

自己免疫疾患の歯髄炎および根尖性歯周炎の病理学的研究
-IgA 腎症モデルマウスを用いた解析-

神奈川歯科大学歯科保存学講座 歯内療法学分野
○林 玲緒奈、山崎 詩織、糸永 和広、武藤徳子、石井信之

Histopathological study of Autoimmune Diseases Pulpitis and Root Apical Periodontitis
-Analysis using mouse model of IgA nephropathy-

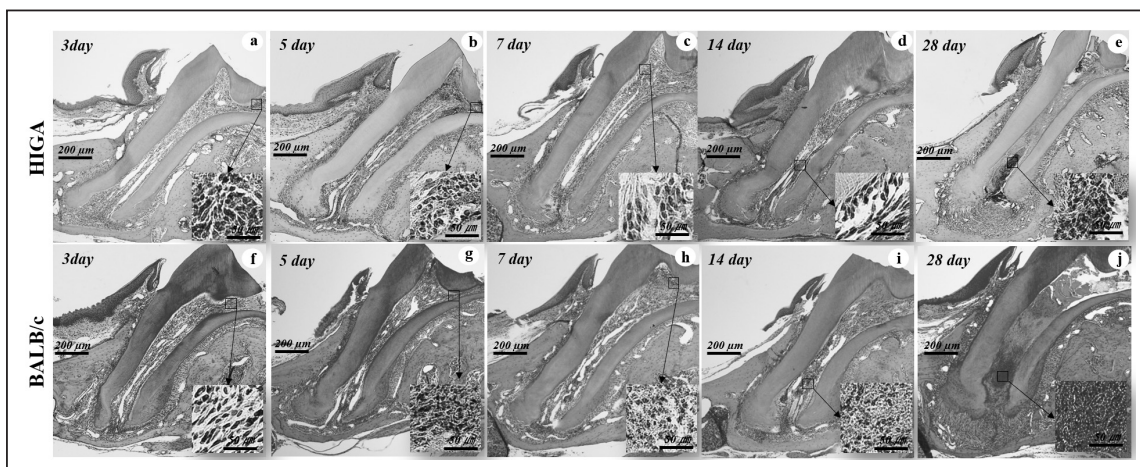
Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○HAYASHI Reona, YAMAZAKI Shiori, ITONAGA Kazuhiro, MUTOH Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

目的: IgA 腎症は、糸球体メサンギウム領域に IgA が沈着する疾患で、慢性糸球体腎炎の中で最も多く報告されている炎症性腎疾患である。また、歯周炎などの口腔感染症と関連することが知られているが、その病態や治療法は確立していない。本研究は、自己免疫疾患である IgA 腎症における歯髄炎と根尖性歯周炎の病態への影響を解析することを目的とした。

材料と方法: 歯髄感染モデルとして HIGA マウス (IgA 腎症モデル (n=30)) と BALB/c マウス (対照群 (n=30)) を使用した。歯髄感染後 3、5、7、14、28 日に歯髄と根尖性歯周組織の組織学的解析を行い、抗ネスチン染色による象牙芽細胞と TUNEL 染色によるアポトーシス細胞の動態を解析した。なお、本研究は本学実験動物倫理委員会の承認 (21-008)を得ている。

結果: 両群とも 3 日以降、露髄直下の歯髄に炎症性細胞浸潤が認められ、14 日以降に根尖部歯髄から根尖歯周組織に浸潤した。歯髄の壊死組織面積は、7 日以降において対照群で有意に増加した。象牙芽細胞は両群とも 3 日目から減少し、28 日には消失した。歯髄および根尖歯周組織におけるアポトーシス細胞は、14 日は両群間で有意差は認められなかったが、28 日には実験群で有意に増加した。根尖歯周組織の骨吸収は 28 日で実験群が有意に減少した。



Histopathological changes in pulpitis and apical periodontitis by hematoxylin eosin staining, day 3 (a and f), 5 (b and g), 7 (c and h), 14 (d and i), 28 (e and j) postoperatively. Experimental group (HIGA) (a-e). Control group (BALB/c) (f-j). Scale bar = Scale bars 200 μ m, 50 μ m.

考察: 自己免疫疾患は、健常者と比較し歯周炎等の慢性炎症有病率が高く、特に IgA 腎症では長期間の炎症持続が起こることが報告されており、本研究においても、実験群において歯髄炎と根尖性歯周炎の慢性炎症が持続する傾向が認められた。

結論: 本研究結果は、IgA 腎症は歯髄および根尖歯周組織における炎症が長期化する傾向が認められた。

自己免疫疾患における歯髄および根尖歯周組織疾患の病理組織学的研究 - 関節リウマチモデルマウスを用いた解析 -

神奈川歯科大学歯学部歯科保存講座歯内療法学分野
○山崎 詩織、林 玲緒奈、糸永 和広、武藤徳子、石井信之

Histopathological study of dental pulp and apical periodontitis tissue in autoimmune diseases

- Analysis in rheumatoid arthritis model mice -

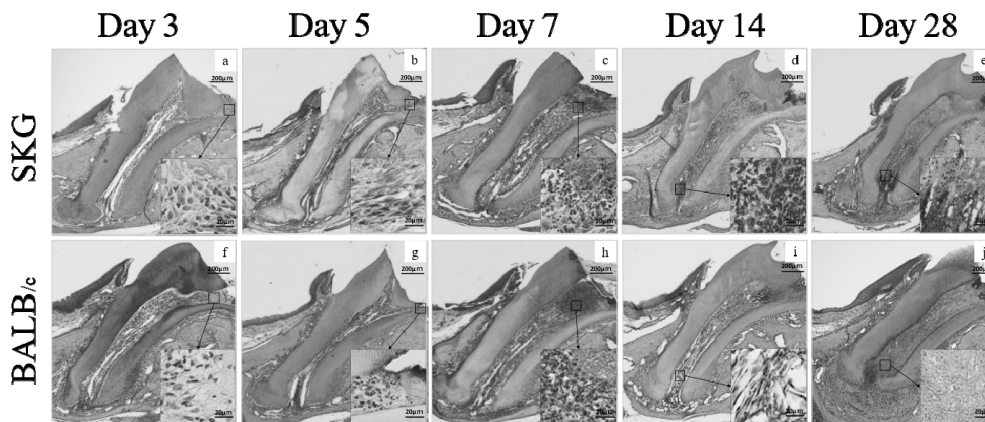
Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○YAMAZAKI Shiori, HAYASHI Reona, ITONAGA Kazuhiro, MUTOH Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

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

[材料および方法] 6週齢(雌)のSKGマウス(実験群 n=30)と正常免疫機能マウス(BALB/cマウス; 対照群 n=30)の両側上顎臼歯咬合面を露髄させ、口腔常在菌に感染させ歯髄感染モデルを作成した。術後3日、5日、7日、14日、28日後に深麻酔下にて4%パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定、さらに4℃で24時間浸漬固定後にEDTAにて脱灰し、パラフィン切片を作成してヘマトキシリン・エオジン染色(HE)にて炎症性細胞の動態を解析した。また、象牙芽細胞マーカーである抗Nestin抗体を用いて免疫組織学的解析を行い、TUNEL法にて歯髄組織内および根尖歯周組織内のアポトーシス細胞を解析した。髄腔内に存在する全てのNestin陽性周長の割合は、ImageJソフトウェア(ImageJ, Version 1.37v, NIH, USA)、TUNEL陽性率はWinROOFを使用して計算した。統計ソフトウェア(統計分析(SPSS Ver.26))を使用して統計学的に解析した。なお、本研究は本学実験動物倫理委員会の承認(21-008)を得ている。

[結果] SKG群およびコントロール群では、術後3日に露髄部へのPMNs遊走が観察され、術後14日目には浸潤は根尖部まで拡大した。根尖部への炎症性細胞浸潤と骨吸収は、SKG群と対照群で術後14~28日に観察され、対照群では術後28日に炎症性細胞浸潤と骨吸収が有意に増加した。歯髄および根尖歯周組織のアポトーシス細胞は、術後14日および28日においてSKG群がコントロール群よりも多かった。象牙芽細胞は術後14日まではSKG群および対照群で減少し、術後28日にはSKG群および対照群で減少した。



[考察] 本研究より、実験群はPMNs遊走による炎症性細胞浸潤の遷延が観察されたが、対照群ではPMNsの消失と組織壊死領域が拡大した。またTUNEL染色の陽性細胞の発現範囲が広く、アポトーシス細胞の存在がコントロール群よりも増加していた。これらの結果から、自己免疫疾患RAに特徴的な貪食細胞の抑制作用の可能性があり、慢性炎症が持続する傾向が観察されたことから、RAは歯髄および根尖性歯周炎の進行に関与することが示唆された。

[結論] 本研究により、RAにおける免疫応答の破綻が歯髄炎および根尖性歯周炎の炎症状態の長期化に関与していることが示唆された。

新規動物モデルを用いた炎症性腸疾患の影響を受ける 根尖性歯周炎増悪化病態の調査

東北大学歯学研究科エコロジー歯学講座歯科保存学分野

○中野将人, 八幡祥生, 齋藤正寛

Affected by inflammatory bowel disease using a novel animal model

Exploring the mechanism of aggravation of apical periodontitis

Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry

Tohoku University Graduate School of Dentistry

○Masato Nakano, Yoshio Yahata, Masahiro Saito

【目的】

ヒト最大の免疫組織である腸管免疫の破綻を本態とするクローン病と潰瘍性大腸炎に代表される炎症性腸疾患 (IBD) は、口腔内細菌で活性化された Th17 リンパ球が腸へ移動することで腸炎が惹起される指定難病である。近年、口腔内の環境が IBD の疾患活動度に影響を及ぼすことが明らかになったが、逆に IBD が影響する合併症についての詳細は未だ不明な点が多い。IBD の合併症として臨床的には根尖性歯周炎 (AP)、辺縁性歯周炎の増悪化や口腔粘膜潰瘍の発症が報告されている。中でも AP は根尖病変による顎骨破壊が増大する治療抵抗性になる事が報告されている。生物学的製剤投与で IBD の疾患活動度が低下した患者では、AP 病変の縮小が報告されており、根管内の感染源に端を発する炎症反応のみならず、IBD による顎骨内の免疫学的な環境変化が AP の増悪化を引き起こす可能性を着想した。そこで本研究では IBD と AP を発症する新規のマウスモデルを構築し、IBD が AP にもたらす免疫学的な影響を調査し、顎骨破壊が増悪化する病態について明らかにすることを旨とした。

【材料および方法】

<動物モデル確立>: すべての動物実験は「東北大学における動物実験および関連活動の規則」に準拠し、東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会によって承認され、実施された (承認番号: 2019 歯動-062)。IBD モデルは 2% デキストラン硫酸 (DSS) の飲水および休薬を繰り返して腸炎を誘導した。AP モデルは下顎第一臼歯を露髄させ、4 週間の間、根管を口腔内細菌へ暴露して作製した。IBD モデルに AP 処置を施すことで、IBD+AP マウスモデルを確立した。

<マイクロ CT 解析>: 露髄処置の 4 週後、下顎骨を摘出し 80kV/80 μ A の条件でマイクロ CT スキャンした。画像は解像度 13 μ m、回転 360 度で取得し下顎第一臼歯の根尖部透過領域の体積を測定、モデル間で比較した。

<組織解析>: 顎骨を脱灰処理後パラフィン包埋し、HE 染色して根尖病変部の顎骨破壊像をモデル間で比較した。

<RNA-Seq 解析>: 下顎第一から第三臼歯を含む下顎骨体を粉砕し、total RNA を抽出した。TruSeq stranded mRNA LT Sample Prep Kit (illumina) でのライブラリ調整の後 NovaSeq6000 (illumina) で RNA シーケンシングを実施した。その後 HISAT2 によるマッピング、StringTie によるリードカウントを行った後に、edgeR を用いて各グループ間の発現変動遺伝子を抽出した。発現遺伝子の比較は、GeneOntology 解析を使用し、Metascape 上で行った。

<FACS 解析>: 下顎骨体、顎下リンパ節、腸間膜リンパ節から細胞を単離し、CD45、CD4、TCR β の表面抗原および Foxp3、ROR γ t の細胞内転写因子を染色した。フローサイトメトリ解析は、LSR Fortessa (BD) と FlowJo (BD) ソフトウェアを使用し、構成免疫担当細胞の相違を比較した。

【結果および考察】

IBD+AP モデルの顎骨破壊領域は $0.582 \pm 0.076 \text{ mm}^3$ と、AP 単独の $0.244 \pm 0.021 \text{ mm}^3$ と比較して有意に増大し ($p < 0.05$, Student's t-test)、組織学的解析により同領域には炎症性細胞の高浸潤が観察された。RNA-seq の結果、顎骨内に Nos2、Il12ra2、Cxc19 などの炎症反応関連遺伝子および、Il6、Tarm1、Gal などリンパ球活性化関連遺伝子の発現上昇を認め、リンパ球の増加を起点として顎骨内の炎症が増強したことが示された。フローサイトメトリ解析では、顎骨で CD4 陽性 T 細胞サブセットのうち TCR β^+ CD4 $^+$ Foxp3 $^-$ ROR γ t $^+$ の Th17 リンパ球の割合が上昇した。IBD モデルでは腸炎により Th17 リンパ球が腸間膜リンパ節で上昇し、同様に IBD+AP モデルでは顎下リンパ節でも Th17 リンパ球が上昇した。これらの結果より、IBD による腸内免疫の破綻を起点として口腔周囲に増加した Th17 は、顎骨内の炎症反応を促進し、破骨細胞の活性化を引き起こす可能性が考えられた。つまり IBD の合併症としての AP の増悪化機構は、顎骨内の Th17 リンパ球を主体とする獲得免疫の活性化が原因となることが示された。

【結論】

IBD は、Th17 を中心とした自己免疫反応による腸粘膜組織の破壊を引き起こすことは既に報告されているが、合併症として根尖性歯周炎でも同様の免疫反応により顎骨破壊を増悪化して治療抵抗性を引き起こす可能性が示された。これらの研究成果より、IBD を併発した AP の治療方法として顎骨で起きている免疫反応を局所投与で抑制する新規の抗炎症治療技術の開発の必要性が示された。

S1PR1 受容体を介したマウス歯乳頭由来幹細胞の象牙芽細胞分化と石灰化

福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野¹,
新潟大学 医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野², 福岡歯科大学 口腔医学研究センター³
○廣瀬陽菜¹, 藤政清志朗¹, 金丸慎吾¹, 松本典祥¹,
高原信太郎², 大倉直人², 枝並直樹², 野杻由一郎², 松崎英津子^{1,3}

Sphingosine-1-phosphate (S1P) receptor 1-mediated odontoblastic differentiation and mineralization of mouse apical papilla-derived stem cells

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

²Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences,

³Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College

○Haruna HIROSE¹, Seishiro FUJIMASA¹, Shingo KANEMARU¹, Noriyoshi MATSUMOTO¹, Shintaro TAKAHARA², Naoto OHKURA², Naoki EDANAMI², Yuichiro NOIRI², Etsuko MATSUZAKI^{1,3}

【目的】再生歯内療法は、根尖部に存在する歯乳頭由来幹細胞 (Stem cells of the apical papilla: SCAP) を根管に導き、血餅を足場とした細胞の賦活化により骨様硬組織形成を期待するものである。一方で、再生歯内療法における SCAP の象牙芽細胞分化メカニズムは明らかとなっていない。

生体内に存在し、シグナル分子として働く脂質メディエーターであるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、S1P 受容体 (S1PR1-5) を介して生理機能作用を発揮する。これまでに我々は、S1P シグナルによる未分化間葉系幹細胞の骨芽細胞/脂肪細胞分化制御機構を報告した (Hashimoto *et al.* 2015)。また、歯根未完成ラット下顎第一臼歯周囲の免疫組織学的解析により、根尖部歯乳頭および根管壁の象牙質-歯髓境界面に、S1PR1 陽性細胞が多数認められることを見出した (2022 年度秋季本学術大会)。そこで、S1PR1 シグナルが SCAP の象牙芽細胞分化、象牙質形成に関与すると仮説を立てた。本研究では、S1P が SCAP の象牙芽細胞に及ぼす影響を検討するとともに、S1PR1 受容体の関与について S1PR1 阻害剤を用いて調査した。また、SCAP の多分化能の調査として、骨系細胞と互いに分化を阻害しあう関係性にある脂肪細胞の分化に着目して検討を行った。

【材料および方法】実験にはマウス不死化歯乳頭由来幹細胞株 (iSCAP: Abm, Canada) を使用した。細胞に S1P (Sigma-Aldrich, USA) または骨/象牙質様硬組織誘導因子として報告のある BMP-9 (R&D systems, USA) を作用させ、その後、象牙芽細胞分化培地または脂肪細胞分化培地地下で培養した。S1PR1 阻害剤 W146 (Cayman Chemical, USA) を用いて S1PR1 の阻害を行い、S1P、BMP-9 が象牙質関連遺伝子の mRNA、分泌タンパク質発現および石灰化、脂肪滴形成に及ぼす影響について検討した。mRNA 発現は Real-time RT-PCR 法、分泌タンパク質発現は ELISA 法、石灰化はアリザリンレッド S 染色、脂肪滴形成はオイルレッド O 染色を用いて検討した。

【結果】iSCAP 細胞において、S1P、BMP-9 の添加により、象牙芽細胞分化マーカー遺伝子 Dentin sialophosphoprotein (DSPP)、Dentin matrix protein 1 (DMP1)、Matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE) の mRNA 発現は増加した。S1PR1 阻害剤による前処理を行うと、S1P による DSPP、DMP1 の mRNA 発現増加は抑制され、MEPE は抑制傾向を認めた。一方、BMP-9 による DSPP、DMP1、MEPE の mRNA 発現増加は、S1PR1 阻害による影響を受けなかった。また、DSPP タンパク質の分泌は、S1P、BMP-9 の添加により増加した。S1PR1 阻害を行うと、S1P による DSPP タンパク質分泌増加は抑制されたが、BMP-9 による DSPP タンパク質分泌増加は影響を受けなかった。MEPE タンパク質分泌はそれ自体が少量で、S1P および BMP-9 添加による影響を認めなかった。次に石灰化について検討した。S1P、BMP-9 の添加により石灰化促進作用を認めた。S1PR1 阻害を行うと、S1P による石灰化促進作用は有意に抑制されたが、BMP-9 による石灰化促進作用は影響を受けなかった。一方、脂肪細胞分化培地地下では、S1P の添加により脂肪滴形成抑制作用を認めたが、BMP-9 の添加は脂肪滴形成に影響を及ぼさなかった。また、S1PR1 阻害により、S1P の脂肪滴形成抑制作用は緩和され、一部脂肪滴の形成が観察された。一方、S1PR1 阻害は BMP-9 の脂肪滴形成に影響を及ぼさなかった。

【考察】本研究結果から、S1PR1 受容体を介した iSCAP 細胞の象牙芽細胞分化促進作用が示唆された。

象牙質は、象牙芽細胞から合成・分泌された有機性基質が石灰化することにより形成されるが、基質を構成する非コラーゲン性タンパク質のうち最も多いのが DSPP である。今回、S1PR1 受容体を介した DSPP mRNA 発現増加、DSPP タンパク質分泌増加を見出したことから、S1PR1 シグナルは SCAP の象牙芽細胞分化に加えて、DSPP 遺伝子発現促進により、基質の石灰化すなわち象牙質の形成に関与する可能性も考えられた。一方、BMP-9 シグナルによる象牙芽細胞分化、石灰化促進は、S1PR1 シグナルとは異なる経路により制御されている可能性が考えられた。また、iSCAP 細胞の脂肪細胞への分化については、S1PR1 シグナルを介した脂肪細胞分化抑制作用の存在が示唆されたが、BMP-9 シグナルは関与しないと考えられた。

再生歯内療法後の治癒過程初期における各種間葉系幹細胞マーカー陽性細胞の局在性

¹新潟大学 医歯学総合研究科口腔健康科学講座 歯学分野

²新潟大学 医歯学総合研究科口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野

○高原信太郎¹, 大倉直人¹, 吉羽永子¹, 竹中彰治¹, 枝並直樹¹, 吉羽邦彦², 野村由一郎¹

The localization of various mesenchymal stem cell marker-positive cells in early healing stage after regenerative endodontic procedure

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

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

○Shintaro TAKAHARA¹, Naoto OHKURA¹, Nagako YOSHIBA¹, Shoji TAKENAKA¹, Naoki EDANAMI¹, Kunihiro YOSHIBA², and Yuichiro NOIRI¹

【目的】 根管治療歯は生活歯に比べて脆弱であり、歯の喪失のリスクが高いため(Wan-Chuen Liao *et al.* 2022)、歯の構造を強化することが可能な再生歯内療法(Regenerative Endodontic Procedure: REP)が注視されている。しかし、血餅を用いた REP 後の治癒形態は、多くの場合、歯髄様組織ではなく歯根膜様組織であることが知られている。我々は既に、5 週齢ラット(根未完成歯)では、治癒形態が歯髄様組織になる REP 条件を見出した(Edanami N *et al.* Sci Rep. 2020)。さらに、同条件で根未完成歯から根完成歯に該当する 5, 8, 11 週齢ラットの REP 28 日後の、治癒形態と、治癒に重要な役割を担う間葉系幹細胞(Mesenchymal Stem Cell:MSC)の局在を比較し、歯根の成長に伴い歯髄様の治癒形態の割合が減少するが、根尖部では一部の MSC マーカー陽性細胞数が増加することを報告した(日歯保存誌 2023 年度春季プログラム集)。以上の結果より、下記の 2 つの問いが生まれた。①根未完成歯では REP 後、根尖部で MSC 数が根完成歯と比較して早期に増加し、修復期間が短縮するのではないかと。②根未完成歯と根完成歯では REP 後に展開される MSC の種類に相違があるのではないかと。根管内の血餅が軟組織に置換されるのは REP 7 日後であるという報告があり(Komada *et al.* 2022)、組織修復のための MSC が血餅内に誘導されていることが推察される。そこで本研究では、REP 7 日後に着目し、根尖部と根管内新生軟組織における MSC の局在を比べることで、治癒メカニズムの一端が解明できるという仮説を立て、免疫組織学的検索を行った。本研究は科研費(21H03117B)の助成を受け遂行された。

【材料および方法】 本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認後実施した(承認番号 SA01156)。歯根未完成から成長終了に応じた 5, 8 ならびに 11 週齢の雄性 Wistar 系ラットの下顎左側第一臼歯に対し、以前の研究(Edanami N 同上)に従って REP 処置を施した。すなわち、近心部を露髄し、近心根の根尖孔から 0.8mm 上部までの歯髄を除去後、根管内を血餅で満たし、MTA を貼付し、フロアブルコンポジットレジンで封鎖した。7 日後に下顎骨ごと摘出し、4 週間脱灰後、パラフィン切片を作製し、MSC マーカーである α -Smooth Muscle Actin (α -SMA)、CD73、CD90 ならびに CD146 の特異的抗体を用いた免疫蛍光染色後に顕鏡し、MSC マーカー陽性細胞の局在解析を行った。統計解析は Kruskal-Wallis 検定を行い、 $p < 0.01$ あるいは 0.05 で有意差を判定した。

【結果】 REP 7 日後の近心根において、週齢が増すに従い① α -SMA 陽性細胞は、根尖部と根管内新生軟組織において減少し、②CD73 陽性細胞は、根管内で減少したが、根尖部では変化せず、③CD90 陽性細胞は、根尖部で増加したが、根管内では変化は無く、④CD146 陽性細胞も、同様に根尖部で増加し、根管内では変化を認めなかった。

【考察】 歯根の成長に伴い、REP 後の根管内新生軟組織において α -SMA と CD73 陽性細胞が減少したことから、根管内あるいは根尖部軟組織からの α -SMA 陽性あるいは CD73 陽性 MSC の供給が、歯根の成長に伴い低下したと考察される。他方で、CD90 と CD146 陽性細胞の増加を根尖部で認めたことから、治癒に寄与する MSC は数種類存在しており、歯根の成長によって、その供給源は、残存している根尖部組織由来のものから、血行性や神経性などによる外部組織由来のものへと変化し、供給される MSC の種類も異なる可能性が示された。

【結論】 REP 7 日後では、歯根の成長に伴い、根管内新生軟組織で α -SMA と CD73 陽性細胞が減少し、根尖部で α -SMA 陽性細胞が減少した。他方で、根尖部で CD90 と CD146 陽性細胞は増加しており、歯根の成長段階によって根管内と根尖部で増加する MSC マーカー陽性細胞に相違があった。

S-PRG フィラー含有 3D プリント樹脂のイオン放出量とその物性評価について

¹東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野, ²東京医科歯科大学大学院口腔医療工学分野,
³東京医科歯科大学大学院先端材料評価学分野, ⁴朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野
 ○辻 悠貴子¹, 平石 典子¹, 池田 正臣², 宇尾 基弘³, 二階堂 徹⁴, 島田 康史¹

Evaluation of Mechanical properties and Ion-releasing of 3D printing resins containing S-PRG filler

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

²Oral Biomedical Engineering, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

³Advanced Biomaterials, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

⁴School of Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University

○Yukiko Tsuji¹, Noriko Hiraishi¹, Masaomi Ikeda², Motohiro Uo³, Toru Nikaido⁴ and Yasushi Shimada¹

【緒言】

3D プリンターと光重合樹脂にて作製した暫間被覆冠は、既に臨床応用されているが、ブランク付着抑制、および歯質の脱灰抑制・再石灰化促成機能を付与した、3D プリンターにて積層可能な光重合樹脂についての研究は少なく、その臨床応用が期待されている。本研究では、6種類のイオン（フッ化物イオン、ナトリウムイオン、ホウ酸イオン、アルミニウムイオン、ケイ酸イオン、ストロンチウムイオン）が徐放されることにより抗ブランク付着性、酸中和能、歯質の脱灰抑制などの特徴を有する機能性ガラス素材である S-PRG (Surface Pre-Reacted Glass-ionomer) フィラーに着目し、S-PRG フィラーを添加した積層材料を用いて、3D プリンターにて試料を作製し、ICP 発光分光分析装置によるイオン放出量および曲げ試験、吸水試験による機械的特性を評価した。

【材料及び方法試料】

試験片形状は全て CAD ソフト (Geomagic Freeform, 3D SYSTEMS) にて作製し、STL データを取得した。その後、DLP 方式 3D プリンター (Cara print 4.0 pro, 三井化学) を用いて S-PRG フィラーを含有させた光重合樹脂 (試作樹脂, 松風) にて試験片を作製した。次に、超音波洗浄機を用いて、イソプロパノールにて試験片を洗浄後、光重合機 (HiLite power 3D, 三井化学) にて後重合した。ICP 測定は、上記方法にて S-PRG フィラーを 0, 10, 20, 30wt% 含有させた板状試験片を作製した後、37°C 精製水中に 7 日間保管し、ICP 発光分光分析装置 (Spectro Arcos, 日立) を用いて Sr, Al, B, Na, またイオン電極にて F のイオン放出量を計測した。曲げ試験については、上記方法にて S-PRG フィラーを 0, 30% 含有させた棒状試験片を、吸水試験については、円板状試験片を作製した。曲げ試験片は 24 時間 37°C 水中保管を行い、その後、一部試験片については 5-55°C の温度負荷試験を 5000 回施した後、万能試験機 (AG-Xplus, SHIMAZU) にて 3 点曲げ強さを計測した。吸水試験については、37°C 精製水中に 7 日間保管し、吸水量を電子天秤にて計測した。また、コントロール群には常温重合のレジンをを用いた。各試験後、イオン放出量は、Wilcoxon 順位和検定を、曲げ強さと吸水試験の結果は t 検定を用いて、危険率をボンフェローニの方法にて 5% に調整し検定した。

【結果及び考察】

放出イオン (ppm) は 0, 10, 20, 30wt% のすべてで Sr が最も多く、次いで F, B, Na, Al であり (Table 1)、各放出量は、試験片のフィラーの含有率に依存していた。また、曲げ強さにおいては、温度負荷試験前後で 0wt%, 30wt% 群の曲げ強さは常温重合レジン群に比べて有意に高い値を示した (Table 2, p<0.05)。さらに、0, 30wt% とともに温度負荷試験後に曲げ強さが有意に高い値を示した。吸水試験においては、1 週間 37°C 精製水保管後、常温重合レジン群と S-PRG0% 群、30% 群間の吸水量に有意差は認めらず、すべて 32µg/mm³ 以下を示した (p>0.05)。

【結論】

0, 30wt% の曲げ強さは常温重合レジンに比べ有意に高い値を示し、1 週間 37°C 精製水保管後の吸水量は常温重合レジンの ISO 規格の定める基準値 32µg/mm³ 以下であった。以上のことからイオンを放出する機能性を備えた光重合樹脂が口腔内で臨床応用できる可能性が示唆された。

	Sr	F	B	Na	Al
S-PRG0wt%	0.03±0.02	0.05±0.03	0.00±0.00	0.08±0.01	0.01±0.01
S-PRG10wt%	2.68±0.29	0.56±0.20	0.31±0.04	0.26±0.03	0.13±0.02
S-PRG20wt%	3.94±0.33	0.99±0.10	0.57±0.05	0.38±0.03	0.13±0.01
S-PRG30wt%	4.68±0.33	1.29±0.07	0.73±0.05	0.47±0.04	0.11±0.01

Table1: Amount of released ions (ppm)

	24h	TC5000
S-PRG0wt%	100.9±21.3 ^{a,b,e}	119.6±7.3 ^{c,d,e}
S-PRG30wt%	90.0±16.1 ^{a,f}	102.4±11.5 ^{c,f}
常温重合レジン	52.9±5.4 ^b	58.0±9.8 ^d

Table2: Flexural strength (MPa)

同英文字は有意差ありを示す (p<0.05)

新規低重合収縮レジンコアシステムに対する SS-OCT を用いた接着界面解析と根管象牙質への接着性能評価

¹⁾東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野,

²⁾東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔医療工学分野,

○畑山貴志¹, 田端倫子¹, 木部航太¹, 池田正臣², 角保徳¹, 島田康史¹

Assessment of a new bulk-fill resin core material: Gap analysis using SS-OCT and microtensile bond strength

¹⁾Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

²⁾Oral Biomedical engineering, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

○HATAYAMA Takashi¹, TABATA Tomoko¹, KIBE Kota¹, IKEDA Masaomi², SUMI Yasunori¹, SHIMADA Yasushi¹

【緒言】近年、根管処置後の支台築造において接着性レジンコア材を用いる機会は年々増えている。しかしながら、レジンコアを用いた支台築造には未だ様々な問題を抱えている。その一つとしてポスト窩洞内面における根管壁象牙質への接着強度不足の問題が今までも多くの論文の中で挙げられてきた。特にその中でも根尖付近の根管内は照射光エネルギーが十分到達しにくい事による重合不良が起き、また重合収縮の影響を受け根管壁から剥離を起こしてしまう報告が数多くされている。そこでサンメディカル株式会社による新規低重合収縮モノマー (LPS モノマー) を活用した i-TFC システムポストレジンがこの諸問題を解決する材料ではないかと注目し、有効であることが先行研究にて検証された。本研究では同低重合収縮モノマーを用いた新規レジンコアシステム (レジンコア: 開発コード DP-031, ボンド: 開発コード DP-032) の接着界面におけるギャップ形成を波長走査型光干渉断層計 (Swept-source optical coherence tomography, 以下 SS-OCT) を用いて非破壊的・非侵襲的に解析し、また根管壁象牙質に対する接着性能を各種レジンコア材と比較・検討した。

【材料及び方法】使用するレジンコア材はルミナスボンド+ルミナスコア LC フロー (以下 LC1, サンメディカル), DP-032 ボンド+DP-031 レジンコア (以下 LC2, サンメディカル), G ボンドプレミオ+MI コア LC (以下 MIcore, GC), スコッチボンドユニバーサルプラス+フィルテックフィルアンドコア (以下 FiltecF&C) とした。ヒト抜去大白歯 12 本を使用するレジンコア材により 4 群に分けた。歯冠エナメル質を歯軸と垂直に除去し、流水下にて耐水研磨紙 #600 まで研削、象牙質平坦面を作製後、ダイヤモンドバーを用いて窩底部直径 2.0mm, 深さ 2.0mm, 窩洞直径 4.0mm の円錐状窩洞を作製、各業者指示通り接着操作・レジンコア充填操作 (一括充填) を行った。その後、SS-OCT を用いて窩壁接着界面とのギャップを測定し、統計学的有意差検定には t-test(Welch method) with Bonferroni correction を用いた。また、ヒト抜去下顎小臼歯 6 本に対して径 1.5mm, 深さ 8mm のポスト窩洞を形成後、業者指示通りの接着操作後、各レジンコア材を一括充填し、37°C水中に 24 時間保管後、歯根軸に対して直角方向にビーム状試片 (断面 0.6mm×0.6mm) を作製、歯冠側群 (0~4mm) と根尖側群 (4~8mm) に分け (n=24), クロスヘッドスピード 1mm/min にて微小引張り接着試験を行った。これらのデータは 2 元配置分散分析とボンフェローニの方法により危険率を 5% に調整した t 検定にて検定した。本研究は東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認 (D2013-022 号) を得て行った。

【結果と考察】SS-OCT を用いた界面観察において、LC2 群、FiltecF&C 群は LC1 群、MIcore 群と比較してギャップの形成は有意に少なく、LC2 群と FiltecF&C 群の間に有意差は認められなかった。また、根管象牙質に対する微小引張り接着試験において、歯冠側試料での接着強さは全ての群において、有意差が認められなかったが、根尖側においては LC2 群が LC1, MIcore, FiltecF&C 群と比較して有意に高い値を示した。SS-OCT による界面観察において、LC2 群、FiltecF&C 群がギャップの形成が有意に少なかったが、接着試験の根尖側においては LC2 のみその他群と比較し、有意に高い値を示した。その原因として LC2 と FiltecF&C の重合収縮率は近似しており、窩洞が深くない部分に関しては同様のデータが出た一方で、窩洞が深い位置に関しては光重合型のスコッチボンドユニバーサルプラスの重合不良、かつ光硬化深度も LC2 に比べて低い FiltecF&C は根尖側の接着不良・重合不良により接着強さに有意差が出たと推測される。

【結論】本研究により、新規レジンコアシステム (レジンコア: 開発コード DP-031, ボンド: 開発コード DP-032) は根管象牙質への接着に対して有効である可能性が示唆された。また、その低い重合収縮率から窩洞に対するギャップが生じにくく、臨床的に活用できる可能性が示唆された。

SS-OCT イメージングによるエナメル質窩洞に対するセルフエッチングシステム接着処理のダイナミクス解析

1 徳島大学大学院医歯薬学研究部再生歯科治療学分野 2.東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
う蝕制御分野 3.徳島大学ポスト LED フォトニクス研究所

○高木伸人^{1,2}, 米倉和秀^{1,3}, 中島正俊¹, 加藤遼³, 矢野隆章³, 島田康史², 保坂啓一^{1,3}

Real-time SS-OCT observation during bonding application of self-etch adhesives to enamel cavity

1.Department of Regenerative Dental Medicine, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
2.Cariology and Operative Dentistry, Department of Restorative Sciences, Graduate School of Medical and Dental
Sciences, Tokyo Medical and Dental University
3.Institute of Post-LED Photonics, Tokushima University

○Nakato Takagi, Kazuhide Yonekura, Masatoshi Nakajima, Ryo Kato, Yano Takaaki, Yasushi Shimada, Keiichi Hosaka

【緒言】

日常の接着歯科臨床において、その接着性能と接着耐久性の高さからセルフエッチングシステムが多く用いられている。しかしながら、窩洞内における接着処理中のダイナミクスについてはリアルタイムによるイメージングとその画像解析に関する報告は多くない。したがって、本研究では波長走査型光干渉断層計 (Swept-source optical coherence tomography, SS-OCT) を使用して、接着操作におけるセルフエッチングシステム接着処理の窩洞内の様子をイメージングし、画像解析を行った。

【材料と方法】

規格窩洞としてヒト抜去臼歯咬合面エナメル質内に、ダイヤモンドレギュラーラウンドバー440ss (松風) で直径深さ 0.9mm の球状窩洞を作製した。次に、2 ステップセルフエッチシステムとして、クリアフィル® メガボンド® 2 プライマー (以下 MB2) (クラレノリタケデンタル)、G2-BOND Universal1 (以下 GBU) (GC)。1 ステップセルフエッチシステムとして、クリアフィル®ユニバーサルボンド Quick ER (以下、UBQ) (クラレノリタケデンタル)、スコッチボンド™ ユニバーサル プラス アドヒーズ (以下、SBU) (スリーエムジャパン) を、業者指示通りアプリケーションナーを使用して窩洞を満たすように塗布した。各接着処理中の様子は、SS-OCT (Santec)でリアルタイム撮影し、画像処理ソフト ImageJ (Image J, version 1.50f NIH) で 2 値化画像を作成・分析し、接着処理後に輝度の上昇として観察された飛散物の総数を Analyze particles のコマンドを使用して算出し Tukey の検定にて統計処理を行った (p<0.05)。東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会承認番号 D2013-022 号。

【結果】

SS-OCT 画像より各処理中の全ての静止画像において液体中に輝度の上昇した微小物質の存在が確認できた。MB2 および SBU は UBQ に対して、窩洞単位断面積に対する輝度の上昇した微小物質数が有意に高かった。GBU ではカウントが行えなかった。一方、MB2 と SBU との間には、統計学的に有意な総数のカウント値の有意な差は認められなかった。各プライマー及びボンディング材を塗布した OCT の動画から得られた微小物質のダイナミクスにおいて、MB2 では対流が活発で微小物質の動きは規則的であるのに対し、SBU では対流が活発でその動き方は不規則、UBQ では対流はあまり発生せずに窩底部に滞っているが動きは規則的であった。

【考察】

UBQ の微小物質数が MB2、SBU と比較して低かったのは UBQ の粘性が高く微小物質が窩洞内で対流しなかったためと考えられる。GBU がカウントを行えなかったのは溶媒がアセトンである、また HEMA フリーであるということが関与していると考えられる。MB2 プライマーと SBU を使用した際の対流が活発だったことは脱灰能の強さによるものと考えられる。また、MB2、UBQ、SBU を塗布した際に発生する対流の挙動が異なった点については、各製品の酸性度と歯質との反応による二酸化炭素発生挙動、含有する溶媒の酸性度の違いなどが考えられるが、今後さらなる検討が必要である。確認できた微小物質はセルフエッチングシステムによる脱灰作用に起因したスミヤーであるか、セルフエッチアドヒーズとの難溶性の反応物質である可能性があり、今後さらなる検討が必要である。

【結論】

SS-OCT を使用することで、セルフエッチング接着処理中のダイナミクスがリアルタイムで可視化可能であることがわかった。

【謝辞】 本研究は、徳島大学研究クラスター (2202006) の支援により行われた

コンポジットレジン修復の長期臨床経過

秋本歯科診療所
鶴見大学歯学部 保存修復学講座
○秋本尚武

Long-term clinical performance of composite resin restorations
Akimoto Dental Clinic
Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine
○AKIMOTO Naotake

【諸言】世界初となるトータルエッチング法によるコンポジットレジン (CR) 修復が我が国において開発され今年で 45 年、さらに現在臨床で広く使用されているセルフエッチング (SE) 法が世界に先駆け開発され CR 修復への臨床応用が始まり 30 年が経過した。1970 年代後半、総山孝雄教授らにより齶蝕検知液を用いた新たな齶蝕治療法とともに接着性 CR 修復システムが開発され臨床応用が始まった。そして歯質接着の研究、特に象牙質とレジンの接着メカニズムさらには接着耐久性に関する研究が行われてきた。並行して CR 自体の研究開発も進められ、重合方式が化学重合から光重合となり、またフィラーの大きさや形態の改良に伴う物性や研磨性の向上、さらには LED を光源とした光照射器の開発や光触媒の改良も行われた。そして近年ではフロアブル CR の物性向上による前臼歯への臨床応用など、CR 修復は発展を続け、前臼歯における齶蝕治療の第一選択になっている。一方で一般臨床の現場においては、現在でも齶蝕治療、特に臼歯の齶蝕に対する CR 修復があまり用いられていない状況が見受けられる。

今回はセルフエッチング (SE) システムを使用した、前臼歯 CR 修復の 10 年を超える長期臨床症例 3 症例について報告する。

【症例 1】25 歳男性。主訴は上顎左右中切歯の審美性の改善 (1993 年)。上顎左右中切歯は約 10 年前 (1980 年頃) に修復されたとのこと。スレッドピンと化学重合型 CR による 4 級修復と 3 級修復が施されており、CR 表面の変色と口蓋側にピンの露出が認められた。CR 修復物は口腔内で保持され機能していたが、患者の希望により旧 CR とピンを除去した。齶蝕検知液 (カリエスディテクター (クラレノリタケデンタル)) を指標にスプーンエキスカベーターにより感染象牙質の除去後、2 ステップ SE システム クリアフィルライナーボンド II (クラレ) による接着処理、サブミクロンタイプ CR であるハーキュライト XRV (Kerr) による CR 修復を行った。修復から 30 年経過。修復物マージン部にわずかな着色が認められるが、SE システムとユニバーサル CR による大きな 4 級と 3 級修復は臨床的に問題なく良好に経過している。

【症例 2】24 歳男性。主訴は左側下顎第一大臼歯の齶蝕治療 (2000 年)。咬合面に小窩裂溝齶蝕が認められたが、冷水痛などの臨床症状はなかった。齶窩の開拓後、カリエスディテクターを指標に感染象牙質を除去した。2 ステップ SE システム クリアフィルメガボンド (クラレノリタケデンタル) による接着処理後、咬合面圧子を用いハーキュライト XRV による CR 修復を行った。修復から 23 年経過。SE システムとユニバーサル CR による大型の咬合面修復であるが、臨床的に問題となるような大きな変化は認められず良好に経過している。

【症例 3】35 歳男性。主訴は右側下顎第二小臼歯の二次齶蝕 (2012 年)。OD メタルインレーを除去し、カリエスディテクターを指標に感染象牙質を除去した。隔壁 (コンポジット 3D XR セクショナルマトリックスシステム、Garrison Dental Solution/モリタ) を装着し、1 ステップ SE システム クリアフィルボンド SE ONE (クラレノリタケデンタル) による接着処理後、クリアフィルマジェスティ ES フロー ローフロー (クラレノリタケデンタル) による修復を行った。修復から 10 年経過。フロアブル CR による小臼歯 2 級修復であるが、CR の脱離、体部破折、咬耗などは認められず臨床的に良好に経過している。

【考察】今回報告した 3 症例は、いずれもエナメルエッチングを行わずメーカー指示通りに SE システムを使用し接着処理を行った。各症例とも長期間にわたり口腔内で良好に機能していることから、SE システムによる CR 修復の臨床的長期接着耐久性は十分であると思われる。また、今回使用したユニバーサル CR とフロアブル CR による CR 修復は、破折、摩耗、咬耗などを認めなかったことから、臨床に適した機械的物性を持ち合わせていると考えられた。

重度歯周病患者の口腔機能回復治療として直接法コンポジットレジン修復で対応し 3年経過した1症例

1 田代歯科医院, 2 徳島大学大学院医歯薬学研究部再生歯科治療学分野,
3 クオーツデンタルクリニック, 4 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔制御学分野
○田代浩史 1, 4, 保坂啓一 2, 田上順次 3, 畑山貴志 4, 島田康史 4

Direct composite restoration for the functional and esthetic disorder by the severe periodontal disease : A 3-year case report

1 Tashiro Dental Clinic, 2 Department of Regenerative Dental Medicine, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, 3 Quartz Dental Clinic, 4 Department of Cariology and Operative Dentistry, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○Hirofumi Tashiro 1,4, Keiichi Hosaka 2, Junji Tagami 3, Takashi Hatayama 4, Yasushi Shimada 4

症例報告の概要

患者は52歳,女性。主訴は全顎的な歯肉出血・咬合時違和感・舌感不良と前歯部の審美障害で来院した。長期にわたり歯周病における口腔機能回復治療として行われてきた動揺歯固定用の接着材料劣化により清掃困難な部位が多く、エックス線写真より重篤な歯槽骨吸収を伴う重度歯周炎と診断した。全顎的な歯牙動揺による咀嚼障害と前歯部の審美障害とを併発した口腔内の状況に対し、患者の年齢やライフスタイルを考慮して可能な限り抜歯を回避し、健全歯質を温存して直接法コンポジットレジン修復により動揺歯を再固定・形態修正して対応した症例の経過を報告する。

(修復期間:2020年10月～2021年5月,2021年6月以降は修復治療および歯周病メンテナンスのため通院中)

治療方針

初診時口腔内診査から、動揺歯固定に使用されている化学重合タイプのレジンセメントが層状に重なるなど劣化が顕著であり、清掃困難な表面性状となっていた。全顎的に歯槽骨の吸収と歯牙の動揺が顕著で、歯周ポケットからの出血部位も多数認められ、連結固定なしでは十分な咬合・咀嚼ができない状況となっていた。前述の固定用材料及び一部の感染象牙質の除去後、健全歯質への切削介入を最小限に留め、直接法コンポジットレジン修復材料を活用して再度連結固定を行った。化学重合タイプのレジンセメントと比較して、弾性率の高いコンポジットレジン修復用材料を使用することで、歯列内で複数歯を固定した連結により個々の歯牙にかかる負担を軽減する計画とした。また、フィラーを含有しない化学重合タイプのレジンセメントと比較して、重量比率で70%以上の割合でフィラーを含有した研磨性が高いフロアブルコンポジットレジン(クリアフィル マジェスティール ES フロー:クラレノリタケデンタル)を使用して連結固定し、連結部の徹底した研磨操作によりプラーク付着のリスクを軽減した。さらに、前歯欠損部はダイレクトブリッジ修復にて欠損補綴を行い、連結固定による強度向上と、同時に審美性を改善することとした。

治療成績・考察・結論

修復治療開始より約3年が経過し、その間に上顎大臼歯部でのコンポジットレジンによる連結部分の破折が三回発生したが、大規模な咬合関係の崩壊等の機能的問題は観察されず、前歯部のダイレクトブリッジ修復部位への定期的な歯面研磨により良好な審美性が維持された。その間、毎月二回の定期的なメンテナンスのための通院が維持され、歯科衛生士によるプロフェッショナルケアと、患者自身のセルフケア技術の向上により、歯周組織の急性炎症等は回避された。本来であれば保存困難な動揺歯が多数存在する状況ではあるが、抜歯および可撤式義歯への移行は患者の口腔内環境を大きく変化させ、またライフスタイルに重大な影響を与えることから、可能な限り現在の口腔内環境を保存する修復方法を選択することとなった。歯周病対策の継続と、コンポジットレジン修復箇所の補修も含めた維持管理の実践により、歯科保存学的な対応を中心に治療計画を立案することで、患者の口腔内の環境変化の速度を緩やかにすることができる。本症例のような、う蝕等を原因とする硬組織欠損に先行して歯周組織の崩壊が進行している状態では、健全歯質への切削介入を必要としない可逆的な修復処置方法である直接法コンポジットレジン修復は、歯周病の維持安定において有効な治療方法であることが示唆された。

(東京医科歯科大学倫理審査委員会承認番号:D2019-013)