

水ガラス浸透ジルコニアとレジンセメントとの引張り接着強さ

¹ 東京医科歯科大学医歯学総合研究科う蝕制御学分野,
² 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔機能再建工学分野
 ○牛島 啓¹, 平石 典子¹, 池田 正臣², 島田 康史¹

Tensile bond strength of resin cement to water glass penetrated to zirconia

¹Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University,
²Department of Oral Prosthetic engineering, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
 ○ Kei Ushijima¹, Noriko Hiraishi¹, Masaomi Ikeda², Yasushi Shimada¹

【緒言】

ジルコニア接着システムでは、ジルコニアの前処理として機能性モノマーである MDP 含有のプライマーを使用しているが、化学的な接着の獲得は困難であるとの報告もある。そこで本研究では、ジルコニア表面に水ガラスを用いて、シラン処理可能なシリカ層を生成し、レジンセメントの接着強さを引張試験にて、ジルコニア表面性状の変化を電子線マイクロアナライザー (EPMA) 及び走査型電子顕微鏡 (SEM) にて、評価・観察した。

【材料及び方法、試料】

半焼結のジルコニアブロック (カタナジルコニア, UTML, A1) を焼結後に直径 11mm, 厚み 4mm の試片になるよう CAD ソフトにて設計, 切削加工機 (DWX-50, Roland) にて削り出し, #600 の耐水研磨紙にて乾式にて表面を研削後, 表面に水ガラス (3 号珪酸ソーダ T2, 東曹産業) 3 μl をマイクロブラシにて塗布した群と無塗布の 2 群に分けた (Zr+Na₂SiO₃ 群, Zr 群)。次に, 業者指定のスケジュールにて焼結し, ジルコニア試片とした。さらに, ジルコニア試片表面をサンドブラスト処理 (0.2 気圧, 50 μm) した後, 両面テープにて, 厚さ 100 μm, 直径 4mm の接着面を規定した。次に, 接着面をリン酸エッチング処理 (20 秒後, 水洗乾燥) し, シラン処理の有無 (ユニバーサルプライマー, トクヤマデンタル) にてさらに, 2 群に分けた。その後, ステンレスロッドをレジンセメント (エステテム II, トクヤマデンタル) にて, ジルコニア試片と接着した。レジンセメント硬化後, 37°C の水中に 24 時間放置 (24h 群), もしくは温度負荷試験 (5°C - 55°C, 10000 回) を行い (TC 群), 引張り接着試験用試料とした。引張り接着試験は, 万能試験機 (AGS - J, 島津製作所) を用い, クロスヘッドスピード 1.0mm/min にて行った。試料数は各群 10 とし, 接着強さは, Bonferroni の方法にて危険率を調整した t-test と Wilcoxon rank sum test を用いて危険率 5% にて検定した。また, 水ガラス塗布焼結後のジルコニア表面性状は EPMA 分析および SEM にて観察した。

【結果及び考察】

引張り接着試験結果を図 1 と 2 に, EPMA 分析結果を表 1 に示す。シラン処理有りでは, 24h 群, TC 群ともに Zr+Na₂SiO₃ 群は Zr 群に比べて有意に高い接着強さを示した (p<0.05)。さらに, EPMA 分析の結果, 水ガラス塗布し焼結したジルコニア表面には Si 層が形成されていた。Zr+Na₂SiO₃ 群がレジンセメントとの高い接着強さを示したのは, Si 層に対し, シラン処理が有効だったことが原因と考えられる。

【結論】

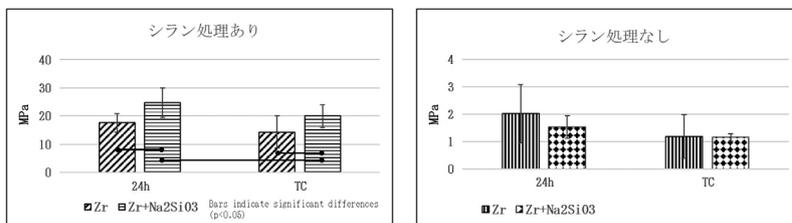
水ガラス塗布のジルコニアにシラン処理を施すことで, ジルコニア単体に比べ, レジンセメントと高い接着強さを示した。また, EPMA 分析の結果から, ジルコニア表面に浸透した水ガラス (Na₂SiO₃) は, 焼結後, Na₂O が揮発し, SiO₂ とジルコニアの元素のみが定量された。

水ガラス浸透ジルコニアとレジンセメントとの接着強さ

表 1 EPMA 分析結果 (組成比, mol%) 図 1 シラン処理あり

元素	水ガラス塗布面	断面 (深さ)		
		数 μm	25 μm	50 μm
SiO ₂	0.182	0.398	0.057	0.032
Y ₂ O ₃	0.017	0.032	0.062	0.063
ZrO ₂	0.457	0.57	0.882	0.906
Na ₂ O	0.003	0	0	0

図 2 シラン処理なし



二ケイ酸リチウムガラスのフッ化水素酸水溶液処理が接着強さへ及ぼす影響

¹ 岡山大学学術研究院医歯薬学域 生体材料学分野,

² 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 総合歯科学分野

○入江 正郎¹, 岡田 正弘¹, 矢部 淳², 武田 宏明², 松本 卓也¹

Effect of pretreating by hydrofluoric acid solution on shear bond strength to lithium disilicate ceramics of luting cements

¹Department of Biomaterials, ²Department of General Dentistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○ Masao Irie¹, Masahiro Okada¹, Atsushi Yabe², Hiroaki Taketa², Takuya Matsumoto¹

【 緒言 】

近年、審美修復材料は従来の陶材に代わるべく、CAD/CAMの導入に伴い種々のセラミックス修復材料が登場し、それに適応すべく新規のレジンセメントも登場してきた。そこで、最近のセラミックスとレジンセメントの臨床応用への基礎的な情報を得るため、今回は各種レジンセメントのセラミックス（二ケイ酸リチウムガラス）に対する接着強さを、フッ化水素酸水溶液処理の有無から検討した。

【 材料と方法 】

Table に示した 9 種のレジンセメント使用、被着体のセラミックスとして今回は二ケイ酸リチウムガラスとして IPS e.max CAD (Ivoclar Vivadent : e.max) を使用した。方法は、ISO の接着強さの測定指針 (ISO/TR 11405) を参考にして行った。セラミックスをトリミングして被着面 (直径約 5 mm, 厚さ約 2 mm) を確保した。被着面を、# 320 耐水研磨紙で最終研磨後、4.5 % のフッ化水素酸水溶液 (IPS Ceramic Etching gel, 20 sec., Ivoclar Vivadent: HF) 処理の有無、蒸留水で水洗、エアーで十分に乾燥させた。その後、テフロンモールド (内径 3.6 mm, 深さ 2.0 mm) を固定し、このモールド内に各セメントを用いてステンレスロッド (Alloy Primer, Kuraray Noritake Dental で被着面を処理) を接着させた。8 種のレジンセメントは光照射 (20 × 2 秒間) して硬化させ (Dual-cure), Super-Bond Universal (EX) は 37°C 恒温室に 8 分間保存して硬化させた (Self-cure)。1 日間 37°C 蒸留水中浸漬後 (Base), サーマルサイクル 5,000 回 (TC 5k) および 20,000 回 (TC 20k) 負荷後のせん断接着強さを測定した。

【 結果と考察 】

Table にせん断接着強さの結果を示す。各セメントそれぞれ HF (-) では、Base で約半数が HF (+) と比較して有意な差がみられなかったが、以降はほとんどで有意な低下がみられた。Super-Bond Universal (EX) は TC 5k で有意な差がみられず、TC 20k では有意な差がみられたが、他のセメントと比較すると急激な低下はみられなかった。ESTECM II も類似の傾向を示した。他のセメントは TC 20k になるとほとんどゼロに近い値を示した。この 2 種は 2 液型の処理材であり、他の製品は 1 液型で、2 液型とすると、シランカップリング剤の保管中の劣化を抑制しているため、HF (-) の e.max に対して良好な接着強さが得られていると考えた。

演題発表に関しまして、開示すべき COI 関係にある企業はありません。

Table Shear bond strength to lithium disilicate ceramics of luting cements (MPa)

Luting cement / Pretreating agent (Manufacturer)	Pretreating by HF	Mean (S.D., N=10)		
		Base	TC 5k	TC 20k
RelyX Universal Resin Cement / Scotchbond Universal Plus Adhesive (3M)	(+)	43.4 (5.1) *	41.6 (6.2) *	29.3 (3.3) *
	(-)	30.1 (8.2)	17.0 (4.7)	1.7 (0.9)
SA Luting Multi / No pretreating (Kuraray Noritake Dental)	(+)	38.3 (3.7) *	32.6 (5.4) *	33.7 (6.6) *
	(-)	14.3 (2.6)	1.9 (0.8)	0.9 (0.3)
Panavia V5 / Clearfil Ceramic Primer Plus (Kuraray Noritake Dental)	(+)	30.9 (4.0) *	28.3 (2.4) *	30.8 (3.7) *
	(-)	22.1 (6.2)	5.4 (2.1)	1.5 (0.6)
G-Cem ONE EM / G-Multi Primer (GC)	(+)	31.2 (4.6) NS	34.1 (7.7) *	31.2 (4.6) *
	(-)	30.4 (7.1)	8.5 (2.4)	7.3 (2.1)
ESTECM II / BONDMER Lightless II (A+B) (Tokuyama Dental)	(+)	33.3 (6.0) NS	37.9 (4.1) *	31.1 (4.9) *
	(-)	38.3 (8.2)	27.5 (3.6)	20.5 (4.4)
Variolink Esthetic DC / Monobond Plus (Ivoclar Vivadent)	(+)	41.6 (3.7) NS	41.7 (5.1) *	35.8 (5.5) *
	(-)	38.1 (5.8)	21.0 (3.3)	1.3 (0.6)
Nexus Universal Chroma / OptiBond eXTRA Universal (KAVO/Kerr)	(+)	37.1 (6.1) NS	29.9 (2.6) *	31.8 (4.6) *
	(-)	37.1 (6.1)	2.5 (1.5)	0.9 (0.3)
ResiCem EX / BeautiBond Xtreme (Shofu)	(+)	31.2 (3.3) *	31.7 (2.8) *	30.5 (3.3) *
	(-)	19.4 (3.9)	3.8 (1.4)	1.1 (0.5)
Super-Bond Universal (EX) / M&C Primer (A+B) (SunMedical)	(+)	33.2 (3.8) NS	31.2 (5.5) NS	30.9 (1.6) *
	(-)	31.7 (4.1)	28.2 (5.1)	22.5 (5.2)

* Significantly different by *t*-Test between the two results. * Significant difference (P<0.05), NS: Not significant difference (p>0.05), TC 5k: 5,000 thermocycles, TC 20k: 20,000 thermocycles

レジンブロックへのサーマルサイクル負荷がユニバーサルアドヒーズ併用型自己接着性レジンセメントの接着強さに及ぼす影響

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² かなまる歯科クリニック, ³ すずき歯科クリニック,
⁴ 岩戸歯科クリニック

○高橋 奈央¹, 黒川 弘康¹, 柴崎 翔¹, 石井 亮¹, 金丸 壽良², 鈴木 敏裕³, 宮 直利⁴, 宮崎 真至¹

Effect of thermal cycle stress on CAD/CAM resin block on bond strength of self-adhesive resin cement for combination use type of universal adhesive

¹Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry,

²Kanamaru Dental Clinic, ³Suzuki Dental Clinic, ⁴Iwato Dental Clinic

○ Nao Takahashi¹, Hiroyasu Kurokawa¹, Sho Shibasaki¹, Ryo Ishii¹, Toshiro Kanamaru²,
Toshihiro Suzuki³, Naotoshi Miya⁴, Masashi Miyazaki¹

【研究目的】

CAD/CAM レジンブロック冠の接着疲労耐久性を検討することを目的として、CAD/CAM レジンブロックへのサーマルサイクルの負荷後のユニバーサルアドヒーズ併用型自己接着性レジンセメントの接着強さを測定するとともに表面自由エネルギーの測定を行った。

【材料および方法】

ユニバーサルアドヒーズと自己接着性レジンセメント（以後、レジンセメント）の組み合わせとして、Clearfil Universal Bond Quick ER と SA Luting Multi（クラレノリタケデンタル）、Prime & Bond Universal と Calibra Ceram Adhesive Resin Cement（Dentsply sirona）および Scotchbond Universal Plus Adhesive と RelyX Universal Resin Cement（3M ESPE）を用いた。

CAD/CAM レジンブロックとして、Arctica VITA Enamic（KAVO dental systems）および Katana Avencia P Block（クラレノリタケデンタル）を用いた。

1. CAD/CAM 試片および TC 負荷試片の製作

CAD/CAM レジンブロックをスライスし、常温重合レジンに包埋した後、ブロックの露出面を耐水性シリコンカーバイドペーパーの 320 番で研削した。この研削面に対して、50 μ m のアルミナ粒子を用いて 10 秒間、0.2 MPa の条件でサンドブラストを行い、被着面としたものを CAD/CAM 試片とした。さらに、CAD/CAM 試片に対してサーマルサイクルを 10,000 回負荷したものを TC 負荷試片とした。

2. 接着試験用試片の製作

接着試験用試片の製作は、CAD/CAM 試片および TC 負荷試片に対して以下に示す 2 条件で行なった。

1) SARC_s 群：アルミナサンドブラストした円柱状ステンレスロッド（内径 4 mm、高さ 2 mm）の底面に製造者指示条件で練和したレジンセメント泥を適量塗布した後、各試片の被着面に加重 10N で 10 秒間圧接した。次いで、マイクロブラシを用いて余剰セメントを除去した後、レジンセメントに対して 2 方向から 30 秒間照射して硬化させた。

2) UA 群：レジンセメントと対応するユニバーサルアドヒーズを用いて、各試片およびステンレスロッドの被着面を製造者指示条件で処理した後、SARC_s 群と同様の接着操作を行なった。

3. 接着強さの測定

接着試験用試片を 37°C の精製水中に 24 時間保管した後、Test Base Clamp を万能試験機（Type 5500R, Instron）に設置して、クロスヘッドスピード毎分 1.0 mm の条件で剪断接着強さを測定した。なお、各条件における試片数は 10 個とした。また、接着試験後の CAD/CAM レジンブロック側の破断面について SEM 観察を行なった。

4. 表面自由エネルギーの測定

CAD/CAM 試片および TC 負荷試片の被着面および各試片のユニバーサルアドヒーズ処理面に対して、表面自由エネルギー（SFE）が既知である 3 種類の液体を 1 μ l 滴下し、全自動接触角計（Drop master DM 500, 協和界面科学）を用いて接触角の測定を行い、total SFE（ γ_s ）の各成分である分散（ γ_s^d ）、双極子（ γ_s^p ）および水素結合成分（ γ_s^h ）を算出した。

【成績および考察】

CAD/CAM 試片に対するレジンセメントの接着強さは、いずれのレジンセメントにおいても SARC_s 群と比較して UA 群で高い値を示したが、その程度は製品によって異なるものであった。一方、TC 負荷試片に対する各レジンセメントの接着強さは、SARC_s 群および UA 群ともに、CAD/CAM 試片に対する接着強さと比較して低下する傾向を示した。この要因としては、CAD/CAM レジンブロックへの TC 負荷は、レジンセメントあるいはユニバーサルアドヒーズの CAD/CAM レジンブロック表面でのヌレ性を変化させることで、接着強さに影響を及ぼした可能性が考えられた。

【結論】

CAD/CAM レジンブロックへのサーマルサイクルの負荷は、ユニバーサルアドヒーズ併用型自己接着性レジンセメントの接着強さに影響を及ぼすことが示された。

Papain gel enhances bond strength to eroded dentin

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

²Department of Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand,

³Department of Regenerative Dental Medicine, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences

○ Sanon Kittisak^{1,2}, Hiraishi Noriko¹, Hatayama Takashi¹, Nakajima Masatoshi^{1,3}, Shimada Yasushi¹

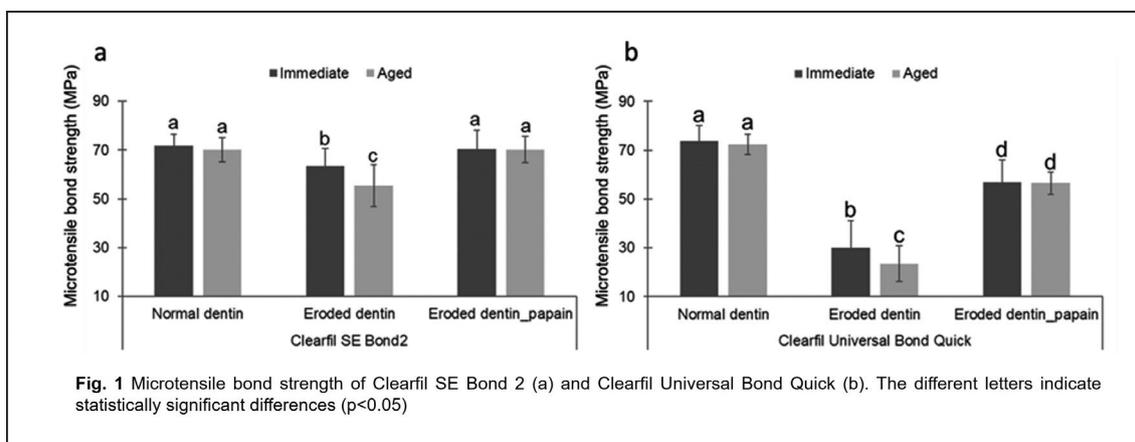
Objectives To evaluate the effect of papain gel on bond strength to eroded dentin.

Methods Artificial eroded dentin surfaces were prepared by challenging the human dentin surfaces in Cola-soft drink base pH-cycles for 5 days. The eroded dentin surfaces were pretreated with papain gel (Brix 3000) for 30 s, and washed with water for 10 s. The treated dentin surfaces were air-dried and bonded with 2-step self-etch adhesive (Clearfil SE Bond 2) or self-etch mode universal adhesive (Clearfil Universal Bond Quick). No pretreated normal and no pretreated eroded dentin surfaces were used as control. Microtensile bond strength (μTBS) was tested immediately after bonding for 24 h and 10000 thermocycles. Fractography and surface morphology on pretreated dentin surface was evaluated by SEM. Data were statistical analyzed with one-way ANOVA and Tukey's post hoc at significance level 0.05.

Results The results showed in Fig. 1. Eroded dentin showed the significant lower μTBS than normal dentin. While the μTBS of normal dentin were stable after thermocycles, the μTBS of eroded dentin significantly decreased. The deproteinization with papain gel significantly improved the immediate μTBS to eroded dentin and stabilize them after thermocycles.

Conclusion Deproteinization with papain gel significantly increased bond strength and stability of self-etch adhesives to eroded dentin.

Clinical significance Deproteinization with papain enzyme could improve bond strength to eroded dentin and its durability.



新規合着用レジン強化型ガラスアイオノマーセメントにおけるジルコニア初期接着性の評価

株式会社ジーシー
 ○樋地 あかり, 鈴木 利弥, 篠崎 裕

Evaluation of initial adhesion of zirconia in new Resin Reinforced Glass Ionomer Luting Cement

GC CORPORATION

○ Akari Hiji, Toshiya Suzuki, Yutaka Shinozaki

[緒言]

2022年7月1日、弊社よりフジルーティング EX Plus (以下 EX Plus) が新規上市された。EX Plus はシャープな硬化特性と良好なタックキュア性を有する、ペーストタイプの合着用レジン強化ガラスアイオノマーセメント (以下 RMGIC) である。RMGIC の硬化反応は、ガラス粉末とポリカルボン酸水溶液の中和反応によって進行する。また、RMGIC の接着強さは合着初期より 24 時間後にかけて増大することが知られている。つまり、合着初期より十分な接着強さを発現できれば補綴物の早期脱離などのリスク低減が可能であるため、初期接着強さは RMGIC の重要な特性の一つと言える。そこで本研究では、EX Plus の初期接着強さを評価することを目的とした。

[材料および方法]

被験材料として EX Plus とさらに、国内市場で広く用いられている他社 RMGIC (以下製品 A とする) を供した。被着体には近年市場が拡大しているジルコニアを選定した (Aadva Zr, GC)。1450°C で焼結した板状のジルコニアをユニファスト II (GC) で包埋した。ジルコニアならびにステンレスロッドはアルミナサンドブラストを圧力 0.4 MPa で表面処理を行った。φ 3 mm の穴を開けた厚さ 100 μm の FEP 粘着フィルムを貼付し、接着面積を規定した。各被験材料はメーカー指定の方法に従い練和し、ステンレスロッドにセメント練和物を塗布した。その後、ステンレスロッドを試験面の上に乗せ、10N の荷重を 10 秒間与えた。また任意のタイミングで余剰セメントを除去した。(a) 初期接着試験: 練和開始から 1 分後に 37°C の恒温槽に静置し、2 分 45 秒 (EX Plus 指定の最終硬化時間) と 5 分 (製品 A 指定の最終硬化時間) 経過後にそれぞれ引張接着試験を実施した。(b) 24 時間後接着試験: 37°C 90%R.H. の恒温恒湿槽に 1 時間静置後、37°C 蒸留水中に 24 時間浸漬し、引張接着試験を実施した。測定は万能試験機 (AG-IS, 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min で測定した。(n=8) 統計処理にはマン・ホイットニーの U 検定の手法を用いた。

[結果と考察]

測定結果を図 1 に示す。EX Plus は 2 分 45 秒、5 分、24 時間後いずれも製品 A より有意に高い接着強さを示した (P<0.01)。EX Plus は製品 A と比較してシャープな硬化性を有するため、初期においても高い接着力を示したと推察される。また、EX Plus の 5 分後と製品 A の 24 時間後の接着強さが同等であることから、EX Plus は合着初期より十分な接着強さを発現することが示唆された。

[結論]

新規合着用 RMGIC のフジルーティング EX Plus は短い硬化待ち時間でも高い接着性を有し、ジルコニアを含む補綴の合着において、早期脱離のリスクが低いことが示唆された。

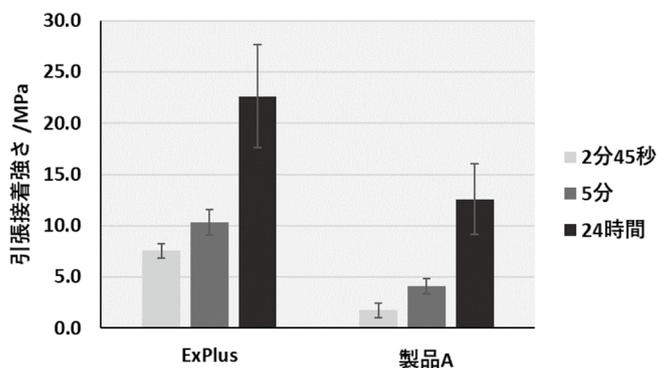


図 1 初期 (2分45秒、5分) ならびに24時間後における引張接着強さ

新規ユニバーサルボンドの接着性評価

株式会社トクヤマデンタル
○六名 郷, 岸 裕人, 山川 潤一郎

Evaluation of the adhesive property of the new universal bond

Tokuyama Dental Corporation
○ Go Mutsuna, Hiroto Kishi, Junichiro Yamagawa

【緒言】

トクヤマデンタル (TD) は 2017 年に、歯質及び各種補綴物に対して同一の操作で使用可能であり、かつ光照射が不要であるユニバーサルボンド「ボンドマー ライトレス (BL)」を上市した。BL の後継品として、更に簡便な使用性を有する製品の上市を目指し、BL の性能を継承しつつ、「2 液の混和の可視化」「常温保管可能 (常温下での良好な保存安定性)」の新たな 2 つの特徴を付与したボンドマーライトレス II (BLII) を開発した。本研究では、BLII を用いて歯質及び各種補綴物への接着試験を実施し、各種被着体への接着性を評価した。

【実験方法】

・サンプル作製

歯質接着試験片…耐水研磨紙で研磨した新鮮牛歯エナメル質及び象牙質を被着体とし、BLII 及びトクヤマボンドフォース II (BFII (TD 製)) を塗布し、エアブローを行い、BFII には光照射を行った。その後エステライトΣ クイック (TD 製) を充填、光照射を行い、その上部に金属製アタッチメントを装着し、37℃ の水中で 24 時間保存したものを、初期試験片とした。

補綴物接着試験片…被着体として金銀パラジウム合金 (金パラ: CASTMASTER12S (TD 製)), コバルトクロム合金 (Co-Cr: Wirobond280 (i-CR CAST 製)), ハイブリッド硬質レジン (パールエステ (TD 製)), ポーセレン (Super Porcelain AAA (クラレノリタケデンタル製)), ジルコニア (TZ-3Y-E (東ソー製)) を耐水研磨紙にて研磨し、ポーセレン以外の被着体についてはサンドブラスト処理を行った。各種補綴物と金属製アタッチメントに、BLII 及びトクヤマユニバーサルプライマー (UP (TD 製)) を塗布し、エアブローを行った。上記アタッチメントにエステセム II (TD 製) を塗布し、各種被着体へ圧接した。その後 37℃ の水中で 24 時間保存したものを、初期試験片とした。

・耐久試験…上記初期試験片を熱衝撃試験機 (東京技研社製) を用いて、5℃, 55℃ の水槽に各 30 秒間浸漬するサーマルサイクルを 3000 回 (TC3000) 繰り返したものを耐久試験片とした。

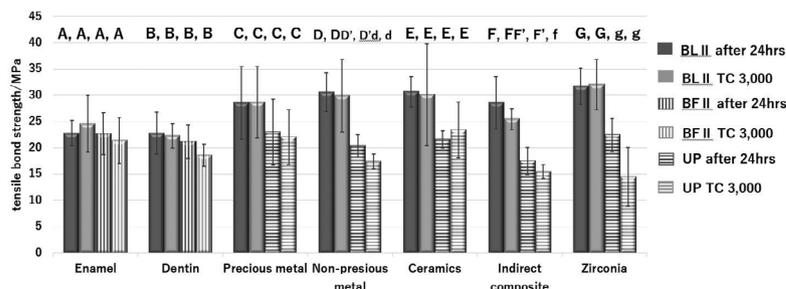
・引張試験…万能試験機 (オートグラフ AG-I50kN (島津製作所製)) を用いて、クロスヘッドスピード: 1mm/min として、引張試験を行った。サンプル数は n=5 で平均と標準偏差を求め、得られた値を One-way ANOV 法及び Tukey 法により統計解析した。

【結果】

Fig. 1 に示したように、BLII は初期及び耐久試験片のどちらにおいても、光重合型歯質用ボンディング材 (BFII) と同等の接着強さを示した。また補綴物用プライマー (UP) と比較して、Co-Cr、ハイブリッド硬質レジン及びジルコニアに対して有意に高い接着強さを示した。BL II に含まれる高活性な化学重合開始剤及び各種接着性モノマーの効果により、光照射不要でありながら、歯質及び各種補綴物に対して高い接着性を示したと考えられる。(図表 1)

【結論】

BLII はあらゆる材料に同一操作で使用可能で、常温保管可能のため、接着操作や保管方法の簡便化といった点で有用な材料であると考えられる。



酸蝕モデルがユニバーサル接着システムの象牙質接着性に及ぼす影響

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門
○杉村 留奈¹, 陸田 明智^{1,2}, 若松 賢吾¹, 矢吹 千晶¹, 青木 良太¹, 黒岩 充彦¹, 林 佳奈¹,
宮崎 真至^{1,2}

Bond Strengths of Universal Adhesive Systems to Influence of Acidic Attack of Dentin

¹Department of Operative Dentistry, Nihon University,

²Division of Biomaterials Science, Dental Research Center, Nihon University

○Runa Sugimura¹, Akitomo Rikuta^{1,2}, Kengo Wakamatsu¹, Chiaki Yabuki¹, Ryota Aoki¹,
Mitsuhiko Kuroiwa¹, Kana Hayashi¹, Masashi Miyazaki^{1,2}

【研究目的】

光重合型レジンの歯質接着システムはステップ数の簡略化とともに、エッチ & リンスあるいはセルフエッチモードのいずれに対しても使用可能なユニバーサル接着システムが臨床応用されている。一方、修復の対象となる歯質は、食生活習慣の変化に伴う酸蝕歯が問題視されているが、これらユニバーサル接着システムの酸蝕歯への象牙質接着性に対する影響については不明な点が多い。そこで、口腔内において、繰り返し低 pH 環境に曝された被着歯面を想定し、クエン酸を用いて表層脱灰された象牙質に対するユニバーサル接着システムの接着耐久性について、剪断接着試験とともに SEM 観察を行うことによって検討した。

【材料および方法】

供試したユニバーサル接着システムは、All-Bond Universal (Bisco), Adhese Universal (Ivoclar Vivadent) および Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE) の 3 製品とした。また、コンポジットレジン Clearfil AP-X (Kuraray Noritake Dental) を使用した。

接着試験には、ウシ下顎前歯象牙質を耐水性 SiC ペーパーの #600 まで研磨し、超音波洗浄したものを被着歯面とした。被着歯面に対する脱灰条件としては、1.23 % クエン酸水溶液を用いて、1 分間作用させ水洗と乾燥させる操作を 5 回繰り返した後、人工唾液に 1 分間保管したもの（直後群）、脱灰処理を 1 日 2 回、7 日間繰り返したもの（7日群）の 2 条件とし、処理を行わなかったものをコントロールとした。次いで、被着面積を一定にするために、直径 4 mm の穴の開いた両面テープを貼付し、各製造者指示条件に従ってアドヒーズブを塗布、照射した。次いで、内径 4 mm、高さ 2 mm の円筒形デュラコン型を置き、レジンペーストを填塞、ポリエチレンストリップスを介して照射を行い、これを接着試験用試片とした。これらの接着試験用試片は、24 時間保管した後、あるいはサーマルサイクル試験機を用いて 5 °C および 60 °C に設定された水中に 10,000 回および 30,000 回温熱負荷した後、万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード毎分 1.0 mm の条件で剪断接着強さを測定した。接着強さ測定後の破断試片については、実体顕微鏡を用いて歯質側破断面を観察し、併せて SEM 観察を行った。

【成績および考察】

供試したユニバーサル接着システムの接着強さは、コントロールと比較して直後群においては、いずれの製品においても接着強さは向上する傾向を示したが、7 日群においては、接着強さが低下する傾向を示した。接着試験後の破壊形式は、接着強さが向上するに伴って、象牙質の凝集破壊および混合破壊が増加する傾向を示した。これらは、クエン酸により脱灰された象牙質表面の形態の違いやアドヒーズブ層の機械的強度などが影響しているものと考えられた。サーマルサイクル試験を用いた温熱負荷において、10,000 回および 30,000 回ともに、いずれの製品および脱灰条件において有意な接着強さの違いは認められなかった。

【結論】

供試したユニバーサル接着システムにおいて、クエン酸によって脱灰され象牙質への接着性は製品の組成とともにそれぞれの脱灰能によって異なることが示唆された。

ヒト象牙質における機械的特性と審美性の加齢変化

¹ライオン株式会社 研究開発本部 口腔健康科学研究所, ²Max Planck 研究所,
³大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 (口腔治療学教室)
○猪又 侑里子¹, 赤羽 千佳¹, 木村 光夫¹, 山本 幸夫¹, Weinkamer Richard², Fratzl Peter²,
沢田 啓吾³, 柏木 陽一郎³, 村上 伸也³

Age-related changes in mechanical and esthetic properties in human dentin

¹Advanced Oral Health Science Research Laboratories, Research & Development Headquarters, Lion Corporation,

²Max Planck Institute for Colloids and Interfaces,

³Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○Yuriko Inomata¹, Chika Akabane¹, Mitsuo Kimura¹, Yukio Yamamoto¹, Richard Weinkamer²,
Peter Fratzl², Keigo Sawada³, Yoichiro Kashiwagi³, Shinya Murakami³

【研究目的】

口腔健康の維持は、人々のQOLに大きな影響を及ぼすことが示唆されている。歯の健康に関しては、多くの本数を残すことだけでなく、その機能を果たせる状態に歯を維持することが非常に重要である。一般的に、加齢に伴い現れてくる歯の不具合は複数知られているが、なかでも「歯の割れと黄ばみ」は、機能的、審美的観点からQOLに大きな影響を与えうる。しかしながら、これら両者の変化を定量的に捉えた報告は少ないのが現状である。そこで本研究は、歯の主要部分である象牙質に着目し、幅広い年齢層の抜去歯を解析対象として、加齢が機械的特性および色に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。また、これら不具合の原因として、近年様々な組織で悪影響が報告されているAGEs (Advanced glycation end products, 最終糖化産物) [1]に着目し、上記加齢変化との関連性を調査することとした。

【材料および方法】

本研究は大阪大学臨床研究審査委員会の承認を得て実施された (承認番号 No. H28-E32-6)。矯正治療や歯周治療の目的のために抜去された16歳から77歳までの大白歯と小白歯 (n=30) を樹脂包埋後、マイクロカッターで舌側・頬側に半割、研磨し、試料として用いた。まず、ナノインデントにより象牙質のヤング率を2次元マッピング測定した。次に、マイクロスコープにより象牙質を撮影し、画像処理ソフトMATLABにてL*a*b*表色系に変換後、黄ばみの指標としてb*値を2次元マッピングした。さらに、より詳細な変化を追跡すべく、マッピングしたデータを4領域 (歯冠外側・歯冠内側・歯根外側・歯根内側) に分割後、各領域の平均値を年齢に対してプロットし、それぞれの相関を調べた。また、象牙質に蓄積するAGEs量を見積もるサロゲートマーカーとして、ペントシジンを上記4領域において高速液体クロマトグラフィーにて定量し、コラーゲン1分子あたりのペントシジン量を上記と同様に年齢に対してプロット、相関性の有無を検討した。

【結果および考察】

象牙質におけるヤング率とb*値のマッピング像から、機械的特性・色はともに加齢で変化することが定量的に確認された。そこで領域別の統計解析を行った結果、ヤング率では歯冠外側以外の3領域において、b*値では全領域において、年齢との間に有意な相関が認められ、加齢により機械的特性・色が変化することが定量的に示された。ペントシジン蓄積量に関しては、いずれの領域でも有意に増加し、特に歯根部の2領域においてはその傾きが大きかった。

さらに、上記パラメータを用いた各領域での回帰分析を実施したところ、「b*値とペントシジン蓄積量」に関して有意な関係が示され、象牙質の加齢による黄変にはAGEs蓄積が関与していることが示された。一方、「ヤング率とb*値」間にも有意な関係が認められた。これは、ヤング率とb*値の変化には(1)コラーゲン自体の変性、(2)他のAGEs種の存在・蓄積挙動の影響など、共通の加齢因子が含まれている可能性があるためと考えられる。

以上より、ヒトの象牙質は加齢に伴い力学的性質や審美性が変化し、脆く黄色くなることが明らかとなった。今後は、ペントシジン以外の他のAGEsの存在やその局在、機械的特性・色との関連を明らかにし、歯の質維持に向けての技術開発に繋げる。

【参考文献】

[1]Nagai R et al., Anti-Aging Med 7 : 112-119, 2010.

3D プリンターで作製したプラスチックインデックスを用いて ダイレクトブリッジ修復を行なった症例

¹北海道大学大学院歯学研究院 歯科保存学教室, ²北海道大学病院 医療技術特定技術部門生体技工部
○星加 修平¹, 川村 碧^{1,2}, 樋谷 賢太¹, 戸井田 侑¹, 佐野 英彦¹

Direct bridge restoration by using 3D printed plastic index

¹Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

²Dental Medical Laboratory, Hokkaido University hospital

○ Shuhei Hoshika¹, Midori Kawamura^{1,2}, Kenta Tsuchiya¹, Yu Toida¹, Hidehiko Sano¹

【目的】これまで歯質接着は接着技術、接着性能や修復材料の性質向上によって進化してきた。その信頼性の高さから、予防拡大や保持形態の付与などいわゆる G. V. Black の原則というものから脱却し、健全歯質を可能な限り保存させようという流れ、まさに予防拡大から拡大の予防へと方針が転換している。その中で、1 歯欠損症例に対する治療方針として従来ではブリッジ、インプラント、部分床義歯が考えられたが、最近では接着性能の向上によりコンポジットレジンによるダイレクトブリッジも選択肢の1つとして考えられるようになった。また、デジタルトランスフォーメーション (DX) は医療分野への影響も大きく、診療、診断等様々な面でよりレベルアップが期待されている。歯科では従来の印象のデジタルスキャニングと CAD/CAM, もしくは 3D プリンティングによる代用が DX のメインと言える。今回、ダイレクトブリッジの際に使用する index をデジタルスキャニングと 3D プリンティングにて作製、それを用いて欠損部に修復材料を充填し、良好な予後を得ているので報告する。

【症例報告】患者は 50 代の女性、下顎右側中切歯欠損の症例に対し、今回の方法によるダイレクトブリッジを選択した。スキャン・ポンティックデザイン (松風 S-WAVE CAD/CAM システム) にて、スキャナー: E4 (3Shape) と CAD ソフト: Dental System (3Shape) を用いた。index デザインは CAD ソフト: 3-matic 15. 0 (Materialise) を用いた。3D プリントは、光造形方式 3D プリンタ: Form 3B (formlabs), 洗浄器: Form Wash (formlabs), 光重合器: Form Cure (formlabs) を用い、使用材料は Dental LT Clear Resin (formlabs) を用いて index が完成した。下顎右側中切歯の両隣接歯に接着処理として、K エッチャント GEL (クラレノリタケデンタル), 2 ステップセルフエッチング材であるメガボンド 2 (クラレノリタケデンタル) を使用した。Index を用いてエステライトフロークイック A3 (トクヤマデンタル) にて充填、賦形した。

【考察】下顎右側中切歯に対するダイレクトブリッジとして、審美性、機能性に問題なく、患者にも満足してもらえる結果となった。現在充填後 3 ヶ月経過しているが、不具合はない状態である。オーラルハイジーンは概良のため 3 ヶ月に一度程度のリコールで、今後も長期的に経過をみていく予定である。長期経過として脱離、着色、部分的な破折、二次う蝕の発生を確認していくことが必要である。今後は同様の方法で、空隙歯列の回復、白歯部広範囲に及ぶ欠損に対する充填等をおこなっていきたいと考えている。

歯冠修復の生存時間 (耐久性) に関する多機関共同研究

¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯科補綴学分野保存修復学部門, ²丸山歯科医院,
³おおい歯科医院, ⁴難波歯科医院, ⁵堀坂歯科医院, ⁶やまもと歯科クリニック, ⁷鶴見大学
 ○介田 圭¹, 久保 至誠¹, 丸山 和久², 大井 孝友³, 難波 秀樹⁴, 堀坂 寧介⁵, 山本 修平⁶, 桃井 保子⁷,
 江越 貴文¹, 平 曜輔¹

Longevity of dental restorations : a multicenter study

¹Div. of Cariology and Restorative Dentistry, Dept. of Prosthetic Dentistry, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University,
²Maruyama Dental Clinic, ³Oi Dental Clinic, ⁴Nanba Dental Clinic,
⁵Horisaka Dental Clinic, ⁶Yamamoto Dental Clinic, ⁷Tsurumi University
 ○ Kei Kaida¹, Shisei Kubo¹, Kazuhisa Maruyama², Takatomo Oi³, Hideki Nanba⁴,
 Yasuyuki Horisaka⁵, Shuhei Yamamoto⁶, Yasuko Momoi⁷, Takafumi Egoshi¹, Yohsuke Taira¹

【目的】

エビデンスに基づいた医療の必要性が指摘され, 30年経過した. しかし, これまでのわが国における歯冠修復の生存時間に関する研究は, 再治療症例のみを対象とした研究と単施設で実施された後ろ向きの観察研究にとどまっている. また, 統計解析を含め研究方法は, 今日の臨床研究法から見れば内的妥当性が高いとは言えない. 本研究では, 多機関と共同して歯冠修復 (コンポジットレジン: CR, メタルインレー: IN) の生存分析を行い, 耐久性に関して外的妥当性の高い情報を提供する.

【材料および方法】

長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て (22031402), 6共同研究機関 (一般歯科診療所) で歯冠修復を行なった症例の生存時間やそれに関連している可能性のある診療情報を収集した. 調査期間中に各共同研究機関を受診された患者で, 初めての来院から10年以上経過し, かつ歯冠修復治療の既往歴がある患者を研究対象者とした. 修復した全ての症例を対象とするとデータの独立性が担保されない. さらに, どの症例にするかで選択バイアスが生じるため, 修復別に最初の症例のみを記録することにした. また, 既報データを参考にして必要なサンプルサイズを算出した (コンポジットレジン 500例, メタルインレー 250例). 修復物の再治療や補修が行われた時点, または調査期間中の診察時に修復物に再治療や補修が必要と判断された場合をイベント発生と定義し, 修復時からイベント発生あるいは最終来院日までの時間を生存時間とした. ただし, 修復物に直接関連しないトラブルや理由によるイベント発生は打ち切りとして取り扱った. 歯冠修復治療の耐久年数に関しては, Kaplan-Meier, Cox proportional hazards modelによる生存分析を行った (有意水準 (α) = 0.05).

【結果と考察】

6共同研究機関において, 572人の研究対象者 (修復時平均年齢: 46.7歳, SD: 12.9歳) から必要なサンプルサイズを満たす819例の歯冠修復治療 (CR: 544例, IN: 275例) の生存時間 (耐久性) に関する情報が得られた. 各修復の10年後, 15年後, 20年後の生存率 (%) は, CR: 71.5, 60.9, 56.0, IN: 66.7, 54.3, 41.8と推計された. より詳細にグループ分けした生存率をTable 1, 2に示す. 多変量解析の結果, 生存時間に影響を及ぼす要因は, 有意順に初回/再治療, 窩洞形態, 追跡期間中の喪失歯数, 術者であった. 一方, CR/IN, 修復時の年齢, 歯種, 部位は有意な要因ではなかった. さらに, 予想に反し, 定期管理や再治療リスクは生存時間に有意な影響を及ぼしていなかった.

【結論】

コンポジットレジンとメタルインレー両者の生存率に有意な差はなく, 修復物の約70%が10年後も機能していると推計された. また, 再修復の生存時間は初回修復に比べ有意に短いことが判明した.

Table 1 Survival rates of resin composite restorations

		n	10 yrs	15 yrs	20 yrs
CR	Anterior				
	1-surface	43	75.5	56.3	52.0
	≧2-surfaces	210	70.0	62.5	56.4
	Posterior				
1-surface	106	82.9	75.5	73.5	
≧2-surfaces	153	64.3	49.9	43.1	

Thirty-two WSDs were excluded from the analysis.

Table 2 Survival rates of posterior occlusal restorations

		n	10 yrs	15 yrs	20 yrs
CR	premolar				
	1-surface	37	82.3	71.3	66.5
	≧2-surfaces	94	67.9	56.1	49.9
	Molar				
1-surface	69	83.1	77.6	77.6	
≧2-surfaces	59	57.7	38.8	30.8	
IN	premolar				
	1-surface	0	—	—	—
	≧2-surfaces	114	67.9	59.3	47.2
	Molar				
1-surface	16	85.9	54.7	43.8	
≧2-surfaces	144	63.3	49.9	36.2	

I ステップ PMTC ペーストによる機械的清掃
- 荷重と時間が各種直接修復材料の表面性状に及ぼす影響 -

¹ 松本歯科大学歯科保存学講座, ² 松本歯科大学大学院歯学独立研究科健康増進口腔科学講座
○小林 彩^{1,2}, 呉 佳瑩^{1,2}, 中村 圭吾¹, 高坂 怜子^{1,2}, 小池 隆文¹, 小町谷 美帆¹, 小松 佐保¹,
甲田 訓子¹, 吉成 伸夫^{1,2}, 亀山 敦史^{1,2}

Professional Mechanical Tooth Cleaning using One-step Prophylaxis Paste : Effect of Load and Polishing Time on the Surface Gloss, Roughness and Color Change of Various Materials for Direct Restoration

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

²Department of Oral Health Promotion, Graduate School of Oral Medicine, Matsumoto Dental University
○Aya Kobayashi^{1,2}, Chia-Ying Wu^{1,2}, Keigo Nakamura¹, Reiko Kohsaka^{1,2}, Takafumi Koike¹,
Miho Komachiya¹, Saho Komatsu¹, Kuniko Kohda¹, Nobuo Yoshinari^{1,2}, Atsushi Kameyama^{1,2}

【目的】

歯冠修復を含む歯科治療終了後のメンテナンス時には PMTC ペーストを併用した機械的清掃が施されるが、その際の荷重や 1 歯面あたりに費やす清掃時間が修復用コンポジットレジンやガラスアイオノマーセメントの表面性状に対してどのような影響を及ぼすのかについては知られていない。そこで、本研究では各種コンポジットレジンやガラスアイオノマーセメントに機械的清掃を行った場合の荷重や時間が表面の光沢度や表面粗さ、色調に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】

インジェクタブルタイプのコンポジットレジンとしてエステライトユニバーサルフロー (シェード A3, トクヤマデンタル, 以下 EUF) およびビューティフィルフロープラス F00 (シェード A3, 松風, 以下 BFP) の 2 種類を, グラスアイオノマーセメントとしてレジン添加型のフジ II LC カプセル (シェード A3, ジーシー, 以下 FLC) および高強度従来型のフジ IX GP エクストラカプセル (シェード A3, ジーシー, 以下 FGP) の 2 種類を用いた。各種材料をアクリルリング (内径 9 mm, 外径 11 mm, 高さ 3 mm, アズサイエンス) に填塞, スライドガラスを用いて圧接し, 硬化後に 37°C の恒温槽中で湿度 100% の状態で静置した。24 時間後, 各試料表面を PMTC 用ブラシ (メルサージュブラシ, 松風) と 1 ステップ型 PMTC ペースト (プロフィーペースト Pro, Directa) を用い, 2,500 rpm の条件の下, I 群: 荷重 100 gf, 清掃 10 秒間×4 サイクル, II 群: 荷重 100 gf, 清掃 30 秒間×4 サイクル, III 群: 荷重 300 gf, 清掃 10 秒間×4 サイクル, IV 群: 荷重 300 gf, 清掃 30 秒間×4 サイクルの 4 条件で機械的清掃を行った。清掃前後の試料について, 試料表面の光沢度を微小面積光沢計 (GM-26DS, 村上色彩技術研究所) で, 算術平均粗さ (Ra) を小型表面粗さ測定器 (SURFCOM 130A, 東京精密) で, および色差 (ΔE^*_{ab}) を歯科用色度計 (VITA Easyshade[®]V, VITA) でそれぞれ計測した。

【結果および考察】

EUF と BFP の間で, 機械的清掃前の光沢度に有意差は認めなかった ($p>0.05$)。また, いずれのコンポジットレジンにおいても機械的清掃後では有意に光沢度が低下した ($p<0.05$)。EUF では 100 gf, 300 gf のいずれにおいても 10 秒間より 30 秒間で有意に光沢度が低かった ($p<0.05$)。10 秒間の場合では 100 gf と 300 gf との間に有意差を認めなかった ($p>0.05$) が, 30 秒間では 100 gf より 300 gf で有意に光沢度が低かった ($p<0.05$)。BFP では, 100 gf の場合に 10 秒間より 30 秒間で有意に光沢度が低かった ($p<0.05$) が, 300 gf の場合では両者に有意差を認めなかった ($p>0.05$)。10 秒間, 30 秒間のいずれにおいても 100 gf より 300 gf で有意に小さい光沢度を示した ($p<0.05$)。

EUF と BFP の間で, 機械的清掃前の Ra 値に有意差は認めなかった ($p>0.05$)。また, EUF では I 群~IV 群のいずれにおいても機械的清掃前後での Ra 値に有意差を認めなかった ($p>0.05$) が, BFP では I 群での機械的清掃前後では Ra 値に有意差を認めなかった ($p>0.05$) もの, II 群~IV 群ではいずれも機械的清掃後で Ra 値が有意に上昇した ($p<0.05$)。

FLC, FGP の機械的清掃前の光沢度はコンポジットレジンに比べて有意に小さかった ($p<0.05$)。FLC では I 群~IV 群のいずれにおいても機械的清掃後では有意に光沢度が低下した ($p<0.05$) が, Ra は機械的清掃前後に有意差を認めなかった ($p>0.05$)。一方, FGP では I 群, III 群で光沢度に有意差を認めず ($p>0.05$)、II 群と IV 群では有意に光沢度が低下した ($p<0.05$)。また, Ra は I 群~IV 群のいずれにおいても機械的清掃後で小さくなった。なお, ΔE^*_{ab} に関しては, いずれの群においても機械的清掃前後で視覚的に把握できるほどの色調の変化は認めなかった。

本研究結果から, 製品によって程度に差はあるものの, コンポジットレジンやガラスアイオノマーセメントで修復された表面の光沢度は機械的清掃によって低下することが明らかとなった。

マイクロ CT を用いたニッケルチタンロータリーファイルの湾曲根管に対する形成精度の検討

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)

○井上 愛弓, 川西 雄三, 鍵岡 琢実, 岡部 円香, 谷輪 咲妃, 濱 由衣子, 森山 輝一, 中谷 公貴,
岡本 基岐, 林 美加子

Evaluation of the shaping accuracy of NiTi rotary files in curved root canals using Micro-CT

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

○Ayumi Inoue, Yuzo Kawanishi, Takumi Kagioka, Madoka Okabe, Saki Taniwa, Yuiko Hama,
Kiichi Moriyama, Kouki Nakatani, Motoki Okamoto, Mikako Hayashi

【目的】

弾性係数が小さく、形状記憶性、超弾性、多様なファイルテーパーといった特徴をもつニッケルチタン製ファイル (以下, NiTi ファイル) は、手用ステンレススチール製ファイル (以下, 手用 SS ファイル) と比較し、切削効率および根管追従性に優れており、歯科臨床において広く使用されている。ただし、NiTi ファイルの不適切な根管への応用は、根管壁の過剰切削や根管形態の逸脱などを引き起こす可能性があり、手用 SS ファイルとは異なる技術の習得が必要である。現在、様々なコンセプトに基づいた NiTi ファイルが開発されているが、術者の臨床経験が NiTi ファイルによる根管形成の精度に及ぼす影響に関する情報は少ない。そこで本研究では、初学者と経験者が各種 NiTi ファイルを用いてプラスチック製湾曲根管模型の根管形成を行い、形成前後の根管幅径増加量を比較検討することで、術者の臨床経験が NiTi ファイルシステムによる根管形成の変位に与える影響を評価することを目的とした。

【材料と方法】

対象者は大阪大学歯学部附属病院保存科に所属する歯科医師で、NiTi ファイル使用経験のない研修歯科医 5 名 (初学者)、および日常臨床で NiTi ファイルを使用している臨床経験 5 年以上の日本歯科保存学会認定医 5 名 (経験者) とした。30 度の #10 J 字型湾曲根管模型 (Endo-Training blockJ10, Dentsply Sirona) を用い、ロータリーエンジンは X-Smart Plus (Dentsply Sirona) を用いた。NiTi ファイルは JIZAI (MANI), ProTaper Gold (Dentsply Sirona), HyFlex EDM (COLTENE), RE ファイル CT (DENTCRAFT) の 4 種類を、メーカー推奨の回転数およびトルク値の連続性回転にて根管形成を行った。

根管形成前後の根管模型をマイクロ CT (mR_CT2, Rigaku) にて撮影し、画像解析ソフトウェアを用いて、根管の根尖から長軸方向に 1, 2, 3, 5, 7, 10 mm の位置で根管内湾および外湾の根管形成前後の根管幅径増加量を計測した。統計学的有意差検定には one-way ANOVA, Tukey's test, もしくは Kruskal-Wallis test を用いた。(有意水準 5%)

【結果および考察】

すべての術者 (初学者および経験者) での根管形成前後の根管幅径増加量を比較したところ、異なる NiTi ファイルによる有意差は認められなかった ($p>0.05$)。また、初学者群で各種 NiTi ファイルによる根管形成前後の根管幅径増加量を比較したところ、根尖から 10 mm の位置における外湾側で JIZAI の根管幅径増加量が少なく ($p<0.05$)、他の位置では統計学的有意差は認められなかった ($p>0.05$)。一方、統計学的有意差は示されなかったものの、ProTaper Gold は各計測点で根管幅径増加量が大きい傾向にあった。先端径とテーパーが類似している Hyflex EDM は、ProTaper Gold と比較して各計測点で根管幅径増加量が少ない傾向にあった。これは、経験者が日常臨床で HyFlex EDM を使用していたことが関係している可能性がある。また、初学者が JIZAI を使用した場合、経験者と比較して全体的に外湾根管幅径増加量が少なかったことから、JIZAI は初学者が使用しても歯頸部の過剰切削や逸脱などを引き起こしにくいファイルシステムである可能性が示唆された。経験者が JIZAI を使用した際、他の NiTi ファイルと比較して切削時の抵抗をより感じ、積極的なブラッシングモーションを行っていた。このことが根管の過剰切削につながり、初学者との根管副径増加量の差が生じたと考えられる。以上の結果をふまえて、今後、より臨床に即した天然歯による検証が必要と考えられる。

【結論】

本研究で用いた条件では、全体的には NiTi ファイルによる変位量に差を認めなかったものの、切削傾向はファイルごとに差異が現れていた。NiTi ファイルの使用経験がない初学者が JIZAI を用いた際、より根管形態を維持した形成が可能であった。

ラバーダム防湿の使用器材と術式による辺縁封鎖性の変化

¹ 東京歯科大学 歯内療法学講座, ² 丸紅健康保険組合丸紅東京歯科診療所,

³ 東京歯科大学水道橋病院保存科

○中里 晴香¹, 佐古 亮¹, 鈴木 穂¹, 北山 えり¹, 丹沢 聖子¹, 浅井 知宏^{2,3}, 古澤 成博¹

Changes of marginal sealing performance by tools and techniques of rubber dam.

¹Department of Endodontics, Tokyo Dental College,

²Marubeni Tokyo Dental Clinic, Health Insurance Association of Marubeni Corporation,

³Division of Conservative Dentistry, Suidobashi Hospital, Tokyo Dental College

○ Haruka Nakazato¹, Ryo Sako¹, Megumi Suzuki¹, Eri Kitayama¹, Seiko Tanzawa¹,
Tomohiro Asai^{2,3}, Masahiro Furusawa¹

【目的】

齶蝕やそれに随伴する疾患への保存処置を行うにあたり、患歯を隔離・明示することは安全かつ円滑に治療を進めるために重要である。防湿法の一つであるラバーダム防湿（以下、ラバーダム）は、周囲軟組織や唾液の排除、治療用小器具の誤飲防止をすることができ、多くの臨床の場で用いられている。なかでも、唾液による治療根管内の感染防止は、歯内療法処置の成功率向上に大きな役目を担っている。ラバーダムに用いるラバーシート（以下、シート）の素材や厚みは種々存在しており、操作性や患者のアレルギー既往等を考慮して術者が選択することができる。シートの装着時に漏洩が疑われる際には、患歯周囲にクランプとの隙間を埋めるコーキング材を応用する場合もある。しかしながら、シートの材質やコーキング材の有無が漏洩防止効果の向上にどのような影響を生じるのかについての報告は少ない。そこで、本研究はラバーダム時に用いるシートの厚みや素材による防湿性能の違い、およびコーキング材の有無による辺縁封鎖性の変化を評価した。

【方法】

シートで隔離した術野からの漏洩量を調べるため、シンプルマネキン III（ニッシン、日本）に Oral Cavity Cover SPM III（ニッシン、日本）と P6FE-OP.4 モデル顎（ニッシン、日本）を装着し、実験を行った。ラバーダム装着歯は下顎右側第一大臼歯とした。素材、厚みの異なるシートを 4 種類用意し、標準テンプレートをを用いて直径 2.0mm の孔をラバーダムパンチで穿孔した。ラバーダムクランプ（以下、クランプ）はアイボリー有翼型の No. 56 を使用した。漏洩した水分の計測には、対象歯の頬舌側に Φ 10 × 30mm のコットンロール（歯愛メディカル、日本）を設置、シートをつけたクランプのウィング下に固定し、ラバーダム装着完了後に注水タービンを対象歯付近で 3 分間回転させた。実験前後のコットンロールの重量を精密はかり（カスタム、日本）を用いて計測、比較した。さらに、ラバーダム撤去後のシートに認められる穿孔部の偶発的裂開状況を評価した。また、前述の方法にコーキング材を塗布、光重合する過程を加え、コーキング材による辺縁封鎖を加えた場合のコットンロールの重量変化を評価した。

結果は平均値 ± SD として表した。統計は paired t 検定を用い、 $p < 0.05$ で有意とした。

【結果】

厚みや素材の異なるシートの漏洩量を比較した結果、LB 群（薄いラテックスシート）、LG 群（厚いラテックスシート）および SP 群（厚いシリコンシート）では実験前後のコットンロールの重量に明らかな有意差は認められなかった。一方、NLB 群（薄いノンラテックスシート）では重量の有意な増加を認めた。ラバーダム撤去後のシートの偶発的裂開は、LB 群で 80%、LG 群で 100% の割合で認めたが、SP 群と NLB 群では認められなかった。実験後に重量増加を認めた NLB 群に対し、デントダム（MEDICLUS、日本）とトーデントコーキングダム（東京歯科産業、日本）の 2 種のコーキング材を用いて辺縁封鎖を行ったところ、重量は実験前後において有意な変化を認めなかった。

【考察】

LB 群、LG 群、SP 群では術野からの明らかな漏洩は認められないが、NLB 群ではわずかに漏洩を認め、コーキング材を併用することでその改善を示した。高い頻度で偶発的裂開を生じた LB 群や LG 群では漏洩を認めず、裂開を生じなかった NLB 群で微量の漏洩を認めたことから、シートの種類、厚みおよび穿孔部の状態にかかわらず、クランプ下におけるシートの歯面への適合性が重要であると考えられた。また、クランプ上部から歯面周囲を被覆するコーキング材はシートの穿孔部辺縁を封鎖し、密閉性の向上に関与していると思われる。

ニッケルチタン製ロータリーファイル XP-endo Shaper の上下動振幅が
根管形成中の応力と根管形成能に与える影響

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 歯髓生物学分野
○平野 恵子, 木村 俊介, 牧 圭一郎, 雲野 颯, 大森 智史, 春日 柚香, 海老原 新, 興地 隆史

**Effect of different pecking depth on stress generation and shaping ability of XP-endo Shaper
nickel-titanium rotary instruments**

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

○ Keiko Hirano, Shunsuke Kimura, Keiichiro Maki, Hayate Unno, Satoshi Omori, Yuka Kasuga,
Arata Ebihara, Takashi Okiji

【目的】ニッケルチタン製ロータリーファイル (NiTi ファイル) は治療時間短縮, 根管追従性向上などの利点があるが, 適切な上下動振幅に関する指標は不明確である. 本研究では, XP-endo Shaper (FKG Dentaire ; 以下「XPS」) を用いて, 上下動振幅が根管追従性や形成中に生じる応力に及ぼす影響を比較検討した.

【材料および方法】J字型透明根管模型 (#10/17mm, Dentsply Sirona) に対し, 手用 K ファイル #15 でグライドパス形成を行った後, 自作型自動根管形成・応力解析装置に試作モーター (モリタ製作所) を接続し, XPS を用いて根管形成を行った (800 rpm, トルク設定値 1.0 N・cm, 上下動速度 50 mm/min). この際, 上下動時間が 1 秒間根尖側, 0.5 秒間歯冠側方向 (X1 群), 2 秒間根尖側, 1 秒間歯冠側方向 (X2 群), 4 秒間根尖側, 2 秒間歯冠側方向 (X4 群) の 3 群を設定し (各 n = 10), 形成中に生じる垂直荷重, トルクを応力解析装置で測定した. なお, トルクリバースが作動時は強制的にファイルを 3 秒間歯冠側方向へ移動させた. 根管内は RC-PrepTM (Premier) を満たし, NiTi ファイルはすべて単回使用とした.

次いで, 形成前後の根管模型をデジタルマイクロスコープ (VH8000, キーエンス) にて 20 倍で撮影し, 画像解析ソフト (Adobe Photoshop Elements 2021, Adobe) を用いて画像を重ね合わせたのち, 根尖から 0-3 mm の位置での [(外湾切削量 - 内湾切削量) ÷ 形成後の根管の直径; 0 に近いほど偏位が少ない] を求め, Centering ratio とした.

垂直荷重およびトルクを一元配置分散分析, Centering ratio を二元配置分散分析にて有意水準 5 % で解析した.

【結果】ファイル破折および根管のレッジ形成は生じなかった. 垂直荷重は, 根尖・歯冠側ともに 3 群間で有意差を認めなかった. トルクは, 切削方向の合計および平均値は, X1>X2>X4 ($p < 0.05$) となったが, 非切削方向では有意差を認めなかった. Centering ratio は根尖から 0 mm の位置では X1>X2>X4 ($p < 0.05$) であり, 0.5 mm の位置では, X4 は他の群と比較し有意に小さかった ($p < 0.05$).

【考察】切削方向のトルクが X1>X2>X4 であったことより, ペッキングモーションの振幅を大きくすることで, ねじり応力が解放され, ファイル破折のリスクを低減できる可能性が示唆された. Centering ratio も同様の傾向であり, 振幅が大きくなるほど根尖部での形成時間が短くなるため, 根管の偏位が小さくなったと考えられた.

【結論】本実験条件下において, XPS では上下動の振幅を大きくすることにより, 根管形成中に発生するねじり応力が減少するとともに, 偏位が小さい根管形成ができる可能性が示唆された.

各種ニッケルチタン製ファイルの使用感に関するアンケート調査

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)

○谷輪 咲妃, 川西 雄三, 鍵岡 琢実, 井上 愛弓, 岡部 円香, 瀧 由依子, 森山 輝一, 中谷 公貴,
岡本 基岐, 林 美加子

Questionnaire survey on the usability of different NiTi files

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

○ Saki Taniwa, Yuzo Kawanishi, Takumi Kagioka, Ayumi Inoue, Madoka Okabe, Yuiko Hama,
Kiichi Moriyama, Kouki Nakatani, Motoki Okamoto, Mikako Hayashi

【目的】

近年、様々なコンセプトに基づいたニッケルチタン製ファイル(以下、NiTi ファイル)が開発されている。わが国でも NiTi ファイルの臨床有用性を示す報告は多く、2022 年 4 月より保険収載に至っている。実際の NiTi ファイルの使用においては、切削性などの特性や推奨されるファイルの使用方法の違いに加え、術者の経験や感覚により NiTi ファイルに対する印象は異なる。そこで本研究では、初学者と経験者が特性の異なる NiTi ファイルでプラスチック製湾曲根管模型の根管形成を行った際の使用感をアンケート調査することに加え、再帰ファイリング回数や根管形成時間を計測・比較することで NiTi ファイルシステムの特性の相違を検討することを目的にした。

【材料と方法】

対象者は大阪大学歯学部附属病院保存科に所属する歯科医師で、NiTi ファイル使用経験のない 5 名(初学者)、および日常臨床で NiTi ファイルを使用している臨床経験 5 年以上の日本歯科保存学会認定医 5 名(経験者)とした。J 字型湾曲根管模型(湾曲度 30°, Endo-Training blockJ10, Dentsply Sirona)を、ロータリーエンジン(X-Smart Plus, Dentsply Sirona)に、各種 NiTi ファイルを用いて根管形成を行った。NiTi ファイルには、JIZAI (MANI), ProTaper Gold (Dentsply Sirona), HyFlex EDM (COLTENE), RE ファイル CT (DENTCRAFT)の 4 種類を用いた。根管形成後にアンケートを行い、それぞれの NiTi ファイルのシステムの使用感を調査した。アンケート調査項目としては①根尖方向への引き込まれる感覚、②切削感、③器具破折の不安、④ NiTi ファイルシステムの煩雑さを調査した。また、⑤根管形成中の再帰ファイリング数および⑥根管形成時間を計測・比較した。統計学的有意差検定には Student's t-test および Tukey's test を用いた。(有意水準 5%)

【結果および考察】

①根尖方向への引き込まれる感覚については、初学者群において RE ファイル CT は HyFlex EDM と比較して小さかった ($p<0.05$)。②切削感については、初学者群において RE ファイル CT は ProTaper Gold と比較して、切削抵抗が有意に大きかった ($p<0.05$)。RE ファイル CT はクラウンダウン法による根管形成を行っており、シングルレングス法を用いる他の NiTi ファイルシステムと比較して引き込まれる感覚や切削感が異なる結果になったと考えられる。④ NiTi ファイルシステムの煩雑さについては、RE ファイル CT は初心者群において他のファイルシステムと比較して有意に煩雑と感じる結果となり、経験者群においては、HyFlex EDM と比較してそれぞれ煩雑だと感じる結果となった ($p<0.05$)。これは、ファイル交換回数の多いクラウンダウン法を煩雑と捉えたためであると考えられた。

③器具破折の不安、⑤再帰ファイリング数、ならびに⑥根管形成時間は、初学者、経験者間群ともに NiTi ファイルシステムによる違いは認められなかった。これらの結果からトルクコントロールモーターを使用し、一定以上の負荷がかからない設定で根管形成を行ったことにより、NiTi ファイルの破折に対する不安が低減されたと考えられ、特性の異なる NiTi ファイルで切削片の排出能、切削効率ならびに根管形成時間に明らかな違いを感じることなく根管形成が達成できたと考えられる。

【結論】

本研究の結果より、ファイル交換が少ないシングルレングス法が好まれる傾向にあることがわかった。また経験者群では特性の異なる NiTi ファイルで根管形成をおこなっても使用感は一貫していたが、初学者群では使用感の異なるものがあるため、初学者が臨床応用するにあたり、選択した NiTi ファイルシステムの特徴を理解し、トルク制御などの安全に配慮した環境で経験を積むことが重要であることが改めて示された。

Ni-Ti ロータリーファイルの切削特性に関する三次元的解析

¹福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野, ²福岡歯科大学口腔医学研究センター
○松本 和磨¹, 廣瀬 陽菜¹, 藤政 清志朗¹, 金丸 慎吾¹, 二階堂 美咲¹, 水上 正彦¹, 松本 典祥¹,
松崎 英津子^{1, 2}

Three-dimensional analysis of shaping ability and curved canal transportation of Ni-Ti rotary files

¹Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College,

²Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College

○ Kazuma Matsumoto¹, Haruna Hirose¹, Seishiro Fujimasa¹, Shingo Kanemaru¹,
Misaki Nikaido¹, Masahiko Minakami¹, Noriyoshi Matsumoto¹, Etsuko Matsuzaki^{1, 2}

【目的】

Ni-Ti ロータリーファイルは、根管追従性が高く、彎曲根管に沿った根管形成が可能である。近年、熱処理加工によりさらに高い柔軟性を有する Ni-Ti ファイルが開発され、我々は、根尖から 1-5 mm の根管偏位量に対する二次元的切削特性解析を行い報告した (2019 年度日本歯科保存学会秋季学術大会)。本研究では、歯科用コーンビーム CT (CBCT) による三次元的解析を用いて、JIZAI (マニー), ProTaperNext^R (Dentsply Sirona), HyFlexTM CM (Coltene) の切削特性について検討した。

【方法】

実験には、3 種の Ni-Ti ファイル (21 mm) : JIZAI (JZ) ; JZ-#25/0.04, #25/0.06, ProTaperNext (PTN) ; PTN-#17/0.04-0.075, #25/0.06-0.07, HyFlex CM (HCM) ; HCM-#15/0.04, #25/0.06 を用いた (各群 n=4)。根管形成には、J 字型根管模型 (Dentsply Sirona) を使用し、根管未形成模型を対照とした。

ステンレススチール製 K ファイル (SSK) (マニー) #10 で穿通を行い、作業長を 17.0mm とし SSK-#20 までグライドパス形成後、各 Ni-Ti ファイルを用いて根管形成を行った。トルクコントロールエンジンには Tri Auto ZX2 (モリタ製作所) を用い、オートリバース設定下で使用した。回転数およびトルクは製造者推奨に従った。各群 2 本目のファイルが作業長に到達した時点で根管形成を終了した。造影剤としてカルシペックス[®]II (日本歯科薬品) を根管内に注入して CBCT (モリタ製作所) 撮影を行った。切削前後の模型同士の重ね合わせ基準点として着脱可能なキャップを作製し実験に用いた。撮影データは stl データに変換し (レキシー: Zedview Ver. 9.0), 3D モデルソフト (システムクリエイト: Geomagic Freeform Plus) を用いて、根尖から 1 mm の位置における切削前後の模型の中心点間距離と角度、体積を求めた。

【結果】

切削前後の中心点間距離は JZ 群が最も大きく、HCM 群が最も小さかったが、各群間での有意差は認めなかった。また、中心点間の角度はいずれの群においても一定方向への傾向は認めなかった。一方、断面形態は JZ 群と PTN 群では円形、HCM 群は内彎・外彎方向の長軸を有する楕円形の傾向を認めた。体積は HCM 群が最も大きく、PTN 群が最も小さかったが、各群間での有意差は認めなかった。

【考察】

本実験では、過去の二次元的解析で偏位量が大きかった根尖から 1 mm の位置における三次元的解析を実施した。中心点間距離、角度、体積に各群間の有意差はなかったが、断面形態に傾向を認めた。今後 Ni-Ti ファイルの切削特性を評価するうえで、三次元的解析は有用であると考えられた。

高周波電流によるイヌ歯髓の焼灼

北海道大学大学院歯学研究院 口腔健康科学分野 歯周・歯内療法学教室

○森 厚志, 菅谷 勉

Cauterization of dog pulp by high frequency current

¹Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Faculty of Dental Medicine

○Atsushi Mori, Tsutomu Sugaya

【研究目的】

抜髄は機械的に除去することが多いが、根管形態によっては多大な時間を要し歯髓除去が不完全になることもある。一方、ファイルを通して歯髓に高周波電流を通電すると、ファイル先端だけでなく根尖狭窄部で発熱することため、効果的に歯髓を焼灼、壊死させることが可能と考えられる。しかし、出力が大きすぎたり、ファイルが歯根膜に接していたりすると、歯根膜や歯槽骨にも傷害を及ぼす危険性があり、通電時のファイル位置や出力を慎重に検討する必要がある。本研究はファイル位置と出力、通電時間が歯髓の焼灼範囲や歯根膜、歯槽骨に及ぼす影響を組織学的に評価することを目的に行った。

【材料および方法】

実験 1. 通電時のファイルの先端位置、電圧、通電時間の検討

ビーグル犬 3 匹の P1-P4 にラバーダム防湿し、髓腔開拓、上部根管形成を行い、根尖孔は穿通せず下部根管の形成も行わずに通電した。通電は、#10K ファイルを用いて、周波数 520 kHz、電圧 0, 150, 225V、ファイル先端位置 APEX-1mm, -2mm, -4mm、通電時間 0, 0.2, 1 秒とした。観察期間は 0, 7 日とし、脱灰薄切標本を作製して組織学的に評価した。

実験 2. ファイル先端が歯根膜に触れた状態で通電した場合の障害性

実験 1 と同様に上部根管形成まで行った後、#10K ファイルを APEX まで挿入して電圧 150, 225V、通電時間 0.2, 1 秒で通電を行った。観察期間は 7 日とし組織学的に評価を行った。

【結果と考察】

実験 1. APEX-1mm または APEX-2mm、電圧 150V または 225V、通電時間 1 秒とした場合は、いずれの条件でも主根管の歯髓はファイル先端部付近まで消失し、残存歯髓の最冠側部はヘマトキシリン好性で無構造になっていた。残存歯髓内には紡錘形の線維芽細胞様細胞が一部に見られたが、血管内容物と血管壁は変性、凝固していた。根尖分岐内の歯髓も蒸散していたり、無構造になっていたりするものが多く、とくに APEX-1mm, 225V で通電した場合はその効果が顕著であった。通電時間を 0.2 秒とした場合は、主根管の歯髓は概ね消失していたが、根尖分岐内にはほぼ正常な歯髓が残存していた。また、APEX-4 mm で 1 秒通電した場合は、主根管に残存する歯髓の線維芽細胞は消失し、血管内はヘマトキシリン好性または黒色で無構造になっているものが多く、血管内皮細胞は消失していた。根尖分岐内は一部空洞化したりヘマトキシリン好性あるいは黒色の無構造物が観察されたりしたが、線維芽細胞様細胞や線維も多くみられた。

いずれの通電条件でも歯根膜や歯槽骨はほぼ正常で、根尖分岐内での発熱が歯根膜に与える傷害はきわめて軽微と考えられた。これらの結果から、APEX-1~2mm, 225V で 1 秒通電することで、根尖分岐内の歯髓を蒸散させたり主根管の歯髓の血流を遮断させたりして、歯根膜の傷害なく歯髓を壊死させることが可能であるが、0.2 秒の通電や APEX-4mm での通電では根尖分岐内や主根管の歯髓が残髄する可能性があると考えられた。

実験 2. 電圧や通電時間にかかわらず主根管内、根尖分岐は空洞化しているものが多く、歯髓の蒸散効果はファイル位置を APEX とした方が APEX-1 mm より高かった。しかし歯根膜にリンパ球を中心とした炎症が生じており、歯槽骨表面には破骨細胞様細胞や穿下性の骨吸収もみられた。骨吸収は熱の影響と考えられ、その影響は 1 週では回復がみられなかったことから、根尖孔までファイルを挿入して通電することは避けるべきと考えられた。以上の結果から、抜髄時に高周波電流を通電することは、根尖孔への穿通や拡大形成が困難な症例や側枝、根尖分岐などがある根管では効果の高い治療法になると考えられた。

【結論】

ファイル先端位置を APEX-1~2 mm として 225 V の高周波電流を 1 秒通電することで、根尖孔の穿通や根管拡大を行わなくても歯周組織に障害なく根尖分岐内の歯髓を蒸散させ、主根管の血流を遮断して壊死させることが可能なことが明らかとなった。

Ni-Ti ロータリーファイルを用いた根管形成の術者間比較
 —HyFlexEDM による根管形成能の評価—

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

○赤堀 裕樹, 木方 一貴, 田中 雅士, 長谷川 智哉, 堺 ちなみ, 加藤 友也, 横川 大輔, 山崎 真帆,
 伊藤 友見, 富田 昌嗣, 瀧谷 佳晃, 河野 哲

Comparison of root canal preparation using HyFlexEDM with or without experience of using
 Ni-Ti rotary file

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

○Hiroki AKAHORI, Kazuki KIHOO, Masashi TANAKA, Tomoya HASEGAWA, Chinami SAKAI,
 Tomoya KATO, Daisuke YOKOKAWA, Maho YAMAZAKI, Tomomi ITO, Masatsugu TOMIITA,
 Yoshiaki TAKITANI, Satoshi KAWANO

【目的】

Ni-Ti ロータリーファイルは効率的にかつ、根管追従性に優れた根管形成が可能であり、その有用性により広く普及してきた。令和4年度の社会保険診療報酬改定においてNi-Ti ロータリーファイル加算が始まったことにより、今後さらに普及が加速し、新しくNi-Ti ロータリーファイルを使用する歯科医師が増えてくることも予想される。Ni-Ti ロータリーファイルには様々な製品があるが、近年はマルテンサイト相を有する製品が増加している。これらの製品では従来のものと比較し、柔軟性や破折抵抗性が向上しており、より安全に根管追従性の優れた根管形成が可能となった。

HyFlexEDM(Coltene/Whaledent, Altstätten, Switzerland) はマルテンサイト相を有するNi-Ti ロータリーファイルであり、柔軟性が高いこと、非超弾性であるため、スプリングバックが弱く、また、プレカーブの付与が可能であるなどの特徴がある。また、ファイルの使用本数を減らすことにより根管形成を簡便化している。これらの特徴を鑑みるとどのような術者においても同様な根管形成が可能であることが予想される。

そこで今回、Ni-Ti ロータリーファイル使用経験の有無によりHyFlexEDMを用いた根管形成に差が生じるかを確認した。

【材料・方法】

実験にはJ型エポキシレジン製透明根管模型(Endo1001-30-#20, NISSIN)を使用した。術者はNi-Ti ロータリーファイル使用歴3年以上の歯科医師(E群)、Ni-Ti ロータリーファイル使用経験のない歯科医師(I群)、歯内療法知識がない歯学部1年生の学生(S群)の3群。各7人の計21人とした。各群において、手用ステンレススチールKファイル#15にてガイドパスの形成後、HyFlexEDM(#25, #40)により3本の模型に対して根管形成を行った。根管形成に要した作業時間を術者以外の計測者1名が測定した。根管形成前、#25での根管形成終了後および、#40での根管形成終了後の根管模型にう蝕検知液を満たした状態で、実体顕微鏡(OLYMPUS SZX16)観察し写真撮影(OLYMPUS DP26)を行った。その後写真編集ソフト(Photoshop Elements)にて根管形成前後の写真を重ね合わせ、画像解析ソフト(ImageJ)にて外彎側と内彎側における根管幅径増加量を測定し、外彎側増加量と内彎側増加量の差を根管変位量とした。それぞれの術者の根管変位量を、根尖から1~8mmの位置において求め、各群の結果を、Bonferroni補正をかけたMann-Whitney U testにより統計処理を行い評価した。(p>0.05)

【結果】

形成時間の中央値(25%, 75%, パーセンタイル)はE群77.2(68.8, 90.3), I群69.1(54.6, 88.9), S群99.2(76.7, 145.3)となり、S群とE群, I群それぞれで有意差を認めた。また、各群における根管変位量(μ m)の中央値(25%, 75%, パーセンタイル)を図1に示す。根管変位量はすべての群間で有意差は認めなかった。また、すべての術者においてファイル破折やレッジ、ジップの形成は認めなかった。

Table1. The median of centering ability (μ m) (図1)

【考察および結論】

本研究において、形成時間においては学生とその他の群で有意差を認めたものの、根管形成量に有意差は認めず、偶発症も生じなかった。HyFlexEDMを正しく使用すれば、どの術者においても安全かつ正確な根管形成が可能であることが示唆された。

	#25			#40		
	E	I	S	E	I	S
1mm	23.9 (-13.3,43.7)	25.3 (-1.8,46.4)	21.1 (12.3,32.3)	20.9 (-15.7,81.3)	19.0 (-9.9,55.1)	18.3 (2.0,54.7)
2mm	67.0 (50.0,88.0)	56.1 (15.9,91.3)	80.9 (55.9,87.7)	86.4 (49.8,104.9)	54.1 (35.0,96.6)	98.9 (50.6,115.2)
3mm	88.2 (74.8,110.6)	80.8 (42.3,113.7)	92.7 (67.7,127.4)	95.1 (63.2,129.9)	80.8 (33.9,117.6)	102.9 (77.2,140.0)
4mm	64.8 (38.4,95.1)	93.4 (21.0,106.0)	78.3 (52.5,104.4)	92.9 (35.3,116.4)	62.9 (26.1,100.8)	84.5 (64.4,106.6)
5mm	-19.3 (-1.2,59.7)	49.1 (-2.4,79.7)	53.2 (30.5,72.1)	14.9 (-23.7,53.1)	22.8 (-7.2,76.2)	50.0 (20.6,75.5)
6mm	-30.4 (-84.7,16.7)	-18.8 (-50.3,26.1)	1.4 (-46.5,15.6)	-52.1 (-85.4,20.1)	-61.0 (-56.4,8.9)	-32.2 (-68.6,20.8)
7mm	-78.5 (-130.4,-23.5)	-47.3 (-89.5,-7.4)	-63.7 (-101.4,-24.6)	-95.0 (-142.4,34.3)	-61.0 (-76.7,-32.0)	-72.6 (-122.1,-28.7)
8mm	-94.7 (-147.4,-54.4)	-70.9 (-105.0,-20.2)	-71.8 (-118.9,-54.6)	-96.5 (-145.4,-58.8)	-72.5 (-108.3,-31.7)	-92.4 (-144.7,-31.9)

in vitro/in vivo における FGF-2 徐放性 bioactive glass 配合 gelatin sponge の評価

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野,

²京都大学医生物学研究所再生組織構築研究部門生体材料学分野,

³九州歯科大学健康増進学講座分子情報生化学分野, ⁴九州歯科大学健康増進学講座口腔病態病理学分野

○鷲尾 絢子¹, 田畑 泰彦², 古株 彰一郎³, 矢田 直美⁴, 北村 知昭¹

***in vitro/in vivo* Evaluations of Gelatin Hydrogel Sponges Incorporating Bioactive Glasses Capable For the Controlled Release of Fibroblast Growth Factor-2**

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University,

²Laboratory of Biomaterials, Department of Regeneration Science and Engineering, Institute for Life and medical Sciences, Kyoto University,

³Division of Molecular Signaling and Biochemistry, Department of Health Improvement, Kyushu Dental University,

⁴Division of Oral Pathology, Department of Health Improvement, Kyushu Dental University

○Ayako Washio¹, Yasuhiko Tabata², Shoichiro Kokabu³, Naomi Yada⁴, Chiaki Kitamura¹

【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療および局所的再生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いる。その成果の一部として、BG 配合根管用シーラー・覆髄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、再生治療用生体材料による局所的再生治療法の確立が必要である。これまでに我々は再生治療用生体材料の開発を目的として、BG、生分解性および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 徐放能などの物理化学的評価を示してきた (Washio et al., J Biomater Sci, Polym Ed. 2019)。本研究では、*in vitro* で象牙芽細胞様細胞 (KN-3 cells) に対する BG および FGF-2 の影響を二次元培養で評価するとともに、*in vivo* でマウス背部皮下に sponge を埋植し sponge および周囲組織の経時的変化を評価した。

【材料と方法】<BG 抽出溶媒の作製>BG 1 g に対して培地 10 mL を加えて 37°C・5% CO₂ にて静置し、24 時間後に filtration することで BG 抽出溶媒 (100% 試験液) を作製した。その後、100% 試験液が 1/16, 1/12, 1/8, 1/6, 1/4, 1/3, および 1/2 の割合になるよう培地を加え、BG 希釈溶液を作製した。<*in vitro* BG 抽出溶媒と FGF-2 の同時刺激による影響>細胞播種から 4 時間後に BG 希釈溶液あるいは 100% 試験液と FGF-2 (100 ng/mL) を同時刺激し、培養 3 日目に CCK-8 assay で細胞毒性および細胞増殖を評価した。<*in vivo* マウス背部皮下埋植試験>C57BL/6N マウス (6 週齢, 雄) の背側皮下に sponge を埋植後、1 週および 2 週に摘出し、ヘマトキシリン・エオジン (H. E.) 染色により sponge 形態、炎症反応、及び血管形成に及ぼす影響を検討した (九州歯科大学動物実験委員会許可 No. 20-09)。

【結果】<*in vitro* BG 抽出溶媒と FGF-2 の同時刺激による影響>BG 抽出溶媒および FGF-2 で同時刺激された KN-3 cells は、BG 抽出溶媒刺激の有無に関わらず FGF-2 刺激により細胞増殖は有意に増加した。<*in vivo* マウス背部皮下埋植試験>Gelatin sponge と比較して、BG 配合 Gel sponge は Pore を維持していた。また H. E. 染色において、FGF-2 徐放性 BG 配合 Gel sponge 内部への炎症性細胞および線維芽細胞の浸潤をわずかに認めるとともに、sponge 内部への新生血管が認められた。

【考察】*in vitro* において、BG は細胞為害性が低く FGF-2 は BG 抽出溶媒存在下で細胞増殖能を上昇させることから、BG と FGF-2 の併用が可能であることが示唆された。また、*in vivo* において、BG 配合 Gel sponge では BG により Gel sponge の収縮が抑制され sponge 内の間隙が維持されたこと、FGF-2 徐放により sponge 内部まで細胞が遊走されたことから、FGF-2 徐放性 BG 配合 Gel sponge は生体内でも十分に機能することが示唆された。

【結論】FGF-2 徐放性 Bioactive glass 配合 Gelatin sponge は、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として有用である。

根尖孔外に漏出したバイオセラミック系シーラーと歯周組織の相互作用

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野,

²新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野

○高原 信太郎¹, 枝並 直樹¹, 竹中 彰治¹, 吉羽 邦彦², 大倉 直人¹, 吉羽 永子¹, 野杵 由一郎¹

Interactions between Apically-extruded Bioceramic Sealers and periodontal tissues

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences,

²Division of Oral Science for Health Promotion, Department of Oral Health and Welfare, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○ Shintaro Takahara¹, Naoki Edanami¹, Shoji Takenaka¹, Kunihiko Yoshiba², Naoto Ohkura¹, Nagako Yoshiba¹, Yuichiro Noiri¹

【目的】

バイオセラミック系シーラーは硬化時にわずかに膨張する性質からシングルポイント根管充填に用いられているが、約 50% の頻度でシーラーが根尖孔外へ押し出されるとの報告がある。酸化亜鉛ユージノール系シーラーやレジン系シーラー等の従来型シーラーが根尖孔外へ漏出した際には、治癒不全につながる事が知られており、組織学的な報告も多い。一方で、バイオセラミック系シーラーについては *in vitro* における生体活性・生体適合性が良好であることは数々の研究で示されているが、根尖孔外に漏出した場合に、生体組織と、どのような相互作用を示すかは知られていない。そこで本研究では、ラットの根管治療モデルにおいて 3 種類のバイオセラミック系シーラーを過剰充填し、その生体活性・生体適合性について評価を行った。

【材料および方法】

本研究は新潟大学動物倫理委員会の承認を得て行った (承認番号 SA01036)。本研究では EndoSequence BC Sealer (EBC), MTA Fillapex (MTAF) およびニシカキャナルシーラー BG (NBG) を評価した。

8 週齢の Wistar ラットの上顎第一臼歯を露髄させ、近心根を NiTi ファイルで 30 号、4% テーパーに拡大した。この際、作業長は根尖をわずかに越える長さ (4mm) とした。その後、近心根管を次亜塩素酸ナトリウムと生理食塩水で洗浄し、ペーパーポイントによる根管乾燥後にバイオセラミック系シーラーを根管に注入した。窩洞はキャビトンで充填した後、コンポジットレジンを用いて 2 重に封鎖した。4 週間経過後に処置歯を上顎骨ごと摘出し、半数の試料 (n = 4) は EDTA による脱灰後、パラフィン包埋し、切片を作成、漏出したシーラー周囲の炎症反応を評価した。残りの試料 (n = 4) は MMA レジンに包埋し、電子線マイクロアナライザーを用いた元素マッピング、顕微ラマン分光装置による解析、非脱灰組織切片による解析を行った。

【結果】

すべての材料で、漏出したシーラーの周囲には著明な炎症性細胞の集積を認めなかった。漏出した EBC および NBG の内部には Ca および P が豊富に含まれていた一方、Si はわずかであった。漏出した MTAF の内部には Ca および Si が豊富に含まれていた一方、P はわずかであった。漏出したシーラーは、一部で歯槽骨と直接結合していた。骨と EBC または NBG の界面ではアパタイトの存在を示す 960 cm^{-1} のラマンバンドが認められた。骨と MTAF の界面ではカルサイトの存在を示す 1085 cm^{-1} のラマンバンドが認められた。

【結論】

根尖孔外に漏出した 3 種類のバイオセラミック系シーラー (EBC, MTAF, NBG) は著明な慢性炎症反応を惹起しなかった。EBC と NBG は歯周組織中でアパタイトを形成し、これを介して骨と結合していた。MTAF は歯周組織中でカルサイトを形成し、これを介して骨と結合していた。これらの結果から、漏出した EBC, MTAF, NBG は根尖部歯周組織の治癒に悪影響を与えない事が示唆された。

本研究に関して開示すべき利益相反関係にある企業などはありません。

ケイ酸カルシウム系貼薬剤と水酸化カルシウム系貼薬剤の Biomineralization Ability の比較

¹新潟大学 医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野,

²新潟大学 医歯学総合研究科 口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野

○枝並 直樹¹, 竹中 彰治¹, 吉羽 邦彦², 大倉 直人¹, 吉羽 永子¹, 高原 信太郎¹, 野杵 由一郎¹

Comparison of Biomineralization Ability of Calcium Silicate-based and Calcium Hydroxide-based Intracanal Medicaments

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences,

²Division of Oral Science for Health Promotion, Department of Oral Health and Welfare, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○ Naoki Edanami¹, Shoji TAKENAKA¹, Kunihiko YOSHIBA², OHKURA Naoto¹, NAGAKO yoshiba¹, Shintaro TAKAHARA¹, Yuichiro NOIRI¹

【目的】

近年、ケイ酸カルシウムを主成分とした根管貼薬剤が臨床応用されている。このケイ酸カルシウム系貼薬剤は新生硬組織形成誘導を目的としてアペキシフィケーションに使用されることが想定されているが、現在、標準的に使用されている水酸化カルシウム系貼薬剤と比較して、治療効果に優れているかは不明である。水酸化カルシウム系貼薬剤は接触した生体組織中に異所性石灰化物を析出させる能力 (Biomineralization ability) を有し、アペキシフィケーションにおいても、この能力により新生硬組織形成を誘導している。水和反応により水酸化カルシウムを放出するケイ酸カルシウム系貼薬剤も Biomineralization ability を有すると考えられるが、水酸化カルシウム系貼薬剤との差異は明らかになっていない。そこで、本研究はケイ酸カルシウム系貼薬剤 (Bio-C Temp)、水溶性水酸化カルシウム系貼薬剤 (カルシベックスプレーン II) および油脂性水酸化カルシウム系貼薬剤 (ビタベックス) をラット皮下組織に埋入し、これらの Biomineralization ability を比較した。

【材料および方法】

本研究は新潟大学動物倫理委員会の承認を得て行った (承認番号 SA01036)。4 週齢の Wistar ラットを剃毛し、背部皮下に Bio-C Temp, カルシベックスプレーン II およびビタベックスを PTFE チューブに注入した状態で埋入した。埋入 4 週間経過後に周囲組織と共に試料を摘出し、一部の試料 (n=6) は結合組織を次亜塩素酸ナトリウムで除去した後に、実体顕微鏡、顕微ラマン分光光度計および X 線回折装置を用いた解析に使用した。残りの試料 (n=5) は、アクリルレジンに包埋し、電子線マイクロアナライザーを用いた元素マッピングに使用した。

【結果】

全ての試料で埋入した根管貼薬剤上には白色の析出物が認められた。この析出物のラマンスペクトルには炭酸基に由来する 1085 cm^{-1} のバンドとリン酸基に由来する 960 cm^{-1} のバンドが認められた。X 線回折において、カルシベックスプレーン II およびビタベックス上の析出物からはハイドロキシアパタイトとカルサイトに一致するバンドが認められたが、Bio-C Temp 上の析出物からはカルサイトに一致するバンドのみが認められた。元素マッピングからは、どの試料においても Ca および P の陽性部位が結合組織中に認められた。この Ca および P の陽性部位の面積はビタベックス埋入群が Bio-C Temp 埋入群と比べて有意に大きかった。

【結論】

ケイ酸カルシウム系貼薬剤である Bio-C Temp は水酸化カルシウム系貼薬剤であるビタベックスより Biomineralization ability が低いことが示された。この結果は、アペキシフィケーションにおける Bio-C Temp の治療効果がビタベックスに劣る可能性を示している。

本研究に関して開示すべき利益相反関係にある企業などはありません。

湿潤環境が根管充填用シーラーの寸法変化に与える影響

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座

○古田 賢太郎, 三枝 慶祐, 関谷 美貴, 西田 太郎, 前田 宗宏, 五十嵐 勝

Effect of Wet Environments on Dimensional Changes of Root Canal Sealer

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

○Kentaro Furuta, Keisuke Saigusa, Miki Sekiya, Taro Nishida, Munehiro Maeda,
Masaru Igarashi

【緒言】

根管治療の成功には緊密な根管充填が必要とされ、従来からガッタパーチャとその根管壁との間隙を埋める根管充填用シーラー（シーラー）を併した加圧根管充填が行われている。近年、根管壁接着性を有するシーラーの開発、NiTi ファイルによる根管形成後のシングルコーン法、シーラー主体とした根管充填法が注目されている。手技の違いに関わらず緊密な充填を得るためには、使用するシーラーの寸法変化の把握が重要である。

シーラー硬化時の寸法変化に関する先行研究では、規定金属筒に填入後に水中浸漬して測定しており、ヒト抜去歯を用いて臨床に準じた測定を行った研究報告はない。そこで本研究は2種類のシーラーをヒト抜去歯に充填し、歯根周囲を湿潤または乾燥環境にした場合の寸法変化を測定した。

【材料と方法】

ヒト健全抜去智歯 41 本を収集し、歯根癒合のある単根歯 20 本を抽出した（日本歯科大学倫理委員会承認番号 NDU-T2021-53）。歯根軸に垂直に根尖から 3mm と 8mm の位置で切断し、得られた長さ 5mm の歯根を当講座開発の規格窩洞形成装置（日本メック）に歯冠方向を上を設置し、5 倍速コントラアングル（Z95L, ナカニシ）に装着した直径 3mm のフレーム型ダイヤモンドバー（P17, ジーシー）を用いて、根管に沿って直径 3mm 深さ 5mm の円筒形根管窩洞を形成した。尚、収集後及び作製後の試料は常に 4℃の生理食塩水中に保管した。

被験シーラーには、レジン系シーラー（メタシール Soft ペースト, サンメディカル）とユージノール系シーラー（ニシカチャンネルシーラーユージノール系シーラーノーマル E-N, 日本歯科薬品）の2種類を使用した。実験群は、根管充填後に歯根周囲の水分の有無により 1:メタシールソフト・水浸漬（MW 群）、2:メタシールソフト・乾燥（MD 群）、3:チャンネルシーラー・水浸漬（NW 群）、4:チャンネルシーラー・乾燥（ND 群）の4群（各群 n=5）とした。

作製した試料をシャーレ底面に接着剤を用いて固定した。根管窩洞内に 3%NaClO 溶液（クロルシッド J, ウルトラデント）1mL と、18%EDTA 溶液（ウルトラデント EDTA18%, ウルトラデント）1mL を各 1 分間作用させ、最後に生理食塩水 1mL で洗浄後、綿球で窩洞内を乾燥した。練和したシーラーを、エンドノズル（サンメディカル）と C-R シリンジマーク II（モリタ）を用いて窩洞内に填入し、歯冠方向から圧接した後、溢出したシーラーは綿球で拭拭した。その後 MW 群と NW 群にはシャーレ内の歯根周囲に生理食塩水を注入し、シーラー面のみを空気に曝露させた。

測定は、CMOS レーザーアプリーセンサ（IL-S025, キーエンス）をクランプを用いて固定し、レーザーがシーラー表面に垂直に照射するようシャーレを位置付けた。垂直方向の寸法変化を注入直後から、12 時間毎に 72 時間後まで計 6 回測定を行った。尚、測定及び保管は 37℃の恒温器内で行った。

測定結果は統計処理ソフト（SPSS Statistics version 25, IBM Japan）を用いて Kruskal-Wallis 検定にて有意水準 5% で多重比較を行った。

【結果】

全群で 36 時間経過後まで顕著な寸法変化が起こった。MW 群では膨張が見られ、NW 群、ND 群、MD 群では収縮がみられた。統計解析より全測定時間で MW 群と MD 群間、MW 群と NW 群間、MD 群と ND 群間に有意な寸法変化がみられた。一方、NW 群と ND 群間には有意な寸法変化が見られなかった。

【考察】

メタシール Soft ペーストの湿潤環境での膨張には、象牙細管内の水分が影響したと考えられる。またニシカチャンネルシーラーは、水分が寸法変化に影響を与えない可能性が示唆された。本実験よりメタシール Soft ペーストの生体内における膨張性が示唆された。

今後はサンプル数及びシーラーの種類を増やし、さらに詳細な検討を行う予定である。

水が湿潤したファイル到達不可根管における根管充填方法の違いがメタクリル酸エステル系接着性シーラーの根管充足性に及ぼす影響

¹北海道大学大学院歯学研究院口腔健康科学講座歯周・歯内療法学教室,

²北海道大学大学院歯学研究院口腔健康科学講座硬組織発生生物学教室

○中鉢 奈都子¹, 原田 天乃¹, 本郷 裕美², 菅谷 勉¹

Effect of different root canal filling techniques with methacrylic acid ester adhesive sealer in wet inaccessible root canals on quality of root canal obturation

¹Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Faculty of Dental Medicine,

²Department of Developmental Biology of Hard Tissue, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Faculty of Dental Medicine

○Natsuko Chubachi¹, Amano Harada¹, Hiromi Hongo², Tsutomu Sugaya¹

【目的】

メタクリル酸エステル系接着性シーラーであるメタシール Soft ペースト (MSSP, サンメディカル) は接着性を有するレジン系根管充填用シーラーで、根管象牙質およびガッタパーチャポイントへの接着により高い封鎖性が得られる。さらに、水が湿潤した状態でも重合が阻害されず、根管壁から重合することによって重合収縮による間隙が生じず、生体親和性も低下しないことが報告されている。したがって、レジンによりファイルが到達しない根管や側枝など、乾燥できない根管の封鎖には優れた特性を示すと考えられる。そこで、これらのファイルが到達しない根管にシーラーを充填する方法を検討した。

【材料と方法】

2つの側枝があるJ型エポキシレジン製透明根管模型 (Dentsply Thermafil training block) を使用し、歯科多目的治療用モータ (トライオート ZX2, モリタ) と NiTi ファイル (JIZAI, マニー) で、作業長を Apex-3mm とし #35 まで根管拡大形成を行った。根管を水洗後、根尖孔と側枝の開開口部を封鎖してペーパーポイントを作業長まで挿入して作業長までの主根管のみを乾燥し、根尖部 3mm と 2つの側枝には水を残した状態で MSSP を根管に満たして、次の3つの方法で根管充填した。(1) デュオペンとデュオガン (Diadent Group International) を用いて continuous wave condensation technique で根管充填 (C 群), (2) 04 テーパー #35 ガッタパーチャポイントでポンピングしシングルポイント法で根管充填 (S 群), (3) #35 JIZAI をトライオート ZX2 で逆回転 (600rpm) して MSSP を根尖方向に移送して根管充填 (R 群) (各群 N=10)。37°C 湿度 100% で 48 時間硬化させ、マイクロ CT (CosmoScan GX2, Rigaku) 撮影し、画像解析ソフト (ImageJ) で根管内の不透過像面積と根管面積を 500 μm 間隔でそれぞれ計測して根管充足率を次の4か所に分けて算出した。(1) 主根管 (作業長まで), (2) 根尖部 3mm の根管, (3) 上部側枝, (4) 下部側枝。さらに (2)(3)(4) の3部位はシーラーが最も侵入した位置までの距離を計測して侵入率を算出した。統計解析は Kruskal Wallis test と Mann-Whitney U test (Dunnett 補正) を行った。

【結果】

根管充足率は、(1) 主根管 (作業長まで) は C 群 95.4%, S 群 97.7%, R 群 97.6% で、S 群と R 群は C 群より有意 ($p < 0.05$) に高かった。(2) 根尖部 3mm の根管では C 群 98.7%, S 群 85.6%, R 群 97.6% で、C 群が S 群より有意 ($p < 0.05$) に高かったが、R 群とは有意差 ($p > 0.05$) がなかった。また (3) 上部側枝では C 群 70.3%, S 群 86.6%, R 群 94.6% で、R 群が C 群より有意 ($p < 0.05$) に高かった。しかし、(4) 下部側枝では C 群 84.0%, S 群 76.2%, R 群 87.2% で、3 群間に有意差 ($p > 0.05$) はなかった。

一方シーラー侵入率は、(2) 根尖部 3mm の根管では C 群 98.9%, S 群 90.0%, R 群 100%, (3) 上部側枝では 3 群とも 100%, (4) 下部側枝では C 群 85.3%, S 群 94.3%, R 群 100% を示したが、いずれの部位も 3 群間に有意差 ($p > 0.05$) はなかった。

【考察】

いずれの根管充填方法でもファイルが到達しない根管へのシーラー侵入率は高い値を示したが、充足率は NiTi ファイル逆回転でシーラーを送り込む方法がいずれの部位でも成績が良かった。このことは、気泡の混入が少なく水との混和が良好であったことを示すものと考えられる。この方法はとくに根管拡大形成サイズが細くても操作が簡単で熟練を必要としないため、NiTi ファイルで拡大形成した根管やペーパーポイントが届かずに乾燥が不十分になりやすい側枝などでは一つの根管充填方法になると思われた。

デュアルキュア型コンポジットレジンによる支台築造における EDTA 濃度の影響

¹ 岩手医科大学医療工学講座, ² 医療法人社団育心会ココロ南行徳歯科クリニック,
³ 岩手医科大学歯学部歯科保存学講座う蝕治療学分野
 ○渡邊 浩章^{1,2}, 清水 峻介³, 佐々木 かおり¹, 野田 守³, 武本 真治¹

Influence of EDTA concentration on fabrication of dual-cured resin composite for abutment

¹Department of Biomedical Engineering, Iwate Medical University,
²Medical Corporation Ikushinkai Kokoro Minamigyoutoku Dental Clinic,
³Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Iwate Medical University
 ○ Hiroaki Watanabe^{1,2}, Shunsuke Shimizu³, Kaori Sasaki¹, Mamoru Noda³, Shinji Takemoto¹

【目的】

歯内療法処置歯に対する支台築造は、再感染の予防対策および最終補綴装置の維持の観点から重要な役割を担っている。しかし、稀に接着不良による支台築造体の脱離や辺縁漏洩による再感染が報告されている。口腔内で直接支台築造する方法は、根管充填材を除いてエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 溶液で洗浄し、ボンディング材と支台築造用レジンをういて支台築造する。しかしながら、その EDTA 溶液がボンディング材を介した支台築造用コンポジットレジンの接着に及ぼす影響は不明な点が多い。

本研究では、歯内療法処置した歯にレジン支台築造する際の EDTA 濃度が根管象牙質の接着に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、歯内療法処置した牛歯歯根に異なる濃度の EDTA 溶液で歯面処理を行い、レジン支台築造した歯根の接着強さを検討した。

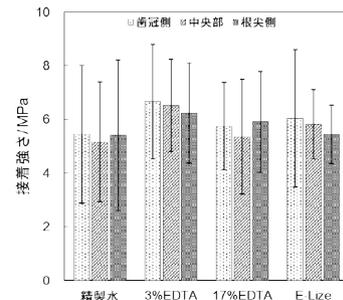
【材料と方法】

被験歯は冷凍保存した牛下顎前歯の歯根を用いた。ポストスペースは直径 3mm のドリルで深さ 14mm になるように築造窩洞を形成し、形成後は十分に水洗し 37℃ の恒温槽中に 7 日間静置した。静置後の各試料の根管内をペーパーポイントで乾燥させ、各試料をランダムに歯面処理材料が異なる 4 つのグループに分けた。歯面処理材は、精製水 (日本薬局方精製水, 昭和薬品), 3% EDTA (スメアクリン, 日本歯科薬品), 17% EDTA (17% EDTA クリーナー, BSA サクライ) およびイーライズコンディショナー (E-Lize: ペントロンジャパン) とした。各グループの根管は 60s の歯面処理後に精製水で洗浄して乾燥させた。その後、セルフエッチングシステム (E-Lize プライマーおよび E-Lize ボンディング材, ペントロンジャパン) を通法にしたがって処置し、光照射器で光照射を行った。ボンディング材を応用した窩洞に支台築造用レジン (ビルトイット FR, ペントロンジャパン) を填入し、光照射を行い試料とした。各試料は、37℃ の恒温槽中に 7 日間静置した後、歯冠側から歯軸に垂直に 1mm ずつ切断して 9 個の円板状試験片を得た。各試験片の表面は耐水研磨紙でバリを除去後、押し出し試験による接着強さを調べた。接着強さは、支台築造用レジンの中央部分を万能材料試験機 (EZ-LX: 島津製作所) で押す、押し出し試験により評価した。レジン中央部をクロスヘッドスピード 0.5mm/min で荷重を負荷し、接着強さの値は試験片の厚みと試験時の最大荷重値を用いて算出した。また、破断した試料はデジタルマイクロスコープ (UM12, MicroLinks Technology) で観察し、破断形態を分類した。接着強さは EDTA 濃度および根管部位を要因とする二元配置分散分析で統計処理を行った ($\alpha = 0.05$)。本研究は岩手医科大学動物実験委員会の承認 (#02-002 および #04-002) を得て行った。

【結果および考察】

図 1 に EDTA 濃度の違いによる根管部位の接着強さを示す。接着強さは 5.2~6.7MPa で、EDTA 濃度および根管部位による有意差は認められなかった。その破断形態は、精製水で処理した試料では歯冠側は根管象牙質と支台築造用レジンとの間での界面破壊が多く認められた。17% EDTA 溶液および E-Lize で処理した根管象牙質での破壊形態は、根管象牙質と支台築造用レジンが一体となった凝集破壊が多く認められた。

EDTA は根管窩洞を形成時のスミヤ層の除去や歯質接着に有効な根管象牙質面を脱灰する役割がある。接着強さには有意差が認められなかったものの、EDTA 濃度が高い方が凝集破壊の割合が高くなっていたのは、ボンディング材の接着強さが根管象牙質および支台築造用レジン自体の強さより大きいためと考える。EDTA 処理により根管象牙質は脱灰し、ボンディング材との接着面積が増大していると推測される。つまり、ボンディング材が脱灰している根管象牙質にハイブリッド層とレジンタグを形成することによって、根管象牙質と支台築造用レジンが一体化したためと推測する。



ヒト根管象牙質を応用した根管洗浄剤の抗菌作用に関する研究

¹ 神奈川歯科大学 歯科保存学講座 歯内療法学分野, ² 神奈川歯科大学 分子生物学講座 口腔細菌学分野
○藤巻 龍治¹, 鈴木 二郎¹, 浜田 信城², 石井 信之¹

Study on the antibacterial effect of root canal irrigation solution into dentinal tubules

¹Department of Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University,

²Department of Oral Microbiology, Kanagawa Dental University

○ Ryuji Fujimaki¹, Jiro Suzuki¹, Nobushiro Hamada², Nobuyuki Tani-Ishii¹

【研究目的】

根管の化学的洗浄は、機械的に除去できない感染源を化学的に除去する重要な操作で、有機質除去可能な次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) 溶液と無機質除去可能なエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 溶液を用いた方法が推奨されている。しかしながら、解剖学的に複雑な形態を有する根管における感染源除去は困難であり、現在も効果的な根管洗浄液の開発が期待されている。強アルカリ性領域 (pH12.2) に調整した 3%EDTA 溶液の、抗菌作用、有機質溶解作用、および無機質溶解作用の基礎的研究評価はすでに報告した 1, 2)。本研究では臨床応用を想定し、ヒト根管を応用した象牙細管に対する根管洗浄効果に対して解析評価した。(倫理審査委員会承認番号 326)

【材料および方法】

単根抜去歯 (n=9) の歯冠部を切断調整した対象歯を標品とし、BHI-YHK 培地に浸漬し、*Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) 細菌懸濁液を添加した。培地を 2 日おきに交換し、嫌気条件下で 37°C で 7 日間培養した供試細菌の *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 19433 株は、ブレインハートインフュージョンプロス (BHI: Becton Dickinson Company, NJ, USA) に 5 mg/ml イーストエストラクト (Becton Dickinson Company), 5 μg/ml ヘミン (和光純薬, 大阪, 日本), 1 μg/ml ビタミン K1 (和光純薬) を添加した培地 (BHI-YHK 培地) に接種し、嫌気ガス (85% N₂, 10% H₂, 5% CO₂) を満たした嫌気条件下で 37°C 18 時間培養したものをを用いた。根管細菌数の測定は以下の方法で行った。単根抜去歯 (n=9) の歯冠部を切断調整した対象歯を標品とし、BHI-YHK 培地に浸漬し、*E. faecalis* 細菌懸濁液を添加した。培地を 2 日おきに交換し、嫌気条件下 37°C で 7 日間培養した。リン酸緩衝生理食塩水 (pH7.4, PBS: 日水製薬, 東京, 日本) で根管内の非付着菌を洗浄除去後、10 μl PBS でピペッティングを行い、根管内付着細菌を剥離採取した。根管内付着細菌懸濁液を希釈して BHI-YHK 寒天平板に塗抹した。その後、Ni-Ti ファイル (ProTaper Next X2 0.25/0.6, デンツプライ) を使用して根管拡大形成し、アルカリ性 3%EDTA (pH12.2, 日本歯科薬品), 3%EDTA+NaClO (アンチホルミン, 日本歯科薬品) および精製水の 3 群に分け、上記の方法に準じて、根管洗浄後の根管内付着細菌を剥離採取し、根管内付着細菌懸濁液を希釈して BHI-YHK 寒天平板に塗抹した。嫌気条件下 37°C で培養し、細菌数 (CFU/ml) を求めた。統計処理は Wilcoxon t-test を用いて行った。

【結果】

E. faecalis の細菌数 (CFU/ml) に対して根管形成前後において、3%EDTA+NaClO 群は 100%, アルカリ性 3%EDTA 群は 98.8% の細菌数の有意な低下が確認された。

【考察および結論】

アルカリ性 3%EDTA 溶液は、本実験のヒト根管象牙質モデルにおいて高い抗菌作用を示し化学的安定性に優れた根管洗浄剤であることが示された。

【文献】

- 1) pH 調整による EDTA 溶液の根管象牙質に及ぼす影響. 日歯保存誌. 63(5): 425-431. 2020.
- 2) Bactericidal effect of a novel alkaline EDTA root canal cleaning solution. Eur J Dent. 15(3): 546-550 2021.

ラット頭蓋骨欠損部の創傷治癒プロセスに及ぼすフィブリンゲルの影響

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野,
²京都大学医生物学研究所再生組織構築研究部門生体材料学分野
○相原 良亮¹, 鷲尾 絢子¹, 田畑 泰彦², 北村 知昭¹

Effect of Fibrin Hydrogels on Wound Healing Process of Rat Calvarial Defect

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University,

²Laboratory of Biomaterials, Department of Regeneration Science and Engineering, Institute for Life and medical Sciences, Kyoto University

○ Ryosuke Aihara¹, Ayako Washio¹, Yasuhiko Tabata², Chiaki Kitamura¹

【目的】

根尖歯周組織に対する感染・炎症の拡大によって生じた根尖部骨欠損は、その直径がクリティカルサイズ (10 mm) を超えると治療しても癒痕化しやすいことが知られている。これまで、根尖歯周組織骨欠損部の再生誘導を目的として、各種細胞の足場となる再生医用材料の応用が注目されてきた。一方、組織再生を誘導する上で局所に生じている炎症の制御が不可欠であることが知られている。骨欠損が生じている局所の状態を炎症応答が亢進しているステージから組織再生可能なステージへと移行させなければ、再生医用材料を欠損部局所に埋入しても組織は再生されない。近年、フィブリンゲルによって、炎症応答における M1 マクロファージ優位の状態から組織再生に重要な役割を果たしていると考えられる M2 マクロファージ優位の状態に誘導されることが報告されている。本研究の最終目標は、再生医用材料を適確に機能させるため、M2 マクロファージを誘導するフィブリンゲルを用いて、骨欠損部における炎症優位な状態から組織再生可能な状態に局所環境を転換する方法の確立である。今回、ラット頭蓋骨に作成した骨欠損部にフィブリンゲルを埋入し、フィブリンゲルが骨欠損部の創傷治癒に及ぼす影響を検証した。

【材料と方法】

10 週齢の F344 雄ラットの頭部をメスで切開して頭蓋冠を露出させた後、矢状縫合を中心とした両側に直径 5 mm の円状骨欠損をトレフィンバーにて作製した (ラット頭蓋骨欠損モデル)。生理食塩水で洗浄後、骨欠損部位にフィブリンゲルを埋入した部位を埋入側、何も埋入しない部位を未処置側とし、頭部皮膚を縫合して施術を完了した。施術から 11 週間後にラットを安楽死させ、頭蓋冠を回収後、軟エックス線撮影にて骨欠損の再生程度を撮影し、Image J を用いてフィブリンゲル埋入側と未処置側の測定・比較を行なった (九州歯科大学動物実験委員会許可 No. 21-21)。

【結果】

ラット頭蓋骨欠損モデルに対する処置後 11 週では、フィブリンゲル埋入側が未処置側より骨再生が促進されているのが認められた。軟エックス線写真撮影で得た画像の Image J による計測では、フィブリンゲル埋入側が未処置側と比較して 1.3 倍ほど骨再生が促進されていた。

【考察】

今回、ラット頭蓋骨欠損モデルにおいてフィブリンゲル埋入部では骨再生が促進されていることが明らかとなった。骨の創傷治癒・再生プロセスでは、炎症応答のある環境から骨形成が誘導される環境にスイッチされる必要がある。炎症環境から組織再生環境へのスイッチングにおいて、マクロファージが M1 型から M2 型に移行し炎症を抑制するサイトカインを放出することが知られている。また、近年の研究でフィブリンゲルと未分化のマクロファージを共培養することによって未分化マクロファージが M2 型に誘導されるということが示されている。今回の結果は、フィブリンゲルがラット頭蓋骨欠損部においてマクロファージを M1 型から M2 型に移行させ骨再生を誘導する可能性を示唆している。

【結論】

フィブリンゲルはラット頭蓋骨欠損モデルにおける骨欠損部の創傷治癒を促進する。

新規カルシウムシリケート系シーラーの硬組織形成能に関する研究

神奈川歯科大学歯科保存学講座歯内療法学分野
 ○鈴木 二郎, 藤巻 龍治, 石井 信之

A study on the ability of mineralization using new calcium silicate sealer

Department of Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University
 ○Jiro Suzuki, Ryuji Fujimaki, Nobuyuki Tani-Ishii

【研究目的】 カルシウムシリケート系シーラーの根管充填材料としての特徴は、放出されるアルカリイオンによる持続的抗菌作用、Ca²⁺が体液中のPO₄³⁻と反応して硬化物表面にアパタイト結晶を析出することで根管壁との隙間を封鎖し、さらに生体親和性に優れることで根尖部硬組織形成促進による根管封鎖が期待されている。しかし、水と練和して硬化する根管充填シーラーは薬事承認が得られていない。そこで、脂肪酸と酸化マグネシウムの反応により硬化反応が開始される、粉液タイプの新規カルシウムシリケート系シーラー（株式会社クラーク）が開発された。本研究は、試験的に開発されたシーラーのアルカリ溶出性能およびアパタイト形成能について解析し、硬組織生成能について評価した。

【材料および方法】 新規シーラーの組成は、粉性成分（MTA クリッカー、酸化マグネシウム、ジルコニア、その他）および液性成分（脂肪酸、ロジン、その他）である。重量比を粉/液=3.5/1.0で練和したペーストをテフロンモールド（内径10mm x 厚さ2mm）に充填し、37℃ 相対湿度95%で硬化させて円盤状の試験片を作製した。
 アルカリ溶出試験：試験片を精製水13mL中に浸漬して37℃にて保管、溶液のpHを測定（DM-32P 東亜DKK）した。
 アパタイト形成能試験：試験片をリン酸緩衝液PBS（-）30mL中に浸漬して37℃にて最大30日間保管し、試験片表面に析出した結晶を電子顕微鏡（JCM-6000Plus 日本電子）による観察、結晶成分の同定はX線回析（SmartLab9kw リガク）法を用いて分析した。

【結果および考察】

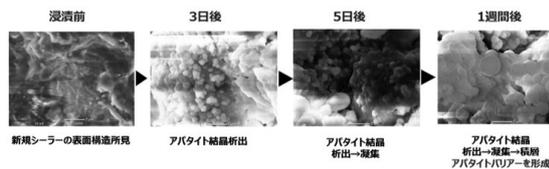
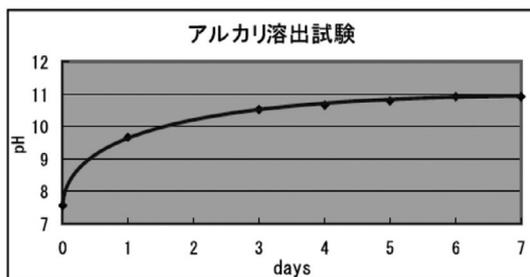
●アルカリ溶出試験：

新規シーラーはアルカリイオンを徐放し、pH11を維持することが確認された。また硬化体は中性であるが、吸水後にカルシウムシリケートとの水和反応でイオン交換が生じ、アルカリが徐々に溶出するため、1週間後pH11.0まで上昇した。

●アパタイト形成能試験：

X線回析法（XRD）にて析出物の結晶構造解析した結果、検出ピークはアパタイト（ヒドロキシアパタイト、炭酸アパタイト）および類縁化合物であると同定した。

【結論】 新規カルシウムシリケート系シーラーは、アルカリ溶出性能とアパタイト形成能を有することが確認された。シーラーと根管象牙質間に硬組織形成が促進される可能性が示された。



高 pH 環境誘導歯科材料による Lipopolysaccharide 濃度の変化

東京歯科大学歯内療法学講座

○岩澤 弘樹, 佐古 亮, 倉持 仁, 山田 雅司, 田宮 資己, 鈴木 穂, 中里 晴香, 古澤 成博

Changes in Lipopolysaccharide concentration by high-pH environment-inducing agents

Department of Endodontics, Tokyo Dental College

○ Hiroki Iwasawa, Ryo Sako, Jin Kuramochi, Masashi Yamada, Yoshiki Tamiya,
Megumi Suzuki, Haruka Nakazato, Masahiro Furusawa

【目的】

感染根管治療において根管内の細菌は機械的拡大により多くが除去されるが、各種根管切削器具が到達できない部位には、化学的洗浄と根管貼薬を行うことで治療効果を向上させている。従来、根管貼薬には水酸化カルシウム製剤が多く用いられている。その主成分である水酸化カルシウムが pH 12.4 の高 pH 環境を誘導することで、殺菌効果や硬組織形成能を示すとともに、細菌の細胞壁成分である Lipopolysaccharide (以下 LPS) を減弱させるとの報告もある。近年、周囲組織の pH を上昇させる新たな歯科材料が治療に用いられる機会が増えてきた。しかしながら、それらにより誘導された pH 環境の変化が、LPS 濃度に与える影響について詳細は明らかになっていない。そこで本研究では、高 pH 環境を誘導する剤 (材) 品の、経時的な pH 変化と LPS 濃度の変化について評価した。

【材料および方法】

高 pH 環境を誘導する歯科材料として、カルビタール[®] (以下 CV 群: NEO dental chemical products, Japan), カルシベックス[®] プレーン II (以下 Cal 群: Nippon Shika Yakuhin, Japan), ビタベックス[®] (以下 Vit 群: NEO dental chemical products, Japan), Bio-C[®] リベア (以下 Bio 群: Angelus, Brazil), ProRoot[®] MTA (以下 MTA 群: Dentsply Sirona, USA) を用いた。なお、カルビタール[®] はレンツロを用いて貼薬する稠度の群 (以下 CV-L 群) と填塞 (パッキング) して貼薬する稠度の群 (以下 CV-P 群) の 2 種類で実験を行った。材料による pH の変化を調べるために、48-well プレート (Corning, USA) の底面に一層の各材料を填入後、DMEM を 1.0 mL ずつ添加し、1 時間後、12 時間後、1 日後、3 日後に培地上清を測定した (n=6)。次に、LPS 濃度への影響を調べるため、DMEM に *E. coli* 由来の LPS が 1,000 ng/mL の濃度とした培地を作製し、12-well プレーートのウェルに 2.0 mL ずつ添加した。同プレートにトランスウェルインサート (ポアサイズ 8.0 μ m, Greiner, Australia) のメンブレン部に各材料を一層填入したのち、それぞれのウェルへ静置した。3 日後に EndoLISA[®] (BioMerieux, France) を用いて各培地の LPS 濃度を測定した (n=4)。統計学的有意差検定には one-way ANOVA 検定および Tukey 法を用い、有意水準を pH 測定では $p < 0.01$ 、LPS 濃度では $p < 0.05$ とした。

【成績】

pH 変化の測定では、1 時間後に CV-L 群、CV-P 群、Cal 群、MTA 群が、他の 2 群よりも有意に高い pH を示した。12 時間後では、CV-P 群が他群よりも有意に高く、次いで CV-L 群が有意に高い pH を示した。1 日後では、Cal 群が CV-L 群と Vit 群よりも有意に低く、3 日後では、Vit 群が CV-P 群以外の他群よりも有意に高い pH を示した。3 日間を通して、すべての群で 8.00 よりも高い pH を示した。LPS 濃度の測定では、CV-P 群が最低濃度を示したものの、有意差は認めなかった。

【考 察】

カルビタール[®] は他の水酸化カルシウム製剤と異なり、粉末と液を練和して応用するため、貼薬環境に応じて粉液比を変えることができる。粉成分を増やし填塞用に練和すると、水酸化カルシウムの含有量が増えるため、高 pH 環境をより誘導すると考えられた。一方、ProRoot[®] MTA と Bio-C[®] リベアはケイ酸カルシウムが主成分であり、水分と反応して水酸化カルシウムを生成し、高 pH 環境を誘導すると言われている。しかしながら、Bio-C[®] リベアは ProRoot[®] MTA と比較してカルシウムの含有量が少ないことから、pH を上昇させるまでに時間がかかると推察された。また、培地の緩衝作用により 3 日後には全ての培地で同程度の pH まで低下したと考えられた。また、アルカリ処理で LPS から脂肪酸を除去すると無毒化されることが報告されている。本実験の CV-P 群で LPS 濃度が低下した一要因として、高 pH 環境の影響が示唆された。

根管洗浄液がラットの味覚に及ぼす影響

¹ 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野,

² 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座口腔生理学分野

○山崎 真帆¹, 田中 雅士¹, 長谷川 智哉¹, 碓 哲崇², 河野 哲¹

Effects of the root canal irrigation solutions to tongue on the neural responses to 4 basic taste substances in rats.

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

²Department of Oral Physiology, Asahi University School of Dentistry

○Maho Yamazaki¹, Masashi Tanaka¹, Tomoya Hasegawa¹, Noritaka Sako², Satoshi Kawano¹

【目的】

今日、根管治療では、ファイルなどの根管内小器具を用いた機械的清掃とともに、根管洗浄液を用いた化学的清掃を行うことが多い。根管洗浄に用いる薬剤は刺激性を有するため、口腔粘膜や顔面皮膚、あるいは根尖歯周組織の損傷が生じないように細心の注意を払って使用するものであるが、不適切なラバーダム防湿、誤ったバキューム操作などにより、これらの薬剤が根管外に漏洩する可能性は少なからず否めない。そこで、本研究では代表的な根管洗浄液である EDTA 溶液や次亜塩素酸ナトリウム溶液が、根管外に漏洩し、味覚器に付着した場合、味覚受容にどのような影響を与えるかを、ラットを用いた電気生理学的手法により検討した。

【方法および結果】

実験 1

雄性 Wistar/ST ラット (8~9 週齢, n=7) を用いた。根管洗浄液である EDTA 溶液と次亜塩素酸ナトリウム溶液をラット舌に 3ml, 1 分間作用させた前後での基本味溶液 (0.1M 塩化ナトリウム, 0.5M ショ糖, 20mM 塩酸キニーネ, 10mM 塩酸) に対する鼓索神経応答の変化を電気生理学的手法により記録し、比較検討した。各基本味溶液に対する味応答の大きさは、記録した鼓索神経束応答の刺激から 20 秒後の積分値 (時定数 0.3 秒) のベースからの大きさとして定量化し、比較に用いた。舌処理に用いる EDTA 溶液と次亜塩素酸ナトリウム溶液の濃度は、いずれも歯科臨床で一般的に使用される 3.0% とした。その結果、3.0% EDTA 溶液の舌処理前後では、実験を行ったいずれの基本味溶液に対する鼓索神経応答に変化は認められなかった。しかしながら、3.0% 次亜塩素酸ナトリウム溶液舌処理により、実験を行った全ての基本味溶液に対する鼓索神経応答が有意に抑制され、その抑制は 1 時間経過しても回復しなかった。

実験 2

実験には雄性 Wistar/ST ラット (8~9 週齢, n=9) を用いた。実験 1 で味応答を抑制した次亜塩素酸ナトリウム溶液の濃度と味応答抑制との関係を調べるため、舌処理に用いる次亜塩素酸ナトリウム溶液の濃度を 0.03%, 0.3%, 1.0%, 2.0% と変化させた場合に各基本味溶液に対する鼓索神経応答の抑制率がどのように変化するかを、実験 1 と同様の方法で記録し検討した。その結果、次亜塩素酸ナトリウム溶液による基本味溶液の抑制はその味質によって異なり、塩化ナトリウムと塩酸では 0.3% 以上で、ショ糖と塩酸キニーネでは 1.0% 以上で、統計学的に有意な抑制が認められた。

なお、本研究は朝日大学歯学部動物実験専門委員会の承認を得て実施した。(20-048, 21-017)

【考察】

本研究では、代表的な根管洗浄液である EDTA 溶液と次亜塩素酸ナトリウム溶液の味覚器への影響を調査したが、実際の歯科臨床での使用濃度である 3.0% では、EDTA 溶液の味覚器への付着が味応答に影響することはないことが推測された。しかしながら、3.0% 次亜塩素酸ナトリウム溶液が味覚器に付着すると 1 時間程度では回復しない強力な味応答抑制を認めた。また、この抑制程度は、味質に依存し、塩味や酸味の方が甘味や苦味よりより低濃度で抑制される傾向が認められた。本研究結果はラットを用いた動物実験であるものの、ヒトに対しても同様の結果を引き起こす可能性があるため、根管洗浄液を用いる際には、確実なラバーダム防湿を施し、患者に不利益が起らないよう常に細心の注意を払う必要があると考える。

Wasabi sulfinyl 誘導体「ヘキサラファン」によるヒト象牙芽細胞の石灰化促進

¹ 東京歯科大学歯内療法学講座, ² 東京歯科大学生理学講座, ³ 金印株式会社,

⁴ 広島大学大学院医系科学研究科・口腔生理学研究室

○古澤 誉彰^{1,2}, 木村 麻記², 黄地 健仁², 中島 克真^{1,2}, 倉島 竜哉², 奥西 勲³, 加藤 朋恵³,
杉田 誠⁴, 澁川 義幸², 古澤 成博¹

Wasabi sulfinyl derivative hexaraphane promotes mineralization efficiency of human odontoblasts

¹Tokyo Dental college Department of Endodontics, ²Tokyo Dental College Department of Physiology,
³Kinjirushi Co.,Ltd,

⁴Hiroshima University Graduate School of Biomedical and Health Science Department of Physiology and
Oral Physiology

○Yoshiaki Furusawa^{1,2}, Maki Kimura², Takehito Ouchi², Kazuma Nakajima^{1,2},
Ryuya Kurashima², Isao Okunishi³, Tomoe Kato-Yamada³, Makoto Sugita⁴, Yoshiyuki Shibukawa²,
Masahiro Furusawa¹

【目的】

本研究はワサビ (*E. japonicum*) の主成分であるヘキサラファン [6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (6-MSITC)] を含む 9 種類の類似化合物に着目し, その構造と石灰化促進機能の関連を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

ヒト培養象牙芽細胞 (HDP) を石灰化誘導培地で培養した。HDP に対し, ヘキサラファン [6-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (6-MSITC)], allyl isothiocyanate (AITC), phenethyl isothiocyanate (PEITC), 4-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (4-MSITC), 4-(methylsulfinyl)-1-butylamine (4-MS amine), 6-methylsulfonylhexyl isothiocyanate (6-MSFITC), 6-methylthiohexyl isothiocyanate (6-MTITC), n-hexyl isothiocyanate (n-Hexyl ITC), 8-(methylsulfinyl) hexyl isothiocyanate (8-MSITC) の 9 種類の化合物を投与し, alizarin red および von Kossa 染色により石灰化促進能を評価した。また, HCO₃⁻ および Ca²⁺ の細胞外輸送経路について検索する目的で, HDP にヘキサラファンと炭酸脱水酵素阻害薬である dorzolamide (DZ), Na⁺/Ca²⁺ exchanger (NCX) ブロッカーである KB-R9743 および plasma membrane Ca²⁺-ATPase (PMCA) ブロッカーである caloxin を投与した際の石灰化能を同様に評価した。さらに, HDP における HCO₃⁻ 輸送体の発現について免疫蛍光染色で検索した。

生体内におけるヘキサラファンの第三象牙質形成能を評価するため, 12~13 週齢ラットの下顎左右第一臼歯に窩洞形成を行い, 左側はコントロール群として生理食塩液を, 右側は実験群として 500 μM ヘキサラファンをそれぞれ含有した MedGel を窩洞内に 2 週間留置した後, 下顎骨を含む切片を作製しヘマトキシリン-エオジン染色, マッソン-トリクローム染色にて石灰化の評価を行った。

【結果および考察】

ヘキサラファンの投与は 20 μM まではコントロールと比較して有意に HDP による石灰化を抑制したが, 40 μM から 400 μM では有意に石灰化を促進した。TRPA1 アゴニストである AITC は, 石灰化を有意に抑制した。4-MS amine, 6-MSFITC, 8-MSITC, ヘキサラファン (各 50 μM) はコントロールと比較して有意に HDP の石灰化を促進した。一方で高濃度 (400 or 500 μM) での比較ではヘキサラファン, 8-MSITC, PEITC, 6-MSFITC でコントロールと比較して有意な石灰化の促進を認め, 6-MTITC においても石灰化を促進する傾向が認められた。これらの結果と構造との関連を考察したところ, HDP の石灰化促進にはイソチオシアネート基に加えてアリール基もしくはメチルスルフィニル基の必要性が示唆された。

HDP にヘキサラファンを投与すると有意な培地 pH の上昇がみられた。ヘキサラファン (50 μM), DZ (1 mM) に加え KB-R9743 (10 μM) および caloxin (100 μM) を単独あるいはカクテルで投与した結果, ヘキサラファンによる石灰化は DZ と caloxin の同時投与で有意に抑制された。以上から, ヘキサラファンによる石灰化促進には象牙芽細胞内 HCO₃⁻ の細胞外輸送, および PMCA を介した Ca²⁺ の細胞外排出が関連している可能性が示唆された。

また, HDP には HCO₃⁻ 輸送機能をもつ solute carrier family 4 member 1 (SLC4A1), SLC4A2, SLC4A3, SLC4A4, SLC4A9 の発現が免疫蛍光染色で確認された。

さらに, ラット窩洞に投与したヘキサラファンはコントロール群と比較して, 新生コラーゲン形成を促進した。以上のことから, ヘキサラファンは HCO₃⁻ の細胞外輸送および PMCA を介した Ca²⁺ の排出によって HDP による石灰化を促進すると思われる, ヘキサラファンは短期間で生体内での硬組織形成を促進し, 新規歯内療法用薬剤として応用できる可能性が示唆された。

Extracts from hydraulic calcium silicate-based endodontic materials promoted mineralization in murine osteoblastic cells

¹ 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,
² 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 生体補綴歯科学分野
○アルチャウーシュ アシール¹, 橋本 健太郎¹, 川島 伸之¹, 野崎 浩佑², 興地 隆史¹

Extracts from hydraulic calcium silicate-based endodontic materials promoted mineralization in murine osteoblastic cells

¹Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU),
²Department of Advanced Prosthodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○Aseel Alchawoosh¹, Kentaro Hashimoto¹, Nobuyuki Kawashima¹, Kosuke Nozaki², Takashi Okiji¹

Introduction : Hydraulic calcium silicate-based sealers have drawn attention in recent years and have been advocated to be used in various clinical cases due to their excellent biological and physicochemical characteristics. The purpose of this study was to evaluate the effects of extracts from hydraulic calcium silicate-based sealers, which are Bio-C Sealer (BioC), Well-Root ST (WST), and EndoSequence BC Sealer (BC), on the mineralization of murine osteoblastic cell line, Kusa-A1.

Materials and Methods : Bio-C Sealer (Angelus, Londrina, PR, Brazil), Well-Root ST (Vericom, Gangwon-Do, Korea), EndoSequence BC Sealer (Brasseler USA, Savannah, GA, USA), and AH plus JET (epoxy resin-based sealer; Dentsply Sirona, York, PA, USA; AHP) were placed in polypropylene discs (3 mm height x 7.5 mm diameter), and were kept in a 37°C incubator for 2 days to induce complete setting. The set samples were immersed in 3mL of distilled water under shaking for 24 h at room temperature. AHP was used as control. Kusa-A1 cells, were cultured with α -MEM supplemented with 10% FBS and antibiotic-antimycotic solution under 5% CO₂ at 37°C. The sample solutions were mixed with α -MEM in a ratio of 1 : 4. Mineralization was induced by culture under osteogenic medium including 0.2 mM ascorbic acid, 5 mM β -glycerophosphate and 1 nM dexamethasone with or without sample extracts, and mineralized nodules were stained by Alizarin Red S solution. The intensity of nodules was quantified by Image J software (ver. 1.53). mRNA expression of osteopontin (Opn) and osteocalcin (Oc) was evaluated by semiquantitative real-time polymerase chain reaction. Cell attachment on the samples was evaluated by scanning electron microscope. Ca ion concentration in the sample extracts was measured by calcium ion meter. Data analysis was performed by one-way analysis of variance, followed by the Tukey-Kramer test ($p < 0.05$).

Results : Kusa-A1 cells cultured under osteogenic medium started to form mineralized nodules at 6 days, and the extract from AHP showed no effect on their formation. The extracts from BioC, WST, and BC significantly promoted mineralized nodule formation, and mineralized nodules were formed at 3 days in the presence of their extracts ($p < 0.05$). In particular, the BioC extract significantly promoted the mineralized nodule formation at 3 days ($p < 0.05$). The extracts from BioC, and BC upregulated the Opn mRNA expression, and the WST extract upregulated Oc mRNA expression at 24 h ($p < 0.05$). Ca ion released from BioC and BC was around 1000 ppm and that from WST was around 300 ppm. Kusa-A1 cells cultured on set BioC, WST, and BC were well-spread and attached with numerous filopodia or pseudopodia. On the contrary, well-attached cells were rarely observed on AHP.

Discussion and Conclusion : The extracts of BioC, WST, and BC promoted mineralized nodule formation and osteoblastic gene expression in Kusa-A1 cells. The concentration of Ca ion released from these samples was relatively high, and the released Ca ion may be involved in the mineralization and osteoblastic gene expression. SEM study indicated that BioC, WST, and BC showed no harmful effects on Kusa-A1 cells. This study revealed that three hydraulic calcium silicate-based sealers, BioC, WST, and BC, possess sufficient biocompatibility and osteoinductive properties, which may be advantageous in their clinical application.

2 種類の根管シーラーによる根管封鎖性の比較

¹ 岩手医科大学歯学部 歯科保存学講座う蝕治療学分野, ² 岩手医科大学 医療工学講座

○相上 雄亮¹, 清水 峻介¹, 浅野 明子¹, 武本 真治², 野田 守¹

Comparison for root canal sealing of two types of canal sealer

¹Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Iwate Medical University,

²Department of Biomedical Engineering, Iwate Medical University

○ Yusuke Aigami¹, Shunsuke Shimizu¹, Akiko Asano¹, Shinji Takemoto², Mamoru Noda¹

[目的]

根管充填による根管封鎖は再治療のリスクを低減するためにも重要である。根管充填には、垂直加圧と側方加圧充填法が主に用いられている。近年、ロータリーファイルによる規格窩洞の形成が可能になったことにより、シングルポイント法による充填が普及している。しかし、シングルポイント法での根管封鎖に関する報告は少なく、使用する根管シーラーによる封鎖性について不明な点が多い。

本研究では、シングルポイント法で根管充填して、根管シーラーの違いが根管封鎖に及ぼす影響を明らかにすることを目的とし、窩洞を形成した牛歯根に根管充填材と2種類の根管シーラーを用いて根管充填し、色素浸透法により根管封鎖性を比較検討した。

[材料と方法]

ウシ下顎前歯を根尖から16mmで切断し、牛歯根を得た。根管を通法にしたがってファイルで穿孔し、最終的に140号のステンレス鋼製ファイル(02テーパー)で、作業長を15mmとし窩洞を形成した。根管形成した歯根に、140号のガッタパーチャポイント(GC)と酸化亜鉛ユージノール系根管シーラー(Canals, GC)またはレジン系根管シーラー(AH Plus, Dentsply Sirona)で6本ずつ根管充填を行い、湿潤環境下で1日静置した。

根管充填した牛歯根の根尖側からトルイジンブルー0.3mlが入ったピンを被せ、3日間、37℃の恒温槽中に保管した。3日経過後、根尖から1.3mmの位置でダイヤモンド切断機(Isomet, ビューラー)を用いて切断し、その後、試料の厚みが1.0mmになるように切断し、一本の歯根から4枚の試料を作製した。切断後、軽く水洗し、デジタルマイクロスコープ(ViTiny UM12, MicroLinks Technology)で観察した。観察画像から画像解析ソフト(ImageJ, NIH)を用い、根管充填材の面積および根管シーラーと根管象牙質での着色割合を算出した。得られた結果を、根管部位による着色割合をKruskal-Wallis検定で、根管シーラーの違いによる着色割合をMann-Whitney U検定で行った($\alpha = 0.05$)。本研究は岩手医科大学動物実験委員会の承認(#02-002および#04-002)を得て行った。

[結果および考察]

図1に根管充填し、着色液を浸透させた歯根(酸化亜鉛ユージノール系根管シーラーを応用した歯根で根尖側から約5mmの部位)の横断面の一例の写真を示す。中央部分の根管充填材とその周囲の根管シーラーの部位に着色が認められ、根管シーラーより外側の根管象牙質の一部も着色していた。根管部位による着色割合は、酸化亜鉛ユージノール系根管シーラーとレジン系根管シーラーのいずれにおいても有意差は認められなかった($P > 0.05$, Kruskal-Wallis検定)。歯根の同部位での根管シーラーの違いによる着色割合は、根尖側に近い歯根部位では有意差が認められた($P < 0.05$, Mann-Whitney U検定)が、根尖側から5mm程度の歯冠側の歯根部位では有意差は認められなかった($P > 0.05$, Mann-Whitney U検定)。根尖側では、酸化亜鉛ユージノール系根管シーラーを用いた場合の方が、レジン系根管シーラーを用いた歯根よりも着色割合が大きかった。

本研究で用いた酸化亜鉛ユージノール系根管シーラーは粉末と液を練和して用いるのに対して、レジン系根管シーラーはペーストタイプで歯質接着性を有する。このことからレジン系根管シーラーでは均一な流動性により根管充填材と根管象牙質との間に流れ、歯質と接着することで封鎖性が高くなったと考える。

[結論]

シングルポイント法で根管充填した根尖側の根管封鎖性は、根管シーラーの種類に影響する可能性が示唆された。

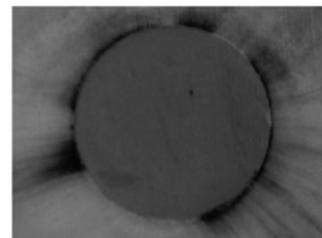


Fig.1 Cross section of bovine tooth filled with zinc oxide-eugenol endodontic sealer

Effects of Novel Bioactive Universal Bond with Calcium Salt Monomer on Odontoblast-Differentiation *In Vitro*

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯蝕制御治療学分野
○ Rao Yaxin, Altankhishig Bayarchimeg, 松田 康裕, 斎藤 隆史

Effects of Novel Bioactive Universal Bond with Calcium Salt Monomer on Odontoblast-Differentiation *In Vitro*

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

○ Yaxin Rao, Bayarchimeg Altankhishig, Yasuhiro Matsuda, Takashi Saito,

Introduction

The development of multifunctional adhesive materials possessing remineralization and antibacterial activities, and reparative dentin inducibility etc. has long been expected. CMET, a calcium salt of 4-methacryloxyethyl trimellitic acid (4-MET), induces dentin remineralization and increases the shear bond strength, bending strength, and compressive strength of resin-based coating materials 1). It was also found to inhibit the formation of *Streptococcus mutans* biofilm 2). Additionally, CMET exhibits low cytotoxicity and a high differentiation-inducing ability to odontoblast-like cells 3).

Recently, a novel Bioactive Universal Bond with CMET was introduced. This study aims to evaluate the effects of a novel Bioactive Universal Bond as a multifunctional material on odontoblast-differentiation *in vitro*.

Materials and Methods

Three materials, Bioactive Universal Bond with CMET (BA bond, BA (+), Sun Medical, Japan), Bioactive Universal Bond without CMET (BA (-)) and Scotchbond Universal Plus adhesive (SC, 3M ESPE, USA) were used in this experiments. The discs were prepared using a silicone mold and immersed in distilled water at 37 °C for seven days. After that, the immersed solutions were diluted to 0, 0.1, 0.5, 1 and 5% (v/v) for addition into the medium. Rat odontoblast-like MDPC-23 cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 5% fetal bovine serum. Cell proliferation was assessed using CCK-8 assay. Real-time RT-PCR was used to quantify the mRNA expression of odontogenic markers, DSPP and DMP-1. Mineralization inducing capacity was evaluated by alkaline phosphatase (ALPase) activity and alizarin red S staining. Statistical analyses were performed using one-way ANOVA and post hoc Tukey's HSD test, with the significance level at 5%.

Results and Discussion

Cell proliferation was significantly greater in the 0.5% BA (+) group than that in other groups ($p < 0.05$). ALPase activity was significantly augmented on day seven in 0.5% BA (+) group compared to the BA (-) and SC groups. The 0.5% BA (+) group enhanced the mRNA expression levels of DSPP and DMP-1 ($p < 0.05$). The calcific deposition of MDPC-23 cells was dose-dependently accelerated by the addition of BA (+) ($p < 0.05$), while the BA (-) and SC groups showed no significant difference. These results were consistent with our previous study regarding CMET 3).

Conclusions

The results showed that the BA bond, a novel Bioactive Universal Bond with CMET had the lowest cytotoxicity among all groups and it induced the proliferation, differentiation and mineralization of odontoblast-like cells under appropriate concentrations. The BA bond is suggested to exhibit excellent biocompatibility and the great potential in dentine regeneration, as a multifunctional adhesive material.

- 1) T. Saito et al., Dental materials, dental compositions, dental bonding materials, remineralization promoters, biological bonding materials and caries detection agents. Japanese Patent Registration No. 4969800, 2012.
- 2) S. Thaweboon et al., Evaluation of an Adhesive Containing Calcium Salt of Acidic Monomers on Inhibition of Biofilm Formation of Bacteria Related to Root Caries. *Key Engin Mater.* 853, 41-45, 2020.
- 3) YJ Qiu et al., A novel bio - active adhesive monomer induces odontoblast differentiation : a comparative study. *Int Endod J.* 53 (10) 1413-1429, 2020.

新規ケイ酸カルシウムフィラーの物理化学的特性と細胞毒性

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

○森 涼¹, 池田 弘², 鷲尾 絢子¹, 永松 有紀², 北村 知昭¹

Physicochemical Property and Cytotoxicity of Novel Porous Calcium Silicate Filler

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University,

²Division of biomaterials, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University
○ Ryo Mori¹, Hiroshi Ikeda², Ayako Washio¹, Yuki Nagamatsu², Chiaki Kitamura¹

【目的】

近年、齲蝕や破折等に伴う歯髄の傷害が軽微で歯髄保存可能と判断された場合の歯髄保護処置に、ケイ酸カルシウムや Bioactive glass といったバイオセラミックスを配合した歯科材料が有用であることが示されている。しかしながら、象牙質・歯髄複合体の損傷が広範囲の場合は、それらの歯科材料を用いた処置による歯髄保存は困難であり、局所的な再生誘導治療用生体材料の開発が求められる。我々は、水和反応による水酸化カルシウム生成、水和物由来 Si-OH 基によるハイドロキシアパタイト (HAp) 核形成誘起、および溶出するケイ素の培養骨芽細胞増殖・石灰化物形成促進などを特徴とするケイ酸カルシウムを多孔質にすることで、表面積の増加、イオン溶出・吸着、薬剤等の液体浸透性向上により完全に近い HAp 形成・置換が期待できる多孔質ケイ酸カルシウムフィラー (BPF) を着想した。本研究では、新たに開発したケイ酸カルシウムを主成分とする BPF の物理化学的性質と細胞毒性を評価した。

【材料と方法】

<BPF の作製> シリカ粒子とレジンからなる多孔質前駆体を調製し、電気炉で 1150℃, 1 時間の条件で焼成した。得られた多孔質シリカを硝酸カルシウム水溶液に室温にて 2 日間浸漬し、乾燥後、900℃, 1 時間の条件で焼成した。焼結体を乳鉢・乳棒で粉碎し、BPF を作製した。<物理化学的評価> BPF は、走査型電子顕微鏡 (SEM) による形態観察, X 線回折法 (XRD) による結晶層同定, 窒素ガス吸着法による細孔分布測定, 水中浸漬による pH 測定, および誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-OES) によるイオン放出量測定にて評価した。また、BPF の HAp 形成能評価のため、擬似体液に BPF を浸漬したのち SEM にて観察した。<細胞毒性> 細胞培養液に BPF を浸漬し、37℃, 5%CO₂ インキュベーターで 24 時間静置した。その後、0.2 μm フィルターでフィルトレーションすることで 100% 試験液を調整した。また、100% 試験液に細胞培養液を加えることで各濃度の希釈液を調整した。ラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3) を試験液および希釈液で刺激し、セルカウンティングキット (CCK-8) を用いて細胞毒性を評価した。

【結果】

SEM 観察, XRD および窒素ガス吸着法より、BPF は非晶質のナノサイズの細孔を有する多孔質の表面構造が認められた。擬似体液浸漬後の BPF 表面には HAp 様構造物の析出が認められた。BPF を浸漬した蒸留水の pH は 9.8 を示し、ICP-OES から BPF の Ca イオンと Si イオンの溶出は 7 日間上昇した。また、CCK-8 アッセイより、BPF の 100% 試験液では有意に生細胞数が減少したが、1/2 以下の希釈液では生細胞数に有意な差はなかった。

【考察】

BPF はナノサイズの細孔を有する多孔質の表面構造であることから、タンパク質や薬剤のキャリアーになりうる粒子であることが示唆された。また、BPF 表面に HAp 様構造物の析出が認められたことより、BPF は HAp 形成能を有し、HAp の析出に有利な pH であると示唆された。さらに、CCK-8 アッセイから BPF の細胞毒性は低いことが示唆された。

【結論】

ナノサイズの細孔を有する非晶質な新規多孔質ケイ酸カルシウムフィラー (BPF) は、象牙質・歯髄複合体の局所的再生誘導に用いる生体材料の構成要素として有用である。

光蛍光定量 (QLF) 法を応用したう蝕診断精度向上に関する研究

神奈川県立歯科大学歯科保存学講座歯内療法学分野

○武藤 徳子, 王 琹萱, 徐 開元, 藤巻 龍治, 室町 幸一郎, 鈴木 二郎, 石井 信之

Study on improvement of caries diagnosis accuracy applying the QLF method

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○Noriko Mutoh, Ting Hsuan Wang, Kaigen Jo, Ryuji Fujimaki, Koichiro Muromachi,
Jiro Suzuki, Nobuyuki Tani-Ishii

【目的】 歯科検診は疾病発見だけでなく、歯・口腔の健康に関する生活習慣や基礎疾患を含めた歯科保健指導に役立つことが期待されている。一方、う蝕診断は象牙質う蝕を対象としているが、初期う蝕基準と隣接面のう蝕診断結果に術者間のばらつきがあり、診断精度向上とDMFT指数の正確性が課題とされている。光蛍光定量(QLF)法は、励起光照射によってエナメル質は白、象牙質は緑、感染象牙質は赤、さらに充填物は異なる色調が提示され、診断精度の向上が期待される。本研究は、う蝕と充填歯の診断基準にQLF法を導入し、歯科検診におけるDMFT指数値精度向上を目的とした。

【方法】 神奈川県立歯科大学附属病院歯科外来を受診した患者149名の初診時口腔内診査時に裸眼とQLF法による診査を実施し、歯科検診の診断精度効果を判定する(神奈川県立歯科大学倫理審査委員会承認番号864)。診断基準と診断方法は以下に定める。

診断基準

- 1) 活動性のう蝕を対象とするため、象牙質のう蝕を診断対象とする。
- 2) 咬耗、摩耗、着色、斑状歯、外傷、酸蝕症、発育不全、歯周炎、形態異常、エナメル質形成不全等の歯であっても、う蝕病変の認められないものは健全歯とする。
- 3) 診査者によって判断が異なる程度の初期変化で、治療の必要性が認められない場合は健全歯とする。

診断方法

う蝕の診断には基本的に先端が鈍器な探針を使用し、歯間部う蝕はQLF法を使用して確認する。

QLF法に使用するライト(波長405nm, 電圧4.5V)は、厚生労働省福祉用具・介護ロボット実用化支援事業2020採択機器(案件番号02-C06)として登録済みである。

解析方法

う蝕診断精度の解析には、DMFT指数値を裸眼とQLF法での数値を測定し比較した。

【結果】 QLF法によるう蝕診断精度の解析をDMF指数値で比較した結果、DMF法による診査結果においてM値(裸眼0.71, QLF法0.71)は変化しなかったが、D値(裸眼0.69, QLF法0.71)とF値(裸眼10.82, QLF法12.23)は増加し、DMF指数(裸眼12.23, QLF法12.82)も高い値が得られた。

【考察】 う蝕診断は、初期う蝕の基準と隣接面う蝕診断に術者間のばらつきがあり、QLF法の応用により対象歯質、充填物、う蝕に対して異なる色調が示され、診断精度の向上とDMF指数値の正確性向上に貢献可能と考えられた。

関節リウマチによる歯髄および根尖歯周組織における炎症過程の病態解析

神奈川県立歯科大学歯科保存学講座歯内療法学分野
○山崎 詩織, 林 玲緒奈, 糸永 和広, 武藤 徳子, 石井 信之

Histological analysis of pulpitis and apical periodontitis caused by rheumatoid arthritis

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○Yamazaki Shiori, Hayashi Reona, Itonaga Kazuhiro, Mutoh Noriko, Isii Nobuyuki

【目的】自己免疫疾患である関節リウマチの発症には、歯周疾患等の口腔感染症の関与が報告されているが、歯髄炎および根尖性歯周炎との関連性については報告がない。本研究は、関節リウマチモデルマウス (SKG マウス) における歯髄炎と根尖性歯周炎の病態を解析し、自己免疫疾患における歯髄感染後の病態を明らかにすることを目的とした。

【方法】6週齢(雌)のSKGマウス(実験群n=20)と正常免疫機能マウス(BALB/cマウス;対照群n=15)の両側上顎臼歯咬合面を露髄させ、24時間口腔常在菌に暴露させ歯髄感染モデルを作成した。術後3日,5日,1週間,2週間,4週間後に深麻酔下にて4%パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定,さらに4°Cで24時間浸漬固定後にEDTAにて脱灰し,パラフィン切片を作成してヘマトキシリン・エオジン染色(HE)にて炎症性細胞の動態を解析した。また,象牙芽細胞マーカーである抗Nestin抗体を用いて免疫組織学的解析を行い,TUNEL法にて歯髄組織内の細胞のアポトーシスを解析した。髄腔内に存在する全てのNestin陽性周長の割合は,ImageJソフトウェア(ImageJ,Version1.37v,NIH,USA),TUNEL陽性率はWinROOFを使用して計算した。統計ソフトウェア(統計分析SPSSVer.2)を使用して統計学的に解析した。なお,本研究は本学実験動物倫理委員会の承認(21-008)を得ている。

【結果】術後3日,5日において,実験群の方が歯冠部歯髄の炎症反応が強く発現されたが,術後1週,2週では炎症性細胞浸潤は両群とも同様の所見となり,術後4週では,実験群の方が炎症性細胞浸潤の範囲が拡大した。Nestin染色所見では,術後3日,5日において実験群,対照群共に髄床底から歯根全体にかけて,術後1週においては実験群の根尖側1/3にNestin陽性細胞を認めたが,術後2週,4週では陽性細胞数の減少を認めた。TUNEL染色では,術後3日,実験群,対照群共に露髄面直下の歯髄に陽性細胞が認められ,5日,1週において実験群,対照群共に露髄面直下の歯髄から歯根中央歯髄にかけて陽性細胞が認められた。術後2週,4週後には対照群と比較して,実験群の歯根中央歯髄から根尖2/3の歯髄までその範囲が拡大していた。

【考察】本研究より,実験群は,対照群と比較して,TUNEL染色の陽性細胞の発現範囲が広く,強い炎症性細胞浸潤が認められ,歯髄感染の進展が顕著であることが示された。自己免疫疾患において免疫応答機構が破綻し,自己・非自己の両抗原に対して自己免疫応答が発現し,これらの免疫応答が持続することで慢性炎症が持続する傾向が報告されている。本研究においても慢性炎症が持続する傾向が観察されたことから,関節リウマチは歯髄炎の進行に関与することが強く示唆された。関節リウマチにおける免疫応答機構の破綻は,歯髄の慢性炎症を長期化する可能性が示された。

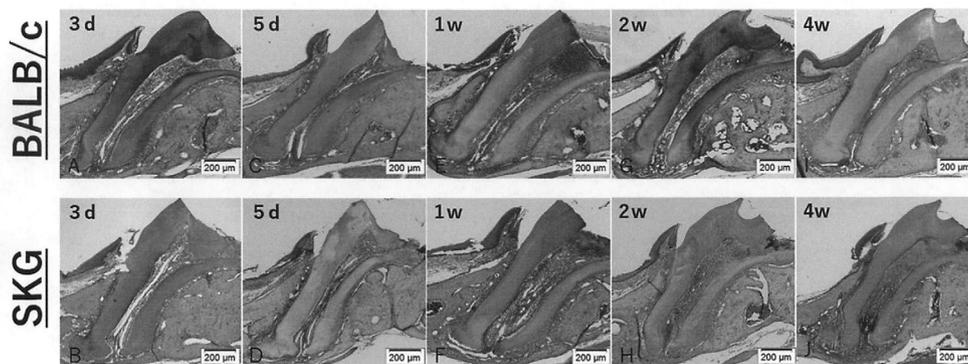


Fig.1 (A-J) Hematoxylin-eosin staining.

BMP-Smad と TNF α 依存性炎症シグナルとの相互作用の解析

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

Analysis of the interaction between BMP-Smad and TNF-induced inflammatory signals

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

²Department of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of
Dentistry

○ Shizu Hirata-Tsuchiya¹, Shigeki Suzuki², Jyun Nakanishi¹, Kazuma Yoshida¹, Akiko Sato²,
Satoru Yamada², Hideki Shiba¹

【目的】

歯内および歯周疾患の病態の多くは、極度の急性炎症あるいは再生機転に転換しない慢性炎症など制御不能な炎症による組織破壊である。それらの炎症を誘発する感染源を除去するとともに再感染を防止することが歯内治療を成功に導く上で必要である。我々は、局所に生じている炎症の程度をコントロールすることによって、難治化している病態を治療に導くことができると考え、これまでに、炎症のシグナル伝達経路である NF- κ B と骨誘導因子 BMP-Smad シグナルのクロストークに着目し、NF- κ B の選択的阻害剤を BMP とともにマウス背筋膜下に移植すると骨形成が促進されること (Mol Endocrinol, 2014)、および、NF- κ B のサブユニット p65 と Smad4 の結合阻害ペプチドを骨芽細胞に加えると骨芽細胞分化が促進すること (J Cell Physiol, 2018) を明らかにした。このように、p65 が BMP-Smad シグナルを阻害することから、NF- κ B と BMP は互いのシグナルを制御し合っている可能性がある。しかしながら、BMP-Smad による炎症シグナルへの関与は不明である。本研究では、骨芽細胞における NF- κ B-p65 と BMP-Smad シグナルの全ゲノム的な相互作用という観点から、BMP が炎症性シグナルに与える影響を調べるとともに、その主体をなす因子を同定した。

【材料と方法】

炎症シグナルの誘導因子として炎症性サイトカイン TNF α (10 ng/ml) で前処理したマウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) を BMP4 (10 ng/ml) で刺激し、ChIP-seq によって p65 と Smad4 の結合ピークを、RNA-seq によって遺伝子発現変化を解析した。また、WST-8 assay と TUNEL 染色によって、TNF α 刺激による細胞増殖抑制効果やアポトーシス誘導に BMP シグナルが与える影響を調べた。

【結果】

ChIP-seq 解析の結果、TNF α +BMP4 存在下では、p65 と Smad4 は多くのピークを共有していた。また、RNA-seq 解析の結果から、TNF α 単独群と比較して、TNF α +BMP4 存在下で発現が抑制される遺伝子を 3 つ (Samd9l, Ccl5, C3) および上昇する遺伝子を 6 つ (Timp1, Krt16, Junb, Ltbp2, Sepine1, Skil) 同定した。次に、MC3T3-E1 細胞を TNF α で刺激すると細胞増殖が抑制されるが、BMP4 は濃度依存的にその抑制を解除した。また、TNF α は TUNEL 陽性細胞を増加させるが、BMP4 は TUNEL 陽性細胞数の増加を抑制した。

【考察】

TNF α および BMP4 の相互作用によって発現が制御されている 9 個の遺伝子を同定し、そのうちの 3 遺伝子、Samd9l, Ccl5, C3 の発現は TNF α 単独群と比較し、TNF α +BMP4 刺激で減少することから、BMP4 はそれらの遺伝子の発現抑制を介して TNF α 誘導性の炎症シグナルを制御していると考えられた。また、BMP4 が TNF α 刺激による細胞増殖能の抑制やアポトーシス誘導を解除することを示した。このことから、同定した 3 遺伝子が BMP による細胞増殖能の抑制やアポトーシス誘導の解除に関与している可能性が示唆された。

再活性化 Epstein-Barr ウイルスは IL-6 の産生を誘導する

¹ 日本大学歯学部歯科保存学第 II 講座, ² 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門
○宮田 泰伎¹, 田村 隆仁¹, 鈴木 裕介^{1,2}, 勝呂 尚^{1,2}, 林 誠^{1,2}, 武市 取^{1,2}

IL-6 induction by reactivated Epstein-Barr virus in refractory apical periodontal lesions

¹Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry,

²Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center,

Nihon University School of Dentistry

○ Taiki Miyata¹, Takahito Tamura¹, Yusuke Suzuki^{1,2}, Hisashi Suguro^{1,2}, Makoto Hayashi^{1,2},
Osamu Takeichi^{1,2}

【背景および目的】

根尖性歯周炎は口腔内常在菌の感染によって惹起され、根尖部歯周組織の炎症や支持歯槽骨の破壊を誘発する。しかし根管治療を行っても、臨床症状が消退せず治療が長期化するケースがあり、炎症組織内部の病態は未だ不明な部分が多い。Epstein-Barr virus (EBV) は、世界中の 90% 以上の人々への感染が報告されている。EBV は潜伏感染するため直ちに病原性を示さないが、再活性化することにより様々なサイトカイン産生を誘導し病原性を発揮する。EBV が潜伏感染時には Latent membrane protein (LMP) 1 が発現し、再活性化すると、EBV 感染 B 細胞から BamHI fragment Z leftward open reading frame (BZLF) -1 遺伝子の発現が誘導され、遺伝子産物である ZEBRA 蛋白が発現する。これらとともに、EBV の再活性化マーカーとして用いられる。演者らは、第 156 回日本歯科保存学会春季学術大会にて、歯根肉芽腫中の BZLF-1 およびインターロイキン (IL) -1 β mRNA の発現に有意な相関関係が認められることを発表した。そこで本研究では、難治性根尖性歯周炎における EBV と炎症性サイトカインである IL-1 β および IL-6 の関与を検討するため、採取した歯根肉芽腫を試料とし病理組織学的、免疫組織学的および分子生物学的に検索することを企図した。なお、本研究は日本大学歯学部倫理委員会 (倫許 EP21D012) の承認に基づいて実施された。

【材料および方法】

1. 供試試料の採取: 口腔内診査およびエックス線診査に基づいて、慢性根尖性歯周炎と診断された患者のうち、根尖切除法または抜歯が適応とされた患者から摘出された根尖病変を供試した。同様に水平埋伏智歯の抜去時に採取した健康歯肉組織をコントロールとして用いた。なお、被験者には採取した組織を本研究に使用することを説明し、文書にて同意を得た。採取した組織は速やかに二分割し、一方は 10% ホルマリンを用いて 24 時間固定、パラフィンにて包埋を行った。もう一方は OCT - compound (Tissue - TEK) に包埋後、液体窒素にて凍結保存した。
2. 病理組織学的検索: 包埋を行った試料からパラフィン薄切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色にて病理組織学的検索を行い、歯根肉芽腫と診断した組織を以降の実験に供試した。
3. 免疫組織化学的検索: 作製したパラフィン薄切片を使用し、抗ヒト ZEBRA マウスモノクローナル抗体と抗ヒト IL-1 β ウサギモノクローナル抗体または抗ヒト IL-6 ウサギモノクローナル抗体を用いた蛍光二重染色を行った。
4. 分子生物学的検索: 凍結した試料から total RNA を抽出し相補的 DNA を作製後、Real-time PCR 法にて BZLF-1 および IL-6 の遺伝子発現量を検索した。また Glycerinaldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を用いてサンプル間の標準化を行った。
5. 統計学的分析: Real-time PCR 法により得られた BZLF-1 と IL-6 発現量についてピアソンの相関係数を用いた統計分析を行い、有意水準 0.05 にて相関性の検討を行った。

【結果】

1. 病理組織学的検索では 25 サンプル中、20 サンプルが歯根肉芽腫であった。
2. 免疫組織化学的検索の結果、歯根肉芽腫中の炎症細胞に ZEBRA 蛋白と IL-1 β または IL-6 の共発現を認めた。一方、健康歯肉中の細胞では ZEBRA 蛋白および IL-1 β , IL-6 の発現は認められなかった。
3. Real-time PCR 法において BZLF-1 と IL-6 には相関関係がみられた。

【考察】

慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫において再活性化した EBV は IL-1 β および IL-6 の産生を誘発する可能性が示唆された。

歯髄血管再生療法の治癒過程での神経組織の変化

東京歯科大学保存修復学講座

○五十嵐 章智, 駒田 朋昭, 増山 絢子, 田代 憲太朗, 三友 啓介, 村松 敬

Changes of nervous tissue after pulp revascularization

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

○Takatoshi IKARASHI, Tomoaki KOMADA, Ayako MASUYAMA, Kentaro TASHIRO,
Keisuke MITOMO, Takashi MURAMATSU

【緒言】

近年、歯髄壊死を生じた根末完成歯に対する治療法として、歯髄血管再生療法（パルプ・リバスキュラリゼーション）が注目されている。これは、根尖孔外で意図的出血させることで血餅を足場に硬組織形成を誘導するもので、歯根の長さや根管壁の厚みを増して成長させる新しい治療法である。本法の治癒形態として、組織学的に根管内への歯根膜由来細胞や血管の侵入と増生、そして新生硬組織の添加が報告されている。

この治療では臨床的には術後の知覚が確認されており (Nageh *et al.*, J Endod 2018, 44 (10): 1526-1533), 神経組織の再生が示唆されている (Austh *et al.*, J Endod 2018, 44 (12): 1802-1811)。しかし、その治癒過程における神経組織の詳細な組織学的変化は明らかとなっていない。

我々はこれまでに歯髄血管再生療法モデルマウスを作製し、その治癒過程に関与する細胞及び毛細血管の動態を検討してきた (駒田, 五十嵐ら, 第 153 回, 第 154 回, 第 156 回, 日本歯科保存学会: Komada, Ikarashi *et al.*, Front Dent Med 2022, 864406)。

そこで本研究では、歯髄血管再生療法のモデルマウスを用い、治癒過程において根管内に侵入・増生する神経組織の変化を検討することを目的とした。

【材料および方法】

本研究は東京歯科大学動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号: 212301)。生後 5 週の C57BL/6 雄性マウスに対して、三種混合麻酔薬 (MMB) を腹腔内注射後、右側上顎第一臼歯 (M1) に対してカーバイドバー (ZIPPERER 社) を用いて咬合面から露髄させた。近心根管に対して実体顕微鏡下にて 8 号の K ファイルによる歯髄除去および機械的清掃、次亜塩素酸ナトリウム溶液と EDTA を用いた化学的清掃を行った。その後、8 号の K ファイルを用いて近心根管内経由で根尖孔外より出血させ、根管口部まで血餅を形成させた。次に血餅上部を MTA セメント (Bio MTA セメント, モリタ社) で被覆し、接着性レジンセメント (スーパーボンド, サンメディカル社) で封鎖した。術後 1 時間, 7 日, 14 日, 21 日に 4% パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定を行い、上顎骨を採取した。サンプルを 10% EDTA で 1 週間脱灰し、厚さ 4 μ m のパラフィン切片標本を作製し、H-E 染色を行った。神経組織の検出のためには、一次抗体に抗 S-100 β 抗体 (以下 S-100, Sigma-Aldrich 社), β 3-tubulin 抗体 (以下 Tubb3, Abcam 社) をそれぞれ用いて免疫組織化学的染色を行った。対照群は反対側の左側上顎第一臼歯 (無処置) 近心根とした。

【結果および考察】

術後 1 時間において、歯髄組織は除去され根管内に血餅の形成を認めた。根管内に S-100 陽性および Tubb3 陽性構造物を認めなかった。術後 7 日において、根管内に幼若な毛細血管や線維芽細胞、また一部石灰化物を認めた。一方、根尖周囲に S-100 および Tubb3 に陽性を示す紡錘形の構造物を認めるが、根管内には認めなかった。術後 14 日において、根管内に毛細血管や新生硬組織の増生を認め、根尖から根管内に連続した S-100 に陽性を示す太い直線状の構造物を認め、Tubb3 に陽性を示す細い直線状の構造物を認めた。術後 21 日においては、根管内の大部分が新生硬組織に置換され、S-100 および Tubb3 に陽性を示す構造物を認めた。

S-100 はシュワン細胞マーカーであり、Tubb3 は神経線維マーカーであることから、歯髄血管再生療法後、根管内に再生した神経線維が侵入・増生することで術後の知覚に関与することが示唆された。

歯髄細胞における MXRA5 の機能解析

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口腔生物学講座歯内歯周治療学分野
○吉田 和真¹, 鈴木 茂樹², 佐藤 瞭子², 山田 聡², 柴 秀樹¹

Analysis of MXRA5 function in dental pulp cells

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

²Department of Periodontology and Endodontology,
Tohoku University Graduate School of Dentistry

○ Kazuma Yoshida¹, Shigeki Suzuki², Akiko Sato², Satoru Yamada², Hideki Shiba¹

【目的】

歯髄組織は血管や神経線維, 免疫担当細胞, 線維芽細胞などを持つヘテロな細胞の集団で構成され, 間葉系幹細胞が多く含まれることが知られている. 歯髄間葉系幹細胞 (dental pulp stem cells: DPSC) は象牙質・歯髄複合体受傷時の組織修復や歯髄組織の感染制御に重要な機能を果たす. さらに, DPSC はその高い増殖能や易回収性により, 有用な幹細胞ソースとして様々な組織再生への応用が期待されている. さらに, DPSC は骨髄由来間葉系幹細胞 (BMMSC: bone marrow stem cells) と比べて細胞増殖能が高いとの報告もある. しかしながら, DPSC が高い増殖能を維持する機構については十分に明らかとなっていない. そこで本研究では, NCBI の The gene ontology database and informatics resource (GO analysis) から DPSC と MSC の遺伝子発現を whole genomic と比較した研究を抽出し, DPSC が高い細胞増殖能を持つ遺伝子発現基盤を明らかにするために, 歯髄組織に高発現する細胞外基質コード遺伝子 MXRA5 (2020 年第 152 回日本歯科保存学会発表) の発現パターンと MXRA5 が DPSC の増殖に与える影響を調べた.

【材料および方法】

NCBI の The gene ontology database and informatics resource (GO analysis) において Term [DPSC, MSC, Human] で検索を行い, DPSC と BMMSC の比較データとして 2x RNA-seq data (GSE123973, GSE105145) と 1x microarray data (GSE113297) を抽出した. MXRA5 特異的 siRNA (siMXRA5) を DPSC にトランスフェクションし, total RNA を RNA-seq に供与し, 網羅的に遺伝子発現を調べた. レンチウイルス発現系を用いて作製した全長 MXRA5 (MXRA5-full) および歯髄細胞特異的 isoform である MXRA5-pulp variant (MXRA5-PV) を過剰発現する DPSC と siMXRA5 を導入した DPSC の細胞増殖能を MTT 細胞増殖 assay で調べた. MAPK の一つである JNK 発現を調べるために, siMXRA5 をトランスフェクションした DPSC を SDS-PAGE で展開し, 各種抗体を用いて western blot を行った.

【結果】

GO analysis のバイオインフォマティクス解析結果のうち, GSE123973 と GSE113297 では, Retinoblastoma 関連分子や Cell cycle, DNA replication の遺伝子発現が BMMSC と比較して DPSC で上昇していることが明らかとなった. さらに, MXRA5 は GSE123973, GSE105145, GSE113297 において, それぞれ全遺伝子中 3, 341, 39 番目に DPSC 高発現遺伝子であることを見出した.

RNA-seq の結果から, MXRA5 は細胞周期チェックポイントに関わる遺伝子の発現と相関があった. siMXRA5 は DPSC の細胞増殖能を低下させた. 一方, MXRA5-full と MXRA5-PV を過剰発現した DPSC の細胞増殖はコントロール細胞と比較して促進された. Western blot の結果, siMXRA5 をトランスフェクションした DPSC の total JNK の発現は変化しなかったが, JNK のリン酸化抑制がみられた.

【結論と考察】

NCBI GO analysis database の検索により, DPSC が高い増殖能を持つ分子基盤を明らかとした. さらに, MXRA5 は BMMSC と比較して DPSC が特異的に高発現する遺伝子であり, ヒト歯髄組織において MXRA5 が著明に発現することおよび炎症惹起時に MXRA5 の発現が増加するという報告があることから, MXRA5 は DPSC の高い増殖能の維持と局所の組織修復時に速やかに DPSC が機能を発揮する環境の創出に重要な役割を担っている可能性が示唆された.

加齢に伴う S1P 受容体発現細胞の動態変化 - ラット根尖部 / 歯髄腔における解析 -

¹福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野, ²福岡学園, ³福岡歯科大学口腔医学研究センター
○松本 典祥¹, 阿南 壽², 廣瀬 陽菜¹, 藤政 清志朗¹, 金丸 慎吾¹, 田中 聡一郎¹, 島田 将彦¹,
松崎 英津子^{1, 3}

**Analysis of dynamic changes of S1P receptor-expressing cells with aging
in the apex and pulp cavity of rats**

¹Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College,
²Fukuoka Gakuen, ³Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College
○Noriyoshi Matsumoto¹, Hisashi Anan², Haruna Hirose¹, Seishiro Fujimasa¹,
Shingo Kanemaru¹, Soichiro Tanaka¹, Masahiko Shimada¹, Etsuko Matsuzaki^{1, 3}

【目的】

歯根未完成の幼若永久歯では、根尖部に歯乳頭由来幹細胞 (SCAP) が豊富に存在するため、その賦活化による再生歯内療法が有効であるとされている。一方で、再生歯内療法における SCAP の象牙芽細胞分化メカニズムは明らかとなっていない。我々は、骨芽細胞分化促進因子であるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) が、S1P 受容体である S1PR1 の発現増加に伴い、SCAP の象牙芽細胞分化を促進することを報告した (2021 年度日本歯科保存学会秋季学術大会)。本研究では、S1P シグナルと象牙芽細胞分化とのかかわりについて新たな知見を得るため、歯根未完成若齢ラットと老齢ラットの根尖部および歯髄腔における S1P 受容体発現細胞分布について組織学的に解析した。

【方法】

実験には、4 週齢 (歯根未完成, 若齢) と 50 週齢 (成熟永久歯, 老齢) の雄性 Wistar 系ラットを用いた。通常に従って下顎第一臼歯の組織標本を作製し、近心根の根尖部、歯髄腔における組織学的検討を行った (福岡歯科大学動物実験承認番号: 20006)。HE 染色, マッソントリクローム染色, および S1P 受容体 S1PR1 と S1PR2 の免疫組織染色を実施した。S1PR1, S1PR2 の免疫組織染色においては、単位面積あたりの陽性細胞数をカウントした。

【結果】

歯根未完成の 4 週齢ラットの下顎第一臼歯近心根根尖部において、歯乳頭とそれを取りまく Hertwig 上皮鞘が観察され、同部位には S1PR1 陽性細胞が多数認められた。これらの細胞は胞体も大きく、陽性細胞数は成熟永久歯の 50 週齢ラットと比較して有意に多かった。一方、50 週齢ラットの根尖部では線維化が亢進し、4 週齢と比較して根尖部に膠原線維が多く観察された。

また、歯髄腔では根管壁に沿って S1PR1 陽性細胞が観察された。これらの陽性細胞は、歯髄と象牙質の境界面に規則正しく配列しており、4 週齢と 50 週齢とで発現数に有意差を認めなかった。

一方で、S1PR2 陽性細胞は 4 週齢, 50 週齢ともに根尖部, 歯髄腔においてわずかに認められた。

【考察】

4 週齢ラットの下顎第一臼歯は根未完成歯であり、根尖部では歯根の形成が行われている。この時期の歯源性上皮は、周囲の間葉系細胞の分化と歯根形成に関与している。今回、4 週齢ラットの根尖部において、50 週齢ラットと比較して S1PR1 陽性細胞が多く認められたが、その位置と形状から S1PR1 を介した S1P シグナルが、SCAP の分化、歯根の形成に関与する可能性が考えられた。

一方、根管壁の象牙芽細胞存在部位に配列していた S1PR1 陽性細胞は、4 週齢, 50 週齢ともに観察されており、S1P シグナルの象牙質形成へのかかわりも考えられた。

ヒト歯髄培養細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸受容体の検索

¹ 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座, ² 日本大学口腔科学研究所
○倉持 光成¹, 岡部 達^{1,2}, 神尾 直人¹, 葉山 朋美¹, 深井 譲滋¹, 渡邊 昂洋¹, 松島 潔^{1,2}

Search for sphingosine-1-phosphate receptors in human dental pulp cells.

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

²Research Institute of Oral Science, Nihon University

○ Kosei Kuramochi¹, Tatsu Okabe^{1,2}, Naoto Kamio¹, Tomomi Hayama¹, Joji Fukai¹,
Takahiro Watanabe¹, Kiyoshi Matsushima^{1,2}

【目的】

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は生体内に存在し、細胞内で産生される複合脂質の一つであり、5つの特異的な受容体を介して多彩なシグナル経路に共役すると考えられている。これまでに S1P は根尖性歯周炎による根尖歯周組織破壊に対して、骨分化シグナルの活性化と分化制御因子による骨再生能力を向上させると報告されている。

S1P は血液中にも数 μ M と豊富に存在していることから、血液供給のある歯髄組織においても S1P は生理活性に深く関与していると思われるが、十分な研究報告はなされていない。特に歯髄における硬組織形成の機序は未だ不明な部分も多い。

演者らは、日本歯科保存学会 2021 年度秋季大会 (第 155 回大会) にて S1P がヒト歯髄培養細胞において細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の上昇、ALP 活性の上昇、石灰化結節の形成を促し硬組織形成能促進効果を与えている可能性を示唆した。そこで本研究では歯髄における S1P の硬組織形成能促進効果の影響を解明することを目的として、ヒト歯髄培養細胞の S1P 受容体 (S1PR) の発現とその機能についてさらなる検討を行った。

【材料及び方法】

1. 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: EC21-20-19-19-003-3 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、矯正学的理由によって抜去された健康な第一小臼歯より歯髄組織を無菌的に取り出し、10% 牛胎児血清を含む α -MEM を用いて 5~9 代継代し、37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下で培養を行ったものを用いた。
2. RT-PCR は上記の培養条件にて培養を行い、RNeasy Mini Kit (QIAGEN) を用いて total RNA の抽出を行い、QIAGEN One Step RT-PCR KIT (QIAGEN) を用いて RT-PCR を行った。PCR 合成産物は 1. 5% アガロースゲル電気泳動後、エチジウムブロマイド染色を行い、遺伝子増幅の確認をした。
3. $[Ca^{2+}]_i$ は、蛍光色素 Fura-2 にてラベルした細胞内の蛍光を、CAF-110 型スペクトロフルオロメーター (日本分光) にて 340nm と 380nm による 2 波長蛍光測定法により測定した。この際アンタゴニストを用いた実験では、S1PR1 アンタゴニストの 1 μ M W146 (Cayman Chemical), S1PR2 アンタゴニストの 1 μ M JTE013 (Cayman Chemical), S1PR3 アンタゴニストの 1 μ M CAY10444 (Cayman Chemical) を用いた。

【結果】

1. ヒト歯髄培養細胞における S1P レセプター mRNA の発現は、S1PR1, S1PR2 および S1PR3 で認められた。また S1PR4, S1PR5 の mRNA 発現は少なかった。
2. ヒト歯髄培養細胞において、1 μ M S1P は $[Ca^{2+}]_i$ を上昇させた。
3. 細胞外液中の Ca²⁺ の除去により S1P による $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は抑制されなかった。
4. 1 μ M タブシガルギン作用後、1 μ M S1P を作用させた場合、 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は認められなかった。
5. S1PR1~3 に対するアンタゴニストで処理されたヒト歯髄培養細胞では、1 μ M S1P による $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は抑制された。

【考察】

今回 RT-PCR の結果より S1PR1~3 の mRNA が多く発現していることが認められた。これまでに S1PR1 と S1PR2 の 2 つの受容体の発現に関しては、骨芽細胞分化作用、骨形成促進作用と関わると報告されており、ヒト歯髄培養細胞においても S1P が S1PR1~3 に作用・活性化することにより、細胞内 Ca²⁺ プールより Ca²⁺ が遊離、 $[Ca^{2+}]_i$ が上昇し、何らかのシグナル伝達機構を経て硬組織形成能促進効果を与えている可能性があるかと推察された。

BMP-2 誘導性骨形成にハイブリッド組み換え PP の抗炎症機能が及ぼす影響

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

Anti-inflammatory effect of hybrid recombinant Phosphophoryn affects BMP-2-induced bone formation.

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

²Department of Periodontics and Endodontics, Tohoku University Graduate School of Dentistry
○ Jun Nakanishi¹, Shigeki Suzuki², Kazuma Yoshida¹, Shizu Hirata-Tsuchiya¹, Akiko Sato², Satoru Yamada², Hideki Shiba¹

【目的】 Bone Morphogenetic Proteins(BMP) ファミリーに属する BMP-2 は強力な骨誘導能を有し、アメリカ合衆国では整形外科領域の骨再生療法において臨床応用されている。しかしながら、BMP-2 の投与部位には炎症反応が生じること、また投与量によっては過度な炎症反応が惹起され骨形成を阻害する等の解決すべき課題が多く、本邦では臨床応用には至っていない。我々は根尖性歯周炎等の歯性感染症により破壊・吸収された歯槽骨に適用する骨再生因子として、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り象牙質石灰化において重要な役割を担う Phosphophoryn(PP) に着目し、PP の組み換えタンパク質を作製し、PP の機能解析を行ってきた。先行研究により PP はセリン-セリン-アスパラギン酸の長い繰り返し配列 (serine/aspartic acid-rich repeats: SDrr) を有し、この特徴的な繰り返し配列が細胞外基質の石灰化に重要な役割を担うこと、LPS 誘導性炎症モデルにおいて抗炎症機能を有することを報告してきた。さらに PP のアミノ酸配列中の RGD 配列周囲のアミノ酸配列を、PP と同様に象牙質基質に含まれる、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) 型の配列に改変することでインテグリン依存的な細胞接着活性を獲得したハイブリッド組み換え PP を作製し、ハイブリッド組み換え PP が BMP-2 によるマウス背部異所性骨形成モデルにおいて骨形成促進することを報告してきた (日本歯科保存学会 2021 年度秋季学術大会)。そこで本研究ではハイブリッド組み換え PP の BMP-2 誘導性骨形成促進の増強メカニズムに、ハイブリッド PP の細胞接着活性のみならず抗炎症機能が関与していると仮説し、ハイブリッド組み換え PP の抗炎症機能、およびハイブリッド組み換え PP が TNF- α 刺激により抑制された BMP-2 刺激マウス骨芽細胞様細胞の骨分化マーカーの遺伝子発現に及ぼす影響を調べた。

【方法】 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 と同様に石灰化機能を保有し、タンパク質精製効率が高い SDrr を 63.5% 欠失させた PP- Δ 63.5-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- Δ 63.5-SDrr-DMP-1-RGD (ハイブリッド組み換え PP) 遺伝子ベクターを作製し、組み換えタンパク質を精製した。 2. ハイブリッド組み換え PP の抗炎症機能の検討: THP-1 細胞を 24 well プレートに播種、phorbol myristate acetate 30.8 ng/ml を加えて 24 時間培養を行いマクロファージ様細胞へ分化誘導した。分化したマクロファージ様細胞に 10ng/ml の LPS を添加し炎症モデルとした。LPS 刺激と同時にハイブリッド組み換え PP (1 μ M) を同時投与し、刺激 24 時間後に細胞から mRNA を回収し、TNF- α の遺伝子発現をリアルタイム PCR にて測定した。 3. ハイブリッド組み換え PP と LPS との結合量: ハイブリッド組み換え PP (0~100 pmol) を 96 well プレートに添加し 16 時間静置した後、1ng のビオチン化 LPS を各 well に添加し、well 上ハイブリッド組み換え PP とビオチン化 LPS との結合を streptavidin-HRP および TMB 溶液を用いた発色量で表した。 4. TNF- α 刺激により抑制された BMP-2 刺激マウス骨芽細胞様細胞の骨分化マーカーの遺伝子発現にハイブリッド組み換え PP が与える影響: マウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) を培養後、BMP-2(100ng/ml) 刺激と同時に TNF- α (10ng/ml) とハイブリッド組み換え PP (1 μ M) を投与し、刺激 24 時間後に細胞から mRNA を回収し、骨分化マーカーである Runx 2, Osterix の遺伝子発現をリアルタイム PCR にて測定した。

【結果】 精製した高純度のハイブリッド組み換え PP は LPS 刺激によって亢進したマクロファージ様細胞の TNF- α の遺伝子発現を抑制し、また TNF- α 刺激により抑制された BMP-2 刺激マウス骨芽細胞様細胞の骨分化マーカーの遺伝子発現を亢進した。使用したハイブリッド組み換え PP はビオチン化 LPS への結合能を有した。

【結論】 ハイブリッド組み換え PP は細胞接着活性や石灰化誘導能に加えて、抗炎症機能が BMP-2 の骨誘導能に関わる可能性が示唆された。

Rothia mucilaginosa の膜内ロンボイドプロテアーゼ活性の解析

大阪歯科大学 口腔治療学講座
○麻生 由樹, 松尾 望, 宮本 綾乃, 辻 則正, 前田 博史

Intermembrane rhomboid protease activity of *Rothia mucilaginosa*

Department of Endodontics, Osaka Dental University
○ Yuki Aso, Nozomi Matsuo, Ayano Miyamoto, Norimasa Tsuji, Hiroshi Maeda

[緒言]

Rothia 種は口腔内常在菌であり, 病原性の低い細菌と考えられてきた。しかし, 近年, 造血幹細胞移植患者をはじめとする易感染性宿主において, 重篤な感染症を引き起こすことが報告されている。*Rothia mucilaginosa* は感染根管から高頻度に検出されることも報告されているが, 病原因子については不明な点が多い。ロンボイドプロテアーゼは膜内セリンプロテアーゼであり, 広い範囲の生物種に分布するが, その役割は多様で生物種ごとに異なる。本研究では膜内プロテアーゼを病原因子の一つとして捉え, その役割を解明するための第一歩として, *R. mucilaginosa* の保有するロンボイドプロテアーゼを同定し, 酵素活性について解析した。

[材料および方法]

1. 供試菌: *Rothia mucilaginosa* DY-18
2. ロンボイド遺伝子発現量の解析: I型コラーゲン添加, あるいは非添加の TSB 培地で *R. mucilaginosa* を培養し, ロンボイド遺伝子発現の変化を調べた。遺伝子発現はリアルタイム RT-PCR 法によって定量解析した。
3. ロンボイド組み換えタンパク質の構築: *R. mucilaginosa* のゲノムデータベースから遺伝子情報を抽出し, ゲノム遺伝子を鋳型とした PCR 法でロンボイド遺伝子を増幅した。増幅した遺伝子断片は発現ベクター (pEU-E01) に組み込み, コムギ胚芽無細胞タンパク質合成システムによって組み換えタンパク質を構築・精製した。
4. プロテオリポソームの合成: ProteoLiposome PLUS Expression Kit (セルフリーサイエンス) を用いて, リポソーム中に組み換えタンパク質を組み込んだ。
5. プロテアーゼ活性: ロンボイド組み換えタンパク質, ならびにプロテオリポソームのセリンプロテアーゼ活性を Amplitude™ Universal Fluorimetric Protease Activity Assay Kit を使用して測定した。

[結果]

1. *R. mucilaginosa* のゲノムデータベースに 2 種類のロンボイド遺伝子を同定した。
2. 有意差はないが, 2 種類のロンボイド遺伝子の発現はコラーゲン添加によって上昇傾向を示した。
3. ロンボイド組み換えタンパク質, ならびにプロテオリポソームを構築・精製した。
4. ロンボイド組み換えタンパク質は単体ではプロテアーゼ活性を示さなかったが, プロテオリポソームとして合成した場合にはセリンプロテアーゼ活性を示した。2 種類のロンボイドプロテアーゼの酵素活性に差は認められなかった。

[結論および考察]

R. mucilaginosa が 2 種類のロンボイドプロテアーゼを保有していることが明らかとなった。プロテオリポソームの状態でのみセリンプロテアーゼ活性が認められたことから, 膜内での高次構造が酵素活性に大きく影響を与えるものと考えられる。膜上でセリンプロテアーゼ活性を示すコラーゲン応答性のロンボイド分子は本来の生物学的役割に加え, *R. mucilaginosa* の病原性に関与している可能性がある。

骨芽細胞の石灰化における TGF- β /MAPK シグナルの解析

¹ 神奈川歯科大学歯科保存学講座歯内療法学分野,
² 神奈川歯科大学総合歯学教育学講座教養教育学分野,
³ 神奈川歯科大学分子生物学講座口腔細菌学分野
○王 琹萱¹, 渡邊 清子², 浜田 信城³, 石井 信之¹

Analysis of TGF- β /MAPK signaling in osteoblast mineralization

¹Department of Endodontics, Kanagawa Dental University,

²Department of Liberal Arts Education, Kanagawa Dental University,

³Department of Oral Microbiology, Kanagawa Dental University

○ Ting Hsuan Wang¹, Kiyoko Watanabe², Nobushiro Hamada³, Nobuyuki Tani-Ishii¹

【目的】

Transforming growth factor beta (TGF- β) は骨芽細胞の分化や骨形成に重要な役割を担うサイトカインである。近年、TGF- β 刺激による骨芽細胞の増殖および間葉系幹細胞からの分化におけるシグナルは、古典的な Smad2/3 経路以外に MAPKs 経路を介して促進することが明らかにされている。しかし、骨芽細胞の分化の指標である石灰化過程における MAPKs の役割に関する報告は少ない。本研究の目的は、ヒト骨芽細胞様細胞 (MG63) の分化における TGF- β /MAPK シグナル伝達経路について解明することである。

【材料と方法】

ヒト骨芽細胞様細胞 (MG63) の培養は、10% の非働化したウシ胎児血清 (FBS) を添加した DMEM 培地を用いて行った。MG63 細胞の石灰化誘導は、石灰化誘導培地 (50 μ g/ml ascorbic acid, 10 mM glycerophosphate, 10 nM dexamethasone) を含む 5% FBS-DMEM 培地に 5 ng/mL 濃度の TGF- β 1 を添加して行った。MAPKs シグナル経路の解析は、P38 MAPK 選択的阻害剤 (SB203580), JNK 選択的阻害剤 (SP600125), MEK 選択的阻害剤 (U0126) を用いてそれぞれの経路を遮断することにより行った。

1. TGF- β 1 の MG63 に対する増殖活性

MG63 細胞は 10% FBS 含有 DMEM 培地を用いて 2.5 x 10⁴ cells/well となるように調整し、96 well plate に播種後、37°C 5%CO₂ 条件下で 2 時間培養した。培養終了後、0.05, 0.5, 5, 10 ng/mL (最終濃度) の TGF- β 1 を添加し、さらに 24 時間培養した。MG63 細胞の増殖活性は、MTS assay を用いて解析した。

2. 石灰化物形成能の判定

MG63 細胞は、24 well-plate を用いて石灰化誘導培地を添加した 5% FBS 含有 DMEM 培地で 10 日間培養した。すなわち、1.0 x 10⁵ cells/well で播種した MG63 細胞を 24 時間培養後、無刺激、5 ng/mL TGF- β 1 添加、石灰化誘導培地および 5 ng/mL TGF- β 1 + 石灰化誘導培地を用いて 10 日間刺激し、石灰化物形成は、アリザリンレッド染色を行い観察した。

また、TGF- β 1 により誘導される石灰化における MAPKs の関与に対して、それぞれの阻害剤 SB203580, SP600125, U0126 を添加することにより判定した。

3. 石灰化関連遺伝子発現

MG63 細胞は、TGF- β 1 および石灰化誘導培地を添加した 5% FBS 含有 DMEM 培地を用いて、6 well-plate 中で 3 日間および 7 日間培養した。培養終了後、ISOGEN を用いて total RNA を抽出し、I 型コラーゲン (COL I), アルカリフォスファターゼ (ALP), 骨シアロタンパク質 (BSP) の mRNA の発現を RT-PCR 法およびリアルタイム PCR 法にて検討した。また、それぞれの MAPK 阻害剤 SB203580, SP600125, U0126 処理による石灰化関連遺伝子の発現量の変化をリアルタイム PCR 法にて解析した。

【結果】

TGF- β 1 は MG63 細胞の増殖に影響を与えなかった。石灰化誘導培地に TGF- β 1 を添加することにより 10 日目のアリザリンレッド染色領域の増加が認められた。JNK 阻害剤処理により 10 日後の染色領域の減少が確認された。リアルタイム PCR 解析の結果、TGF- β 1 刺激 MG63 細胞では、3 日目、7 日目に COL I および ALP の mRNA の発現が顕著に増強された。一方、JNK 阻害剤である SP600125 および P38 阻害剤である SB203580 添加では COL I および ALP 遺伝子の発現が有意に抑制されたが、MEK 阻害剤は 7 日目の ALP 遺伝子の発現に影響を与えなかった。

【結論】

ヒト骨芽細胞の石灰化において、JNK および P38 MAPK 経路が TGF- β 1 シグナルと強く関連することが示唆された。

ヒト歯髄培養細胞における fractalkine の炎症と硬組織形成能への関与

¹ 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座, ² 日本大学口腔科学研究所
○古谷 夏子¹, 岡部 達^{1,2}, 神尾 直人^{1,2}, 葉山 朋美^{1,2}, 深井 譲滋^{1,2}, 渡邊 昂洋^{1,2}, 松島 潔^{1,2}

Involvement of fractalkine in inflammation and hard tissue formation in human dental pulp cultured cells

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

²Nihon University Research Institute of Oral Science

○Natsuko Furuya¹, Tatsu Okabe^{1,2}, Naoto Kamio^{1,2}, Tomomi Hayama^{1,2}, Joji Fukai^{1,2},
Takahiro Watanabe^{1,2}, Kiyoshi Matsushima^{1,2}

【目的】

演者らは第 155 回歯科保存学会にて、ケモカインの一種である fractalkine が炎症時のヒト歯髄培養細胞でも発現し、COX-2 タンパク質発現を促進することを報告し、fractalkine が炎症反応を惹起することを示した。血管平滑筋細胞では bone morphogenetic protein (BMP) -2 をはじめとする骨形成マーカーの発現を促進するとの報告もある。歯髄炎の際に歯髄組織においても fractalkine が産生され、歯髄の炎症促進だけでなく、硬組織形成にも関与している可能性があるが、このような研究報告はされていない。そこで本研究はヒト歯髄における炎症時の fractalkine の働きを解明する一助として、fractalkine の炎症と硬組織形成能の関与について検討を行った。

【方法】

日本大学松戸歯学部付属病院に来院し、矯正学的理由で抜去された第一小臼歯から無菌的に抽出した歯髄組織を 10% 牛胎児血清を含む 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ものをヒト歯髄培養細胞として用いた。ヒト歯髄培養細胞における fractalkine, COX-2, BMP-2 の mRNA 発現量を real-time PCR 法にて観察した。タンパク質発現は Western Blot 法, 免疫蛍光細胞染色法, 免疫組織化学染色法にて観察し、石灰化評価はアリザリンレッド染色を行った。

【結果】

1. IL-1 β 作用時の fractalkine 遺伝子, タンパク質発現量の変化
Real-time PCR 法において、ヒト歯髄培養細胞に IL-1 β (0.01, 0.1, 1.0 ng/ml) を 3 時間作用させると 0.1 ng/ml で最大に達した。また、0.1 ng/ml IL-1 β 添加後、3 時間で最大に達した。
Western blot 法において、0.1 ng/ml IL-1 β を 1, 3, 6, 12 時間作用させると、fractalkine タンパク質発現量は 12 時間で最大に達した。
2. IL-1 β 作用時の fractalkine 免疫蛍光細胞染色
免疫蛍光細胞染色において、ヒト歯髄培養細胞に 0.1 ng/ml IL-1 β を 12 時間作用させると、コントロールと比較して fractalkine 発現の増強が認められた。
3. ヒト炎症歯髄組織における免疫組織化学染色と免疫蛍光細胞染色による CX3CR1 の局在
急性歯髄炎様症状を呈する歯の切片に対し、抗 CX3CR1 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。本切片内で炎症性細胞の浸潤を認め、炎症が惹起されている領域では抗 CX3CR1 抗体陽性細胞が複数検出されたが、正常歯髄を呈する領域では検出されなかった。
免疫蛍光細胞染色において、ヒト歯髄培養細胞に 0.1 ng/ml IL-1 β を 24 時間で作用させると、コントロールと比較し CX3CR1 の発現の増強が認められた。
4. fractalkine 作用時の COX-2 タンパク質発現量の変化
Western Blot 法においてヒト歯髄培養細胞に fractalkine (0.1, 1, 5, 10 nM) を 24 時間作用させると COX-2 タンパク質発現量は 5 nM で最大となり、5 nM fractalkine を作用させると、COX-2 タンパク質発現量は作用 12 時間で最大に達した。
5. fractalkine による BMP-2 遺伝子発現量の変化
Real-time PCR 法において、ヒト歯髄培養細胞に 1 nM fractalkine を 1, 3, 6, 12 時間作用させると、BMP-2 遺伝子発現量は作用 3 時間で最大となった。
6. fractalkine による歯髄培養細胞の石灰化への影響
アリザリンレッド染色において、fractalkine 添加から 14 日及び 17 日はコントロール群と比較して 1 nM, 5 nM で染色性の増大を認めた。石灰化物定量において、17 日目はコントロール群と比較し 1 nM に有意差を認めた。

【考察】

fractalkine と CX3CR1 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たことから、炎症時の歯髄組織において関与していることが示唆された。fractalkine は高濃度 (5 nM, 10 nM) の場合 COX-2 の発現が促進する一方で、低濃度 (1 nM) の場合は弱い COX-2 の発現が見られるとともに BMP-2 遺伝子発現量、硬組織形成が増加した。産生される PGE₂ 量を適正にコントロールすることで、歯髄における硬組織形成が促進し修復象牙質の形成にかかわることを示唆する報告もあることから、同様に fractalkine 量を適切にコントロールすることが修復象牙質の形成促進に関与する可能性がある。

歯根膜の5型コラーゲンが細胞外基質および幹細胞分化に与える影響

新潟大学 医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野
○井田 貴子, 竹中 彰治, 枝並 直樹, 野杵 由一郎

Effects of type 5 collagen on extracellular matrix and osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells.

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○ Takako Ida, Shoji Takenaka, Naoki Edanami, Yuichiro Noiri

【目的】

歯根膜組織の維持・再生において組織幹細胞が重要な役割を果たすが、その分化機構については、未だ不明である。幹細胞の分化には細胞外基質自身が活性物質として機能するだけでなく、その特性が細胞外微小環境として影響を及ぼすことが多くの正常組織や病態において示唆されている。線維型マイナーコラーゲンの一種である5型コラーゲンは、コラーゲンの豊富な結合組織において線維の組織化に寄与することが知られている。5型コラーゲンは、歯根膜組織においても豊富に存在することから、線維の組織化を介して、歯根膜の組織幹細胞の維持と分化に影響を及ぼしている可能性が高い。本研究では、細胞外微小環境を制御する因子としての5型コラーゲンが細胞外基質および幹細胞分化に及ぼす影響を解析した。

【材料および方法】

4週齢雄性Wistarラットの上下顎臼歯を抜歯して得た歯根膜細胞に対して、siRNAによるCOL5A1ノックダウンを行った後、線維形成における細胞外基質関連因子について細胞増殖能、遺伝子発現解析、タンパク質発現解析、Picrosirius red染色を行った。また、同様にして得たCOL5A1ノックダウン歯根膜細胞を石灰化誘導培地中で培養を行い、遺伝子発現解析、タンパク質発現解析、ALP染色、miRNAアレイ解析を行った。なお、本研究は新潟大学動物倫理委員会の承認を得て行った(承認番号SA00725)。

【結果と考察】

線維形成過程では、COL5A1ノックダウンによりコラーゲン産生遺伝子(COL1A2, COL3A1, LOX)および骨芽細胞分化関連遺伝子(SP7, BMP2)の遺伝子発現およびタンパク質発現は低下した。また、Picrosirius red染色では、COL5A1ノックダウンによってコラーゲンおよび非コラーゲン産生量の低下が認められた。さらに、COL5A1遺伝子をノックダウンした歯根膜細胞に石灰化誘導を行ったところ、線維形成時と同様にSP7, BMP2の遺伝子発現およびタンパク質発現低下を認めたのに対し、ALPL, SPP1の発現は上昇した。ALP染色では、COL5A1ノックダウンによってALP活性は上昇した。コラーゲン産生関連遺伝子については、COL3A1およびSPARCの遺伝子発現およびタンパク質発現の上昇を認めた。miRNAアレイ解析では、COL5A1ノックダウンによってmiR-548nの発現上昇を認め、miR-6754-5pの発現低下を認めた。オンラインデータベースTargetScanを用いて予測標的遺伝子を抽出したところ、miR-548nではSP7, BMP2, SPP1が、miR-6754-5pではSPP1が含まれていた。

本研究の結果より、COL5A1は歯根膜の線維形成および石灰化過程において、SP7, BMP2を制御することが示された。また、石灰化過程ではmiR-548nおよびmiR-6754-5pを介してSP7, BMP2, SPP1の発現が制御されている可能性が示された。

【結論】

5型コラーゲンは、歯根膜の線維形成および石灰化過程においてSP7, BMP2の制御に関与し、特に石灰化過程においてはmiR-548n, miR-6754-5pの制御を介して、その恒常性維持に寄与する可能性が示された。

本研究に関して、開示すべき利益相反関係にある企業などはない。

ラット歯髄培養細胞における象牙質形成における Wnt10a と Ectodin の相互作用について

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野

○中込 恵, 加藤 邑佳, 横瀬 敏志

Interaction of Wnt10a and Ectodin on Dentinogenesis in cultured dental pulp cells of rats

Department of Restorative and Biomaterials Sciences,

Division of Endodontics and Operative Dentistry,

Meikai University School of Dentistry

○NAKAGOMI Megumi, KATO Yuka, YOKOSE Satoshi

目的:我々はこれまでに、ラット歯髄培養細胞において Wnt シグナルカノニカル経路を介して象牙質形成が調節されることを報告してきた。特にリガンドとなる Wnt10a とそのアンタゴニストである Ectodin が象牙質形成に重要であることをすでに報告してきた。Wnt シグナルのオンとオフを司る Wnt10a と Ectodin の関係が象牙質形成に対してどのように作用しているかは不明である。そこで Wnt シグナルカノニカル経路を介した象牙質形成における Wnt10a と Ectodin の関係を解明するため、Crisper/Cas9 を用いて Wnt10a Knockout(WKO) と Ectodin Knockout(EKO) をしたラット歯髄培養細胞を作成し、そこにリガンドである Wnt10a を添加し、象牙質形成においてどのような影響を及ぼすかについて検討した。

材料と方法: 8 週齢、雌 SD ラット下顎骨切歯より、Yokose らの方法に従って、歯髄組織を摘出し、酵素処理法にて歯髄細胞を分離後、歯髄細胞を 21 日間培養した。培地は、10% 仔牛の血清、 β グリセロリン酸、アスコルビン酸を含む α MEM を使用し、2 日毎にメディアムチェンジを行った。また、培養 1 日目において Crisper/Cas9 を用いて Wnt10a, Ectodin をそれぞれ KO した実験群 (WKO 群, EKO 群) と、ランダム遺伝子配列を用いた対照群 (Cont 群) を作製した。さらにこれらの細胞に Wnt10a(50ng/ml) を添加した実験群 (Cont-10a 群, WKO-10a 群, EKO-10a 群) を作成して比較検討した。培養 21 日後にアルカリフォスファターゼ染色と von Kossa 染色の二重染色をして石灰化結節形成を形態学的に観察した。また、各群の培養細胞からトータル RNA を抽出して cDNA を作成し、Real Time PCR を行い、Wnt10a, Ectodin, DSPP, BGP の遺伝子発現をそれぞれ検索した。なお、すべての実験は、明海大学実験動物倫理委員会 (A1925) の承認を得て行った。

結果: WKO 群の Wnt10a mRNA 発現量は、Cont 群に比較して有意に抑制された。また、EKO 群の Ectodin mRNA 発現量は、Cont 群に比較して有意に抑制されており、Knockout 効果が確認できた。培養 21 日目のアルカリフォスファターゼ染色及び von Kossa 染色の二重染色において、WKO 群, EKO 群は共に石灰化結節の形成が有意に減少した。さらに両群の Wnt10a と Ectodin の mRNA 発現が同時に有意に減少していた。Cont 群, WKO 群, 及び EKO 群に Wnt10a を添加した群では EKO-10a 群のみ石灰化結節が有意に増加し、他の群では影響がみられなかった。遺伝子発現においても EKO-10a 群の DSPP と BGP の遺伝子発現が非添加群に比較して有意に増加した。

考察: Cont 群に比較して WKO 群及び EKO 群で Wnt10a と Ectodin の遺伝子発現が共に減少したことから、リガンドである Wnt10a とアンタゴニストである Ectodin はその発現が互いに連動しており相互作用を持ちフィードバック機構を有していることが示唆された。さらに Ectodin Knockout によってその相互作用が働かなくなり、Wnt シグナルが亢進され、EKO-10a 群の石灰化結節が亢進したものと考えられる。これらの結果より、ラット歯髄細胞の象牙質形成には Wnt10a と Ectodin が関与し、両者の間には相互作用が存在し、Dentinogenesis を制御していることが示唆された。

結論: Crisper/Cas9 を用いて Wnt10a KO ラット歯髄培養細胞モデルおよび Ectodin KO ラット歯髄培養細胞モデルの製作に成功した。さらに、ラット培養歯髄細胞において Wnt シグナル経路に存在する Wnt10a 及び Ectodin の相互作用を介して象牙質形成が調節されていることが示唆された。

多数歯における歯頸部外部吸収を生じた 1 症例

¹ 朝日大学歯学部口腔病態医療学講座口腔病理学分野,
² 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯内療法学,
³ 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学
○宮本 侑果^{1,2}, 木方 一貴², 村瀬 由起³, 長谷川 智哉², 田中 雅士², 堺 ちなみ², 赤堀 裕樹²,
横川 大輔², 二階堂 徹³, 河野 哲², 永山 元彦¹

Multiple Idiopathic Cervical Root Resorption : A case report.

¹Department of Oral Pathology, Division of Oral Pathogenesis and Disease Control,
Asahi University School of Dentistry,

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

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

○ Yuka Miyamoto^{1,2}, Kazuki Kiho², Yuki Murase³, Tomoya Hasegawa², Masashi Tanaka²,
Chinami Sakai², Hiroki Akahori², Daisuke Yokokawa², Toru Nikaido³, Satoshi Kawano²,
Motohiko Nagayama¹

【緒言】

歯頸部 CEJ から始まる外部吸収として Invasive Cervical Resorption (侵襲性歯頸部吸収) が知られており, 矯正治療や外傷の既往, ウォーキングブリーチ, 外科処置やブラキシズムなどの関連が疑われている. 一方, 永久歯の萌出, 腫瘍, 辺縁および根尖歯周組織における炎症, 骨パジェット病など一般的な歯根吸収の原因が該当しない CEJ での歯質の吸収は Idiopathic Cervical Root Resorption (特発性歯頸部吸収) と呼ばれており, 稀に複数歯に生じる場合を Multiple Idiopathic Cervical Root Resorption (多発性特発性歯根吸収症, 以下 MICRR) と呼ぶ. MICRR は 1930 年に初めて報告されたが現在でも稀な疾患で, 全身疾患や薬剤による影響, ホルモンとの関連などが疑われているものの, 現在も原因は不明である.

今回, 我々は MICRR を疑う患者を経験したため, 歯質吸収部の病態像を含めて報告する.

【症例】

患者は 59 歳, 女性. #22 の動揺を主訴に近医を受診. エックス線にて多数歯の歯頸部に透過像を認めたため, 朝日大学医科歯科医療センターに紹介来院. 全身性エリテマトーデス, 関節リウマチ, 骨粗鬆症, 急性心筋梗塞, 高コレステロール血症, 緑内障の既往歴があり, プレドニン, バイアスピリン, ボナロン等を服薬している. 顎顔面領域への外傷の既往はない. #22 に動揺を認めるが, 視診ではその他う蝕等は認めなかった. 初診時エックス線検査では #27 を除く多数歯 (27 歯) の歯頸部に透過像を認め, #22 は歯頸部にて水平破折して歯冠と歯根が離断していた. 白歯部隣接面には 4~5mm の歯周ポケットを認めるが, #22 以外の前歯部では 3mm 以内, #22 は歯冠水平破折により計測不可であった. 歯肉溝内を探針にて触診するも, 歯質の実質欠損は触知できなかった. 患者には多数歯に歯根吸収を認めること, および #22 が保存できない旨を説明し, 対診およびボナロンの休薬後, 抜歯を行った. 抜去歯は 10% 中性ホルマリン固定後, 20%EDTA で中性脱灰を行い, 通法に従い 4 μm 厚のパラフィン切片を作製した. (朝日大学倫理委員会承認番号: 31041)

HE 染色では, 歯頸部の一部で象牙質に至る歯根吸収を認めた. 象牙質表面には波状の Howship 窩や多核破歯細胞の出現を認め, 吸収された象牙質からセメント質様組織で置換されている部位を認めた. Tartrate-Resistant Acid Phosphatase (以下 TRAP 染色) では, 形成されたセメント質様組織は有細胞性で, 表面には TRAP 陽性破歯細胞の付着を認めた. また, 硬組織内部に肉芽組織を巻き込んでおり, リンパ球や形質細胞等の軽度の慢性炎症性細胞浸潤を認めた. 歯根表面に付着していた歯根膜は細胞成分が多く歯根膜線維の走行が不明瞭で, 多数の TRAP 陽性の多核あるいは単核の破歯細胞を認めたが, 歯根セメント質表面に直接付着していなかった.

【結論】

本症例では MICRR と思われる多数歯におよぶ歯根吸収を認めた. #22 は保存困難であったことから抜歯となったが, 患歯には多くの破歯細胞を認めたことから, 局所的原因による歯質の吸収ではなく, 全身的要因により歯質の吸収が開始している可能性が示唆された.

継続的な痛みを有する上顎右側第2大臼歯に対し意図的再植術が奏効した1症例

松本歯科大学歯内療法学分野
○三好 弥恵, 岩崎 拓也, 森川 雅己, 増田 宜子

A Case of Successful Intentional Reimplantation of a Right Maxillary Second Molar with Persistent Pain

Department of Endodontics, Matsumoto Dental University
○Yae Miyoshi, Takuya Iwasaki, Masaki Morikawa, Yoshiko Masuda

【緒言】

意図的再植術は、歯根尖切除術を行っても問題を解決できない症例における最終手段である。近年マイクロスコープとCBCTの発展・普及により外科的歯内療法を用いた難治性根尖性歯周炎の治癒率・成功率は格段に向上している。

今回我々は根管治療だけでは打診痛の消退が得られない上顎右側第2大臼歯に対してマイクロスコープを用いて意図的再植術を行い良好な治癒経過を得られたので報告する。

【症例】

患者：69歳 男性

患歯：上顎右側第2大臼歯

主訴：歯科ドックで右上奥歯の根の先に病巣があると指摘された。確かに嘔むと痛いから治療して欲しい。

現症：自発痛－ 打診痛＋ 咬合痛＋ 根尖部圧痛＋ 瘻孔－ 動揺＋ PD 8.0mm(遠心隅角)

デンタル所見：根尖部に円形透過像を認めた。

【治療経過】

1回目：2022年2月16日より治療を開始した。FMC除去した後症状の消退を認めた。

2回目：3月18日よりマイクロスコープ下で根管治療開始した。根管内をマイクロスコープ下で確認したところ1根管口1根管の根管形態と思われた。

3回目：4月15日に2回目の根管治療を行った。根尖部のデンタル透過像に比べて打診に対し強い反応を示すこと、根管が大きく拡大されて根尖孔が80号以上あること、根管形態が複雑であることからCBCT撮影を行った。CBCT撮影所見→頬側遠心歯槽頂から根尖部にかけて骨吸収像を認める。Vertucciの分類Type1の根管形態を認める。

4回目：6月6日来院。症状の消退を認めたためBio-Cシーラー(YOSHIDA)にて根管充填を行った。

5回目：6月17日に来院した際、咬合痛の再発を認めた。患歯の遠心隅角に5.0mmの歯周ポケットを認めた。通法の根管治療では治癒が得られないと判断し患者了承のもと意図的再植術を行うこととした。

6回目：6月22日に意図的再植術を行った。患歯抜去後マイクロスコープ下で根尖部約3.0mm切断しBioMTAセメント(モリタ)にて逆根管窩洞充填を行った。(松本歯科大学倫理委員会承認番号：第0300号)再植後患歯固定のため1糸縫合を行った。

7回目：翌6月23日に患歯周囲の消毒を行った。この時は術後の炎症症状による患歯周囲の疼痛と咬合痛を認めた。

8回目：7月22日抜糸のため来院。前回の訴えにあった患歯周囲の疼痛および咬合痛は消退していた。また、根管充填後も続いていた打診痛の消退を認めた。術後1カ月の経過観察デンタルX線写真を行い根尖部に不透過性の亢進を認めた。ベース仮封除去しレジン築造を行った。

9回目：8月9日来院しCBCTにて再度確認を行った。

CBCT撮影所見→前回撮影時と比較して根尖部に不透過性の亢進を認めた。

【結果】意図的再植術を行ったことにより感染根管治療だけでは得られなかった打診痛の消退と骨梁形成を得られた。

【考察】本症例の特徴であった継続的な痛みは、根管が80号以上という長期にわたってアピカルシートが破壊された状態が続いていたことが原因と考えられる。これにより慢性炎症が根周囲歯槽骨に波及し根尖部歯槽骨まで骨吸収が生じたと推測される。

【結論】今回患歯全体を明視下にて確認し病変部を処置することで打診痛の消退を得られ根尖周囲組織の回復を促進できた。このことから、通法の根管治療で治癒が得られなかった場合、マイクロスコープを用いた外科的歯内療法を選択することにより治癒の促進が得られることが示唆された。

意図的再植の予後判定には3年以上必要といわれていることから、今後さらに長期経過観察を行う必要がある。