菌、ウイルス等により死滅した細胞を貪食、加水分解処理することで重要な生体防御機能を有する。一方、抗原提示機能によって獲得免疫機能の指令細胞としての役割を有する。最近、マクロファージは機能的に異なる M1 と M2 細胞が存在し、生体防御機能と創傷治癒に関与することが明らかになりつつある。M1 細胞は、炎症反応と免疫反応を活性化させ、病原体除去を促進し、M2 細胞は炎症性サイトカインおよび血管内皮増殖因子、血小板由来増殖因子、形質転換増殖因子などの増殖因子産生を通じて創傷治癒を促進する。慢性感染症や糖尿病は、血管循環障害を引き起こし、脂肪組織および肝臓における遊離脂肪酸と M2 極性化マクロファージの存在量が亢進し、これが創傷治癒を阻害して疾患の進行に関与することが報告されている。しかしながら、糖尿病患者に対する歯髄炎の進行や治癒過程における報告はない。本研究は、糖尿病モデルマウスを用いて実験的歯髄炎誘導後の歯髄治癒過程において、細胞増殖と M1, M2 細胞の動態を解析することにより、歯髄治癒過程のメカニズムを解析することを目的とした。

【材料と方法】

- ① 動物実験：6 週齢の糖尿病モデルマウス (AKITA/sl_c) と対照として BALB/c CrSl_c マウスをそれぞれ 24 匹使用し、深麻酔下にて、エアタービン (ラウンドパー1/4) にて両側上顎第一臼歯咬合面に 1 級窩洞を形成し、24 時間口腔内環境に暴露させて象牙質切削面に口腔常在菌による細菌感染を惹起させ実験的歯髄炎モデルを作製した。
- ② 免疫組織化学的染色：糖尿病モデルマウス (AKITA/sl_c) と BALB/c CrSl_c の窩洞形成後 7、14 日後 (各 12 匹) にマウスを深麻酔を施し、4%パラホルムアルデヒド液を用いて、灌流固定を行った。その後、被験歯を顎骨ごと摘出して同様の固定液にて 4%EDTA で 3 週間脱灰し、厚さ 4 μm のパラフィン切片を作製した。HE 染色にて組織学的観察を、さらに、免疫組織化学染色として抗 nestin 抗体で象牙芽細胞を観察し、抗 Ki67 抗体で細胞増殖を確認し、抗 ED1, ED2, OX6 抗体にて M1, M2 細胞の局在を確認した。

本研究の動物実験は、神奈川歯科大学動物実験委員会の承認 (承認番号 21-0003) を得て行った。

【結果及び考察】

術後 1 週間後の HE 染色は、対照群において円柱形の象牙芽細胞様細胞が認められた。実験群では炎症性細胞の浸潤を認めたものの対象群で観察された象牙芽細胞様細胞が認められなかった。nestin 陽性細胞は、対象群では窩洞直下に近接した髓床底にすでに局在しているが、実験群では歯根部で陽性所見が見られた。術後 2 週間後対象群では歯冠部歯髄に nestin 陽性細胞が認められ、歯髄治癒傾向が認められたが、実験群では陽性細胞の局在が歯冠部に認められず、陽性所見は歯根尖 1/2 に認められ、術後 1 週間後より後退していることから治癒遅延傾向が認められた。糖尿病は、食作用および細菌死滅を含むマクロファージ機能を明らかに抑制し、その結果、炎症状態は、歯髄の治癒に必要な機能である血管形成、細胞増殖、および創傷治癒遅延が引き起こされた。

イヌ同一個体における乳歯および永久歯歯髄幹細胞自家移植による 歯髄再生能の比較

¹国立長寿医療研究センター ジェロサイエンス研究センター 再生歯科医療研究室
²RD 歯科クリニック

○Ziauddin SM¹, 中島 美砂子^{1,2}, 富永 三千代¹, 庵原 耕一郎¹

Comparison of pulp regeneration potential of stem cells from identical canine deciduous and permanent teeth.

¹National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, Geroscience Research Center, Regenerative Dental Medicine
²RD Dental Clinic

○Ziauddin S M¹, Misako Nakashima^{1,2}, Michiyo Tominaga¹, Koichiro Iohara¹

【背景】

これまで私共は永久歯由来の歯髄幹細胞を用いて根完成歯の歯髄再生治療の臨床研究および治療を行い、有効性を示してきた。一方、根未完成幼若永久歯においては、乳歯由来歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療の有効性が治験で示されている (Xuan et al., 2018)。また、乳歯由来歯髄幹細胞は永久歯由来と比べて、幹細胞マーカー (Oct3/4) の発現が高く、増殖能が優れていることが報告されている (Nakamura et al., 2009, Wang et al., 2012)。一方、歯髄再生においては、移植された細胞自身が歯髄組織固有の細胞に分化するのではなく、移植細胞から分泌される様々な trophic 因子により、根尖孔外周囲組織からの幹細胞の遊走が促進され、炎症が抑制され、血管新生や神経誘導が促進されることにより生じることが知られている。しかしながら、乳歯由来と永久歯由来の歯髄幹細胞の歯髄再生治療に対する有効性を比較検討した報告はまだない。すなわち、将来の歯髄再生治療のために、抜け落ちる乳歯から歯髄幹細胞を採取・培養してあらかじめバンクに保管しておくことは、智歯などの不用歯を用いるより有用性が高いかどうかは明らかにされていない。したがって今回、イヌ同一個体より乳歯および永久歯由来歯髄幹細胞を採取・培養し、その特性を比較検討した。また抜髄モデルにそれぞれ自家移植し、再生した歯髄を量的、質的に比較検討した (動物倫理番号: 愛知医科大学 1685、長寿医療研究センター 動 2-17)。

【方法】

1. 乳歯および永久歯由来歯髄幹細胞の採取・培養: イヌ同一個体より4か月齢で上顎乳犬歯を、9か月齢で上顎犬歯を抜去し、歯髄幹細胞を採取し、低酸素濃度下において培養後4代目で凍結した。
2. 乳歯および永久歯由来歯髄幹細胞の特性の比較: 1の細胞の増殖能、遊走能、細胞表面抗原発現率 (CD29, 44, 105, 31)、遺伝子発現(幹細胞マーカー, 血管新生・神経栄養因子, 免疫調整因子)を測定し、細胞特性を検討した。
3. 乳歯および永久歯由来歯髄幹細胞の培養上清の比較: 1の細胞の培養上清を用いて、遊走促進、血管誘導能、神経突起伸長能、免疫調整能を比較した。
4. イヌ抜髄モデルにおける歯髄再生能の比較: 1の乳歯および永久歯歯髄幹細胞 (5×10^5 cells) をコラーゲンに混合してG-CSFと共に根管内に自家移植した。移植28日後に抜歯し、歯髄再生量、血管新生量、神経突起伸長量を比較した。

【結果】

乳歯由来歯髄幹細胞は永久歯と比較して、細胞表面抗原発現率では差が見られなかった。一方、幹細胞マーカーである Oct3/4, CXCR4 や神経栄養因子の BDNF 遺伝子発現は乳歯由来幹細胞の方が高い傾向が見られ、老化マーカーの p16 は低い傾向が見られた。また、遊走能は乳歯由来幹細胞の方が有意に高かった。また、細胞培養上清による遊走促進、神経突起伸長能および免疫調整能は両者に差がみられなかったが、血管誘導能については乳歯由来幹細胞の方が高い傾向が見られた。一方、イヌ抜髄モデルにおいて根管内に乳歯由来および永久歯由来歯髄幹細胞を自家移植すると、歯髄再生量、血管新生量および神経突起伸長量に差はみられなかった。

【結論・考察】

これらの結果より、乳歯由来歯髄幹細胞は永久歯由来歯髄幹細胞と同様に歯髄再生治療に有用であることが示唆された。in vitro において乳歯由来歯髄幹細胞の方が永久歯と比較して、一部の幹細胞マーカーの発現や血管誘導能が高い傾向がみられたものの、in vivo における歯髄再生能に差はみられなかった。これは、移植したイヌの年齢が1歳と若く再生能が高いため、移植細胞の trophic 因子による影響の差が出にくかった可能性がある。また、同一個体の乳歯と永久歯由来の歯髄幹細胞移植による歯髄再生の質に差がなかったことから、将来の歯髄再生治療に備えて、あらかじめ幼少期に乳歯歯髄幹細胞を細胞バンクに保存しておくことの有用性が示唆された。

ハイブリッド組み換え PP を応用した硬組織再生療法の開発

¹広島大学 大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室

²東北大学 大学院歯学研究科 歯内歯周治療学分野

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

Development of regenerative medical therapy for hard tissues applying of hybrid recombinant Phosphophoryn.

¹Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University

²Department of Periodontics and Endodontics, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○¹Jun Nakanishi, ²Shigeki Suzuki, ¹Kazuma Yoshida, ¹Shizu Hirata-Tsuchiya, ²Satoru Yamada, ¹Hideki Shiba

＜研究目的＞う蝕、歯髄炎、根尖性歯周炎等の歯性感染により損傷や欠損が生じた象牙質、歯髄および根尖周囲組織において、臨床応用が現実的である再生医学の手法として欠損周囲の残存組織への自己組織誘導が考えられる。自己組織誘導に必要な因子として再生組織周囲の細胞、細胞の足場および増殖因子があり、象牙質、歯髄および根尖周囲組織の欠損部へ応用する増殖因子にはこれらの組織の性質上、高い硬組織誘導能が求められる。我々は象牙質基質中に最も多く含まれる非コラーゲン性タンパク質である Phosphophoryn (PP) が、各組織における自己組織誘導を促進する増殖因子様の作用を有すると考えた。PP は Small Integrin-Binding Ligand N-linked Glycoprotein (SIBLING) タンパクファミリーに属する象牙質の石灰化において重要な役割を担うタンパク質である。我々は先行研究により哺乳類細胞から組み換え PP を精製する手法を樹立し、PP の機能解析を行う中で PP がアミノ酸配列中に高度にリン酸化修飾を受けたセリン-セリン-アスパラギン酸の長い繰り返し配列を有し、この特徴的な繰り返し配列が高いカルシウム結合能を有することで細胞外基質の石灰化に重要な役割を担うことを明らかにしてきた。一方で PP はアルギニン-グリシン-アスパラギン酸からなる RGD 配列を有するも RGD 周囲のアミノ酸配列によってインテグリン依存的な細胞接着活性が阻害されていることも明らかとなっており、この性質は細胞の遊走、接着の点において組織再生に不利に働いてしまうことが考えられる。そこで本研究では、細胞接着活性を示さない PP の RGD 配列周囲のアミノ酸配列を、PP 同様 SIBLING タンパクファミリーに属し、インテグリン依存的な細胞接着活性を有する Dentin matrix protein-1 (DMP-1) 型の配列に改変したハイブリッド組み換え PP の精製を行い、ハイブリッド組み換え PP の細胞接着活性および硬組織誘導能について調べることで歯髄保存療法や根尖周囲組織再生療法等、硬組織再生療法への応用の可能性について検討を行う。

＜材料および方法＞本研究は広島大学組換え DNA 実験安全委員会の承認を得ており、広島大学組換え DNA 実験安全管理規則に従って組換え DNA 実験を行った (承認番号: 2020-221)。1. ハイブリッド組み換え PP の精製: 先行研究により報告してきた組み換えタンパク質の精製法により、組み換え PP-Δ63.5-SDrr の RGD 配列前後 4 つのアミノ酸配列を組み換え DMP-1 の配列になるよう塩基配列を改変したハイブリッド組み換え PP-Δ63.5-SDrr-DMP-1-RGD 遺伝子ベクターを作製し、組み換えタンパク質の精製を行った。2. ハイブリッド組み換え PP の細胞接着活性の検討: ハイブリッド組み換え PP を 16 時間コートした 96well プレート上にヒト骨芽細胞株 (MG63) を 5×10^4 / well の濃度で播種し、1 時間後の細胞接着量をクリスタルバイオレット染色により検討した。3. ハイブリッド組み換え PP の硬組織誘導能の検討: 乳酸ポリマーとハイドロキシアパタイトの複合型担体にハイブリッド組み換え PP をコートした後に 96 well プレート上に留置し、ヒト間葉系幹細胞を 2.5×10^5 / well の濃度で播種し 48 時間培養を行った。培養後、担体を 5 週齢の C.B-17/lcr-scid/scidJcl マウスの背部筋膜内に移植し、4 週間後に移植担体の骨密度を μ CT で計測した。＜結果＞1. 液体クロマトグラフィーシステムを併用した陰イオンクロマトグラフィーおよび His-tag アフィニティークラムにより高純度なハイブリッド組み換え PP を精製した。2. 組み換え PP-Δ63.5-SDrr は MG63 細胞の接着がみられなかったのに対し、ハイブリッド組み換え PP は組み換え DMP-1 と同様、細胞の接着がみられた。3. ハイブリッド組み換え PP をコートした群はコートしていない群と比較し、担体の外側部における骨密度の増加を認めた。＜結論＞本研究から従来の組み換え PP の石灰化誘導能に加え、細胞接着活性を有する新たなハイブリッド組み換え PP の精製が可能となった。また *in vivo* の結果からハイブリッド組み換え PP を応用した硬組織再生療法の有用性が示唆された。

Activin A がヒト歯髄細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響について

¹九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、
²九州大学病院歯内治療科、³九州大学大学院歯学研究院 OBT センター
○富田洋嘉¹、杉井英樹¹、門脇正敬¹、Mhd Safwan Albougha¹、足立織利恵¹、友清淳²、
濱野さゆり^{1,3}、長谷川大学²、吉田晋一郎²、糸山知宏²、小幡純子¹、前田英史^{1,2}

Effects of Activin A on odontoblast-like differentiation of human dental pulp cells

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University,

²Department of Endodontics, Kyushu University Hospital, ³OBT center, Faculty of Dental Science, Kyushu University,

⁴Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital

○Hiroka Tomita¹, Hideki Sugii¹, Masataka Kadowaki¹, Mhd Safwan Albougha¹, Orié Adachi¹, Atsushi Tomokiyo²,
Sayuri Hamano^{1,3}, Daigaku Hasegawa², Shinichiro Yoshida², Tomohiro Itoyama², Junko Obata¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【研究目的】現在、臨床に用いられる覆髄材料として水酸化カルシウム製剤および MTA セメントが挙げられるが、これらの材料よりも効率的にデンティンブリッジ形成を誘導する覆髄材料の開発が求められている。Activin A は、TGF- β スーパーファミリーに属する *inhibin β* のホモ 2 量体で、様々な細胞において、その分化、増殖、および遊走を促進することで組織治癒に関与している。私達は、これまでに Activin A がヒト歯根膜細胞に対しては、歯根膜関連因子の発現を促進する一方で、ヒト前骨芽細胞に対しては分化を促進し、細胞によって異なる分化誘導能を有することを明らかにしている (第 150 回日本歯科保存学会学術大会)。しかしながら、ヒト歯髄細胞 (HDPCs) における Activin A の機能は明らかにされていない。そこで本研究では、(1) 直接覆髄を行った露髄面直下の歯髄組織における Activin A の発現様式、(2) 炎症状態下の HDPCs における Activin A の発現、ならびに (3) Activin A が HDPCs の石灰化物形成能に及ぼす影響を明らかにすることとした。

【材料および方法】(1) Wistar ラット (8 週齢、雄性) の上顎第一臼歯の近心頬側咬頭を点状露髄させ、MTA セメントにて直接覆髄を行った。直接覆髄後 1 日、3 日、5 日、7 日、および 14 日の組織切片を作製し、抗 Activin A 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。(2) 本研究に同意が得られた患者 (5Y; 29 歳女性) の抜去歯より採取した HDPCs を用いて以下の実験を行った。10% fetal bovine serum/alpha modification of Eagle's MEM (CM) に Interleukin-1 β (IL-1 β , 10 ng/ml) および tumor necrosis factor- α (TNF- α , 10 ng/ml) を添加した培地を用いて HDPCs を 24 時間または 48 時間培養し、定量的 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法にて *inhibin β* の遺伝子発現を解析した。(3) CM、1.5mM CaCl₂ を添加した CM (DM)、および 10、50、または 100 ng/ml の Activin A を添加した DM を用いて HDPCs を 12 日間培養し、その石灰化物形成能を、アリザリンレッド S 染色法にて解析した。本研究は、九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の許可を得て、患者の同意の上で行った (承認番号: 27-76)。また、本研究は九州大学動物実験委員会の承認の下で行った (承認番号: A20-210-0)。

【結果】(1) 直接覆髄後 1 日および 3 日の上顎第一臼歯の組織切片において、露髄面直下の歯髄組織に抗 Activin A 抗体陽性細胞の集簇を認めた。(2) IL-1 β および TNF- α を添加して 24 時間または 48 時間培養した HDPCs において、非添加群と比較して有意に *inhibin β* の発現が亢進した。(3) Activin A を添加した DM にて培養を行った HDPCs において、DM にて培養した HDPCs と比較して、有意にその石灰化物形成能が促進された。

【考察】Activin A は、直接覆髄後 3 日の露髄面直下の歯髄組織において、その発現の亢進を認めた。また、私達は以前の研究で、直接覆髄後 3 日の露髄面直下の歯髄組織において IL-1 β および TNF- α の発現が亢進することを確認しており (Serita et al., 2017)、これらの炎症性サイトカインによる刺激によって、HDPCs の Activin A の遺伝子発現の促進を認めた。以上のことから、Activin A は、炎症初期の歯髄組織において、オートクラインおよびパラクライン的に歯髄細胞に作用することで、歯髄組織の修復象牙質形成に関与している可能性が示唆された。

【結論】(1) 直接覆髄後 1 日および 3 日の露髄面直下の歯髄組織において、正常歯髄組織と比較して、Activin A の発現の上昇を認めた。(2) IL-1 β および TNF- α にて刺激した HDPCs において、*inhibin β* の発現が亢進した。(3) Activin A は HDPCs の石灰化物形成能を亢進した。

Effect of Kinematics on the Surface Characteristics, Torque/Force Generation, and Shaping Ability of a Nickel Titanium Rotary Glide Path Instrument

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

○Moe Sandar Kyaw, MAKI Keiichiro, KIMURA Shunsuke, Myint Thu, OMORI Satoshi
EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

Aim: The aim of the present study was to evaluate the effect of various rotational motions on the torque/force generation, shaping ability and surface defects of ProGlider glide path instruments (Dentsply Sirona).

Materials and Methods: Mesio Buccal and mesio lingual canals of mandibular molars (approved by the Institutional Review Board, TMDU, No. D2014-033-01) were pair-matched based on canal volume, length, angle of curvature (25°–40°), and radius of curvature (4–8 mm), after micro-computed tomographic scanning (n = 240). The samples were randomly assigned to four groups (n = 13, each) according to movement kinematics [continuous rotation (CR; 300 rpm), Optimum Torque Reverse motion (OTR; 180° forward and 90° reverse when torque > 4 Ncm), time-dependent reciprocal motion (TmR; 180° forward and 90° reverse), and Optimum Glide Path motion (OGP; a combination of 90° forward and 90° reverse and 90° forward and 120° reverse)]. Instrumentation was performed with an automated root canal instrumentation and a torque/force analyzing device. Maximum torque/force values, canal volume changes, and canal-centering ratios at 1, 3, 5, and 7 mm were evaluated. Surface defects (pits, grooves, microcracks, blunt cutting edges, disruption of cutting edges) on ProGlider files were scored before and after five consecutive uses using scanning electron microscopy. Kruskal–Wallis test and Mann–Whitney U test with Bonferroni correction were used to analyze the data ($\alpha < 0.05$).

Results: OGP generated significantly the smallest clockwise torque and the largest upward force among all motions ($P < 0.05$). OTR generated the smallest downward force among all the groups ($P < 0.05$). The downward force was significantly higher in TmR and OGP compared to CR ($P < 0.05$) while there was no significant difference between TmR and OGP ($P > 0.05$). The counter-clockwise torque was significantly larger in TmR and OGP than in CR and OTR ($P < 0.05$). OGP resulted in significantly fewer surface defects than CR or TmR at 5 mm ($P < 0.05$). CR resulted in greater volume changes than OGP and TmR ($P < 0.05$) and showed higher centering ratios (i.e., more deviation) than OGP at 1 mm and OTR at 3 mm ($P < 0.05$).

Discussion: OGP is a combination of watch-winding-like motion and balance-force-like motion. The maximum clockwise torque was the smallest in OGP, which is probably because OGP reduced contact time with the dentin wall and may be relevant for the fewer surface defects. The greatest maximum upward force in OGP could be a result of the increased counter-clockwise rotational angle (non-cutting direction), which might induce pressure and friction during instrument withdrawal at the end of the pecking movement. CR showed larger volume changes and higher centering ratios than reciprocating motions, which may be attributed to the reduction of blade-dentin contact time in reciprocating motions leading to less dentin removal and limited canal deviation.

Conclusion: Under the current experimental conditions using ProGlider glide path instruments, OGP generated significantly the smallest clockwise torque and the biggest upward force among all rotatory motions. OGP generated fewer superficial defects than CR or TmR. Three modes of reciprocal rotation maintained the apical curvature of root canals better than CR.

Dynamic Torque and Screw-in Force of Glide Path Instruments in Different Canal Configurations

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo Japan
○Myint Thu, EBIHARA Arata, Moe Sandar Kyaw, KASUGA Yuka, MAKI Keiichiro, OMORI Satoshi, KIMURA Shunsuke,
NISHIJO Miki, OKIJI Takashi

Introduction: Establishing glide path is fundamental for intact shaping in terms of satisfactory canal patency, and it creates the pathway for subsequent larger nickel-titanium (NiTi) instruments to track root canal and reduce their torsional stress. The glide path instruments should possess sufficient flexibility to follow the canal curvature and durability to withstand the torsional stress, because they are the introductory instruments to explore the canal. However, whether canals with different types of configurations affect torque and screw-in force of NiTi instruments remains unanswered. The aim of this in vitro study was to examine torque and screw-in force of NiTi glide path instruments in single- and doubled-curved simulated canals.

Methods: Simulated resin blocks with single- and doubled-curved canals (#10/.02) were used. Establishment of the canal patency was performed with a #10 K-file, and then each canal type was randomly assigned into 3 groups ($n = 7$, each) according to the instrument brands. Fourteen each of Dent Craft RE (RE; 16/.02), TruNatomy (TN; 17/.02) and Hyflex EDM (EDM; 15/.03) were divided into two groups according to the canal configuration. The XSmart IQ cordless motor was attached to the movable stage of an automated root canal instrumentation device that was programmed to move downward for 2-second and upward and 1-second at 50/50 mm/min. The resin blocks were attached to the metal stage of the device connected to strain gauges for torque analysis and a torque sensor for force analysis. The instruments were rotated at 300 rpm and 2 Ncm in RE, 500 rpm and 1.5 Ncm in TN, and 300 rpm and 1.8 Ncm in EDM, according to the manufacturer's recommendations. The canals were lubricated with RC-Prep and instrumented up to full working length. Maximum torque and screw-in force (upward force) values were recorded. The data were statistically analyzed using Kolmogorov-Smirnov test followed by Kruskal Wallis test and Mann-Whitney U test with Bonferroni correction.

Results: In single-curved canals, TN generated significantly higher torque and screw-in force than RE and EDM ($P < 0.05$). In doubled-curved canals, there was no significant torque difference among instruments whereas TN generated significantly higher screw-in force than RE and EDM ($P < 0.05$). There was no significant difference between single- and doubled-curved canals in torque and screw-in force values for each instrument system ($P > 0.05$). All the tested instruments exhibited torque values within the preset torque ranges.

Discussion: Since torque values never exceeded the preset ranges, the tested instruments may have performed safely in the artificial canals. Non-significant difference of torque between single- and doubled-curved canals may be because torque and force generated in inclined planes in the curved canals can be lost in part during measuring, as the transducers only record vertical vectors that represent the values induced in the horizontal plane in the straight part of the root canal. Regarding screw-in force, however, the influence of instrument designs, cross-section designs and size should be taken into consideration.

Conclusion: Under the present experimental condition, torque and screw-in force values showed some significant differences among instruments, but were not affected by the canal configuration. The tested instruments exhibited the torque values within the preset torque ranges.

歯質切削量を抑制した根管形成後の各根管洗浄法による清掃性の評価

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
○望月 隼太, 渡辺 聡, 劉嘉懿, 興地 隆史

Evaluation of the cleanliness of conservatively shaped root canals after irrigation with different systems
Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and
Dental University (TMDU), Tokyo Japan
○Sota MOCHIZUKI, Satoshi WATANABE, Jiayi LIU, Takashi OKIJI

【目的】

近年, 将来的な歯根破折の誘発抑制の観点から歯質切削量を抑制した根管形成システムの開発が進みつつあるが, 形成された根管への根管洗浄法についての報告は少ない. 我々は, Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄 (laser-activated irrigation; LAI) がレジの根尖側や側枝等に対しても清掃効果が高い事を報告してきた (Aung et al., Photobiomodul Photomed Laser Surg, 2020; Hoshihara et al., J Dent Sci, 2021). 本研究では, 歯質切削量の抑制を意図して開発された Ni-Ti ロータリーファイル TruNatomy Shaping File (デンツプライシロナ) で形成された根管に対する LAI, 超音波洗浄 (passive ultrasonic irrigation; PUI), シリンジ洗浄 (syringe irrigation; SI) の清掃効果を評価することを目的とした.

【材料および方法】

#20K ファイルが根尖まで到達しない単根管性のヒト下顎切歯 19 本を用いて (東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会承認番号 D2014-033), TruNatomy Shaping File Small (#20/.04 variable)まで根管形成した. 試料を 3 群 (各 n=6) に分け, 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, 径 200 μm) を装着し, 作業長 5 mm に固定して 70mJ, 20pps の条件にて照射した. LAI の手順は Mancini らの報告 (BMC Oral Health, 2021) に準じて, 14.3%EDTA(30 秒照射)→蒸留水(30 秒照射)→6%NaOCl(30 秒照射および 30 秒静置を 2 回)→蒸留水(30 秒照射)→14.3%EDTA(30 秒照射)→蒸留水(30 秒照射)とした. 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, #10) を装着し, 作業長 1 mm に固定して設定値 3 で LAI 群と同様の手順で振振した. SI 群では TruNatomy 洗浄針 (30G, デンツプライシロナ) を洗浄筒 (3.0ml) に装着し, 根管壁に触れる位置から 1 mm 減じた位置に固定して他群と同様の手順にて洗浄した. また非洗浄群(n=1)を対照とした.

根管洗浄後, 試料を歯軸方向に分割し走査電子顕微鏡 (JSM-7900F, 日本電子) で歯冠部, 根管中央部, 根尖部を 500 および 1000 倍にて各 4 部位撮影し, 2 名の評価者により Gutmann らのスコア分類に準じてデブリおよびスミヤー層を評価した. 統計学的解析には Kruskal-Wallis 検定と Mann-Whitney U 検定 (Bonferroni 補正) を用いた ($\alpha = 0.05$).

【結果】

デブリスコアにおいて, LAI 群は部位によらず SI 群より有意に小さく ($p < 0.05$), さらに歯冠および根尖部では LAI 群は PUI 群により有意に小さかった ($p < 0.05$). またスミヤー層スコアにおいて, 歯冠および根尖部で LAI 群は SI 群, PUI 群と比較して有意に小さかった ($p < 0.05$).

【考察】

本研究の結果は, 歯質切削量を抑制して形成された根管 (#25/.06) に対して LAI が PUI や SI 等より清掃性が高かったという報告 (Mancini et al., BMC Oral Health, 2021) と同様の結果であった. LAI は PUI と比較してチップから離れた位置においても清掃効果が及ぶと報告されており (Hoshihara et al., J Dent Sci, 2021), LAI では狭小な根管の根尖部においても洗浄液の還流が生じたものの, PUI では同部において, 超音波振動と洗浄液の還流が制限されたことが推察された.

【結論】

本実験条件では, TruNatomy Shaping File にて歯質切削量を抑制して形成された根管において, LAI は PUI, SI と比較して根尖部の清掃効果が高いことが示された.

歯頸部象牙質の低侵襲切削が根管形成に及ぼす影響について

神奈川歯科大学歯科保存学講座 歯内療法学分野
○椿一之、宇都宮舞衣、下島かおり、武藤徳子、石井信之

Effect of root canal preparation by minimally invasive access on orifice dentin

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University
○Tsubaki Tomoyuki, UTSUMOMIYA Mai, SHIMOJIMA Kaori, MUTOH Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【緒言】歯内療法処置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、最小限の歯質切削が歯内療法後の歯根破折を防止すると考えられている。一方、MI Endo による手術野縮小と視野制限は、術者の根管形成操作を困難にすることが示唆されている。本研究対象とした *TruNatomy* (TN) は MI Endo の概念に基づいて低侵襲切削型として開発された Ni-Ti ファイルである。本研究は、TN ファイルの切削特性を評価することで、歯頸部象牙質の低侵襲切削が根管形成に及ぼす影響について解析することを目的とした。

【材料および方法】J型エポキシレジン製透明湾曲根管模型(Dentsply-Sirona)を使用し、低侵襲切削型のTNファイルと従来切削型のProTaper NEXT (PTN)ファイルを使用して根管形成を比較した。実験群のTNファイルは根管上部フレアー形成(ストレートラインアクセス)非付与群(A群)と付与群(B群)の2群に分類した。対照群のPTNファイルも同様にストレートラインアクセス非付与群(C群)と付与群(D群)の合計4群に分類し、根管幅径増加量と中央値変位量を比較した。根管幅径増加量と中央値変位量は根管形成前後のJ字型根管模型をデジタル画像で重ね合わせ、得られたデータをPCに取り込み計測用ソフトを使用して計測した。計測箇所は根尖から1,2,3,5, および8mmの位置で測定し各群間で比較検討した。

【結果】TNによる根管幅径増加量の解析結果は、A、B群共に根管湾曲開始位置の測定部位5mmにおいて内湾側変位量が増加したが、他の測定部位は外湾側変位量が増加した。一方、PTNを使用したC、D群は、共に湾曲根管に位置する3~5mmの測定部位において内湾側変位量が増加した。一方、ストレートラインアクセスに位置する8mmの測定部位において外湾側変位量が増加し、特にD群の変位量は有意に増加した。TNによる中央値変位量は、A、B群共にすべての測定部位において0.1mm以下を示した。PTNによる中央値変位量は、D群において3~5mmの測定部位でA,B,C群と比較して有意な内湾側への変位を示し、8mmの測定部位では、C、D群共にA、B群に対して外湾側への有意な変位を示した。TNによる内外湾間の根管切削量はA、B群共に極めて少なく、PTNと同様に本来の根管形態を維持することが認められた。

【考察】ストレートラインアクセスは、解剖学的根管形態を維持するための基本術式として根管形成の基本術式である。TNによる根管形成は、ストレートラインアクセスを付与せずに本来の解剖学的根管形態を維持することが示された。MI Endo の概念に基づいて開発された低侵襲切削型TNはファイル形状と柔軟性により、正確な根管形成が可能で根管形成後の根管変位量を減少させることが示された。

Bioactive glass- β TCP 複合粒子の作製および細胞毒性評価

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

²九州歯科大学口腔機能学講座生体材料学分野

○鷺尾絢子¹, 池田 弘², 北村知昭¹

Fabrication and Evaluation of Cytotoxicity of Bioactive Glass- β TCP composite particles

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry,

²Division of Biomaterials,

Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

○WASHIO Ayako¹, IKEDA Hiroshi², KITAMURA Chiaki¹

【目的】我々は象牙質・歯髄複合体および根尖歯周組織の創傷治癒を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生体活性バイオセラミックスである Bioactive Glass (BG) に着目し、BG 配合生体材料の開発を進めてきた。その成果の一部として、BG 配合根管用シーラー、覆髄材、および逆根管充填材が製品化され臨床応用されている。その一方で、象牙質・歯髄複合体および根尖歯周組織の損傷が広範囲の場合は、それらの生体材料での組織再生は困難であり、局所的な再生治療用生体材料が必要である。そこで、BG、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 (HAp) 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)。しかしながら、BG は、生体内でその表層への HAp 形成が早く安定して誘導される一方で、完全には HAp へと置換されない。そこで、BG の特徴と、生体内で最終的に HAp へと置換される生体吸収性バイオセラミックスである β TCP の良好な特徴を併せ持つ複合粒子 (BG-TCP) を作製し、Gel と組み合わせた再生治療用生体材料の開発を進めている。本研究では、BG-TCP の生物学的安全性を評価するため、象牙芽細胞様細胞 (KN-3 cells) に対する毒性評価を行なった。

【材料と方法】 <BG-TCP 複合粒子の作製> 0.1-5 μ m の BG 粉末と 0.1-10 μ m の β TCP 粉末を所定の比率で混合後、900 $^{\circ}$ C 1 時間にて焼結した。得られた焼結体を乳鉢・乳棒で粉碎し、BG-TCP 複合粒子 (BG-TCP) を作製した。BG-TCP の微細構造は、SEM 観察およびエネルギー分散型 X 線分光分析 (SEM-EDX) によって評価した。<BG-TCP 抽出溶媒の作製> 細胞毒性陰性対照材料である高密度ポリエチレン (Poly)、陽性対照材料であるジブチルジチオカルバミン酸亜鉛 (ZDBC)、および BG-TCP 1 g に対して培地 10 mL を加えて 37 $^{\circ}$ C・5% CO₂ にて静置し、24 時間後に filtration することで BG-TCP 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、各希釈溶液を作製した。<BG-TCP 抽出溶媒の細胞毒性評価> KN-3 cells 播種から 4 時間後に BG-TCP 希釈溶液および 100%試験液で刺激し、培養 2 日目に CCK-8 assay で細胞毒性を評価した。

【結果】 <BG-TCP 複合粒子の作製> BG-TCP は、BG と β TCP が焼結した 1-10 μ m 程度の微粒子であり、この微細構造は BG および β TCP の粒子サイズの混合比によって変化した。<BG-TCP 抽出溶媒の細胞毒性評価> Poly 刺激群による細胞増殖の低下は認められなかったが、1/8 以上希釈 ZDBC 刺激群では有意に細胞増殖は低下し、1/4 以上希釈 ZDBC 刺激群では生存細胞は認められなかった。その一方で BG-TCP 刺激群は ZDBC 刺激群と比較して、1/6 以上希釈でも有意に細胞増殖は認められた。

【考察】 BG 粉末と β TCP 粉末を焼結することによりマイクロサイズの BG-TCP の作製が可能であること、また、象牙芽細胞様細胞に対する BG-TCP の細胞毒性は低いことが示唆された。

【結論】 象牙質・歯髄複合体および根尖歯周組織の局所的再生誘導に用いる生体材料の構成要素として BG-TCP 複合粒子は有用である。

バイオセラミックス系シーラーを用いて根管充填を行った 自家歯牙移植歯に関する臨床的検討

松本歯科大学¹ 歯科保存学講座, ² 口腔顎顔面外科学講座

○森川雅己¹, 水谷葵紗¹, 三好弥恵¹, 岩崎拓也¹, 芳澤享子², 増田宜子¹

Clinical study on autotransplanted teeth of root canal filling with bioceramics based root canal sealers

¹Department of Operative Dentistry, Endodontology and Periodontology, ²Department of Oral Surgery,
Matsumoto Dental University

○Masaki Morikawa¹, Risa Mizutani¹, Yae Miyoshi¹, Takuya Iwasaki¹,
Michiko Yoshizawa², Yoshiko Masuda¹

生体活性材料である Bioactive glass (BG) を配合したニシカキャナルシーラー-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があり、根管用シーラーとして良好な性質を示す。

【目的】 歯の喪失に対する有用な治療法の一つとして、埋伏歯や第三大臼歯を欠損部に持ってくる自家歯牙移植がある。今回われわれは当院における自家歯牙移植歯に対してニシカキャナルシーラー-BG を用いた単一ポイント法による根管充填を行い、臨床的検討を行ったのでここに報告する。

【材料と方法】 対象は2019年11月より2021年6月まで行った自家歯牙移植8症例である。根充剤として、ニシカキャナルシーラー-BGを用いた。対象者の性別、年齢、受容部位、移植歯、移植方法、受容床の状態、根管治療(水酸化カルシウム製剤)、貼薬期間、6か月術後経過(打診痛、打診音、動揺、自発痛、歯周ポケット、デンタルX線写真による歯根膜腔、歯根吸収)を比較・検討し、追跡調査を行った。なお、本研究は本学部倫理審査委員会(許可番号 第0300号)の承認を得て行った。

【結果】 性別は男性2例、女性6例で、年齢は13歳から57歳までの平均35.0歳だった。30歳代が3例と一番多く、次に40歳代と50歳代が各2例、10歳代と20歳代が各1例であった。受容部位は下顎右側第二大臼歯が3例と一番多く、上顎が計2例、下顎が計6例となった。右側が6例、左側が2例と右側に多かった。受容床は抜歯してから約1か月後に移植した症例が4例、2か月後は2例、6か月後と同日が1例であった。固定期間は自家歯牙移植術後、根管治療開始日まで固定を行い約3週間の固定期間であった。移植歯として用いられたのは下顎左側第三大臼歯が3例と最も多く、上顎が計4例、下顎が計4例で差は認めなかった。右側が4例、左側が4例と左右差は認めなかった。受容部位と移植部位が同側だったのが6例で、対側であったものは2例であった。また、同側のうち対顎のものは2例で対側のうち対顎のものは2例であった。移植歯の状態は、萌出歯が4例と最も多く、半埋伏歯と完全埋伏歯がそれぞれ2例ずつであった。移植方法はすべて即時移植で、移植後の貼薬期間は17日から28日まで平均23.3日であった。術後の経過観察にて打診音が生じたのが1例、打診痛、動揺、自発痛、4mm以上の病的な歯周ポケットが認められた症例はなかった。デンタルX線写真にて歯根膜腔が認められない症例が2例あったが、そのうち1例は骨梁の添加が認められた。歯根吸収に関しては2か月後に外部吸収が生じた症例が1例あった。

【考察および結論】 8症例中1症例の外部吸収を認めた。バイオガラス系の根管充填剤であるニシカキャナルシーラー-BGを用いた単一ポイント法による根管充填は、既に報告されているものと比較して予後に大差はないと考えられた。しかし、水酸化カルシウムによる根管貼薬期間が平均23.3日と短かったため外部吸収の原因として推測される。今後われわれは、根管貼薬期間を延長し、受容部の炎症や移植歯の状態などを考慮しながら長期の経過を調べ分析する予定である。

ラット上顎臼歯に充填された低濃度ユージノールを含む 新しい根管シーラーの根尖歯周組織への影響

¹ 日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座, ² 日本歯科大学生命歯科学講座,

³ 日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座, ⁴ 日本歯科大学

○西田太郎¹, 前田宗宏¹, 倉治竜太郎^{2,3}, 橋本修一⁴, 沼部幸博³, 五十嵐 勝¹

Effect of a new root canal sealer containing a low concentration of eugenol filled into rat maxillary molar on the periapical tissue

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

² Department of Life Science Dentistry, The Nippon Dental University

³ Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo

⁴ The Nippon Dental University

○Nishida Taro¹, Maeda Munehiro¹, Kuraji Ryutarō^{2,3}, Hashimoto Shuichi⁴, Numabe Yukihiro³ and Igarashi Masaru¹

【はじめに】

これまで、我々は酸化亜鉛ユージノールセメントの液成分であるユージノールに脂肪酸を加えてユージノール量を低減した根管充填用シーラーを開発し、ラット臼歯に根管充填した際の根尖歯周組織へのユージノールの遊離動態について報告してきた。今回は、本シーラーをラット臼歯に根管充填した際の根尖周囲の硬組織の変化について経時的に検討した。なお、本研究は日本歯科大学生命歯学部動物実験委員会の承認（承認番号：20-18）を得て行った。

【材料と方法】

1. 新規シーラーの組成：粉体 (1.0 g)；酸化亜鉛 0.4 g, ロジン 0.4 g, 硫酸バリウム 0.2 g, 液体 (1 ml)；オレイン酸 0.75 ml, イソステアリン酸 0.10 ml, ユージノール 0.15 ml. シーラーは、粉液比を 1.0 g : 0.5 ml で練和し、根管充填に使用した。

2. 上顎臼歯近心根の抜髄：SPF ラット (7 週齢, Wistar 系 約 230 g, 1 群 4 匹) に 3 種混合麻酔薬 (ドミツール 0.15 mg, ミダゾラム 2.0 mg, ベトルファール 2.5 mg/kg) で腹腔内麻酔を行った。上顎左側第一臼歯 (以下 M1) にラバーダム防湿を施し、ダイヤモンドポイント (ML-1L, ホリコ) を用いて髓室開放を行った。近心根の根管口を確認し、他の根管口はボンディングレジジン (ビューティデュアルボンド EX, 松風) とフロアブルレジジン (ビューティコア LC ポストペースト, 松風) を用いて封鎖した。近心根の歯髄は、15~25 番 K ファイル (マニー) で除去し、ラットは粉末飼料で飼育した。

3. 根管処置と根管充填：根管の開放から 7 日後に腹腔内麻酔下でラバーダム防湿を施し、近心根管を次亜塩素酸ナトリウム浴下で 15~40 番 K ファイルを用い拡大形成した。ペーパーポイント (モリタ) を作業長まで挿入し根管の乾燥および止血を確認した。次に、本シーラーを 40 番ガッタパーチャポイント (ピヤス, 以下 GP) に塗布し、シングルポイント法で根管充填を行い、フロアブルレジジンで髓室開口部を封鎖した。処置後、更に 7 日あるいは 14 日間飼育した後、ペントバルビタールで安楽死を実施した。M1 と歯周硬組織を含む右側上顎を摘出し、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液 (富士フィルム和光純薬) で 24 時間固定した。コントロールは反対側の未処置上顎とした。

4. 上顎のマイクロ CT 撮影：マイクロ CT (Scan-Xmate-D100SS270, Comscantecno) を用い、管電圧 80kV, 管電流 200μA, 積算レート 22frame/sec, 解像度 24.1μm/voxel で試料のマイクロ CT 撮影を行った。得られた断層画像は、三次元画像処理ソフト (TRI/3D-BON, Ratoc System Engineering) を用いて、三次元画像を作成した。

5. CT 画像の解析：あらかじめ撮影したファントムのマイクロ CT 画像を用いて検量線を作成し、マイクロ CT 画像から BMD 画像へ変換した。M1 および周囲歯周組織を切り出した後、M1 周囲顎骨に関心領域を設定後、M1 の歯根および歯根膜を除いた歯根周囲 10 voxel を測定範囲とし骨塩量 (mg/cm³, 以下 vBMD) と骨密度 (% , 以下 BV/TV) を算出した。

【結果とまとめ】

1. マイクロ CT による 3 次元的観察により、シーラーおよび GP が近心根先端まで充填されていることを確認した。

2. 上顎歯槽骨の BMD 画像から、M1 周囲の vBMD は、抜髄後 7 日間の開放群では未処置群に比べて低下し、硬組織の損傷・吸収が観察された。次に、この抜髄開放した根管にシーラーを充填すると、vBMD は充填後 7 日目では充填前の開放群より低下したが、14 日目には 7 日目に比べ有意に増加し、骨塩量に回復する傾向が認められた。

3. M1 周囲の BV/TV は vBMD と同様、抜髄後 7 日間の開放群では未処置群に比べて低下した。シーラーを用いた根管充填後 7 日目の BV/TV は開放群よりもさらに低下したが、14 日目には増加して開放群と同程度にまで回復した。

本実験結果から、M1 近心根管の抜髄後 7 日間の開放により、M1 周囲歯槽骨の骨塩量、骨密度が減少することが明らかになった。低濃度ユージノールを含む新規シーラーをこの根管に充填すると、歯槽骨の骨塩量、骨密度は 7 日後では減少の継続が認められたが、14 日後には増加に転じ、硬組織損傷の改善傾向が示唆された。

歯内療法への応用を考えた biphasic calcium phosphate cement の基礎的研究 — 粒子径が辺縁封鎖性に及ぼす影響について —

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 総合歯学研究所高度先端医療研究部門²,
日本大学歯学部³, 菅原歯科⁴,
日本大学歯学部歯科理工学講座⁵, 総合歯学研究所生体工学研究部門⁶,
日本大学歯学部歯科補綴学第Ⅰ講座⁷, 総合歯学研究所顎口腔機能研究部門⁸
○中村健志¹, 林 誠^{1,2}, 鈴木裕介^{1,2}, 安川拓也^{1,2}, 遠山由理香¹,
菅原明喜^{3,4}, 掛谷昌宏^{5,6}, 伊藤智加^{7,8}, 武市 収^{1,2}

A fundamental study of biphasic calcium phosphate cement for application to endodontic treatment —The effect of particle size in sealing ability—

Department of Endodontics¹, Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center²,
Nihon University School of Dentistry

Nihon University School of Dentistry³, Sugawara Dental Clinic⁴,

Department of Dental Materials⁵, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center⁶,
Nihon University School of Dentistry

Department of Complete Denture Prosthodontics⁷, Division of Oral and Craniomaxillofacial Research,
Dental Research Center⁸, Nihon University School of Dentistry

○Takeshi Nakamura¹, Makoto Hayashi^{1,2}, Yusuke Suzuki^{1,2}, Takuya Yasukawa^{1,2}, Yurika Toyama¹,
Akiyoshi Sugawara^{3,4}, Masahiro Kaketani^{5,6}, Tomoka Ito^{7,8}, Osamu Takeichi^{1,2}

【研究目的】

骨補填材として広く利用されているリン酸カルシウムセメント (calcium phosphate cement : CPC) は2種類以上のリン酸カルシウムおよびカルシウム化合物の powder からなり, 水分の介在により hydroxyapatite (HA) を生成することで知られている。CPC の powder は用途に合わせて各成分の粒径や配合比を調整し粉砕・混合するため粒度分布は多峰性となり, 材料学的特性に影響を及ぼしやすくなる。そのため, 均一で安定した powder を得ることは高コストにつながるということが指摘されてきた。そこで, powder の粒子中に α -tricalcium phosphate (α -TCP) と tetracalcium phosphate (TTCP) が分子レベルで均一に分散し, 単峰性粒度分布を示す均一二相性の特徴を持ち, liquid は酸性に調節されたリン酸カルシウム溶液 (calcium phosphate solution : Ca-P soln) を使用した biphasic calcium phosphate cement (BCP) を試作した。

本研究では, BCP の歯内療法用セメントとしての可能性について検討することを目的とし, 粒子径の変化が逆根管充填材として応用した際の辺縁封鎖性に及ぼす影響について解析した。なお, 本研究は日本大学歯学部倫理委員会の承認 (許可番号 EP17D013-5) を得て行った。

【材料および方法】

供試材料として使用した BCP は, powder は α -TCP と TTCP (Ca/P 比 : 1.8) を, 平均粒径 $9.96\mu\text{m}$ のもの (BCP Large : BCP-L) と, 生体親和性に優れた微粒子の混濁が最小であるジルコニアボールミルにて平均粒径を $4.84\mu\text{m}$ に調整したものの (BCP Small : BCP-S) を使用した。歯内療法用セメントとしての操作性を考え liquid は Ca-P soln (pH 2.1) を蒸留水で BCP-L は 3.5 倍に, BCP-S は 3 倍に希釈した溶液を用いた。BCP-L は P/L 比 3.5 で, BCP-S は P/L 比 3.0 で 30 秒間練和して, 逆根管充填材として応用した際の辺縁封鎖性試験を以下の方法で行った。

ヒト単根抜去歯を Ni-Ti ファイル (ProTaper Gold, デンツプライシロナ) を用いて SX から F3 まで拡大し, 根尖をダイヤモンドディスクにて 3mm 切断, レトロチップ (オサダエエナック ST37-90 チップ, オサダ) を用いて 3mm の逆根管充填窩洞を形成した。その後ペーパーポイント (ProTaper Gold Paper Point F3, デンツプライシロナ) で乾燥し, 各被験材料をプラグーにて填塞した。

辺縁封鎖性試験には Split Chamber 法を用いて行った。すなわち, upper chamber に抜去歯を固定し, 1%メチレンブルー溶液を根管内に挿入した。また, lower chamber には生体内に即し, 擬似体液 (Hanks' Balanced Salt solution, Sigma-Aldrich) を入れた。漏洩の判定は擬似体液の色の変化により行い, 37°C , 湿度 100% の条件下で 4 週間観察した。なお, MTA cement (ProRoot MTA®, デンツプライシロナ) を填入したものを比較対象とし, 被験材料未填入のものを Positive Control (PC), 根尖部をネイルバーニッシュで被覆したものを Negative Control (NC) とした。

【結果】

BCP-L 群は MTA 群と比較し有意に辺縁漏洩を認めしたが, BCP-S 群では MTA 群と有意な差を認めなかった。一方, すべての PC 群では 24 時間以内に漏洩が確認され, NC 群では漏洩は認められなかった。

【考察および結論】

本研究結果から, BCP-S は代表的な歯内療法セメントである MTA と同等の辺縁封鎖性を有しており, 平均粒径 $5\mu\text{m}$ 程度で逆根管充填材としての応用が可能であると考えられた。また, 平均粒径を小さくすることによって生成される HA の結晶構造が緻密になり, 封鎖性の向上に寄与することが推察された。

チャンネルペーストの寸法変化と圧縮強度の評価

株式会社ジーシー 研究所

○三谷 将弘, 小野 一弘, 伏島 歩登志

Examination of dimensional change and compressive strength of Canals paste

R&D Department, GC Corporation.

○MITANI Nobuhiro, ONO Kazuhiro, FUSEJIMA Futoshi

【研究目的】

グロスマンが提唱された根管充填シーラーの所要性質⁽¹⁾の内,気密な封鎖,静菌的で少なくとも細菌の発育を助長しないこと,組織液に不溶であることを鑑みて,シーラーは充填後硬化して収縮や膨張をせず,寸法変化が少ないこと,そして硬化物の強度が維持されることが望まれる.我々は昨年7月,酸化亜鉛またはユージオ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チャンネルペーストを開発した.酸化亜鉛ユージオールセメントは硬化収縮を起こすことが知られている.本研究では市販されているチャンネルと他社品Aを対照として,チャンネルペースト硬化物の寸法変化と圧縮強度試験を行うことにより,シーラーとしての適性を評価し,知見を得たので報告する.

【材料と方法】

被験根管充填シーラーとして,チャンネルペースト(昭和薬品化工)を用いた.A材とB材の練和比は1:1(重量比)とした.対照として,チャンネル(昭和薬品化工)と他社品Aを用い,練和はメーカーの指示に従い行った.寸法変化試験はISO6876⁽²⁾,圧縮強度試験はISO3107⁽³⁾を準用した.

【結果と考察】

図1に寸法変化試験,図2に圧縮強度試験の結果を示す.寸法変化試験は硬化物の初期から4週後の寸法変化を測定するため,数値が小さいほど寸法変化が小さいことになる.数値が小さい順にチャンネルペースト,チャンネル,他社品Aの順だった.試験に用いたシーラーの内,他社品Aが最も大きかった.

圧縮強度試験はチャンネルペーストが最も高く,他社品A,チャンネルの順で小さい値となった.

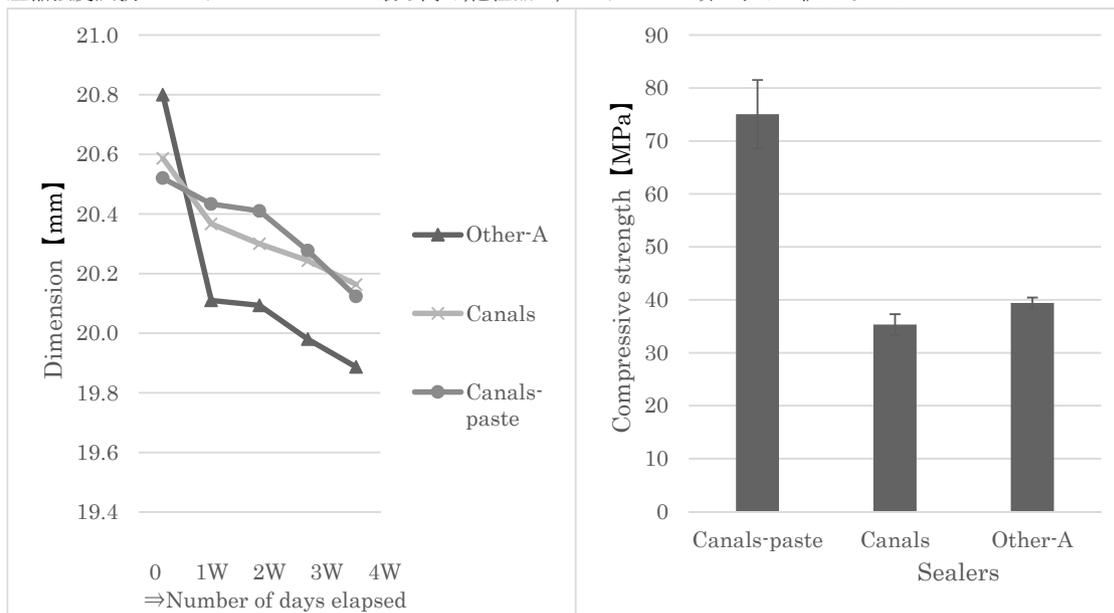


Fig.1 Dimensional change of sealers

Fig.2 Compressive strength of sealers

【結論】

今回の2つの試験において,チャンネルペーストは市販の2種のシーラーと比べて優れた寸法安定性及び圧縮強度を有しており根管充填シーラーとして有用であることが示唆された.

参考文献

- (1) L.I. Grossman: Endodontic practice 7th edition:1970.
- (2) ISO6876 Dentistry-Root canal sealing materials :2001.
- (3) ISO3107 Zinc oxide/eugenol cements and zinc oxide/non-eugenol cements:2011.

バイオガラス含有シリコン系根管充填用シーラーが ヒト歯根膜幹細胞株におよぼす影響について

¹九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、²九州大学病院 歯内治療科、
³九州大学大学院歯学研究院 OBT 研究センター

○一法師啓太¹、友清淳²、小野太雅²、山下梢¹、M. Anas Alhasan¹、
濱野さゆり^{1,3}、杉井英樹²、吉田晋一郎²、糸山知宏²、前田英史^{1,2}

Characterization of a human periodontal ligament stem cell line co-cultured with a bioglass-containing silicon-based root canal sealer

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

²Department of Endodontics, Kyushu University Hospital,

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

○Keita Ipposhi¹, Atushi Tomokiy², Taiga Ono², Kozue Yamashita¹, M. Anas Alhasan¹,

Sayuri Hamano^{1,3}, Hideki Sugii², Shinichirou Yoshida², Tomohiro Itoyama², Hidefumi Maeda^{1,2}

【目的】近年発売された GuttaFlow Bioseal は、バイオガラスによる硬組織形成誘導作用と、シリコンによる細胞親和性を兼ね備えた根管充填用シーラーであると考えられている。しかしながら、歯根膜幹細胞に対する GuttaFlow Bioseal の作用は未だ不明な点が多い。そこで本研究ではヒト歯根膜幹細胞株を、GuttaFlow Bioseal、シリコン系根管充填用シーラーである GuttaFlow 2、およびバイオセラミックスである Mineral Trioxide Aggregate (MTA) と共培養することで、バイオガラス含有シリコン系根管充填用シーラーの、歯根膜幹細胞に対する細胞親和性および骨芽細胞様分化誘導能を明らかにすることとした。

【材料および方法】(1) **Disc の作製**: GuttaFlow 2 (GF-2; コルテンジャパン)、GuttaFlow Bioseal (GF-BS; コルテンジャパン)、および ProRoot MTA (WMTA; デンツプライシロナ) を、それぞれ操作手順に従い混和したのち、直径 5 mm 厚さ 2 mm の円柱型枠に填入した。それらを 37°C、湿度 100% のインキュベーター内に静置し、24 時間硬化させ disc を作製した。(2) **Disc 近傍における細胞の生存状態**: 10% fetal bovine serum 含有 alpha minimum essential medium (10%FBS/αMEM) を含む 6 well 培養プレート上に各 disc を静置し、ヒト歯根膜幹細胞株 (2-23 細胞; Hasegawa D et al. 2017) を 5 x 10⁴ cells/well の濃度で播種した。コントロール (Cont) として、Disc を静置せず 2-23 細胞のみを播種した。3 日および 7 日培養後、実体顕微鏡にて Disc 近傍における 2-23 細胞の写真を撮影し、各条件下での細胞の生存状態を比較検討した。(3) **コラーゲン線維形成能**: (2) と同条件にて 3 日および 7 日培養した 2-23 細胞に対し Picro Sirius Red 染色を行い、各条件下での細胞のコラーゲン線維形成について比較検討した。(4) **遺伝子発現**: (2) と同条件にて 3 日および 7 日培養した 2-23 細胞株から mRNA を抽出したのち、逆転写酵素を用いて cDNA を作製したのち定量的 RT-PCR を行い、コラーゲン遺伝子 (*COL-1* ならびに *COL-3*)、骨関連タンパク遺伝子 (*BMP-2* ならびに *OPN*)、および細胞増殖関連遺伝子 (*CCND1* ならびに *CCNE1*) の発現量について比較検討した。(5) **石灰化物形成能**: (2) と同条件にて 4 週培養した 2-23 細胞に対し Alizarin Red S 染色を行い、各条件下での石灰化物形成について比較検討した。本研究は、九州大学遺伝子組換え実験安全委員会の承認 (承認番号:27-76) の下で行った。

【結果と考察】GF-2、GF-BS、および WMTA のいずれの Disc 近傍においても、3 日および 7 日において Cont と同程度の生細胞が認められた。Picro Sirius Red 染色陽性領域は、3 日および 7 日のいずれにおいても、GF-BS と共培養した 2-23 細胞が他の Disc と共培養したものより有意に少なかった。遺伝子発現量は下に示す表の通りであった。Alizarin Red S 染色陽性石灰化物の形成は、Cont および GF-2 と共培養した 2-23 細胞では認められなかったが、GF-BS と共培養した細胞は WMTA と同程度の石灰化物を形成した。

以上の結果から、GF-BS はヒト歯根膜幹細胞株の線維芽細胞分化を抑制する一方、細胞増殖を促進し、WMTA と同程度の骨芽細胞様分化誘導能を有することが示唆された。

【結論】GF-BS は、ヒト歯根膜幹細胞株に対して細胞親和性および骨芽細胞様分化誘導能を示す。

Gene	Day3	Day7
<i>COL-1</i>	GF-BS < WMTA < GF-2 < Cont	GF-BS < WMTA < Cont ≒ GF-2
<i>COL-3</i>	GF-BS ≒ WMTA < Cont ≒ GF-2	Cont ≒ GF-BS ≒ WMTA < GF-2
<i>BMP-2</i>	Cont ≒ GF-2 < WMTA < GF-BS	Cont ≒ GF-2 ≒ WMTA < GF-BS
<i>OPN</i>	Cont ≒ GF-2 < GF-BS < WMTA	Cont ≒ GF-2 < GF-BS ≒ WMTA
<i>CCND1</i>	Cont < GF-2 < WMTA < GF-BS	Cont ≒ GF-2 ≒ WMTA < GF-BS
<i>CCNE1</i>	Cont ≒ GF-2 ≒ GF-BS < WMTA	Cont ≒ GF-2 ≒ WMTA < GF-BS

Table: Gene expression of 2-23 cultured with sealer discs

感染根管歯の歯髄再生における根尖孔外除菌の重要性

¹国立長寿医療研究センター ジェロサイエンス研究センター 再生歯科医療研究室
²RD 歯科クリニック

○庵原耕一郎¹、Ziauddin SM¹、富永 三千代¹、中島美砂子^{1,2}

Complete disinfection in the apical region is essential for pulp regeneration in the periapical disease

¹National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, Geroscience Research Center, Regenerative Dental Medicine
²RD Dental Clinic

○Koichiro Iohara¹, Ziauddin SM¹, Michiyo Tominaga¹, Misako Nakashima^{1,2}

【背景】これまで私共は抜髄歯を対象とした歯髄幹細胞を用いた歯髄再生治療を行ってきた。しかしながら、実際には根管治療を必要とする症例は抜髄歯より感染根管歯の方が数倍多い。しかも、通常、感染根管治療の予後は抜髄に直接的に関わるため、歯髄再生治療により歯髄・象牙質複合体を元通り回復させるニーズは、感染根管歯の方が抜髄歯よりも数段高い。よって私共は、感染根管の歯髄再生治療を行うにあたり、ナノバブル薬剤導入法による根管内除菌法を開発してきた。すなわち、ナノバブル水はスミヤー層やバイオフィルムを除去でき、象牙細管や側枝・副根管など1mm以上深部まで薬剤を浸透させることが可能であるため、イヌ感染根管モデルにおいて、抗菌薬含有ナノバブル水を用いて根管を洗浄・貼薬し、無菌化を確認後細胞移植すると歯髄を再生させることができた(中島、庵原 日歯保存誌 2021)。しかしながら、一部の根管において、釣菌で細菌が検出されなくても歯髄が再生されない場合があることがわかってきた。よって今回、感染根管歯の歯髄再生をより確実なものにするために、これまでと同様に犬感染根管モデルにおいて、釣菌による無菌化を確認して細胞移植した歯の組織切片のグラム染色を行い、根管内および根尖部歯周組織の細菌やバイオフィルムの残存状態と歯髄再生の関係を検討した(動物倫理番号:愛知医科大学 1685、長寿医療研究センター 動 2-17)。

【方法】

1. イヌ感染根管モデルの作製: ビーグル犬14~18か月齢において、左右上顎7番および下顎8番近・遠心根を通法どおりに抜髄後Kファイルにて拡大形成を行い、開放状態で2週間放置して感染させた。その後仮封してさらに2週間置き、感染根管モデルを作製した。また、根管より釣菌した細菌のレボフロキサシン感受性試験を行った。
2. イヌ感染根管モデルにおけるレボフロキサシン含有ナノバブル水等による除菌: 1の根管を釣菌後、次亜塩素酸ナトリウムおよび生理食塩水にて洗浄し、さらに、0.015%レボフロキサシン含有ナノバブル水により洗浄および貼薬し、仮封した。同様の操作を1~2週間ごとに3回目まで行った。釣菌したサンプルは段階希釈法にて播種し、2日間培養後コロニー数を計測した。
3. 根管治療後歯髄幹細胞移植による歯髄再生: 根管治療2か月後の根管内に歯髄幹細胞 5×10^5 個をG-CSF 150 ng とともに、根管口上部まで移植し、窩洞を封鎖した。移植2か月後に根尖部歯周組織を含めて歯を抜去し、通法通りパラフィン切片を作製し、HE染色およびグラム染色後、光学顕微鏡にて観察した。

【結果】根管を2週間開放後、2週間封鎖すると、根尖病変が形成されることをCBCTにて確認した。この根管から釣菌した細菌に対して感受性試験を行うと、レボフロキサシン0.015%以上で阻止円がみられた。根尖病変が確認された根管を0.015%レボフロキサシン含有ナノバブル水等で洗浄、貼薬したところ、適応前では根管内細菌数は $10^7 \sim 10^8$ cfu/mlであったが、1回目の適応で 10^4 cfu/ml にまで減少し、さらに2回目の適応で検出限界以下となった。これらの根管に歯髄幹細胞を移植すると、2か月後に12本中8本の根管で歯髄および根尖部歯周組織の再生がみられた。グラム染色を行うと、再生されなかった根管4本では共通して根尖孔外部に細菌およびバイオフィルムが検出された。一方、グラム染色により細菌が見られなかった根管では歯髄が再生されていたが、象牙細管内のみに細菌が検出された根管においても歯髄が再生された。

【考察】今回の結果より、釣菌により細菌が検出されなくても、象牙細管内や根尖孔外に細菌が残存している場合があることが明らかになった。しかしながら、細菌が象牙細管内深部に残存している場合は歯髄再生に影響を与えないと考えられた。一方、根管壁や根尖孔外に残存している場合は再生を阻害していると考えられた。今後、感染根管歯における歯髄再生の成功率を上げるために、より感度の高い細菌検査法および根尖孔外のバイオフィルム除去法などの開発が必要であると考えられる。

I型コラーゲン添加時における *Enterococcus faecalis* の遺伝子発現様態の解析

大阪歯科大学大学院 歯内治療学講座

○平川 陽基, 杉本 貞臣, 辻 則正, 稲本 雅之, 前田 博史

Analysis of gene expression profiles of *Enterococcus faecalis* induced by type I collagen

Department of Endodontics, Graduate School of Dentistry, Osaka Dental University

○HIRAKAWA Yoki, SUGIMOTO Sadaomi, TSUJI Norimasa, INAMOTO Takeshi, MAEDA Hiroshi

【目的】

通性嫌気性グラム陽性菌である *Enterococcus faecalis* は、バンコマイシン耐性菌として様々な感染症を起こす日和見細菌である。口腔内では、齲蝕、慢性歯周炎、そして非常に多くの難治性根尖性歯周炎で検出されている。本菌は象牙細管に侵入でき、プロテアーゼを生成する能力のあることが知られており、歯内療法を複雑にしている。しかしながら、ヒト象牙質コラーゲン分解に関与する遺伝子、そして機能を示した報告はない。コラーゲン分解の病態を解明することは、将来的に象牙質感染症の診断や治療に結びつく可能性が高い。

本研究では、*E. faecalis* 培養液にコラーゲンを添加した際の遺伝子発現様態の変化、ならびに菌体の性状変化について解析することを目的とする。

【材料および方法】

1. Transcriptome 解析: Type I collagen (新田ゼラチン) を添加した BHI 培地で *E. faecalis* ATCC19433 を培養し、対数増殖期の菌体より Total RNA を抽出した。RNA サンプルは、mRNA 濃縮、二本鎖 cDNA 合成、末端修復および連結、PCR 濃縮の後、NovaSeq 6000 を用いた発現解析に供試した。
2. RNA-Seq Bioinformatic 解析: Benjamini-Hochberg 補正法にて最初の仮説検定から有意な p 値を補正し、誤発見率 (FDR) を求め、差次的発現遺伝子 (DEG) は FDR<0.05 を用いて得た。Gene Ontology (GO) 遺伝子データベースを用いて DEG の機能に注釈をつけた。
3. MMP 活性測定: *E. faecalis* 菌体を破碎した後、SensoLyte^(R) 520 MMP Assay Kit *Fluorimetric* (Anaspec Inc.) を使用し、MMP-Generic, 1, 2, 8, 9 活性を測定した。
4. Gelatin zymography: *E. faecalis* 菌体を 0.1%ゼラチン基質の非還元条件下ザイモグラフィーで分析した。ゼラチナーゼ様活性は ImageJ ソフトウェアを使用して定量化した。
5. Gelatinase/Collagenase 活性測定: EnzChek^(R) Gelatinase Assay Kit (Molecular Probes.)、ならびに Type I Collagenase Assay kit (Cosmo Bio.) を使用し、*E. faecalis* 菌体の酵素活性を調べた。

【結果】

1. Transcriptome 解析では、Ratio>1.3 の Differential Abundance Protein (DAPs) をスクリーニングして、MMP 様分子を含む 3 種類のプロテアーゼが同定された。
2. MMP 活性測定では、菌体の MMP- Generic, 2, 8, 9 の活性がコラーゲン添加によって上昇した。
3. Gelatin zymography では、180kDa の高分子で強い分解活性があり、コラーゲン添加時において、より強い活性が示された。Gelatinase/Collagenase 活性測定においても、Type I collagen 添加によって活性の上昇が認められた。

【考察および結論】

E. faecalis が type I collagen と接触することによってコラーゲン分解と関連する遺伝子の発現が上昇する可能性が示唆された。type I collagen との接触によって菌体の酵素活性が上昇した結果は、*E. faecalis* が象牙質コラーゲンの分解、そして象牙質感染症の病態に関与している可能性を示唆するものと考えられる。今後は、組み換え蛋白質の構築と機能解析によって、象牙質感染症の分子機構の一端を解明していく予定である。

Terpinen-4-ol の根管内細菌に対する抗菌性の検討

九州大学大学院 歯学府 総合歯科学講座¹⁾、九州大学病院 口腔総合診療科²⁾

九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野³⁾

○神谷治伸¹⁾、原口晃²⁾、御手洗裕美²⁾、Fakatava Naati¹⁾、祐田明香²⁾、前田英史³⁾、和田尚久²⁾

Examination of antibacterial effects of Terpinen-4-ol on root canal bacteria

Division of Interdisciplinary Dentistry, Graduate School of Dental Science, Kyushu University¹⁾

Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital, Kyushu University²⁾

Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science,
Kyushu University³⁾

○Harunobu Kamiya¹⁾, Akira Haraguchi²⁾, Hiromi Mitarai²⁾, Natti Fakatava¹⁾, Asuka Yuda²⁾,
Hidefumi Maeda³⁾, Naohisa Wada²⁾

【背景】

根尖性歯周炎は歯周病と同様に細菌による感染症である。根尖病変からは *Enterococcus faecalis* (*E. f*)をはじめ各種細菌が検出確認されている。感染根管治療における根管貼薬剤では現在よく使用されているのはヨードグリセリン、グアヤコール、バラクロルフェノールそして水酸化カルシウムなどが挙げられる。貼薬剤による殺菌効果、持続時間、貼薬剤除去方法を考えるとそれぞれの試薬は一長一短の特徴があり、使用法を間違えば耐性菌の誘発及び貼薬剤の抗菌スペクトル外の細菌の繁殖を促し、根管治療を難治化することが考えられる。

Natural Oil は天然成分由来の精油であり、Tea Tree Oil (TTO)、Manuka Oil (MO)は、抗菌、抗炎症、抗ウイルス特性があることが知られているため、医科の領域では、足白癬、アトピー性皮膚炎、カンジダ症に有効性があると報告されている。また、TTO、MO の主要成分である Terpinen-4-ol は *Staphylococcus* 属や *Candida albicans* などの細菌に対する抗菌性を有するという報告はあるが、根管内、根尖孔外を対象とした細菌について十分に検討されていない。今回の研究では根尖性歯周炎から検出されている *E. f*、*Porphyromonas gingivalis* (*P. g*)、*Prevotella intermedia* (*P. i*)、*Fusobacterium nucleatum* (*F. n*)を使用して、Natural Oil とその主要成分である Terpinen-4-ol による殺菌効果、バイオフィーム剥離効果および細胞に対する影響を検討した。

【材料及び方法】

- ・使用試薬： TTO、MO、Terpinen-4-ol、Dimethyl sulfoxide (DMSO：希釈溶媒として使用)
- ・使用菌株：*E. f* ATCC 29212、*P. g* ATCC 33277、*P. i* ATCC 25611、*F. n* ATCC 25586
- ・TTO、MO、DMSO、Terpinen-4-ol の各種細菌に対する最小発育阻止濃度の検討を行った。
- ・歯根膜細胞株 (九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会 (番号：30-167)、九州大学遺伝子組み換え実験安全委員会 (番号：27-76)) に対する DMSO の為害性の検討を行った。
- ・各種細菌の処理後のバイオフィームに対して剥離効果の検討を行った。また走査電子顕微鏡 (SEM) にて菌体の観察を行った。

【結果及び考察】

TTO、MO を用いた *E. f* に対する実験では TTO 4.7%以上、MO 0.24%以上の濃度で完全に増殖を抑制した。希釈溶媒として用いた DMSO の各種細菌と歯根膜細胞株への為害性を検討したところ、1.0%以下で細菌、細胞の増殖に影響を与えなかったことから、DMSO 1.0%にて以降の検討を行った。Terpinen-4-ol を用いた各種細菌に対する実験では *E. f*、*F. n* 0.25%以上、*P. g* 0.05%以上、*P. i* 0.1%以上の濃度で完全に増殖を抑制した。バイオフィーム剥離実験では濃度依存的に剥離が認められた。SEM 観察では、各菌において菌体凝集の減少、菌体構造の破壊像を認めた。Terpinen-4-ol は、根管内、根尖孔外にて検出される細菌に対して増殖抑制効果、バイオフィーム剥離効果を有することが示され、根管貼薬剤として有用である可能性が示唆された。

歯内治療が原因で菌血症となった単心室症患者の症例報告とその対応策の提案

岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野¹⁾, 岡山大学病院 歯科 歯周科部門²⁾

○児玉 加奈子¹⁾, 井手口 英隆¹⁾, 岡本 憲太郎²⁾, 佐光 秀文²⁾, 松本 俊樹¹⁾,
大森 一弘²⁾, 山本 直史¹⁾, 高柴 正悟¹⁾

Case Report and Countermeasure Suggestion of Bacteremia in Single Ventricle Patient Caused by Endodontic Treatment

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

²⁾ Department of Periodontics and Endodontics, Division of Dentistry, Okayama University Hospital
OKODAMA Kanako¹⁾, IDEGUCHI Hidetaka¹⁾, OKAMOTO Kentaro²⁾, SAKO Hidefumi²⁾, MATSUMOTO Toshiki¹⁾,
OMORI Kazuhiro²⁾, YAMAMOTO Tadashi¹⁾, TAKASHIBA Shogo¹⁾

【緒言】

日常的に行う歯科処置は侵襲的なものが多く、スケーリングやブラッシングであっても菌血症を引き起こすリスクがある (Roberts GJ *et al. Int J Cardiol*, 1992)。特に、感染性心内膜炎の高リスク患者に対しては、歯科治療前の抗菌薬の予防投与や、感染に配慮した処置を行うことなどが日本循環器学会のガイドラインに明記されている。しかし、基礎心疾患の既往がある患者に予防投与を行う一般開業歯科医師は半数にも満たず、さらにその8割は適切な用量での処方できていないとの報告がある (Nomura R *et al. Odontology*, 2018)。今回、先天性心疾患の一つである単心室症の若年患者が歯内治療後に発熱し、菌血症によって緊急入院となった症例を経験した。本発表を通して、一般的な歯科処置が菌血症の発症に関与する可能性を再認識し、基礎心疾患を有する患者に対する口腔感染管理の重要性と対策を考察した。

【患者】 20歳、男性、大学生、身長 167.3 cm、体重 51.8 kg、アレルギー (バンコマイシン、ラテックス)

【全身既往歴】

1) 疾病：単心室症、多脾症、肝臓内多発性結節；2) 手術：両大静脈肺静脈吻合手術 (1歳9カ月)、フォンタン手術 (1歳11カ月)、ペースメーカー除去 (6歳)；3) 服薬 (現在)：メインテート (β受容体遮断薬)、フロセミド、スピロラクトン (ともに利尿薬)、ワーファリン (抗凝固薬)

【歯科既往歴】

1) 医科救急受診 28日前：一般開業歯科医院で37の慢性根尖性歯周炎の診断のもと、感染根管治療を開始 (抗菌薬予防投与無)；2) 20日前：根管拡大 (予防投与無)；3) 17日前：打診痛が発現し、抗菌薬 (セフカペンピボキシル塩酸塩) を処方；4) 14日前：根管拡大と根管貼薬 (水酸化カルシウム製剤) を行い、同抗菌薬を再処方；5) 7日前：根管拡大 (予防投与無)

【治療経過】

1) 医科救急受診当日：夜間から早朝にかけて悪寒、戦慄、発熱を自覚し、岡山大学病院・循環器内科を救急受診した。履歴から歯性感染による菌血症が疑われ、歯周科部門へ紹介され、37の急性根尖性歯周炎と診断した。感染性心内膜炎のリスクが高いことから緊急入院となり、ガイドラインに沿って経験的抗菌療法 {バンコマイシン：1g×2回/日、ダゾピペ (βラクタマーゼ系複合薬)：4.5g×4回/日} が開始された。検査値：39.3℃ (体温)、6.56 mg/dL (CRP)、6,820/μL (白血球数)、血培 (-)；2) 2日後：CBCT撮像によって37根尖病変の下歯槽管への近接を確認した。38.1℃、7.64 mg/dL、2,970/μL、血培 (-)；3) 5日後：ラバーダム (ノンラテックス) 防湿下にて感染根管治療を再開した。遠心根根尖部の穿孔を確認し、生理食塩水で洗浄した。36.6℃、1.62 mg/dL、3,790/μL、血培 (-)；4) 8日後：遠心根を#70で形成し、水酸化カルシウム製剤を貼薬した。36.5℃、0.87 mg/dL、4,070/μL、血培 (-)；5) 12日後：根管充填後に全身状態を確認して、翌日に退院した。36.3℃、0.65 mg/dL、3,690/μL、血培 (-)

【感染性心内膜炎の高リスク患者に対する当診療科部門の対応】

岡山大学病院・成人先天性疾患センターと協力し、口腔感染巣が疑われる基礎心疾患患者に対しては、歯科的スクリーニングを行っている。それに加えて、患者本人が歯科処置前の抗菌薬投与の必要性を簡便に表明できるカードを成人先天性疾患センターで配布するシステムを作った。

【考察・まとめ】

近年、医学の進歩に伴って先天性心疾患患者の生存率は急速に伸びているので、感染性心内膜炎の高リスク患者に対する歯科治療の機会は今後さらに増加する。歯科医療従事者は感染性心内膜炎に対する医学的知識を再確認するとともに、歯科治療のリスクを常に意識しながら口腔感染症の治療を行う必要がある。

自家歯牙移植により上顎洞穿孔部の閉鎖を図った一例

東京歯科大学 歯内療法学講座

○文岩武司、佐古 亮、鈴木 穂、丹沢聖子、中里晴香、古澤成博

Closure of the oroantral communication by the autotransplantation of tooth: A case report

Department of Endodontics, Tokyo Dental College

○FUMIWA Takeshi, SAKO Ryo, SUZUKI Megumi, TANZAWA Seiko, NAKAZATO Haruka, FURUSAWA Masahiro

【緒言】

上顎大白歯部の抜歯の偶発症として上顎洞への穿孔がしばしば認められる。穿孔がやや大きい場合に、口腔前庭粘膜弁または口蓋の粘膜骨膜弁による封鎖術が必要となることがある。一方、移植時に生じた際は移植歯埋入により穿孔部を閉鎖するといった方法も行われている。今回、上顎右側第一大臼歯口蓋根抜歯時に併発した上顎洞への穿孔部に対して、上顎右側第三大白歯を移植することによって閉鎖を図り、経過が良好な症例について報告する。

【症例】

患者は40歳男性。上顎右側第一大臼歯口蓋根および上顎右側第二大臼歯の連続補綴物の脱離を主訴に来院した。上顎右側第一大臼歯口蓋根は歯根破折を認めたため、同歯の抜歯と上顎右側第三大白歯による自家歯牙移植を計画・実施した。上顎右側第一大臼歯口蓋根抜歯後に、上顎洞との交通を認めた。その後、移植歯である上顎右側第三大白歯を抜歯したが、その近遠心径、根形態が移植窩と適合しなかったため、該部の大きさに適合した上顎右側第三大白歯の近心頬側根を分割・植立し、3-0絹糸にて縫合固定した。炎症性歯根吸収は術後4～8週目に顕著であると報告されているため、その防止のため術後約3週間後に根管治療を開始し、水酸化カルシウム製剤による暫間充填を行った。術後約3か月後に根管充填を行った。また、術後約4か月後には最終補綴処置を行った。

【経過】

移植歯は術直後より歯根吸収及び歯周組織の異常を認めず、違和感なく咀嚼可能な状態が維持されていた。術後移植歯には自発痛、咬合痛、動揺および根尖部歯周組織の炎症所見は認められなかったが、移植歯歯周組織には骨吸収を伴う歯周ポケットが形成された。移植歯切断面の露出象牙質には相対する骨壁が存在しており、未分化間葉細胞の遊走によるセメント質、線維芽細胞、骨芽細胞による新付着を期待したが、同部には骨吸収と上皮の侵入を認めた。2年6か月後のCT所見では、根尖部と上顎洞底部組織との間に骨様組織を思わせるエックス線不透過像が認められた。

【考察】

移植歯周囲の骨吸収及び歯周ポケットの形成は、移植歯を深く植立したことに加え、移植歯切断側の歯根膜組織の欠如による影響が考えられた。また、移植歯根尖部の骨様組織形成から歯槽部より移植歯の歯根が露出した場合においても、適正な根管治療後には根尖周囲に骨様組織形成が期待できることが示唆された。本症例では移植歯として分割歯を用いたが、歯根分割を要しない移植歯を用いることのできる症例では、より良好な経過を望むことができるものと思われた。

【結論】

自家歯牙移植は欠損補綴に寄与するとともに、上顎洞穿孔症例に対する該部の閉鎖に、有効な治療法であると考えられた。

コーンビームCTを用いた上下顎第三大臼歯の根管形態評価

東京医科歯科大学 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

○添田比呂子, 渡辺聡, 興地隆史

Cone-beam Computed Tomography Analysis of Root Canal Configuration of Maxillary and Mandibular Third Molars

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

○SOEDA Hiroko, WATANABE Satoshi, and OKIJI Takashi

【緒言】

根管治療においては、壊死組織や根管壁感染象牙質の除去を複雑な根管形態の中で達成しなければならないため、歯種ごとの根管形態のバリエーションの十分な把握が肝要である。第三大臼歯の根管治療の機会は多くないが、これらが他部位に移植され根管治療を要する症例もあり、根管形態の多様性から根管探索に苦慮することが経験される。一方、近年歯科用コーンビームCT(CBCT)の根管形態評価への有用性が報告されているが、本法を用いた日本人の第三大臼歯の根管形態についての報告は見当たらない。本研究の目的は、CBCTを用いて日本人の第三大臼歯の根管形態を後ろ向きに評価することである。

【材料および方法】

2013年1月から2014年12月の間に東京医科歯科大学歯学部附属病院でCBCT(Fine Cube, ヨシダ, 管電圧90kV, 管電流4.0mA)にて標準撮影モード(voxel size: 0.157×0.157×0.144mm, 撮像領域: φ81mm, H74mm)で撮影された16-81歳の患者623名(男性192名, 女性431名; 平均42.0歳)を対象とした(倫理審査番号: D2019-32)。う蝕、修復物、根管治療の既往がなく歯根が完成した上顎第三大臼歯197歯、下顎第三大臼歯68歯を被験歯とし、専用ビューアー(Fine Cube Viewer, ヨシダ)で歯軸と直交する3方向の断面像を構成し、2名の歯科医師が歯根・根管数、歯根長および根管分岐部/合流部の位置(セメントエナメル境からの距離)を解析するとともに、歯根の癒合を記録した。

【結果】

上顎第三大臼歯では、歯根数は単根50.7%、2根12.7%、3根30.7%、4根5.8%、また根管数は単根管27.0%、2根管21.7%、3根管30.7%、4根管20.1%、5根管0.5%であった。3根管性の歯は3根3根管17.5%、2根3根管10.6%、単根3根管7.9%に分類された。近心側第2根管は14.3%で認められた。下顎第三大臼歯は単根29.4%、2根69.1%、3根性1.5%で、根管形態は単根管8.8%、2根管51.5%、3根管27.9%、槓状根管11.7%に分類された。2根管性の歯は2根2根管42.6%と単根2根管8.8%に、また3根管性は2根3根管25.0%と3根3根管1.5%に分類された。歯根の癒合は上顎34.4%、下顎22.1%で生じ、根管最終分岐/合流部は上下顎ともに根尖1/3部で高頻度であった。

【考察】

従来の根管形態の分類(Weine, 1982, Vertucci, 1974)では歯根数、あるいは複根歯での根管の分岐状態が考慮されていないため、これを改善した新分類が提唱されている(Ahmad et al, 2017)。本研究ではAhmadの分類に準じて3根管性上顎第三大臼歯を分類し、これらが細区分されることを見出した。一方、中国人の抜去第三大臼歯をMicro CTで解析した報告(Zhang, 2013)では、上顎では単根単根管25.4%、3根3根管23.8%が多く本報と同様の傾向であるが、下顎では2根2根管性31.5%、2根3根管性14.6%、槓状根管28.4%が高頻度で、本報と相違している。他方、タイ人の抜去下顎第三大臼歯を透明標本で解析した報告(Gulabivala, 2002)では、単根管6.4%、2根管61.1%、3根管28.3%、槓状根管10.9%と本研究と同様の傾向が示されている。これらの報告間の相違には、人種、観察方法、標本数などさまざまな要因が関連すると思われる。

【結論】

本研究で得られた根管数のデータは日本人の第三大臼歯における根管探索時の指標として有用と考えられ、特に上顎第三大臼歯では根管数のバリエーションを十分に考慮して根管探索を行うべきことが明瞭に示唆された。

光透過性ファイバーポストを用いた支台築造システムの 根管モデル深部における光重合型築造用レジンの重合率に関する検討

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野,

²九州歯科大学健康増進学講座LD教育推進学分野,

³九州歯科大学口腔機能学講座生体材料学分野

○三浦弘喜¹, 吉居慎二², 池田 弘³, 北村知昭¹

Conversion Degree of Light-Cured Core Resin in a Construction System with Light-Transmitting Fiber Post at Deep Area of the Root Canal Model

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, ²Division of Promoting Learning Design Education, Department of Health Promotion, ³Division of Biomaterials, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

○MIURA Hiroki¹, YOSHII Shinji², IKEDA Hirokshi³, KITAMURA Chiaki¹

【目的】

近年、メタルコアポストに代わり多用されている築造用レジンとファイバーポストを用いた支台築造システムに求められる要件として根管深部における築造用レジンの重合がある。これまでの研究報告では根管深部の築造用レジンの重合率は重合開始から一定時間経過後の硬化状態を指標として評価されていた。今回、光透過性の高いファイバーポストと光重合型築造用レジンで構成された支台築造システムを用い、根管深部における築造用レジンの重合率を赤外線分光法により分析した。

【材料と方法】

実験では i-TFC ルミナスファイバー (直径 1.6 mm, Sun Medical) と i-TFC ルミナスコア LC フロー (Sun Medical) を使用した。また、テフロンチューブ (直径 5 mm) と中心に孔を開けた透明アクリル板 (厚さ 2 mm) を使用し、テフロンチューブ上部に配置したアクリル板から根尖側に相当する測定面までの距離が 5, 9, 18 mm となる 3 種類の根管ポストモデルを作製した。根管ポストモデル側面はシリコーンで遮光した。3 種類のモデルに対して築造用レジン充填後にアクリル板の孔から根管と同じ長さのファイバーポストを挿入した群 (fiberpost 群) と築造用レジン充填のみでファイバーポストを挿入していない群 (non-fiberpost 群) の 2 群 (各試料の n = 3) を作製し G-ライトプリマ (GC) で各試料直上より 30 秒間の光照射を行った。ポジティブコントロールとして厚み 1 mm 程度の築造用レジンを 120 秒間光照射で重合した試料を作製した。築造用レジンの測定面における重合率は、重合前後の赤外吸収スペクトルをフーリエ変換型赤外吸収分光分析装置 (FT-IR; IRSpirit, 島津製作所) で測定し赤外吸収スペクトルにおける C=C の吸収ピークの強度比から算出した。各試料の重合率は一元配置分散分析と Tukey 検定にて比較した。

【結果】

fiberpost 群の長さ 5, 9, 18 mm の各試料の重合率はそれぞれ 57.8 ± 2.6%, 54.0 ± 2.6%, 49.7 ± 1.9% であった。これらの値は、ポジティブコントロールの重合率 (58.8 ± 2.1%) と有意差がなかった。non-fiberpost 群の長さ 5, 9 の各試料の重合率はそれぞれ 51.6 ± 5.5%, 49.3 ± 0.3% であり、ポジティブコントロールおよび fiberpost 群における試料の重合率と有意差はなかった。一方、non-fiberpost 群の長さ 18 mm の試料は重合率が 31.0 ± 11.6% であり、ポジティブコントロールおよびその他全ての群と比較して有意差を認めた。

【考察】

長さ 18 mm の根管ポストモデルにおける測定結果であるファイバーポスト未挿入時の低いレジン重合率とファイバーポスト挿入時の高いレジン重合率は、ファイバーポストを介して根管ポストモデル深部まで到達した照射光で築造用レジンが効率よく重合したことを示している。以上の結果は、根管深部の築造用レジンの高い重合率を獲得する上で光透過性の高いファイバーポストと光重合型築造用レジンから構成される支台築造システムは有用であることを示唆している。

【結論】

光透過性の高いファイバーポストと光重合型築造用レジンから構成される支台築造システムではファイバーポスト先端の築造用レジンが高い重合率を示す。

歯科治療に用いるデジタル拡大鏡の有効性について

鶴見大学歯学部 歯内療法学講座

○吉田拓正、吉田 凌、山崎泰志、山本祐子、細矢哲康

Investigation on the effectiveness of digital loupes for dentistry

Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine

○YOSHIDA Takumasa, YOSHIDA Ryo, YAMAZAKI Yasushi, YAMAMOTO Yuko, HOSOYA Noriyasu

【目的】

通常、歯科用拡大鏡は倍率が固定されており、対照歯や対象部位によっては、倍率の不足や過度な拡大になることがある。そこで、即座に無段階かつ頻繁な倍率の変更が可能である拡大鏡の開発を目的に、既存の眼鏡型ウェアラブルデバイスと小型ビデオカメラを組み合わせた歯科用デジタル拡大鏡を考案し、有効性と問題点について検討した。

【材料および方法】

被験材料は、眼鏡型ウェアラブルデバイス (MOVERIO BT-35E, エプソン) に小型の Full HD ビデオカメラ (EduCam, Futudent, Finland) を付与した装置 (デジタル拡大鏡) である。比較コントロールは、臨床で既に使用されている光学拡大鏡 (2.5 倍 MiCD ルーペ 910133-11, 松風) (光学群) とした。デジタル拡大鏡は、低拡大の 2.5 倍 (D2.5 群) ならびに高拡大の 5 倍 (D5 群) とし、ビデオカメラの画像をウェアラブルデバイスにミラーリングした。被験者は、本講座の 6 名の医局員 (臨床経験; 4.6 ± 2.2 年) とした。

全ての被験者は、3 種類の被験材料を装着し、顎模型に装着した平坦な咬合面に十字がプリントされた下顎左側第一大臼歯模型 (A2AN-97, ニッシン) の形成を行った。形成にはダイヤモンドポイント (FG301, 松風) を用いて、十字にプリントされた線の内側に沿って深さ 1 mm の窩洞を形成するように指示した。形成状態を評価するために、形成前後の模型歯を規格撮影し、切削の過不足に関してイメージ J (NIH, USA) を用いて計測した。また、形成に要した時間を切削開始から終了までとして計測した。形成した窩洞は、学生基礎実習の指導者 2 名が、深さと窩底の均一性について各 5 点で評価した。さらに形成後の被験者に対して、画像表示の遅延、立体感覚、画像の見やすさ、ならびにデジタル拡大鏡に関する感想について聞き取り調査を行った。窩洞形成の過不足、形成時間は Steel-Dwass 法、実習指導者の評価は Student-*t* 検定を用いて危険率 5%未満で統計学的検索を行った。

【結果】

デジタル拡大鏡は光学拡大鏡に比べ、不足あるいは過剰切削部分の距離が長い傾向があり、とくに低拡大で顕著であったが有意差は認められなかった。過不足切削部分を面積で比較すると、合計で D2.5 群と光学群間で有意差が認められた。窩洞形成に要する時間は、光学群で 61.96 ± 16.11 秒であり、デジタル拡大鏡の使用では長くなる傾向が認められたが有意差はなかった。指導者の評価では、深さならびに窩底の均一性に関して、デジタル拡大鏡が劣っており、D2.5 群ならびに D5 群と光学群間に有意差が認められた。聞き取り調査では、立体感が得られず窩洞の深さが分かりづらかったが、表示された画像表示の遅延はなく、画像に慣れることで十分に応用できるとの感想であった。

【考察】

本研究で使用したビデオカメラは光学拡大鏡像に比べると鮮明性に劣り、また視覚画像の濃度が薄いために透過する部分が認められた。デジタル拡大鏡を用いた窩洞形成での不足あるいは過剰な切削は、画像の鮮明性不足によると思われるが、拡大率を上げることで光学群との差は解消されるようである。窩洞形成に要する時間に差がなかったことから、デジタル拡大鏡の低拡大での使用は、鮮明性の劣化に気がつかないで使用した可能性がある。デジタル拡大鏡における深さや窩底の不均一性は、両眼に入力する画像情報が単一のビデオカメラによる同一情報であるため、視差が生じずに立体視が困難であり、十分な対応ができなかったためと思われる。本研究の被験者は、日常臨床では光学拡大鏡を使い慣れていることもあり、デジタル拡大鏡の効果が十分に得られなかった可能性もある。

【結論】

本研究で用いたデジタル拡大鏡は、立体視に劣る点があったが、可変的な倍率の設定が可能であり、表層の診査や治療における臨床的な有効性が示唆された。

高グルコース濃度下でのヒト歯肉由来血管内皮細胞への影響

1. 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科歯周機能治療学
2. 日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座
3. 日本歯科大学新潟病院総合診療科

○鈴木亮太郎¹ 丸山昂介² 清水 豊³ 佐藤柚香里¹ 八板直道¹ 佐藤遥香¹ 両角祐子² 佐藤 聡^{1, 2, 3}

Influence On Human Periodontal Gingival Endothelial Cell Under High Glucose Condition

1. Periodontology, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
2. Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
3. Comprehensive Dental Care at Niigata Hospital, The Nippon Dental University

○Ryotaro Suzuki¹, Kosuke Maruyama², Yutaka Shimizu³, Yukari Sato¹, Naomichi Yaita¹
Haruka Sato¹, Yuko Morozumi², Soh Sato^{1,2,3}

【緒言】

歯周病は、世界人口の20%~50%が発症しているといわれるほど有病率が高い。歯周病原細菌が原因となる慢性感染症であり、歯周病原細菌に感染することにより、歯周組織の炎症が惹起され、歯槽骨の吸収や組織の破壊などが起こると考えられている。また、歯周病原細菌が産生するLipopolysaccharide (LPS) は、心疾患や肝疾患などの全身疾患に影響を与えていることが報告されている。歯周病が影響を及ぼす代表的な疾患である糖尿病は、生活習慣病であり、現在世界中において罹患率が増加の一途をたどっている。近年の研究では、歯周病原細菌が歯周組織の血管を介し全身に広がることで、炎症性サイトカインが増加し、インスリンの作用を抑制させ、糖尿病の病態を悪化・進行させることが報告されている。本研究では、ヒト歯肉由来血管内皮細胞 (HGEC) を用いて糖尿病患者における歯周組織の病態変化を明らかにすることを目的としている。

【材料および方法】

ヒト歯肉細胞は、抜去歯に付着した歯肉組織から獲得し、獲得したヒト歯肉細胞から、抗CD31抗体コーティング・マグネットビーズを用いて、HGECを分離培養した。獲得したHGECは、グルコースを添加した培地 (5.5mM, 11.0mM, 22.0mM) にて培養を行った。測定項目は、a) 細胞増殖: 細胞を 1.5×10^3 cells/100 μ l に調整し、細胞数は、トリパンブルー染色を行い、セルカウンターを用いて、経時的に測定した (培養1, 2, 4, 6, 8日)。b) アポトーシス: 1.0×10^4 cells/100 μ l に調整し、フローサイトメトリーを用いて、アポトーシス陽性細胞の割合を経時的に測定した (培養2, 4, 6日)。c) tube formation: 2.0×10^4 cells/100 μ l に調整し、マトリゲル基質上にて培養を行った。観察は、倒立位相差顕微鏡を用いて24時間行った。d) 細胞間接着因子: 接着因子 (ICAM-1, VCAM-1) の測定は、Real-time PCRにて経時的に行った (培養2, 6日)。統計は、一元配置分散分析を行い、Turkey検定を用いた。

本研究は、日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った (許可番号: ECNG-H-163)。

【結果】

各濃度のHGECの細胞増殖は、培養4~6日の間に増殖を示し、培養8日で一定となった。グルコース濃度が高濃度になるにつれ、増殖が抑制された。各濃度のHGECは、培養2, 4, 6日でアポトーシス陽性細胞の割合が増加した。培養6日目では、5.5mMと22.0mMに有意差を認めた。各濃度のHGECは管腔形成を認めた。5.5mMのHGECは、播種後12時間で管腔形成を維持していた。11.0mMと22.0mMは、播種後12時間で管腔形成の崩壊を認めた。ICAM-1, VCAM-1の遺伝子発現量は、培養2日で各濃度において差を認めなかった。培養6日目では、各濃度においてICAM-1, VCAM-1ともに、遺伝子発現量が増加する傾向が見られた。

【まとめ】

HGECを高グルコース条件下で培養した場合、細胞増殖は抑制し、アポトーシス陽性細胞の割合が増加する傾向を認めた。また、グルコース濃度が高い場合、HGECの管腔形成を認めたが、管腔の維持時間が短くなる傾向を示し、ICAM-1, VCAM-1の遺伝子発現量の増加傾向を示した。

以上のことから、高グルコース条件下では、歯周組織の生理的活性を低下させ、炎症をより悪化させる可能性があると考えられる。

エラスターゼの歯肉上皮バリア傷害作用を介した歯周組織破壊機序の解析

新潟大学大学院医歯学総合研究科

¹歯周診断・再建学分野, ²高度口腔機能教育研究センター, ³微生物感染症学分野
○日吉 巧^{1,2,3}, 土門久哲^{2,3}, 前川知樹^{1,2,3}, 田村 光^{1,3}, 笹川花梨^{1,3}, 多部田康一¹

Elastase aggravates periodontitis by disrupting gingival epithelial barrier

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences,

¹ Division of Periodontology, ² Center for Advanced Oral Science,

³ Division of Microbiology and Infectious Diseases

○Takumi Hiyoshi^{1,2,3}, Hisanori Domon^{2,3}, Tomoki Maekawa^{1,2,3},

Hikaru Tamura^{1,3}, Karin Sasagawa^{1,3}, Koichi Tabeta¹

【目的】

エラスターゼは、好中球に内在する標的範囲の広いプロテアーゼであり、感染防御に機能する。一方で、好中球から漏れ出たエラスターゼは、宿主組織に対し融解作用を示す。歯周炎において、歯肉溝浸出液のエラスターゼ活性と重症度には正の相関関係が報告されているが、病態形成におけるエラスターゼの動態および組織破壊への作用機序は不明である。そこで本研究では、マウス歯牙結紮歯周炎モデルを用いて、歯周炎の病態形成におけるエラスターゼの局在を解析し、エラスターゼ阻害剤による歯周炎の進行抑制作用を検討した。また、エラスターゼが歯肉上皮組織に及ぼす影響を、ヒト歯肉上皮モデルにおいて試験した。さらに、エラスターゼが有する細胞接着分子分解作用を解析し、歯周組織破壊に係る機序を検討した。

【材料と方法】

本研究は新潟大学動物倫理委員会の審査・承認を得た上で実施した(承認番号 SA00451)。Balb/c マウス(8週齢)の上顎第二臼歯に絹糸を結紮し、歯周炎を誘発した。結紮後8日目に同歯周炎モデルマウスの歯周組織を採取し、免疫組織染色法にて歯肉中の好中球およびエラスターゼの局在を観察した。また、エラスターゼに特異的な基質を用いて、歯肉中のエラスターゼ活性を健常群と比較定量した。さらに、歯周炎モデルマウスの口蓋歯肉に、1日1回、計7日間ハミルトンシリンジを用いてエラスターゼ阻害剤(50 $\mu\text{g}/5 \mu\text{L}$)を局所投与し、歯肉中炎症性サイトカイン転写量および歯槽骨吸収量をPBS投与群と比較した。また、ヒト三次元歯肉上皮モデルにエラスターゼ(100 mU/mL)を添加し、12時間後にヘマトキシリン・エオジン染色を行った凍結切片を顕鏡した。次に、同上皮モデルにおける細胞接着分子デスマグレイン1の局在を、免疫組織染色法にて観察した。続いて、歯肉上皮のバリア機能に与える影響を解析するため、エラスターゼを添加した歯肉上皮細胞単層膜を通過するFITC-デキストランもしくは歯周病原細菌数(*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* および *Prevotella intermedia*)を計測した。さらに、細胞接着分子オクルーディンおよびE-カドヘリンに対するエラスターゼの分解作用を、タンパク質ゲル染色法にて解析した。

【結果と考察】

歯周炎モデルマウスは、健常群と比較して、歯周組織におけるLy6G陽性好中球の浸潤数およびエラスターゼ発現が増加した。また、歯周炎モデルマウスにおける歯肉中のエラスターゼ活性は有意に増加した。さらに、エラスターゼ阻害剤の投与により、歯肉中のエラスターゼ活性は抑制され、炎症性サイトカイン転写量および歯槽骨吸収量は減少した。ヒト三次元歯肉上皮モデルにおいて、エラスターゼの添加により、デスマグレイン1は分解され、角質層の剥離が誘導された。また、エラスターゼの添加により、歯肉上皮細胞単層膜を通過するFITC-デキストランおよび歯周病原細菌数は有意に増加した。さらに、エラスターゼは細胞接着分子群を濃度依存的に分解した。このことから、エラスターゼの細胞接着分子分解作用が、歯肉上皮バリアを傷害し、細菌感染を拡大させることが明らかになった。また、エラスターゼ阻害剤の投与により、歯周炎の進行が抑制されることが示された。

【結論】

歯周炎における組織破壊に、エラスターゼの歯肉上皮バリア傷害作用が関与し、エラスターゼ阻害剤が新規歯周炎治療薬となる可能性が示唆された。

老齢マウスにおける DEL-1 を介した骨代謝機構の制御

¹新潟大学医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野, ²新潟大学大学院医歯学総合研究科 微生物感染症学分野, ³新潟大学大学院医歯学総合研究科 高度口腔機能教育研究センター
 ○田村 光^{1,2}, 前川知樹^{1,2,3}, 土門久哲^{2,3}, 日吉 巧^{1,2,3}, 多部田康一¹

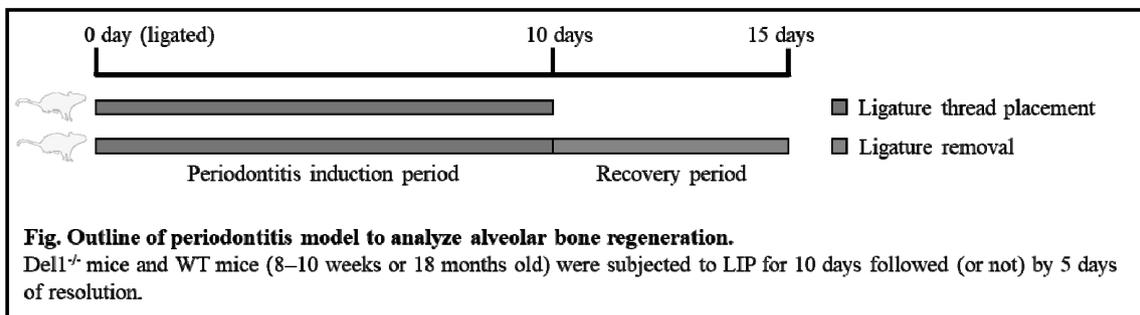
Bone metabolism regulation of DEL-1 in aged mouse model.

¹Division of Periodontology, Niigata University, ²Research Center for Advanced Oral Science, Niigata University, ³Division of Microbiology and Infectious Diseases, Niigata University.

○HIKARU Tamura^{1,2}, TOMOKI Maekawa^{1,2,3}, HISANORI Doman^{2,3}, TAKUMI Hiyoshi^{1,2,3}, KOICHI Tabeta¹

【目的】我々はこれまでに、マクロライド系抗菌薬エリスロマイシンが、DEL-1 誘導を介して炎症組織への過度な好中球の浸潤を抑制すること、また炎症性サイトカインおよび破骨細胞分化関連因子の発現を抑制することによって、歯周炎における炎症および骨吸収を抑制することを報告した。その際に DEL-1 は、炎症寛解後の骨再生誘導作用を持つという知見を得た。また DEL-1 は加齢に伴い発現が減少することから、DEL-1 と骨代謝との関連を歯周組織に存在する老化細胞に着目し、老齢マウスにおける歯周炎と DEL-1 の効果を検証した。

【材料と方法】10 日間の歯牙結紮により歯槽骨吸収を誘導した後、結紮糸を除去してその後の骨再生量を解析する実験的歯周炎モデルを野生型および DEL-1 欠損マウス (週齢 8-10 週) に応用した (Fig.)。結紮糸除去後の炎症寛解期にエリスロマイシン (20 μg) および DEL-1 (1 μg) を腹腔内に投与した。結紮糸除去から 5 日後に上顎骨を回収し、歯槽骨変化量を測定した。さらに老齢マウス (月齢 18 ヶ月) を用いて同様の実験的歯周病モデルを応用し、DEL-1 が老化と骨代謝に与える影響を網羅的に解析した。続いて老化細胞と DEL-1 および歯周病病態の関連を解析するために、老齢マウス (月齢 18 ヶ月) 歯周組織中の老化細胞除去を試みた。老齢マウスにグルタミナーゼ (GLS1) 阻害薬である BPTES (Bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide : (0.25 mg)) を 28 日間に 9 回腹腔内投与し、老化細胞を除去した。BPTES 投与終了 10 日後に上顎骨および歯肉を回収し、歯槽骨レベルおよび歯周組織中の DEL-1 発現を解析した。動物実験は、新潟大学動物倫理委員会の承認のもと、新潟大学動物実験規定に則って、実施した (承認番号 : SA00960)。



【結果と考察】野生型マウス歯周炎モデルでは、非投与群、エリスロマイシン投与群および DEL-1 投与群において骨代謝が変動し歯槽骨レベルに変化が認められたが、DEL-1 欠損マウスでは非投与群およびエリスロマイシン投与群に変化がみられなかった。老齢マウスにおいては、エリスロマイシン投与群および DEL-1 投与群において骨代謝への影響が認められたことから、DEL-1 は若齢および老齢マウスにおいて骨代謝に対して重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、老齢マウスは加齢に伴う歯槽骨吸収が認められるとともに、歯周炎に対する可塑性が低下し、歯槽骨再生能が減少していることや、老化細胞を除去した老齢マウスではわずかに歯槽骨再生が生じる可能性が示唆された。

低分子化合物を用いた直接誘導での機能性ヒト骨芽細胞の創出

京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学¹

京都府立医科大学大学院 医学研究科 免疫学²

○岸本紗季^{1,2}, 山本健太^{1,2}, 小野龍太郎¹, 足立圭司¹,

大迫文重¹, 山本俊郎¹, 金村成智¹

Directly induced functional human osteoblasts derived by small compounds

Department of Dental Medicine¹ and Immunology², Graduate School of Medical Science,

Kyoto Prefectural University of Medicine

○Saki Kishimoto^{1,2}, Kenta Yamamoto^{1,2}, Ryutarō Ono¹, Keiji Adachi¹,

Fumishige Oseko¹, Toshiro Yamamoto¹, Narisato Kanamura¹

【目的】

重度の辺縁性歯周炎や根尖性歯周炎による歯槽骨欠損や、顎骨腫瘍や嚢胞による骨吸収、変形性関節症の進行に伴う骨破壊により患者の QOL と ADL は著しく低下する。

骨基質を生成することにより、骨の形成とリモデリングにおいて中心的な役割を果たす機能的な骨芽細胞をヒト体細胞より迅速・簡便・安全に創出することが出来れば、上記骨疾患に対する効果的な治療となりうる。

これまでに我々は、特定の転写因子を導入することで、線維芽細胞から骨芽細胞を直接誘導し低侵襲で骨形成能の高い骨芽細胞を生成し得ることを報告してきた。しかしながら、外因性遺伝子配列が染色体に組み込まれる可能性があるため、形質導入された細胞が移植後に腫瘍細胞を生じる可能性がある。そのため、臨床応用を考慮した際には、遺伝子導入によらない方法が望ましい。

そこで本研究では小分子化合物を用いてヒト体細胞より機能的な骨芽細胞の直接誘導を試みた。

【方法】

ヒト線維芽細胞を特定の低分子化合物を加えた骨芽細胞誘導培地にて培養した。得られた細胞の石灰化基質産生能、遺伝子・タンパク発現をアリザリンレッド S 染色, Real time RT-PCR で行った。また骨芽細胞分化を増強する化合物を添加して得られた細胞の石灰化基質産生能、遺伝子・タンパク発現を Real time RT-PCR、DNA マイクロアレイなどで詳細な分析を行った。さらに、免疫不全マウスの人為的骨欠損部位への移植を行い、*in vivo* における骨形成をマイクロ CT 撮影で評価するとともに、組織学的検討も行った。

【結果】

誘導した細胞は、石灰化基質を産生し、骨芽細胞マーカーを強力に発現した。さらに骨芽細胞分化を増強する化合物を添加することで変換効率が上昇し、正常骨芽細胞に類似した骨芽細胞関連遺伝子発現のプロファイルを示した。また *in vivo* において、誘導した細胞を骨欠損部位へ移植すると、元の線維芽細胞の移植では認められなかった骨欠損部での顕著な骨再生を認めた。

【結論】

本研究では、遺伝子導入を行うことなく、低分子化合物を用いてヒト体細胞から機能的な骨芽細胞を直接誘導する方法を確立した。本研究結果より、低侵襲かつ腫瘍形成のリスクを最小限に骨組織を再生することが期待され、骨疾患患者や高齢者に対して有用な技術であると考えられる。また本研究結果は、骨病変の骨治癒および機能回復の促進のみならず、骨疾患モデルの開発ならびに創薬に寄与する可能性も秘めている。近年では、治療効果のみならず、安全性と簡便性さらに経済的な利点も要求されており、今後さらなる基礎的・臨床的な研究が必要となる。

Activin A によるヒト前骨芽細胞の分化誘導に関わるシグナル伝達の解析

¹九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、²九州大学病院歯内治療科、
³九州大学大学院歯学研究院・OBT 研究センター

○杉井英樹¹、Mhd Safwan Albougha¹、足立織利恵¹、富田洋嘉¹、友清淳²、濱野さゆり^{1,3}、
長谷川大学²、吉田晋一郎²、糸山知宏²、小幡純子¹、前田英史^{1,2}

Analysis of the intracellular signaling pathways of Activin A-induced osteoblastic differentiation of pre-osteoblasts

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ²Department of Endodontology, Kyushu University Hospital,

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

○Hideki Sugii¹), Mhd Safwan Albougha¹), Orié Adachi¹), Hiroka Tomita¹), Atsushi Tomokiyo²), Sayuri Hamano^{1,3}), Daigaku Hasegawa²), Shinichiro Yoshida²), Tomohiro Itoyama²), Junko Obata¹), Hidefumi Maeda^{1,2})

【研究目的】重度のう蝕、外傷、および歯周炎により歯周組織に重篤な欠損が生じた場合、骨および歯根膜組織の再生は困難となる。したがって、歯周組織の再生を誘導する因子は非常に有用である。Activin A は transforming growth factor- β (TGF- β) superfamily に属する inhibin β の 2 量体蛋白であり、様々な細胞において、その分化、増殖、および遊走を促進することで組織治癒に関与している。TGF- β superfamily は、シグナル伝達経路により TGF- β type および BMP type に分類され、その受容体に関して、TGF- β type は Activin receptor-like kinase (ALK) 4 または ALK5 を介し、BMP type は、ALK1, ALK2, ALK3, または ALK6 を介するとされている。私達は、これまでに Activin A が、ヒト歯根膜細胞 (HPDLCs) の歯根膜関連因子の発現を促進する一方で、ヒト前骨芽細胞に対してはその分化を促進し、細胞種によって異なる分化誘導能を有しており、さらに HPDLCs におけるシグナル伝達に関しては、ALK4-Smad2/3 を介していることを報告している (第 148 回および第 150 回日本歯科保存学会学術大会)。しかしながら、ヒト前骨芽細胞の分化誘導に関する分子機構については明らかにされていない。そこで本研究では、(1)ALK1-6 をそれぞれノックダウンしたヒト前骨芽細胞を用いた、Activin A による分化誘導能の解析、ならびに(2)そのシグナル伝達の解析を行った。

【材料および方法】本研究では、ヒト前骨芽細胞として Saos2 細胞 (RIKEN) を以下の実験に用いた。(1) ALK1-6 をそれぞれ siRNA によりノックダウンした Saos2 細胞を用いて、Activin A がその骨芽細胞分化に及ぼす影響について、Alizarin red S 染色法および von Kossa 染色法を用いて石灰化能解析を行い、さらに骨芽細胞マーカー (*Osteocalcin*, *Osteopontin*, および *Runt-related transcription factor 2*) の遺伝子発現に関しては、定量的 RT-PCR 法を用いて解析した。(2) ALK1 を siRNA によりノックダウンした Saos2 細胞を用いて、ウェスタンブロット法にて Smad2/3 および Smad1/5/9 のリン酸化に及ぼす影響を検討した。なお本研究は九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認(承認番号: 27-76)を得て実施された。

【結果】(1) TGF- β type の受容体である ALK4 または ALK5 をノックダウンした Saos2 細胞は、Activin A による石灰化および骨芽細胞マーカーの遺伝子発現の促進効果に影響を及ぼさなかった。また、BMP type の受容体である ALK2, ALK3, または ALK6 をノックダウンした Saos2 細胞は、Activin A による石灰化の促進効果に影響を及ぼさなかった一方で、ALK1 をノックダウンした Saos2 細胞は、Activin A による石灰化および骨芽細胞マーカーの遺伝子発現の促進効果を、有意に抑制した。(2) Activin A を添加した Saos2 細胞において、非添加群と比較して、Smad1/5/9 のリン酸化が亢進した一方で、ALK1 をノックダウンした Saos2 細胞においては、Activin A 添加による Smad1/5/9 のリン酸化亢進は認められなかった。また Activin A を添加した Saos2 細胞において、Smad2/3 のリン酸化は亢進せず、さらに ALK1 をノックダウンした Saos2 細胞においても変化は認められなかった。

【考察】HPDLCs に対する Activin A の細胞内シグナルとは異なり、Saos2 細胞における Activin A による骨芽細胞分化の促進効果に関しては、TGF- β type ではなく BMP type の細胞内シグナルである ALK1-Smad1/5/9 を介する経路が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。したがって、Activin A が細胞種によって異なる受容体を介して、そのシグナル伝達を活性化することで、細胞分化に関与していることが推察された。

【結論】(1) TGF- β type の受容体を介したシグナル伝達は、Activin A による Saos2 細胞の骨芽細胞分化に影響を及ぼさない。(2) BMP type の受容体の中で、ALK1-Smad1/5/9 を介した経路が Activin A による Saos2 細胞の骨芽細胞分化に関与している。

JNK 阻害による歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化促進のメカニズム解析 および歯周組織再生への影響

¹九州大学大学院歯学研究院歯科保存学研究分野、²九州大学病院 歯内治療科、
³九州大学大学院歯学研究院 OBT 研究センター

○兼子大志¹、長谷川大学²、糸山知宏²、吉田晋一郎²、友清淳²、濱野さゆり^{1,3}、杉井英樹¹、前田英史^{1,2}

The mechanism of JNK inhibition-induced osteoblast differentiation of periodontal ligament stem cells and the effect of JNK inhibitor on regeneration of periodontal tissues

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ²Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, ³OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University

○Hiroshi Kaneko¹, Daigaku Hasegawa², Tomohiro Itoyama², Shinichiro Yoshida², Atsushi Tomokiyo², Sayuri Hamano^{1,3}, Hideki Sugii¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【研究目的】

重度の根尖病変や歯周病などにより歯周組織の損傷が生じた場合、広範囲に及ぶ歯周組織の再生が必要となるが、その効率的な治療法は未だ十分には確立されていない。我々は最近、c-Jun N-terminal kinase (JNK) の阻害剤である SP600125 がヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化を促進することを報告した(第151回日本歯科保存学会秋季学術大会にて)。そこで本研究では、SP600125 による歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化促進のメカニズム、ならびに、SP600125 が喪失した歯周組織の再生に及ぼす影響について検討することとした。

【材料および方法】

(1) SP600125 による歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化促進に関連するシグナルを同定するため、当研究室にて樹立したヒト歯根膜幹細胞株 2-23 を用いて解析を行った。まず、SP600125 (10 μM) を添加した骨芽細胞分化誘導培地 (50 μg/mL Ascorbic acid, 2 mM β-glycerophosphate, 100 nM Dexamethasone 含有 10%FBS/αMEM) にて培養した 2-23 細胞株における Erk1/2 および Smad1/5/8 のリン酸化について、ウエスタンブロット法を用いて検討した。

(2) SP600125 が歯周組織再生に及ぼす影響について、当研究室にて確立したラット歯周組織障害モデルを用いて評価した。Wistar ラット (8 週齢雄性) の下顎第一臼歯の遠心根および第二臼歯の近心根の頰側に、歯根膜を含めた歯槽骨欠損部 (縦 1.5 mm×横 2.0 mm) をラウンドバーにて形成し、その欠損部に、SP600125 (1.76 μg) をアテロコラーゲンゲルとともに填入した (コントロール群には DMSO を用いた)。2 週間飼育後、下顎骨を摘出し、歯槽骨形成の評価として、マイクロ CT 解析、ヘマトキシリン・エオジン染色、および Osterix による免疫組織化学的染色を行った。また、歯根膜関連因子 Periostin による免疫組織化学的染色により、歯根膜の形成についても評価した。

なお、本研究は九州大学動物実験委員会 (承認番号: A20-331-0) の承認を得て行った。

【結果】

(1) SP600125 含有骨芽細胞分化誘導培地にて培養した 2-23 細胞株では、Erk1/2 のリン酸化に影響を認めなかった一方で、Smad1/5/8 のリン酸化が有意に促進した。

(2) ラット歯周組織欠損モデルにおいて、SP600125 填入群では、コントロール群と比較して歯周組織欠損部における歯槽骨の再生が促進した。また、歯槽骨再生部近傍においては、歯根膜の再生促進も認められた。

【考察】

本研究により、JNK 阻害によるヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化促進には、骨形成シグナルの一つである、Smad1/5/8 が関与することが示唆された。また、JNK の阻害剤は、ラット歯周組織欠損部において歯槽骨および歯根膜の再生を促進したことから、JNK 阻害が、喪失した歯周組織の再生に有効である可能性が示唆された。

【結論】

(1) JNK 阻害によるヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化促進には、Smad1/5/8 シグナルが関与する。

(2) JNK 阻害剤 SP600125 は、ラット歯周組織欠損部における歯槽骨および歯根膜の再生を促進する。

マラッセ上皮-歯髄間葉相互作用を応用した歯根膜関連遺伝子の発現解析

- ¹ 北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系臨床口腔病理学分野
² 北海道医療大学歯学部生体機能・病態学系組織再建口腔外科学分野
³ 北海道医療大学歯学部口腔構造・機能発育学系保健衛生学分野

○高橋 周平¹、平木 大地²、植原 治³、安彦 善裕¹

Analysis of periodontal ligament-related genes by Epithelial cell rests of Malassez - dental pulp mesenchymal interaction

¹ Division of Oral Medicine and Pathology, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

² Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial Region, Department of Human Biology and Pathophysiology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

³ Division of Disease Control and Molecular Epidemiology, Department of Oral Growth and Development, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

○Shuhei Takahashi¹, Daichi Hiraki², Osamu Uehara³, Yoshihiro Abiko¹

【緒言・目的】歯髄に存在する歯髄幹細胞は再生医療への応用可能性が示唆されているが、歯髄に占める歯髄幹細胞の割合は数%未満であると考えられ、歯髄幹細胞だけを再生医療へ応用するには細胞の量が少ないことが課題となる。この問題点を解決するためには、歯髄幹細胞を含んだ歯髄全体を応用する方法が望ましいと考える。歯髄には、歯根膜の主体でもある線維芽細胞をはじめとして様々な細胞が混在することから、歯根膜に必要な脈管構造の再現構築に適していると考えられる。また、歯根膜(Periodontal ligament cells, PDL)に存在して歯髄(Dental pulp cells, DP)に存在しないものはマラッセ上皮細胞(Epithelial cell rests of Malassez, ERM)であることから、DP全体にERMを追加し、さらにヒト臍帯静脈内皮細胞(Human Umbilical Vein Endothelial Cells, HUVEC)を用いることで、PDLの代わりとなる上皮間葉細胞集団の作製が可能になるとの仮説を立てた。本研究では、DPとERM、HUVECによる歯根膜類似の上皮間葉細胞集団への誘導を試みた。

【材料および方法】ES細胞培地にエピジェネティクス試薬の5-Azacytidineとバルプロ酸を添加しERMを1週間培養することで、ERM脱分化前駆幹細胞(progenitor stem-like cells, Pro-DSLCS)を作製した。DP・Pro-DSLCS・HUVECの細胞集団を間葉系幹細胞培地にて1週間培養し、歯根膜様上皮間葉細胞集団への誘導を試みた。qRT-PCR法により、歯根膜関連遺伝子、間葉系幹細胞陽性・陰性遺伝子についてmRNA発現解析を行った。5-AzacytidineによるDNAメチル化への影響を確認するために、定量的メチル化特異的PCR法(qMSP法)にて、歯根膜様上皮間葉細胞集団におけるDNAメチル化解析を行った。

【結果および考察】qRT-PCR法の結果、DP・Pro-DSLCS・HUVEC共培養群ではDP単独培養群に比べ歯根膜関連遺伝子Msx1および間葉系幹細胞陽性遺伝子Cd29の有意なmRNA発現上昇を認めた(p < 0.05, Steel検定)。qMSP法の結果、DP・Pro-DSLCS・HUVEC共培養群ではDP単独培養群に比べMsx1およびCd29のメチル化レベルの有意な低下を認めた(p < 0.01, カイ二乗検定)。このことから、歯根膜様上皮間葉細胞集団での遺伝子発現変化には、5-AzacytidineによるDNA脱メチル化作用が影響していることが確認された。

【結論】DP・Pro-DSLCS・HUVEC共培養群は、歯根膜類似の上皮間葉細胞集団へ誘導可能なことが示唆された。

2 次性咬合性外傷を有する広汎型重度慢性歯周炎患者に包括的歯周治療を行った一症例

徳島大学病院口腔インプラントセンター¹⁾

徳島大学大学院医歯薬学研究部歯周歯内治療学分野²⁾

○ 西川泰史¹⁾, 成石浩司²⁾, 二宮雅美²⁾, 植村勇太²⁾, 湯本浩通²⁾

A Case Report of Comprehensive Periodontal Therapy for a Severe Chronic Periodontitis Patient with Secondary Occlusal Trauma

Oral Implant Center, Tokushima University Hospital¹⁾

Department of Periodontology and Endodontology,

Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences²⁾

○ Yasufumi Nishikawa¹⁾, Koji Naruishi²⁾, Masami Ninomiya²⁾, Yuta Uemura²⁾, Hiromichi Yumoto²⁾

【症例の概要】

57 歳男性 (2017 年 10 月初診) 主訴: 26 の動揺

現病歴: 患者は、月 1 回の頻度で近医を受診し、定期的に PMTC を受けてきた。しかし、26 の動揺が改善しないことに不安を感じたため、専門的歯周治療を希望されて本院へ紹介となった。全身既往歴: 高血圧 (健康診断で指摘。内科担当医の指示で運動療法を行っている。), 喫煙歴: なし, 家族歴: なし

【診査・検査結果】

初診時では、全顎的な歯肉の発赤と洗口剤による歯面着色および歯間部のプラーク付着を認めた。26 は、2 度の動揺を認めるものの咬合痛などはなかった。上下顎両側小臼歯と大臼歯に咬耗、アブフラクションおよびフレミタスを認め、頬粘膜と舌辺縁に歯列の圧痕が観察された。問診により、起床時に咀嚼筋の疲労感を認めたことから就寝時におけるブラキシズムが疑われたが、日中のクレンチングの自覚はなく、顎関節症状も認めなかった。歯周組織検査では 26 に 9mm の歯周ポケットを認め、頬側歯肉にサイナストラクトと排膿を認めた。全顎的には 6mm 以上の歯周ポケットが散見された。分岐部病変は 36, 46 に 1 度, 16 に 2 度, 26, 37 に 3 度を認めた。46 の頬小帯は高位付着しており、同部位にプラークの付着を認めた。(BI 73%, PCR 65%, 4mm 超 75%, PISA 2114mm²)。X 線写真では、全顎的に歯根長 1/2 程度の水平性骨吸収を認め、上下顎臼歯部には垂直性骨吸収も認めた。26 の頬側近遠心根は根尖に至る重度の骨吸収を認め、歯髄電気診で歯髄は失活していた。16, 36 は根尖付近までの骨吸収を認めたが、歯髄電気診で歯髄反応を認めた。

【診断】 広汎型重度慢性歯周炎 ステージIV グレード C, 2 次性咬合性外傷

【治療方針】 1) 歯周基本治療: 患者教育, TBI, SC, 拔牙 (26, 28, 38), SRP, 暫間固定, 咬合調整, 17, 26 欠損に対して暫間補綴処置, ナイトガードの装着, 2) 再評価, 3) 歯周外科治療: 13~16, 21~27, 31~37, 41~43, 45~47 に対して Fop または歯周組織再生療法, 4) 再評価, 5) 口腔機能回復治療, 6) メンテナンスまたは SPT

【治療経過】 日中のクレンチングに対しては、患者教育と自己暗示療法により改善を図った。夜間のブラキシズムの対応としてナイトガードの装着を行った。26, 28, 38 は予後不良と判断し、拔牙を行った。16 頬側遠心根と 37 遠心根は予後不良のため、歯周外科治療と同時に分割拔牙を行った。13~16, 21, 23, 24, 33~36, 41~43 の垂直性骨欠損部に対してリグロス®を使用した歯周組織再生療法を行った。46 部の頬小帯の高位付着に対しては、Er:YAG レーザーにて小帯切除術を行った後、22, 31, 32, 45~47 に Fop を行った。術後、いずれの部位も炎症は軽度であった。口腔機能回復治療では、26 欠損部に対して Br を装着し、17 欠損部は、対合歯である 47 が傾斜歯であるため挺出の可能性は低いと考え現状維持とした。SPT 移行時の歯周組織検査では全顎的に顕著なポケットの減少を認め (BI 5.8%, PCR 17%, 4mm 超 5.8%, PISA 65mm²)、X 線写真では、13~15, 21, 23, 24, 33~36, 42, 43 の垂直性骨欠損部に歯槽骨の再生を認めた。

【考察・結論】

本症例は、咬合性外傷を引き起こしており、歯周炎を増悪させる外傷性因子の除去が不可欠であった。プラークなどの病原因子の除去や早期接触、咬頭干渉の除去に並行して、ブラキシズムに対する患者教育、自己暗示療法とナイトガードを装着することで力のコントロールを行い、来院ごとに問診と指導を行った。患者の行動変容により、ブラキシズムの減少と良好なセルフケアが確立できた。これは歯周治療後の歯周ポケット検査や X 線写真などを用いて治療経過を患者に認識させることがモチベーションの強化に繋がったと考える。これにより、歯周外科処置へと積極的な治療を進めることができ、良好な結果を得ることができた。引き続き長期的な経過観察を行う予定である。

根分岐部病変を有する限局型慢性歯周炎に対し GTR 法を用いた一症例

日本歯科大学生命歯学部 歯周病学講座

○ 五十嵐(武内) 寛子、沼部 幸博

A case for treatment of localized periodontitis with furcation involvement using GTR therapy

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

○ Hiroko Igarashi-Takeuchi, Yukihiro Numabe

【はじめに】 進行した根分岐部病変を有する限局型侵襲性歯周炎患者に対し、GTR 法を行い良好な経過を示す症例を報告する

【症例の概要】 患者：36 歳、男性。初診日 2018 年 2 月 23 日。主訴：右下奥歯の咬合時の違和感。既往歴：特記事項なし。現病歴：数カ月前に硬いものを食べてから咬合時に違和感を認めるようになったが、痛くはないので放置していた。喫煙歴 10 年、1 日 10 本(ブリンクマン指数 100)。家族歴：義歯を使用しているものはおらず、歯周病かどうかは不明。診査・検査所見：全顎的に歯間乳頭部歯肉の腫脹、また、付着歯肉には喫煙のものと思われるメラニン色素沈着が認められた。歯周ポケットは最小 2mm、最大 8mm であり、46 および 36 は根分岐部病変Ⅱ度であった。PCR 52%、BOP64%。エックス線所見では、両側下顎第一大臼歯に重度骨吸収を伴う根分岐部病変を認めた。その他の部位は、重度骨吸収はみとめられない。なお、本症例は発表するにあたり患者からの同意を得ており、使用した薬物・材料は厚生労働省の認可済みである。

診断：限局型慢性歯周炎

【治療方針】 1) 歯周基本治療 2) 再評価 3) 歯周外科治療 4) 再評価 5) SPT

【治療経過】 1) 歯周基本治療 2) 再評価 3) GTR 法：46 および 36 4) 再評価 5) SPT

【考察、結論】 歯周基本治療後の再評価にて、エックス線により根分岐部病変に骨の再生が生じたことがされた。しかし、根分岐部病変が残存していたため、歯周外科治療を行うこととした。術中、エナメル突起が認められたため、オドントプラスティーを行った後に、GTR 膜を設置した。新型コロナウイルスの感染拡大により、SPT 期間中通院間隔が長くなった時期があった。現在 4 カ月ごとに来院し、歯周組織検査、TBI、スケーリング、PMTTC を行っているが、歯周ポケットの深化は認められず、良好な経過をたどっている。今後も、注意深く SPT を継続していく。

歯間清掃具未使用者を対象としたデンタルフロスの仕様の違い(ホルダータイプと糸巻きタイプ)が使用状況に与える影響

¹⁾ 小林製薬株式会社ヘルスケア事業部, ²⁾ 旭ヶ丘ホリクリニック
○石川 悠湖¹⁾、倉光 祥平¹⁾、林 忠紘¹⁾、田村 康治²⁾

The effects of difference in dental floss type (plackers or string floss) on interdental cleaner unused user behavior

¹⁾ Healthcare Div., KOBAYASHI Pharmaceutical Co., Ltd, ²⁾ Asahigaoka horiclinic
○Yuko Ishikawa¹⁾, Shouhei Kuramitsu¹⁾, Tadahiro Hayashi¹⁾, Yasuharu Tamura²⁾

【背景と目的】

歯周病を予防するには歯間部の清掃が重要であるが、平成 28 年歯科疾患実態調査(厚生労働省)によると、デンタルフロスや歯間ブラシを用いた歯間部清掃を行っている者は 30.6%と低水準にとどまっており、歯間清掃具であるデンタルフロスの使用の普及および習慣化をさせる必要がある。

今回、デンタルフロスの仕様の違い(ホルダータイプと糸巻きタイプ)が、使用状況に与える影響を明らかにすることを目的として、歯間清掃具の未使用者に各々のデンタルフロスを使用した際の使用状況について調査した。

【材料と方法】

被験者：調査会社(関西ビジネスインフォメーション株式会社)が保有する消費者パネルより、本試験の同意が得られた 20 歳以上 49 歳以下の歯間清掃具未使用者 54 名

被験品：ホルダータイプフロス、糸巻きタイプフロス

方法：被験者に対して、試験開始前に「デンタルフロスによる歯間清掃の重要性」と「被験品の使用方法」について歯科衛生士が十分な説明を行った。その後、2 種類の被験品を配布し、被験品の使用順で 2 群(ホルダータイプフロス→糸巻きタイプフロスもしくは糸巻きタイプフロス→ホルダータイプフロス)に分け、各々 21 日間ずつ、使用機会を提供した。使用については本人の自由意思で行った。使用期間中は就寝前に当日のデンタルフロスの使用回数と清掃した歯間部位について記録させた。試験終了直後に使用後アンケート調査、試験終了 1 ヶ月後に実購買調査を実施した。統計処理は t-検定により有意水準 5%で行った。なお、本試験は芝バレスクリニック倫理審査委員会の承認(承認番号 147054_rn_30241)を受けて実施された。

【結果と考察】

有効回答数は 51 名であった(内訳：デンタルフロスを使用したことがない者が 34 名、3 年以上前に使用をやめた者が 12 名、半年以上前にやめた者が 2 名)。21 日間の使用回数計を比較すると、ホルダータイプフロスは糸巻きタイプフロスより平均で約 9 回使用回数が多く、1 日あたりの使用回数は約 0.5 回多いことを確認した。さらに 21 日間を通して清掃した歯間数のうち、臼歯部 5, 6, 7 歯間部の計 8 カ所中 1 人あたり 2 カ所多いことを確認した。また、試験終了直後の使用後アンケートの結果より、総合的な使いやすさの項目でホルダータイプフロスが使いやすいと回答した者が 46 名、どちらでもないが 1 名、糸巻きタイプフロスが 4 名であった。また、奥歯への使いやすさの項目でホルダータイプフロスが使いやすいと回答した者が 39 名、どちらでもないが 7 名、糸巻きタイプフロスが 4 名であった。さらに、実購買調査の結果より、試験終了 1 ヶ月後も 22 名がデンタルフロスを使用しており、内訳としてホルダータイプフロスを使用している者が 18 名、糸巻きタイプフロスを使用している者が 3 名、併用している者が 1 名であった。また、自身で購入して使用している者が 19 名、家族・知人が購入して使用している者が 1 名、試供品を使用している者が 1 名であった。

このことより、歯間清掃具未使用者にとってホルダータイプのほうが糸巻きタイプより使いやすいと感じる者が多く、使いやすさがデンタルフロスの使用回数や習慣化といった使用行動に影響を与えたと考えられた。

各種イオンによるヒト歯髄幹細胞の増殖作用と石灰化作用

¹ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学

² 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座

³ 日本歯科大学新潟生命歯学部 微生物学講座

○宮野侑子¹、新海航一^{1,2}、三上 正人³、葛城 啓彰³

The effect of various ions on proliferation and mineralization of human dental pulp stem cells

¹Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry

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

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

○MIYANO Yuko¹, SHINKAI Koichi^{1,2}, MIKAMI Masato³, KATSURAGI Hiroaki³

【緒言】6種のイオンを徐放する Surface Pre-reacted Glass-ionomer (S-PRG) フィラーが配合されたコンポジットレジンが臨床で使用されている。これまでの基礎研究では、徐放されるイオンのうち、 Sr^{2+} と BO_3^{3-} は石灰化促進作用があることが報告されている。また、 SiO_3^{2-} は MTA セメントから僅かに徐放されるイオンである。当講座では、S-PRG フィラー配合直接覆髄剤をラット歯髄に応用する試みを行ってきたが、イオンの生物学的な働きについては、いまだ細胞レベルで詳細に検討されていない。そこで本研究では、S-PRG フィラーから徐放されるイオンの中から、 Sr^{2+} 、 BO_3^{3-} および SiO_3^{2-} に着目し、各種イオンによるヒト歯髄幹細胞 (hDPSC) の増殖作用と石灰化作用について生体外の細胞培養モデルを用いて検討した。

【材料と方法】hDPSC (Lonza) は 10%FBS を含む DMEM を基礎培地として継代した。本実験における hDPSCs はすべて継代数 3 代目を用いた。hDPSC を $1.0 \times 10^4 / \mu\text{L}$ の濃度で播種し、基礎培地で 30%コンフルエンスまで培養後、各イオン溶液 (松風より提供) を添加した。各イオン溶液の濃度 (mM) は、 Sr^{2+} が 0.025 (SrL)、0.25 (SrM)、2.5 (SrH)、 SiO_3^{2-} が 0.01 (SiL)、0.1 (SiM)、1.0 (SiH)、 BO_3^{3-} が 0.005 (BL)、0.05 (BM)、0.5 (BH) とした。基礎培地に完全に溶解するまでボルテックスを行い、滅菌フィルターで濾過したものを使用した。対照群は基礎培地のみとした。(1) 細胞増殖試験: alamarBlue® (Invitrogen) を用いて、各イオン溶液を添加してから 3 日 (D)、1 週 (W)、10D、2W、3W および 4W 後の蛍光強度 ($\times 10^4\text{rfu}$) を増殖能の指標として測定した (n=6)。(2) アルカリホスファターゼ (ALP) 活性試験: p-ニトロフェニルリン酸を基質とした吸光度 (A. U.) を用いて、各イオン溶液を添加してから 1W、2W、3W および 4W 後の ALP 活性率を石灰化作用の指標として測定した (n=6)。(3) 統計分析: 培養期間ごとに対照群と各実験群の有意差について検定した。

【結果と考察】(1) 細胞増殖試験: 実験結果を Fig. 1 に示す。hDPSC は全般的に 2W まで増殖傾向を示し、3W と 4W で平衡状態となった。対照群と比較して、SrH は 3D ($p=0.001$) で、BL と BM は 4W ($p<0.045$) で有意に高い増殖能を示した。SrL と SrM は 10D で有意に低い増殖能を示した ($p<0.029$)。一方、SiH は 10D で、BH と SiL は 2W で増殖能のピークを認めた。今回の結果から、hDPSC の増殖能に対して SrH、BL、BM はアップレギュレート、SrL、SrM はダウンレギュレートする作用があると考えられる。また、同種のイオンであっても濃度によって増殖能に違いをもたらすことが示唆された。(2) ALP 活性試験: 実験結果を Fig. 2 に示す。対照群と比較して、SrL と SrH は 2W ($p<0.028$)、3W と 4W ($p<0.001$) で、SrM と BL は 3W と 4W ($p<0.001$) で、ならびに BM と BH は 4W ($p<0.001$) で有意に高い石灰化作用を示した。今回の結果から、 Sr^{2+} 群と BO_3^{3-} 群に石灰化促進作用があることが示唆された。 Sr^{2+} 群は 2W、3W および 4W で有意に高い ALP 活性を維持することから、持続的な石灰化促進作用をもつ可能性がある。また、 BO_3^{3-} 群は hDPSC の増殖が平衡状態となる 3W と 4W で高い ALP 活性を示すことから、イオンの種類によって ALP 活性に影響を与える時期が異なることが考えられる。 SiO_3^{2-} 群には明らかな石灰化促進作用は認められなかった。

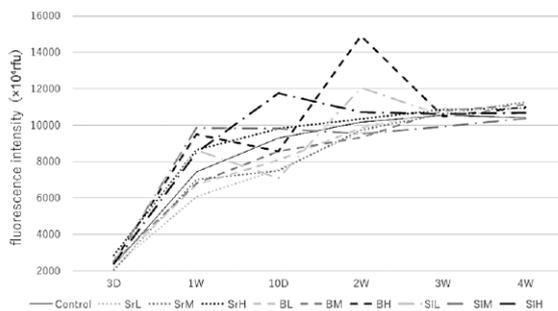


Fig. 1 Cell proliferation assay

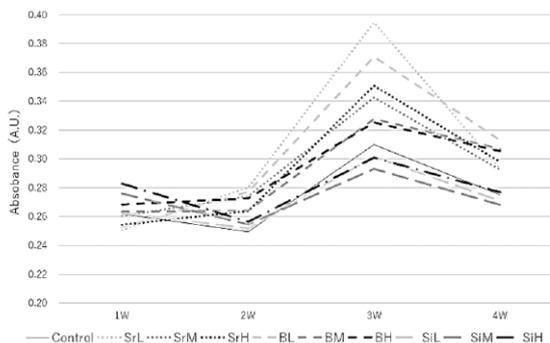


Fig. 2 Quantitative assay of ALP activity

低出力超音波パルスが BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルを 口蓋部に注入した場合の骨形成に及ぼす影響

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野,

²北海道大学大学院歯学研究院 歯周・歯内療法学教室

○山路公造¹, 横山章人¹, 松崎久美子¹, 大原直子¹, 吉山知宏¹, 菅谷 勉², 島田康史¹, 吉山昌宏¹

Effect of Low-intensity Pulsed Ultrasound on bone formation induced by injection of Gelatin hydrogel containing BMP-2 at palatal site.

¹Department of Operative Dentistry, Okayama University Graduate School of Medicine,

Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

²Department of Periodontology and Endodontology, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University

○YAMAJI Kozo¹, YOKOYAMA Akihito¹, MATSUZAKI Kumiko¹, OHARA Naoko¹, YOSHIYAMA Tomohiro¹,
SUGAYA Tsutomu², SHIMADA Yasushi¹ and YOSHIYAMA Masahiro¹

【緒言】

低出力超音波パルス LIPUS (Low-intensity Pulsed Ultrasound) は、骨形成を促し治癒を促進させることが知られており骨折治療等に臨床応用されている。BMP (Bone morphogenetic protein) は硬組織形成に関与するサイトカインであり、特に BMP-2 は強力な骨誘導能を有する因子の一つである。生体内で有効に作用するには適切な Drug Delivery System が必要と考えられ、薬剤徐放性キャリアとして効果が認められているゼラチンハイドロゲルに着目した。

本研究は低侵襲的な骨再生療法を試みることを目的とし、注射針を用いて BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルを注入し LIPUS を用いた場合の骨形成の影響について検討した。

【材料と方法】

本研究は岡山大学動物実験委員会の承認を得てガイドラインに従って実施した。実験動物は Wistar 系雄性ラット (10 週齢) を用いた。材料はゼラチンハイドロゲル (Gel, 新田ゼラチン) とこれに BMP-2 (R&D Systems) を配合したもの (配合比 1.0 μ g/ μ L) を使用した。LIPUS としてオステオトロン (伊藤超音波) を使用した。ラット口蓋部の骨膜に注射針にて BMP-2 配合 Gel を注入した群、BMP-2 無配合 Gel を注入した群に分けてそれぞれ BMP 群、Gel 群とした。さらに、LIPUS (出力 1.5MHz, 30mW/cm², 10min) を 3 日毎に施したものを、それぞれ LI-BMP 群、LI-Gel 群とした (各群 n=6)。観察期間は 3 週間とし新生骨について定量的に評価した。統計解析は Tukey-Kramer test を用いた。

【結果および考察】

観察期間終了後の新生骨量は、LI-BMP 群 28.3 \pm 12.5 ($\times 10^3 \mu$ m²)、BMP 群 24.5 \pm 10.6 ($\times 10^3 \mu$ m²)、LI-Gel 群 8.1 \pm 5.2 ($\times 10^3 \mu$ m²) であり、Gel 群では新生骨形成は認めなかった。LI-BMP 群と BMP 群の新生骨量では有意差は認められなかったが、LI-Gel 群、Gel 群と比べて有意に多かった (P<0.05)。BMP 群は新生骨が既存骨と接して形成されていたのに対して、LI-BMP 群では新生骨が既存骨とほとんど一体化した状態が観察された。これは BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルを口蓋部の骨膜に直接注入することで、骨膜やその周囲に存在する骨形成に関与する細胞が刺激され、骨形成が誘導されたことが考えられる。また、LIPUS を用いることで周囲の細胞が刺激され、骨代謝が活性化したためではないかと考えられる。

以上より、本研究の条件下で低出力超音波パルスと BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルを用いた場合、骨形成が促進されることが示唆された。

本研究において開示すべき利益相反関係はありません。

上顎左側第二大臼歯部で認められた多根歯の歯根嚢胞の1例

¹松本歯科大学病院 初診室 (口腔診断科・口腔診療科)、

²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

○内田啓一^{1,2}、喜多村洋幸¹、高谷達夫¹、森 啓¹

A case of multi-root tooth root cyst found in the left maxillary second molar

¹Department of Oral Diagnostics and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University

Hospital, ²Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine

,Matsumoto Dental University,

○Keiichi Uchida^{1,2}, Hiroyuki Kitamura¹, Tatsuo Takaya¹, Hiroshi Mori¹

【緒言】歯根嚢胞は根尖部歯周組織の炎症により発生する炎症性嚢胞であり、臨床では最も発生頻度の高い顎骨内嚢胞である。日常の臨床において遭遇する上顎大臼歯部における歯根嚢胞は比較的大きな1つの嚢胞として認められることが多い。今回我々は、上顎左側大臼歯部において口蓋根、頬側近心根および頬側遠心根にそれぞれ独立した歯根嚢胞の1例を経験したので、画像と共に概要を報告する。

【症例】患者は30歳の男性であり、上顎左側第一大臼歯部の咬合痛を主訴として来院した。上顎左側第一大臼歯部の咬合痛の発症の時期は不明であるが、かなり以前から咬合痛を認め続けていたが放置していた。受診時では上顎左側第一大臼歯部の自発痛と打診痛を伴わない咬合痛を認めた。また上顎左側第一大臼歯部の歯肉の発赤を認め、PDは約3mmでありBOPを伴っていた。パノラマエックス線像および口内法エックス線像では、上顎左側第一大臼歯の口蓋根部に上顎洞底線を挙上するように単胞性透過像を認め、その周囲に一層の骨硬化像を伴っていた。また、パノラマエックス線像および口内法エックス線像においては、上顎左側第一大臼歯の頬側近心根と遠心根の病巣は精確には診断できなかった。上顎左側第一大臼歯部の詳細な精査のために、患者に承諾を得てCBCT検査を行った。その結果、口蓋根と頬側近心根および頬側遠心根部にそれぞれ独立した根尖病変を認め、左側上顎洞底を挙上していた。また、一部の上顎洞底線部が病変により吸収破壊されており、歯性上顎洞炎も併発していた。

【考察・まとめ】日常臨床における歯根嚢胞の画像診断は、口内法エックス線撮影やパノラマエックス線撮影によりその概要を診断することが一般的である。そして、病変部の詳細な診断をCBCTや場合によっては医科CTにて検査を行うことになる。しかしながら、多根歯に発生する歯根嚢胞の診断においては、口内法エックス線撮影やパノラマエックス線撮影ではエックス線の入射角度や断層撮影ということを考えると根尖部の詳細な診断はやや困難なことがあるので、自験例のようにCBCTにより詳細に精査診断することは当然のことである。また、炎症性嚢胞の歯根嚢胞は根尖性歯周炎から起因するものであり、その殆どの原因は根尖孔からの感染であるので、複数根の根尖部にそれぞれに炎症が波及して経過と共に多根歯における歯根嚢胞を発症したものだと思われる。

熱可塑性樹脂シートに対する各種洗浄剤の物性への影響

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野

○星加知宏, 西谷佳浩

Effect of various intraoral dental devices cleaners on the physical properties of thermoplastic resin sheets

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

○HOSHIKA Tomohiro, NISHITANI Yoshihiro

【研究目的】

熱可塑性樹脂シートは歯科において、顎関節症や歯ぎしり、睡眠時無呼吸症候群、矯正治療、ホワイトニング等、様々な用途に対し、マウスピースやリテーナー等として広く用いられている。これらの装置は口腔内で使用する上で、常に清潔に保つ必要がありこまめな洗浄が必要とされる。このための洗浄剤が数多く市販されており、その種類もフォーム系や錠剤・顆粒系等、洗浄方法も様々である。これらの製品の汚れや細菌に対する洗浄効果はもちろんのこと、洗浄剤が装置の素材にもたらす影響についても明らかにする必要がある。本研究では、各種洗浄剤が熱可塑性樹脂に及ぼす影響について、一般的に広く用いられている共重合ポリエステルおよびエチレン酢酸ビニル樹脂 (EVA) の2種類の樹脂を用いて、比較検討を行った。

【材料および方法】

本研究には共重合ポリエステル(デュラン, 株式会社 JM ortho)および EVA 樹脂(バイオプラスト, 株式会社 JM ortho)をそれぞれ 25mm×25mm に切断し、実験に供した。洗浄剤としては以下の3種のフォーム系洗浄剤, パーシャルデント洗浄フォーム(小林製薬株式会社 (GSK): 以下, PAF), ポリデント デンタルラボ 泡ウォッシュ (GSK: 以下, PDF), ディープクリーン シュッシュデント (花王株式会社: 以下, SSF) と, 5種の錠剤・顆粒系洗浄剤としてタフデント(小林製薬株式会社: 以下, TDT), パーシャルデント(小林製薬株式会社: 以下, PAT), 酵素入りポリデント (GSK: 以下, PDT), ポリデントデンタルラボ 矯正用リテーナー・マウスピース用洗浄剤 (GSK: 以下, DLT), リテーナーシャイン (株式会社 JM ortho: 以下, RSP), これにコントロール群として水中浸漬群を加え, 9群で実験を行った。

それぞれの樹脂片を各洗浄剤群に5枚ずつ用意し, フォーム系洗浄剤は洗浄液に樹脂片を直接浸漬し, 錠剤・粉末系洗浄剤は各メーカー指示通りの分量に蒸留水で希釈後浸漬し, 毎日交換した。浸漬前, 浸漬3日後, 1週間後, 2週間後, 4週間後それぞれの試料の硬さ等を測定した。硬さの測定には, 共重合ポリエステルではデュロメータ硬さ測定機タイプD(株式会社テックロック, Y-128)にて, 5kgの負荷をかけ, 1秒以内に最大値を測定し, EVA樹脂ではデュロメータ硬さ測定機タイプA(株式会社テックロック, GS-615)にて, 1kgの負荷をかけ, 15秒後の値を測定した。得られた結果をそれぞれの素材に対し, Two-way ANOVA Tukey's test にて統計処理を行った。

【結果】

本研究では, デュロメータ硬さにおいて, 共重合ポリエステルにおいてはすべての期間, 洗浄剤条件で有意な差を認めなかった。一方, EVA樹脂では各洗浄剤条件内において, 水中浸漬群を除いて3日目以降の期間で有意に低い値を示し, 水中浸漬群でも2週間以降の群での硬さに有意に低い値を認めた。また各期間内において, PDF群では3日目以降のすべての期間で最も低い値を示した。また浸漬前と浸漬後4週間の各試料の乾燥重量を測定した結果, PDF群では重量の増加を認めた。

【考察および結論】

本研究結果より, 共重合ポリエステルにおいて, 各種洗浄剤浸漬による影響は認めなかった。一方, EVA樹脂においては3日目以降でデュロメータ硬さの低下を認めたが, 特にPDFで顕著にみられ, 重量も増加したことから何らかの成分がEVA樹脂に浸透し, その物性に影響を与えたと推測される。

歯科ユニット給水管路 (DUWL) 内汚染の実際と電解機能水の効果

¹岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野, ²岡山大学病院 歯科・歯周科部門,

³岡山大学病院 新医療研究開発センター 次世代医療機器開発部,

⁴厚生労働省 医政局経済課 医療機器政策室

○伊東-信田 有希¹, 大森 一弘², 伊東 孝³, 大久保 圭祐⁴, 平井 公人², 山本 直史¹, 高柴 正悟¹

Control on Contamination in Dental Unit Water Lines (DUWL) using Neutral Electrolyzed Water

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

²Department of Periodontics and Endodontics, Division of Dentistry, Okayama University Hospital, Okayama, Japan,

³Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

⁴Economic Affairs Division, Health Science Bureau, Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan

○ITO-SHINODA Yuki¹, OMORI Kazuhiro², ITO Takashi³, OKUBO Keisuke⁴, HIRAI Kimito², YAMAMOTO Tadashi¹, TAKASHIBA Shogo¹

【緒言】

近年の高齢化に伴う易感染性宿主の増加, COVID-19に代表される新興感染症流行の観点から, 院内感染の防止および安全な医療の提供は非常に重要である。歯科治療においては, エアタービン等の治療器具だけではなく, 歯科ユニット給水管路 (Dental Unit Water Lines : DUWL) 内への微生物汚染が最近問題となってきた。

DUWL への汚染原因として, 切削機器停止時に生じる陰圧に起因する口腔細菌の DUWL 内への吸引, また, DUWL 内壁に従属栄養細菌によって形成されたバイオフィームが切削器具使用時や注水による洗浄時に流出することが報告されている。現在の DUWL 汚染対策として, マイクロフィルターの設置, 切削機器回路への逆流防止装置の使用やフラッシング, DUWL 内を化学的に洗浄するショックトリートメントなどが挙げられる。

我々の研究室では, 電解機能水 (Neutral Electrolyzed Water : NEW) の効果に着目し, DUWL シミュレーターを用いた実験系において, NEW が DUWL 内の汚染を抑制できる可能性について報告した (Okubo K et al, Heliyon, 2020)。

今回, NEW の DUWL 内汚染に対する効果をさらに検証するため, 実際の歯科治療で使用されている NEW 導入チェアおよびマイクロフィルターの交換前後の NEW 未導入チェアの DUWL から採取した水に含まれる細菌量を比較することによって, NEW が DUWL 内汚染の制御に有効であるか検討した。

【方法】

1. DUWL からの採水

診療終了後に, (1)NEW 導入チェア (マイクロフィルター未交換), (2)NEW 未導入チェア (マイクロフィルター交換), (3)NEW 未導入チェア (マイクロフィルター未交換) の術者側スリーウェイシリンジから 1 分間のフラッシング後, 十分に消毒用エタノールでシリンジ先端を清拭した後に採水 (150 mL) した。対照群として水道水を採水した。

2. DUWL 中の従属栄養細菌

採水サンプル 100 μ L を R2A 寒天培地上に播種し, 室温で 6 日間培養した。そして, 従属栄養細菌コロニー数をカウントした。

3. DUWL 中の細菌由来 ATP 量

採水サンプル 100 μ L 中に含まれる細菌の ATP 量は, 市販キット (ルシフェール HS キット : キョーマン) を用いて定量した。

4. 統計解析

各結果は, one-way ANOVA を用いて, P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありと判定した。

【結果】

- 対照群の水道水中にも従属栄養細菌が生存していた。
- マイクロフィルター未交換の NEW 未導入チェアでは, マイクロフィルター交換後の NEW 未導入チェアおよび NEW 導入チェアと比較して, DUWL 中の従属栄養細菌コロニー数は有意に多く, ATP 量も有意に高かった ($p < 0.01$)。
- NEW 導入チェアでは, マイクロフィルターが未交換であっても, DUWL 内に従属栄養細菌は生存しておらず, マイクロフィルター交換後の NEW 未導入チェアと同等に DUWL 内の ATP 量も少なかった ($p < 0.01$)。

【考察】

DUWL 汚染を防止するためには, チェアメーカーが提案する頻度でのマイクロフィルター交換が必須であることが示唆された。一方, NEW を導入することによって, マイクロフィルター交換と同等に DUWL 汚染を抑制できることが示された。しかし, 水道水そのものに従属栄養細菌が存在することから, チェアの使用頻度やフラッシングの回数などチェアの使用およびメンテナンス状況によって, DUWL 内の汚染量は大きく左右されると考えられる。そのため, NEW の効果を検証するにあたり, より多くのチェアを用いた追跡調査が必要である。

歩行速度低下に関連する口腔機能低下症測定項目の検討

¹京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学

²京都中部総合医療センター 歯科口腔科学

○糠谷 優貴子¹、遠藤 悠美^{1,2}、足立 哲也¹、雨宮 傑^{1,2}、山本 俊郎¹、坂下 敦宏¹、中村 亨¹、金村 成智¹

Study on oral hypofunction and walking speed

Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine

Department of Oral Surgery Dentistry, Kyoto Chubu Medical Center

○Yukiko Nukaya¹, Yumi Endo², Tetsuya Adachi¹, Takeshi Amemiya², Toshiro Yamamoto¹, Atsuhiko Sakashita¹,
Toru Nakamura¹, Narisato Kanamura¹

【目的】総人口に占める高齢者人口の割合は一貫して上昇が続いている。高齢者において歩行能力の退行は生活を営む上で大きな支障となり、ADL全般に大きな影響を及ぼす。これまで歯数や咬合力と歩行速度の関連についての報告はされてきたが、口腔機能低下症と歩行速度の関連についての報告は少ない。本研究は口腔機能低下症の各項目が歩行速度と関連するか検討することを目的とした。

【方法】2018、2019年度の脳ドック検診（前向きコホート）に参加した216名を対象に口腔機能低下症診断項目の検査「①口腔衛生状態不良（細菌カウンタ）、②口腔乾燥（ムーカス）、③咬合力低下（デンタルプレスケール II、残存歯数）、④舌口唇運動機能低下（オーラルディアドコキネシス）、⑤低舌圧（JMS舌圧測定器）、⑥咀嚼機能低下（グルコラム）、⑦嚥下機能低下（EAT-10）」を実施した。この7つの診断項目のうち3項目以上該当する場合を口腔機能低下症と診断した。歩行速度の測定方法は前後の予備路2m+測定区間6mを普通速度と早歩きで歩行してもらい、測定区間6mを歩行する時間を計測した。データに欠損の無かった198名を解析対象とし、口腔機能低下症の有無と歩行速度（普通速度、早歩き）との関連について男女別、年齢別（前期高齢者、後期高齢者）に検討した。本研究は京都府立医科大学倫理審査委員会の承認を得て行われた。（承認番号 ERB-E-31-3）

【結果】198人の性別内訳は男性：130人、女性：68人であった。口腔機能低下症の有病率は男性の前期高齢者35人(63.6%)、後期高齢者62人(82.7%)であり女性の前期高齢者31人(79.5%)、後期高齢者24人(82.8%)であった。また高血圧や糖尿病といった既往歴と口腔機能低下症には有意差を認めなかった。口腔機能低下症の各項目と歩行速度について、男性では舌口唇運動機能低下と後期高齢者の普通速度（オッズ比：5.04(95%CI:1.18-21.4)）、全体の普通速度（オッズ比：2.98(95%CI:1.23-7.20)）、全体の早歩き（オッズ比：2.53(95%CI:1.05-6.13)）において有意差を認めた。女性では咬合力低下と前期高齢者の普通速度（オッズ比：8.36(95%CI:1.12-62.0)）、全体の普通速度と口腔乾燥（オッズ比：4.83(95%CI:1.48-15.7)）、咬合力低下（オッズ比：5.49(95%CI:1.48-20.3)）、嚥下機能低下（オッズ比：14.8(95%CI:1.13-192.6)）にそれぞれ有意差を認めた。

【結論】口腔機能低下により咬合力や咀嚼・嚥下機能が低下し、食欲が減退することが報告されている。摂食エネルギーの減少や栄養状態の悪化は全身の筋力や身体機能の低下に影響することが考えられ、口腔機能低下が歩行速度の遅延に関連すると示唆される。口腔機能の低下からフレイルへと悪化していく流れを歯科領域で早期発見することで高齢社会への歯科の寄与が高まることが期待される。

【謝辞】本研究を実施するにあたりデータの提供および御指導頂きました、京都府立医科大学大学院地域保健医療疫学の上原 里程教授、松井 大輔先生、渡邊 功先生、小山 晃英先生、尾崎 悦子先生に感謝致します。

口腔外吸引装置を用いた歯科診療室の音環境

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)¹

大阪大学歯学部附属病院 医療情報室²

○山田 朋美¹、野崎 一徳²、林 美加子¹

Sound environment of a dental office with an external oral suction device during COVID-19 pandemic

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry¹

Division of Medical Information, Osaka University Dental Hospital²

○YAMADA Tomomi¹, NOZAKI Kazunori² and HAYASHI Mikako¹

【研究背景および目的】

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) を踏まえた歯科診療においては、標準予防策に加え、高速切削機器や超音波スケーラーの使用に伴うエアロゾル対策として口腔外吸引装置の活用が推奨されている¹⁾。大阪大学歯学部附属病院においても、すべての患者・スタッフにトリアージを行い、个人防护衣 (PPE) の着用、飛沫を伴う診療時の口腔外吸引装置の使用、1 時間ごとの窓の換気などの徹底した感染対策を講じた安全な診療環境を提供している。我々は歯科用タービン等の音に対する患者の不快感を軽減する研究²⁾に取り組んできた経験に基づき、働く場としての環境を考えた時、口腔外吸引装置の騒音の影響も把握しておく必要があると考えた。本発表では、歯科医師ならびに歯科衛生士を対象に診療室の音環境に関するアンケート調査を実施するとともに、口腔外吸引装置使用時の診療室での騒音レベル測定を行ったので報告する。

【方法】

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科および大阪大学歯学部附属病院の倫理委員会にその研究目的ならびに方法について申請し事前に承認を得たうえで実施した (承諾番号: R2-E31)。

修復・歯内療法・歯周治療に従事する歯科医師および歯科衛生士 (合計 43 名) に口腔外吸引装置を含む診療室の音環境に関して無記名でのアンケート調査を行った。また、大阪大学歯学部附属病院の診療室において、診療時の 10 秒毎の A 特性等価騒音レベル (L_{Aeq}) を測定した。精密騒音計は治療時のチェアヘッド部から水平に 45 cm、高さ 70 cm の位置に設置した。収録したデータは、音響解析ソフトを用いて波形分析および周波数解析を行った。

【結果と考察】

結果の一部を図 1 に示す。COVID-19 以前の口腔外吸引装置の使用について、歯科衛生士 1 名のみ常時使用と回答したが、全体として使用頻度は少なく (Q1)、歯科医師 (36 名) の使用状況としては暫間修復物作製 (32 名)、義歯調整 (23 名)、金属除去 (9 名) といった「粉塵、削片」の吸引に用いていた。現在の常時使用となった状況では口腔外吸引装置の音を「うるさい」と感じ、さらに半数以上が「苦痛」と回答した (Q2-3)。歯科衛生士全員 (7 名) が口腔外吸引装置の使用目的を患者に伝えており、患者は安心感も得ているだろう (6 名) と回答した。

エアロゾルを伴う歯科機器の操作と口腔外吸引装置の使用により、 $L_{Aeq, ave}$ は 55 dB から 70 dB へ上昇し、 $L_{Aeq, max}$ は 80dB を超える値も観察された。

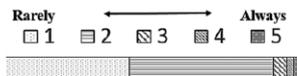
2021 年 7 月現在、変異株の拡大により世界では COVID-19 の収束は未だ不明確であり、今後も口腔外吸引装置の常時活用が続くと思われる。今回示した測定値は労働衛生の基準値以下であるが、快適に感じる音環境対策が必要であると示唆された。

【参考文献】

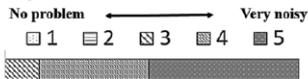
- 1) 日本歯科医師会、新たな感染症を踏まえた歯科診療の指針 第 1 版, 2020 年 8 月。
- 2) Yamada, Kuwano, Ebisu, Hayashi. Effect of processing of dental drill noise on subjective impression. Applied Acoustics, 2021.

本研究は、JSPS 科研費 基盤研究 (C) 19K10148 の助成を受けて行ったものである。

Q1. How often did you use an external suction device before COVID-19?



Q2. How loud do you feel an external suction device is?



Q3. Do you suffer from the sound of an external suction device?



Fig.1 Results of the Questionnaire survey

歯科治療におけるストレス評価

— Visual Analog Scale を用いた治療評価 —

1 神奈川歯科大学 歯科保存学講座 保存修復学分野 2 総合歯学教育学講座 歯学教育学分野

3 神奈川歯科大学附属病院 4 歯科診療支援学講座 歯科メンテナンス学分野

○武村幸彦¹, 花岡孝治², 木村浮子³, 二階堂修³, 渡邊真由美⁴, 向井義晴¹

Stress assessment in dental treatment -Evaluation using Visual Analog Scale-

1 Department of Restorative Dentistry, 2 Department of Dental Education,

3 Kanagawa Dental University Hospital, 4 Oral Hygiene Maintenance, Kanagawa Dental University

○Yukihiko TAKEMURA¹, Koji HANAOKA², Fuko KIMURA³, Osamu NIKAI³, Mayumi WATANABE⁴,
Yoshiharu MUKAI¹

【目的】

歯科治療は他の医科系の治療と比較して治療内容が多様であり、患者自身もどのような治療を施行されているかわかりにくい。抜歯のように侵襲が大きいものから、口腔外での義歯調整といった侵襲がほとんどない治療まで様々であり、口の中での操作は患者が直接見ることができないため不安を増長させる要因になりえる。

これまで歯科治療に対してストレス評価は行われているものの歯科保存学分野の治療内容に特化したものはほとんど見られない。本研究の目的は歯科保存学分野の治療に着目し、Visual Analog Scale (VAS)を用いて歯科治療におけるストレスの評価を行うことである。(神奈川歯科大学研究倫理番号 554, 601, 615: 歯科治療におけるストレス評価)

【方法】

被験者は2019年1月から2021年7月までに神奈川歯科大学附属病院に来院された男女106名(通常患者65名 歯科恐怖症患者[静脈内鎮静法を経験した患者]41名)を無作為に抽出した。評価項目は、(1)歯科に対する恐怖(2)注射(手)(3)注射(口腔内)(4)歯の削合(5)印象採得(6)修復物装着(7)根管治療(8)ポリッシング(9)スケーリング(10)歯周組織検査(11)抜歯(12)インプラント(13)義歯 および(14)今後も歯科治療の継続を希望する、の14項目とし、苦痛(不安)になるにつれて大きとし VAS を含めたアンケート調査を実施し評価した。統計分析には Kruskal-Wallis test および Steel-Dwass test ($p < 0.05$) を用い、通常患者および歯科恐怖症患者において各治療方法について比較検討を行った。

【結果および考察】

対象とした治療の中で両患者とも抜歯が最も高い値を示した。歯科保存学分野の治療に着目すると両患者とも根管治療で高い値を示し抜歯と有意差は認められなかった。根管治療はいつ訪れるかわからない穿通時の痛みとファイリングで生じる歯内音に非常に強い恐怖を感じていることが考えられた。また、歯科恐怖症患者では印象採得はインプラントと比較して差がないほどの強い不安を感じていることが確認された。歯科恐怖症と異常絞扼反射には密接な関係があり、口腔内に材料を一定時間入れ続ける行為や長時間開口しなくてはいけないことが恐怖につながると考えられた。両患者とも苦痛(不安)が少ない治療行為としてポリッシングと修復物装着があり、それぞれに有意差は認められないが、痛みや音が生じにくい低侵襲の治療では苦痛(不安)が少ないことが推察された。また、歯科恐怖症患者は通常患者と総じて高い VAS 値を示すものの、今後の歯科治療継続を希望する傾向にあり、静脈内鎮静法などの苦痛(不安)を取り除く治療方法を選択することが患者にとって有益であることが示された。

【結論】

歯科保存学分野の治療で根管治療が最も不安を感じやすく、歯科恐怖症患者といった苦痛(不安)を感じている人ほど今後の継続した歯科治療を希望する傾向がみられた。VAS を用いた治療の評価は、歯科治療におけるストレス評価を行う上で有効であることが示された。

フッ化ジアンミン銀の歯根象牙質脱灰抑制効果の検討

¹新潟大学医歯学総合病院診療支援部歯科衛生部門, ²新潟大学大学院医歯学総合研究科う蝕学分野,
³新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔保健学分野
○倉又七海¹, 枝並直樹², 野杵由一郎², 吉羽邦彦³

Inhibitory effect of silver diamine fluoride on demineralization of root dentin

¹Section of Dental hygiene, Department of Clinical Support, Niigata University Medical & Dental Hospital,
²Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, ³Division of Oral Science for Health Promotion,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○KURAMATA Nanami¹, EDANAMI Naoki², NOIRI Yuichiro², YOSHIBA Kunihiko³

【目的】

超高齢社会を迎え、高齢者における現在歯数の増加に伴い根面う蝕の罹患率は増加傾向にある。60歳以上では過半数に根面う蝕が認められたとの報告もあり、また高齢者の根面う蝕に対する処置はその発生部位から修復処置が困難なケースが多く、有効な予防や進行抑制処置が求められている。う蝕治療ガイドラインでは、初期根面う蝕に対してフッ化物を用いた非侵襲的治療を行って再石灰化を試み、う蝕を管理することが推奨されている。フッ化ジアンミン銀 (Silver Diamine Fluoride: SDF) は初期う蝕の進行抑制、二次う蝕の抑制、および象牙質知覚過敏症の抑制等を効果として主に小児に対して使用されてきた薬剤である。近年、SDF の高齢者の根面う蝕に対する進行抑制効果が注目されており、プロフェッショナルケアとして 38% SDF 塗布が根面う蝕の予防に最も効果的とされているが、その応用方法等の検討はなされていない。そこで本研究では、根面う蝕の発生予防により有効な SDF の応用方法の検討の一環として、SDF の塗布方法の相違による歯根象牙質脱灰抑制効果について *in vitro* で評価した。

【材料と方法】

ウシ前歯歯根を用いて厚さ約 3mm の象牙質プレートを作製した。象牙質プレートを 2 分割し、即時重合レジンに歯根象牙質表面の一部が露出するように包埋し、その後象牙質表面を研磨した。研磨された露出象牙質面に 3×3mm の開窓部を設定し、それ以外の部位にネイルバーニッシュを塗布し、試験試料とした。実験群は、無処理群 (以下コントロール)、SDF (サハライド液歯科用 38%) 5 秒間塗布群、5 秒間刷り込み塗布群、5 秒間塗布後 10 秒光照射群、60 秒間塗布群、および 10 分間塗布群の 6 群 (各 n=5) とした。各試験試料を 10mL の酢酸脱灰溶液 (50 mmol/L, pH 4.5) に 37° C で 7 日間浸漬した後に試料を取り出し、脱灰溶液中の Ca イオン濃度を測定し Ca 溶出量を求めた。脱灰抑制効果についてコントロールと各 SDF 処理群との比較を、Dunnett 検定を用いて有意水準 5%で行った。さらに脱灰後の試料表面の色調変化の観察のため、取り出された各試料を水洗、乾燥後、実体顕微鏡にて観察、写真撮影を行った。

【結果】

脱灰 7 日後の各群の Ca 溶出量はコントロール群の Ca 溶出量の平均値が 176.0 (mg/L) であるのに対して、5 秒塗布群では 134.4 (mg/L)、5 秒刷り込み群では 146.0 (mg/L)、光照射群では 154.2 (mg/L)、60 秒塗布群では 156.4 (mg/L)、10 分塗布群では 111.6 (mg/L) であった。Dunnett 検定の結果、10 分塗布群のみコントロール群と比較して有意に低い値を示した。また、色調の変化は 10 分塗布群では明らかに黒色へ変化していたが、その他の群では色調に大きな変化は観察されなかった。

【考察】

本研究の実験条件下においては、SDF の塗布時間が脱灰抑制効果に影響を及ぼすことが示された。また、脱灰抑制効果の認められた 10 分塗布群では、脱灰後その表面に明瞭な黒変が確認された。SDF の銀イオンやフッ化物イオンとの反応により象牙質表面にリン酸銀やタンパク銀など銀を含む反応物が生成されるとともに化学的・構造的変化が起こり、脱灰抑制効果を示したものと考えられる。

【結論】

38% SDF の 10 分間塗布は健全歯根象牙質に対して脱灰抑制効果を示した。

有病者のメンテナンスにおいて、根面う蝕への対応を経験した1症例

¹永山歯科医院、²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)

○¹岡田瑞希、^{1,2}永山智崇、²林美加子

Management of Root Caries during Supportive Periodontal Therapy : A Case Report

¹Nagayama Dental Clinic

² Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○OKADA Mizuki, NAGAYAMA Tomotaka, HAYASHI Mikako

【緒言】

日常臨床でメンテナンス (SPT) を行っているにもかかわらず、う蝕の発生や進行が認められる症例をたびたび経験する。その原因は主にブラークコントロールと食習慣にあると考えるが、その達成が困難な背景が患者さん毎にあるように感じている。今回は当院で治療を受けられた後にメンテナンスで通院されている患者さんを担当して、根面う蝕の進行を始めとする様々な変化とその対応を経験したので報告する。

【症例】

66歳男性、2014年初診。仕事が多忙で、歯科の受診は10年ぶりとのこと。喫煙者 (20本/日) であり、基礎疾患としては脳梗塞と心筋梗塞の前兆 (ステントにて対応) の既往があり、糖尿病 (インスリン注射をして HbA1c6.8) と高血圧 (140/90mmHg、プラビックスを服薬) もお持ちとのこと。全顎的に中等度～重度の慢性歯周炎に罹患していたので、2014年5月～7月に歯周基本治療を行い、その後も2015年1月まで再SRPと再評価を継続した。それらと並行して、う蝕による歯冠崩壊が著しい右上7,5,4と左上4は抜歯し、また残存歯にも多数のう蝕や根尖病変があったので、上顎については右上2,1と左上1,2についてはCR充填を、そして右上6,3と左上5,6,7については根管治療～補綴治療を行った。最終的には2015年3月に上顎は部分床義歯による欠損補綴で対応した。一方で、下顎については積極的な治療をご希望されなかったため、両側臼歯部のブリッジは可及的に保存することを目指した。その上で、セルフブラークコントロールが難しいので、月1回のメンテナンス (SPT) の必要性について説明し、同意を得た。

【結果】

根気よくTBIを行ったものの、患者さんの性格的な部分によるものが大きく、ブラッシングのモチベーションや生活習慣 (夜更かし) の改善は困難だった。その中で、メンテナンス中にもかかわらず、2015年には左下7の頬側の二次う蝕への対応 (GIC充填) と右下1,2と左下2に初発のう蝕によるCR充填、2016年には右下5と左下3に初発のう蝕によるCR充填、2017年に下顎2-2が動揺してきた対応としての暫間固定と上顎2-2がエナメル質の脱灰による再CR充填、2018年に右上6歯肉腫脹、2019年に右上6抜歯と追補、左下7の舌側の二次う蝕への対応 (GIC充填、可及的)、2020年に両側臼歯部のブリッジの抜歯、右下4,5と左下4の歯冠補綴 (根面う蝕の進行)、左上6,7が歯肉腫脹によりFMC除去後に上下暫間義歯作成、右下3,2,1と左上1,2の二次う蝕による再CR充填と左上3の初発のう蝕によるCR充填、2021年には下顎の義歯新製、左上6,7のFMC再製と上顎旧義歯修理 (クラスプ交換)、下顎3-3の根面う蝕の進行とフレアアウト (病的歯牙移動) など、様々な対応が必要になった。

【考察】

メンテナンスにおいてはう蝕と歯周病の徹底的な予防管理が目標になるが、実際に経験してみると、う蝕の進行の把握 (う蝕のリスク評価) や介入の時期と治療法の選択、歯周病の進行の把握 (歯周病のリスク評価) や抜歯も含めた治療方針の立案と修正、補綴治療計画の理解や全身疾患の病状把握、そして最終的にはヘルスプロモーションの実践 (患者教育や健康維持管理) など、とても多くの知識と技術が求められることがわかった。またそのためには、口腔内写真や歯周精密検査、デンタル10枚法、スタディーモデルなどの基礎資料の収集と活用が役に立つことがわかった。

【結論】

精度の高いう蝕予防管理を身につけるために、より専門的な研鑽を積んでいきたい。

食生活習慣の改善によりう蝕リスクが低減した1症例

¹大通り歯科, ²まつみだい歯科診療所, ³浅井歯科医院
○相馬 沙季¹, 渡部 平馬¹, 大墨 竜也², 浅井 哲也³

One case in which the risk of caries was reduced by improving eating habits

¹Odori Dental Clinic, ²Matsumidai Dental Office, ³Asai Dental Clinic
○SOMA Saki¹, WATANABE Heima¹, OSUMI Tatsuya², ASAI Tetsuya³

【はじめに】う蝕の病因論には様々な仮説があるが、現在では Marsh らが提唱した「生態学的プラーク仮説」が支持されている。生態学的プラーク仮説によれば、発酵性炭水化物の頻回な摂取によってう蝕原性細菌の糖代謝による酸産生が生じ、バイオフィーム中の pH が酸性に傾く。その結果、耐酸性能を有するう蝕原性細菌が選択的に生存し、さらに歯面に接するバイオフィームの pH が酸性となり、不可逆的な脱灰が生じう窩が形成されるとされている。したがって、う蝕の発症予防には食習慣が深重要であると考えられる。本症例では初診時にう蝕リスクが高いと診断されたため、食生活習慣を改善することにより、新たなう蝕の発症予防および進行抑制を試みた。

【症例】初診：2016年7月12日 患者：8歳男児 主訴：学校検診で虫歯を指摘された 既往歴：ぜんそく

【検査所見】叢生で15の萌出障害あり。口腔衛生状態不良 (PCR : 73.9%)。全顎的に歯面は脱灰しており、64にう窩を認める。対合および反対側同名歯は前医にて修復処置がなされている。全顎的な歯肉の炎症を認める。

【診断】52, 51, 61, 62, 64, 65, 75, 85, 16, 26, 36, 46, 75, 85 : CO, 64 : C2, プラーク性歯肉炎, 下顎骨左側偏位, 叢生歯列弓, 15 : 萌出障害

【治療計画】①TBI, 食生活指導, PMTC, ②再評価, ③修復治療, ④矯正治療, ⑤メンテナンス

【治療経過】①TBIは技術的には問題なく、モチベーションの維持に問題があったため継続する必要性について指導した。食生活指導ではスポーツドリンクの常飲、不定期な菓子類摂取が認められたため、それぞれについてう蝕リスクとの関連、患児本人および母親に説明し改善を試みた。②PCRの改善は限定的であったため、引き続きう蝕リスクは高いと診断。継続的な口腔衛生指導および食生活指導、う窩形成部の修復処置、CO部分の一部についてシーラント処置を行う方針とした。③64にグラスアイオノマー修復を行った。16, 26, 36, 46, 75, 85にシーラント処置を行った。④矯正専門医と連携し、埋伏歯の萌出誘導、叢生の改善を行った。上顎マルチブラケット装置を装着し、15を萌出させた。R2.9より保定装置へ移行。⑤メンテナンスへ移行。

メンテナンス期間中も乳歯においては充填物の脱落、再治療を行った部位があった。現在は全ての乳歯が永久歯に交換した。スポーツドリンクや菓子類の摂取頻度は減少し、プラークコントロールも良好な状態で維持されている。上顎前歯部および上下顎第一大臼歯のCo部は初診時から進行は認めず、脱灰しているもののう蝕は発症していない。

【考察】本症例は乳歯列期において、う窩を伴わない初期う蝕を含めて全顎的にう蝕が発症していたため、う蝕リスクは高かったと考えられる。適切な口腔衛生状態を保つための指導および清掃しやすい歯列を獲得するための歯列矯正、さらにリスクの高い食生活習慣について指導することによりう蝕リスクは低減し、永久歯にう窩を伴うう蝕が発症しないよう管理できていると考えられる。

【結論】う蝕の発症予防、進行抑制にはう蝕リスクを低減させることが重要であり、口腔衛生状態を良好に保つことはもちろん、食生活習慣を改善するための適切な介入をすることが有効である。

0歳時からメンテナンスを始めた受診者の4歳時のう蝕に関するアウトカムの評価

坂田歯科医院

○神家満 久実

Evaluation of outcomes of dental caries at 4 years of age among children

starting a maintenance programme from 0 years of age

Sakata Dental clinic (Saitama, Japan)

○Kumi Kamiyama

【背景・緒言】

小児専任の歯科衛生士は0歳から20歳までの受診者を対象にし、口腔の健康をサポートする。特に大切なのは、低年齢(0~1歳) 時からの来院を促し、将来う蝕や歯周病にならない習慣づけの重要性を、診療を通して保護者に伝えることである。その効果については、様々な調査研究でよく調べられている。さらに、ランダム化比較試験である「Okuizoméプロジェクト」では、0歳児の保護者や家族、親戚への介入としてmHealthを使って教育メッセージを送ることで、メンテナンスにプラスした効果が得られるかどうかを調べる予定である。

本研究の目的は2つあり、(1)「Okuizomé プロジェクト」のプレパイロットスタディとして、0歳児を対象にメンテナンスを開始した場合、その4歳時点でのう蝕がない子どもの割合を、リスクに応じたう蝕管理プログラムを行っている一歯科医院の臨床データで調べること、(2)同歯科医院で0歳時に初診で来院した小児のう蝕発生状況をリスク因子別に調べて、今後の臨床課題を検証することである。

【症例】

栃木市の早乙女歯科医院に0歳で初診来院し、かつ4歳時にも受診をしていた小児118人とその母親を調査対象とした。以下の項目について、患者管理ソフトDentalX(株式会社ブラネット、岐阜)を用いて小児と母親のそれぞれの項目を収集、集計した。

1. 小児の集計項目

:1) 来院状況 2) ミュータンスレンサ球菌(MS)スコア(デントカルト;株式会社オーラルケア、東京) 3) う蝕が発症した年齢 4) う蝕の発症部位 5) 第一子か第二子以降か

2. 母親の集計項目

:1) 来院状況 2) MSスコア 3) DMFT

参照値として、1歳以降に同歯科医院を初診来院し、かつ4歳時にも受診をしていた754人の初診時年齢別う蝕フリー者率と一人あたり平均dtと、平成28年の歯科疾患実態調査の4歳時のデータを取った。

【結果】

(1)0歳時にメンテナンスを受け始めた118人の小児のうち、4歳時にう蝕フリーだった者は77%だった。

(2)定期的(1~3ヶ月毎)にメンテナンスを受けた小児は80人で、不定期(4ヶ月以上の中断あり)に来院した小児は29人だった。4歳時のう蝕フリー者率は、定期来院の小児は90%で、不定期来院の小児は38%だった。

定期、不定期に関わらず、う蝕フリーを維持できた小児の多くがMSスコアが0(最も好ましい)であった。一方でう蝕が発症した小児はMSスコア2または3(最も好ましくない)小児が多かった。0歳からの定期来院者の一人平均dtは0.2(新たなう蝕の発症)で、参照値と比較して最も低く抑えられていた。

【考察】

0歳時にメンテナンスを受け始めて4歳まで継続すると、歯科疾患実態調査の4歳児よりも多くう蝕フリーに保てられていることが明らかだった。2歳以降からメンテナンスに来院した小児は初診時に既にう蝕が認められたケースが多かったこともわかり、改めて0歳からの定期的なメンテナンスの重要性が示された。合わせて、MSの感染防止に対する教育が非常に大切だということも再認識した。これらのアウトカムは、同様にメンテナンスを行う予防管理型歯科医院で一般化できるだろう。一方で小児のう蝕フリーと母親の調査項目との間に明らかな関係性が見られなかったことは先行研究の結果と異なり、さらなる検証が必要である。

【結論】

0歳からメンテナンスを行う小児の4歳時のう蝕フリー者率が77%であったことを「Okuizoméプロジェクト」の参照値として採用する。総括として0歳からのメンテナンスの効果が示され、さらに臨床を向上するために定期メンテナンスやMSの感染防止について啓発するという課題が明らかになった。

広汎型重度慢性歯周炎の7年経過症例 -歯科衛生士としての関わり-

たるみ歯科クリニック
○吉田祥子、安井里枝、樽味 寿

A case report of severe generalized chronic periodontitis followed up for 7 years.
- Involvement as a dental hygienist -
Tarumi Dental Clinic
○Shoko Yoshida, Rie Yasui, Hisashi Tarumi

【緒言】

日常臨床において、患者が自らの病状を正しく把握できず、あるいは継続受診のモチベーションを保てず、通院が途絶えることをしばしば経験する。今回、他院での治療中断後に当院を受診された重度歯周炎患者の7年経過症例を報告する。

【症例】

初診：2014年7月。 患者：39歳、女性。 主訴：下の前歯が揺れている。 全身既往歴：なし。 喫煙歴：20歳～36歳まで10本/日。 現病歴：1年前に6カ月間他院を受診していたが、処置が毎回痛くて通院を止めた。

臨床所見：下顎前歯の著しい動揺とともに全顎的な歯肉腫脹とプロービング時の出血（BOP 98.3%）を認め、プラークコントロールも不良（PCR 52.6%）であった。6mm以上の歯周ポケットは59.8%で、デンタルエックス線写真より下顎前歯部の根尖におよぶ骨吸収像に加え、上下顎臼歯部に垂直的骨吸収像が認められた（Fig. 1）。

診断：広汎型重度慢性歯周炎（ステージIII グレードC）

治療計画：①歯周基本治療 ②再評価 ③抜歯と補綴治療 ④サポータティブペリオドンタルセラピー（SPT）

治療経過：初診から4カ月間、痛みによる治療中断が生じないよう配慮した歯周基本治療を行い、2014年11月に再評価した。セルフケアが改善されたことから歯肉の発赤・腫脹など炎症症状は緩解し、主訴である下顎4前歯（42-32）の動揺も軽減した。しかし長期予後を考慮し、歯科医師とともに42-32は保存困難と患者に告知した。患者は抜歯を躊躇したため約6カ月間SPTを続けながら主訴部位の経過観察を行った。2015年4月、31が自然脱落したことをきっかけに患者は治療計画に前向きとなった。同年5月、42と32を抜歯したが、比較的動揺が少ない41は予後不良の可能性を説明したうえで、患者の意思を尊重し保存した。同年9月、41を支台歯として含む43-33のブリッジを装着した。ブリッジ装着後、咀嚼機能の改善および審美性の回復によって患者のモチベーションが向上し、セルフケアが更に改善した。2017年3月、37不適合メタルインレー再製時に、36の根面う蝕に対するコンポジットレジン充填を行った。その後現在まで、フッ化物洗口を含むセルフケアとSPTにより、歯周炎だけでなく根面う蝕の予防管理もできている。

【考察、まとめ】

初診時に、口腔内写真とデンタルエックス線写真を用いて病状を説明した際、抜歯が必要なほど悪いと思っていなかったと驚かれたことから、患者への分かりやすい説明が大切だと感じた症例である。患者の希望に沿った治療計画の立案と遂行が、患者との信頼関係構築とセルフケアへの意識向上を導き、現在の良好な結果につながったと考えられる。今後も、患者意思に配慮した歯科臨床を歯科医師とともに続けていきたいと考えている。



Fig. 1 X-ray photo images at the first visit (2014)



Fig. 2 X-ray photo images after 7-year follow up (2021)