

ラット上顎臼歯に低濃度ユージノールシーラーを根管充填した際の 根尖歯周組織への影響

¹日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座, ²日本歯科大学生命歯学部歯周学講座, ³日本歯科大学
○西田太郎¹, 前田宗宏¹, 倉治竜太郎², 橋本修一³, 沼部幸博², 五十嵐 勝¹

Effect of a low concentration of eugenol sealer filled into rat maxillary molar on the apical periodontal tissue

¹ Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo, ² Department of
Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo, ³ The Nippon Dental University
○NISHIDA Taro¹, MAEDA Munehiro¹, KURAJI Ryutarou², HASHIMOTO Shuichi³, NUMABE Yukihiko²
and IGARASHI Masaru¹

【緒言】

緊密な根管充填は根管治療の成功に欠かすことができない要素であり、酸化亜鉛ユージノール系のシーラーが使用されている。従来型の酸化亜鉛ユージノールシーラーは炎症を惹起するとの報告もあり、酸化亜鉛ユージノールシーラーの液成分であるユージノール量を低減し、代わりに脂肪酸などを加えた根管充填用の新規シーラーを開発した。本研究の目的はラット上顎第一臼歯に新規シーラーを根管充填した際に生じる根尖部の状態を評価することである。

【材料と方法】

1. 新規シーラーの組成：粉体 1.00 g (酸化亜鉛 0.40 g, ロジン 0.40 g, 硫酸バリウム 0.20 g) と液体 1.00 ml (オレイン酸 0.75 ml, イソステアリン酸 0.10 ml, ユージノール 0.15 ml) を粉液比 2:1 で練和し、根管充填に使用した。
2. ラット感染根管治療モデルの作製：日本歯科大学生命歯学部動物実験委員会の承認 (承認番号：20-18) を得た。実験には7週齢のWistar系ラット・雄 (約 230 g) を用いた。三種混合麻酔薬により腹腔内麻酔を行い、すべての根管処置は専用クランプを用いたラバーダム防湿下で行った。上顎左側第一臼歯 (M1) の髓室開拓を行い、近心根管を確認後、15~25番のKファイルを用いて抜髄処置を行った。抜髄した近心根管は開放状態とし、他の根管はコンポジットレジンで充填し封鎖した。抜髄処置後は粉末試料で飼育した。
3. 根管処置：根管の開放状態から7日経過後、15番のKファイルで穿通を確認し40番まで拡大形成を行った。新規シーラーを用いガッタパーチャポイントで根管充填を行い、根管口部で焼き切り、コンポジットレジンにて封鎖した (LEF 2wk)。新規シーラーの粉体 2.00 g に対しユージノールを除いた脂肪酸 1.00 ml (オレイン酸 0.90 ml, イソステアリン酸 0.10 ml) を加えた酸化亜鉛脂肪酸混和シーラーで、同様に根管充填を行った (NEF 2wk)。一方、40番まで根管形成後、根管充填を行わずコンポジットレジンで髓腔を封鎖した (ST 2wk)。右側上顎骨を未処置コントロールとした (NR 2wk)。それぞれの試料は、さらに14日経過後に、ペントバルビタールを用い安楽死実施後にM1を含む上顎骨を摘出し、4%パラホルムアルデヒド・りん酸緩衝液 (富士フィルム和光純薬) で24時間浸漬・固定した。
4. マイクロCTと骨塩量計測：マイクロCT (Scan-Xmate-D100SS270, Comscantecno) で管電圧 80kV, 管電流 200μA, 解像度 24.1μm/voxel で試料とBMD解析用ファントムのマイクロCT撮影を行った。三次元画像処理ソフト (TRI/3D-BON, Ratoc System Engineering) を用いて、三次元画像を再構築した。ファントム撮影画像から検量線を作製し、各試料のマイクロCT画像をBMD画像に変換した。M1および周囲歯周組織を関心領域とし、M1の歯根周囲13voxelsから歯根膜を除いた根尖周囲硬組織を測定範囲とし、骨塩量 (mg/cm³, vBMD) と骨密度 (% , BV/TV) を算出した。
5. 組織観察

試料を10%EDTA・2Na液で脱灰後、パラフィンブロックを作製し、薄切切片にHematoxylin-Eosin染色後、光学顕微鏡で観察した。

【結果とまとめ】

1. マイクロCTで得られた画像の観察からST 2wk群では根尖部にエックス線透過像が認められた。2. vBMDとBV/TVはST 2wk群と比較しLEF 2wk群で上昇する傾向がみられた。3. 組織観察ではSTR 2wk群において根尖歯周組織に炎症性細胞が認められた。
- 本実験条件では、M1近心根管の根管治療後に根管充填を行うことで、根尖周囲での硬組織の改善がみられた。今後詳細な検討を行う予定である。

改良型シアノアクリレート系接着材の象牙質接着性

1) 東京歯科大学 歯内療法学講座 2) 東京歯科大学 保存修復学講座
○鈴木 穂¹⁾, 半場秀典²⁾, 原田(中里)晴香¹⁾, 古澤成博¹⁾

Adhesion of Modified Cyanoacrylate Adhesives to Dentin

¹⁾Department of Endodontics, Tokyo Dental College

²⁾Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology, Tokyo Dental College

○SUZUKI Megumi, HAMBА Hidenori, HARADA(NAKAZATO)Haruka, FURUSAWA Masahiro

【目的】

近年日本では超高齢化社会に突入し、高齢者への歯科医療提供が増加している。要介護者に対し行われる訪問歯科診療では、口腔機能の維持・管理を目的とし、修復物脱離時の再合着や歯の暫間固定を行う場合が多い。また、訪問歯科診療は診療室のような設備や歯科材料が整わない環境、かつ、患者の口腔内清掃状態が悪い場合が多く、用いられるセメントは少ない手順で迅速に硬化、接着する必要がある。ところで、シアノアクリレート系セメントは生体親和性が高く硬化時間が短いことから、穿孔部封鎖や歯根尖切除術における逆根管充填材として、かつて臨床医に応用されてきた。そこで今回我々は、訪問歯科診療で想定される状況において、効率的かつ必要十分な接着力を有する新たなセメントを開発するため、以前当講座で開発したシアノアクリレート系セメントにフルオロアルミノシリケートガラスを加えた改良型シアノアクリレート系接着材を試作し、その接着強さについて既存のセメントと比較・検討を行った結果を報告する。

【材料および方法】

牛歯前歯を高速精密切断機での歯冠部と歯根部に切断分割し、エポキシ樹脂に包埋した。樹脂硬化後、歯冠部象牙質が露出するまで、耐水研磨紙で#600 まで研削を行い、接着試験用試料とした。露出させた象牙質表面を人工脱灰液で脱灰させた脱灰条件と脱灰していない非脱灰条件を設定した。接着材には、改良型シアノアクリレート系接着材 S6 (日本歯科薬品) (以下 CA)、フジII (ジーシー) 以下 GIC)、スーパーボンド (サンメディカル) (以下 SB) を用いた。各接着材の前処理について、CA は前処理なし、GIC はデンチンコンディショナー (ジーシー)、SB は表面処理材グリーンをそれぞれ用いた。象牙質に接着させる材料は、あらかじめモールド内で重合させた直径 4 mm の植立用レジン (日本歯科薬品) と、同等の直径と高さを有する植立用ガラスアイオノマーセメント (日本歯科薬品) を用いた。

接着操作は、試料の象牙質上に内径 4 mm の穴のあいた両面テープを貼付し、接着面積を規定して行った。植立用レジンを植立用ガラスアイオノマーセメントを用い、各植立用材料は、フォースゲージを用いて 20N、20 秒 の圧接、接着を行い、試験体を作製した。接着後、試料は恒温機内で室温 37℃、湿度 97% の条件下で 24 時間保存した。接着試料のせん断接着試験は、万能試験機を用いて行った。なお、クロスヘッドスピードは 1 mm/min とした。

【結果および考察】

脱灰条件の CA 群の接着強さは非脱灰条件と比較して有意に増加した。CA 群の脱灰条件は、SB 群の非脱灰条件と同等の接着強さを示した。また、非脱灰条件においては、SB、CA、GIC の順に高い接着強さを示し、脱灰条件においては、CA 群が最も高い接着強さを示した。

今回の結果、脱灰歯面における CA の接着強さは、SB と同等の接着力を示した。すなわち、実際の臨床では歯面に初期脱灰や齶蝕が残存している場合にも、接着力を発揮することが期待される。また、SB は使用前に歯面のエッチング処理が必要であるが、CA は前処理を必要としないため、SB よりも迅速な処置が可能になると考えられる。以上のことから、改良型シアノアクリレート系接着材はその接着強さと操作性により、訪問歯科治療で求められる状況下でも新たな接着材料として効果的に用いることができるものと考えられた。

抗菌的光線力学療法 (aPDT) がラット歯髄へ及ぼす影響

¹ 日本歯科大学大学院新潟生命歯学部歯学研究科 硬組織機能治療学

² 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座

○高橋 天佑¹, 佐藤 史明², 新海 航一^{1,2}

Effects of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) on rat dental pulp

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

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

○Tenyu Takahashi¹, Fumiaki Sato², Koichi Shinkai^{1,2}

【緒言】

抗菌的光線力学療法 (aPDT) を応用し、深部齶蝕象牙質を残置させたままコンポジットレジン修復を実施できる新規齶蝕治療法を開発するために、当講座では波長の異なる半導体レーザーと各種光感受性色素液を組み合わせた aPDT の感染象牙質に対する殺菌効果を評価してきた。しかしながら、半導体レーザーから照射されるレーザー光は組織透過型であり、また、aPDT で発生する一重項酸素は細胞壁を破壊するため、近接する歯髄組織にも何らかの傷害を与えることが危惧される。本研究の目的はラット歯を用いて aPDT の歯髄刺激性を評価することである。今回は光感受性色素の違いによる影響を検討した。

【材料及び方法】

ラットに腹腔内麻酔を施した上で、ダイヤモンドポイント (MI-F06RL、松風) を用いて、ラットの両側上顎第一臼歯近心咬頭部に窩洞形成 (深さ約 0.6mm、直径 1.0mm) を行った。650nm レーザーとメチレンブルーとの組み合わせ (650-MB)、あるいは 650nm レーザーとブリリアントブルーの組み合わせ (650-BB) による aPDT を左右どちらかの窩洞に応用した。なお、レーザー照射は P2 Dental Laser System (Pioon Laser Technology) を用いて 100mW の出力で 60 秒間行った。その後、アスコルビン酸を窩洞に応用し残留酸素を除去した後、セルフエッチシステム (BeautiBond Xtreme、松風) とフロアブルレジン (Beautifil Flow Plus X F00、松風) を用いて修復した。なお、aPDT を応用しないものをコントロールとし、同様の材料で修復した (コントロール: n=8、MB と BB: n=4~5)。術後 1 日後と 14 日後にラットを屠殺し、通法に従って作製した薄切切片を H-E 染色し光学顕微鏡下で観察した。評価項目は歯髄組織の形態変化 (PTD)、炎症性細胞浸潤 (ICI)、および第三象牙質の形成 (TDF) とした。評価基準は PTD と ICI では「変化なし」、「軽度」、「中等度」および「重度」の 4 段階に、TDF では「変化なし」、「軽度」、「中等度」および「高度」の 4 段階に設定し、各試料の歯髄刺激性を評価した。

【結果と考察】

術後 1 日後の評価では、コントロールは全項目ですべて「変化なし」であったが、650-MB と 650-BB はともに PTD がすべて「軽度」、ICI が「変化なし」1 試料と「軽度」4 試料、TDF がすべて「変化なし」であった。14 日後の評価では、コントロールの PTD と ICI がすべて「変化なし」、TDF が「変化なし」1 試料と「軽度」3 試料、「中等度」3 試料、「重度」1 試料であったが、650-MB は PTD と ICI がすべて「変化なし」、TDF が「中等度」4 試料と「重度」1 試料、650-BB は PTD が「変化なし」3 試料、「軽度」1 試料、ICI がすべて「変化なし」、TDF が「中等度」2 試料、「重度」2 試料であった。650-MB と 650-BB の間にはすべての項目においてほとんど差を認めなかった。

本研究の結果において 650-MB と 650-BB は、術後 1 日後ではすべての試料で象牙芽細胞層の変化を認めたが、術後 14 日後では象牙芽細胞層の変化は認められず第三象牙質の形成を顕著に認めた。この結果は、aPDT によって一時的に歯髄組織の障害が生じるが、時間経過で治癒する可能性を示唆していると思われる。

【結論】

aPDT の歯髄刺激性に関して光感受性色素の違いによる影響は認められなかった。

下顎大白歯遠心根に水平性歯根破折を認めた感染根管治療症例

神奈川歯科大学 歯科保存学講座 歯内療法学分野
○糸永和広、村野浩気、室町幸一郎、石井信之

Horizontal root fracture in the distal root of a mandibular molar: A clinical case report

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University
○ITONAGA Kazuhiro, MURANO Hiroki, MUROMACHI Koichiro, TANI-ISHII Nobuyuki

【緒言】

水平性歯根破折は主に外傷を原因として上顎前歯部に好発することが報告されている。非外傷性の水平性歯根破折は稀であるが、上顎大白歯口蓋根に発症する事が報告されている¹⁾。今回、非外傷性の下顎左側第一大臼歯遠心根の根尖部に発症した水平性の歯根破折症例に感染根管治療を行い、良好な経過が得られたので報告する。

【症例】

患 者：35歳男性

部 位：下顎左側第一大臼歯

主 訴：根管治療後の持続疼痛

現病歴：2021年12月に近位歯科医院にて抜髄治療を受診した。根管充填後も疼痛が改善しないため顎炎を疑い、2022年1月に神奈川歯科大学口腔外科へ紹介来院。同日に同病院マイクロスコープ診療科へ転科。

既往歴、家族歴：特記事項なし。

現 症：下顎左側第一大臼歯に強い垂直性打診痛と軽度の水平性打診痛を認めた。根尖部歯肉圧痛はなく、動揺を認めなかった。当該歯の歯肉に瘻孔、腫脹、発赤は認めず、プロービングポケットデプスは全周3mm以下であった。

口内法X線写真および歯科用コーンビームCT像において遠心根根尖部での水平性歯根破折と歯根周囲のびまん性透過像を認めた。

診 断：慢性化膿性根尖性歯周炎、水平性歯根破折（遠心根）

【治癒経過】

浸潤麻酔下で下顎左側第一大臼歯にラバーダム防湿を行い、マイクロスコープ下で感染根管治療を行った。

遠心根は根尖部で破折しているため、根管長測定器を用いてファイルの根尖部到達から1mm引いた長さを作業長とした。4回目の感染根管治療まで経過が良好であったため側方加圧充填を行い、根尖から0.5mmに達する良好な根管充填所見を確認した。根管充填後、6ヶ月間のテンポラリークラウン装着による経過観察を経て臨床症状がないことを確認しCAD/CAM冠による最終補綴を行った。

【予後】

術後1年経過し、咬合痛や歯肉腫脹はなく経過良好である。X線検査で根尖周囲の透過像改善と歯根膜腔の回復を認め、遠心根の水平性歯根破折部位は周囲骨と同程度に不透過性が改善している良好な術後X線所見を得た。

【考察】

患者はオーバージェットが9mmで上顎前歯から小臼歯にかけて唇側傾斜している。そのため、咬合時に臼歯部に過度の咬合負担が予想される。また、唇側傾斜により右側変位時に犬歯誘導が得られず、接触していた下顎左側第一大臼歯の遠心面と上顎左側第一・第二大臼歯の舌側咬頭による慢性的な応力負担により遠心根根尖部で水平性歯根破折が生じた可能性が推察された。大白歯に生じた水平性歯根破折の長期予後報告²⁾はあるものの症例数が少ないため、引き続き長期経過観察の必要があると考えられた。

【引用文献】

1, Tsai *et al.*, *Int Endod J.* 2017 Sep;50(9):830-835.

2, Borelli and Alibrandi, *J Endod.* 1999 Feb;25(2):136-9.

口腔内病原性細菌に対する過酢酸系除菌剤の有効性評価

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

²九州歯科大学健康増進学講座感染分子生物学分野

○高見梨華子^{1,2}, 鷺尾絢子¹, 山崎亮太², 有吉 渉², 北村知昭¹

Effectiveness Assessment of Peracetic Acid Disinfectant on Pathogenic Bacteria in Oral Cavity

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,

²Division of Infections and Molecular Biology, Department of Health Promotion,
Kyushu Dental University

○TAKAMI Rikako^{1,2}, WASHIO Ayako¹, YAMASAKI Ryota², ARIYOSHI Wataru², KITAMURA Chiaki¹

【目的】

歯内療法における根管洗浄で現在使用されている次亜塩素酸ナトリウム水溶液は殺菌効果がある一方、軟組織に接触すると組織為害性があることが問題となっている。そのため、殺菌効果を有するものの、組織為害性の低い薬剤による根管洗浄方法の確立が必要である。海外では、医療機器・クリーンルームの殺菌や食品表面の殺菌・微生物制御などに用いられ、微生物への作用後は酢酸、酸素、水に速やかに分解するため残留毒性・組織為害性が極めて低い過酢酸系除菌剤 (actril、MEDIVATORS) が広く用いられている。本研究では、口腔内病原性細菌に対する過酢酸系除菌剤 (actril) の有効性を検証することを目的とする。

【材料と方法】

口腔病原性細菌として *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Enterococcus faecalis* を用いた。過酢酸系除菌剤としては actril (MEDIVATORS, H₂O₂:0.8%・CH₃COOOH:0.06%・CH₃COOH:5%) を用い、*S. mutans* と *E. faecalis* に対しては次亜塩素酸ナトリウム水溶液であるアンチホルミン (日本歯科薬品, NaClO:3~6%) も用いた。actril またはアンチホルミンを混ぜた培地を連続 2 倍希釈したものに 600 nm で OD 0.05 に調整した菌液を入れ、*S. mutans* と *E. faecalis* は 37°C・5% CO₂ で 24 時間、*P. gingivalis* は 37°C、嫌気条件で 72 時間培養を行った後に 620 nm で吸光度測定を行い、菌の増殖が見られない最小の濃度を最小発育阻止濃度 (MIC) とした。MIC で増殖が確認できなかったウェルから 1 spot あたり 10 μL ずつ、3 spots とり、それぞれの菌の培養条件で培養した後にコロニー形成の有無を確認し、コロニーを形成しない最小の濃度を最小致死濃度 (MBC) とした。MIC 測定後に上清を廃棄し、RO 水で 3 回 Wash した後、0.1% クリスタルバイオレット染色を行い、95% エタノールでバイオフィルムを分散させて 540 nm で吸光度測定した。バイオフィルム形成が見られない最小の濃度をバイオフィルム形成抑制濃度 (MBIC) とした。

【結果】

S. mutans に対する actril の MIC、MBC、MBIC は actril 原液の 64 倍希釈で、アンチホルミンの MIC、MBC、MBIC はアンチホルミン原液の 16 倍希釈であった。*P. gingivalis* に対する actril の MIC、MBC、MBIC は actril 原液の 256 倍希釈であった。*E. faecalis* に対する actril の MIC、MBIC は actril 原液の 128 倍希釈、MBC は actril 原液の 64 倍希釈で、アンチホルミンの MIC、MBIC はアンチホルミン原液の 32 倍希釈、MBC はアンチホルミン原液の 16 倍希釈であった。

【考察】

actril はアンチホルミンよりも高い希釈倍率で効果を示した。actril は酢酸、過酸化水素、過酢酸、水の間で化学平衡が成り立っているため、効果が持続しやすく、アンチホルミンよりも高い希釈倍率であっても効果がある要因となっていることが考えられる。

【結論】

actril はアンチホルミンよりも低濃度で口腔内病原性細菌に対して増殖抑制、殺菌効果、バイオフィルム形成抑制効果があり、根管洗浄薬として有用である。

ケイ酸カルシウムを基盤とした新規覆髄材の開発

1) 各種ケイ酸カルシウムの合成

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歯科理工学分野,

³朝日大学歯学部口腔構造機能発育学講座口腔生化学分野

○伊藤 友見¹, 新谷 耕平², 奥山 克史², 玉置 幸道², 川木 晴美³, 河野 哲¹

Development of novel pulp-capping material based on calcium silicate

1) Production of various calcium silicates

¹Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, ²Department of Dental Materials Science, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, ³Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure, Function, and Development, Asahi University School of Dentistry

○ Tomomi Ito¹, Kohei Shintani², Katsushi Okuyama², Yukimichi Tamaki², Harumi Kawaki³, Satoshi Kawano¹

【目的】

歯髄保存療法の成功率は、生活歯髄の状態と覆髄材料の歯髄に対する生体親和性及び封鎖性に委ねられる。近年、この性質に特化した覆髄材料として Mineral Trioxide Aggregate (MTA) に代表されるケイ酸カルシウム系セメントや生体ガラスを原料とした多くのバイオセラミックス系材料が普及している。MTA はポルトランドセメントをベースとした製品で、アルミン酸三カルシウム、硫酸カルシウム、ケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウムなどから構成され、水和反応に伴う水酸化カルシウムの生成により硬組織誘導能・抗菌作用など優れた効能を発揮すると報告されている。効能の主体となる成分はケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウムとされているが、これらは既存するポルトランドセメントの含有成分であるため独自の特性については明らかにはされていない。

そこで本研究では、MTA の主成分であるケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウムの具体的な効能を明らかにすることを目的に、ケイ酸カルシウム試薬を出発点として、ケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウムの合成を試みた。

【材料・方法】

ケイ酸カルシウム試薬 (CaSiO₃ : 富士フィルム和光純薬株式会社) と酸化カルシウム (CaO : キシダ化学株式会社) を反応式の分子量から算出した重量比で各粉末を混合・焼成し、ケイ酸二カルシウム (CaSiO₃+CaO→Ca₂SiO₄) 及びケイ酸三カルシウム (CaSiO₃+2CaO→Ca₃SiO₅) の合成を試みた。試料は乾式で十分に混合した後、示差熱分析装置 (Thermo Plus EV02, Rigaku) にて室温から 1400℃まで加熱時の動態を分析して発熱反応や減量が生じる温度を特定することにより焼成温度を決定した。また焼成により得られた塊を粉碎し、エックス線回折装置 (Ultima IV, Rigaku) を用いて回折ピークから化合物同定を行った。

【結果】

示差熱分析 (TG-DTA) 曲線の結果、DTA 曲線で 400℃付近に急激な吸熱ピークが観察され、それに伴い TG で大きな減量が確認できた。さらに加熱すると試料は緩やかな減量を示すが約 650℃, 900℃, 1100℃でプラトーな部分が観察された。1200℃以降では再び減量が加速していき約 1300℃で曲線上に微小な変化が観察された。この結果より、焼成温度は 1300℃に設定した。

試薬ケイ酸カルシウムに酸化カルシウムを順次加えて焼成した試料のエックス線回折結果では試薬ケイ酸カルシウムとは明らかに異なるピークが検出され、それぞれ Larnite (Ca₂SiO₄), Hatrurite (Ca₃SiO₅) の結晶が析出しているものと考えられた。しかし、ケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウムの主要ピークは 31-33° に集中しているため重複していることが予想され、明確な同定にはより詳細な検討が必要である。また合成に寄与しなかった酸化カルシウムのピークも一部に認められた。

【考察】

ケイ酸カルシウム試薬を基にケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウムの合成が可能になったことにより、MTA に近い新規直接覆髄材料への創製に前進した。さらに現在、ケイ酸カルシウム、ケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウム、Dycal (Dentsply Sirona) 及び Pro Root MTA (Dentsply Sirona) の粉末に対する歯髄細胞の細胞付着率や細胞増殖率、細胞毒性について、蛍光試薬による染色と測定キットを用いて生化学的評価を進行中である。今後、合成した各種ケイ酸カルシウムについて物理学的要件などを含めて検討する必要がある。

Chemerin receptor23 と CD44 は象牙芽細胞層に局在している

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構造機能発育学講座口腔生化学分野
○横川 大輔¹, 梅村 直己², 近藤 信夫², 河野 哲¹

Chemerin receptor23 and CD44 are localized in the odontoblast layer

¹Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,
²Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure, Function, and Development,
Asahi University School of Dentistry
○Daisuke Yokokawa¹, Naoki Umemura², Nobuo Kondo², Satoshi Kawano¹

【目的】

歯髄幹細胞の1つのマーカーであるCD44陽性細胞は象牙芽細胞への分化誘導に関与しており、象牙芽細胞や歯髄幹細胞に発現し石灰化に関与していると報告がある。またChemerin receptor 23 (ChemR23)はChemerinの受容体であり象牙芽細胞や歯髄幹細胞に発現しており、炎症の抑制と再生に関与していると報告がある。一方、ResolvinE1はChemerin/ChemR23相互作用を媒介し歯髄の炎症を抑制することも示唆されている。しかしながらCD44とChemR23は共に象牙芽細胞に発現しているとされているが、その局在は明らかになっていない。そのため局在を明らかにすると共にこれらの炎症への関与を検証した。

【方法】

1. Wistarラット(12週, 雄性)から上顎第一大臼歯を露髄させ歯髄炎を起こした歯と, 正常な歯を通常に従い採取し, 脱灰処理後パラフィン標本を作成した。その後, 抗CD44抗体, 抗ChemR23抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。

2. 朝日大学医科歯科医療センターに来院し, 矯正学的理由で抜去された正常な歯髄の第一小臼歯および第三大白歯, う蝕により歯髄炎となった第三大白歯を用い, 脱灰処理後パラフィン標本を作成した。その後, 抗CD44抗体, 抗ChemR23抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。

3. ヒト歯髄幹細胞 (Lonza Walkersville, Inc, human dental pulp stem cell, cat No. PT-5025) を用いて, 37°C, 5%CO₂, 95%気相下にて培養液 (Dental Pulp Stem Cell Growth Media) を用いて培養した細胞株を用いた。ヒト歯髄幹細胞における CD44 と ChemR23 の発現を免疫蛍光細胞染色にて観察した。

なお, 本研究は朝日大学歯学部動物実験専門委員会 (21-046), 朝日大学倫理委員会 (31020) の承認を得て実施した。

【結果】

1. ラットの正常歯髄組織において抗CD44抗体, 抗ChemR23抗体は象牙芽細胞層にて陽性細胞が確認できた。また, 歯髄炎を起こしたラットの歯髄組織では, 抗CD44抗体, 抗ChemR23抗体共に陽性反応を示さなかった。

2. ヒトの正常歯髄組織において抗CD44抗体, 抗ChemR23抗体は象牙芽細胞層にて陽性細胞が確認できた。また, 歯髄炎を起こしたヒトの歯髄組織では, 抗CD44抗体, 抗ChemR23抗体共に陽性反応を示さなかった。

3. ヒト歯髄幹細胞の細胞レベルにおけるCD44とChemR23の発現を免疫蛍光細胞染色法にて確認した。CD44とChemR23は共に同じヒト歯髄幹細胞内に認められたが, 発現部位は異なっておりCD44は主に細胞膜に発現しており, ChemR23は主に細胞質内に認められた。

【考察】

CD44とChemR23はヒト及びマウス病理組織像で象牙芽細胞層において確認できた。細胞レベルではヒト歯髄幹細胞においてCD44とChemR23が発現していたが, その細胞内の局在はCD44は主に細胞膜, ChemR23は主に細胞質と共存していなかった。今後は両分子が歯髄の石灰化や炎症の抑制にどのように関与しているのか解明する予定である。

加熱によるケイ酸カルシウム系シーラーの理工学的性質への影響

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

○伊藤遼太, 渡辺聡, 高野晃, 山内慎也, 興地隆史

Effect of heating on the physical properties of calcium silicate-based root canal sealers

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

○ITO Ryota, WATANABE Satoshi, KOUNO Akira, YAMAUCHI Shinya, OKIJI Takashi

【目的】

加熱ガッタパーチャ法による根管充填では加熱時にシーラーの組成や硬化時間、流動性などの物性が変化すると報告 (Atmeh *et al*, 2017) が見られる。また近年ではケイ酸カルシウムを主成分とするシーラー製品が普及しつつあるが、加熱時の物性変化に関する知見は少ない。そこで本研究は、熱が各種ケイ酸カルシウム系シーラーの物性に及ぼす影響の検討を目的とした。

【材料および方法】

ケイ酸カルシウム系シーラーとして Endosequence BC Sealer (ES: Brasseler)、AH Plus Bioceramic sealer (AHB: Dentsply Sirona) の 2 種、およびエポキシレジン系シーラーである AH Plus Jet (AH: Dentsply Sirona) と酸化亜鉛ユージノール系シーラーである Pulp Canal Sealer (PCS: Kerr) の計 4 種類を被験材料とした。硬化時間の変動については 37 °C および 100°C 条件下において、フローと被膜厚さの変動は 25 °C および 100 °C 条件下において、ISO6876:2012 に準じて測定した。なお 100 °C への加温は練和直後 1 分間とした。同一温度におけるシーラー間の比較には一元配置分散分析および post hoc test として Tukey 検定を、異なる温度間の比較には t-test を使用して統計解析した ($p < 0.05$)。

【結果】

硬化時間については、100 °C 環境においてすべてのシーラーで有意に硬化時間が短縮していた ($p < 0.05$)。フローでは、37 °C 環境下において AHB は他製品に比較して有意に高い値を示した ($p < 0.05$)。また 100 °C 環境下では、AH と PCS は他製品に比較して有意に高いフローを示した ($p < 0.05$)。被膜厚さについては、100 °C 環境下では AHB は他製品と比較し有意に大きい値を示すとともに、AHB と ES が 37°C と比較して有意に増加していた ($p < 0.05$)。

【考察】

Continuous wave of condensation 法で根管充填を行う場合、ヒートブラガーは 200 °C 前後での使用が推奨されているが、過去の研究 (Viapiana *et al*, 2014) において実際の温度は約 100°C であったと報告されている。したがって本研究では 100 °C、1 分間を加熱条件と設定した。

硬化時間は 100°C では AHB 以外は ISO 基準 (>30 分) に適合していた。フローは 100°C ではすべて ISO 基準 (>17mm) に適合していなかった。被膜厚さは AH と PCS のみ 100°C にて ISO 基準 (<50 μm) に適合していた。AH の硬化時間の短縮は熱によるアミノ基の消失とレジンの重合反応の促進によるものと考えられ、ケイ酸カルシウム系シーラーでは水和反応の促進によるものと考えられる。熱による硬化促進によりケイ酸カルシウム系シーラーの硬化時間とフローは減少し、被膜厚さは増加したものと考えられる。

100°C 環境下ではケイ酸カルシウム系シーラーは硬化時間以外 ISO 基準に適合しておらず、加熱ガッタパーチャ法に使用する場合には根管壁とガッタパーチャの間のシーラーによる封鎖性に負の影響を及ぼすと考えられる。

【結論】

本実験条件下では、ケイ酸カルシウム系シーラーは硬化時間の促進、フローや被膜厚さの減少が生じた。これらの物性変化は加熱ガッタパーチャ法には好ましくない影響を与えると考えられる。

内視鏡を用いた歯根端切除術に VR デバイスを応用した一症例

東京歯科大学 歯内療法学講座

○田宮 資己, 岡崎 勝至, 井瀬 智之, 倉持 仁, 谷 洗希, 山田 雅司, 古澤 成博

Apicoectomy with the use of XR tech and endoscope; A case of report

Department of Endodontics Tokyo Dental College

○Yoshiki Tamiya, Katsushi Okazaki, Tomoyuki Inose, Jin Kuramoti, Kouki Tani,
Masashi Yamada, Masahiro Furusawa

【緒言】

近年、手術用顕微鏡(マイクロスコープ)を用いた歯内療法の保険適応の拡大と治療成功率向上の報告により、その普及率が高まり、拡大視野下での歯根端切除術の需要も高まっている。一方、内視鏡を使用した歯根端切除術は、マイクロスコープを上回る拡大率を有し、海外ではすでに応用されているものの、日本国内ではいまだ一般的ではない。特に、その繊細な手技・手法から、マイクロスコープ下での治療以上に根尖部の微細な構造の観察等に優れた利点を有することが期待され、応用価値が高いものと推察される。

本法は、斜視鏡を有する内視鏡を回転することで、自由度の高い方向から根尖部をモニター上で直視しながら作業できる利点がある。また、3D ガイドを用いた歯根端切除術は、切削ドリルの方向と深さの精度を高めた先進的な治療方法と報告されている。術前シミュレーションは、XR(クロスリアリティ)技術により、患者固有の CBCT データと咬合面の STL データから作成した 3D バーチャルモデルを活用することで、3 次元的解剖構造の理解が深まり、最適なフラップデザインと骨削去を決定できると考えられる。今回我々は、内視鏡を用いた歯根端切除術に 3D ガイドを組み合わせた一症例を報告する。

【症例】

患者は 30 歳の女性、上顎右側第一大臼歯歯肉部の違和感を主訴として来院した。上顎右側第一大臼歯は前医にて感染根管治療、補綴処置を行ったが、数か月後根尖部歯肉の腫脹を自覚したという。また、補綴装置の保存を強く希望していた。初診時の臨床症状は、自発痛、垂直打診痛、動揺は認めず、根尖部歯肉の圧痛を認めた。歯周組織検査の結果は全周 3mm 以内であった。エックス線画像上で頰側根根尖部に骨吸収を認めた。以上のことから、慢性化膿性根尖性歯周炎 (Previously treated/Symptomatic apical periodontitis) と診断し、補綴装置を保存しての処置のため、歯根破折等の十分な精査が必要のため、内視鏡を用いた歯根端切除術を行う事とした。また、審美性の保全のため必要最低限の侵襲での施術をお好むために 3D バーチャルモデルを併用する事とした。本症例は患者に治療方針、それに伴うリスク、代替治療を説明し同意を得て治療を行った。(承認番号: 1131) 目的外使用の薬剤の使用に関して東京歯科大学倫理審査委員会の承認を得て行った。(承認番号: SH-42)

【治療経過】

3D バーチャルモデルを応用して作製したステントで根尖部歯槽骨の除去を最小限に行うことができた。さらに内視鏡を用いることで歯根尖の切断部や肉芽組織の除去の状況をより精密に精査することが可能であった。

【結果・考察】

今回、これらの器材を用いることで根尖部組織の侵襲を少なくし、根尖の感染歯質を確実に除去することができた。一般に顕微鏡を使用する際にはレトロミラーを用いてミラーテクニックで切断面を観察するが、出血のコントロールが難しい症例ではミラーの曇りも生じ、明瞭に観察することが難しい場合がある。しかしながら本法では直接的に該当部の状態を把握できることから効率的に処置を進めることができたと思われる。以上のことから、内視鏡を始めとする器材を用いた歯根端切除術は、臨床的に非常に有用であると考えられた。

炭酸ガスレーザー照射がヒト歯髄培養細胞における硬組織形成能に及ぼす影響

¹ 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座, ² 日本大学松戸歯学部有病者歯科検査医学講座,
³ 日本大学口腔科学研究所

○深井譲滋^{1,3}, 渡邊昂洋^{1,3}, 葉山朋美^{1,3}, 倉持光成¹, 五明-古谷夏子¹, 中西建人¹,
小峯千明^{2,3}, 神尾直人^{1,3}, 岡部達^{1,3}, 松島潔¹

Effects of Calcification ability on human dental pulp cell by CO₂ Laser Irradiation

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

² Department of Laboratory Medicine and Dentistry for the Compromised Patient, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

³ Nihon University Research Institute of Oral Science

○Joji Fukai^{1,3}, Takahiro Watanabe^{1,3}, Tomomi Hayama^{1,3}, Kosei Kuramochi¹, Natsuko Gomyo-Furuya¹,
Kento Nakanishi¹, Chiaki Komine^{2,3}, Naoto Kamio^{1,3}, Tatsu Okabe^{1,3}, Kiyoshi Matsushima¹

【目的】

保存治療における歯髄の保存は、患歯の予後や寿命に大きく影響する。しかし、治療の過程で露髄が生じた場合結果的に失活歯として保存されることが少なくない。これまで我々は、覆髄法における補助的手段の一つとして低出力のレーザー照射による硬組織形成促進効果に着目し、ヒト歯髄培養細胞 (hDPC) を用いて報告してきた。過去の研究で出力を 300 mW に揃えた異なる 2 波長の半導体レーザーを用いた際の硬組織形成能を比較した結果、細胞の持つ硬組織形成能において波長間で異なる機序がみられることを示唆した。しかしながら、覆髄処置が必要となる歯髄、特に露髄面にはすでに炎症が起きていることを考慮しなければならず、臨床で使用するにはより効率的な照射条件を探らねばならない。そこで本研究は、hDPC の持つ硬組織形成能を効率よく引き出すレーザーの検索を目的として、hDPC に対し出力 1 W の炭酸ガスレーザーが与える硬組織形成能の影響について解明を行った。併せて、高濃度 prostaglandin E₂ (PGE₂) を刺激させた hDPC に対し炭酸ガスレーザーが与える硬組織形成能の影響について解析を行った。

【材料および方法】

実験には日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認 (承認番号: EC21-20-19-003-3 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、矯正学的理由で抜去された歯から歯髄を無菌的に取り出し、PBS で十分に洗浄した後、約 2 mm 角に細切した組織片を細胞培養プレートに静置して、10% ウシ胎児血清 (FBS)、100 μg/ml penicillin G (明治製菓株式会社) を含む α-minimum essential medium (α-MEM, Gibco 社製, USA) を用いて 37°C、5% CO₂、95% 気相下にて out growth し、5~9 代継代したものをを用いて、炭酸ガスレーザーを約 1 cm 上方から照射した。

Alkaline phosphatase (ALP) 活性を経時的に測定し、最適な照射条件時間を検討した後 ELISA 法を用いて Bone Morphogenetic Protein (BMP) -2 の発現について解析を行った。

【結果および考察】

hDPC に 0 秒、20 秒、40 秒、60 秒間炭酸ガスレーザーを照射した際、照射後 72 時間の BMP-2 発現、照射後 11 日の ALP 活性において 40 秒照射をピークとする経時的な上昇を認めた。このことから 40 秒間のレーザー照射によって最も効率よく硬組織形成を誘導することが示唆された。

40 秒間照射後 72 時間の hDPC において、control に比べ高濃度 PGE₂ 刺激によって、BMP-2 の発現が低下したものの、炭酸ガスレーザーを併用して照射することによって、control と同等以上の BMP-2 の発現が認められた。PGE₂ は、歯髄の硬組織形成に関わると考えられており、hDPC を低濃度 PGE₂ で刺激すると硬組織形成が促進されるが、高濃度 PGE₂ 刺激では硬組織形成が抑制されるという二面性の働きを持つことが報告されている。このことから高濃度 PGE₂ 刺激による硬組織形成抑制を炭酸ガスレーザーの照射によって打ち消すことが示唆された。

Sudachitin がヒト歯髄細胞の炎症性メディエーター発現に与える影響

徳島大学大学院医歯薬学研究部 再生歯科治療学分野
○三枝克啓、中西 正、蔵本 瞳、細川義隆、細川育子、武川大輔、保坂啓一

The effects of sudachitin on inflammatory mediator expression in human dental pulp cells
Department of Regenerative Dental Medicine, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
Katsuhiko MIEDA, Tadashi NAKANISHI, Hitomi KURAMOTO,
○Yoshitaka HOSOKAWA, Ikuko HOSOKAWA, Daisuke TAKEGAWA and Keiichi HOSAKA

【研究目的】

ポリメトキシフラボノイドの一種である sudachitin はスダチの果皮に存在し、生活習慣病の抑制効果や抗炎症作用など多くの生理活性作用を持ち、有用な機能性成分として注目されている。我々はこれまでに、歯髄炎における免疫応答や組織破壊の実態について、サイトカインやケモカイン等の炎症性メディエーターの観点から解析を行い、ヒト歯髄細胞が toll-like receptor 2 (TLR2) 等の自然免疫関連受容体を発現し、そのリガンドである Pam3CSK4 等に反応することで自然免疫に参画し IL-6 や IL-8 等のサイトカインを産生すること (Hirao et al., J Dent Res, 2009)、不可逆性歯髄炎の病態形成に CXCL10 等のケモカインやプロスタグランジン誘導酵素である cyclooxygenase-2 (COX-2) が関与していること (Adachi et al., J Dent Res, 2007) を明らかにしてきた。今回、歯髄炎の治療への sudachitin 応用の可能性を探るため、TLR2 リガンド刺激したヒト歯髄細胞における炎症性メディエーター発現に対し sudachitin が及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】

徳島大学病院歯科を受診し、齲蝕及び歯周炎を有さず矯正目的のため抜去された健全智歯より歯髄を採取し、細切後 outgrowth した細胞を歯髄細胞とし、5~9 代継代したものを実験に使用した。なお、試料の収集は、徳島大学病院生命科学医学系研究倫理審査委員会の承認のもとで実施し、被験者には本研究の内容を説明し、同意を得た後に試料を実験に使用した (承認番号 329)。

ヒト歯髄細胞を 24-well plate に播種し、10 % FBS 添加 DMEM 培地にてサブコンフルエントまで培養後、sudachitin (6.25~50 μg/ml 濃度) の存在下で、TLR2 リガンドである Pam3CSK4 にて 24 時間作用させたときの培養上清中の IL-6、IL-8 ならびに CXCL10 の濃度を ELISA 法にて測定した。また、付着細胞からタンパクを回収し western blot 法にて COX-2 の発現を解析した。細胞障害性の有無は、細胞形態を顕微鏡で観察したうえで Cell Counting Kit-8 を用いて解析を行った。

【成績】

顕微鏡下での細胞形態の観察ならびに Cell Counting Kit-8 による解析により、今回適用した 50 μg/ml までのすべての濃度において sudachitin による細胞障害性は認められなかった。ELISA 法による定量結果から、sudachitin は Pam3CSK4 によって歯髄細胞から誘導された IL-6、IL-8 ならびに CXCL10 の産生を濃度依存的に有意に減少させた。さらに、western blot 解析により、sudachitin は COX-2 発現を減弱させることが確認された。

【考察】

本研究において、sudachitin はヒト歯髄細胞において TLR2 リガンドである Pam3CSK4 による炎症性メディエーター発現を抑制することが明らかとなった。今回の結果により、sudachitin の抗炎症作用が歯髄炎局所においても期待できる可能性が示唆された。

Ni-Ti ファイルの周期疲労耐性に対するエンドモーター回転様式の影響

神奈川歯科大学 歯科保存学講座 歯内療法学分野

○藤巻龍治, 鈴木二郎, 石井信之

Effect of end motor rotation mode on cyclic fatigue resistance of Ni-Ti files

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○FUJIMAKI Ryuji, SUZUKI Jiro, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】

近年 Ni-Ti ファイルは、刃部形態やファイル素材の改良によって弾力性や疲労耐性が改善されているが、依然として根管器具の破折が問題視されている。府ファイル破折の原因は、ファイル先端が根管に食い込む際の脆性破断であるねじれ疲労破折と、湾曲部分で回転することでファイル湾曲点の圧縮と伸張が加わり破折する周期疲労破折の2種類に大別され、臨床ではこれらが複合して破折が生じると報告されている。トライオート ZX2 は電氣的根管長測定と共に使用するファイルの回転様式に対応設定可能である。今回、トライオート ZX2 に新規回転様式 OGP-2 モードを試作し安全性の高い根管形成が期待される。

本研究は、湾曲根管を想定して角度を付与した人工根管を用いて Ni-Ti ファイルの回転様式を改良したトライオート ZX2 にて連続回転運動で使用し、周期疲労耐性に関する解析を行った。

【材料および方法】

供試した人工根管にはステンレス鋼製のメタルブロックを、根管口部の大きさ 14mm 曲率半径は 5.7mm とし湾曲角度を 30 度、40 度、50 度の 3 種設定した。根管形成用エンドモーターはトライオート ZX2 (モリタ) を使用し、正規回転様式と新規回転様式 (OGP-2) にて Ni-Ti ファイル、Protaper Next 群 (#25/06, デンツプライ シロナ)、EndoWave 群 (#25/04, モリタ)、WaveOne Gold 群 (#25/07, デンツプライ シロナ) の Ni-Ti ファイル 3 群を湾曲角度と回転様式の各測定条件にて破折までに要する時間 (上限 10 分) を計測し比較した。計測には Ni-Ti ファイルと人工根管との間に摩擦抵抗が起こらないように潤滑剤として EDTA アクアジェル (ペントロンジャパン) を使用した。統計学的解析は、Kruskal Wallis H-test および Bonferroni 法による多重比較検定を行った。

【結果】

回転様式の異なる供試 Ni-Ti ファイルすべてにおいて湾曲角度 30 度では 10 分以内に破折は確認されなかった。湾曲角度が 40 度、50 度において各群間の破折時間に有意差は確認されなかったが、回転様式にて正規回転様式に比べ OGP-2 では破折時間の延長傾向が確認された。

【考察および結論】

Ni-Ti ファイルの臨床使用における器具破折率は 0.9~5.1% と報告されている。本研究結果より、切削回転中にファイルに加わる応力に応じた新規回転様式の OGP-2 は、湾曲根管における周期疲労破折リスク低減に有効であることが示唆された。

レジン系根管充填用シーラーを用いて単独根管充填を行った 1 症例

¹大阪大学大学院歯学研究科歯科保存学講座

²大阪大学医学部附属病院未来医療開発部

¹○森山 輝一, ¹岡本 基岐, ¹松本 紗也子, ¹渡邊 昌克, ¹中谷 公貴, ²岩崎 幸司, ²齋多 遼太郎,

²西村 有起, ¹高橋 雄介, ¹林 美加子

A Case Report: Successful Root Canal Treatment Using Resin Sealer Without Gutta-percha Point.

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

²Department of Medical Innovation, Osaka University Hospital

○Moriyama Kiichi, Okamoto Motoki, Matsumoto Sayako, Watanabe Masakatsu, Nakatani Kouki, Iwasaki Koji, Saita Ryotaro, Nishimura Yuki, Takahashi Yusuke, Hayashi Mikako

【緒言】根管充填は、無菌的環境が達成された根管に新たな細菌・起炎物質の侵入と残存細菌の繁殖を防ぐために、歯内療法最終段階として行われる重要な処置である。わが国で最も頻用されている根管充填法は側方加圧・垂直加圧充填法である。一方、欧米ではバイオセラミック系あるいはレジン系根管充填用シーラーを用いたシングルポイント法が見直され始め、臨床成績が従来の側方加圧・垂直加圧充填法と同等であることが報告されている。そこでは、近年登場した根管充填用シーラーが良好な封鎖性、流動性ならびに生体親和性を有していることが、好成績につながっていると考えられている。そこで今回ガッタパーチャポイントを使用せず、レジン系根管充填用シーラーのみによる単独根管充填法と従来からの根管充填法との治療成績を比較するランダム化比較試験の実施を念頭に、パイロットスタディーとしてレジン系根管充填用シーラーによる単独根管充填を評価した 1 症例を提示する。

【症例】患者：75 歳，男性，主訴：下顎右側第一大臼歯の自発痛と歯肉腫脹

既往歴：患者は継続したう蝕治療のため大阪大学歯学部附属病院を受診していた。下顎右側第一大臼歯にう蝕を指摘され治療を予定していたが臨床症状がないことから、COVID-19 蔓延のため歯科受診を控えていた。約 2 週間前から冷水痛が強くなり、2 日前より激しい自発痛のため来院された。

現症：顔貌の非対称性や腫脹は認めなかった。患歯は自発痛(+)、打診痛(+)、根尖部圧痛(+/-、違和感)、歯肉腫脹(+)、動揺度(0 度)、プロービング深さは遠心のみ 5 mm、歯髄検査において、電気刺激および温度刺激ともに反応を示さなかった。デンタルエックス線検査では、遠心歯頸部より歯髄腔へ達するう蝕様透過像を認めたが、根尖部透過像は確認できなかった。

【診断および治療方針】歯髄壊死、症状の改善を目的に歯内療法を行うことを説明した。

本研究は大阪大学大学院歯学研究科・歯学部および歯学部附属病院倫理審査委員会による承認下で行われた(R3-E17)。

【治療経過・予後】ラバーダム防湿およびマイクロスコープによる拡大視野下で感染歯質は歯髄腔に到達しており、歯髄の保存は難しいと判断したため根管治療を開始した。近心頰側根はファイル挿入時痛があったため、浸潤麻酔を行った後、根管治療をすすめた。電氣的根管長測定を行いつつ、穿通とグライドパスを行い、#40/.04 を最終拡大号数とした根管形成を行った(NiTi ファイル: HyFlex EDM, Colten, エンドモーター: TriAuto ZX2, モリタ製作所)。歯科用コーンビーム CT 画像も参考にしつつ、全周ファイリングを行い、根管洗浄後、水酸化カルシウム製剤を貼薬した。次回来院時には臨床症状がすべて改善していたため、レジン系根管充填用シーラー(メタシール Soft ペースト, サンメディカル)にて単独根管充填を行った。3 根管の根管充填に要した時間は 35 秒であった。術直後から疼痛が生じることはなく、1 年経過後の口腔内検査およびデンタルエックス線画像から、根尖部透過像の変化および臨床症状をきたすことなく、良好に経過している。

【考察および結論】本症例は、レジン系根管充填用シーラー単独根管充填法の有効性を示す典型的な 1 症例である。根管充填用シーラーによる単独根管充填は操作が簡便かつ短時間で行えるため、患者の負担軽減を図ることができる。充填され硬化したシーラーの除去も手用ファイルなどで行うことができる。さらには、再根管治療の頻度が高い我が国の歯内療法の現状において、ガッタパーチャポイント除去の煩雑さと難しさに直面することも多いことから、根管充填法の新たな選択肢の 1 つになる可能性がある。本症例報告の成果は、従来の根管充填法との臨床成績を比較するランダム化比較試験を将来実施する上での基盤となるものである。

高周波通電による抜髄後の疼痛減少効果に関する後向き観察研究

¹医療法人とみなが歯科医院

²北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室

○富永 敏彦^{1,2}, 東條 愛¹, 木村 祐介¹, 菅谷 勉²

A retrospective study on the pain-reducing effect after pulpectomy by high-frequency conduction

¹Tominaga Dental Clinic

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

○Toshihiko Tominaga^{1,2}, Ai Tojo¹, Yusuke Kimura¹, Tsutomu Sugaya²

【研究目的】抜髄の成功率は83～97%と報告されているが、複雑な根管形態などにより歯髄の機械的除去が適切に行えず、抜髄後に疼痛が認められ、症状が消滅せず多回数の根管治療を必要とすることもある。以前の研究において、根管に高周波電流を通電することより、電極近傍だけでなく電極から離れた根尖狭窄部や側枝などで、発熱により歯髄組織の変性や灰化が可能であることを動物実験で明らかにし、第151回本学会で報告した¹⁾。今回、抜髄時に高周波通電を行うことが、術後疼痛の減少に有効であるかを後向き観察研究により評価した。

【材料および方法】2015年1月4日から2021年8月31日までに北海道大学病院歯周・歯内療法科、医療法人とみなが歯科医院にて、抜髄および根管充填が行われた症例を対象とし、即時根管充填した症例は除外した。調査項目として、歯種、術前・術後の臨床症状（自発痛、打診痛、冷水痛、温水痛、圧痛、腫脹、動揺）、根尖孔への穿通の可否、高周波通電の有無、術者の経験年数、根管充填までに要した治療回数等とした。なお高周波通電は、高周波治療器（モリタ製作所）を用いて、周波数510±50kHz、印加電圧90～225V、Duty cycle 70%、1回通電時間1.0秒間にて根管より通電した。抜髄後の臨床症状やファイル挿入時の痛みに影響を与える因子についてロジスティック回帰分析を行い、さらに交絡因子の影響を排除する目的で傾向スコアマッチングを行なって、抜髄後の臨床症状（自発痛、打診痛）、根管内所見（出血や排膿の有無、ファイル挿入時の疼痛の有無）、根管充填までの治療回数について両群を比較した。なお、本研究は北海道大学病院生命・医学系研究倫理審査委員会の承認を得て行った（臨床研究番号 生022-0071）。

【結果と考察】対象症例は高周波通電したHFC group：558歯、通電しなかったControl group：461歯の合計1019歯であった。抜髄後次回来院時の臨床症状に対してロジスティック回帰分析を行った結果、オッズ比と95%CIは、高周波通電の有無が0.32 [0.12-0.85]、歯種が1.53 [1.02-2.32]、術前の症状の有無が4.07 [1.85-8.90]で有意な影響がみられた。次回来院時の根管内へのファイル挿入時の痛みに対しては、高周波通電の有無が0.10 [0.05-0.21]、穿通の可否が0.36 [0.18-0.73]、術前の症状の有無が2.71 [1.27-5.78]、施設が0.26 [0.13-0.52]で有意な影響が認められた。

また傾向スコアマッチング後、HFC groupとControl groupは各186歯となり、次回来院時の打診痛はHFC groupは0.6%、Control groupは4.5%、ファイル挿入時の疼痛は0.6%と18.5%となり、いずれもHFC groupが有意に($p < 0.001$)少なかった。根管充填までの治療回数の中央値 [四分位範囲] は、HFC groupが2.0 [2.0-2.0]回、Control groupが3.0 [3.0-3.0]回であり、HFC groupが有意に($p < 0.001$)少なかった。これらの結果は、高周波通電によって歯髄組織を失活させるとともに、根管内の感染物質を殺菌・無毒化できたためであると考えられた。

【結論】抜髄時に高周波電流を通電することにより、次回来院時の疼痛や根管内へのファイル挿入時の痛みが減少し、根管充填までの根管治療回数を減少できることが明らかになった。

【参考文献】

- 1) 森 厚志, 河野通俊, 中谷充宣, 前田良子, 降旗友和, 中塚 愛, 菅谷 勉. 高周波電流による歯髄の焼灼. 第151回日本歯科保存学会学術大会プログラムおよび講演抄録集, 125, 2019.

リポ多糖刺激に対するヒト歯髄細胞の小胞体ストレス反応

広島大学 大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室

○成瀬 友哉, 武田 克浩, 白輪地 聡美, 吉田 和真, 平田-土屋 志津, 柴 秀樹

Endoplasmic reticulum stress response of human dental pulp cells to lipopolysaccharide stimulation.

Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences

○ Tomoya Naruse, Katsuhiko Takeda, Satomi Shirawachi, Kazuma Yoshida, Shizu Hirata-Tsuchiya, Hideki Shiba

【目的】

小胞体ストレスとは細胞内小器官の一つである小胞体において、タンパク質の折りたたみ・修飾が正常に行われなかった異常タンパク質が蓄積される状態のことであり、栄養飢餓や低酸素、ウイルス感染などによって引き起こされる。小胞体ストレスは小胞体ストレス応答と呼ばれるシグナル経路を活性化させ、糖尿病や神経変性疾患など様々な疾患に関与している。しかしながら、歯髄炎の発症・進展における小胞体ストレスの役割については不明な点が多い。本研究では、小胞体ストレス誘導剤である Tunicamycin および歯髄炎起炎物質の一つであるリポ多糖(LPS)に対する歯髄細胞の小胞体ストレス応答と炎症反応を検討した。

【方法】

1. 供試細胞 : ヒト歯髄細胞 (hDPCs) は、Lonza から購入し、Fatal Bovine Serum (Gibco) 10 %含有のD-MEMにて培養した。5~7代継代したhDPCsを以下の実験に供した。
2. TunicamycinのhDPCsに対する細胞毒性の検討 : 96 well plateにて培養したhDPCsをD-PBSで2回洗浄した後、無血清下にて小胞体ストレス誘導剤であるTunicamycin (Wako) を0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 μM の各濃度で24時間作用させ、Cell Counting Kit-8 (Dojindo) を用いて細胞生存率を調べた。
3. Tunicamycinによって誘導されるhDPCsの小胞体ストレス反応 : 培養したhDPCsをD-PBSで2回洗浄した後、無血清下でTunicamycin (0.1 μM)を3, 6, 12, 24時間作用させ、リアルタイムPCRによって小胞体ストレス応答遺伝子(XBP1, XBP1s, GRP78, CHOP, GADD34)および炎症性サイトカイン(IL-6, IL-8)のmRNA発現を解析した。
4. LPSに対するhDPCsの小胞体ストレス反応 : 培養したhDPCsをD-PBSで2回洗浄した後、無血清下でLPS (1.0 $\mu\text{g/mL}$)を3, 6, 12, 24時間作用させ、リアルタイムPCRによって小胞体ストレスマーカー遺伝子および、炎症性サイトカインのmRNA発現を解析した。

【結果】

1. 0.01, 0.05, 0.1 μM の濃度のTunicamycinは、hDPCsの生存率に影響を与えなかったが、0.5, 1.0, 2.0, 5.0 μM で作用させるとhDPCsの生存率は75~40%に低下した。
2. Tunicamycinは24時間の作用をピークとして小胞体ストレス応答遺伝子であるXBP1, XBP1s, GRP78, CHOP, GADD34および炎症性サイトカインであるIL-6, IL-8の発現を有意に促進させた。
3. LPSは12時間の作用をピークとしてhDPCsに対して小胞体ストレス応答遺伝子であるXBP1のmRNA発現を有意に上昇させ、3時間の作用をピークとして炎症性サイトカインであるIL-6, IL-8のmRNA発現を有意に上昇させた。

【考察】

小胞体ストレス誘導剤であるTunicamycinが炎症性サイトカインの遺伝子発現を促進し、LPSが小胞体ストレス応答遺伝子の遺伝子発現を促進したことから、歯髄炎の発症・進展に小胞体ストレスが関与している可能性が示唆された。

Lipopolysaccharide 存在環境下で高 pH 環境誘導剤(材)品がヒト骨芽細胞に与える影響

東京歯科大学 歯内療法学講座

○倉持 仁、関矢日向子、岩澤 弘樹、鈴木 穂、中里 晴香、佐古 亮、古澤 成博

Effect of high-pH environment-inducing agents on human osteoblast under lipopolysaccharide existence

Department of Endodontics, Tokyo Dental College

○KURAMOCHI Jin, SEKIYA Hinako, IWASAWA Hiroki, SUZUKI Megumi, NAKAZATO Haruka,
SAKO Ryo, FURUSAWA Masahiro

【目的】

齶蝕や歯の破折から細菌感染した根管や根尖部に生じた膿瘍などからは、グラム陰性菌を含む様々な細菌種が検出される。グラム陰性菌は細胞壁成分として Lipopolysaccharide (以下 LPS) を有し、炎症の誘発や根尖性歯周炎の難治化につながるとされている。近年では根管内の殺菌、硬組織形成誘導および LPS の減弱を目的とし、高 pH 環境を誘導する水酸化カルシウム製剤が多く用いられている。また、周囲組織の pH を上昇させる新たな歯科材料が様々登場し、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 環境の変化に伴う LPS の減弱が、周囲の細胞に与える影響について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)品が LPS 添加培地で培養したヒト骨芽細胞の硬組織形成能に与える影響について検討した。

【材料および方法】

高 pH 環境を誘導する剤(材)品として、カルビタール(以下 CV : ネオ製薬社製)、カルシペックスブレーン II (以下 Cal 群 : ネオ製薬社製)、ビタペックス(以下 Vit 群 : ネオ製薬社製)、Bio-C リペア(以下 Bio 群 : アンジェラス社製)、ProRoot MTA (以下 MTA 群 : デンツプライシロナ社製)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。

ヒト骨芽細胞(以下 HOB : PromoCell, Germany)を 24-well プレートに 1.0×10^4 cell/well で播種し、骨芽細胞増殖培地(PromoCell)で3日間培養後、硬組織形成培地として β -Glycerophosphate (10 mM : Sigma-Aldrich, USA) と L-ascorbic acid phosphate (50 μ g/mL : Sigma-Aldrich) を D-MEM (Gibco, USA) に加えた。また、炎症環境の再現のために *E. coli* 由来 LPS (1,000 ng/mL : Sigma-Aldrich) を添加した。各被験剤(材)料が細胞周囲に沈着することを防ぐため、トランスウェルインサート(ポアサイズ 1.0 μ m, Greiner, Australia) に材料を填入したのちにウェルへ静置した (n=3)。

評価は、10 日後に Pierce BCA Protein Assay (Thermo Fisher Scientific, USA) によるタンパク質総量とラポアッセイ ALP (富士フイルム和光) によるアルカリフォスファターゼ活性(以下 ALP 活性)、17 日後にアリザリンレッド S 染色(以下 ARS)を行った。なお、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 $p < 0.05$ とした。

【成績および考察】

CV-P 群において高い ALP 活性と ARS での硬組織形成が示された。また ARS では Bio 群、MTA 群においても硬組織形成がみられた。我々は第 157 回日本歯科保存学会秋季学術大会で、CV-P 群は粉末成分に含まれる高い水酸化カルシウム含有量により高 pH 環境を誘導しやすいことを報告した。本研究でも CV-P 群では他の群に比較して至適 pH に近い環境が再現されたため、ALP 活性が上昇したものと考えられた。一方、ARS で硬組織形成を示した Bio 群、MTA 群はケイ酸カルシウムを主成分としている。これらは水分と反応して持続的に Ca^{2+} と OH^- を生じる性質から、pH を上昇させるまたは一定の値を維持することができたため、他の群より硬組織形成を促進した可能性が考えられた。硬組織形成が認められなかった群では、材料に含まれる水酸化カルシウム以外の成分が影響した可能性や、培地の緩衝作用などにより実験期間中に高 pH 環境を維持できなかった可能性も考えられ、今後は培養期間の延長や評価法の追加が必要と考えられた。

以上のことから、CV-P 群が最も高い硬組織誘導能を示し、感染根管治療の際の根尖部の硬組織形成に有効に作用することが確認された。

5G (4G) Network による XR (AR) を用いた歯牙解剖学における教育効果の評価

東京歯科大学 歯内療法学講座

○井瀬智之 岡崎勝至 山田雅司 田宮資己 倉持仁 谷洗希 古澤成博

The assessment of the educational effect of tooth anatomy with Cross reality(XR).

Department of Endodontics, Tokyo Dental College

○Tomoyuki INOSE Katsushi OKAZAKI Masashi YAMADA Yoshiki TAMIYA

Jin KURAMOCHI Koki TANI Masahiro FURUSAWA

【目的】

クロスリアリティ (XR) は、VR、AR、MR を総称する視覚拡張技術であり、没入型学習を可能にする。XR は医科領域においては全身解剖学講義に導入されており、拡張・選択的な閲覧が出来、構造の 3 次元的な関係を直感的に把握することが可能である。しかしながら、5G (4G) Network による XR (AR) を用いた口腔解剖学の教育効果については、これまで研究がなされていない現状にある。そこで我々は、根管解剖を学ぶ歯内療法学講義において、XR (AR or/and VR)、すなわち 3D バーチャルモデルを活用した教育モダリティの学習効果を評価することを目的として本研究を行った。

【材料および方法】

5名の臨床研修歯科医を被験者とし、まず講師Aによる根管解剖の授業に、CBCT画像と3Dバーチャルモデルの2つを用いた教育講義を行った。教育内容は、歯内療法学を専門とする他の2名の講師BとCが検討し、3名の講師の合意を得た内容で、被験者は講義で根管形態や解剖学的なバリエーションについて学び、2次元CBCT画像から体軸断面、矢状断面、冠状断面の3つの基準面における根管配置を観察した。次に、ヘッドマウントディスプレイ(HMD)を装着、あるいはスマートフォンの画面上でXR(AR)環境の3Dバーチャルモデル画像を観察させることにより、根管形態をあらゆる方向から可視化し、さらには拡大倍率下にて歯の根管内部からの観察も可能にした上で、CBCTとAR/VRの両方について、質問に対し正答が得られるまでに要した時間を分析し評価した。データは有意水準0.05(p=0.05)で統計学的に分析した。

最後に、被験者らにXR(AR or/and VR)環境下で根管形状を観察するための可視化技術にどの程度対応できたかをアンケート形式にて記述させた。なお、CBCTについての講義には、講師Aが2Dモニター上のCBCT画像を操作して作成した根管治療の解剖に関する教材を用い、3Dバーチャルモデルについての講義は、講師Aがスマートフォンを持ち、画面上の3Dバーチャルモデルを操作して作成した根管治療の教材を用いることとした。

【結果及び考察】

質問項目1~4の4問に対する回答時間の平均は、AR/VRでそれぞれ30.7秒、21.5秒、20.5秒、21.1秒であり、合計時間の平均は93.8秒であった。一方、CBCTではそれぞれ117.1秒、76.6秒、115.0秒、83.5秒であり、合計時間の平均は392.2秒といずれも差がみられた。これは、CBCTのツールとしての操作性の難易性や、CBCTへの習熟度の差によるものと考えられた。また、従来2次元的な学習により学習をしていた複雑な根管解剖を、3次元的に自らの意のままに観察対象を動かしながら学習することが出来たことによる学習効果の向上が示唆された。

以上のことから、口腔解剖学、特に根管解剖についての教育において、5G(4G)NetworkによるXR(AR)の応用は、有用性が高いものと思われた。

術者の経験がニッケルチタン製ロータリーファイルおよび ステンレススチール製手用 K ファイルの根管形成に及ぼす影響

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
○平野恵子, 牧圭一郎, 木村俊介, 雲野颯, 大森智史, 春日柚香, 海老原新, 興地隆史

Effect of operators' experiences on shaping performance of nickel-titanium rotary files and stainless steel hand K files

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

○HIRANO Keiko, MAKI Keiichiro, KIMURA Shunsuke, UNNO Hayate, OMORI Satoshi, KASUGA Yuka, EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

【目的】ニッケルチタン製ロータリーファイル (NiTi ファイル) は卒前教育にも導入されており, NiTi ファイル使用経験の無い学生であっても, NiTi ファイルを用いることでステンレススチール製手用 K ファイル (K ファイル) と比較し, 根管追従性が高まると報告されている (牧ほか, 日歯保存誌, 2020). また, NiTi ファイルの使用経験がある歯科医師は, 使用経験のない歯科医師と比較して作業時間を短縮可能との報告もみられる (Mesgouez, *et. al.* Int Endod J, 2003). しかし, 術者の経験が NiTi ファイルと K ファイルそれぞれに対していかなる影響を及ぼすかを評価した報告は少ない. そこで本研究は, NiTi ファイルあるいは K ファイルによる彎曲根管の形成における作業時間, 根管追従性およびエラー発生頻度に対して, 術者の経験の違いが及ぼす影響を解析することを目的とした.

【材料および方法】NiTi ファイルの使用経験のない東京医科歯科大学歯学部歯学科 4 年生 44 名 (学生) と, 5 年以上の臨床経験がある東京医科歯科大学歯髄生物学分野の歯科医師 12 名 (経験者) を対象とした (倫理申請番号: C2022-022). 術者は, 上部拡大済みの J 字型透明根管模型 (作業長 17mm, 彎曲角度 45°, Dentsply Sirona, Switzerland) に対して, Vortex Blue (Dentsply Sirona; VB) を用いたクラウンダウン形成 (NiTi 群), およびステンレススチール製手用 K ファイル (Zipperer, Germany) を用いたステップバック形成 (K ファイル群) を行った. NiTi 群は, 根管形成用モーター (X-Smart Plus, Dentsply Sirona) を 500 rpm/2.0 Ncm に設定し, #30/0.06, #25/0.06, #20/0.06 の順にクラウンダウン法で根尖まで形成した後 #25/0.06 まで根管を拡大した. K ファイル群は根尖部を #25 まで拡大した後に, 1 mm ごとのステップバック形成を #50 まで行った. 作業時間, 根尖から 0~3 mm における根管追従性 (centering ratio), およびファイル破折, レッジ形成, およびアンダー形成等のエラーの頻度を解析した.

エラーの発生頻度は各器具についてフィッシャーの正確確率検定で, また作業時間および各器具における Centering ratio については二元配置分散分析および Bonferroni 法による多重比較検定にて, それぞれ有意水準 5% で統計解析した.

【結果】根管形成中のエラーは, NiTi 群では学生で 1 根管 (アンダー形成) に対して, 経験者では生じなかった ($p > 0.05$). K ファイル群では学生で 28 根管に生じ (レッジ 25 根管, ファイル破折 2 根管, アンダー形成 1 根管), 経験者の 1 根管 (レッジ) と比較して有意に高頻度であった ($p < 0.05$). 作業時間は, 両器具ともに経験者が学生と比較し有意に短く ($p < 0.05$), また学生では NiTi 群が K ファイル群より有意に短時間であった ($p < 0.05$). 一方, 経験者では両群で差を認めなかった ($p > 0.05$). Centering ratio は, NiTi 群と K ファイル群ともにすべての測定点で経験者が学生と比較し, 有意に小さい値 (根管の偏位が小さい) となった ($p < 0.05$).

【考察】K ファイル群におけるエラー発生頻度, および両器具における形成時間と centering ratio については, いずれも学生が経験者より有意に大きい値であり, 適切な知識および訓練による器具操作の習熟度向上により彎曲根管の形成の精度や効率が高まることが示唆された. 一方, NiTi ファイル群でエラーの発生頻度に術者間の差はみられず, 特にレッジ形成例は術者によらず皆無であったことから, NiTi ファイルは術者の経験によらずレッジ形成の回避に有用と考えられた.

【結論】彎曲根管の形成における作業時間, 根管追従性は両器具とも経験者が有意に良好な成績を示した. エラー発生頻度については K ファイルでは同様の傾向であったが, NiTi ファイルでは経験による差は認められなかった.

NaOCl および EDTA が根管象牙質に与える影響の形態学的評価 -根管系実験モデルを用いた検討-

大阪大学大学院歯学研究科歯科保存学講座

○川西 雄三, 前歯 葉月, 島岡 毅, 北谷 匠, 内藤 克昭, 高橋 雄介, 林 美加子

Morphological analyses of effects of NaOCl and EDTA on dentin using a root canal model

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

○KAWANISHI Yuzo, MAEZONO Hazuki, SHIMAOKA Tsuyoshi, KITATANI Takumi, NAITO Katsuaki,
TAKAHASHI Yusuke, HAYASHI Mikako

【研究目的】

根管形成後の象牙質表面に形成されるスミア層除去には次亜塩素酸ナトリウム溶液 (NaOCl) およびエチレンジアミン四酢酸溶液 (EDTA) を用いた根管洗浄が有効である (Violich DR, *Int endod J*, 2010). 一方, EDTA の長時間の使用や他の根管洗浄液の使用順序により, 根管象牙質の過脱灰を引き起こすことが指摘されており, 象牙質の強度低下につながる可能性があるとされている (Qian, *J Endod*, 2011). しかし, 根管洗浄液を用いた根管象牙質表面のスミア層除去や脱灰の形態学的評価に関する報告は, 象牙質ブロックを洗浄液に浸漬後に評価する実験系モデル (浸漬系) が多く, 根管形態を維持し, 根管洗浄実施後に評価をおこなう実験モデル (根管系) を用いた報告は少ない. 本研究では, 臨床を模した根管系において, NaOCl と EDTA を用いて根管洗浄をおこない, 根管象牙質のスミア層除去能と脱灰能を形態学的に検討し, その結果を従来の浸漬系と比較することで, 根管系実験モデルの妥当性を評価することを目的とした.

【材料及び方法】

本研究は, 大阪大学大学院歯学研究科倫理審査委員会の承認を受け実施された (承認番号: R1-E44). ヒト単根抜去歯 (n=40) を用いた. 歯冠を削除し, 根管に 2.5%NaOCl を満たした状態で Ni-Ti ロータリーファイル (レイス, FKG DENTAIRE) を用いて #35 .06 テーパーまで根管形成を行った. 根管形成終了後, 以下の洗浄液・順序にて最終洗浄を行った. 根管形成, 根管洗浄を行っていないものを陰性対照群とした (各群 n=5).

G1: 10% クエン酸 5分 + 2.5% NaOCl 30秒 (陽性対照群) G2: 根管形成, 根管洗浄行わず (陰性対照群)

G3: 18% EDTA 1分 + 2.5% NaOCl 30秒

G4: 2.5% NaOCl 30秒 + 18% EDTA 1分

G5: 18% EDTA 10分 + 2.5% NaOCl 30秒

G6: 2.5% NaOCl 30秒 + 18% EDTA 10分

洗浄後の試料は歯軸方向に 2 分割し, 脱水, 蒸着後, 走査型電子顕微鏡 (SEM, JSM-6390LV, JEOL) で歯根中央部根管象牙質表面の任意の 3 ヶ所を観察した. 得られた画像を以下の項目で計測, 評価した.

① 単一視野において目視できた象牙細管の占める面積の割合: スミア層除去能および象牙質脱灰能

② 単一視野において目視できた 1 象牙細管あたりの平均面積: スミア層除去能および象牙質脱灰能

③ 単一視野において目視できた象牙細管数: スミア層除去能

また, 根管形成終了後に歯根象牙質からブロックを切り出し, 試料を G3, G4 と同様の洗浄液に浸漬した試料 (浸漬系) についても, 上記 3 項目の計測を行った. なお, 陰性対照群 (G2) と比較し, 単一視野における目視できた 1 象牙細管あたりの平均面積が有意に大きいものを過脱灰と定義した. 統計学的解析は有意水準 5%にておこなった.

【結果および考察】

根管系において, EDTA の使用順序の違い (G3 と G4 間, G5 と G6 間) では①~③すべてで有意差を認めなかった. EDTA の作用時間で比較すると 1 分間作用させた群 (G3, G4) より 10 分間作用させた群 (G5, G6) で①②に有意に大きな値が認められ, ③では有意差を認めなかった. 根管系と浸漬系を比較すると, 同じ洗浄方法を用いた際, ①~③すべての評価項目において浸漬系が有意に大きい値を示した. また, 過脱灰については根管系の EDTA を 10 分作用させた群 (G5, G6) と浸漬系全ての群で確認された. 以上の結果より, 根管洗浄液の使用順序はスミア層の除去能や象牙質脱灰能に影響を及ぼさないことが示された. 一方, EDTA の作用時間の延長は象牙質の脱灰能に影響を及ぼし, 過脱灰が引き起こされる可能性が示唆された. また, 浸漬系は臨床を模した根管系と異なる結果が得られたことから, 根管洗浄液の根管象牙質に与える影響を評価する際には, 根管系を用いることが適切であると考えられた.

本研究は JSPS 科研費 JP22K09998, JP22H03268, JP20H00552 の助成を受けたものです.

シングルポイント根管充填での根管シーラーの違いが根管封鎖性に及ぼす影響

¹岩手医科大学歯学部歯学研究科 歯科保存学講座 歯治療学分野

²岩手医科大学歯学部 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

Influence of endodontic sealers with single point technique for endodontic filling on sealing ability

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]

根管充填での緊密な根管封鎖は、再感染リスク低減に非常に重要な因子であり、予後に影響すると考えられている。近年、根管拡大および形成には、剛性の大きいステンレス鋼や剛性の小さいニッケルチタン合金のファイルが症例に応じて用いられている。ニッケルチタン合金製ローターリーファイルは根管に追従しやすいといわれており、比較的根管に相似した窩洞形成が可能とされている。一方、根管充填は根管シーラーを併用して複数あるいは単一の根管充填材を垂直加圧法や側方加圧法で行われる。近年、再現性に優れる規格窩洞形成が可能となり、シングルポイント法による根管充填が普及している。しかしながら、根管シーラーの種類がシングルポイント法による根管充填の封鎖性に及ぼす影響について比較検討した報告は少ない。

本研究では、シングルポイント法による根管充填において、根管シーラーの種類が根管封鎖性に及ぼす影響を調べるため色素浸透試験を行い、デジタル画像処理での数値化により封鎖性を比較検討した。

[材料と方法]

ウシ下顎前歯歯根を根尖から 16mm で切断し、根管を通法にしたがって ISO 規格#140 のステンレス鋼製ファイル (02 テーパー) で作業長 15mm とした窩洞を形成した。根管形成した歯根に同規格号数のガッタパーチャポイント (GP, GC) と根管シーラーを用いて根管充填した。根管シーラーは 3 種類の無機系シーラー (Canals (GC), ニシカキャナルシーラー N およびニシカキャナルシーラー BG (いずれも日本歯科薬品)) と 3 種類のレジン系シーラー (AH Plus jet (Dentsply Sirona), メタシール soft およびメタシール soft ペースト (いずれもサンメディカル)) を用いた。根管充填した歯根は 1 日間、37°C の湿潤環境に静置した。根管充填した歯根の根尖側を 1% トルイジンブルー水溶液に浸るようにし、37°C の恒温槽に 3 日間静置した。3 日後、歯根の根尖側から歯軸に対して垂直に 1mm 厚さの切断し、円板状試料 (4 枚) を得た (各根管シーラーで N=6)。得られた試料を根尖側から順に S1~S4 とし、デジタル顕微鏡で試料の両面を観察した。観察した画像の根管シーラーが充填されている領域 (SE 領域) と根管シーラー外周 20 μm の歯質領域 (DE 領域) を関心領域とし、画像解析ソフト (ImageJ, NIH) で解析し、面積比として着色部の割合を算出した。

統計解析は、無機系およびレジン系根管シーラー内での各シーラーの着色割合を Kruskal-Wallis 検定により、また歯根の根尖側から同一距離での無機系とレジン系シーラーの着色割合を Mann-Whitney U 検定により行った ($\alpha=0.05$)。本研究は岩手医科大学動物実験委員会の承認をうけて行った (#02-002 および #04-002)。

[結果]

S1 の根尖側では GP の先端部の形状が一定でなかったため S1 の歯冠側から色素浸透による着色割合を算出した。3 種類の無機系およびレジン系根管シーラーにおいて、シーラーの違いによる SE 領域および DE 領域での着色割合に有意差は認められなかった ($p=0.25$)。無機系根管シーラーでは調べた試料すべてにおいて SE 領域および DE 領域のいずれかに着色が認められ、その割合は約 80% であった。一方、レジン系根管シーラーでは S1 の歯冠側と一部の S2 の根尖側でのみ SE 領域および DE 領域にのみ着色が認められた。S2~S4 の根尖側および歯冠側のいずれ部位においても着色割合に有意差が認められた ($p=0.0003$)。

[考察]

本研究の色素浸透試験では、SE 領域および DE 領域のレジン系根管シーラーの方が無機系根管シーラーよりも着色割合は低い値であった。レジン系根管シーラーではシーラーの内部の低い色素浸透割合と象牙質とシーラーとの密着性が高いためと考えられる。したがって、レジン系根管シーラーは無機系根管シーラーより水溶性環境下で根管封鎖性に有利であることが示唆された。

歯髄幹細胞分化過程におけるクロマチンアクセシビリティ解析

東北大学 大学院歯学研究科 エコロジー歯学講座 歯内歯周治療学分野
○鈴木 茂樹, 佐藤 瞭子, 大道寺 美乃, 長崎 果林, 長谷川 龍, 根本 英二, 山田 聡

Changes in chromatin accessibility during induced differentiation of dental pulp stem cells

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

○Shigeki Suzuki, Akiko Sato, Yoshino Daidouji, Karin Nagasaki, Ryu Hasegawa, Eiji Nemoto, Satoru Yamada

<研究目的> ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬の多くは硬組織形成分化および硬組織形成に対して促進的に機能することから、骨芽細胞による骨組織形成のみならず、歯髄幹細胞 (dental pulp cells: DPSC) の象牙芽細胞への分化と歯髄/象牙質複合体再生においてもその利用が期待されている。ヒストン脱アセチル化酵素阻害薬の細胞への添加は、クロマチン局所におけるヒストンのアセチル化とクロマチンの弛緩状態を引き起こす。弛緩状態のクロマチン領域には転写複合体が容易にアクセスできることから、結果として近傍遺伝子の転写が促進される。このように、クロマチンアクセシビリティの変化はエピジェネティクスな遺伝子発現調節機構の中核をなしている。そこで本研究では、未だ明らかとなっていない、DPSC の硬組織形成分化過程における全ゲノム的なクロマチンアクセシビリティの変化を ATAC-seq で解析し、分化時に機能する細胞内シグナル、転写因子、近傍遺伝子間の発現調節を担うインシュレーターを探索し、歯髄幹細胞分化をエピゲノム変化から捉えることを目的とする。

<材料および方法> ヒト DPSC (human DPSC: hDPSC) 培養: hDPSC (Lonza, MD, USA) を指定の基礎培地 (PT-3005) で増殖後に、アスコルビン酸と β -グリセロリン酸添加 10% Fetal bovine serum (FBS)/DMEM 培地を用いて最長 24 日間培養し、alkaline phosphatase (ALP) 活性測定および alizarin S 染色で硬組織形成細胞への分化を 3 日毎に評価した。さらに、培養 0 日目および 12 日目に ATAC-seq 用サンプルの回収と調製を行った。バイオインフォマティクス解析: ATAC-seq ライブラリーシーケンスには illumina NovaSeq 6000 を用いた。得られたペアエンドリードに対して Trimmomatic を用いてトリミングの後に、Bowtie2 を用いてヒトゲノム配列 (hg38) にアライメントした。オープンクロマチンピーク抽出、サンプル間比較、各ピークの近傍遺伝子に対する Gene Ontology (GO) 解析には Homer を用いた。

<結果> hDPSC は培養 18 日目まで ALP 活性の上昇を示し、alizarin red S 染色は培養 21 日目より陽性であった。超音波破砕細胞から得られた ATAC-seq サンプルを negative control とし、培養 0 日目と培養 12 日目において有意なクロマチンピークをそれぞれ 45,493 個と 45,370 個同定した。これらのうち、38,020 個は培養 0 日目と培養 12 日目において共通のクロマチンピークであり、GO 解析において、Endocytosis, Ubiquitin mediated proteolysis など細胞機能の根幹をなす term が抽出された。培養 12 日目特異的なクロマチンピークに対する GO 解析では、Focal adhesion, Hippo signal pathway, Regulation of actin cytoskeleton など、細胞-基質間および細胞-細胞間の接着およびそれら依存性細胞内シグナルを示す term が上位で抽出された。培養 12 日目特異的なクロマチンピークに局在する転写関連因子結合配列を探索したところ、Hippo signal pathway を担う TEAD のみならず、RUNX, bZIP, Forkhead などの転写因子ファミリーが抽出された。さらには、インシュレーターとして機能する CTCF およびそのパラログ分子である Boris の結合配列が上位で抽出された。

<考察および結論> 歯髄幹細胞は分化誘導刺激に対する応答性エピゲノムとして、Hippo signal pathway を主とする細胞外環境由来刺激に関連するタンパク質をコードする遺伝子座のクロマチンアクセシビリティを上昇させることから、これら pathway の賦活化や pathway の標的タンパク質添加はヒストン脱アセチル化酵素阻害薬の効果を増強できる可能性がある。インシュレーターである CTCF のクロマチン局所への結合は、結合部位周辺のクロマチン高次構造を変化させることでゲノム上に区切りを作製し遺伝子発現を制御することが知られている。このような背景から、hDPSC の分化には各クロマチン領域においてインシュレーターが担うエピジェネティクスな遺伝子発現制御機構が存在しており、その包括的理解により、hDPSC の効率的な象牙芽細胞への分化誘導法が確立できる可能性が示された。

Nd:YAG レーザーとレスベラトロールを用いた
Enterococcus faecalis に対する光線力学療法の抗菌効果について—第2報—

松本歯科大学¹ 歯科保存学講座, ² 口腔細菌学講座

○森川雅己¹, 三好弥恵¹, 岩崎拓也¹, 水谷莉紗¹, 吉田明弘², 増田宜子¹

Photodynamic Therapy with Resveratrol and Nd:YAG Laser for Elimination of
Enterococcus faecalis -2nd report-

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

○Masaki Morikawa¹, Yae Miyoshi¹, Takuya Iwasaki¹, Risa Mizutani¹, Akihiro Yoshida², Yoshiko Masuda¹

レスベラトロールは赤ワインに多く含まれているポリフェノールである。レスベラトロールは DNA の修復、アポトーシス、代謝、炎症などの生物学的なプロセスを調整し健康を増進させることが知られている。近年レスベラトロールの歯髄幹細胞に対する抗炎症作用も報告されている (Feng-Ming Wang et al, Arch Oral Biol, 97: 116-121, 2019)。*Enterococcus faecalis* は、難治性根尖性歯周炎症例でしばしば認められるグラム陽性菌である。われわれは、第153回学術大会において赤ワイン中のレスベラトロールを用いた光線力学療法の有効性を報告した。

【目的】今回、Nd:YAG レーザーとレスベラトロールを用いた光線力学療法の *E. faecalis* に対する抗菌効果についてレスベラトロールを BHI (brain heart infusion) 培地と赤色素 (う蝕検知液) を用いて *E. faecalis* の抗菌効果を解析した。その際、菌液に直接レーザーを照射したものとレーザーを照射した溶媒に細菌を混ぜたものとの抗菌効果を比較し解析した。

【材料と方法】*E. faecalis* (American Type Culture Collection BAA-2128TM) とレスベラトロールを用い薬剤感受性試験を行った。*E. faecalis* を BHI 培地 5 ml に 37°C にて 24 時間培養し MacFarland 比濁法によって 0.2 (OD=600) に調整した。レスベラトロールの溶媒として BHI 培地もしくは赤色素添加 BHI 培地を用いた。溶媒にレスベラトロール (100 mM, 22.8 mg/ml) を添加した液 200 μ l を 1.5 ml のマイクロチューブに入れレーザーを照射した。実験群 A-1: 溶媒に細菌を入れた後にレーザーを照射した群, ①溶媒のみ, ②溶媒に Nd:YAG レーザーを 140 mJ/pulse, 25Hz, 3.5 W, 1 分間照射, ③溶媒に 20 μ l のレスベラトロール (100 mM, 22.8 mg/ml) を添加し Nd:YAG レーザーを 140 mJ/pulse, 25 Hz, 3.5 W, 1 分間照射。レーザーの波長は 1064 nm で Fiber の直径は 0.4 mm を用いた。チューブの底から 6 mm の距離から溶媒の中に照射した。これらの菌液を用い希釈法にて抗菌力を評価した。

培養後、完全に発育が阻止された最小の濃度 (最小発育阻止濃度, MIC) を調べた。

さらに MIC の菌液を 10^{-4} に希釈した。50 μ l の菌液を BHI 寒天プレートに播き 37°C、24 時間培養しコロニーを数えた。

A-2: 溶媒に赤色素添加 BHI 培地を用いて同様に行った。

B: 細菌の入っていない溶媒にレーザーを照射した後に細菌を加えた群, 同様に②③を行った。

【結果】レスベラトロールを用いたレーザー照射でレスベラトロール単独、レーザー単独より多くのコロニー数の減少が認められた。赤色素を用いた方のコロニー数が少なかった。菌液に直接レーザーを照射した方のコロニー数が少なかった。菌液に直接レーザーを照射する方が、抗菌効果が高いことが示された。

【考察および結論】Nd:YAG レーザーとレスベラトロールに BHI 培地を溶媒として用いた光線力学療法によって *E. faecalis* 菌を除去出来ることが示された。以上の結果から、根管洗浄の補助療法としてレスベラトロールを用いた光線力学療法を行う際に根管内にレーザーを照射し、赤色素を用いることが有効であると示唆された。高齢者への使用や溶媒に関して今後検討していく予定である。

水酸化カルシウム製剤の違いによる支台築造用レジンの接着強さへの影響

株式会社ジーシー 研究所
○三谷 将弘, 野村 文子, 塚本 雅子, 篠崎 裕

Influence of types of calcium hydroxide reagents on bonding strength of resin core material

R&D Department, GC Corporation.

○MITANI Nobuhiro, NOMURA Ayako, TUKAMOTO Masako, SHINOZAKI Yutaka

【緒言】

水酸化カルシウムは高いpHにより殺菌作用があることその他、硬組織の形成促進作用があるとされ、水酸化カルシウムを主成分とする水酸化カルシウム製材は根管貼薬材として広く用いられる。しかしその一方で水酸化カルシウム製材による高いpHによってアルカリ環境に曝露された根部象牙質は本来の象牙質とは異なると考えられる。

我々は水溶性の増粘剤を配合し洗浄除去性に優れた(第43回日本歯内療学会学術大会, 2022年)新たな水酸化カルシウム系歯科根管充填材料としてジーシー カルフィー・ペーストを開発した。

本研究で我々はジーシー カルフィー・ペーストの他、3種類の水酸化カルシウム製剤で処理した根部象牙質への支台築造用レジンの接着強さに及ぼす影響について知見を得たので報告する。

【材料と方法】

被験製剤は、ジーシー カルフィー・ペースト(ジーシー昭和薬品)を含む市販のカルシウム系歯科根管充填材料・計4種を用いた。各製剤を牛歯の根部象牙質に塗布し、37℃湿潤環境下で1週間静置した後、超音波による洗浄または、EDTA及び次亜塩素酸による交互洗浄を行い、洗浄後のペーストの残存状態を走査型顕微鏡により観察した。超音波による洗浄は蒸留水中で30秒間洗浄し、交互洗浄は次亜塩素酸20mLで洗浄後、3%EDTA 5mLで2分間洗浄し、再度次亜塩素酸20mLで洗浄した。

洗浄後の根部象牙質に接着させる支台築造用レジンに「ユニフィルコア EM」(ジーシー)を用い、接着剤に「G-プレミオボンド」(ジーシー)と「G-プレミオボンドDCA」(ジーシー)の1:1の混和液を用いて、試験試料を作製し、島津小型卓上試験機EZ-Testにてせん断接着試験を行った。得られたせん断接着強さは、塗布後の洗浄が同じ系で一元分散分析を行った後、Tukeyの多重比較検定を行った($\alpha=0.05$)。

【結果と考察】

せん断接着試験の結果を下記の図に示す。

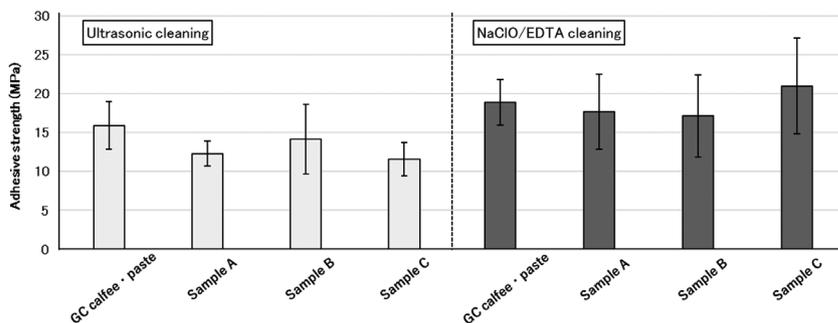


Fig. adhesive strength of resin core material

塗布後の洗浄が同じ系においては4種の水酸化カルシウム製剤間でせん断接着強さに有意な差は認められなかった($p>0.05$)。その一方で、超音波洗浄した各試料のせん断接着強さは約14MPaで、EDTAと次亜塩素酸を使用して交互洗浄処置した各試料は約19MPaであり、せん断接着強さが上昇する傾向にあった。これは根管に充填された各製剤を洗浄する際に根管のスミアと一緒に除去されることで、せん断接着強さが高くなったと考えられる。

他方、せん断接着試験後の破壊様式を確認したところ、すべての試料は混合破壊の結果となり、薬剤の残存が認められた。

【結論】

評価に供した4種の水酸化カルシウム製剤において、今回確認した洗浄方法では洗浄後も被験製剤が残存していた。また、今回使用した4種の水酸化カルシウム製剤間においては支台築造用レジンと根部象牙質の接着に差がないことを確認した。

ナノハイドロキシアパタイト含有 4-META/MMA-TBB レジンが血管内皮細胞に及ぼす影響

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

Effects of 4-META/MMA-TBB resin with hydroxyapatite on endothelial tube formation and cell proliferation

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology,
Fukuoka Denatal College¹,

Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College²

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

【目的】

歯根尖切除法において実施される逆根管充填において、封鎖性や安定性に加えて生体適合性、すなわち治癒に関わる細胞の賦活化を有する充填材料を用いることは、治療に有用である。創傷治癒の過程で生じる血管内皮細胞による血管新生は、骨形成に深く関与することが知られており、歯根尖切除後の根尖部創傷治癒においても血管新生は重要であると考えられる。我々はこれまでに、既存の逆根管充填材料である 4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride/methyl methacrylate-tri-n-butyl borane (4-META/MMA-TBB) レジン、強化型酸化亜鉛ユージオールセメント (EBA セメント)、mineral trioxide aggregate (MTA) (本邦では歯髄創傷面にのみ適応認可) および今後逆根管充填材料としての応用が期待される生体活性ガラス配合製材が、血管内皮細胞の増殖と血管新生に及ぼす影響について検討した (Hirose H et al., J Dent Sci, 2022)。そのうち 4-META/MMA-TBB レジンは、早期から血管新生に促進的な役割を果たすことを明らかにした。そこで今回、4-META/MMA-TBB レジン (Super-bond: SB) に、優れた硬組織誘導性と生体親和性を有するナノハイドロキシアパタイト (naHAp) を含有した新規材料 naHAp/SB を用いて、血管内皮細胞の増殖と血管新生に及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】

実験には、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC: PromoCell, Germany) を使用した。naHAp を 0, 10, 30, 50 % 含有する naHAp/SB を作製した。各材料は直径 5mm、幅 2mm の円柱形ディスク内で成形、96 穴ウェルプレート内に静置し、37°C、5% CO₂ インキュベーター内で 24 時間硬化させた。その後、細胞培養メディウム (Endothelial Cell Basal Medium: PromoCell) を各ウェルに入れ、インキュベーター内で 1 日または 7 日間浸漬し、20 倍希釈したものを試料メディウムとした。細胞増殖能は、HUVEC を試料メディウム中で 1~7 日間培養し、細胞数をカウントした。血管新生は、HUVEC を試料メディウム中で 24 時間培養し、Endothelial Tube Formation Assay (Cell Biolabs, Inc., USA) を用いて管腔形成数を評価した。管腔形成数はカルセイン染色を行い、蛍光顕微鏡 (BZ-X710: キーエンス) 下でカウントした。

【結果と考察】

細胞増殖においては、浸漬 1 日の試料メディウムでは、10, 30, 50 % naHAp/SB のいずれも、SB と同程度かやや少ない傾向を示した。浸漬 7 日の試料メディウムでは、30, 50 % naHAp/SB は、SB と比較して多い傾向を示し、10 % naHAp/SB は SB より少ない傾向を示した。管腔形成において、浸漬 1 日、7 日のいずれの試料メディウムにおいても、10, 30 % naHAp/SB は、SB と比較して管腔形成数は同程度~多い傾向を示したが、50 % naHAp/SB では少ない傾向を示した。

生体内に留置する材料については生体適合性が求められる。本研究結果から 10, 30, 50 % naHAp/SB は血管内皮細胞への細胞毒性は低く、10, 30 % naHAp/SB では、SB と同程度かそれを上回る血管新生促進傾向を認めたことから、SB 同様に生体適合性があると言えるだろう。逆根管充填後の治癒過程では、血管内皮細胞による血管新生、骨芽細胞による骨新生、根尖部に存在する幹細胞の賦活化による新生セメント質の形成と歯根膜の再生が重要である。治療成績の向上には、材料の封鎖性が重要であることはいままでもないが、血管新生を伴う周辺組織との一体化や治癒促進効果を持つような bioactive な材料が望まれる。今後、naHAp/SB による血管新生に伴う骨形成に及ぼす影響や、細胞内シグナル経路の探索を実施していく予定である。

【謝辞】

本研究に試料を提供していただきましたサンメディカル株式会社 (滋賀県) 三浦善広様、久保田順子様に心より感謝申し上げます。

側枝検出機能を有する根管長測定器の機能解析

¹⁾神奈川歯科大学 歯科保存学講座 歯内療法学分野
○山根雅仁¹⁾、山崎詩織¹⁾、附田孝仁¹⁾、武藤徳子¹⁾、石井信之¹⁾

Analysis of lateral canal detection with electronic root canal length measurement device

¹⁾Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○YAMANE Masahito¹⁾, YAMAZAKI Shiori¹⁾, TSUKUDA Takato¹⁾, MUTOH Noriko¹⁾,
TANI-ISHII Nobuyuki¹⁾

【目的】 歯内療法の対象疾患である歯髄炎と根尖性歯周炎の治療には、複雑な解剖学形態を有する根管を經由して治療を行う必要がある。根管形態は、同一歯種の主根管であってもクラス分類があり、さらに、側枝、イスマスおよびフィン形態等を有している。特に側枝は、機械的拡大が不可能で細菌感染源となることが示されている。上下顎犬歯の側枝分布は、根尖側 1/6 に約 70% を示し、その 50% は唇側に開口部が位置している。また上顎側切歯の側枝ではマイクロ CT を用いた三次元診断において、唇側に開口部が存在することが報告されている。そのため、術前デンタル X 線撮影では、近遠心方向に走行する側枝を確認可能であるが、頬舌方向の側枝の確認は困難である。根管内感染源除去のためには必須の操作である化学的洗浄は、機械的拡大が及ばない根管深部、狭窄部位にはその洗浄効果は十分でないと考えられている。人工歯模型を用いた側枝に対する洗浄効果を解析した研究では、シリンジ法で側枝内洗浄効果が低いことが報告されている。そのため側枝の位置を把握したうえで、超音波器具により根管壁を開口させることで、洗浄効果を高めることが重要である。本研究では、電気抵抗値変化で確認可能な根管長測定器「ジャスティ IV YOSHIDA」の側枝検出機能をヒト抜去歯を用いて解析することを目的とした。

【材料および方法】 本研究は神奈川歯科大学医学系研究倫理審査委員会の承認を得て実施した(番号 898)。供試したヒト抜去歯は、ScanXmate-L080(コムスキャンテクノ, 神奈川)を用いてマイクロ CT 撮影を実施後、側枝の形態を観察した。側枝の有無を判別後、側枝の形態特徴を分析した。測定方法は、ジャスティ IV 本体とジャスティ IV に搭載基盤による抵抗値で実施した。いずれも口腔領域と同程度の電気的抵抗環境が再現可能な Endo Training Model Castillo(VDW, ミュンヘン, ドイツ)と生理食塩水、次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いて行われた。ジャスティ IV 本体を用いた測定は、抜去歯を実際の臨床に従った手順で測定を実施した。ジャスティ IV 搭載されている基盤を用いた測定では、側枝検出位置の電気抵抗測定が得られ、直読ハイトゲージ(Mitutoyo, HW-30 192-130, 神奈川)を用いて、検出位置の距離を正確に測定した。解析方法は、マイクロ CT データによる根尖孔から側枝までの距離とジャスティ IV 本体で検出された距離、ジャスティ IV 搭載基盤で検出された距離での関連性を比較検討した。

【結果】 本研究では、ヒト抜去歯をマイクロ CT の撮影画像を基に、側枝の位置関係および形態を正確に分析した。分析結果は先行研究結果と一致したものを対象とし、特異性のあるヒト抜去歯は測定から除外した。測定結果として、マイクロ CT データより得られた根尖孔から側枝までの距離とジャスティ IV で検出された根尖孔から側枝までの距離、ジャスティ IV 搭載基盤より得られた根尖孔から側枝までの距離の 3 つの比較において有意な差は認められなかった。また、ジャスティ IV 搭載基盤より得られた観測値から指示値が算出され、側枝形態接触時の指示値に一定の特徴が認められた。

【考察】 マイクロ CT による正確な側枝形態と位置を観察し、ジャスティ IV 本体とジャスティ IV 搭載基盤を用いることで、精密な側枝検出機能の解析が可能であることが示された。今後は、特異性のある側枝検出や再現性のある側枝検出機能を有する次世代根管長測定器の改良を遂行する。

インドシアニングリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーを用いた抗菌光線力学療法の *Candida albicans* に対する殺菌効果

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座¹⁾、歯周病学講座²⁾
○樋口直也¹⁾、藤田将典¹⁾、小野皓大²⁾、林潤一郎²⁾、三谷章雄²⁾、福田光男²⁾、諸富孝彦¹⁾

Bactericidal effect for *Candida albicans* by aPDT with ICG nanosphere and diode laser
Departments of Endodontics¹⁾ and Periodontology²⁾, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○HIGUCHI Naoya¹⁾, FUJITA Masanori¹⁾, ONO Kodai²⁾, SASAKI Yasuyuki²⁾, HAYASHI Jun-ichiro²⁾,
MITANI Akio²⁾, FUKUDA Mitsuo²⁾, MOROTOMI Takahiko¹⁾

[目的]

近年、光感受性物質を特定波長の光線で励起することで、惹起される一重項酸素により殺菌する抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy : aPDT) の歯科への応用が注目されている。これまで、我々は、生体に安全な光感受性物質であるインドシアニングリーンを封入したナノ粒子 (ICG-Nano/c) を作製し、半導体レーザー (波長 810nm) により励起する aPDT の歯内治療および歯周治療への応用について検討してきた。その中で、歯内治療においては通性嫌気性菌である *Enterococcus faecalis* を対象として基礎的研究を行ってきた。

今回、*E. faecalis* と同様に難治性根尖性歯周炎との関連が疑われている *Candida albicans* に対する殺菌効果を検討し、興味ある知見を得たので、報告する。

[材料および方法]

①aPDT による殺菌効果の確認

菌株として *C. albicans* ATCC10231 を使用し、 1.0×10^8 CFU/ml となるまで培養し、実験に用いた。ICG-Nano/c は終濃度 10mg/ml になるように調整した。対照群として *C. albicans* のみの群、*C. albicans* に ICG-Nano/c を添加したがレーザー照射を行わない群、ICG-Nano/c を添加しないで *C. albicans* にレーザー照射を行った群、aPDT 群 (*C. albicans* に ICG-Nano/c を添加し、レーザー照射を行った群) に分け、aPDT の殺菌効果を調べた。レーザーは、温度上昇を抑制するために、エアブロー冷却 (2.0L/min) 下で間欠照射 (60 秒照射ごとに 10 秒間休止) を行った。試料より 10mm 上方からレーザーを照射後、段階希釈法により BHI 寒天培地上で各群の生菌数をカウントし、比較検討を行った。

②照射出力による殺菌効果の比較

C. albicans を①と同様に培養し、レーザーの照射条件を、照射時間 3 分、RPT モード (Duty cycle 50%, 100ms) に設定し、エアブロー冷却 (2.0L/min) 下で間欠照射を行った。照射出力は、0.7, 1.4, 2.1W とした。レーザーを照射後、同様に段階希釈法により各群の生菌数をカウントし、比較検討を行った。

③照射時間による殺菌効果の比較

C. albicans を①と同様に培養し、レーザーは、エアブロー冷却 (2.0L/min) 下で間欠照射を行った。照射時間は、1, 3, 5 分間とした。レーザーを照射後、同様に段階希釈法により各群の生菌数をカウントし、比較検討を行った。

[結果]

aPDT 群において検出細菌数の著大な減少を認め、殺菌効果を示した。0.7W 以上の照射により、検出細菌数の有意な減少を認めた。また、1.4W 以上の照射により、より著明な検出細菌数の減少がみられ、照射出力の増加に伴い、検出細菌数の減少が認められた。さらに、照射時間の増加に伴い、検出細菌数の減少が認められた。

[結論]

インドシアニンググリーン封入ナノ粒子と半導体レーザー (波長 810nm) を用いた aPDT は、*C. albicans* に対する殺菌効果を示すこと、照射出力および時間の増加に伴い、殺菌効果が増強することが明らかとなった。

歯髄血管再生療法後の組織学的変化:長期例での形態学的検討

東京歯科大学保存修復学講座
○五十嵐 章智, 駒田 朋昭, 三友 啓介, 村松 敬

Histological changes after pulp revascularization: long term observation
Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology, Tokyo Dental College
○IKARASHI Takatoshi, KOMADA Tomoaki, MITOMO Keisuke,
MURAMATSU Takashi

【緒言】

近年, 根未完成失活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, 歯根の伸長と根管の狭小化, そして知覚の改善が報告されている。

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, その詳細な治癒過程を検討してきた (Komada et al., Front Dent Med 2022)。その結果, 根尖部の歯根膜由来細胞や毛細血管が根管内へ侵入・増生し, 新生硬組織形成を生じることが明らかとなった。しかし, その長期的な治癒形態ははまだ明らかではない。

そこで本研究では, 歯髄血管再生療法後の長期的な治癒過程を組織学的に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, 上顎右側第一臼歯 (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路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。血餅上部を MTA セメント (Bio MTA セメント, モリタ社) で被覆し, 窩洞をフロアブルコンポジットレジン (クリアフィルマジエスティ ES フロー, クラレノリタケデンタル社) で封鎖した。術後 1 時間, 1 か月, 3 か月, 6 か月に 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。対照群は反対側の上顎左側第一臼歯 (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, 根管内に歯髄組織は認められず血餅様構造物が観察された。根尖部には挫滅した根尖組織を認めた。術後 1 か月では, 根管内に紡錘形や多数の突起を有した線維芽細胞と毛細血管を認めた。また根管壁周囲には, 根尖部の有細胞セメント質と連続した新生硬組織を認めた。術後 3 か月では, 根管内の大部分が新生硬組織により置換され充満する像が観察された。一方, 根尖組織の根管内への侵入を認めたものの, 細胞成分はわずかで血管様構造を呈していた。また, 根尖部において有細胞セメント質の肥大化を認めた。術後 6 か月では, さらに細胞成分の減少を認め, 根管は新生硬組織で密に満たされていた。また, 根尖組織の侵入を示す像は認められなかった。

今回, 歯髄血管再生療法の一連の治癒過程において, 根管内は新生硬組織によって完全に置換されることはなく, 一部細胞成分を有していることが明らかとなった。また, 根管内に形成された新生硬組織は, 根尖部セメント質と連続性を有し, 周囲歯槽骨とは非連続性であった。以上より, 歯髄血管再生療法後の長期例においても, 根管内に形成された新生硬組織が骨ではなく, セメント質であることが示唆された。

陥入歯 (Oehlers の分類 IIIa 型) である上顎中切歯に感染根管治療を行なった一症例

大阪大学大学院歯学研究科歯科保存学講座

○井上愛弓, 川西雄三, 林 美加子

Root canal treatment of maxillary central incisor with dens invaginatus of Oehlers type IIIa

:A case report

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

○INOUE Ayumi, KAWANISHI Yuzo, HAYASHI Mikako

【緒言】

陥入歯とは、歯冠象牙質が表層エナメル質とともに歯髄腔内に陥入した形態異常歯である。その根管形態は複雑であり、陥入の深度は治療の難易度につながるとされている。今回は、根管内および陥入部の感染源を機械的および化学的に除去し良好な治癒経過を得られた症例を報告する。

【症例】

患者: 10歳 女児 主訴: 上顎前歯部の違和感

現病歴: 2020年12月に上顎左側中切歯に拍動性の自発痛を訴え、近医にて抜髄処置が行われた。患歯は陥入歯であることから近医での治療が困難と判断され、大阪大学歯学部附属病院保存科へ紹介され、受診に至った。

現症: 上顎左側中切歯は髓腔開拓後に水酸化カルシウム製剤が貼葉され、カルボキシレートセメントにて仮封されていた。打診痛を認めたが、自発痛、圧痛、瘻孔、歯周ポケットは認めなかった。デンタルX線画像および歯科用コーンビームCT (以下CBCT) 画像より、根尖部に透過像を認め、頰側の皮質骨は消失していた。

診断: 上顎左側中切歯 慢性根尖性歯周炎 陥入歯 (Oehlers の分類 IIIa 型)

(AAEの診断名 Pulpal: Previously initiated therapy Apical: Chronic apical periodontitis)

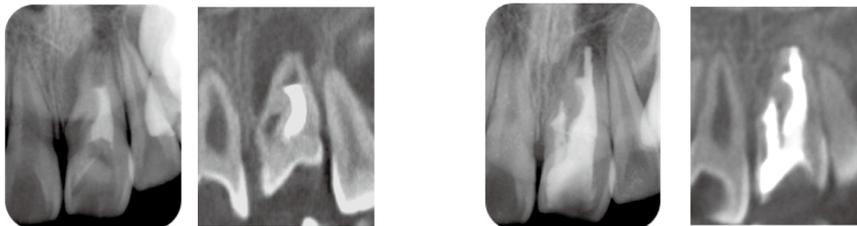
治療方針: 上顎左側中切歯の陥入部を含む感染根管治療

【治療経過】

ラバーダム防湿下にて歯冠部の感染象牙質を除去したところ、陥入部を認めた。ダイヤモンドバー、スチールバー、および超音波装置を用いて根管、陥入部の上部拡大を行なった後、根管と陥入部ともに電氣的根管長測定を行った。根管は根尖が開大していたためKファイルで110号まで、陥入部はHyflex EDMで50号まで根管形成した。マスターポイントを試しデンタルX線画像撮影を行った後、25号のHファイルで全周ファイリングを行った。根管洗浄は2.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液、EDTAと超音波装置、XPエンドフィニッシャー、Er:YAGレーザーを併用し、根管貼葉には水酸化カルシウム製剤を使用した。ペーパーポイントにて根管乾燥後、Bio-C Sealerを用いて根管は側方加圧根管充填、陥入部は単一ポイント根管充填を行った。最終修復はコンポジットレジンにて行った。根管充填後に特記すべき臨床症状は認めず、術後12ヶ月の経過観察時デンタルX線画像およびCBCT画像では、上顎左側中切歯根尖部透過像の消失を認め、頰側の皮質骨の新生も認めた。

【考察】

陥入歯は上顎側切歯が好発部位 (発生率0.25~10%)と報告されているが、本症例は中切歯に発生している稀な症例であり、陥入部が根中央部に歯周組織と交通した複雑な形態を呈するOehlersの分類IIIa型であった。今回はCBCT画像にて術前に三次元的構造を把握した後、マイクロスコープを用いて感染歯質を除去し、機械的な清掃が困難な部位に対して補助的器具を用いて化学的清掃を行なったことで、良好な治癒につながったと考えられる。



Before treatment 2020.12

1 year after RCF 2023.3

中心結節の破折を生じた根未完成歯に対するアペキシフィケーションの応用

- 1) 東北大学大学院歯学研究科エコロジー歯学講座歯内歯周治療学分野
- 2) 奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯周病学分野
○須藤瑞樹^{1,2)}、石幡浩志¹⁾、高橋慶壮²⁾

A case report: Apexification for immature permanent tooth by fractured central cusp

- 1) Division of Periodontology and Endodontology, Department of Ecological Dentistry, Tohoku University Graduate school of Dentistry
- 2) Division of Periodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry
○Mizuki Suto^{1,2)}, Hiroshi Ishihata¹⁾, Keiso Takahashi²⁾

【緒言】下顎第二小臼歯に約1%の頻度で発生する中心結節は歯の形態異常による異常結節で咬合面中央部に出現する円錐状または短棒状の小突起であり、突出した結節内には歯冠部歯髄があるため、この結節に破折を生じると口腔内に歯髄が露出し、口腔常在菌に曝露され歯髄炎が惹起され場合によっては経過とともに根尖性歯周炎へと移行していく。本症例では歯根完成以前の幼若永久歯の際に中心結節破折により根尖性歯周炎が惹起された下顎左側第二小臼歯にアペキシフィケーション処置を施した結果、開大した根尖孔部は閉鎖し、周囲骨組織は良好な治癒傾向を示したことから、その症例と治癒経過について報告する。

【症例】患者：16歳、女性。初診時：2016年6月。

主訴：下顎左側第二小臼歯部の精査。

全身既往歴：特記事項なし。

現病歴：11歳（小学校5年）の時に中心結節の破折を生じたが、違和感や軽度の疼痛程度の症状であったためそのまま放置していた。2016年6月に矯正治療希望のため近医を受診。エックス線上で下顎左側第二小臼歯根尖部に透過像を認めた。今後矯正治療を控えているとのこともあり専門的な治療が必要と判断され、当科受診となった。

臨床所見：顔貌の非対称性や腫脹は認めなかった。患歯咬合面には中心結節破折、頬側には sinus tract を認めた。自発痛（－）、打診痛（±）、根尖部圧痛（－）、動揺度（0度）、プロービング深さは全周3mm以下であった。歯髄電気診にて生活反応はみられなかった。

エックス線所見：デンタルエックス線写真では患歯は根未完成歯であり、根管腔は広く、近心側では歯槽骨骨頂付近から根尖部にかけて直径約5mm×18mmの類円形状の透過像が広がっており、頬側 sinus tract へと通じる直径3mm程度の皮質骨実質欠損も認めた。パノラマエックス線写真では患歯の根尖部にのみ透過像が観察された。

【診断】歯根未完成歯の慢性化膿性根尖性歯周炎

【治療方針】アペキシフィケーションを併用した感染根管治療

【治療経過・予後】2016年7月、冠部歯髄腔に穿通後、根管内より排膿を伴う出血が認められたため、根管開放とした。2週後、根管からの排膿・出血が消失したためKファイルを用いての機械的清掃および次亜塩素酸ナトリウム溶液による化学的清掃を行い、水酸化カルシウム製剤（ウルトラカル/ウルトラデント）を貼薬した。2016年11月、頬側 sinus tract が消失傾向であったため水酸化カルシウム製剤（ビタペックス/ネオ製薬工業）を根管の中央部付近まで填入した。2018年7月、エックス線上では根尖部に硬組織（アピカルバリア）と考えられる透過像が観察された。2020年3月より矯正治療開始。矯正治療中も臨床症状はなくエックス線所見でも異常は認められなかった。2021年7月、根尖部の透過像は消失し、根尖には厚いアピカルバリアが形成され歯根形態が明瞭となり骨組織の回復も良好であるため、MTAセメント単独にて根管充填しコンポジットレジン充填を行った。現在は矯正治療も終了し術後約7年経過しているが臨床症状は出現しておらずCBCT検査を含むエックス線所見でも異常は所見なく経過良好であると判断した。

【考察および結論】本症例では根未完成の時期に中心結節の破折を生じており根尖孔部が開口していたため通常のアピカルシート形成を行い根管充填する処置は困難であったため水酸化カルシウム製剤であるビタペックスを貼薬したアペキシフィケーションを行った。根尖の閉鎖にはHertwing上皮鞘を機能低下させないことが重要となってくる。そのため強アルカリ性で細胞傷害を引き起こす水酸化カルシウム製剤を根尖孔外へ溢出しないよう配慮を行った。その結果根尖部のアピカルバリアの形成と共に実質欠損を伴う頬側皮質骨の再生など歯周組織の改善を認め、良い治癒経過を得ることができた。しかし、アペキシフィケーションでは根管壁の厚みを増すことはできないため、今後歯根破折に対して経過を追っていく必要があると考えられる。

外部性歯根吸収した下顎大白歯の意図的再植に、 フロー型 MTA セメントを応用した症例

¹医療法人社団 DBH デンタル文京白山

²東京医科歯科大学病院歯系診療部門 歯科総合診療領域 歯科総合診療科

○丸山 起一¹、荒木 孝二²

Intentional reimplantation of mandibular molar with external root resorption applying flowable mineral trioxide aggregate : A Case Report

¹Medical corporation DBH, Dental Bunkyo Hakusan.

²Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital, Tokyo Medical and Dental University.

○Kiichi Maruyama, Koji Araki.

キーワード：意図的再植、外部性歯根吸収、フロー型 MTA セメント

【緒言】

外部性歯根吸収は様々な原因で発症することが知られており、発生原因によりいくつかに分類されている。本症例では、感染・炎症が原因の外部性歯根吸収である、External Inflammatory Root Resorption(EIRR)により、通常の根管治療では治療困難な下顎大白歯に対して、フロー型 MTA セメントを用いて意図的再植を行った症例を報告する。

【症例】

患者：50 歳男性

初診：2022 年 6 月 16 日

主訴：左下の歯ぐきが腫れて痛い、前医に抜歯するしかないと言われた

全身的既往歴：特記事項なし

現病歴：2 年ほど前から下顎左側臼歯部の歯肉に違和感を感じていた。1 ヶ月前に同部の歯肉腫脹と咬合痛を自覚したため、2022 年 6 月 4 日近医を受診したところ、治療不可能なので抜歯と言われた。歯を保存する方法がないか相談を希望し、当院を受診した。

現症：下顎左側第一大臼歯の頬側歯肉が腫脹しており、歯肉圧痛および打診痛を認めた。頬側中央部の歯周ポケット深さ (Probing depth: PD) は 8mm であり、プロービング時の出血 (Bleeding on probing) と排膿を認めた。同歯の他部位の PD は 3mm 以下であった。

デンタルエックス線写真では下顎左側第一大臼歯の根尖に小指等大の透過像を認めた。さらに根尖病変の広がりや歯根・根管形態を 3 次的に精査するために、患者の同意を得て歯科用コーンビーム CT (CBCT) を撮影した。CBCT 所見では、同歯の遠心根尖に歯根吸収を認め、病変は下顎管・下顎左側第二大臼歯の近心根尖まで広がっていた。

診断：下顎左側第一大臼歯 慢性根尖性歯周炎、外部性歯根吸収

治療経過：外部性歯根吸収のため遠心根の根尖が開大しており、再根管治療では感染源の除去と根管の封鎖が困難であると考え、意図的再植と MTA セメントを用いた逆根管充填を行う方針とした。患歯を慎重に抜去したところ、遠心根尖が吸収しており肉芽組織が陥入していた。近心根の破折ファイル除去、遠心根の感染源の除去を目的とし、近遠心の根尖を約 3mm 切除した。さらにエンドセム MTA premixed (ペントロンジャパン) を用いて逆根管充填を行い、炎症性肉芽組織を掻爬した抜歯窩に患歯を再植、固定した。術後 6 ヶ月時点で炎症所見は認められず、PD は全周 3mm に改善した。デンタルエックス線写真においても根尖の不透過性の充進を認めた。

【考察】

本症例では、意図的再植により歯根吸収した部位の感染源を確実に除去し、逆根管充填により根管内を密封することが重要であると考えた。MTA セメントは硬化膨張による高密封性、抗菌性、生体適合性、石灰化組織の形成誘導能力をもつことから、逆根管充填材料として良好な結果が報告されている。今後も長期経過を観察していく必要がある。本発表における MTA セメントの適用外使用は、本学会の倫理委員会の承認の下、患者の同意を得て行なった。

S 字状根管に対して CBCT および Ni-Ti Single-file System を用いて根管治療を行った 1 症例

東京歯科大学歯内療法学講座¹

丸紅健康保険組合東京診療所歯科²

○中島 龍¹, 浅井知宏², 関矢日向子¹, 田宮資己¹, 佐古 亮¹, 山田雅司¹, 古澤成博¹

Root canal treatment for S shaped root canal with CBCT and Ni-Ti Single-file System: A case report

Department of Endodontics, Pulp and Periapical Biology, Tokyo Dental College¹

Marubeni Tokyo Dental Clinic, Health Insurance Association of Marubeni Corporation²

○Ryo NAKAJIMA¹, Tomohiro ASAI², Hinako Sekiya¹, Yoshiki TAMIYA¹, Ryo SAKO¹, Masashi YAMADA¹, Masahiro FURUSAWA¹

【緒言】

周知のように根管形態はさまざまな状態を呈しており、そのほとんどは直線的ではなく、ある程度湾曲している。S 字状湾曲根管のように湾曲部が複数存在する根管の場合、根尖の不正形態やリーマー・ファイル類の破折等を惹起するリスクが非常に高く、未だに臨床的難症例である。近年、湾曲根管に対しては、CBCT による診断と Ni-Ti ロータリーファイルの特性により、テクニカルエラーを軽減することが可能になってきている。我々は、東京歯科大学水道橋病院保存科にて S 字状湾曲根管を有する歯に対して、術前の CBCT の診断のもとメカニカルグライドパスを行い、通常 Ni-Ti Multiple-File System を選択するところ、今回は Ni-Ti Single-file System を用いて効率的に根管治療を行った症例について報告する。

【症例】

患者は 45 歳女性。上顎左側第二小臼歯の疼痛を主訴とし、湾曲根管による治療困難のため他院からの紹介により当院保存科を受診。現病歴としては、1ヶ月前から食事時に痛みがあり、紹介元にて根管治療が必要と指摘された。初診時の検査結果、自発痛(-)、打診(+)、冷温痛(-)、咬合時痛(+)、歯髄電気診断(-)、動揺(-)、歯周ポケットは全周 3mm であり、視診では咬合面に齶窩の形成を確認した。口腔内 X 線写真では、上顎左側第二小臼歯は遠心側に強い湾曲を有しており、Denny W. Southar の根管湾曲判定の結果、測定された角度が第 1 湾曲部は 28.0°、第 2 湾曲部が 58.0°であった。CBCT 撮影により、根管形態は S 字状を呈していることが判明した。以上のことから、慢性化膿性根尖性歯周炎(Pulp necrosis/Symptomatic apical periodontitis)と診断し、感染根管治療を行うこととした。

【治療経過】

患者に治療方針、それに伴うリスク、代替治療について口頭と書面で説明し、十分な理解を得た上で、治療への同意を得た。初診時の治療では、ラバーダム防湿を行い、手術用顕微鏡(OPMI pico, カールツァイス社)下で髄室開拓を行った。根管内から膿性および出血性の排膿は認められなかった。#10K ファイルでネゴシエーション後、電氣的根管長測定器(Root ZX mini, モリタ)および口腔内 X 線画像にて 根管長(18.0mm)を測定し、根管長 -1mm を作業長(17.0mm)とした。WaveOne GOLD Glider(Dentsply Sirona)にてメカニカルグライドパスを行った後、WaveOne Gold Primary(Dentsply Sirona)を用いて根管形成を行った。根管洗浄は、5%に希釈した NaOCl(ネオクリーナー「セキネ」, ネオ製薬)と 3% EDTA(スメアクリーン, 日本歯科薬品)を用いた。根管内バキュームとペーパーポイントを用いて乾燥し、メインポイント WaveOne GOLD CF Gutta-Percha Primary (Dentsply Sirona) を挿入、試適、先端部でのタグバックが得られている事を確認し、ニシカチャンネルシーラー-BG(日本歯科薬品)を用いて、Hydraulic Condensation Technique による根管充填を行い、その後、ガラスアイオノマーセメント(Fuji I, ジーシー)にて仮封した。その後、DC コアにてレジン築造を行い、暫間被覆冠を作製・経過観察を行った。根管充填後 3 ヶ月、自覚症状ともになく、最終補綴物を装着した。術後 1 年での経過も良好で、デンタルエックス線写真での異常所見も認められなかった。

【考察および結論】

本症例では、CBCT を用いて根管形態を 3 次的に計測することで、客観的な難易度の診断が可能となった。その上で、適切な器材を選択し、メカニカルグライドパスを行い、安全に根管形成を行うことで、良好な治癒を得ることができたと推察される。通常の Ni-Ti Multiple-File System ではなく、術前に CBCT の検査のもとに適切なメカニカルグライドパスを行うことで、Ni-Ti Single-file System でも根尖部の不正形態を生じることなく、効率的に根管形成ができることが示された。

歯内一歯周疾患および外部吸収を併発した湾曲根管歯に対して 感染根管治療と歯周外科との併用で治療に導いた一症例

東京歯科大学歯内療法学講座¹⁾、水道橋病院保存科²⁾

○古澤誉彰¹⁾、壺内かれん¹⁾、山田雅司¹⁾、佐古 亮¹⁾、田宮資己¹⁾、浅井知宏²⁾、古澤成博¹⁾

Root canal treatment and periodontal surgery for the tooth that has a combination of endodontic and periodontal disease as well as external resorption with curved canal: A case report

Department of Endodontics, Tokyo Dental College¹⁾, Division of Conservative Dentistry, Suidobashi Hospital²⁾

○Yoshiaki FURUSAWA¹⁾, Karen TSUBOUCHI¹⁾, Masashi YAMADA¹⁾, Ryo SAKO¹⁾, Yoshiki TAMIYA¹⁾, Tomohiro ASAI²⁾, Masahiro FURUSAWA¹⁾

【緒言】

周知のように根管は様々な形態を呈しており、その治療は容易ではない。また根管の湾曲度合いも、根管治療の成功率を左右する因子の一つである。さらに、根尖病変と歯周ポケットの交通など、歯内一歯周疾患の治療は原因の特定が困難であり、難症例となり得る。また、外部吸収は原因不明の吸収性病変であり、これにより根管の穿孔を生じている場合、その治療は困難を極める。今回、歯内一歯周疾患と外部吸収を併発した湾曲根管歯に対して、歯内治療および歯周外科を併用して治療を行った症例について報告する。

【症例】

患者は26歳女性。下顎左側第一大臼歯の歯頸部歯肉の腫脹を主訴とし、湾曲根管による治療困難のため当院保存科を紹介された。初診時の診査の結果、自発痛(-)、打診痛(-)、冷温痛(-)、歯髄電気診断(-)、根尖部圧痛(-)、動揺(-)、歯周ポケットは3mmで、頬側中央のみ10mmであった。口腔内X線写真では、下顎左側第一大臼歯は全部金属冠補綴が終了している既根管治療歯であり、不十分な根管拡大と根管充填を認めた。近心根は遠心側への湾曲を呈しており、近遠心ともに根尖部に骨透過像を認めた。CBCT画像では、近心根尖部の病変が歯頸側へと広がっており、歯周ポケットと交通している状態であった。また、遠心頬側歯頸部には歯髄腔と交通した骨線下におよぶ透過像が認められたが、口腔内所見からは確認できなかった。

以上のことから、外部吸収を伴う慢性化膿性根尖性歯周炎 (Previously treated/Asymptomatic apical periodontitis)、歯内一歯周疾患の分類としてはSimonの分類クラスIと診断した。口腔内X線写真で湾曲角度の計測したところ45°であり強度彎曲根管であると判断し、通常感染根管治療および歯周外科による外部吸収の処置を行うこととした。

【治療経過】

初診時に補綴物を除去後、ラバーダム防湿を行い、まずは水酸化カルシウム製剤 (カルピタル®、ネオ製薬) による感染根管治療から行うこととした。5%に希釈したNaOCl (ネオクリーナー「セキネ」、ネオ製薬) と3% EDTA (スマアクリン、日本歯科薬品) を用いた根管洗浄とともに、#10Kファイルにてネゴシエーション・根管長測定を行い、ProTaper Gold SX・WaveOne Gold Glider・WaveOne Gold Primary およびmedium (Dentsply Sirona)、根管充填はHydraulic Condensation Technique (ニシカキャナルシーラーBG、日本歯科薬品) により行い、DCコアで築造を行った。術後3ヵ月で再度CBCT撮影を行った結果、頬側中央の骨欠損は回復しており、歯周ポケットも3mm程度まで回復していた。一方、外部吸収は初診時と比較して透過像の増大を認めたため、歯肉弁根尖移動術併用歯周外科処置を行うこととし、骨の削去を予定しているところまでは全層弁、以下は部分層弁フラップとした。まず、外部吸収による肉芽組織を除去し、歯質の新鮮面を出した後、37番歯側の骨から緩斜面となるように36番歯の遠心マージン3mm下までの骨削去を行った。その後、2ステップ接着システムを用いて外部吸収部のCR修復を行い、弁は根尖側の骨膜と縫合し歯周バックにて封鎖した。術後16日間経過後、暫間被覆冠を作製し、経過観察を行った。術後半年現在、自他覚症状ともなく、根尖および辺縁の歯周組織も良好である。

【考察および結論】

本症例は、根管の湾曲、歯内一歯周疾患、外部吸収、狭い付着歯肉幅などの様々な要因が治療の難易度を上げており、一方向からのアプローチでは治療に導くことはできなかったと思われる。今回、術後の偶発症などもなく良好な経過が得られた結果は、適切な診査、診断、および多角的アプローチを行ったことにより、適切な治療が行われた結果であると考えられた。

コレステロール結晶は LPS 存在下では IL-1 β を介して非存在下では IL-18 を介して破骨細胞形成を促進する

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周歯内治療学分野

○Mohammad Ibtehaz ALAM、一瀬 早紀、大平 真之、山下 恭徳、尾崎 幸生、柳口嘉次郎、吉村 篤利

Cholesterol crystals accelerate osteoclast formation in bone marrow macrophages via IL-1 β in the presence of LPS and IL-18 in the absence of LPS

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

○Mohammad Ibtehaz ALAM, Saki ICHINOSE, Masayuki OOHIRA, Yasunori YAMASHITA, Yukio OZAKI, Kajiyo YANAGIGUCHI, Atsutoshi YOSHIMURA

【Background】 Apical periodontitis can be cured by conventional root canal treatment with a success rate of about 90%. However, there are cases in which the lesion enlarges, and pathologic symptoms do not improve despite appropriate treatment, which is classified as refractory apical periodontitis. Histologically a large number of cholesterol crystals (CC) were observed in the lesion of such cases. Macrophages and foreign-body giant cells accumulate around CC, but these cells cannot decompose CC and inflammation persists. Recently, it has been reported that CC induced interleukin (IL)-1 β and IL-18 production via the NLRP3 inflammasome in myeloid cells. IL-1 β is one of the pro-inflammatory cytokines known for its osteoclastogenic effect and IL-18 has both osteoclastogenic and anti-osteoclastogenic effects. However, the role of CC in bone resorption in apical periodontitis has not been identified. Here, we investigated the role of the CC particle in osteoclastogenesis using bone marrow-derived macrophages (BMMs) in the presence and absence of lipopolysaccharide (LPS), a Gram-negative bacterial component.

【Method】 BMMs (1×10^4 /well) were seeded in a 96-well plate and pre-treated with 10 ng/ml of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL) and 30 ng/ml of macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) for 2 days. Cells were then stimulated with CC (0, 7.5, 15, 30 μ g/ml) in the presence or absence of LPS, in combination with the same concentration of RANKL and M-CSF for an additional 2 days. Then, tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining was performed, and TRAP-positive cells having 3 or more nuclei were counted as osteoclasts. For inhibition assays, NLRP3 inflammasome inhibitor (MCC950), caspase-1 inhibitor (Z-YVAD-fmk), IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) and IL-18 binding protein (IL-18 BP) were added prior to stimulation. Gene expressions of NLRP3 inflammasome components were measured by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR). Levels of IL-1 β and IL-18 were analyzed via qRT-PCR and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

【RESULTS】 In response to 7.5, 15, and 30 μ g/ml CC, osteoclastogenesis was upregulated in RANKL-treated BMMs in the presence and absence of LPS, indicating that CC positively regulated osteoclastogenesis. To investigate whether IL-1 β is involved in CC-induced osteoclast formation, we measured the gene expression of IL-1 β in RANKL-treated BMMs. Thirty μ g/ml of CC upregulated gene expression of IL-1 β in the presence of LPS, but not in its absence. Protein expression of IL-1 β increased in the presence LPS, but not in its absence. Osteoclastogenesis was significantly suppressed by IL-1ra in the presence of LPS, suggesting that CC upregulated osteoclast formation via IL-1 β production in the presence of LPS, but not in its absence. To investigate the mechanisms by which CC accelerated osteoclastogenesis in the absence of LPS, the protein levels of IL-18 were examined. Interestingly CC increased protein expression of IL-18 in RANKL-treated BMMs. Furthermore, IL-18 BP inhibited osteoclastogenesis, indicating that CC-upregulated osteoclastogenesis by IL-18 production in the absence of LPS. MCC950 and Z-YVAD-fmk suppressed CC induced osteoclastogenesis both in the presence and absence of LPS, suggesting that CC activated NLRP3 inflammasome and promoted maturation of IL-1 β and IL-18 that accelerated osteoclastogenesis in the presence and absence of LPS, respectively.

【Discussion】 This study has demonstrated that cholesterol crystals can accelerate osteoclast formation in the presence and absence of LPS. The cholesterol crystals promoted osteoclast formation via IL-1 β production in the presence of LPS, and via IL-18 production in the absence of LPS in RANKL-treated BMMs. These results suggest that cholesterol crystals may play a significant role in bone resorption in apical periodontitis.

BMP-1 は GCCase を介して MCM2 の発現を調節しヒト歯髄培養細胞の増殖に関与する

¹⁾ 神奈川歯科大学 歯科保存学講座 歯内療法学分野、²⁾ 理化学研究所 生命医科学研究センター、³⁾ 日本大学 松戸歯学部 生理学講座、⁴⁾ 日本どうぶつ先進医療研究所
○室町幸一郎¹⁾、中野令²⁾、吉垣純子³⁾、杉谷博士⁴⁾、石井信之¹⁾

BMP-1 regulates MCM2 expression via GCCase, which contributes to human dental pulp cell proliferation

¹⁾ Department of Endodontics, Kanagawa Dental University, ²⁾ Laboratory for Mucosal Immunity, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, ³⁾ Department of Physiology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, ⁴⁾ Japan Animal Specialty Medical Institute Inc. (JASMINE)
○MUROMACHI Koichiro¹⁾, NAKANO Rei²⁾, FUJITA-YOSHIGAKI Junko³⁾, SUGIYA Hiroshi⁴⁾, TANI-ISHII Nobuyuki¹⁾

【目的】

Bone morphogenetic protein (BMP) -1 は I 型 collagen や dentin sialophosphoprotein (DSPP)、dentin matrix protein-1 (DMP-1) の成熟に関与することで象牙質の形成に寄与するプロテアーゼである。これまでの研究から、齶蝕歯において BMP -1 の発現が増加し、BMP-1 がヒト歯髄培養細胞 (以下、hDPCs) の・2,6-sia 修飾を減少させ、glucosylceramidase (GCCase) の核移行を促進することを明らかにした (第 152 回 日本歯科保存学会)。GCCase は Glucosylceramide を加水分解し glucose と ceramide を生成することでスフィンゴ糖脂質の代謝に関与する酵素である。しかし、BMP-1 により制御される GCCase が hDPCs においてどのような役割を担うかは明らかではない。そこで本研究では BMP-1 と GCCase が関与する hDPCs の表現型を明らかにすることを目的に研究を行った。

【材料および方法】

本研究は神奈川歯科大学倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 277)。

- 1) 細胞培養: 治療目的で抜歯予定の患者に研究のインフォームドコンセントを行い、同意後に抜去された健全歯から歯髄を抽出したのち、1~5 代継代培養した細胞を hDPCs として実験に用いた。
- 2) siRNA reverse transfection: hDPCs を lipofectamine 2000 および 200 nM siRNA にて 24 時間刺激し GCCase のノックダウン系を作製した。
- 3) RNA sequencing: siRNA による GCCase ノックダウン後に rhBMP-1 (500 ng/ml) で 24 時間刺激した hDPCs から total RNA を抽出し、次世代シーケンサーによる RNA seq 解析にて遺伝子発現の変動を網羅的に解析した。
- 4) Western blot: siRNA による GCCase ノックダウン後に rhBMP-1 (500 ng/ml) で刺激した hDPCs から whole cell lysate を抽出した。各タンパク質サンプルを SDS-PAGE にて展開後、ニトロセルロース膜へ転写し、anti-minichromosome maintenance (MCM) 2 抗体を一次抗体に用いて MCM2 タンパク質発現の変動を解析した。
- 5) Cell proliferation assay: hDPCs を rhBMP-1 (500 ng/ml) で 24、48、72、120、168 時間刺激したのちに Calcein AM を用いて細胞増殖の変動を解析した。

【結果】

siRNA reverse transfection により hDPCs において GCCase の発現が有意に抑制されることを確認した。Gene Ontology 解析から BMP-1 は hDPCs の DNA replication、DNA metabolic process、Mitotic cell cycle phase transition、DNA replication initiation、Mitotic cell cycle に関連する遺伝子の発現を有意に促進し、GCCase のノックダウンによってこれらが抑制された。前述の結果から MCM2 の関与が予測されたため western blot にて解析したところ、hDPCs における MCM2 の発現は BMP-1 によって 48、72、168 時間で抑制された。加えて BMP-1 による MCM2 の発現抑制は GCCase のノックダウンによってレスキューされた。hDPCs における細胞増殖は BMP-1 によって 72、168 時間で抑制された。

【考察】

MCM2 は DNA の複製において二本鎖 DNA を開裂することで細胞分裂に関与するヘリカーゼである。今回の結果から、hDPCs において BMP-1 は GCCase を介して MCM2 の発現を抑制する可能性が考えられた。また、この結果は BMP-1 による hDPCs の増殖抑制を支持する結果であった。従って、歯髄-象牙質複合体において BMP-1 は GCCase を介して MCM2 の発現を調節し hDPCs を増殖から分化へと転じさせる役割を有する可能性が示唆された。

【謝辞】 本研究は、令和 4 年度科学研究費補助金 (基盤研究 (C) No. 21K09882) により行った。

生体活性ガラス含有根管用セメントが蛍光発色ブタ不死化歯髄細胞に与える影響

鶴見大学歯学部歯内療法学講座

○中道 匠、細矢哲康

Effects of Bioactive Glass-Containing Root Canal Cement on Fluorescent Porcine Pulp Cells

Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine

○Takumi Nakamichi, Noriyasu Hosoya

【目的】

歯内療法分野において、Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は種々の目的で使用されているが、本邦における適用範囲や極微量ではあるがヒ素を含む等の課題も少なくない。本研究では、歯髄保存療法の際に MTA と同様の目的で使用されることがある生体親和性に優れた生体活性ガラス含有根管用セメント(ニシカ キャンナルシーラー-BG multi, 日本歯科薬品)を被験試料とし、ディスク状の試料上で培養したブタ不死化歯髄細胞 (PPU7) を観察し、被験試料が細胞に与える影響を観察することが目的である。

【材料および方法】

1. 生体活性ガラス含有根管用セメント上での培養が細胞に与える影響

生体活性ガラス含有根管用セメントをチタンディスクにコーティングし、擬似体液 (PBF) 中で4日間保管した。その後2日間 Minimum Essential Medium α (MEM α) 培地内に浸漬し、6 well プレートに静置したものを15枚用意した。ディスク上に赤色蛍光タンパク質 (DsRed) 遺伝子を導入したブタ不死化歯髄細胞 (DsRed-PPU7) を播種し、実験群として BMP-2 (500ng/mL)、TGF- β (1ng/mL)、BMP-2 阻害剤の LDN-193189 (50nM)、TGF- β 阻害剤の SB-431542 (1 μ M) をそれぞれ添加した4通りの MEM α 培地とコントロール群として MEM α 培地のみの計5群にて14日間培養を行った。培養細胞は蛍光顕微鏡下で観察を行い、細胞数の変化を Image J を用いて蛍光面積から算出した。

2. 生体活性ガラス含有根管用セメントによる培地の pH 変化

生体活性ガラス含有根管用セメントのディスク (直径10mm、高さ2mm) を3試料作成した。ディスクを6 well プレートの MEM α に浸漬し、pH を14日間 (2, 5, 8, 11, 14日) に亘り測定し継時的変化を観察した。なお比較対象として、MTA (プロルート MTA) ディスクについても観察した。

【結果および考察】

実験群ならびにコントロール群において、細胞数は5日目まで減少傾向を示し以後増加に転じた。SB-431542 添加群の細胞増殖が著しく11日目に最大値を示したが、BMP-2 添加群では細胞増殖の傾向が遅かった。また生体活性ガラス含有根管用セメントを浸漬した培地の pH は、2日目で最高値を示し経時的に低下傾向を示した。MTA においても同様な傾向が認められた。

MTA ディスク上で DsRed-PPU7 を培養した研究では、TGF- β 添加群で著しく細胞増殖が促進し、SB-431542 添加群で抑制されたと報告¹⁾したが、生体活性ガラス含有根管用セメントでは、MTA とは異なる影響が生じることが推測された。また、本実験では蛍光面積を用いて細胞数の変化を観察したが、培養期間の延長に伴い細胞が重なり合うことから、培養後期では比較が難しいという課題を解決する必要がある。

1) Hattori-Sanuki T., Karakida T., Chiba-Ohkuma R., Miale Y., Yamamoto R., Yamakoshi Y., Hosoya N. Characterization of Living Dental Pulp Cells in Direct Contact with Mineral Trioxide Aggregate. *Cells*. 2020;9:2336. doi: 10.3390/cells9102336.

塩基性線維芽細胞増殖因子と炭酸アパタイトの併用が歯周組織治癒に及ぼす影響

¹東京歯科大学歯周病学講座, ²東京歯科大学口腔科学研究センター
宮田 直樹¹, 森 心汰¹, 村上 侑¹, 今村 健太郎^{1,2}, 勢島 典¹, 齋藤 淳^{1,2}

Combined effects of fibroblast growth factor-2 and carbonate apatite on periodontal healing

¹Department of Periodontology, Tokyo Dental College,
²Oral Health Science Center, Tokyo Dental College
Naoki Miyata¹, Shinta Mori¹, Tasuku Murakami¹,
Kentaro Imamura^{1,2}, Fumi Seshima¹, Atsushi Saito^{1,2}

【目的】

シグナル分子である塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) は, 歯周組織治癒の促進効果が報告されており, 歯周組織再生療法に使用されている。炭酸アパタイト (CO₃Ap) は, 骨と類似した組成を持ち, 生体適合性が高いことから, わが国で新規骨補填材として歯周治療等に用いられている。近年, シグナル分子と足場材を併用した再生療法が注目を集めている。しかし, FGF-2 と CO₃Ap の併用による歯周組織治癒の詳細なメカニズムはいまだ不明な点が多い。本研究では, FGF-2 と CO₃Ap の併用が歯周組織治癒に及ぼす影響を *in vitro*, *in vivo* の観点から検討した。

【材料および方法】

In vitro では, FGF-2 添加/非添加の CO₃Ap または脱タンパクウシ骨ミネラル (DBBM) 上のマウス前骨芽細胞 (MC3T3-E1 細胞) の生存/増殖率を WST-8 assay で測定し, 付着細胞の形態を走査型電子顕微鏡 (SEM) および共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) を用いて観察した。また, MC3T3-E1 細胞の骨芽細胞への分化を, PCR array と qRT-PCR により評価した。*In vivo* では, 雄性 Wistar ラットの上顎第一臼歯近心に歯周組織欠損を外科的に作製し, 欠損内に生理食塩水 (Unfilled), FGF-2, CO₃Ap, FGF-2+CO₃Ap を応用した。術後 2, 4 週で H-E 染色による組織学的観察および micro-CT にて新生骨体積率 (BV/TV) および新生骨と CO₃Ap を含めた不透透性体積率 (RV/TV) における骨梁構造解析を行った。本研究は東京歯科大学実験動物委員会の承認を得て実施した (承認番号:222207)。

【結果】

In vitro において, FGF-2 添加 CO₃Ap 上での MC3T3-E1 細胞の生存/増殖率は, 非添加の CO₃Ap 上と比較し, 有意な差を認めなかったが, SEM および CLSM において FGF-2 添加 DBBM 上と比較し細胞突起が伸長した付着細胞を多く認めた。また, FGF-2 添加 CO₃Ap 上での MC3T3-E1 細胞において, PCR array で非添加の CO₃Ap 上と比較し細胞接着や細胞増殖, 基質石灰化に関与する 86 遺伝子の内, 26 遺伝子は 2 倍以上の発現上昇を認めたが, qRT-PCR では *Runx2* と *Sp7* の発現量が有意に少なかった。*In vivo* において, 術後 2 週の H-E 染色では FGF-2, CO₃Ap, FGF-2+CO₃Ap 群は Unfilled 群と比較し新生骨様構造物がより多い傾向を認めた。骨梁構造解析において, 術後 2, 4 週での FGF-2, CO₃Ap, FGF-2+CO₃Ap 群の BV/TV 値は, Unfilled 群と比較し有意に高く ($P < 0.05$), FGF-2+CO₃Ap 群では CO₃Ap 群と比較して有意に高かった ($P < 0.05$) (Figure 1a, b)。術後 2, 4 週における CO₃Ap 群, FGF-2+CO₃Ap 群の RV/TV 値は Unfilled 群および FGF-2 群と比較し有意に高かった。

【結論と考察】

CO₃Ap は DBBM と比較して細胞の初期付着が起りやすい環境を提供し, 骨芽細胞分化を促すことにより新生骨形成を促進することが示唆された。また, FGF-2 の添加は骨補填材への細胞の初期付着, 細胞増殖および血管新生を促し新生骨形成を促進する可能性がある。

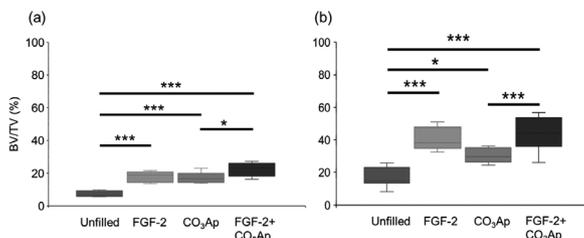


Figure 1. Quantitative analysis of micro-CT images by a 3-D structural analysis software (TRI/3D-BON). (a) : 2 weeks postoperatively, (b) : 4 weeks postoperatively. Data shown as box and whiskers plot with minimum, maximum, median and 25th and 75th percentiles (n = 6). * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, by ANOVA with Tukey post-hoc test.

ヒト歯肉上皮細胞におけるニコチン刺激除去後の形態学的観察

- 1 日本歯科大学生命歯学部 歯周病学講座、2 東京慈恵会医科大学 基盤研究施設 (分子細胞生物学)
○ 五十嵐(武内) 寛子^{1,2}、沼部 幸博¹

Morphological study of human gingival epithelial cells after removal of nicotine stimulation

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

2 Core Research Facilities for Basic Science (Division of Molecular Cell Biology), The Jikei University
School of Medicine

○ Hiroko Takeuchi-Igarashi^{1,2}, Yukihiko Numabe¹

[目的]

タバコ煙はニコチンをはじめとする多数の有害物質を含み、長期に吸入曝露することで身体に悪影響を与える。歯肉上皮細胞は、口腔上皮の最外層に位置し、生体内で一番初めにタバコ煙と接する。そこで今回は、ヒト歯肉上皮細胞において、ニコチン刺激後と刺激除去後にどのような変化が認められるのか形態学的観察を中心に検討を行った。

[材料および方法]

健常ヒト歯肉上皮組織より上皮細胞を分離・樹立した。ヒト歯肉上皮細胞をサブコンフルエンスになるまで培養し、最終濃度 $1 \mu\text{g/ml}$ ニコチン含有培地にて 24 時間培養した。その後、継続してニコチン刺激を行ったものを喫煙群、ニコチン非含有培地に上清を交換し培養を行ったものを禁煙群としコントロールを含む 3 群にて、細胞増殖および細胞遊走能の測定、位相差顕微鏡、SEM および TEM による形態学的観察を行った。また、E-カドヘリンの発現は免疫蛍光染色にて観察を行った。

[結果]

$1 \mu\text{g/ml}$ ニコチンを作用させることにより、喫煙群および禁煙群ともに時間依存的に優位な細胞数および細胞遊走能の低下が認められたが、培養上清交換後、禁煙群では有意な上昇が認められた ($p < 0.001$)。ニコチン刺激後、TEM にて細胞内に空胞変性が認められ、時間依存的に増加した。禁煙群では時間依存的に空胞変性は減少し 24 時間後には消滅した。SEM では、喫煙群において細胞の萎縮や細胞表面の陥凹が認められたが、禁煙群では時間依存的に回復傾向が認められた。

[考察]

ニコチンにより為害作用が認められたヒト歯肉上皮細胞は、ニコチン刺激除去後、細胞は回復傾向を示した。しかし、デブリス様構造物の残存が認められ、ダメージの残存が考えられた。

本研究は、学術研究助成基金助成金：若手研究(B)、課題番号：16K20681 の助成を受けて行われた。

30年ぶりに皮膚症状が改善した掌蹠膿疱症患者に対する歯周治療の効果

岩手医科大学歯学部歯科保存学講座歯周療法学分野

○村井 治, 佐々木 大輔, 八重柏 隆

Effect of periodontal treatment on palmoplantar pustulosis patients with improved skin rash since 30 years ago

Division of Periodontology, Department of Conservative Dentistry, School of dentistry, Iwate Medical University

○Osamu Murai, Daisuke Sasaki, Takashi Yaegashi

症例概要: 患者は初診時30年前に掌蹠膿疱症 (palmoplantar pustulosis: 以下 PPP) を発症, 診断された。皮膚科でビタミン投与療法を受けたが改善せず診療を中断した。その後断続的に皮膚症状の増悪をくりかえし, 関節痛症状も発症したが原因不明で放置していた。初診3月前より皮膚・関節症状が増悪したため近医を受診した。処方薬が投与されたが症状が改善せず, 岩手医科大学内丸メディカルセンター皮膚科に紹介された。皮膚科で PPP および掌蹠膿疱症性骨関節炎 (pustulotic arthro-osteitis: 以下 PAO) と確定診断され, PAO については整形外科に紹介, 歯性病巣の精査目的で同内丸 MC 歯科医療センター歯周病外来を紹介された。

全身所見: 手掌部に膿疱および鱗屑を, 足底部には鱗屑のみ認められた。関節症状は頸部, 胸肋鎖, 肘, 膝, 股関節 臀部に疼痛を認めた。頸椎エックス線では第5, 第6頸椎に癒合, 炎症像を認めた。アレルギーF(-)D(+)リラシリン, 金属アレルギー (+): ニッケル クロム マンガン 亜鉛, 初診時関節痛の Visual Analogue Scale (以下 VAS) は100であった。一般血液検査で皮膚科初診時 CRP 0.32mg/dl, リウマチ因子 (陰性), 喫煙歴なし。

口腔内所見: 臼歯部舌側, 口蓋側を中心にプラーク・歯石の付着, 無自覚な歯肉の腫脹, 深い歯周ポケット及び歯肉からの出血を認めた。4mm 以上 PD: 32.6%, BOP (+) 率: 39.1%, PISA: 1151mm²。

歯科既往歴: 抜歯 (+) 麻酔 (+), PPP リスク因子除去のために10年前に近医歯科で上顎第二大臼歯, 下顎左側第二小臼歯部金属冠をセラミック冠に置換したが, PPP・PAO の病状は改善しなかった。その他の部位は継続困難なため中断した。歯周病外来受診まで歯周病の指摘, 治療を受けてはいない。

診断: PPP PAO 重度慢性歯周炎 (Stage II GradeB)

歯科治療方針: 患者自身が口腔内状況に無関心であり, プラークコントロールレコードは74%と清掃不良であった。口腔内炎症巣と PPP の関連性の説明を行い, 患者のモチベーションを上昇させるとともに TBI, SRP を行い, 再評価後に必要な部位については歯周外科を行う方針とした。

医科治療経過: 皮膚科: ビタミン H 製剤, ビオフェルミン配合散, ヒドロコルチゾン酪酸エステル軟膏を処方。歯性病巣治療を優先し, 歯科治療後に PPP 症状が改善しない場合には扁桃除去, 生物学的製剤の使用を検討する。整形外科: NSIADs を処方, 左肩に精製ヒアルロン酸ナトリウムを継続注射。

歯科治療経過: 初診検査, TBI, スケーリング・ルートプレーニング, 咬合調整, 再評価, 歯周外科 (歯肉剥離搔把術: #17, 16 15, 25, 26, 27, 47, 45), 再評価, #35 う蝕治療, SPT・メンテナンスに移行。

まとめ: 皮膚科から紹介後, 対診を行い歯性病巣除去を優先, 症状改善しなかった場合には扁桃除去療法及び生物学的製剤 (グセルクマブ) を使用予定であったが, 初診+10か月で歯周組織炎症が改善した後に30年ぶりに手掌の皮疹が著しく改善した。関節痛症状の VAS は現時点で0程度となり関節症状改善目的の NSIADs の処方も中止され, 扁桃除去, 生物学的製剤の使用も不要であった。本症例のように PPP・PAO の口腔内感染巣を患者が無関心な場合は感染巣を認識できず, 未治療であることが多い。PPP・PAO 患者については歯科が主導で積極的に診査, 歯性病巣の除去, 治療を行うべきである考える。

歯周組織検査と併用した歯肉溝滲出液におけるヘモグロビン検査の有用性

日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座¹⁾

○伊藤弘¹⁾, 沼部幸博¹⁾

Usefulness of hemoglobin test in gingival crevicular fluid combined with periodontal examination

Department of Periodontology, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo¹⁾

○Hiroshi Ito¹⁾, Yukihiro Numabe¹⁾

【目的】

歯周病の動的治療後, supportive periodontal therapy (SPT) に移行した場合, 質の高いセルフケアの継続と歯科医療従事者による各患者に適したリコールプログラムの提供は, 健康な歯周組織の維持安定に重要な項目となる。特に, 歯周組織の維持安定の把握には, probing depth (PD) と bleeding on probing (BOP) の測定が極めて有効となる。しかし, 両検査項目の遂行には, 極めて繊細な技術が要求され, プローブの挿入角度から測定値の誤差が生じる可能性も報告されている。我々は, より精度の高い検査結果の獲得には, 従来の検査に加えて gingival crevicular fluid (GCF) 成分解析の併用が有効であると報告し, 簡易で迅速に対応できるチェアサイドへの臨床応用を検討, 提言してきた。今回は, GCF 成分に反映される出血履歴の有無の判定に有効である hemoglobin (Hb) に注目し, BOP 検査結果との関連について検索し, GCF 成分解析が歯周組織検査の精度向上に寄与するか検討を行った。

【材料および方法】

被験者は, 日本歯科大学附属病院に来院中の全身的に健康であり非喫煙者である SPT 患者 56 名 (男性: 23 名, 女性: 33 名) とした。臨床パラメータは, plaque index (PLI), GCF 量 (Periotron® 8000 value), PD, clinical attachment level (CAL), gingival index (GI), BOP とした。SPT 移行時期は, 動的歯周治療終了後 3 か月に再評価検査を行い, 病状安定と判断した場合とした。GCF を採取する被験歯は, 上下顎前歯部および小臼歯の単根歯 105 部位とした。GCF の生化学検索項目は, タンパク質量 (BCA kit) と出血反応の証拠となる Hb とした。GCF における Hb 検査は, immuno-chromatography (IC) 法を用いて行った。IC 法を行った試料は, デンシトメーター (Bio Rad) にて測定し, Hb の定量化を図った。GCF の採取は, PLI 測定後, perio paper® を検査部位のポケットに抵抗感があるまで挿入し, 30 秒間静置し採取・回収した。なお, perio paper® に出血が視認された試料は除外対象とした。検索群は, BOP 検査結果と Hb 量から, BOP(-) Hb=0, BOP(-) 0<Hb, BOP(+) Hb=0, BOP(+) 0<Hb の 4 群に分け検討を行った。(注釈: Hb=0 とは, IC 法による Hb の定量化において Hb が検出されなかった群である。)

【結果および考察】

BOP(-) Hb=0, BOP(-) 0<Hb, BOP(+) Hb=0, BOP(+) 0<Hb の各群における測定部位は, 各々 20 部位, 52 部位, 9 部位, 24 部位であった。

BOP 検査と Hb 検査結果から, BOP(-) Hb=0 と BOP(-) 0<Hb との比較では, タンパク質量において BOP(-) 0<Hb の群で有意に高い値を示した。また, 統計学的な差は認められなかったものの, BOP(-) Hb=0 と比較して BOP(-) 0<Hb の群で高い傾向を示した。一方, BOP(+) Hb=0 と BOP(+) 0<Hb との比較では, 統計学的な差は認められなかった。以上から, 特に GCF における Hb 検査との併用は, 微弱な組織損傷を捉える可能性が示され, 歯周組織検査の精度向上に寄与する可能性が示唆された。

【倫理的配慮】

日本歯科大学倫理委員会承認 (NDU-T 2017-12) のもと遂行された。

【資金源】

文部科学省科学研究費助成金: 基盤 C (20K09964・20K09981) の一部を資金源とした。

歯周炎モデルにおける歯肉線維芽細胞に対するヘスペリジンの抗炎症作用の *In vitro* 解析

1. 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科歯周機能治療学
 2. 日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座
 3. 日本歯科大学新潟病院総合診療科
- 鈴木亮太郎¹ 丸山昂介² 八板直道¹ 佐藤遥香¹ 川上 惇¹ 鈴木優矢¹ 両角祐子^{2,3} 佐藤 聡^{1,2,3}

In vitro analysis of the anti-inflammatory effect of hesperidin on gingival fibroblasts in a periodontitis model

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

○Ryotaro Suzuki¹, Kosuke Maruyama², Naomichi Yaita¹ Haruka Sato¹
Sunao Kawakami¹, Yuya Suzuki¹, Yuko Morozumi^{2,3}, Soh Sato^{1,2,3}

【緒言】歯周病は、歯周病原細菌とそれに対する炎症、宿主因子により疾患が成立し、環境因子が加わることで病態を進行することが知られている。また、歯周病原細菌は、歯周組織に慢性的に刺激を加え、様々なサイトカインや酵素の産出を促すことで、組織破壊を引き起こす。特にグラム陰性菌の外膜を構成する Lipopolysaccharide (LPS) は、歯周組織における炎症の惹起と組織破壊において密接に関連することが知られている。一方、柑橘系ポリフェノールの一種であるヘスペリジン (5,7,3-trihydroxy-4-methoxy-flavanone 7-rhamnoglucoside: Hesp) は、抗炎症作用、抗アレルギー作用、抗酸化作用を有し、Interleukin-1 β 、Interleukin-6 (IL-6)、iNOS などの炎症性サイトカインの発現量を減少させることが報告されている。しかしながら、歯周領域におけるヘスペリジンの作用や機序についての報告は少ない。そこで、ヘスペリジンの抗炎症作用に注目し、歯周炎の炎症に対する治療への応用を検討することとした。本研究は、ヒト歯肉線維芽細胞 (Human Gingival fibroblast cell ; HGF) に LPS 刺激を加えたものを歯周炎モデルと想定し、ヘスペリジン曝露下における HGF の生理活性を解析することにより、歯周炎に対するヘスペリジンの効果を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】HGF は、15%FBS 含有 DMEM にて 1.0×10^5 cells/mL に調製し、60mm ディッシュに播種した。播種後、2日間通常の培地にて培養を行った。その後、LPS (1.0 μ g/mL) を6時間曝露した。続いて Hesp を DMSO にて溶解し、培地にて 1、10、30、50 μ M に調整した。HGF を各濃度の Hesp で2、4時間培養し、測定を行った。IL-6、Interleukin-8 (IL-8)、Toll-Like Receptor 4 (TLR4) の発現を解析するために、Real-time PCR system を用いた。各データは、 $\Delta\Delta$ Ct にて相対定量した。内在性コントロールは、 β -actin を用いた。統計学的検索は、Kruskal-Wallis 検定を行い、多重比較には、Steel-Dwass を用いた。

【結果】炎症性サイトカイン：IL-8、IL-6 の発現量は、LPS 群と比較し、LPS+Hesp 曝露群において、有意な抑制を認めた。Hesp 濃度別では、有意な差は認めなかった。LPS の特異的なレセプターである TLR4 の発現量は、Hesp+LPS 群で LPS 群と比較し、発現量の減少を認めた。Hesp 濃度別では、有意な差は認めなかった。

【まとめ】歯周炎モデルの HGF に Hesp を曝露した際、炎症性サイトカインの発現の抑制を優位に認めた。この結果は、Schueller らの、Hesp は、IL-8 などの炎症性サイトカインの発現を抑制するとの報告と一致している。これらのことから、Hesp は歯周炎時における、炎症性サイトカインの発現を抑制すると考えられる。また、Hesp を曝露することで、LPS の受容体である TLR4 の発現量の減少を認めた。TLR4 は、LPS 刺激により発現する特異的な受容体で、炎症性サイトカインの発現に深く関与している。本研究結果から、Hesp は TLR4 の発現を減少させることにより、炎症性サイトカインの発現を抑制したと考える。以上のことから、Hesp は歯周炎に対し、炎症を抑制する可能性があり、歯周炎治療やセルフケアへの応用が期待できると考える。

スーパーMTA ペーストはヒト前骨芽細胞の石灰化誘導能を促進する

¹九州大学病院 口腔総合診療科、²九州大学大学院 歯学研究院 総合歯科学講座 総合診療歯科学分野
○御手洗 裕美¹、Fakatava Naati²、王 恕心²、冉 子晴²、祐田 明香¹、原口 晃¹、孫 偉浩²、和田 尚久²

Super MTA Paste induce osteoblastic differentiation of human preosteoblastic cells

¹Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital, ²Department of General Dentistry,
Division of Interdisciplinary Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University

○¹Hiromi Mitarai, ²Fakatava Naati, ²Wang Shuxin, ²Zen Shisei, ¹Asuka Yuda, ¹Akira Haraguchi,
²Son Ikou, ²Naohisa Wada

【研究目的】難治性根尖性歯周炎に対して適応となる歯根端切除術では、病変部分の骨欠損の修復を図るため、逆根管窩洞形成部分に適切な充填材を使用することが望まれる。逆根管充填材としては、SuperEBA Cement (以下 EBA / Keystone Industries) や Intermediate Restorative Material (以下 IRM / Dentsply Sirona) に代表される酸化亜鉛ユージオールセメントが保険診療で認められているが、一方で歯根膜細胞や骨芽細胞へ有害性を示すことが報告されている (Zhu Q, et al *J.Endod* 1999)。近年は、良好な生体親和性や硬組織形成能を有するケイ酸カルシウム系セメント Mineral Trioxide Aggregate (MTA) が多く使用されているが、練和直後の性状により充填が容易でない。そのため、良好な操作性や生体親和性を有し、硬組織形成能を有する新たなセメントが求められている。スーパーMTA ペースト (サンメディカル) は、重合開始剤に TBB を用いた Resin-modified MTA で、歯科用覆髄材として使用されている。良好な操作性と高い Ca イオン徐放性を持ち、in vivo において良好なデンティンブリッジの形成が報告されている。しかしながら、歯科用覆髄材以外への応用は未だ検討されていない。そこで本研究では、スーパーMTA ペーストがヒト前骨芽細胞に対する有害性や細胞増殖能、石灰化誘導能に及ぼす影響を in vitro で解析し、逆根管充填材としての有用性を検討した。

【材料および方法】細胞は、ヒト前骨芽細胞 Saos-2 (理研) を使用した。本研究では、スーパーMTA ペースト (以下スーパーMTA)、対照群として ProRoot® MTA (以下 MTA / Dentsply Sirona)、Super-Bond C&B (以下 SB / サンメディカル)、EBA、IRM を用いた。各試料はテフロン製の鋳型 (径 5 mm、厚さ 2 mm) に填入後、37 °C、5 % CO₂ インキュベーター内で 12 時間静置させ硬化を確認した。逆根管充填窩洞にセメントを充填した場合、組織に面した部分は絶えず組織液にさらされていることを想定し、5 ml の α-MEM を入れた 15 ml tube に 1 disk を入れ、5 日間 100 Hz で動くシェイカー上でウォッシュしたものを実験に使用した。また、洗浄した 1 disk を、新たに 5 ml の α-MEM を入れた 15 ml tube で 48 時間ウォッシュ後、fresh な α-MEM と 1:1 の割合で混和し、disk 上清として実験に使用した。(1) 各種 disk による Saos-2 に対する細胞有害性を解析するため、24 穴プレートの底面に各 disk を静置し、周囲に Saos-2 を播種し 48 時間培養後、トリジンブルー染色を行った。(2) 各種 disk 上清が Saos-2 の細胞増殖能に及ぼす影響を解析するため、48 well plate で各種 disk 上清を用いて Saos-2 を培養し、0、1、2、3、4 日後に WST-1 assay を行った。(3) 各種 disk 上清が Saos-2 の石灰化誘導能に及ぼす影響を解析するため、石灰化誘導培地 (1 mM AA、Dex、β-GP 含有 10 %FBS / disk 上清) を用いて 21 日培養後、Alizarin Red-S 染色を行った。

【結果】(1) 各 disk 周囲に Saos-2 を播種したところ、スーパーMTA、MTA、SB の disk 周囲に Saos-2 が生着し、トリジンブルー陽性反応を認めた。しかし、EBA ならびに IRM の disk 周囲には Saos-2 が生着しなかった。(2) スーパーMTA 上清で培養した Saos-2 の細胞増殖能は、コントロール群と比較して有意な差を認めなかった。(3) 各種 disk 上清石灰化誘導培地で Saos-2 を培養したところ、スーパーMTA 群は、通常の石灰化誘導培地群だけでなく、MTA 群や SB 群と比較して、Alizarin Red-S の陽性反応が有意に上昇した。

【考察】本研究の結果から、スーパーMTA はヒト前骨芽細胞への有害性が少なく、その上清はヒト前骨芽細胞培養初期の細胞増殖能に影響を与えないことが明らかとなった。さらに、他のセメントと比較して、スーパーMTA がヒト前骨芽細胞の石灰化誘導能を有意に促進したことから、歯根端切除術後の逆根管充填材としての有用性が示唆された。

【結論】(1) Saos-2 はスーパーMTA 周囲に生着した。(2) スーパーMTA 上清は Saos-2 の細胞増殖能に影響を及ぼさない。(3) スーパーMTA 上清は、Saos-2 の石灰化誘導能を促進した。

AhR シグナルの活性化はヒト歯根膜細胞の MMP12 発現を亢進する

¹九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野、

²九州大学病院 歯内治療科、

³九州大学大学院 歯学研究院 DDR 研究センター、

⁴九州大学大学院 歯学研究院 OBT 研究センター

○門脇正敬¹、友清淳^{2,3}、糸山知宏²、長谷川大学²、濱野さゆり^{1,4}、杉井英樹¹、前田英史^{1,2}

AhR signal activation enhances MMP12 expression in human periodontal ligament cells.

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation,

²Department of Endodontology, Kyushu University Hospital,

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

⁴OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University

○Masataka Kadowaki¹, Atsushi Tomokiyo^{2,3}, Tomohiro Itoyama², Daigaku Hasegawa², Sayuri Hamano^{1,4},
Hideki Sugii¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【研究目的】カネミ油症は、ダイオキシンを多量に含むライスオイルの接種が原因となった食品公害である。被害者には、皮膚の色素沈着、倦怠感、頭痛、しびれ等の様々な症状が生じることが知られており、口腔領域においては、歯肉の着色、歯周ポケットの深化傾向等が報告されている。ダイオキシン類は Aryl hydrocarbon receptor (AhR) を介したシグナル伝達機構の活性化により、細胞に様々な変化を引き起こす。これまでに当研究室では、AhR シグナルの活性化が、ヒト歯根膜細胞の *COL1A1* ならびに *αSMA* 発現の減少、および *MMP1* 発現の上昇を引き起こすことを明らかにしている (Tomokiyo et al. 2012)。しかしながら、AhR シグナルの活性化により誘導されるヒト歯根膜細胞の遺伝子発現変化は、一部が明らかとなっているのみであり、大部分は不明確である。そこで本研究では AhR シグナルの活性化がヒト歯根膜細胞の遺伝子発現に及ぼす影響を網羅的に解析し、油症患者における歯周ポケットの深化傾向に関与する可能性のある因子を明らかにすることとした。

【材料および方法】(1) ヒト歯根膜細胞の AhR シグナル活性化：同意が得られた 2 名の患者の抜去歯牙から得られた歯根膜細胞を、10% Fetal Bovine Serum 含有の α -MEM にて継代培養し、HPDLC-5I (15 歳女性) および HPDLC-5L (17 歳女性) として本実験に用いた。ダイオキシン類の一つである Benzo(a)pyrene (BaP) は、AhR シグナルを活性化することから、HPDLC-5L を 1 μ M BaP 含有 CM (BaP1)、および 10 μ M BaP 含有 CM (BaP10) にて 1、3、および 7 日間培養した。またコントロールとして、HPDLC-5L を CM に DMSO を添加した培地 (BaP0) にて 1、3、および 7 日間培養した。(2) 遺伝子発現量比較：(1) にて培養した HPDLC-5L から mRNA を抽出したのち、逆転写酵素を用いて cDNA を作製した。これらの cDNA を用いて定量的 RT-PCR を行い、*COL1A1* および *MMP1* 発現について比較検討した。(3) Microarray 解析：(2) の結果を基に、BaP0 および BaP10 にて 7 日間培養した HPDLC-5L の cDNA を用いて、Microarray 解析を行い、AhR シグナルの活性化により発現上昇および発現減少する遺伝子群を同定した。(4) 遺伝子発現変動の確認：BaP0、BaP1、および BaP10 にて 7 日間培養した HPDLC-5I ならびに HPDLC-5L の cDNA を用いて定量的 RT-PCR を用い、(3) の結果から得られた遺伝子の発現について比較検討した。なお本研究は九州大学医系地区部局観察研究倫理審査委員会の承認 (承認番号：2021-151) の下で行った。

【結果】HPDLC-5L の *COL1A1* 発現は、培養 1 日目では、BaP0、BaP1、および BaP10 の間で差を認めなかったが、培養 3 日目の BaP1 および BaP10 において BaP0 よりも発現が減少し、培養 7 日目の BaP10 において BaP0 よりも発現が減少した。一方、*MMP1* 発現は、培養 1 日目の BaP1 および BaP10 において BaP0 よりも発現が上昇し、培養 3 日目および 7 日目の BaP10 において BaP0 よりも発現が上昇した。7 日間 BaP10、および 7 日間 BaP0 にて培養した HPDLC-5L の Microarray 解析の結果、BaP0 と比較し BaP10 にて MMP 関連遺伝子が多数発現上昇し、中でも *MMP12* の発現が大きく上昇した。定量的 RT-PCR の結果、HPDLC-5L のみならず HPDLC-5I のいずれにおいても、BaP0 と比較し、BaP1 および BaP10 において *MMP12* の発現が上昇した。

【考察】ダイオキシン類による AhR シグナルの活性化は、ヒト歯根膜細胞の *MMP12* の遺伝子発現を上昇させ、細胞外基質の分解に影響を与えている可能性が示唆された。

TNF- α で刺激されたヒト口腔上皮細胞の炎症性メディエーターならびに 抗酸化タンパク質発現に対する Erucin の影響

徳島大学大学院医歯薬学研究部 再生歯科治療学分野
○下山 真弘、細川 義隆、細川 育子、保坂 啓一

The Effects of Erucin on Inflammatory Mediators and Antioxidant Mediators Expression in TNF- α - Stimulated Human Oral Epithelial Cells

Department of Regenerative Dental Medicine, The University of Tokushima Graduate School

○Masahiro Shimoyama, Yoshitaka Hosokawa, Ikuko Hosokawa, Keiichi Hosaka

【研究目的】

歯周炎は歯周病原性細菌感染によって引き起こされる慢性炎症性疾患であり、宿主の過剰な免疫応答が歯槽骨吸収をはじめとする歯周組織破壊に関与していることが明らかになっている。また歯周炎病変局所での炎症性メディエーター産生が歯周組織破壊の中心的役割を担っていることが示唆されている。

Erucin はルッコラなどのアブラナ科植物に含まれるイソチオシアネート化合物である。イソチオシアネート化合物はこれまで抗がん作用、抗酸化作用、抗炎症作用などの生理活性作用があることがすでに報告されている。しかしながら、歯周組織構成細胞に対する Erucin の影響について調べた報告はない。

本研究では、Erucin が TNF- α 刺激によりヒト口腔上皮由来細胞 (TR146) に誘導される炎症性サイトカインである IL-6 および CXCL10 産生ならびに細胞接着分子 (VCAM-1) に及ぼす影響について検討を行った。また、TNF- α が TR146 細胞内で活性化するシグナル伝達因子 (I κ B- α , NF- κ B p65, STAT3, p70S6K, S6) に与える Erucin の影響に関して明らかにすることも目的とした。さらに TNF- α が誘導する、抗酸化タンパク質である HO-1 と NQO1 の発現に対する Erucin の影響についても検討を行った。

【材料および方法】

TR146 は Mark Herzberg 博士 (ミソネタ大学) から提供され、10%FBS を含む Ham' s F-12 培地にて培養し実験に用いた。まず、Cell Count Reagent SF (ナカライテスク) を用いて Erucin の TR146 に対する細胞毒性試験を行った。その後、TR146 を Erucin 存在下あるいは非存在下にて TNF- α 刺激を行い IL-6、CXCL10 産生を ELISA 法にて、細胞接着分子 (VCAM-1) の発現、細胞内シグナル伝達因子 (I κ B- α , NF- κ B p65, STAT3, p70S6K, S6) の発現およびリン酸化ならびに、抗酸化タンパク質 (HO-1, NQO1) の発現を western blot 法にて解析を行った。

【成績】

Erucin は 50 μ M の濃度までは細胞傷害性がないことを確認した。Erucin は TNF- α が誘導した TR146 の IL-6 および CXCL10 産生ならびに VCAM-1 発現を濃度依存的に抑制した。また、Erucin は TNF- α が誘導した I κ B- α 、NF- κ B p65、STAT3、p70S6K、S6 のリン酸化ならびに I κ B- α 分解を抑制した。さらに Erucin は、HO-1、NQO1 の発現を誘導した。

【考察および結論】

今回の結果より、Erucin は TNF- α が誘導する NF- κ B、STAT3 および p70S6K-S6 のシグナル伝達経路の活性化を阻害することにより、TNF- α が誘導するヒト口腔上皮由来細胞の IL-6 および CXCL10 産生ならびに VCAM-1 発現も抑制することが示唆された。また、Erucin がヒト口腔上皮細胞の抗酸化タンパク質発現を誘導することも明らかとなった。このことより歯周炎病変局所への Erucin の投与によって歯肉上皮細胞の IL-6、CXCL10、VCAM-1 などの炎症性メディエーターの産生が抑制され、HO-1、NQO1 などの抗酸化タンパク質が増加することで歯周炎病変局所での過剰な炎症反応が抑制できる可能性が示唆された。

洗口液の歯周病原細菌に対する有効性の検討

1. 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科歯周機能治療学
 2. 日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座
 3. 日本歯科大学新潟病院総合診療科
- 佐藤遥香¹ 丸山昂介² 鈴木亮太郎¹ 八板直道¹
川上 惇¹ 鈴木優矢¹ 両角祐子^{2,3} 佐藤 聡^{1,2,3}

Effects of mouthwashes on periodontopathic bacteria

1. Periodontology, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
 2. Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
 3. Comprehensive Dental Care at Niigata Hospital, The Nippon Dental University
- Haruka Sato¹, Kosuke Maruyama², Ryotaro Suzuki¹, Naomichi Yaita¹,
Sunao Kawakami¹, Yuya Suzuki¹, Yuko Morozumi^{2,3}, Soh Sato^{1,2,3}

【目的】

近年の新型コロナウイルス感染症の拡大で、以前より一層オーラルケアへ注目が集まっている。殺菌効果のある洗口液の使用は、化学的プラークコントロールとして行われ、機械的プラークコントロールの補助的な役割を果たしている。そのため、洗口液を機械的プラークコントロールと併用することで、より一層口腔内に存在する細菌数を減少させ、齲蝕や歯周病の予防に効果をもたらし、また、ウイルス感染の予防の一助にもなると考えられている。現在用いられている洗口液は、それぞれの目的から、成分が異なった豊富な種類がある。しかし、それぞれの洗口液の希釈濃度による有効性について検討した報告はない。

そこで本研究は、代表的な歯周病原細菌に有効な洗口液の最小有効濃度を探索するとともに、その使用方法を検討することを目的として行った。

【材料と方法】

研究には、市販されている4種類の洗口液を使用した。0.2%ベンゼトニウム塩化物を主成分とする洗口液A、0.2%ベンゼトニウム塩化物を主成分とする洗口液B、エッセンシャルオイルを主成分とする洗口液C、セチルピリジニウム塩化物水和物を主成分とする洗口液Dを使用した。なお、洗口液Aと洗口液Bは、添加物に違いを認める。コントロールとして、PBSを使用した。洗口液Aと洗口液Bは、製品の使用方法に則して蒸留水で希釈したものを1倍とし、原液のまま使用する洗口液Cと洗口液Dは、原液を1倍とした。各洗口液は、1、2、5、10、20、50、100、200倍に希釈したものをそれぞれ使用した。

今回は代表的な歯周病原細菌として、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a*) (ATCC 43718株)と*Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) (FDC 381株)を検討した。

培養した細菌をPBSにて洗浄し、細菌の懸濁液を作製した。作製した懸濁液を各洗口液に添加し、30秒間作用させた。その後、PBSを添加し、洗口液の作用を停止させ、寒天平板希釈法にて細菌数の測定を行った。

有効濃度は、コントロールと比較し、菌の減少率が99%以上のものとした。

【結果および考察】

*A.a*の殺菌最小有効濃度は、洗口液A、B、Dは1倍のみ、洗口液Cは10倍希釈であった。*P.g*の殺菌最小有効濃度は、洗口液Cは50倍希釈、洗口液Dは20倍希釈であったが、洗口液A、Bは99%以上の菌の減少は認められなかった。

本研究から、洗口液Cは、*A.a*と*P.g*共に4種類の洗口液の中で最も強い殺菌効果を示した。洗口液Cの主成分であるエッセンシャルオイルは、抗炎症作用やバイオフィーム内への殺菌作用が報告されている。したがって、洗口液Cは、歯周基本治療期間や、巧緻性が衰え多量のプラークが残存する患者のプラークコントロールの補助に使用するのが望ましいと考えられる。

一方、洗口液A、B、Dは、穏やかな殺菌効果を示している。洗口液A、Bの主成分のベンゼトニウム塩化物や洗口液Dの主成分のセチルピリジニウム塩化物水和物は、プラーク形成抑制効果が報告されている。これらを使用する場合は、メンテナンスやSPT期間にあるセルフケアが可能な患者が、ブラッシング後に使用することが適していると考えられる。

今後は、歯周病原細菌の菌種をさらに増やして比較する予定である。

結合組織移植により歯肉退縮を改善した一症例

和泉二島予防歯科クリニック

○鹿山 武海

A case of gingival recession improved by connective tissue graft

Izumihutajima clinic of preventive dentistry

○Takemi Shikayama

【緒言】

歯肉退縮はさまざまな要因が重なった結果の病態の一つである。歯肉退縮の原因は、患者がもつ解剖学的要因と悪化させる要因に分類される。歯肉退縮の改善には、まず悪化させる要因を改善することから治療を行い、その後の状態の変化を評価し、必要に応じて歯周形成外科処置を行う。根面被覆術には近年様々な術式が報告されているが、基本的な概念は、歯肉退縮している歯の歯肉を歯冠側に移動させ、露出根面を被覆する歯肉弁歯冠側移動術の考え方である。多くの術式がある中でも、歯肉弁歯冠側移動術に補助的処置である結合組織移植術を併用した根面被覆術では、その有効性を示す報告が多くなされており、現在のところ根面被覆術におけるゴールドスタンダードと考えられている。今回、限局した歯肉退縮に対して、歯周形成外科処置を行った結果、良好な経過を得られたので報告する。また、今回の発表に際して患者本人の同意を得ている。

【症例】

患者は68歳、男性。初診は2019年5月。主訴は全顎的な治療をしてほしい。喫煙歴、飲酒歴はなく、家族歴においては父親、母親共に義歯の使用はなく、う蝕などの口腔状態については把握していない。アレルギー、全身既往歴などは特記事項なし。

【治療経過】

歯周基本治療終了後、口腔機能回復治療を行い、歯周病安定期治療中に43、44、45歯の歯肉退縮と知覚過敏症状を認めた。患歯はMillerの分類ではClass3、Cairoの分類ではRT3であり、歯肉弁歯冠側移動術と結合組織移植術(Modified Langer technique)を計画した。43、44、45歯に部分層弁にて切開、剥離を行った。上皮下結合組織片は上顎口蓋歯肉から採取した。移植片の固定は懸垂縫合ならびに骨膜縫合にて行なった。歯肉弁に対して固定した移植片を被覆させるために減張切開を行い、懸垂縫合にて固定した。

【考察および結論】

一般的に歯肉退縮は大きな痛みを伴うものでもなく直接歯を喪失する原因とはなりにくいことから、患者にとっても歯科医師にとっても大きな問題とは捉えられないのが現実である。しかし実際には根面露出から始まり楔状欠損、知覚過敏、根面カリエスや歯周炎といった続発的な問題を引き起こす可能性は少なくない。歯肉退縮に対して、もし予防という観点を重視するのであれば単なるレジン充填ではなく、非外科的対応法として誤ったブラッシング法などの改善しうる問題をなくすように指導すること、そして予防的処置により歯肉退縮のリスクを減らすことが重要ではないだろうか。歯肉退縮を含む歯肉-歯槽粘膜の問題は予防的観点や審美的観点からも重要な問題であり、外科的処置を選択する場合は適応症を吟味し、適切な術式を選択することが重要だと思われる。

包括的歯周治療によって掌蹠膿疱症の皮膚症状の改善を認めた慢性歯周炎患者の一症例

大阪歯科大学歯学部 歯周病学講座
○嘉藤弘仁, 田口洋一郎, 山脇 勲, 中田貴也, 東 仁, 梅田 誠

A case of chronic periodontitis patient with improvement of skin symptoms of palmoplantar pustulosis after comprehensive periodontal therapy

Department of Periodontology, Osaka Dental University

○Hirohito Kato, Yoichiro Taguchi, Isao Yamawaki, Takaya Nakata, Hitoshi Azuma, Makoto Umeda

【緒言】掌蹠膿疱症 (palmoplantar pustulosis: 以下, PPP とする) は手掌や足蹠部に限局性紅斑と多発性無菌性膿疱を主徴とする難治性皮膚疾患である。PPP は膿疱周辺部の疼痛を伴い, 足蹠部の病変が拡大すると歩行困難などの機能障害が生じるため患者の生活の質 (QOL) が大きく損なわれる。PPP の感染病巣は無症状の潜在性炎症であることが多く適切な診断と治療が遅れ, 皮膚症状は慢性の経過を辿ることが多く難治化しやすい。今回, 某総合病院皮膚科から歯科口腔外科を介して口腔内感染巣の精査を依頼された PPP の既往をもつ慢性歯周炎患者に対して歯周組織再生療法を含めた包括的歯周治療を行ったところ, 歯周組織の再生が認められると共に皮膚症状が改善し, QOL の向上を認めた症例を経験した。本発表では, 歯周組織の状態と皮膚症状の改善との関連を visual analogue scale (VAS) を用いて考察し, その臨床経過について報告する。

【症例の概要】患者: 50 歳女性, 初診日: 2020 年 8 月 20 日, 主訴: 総合病院皮膚科からの口腔内感染巣の精査依頼, 現病歴: 2007 年 9 月より両手掌および足蹠部に広範囲に膿疱, 紅斑, 鱗屑が認められるようになり, 手足の疼痛のため日常生活に支障を来すようになった。2007 年 10 月に某総合病院・皮膚科にて PPP と診断され, ステロイド外用とシクロスポリン内服による治療を行うが皮膚症状の改善がみられず, 2020 年 8 月に口腔内感染巣の精査加療のため, 本学附属病院歯周治療科へ受診となった。全身既往歴: 子宮筋腫の摘出術 (2010 年)。歯科既往歴: 近医で 2 か月おきの SPT (歯科衛生士による歯肉縁上スケーリング) を受けているが, SRP は行われていなかった。喫煙歴: なし。

【診査・検査所見】全顎的に辺縁歯肉の発赤, 腫脹, プラークの付着を認める。歯周組織検査では 36, 37, 46, 47 に 6~8 mm の深い歯周ポケットとブローピング時に歯肉縁下歯石を触知し, 歯周ポケットからの顕著な排膿を認めた。またその他部位にも 4~5 mm の BOP を伴う歯周ポケットが認められた。さらに, 34-37 に不適合補綴装置と 45 の舌側転位を認めた。エックス線所見として, 36, 37 根分岐部に透過像, 36, 37, 46, 47 に骨吸収像が認められた。初診時: PCR; 66.3 %, BOP; 46.2 %, PISA; 1165.3 mm²であった。

【診断】限局型慢性歯周炎, ステージⅢ グレード B

【治療方針】①歯周基本治療: TBI, SC, SRP, 不適合修復物と補綴物の除去, プロビジョナルレストレーションの装着 (47, 34-37) ②再評価 ③歯周外科治療: FGF-2 製剤を用いた歯周組織再生療法 (34-37), 歯肉剥離搔爬術 (44-47)。④再評価 ⑤口腔機能回復治療 (47, 34-37) ⑥再評価 ⑦SPT へ移行。

【治療経過】歯周基本治療として, まず皮膚科と内科に対診したところ金属アレルギーはないとのことであった。TBI, SC, SRP を行ったところ, 歯周ポケットからの排膿が消失し, PCR; 3.8 %, BOP; 0.6 %, PISA は 13.8 mm² まで改善し, 手掌の膿疱と紅斑は著しく改善した。また足蹠部の膿疱と疼痛が消失したことによって歩行困難も改善した。歯周基本治療後の再評価の結果から, 34-37, 44-47 に対しては 4~5 mm の歯周ポケットの残存を認めたため歯周外科治療を行った。その後, 再評価と口腔機能回復治療を経て, SPT へ移行した。SPT に移行してから 1 年が経過しているが, 歯周組織の炎症再発は認めていない。また手掌と足蹠部ともに皮膚症状の再発の兆候はなく, かかりつけ皮膚科においても外用療法と内服療法は中止し, 3 か月おきの経過観察のみに移行することが達成できた。

【考察】本症例では包括的歯周治療により歯周組織の局所の炎症因子を除去することで PPP の皮膚症状が治癒し, 歩行困難が改善し患者の QOL が向上したと考えられる。さらに VAS スケールの評価からも, 歯周組織の炎症の改善と手掌足蹠部の皮膚症状の改善に相関関係が認められることが示唆された。しかし, 菌性感染による PPP の治療では, 病巣除去後も皮膚症状の再発が報告されており, 今後も慎重に SPT を継続していく必要があると考えられる。

【結論】包括的な歯周治療による歯周組織の炎症制御は PPP の皮膚症状の改善に有効である可能性が示唆される。(患者には手術同意や本症例発表の同意を得ており, 使用した薬物・材料は厚生労働省の認可済みのものである。)

難治性根尖性歯周炎を有する歯周炎患者を 保存治療と MTM で対応した初診から 21 年経過症例

1. 昭和大学歯学部歯周病学講座 2. みかわ矯正歯科クリニック
○小出容子¹、三河雅敏²、山本松男¹

21-year follow-up study of intractable apical regions; upright molar treated without surgical approach: A Case Report

1. Department of Periodontology Showa University School of Dentistry 2. Mikawa Orthodontics
○Yoko Koide¹, Masatoshi Mikawa², Matsuo Yamamoto¹

【緒言】 上顎洞炎や根管内外に異物を有する根尖性歯周炎は、難治性であるため一般的に予後は不良と考えられている。難治性根尖性歯周炎の治療と #37 近心傾斜に伴う垂直性骨欠損に対して MTM にて直立化を行い、初診から 12 年、SPT 開始 6 年経過した症例について 2014 年に第 141 回学術大会で報告した。その後、8 年半経過するが再発の徴候がなく良好に経過しているため報告する。

【症例】 初診時 47 歳女性。下顎左側ブリッジ脱離と上下顎右側臼歯部冷水痛を主訴に来院した。#36・46 は銀ポイントによる根管充填、#26・36・46 根尖部には透過像がみられた。#26・27・36・37 には限局した深いポケットが存在した。全顎における歯周ポケット $\geq 4\text{mm}$ は 5.4%、BOP (+) は 6% だった。#26・46 根分岐部病変 (頰側より 1 度)、#37 近心傾斜による垂直性骨欠損を認めた。限局型中等度慢性歯周炎 (ステージ III・グレード B) と診断した。

【治療経過】 2002 年 3 月～2004 年 2 月歯周基本治療：脱離したブリッジ仮着、口腔清掃指導、スケーリング・ルートプレーニング (SC/RP)、#16・37・41・47 う蝕治療、咬合調整、#26・46 感染根管治療、再 SC/RP、象牙質知覚過敏処置、#46 ヘミセクション (近心根抜去)、再評価。

○ #26 の経過：1～2 週に 1 回の頻度で約 4 か月間、計 17 回の根管治療を行ったが、ガッタパーチャーポイントの除去後に自発痛を伴う咬合痛があり、自発痛消失後も打診痛が残存した。根管充填後 5 か月経過観察したが打診痛は消失しなかったため再根管治療を行った。処置時に出血を伴う滲出液が生じたが早期に軽快した。打診痛が持続したため、再根管治療開始から 3 か月後にコーンビーム CT 撮影を行った結果、近心根根尖部に上顎洞粘膜の肥厚がみられた。右側上顎洞にも著しい粘膜の肥厚が認められ、鼻性上顎洞炎も併発していることが明らかとなった。根管内症状がなくなっていたため再根管充填し、昭和大学病院耳鼻咽喉科に鼻性上顎洞炎の治療を依頼した。抗菌薬の内服治療から約 1 年経過した後、打診痛消失したため仮着していた FMC を合着した。

○ #46 の経過：遠心根根尖部にシルバーポイントの一部、近心根根尖外にガッタパーチャーポイントの一部が残存していたため、遠心根はバイパスを形成して根尖までアクセスした。近心根は根分岐部病変を考慮して根管充填後にヘミセクションをすることとした。治療途中で患者の入院加療のため 1 か月間治療を中断した。根管充填から 4 か月後にヘミセクション、コアおよび暫間被覆冠を作製した。ヘミセクションから 9 か月後に FMC を合着した。

2004 年 2 月～2008 年 9 月口腔機能回復治療：#37 MTM (約 8 か月間)、#26・46 FMC 製作、#36 抜歯 (シルバーポイントの除去ができないため保存不可と診断)、#36MT・#35・37 支台ブリッジ製作、スプリント製作、咬合調整、象牙質知覚過敏処置。2008 年 9 月 SPT 開始。

【まとめと考察】 マイクロスコープを使用できるようになる前に経験した症例のため、根管外異物に対してヘミセクションを選択、根尖部付近に残存するシルバーポイントはバイパス形成にて対応した。ヘミセクション後の補綴処置は予後成績を踏まえてもブリッジで行うべきだが、バイパス形成後再発する危険性を考慮してカンチレバーでの補綴処置を行った。マイクロスコープが使用可能な今日では、シルバーポイントの除去に対して超音波デバイスの使用、根管外異物に対して外科的摘出、歯根端切除、逆根管充填等の治療法が選択肢に挙げられる。根管治療後の打診痛の残存は日常臨床上よく遭遇するが、補綴後 17 年経過する現在まで再発せず良好に経過した要因として感染源の除去に成功できたことが考えられる。また、近心傾斜による垂直性骨欠損はアップライトにて骨が平坦化され、患者がセルフコントロールしやすい形態になり、直立化による歯槽骨への負担改善も影響し良好に経過していると考えられる。

セメント質剥離を伴う骨内欠損に歯周組織再生療法を行った症例

¹九州歯科大学口腔機能学講座歯周病学分野

²九州歯科大学口腔機能学講座クリニカルクラークシップ開発学分野

○中村 太志¹・村岡 宏祐²・中島 啓介¹

A case of periodontal regeneration therapy for the infrabony defect with cemental tear

¹Division of Periodontology, Department of Oral Function, Kyushu Dental University.

²Division of Clinical Education Development and Research, Department of Oral Function, Kyushu Dental University.

○Taiji Nakamura¹・Kosuke Muraoka²・Keisuke Nakashima¹

【緒言】Linら¹⁾は、セメント質剥離は60歳以上の男性で、上顎及び下顎の切歯が好発すると報告している。また、約6割は咬合性外傷に関連があるとしている。セメント質剥離がおこると、周囲の歯周組織の急速な破壊により限局的に深い歯周ポケットを形成することもある。また、Leeら²⁾はセメント質剥離を剥離片の位置や破折片へのアクセス、破折片周囲の骨欠損により分類し、治療法を提唱している。今回、上顎前歯部に発生したセメント質剥離を伴う垂直性骨欠損に対し歯周組織再生療法を行い良好な結果が得られたため、これらの報告と比較・検証した。

【症例】初診時72歳・男性。2015年2月初診。主訴：右側の歯が咬むと痛い。現病歴：3週間前より義歯が合わず、右側のみで咬んでいたら、1週間前より咬合痛を自覚している。全身既往歴：高血圧。服用薬：イルベサルタンアムロジピンベシル酸塩錠（アンギオテンシンⅡ受容体拮抗薬とカルシウム拮抗薬の配合錠）、カルベジロール錠（慢性心不全治療剤）喫煙歴：27歳から34歳まで一日平均15本程度。

【口腔内所見】現在歯数は22歯（上顎9歯、下顎13歯）。PCRは初診時37.5%、歯間部を中心にブラークの付着を認めた。PPDは最小2mm、最大7mm、平均3.6mm。PPDが4mm以上の部位は、6点計測132部位中59部位(44.7%)、6mm以上の部位は10部位(7.6%)であった。プロービング時の出血は61部位(46.2%)に認められた。エックス線写真にて全顎的に中等度の水平性骨吸収、11歯に垂直性骨吸収、16歯の歯根破折、12・21・22・43・46歯にう蝕、36・46・47歯の根分岐部病変が認められた。

【診断】広汎型慢性歯周炎、Stage IV, Grade C

【治療経過】2015年2月～12月 歯周基本治療：口腔清掃指導、SRP、不適合補綴物の除去、暫間被覆冠の装着、上顎前歯部レジン連結冠固定、う蝕処置（43歯）、感染根管治療（15・36歯）

2016年1月～9月 歯周外科手術：GTR法（11歯）、フラップ手術（13・12・21・23・36・35・34・33・44・46・47歯）。11歯GTR法を行った際に骨欠損内にセメント質の剥離片を認めたため摘出した。

2016年10月～2017年10月 口腔機能回復療法：セメント質剥離が認められた上顎前歯部を連結冠固定、臼歯部に部分床義歯新製し前歯部への咬合負担の分散を図った。

2017年11月～ SPT

【考察】本症例では、臼歯部の咬合支持が少なく、前歯部にも咬合負荷が継続的にかかっていた。Linら¹⁾の報告と一致する所見が多く、セメント質剥離が生じたやすい症例であったと考えられる。また、Leeら²⁾の提唱したセメント質剥離の分類において本症例はClass 5, Grade Aのセメント質剥離である。このような症例ではSRP時に歯周ポケット内から剥離片を摘出できなければ、フラップ手術にて剥離片を摘出し可能であれば再生療法を行うこととなる。本症例においても、11歯の歯周外科時に剥離片を摘出した後にGTR膜を設置している。本症例では、結果的にLeeら²⁾の治療法に沿った治療が行えたと考えている。

【結論】5年間のSPT期間が経過したが、11歯にセメント質剥離の再発はなく歯周組織は安定している。これはLeeら²⁾の提唱したセメント質剥離分類に沿った治療法が有効であったことを示唆している。今後も、セメント質剥離症例を増やし、治療法の有効性を検証する必要がある。

【引用文献】1) Lin HJ, Chan CP, Yang CY, Wu CT, Tsai YL, Chi, Huang CC, Yang KD, Lin CC, Chang SH, Jeng JH. Cemental tear: clinical characteristics and its predisposing factors. J Endod. 37(5):611-8, 2011.

2) Lee AHC, Neelakantan P, Dummer PMH, Zhang C. Cemental tear: Literature review, proposed classification and recommendations for treatment. Int Endod J. 54(11):2044-2073, 2021.

歯間部の付着喪失を伴う複数歯の歯肉退縮に対する VISTA テクニックの応用

- 1) 日本大学歯学部保存学教室歯周病学講座
- 2) 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先進医療研究部門
高山 忠裕^{1,2)}, 佐藤 秀一^{1,2)}

A clinical case report of VISTA technique in the treatment of multiple gingival recessions with proximal attachment loss.

- 1) Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry
- 2) Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry
Tadahiro Takayama^{1,2)}, Shuichi Sato^{1,2)}

【はじめに】歯肉退縮による歯根露出は、過度のブラッシング圧、矯正治療、ボーンハウジングに対する歯の位置や歯肉の厚みなどの解剖学的要素、歯周治療による歯周組織の変化が代表的な原因となり引き起こされる。また、歯肉退縮により知覚過敏、根面う蝕、とくに前歯部では審美的障害、付着歯肉の喪失および口腔前庭の狭小によるブラークコントロールが困難になるなどの問題が生じる。露出歯根面への根面被覆術に対しては、様々な術式が考案され応用されている。本症例では、歯間部の付着喪失を伴う複数歯の下顎前歯部歯肉退縮に対して、Vestibular Incision Subperiosteal Tunnel Access (VISTA) テクニックを応用し、良好な根面被覆と歯肉のフェノタイプの改善が認められたので報告する。

【初診】初診時(2013年6月)62歳の女性。50歳代前半からブラッシング時の出血が気になり、歯周病治療を希望し来院。歯周基本治療後に3ヶ月に1回のメンテナンスを継続していた。1年ほど前より下顎前歯部(33-43)唇側の歯肉退縮部位のブラッシング時の疼痛および知覚過敏症状が出現した。

【検査所見】下顎前歯部の辺縁歯肉に著明な発赤、腫脹は認められない。歯間乳頭部は付着喪失が顕著であり唇側歯肉には2-3mmの退縮を認める。当該部位のプロビングデプスは3mm以内であり、Bleeding on probing はみられずブラークや歯石沈着はほとんど認められない。また、歯列は軽度のクラウディングを認める。デンタルエックス線写真より軽度の水平性骨吸収が認められる。

【診断】歯肉退縮(Cairoの分類:RT2, Millerの分類:ClassIII)

【治療計画】複数歯に及ぶ歯肉退縮があり同部位は薄い歯肉フェノタイプが観察される。歯肉退縮および歯肉フェノタイプ両方の改善を図るために、上顎口蓋側より歯肉結合組織を移植片として採取する遊離軟組織移植術を併用したVISTAテクニックを計画した。

【治療経過】術前の検査・診断に続き、当該部位への歯周形成手術としてVISTAテクニックを通法にしたがって施行した。供給側は術後1週、受容側は術後3週以降に抜糸を行った。手術部位のブラークコントロールは、薬用リステリンによる含嗽およびウルトラソフトの歯ブラシによる歯肉縁上のブラッシングを術後2週より開始した。手術部位は良好な根面被覆と厚い歯肉フェノタイプが獲得され、ブラッシング時の疼痛や知覚過敏症状も消失している。

【考察・まとめ】VISTAテクニックは、①受容側のサイズを大きく形成できることで移植片を挿入する操作が容易である、②歯間乳頭の高さに影響されることなく、術後歯肉縁の位置を歯冠側に適切な安定した位置に移動することが可能である、③骨膜下全層弁トンネルであることから、歯肉への侵襲を最小限に抑えられるという利点がある。本症例においても歯肉退縮の改善だけでなく、厚い歯肉フェノタイプの獲得や歯間乳頭の高さの改善が部分的に認められた。以上のことから、歯間部の付着喪失を伴った歯肉退縮症例に対するVISTAテクニックの有用性を認識することができた。

PCRを用いた *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* 迅速検出システムの有用性

徳島大学大学院医歯薬学研究所 歯周歯内治療学分野
○二宮雅美, 生田貴久, 秋月皆人, 植村勇太, 湯本浩通

Usefulness of rapid detection system of *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* using PCR
Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Biomedical Sciences,
Tokushima University Graduate School

○Masami NINOMIYA, Takahisa IKUTA, Minato AKIZUKI, Yuta UEMURA, Hiromichi YUMOTO

【研究目的】

歯周病は、歯周ポケットに形成されるプラーク中の歯周病原細菌が原因となって引き起こされる感染症で、過剰な炎症反応が進行した結果、歯周組織が破壊される疾患である。口腔内に存在する数百種類の細菌の中でも、特に Red Complex に属する細菌 (*Porphyromonas gingivalis* (*Pg*), *Treponema denticola* (*Td*), *Tannerella forsythia* (*Tf*)) は、重度歯周炎の関連細菌と考えられている。従来の細菌検査では、唾液やペーパーポイントを用いて採取したプラークを外部業者に送付して行う委託検査によるものが主流で、コスト面の問題や、結果も郵送で10日前後を要するため、検査当日の患者説明や治療に利用できないなどの課題がある。そのため、歯科外来にて、簡易な機器や試薬を用いて安価で迅速な細菌検査ができる Point of Care Testing (POCT) を目指した装置が求められている。これまで我々は、歯周病原細菌 *Pg* を PCR 法にてチェアサイドで短時間で検出できる口腔内細菌検出装置 (orcoa OR-1000: 株式会社オルコア) を使用して、得られた計測値を歯周病の臨床検査値や従来の外部委託による細菌検査結果と比較検討し、第153回日本歯科保存学会秋季学術大会および第64回春季日本歯周病学会学術大会で報告してきた。本研究では、*Pg* に加えて、新たに *Td* と *Tf* 迅速検出システムにおいて、その有用性の検討を行った。

【材料および方法】

本研究は、徳島大学病院生命科学・医学系研究倫理審査委員会の承認(番号: 3689)を得て実施した。徳島大学病院・歯周病科を受診し、同意の得られた外来患者(2022年12月時点で63名)を対象とし、歯周組織検査として歯周ポケット深さ (PPD), Bleeding on Probing (BOP) を調べた。orcoa による細菌検査では、患歯の歯間部分や分歧部に歯間ブラシ様の採取器具を挿入してプラークを採取した後、*Pg*, *Td*, *Tf* 各々の検出キットを用いて調整し、口腔内細菌検出装置 (orcoa) により得られた計測値を記録した。外部委託による細菌検査は、ポケット底までペーパーポイント (#35) を約10秒間挿入して歯肉縁下プラークを採取し、採取したペーパーポイントを郵送にて外部委託検査 (PCR-Invader 法) に供した。得られた orcoa による計測値と臨床検査値や外部委託による細菌検査との相関関係について統計解析を行った。

【結果】

PPD と BOP の状態によりグループ分けし、orcoa による計測値の平均値を算出した結果、PPD 1-3mm かつ BOP(-) では *Pg*: 672.7, *Td*: 810.0, *Tf*: 815.3, PPD 1-3mm かつ BOP(+) では *Pg*: 810.3, *Td*: 847.3, *Tf*: 1234.3, PPD 4-5mm かつ BOP(-) では *Pg*: 808.0, *Td*: 811.3, *Tf*: 933.3, PPD 4-5mm かつ BOP(+) では *Pg*: 1888.9, *Td*: 2025.6, *Tf*: 2962.3, PPD 6mm 以上かつ BOP(+) では *Pg*: 3433.9, *Td*: 3360.9, *Tf*: 3637.4 であった。過去の報告 (第67回日本口腔衛生学会) では、orcoa による数値 (表示最大値: 5000) が1000以上の場合、90%が陽性を示していることから、統計解析の結果 *Pg*, *Td*, *Tf* ともに PPD 4mm 以上、BOP(+) で有意に陽性率が高かった。さらに、orcoa による計測値と外部委託検査による細菌数 (対数値) において *Pg*, *Td*, *Tf* ともに高い相関 (*Pg*: $r=0.884394359$, *Td*: $r=0.895325783$, *Tf*: $r=0.816574645$) を認めた。なお、現在も臨床研究は継続中であり、発表当日には得られた直近の解析結果を報告する予定である。

【考察】

orcoa による *Td*, *Tf* 検出キットによる orcoa 計測値は、*Pg* 検出キットと同様に、軽度から中等度歯周炎では1000~2000台であったが、重度歯周炎で3000以上の高値を示し、PPD や BOP の歯周病の病態と関連していることが示唆された。また、*Td*, *Tf* 検出キットによる orcoa 計測値は、外部委託検査による結果 (PCR-Invader 法) とも高い相関が得られており POCT としての有用性は高いと考える。

Treponema denticola の病原性発現および増殖における
HxlR family transcriptional regulator の役割の解明

¹東京歯科大学歯周病学講座, ²東京歯科大学口腔科学研究センター

○久永理央^{1,2}, 山下慶子¹, 今村健太郎^{1,2}, 齋藤 淳^{1,2}

**Investigation of HxlR family transcriptional regulator potentially involved in virulence
and growth of *Treponema denticola***

¹Department of Periodontology, Tokyo Dental College, Tokyo, Japan,

²Oral Health Science Center, Tokyo Dental College, Tokyo, Japan,

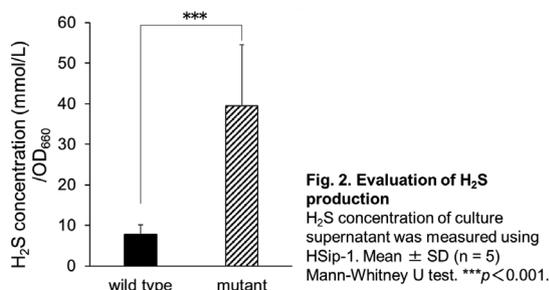
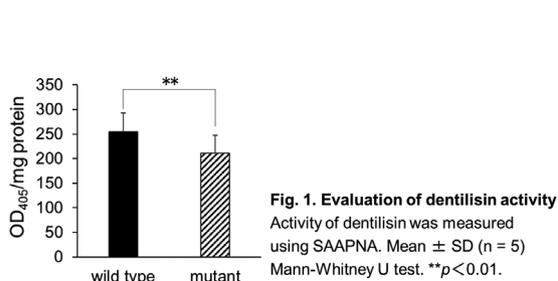
○Rio Hisanaga^{1,2}, Keiko Yamashita¹, Kentaro Imamura^{1,2}, Atsushi Saito^{1,2}

【目的】 *Treponema denticola* は重度慢性歯周炎患者の歯周ポケット内から高頻度に検出され、歯周炎の発症・進展に重要な役割を果たしている。本菌は dentilisin や dentipain, cystalysin など、数多くの病原因子を持つ。本菌の主要な病原因子である dentilisin は、炎症性サイトカインやフィブリノゲンの分解により歯周炎の慢性化に寄与するが、その発現調節機構は未だ明らかにされていない。我々はこれまでに、dentilisin の欠損株において、転写調節ドメインを持つ遺伝子、HxlR family transcriptional regulator 様遺伝子 (HxlR 様遺伝子) の発現上昇を確認した。本研究では、*T. denticola* HxlR 様遺伝子の機能について、病原性の発現における役割に焦点を当て解析を行った。

【材料および方法】 *T. denticola* ATCC 35405 株 (野生株) から、相同組み換えにより HxlR 様遺伝子欠損株を作成した。作出した欠損株と野生株を用い、遺伝子発現および表現型の比較検討を行った。増殖は、TYGVS 培地を用いて培養開始から静止期までの吸光度を測定することにより評価し、欠損株の遺伝子発現は DNA マイクロアレイおよび qRT-PCR を用い解析した。Dentilisin 活性、トリプシン様酵素活性は合成基質 (SAAPNA, BAPNA) を用いて評価した。Cystalysin 活性の指標としては硫化水素 (H₂S) 産生量を用い、蛍光プローブ (HSip-1) による蛍光を測定することで評価した。

【結果】 HxlR 様遺伝子欠損株は野生株と比較し、対数増殖期以降の増殖が有意に低下していた。DNA マイクロアレイおよび qRT-PCR による解析では、欠損株において dentilisin と dentipain をコードする遺伝子の発現が野生株と比較し有意に低下していた。また、cystalysin およびアミノ酸の取り込みに関わる膜輸送タンパク質をコードする遺伝子の発現は、野生株と比較し有意に上昇していた。さらに、欠損株の dentilisin およびトリプシン様酵素活性は野生株と比較して有意に低下しており (Fig. 1), 欠損株の H₂S 産生量は野生株と比較して有意に増加していた (Fig. 2)。

【考察および結論】 *T. denticola* の HxlR 様遺伝子の欠損株作出に初めて成功した。HxlR 様遺伝子欠損株における dentilisin と dentipain をコードする遺伝子の発現の低下および酵素活性の低下から、HxlR 様遺伝子は *T. denticola* の病原性に関わることが示唆された。さらに、HxlR 様遺伝子欠損株における cystalysin をコードする遺伝子の発現上昇および H₂S 産生量の増加から、HxlR 様遺伝子が本菌の cystalysin によるシステイン代謝に関与している可能性がある。また HxlR 様遺伝子の欠損により、本菌の対数増殖期以降の増殖能は低下し、膜輸送タンパク質をコードする遺伝子の発現が変化した。このことから、HxlR 様遺伝子は膜輸送タンパク質をコードする遺伝子の転写調節を介し、対数増殖期以降における本菌の生存および増殖に関わることが示唆された。



(会員外研究者：東京歯科大学微生物学講座 石原 和幸)

血管内皮細胞におけるインスリン抵抗性は糖尿病関連歯周炎を増悪させる

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯周病学分野

○瀬々 起朗、新城 尊徳、西村 優輝、佐藤 晃平、今川 滯
陳 爽、梁 尚陽、岩下 未咲、山下 明子、西村 英紀

Endothelial insulin resistance contributes to the exacerbation of diabetes-related periodontitis

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

○Tatsuro Zeze, Takanori Shinjo, Yuki Nishimura, Kohei Sato, Mio Imagawa,
Chen Shuang, Naoaki Ryo, Misaki Iwashita, Akiko Yamashita, Fusanori Nishimura

【目的】

糖尿病患者で歯周病が重症化しやすいことは、診療ガイドラインにも明記され明らかであるが、分子機序は十分に解明されていない。近年では、インスリン抵抗性が様々な糖尿病関連疾患の病態形成に関与する可能性が指摘されており、歯肉においても肥満・糖尿病によりインスリン抵抗性が惹起されることが明らかとなっている。しかし、どの歯肉構成細胞におけるインスリン抵抗性が如何に歯周炎の増悪に寄与するのか、詳しいメカニズムは依然不明である。インスリンは、血管内皮細胞における白血球接因子(CAMs)の1つであるVCAM-1を下方制御することから、我々は炎症免疫細胞の動員に重要な役割を持つ血管内皮細胞に着目し、同細胞のインスリン抵抗性と歯周炎病態増悪の関連を *in vitro*・*in vivo*の系で検討することとした。

【材料・方法】

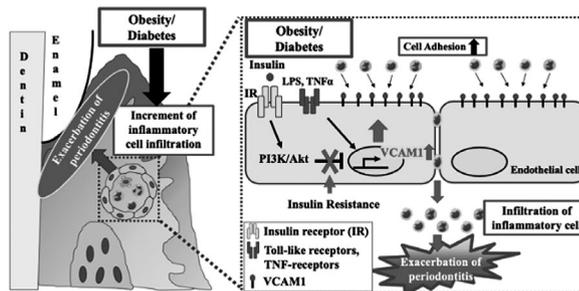
①マウス細小血管内皮細胞株(TKD2)を100nMインスリンで30分前処理し、12時間のE. coli LPSおよびTNF α (それぞれ10ng/ml)刺激によるVCAM-1発現が下方制御を受けるかをWestern Blot (WB)法にて検討した。②TKD2細胞をインスリン前処理前にPI3K阻害剤wortmannin (100nM)とMEK阻害剤PD98059 (10 μ M)で処理し、①で見られたインスリンの効果はPI3K/Akt経路もしくはMAPK経路のどちらを介するかをWB法とTHP-1細胞を用いた細胞接着試験で確認した。③TKD2細胞を高血糖(25mM: HG)で48時間処理し、通常血糖(5.5mM: LG)処理条件と比較して、インスリンによるE. coli LPSおよびTNF α 誘導性VCAM-1発現抑制効果に変化が見られるかをWB法で確認した。④血管内皮細胞特異的インスリン受容体欠損(VEIRKO)マウスと同腹仔野生型(WT)マウスに7-0絹糸で2週間結紮を行い、歯槽骨吸収、歯肉中の炎症関連遺伝子発現、歯槽骨周囲の破骨細胞形成、歯肉への好中球浸潤を評価した。⑤TKD2細胞にempty vector、FoxO1、インスリンによるリン酸化部位に変異を起こした変異型FoxO1(FoxO1-ADA)を過剰発現させ、それぞれの細胞におけるインスリンによるE. coli LPSおよびTNF α 刺激によるVCAM-1発現への影響を、WB法および細胞接着試験で検討した。

**本研究は九州大学動物実験委員会、遺伝子組換え実験安全委員会の承認のもと実施した(承認番号:A20-244-1, A22-097-0)

【結果および考察】

①TKD2細胞では、インスリン刺激によってE. coli LPSおよびTNF α 誘導性VCAM-1発現が有意に抑制された。②wortmannin処理によってインスリンによる炎症刺激誘導性VCAM-1発現抑制効果は打ち消され、THP-1のTKD2細胞への細胞接着の抑制も解除された。③HG処理したTKD2細胞では、インスリン抵抗性が惹起し、インスリンによる炎症刺激誘導性VCAM-1発現の抑制が減弱していた。④VEIRKOマウスではWTマウスと比べて、歯肉でのインスリンによるPI3K/Akt/FoxO1経路のリン酸化が阻害されていた。また、絹糸結紮による歯槽骨吸収は有意に増大し、歯肉中のTNF α などの炎症性サイトカインやVCAM-1をはじめとする細胞接着因子、RANKL発現が有意に亢進するとともに、歯槽骨周囲の破骨細胞形成と歯肉中の好中球浸潤は有意に亢進した。⑤FoxO1-ADAを過剰発現したTKD2細胞では、インスリンによる炎症刺激誘導性VCAM-1発現の抑制効果が打ち消されていたとともに、THP-1細胞との接着の抑制が見られなかった。

以上のことから、糖尿病や肥満を背景として血管内皮細胞にインスリン抵抗性が惹起されると、インスリンによるPI3K/Akt/FoxO1経路を介したVCAM1発現制御が破綻し、炎症細胞の接着が亢進することで炎症がより増悪し、歯周炎病態進行に寄与することが示唆された。



三叉神経中脳路核神経細胞の老化と歯の喪失がアミロイドβの拡散に影響を与える

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯周病学分野

○園田怜美、野口和行

Aging of Trigeminal Mesencephalic Nucleus Neurons and Tooth Loss Affect the Diffusion of Amyloid-β
Department of Periodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○Reimi SONODA, Kazuyuki NOGUCHI

【背景・目的】

口腔機能とアルツハイマー型認知症(AD)発症との関連が示唆されているが、ADの病理学的特徴を説明することは困難である。アミロイドβ(Aβ)はADの病理学的特徴であり、細胞毒性を有している。近年オートファジーが神経細胞の恒常性維持に重要であるとされている。オートファジーによって細胞内のAβが処理されるが、加齢に伴いAβは細胞外に放出され周囲の細胞に影響を与える可能性がある。我々はADモデルマウスを用いて歯の喪失による神経変性の影響を調べ、三叉神経中脳路核(Vmes)神経細胞の傷害後、海馬や認知機能に影響を与えることを発見した。しかし、神経細胞の老化、オートファジー、Aβの細胞外拡散などの相互関係が、AD発症にどのように影響するかは不明である。そこで本研究では、ADモデルマウスを用いてVmes神経細胞のオートファジー、Aβの動態並びにVmes神経変性によるAβ₄₂オリゴマー拡散への影響を検討することを目的とした。

【材料と方法】

ADモデルマウス2種類(トランスジェニックマウスとノックインマウス)と野生型マウスを用い、Aβの沈着が顕著であるVmes神経細胞におけるAβの局在やVmes神経細胞内でのオートファジーとAβ₄₂オリゴマーの加齢変化について免疫組織化学的に検討した。また上顎右側臼歯の抜歯によるVmesの神経変性および細胞外Aβ₄₂オリゴマー拡散を検討した。なお、本研究は鹿児島大学動物実験員会の承認を得て実施した。(承認番号D17016, D20007)

【結果】

トランスジェニックマウスのVmes神経細胞にてAβの局在を確認したところ、細胞質内に膜様構造を多数認めた。膜様構造を電子顕微鏡にて観察したところ、膜様構造は二重膜構造を呈しており、二重膜の外側にAβの沈着を認めた。また、膜内部にミトコンドリアを含むオートファジーと考えられる構造も確認された。細胞質内の膜様構造はオートファジー関連抗体との部分的な共局在を認め、Aβと選択的オートファジーとの関連が示唆された。Aβ₄₂オリゴマーの細胞外への拡散が加齢による選択的オートファジーの低下によって引き起こされるのではないかと仮説を立て、加齢に伴い増加することが知られているオートファジー抑制マーカーであるRubiconを指標として、ノックインマウスを用い、選択的オートファジーについて確認したところ、3カ月齢以降のマウスにてRubiconの顕著な増加を認め、加齢に伴い選択的オートファジーの低下が認められた。抜歯に伴う神経変性によるAβ₄₂オリゴマーへの影響を確認したところ、非抜歯群では細胞外形が保たれており、周囲にAβ₄₂オリゴマーの拡散はわずかであったのに対し、抜歯群では抜歯による神経変性が生じたと考えられる細胞外形が不整な細胞が存在し、周囲にAβ₄₂オリゴマーの拡散を認めた。

【結論及び考察】

ADモデルマウスにおいて、Vmes神経細胞内にAβの蓄積を認め、選択的オートファジーとの関連を認めた。神経細胞の恒常性にオートファジーは必要不可欠であるが、加齢に伴うオートファジーの機能低下により細胞内で消化されなかったAβ₄₂オリゴマーの神経細胞外への拡散が促進される可能性が示唆された。また、ノックインマウスにて抜歯によりVmes神経細胞変性を認めた。先行研究では、抜歯がVmes、青斑核、海馬での神経変性カスケードを介してAD発症の引き金となることが示されているが、今回のノックインマウスの実験では、多くのAβ₄₂オリゴマーが細胞外に拡散していた。今回の研究結果より、オートファジーがVmes神経細胞の恒常性を維持し、加齢によるオートファジーの機能低下と神経変性がAβ₄₂オリゴマーの細胞外への拡散を促進し、ADの発症につながる可能性が示唆された。

歯周炎における破骨細胞分化を制御するメカノセンサーPiezo1 の役割

1) Nova Southeastern University College of Dental Medicine

2) 日本学術振興会海外特別研究員

3) 広島大学大学院 医系科学研究科 歯髄生物学研究室

4) 日本学術振興会特別研究員 DC2

○進藤 智^{1), 2)}, 中村 心¹⁾, 熊谷友樹^{1), 3), 4)}, 柴 秀樹³⁾, 河井敬久¹⁾

The role of mechanosensory Piezo1 on osteoclast differentiation in periodontitis

1) Nova Southeastern University College of Dental Medicine

2) JSPS overseas research fellowships

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

4) JSPS Research Fellowship for Young Scientists DC2

○Satoru Shindo^{1), 2)}, Shin Nakamura¹⁾, Tomoki Kumagai^{1), 3), 4)}, Hideki Shiba³⁾, Toshihisa Kawai¹⁾

【目的】 歯周炎は歯周病原細菌感染によって惹起され、宿主の過剰な免疫応答が炎症性骨破壊をさらに増悪する。メカニカルストレスは細胞の生理活性を調節し、骨芽細胞、骨細胞または間葉系幹細胞による硬組織形成を誘導することが近年明らかとなってきた。しかし、歯周炎に伴う歯牙の動揺や炎症で上がる組織間圧等が起すメカニカルストレスの細胞への影響の研究は稀有である。メカノセンサー-Ca²⁺チャンネルとして2010年にDr. Ardem Patapoutianによって発見されたPiezo1とPiezo2はこれまでに様々な細胞の生理活性を制御していることが報告され、その功績は2021年、ノーベル医学・生理学賞に輝いた。Piezo1は骨芽細胞、骨細胞を活性化し骨増生を促すことが分かっているが、破骨細胞に発現しているPiezo1の役割については不明な点が多い。本研究では、破骨細胞に発現しているメカノセンサーPiezo1が歯周炎における歯槽骨吸収に与える影響を調べた。

【材料および方法】 マウス骨髄由来単核球 (BMMCs) をM-CSF (25 ng/ml) とRANKL (10 ng/ml) で刺激し、破骨細胞に分化させた。破骨細胞における種々のメカノセンサーイオンチャンネルの遺伝子発現をqPCRにて解析し、Piezo1の発現をFlow cytometryによって調べた。Piezo1あるいはnegative control siRNAを破骨細胞にトランスフェクションし、引き続き、Yoda1 (Piezo1 activator, 5 μM) あるいは振とう攪拌機で培養液流動に起こす”ずり応力” (30 rpm, 15 degree) で刺激した。破骨細胞分化に与える影響をTRAP染色、Pit formation assay, qPCRおよびWestern Blottingによって評価した。Piezo1活性化によって生じるCa²⁺細胞内流入をFluo-8 No Wash Calcium Assay Kitを用いて調べた。破骨細胞のPiezo1が活性化された際に発現する骨芽細胞分化誘導因子を同定するためにPCR arrayを行い、同定された候補因子の効果をMC3T3-E1骨芽前駆細胞を用いて評価した。破骨細胞においてYoda1が誘導する特異的シグナル伝達経路を探索するためにPhospho explorer antibody arrayを行い、同定された候補因子のリン酸化をWestern blottingによって確認した。絹糸結紮歯周炎モデルマウスを用いて、Yoda1全身投与が歯槽骨吸収に与える影響を評価した。

【結果】 マウス破骨細胞は調べた8種の代表的なメカノセンサーの中でPiezo1の遺伝子を高発現しており、タンパクレベルでもPiezo1の高発現を確認した。Yoda1およびずり応力は破骨細胞分化、骨吸収および破骨細胞活性関連遺伝子の発現を全て有意に抑制した。siRNAによりPiezo1をノックダウンすると、Yoda1によって誘導されるCa²⁺の細胞内流入量は減少し、ずり応力による破骨細胞分化の抑制が解除された。PCR arrayの結果、Piezo1刺激を介して分化抑制された破骨細胞は骨芽細胞分化誘導因子の一つであるIGF-1遺伝子発現量が増加しており、その培養上清はMC3T3-E1細胞の石灰化を促進した。さらに、抗IGF-1中和抗体は前述のPiezo1を刺激された破骨細胞によるMC3T3-E1細胞の骨芽細胞分化を解除した。Phospho explorer antibody arrayの結果、Piezo1の刺激は破骨細胞のAktシグナルを強く抑制することが明らかとなった。Yoda1腹腔内投与は絹糸結紮で誘導したマウス歯周炎の骨吸収と破骨細胞関連遺伝子発現を抑制し、IGF-1遺伝子発現を促進した。しかし、Yoda1はマウス歯周炎におけるRANKLおよびOPG遺伝子発現には影響を与えなかった。

【考察】 メカニカルストレスを破骨細胞がPiezo1を介して感受していることが明らかとなった。Piezo1の活性化は破骨細胞分化を負に制御し、IGF-1産生による骨芽細胞分化を促進することによって、骨破壊を抑え同時に骨産生を促進し骨リモデリングを骨再生方向に調整している可能性が示唆された。また、破骨細胞のPiezo1活性化は細胞内Aktシグナルを強力に抑制していることが明らかとなった。さらに、Piezo1特異的 activatorであるYoda1がマウス歯周炎における骨吸収を抑制したことから、Yoda1が新たな骨吸収抑制剤の候補因子であることが考察された。

会員外共同研究者: Toshihisa Kawai, Nova Southeastern University College of Dental Medicine

Er:YAGレーザー照射によるハイドロキシアパタイトの分子構造変化に対するラマン分光解析

1. 京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学
 2. 京都工芸繊維大学大学院 工芸科学研究科 セラミック物理学研究室
 3. 東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 う蝕制御学分野
- 宮本 奈生¹、今村 隼大^{1,2}、足立 哲也¹、平石 典子³、山本 俊郎¹、Giuseppe Pezzotti^{1,2}、金村 成智¹

Raman Spectroscopic Analysis of Molecular Structure Change of Hydroxyapatite Induced by Er:YAG Laser Irradiation

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

2. Ceramic Physics Laboratory, Kyoto Institute of Technology

3. Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and
Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○Nao Miyamoto¹, Hayata Imamura^{1,2}, Tetsuya Adachi¹, Noriko Hiraishi³, Toshiro Yamamoto¹, Giuseppe Pezzotti^{1,2}, Narisato Kanamura¹

(目的)

近年、レーザー技術の発展により、安全性の高い低出力レーザー治療 (LLLT: Low reactive Level Laser therapy) が組織再生療法や疼痛緩和療法において、遺伝子レベルで効果的であることが実証されてきた。一方で Er:YAG レーザーは高出力照射 (HLLT: High reactive Level Laser therapy) で歯質の切削に使用されているが、ハイドロキシアパタイト (HAp) の結晶構造に与える分子レベルでの不可逆的影響についてはあまり知られていない。そこで我々は HAp を含む複数の試料に対し、出力を変えてレーザー照射を行い、照射後の分子構造の変化をラマン分光法によって解析した。

(方法)

リン酸水素イオン含有量の異なる 2 種類の HAp セラミックス試料 (TYPE I, II) と被験者より同意のもと抜去した 2 本の歯牙試料に対して Er:YAG レーザーを照射した。レーザー照射にあたっては 30~300mJ の異なるパワーで複数の箇所に行った。その後試料表面を共焦点レーザー顕微鏡によって観察し、共焦点レーザーラマン顕微鏡によってラマンスペクトルを収集、レーザー照射によって起こった変化を解析した。さらにビッカース圧子試験機によって硬度測定を行った。なお、本研究にあたっては本学の医学倫理審査委員会 (ERB-C-136) の承認を得ている。

(結果)

レーザー顕微鏡による観察では、すべての試料においてレーザー照射後に表面粗さが増加したが、特に歯牙で顕著であった。ラマンスペクトル解析では、HAp の結晶構造の変化を示す 947、961、969cm⁻¹ (バンド II、I、III) の 3 つのサブバンドの存在が確認された。レーザー出力の増加に従ってラマンスペクトルが明瞭に変化することが確認されたが、HAp セラミックスと歯牙とではサブバンドのピークシフト、半値幅 (FWHM)、強度比 I_{947}/I_{961} 、 I_{969}/I_{961} で異なった特徴を示した。ビッカース硬度試験では HAp セラミックスはレーザー出力の上昇に伴って硬度の上昇を、歯牙では低下を認めた。

(考察)

HAp 結晶にレーザー照射すると、試料表面温度変化によって結晶構造の非化学量論的变化が生じる。歯牙は HAp セラミックスと比べ、エナメル質内に不純物や水分子の含有量が多い特徴があるため、レーザー出力を変化させると、HAp 結晶構造に両者で異なった化学反応が生じ、ラマンスペクトル変化の差異として観測されたと考えられる。また、機械的強度の変化は、こうした化学反応に加え、エナメル質に特徴的に含まれるタンパク質が、熱によって分解・酸化反応を生じ、歯牙表面にマイクロクラックの形成を引き起こしたことも影響している可能性がある。以上からラマン分光法による解析によって、歯面に対する Er:YAG レーザーによる照射処理は HAp の化学的組成や微細構造、格子欠陥や機械的硬度の変化を引き起こすことが明らかとなった。これらの知見は、HLLT における適切なレーザー出力やサージカルマージンの設定の重要性を示唆している。

(謝辞)

本研究を進めるにあたり、終始多大なるご指導とご協力を頂いた京都工芸繊維大学 朱文亮 教授、Elia Marin 准教授に深謝いたします。本研究は令和元年度経済産業省 戦略的基盤技術高度化支援事業の支援を受けたものである。

在宅高齢者のリスクアセスメントを容易にする感染症迅速診断キットの開発
- (第一報) C-reactive protein (CRP) イムノクロマト試薬の開発と性能評価 -

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻 口腔健康科学講座 う蝕学分野
○竹中彰治、枝並直樹、齋藤瑠郁、大倉直人、野杵由一郎

Development of Point of Care Testing to facilitate risk assessment for the elderly at home
- Performance evaluation of a newly developed semi-quantitative rapid test for CRP level determination -
Division of Cariology1, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○TAKENAKA Shoji, EDANAMI Naoki, SAITO Rui, OHKURA Naoto, NOIRI Yuichiro

【目的】地域包括ケアシステムの構築の推進により、在宅高齢者の身体状態の変化を察知し、疾病発症のリスクが高まった場合には医療機関への受診を促すリスクアセスメントがますます重要となる。本研究の目的は、これまで訪問看護師が経験の中で見抜いていた身体状態の変化に、科学的かつ客観的評価法を追加することで、感染症の兆候の早期発見を支援することである。特に、発熱や頻呼吸、頻脈といった典型的な症状がでにくい誤嚥性肺炎のリスク上昇を検知する Point of care testing (POCT) 試薬の開発に取り組んでいる。我々は、手始めに指尖の微量の血液から C 反応性蛋白 (CRP) を測定するイムノクロマト試薬 (以下、NiiCRP) を開発した。今回、NiiCRP の有用性を検証するために、判定値を臨床検査値 (定量値) と比較し、一致性を評価した。

【試薬の概要】検体中の CRP 抗原は、コンジュゲートパッド上の抗 CRP モノクローナル感作金コロイドと反応した後、メンブレン上を移動し、測定部に固相化された抗 CRP ポリクローナル捕捉抗体と結合して、検体中の CRP 抗原を介したサンドイッチ複合体を形成する。2mg/dl (以上) および 6mg/dl (以上) を 5 分、4mg/dl (以上) を 10 分で判定可能である。比較対象試薬として、Actim CRP (Medix Biochemica 社製) を用いた。Actim CRP は、ディップスティックタイプのイムノクロマト試薬で、5 分後に <1, 1-4, 4-8, >8mg/dl の 4 段階を目視判定できる。

【材料および方法】新潟大学医歯学総合研究科病院呼吸器内科に肺炎の診断で入院した患者 32 名 (平均年齢 72±13 歳) を対象として、入院期間中に検査のために採取した全血 (EDTA 加) の CRP 値を NiiCRP および Actim CRP を用いて判定した。得られた結果を、同日の定量値 (TBA-200FR, キヤノンメディカルシステムズ社製) と比較し、一致度を κ 係数により評価した。定量値は、血漿 (ヘパリン加) を用い、測定試薬は、CRP-ラテックス X2 「生研」 (デンカ社) を用いた。NiiCRP および Actim CRP を用いた判定は、定量値を知らない 2 名の医師が行った。定量値が 0.8-10mg/dl の 96 検体を解析対象とした (新潟大学倫理審査委員会承認番号: 2020-0006)。

【結果】NiiCRP による判定は、定量値と一致度が高かった (評価者 1 : κ 係数= 0.778, 評価者 2 : κ 係数= 0.764)。ただし、<2, 2-4 および >6 mg/dl での一致度は 83-96%であったが、4-6 mg/dl での一致度は低かった (それぞれ、56 および 64%)。評価者間の一致度は 91%であった。Actim CRP による判定は、ほぼ完全に一致しているとみなされる高い κ 係数が確認された (評価者 1 : κ 係数= 0.887, 評価者 2 : κ 係数= 0.919)。評価者間の一致度は 90%であった。

【考察】訪問看護師は持ち込める機器が限られるため、在宅医療で実施する検査には限界がある。さらに、認知症や寝たきりの高齢者からは身体状態の聞き取りは困難である。そのため、専用の測定器を必要とせずに高齢者の協力度に関係なく実施可能な POCT 試薬は、在宅医療だけでなく遠隔医療や災害医療でも活用できる可能性がある。今回開発した NiiCRP は、定量値と実質的に一致しているとみなされ、リスクアセスメントのツールとしての有用性が示された。Actim CRP は視認性も良く、定量値と優れた一致性を示したが、ディップスティックタイプは複数のバイオマーカーを一度に検査できないため、汎用性に課題がある。

【結論】NiiCRP は、CRP 定性検査として比較的正確な試薬であり、在宅における急性炎症の迅速診断法として利用可能である。

本研究の一部は、基盤研究(B)19H03958 および挑戦的研究 (萌芽) 20K21702 の助成を受けて行われた。