

## Evaluation of antibacterial activity and cytotoxicity of trimethyl chitosan as a novel root canal irrigation material

Department of Periodontology and Endodontology, Tokushima University Graduate School of Oral Sciences, Tokushima, Japan

○ Raras Ajeng Enggardipta, Kanta Sato, Minato Akizuki, Hiromichi Yumoto

### 【Background and Objective】

Trimethyl chitosan (TMC) is the simplest form of quaternized chitosan and a large group of chitosan derivatives. This material possesses a positive charge, high solubility in water over a wide range of pH, exhibits superior antibacterial efficacy than chitosan and low toxicity. Considering the properties of TMC, it might be suitable for irrigating root canals in endodontics treatment. This study aimed to evaluate the potential of TMC as a novel root canal irrigation material in the aspect of antibacterial activity on *Enterococcus faecalis* biofilm and cytotoxicity on human periodontal ligament fibroblasts (HPdLF).

### 【Materials and Methods】

The 2-week-old *Enterococcus faecalis* biofilm formed on the hydroxyapatite plate (HA) surface was immersed for 30 seconds in the PBS (negative control), sodium hypochlorite (NaOCl: positive control; 0.5 and 2.5%), and TMC (0.5, 1, 3, and 5 mg/mL). The *E. faecalis* biofilm biomass was evaluated by crystal violet staining and by scanning electron microscopy (SEM). The viability and metabolic activity of *E. faecalis* biofilm were assessed using colony formation unit (CFU) counting and adenosine triphosphate (ATP) assay, respectively. HPdLF were seeded on 96-well plates and treated with TMC at various concentrations (0.5, 1, 3, and 5 mg/mL). The cytotoxicity of TMC on HPdLF was detected using a Cell Counting Kit-8 assay after 5 minutes of treatment.

### 【Results】

The crystal violet staining showed biofilm biomass eradication in the NaOCl groups and TMC groups compared with the PBS group as a negative control ( $p < 0.05$ ). The least density of biofilm biomass in the 2.5% NaOCl group was observed by SEM. The viable numbers (CFU/mL) and metabolic activity (relative fluorescence units; RFU) of *E. faecalis* were reduced in all groups compared with the PBS ( $p < 0.05$ ). The 2.5% NaOCl group had the lowest viable bacterial number, followed by a higher viable number in the TMC groups in a concentration-dependent manner, and the 0.5% NaOCl group. The NaOCl and TMC groups decreased more than 90% of viable bacteria in the biofilm. Cytotoxicity assay on the cultured HPdLF revealed that 2.5% NaOCl treatment showed the greatest cytotoxicity effect, while 0.5 mg/mL TMC treatment had the weakest cytotoxicity when compared with 0.5% NaOCl treatment. The HPdLF viability in TMC groups was decreased in a concentration-dependent manner.

### 【Conclusion】

TMC exhibited an antibacterial effect on *E. faecalis* biofilm by reducing bacterial viability in the biofilm and had lower cytotoxicity compared with 2.5% sodium hypochlorite, indicating its potential for application in root canal irrigation.

研究協力者： 徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔微生物学分野 住友倫子  
徳島大学大学院医歯薬学研究部生体材料工学分野 関根一光, 浜田賢一

## 炎症性腸疾患は顎骨内に好中球を誘導し、炎症の増悪化に寄与する

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  
○西方芙紗実, 中野将人, 鎌野優弥, 八幡祥生, 齋藤正寛

### Inflammatory bowel disease induces neutrophils infiltration into the jawbone to contribute inflammatory exacerbation

Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry, Graduate School of Dentistry, Tohoku University

○Fusami Nishikata, Masato Nakano, Yuya Kamano, Yoshio Yahata, Masahiro Saito

#### 【背景と目的】

近年炎症性腸疾患 (IBD) と根尖性歯周炎 (AP) の関連に注目が集まっている。これまでに AP の有病率が約 5 倍になることや、顎骨破壊領域が増大するとの報告があるが、その機序は明らかにされていない。当研究室ではこれまで IBD + AP モデルマウスを用いて研究を進めてきた。このモデルでは顎骨内での好中球や Th17 などの免疫細胞に変化が生じ、AP による顎骨破壊の増悪化に加担した可能性を見出した。一方で IBD の骨髄では単球や好中球などの顆粒球系の細胞の割合が増加することが知られており、我々も組織解析から、根管由来の感染なしに、顎骨内で同様の現象が生じることを確認している。これらのことより IBD 単独で顎骨骨髄内で免疫担当細胞の構成に変化が生じた可能性がある。そこで本研究では、IBD が顎骨内にもたらす免疫機構の変化を好中球に着目して明らかにすることを目的とした。

#### 【材料および方法】

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、国立大学法人東北大学環境・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)

①腸炎モデルの作製: 腸炎誘発モデルは、C67BL マウス (8 週齢, オス) に 2% デキストラン硫酸 (DSS) を 4 週間自然飲水させて実施した。

②FACS 解析: 腸炎による顎骨内の炎症動態を明らかにするため、FACS 解析を行った。下顎骨体から細胞を単離し、CD45, CD19, CD11b, Ly6G, CXCR2 の表面抗原を染色し、構成免疫担当細胞の違いを比較した。

③RNA-seq 解析: RNA-seq は、下顎第一大臼歯から第三大臼歯を含む下顎骨体から Total RNA を抽出し、2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) による RIN 値を計測した後に、NovaSeq6000 (illumina) によるシーケンズを実施した。Control との発現変動遺伝子の比較には edgeR を、発現遺伝子のエンリッチメント比較は GeneOntology を使用し Metascape を用いて実施した。

④好中球の培養と発現遺伝子の qPCR 解析: 腸炎誘発下における好中球の炎症刺激に対する反応を検証するため、腸炎誘発マウスの大腿骨骨髄から EasySep (Stemcell) を使用して好中球を単離した。非 DSS 投与群をコントロール群に設定し、LPS 刺激 6 時間後に細胞を回収し、RT-qPCR による炎症性サイトカイン (TNF- $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , ELANE) の産生能を評価した。

#### 【結果および考察】

顎骨の FACS 解析では、CD19<sup>-</sup>Ly-6G<sup>+</sup> の好中球が Control 群と比較し有意に増加していた。RNA-seq の結果、脱顆粒や NETs の形成など好中球の活性化に関する遺伝子群のエンリッチを認めた。これらの結果より腸炎誘発マウスの顎骨内には細菌性刺激が無くとも活性化状態の好中球が浸潤しており、顎骨内の環境変化が起きていることを明らかにした。この好中球の性質変化に関して腸炎誘発マウスの骨髄から単離した好中球を LPS 刺激下で培養すると、破骨細胞の活性化に関わる TNF- $\alpha$  の産生が約 2.5 倍に増加した。これらの結果より腸炎が引き金となり、骨髄を介して性質変化を起こした好中球が顎骨内で骨破壊に関与している可能性がある。

#### 【結論】

本研究では腸炎により、感染がなくとも好中球が顎骨内に高浸潤していること、その好中球は定常時と比較し活性状態にあり炎症応答能が高いことを明らかにした。今後は顎骨内に浸潤する好中球に AP が与える影響を Epigenetic な面から機能解析し、IBD による免疫異常が引き起こす治療抵抗性 AP のメカニズムを探索する。さらに、この機構の解明から、機能異常好中球を標的とした新規治療法の開発を目指す。

## ウォーキングブリーチ用薬剤が White Mineral Trioxide Aggregate に及ぼす影響について

北海道大学大学院歯学研究院 口腔保健科学分野 歯科保存学教室

○友清 淳、戸井田 侑、Islam Md Refat Readul、ヤマウチ モニカ、星加 修平、川本 千春、Islam Rafiqul、福山 麻衣

### Effects of a walking bleach agent on White Mineral Trioxide Aggregate

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

○Atsushi Tomokiyo, Yu Toida, Md Refat Readul Islam, Monica Yamauchi, Shuhei Hoshika, Chiharu Kawamoto, Rafiqul Islam and Mai Fukuyama

【背景】失活歯は、生活歯と比較して明度が低下し彩度が増加することや、赤色ならびに黄色が強くなることが報告されている。このような失活に由来する変色が大きく、また歯質が十分に残存している場合には、色調の改善を目的として歯の内部から漂白が行われることがある。失活歯内部からの漂白法として、30%過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) と過ホウ酸ナトリウムの混和物を髄腔に静置したのち、週単位で混和物を交換するウォーキングブリーチが挙げられる。また White Mineral Trioxide Aggregate (WMTA) は優れた封鎖性、生体親和性、および硬組織誘導能を示すことから、穿孔部封鎖材として第一選択となっている。したがって、歯冠部に穿孔を有する歯をウォーキングブリーチにて漂白する場合には、WMTA にて穿孔部を封鎖したのち、ウォーキングブリーチ用薬剤を髄腔に静置することとなる。したがって、ウォーキングブリーチ用薬剤は WMTA と直接接触することとなるが、その際に WMTA にどのような影響をおよぼすかは明らかとなっていない。そこで本研究では、ウォーキングブリーチ用薬剤と硬化後の WMTA との接触後の変化について検証することとした。

【材料と方法】 WMTA disc の作製 : WMTA (ProRoot MTA; Dentsply Sirona) を蒸留水 (DW) と混水比 0.33 にて混和したのち、型枠へと充填し 24 時間硬化させることで、直径約 5 mm、高さ約 1 mm、質量約 100 mg の WMTA disc を作製した。ウォーキングブリーチ用薬剤と WMTA disc の接触 : Weiger らの報告を基に、過ホウ酸ナトリウム四水和物 (SPT; 富士フィルム和光純薬) 100 mg および 30%  $H_2O_2$  (富士フィルム和光純薬) 50  $\mu$ L を混和したものをウォーキングブリーチ用薬剤 (SPT+ $H_2O_2$ ) とした。また SPT 100 mg および DW 50  $\mu$ L を混和したもの (SPT+DW) も作製した。1.5 mL チューブ内にて SPT+ $H_2O_2$  および SPT+DW に WMTA disc を 1 枚ずつ静置のち、それらの状態を観察した。加えて、SPT+ $H_2O_2$  に WMTA disc を加えないものも作製し、それらの状態も観察した。WMTA disc、Portland cement disc、および bismuth oxide と 30%  $H_2O_2$  との接触 : WMTA の主成分である Portland cement (PC; 九州大学工学研究院 濱田 秀則教授より譲受) から、WMTA disc と同様の方法にて disc を作製した。1.5 mL チューブ内に WMTA disc、PC disc、および WMTA の副成分である bismuth oxide (ナカライテスク) 100 mg を静置したのち、30%  $H_2O_2$  150  $\mu$ L を添加し、それらの状態を観察した。また赤外線サーモグラフィカメラにて、それらの温度変化を計測した。

【結果】 SPT と 30%  $H_2O_2$  を混和した段階で、少量の気泡が生じた。SPT+ $H_2O_2$  へと WMTA disc を浸漬させたところ、浸漬直後から disc 周囲に気泡の発生を認め、時間の経過とともにその量は増加した。WMTA disc 非存在下での SPT+ $H_2O_2$  では、混和時に気泡が生じるものの 30 分が経過してもそれ以上の発生は認めなかった。また SPT+DW へと WMTA disc を浸漬させた場合にも、30 分が経過してもほとんど気泡は確認されなかった。一方、WMTA disc を 30%  $H_2O_2$  単独と接触させた場合には、SPT+ $H_2O_2$  の場合と同様に多くの気泡が観察された。1.5 mL チューブキャップを閉めた状態で浸漬を行ったところ、47 分 6 秒  $\pm$  6 分 58 秒後にキャップが激しく押し開けられるとともに、内容物がチューブ外へ飛散した。30%  $H_2O_2$  と接触した PC disc および bismuth oxide においても、多くの気泡が観察された。特に bismuth oxide においては、接触から 2 分 9 秒  $\pm$  15 秒後から白煙の発生と共に bismuth oxide および 30%  $H_2O_2$  がチューブ上方へと移動し、最終的にチューブ外へと飛散した。また 30%  $H_2O_2$  と接触した WMTA disc、PC disc、および bismuth oxide のいずれにおいても温度上昇が確認された。

【結論】ウォーキングブリーチ用薬剤に含まれる 30%  $H_2O_2$  は、硬化した WMTA と接触すると、多くの気泡形成および温度上昇を引き起こす。

## 再生歯内療法において移植した歯髄幹細胞は象牙芽細胞に分化する

愛知学院大学歯学部 口腔解剖学講座

○ホルヘ ルイス モンテネグロ ラウダレス、本田雅規

### **Dental pulp stem cells transplanted with regenerative endodontic procedures differentiate into odontoblasts**

Aichi Gakuin University School of Dentistry Department of Oral Anatomy

○Jorge Luis Montenegro Raudales, Honda Masaki

**Purpose:** Dental pulp regeneration in mature teeth remains a challenge due to the close apices that decrease vascularization. We hypothesized that performing regenerative endodontic procedures (REP) in combination with dental pulp cell (DPC) transplantation, would promote odontoblast differentiation in the regenerated tissue of mature molars. Thus, the aim of this study was to assess the effect of REP in combination with DPC transplantation in mouse mature teeth.

**Materials & Methods:** REP was performed in the mandibular molars of 10-week-old C57BL/6 mice through conventional instrumentation and irrigation of the canals followed by the induction of a blood clot. Then, the canals were left untreated (REP group) or transplanted with DPCs obtained from 5-day-old GFP mice (REP +DPC group). Mineral trioxide aggregate (MTA) and composite resin were used to seal the cavity. After 4 weeks, the teeth were evaluated by H&E staining and immunohistochemistry (IHC) using nestin (specific odontoblast marker), osteopontin and osteocalcin (odontoblasts/osteoblast markers), also GFP antibodies were used to identify transplanted DPCs. Prior to transplantation, DPCs were analyzed through PCR and electrophoresis to assess the expression of stem cell markers *SOX2*, *nanog*, *c-KIT*, *oct-4* and *KLF4*.

**Results:** Cultured DPCs showed expression of stem cell markers, *SOX2*, *nanog*, *c-KIT*, and *KLF4* but not *Oct4*. After 4 weeks treatment, H&E staining revealed that the regenerated tissue in the REP and REP + DPC groups consisted of an eosin-stained acellular matrix surrounding a cellular matrix that contained vessel-like structures. This cellular matrix was larger in the REP+DPC group than in the REP group. IHC staining showed that nestin+/GFP+ cells were found only in the REP+DPC group. Osteopontin and osteocalcin staining was detected in both groups with the former being more prevalent in cellular matrix of the REP+DPC group than in the REP group.

**Discussion:** The regenerated tissue in both REP and REP+DPC groups showed expression of osteopontin and osteocalcin, however nestin (a specific odontoblast marker) was expressed only in the REP+DPC group, suggesting that the regenerated tissue contained odontoblast-like cells as opposed to the REP group which showed more of a bone-like tissue.

**Conclusion:** DPC transplantation may improve outcomes of REP by inducing the formation of odontoblast-like cells that can promote dentin matrix formation.

## 歯髄幹細胞分化におけるエピゲノム/トランスクリプトーム統合解析と HDAC 阻害剤の有用性解明

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, 佐々木 健人, 佐藤 瞭子, 長崎 果林, 大道寺 美乃, 長谷川 龍, 大森 雅人, 根本 英二,  
山田 聡

### Integrative epigenomic and transcriptome analysis of hDPSCs during odontogenic differentiation and elucidation of usefulness of HDAC inhibitors

Department of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry  
○Shigeki Suzuki, Kento Sasaki, Akiko Sato, Karin Nagasaki, Yoshino Daidouji, Ryu Hasegawa, Masato Ohmori, Eiji Nemoto,  
Satoru Yamada

＜研究目的＞ 歯髄幹細胞 (human dental pulp stem cells: hDPSCs) は多能性幹細胞として様々な組織再生における細胞源として利用されるのみならず、高い象牙芽細胞分化能力から、歯髄/象牙質複合体再生への応用が期待されている。hDPSCsの象牙芽細胞分化過程においてクロマチン三次元構造がダイナミックに変化することが報告されている。さらに、ヒストンのアセチル化はエピジェネティクスの主体を成すクロマチン三次元構造と密に関連することから、MS275やTSAなどのヒストン脱アセチラーゼ阻害剤 (HDACi) の覆髄材としての利用が期待される。しかしながら、hDPSCsの象牙芽細胞分化におけるHDACiの効果は未だ明らかになっていない。そこで、本研究では、hDPSCsの象牙芽細胞分化過程におけるクロマチンアクセシビリティを指標としたエピゲノムと遺伝子発現変化 (トランスクリプトーム) の統合解析を行い、分化時のエピジェネティクス変化を明らかにし、さらにはMS275およびTSA添加がhDPSCsの象牙芽細胞分化や細胞機能におよぼす影響を解析することを目的とする。

＜材料および方法＞ 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、MS275 および TSA 添加あるいは非添加にて最長 30 日間培養し、alkaline phosphatase (ALP) 活性測定および alizarin S 染色で象牙芽細胞様細胞への分化を 3 日毎に評価した。さらに、培養 0 日目および 9 日目に ATAC-seq ならびに RNA-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 および RNA-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のトリミング後に、Bowtie2 あるいは Histat2 を用いてヒトゲノム配列 (hg38) にアライメントした。転写産物の抽出、オープンクロマチンピーク抽出、培養前後 (day0 および day9) 間の比較、エピゲノム制御遺伝子に対する Gene Ontology (GO) 解析には Homer を用いた。

＜結果＞ ATAC-seq により、day 0 および day 9 各特異的にアクセシビリティが上昇するクロマチンピーク (open chromatin accessibility peaks (OCAPs)) である day 0-specific-OCAPs と day 9-specific-OCAPs を同定した。ATAC-seq と RNA-seq の統合解析により、クロマチンアクセシビリティと遺伝子発現は day 9 で強い正相関を示し、特に、プロモーター領域においては、相関強度は day 0 と比較して day 9 では約 120 倍に増加した。day 0-specific-OCAPs と day 9-specific-OCAPs に対する GO 解析では、多くの共通 Terms が抽出されたが、BMP signaling and regulation が day 9-specific-OCAPs 特異的な Term として抽出された。遺伝子の転写効率を高めるエンハンサー領域がゲノム上に密に存在する typical enhancer およびエンハンサー領域がゲノム上に高度に集積する super enhancer は、共に day 9 で飛躍的に増加 (typical enhancer: day 0 では 532 領域、day 9 では 3704 領域、super enhancer: day 0 では 9 領域、day 9 では 124 領域) し、day 9 において、組織非特異型アルカリホスファターゼ (ALPL) などの重要な分化誘導遺伝子発現に super enhancer 構築が関与していた。TSA の添加による hDPSC の細胞分化促進は認められず、無添加群と比較して、有意なエピゲノム/トランスクリプトーム変化はわずかであった。一方で、MS275 添加 hDPSC では、無添加群と比較して、エピゲノム変化はわずかであったが細胞分化を促進しなかったが、一定の遺伝子発現変化と石灰化ノジュール形成促進を認めた。MS275 添加 hDPSC では fibronectin 発現が上昇しており、その発現抑制により MS275 依存性に促進した石灰化ノジュール形成が抑制された。

＜考察および結論＞ hDPSC の分化過程における象牙芽細胞分化指向性エピジェネティクスを解明した。hDPSC 分化過程における MS275 添加は、HDACi 機能非依存的ではあるものの、hDPSC の象牙芽細胞様細胞へ分化後の基質産生を促進したことから、覆髄材としての応用が期待できる。

## ジルコニアの厚みがデュアルキュア型レジンセメントと光重合型レジンセメントの接着強さに及ぼす影響

1 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野  
 2 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科口腔医療工学分野  
 ○曾思淇<sup>1</sup>, 高橋礼奈<sup>1</sup>, 池田正臣<sup>2</sup>, 島田康史<sup>1</sup>

### The influence of zirconia thickness on bonding performance of dual-cured and light-cured resin cements

1 Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Sciences, Tokyo Medical and Dental University  
 2 Oral Biomedical Engineering, Graduate School of Sciences, Tokyo Medical and Dental University  
 ○Siqi ZENG<sup>1</sup>, Rena TAKAHASHI<sup>1</sup>, Masaomi IKEDA<sup>2</sup>, Yasushi SHIMADA<sup>1</sup>

**Objective:** The objective of this study was to evaluate the influence of zirconia thickness on the bonding performance of dual-cured and light-cured resin cements.

**Materials and Methods:** 0.4 mm-, 0.8 mm- and 1.2 mm- thick zirconia specimens were prepared from KATANA Zirconia UTML (Kuraray Noritake Dental). All specimens were ground up to #1000 SiC paper. One side of each specimen was air-abraded with 50- $\mu$ m aluminum oxide particles at 0.2 MPa and treated with Ceramic Primer Plus (Kuraray Noritake Dental). Micro-bore Tygon tubes (0.5mm-height and 1.0mm-inner diameter) were set on each treated surface and filled with dual-cure resin cement (Panavia V5 (Kuraray Noritake Dental): PV5) or light-cured resin cement (Panavia LC (Kuraray Noritake Dental): PLC). They were exposed to curing light passing through the zirconia specimens for 20 s using LED light curing unit (VALO, Ultradent) with standard mode (1000 mW/cm<sup>2</sup>). After 24 h water storage, the specimens were divided into two groups: without thermocycling (Non-TC) and 10000 thermocycling (TC). All specimens were subjected to micro-shear bond strength ( $\mu$ SBS) test at a crosshead speed of 1 mm/min.

**Results:** The results of  $\mu$ SBS test were shown in Fig. 1. A t-test was used to statistically analyze  $\mu$ SBS data to compare Non-TC and TC groups ( $p=0.05$ ). There were significant differences between Non-TC and TC groups when the same cement and the same zirconia thickness were applied ( $p<0.05$ ). A t-test (Welch method) with Bonferroni correction were used to statistically analyze  $\mu$ SBS data among thickness in Non-TC and TC groups, respectively ( $p=0.05$ ). Except PLC with Non-TC group, no significant differences were found among 0.4 mm-, 0.8 mm- and 1.2 mm-thick zirconia specimens when the same cement and the same TC condition were applied ( $p>0.05$ ). PV5 and PLC showed statistically difference when the same thickness of zirconia and the same TC condition were applied ( $p<0.05$ ).

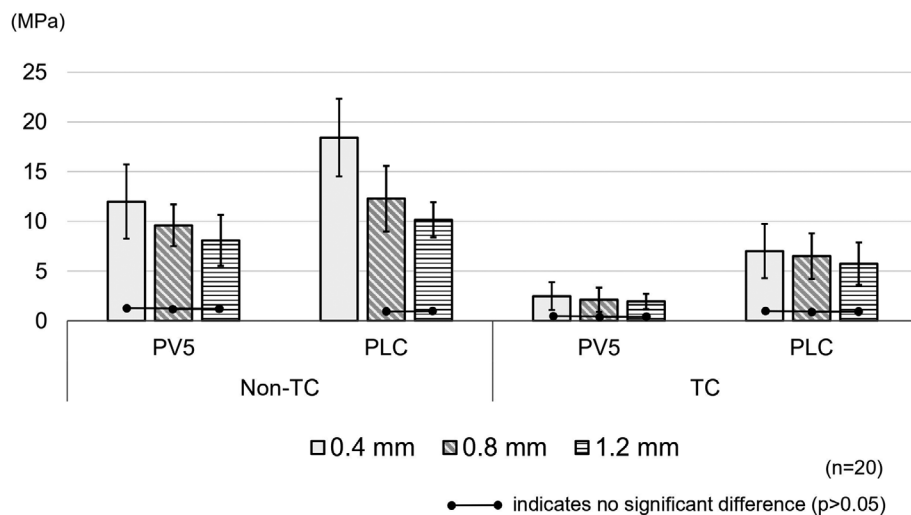


Fig. 1  $\mu$ SBS of resin cements to 0.4 mm-, 0.8 mm- and 1.2 mm- thick zirconia specimens

**Conclusions:** Within the limitation of this study, the followings were concluded:

1. Zirconia thickness only influenced the bonding performance of light-cured resin cement after 24 h water storage, but did not influenced dual-cured resin cement in 24 h water storage and thermocycling.
2. Light-cured resin cement showed better bonding performance to zirconia than that of dual-cured resin cement regardless of zirconia thickness and thermocycling condition.
3. Thermocycling deteriorated the bonding performance of both dual- and light-cured resin cements to zirconia.

## プライマーへの化学重合触媒の添加がレジンセメント の初期象牙質接着性に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1)</sup>, 総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2)</sup>  
○青木良太<sup>1)</sup>, 高見澤俊樹<sup>1,2)</sup>, 須田駿一<sup>1)</sup>, 柴崎 翔<sup>1,2)</sup>, 村山良介<sup>1)</sup>, 陸田明智<sup>1,2)</sup>, 宮崎真至<sup>1,2)</sup>

### Influence of Polymerization Initiator in a Tooth Primer on Immediate Dentin Bond Performance of Resin Luting Cements

Department of Operative Dentistry<sup>1)</sup>, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center<sup>2)</sup>,  
Nihon University School of Dentistry

○AOKI Ryota<sup>1)</sup>, TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2)</sup>, SUDA Shunichi<sup>1)</sup>, SHIBASAKI Sho<sup>1,2)</sup>,  
MURAYAMA Ryosuke<sup>1)</sup>, RIKUTA Akitomo<sup>1,2)</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2)</sup>

#### 【目的】

歯質前処理材とレジンセメントのペーストが接触することによって重合が開始する接触重合, すなわちタッチキュアは, 接着界面での重合性が高まることで初期接着性の向上が期待されている。そのため, ユニバーサルアドヒーズンブあるいはプライマーに化学重合触媒を添加した製品が開発, 臨床使用されている。しかし, この化学重合触媒の添加がレジンセメントの初期象牙質接着性に及ぼす影響についての情報は少ないのが現状である。

そこで演者は, 歯質プライマーへの化学重合触媒の添加の有無が, レジンセメントの初期象牙質接着性に及ぼす影響について, 剪断接着強さを測定するとともに, 試験終了後の破壊形式を分類した。また, 接着試験終了後の破壊断面および接着界面を走査電子顕微鏡 (SEM) 観察し, 考察資料とした。

#### 【材料および方法】

供試したレジンセメントの歯質プライマーは, パナビア V5 トゥースプライマー (TP, クラレノリタケデンタル) とした。対照として, 同製品から化学重合触媒のみを除いた試作品 (N-TP, クラレノリタケデンタル) を用いた。レジンセメントとして, デュアルキュア型パナビア V5 ペースト (クラレノリタケデンタル) および光重合型パナビアベニア LC ペースト (クラレノリタケデンタル) の 2 製品を用いた。

接着試験用試験片の製作に際しては, ウシ下顎前歯の歯冠部象牙質を耐水性 SiC ペーパーの # 320 を用いて研削し, 被着象牙質面とした。歯面処理に際しては, 製造者指示条件に従って TP あるいは N-TP の塗布を行った。次いで, 被着面にレジンセメントを用いてステンレスロッド (直径 4 mm, 高さ 2 mm) を接着した。その際, ステンレスロッドの表面はアルミナブラスト (アルミナ粒子, 50 μm) を 0.4 気圧の条件で 10 秒間行った。次いで, レジンセメントペーストをステンレスロッド表面に塗布, 被着歯面にステンレスロッドを静置し, 定荷重加圧器を用いて 0.98 N の条件で圧接した。荷重負荷下で溢出したレジンセメントペーストを, マイクロブラシを用いて除去した。また, レジンセメントに対して光線照射を行う群 (照射群) およびこれを行わない群 (照射なし群) の 2 群を設定し, 照射群では異なる方向の 4 ヶ所から 10 秒間ずつ, 合計 40 秒間照射した。照射なし群では, 接着操作後, 荷重下で 5 分間静置した。これらの試片は, 37°C, 相対湿度 100% の条件下で 10 分および 24 時間保管後, 万能試験機を用いてクロスヘッドスピード毎分 1.0 mm の条件で接着強さ (MPa) を測定した。試片の数は, 各条件についてそれぞれ 12 個とした。また, 試験終了後の試片および象牙質接着界面については, 通法に従って SEM 観察した。

#### 【結果および考察】

得られた接着試験の結果から, いずれのレジンセメント, 照射条件および化学重合触媒の有無にかかわらず, 24 時間保管条件は 10 分間保管条件に比較して高い接着強さを示した。また, いずれのレジンセメントおよび照射条件にかかわらず, 化学重合触媒をプライマーに含有した群は, これを含まない群に比較して有意に高い象牙質接着強さを示した。保管条件および化学重合触媒の有無によって象牙質接着強さが異なった理由として, レジンセメントの機械的性質が経時的に向上するとともに, 化学重合触媒の反応によって接着界面近傍のレジンセメントの機械的性質が向上したことによるものと考えられた。

#### 【結論】

本実験の結果から, 歯質プライマーへの化学重合触媒の添加は, タッチキュアを生じることで初期象牙質接着性能の向上に寄与していることが判明した。

## ユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントの接着性能について

<sup>1</sup>東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野

<sup>2</sup>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

○高野隼輔<sup>1</sup>、高橋礼奈<sup>1</sup>、田端倫子<sup>1</sup>、ZENG Chen<sup>1</sup>、池田正臣<sup>2</sup>、島田康史<sup>1</sup>

### Bonding performance of resin cements with universal adhesives

<sup>1</sup>Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Sciences, Tokyo Medical and Dental University

<sup>2</sup>Oral Biomedical Engineering, Graduate School of Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○Shunsuke TAKANO<sup>1</sup>, Rena TAKAHASHI<sup>1</sup>, Tomoko TABATA<sup>1</sup>, Chen ZENG<sup>1</sup>, Masaomi IKEDA<sup>2</sup>, Yasushi SHIMADA<sup>1</sup>

#### 【目的】

間接法修復におけるレジンセメントを用いた接着操作では、各被着体に適した前処理が必要とされる。近年、各被着体で使用できるユニバーサルタイプの前処理材とレジンセメントが市販されているが、それらの接着強さを比較した研究は少ない。そこで本研究ではユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントのエナメル質、象牙質、ジルコニア、ニケイ酸リチウム、レジンプロックへの接着強さを検討した。

#### 【材料と方法】

ユニバーサルアドヒーズブとレジンセメントは、Bondmer Lightless II (BL II)と Estecem II (EC II) (トクヤマデンタル)、Scotchbond Universal Plus Adhesive (SBU)と RelyX Universal Resin Cement (RXU) (3M) を用いた。ヒト抜去大白歯から厚さ約2mmのエナメル質(以下、Enamel)と象牙質(以下、Dentin)の試料を作製した。また、厚さ約5mmのKATANA Zirconia UTML (クラレノリタケデンタル) (以下、Zirconia)、厚さ約2mm IPS e.max CAD CEREC (イボクラ) (以下、LDS)、KATANA Avencia P Block (クラレノリタケデンタル) (以下、Resin block)の試料を用意し、被着体とした。すべての被着体を600番の耐水研磨紙にて研削し、さらに、Zirconia, LDS, Resin blockは、接着操作直前に0.2MPaにて50 $\mu$ mのアルミナサンドブラスト処理を行った。その後、すべての被着面に業者指示通りにユニバーサルアドヒーズブ(BL IIもしくはSBU)を塗布し、マイクロタイゴンチューブ(内径0.79mm、高さ1mm)を設置し、レジンセメント(EC IIもしくはRXU)を填入しLED光照射器 (VALO, Ultradent: Standard mode 1000mW/cm<sup>2</sup>)を用いて40秒間光照射を行った。全ての試料を37℃水中に24時間浸漬し、サーマルサイクル0回(0TC)もしくは10000回(10000TC)後に、クロスヘッドスピード1.0mm/minにて微小せん断接着強さ( $\mu$ SBS)を測定した(n=20)。

#### 【結果および考察】

得られた値は、正規性と等分散性の検定後、t-test及びWelchの方法によるt-testを用いて、危険率5%にて検定を行った。 $\mu$ SBSの結果をFig. 1に示す。

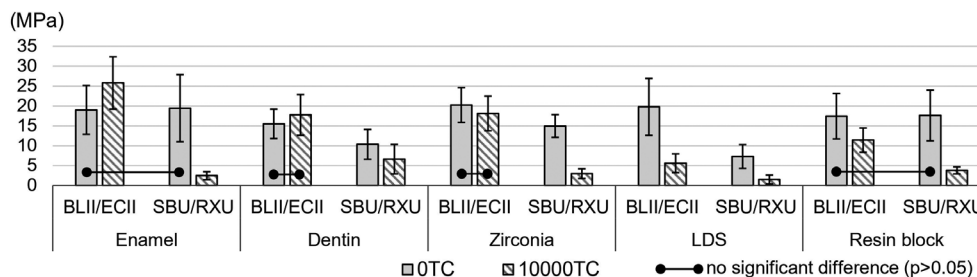


Fig.1 The results of  $\mu$ SBS test

BL II/EC IIのLDSとResin blockと、SBU/RXUのすべての被着体では、0TCと比較して10000TCでは有意に低い $\mu$ SBSを示した(p<0.05)。0TCでは、EnamelとResin blockは、BL II/EC IIとSBU/RXUの $\mu$ SBSに有意差が認められなかった(p>0.05)。

#### 【結論】

BL II/EC IIは、エナメル質、象牙質、ジルコニアに対して長期的に安定した接着強さが得られる可能性が示唆された。

※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) を得て行った。



## 亜鉛による脱灰象牙質の再石灰化促進効果

1. 北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 歯蝕制御治療学分野  
2. 朝日大学歯学部 歯科理工学分野、3. 大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座

○櫻井雅彦<sup>1</sup>、松田康裕<sup>1</sup>、奥山克史<sup>2</sup>、山本洋子<sup>3</sup>、林美加子<sup>3</sup>、斎藤隆史<sup>1</sup>

### Zinc promotes the remineralization of demineralized dentin

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

2. Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry

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

○SAKURAI Masahiko, MATSUDA Yasuhiro, OKUYAMA Katsushi, YAMAMOTO Hiroko, Mikako HAYASHI  
and SAITO Takashi

#### 【目的】

象牙質における再石灰化ではハイドロキシアパタイト (HAP) の結晶を核とした古典的経路だけでなく、コラーゲンを核とした線維間における石灰化も生じる。ポリアクリル酸 (PAA) は線維間における石灰化を制御することが報告されており、象牙質の蝕の予防のためには HAP の脱灰抑制だけでなくコラーゲン線維の保護も重要である。一方、亜鉛は MMP を抑制しコラーゲンを保護し石灰化を促進することも報告されている。本研究では PAA で脱灰した象牙質コラーゲンにおける再石灰化について大気中で元素分析が可能な In-air micro-beam particle induced X-ray/γ-ray emission (PIXE/PIGE) 法を用いて検討をおこなった。

#### 【材料と方法】

ウシ抜去下顎乳前歯 (n=5) を低速回転切断機 (IsoMet, Buehler; ダイヤモンドブレード使用) を用いて歯軸に垂直に 300 μm の厚さに切り出し試料とした。その後、10%ポリアクリル酸溶液 (ポリアクリル酸 25000, 富士フィルム和光純薬) (PAA) と 10%乳酸 (特級乳酸, 富士フィルム和光純薬) 溶液 (Lac) の溶液に 37°C で 72 時間浸漬して脱灰牛歯象牙質試料を作成した。材料群として 1%塩化亜鉛溶液 (ZnCl)、コントロール群として脱イオン蒸留水 (DDW) に 37°C で 24 時間浸漬し再石灰化前処理を行った。再石灰化促進のため、再石灰化溶液 (0.02mol/l HEPES, 3.0mmol/l CaCl<sub>2</sub>, 1.8mmol/l KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 130mmol/l KCl, pH7.0) (Re) に、コントロールとして脱イオン蒸留水 (DDW) に 37°C で 1 週間浸漬し再石灰化を行った。上記方法により各脱灰処理、前処理、再石灰化処理の組み合わせによる材料群 (PAA-DDW-DDW 群、Lac-DDW-DDW 群、PAA-DDW-Re 群、Lac-DDW-Re 群、PAA-ZnCl-Re 群、Lac-ZnCl-Re 群) の試料を作成した。各試料におけるカルシウムおよび亜鉛の取り込み量は In-air Micro PIXE/PIGE 法を用いて元素量分析した。試料中の元素濃度の統計解析には SPSS Statistics version 29 (IBM, Armonk, NY, USA) を用いて一元配置分散分析 (One-way ANOVA) と Tukey HSD を行い、有意水準 5% で統計解析を行った。

#### 【結果及び考察】

In-air micro PIXE/PIGE 法による脱灰象牙質へのカルシウム量ではコントロール (PAA-DDW-DDW, Lac-DDW-DDW) と比較して Lac-ZnCl-Re 群は有意差が認められなかった。PAA-DDW-Re, Lac-DDW-Re 群はコントロール群と比較して優位にカルシウム量の増加を認め、PAA-ZnCl-Re は PAA-DDW-Re, Lac-DDW-Re 群と比較して優位にカルシウムの増加を認めた。また各元素の取り込み量では PAA-ZnCl-Re 群で亜鉛の取り込みが認められた。

本結果からポリアクリル酸は脱灰象牙質において亜鉛の取り込みとカルシウムを取り込み、再石灰化を促進する事が示唆された。

## 亜鉛含有ガラスアイオノマーセメントのエナメル質再石灰化効果

東京医科歯科大学大学院 (TMDU) 医歯学総合研究科 歯蝕制御学分野  
 ○ キン ミャンマー、井上 剛、陳 雪霏、島田 康史

### Effect of remineralization of zinc containing glass ionomer cement on enamel in vitro

Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,  
 Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

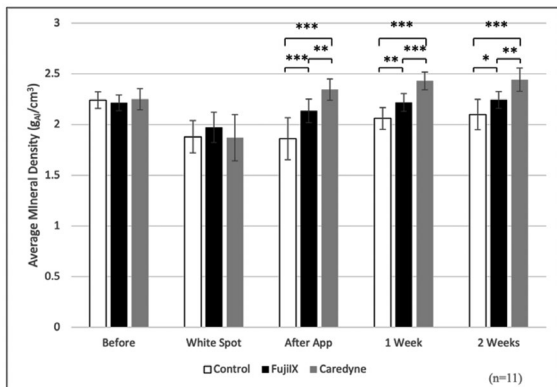
○ Khin Myanmar, Go Inoue, Xuefei Chen, Yasushi Shimada

**Objectives:** This study aimed to evaluate the remineralization effect in white spot lesions on enamel by using conventional glass ionomer cement (GI) and zinc containing GI.

**Methods:** Thirty-three bovine enamel specimens were divided into 3 groups: control, Fuji IX (GC Dental Industrial Corporation, Tokyo, Japan), and Caredyne Restore (CaRe) (GC Dental Industrial Corporation). The enamel specimens were polished and left with a window of  $5 \times 4 \text{ mm}^2$ . Then, white spot lesion formation was done by immersion in a demineralization solution (1.5 mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.9 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and 50 mM acetic acid adjusted to pH 5.0) for 4 days. White spot lesion depths were imaged and measured by Swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) (IVS-2000; Santec, Komaki, Japan). After that, halves of the specimens' window were treated with Fuji IX and CaRe respectively, and the other halves were covered with varnishes. And the pH cycling was conducted for two weeks with remineralization solutions (1.5 mM  $\text{CaCl}_2$ , 0.9 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 130 mM KCl and 20 mM HEPES, pH 7.0) and demineralization solutions that used for white spot lesion formation. The specimens were imaged and measured using microcomputed tomography (Micro-CT) (InspeXio SMX-100 CT; Shimadzu, Kyoto, Japan) at 5 time points: pre-demineralization, after demineralization for 4 days, immediately after treatment, 1 week, and 2 weeks after treatment. Mineral density was calculated from the lesion surface to below with a volume of interest (VOI) of  $200 \times 200 \times 15 \mu\text{m}^3$ , at the center of treated window. Scanning electron microscope (SEM) (JSM-7900F; JEOL, Tokyo, Japan) imaging was done at 3 time points: pre-demineralization, after demineralization, and 2 weeks after treatment. The 2 weeks pH cycled group was cut into halves. Then, treated GI were gently removed and imaged with an SEM from two views (surface view and cross-sectional view). Statistical analysis was performed with two-way ANOVA with Bonferroni adjusted post hoc tests for Micro-CT results.

**Results:** Mineral density (MD) values in Fuji IX and CaRe groups were significantly larger than those in the control group after application, 1 week and 2 weeks of pH cycling ( $p < 0.05$ ). MD values in CaRe group were significantly larger compared to Fuji IX group after application, 1 week and 2 weeks of pH cycling ( $p < 0.05$ ). SEM imaging results showed that CaRe group has an inferior remineralization effect with the mineral deposition. CaRe group had more repaired enamel structure than those compared to Fuji IX group after 2 weeks of pH cycling.

**Conclusions:** Caredyne Restore was effective in remineralizing the white spot lesions in enamel after application, 1 week and 2 weeks of pH cycling.



Mineral density values from the lesion surface to below in each group.

## 要時生成型亜塩素酸イオン水溶液が *Streptococcus mutans* バイオフィームに及ぼす影響

大阪大学大学院歯学研究科 歯科保存学講座

○小野 舜佳, 島岡 毅, 前菌 葉月, 朝日 陽子, 高橋 雄介, 林 美加子

### The effect of on-demand aqueous chlorine dioxide solution on *Streptococcus mutans* biofilm

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

○ONO Shunka, SHIMAOKA Tsuyoshi, MAEZONO Hazuki, ASAHY Yoko, TAKAHASHI Yusuke, HAYASHI Mikako

#### 【目的】

昨今、急速な高齢化および高齢者の残存歯数の増加に伴い、従来のブラッシングのみではセルフケアが困難なケースが多くなっている。口腔ケアの補助として、洗口剤が以前から用いられており、代表的な含有薬剤にクロルヘキシジングルコン酸塩 (CHX) が挙げられる。欧米で広く使用されている CHX は、その有効性が報告されている一方で重篤なアナフィラキシーショックが発症した事例もあり、わが国では諸外国に比べ低い濃度でしか薬事承認が得られていない。そこで本研究では、口腔内細菌に対する殺菌効果と生体安全性を併せ持つ新規薬剤である要時生成型亜塩素酸イオン水溶液 (Matching Transformation System™: MA-T) に着目し、口腔ケアへの応用を念頭に、最適な使用条件について検討するため、う蝕関連細菌である *Streptococcus mutans* のバイオフィームに与える影響について評価した。

#### 【材料及び方法】

##### 1. MA-T の浮遊細菌に対する抗菌性の検討

供試菌株として *S. mutans* NCTC 10449 株を使用し、MA-T の最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) 測定をおこなった。また、最小殺菌時間を Time-kill 試験にて測定した。陰性対照群として滅菌蒸留水、陽性対照群として 0.12% CHX を用いた (各群 n=3)。

##### 2. MA-T のバイオフィームに対する抗菌性の検討

嫌気条件下でハイドロキシアパタイトディスク上に作製した *S. mutans* バイオフィームに対し、100 ppm MA-T を 1 分から 1 時間作用させ、生菌数測定および共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) 観察をおこなった。陰性対照群として滅菌蒸留水、陽性対照群として 0.12% CHX を用いた (各群 n=3)。

実験 1 および 2 で得られた結果は一元配置分散分析 (One-way ANOVA with Tukey's HSD post-hoc test) により統計処理をおこなった ( $\alpha=0.05$ )。

#### 【結果および考察】

*S. mutans* に対する MA-T の MIC は 3.9 ppm、MBC は 15.6 ppm で CHX と同値であった。Time-kill 試験では、浮遊細菌に対して 100 ppm MA-T は 2 分以上作用させることにより、0.12% CHX は 30 秒間以上の作用で寒天培地上での細菌の増殖を認めなくなった。

8 時間培養したバイオフィームに対し、100 ppm MA-T および 0.12% CHX はともに 1 分間および 10 分間の作用では生菌数の減少を認めなかった。しかし、30 分間作用させることで MA-T では、CHX と比較し有意にバイオフィーム細菌を減少させることが生菌数測定および CLSM 観察の結果から示された。

以上より、MA-T は浮遊細菌に対しては CHX より殺菌効果の即効性は劣るものの、形成されたバイオフィームに対しては 30 分間作用させることで CHX よりも強力な殺菌効果を持つことが示された。将来的には、MA-T を長時間作用可能なバーニッシュおよびジェルなどへの応用を視野に入れた検討が必要である。また、口腔内で実際に形成される複数菌種のバイオフィームに対して MA-T は今回とは異なる挙動を示す可能性が考えられるため、口腔内での MA-T の持つ抗バイオフィーム効果および細菌叢にもたらす影響に関しても、今後検討を行う予定である。

#### 【結論】

MA-T は、*S. mutans* バイオフィームに対する明らかな殺菌効果を有する可能性が示唆された。

本研究は JSPS 科研費 JP22K09998 の助成を受けたものである

## The effect of silver diamine fluoride combined with potassium iodide against cariogenic biofilm formation: *In vitro*

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

○Jutharat Manuschai, 外園 真規, 竹中 彰治, Niraya Kornsombut, 高橋 竜平, 齋藤 瑠郁, 永田 量子, 井田 貴子, 野杵 由一郎

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Faculty of Dentistry & Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University

○Jutharat Manuschai, Maki Sotozono, Shoji Takenaka, Niraya Kornsombut, Ryouhei Takahashi, Rui Saito, Ryoko Nagata, Takako Ida, and Yuichiro Noiri

**Introduction and purposes of this study:** Silver diamine fluoride (SDF) combined with potassium iodide (KI) is expected to exert antibiofilm effects as well as inhibit the caries progression. However, its clinical efficacy remains unclear because most studies have used a single bacterium. This study assessed the effects of 38% SDF with and without KI against cariogenic mixed-species biofilm formation on human root dentin surfaces and ion incorporation into root dentin.

**Materials and Methods:** Mixed-species biofilms consisting of *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Actinomyces naeslundii* were developed on specimen surfaces that treated with SDF or SDF + KI for 24 hours using a modified Robbins device. Untreated specimens were used as controls. Biofilms were evaluated using confocal laser scanning microscopy, scanning electron microscopy, colony-forming unit (CFU) counts, and quantitative polymerase chain reaction. Ion incorporation was analyzed using an electron probe microanalyzer.

**Results:** The results show the lowest biofilm mass comprising mostly dead cells in the SDF group. The numbers of biofilm clusters in the SDF and SDF + KI groups were lower than those in the corresponding controls, in accordance with the significant decrease in CFU count ( $p < 0.01$ ). SDF + KI application resulted in less silver and fluoride ion incorporation than that of SDF alone.

**Discussion and Conclusion:** These results revealed that SDF-treated root dentin surfaces regardless of KI combination significantly reduced biofilm formation, although KI after SDF application affected the amount of silver and fluoride ion incorporation. In conclusion, applying SDF with or without KI on exposed root dentin can be promising strategy for root caries prevention.

This study design was reviewed and approved by the Ethics Committee of Niigata University, Niigata, Japan (Approved No. 2022-0069). This work was supported by JSPS KAKENHI Grant Number JP21H03117B, 21K16990.

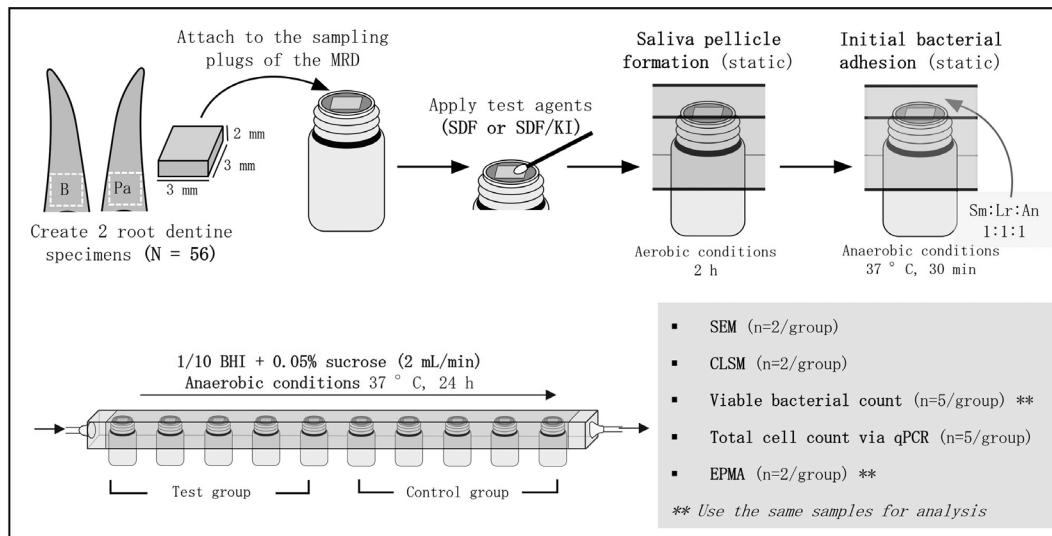


Figure 1 Experimental flow chart. Sm, *S. mutans*; Lr, *L. rhamnosus*; An, *A. naeslundii*; naeslundii; BHI, brain heart infusion; SEM, scanning electron microscopy; CLSM, confocal laser scanning microscopy; qPCR, quantitative polymerase chain reaction; EPMA, electron probe microanalyzer.

## レーザー光照射器が異なるコンポジットレジンの表面硬さに及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座<sup>1)</sup>, 総合歯学研究所生体工学研究部門<sup>2)</sup>,  
岩崎歯科医院<sup>3)</sup>

○石井 亮<sup>1,2)</sup>, 青木良太<sup>1)</sup>, 林 佳奈<sup>1)</sup>, 武藤 玲<sup>1)</sup>,  
高見澤俊樹<sup>1,2)</sup>, 新井広幸<sup>1)</sup>, 宮崎真至<sup>1,2)</sup>, 岩崎圭祐<sup>3)</sup>

### Influence of Different LEDs and a Laser Light Curing Device on Resin Composites Knoop Hardness Top/Bottom Ratio

Department of Operative Dentistry<sup>1)</sup>, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center<sup>2)</sup>,  
Nihon University School of Dentistry, Iwasaki Dental Clinic<sup>3)</sup>

○ ISHII Ryo<sup>1,2)</sup>, AOKI Ryota<sup>1)</sup>, HYASHI Kana<sup>1)</sup>, MUTO Rei<sup>1)</sup>,  
TAKAMIZAWA Toshiki<sup>1,2)</sup>, ARAI Hiroyuki<sup>1)</sup>, MIYAZAKI Masashi<sup>1,2)</sup>, IWASAKI Keisuke<sup>3)</sup>

#### 【研究目的】

コンポジットレジン修復は、接着システムおよびコンポジットレジンの機械的性質の向上に伴って、その適応範囲が拡大している。一方、大型の深い窩洞に対しては照射光線の減衰による接着不良やコンポジットレジンの重合性の低下などが指摘されている。これらの問題を解決するために、積層充填法の応用やバルクフィルコンポジットレジンの開発および光照射器の改良が行われてきた。特に、光照射器の進歩は著しく、複数の LED 光源を搭載することで照射強度を向上させ、照射時間を短縮させる高出力 LED 照射器が市販されている。一方、LED は光源の特性上、距離の増加に伴って光拡散性が大きくなることから、深い窩洞においては照射強度が減衰する。そこで、レーザー光の平行光線束性（コリメーション）に着目し、光拡散性の低いアルゴンレーザーを光源とする光照射器が開発された。そこで演者らは、レーザー光照射器の照射性能を評価する研究の一環として、対象となるコンポジットレジンのヌーブ硬さ（KNH）をパラメーターとして照射性能の検討を行った。

#### 【材料および方法】

供試した光照射器はレーザー光照射器として Monet (Morimura)、高出力 LED 照射器として VALO Grand (Ultradent Products Inc) および Pencure2000 (Morita) を使用した。コンポジットレジンとしては Beautiful Flow Plus X F03 (松風) および Omnichroma Flow (トクヤマデンタル) を使用した。また、バルクフィルコンポジットレジンとして Beautiful Bulk Flowable (松風) および Omnichroma Flow Bulk (トクヤマデンタル) を用いた。

#### 1. 測定用試片の製作および光照射条件

測定用試片の製作に際し、底面を黒色ガラス板で封鎖した内径 6 mm、高さ 1 mm、2 mm および 4 mm の円柱状プラスチック金型にレジンペーストを充填した後、ポリストリップスを介して光照射を行った。光照射条件は、Monet では 1 秒間あるいは 3 秒間、VALO Grand はスタンダードパワー 20 秒間、エクストラパワー 3 秒間、Pencure2000 では標準モード 20 秒間、高出力モード 3 秒間の計 6 条件とした。また、照射距離は試片から 0 mm、5 mm および 10 mm とした。これらの試片を 25 °C の大気中で 10 分あるいは 24 時間遮光下で保管したものを測定用試片とした。

#### 2. ヌーブ硬さ (KNH) の測定

KNH 測定に際しては、測定用試片を微小硬度計 (Via-S, Matsuzawa) に静置し、荷重 0.25 N、荷重保持時間 30 秒の条件で測定した。また、測定は各試片の照射面と底面の中央、付近の計 5 カ所について行った。得られた値から、照射面に対する底面の KNH の割合を算出した。

#### 【成績および考察】

得られた KNH 試験の結果から、供試したコンポジットレジンによって異なる値を示したものの、レーザー光照射器はコンポジットレジンの種類および厚さに関わらず、1 秒間の照射と比較し、3 秒間の照射によって有意に高い KNH を示した。また、照射面に対する底面の KNH の割合は上昇する傾向を示した。また、各 LED 照射器においても高強度による短時間照射と比較し、標準モードによる照射時間条件で高い KNH を示し、照射面に対する底面の KNH の割合は上昇する傾向を示した。また、レーザー光照射器は各 LED 照射器と比較し、照射距離による影響は少なかった。

#### 【結論】

供試した照射器の照射特性はそれぞれ異なるものであり、パラメーターとして測定したコンポジットレジンの機械的性質にもその影響が反映された。特に、レーザー光照射器が有するコリメーション性は窩洞が深い場合などでは有利に作用するものと考えられた。

## フロアブルコンポジットレジンを用いた大白歯大型窩洞修復

日本歯科大学 新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座  
○新海 航一

### Restoration of large molar cavities using a flowable composite resin

Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata  
○SHINKAI Koichi

#### 【緒言】

フロアブルコンポジットレジン (以下 FCR) は、「窩壁へのなじみの良さ」、「ダイレクトアプリケーションシリンジからの直接充填」など良好な操作性を有することから日常の歯科診療で臼歯咬合面にも使用されている。開発当初はストレスフリーな部位への適用に限られていたが、フィラーの配合率アップや表面処理法の改良によって物性が改善され、臼歯咬合面など咬合ストレスが加わる部位にも適用可能となり主流になりつつある。また、high flow、low flow、Super low flow など、フロアビリティに種類が設けられ、目的に応じて使い分けられている。とくに、Super low flow の FCR は咬合面の形態付与には有用性が高く、小白歯のみならず大白歯咬合面のコンポジットレジン修復に応用されている。今回、Super low flow の FCR を用いた大白歯大型窩洞修復の臨床症例を提示する。

#### 【症例】

**症例①** 58 歳、女性、インレー脱離を主訴に来院した。部位：上顎左側第 1 大白歯、既往歴：特記事項なし、現症：冷温熱痛と自発痛は自覚していないとのこと。インレーが脱離した窩洞 (DOBP) の窩壁には着色軟化象牙質が多量に認められた。治療：局所麻酔を行ってからラバーダム防湿を施し、マイクロスコープ拡大視野下で修復操作を行った。5 倍速コントラアングルハンドピースに球状ダイヤモンドポイントを装着し、着色軟化象牙質をおおまかに除去した。その後、齶蝕検知液を用いた染色を指標にして感染歯質を除去した。歯髄近接部の染色部はディスク型エキスカベータで慎重に除去した。その結果、近心舌側咬頭を含む大型窩洞 (MODBP) となった。機能咬頭を被覆するため、間接修復法の適応も選択肢にあげたが、患者の同意のもと、コンポジットレジン直接修復を行った。まず、K エッチャントシリンジ (クラレノリタケデンタル) を用いてセレクトィブエッチング (10 秒間) を行った後、クリアフィル®メガボンド®2 を用いてメーカー指示に従い歯面処理を行った。FCR は、ビューティフィル・フロー・プラス X・F00 (松風) の A3 と A2 のシェードを用いた。はじめに近心舌側咬頭を築盛した後、コンポジットシステムを用いて遠心隣接面に隔壁を装着して遠心側室を、同様に近心側室を填塞した。次に、咬合面～頬側面に残った窩洞を填塞した。分割積層填塞法を駆使し、内層は A3、外層は A2 シェードを用い、1-2 mm 程度の厚さで築盛と光照射を繰り返して解剖学的形態を回復した。エアタービンハンドピースと研磨用ダイヤモンドポイントを用いて確実な咬合調整を行い、当日の処置は終了、1 週間後に仕上げ研磨を行った。1 年経過後の所見では研磨時の光沢が維持され、不具合は認められなかった。

**症例②** 52 歳、男性、冷水痛を主訴に来院した。部位：下顎第 1 大白歯、既往歴：特記事項なし、現症：一過性冷水痛を時々自覚するが、温熱痛と自発痛はないとのこと。変色したコンポジットレジン修復 (OB) を認めた。治療：症例①と同様に前準備を行い、マイクロスコープ拡大視野下で修復操作を行った。旧修復物を除去すると二次齶蝕が頬側で内部拡大していた。この症例では、隣接面の齶蝕は認められなかったが、咬合面の実質欠損は広範囲に及び、頬側遠心咬頭の一部が失われた窩洞 (OB) となった。症例①と同様にして窩洞の歯面処理、填塞および仕上げ研磨を行った。2 年経過後の所見では光沢は維持され、不具合は認められなかった。

#### 【考察と結論】

FCR を用いた大白歯大型窩洞修復は、ラバーダム防湿、拡大視野下で操作し、確実な咬合調整と仕上げ研磨を行うと、1~2 年後で不具合なく良好な予後を確認できた。当講座で行ってきた *in vitro* における FCR の摩耗試験データや文献上の物性試験データからも、大白歯大型窩洞における FCR の臨床的有用性が示唆される。このような症例は、提示した以外に数多く行っているが、臨床的不具合はほとんどない。今後、ハードルは高いが、大白歯大型窩洞の FCR 修復に関する前向き臨床研究の実施と臨床的エビデンスの獲得が望まれる。

## CAD/CAM 冠の非侵襲的辺縁適合性評価

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
3. チュラロンコン大学歯学部 歯科保存学講座

○曾 宸<sup>1</sup>、田端倫子<sup>1</sup>、高橋礼奈<sup>1</sup>、品川淳一<sup>1</sup>、池田正臣<sup>2</sup>、高野隼輔<sup>1</sup>、角保徳<sup>1</sup>、田上順次<sup>1,3</sup>、島田康史<sup>1</sup>

### Marginal Adaption Analysis of CAD/CAM Resin Crown with Non-invasive Methods

1. Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
  2. Oral Biomedical Engineering, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
  3. Department of Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand
- Chen ZENG<sup>1</sup>, Tomoko TABATA<sup>1</sup>, Rena TAKAHASHI<sup>1</sup>, Junichi SHINAGAWA<sup>1</sup>, Masaomi IKEDA<sup>2</sup>, Shunsuke TAKANO<sup>1</sup>, Yasunori SUMI<sup>1</sup>, Junji TAGAMI<sup>1,3</sup>, Yasushi SHIMADA<sup>1</sup>

**【Objective】** Marginal adaptation is a crucial factor in the long-term success of the restoration. Although silicone replica method is one of the standard methods in order to assess the marginal adaptation, it is an intricate and time-consuming method. swept-source optical coherence tomography (SS-OCT), which is noninvasive, high-resolution, cross-sectional imaging technique, has been employed in dentistry. The objectives of this study were (1) to compare silicone replica method and SS-OCT method for marginal adaptation analysis, and (2) to compare tooth locations in terms of marginal adaptation of CAD/CAM fabricated resin crown.

**【Materials and Methods】** A prepared mandibular right first molar model (A55A-461, Nissin) was set on a typodont standard model. An intraoral scanner (Trios 3 Pod, 3Shape) was used to scan this prepared molar, CAD/CAM resin block (Katana Avencia P, Kuraray Noritake Dental) was milled with a 5-axis milling machine (DWX-50, Roland) to fabricate 14 crowns. Marginal adaptation of buccal, lingual, mesial and distal points was assessed by silicone replica method (silicone) and SS-OCT (see Figs. 1 and 2). The Wilcoxon rank sum test was used to compare silicone and SS-OCT at buccal, lingual, mesial and distal points, respectively. Welch's t-test with Bonferroni correction was used to compare each point within silicone and SS-OCT, respectively. All statistical analyses were done at a significance level of 0.05.

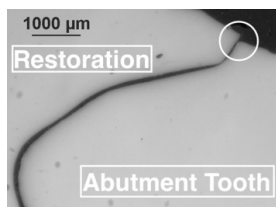


Fig.1. The image of silicone replica method

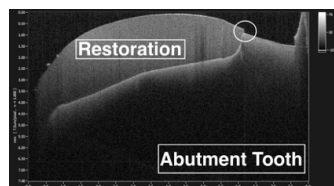


Fig.2. The image of SS-OCT method

**【Results】** Fig.3. shows the results of marginal discrepancy of silicone and SS-OCT. Although there was a significant difference between silicone and SS-OCT in lingual ( $p < 0.05$ ), there were no significant differences between silicone and SS-OCT in buccal, mesial and distal ( $p > 0.05$ ). There were no significant differences among buccal, lingual, mesial and distal points within both silicone and SS-OCT ( $p > 0.05$ ).

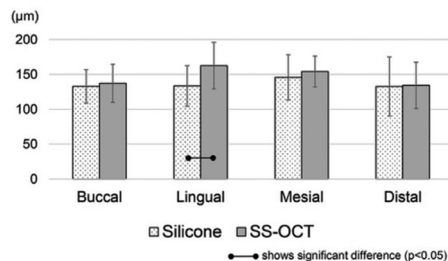


Fig.3. Marginal discrepancy

**【Conclusions】** Within the limitations of the present study, the followings were concluded:

1. SS-OCT method can be alternative to silicone replica method to assess marginal adaptation.
2. Tooth locations did not affect to marginal adaptation of CAD/CAM fabricated resin crown.

## IL-1 $\beta$ が誘導したヒト歯根膜由来細胞の炎症性メディエーター 発現に対する cardamonin の影響

<sup>1)</sup>徳島大学大学院医歯薬学研究部 再生歯科治療学分野 <sup>2)</sup>徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔保健支援学分野  
○岡本梨沙<sup>1)</sup>、細川義隆<sup>1)</sup>、細川育子<sup>1)</sup>、尾崎和美<sup>2)</sup>、保坂啓一<sup>1)</sup>

### Effects of Cardamonin on Inflammatory Mediators Expression in IL-1 $\beta$ -Induced Human Periodontal Ligament Cells

<sup>1)</sup>Department of Regenerative Dental Medicine, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, <sup>2)</sup>Department of Oral Health Care Promotion, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences  
○Risa Okamoto<sup>1)</sup>, Yoshitaka Hosokawa<sup>1)</sup>, Ikuko Hosokawa<sup>1)</sup>, Kazumi Ozaki<sup>2)</sup>, Keiichi Hosaka<sup>1)</sup>

#### 【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。

cardamonin は月桃などのショウガ科植物に含まれる生理活性物質である。cardamonin はこれまで抗炎症作用、生体防衛・解毒酵素の誘導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。我々は第 159 回日本歯科保存学会秋季学術大会において TNF- $\alpha$  で刺激したヒト歯根膜由来細胞 (HPDLCs) の炎症性メディエーター産生を cardamonin が抑制する事を報告した。

本研究では、TNF- $\alpha$  以外の刺激でも cardamonin が抗炎症作用を示すか否かを確認するため、IL-1 $\beta$  が誘導する HPDLCs の炎症性メディエーター産生に与える cardamonin の影響について検討を行う事とした。すなわち、cardamonin が IL-1 $\beta$  刺激により HPDLCs に誘導される炎症性サイトカインである IL-6、CCL2、CCL20 および CXCL10 産生、細胞接着分子 (ICAM-1) 発現ならびに COX-2 発現に与える影響について検討を行った。また、IL-1 $\beta$  が HPDLCs 細胞内で活性化するシグナル伝達因子 (IKK  $\alpha/\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、STAT3) に与える cardamonin 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- $\alpha$  が誘導する抗酸化酵素である HO-1、NQO1 の発現に対する cardamonin の影響についても検討を行った。また、近年 cardamonin のレセプターである事が報告されている Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) の関与についても検討した。

#### 【材料および方法】

HPDLCs は Lonza 社より購入し、10%FBS を含む DMEM 培地にて培養し実験に用いた。コンフルエントに達した HPDLCs を cardamonin 存在下あるいは非存在下にて IL-1 $\beta$  刺激を行い IL-6、CCL2、CCL20 および CXCL10 産生を ELISA 法にて解析を行った。さらに、western blot 法を用いて ICAM-1 および COX-2 の発現、細胞内シグナル伝達因子 (IKK  $\alpha/\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、STAT3) の発現およびリン酸化、抗酸化酵素の HO-1、NQO1 発現の解析を行った。また、一部の実験では AhR のアンタゴニストである CH-223191 存在下で IL-1 $\beta$  と cardamonin で HPDLCs を処理し検討を行った。

#### 【成績】

cardamonin は IL-1 $\beta$  が誘導した HPDLCs の IL-6、CCL2、CCL20 および CXCL10 産生ならびに ICAM-1、COX-2 発現を抑制した。また、cardamonin は IL-1 $\beta$  が誘導した IKK  $\alpha/\beta$ 、NF- $\kappa$ B p65、I $\kappa$ B- $\alpha$ 、STAT3 のリン酸化ならびに I $\kappa$ B- $\alpha$  の分解を抑制した。さらに cardamonin は、HO-1、NQO1 の発現を増強した。CH-223191 は IL-1 $\beta$  が誘導した IL-6 およびケモカイン産生に対する cardamonin の抑制効果を減弱した。

#### 【考察および結論】

今回の結果より、cardamonin は HPDLCs の NF- $\kappa$ B および STAT3 のシグナル伝達経路の活性化を阻害することにより、IL-1 $\beta$  が誘導するヒト歯根膜由来細胞の IL-6、CCL2、CCL20 および CXCL10 産生ならびに ICAM-1、COX-2 発現も抑制することが示唆された。また、cardamonin がヒト歯根膜由来細胞の抗酸化酵素発現を増強することも明らかとなった。さらに cardamonin は AhR を介して抗炎症作用を発揮している可能性が考えられた。このことより歯周炎病変局所への cardamonin の投与によって歯根膜細胞の IL-6、CCL2、CCL20、CXCL10、ICAM-1 および COX-2 などの炎症性メディエーターの産生が抑制され、HO-1 などの抗酸化酵素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。



## ヒト顎骨由来未分化骨芽細胞様細胞：骨組織工学における新たな細胞源

東北大学大学院歯学研究科エコロジー歯学講座歯科保存学分野<sup>1)</sup>、東北大学病院 歯内療法科<sup>2)</sup>  
○原田芙太巴<sup>1)</sup>、鎌野優弥<sup>2)</sup>、八幡祥生<sup>1)</sup>、齋藤正寛<sup>1)</sup>

### Human alveolar bone derived immature osteoblast-like cells: a new cell source for bone tissue engineering.

Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry<sup>1)</sup>, Division of Endodontics, Tohoku University Hospital<sup>2)</sup>  
○Futaba Harada<sup>1)</sup>, Yuya Kamano<sup>2)</sup>, Yoshio Yahata<sup>1)</sup>, Masahiro Saito<sup>1)</sup>

#### 【研究の背景と目的】

骨組織工学において、これまで多くの骨補填材が広く使用されてきた。近年の三次元骨補填材の開発により歯科臨床において、小さい骨欠損であれば補填材単独での骨治癒が望めるようになった。しかし周囲に十分に骨組織がない状態における垂直方向への造骨は未達の課題である。一方、骨再生医療の分野において骨補填材に間葉系幹細胞を組み合わせた骨再生技術の研究が進められている。臨床ケースの報告では、細胞の免疫寛容による抗炎症効果に伴う骨再生の増強効果は認められるものの、積極的な骨再生を達成しうる技術は未だない。

このような背景をもとに、当講座では骨補填材を用いた造骨治療の問題解決のため以下の3点、1) 優れた骨伝導能および骨誘導能を有すること、2) 造骨作用に秀でた細胞を組み合わせること、3) 移植後の異物反応による炎症を抑制すること、に重点を置いて骨再生の治療方法に関する研究を行っており、ヒト歯槽骨より分離可能で優れた骨芽細胞分化能を有するヒト歯槽骨由来未分化骨芽細胞様細胞 (Human Alveolar bone derived immature Osteoblast like Cells : HAOB) と骨補填材を併用した骨再生治療の開発研究を実施している。これまで我々は複数の骨補填材と HAOB の複合体を免疫不全マウス背部皮下に移植し、それぞれの造骨能力について検討を重ねてきた。その結果、三次元骨補填材である Bonarc と HAOB の複合体が造骨能力、骨誘導能を示すことを明らかにした。本研究では HAOB-Bonarc 複合体による造骨・骨誘導能について詳細な検討を行うこと、造骨能力の向上を目的に行なった。

#### 【材料および方法】

倫理申請：本研究実施にあたり東北大学歯学部倫理委員会の承認を得て (2018-3-024) 実施している。また全被験者から研究開始前に書面によるインフォームドコンセントを取得している。

HAOB 培養：ヒト歯槽骨より骨片を採取し HAOB を分離培養した。HAOB の骨芽細胞への分化能を有しているか確認するため、骨芽細胞への分化誘導培地で培養後に染色を行い分化の有無を調べた (アルカリホスファターゼ染色およびアリザリンレッド染色)。また定量 PCR により分化関連マーカー遺伝子の発現を検証した。

マウス皮下移植実験：HAOB と様々な種類の骨補填材の最も有効な組み合わせを探索するため、培養した HAOB を各種骨補填材 (NeoBone, Cytrans Granules, Osferion, Refit-Dental, Bonarc) に播種し、免疫不全マウス (SCID マウス：日本クレア) の背部皮下へ移植した。

マウス腎被膜下移植実験：皮下移植実験で得られた結果をもとに、より明確な造骨能力を確認するため、HAOB と骨補填材の複合体を免疫不全マウスの腎被膜下へ移植した。移植後 2 ヶ月および 4 ヶ月で試料を回収した。

試料解析：上記の動物実験で得られた試料については、ヘマトキシリンエオジン染色による組織解析を行なった。

#### 【結果および考察】

分離された HAOB は骨芽細胞へ分化誘導すると各染色で陽性を示し、また各種分化関連マーカー遺伝子の高発現を認めた。このことから HAOB は骨芽細胞への分化能を有していることが示唆される。またマウス皮下移植実験において、HAOB と NeoBone, Cytrans Granules, Osferion, Refit-Dental の複合体と比較して HAOB と Bonarc の組み合わせで骨様組織の形成が示唆され、この組み合わせが最も有効と考え、マウス腎被膜下移植実験を行うこととした。マウス腎被膜下移植実験において、Bonarc 単独を移植した群では早期にその三次元的構造が崩壊し、骨様組織の形成を認めなかった。一方で HAOB-Bonarc 複合体を移植した群では移植後 2 ヶ月および 4 ヶ月どちらも骨補填材の三次元的構造が維持されており、骨様組織の形成を認めた。特に 4 ヶ月の方では骨様組織の形成が顕著だった。このことから HAOB は骨補填材の構造を維持すること、造骨に必要な細胞を供給することの両面から造骨能力を担保していることが示唆され、新規骨再生組織工学技術に有用な細胞源であると考えられる。