

## ブラジル産グリーンプロポリスとその修飾薬を用いた覆髄剤の開発

朝日大学大学院口腔機能修復学講座 歯科保存学分野歯冠修復学

1. 朝日大 歯 保存、2. 朝日大 歯 口外 3. 朝日大 経営 化学、4. 秋田屋本店 研究開発部、  
5. 朝日大 歯 化学  
○ラハマン シィファ<sup>1</sup>、鶴田 はねみ<sup>1</sup>、高橋 萌<sup>2</sup>、神谷-水野 真子<sup>3</sup>、池野 久美子<sup>4</sup>、中村 源次郎<sup>4</sup>、  
近藤 信夫<sup>5</sup>、二階堂 徹<sup>1</sup>

### Development of pulp capping agent using Brazilian green propolis and its modifiers

1. Dept Operative Dentistry, Asahi Univ Sch Dent, 2. Dept Oral Surg, Asahi Univ Sch Dent,  
3. Chem Lab, Asahi Univ Sch Busi admn. 4. AKITAYAHONTEN CO., LTD. R&D Department, 5. Chem Lab, Asahi  
Univ Sch Dent.

○Shifa Rahman<sup>1</sup>, Hanemi Tsuruta<sup>1</sup>, Moe Takahashi<sup>2</sup>, Masako Kamiya-Mizuno<sup>3</sup>, Kumiko Ikeno<sup>4</sup>,  
Genjirou Nakamura<sup>3</sup>, Nobuo Kondoh<sup>5</sup>, Toru Nikaido<sup>1</sup>

#### 【緒言】

プロポリスは口腔の軟組織における炎症を抑え、治癒効果を高めることが既に報告されている。我々は既に、ブラジル産グリーンプロポリス (BGP) が抗 CD3 抗体刺激マウス脾細胞の炎症性サイトカイン産生を抑制し、Th2 型の抑制性サイトカインを軽度促進する一方で、IL-2 産生を顕著に促進することを突き止め (Tsuruta H, 2022)、BGP が歯髄治療薬として消炎と軟組織修復を促進する可能性を見出ししている。一方、BGP は硬組織形成細胞の分化を抑制することが報告されており、その背景として BGP による PPAR- $\gamma$  を介した脂肪細胞や軟骨細胞への誘導が優位に引き起こされることが指摘されている。そこで我々は、PPAR- $\gamma$  のアンタゴニストである GW9662 存在下/非存在下において、BGP が歯髄由来間葉系細胞の分化・石灰化にどのような影響を及ぼすか検討し、さらにこれら因子が刺激脾細胞のサイトカイン産生におよぼす影響を併せて検討した。

#### 【材料と方法】

ヒト由来歯髄細胞 (DP002) および、C3H マウス由来脾細胞を用いた。DP002 細胞を BGP (秋田屋本店)、GW9662 (Wako Fujifilm) 存在下で硬組織形成誘導試薬 (Takara) を用いて分化誘導し、石灰化をアリザリン染色 (PG リサーチ) により定量した。所定の方法により採取したマウス脾細胞を抗 CD3 抗体で刺激し (Tsuruta H, 2023)、培養上清を用いて ELISA 法 (R&D) により各種サイトカイン産生を測定した。

#### 【結果】

DP002 細胞の硬組織形成能は、BGP 存在下で促進され、GW9662 共存下でさらに促進された。また、GW9662 は、BGP の活性化脾細胞の炎症関連サイトカイン (IFN- $\gamma$ 、IL-17、IL-6) 産生に対する抑制作用を促進し、対照的に低濃度領域の BGP 存在下においては、抑制性サイトカインである IL-4 産生、および IL-2 産生の促進を増強した。

#### 【結論】

GW9662 は、BGP の歯髄由来間葉系細胞に対する石灰化誘導能を促進するとともに、刺激脾細胞に対してはサイトカイン産生能を炎症抑制性の Th2 型に方向づける BGP の作用を増強することが示唆された。これらの事実から、BGP と GW9662 とを適度に組み合わせることにより、歯髄軟組織の消炎と治癒の促進を増強するとともに、硬組織による被蓋形成作用を効果的に高める理想的な覆髄剤の開発が可能なが示唆された。

## ケイ酸カルシウムを基盤とした新規覆髄材の開発

### 3)水和によるケイ酸カルシウムの組成変化

<sup>1</sup>朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野,

<sup>2</sup>朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野,

○伊藤友見<sup>1</sup>, 田中雅士<sup>1</sup>, 長谷川智哉<sup>1</sup>, 新谷耕平<sup>2</sup>, 笹本法寛<sup>2</sup>, 奥山克史<sup>2</sup>, 河野 哲<sup>1</sup>

## Development of novel pulp-capping material based on calcium silicate

### 3) Compositional change of synthetic calcium silicates during hydration.

<sup>1</sup>Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,

<sup>2</sup>Department of Dental Materials Science, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,

Asahi University School of Dentistry

○Tomomi Ito<sup>1</sup>, Masashi Tanaka<sup>1</sup>, Tomoya Hasegawa<sup>1</sup>, Kohei Shintani<sup>2</sup>, Norihiro Sasamoto<sup>2</sup>, Katsushi Okuyama<sup>2</sup>, Satoshi Kawano<sup>1</sup>

#### 【目的】

Mineral Trioxide Aggregate (MTA)は、ケイ酸カルシウム系の水和反応により抗菌作用や硬組織誘導能など高い生体親和性を示すため、歯髄温存療法において高い成功率を収めることが報告されている。演者らは第159回の学術大会で、炭酸カルシウム及び珪藻土からMTAの成分であるケイ酸カルシウムを合成し、さらに酸化カルシウムを化学式に基づき添加して高温焼成を行うことによりケイ酸二カルシウム、ケイ酸三カルシウム様化合物の合成が可能であることを報告した<sup>1)</sup>。また、それぞれ合成した化合物を純水で練和し、それらのpHを経時的に計測した結果、ケイ酸カルシウムで練和約10時間後、ケイ酸二、三カルシウムで練和約5-6時間後にpH曲線が急激に強アルカリから中性に低下することを確認した。

本研究では、前報で合成したケイ酸カルシウム、ケイ酸二、三カルシウムのpH変化の要因を特定するため、水和反応における経時的変化をエクス線回折にて分析したため報告する。

#### 【材料・方法】

前報と同様に、試薬炭酸カルシウム(CaCO<sub>3</sub>: ナカライテスク)と試薬珪藻土(SiO<sub>2</sub>: ナカライテスク)をCaCO<sub>3</sub>+SiO<sub>2</sub>→CaSiO<sub>3</sub>+CO<sub>2</sub>の反応式に基づき秤量し、混合した粉末を高温小型焼成ボックス炉(UFS3608,ニッカトール)内で毎分10°Cの条件で1300°Cまで昇温後に1時間係留し、炉内で放冷してケイ酸カルシウムの合成を試みた。得られた合成ケイ酸カルシウムを利用して、酸化カルシウム(CaO:キンダ化学株式会社)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(CaSiO<sub>3</sub>+CaO→Ca<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>)、ケイ酸三カルシウム(CaSiO<sub>3</sub>+2CaO→Ca<sub>3</sub>SiO<sub>5</sub>)の合成を、上記と同様の焼成条件にて試みた。

合成ケイ酸カルシウムを各々純水で練和し、練和直後から24時間後までの生成化合物を調べた。同定はエクス線回折装置(XRD: Ultima IV, Rigaku)を用い2θ(5-60°)の範囲で分析を行った。

#### 【結果】

炭酸カルシウムと珪藻土により合成したケイ酸カルシウムは試薬ケイ酸カルシウムとほぼ同じピークを示すこと、さらに合成ケイ酸カルシウムをもとに酸化カルシウムを添加してXRD分析を行ったところ、ケイ酸二、三カルシウムの合成が確認された。

これらの合成したケイ酸カルシウム粉末を純水で練和し、経時的な化合物生成をXRD分析で評価したところ、回折線に変化が認められなかった。水和後、24時間の試料まで計測を継続したが新たなピークの検出は認められなかった。この傾向は合成ケイ酸二、三カルシウムについても同様であった。

#### 【考察】

前報で合成ケイ酸カルシウムの水和物が練和当初に高いpH値を示し、約10時間まで上昇し急激にpH値が低下することを報告した<sup>1)</sup>。この現象は水和によりケイ酸カルシウムから水酸化カルシウムが生成されるためと考えられたが、本研究の化合物同定によると焼成により合成したケイ酸カルシウムは水和による生成物は認められなかった。したがって経時的なpH値の下降は溶出イオンが原因していると考えられるが、詳細は検討中である。

#### 【結論】

焼成により合成したケイ酸カルシウムは水和により化合物の新たな生成は認められなかった。今後は水和物の状態を詳細に検討する予定である。

なお、本研究に開示すべきCOIはない。

#### 【文献】

1)伊藤友見, 新谷耕平, 笹本法寛, 奥山克史, 玉置幸道, 河野 哲. ケイ酸カルシウムを基盤とした新規覆髄材の開発 2)ケイ酸カルシウムの合成. 日本歯科保存学会 2023 年度秋季学術大会(第159回). 浜松. 2023.

## 歯髄血管再生療法の治癒過程に出現する 毛細血管のサブタイプと新生硬組織形成への寄与

東京歯科大学保存修復学講座

○五十嵐 章智, 田代 憲太郎, 三友 啓介, 村松 敬

### Subtypes of capillary contribute to newly formed mineralized tissue in healing process of pulp revascularization

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

○IKARASHI Takatoshi, TASHIRO Kentoro, 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治療法で、歯根の成長と根管壁の肥厚化を期待する。我々はこれまでにモデルマウスを作製し、その治癒過程に寄与する毛細血管及び前駆細胞の動態を検討してきた (Komada, Ikarashi *et al.*, Front Dent Med 2022)。その結果、根尖から侵入した毛細血管と線維芽細胞が根管内で増殖し、セメント質様硬組織が形成されることを明らかにした。しかし、増殖した毛細血管の局在やそのサブタイプ、硬組織形成との相互作用は不明である。一方、我々は骨幹端において血管形成と骨形成のカップリングを行う Type H 血管 (CD31<sup>high</sup>Endomucin<sup>high</sup> (Emcn)) 様毛細血管がマウス歯髄にも存在することを明らかにした (三友ら, 第 152 回日本歯科保存学会)。そこで本研究では、歯髄血管再生療法後に根管内へ侵入・増殖する毛細血管のサブタイプと新生硬組織形成への寄与を検討することを目的とした。

#### 【材料および方法】

本研究は本学動物実験委員会の承認を得て行った (承認番号: 222303)。実験には生後 5 週齢の C57BL/6J 雄性マウス (計 24 匹) を用いた。上顎右側第一臼歯近心根管の根部歯髄除去後、根尖孔外から出血させ、根管口部で止血した。血餅上部を MTA セメントで被覆し、その上部および周囲をフロアブルコンポジットレジンで封鎖した。術後 1 時間、7 日、14 日に灌流固定し、上顎骨を採取した。脱灰後凍結切片標本を作製し、抗 CD31 抗体、抗 Emcn 抗体、骨前駆細胞マーカーである抗 Osterix (Osx) 抗体を用いた多重蛍光免疫染色を行った。一方、術後 7 日、14 日において、Calcein 標識後非脱灰凍結切片標本を作製し、抗 Emcn 抗体を用いた蛍光免疫染色を行った。対照群は未処置の反対側同名歯近心根とした。

#### 【結果および考察】

術後 1 時間では根管内に歯髄組織を認めず、7 日では根尖から根管中央部に至る CD31 陽性 Emcn 陽性血管を認めた。新生血管の歯冠側先端は CD31 陽性 Emcn 陰性であった。Emcn は毛細血管及び静脈に発現する (Yan *et al.*, 2020) ことから、この血管は動脈であることが示唆された。14 日では根尖から根管口部まで CD31 陽性 Emcn 陽性血管は認められ、根管壁周囲に局在していた。一方、Osx 陽性細胞は 7 日では根管壁周囲の一部に認められ、14 日では根管壁全体を取り囲むように局在し、Osx 陽性細胞は Emcn 陽性血管近傍に位置していた。Calcein 標識では、7 日において Emcn 陽性血管周囲に新生硬組織を認め、14 日ではその形成量の増加を認めた。また Emcn 陽性血管の一部に糸状仮足の形成が認められ、根管内での血管新生が示唆された。

以上より、歯髄血管再生療法の治癒過程において、CD31 陽性 Emcn 陽性血管が根尖から根管内に侵入・増殖し Osx 陽性細胞とニッチを形成し、Osx 陽性細胞が根管内新生硬組織形成に寄与することが示唆された。また、歯髄には形態や機能の観点で Type H 血管とは異なるサブタイプの存在が報告されている (Matsubara *et al.*, 2022) ことから、CD31 陽性 Emcn 陽性血管には、Type H 血管とは異なるサブタイプも存在すると考えられた。

(会員外研究者: 東京歯科大学口腔科学研究センター 溝口 利英 伊藤 慎一郎)

## 断髄後の創面における異栄養性石灰化と非コラーゲン性タンパク質の集積

1)新潟大学 医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野

2)新潟大学 医歯学総合研究科 口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野

○枝並直樹<sup>1)</sup>, 高原信太郎<sup>1)</sup>, 大倉直人<sup>1)</sup>, 吉羽邦彦<sup>2)</sup>, 吉羽永子<sup>1)</sup>, 野杵由一郎<sup>1)</sup>

### Dystrophic Calcification and Accumulation of Non-Collagenous Proteins on the Pulp Wound Site after Pulpotomy

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

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

○EDANAMI Naoki<sup>1)</sup>, TAKAHARA Shintaro<sup>1)</sup>, OHKURA Naoto<sup>1)</sup>, YOSHIBA Kunihiko<sup>2)</sup>, YOSHIBA Nagako<sup>1)</sup>  
and NOIRI Yuichiro<sup>1)</sup>

【目的】修復象牙質が形成されるメカニズムの解明は歯髄保存療法の発展に不可欠である。過去の研究において、水酸化カルシウム系製剤やケイ酸カルシウム系セメントが覆髄材として使用された場合に、材料直下に壊死層が形成され、その後に異栄養性石灰化が起こることが報告されている (K Yoshida et al. J Dent Res. 1996)。またラットの覆髄実験では、修復象牙質形成の開始に先立ち Osteopontin (OPN) や Dentin matrix protein 1 (DMP-1) といった非コラーゲン性タンパク質が歯髄創面に集積することが観察されている (M Kuratate et al. J Endod. 2008) (Y Shigetani et al. Int Endod J. 2015)。この異栄養性石灰化と非コラーゲン性タンパク質の集積は、歯髄創傷治癒過程の早期に生じる反応として互いに関連していることが推察されるが、その時間的・空間的關係性については明らかになっていない。本研究は、異栄養性石灰化と非コラーゲン性タンパク質の集積のどちらの現象が先行して生じるかを調査すると共に、異栄養性石灰化層と非コラーゲン性タンパク質集積層の局在関係を調査した。

【材料および方法】本研究は新潟大学動物倫理委員会の承認を得て行った (承認番号 SA00903)。8 週齢 Wistar ラットの上顎第一臼歯に ProRoot MTA (MTA) を用いた断髄処置を行った。3 時間、6 時間、1 日、3 日後にラットを安楽死させ、上顎骨を摘出し、リン酸非含有中性ホルマリン固定液に浸漬した後に、以下の解析に用いた。

#### 1) 異栄養性石灰化物の検出

上顎骨試料を脱水後にエポキシレジンに包埋した。続いて、このレジン包埋試料を研削し、MTA と、その直下歯髄の両方を含む面を露出させた。その後、MTA と歯髄の界面におけるカルシウムとリンの分布を電子線マイクロアナライザー (EPMA) によりマッピングし、異栄養性石灰化物の有無を調べた。

#### 2) OPN と DMP-1 の局在

上顎骨試料を EDTA により脱灰し、脱水後にパラフィンに包埋、厚さ 4 μm の組織切片を作製した。この組織切片に対して、抗 OPN および抗 DMP-1 抗体を用いた酵素抗体法免疫染色を行い、断髄部における OPN と DMP-1 の局在を調べた。

#### 3) OPN および DMP-1 の陽性層と異栄養性石灰化層の局在関係

上顎骨試料を脱水後にエポキシレジンに包埋し、厚さ 3 μm の未脱灰組織切片を作製した。この組織切片において、カルセインブルーを使用してカルシウムの存在部位を蛍光発色させ、その後に断髄部の画像を記録した。さらに、同一の組織切片を EDTA により脱灰し、抗 OPN および抗 DMP-1 抗体を用いた蛍光免疫染色を行った。再度、断髄部の画像を記録し、カルセインブルー染色時の画像と比較した。

【結果】EPMA 解析では、処置 3 時間後の試料において異栄養性石灰化を示すカルシウムとリンに富む領域が観察された。一方で OPN と DMP-1 に対する免疫染色では、これらの陽性層が処置 3 時間後では生じていないことが明らかになった。処置後 1 日が経過すると DMP-1 の歯髄創面における集積が明瞭となり、3 日が経過すると OPN の集積も明瞭となった。処置後 3 日目における非脱灰組織切片を用いた解析では、カルセインブルーで蛍光発色される異栄養性石灰化層の直下に、OPN と DMP-1 の陽性層が存在することが確認された。

【結論】本研究では、異栄養性石灰化が非コラーゲン性タンパク質である OPN と DMP-1 の集積に先立って起こる事、並びに異栄養性石灰化層の直下に OPN と DMP-1 の集積が起こることが示された。これらの結果から、修復象牙質形成過程において、異栄養性石灰化が非コラーゲン性タンパク質の集積を誘発している可能性が考えられる。

## In Vivo Assessment of Bioceramics in Pulp Capping: A comparative study

○Rafiqul Islam, Md Refat Readul Islam, Yu Toida, Hidehiko Sano, Monica Yamauti, Atsushi Tomokiyo

Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University

**Objectives:** The purpose of this study was to evaluate the biological response of three different types of bioceramics-based pulp capping materials in terms of inflammatory response and mineralized tissue formation comparison to mineral trioxide aggregate (MTA) material after direct pulp capping (DPC).

**Materials and method:** DPC was performed on 120 maxillary first molars of 60 male Wistar rats. After taking proper aseptic protocol, the teeth pulps were intentionally exposed using a stainless-steel #20 K-file and randomly divided into five groups according to the application of the materials: experimental group-1: Bio C Repair (BCR; Angelus, Londrina, PR, Brazil); experimental group-2: BG Multi (BGM; Nisika, Shimonoseki, Japan); experimental group-3: Well Pulp St (WPS; Vericom, Gangwon-Do, Korea); group-4: Nex- Cem MTA (MTA; GC corporation, Tokyo, Japan) as a positive control; and group-5: No capping materials (NC). After application of the materials, all cavities were restored with a 4-META/MMA TBB resin, and the pulpal responses were evaluated at 1, 3, 7 and 28-day intervals with a scoring system. Immunohistochemical staining was performed using a rabbit anti-dentine matrix protein 1 (DMP-1) polyclonal antibody. Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests was used for statistical analysis, and the level of significance was set at 0.05. This study was approved by the Institutional Ethical Committee of Hokkaido University (# 21-0055) as well as by the committee for laboratory animals and breeding faculty.

**Results:** At day 1, no to mild inflammatory cell infiltration was observed in all the groups except BGM groups which showed mild to moderate inflammatory cell infiltrations. At day 3, mild to moderate inflammatory cell infiltration was observed in BCR, BGM and WPS groups, whereas no to mild and mild to severe inflammatory cell infiltration were observed in the MTA and NC groups, respectively. A thin layer of mineralized tissue formation with a foggy appearance was observed at the exposure area in BCR group. At day 7, mild to moderate inflammatory cell infiltration was observed in all the groups except NC group which showed moderate to severe inflammatory cell infiltration. Significant differences were observed between MTA with NC, and NC with BCR, BGM and WPS groups ( $P<0.05$ ). Partial mineralized tissue formation was observed in all the groups. At day 28, no inflammatory cell infiltration was observed in BCR group, whereas no to mild and mild to moderate inflammatory cell infiltration were observed in the BGM, WPS and MTA, NC groups, respectively. Significant differences were observed between MTA, NC with BCR, BGM, WPS groups ( $P<0.05$ ). Complete mineralized tissue formation was observed in all the groups. A homogenous dentin tubule like structures were observed in the BCR group. Significant differences were observed between NC with BCR, BGM and WPS groups ( $P<0.05$ ). The DMP1 antigen expression was negative at the exposure area in all experimental groups on day 1. Positive staining of DMP1 was observed at the exposure area in all groups, except NC, BGM and WPS groups at day 3. At day 7 and 28, DMP1 antigen expression was positive in all experimental groups, indicating the presence of newly formed mineralized tissue.

**Conclusion:** While all materials achieved complete dentin formation by day 28, BCR demonstrated superior anti-inflammatory properties and dentin tubule-like structures, highlighting its promise for further investigation in pulp capping applications.

## 歯髄血管再生療法 (パルプリバスキラリゼーション) の治癒過程における Axin2 発現細胞および Gli1 発現細胞の局在の変化と硬組織形成への関与

東京歯科大学保存修復学講座

○田代 憲太朗, 五十嵐 章智, 三友 啓介, 村松 敬

### Localization of Axin2<sup>+</sup> cells and Gli1-expressing cells during the healing process of pulp revascularization

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

○TASHIRO Kentaro, IKARASHI Takatoshi, MITOMO Keisuke, MURAMATSU Takashi

#### 【緒言】

根末完成失活歯の根管治療として、従来アペキシフィケーションが行われてきた。しかし、欠点として根管壁の菲薄化、歯根成長の停止が挙げられる。これらを克服した新しい治療法として近年、歯髄血管再生療法 (パルプリバスキラリゼーション) が行われている。我々はこれまでにマウスモデルを作製し、治癒過程の詳細を検討してきた。その結果、根尖部の間葉系幹細胞が根管内へ侵入・増生し、セメント質様硬組織が形成されることを明らかにした (Komada *et al.*, Front Dent Med, 2022)。一方、セメント質の添加や修復象牙質の形成に関与する間葉系幹細胞が Axin2 を発現することが知られている (Xie *et al.*, J Dent Res, 2019)。また、歯周組織の恒常性維持や創傷治癒に関与する根尖部歯根膜の間葉系幹細胞が Gli1 を発現することが知られている (Men *et al.*, Cell, 2020)。しかし、Axin2 や Gli1 を発現する間葉系幹細胞の歯髄血管再生療法後の治癒過程における局在は不明である。そこで本研究では、歯髄血管再生療法後の Axin2 および Gli1 発現細胞を細胞系譜解析にて追跡し、その局在や硬組織形成への関与を明らかに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実施した (承認番号: 222303)。Axin2 および Gli1 発現細胞の細胞系譜解析を行うため、Axin2-CreERT2/flox-stop-flox-Tomato マウスおよび Gli1-CreERT2/flox-stop-flox-Tomato マウスを作出した。生後 4 週でタモキシフェンを腹腔内投与 (0.15mg/g) した。生後 5 週において三種混合麻酔薬を腹腔内注射後、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態顕微鏡下にて 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經由で根尖孔外より出血させ、根管口部まで血餅を形成させた。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, 7 日, 14 日に 4% パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定を行い、上顎骨を採取した。モールス液で 24 時間脱灰後、厚さ 12 $\mu$ m の凍結切片標本を作製し、セメント芽細胞マーカーである抗 osterix 抗体を用いた免疫蛍光染色を行った。また、形態観察のためヘマトキシリン・エオジン染色を行った。観察には共焦点レーザー走査顕微鏡 (LSM880 NLO, Zeiss) および正立顕微鏡 (Axio Imager M2) を使用した。対照群は反対側の上顎左側第一臼歯近心根 (無処置) とした。

#### 【結果および考察】

Axin2 の実験群において、術後 1 時間では根管内に tomato 陽性細胞を認めなかった。術後 7 日では根尖周囲組織への tomato 陽性細胞および osterix 陽性細胞の集積が認められ、一部は tomato 陽性細胞と共陽性であった。術後 14 日では、術後 7 日と比較して tomato 陽性細胞が根管上部へ侵入していた。Osterix 陽性細胞は根管壁に沿って根管内全体に認められ、一部は tomato 陽性細胞と共陽性を示した。Gli1 の実験群において、術後 1 時間では Axin2 同様根管内に tomato 陽性細胞を認めなかった。術後 7 日では根尖周囲組織および根管内への tomato 陽性細胞の侵入を認めた。術後 14 日では根管内全体に tomato 陽性細胞を認め、その一部は osterix 陽性細胞と共陽性であった。

以上の結果から歯髄血管再生療法後、根尖周囲組織の Axin2 および Gli1 発現細胞が根尖孔から根管内へ侵入し、セメント質様硬組織を形成することが示唆された。

(会員外研究者: 東京歯科大学口腔科学研究センター 溝口 利英, 伊藤 慎一郎)

## 要時生成型亜塩素酸イオン水溶液の歯内療法への応用の探索

大阪大学大学院歯学研究科 歯科保存学講座

○島岡 毅, 前歯 葉月, 小野 舜佳, 川西 雄三, 朝日 陽子, 高橋 雄介, 林 美加子

### Application of on-demand aqueous chlorine dioxide solution for root canal treatment

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

○SHIMAOKA Tsuyoshi, MAEZONO Hazuki, ONO Shunka

KAWANISHI Yuzo, ASAHY Yoko, TAKAHASHI Yusuke, HAYASHI Mikako

**【目的】** 根尖性歯周炎は、う蝕に継発し発症する口腔バイオフィルム感染症である。根尖性歯周炎に対して行われる感染根管治療では機械的清掃に加え、薬剤を用いた根管洗浄が重要な役割を果たす。根管洗浄に用いる次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) は、強力な殺菌効果を有する反面、高い細胞傷害性をもつことが問題視されている。そこでわれわれは、抗菌性と生体安全性を併せ持つとされている要時生成型亜塩素酸イオン水溶液 (MA-T: Matching Transformation System™) が NaOCl に替わる新規根管洗浄剤としての可能性に着目した。本研究では、この新規薬剤である MA-T を歯内療法へ応用することを念頭に、複合菌株バイオフィルムおよび感染根管に対する影響と宿主細胞への安全性についての基礎的検討を行うこととした。

#### 【材料及び方法】

**実験 1 プラークを用いて作製した複合菌株バイオフィルムに MA-T が与える影響:** 健康なボランティアより歯肉縁上プラークを採取し、嫌気条件下で 1 週間培養することで複合菌株バイオフィルムを形成させた。その後、滅菌蒸留水、100 - 1000 ppm MA-T、2.5% NaOCl を 1, 15, 30, 60 分間作用後、バイオフィルム中の細菌量を生菌数測定 (n=4)、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) 観察 (n=6) にて評価した。

**実験 2 感染根管に MA-T が及ぼす影響についての検討:** ウシ抜去歯を *Enterococcus faecalis* 培養液に浸漬し感染根管を作製後、実験 1 と同様の薬剤を用いて 1, 5, 15 分間根管洗浄を行った。根管洗浄後に根管内に残存する細菌について、生菌数測定 および CLSM 観察にて評価した (各 n=3)。また、根管洗浄後の根管表面構造を走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いて微細形態学的に観察した。

**実験 3 MA-T の安全性の評価:** ヒト歯根膜線維芽細胞を 5 日間培養し、実験 1, 2 と同様の薬剤を作用させ、細胞の形態観察および ATP 量測定を行い、MA-T が宿主細胞に与える影響について評価した (n=3)。

各実験において得られたデータは、One-way ANOVA および Tukey's HSD post hoc test を用いて統計解析をおこなった ( $\alpha=0.05$ )。

**【結果および考察】** MA-T を歯肉縁上プラーク由来の複合菌株バイオフィルムに作用させることで、生菌数は有意に減少し ( $p<0.05$ )、1000 ppm の MA-T を 60 分間作用させることで、2.5% NaOCl と同等の殺菌効果を認めた。ウシ抜去歯を用いて作製した感染根管においても、MA-T はすべての濃度において 15 分間根管洗浄を行うことで根管内の細菌を対象群 (滅菌蒸留水) に比べて有意に減少させ ( $p<0.05$ )、1000 ppm の MA-T を用いて 15 分間根管洗浄することで、2.5% NaOCl を用いた場合に相当する根管細菌の減少を認めた。SEM 観察では、MA-T を用いた根管洗浄により根管壁に付着しているバイオフィルムが減少し、2.5% NaOCl ではバイオフィルムが完全に除去されていたが、根管象牙質の過脱灰を認めた。これらの結果から MA-T による根管洗浄は NaOCl と比較し殺菌効果を呈するまでにある程度の時間を要するものの、根管内ならびに象牙細管内の生菌数が減少することが明らかとなった。

さらに、各種薬剤を歯根膜細胞に作用させた結果、2.5% NaOCl では細胞が溶解し観察が困難であったが、MA-T では細胞の形態変化を認めず、ATP 量測定においても MA-T は 2.5% NaOCl と比べて高い値を示した ( $p<0.05$ )。本結果より MA-T は 高い細胞傷害性をもつ NaOCl と比較し宿主細胞への影響が少なく、より安全な根管洗浄剤として応用できる可能性が示された。

**【結論】** MA-T は、複合菌株バイオフィルムおよび感染根管内の細菌を抑制し、生体安全性も具備する新たな根管洗浄剤として臨床応用できる可能性が示された。

歯肉縁上プラークを用いた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り承認の上、実施された (承認番号 H30-E25)。本研究は JSPS 科研費 JP22K09998 の助成を受けたものである

## Perlecan による象牙質石灰化制御

<sup>1</sup>東京歯科大学 歯内療法学講座 <sup>2</sup>東京歯科大学 生理学講座  
○中島克真 <sup>1)2)</sup>、黄地健仁 <sup>2)</sup>、木村麻記 <sup>2)</sup>、古澤成博 <sup>1)</sup>、澁川義幸 <sup>2)</sup>

### Regulation of dentin mineralization by perlecan

<sup>1</sup>Department of Endodontics, Tokyo Dental College <sup>2</sup>Department of Physiology, Tokyo Dental College  
○Kazuma Nakajima <sup>1)2)</sup>, Takehito Ouchi <sup>2)</sup>, Maki Kimura <sup>2)</sup>, Masahiro Furusawa <sup>1)</sup>, Yoshiyuki Shibukawa <sup>2)</sup>

#### <目的>

象牙芽細胞は神経堤に由来する象牙質形成細胞で、発生学的な象牙質のみならず、様々な刺激で増加した細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  を、細胞膜  $\text{Ca}^{2+}$  排出機構によって石灰化前線に排出することで反応象牙質を形成する (Tsumura et al., 2010)。近年、象牙芽細胞死を人為的に誘導すると、細胞稠密層で象牙芽細胞様細胞の分化が誘導され、修復象牙質が形成されることが示された (Zhao et al., 2021)。また象牙芽細胞周囲に存在する血管周皮細胞 (Pericyte) は、象牙芽細胞に局所分化することで、修復象牙質を形成することが報告されている (Kaukua et al., 2014)。一方、Pericyte マーカーの NG2 はプロテオグリカンの一種であることから、プロテオグリカンが象牙芽細胞の象牙質石灰化を駆動する因子である可能性が示唆されている。プロテオグリカンの一種であり、基底膜や内エナメル上皮細胞で同定されている perlecan 遺伝子の欠損により生じる Schwartz-Jampel 症候群では、象牙質形成不全が生じると報告されている (Srekanth et al., 2012)。以上のことから、perlecan と象牙質形成には何らかの相互作用があると推察されるが、それに関する詳細な報告は乏しい。そこで本研究では、perlecan による象牙芽細胞の細胞膜  $\text{Ca}^{2+}$  排出の調節機構と、象牙質再生に向けた局所応用の可能性を検討することを目的とした。

#### <方法>

マウス象牙芽細胞系細胞 (odontoblast lineage cells; 以下 OLCs) を 10%ウシ胎仔血清、1%ペニシリン-ストレプトマイシン、1%アムホテリシン B を含む  $\alpha$ MEM 培地で 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 条件下で 24 時間培養した。培養後免疫蛍光染色を行うため、細胞固定、膜透過処理、ブロッキング処理を行い、1 次抗体を反応させた (4 °C、7~8 時間)。その後 2 次抗体を加え、室温暗所で反応させ (1 時間)、蛍光顕微鏡で観察した。また同条件下で OLCs を 24 時間培養後、13 マイクロ M と 50 マイクロ M の perlecan をそれぞれ添加し、7 日間培養した後に免疫蛍光染色を行った。

一方で、15~25 週齢のマウス (C57BL/6J) に perlecan を用いた間接覆髄処置を実施した。実験側のマウス下顎右側第一臼歯を切削後、50 マイクロ M の perlecan を、一方コントロール側の下顎左側第一臼歯には、切削後生理食塩水を貼薬し、両側ともスーパーボンドを用いて仮封した。2 週間経過後、マウス下顎骨を摘出し、マイクロ CT で解析した。その後、固定し脱灰処理を行った。脱灰後、凍結切片を作製し、H-E 染色と免疫蛍光染色を行った。(実験動物承認番号 202301)

#### <結果>

OLCs は Pericyte マーカーの NG2、間葉系幹細胞マーカーの CD44、象牙芽細胞マーカーの DSPP に対しそれぞれ免疫陽性反応を示した。また perlecan の受容体のうち  $\alpha$ -dystroglican は免疫陰性であり、もう一つの受容体である Integrin  $\beta$ 1 (CD29) は免疫陽性を示した。13 マイクロ M perlecan 添加群では、コントロールと比較し、細胞膜  $\text{Ca}^{2+}$  排出に関わるタンパクである NCX1 と PMCA1 の発現量が増加した。50 マイクロ M perlecan 添加群では、NCX1、NCX2、NCX3、PMCA1 の 4 つ全ての発現量が増加した。このことから、Integrin  $\beta$ 1 の下流に何らかの細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  調節機構が存在している可能性が示唆された。次に、生体を用いた間接覆髄処置では、H-E 染色、マイクロ CT で実験側がコントロール側に比べて髄角相当部に修復象牙質の添加が認められた。また、組織凍結切片を用いて実施した免疫蛍光染色では、Integrin  $\beta$ 1 の発現がコントロール側に比べ、実験側で高い免疫陽性を示した。

#### <考察および結論>

Perlecan は歯根形成時に Integrin  $\beta$ 1 を通じて歯乳頭由来細胞を象牙芽細胞に分化させ、歯根象牙質を形成する可能性があり (Ida-Yonemochi et al., 2013)、修復象牙質の添加にも perlecan が関与している可能性がある。本研究から、象牙芽細胞が Integrin  $\beta$ 1 を通じて perlecan を受容した結果、その下流で  $\text{Ca}^{2+}$  排出に関わる NCX1、NCX2、NCX3、PMCA1 に作用し、修復象牙質の添加を調節している可能性が示唆された。



## 低濃度ユージノールシーラーを臼歯根管に充填したラット根尖歯周組織の病理学的観察

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

### Pathological observation of rat periapical tissue with a low concentration eugenol sealer filled in molar root canal

<sup>1</sup> Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo, <sup>2</sup> Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo, <sup>3</sup> The Nippon Dental University  
○NISHIDA Taro<sup>1</sup>, MAEDA Munehiro<sup>1</sup>, KURAJI Ryutarō<sup>2</sup>, HASHIMOTO Shuichi<sup>3</sup>, NUMABE Yukihiko<sup>2</sup> and IGARASHI Masaru<sup>3</sup>

#### 【はじめに】

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、根管充填用シーラーを開発し、ラット上顎臼歯感染根管治療モデルで根尖歯周組織における骨塩量の経時的変化について報告してきた。今回、本シーラーをラット上顎臼歯の根管充填に使用した際の根尖歯周組織の病理学的変化を観察した。本研究は日本歯科大学生命歯学部動物実験委員会の承認（承認番号：20-18）を得て行った。

#### 【材料と方法】

##### 1. 根管充填用シーラーの組成と練和

**低ユージノールシーラー (LES)**: 粉体 2.00 g (酸化亜鉛 0.80 g, ロジン 0.80 g, 硫酸バリウム 0.40 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)。

**酸化亜鉛脂肪酸混和物 (NES)**: 粉体 2.00 g (LES と同様) と液体 1.00 ml (オレイン酸 0.90 ml, イソステアリン酸 0.10 ml)。それぞれ、粉液比 2 : 1 で練和し、根管充填に使用した。

##### 2. 実験動物と感染根管モデルの作製

Wistar 系雄性ラット (7 週齢, 約 230 g) に三種混合麻酔薬で腹腔内麻酔を行った。すべての処置はラバーダム防湿下で行った。上顎左側第一臼歯 (M1) に髓室開拓を行い近心根の根管口を確認後、15-25 番の K ファイル (MANI) を用い抜髄を行った。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封鎖し感染根管モデルとした。

##### 3. 根管処置と根管充填, 標本作成

根管開放から 7 日後に腹腔内麻酔を行い、次亜塩素酸ナトリウム溶液浴下で 15-40 番の K ファイルにより根管形成した。ペーパーポイントで根管を乾燥後、40 番のガッタパーチャポイント (ピヤス) に LES を塗布し、シングルポイント法で根管充填を行い、フロアブルレジンで髓腔を閉鎖した。処置後 14 日間飼育した後、ペントバルビタールで安楽死を実施した (LEF 2 wk)。NES を用い、同様に根管充填を行った (NEF 2 wk)。M1 と周囲硬組織を含む上顎左側顎骨を摘出し、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 時間保管・固定した。また、感染根管モデルをそのまま 14 日間飼育したラットを感染根管の未治療群とした (UST 2 wk)。10 週齢ラットの健常歯を未処置コントロール群 (NR) とした。

##### 4. マイクロ CT 撮影と骨塩量計測

マイクロ CT により管電圧 80 kV, 管電流 200  $\mu$ A, 解像度 24.1  $\mu$ m/voxel の条件で試料と BMD 解析用ファントムの撮影を行った。三次元画像処理ソフトを用いて、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開心領域とし、M1 の歯根周囲 13voxels から歯根膜腔を除いた根尖周囲硬組織を測定範囲とし、骨塩量 (mg/cm<sup>3</sup>, vBMD) と骨密度 (% , BV/TV) を算出した。

##### 5. HE 染色と組織観察

採取した組織は 10%EDTA・2Na 液で脱灰後、パラフィンブロックとし薄切切片に Hematoxylin-Eosin 染色後、光学顕微鏡で観察した。

#### 【結果とまとめ】

1. BMD 計測では NR 2 wk に比べ LEF 2 wk と NEF 2 wk で vBMD と BV/TV の低下を認めた。 2. HE 染色では UST 2 wk に比較し NEF 2 wk 群と LEF 2 wk 群において炎症性細胞の減少がみられた。 3. 根尖病変周囲に接する歯槽骨表面には破骨細胞がみられた。本実験結果から M1 近心根管の根管充填後、2 週間経過時には炎症性細胞が減少している傾向が認められた。今後、詳細な検討を行う予定である。

## ホスファチジルセリン含有リポソームと生体活性ガラスによる骨形成におけるマクロファージの局在

福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野<sup>1</sup>  
福岡歯科大学 生体構造学講座 病態構造学分野<sup>2</sup>, 福岡歯科大学 口腔医学研究センター<sup>3</sup>  
○松本典祥<sup>1</sup>, 吉本尚平<sup>2,3</sup>, 藤政清志朗<sup>1</sup>, 廣瀬陽菜<sup>1</sup>, 金丸慎吾<sup>1</sup>, 松崎英津子<sup>1,3</sup>

### The localization of macrophages in bone formation by phosphatidylserine-containing liposomes and bioactive glasses

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology<sup>1</sup>,  
Section of Pathophysiology, Department of Anatomy<sup>2</sup>, Oral medicine research center<sup>3</sup>,  
Fukuoka Dental College

○Noriyoshi Matsumoto<sup>1</sup>, Syohei Yoshimoto<sup>2,3</sup>, Seishiro Fujimasa<sup>1</sup>,  
Haruna Hirose<sup>1</sup>, Shingo Kanemaru, Etsuko Matsuzaki<sup>1,3</sup>

#### 【目的】

生体活性ガラス(Bioactive Glass : 以下 BAG)は生体内に移植されると自ら活性化し、骨と直接結合して、骨形成を促進する無機イオンを溶出するため、骨再生療法に有効な生体組織修復材として臨床の現場で使用されている。一方、細胞膜リン脂質のホスファチジルセリンを含有するリポソーム(Phosphatidylserine Liposomes : 以下 PSL)は、投与後に PS 受容体を有するマクロファージへの取り込みが増大することにより、ドラッグキャリア機能が発揮される。慢性関節リウマチの動物モデルにおいては、抗炎症作用と破骨細胞分化抑制による骨吸収抑制作用が報告されている。

骨組織における炎症とその治癒過程において、機能が異なる M1 (炎症性) / M2 (抗炎症性) マクロファージの分化とバランスが重要であることはよく知られている。本研究では、ラット頭蓋骨骨欠損窩洞を作製し、PSL と BAG の併用群と BAG 単独群の骨形成過程を比較し、それぞれの治癒ステージにおけるマクロファージの局在を確認することで、マクロファージを介した骨形成メカニズムの一端が解明できるのではないかと考え、組織学的な解析を行った。

#### 【材料および方法】

実験には 10 週齢雌性 Wistar 系ラットを用い、頭蓋骨に直径 5 mm の穿通性の骨欠損窩洞を作製した。その後、骨欠損窩洞に、①PSL・BAG 併用群、②BAG 単独群、③骨欠損部に何も埋入しない対照群、3 種類のモデルを作製した。処置後 2, 4, 8 週間後に標本を採取し、HE 染色および ED1 免疫染色(Mouse Anti Rat CD68)による組織学的解析を行った(福岡歯科大学動物実験承認番号 : 21015)

#### 【結果】

HE 染色像において、対照群では 8 週目に至るまで、窩洞内に骨様硬組織の形成は認められなかった。一方、BAG 単独群では 2 週目から、主に BAG 粒子周辺に骨様硬組織の形成を認め、4 週目にはその傾向が顕著になった。8 週目には窩洞内に新生骨の形成が認められた。PSL・BAG 併用群においても、同様に 2 週目から BAG 粒子の周辺に骨様硬組織の形成が認められたが、2 週目、4 週目では、BAG 単独群と比較して、その形成量は少なく、形成された骨様硬組織は島状であり、BAG 粒子周辺は肉芽組織に被覆されていた。しかしながら、8 週目には窩洞に新生骨が形成されており、BAG 群と比較して厚く、緻密な骨組織が観察された。

ED1 免疫染色像において、BAG 単独群では 2 週目に、形成された骨様硬組織や BAG 粒子周辺に多核の ED1 陽性細胞が多数観察されたが、4 週目では減少傾向を認めた。PSL・BAG 併用群では 2 週目に BAG 群と同様に、形成された骨様硬組織や BAG 粒子周辺で多核の ED1 陽性細胞が数多く観察され、4 週目でも同様の数多くの ED1 陽性細胞が観察された。

#### 【考察】

BAG 単独群と PSL・BAG 併用群では 2 週目から BAG 粒子周辺に骨様硬組織形成がみられはじめ、両群の間に大きな差は認めなかった。しかしながら 8 週目では BAG・PSL 併用群のほうが BAG 単独群よりも厚く緻密な骨が形成されていた。

PSL は破骨細胞前駆細胞に取り込まれた後、Transforming growth factor- $\beta$  1 (TGF- $\beta$  1)ならびに Prostaglandin E2 (PGE2) の産生分泌を誘導し、破骨細胞への成熟に必要な因子 (RANKL ならびに RANK) の発現を抑制することが報告されている。これらのことから、PSL・BAG 併用群では、PSL により、初期のマクロファージの分極に差異が生じ、このことが骨形成の過程に関与した可能性が推察された。現在、免疫組織染色を行い、M1 および M2 マクロファージの局在の確認を検討中である。

## ヒト歯根膜由来細胞に対する新規バイオセラミックスの細胞親和性の検討

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  
○阿嘉明日香, 松裏貴史, 吉村篤利

### Evaluation of cytocompatibility of novel bioceramics with human periodontal ligament-derived cells

Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University Graduate School  
of Biomedical Sciences, Nagasaki, Japan  
○Asuka Aka, Takashi Matsuura, Atsutoshi Yoshimura

【背景】近年, ProRoot MTA よりも操作性や封鎖性が優れているとされる MTA や, 生体活性ガラスを含有したバイオセラミックスなど, 様々な新しい歯内療法用材料が開発され, 臨床に応用されている. しかし, これらの製品は開発されてから日が浅いものが多く, その安全性や有効性に関する研究は十分とは言えない. そこで今回我々は, ProRoot MTA (以下 P), MTA アンジェラス HP (以下 HP), MTA Flow White (以下 F), ニシカキャナルシーラー-BG Multi (以下 N), Bio-C Repair (以下 BR) の 5 種類のバイオセラミックス, およびスーパーボンド (以下 SB) の計 6 種類の歯科用材料の, ヒト歯根膜由来細胞(以下 hPDLcs)に対する細胞親和性を評価することを目的として実験を行った.

【方法】本研究は, 長崎大学病院臨床研究倫理委員会の承認を得て実施した(許可番号: 22022113, 21111512). P, HP, F, N, BR, SB の 6 種類の材料を, それぞれメーカーの取扱説明書に従って準備し, 内径 8mm, 厚さ 1mm の型に填入し, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> インキュベーター内に 48 時間静置して硬化させることによってディスクを作製した (n = 10). また, 長崎大学病院で抜歯された抜去歯のうち, 歯周炎もしくは智歯周囲炎を認めない小臼歯および第三大臼歯の歯根中央部 1/3 からメスを用いて hPDLcs を採取し, 10% FBS 含有 DMEM 培地中で 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下で培養後, 3~5 代継代したものを実験に使用した. 作製したディスクを 48 ウェルプレートの底面に静置し, その上に hPDLcs を, 100,000cells/well の密度で播種し, 10% FBS 含有 DMEM 培地中で培養し, 7 日目および 28 日目に, MTT Cell Proliferation Assay Kit を用いて細胞代謝活性試験を行った. ディスクを静置せず hPDLcs のみで培養したものをネガティブコントロールとした (以下 NC). 培養 7 日目と 28 日目に吸光度を測定し, 有意差の検定に, 対応のある t 検定を用いた ( $\alpha = 0.05$ ).

【結果】培養 7 日目の吸光度[平均値 (標準偏差)]は, P 群が 1.33 (0.37), HP 群が 1.34 (0.33), F 群が 0.02 (0.02), N 群が 0.38 (0.20), BR 群が 0.66 (0.50), SB 群が 1.10 (0.30), NC 群が 1.39 (0.34) であった. また, 培養 28 日目の吸光度[平均値 (標準偏差)]は, P 群が 1.21 (0.41), HP 群が 2.87 (0.35), F 群が 0.23 (0.67), N 群が 1.58 (0.81), BR 群が 1.91 (1.34), SB 群が 2.42 (0.35), NC 群が 2.64 (0.32) であった. 培養 7 日目の吸光度は, F 群 < N 群 < BR 群 < SB 群 < P 群 < HP 群 < NC 群の順となり, 培養 28 日目の吸光度は, F 群 < P 群 < N 群 < BR 群 < SB 群 < NC 群 < HP 群の順となった. また, HP 群, N 群, BR 群, SB 群および NC 群では, 培養 7 日目と比較して 28 日目において有意に吸光度の上昇を認めたものの, P 群および F 群では有意差を認めなかった.

【考察】多くの先行研究では, 培養開始後 7 日以内に解析を行っている. しかし本研究では, より長期の細胞親和性を評価したいと考え, 28 日目まで培養を行った. 実験の結果, HP 群および SB 群は, 培養 7 日目, 28 日目ともに NC 群と同程度の細胞代謝活性を示し, 良好な細胞親和性をもつことがわかった. 次に, BR 群および N 群では, 培養 7 日目においては HP 群や SB 群と比較して吸光度が低い結果となったものの, 培養 28 日目において, HP 群および SB 群と同様に有意な吸光度の増加を認めた. このことは, 長期間培養している間にディスクから溶出する造影剤粒子や各種イオンが細胞代謝に対して悪影響を及ぼさず, 細胞親和性が良いことを示していると考えられる. 一方 P 群は, 培養 7 日目と比較して 28 日目において吸光度が減少しており, hPDLcs の細胞代謝が抑制される結果となった. これは, 混和後 28 日目の ProRoot MTA は細胞親和性が低下するという先行研究の結果と一致している. 最後に F 群では, hPDLcs の著しい代謝抑制を認めた. MTA Flow White に含有される造影剤である酸化タンタルには細胞毒性に関する報告があるため, 今後バイオセラミックスに使用される各造影剤の細胞親和性への影響に関する研究を計画している.

## Lipopolysaccharide 存在下で高 pH 環境誘導歯科剤 (材) 品が ヒト歯根膜線維芽細胞に与える影響

<sup>1</sup>東京歯科大学 歯内療法学講座, <sup>2</sup>丸紅健康保険組合丸紅東京診療所歯科  
○岩澤 弘樹<sup>1</sup>, 佐古 亮<sup>1</sup>, 倉持 仁<sup>1</sup>, 関矢 日向子<sup>1</sup>, 中里(原田) 晴香<sup>1</sup>, 鈴木(石束) 穂<sup>1</sup>,  
浅井 知宏<sup>2</sup>, 古澤 成博<sup>1</sup>

### Effect of high-pH environment-inducing agents on human periodontal ligament fibroblasts under lipopolysaccharide existence

<sup>1</sup>Department of Endodontics, Tokyo Dental College,  
<sup>2</sup>Marubeni Tokyo Dental Clinic, Health Insurance Association of Marubeni Corporation  
○IWASAWA Hiroki<sup>1</sup>, SAKO Ryo<sup>1</sup>, KURAMOCHI Jin<sup>1</sup>, SEKIYA Hinako<sup>1</sup>,  
NAKAZATO (HARADA) Haruka<sup>1</sup>, SUZUKI (ISHIZUKA) Megumi<sup>1</sup>, ASAI Tomohiro<sup>2</sup>, FURUSAWA Masahiro<sup>1</sup>

#### 【目的】

齶蝕などから生じる根尖性歯周炎を有する根管や、根尖部に生じた膿瘍などからは、多種の細菌が検出される。とりわけ、グラム陰性菌の細胞壁外膜には Lipopolysaccharide (以下 LPS) が存在し、根尖性歯周炎の難治化につながると考えられている。現在、一般的な感染根管治療に用いられている水酸化カルシウム製剤は、高 pH 環境を誘導することで硬組織形成誘導効果を示すとともに、LPS を減弱させることが報告されている。根尖性歯周炎の病変と接する歯根膜には線維芽細胞が存在し、コラーゲン形成と高い ALP 活性を有することが知られている。しかしながら、誘導された pH 環境の変化に伴う LPS の減弱が、歯根膜線維芽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歯根膜線維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 環境誘導歯科材料として、カルビタール (以下 CV : ネオ製薬)、カルシベックスプレーン II (以下 Cal 群 : 日本歯科薬品)、ピタベックス (以下 Vit 群 : ネオ製薬)、ProRoot MTA (以下 MTA 群 : デンツプライシロナ) を用いた。なお、CV はレンツロを用いて貼薬するやわらかい稠度の群 (以下 CV-L 群) と、ブラガーなどで填塞して貼薬する硬い稠度の群 (以下 CV-P 群) の 2 種類で実験を行った。

実験には ScienCell 社のヒト歯根膜線維芽細胞 (以下 HPLF) を用いて、専用の基本培地 (以下 FM) で培養した。培地に  $\beta$ -グリセロリン酸とアスコルビン酸を添加したものを硬組織分化培地 (以下 MM) とした。さらに、*E.coli* 由来の LPS (Sigma) を 1,000 ng/mL とするよう MM に添加した。HPLF を 12-well plate に播種し、FM でコンフルエントになるまで培養した。3 日後に LPS を添加した MM へと培地を交換し、各材料を一層填入したトランスウェルインサート (ポアサイズ 1.0  $\mu\text{m}$  : Greiner) をそれぞれのウェルへ静置した (n=3)。なお、MM のみで培養したものを MM 群、MM に LPS を添加したものを LPS 群とした。

高 pH 環境誘導歯科材料の HPLF への作用を評価するために Ca assay、ALP assay、Alizarin Red S (ARS) 染色を行った。実験開始から 7 日目に、細胞外・細胞内のカルシウムイオン量の測定、BCA assay によるタンパク質量、ALP 活性を測定した。さらに、実験開始から 21 日目の石灰化能を評価した。

#### 【結果および考察】

細胞外カルシウムイオン濃度を測定したところ、MM 群は LPS 群との間に有意差はなかったが、CV-L 群、CV-P 群、Cal 群、Vit 群、MTA 群の各群と比較した際にカルシウムイオン濃度が有意に上昇していた。細胞内カルシウムイオン濃度測定では、全ての群間に有意差は認めなかったものの、Cal 群以外の高 pH 環境誘導歯科剤 (材) 品で細胞内カルシウムイオン濃度の上昇がみられた。ALP 活性を測定したところ、LPS 群、Cal 群、MTA 群に比較して、CV-P 群で有意な上昇を認めた。一方、ARS 染色では CV-L 群で広範囲に赤色素の沈着を認め、次いで CV-P 群、MTA 群でも染色を認めた。

我々は、先の第 157、158 回 本学会学術大会において、CV-P 群が粉末成分の高い水酸化カルシウム含有量によって高 pH 環境を誘導しやすいこと、ならびにヒト骨芽細胞に作用させた場合においても、ALP 活性の上昇や ARS 染色で高い染色性が示す硬組織形成の高さを報告した。今回用いた HPLF においても、以前と同様の結果が得られた。HPLF にはカルシウムイオンチャネルが存在することが報告されていることから、高 pH 環境誘導歯科剤 (材) 品から溶出したカルシウムイオンが細胞内に取り込まれ、硬組織形成能が促進された可能性が示唆された。

## 低出力近赤外線レーザー照射が象牙芽細胞様細胞の増殖と分化に及ぼす影響

北海道医療大学 歯学部 口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野

○蔡 期勛, 蔡 欣侑, 斎藤 隆史

### Effects of low-level near-infrared laser irradiation on the proliferation and differentiation of rat odontoblast-like cells in vitro

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

○Chihsun Tsai, Hsinyu Tsai, Takashi Saito

#### 【目的】

近年、歯科治療において低出力近赤外線レーザーの応用範囲が広がっており、生体組織における Photobiomodulation (光生体調節作用) によって組織の修復を促進することが知られている。これまでの研究で、Nd:YAG レーザー、Er:YAG レーザーの低出力照射により、骨芽細胞、間葉系幹細胞などの増殖、石灰化が促進されることが報告されている。本研究では、新しい象牙質再生技術を開発することを目的に、低出力近赤外線レーザー (Nd:YAG レーザー、Er:YAG レーザー) 照射によるラット象牙芽細胞様細胞の細胞増殖、分化、および石灰化への影響を検討することである。

#### 【材料および方法】

ラット象牙芽細胞様細胞 (MDPC-23) を 5%FBS 添加 DMEM 中で培養した。培養細胞に対して Nd:YAG レーザー (波長 1064 nm、Inpulse、インサイプジャパン) と Er:YAG レーザー (波長 2940 nm、Erwin AdvErL EVO、MORITA) を用いて 10Hz、および 60、80、100、120mJ でそれぞれ 0、2、5、10、15 秒間照射した。照射は、ファイバーチップをプレート底面に垂直に 5 mm 離して行った。両レーザー照射群間での細胞増殖、分化、石灰化に関して比較検討した。細胞増殖への影響について CCK-8 (Dojindo) を用いて評価した。また、培養 6 日目に骨・象牙質の石灰化に關与する ALPase 活性を測定することにより分化能への影響を評価した。LightCycler 96 System を用いた real time RT-PCR 法により象牙質形成関連遺伝子である DMP-1 (Dentin Matrix Protein-1) と DSPP (Dentin Sialoposphoprotein) の mRNA 発現を評価した。さらに、同条件下で石灰化誘導培地にて培養した MDPC-23 細胞にレーザー照射を行い、アリザリンレッド S 染色を行って石灰化を定量化した。統計処理は One-way ANOVA と Tukey HSD により行った ( $p < 0.05$ )。

#### 【結果および考察】

80mJ, 10Hz の照射条件下で、Er:YAG レーザー照射群および Nd:YAG レーザー照射群における細胞増が促進された。また、2 秒以上の Er:YAG レーザー照射および 10 秒以上の Nd:YAG レーザー照射によって細胞分化能が促進された。Real time RT-PCR 法による分析では、Er:YAG レーザー 10 秒、15 秒照射群で DMP-1 mRNA, DSPP mRNA 発現が増進された。Nd:YAG レーザー 15 秒照射により DSPP mRNA 発現が増進された。さらに、Er:YAG レーザーと比べ Nd:YAG レーザー 10 秒、15 秒照射群での石灰化誘導は促進された。以上の結果から、象牙芽細胞様細胞に低出力近赤外線レーザー照射を行うことにより、細胞増殖、分化および石灰化誘導が促進され、その作用はレーザーおよび照射条件により異なることが明らかとなった。

#### 【結論】

本研究結果から、象牙芽細胞様細胞に低出力近赤外線レーザー照射を行うことによって細胞増殖、分化および石灰化誘導が促進されることが明らかとなり、低出力近赤外線レーザー照射による象牙質再生の可能性が示唆された。今後、Nd:YAG レーザーおよび Er:YAG レーザーの Photobiomodulation 至適照射条件およびそのメカニズムの詳細な分析を行う予定である。

## PLD1 欠損が Neutrophil extracellular traps (NETs) 産生に及ぼす影響

<sup>1</sup>九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

<sup>2</sup>九州大学生体防御医学研究所免疫遺伝学分野

○相原良亮<sup>1</sup>, 宇留野武人<sup>2</sup>, 北村知昭<sup>1</sup>

### Effects of PLD1 deficiency on Neutrophil extracellular traps (NETs) production

<sup>1</sup> Division of Endodontics and Restorative Dentistry,  
Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

<sup>2</sup> Division of Immunogenetics, Department of Immunobiology and Neuroscience,  
Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

○AIHARA Ryosuke<sup>1</sup>, URUNO Takehito<sup>2</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

#### 【目的】

外来物質が体内に侵入してきた際、好中球は外来物質を貪食し、貪食した小胞内に活性酸素を産生するなどして排除する。Neutrophil extracellular traps (NETs) は一般的な外来物質排除機構とは別の微生物捕獲・殺菌機構として 2004 年に初めて報告され、DNA に好中球エステラーゼ、ミエロペルオキシダーゼ、カタレプシン G、ヒストンなどが付着した網状の構造物を細胞外に放出することで、細胞外での微生物の不動化と殺菌を可能にしている。しかしながら、NETs 産生により血管内の血栓形成が促進されることが報告されており、微生物の拡散を防ぐとともに虚血性臓器障害を引き起こすリスクを伴うことから NETs 放出には負の側面があるとも考えられている。NETs による感染防御は口腔内でも行われており、特に歯周病原細菌と NETs の関係について数多くの報告がある。しかしながら、未だ NETs について不明な点は多く、詳細なメカニズムは解明されていない。PLD1 はホスファチジン酸 (PA) 産生を促すホスホリパーゼ D ファミリー (PLD) の 1 つである。PA は好中球のアクチン重合を引き起こし、仮足形成を促すことで好中球の細胞運動を引き起こすことが報告されている。本研究では、PLD1 を欠損した好中球で NETs 産生が障害されるという新知見を基盤として、PLD1 と NETs 産生の間にある詳細なメカニズムを解明することを最終目的としている。

#### 【材料と方法】

8~11 週齢の PLD1 欠損マウスと野生型マウスの大腿骨髄から好中球を採取し、PMA で刺激後の活性酸素 (ROS) と NETs の産生を比較した。また、野生型の好中球に PLD 阻害剤を添加し、PMA で刺激した場合と PLD1 欠損好中球に PA で刺激した場合のそれぞれで ROS と NETs 産生を解析した。次に、8~11 週齢の PLD1 欠損マウスと野生型マウスの肺に気管から LPS を注入し、24 時間後に肺での ROS の産生を比較した。また、上記の 2 種類のマウスを開腹した後に下大静脈を絹糸にて縛り、2 日後に屠殺して血栓を回収して長さや重さを比較した。(動物実験承認番号、九州大学生体防御医学研究所: A24-093-0)

#### 【結果】

PLD1 を欠損した好中球では ROS および NETs の産生がほとんど見られなかった。同様に野生型の好中球に PLD 阻害剤を添加した状態で PMA 刺激を行うと、同様に ROS および NETs 産生の障害が見られた。しかしながら PLD1 欠損好中球に PA 刺激を行うと ROS と NETs 産生の回復が見られた。in vivo 実験系では、肺での ROS 産生は in vitro 実験系の結果と同じように、PLD1 欠損マウスでは LPS 刺激を行っても ROS の産生が認められなかった。また、血栓症のモデルにおいて、野生型マウスでは 2~7 mm 程度の血栓が認められたのに対し、PLD1 欠損マウスでは血栓が生じない事例が多く観察された。

#### 【考察】

PLD1 を欠損すると PA の産生が障害されることで ROS の産生が減少し、その結果 NETs の産生が抑制されることが示唆された。以上の結果は、NETs の産生が障害される PLD1 欠損マウスでは血栓が生じにくいことを示唆している。

#### 【結論】

PLD1 欠損は NETs 産生を抑制することで、血栓形成障害など全身に様々な影響を及ぼす。

## エトポシドによる老化誘導がヒト歯髄細胞の石灰化に及ぼす影響

<sup>1</sup>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、<sup>2</sup>九州大学病院 歯内治療科、  
○<sup>1</sup> 虎谷溪、<sup>1</sup>糸山知宏、<sup>1</sup>門脇正敬、<sup>1,2</sup>前田英史

### The effects of etoposide-induced senescence on calcification of human dental pulp cells.

<sup>1</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, <sup>2</sup>Department of Endodontics, Kyushu University Hospital

○<sup>1</sup> KEI. TORAYA, <sup>2</sup>TOMOHIRO ITOYAMA, <sup>1</sup>MASATAKA KADOWAKI, <sup>1,2</sup>HIDEFUMI MAEDA

【背景および目的】 象牙質・歯髄複合体の老化によって、ミネラル沈着による象牙細管の閉鎖、象牙質の厚みの増加といった変化が起こり、その結果、破折抵抗性が低下すると考えられている。その原因として、象牙芽細胞や歯髄細胞の細胞老化が考えられるが、これらの細胞の老化と石灰化の亢進の関連について調べた報告はほとんどない。当研究室では、複製老化した歯髄細胞は、Senescence-Associated Secretary Phenotype (SASP) の一種である Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 存在下で、象牙芽細胞様分化が亢進することを報告した (Nozu et al., 2018)。しかしながら、このメカニズムは明らかではない。これを解明するためには、老化歯髄細胞が必要であるが、複製老化したヒト歯髄細胞を得るには、6 ヶ月以上の長期培養が必要で効率性に欠ける。そこで私たちは、エトポシドの老化誘導作用に着目した。エトポシドは、DNAトポイソメラーゼ阻害薬でDNAの複製を阻害し、高濃度ではアポトーシスを、低濃度では細胞老化を惹起することがヒト線維芽細胞で報告されており (Robles et al., 1999)、マウス胚線維芽細胞やヒト肝細胞の細胞老化の研究に用いられている (Yang et al., 2017, Bonnet et al., 2022)。私たちは、エトポシドを用いて歯髄細胞の老化が石灰化を引き起こすメカニズムを明らかにすることを目的とし、本研究ではまず、エトポシドによる老化誘導が歯髄細胞の石灰化に及ぼす影響を検討した。

【材料および方法】 矯正治療のため抜歯を目的に九州大学病院顔面口腔外科を受診し、本研究への同意が得られた患者より採取した細胞をヒト歯髄細胞 (16 歳女性、左側上顎第一小臼歯) として以下の解析に用いた。(九州大学医系学部・病院 観察研究倫理審査委員会 承認番号: 2021-151)

#### (1) エトポシドによるヒト歯髄細胞の細胞老化誘導

エトポシド(5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 20  $\mu$ M)存在下でヒト歯髄細胞を 24 時間刺激し、刺激後 0 日および 2 日後にヒト歯髄細胞の老化関連因子(*p16*, *p21*, *p53*)および SASP 因子(*TNF- $\alpha$* , *IL-1 $\beta$* )の遺伝子発現を定量的 PCR 法を用いて評価し、細胞老化を誘導する試適濃度ならびに期間を検討した。さらに、この結果に基づいた培養条件下で、細胞老化を確認するために Senescence-Associated beta-galactosidase (SA- $\beta$ -gal) の発現を SA- $\beta$ -gal 染色キット(Cell Signaling Technology) を用いて検討した。

#### (2) エトポシドによるヒト歯髄細胞の石灰化誘導能

試適濃度のエトポシド存在下でヒト歯髄細胞を 24 時間培養し、刺激後 0 日および刺激後 2 日間培養した後に石灰化誘導培地 (1 mM CaCl<sub>2</sub>含有 10%FBS/ $\alpha$ MEM) にて 10 日間培養した。ヒト歯髄細胞における石灰化について、Alizarin-red S 染色法にて検討した。

【結果および考察】 エトポシド刺激群は、無刺激群と比較して、老化関連因子および SASP 因子の遺伝子発現が有意に上昇した。特にエトポシド 10  $\mu$ M は、他の濃度に比べ老化関連因子および SASP 因子の上昇が顕著であった。またエトポシド 10  $\mu$ M 刺激後 0 日群と刺激後 2 日間培養した群とで比較した結果、刺激後 2 日間培養した群が、老化関連因子および SASP 因子の遺伝子発現が上昇し、SA- $\beta$ -gal 陽性反応が強かった。以上の結果から、エトポシドは 10  $\mu$ M の濃度で、ヒト歯髄細胞を細胞老化に誘導することが示唆された。また、エトポシド刺激から培養期間を設けることで、細胞老化がより進むことが示唆された。

エトポシド 10  $\mu$ M 刺激後 0 日群と 2 日間培養した群とを石灰化誘導培地で培養した結果、無刺激群と比較してエトポシド添加群の方が、アリザリンレッド陽性領域の増加を認めた。また、エトポシド 10  $\mu$ M 刺激後 0 日群と刺激後 2 日間培養した群とで比較した結果、刺激後 2 日間培養した群の方が、アリザリンレッド陽性領域の増加を認めた。以上のことから、ヒト歯髄細胞は細胞老化が進むにつれて石灰化が亢進することが示唆された。

***Pseudoramibacter alactolyticus* は歯根肉芽腫に潜伏感染した Epstein-Barr ウイルスを再活性化する**

日本大学歯学部歯科保存学第II講座<sup>1</sup>, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門<sup>2</sup>

○宮田泰伎<sup>1</sup>, 武智小桃<sup>1</sup>, 山中香音<sup>1</sup>, 安川拓也<sup>1,2</sup>, 鈴木裕介<sup>1,2</sup>, 勝呂尚<sup>1,2</sup>, 武市 収<sup>1,2</sup>

***Pseudoramibacter alactolyticus* reactivates Epstein-Barr virus latently infected with periapical granuloma**

Department of Endodontics<sup>1</sup>, Division of Advanced Dental Treatment<sup>2</sup>, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○Taiki Miyata<sup>1</sup>, Komomo Takechi<sup>1</sup>, Kao Yamanaka<sup>1</sup>, Takuya Yasukawa<sup>1,2</sup>, Yusuke Suzuki<sup>1,2</sup>, Hisashi Suguro<sup>1,2</sup>, Osamu Takeichi<sup>1,2</sup>

【背景および目的】

当講座では、Epstein-Barr ウイルス (EBV) が歯根肉芽腫組織に浸潤した B 細胞に感染していることや潜伏感染した EBV が根尖性歯周炎関連細菌である *Fusobacterium nucleatum* の代謝産物である酪酸によって再活性化することなどを明らかにしてきた。また演者らは、再活性化した EBV が BZLF-1 遺伝子、骨吸収を誘導する炎症性サイトカイン (IL-1β および 6) および破骨細胞の分化誘導に関与する RANKL の発現を誘導する可能性について本学会学術大会で報告した。そこで本研究では、根尖性歯周炎の病変部に潜伏感染した EBV が再活性化し、根尖病変の発症や遷延に関与する可能性を明らかにすることを目的とし、以下の研究を実施した。すなわち、根尖性歯周炎関連細菌である *Pseudoramibacter alactolyticus* が EBV を再活性化する可能性について検討するとともに、再活性化した EBV がサイトカイン発現を誘導する可能性について検討することとした。なお、本研究は日本大学歯学部倫理委員会の承認 (倫許 EP21D012) に基づいて実施された。

【材料および方法】

1. 供試試料の採取：口腔内診査およびエックス線検査に基づき、慢性根尖性歯周炎と診断された患者のうち、根尖切除法または抜歯が適応とされた患者から摘出された根尖病変を供試した。また、水平埋伏智歯の抜去時に採取した健全歯肉組織をコントロールとして用いた。採取した組織は速やかに三分割し、一方は 10%中性緩衝ホルマリンを用いて 24 時間固定後、パラフィン切片を作製した。残りの試料は OCT-compound (Tissue-TEK) に包埋し、液体窒素を用いて凍結した。全ての試料に対してヘマトキシリン・エオジン染色を行い歯根肉芽腫と病理診断した組織を本研究に用いた。
2. EBV DNA の定量的検出：凍結標本の一方を DNA 抽出、もう一方を RNA 抽出に使用し、Real-time PCR 法を用いて EBV DNA および各サイトカインの遺伝子発現量を検索した。これらの結果をピアソンの相関係数を用いて統計分析を行い、有意水準 0.05 にて相関性の検討を行った。
3. 酪酸値の測定：*P. alactolyticus* を嫌気条件で培養し、上清を抽出した。その後、高速液体クロマトグラフィーを用いて酪酸値を測定した。
4. ルシフェラーゼアッセイ：BZLF-1-Luc プラスミドが組み込まれた EBV 感染 B 細胞である B95-8-221 luc 細胞を用いて、*P. alactolyticus* 培養上清または市販の酪酸を 24 時間添加した後、ルシフェラーゼアッセイにより BZLF-1 活性を検索した。これらの結果を Steel test を用いて有意水準 0.05 にて統計学的検討を行った。

【結果】

1. 歯根肉芽腫中の EBV DNA コピー数は、健全歯肉中のものと比較して有意に多かった。
2. 歯根肉芽腫中の EBV DNA コピー数と IL-1β, IL-6 または RANKL の遺伝子発現量に正の相関性を認めた。
3. ルシフェラーゼアッセイの結果、コントロール (無刺激 EBV 感染 B 細胞) と比較し、*P. alactolyticus* の培養上清または市販の酪酸を添加した方が、有意なルシフェラーゼ活性を認めた。

【考察】

EBV DNA のコピー数と IL-1β, IL-6 または RANKL の発現量に有意な相関性が認められた。また、歯根肉芽腫中に感染した *P. alactolyticus* が酪酸を産生し、BZLF-1 発現を誘導する可能性が示された。すなわち、*P. alactolyticus* は歯根肉芽腫に潜伏感染した EBV を再活性化し、IL-1β, IL-6 または RANKL の産生を誘発する可能性が示唆された。



## 過酢酸系除菌剤の口腔内病原性細菌・歯周組織関連細胞に対する 根管洗浄剤としての評価

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野<sup>1</sup>

九州歯科大学健康増進学講座感染分子生物学分野<sup>2</sup>

○高見梨華子<sup>1,2</sup>, 鷲尾絢子<sup>1</sup>, 山崎亮太<sup>2</sup>, 有吉 渉<sup>2</sup>, 北村知昭<sup>1</sup>

### Evaluation of Peracetic Acid Disinfectant as Root Canal Cleaning Agent on Pathogenic Bacteria in Oral Cavity and Periodontal Tissue-Related Cells

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions<sup>1</sup>,

Division of Infections and Molecular Biology, Department of Health Promotion<sup>2</sup>,

Kyushu Dental University

○TAKAMI Rikako<sup>1,2</sup>, WASHIO Ayako<sup>1</sup>, YAMASAKI Ryota<sup>2</sup>, ARIYOSHI Wataru<sup>2</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

#### 【目的】

根管洗浄で使用される次亜塩素酸ナトリウム水溶液は殺菌効果がある一方、軟組織への組織為害性が問題として挙げられる。そのため、殺菌効果を有しつつ、より組織為害性の低い洗浄剤による根管洗浄方法の確立が必要である。そこで、医療機器等の殺菌・微生物制御などに用いられ、微生物への作用後は残留毒性・組織為害性が極めて低いといわれている過酢酸系除菌剤 (actril、MEDIVATORS)に着目した。本研究では、actrilの口腔内病原性細菌に対する有効性と歯周組織関連細胞に対する為害性を検討することを目的とする。

#### 【材料と方法】

＜方法 1＞口腔内病原性細菌に対する洗浄剤の有効性を検討するために、*Streptococcus mutans*、*Porphyromonas gingivalis*、及び *Enterococcus faecalis* に actril、あるいは次亜塩素酸ナトリウム水溶液（歯科用アンチホルミン、日本歯科薬品）を連続 2 倍希釈して作用させ、最小発育阻止濃度（MIC）、最小致死濃度（MBC）、バイオフィーム形成抑制濃度（MBIC）を測定した。

＜方法 2＞歯周組織関連細胞に対する洗浄剤の為害性を検討するために、マウス由来歯肉上皮細胞である GE-1 細胞とヒト歯根膜細胞である HPLF 細胞に対して actril、あるいは歯科用アンチホルミンを連続 2 倍希釈したものを作用させ、CCK-8 試験により細胞生存に対する影響を検討した。

#### 【結果】

＜結果 1＞*S. mutans* に対する actril の MIC、MBC、MBIC は actril 原液の 1.56% で、歯科用アンチホルミンの MIC、MBC、MBIC は歯科用アンチホルミン原液の 6.25% であった。*P. gingivalis* に対する actril の MIC、MBC、MBIC は actril 原液の 0.39% で、歯科用アンチホルミンの MIC、MBIC は歯科用アンチホルミン原液の 0.39%、MBC は 0.78% であった。*E. faecalis* に対する actril の MIC、MBIC は actril 原液の 0.78%、MBC は actril 原液の 1.56% で、歯科用アンチホルミンの MIC、MBIC は歯科用アンチホルミン原液の 3.13%、MBC は歯科用アンチホルミン原液の 6.25% であった。

＜結果 2＞GE-1 細胞に対して CCK-8 試験を行った結果、actril は原液の 12.5% 以上の濃度で、歯科用アンチホルミンは原液の 3.13% 以上の濃度で細胞生存が有意に低下した。また、HPLF 細胞に対して CCK-8 試験を行った結果、actril は原液の 3.13% 以上の濃度で、歯科用アンチホルミンは原液の 0.2% 以上の濃度で細胞生存が有意に低下した。

#### 【考察】

口腔病原性細菌に対して殺菌効果を示す濃度のうち、actril は GE-1 細胞、及び HPLF 細胞に対して細胞毒性が低い一方、歯科用アンチホルミンは細胞毒性が高いことが示唆された。

#### 【結論】

actril は口腔病原性細菌に効果があり、かつ細胞毒性が低い濃度で使用することにより、根管洗浄剤としての有用性が期待される。

## Development and Validation of Oral Health-Related Quality of Life Scale for Patients Undergoing Endodontic Treatment (OHQE) for Irreversible Pulpitis

<sup>1</sup>Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Shimane University Faculty of Medicine, Izumo, Japan

<sup>2</sup>Department of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia

○Fadil Abdillah Arifin<sup>1,2</sup>, Yuhei Matsuda<sup>1</sup>, Takahiro Kanno<sup>1</sup>

### [Introduction and Objective]

Endodontic treatment is becoming increasingly common owing to patients' desire to retain their natural teeth and their growing understanding of the advantages of retaining natural teeth. Untreated dental caries can impact the patient's quality of life (QoL) and psychosocial environment in addition to the mastication function, speech, facial expressions, and psychosocial environment. An oral health-related quality of life (OHRQoL) measure specific to patients undergoing endodontic treatment has not been developed. This study aimed to develop and validate the OHRQoL scale for patients undergoing endodontic treatment (OHQE) for irreversible pulpitis, comprised of 42 questions.

### [Materials and Methods]

Focus groups with dentists, dental hygienists, and patients were conducted to formulate 89 questions on irreversible pulpitis, endodontics, and QoL. Experts conducted a screening procedure to identify 42 OHQE items suitable for this study. A total of 359 patients were referred to the Hasanuddin University Dental Hospital in Makassar, Indonesia, for endodontic treatment between August 2022 and February 2023. After screening and dropping-out patients due to discontinued treatment, 131 patients were enrolled in this study. Sixty-two patients with irreversible pulpitis, comprising 23 (37.1%) males and 39 (62.9%) females, were included in this study. Background data, medical history, dental history, and questionnaires are required from all patients. Questionnaire data were collected at three-time points: pretreatment, post-treatment, and at the second week post-treatment. Statistical analyses for the validity and reliability were performed using SPSS version 27. This study was approved by the Health Research Ethics Commission of Universitas Muslim Indonesia and Ibnu Sina Hospital (approval number: UMI012206265).

### [Results]

Five items were removed from the questionnaire item list after item reduction using floor and ceiling effects. Factor analysis revealed physical, psychological, and expectations as subscales of OHQE. Cronbach's alpha coefficients ranged from 0.87 to 0.95 which indicates that the subscales had an excellent internal consistency. Each subscale of the General Oral Health Assessment Index (GOHAI) was moderately correlated with the OHQE subscales. Good-poor analysis revealed a significant difference between the high-scoring and low-scoring groups for each OHQE subscale. The intraclass correlation coefficients of the OHQE subscales ranged from 0.89 to 0.95 which indicates an excellent agreement or acceptable reliability. Multivariate linear regression analysis revealed a significant correlation between the pretreatment and post-treatment in psychological factors ( $p < 0.05$ ).

### [Conclusions]

Numerous statistical analyses have verified that OHQE is a reliable and valid scale that can be used to measure the OHRQoL in patients with irreversible pulpitis undergoing endodontic treatment as a disease-specific scale. Thus, OHQE will help researchers and policymakers understand the impact of OHRQoL on patients undergoing endodontic treatment. The OHQE could contribute to the appropriate planning, treatment decisions, and management of dental treatment.

## パノラマ X 線画像での上顎前歯部領域における X 線透過性病変診断への深層学習システムの応用

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座, 歯科放射線学講座  
○江幡 香里<sup>1,2</sup>, 木瀬 祥貴<sup>2</sup>, 有地 榮一郎<sup>2</sup>, 諸富 孝彦<sup>1</sup>

### Application of deep learning system to diagnosis of radiolucent lesions in maxillary anterior teeth region on panoramic radiographs

<sup>1</sup>Department of Endodontics, Aichi Gakuin University School of Dentistry

<sup>2</sup>Department of Oral and Maxillofacial Radiology, Aichi Gakuin University School of Dentistry,

○Kaori EBATA<sup>1,2</sup>, Yoshitaka KISE<sup>2</sup>, Eiichiro ARIJI<sup>2</sup>, Takahiko MOROTOMI<sup>1</sup>

#### 【緒言】

パノラマ X 線撮影法は顎骨病変の存在をスクリーニングできる一般的な画像診断法の 1 つであるが、上顎前歯部においては、鼻口蓋管、前鼻棘、鼻腔、上顎洞など複雑な解剖学的構造に加えて、頸椎などの障害陰影が重なるため画像の読影が非常に困難である。しかし、同領域では鼻口蓋管嚢胞 (NDC)、歯根嚢胞 (RC)、埋伏過剰歯 (IST) などの X 線透過性病変および X 線不透過性病変の発生率が比較的高く、特に NDC と RC の鑑別診断は治療方針の立案に際し正確に診断されなければならない。近年、口腔顎顔面領域を含む画像診断へのディープラーニング (DL) システムの応用が盛んに研究されており、あらゆる病変の診断への DL システムの応用が検証されている。そこで本研究では、パノラマ X 線画像において上顎前歯部領域における X 線透過性病変の検出、分類機能を備えた DL システムのパフォーマンスを検証した。

#### 【対象および方法】

愛知学院大学歯学部附属病院にて 2002 年 2 月～2022 年 5 月に撮影されたパノラマ X 線画像上で、上顎前歯部に X 線透過性が認められる 200 症例 (NDC : 100 症例, RC : 100 症例) を抽出した。すべての症例は手術の適応可否のためコンピューター断層撮影 (CT) を行い、条件として上顎前歯部の正中領域に位置し、かつ最大直径が 10mm 以上のものとした。RC はすべての症例で組織病理学診断を行い、NDC 症例で手術を行わなかったものは、臨床経験 15 年以上の放射線科医 2 名により CT 画像に基づいて診断した。コントロールとして上顎前歯部に病変のないもの (No Lesion : NL) として 100 症例抽出した。ニューラルネットワークは You Only Look Once (YOLO) v7 および DetectNet の 2 種類を使用した。領域検出評価は Intersection over Union (IoU)、分類性能評価は Recall, Precision, F1 値, Accuracy を算出し DL システムのパフォーマンスを検証した。なお、本研究は愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認 (承認番号 496) を得て実施した。

#### 【結果・考察】

(領域検出) 2 つのネットワークとも全ての症例で IoU が 0.6 を超え、ほとんどの症例で 1.0 を記録した。領域検出においては、ハイレベルな IoU 値を示しほぼ完全な検出が可能であった。

(画像分類) YOLOv7 では Recall, Precision, F1 値, Accuracy : 0.76, 0.76, 0.75, 0.76, DetectNet では 0.88, 0.88, 0.87, 0.88 であった。YOLOv7 と比較すると DetectNet では良好な結果が得られた。

#### 【結論】

DL システムにおいて、DetectNet では X 線透過性病変および正常所見の検出は良好な結果であった。これにより、DL システムはパノラマ X 線画像における X 線透過性病変の画像診断に役立つ可能性が示唆された。今後は最新のニューラルネットワークの使用や、より大規模なデータ量のモデルの作成を検討している。そのためには多くのデータを収集するために複数の施設との共同研究が必要となる。また上顎前歯部領域には他の腫瘍・嚢胞の発生するため、X 線不透過性病変を含む多くの病変を用いる必要がある。

## 岐阜県内の歯科診療所における根管洗浄に関するアンケート調査

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野

○木方一貴, 横川大輔, 田中雅士, 長谷川智哉, 赤堀裕樹, 堺 ちなみ, 山崎真帆, 矢間大登,  
瀧谷佳晃, 仲宗根 歩, 河野 哲.

### Questionnaire Survey on Root Canal Irrigation in Gifu General Dental Clinic.

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

○Kazuki KIH0, Daisuke YOKOKAWA, Masashi TANAKA, Tomoya HASEGAWA, Hiroki AKAHORI, Chinami SAKAI,  
Maho YAMAZAKI, Hiroto YAMA, Yoshiaki TAKITANI, Ayumu NAKASONE, Satoshi KAWANO.

【緒言】根管洗浄は、根管拡大形成の補助として重要な役割を担っている。しかし、画一的な根管洗浄法は存在せず、それぞれの歯科医師の判断にて様々な機器や薬液を使用している。また、歯学部で使用する教科書も改変を重ね、根管洗浄に関する内容が変化している。そこで、今回、岐阜県歯科医師会にご協力賜り、加入者に対して、実際に行なっている根管洗浄の方法をアンケートにて調査を行い、一般歯科医院での根管洗浄の実態を調査した。

【方法】2024年2月に調査を実施した。岐阜県にて開院している歯科診療所全949件(2022年医療施設動態調査)中、岐阜県歯科医師会に入会している歯科診療所884件に対し、根管洗浄に関するアンケートの依頼状ならびにアンケート用紙、回答用紙を送付し、回答を求めた。質問内容は根管洗浄実施の有無、実施するタイミング、使用器具や薬剤、偶発症に関する項目などの計12項目とした。なお、回答はGoogleフォームおよびFAXの2通りの方法を用意した。

【結果】本抄録には、2024年2月12日現在の結果を記載する\*。送付した根管洗浄に関するアンケートに対して884診療所中98診療所に回答頂き、アンケート回収率は11.0%であった。まず、根管洗浄を行うかという項目に対しては99.0%が行うと回答。根管洗浄を行うタイミングに関しては、51.5%が拡大サイズの上昇時に毎回必ず行うと回答し、29.9%が拡大サイズの上昇時に適宜行うと回答、18.6%が拡大中は行わず、最終拡大終了後(貼薬前)に行うと回答した。洗浄方法は、85.6%がシリンジ、71.1%が超音波発振装置、30.9%が可聴域振動装置を使用すると回答した。その他の洗浄方法は5.2%であった。

洗浄方法でシリンジを選択した中で、57.8%がルートキャナルシリンジ、22.9%がシリンジと先端開口型洗浄針、31.3%がシリンジと側孔開口型洗浄針、2.4%がガラスシリンジを用いると回答した。シリンジに用いる薬剤としては、94.0%が次亜塩素酸ナトリウム、61.4%がEDTA、37.3%が過酸化水素水、14.6%が生理食塩水、10.8%が精製水、14.5%が生理食塩水、10.8%が強酸性水と回答した。その他にはクエン酸を使用するとの回答があった。

洗浄方法で超音波発振装置を使用すると回答した中の84.1%がファイルタイプのチップを使用しており、27.5%がスプレッダータイプのチップを使用していた。その他には、側孔開口型ニードルの回答があった。超音波発振装置使用時には、72.5%がデンタルチェアからの給水、23.2%が次亜塩素酸ナトリウム、14.5%がEDTAを使用しており、その他に精製水、生理食塩水、強酸性水などを用いていた。

洗浄方法で可聴域振動装置を使用すると回答した中の76.7%がファイルタイプを使用し、80.0%がチェアからの給水を使用して根管洗浄を行っていた。

根管洗浄中の偶発症は27.8%の診療所で経験しており、その内容は根管洗浄剤の溢出による疼痛や、皮下気腫、洗浄器具の破折などであった。

【結論】今回の根管洗浄に関するアンケート調査に対し99.0%の診療所が根管洗浄を実施すると回答しており、根管洗浄が必要であるという認識は非常に高いことが確認された。その方法は多くの診療所でシリンジのみではなく、超音波発振装置や可聴域振動装置を併用していた。洗浄剤の種類に関しては、多くの診療所で次亜塩素酸ナトリウムを使用しており、EDTAや過酸化水素水などその他の洗浄剤と併用している回答が多くあり、必要な効果を求めて複数種類の根管洗浄剤を用いていることがわかった。

【謝辞】本研究にあたり、ご協力頂きました、岐阜県歯科医師会 阿部義和会長をはじめとし、理事会、学術委員会、岐阜県歯科医師会事務局、ならびにご回答頂きました、全ての先生方に感謝申し上げます。

\* 第160回日本歯科保存学会春季学術大会発表時においては、最終調査結果を報告する。

## 広島大学病院歯科保存診療科の紹介患者の実態調査

広島大学 大学院医系科学研究科 歯髄生物学教室

○有田拓矢、古玉大祐、宮田-有田彩加、川柳智暉、平田-土屋志津、西藤-中山法子、中西 惇、吉田和真、熊谷友樹、貞岡直樹、王 楚天、成瀬友哉、西濱早紀、宋 冰心、武田克浩、柴 秀樹

### Survey of patients referred to the Department of Endodontics and Conservative Dentistry of Hiroshima University Hospital.

Department of Biological Endodontics, Institute of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University  
○Takuya Arita, Daisuke Furutama, Ayaka Miyata-Arita, Tomoki Kawayanagi, Shizu Hirata-Tsuchiya, Noriko Saito-Nakayama, Jun Nakanishi, Kazuma Yoshida, Tomoki Kumagai, Naoki Sadaoka, Chutian Wang, Tomoya Naruse, Saki Nishihama, Song Bingxin, Katsuhiko Takeda, Hideki Shiba

#### 【目的】

特定機能病院である広島大学病院には地域の医院や歯科医院から多くの患者が紹介されている。本院歯科には13の診療科が備えられ、2022年度の歯科診療科別の患者紹介率では、口腔外科系の2診療科や歯科麻酔科の紹介率に続き、歯科保存診療科の紹介率は4番目に高かった(紹介率:73.8%、紹介患者総数:243名)。また、歯科保存学・歯科補綴学に基づく治療を担当する口腔維持修復歯科は4診療科で構成されているが、その中で当科への紹介患者数・紹介率は最も多い(高い)ことから、地域歯科医院との連携をより強固にする必要があると考えた。本研究では、紹介元の地域歯科医院で行われている歯内治療の治療方針の一端を知るために、当科への紹介患者の実態を調査した。

#### 【方法】

2023年6月から2024年1月までの8か月間に、院外からの紹介で当科が担当した患者162名(診査、診断、治療を依頼された209歯)を調査対象とした。紹介目的、主訴 臨床症状、当科における診断、治療方針などについて調べた(広島大学疫学研究 承認番号 E2023-0026)。

#### 【結果】

院外からの初診患者が187名、紹介患者数が162名であったことから、紹介率は86.6%であった。男女比は約4:6で女性が多く、年齢構成は50代が全体の約26%を占め、最も高かった。紹介患者の居住地は127名(78.4%)が広島市内であった。紹介理由は根管治療に関して治療が困難(臨床的閉鎖根管、根管内異物の除去、外科的歯内療法の適応など)または治療を行っても(例えば、根管拡大・形成後も)症状が改善しないというものが、121歯あり、全体(209歯)の約6割を占めた。紹介部位は下顎大白歯が最も多く(74歯、35.4%)、次いで上顎大白歯が多かった(63歯、30.1%)。紹介患者162名のうち、感染根管治療および抜髄が必要であった紹介患者数は133名(82.1%)であり、最も多かった。このうち根尖性歯周炎の確定診断がついた患者数は105名(78.9%、そのうち歯根嚢胞は2名)であった。紹介時における根管治療の既往の有無は約3:7の割合で既根管処置歯の方が多く、当科で治療を行うこととなった94歯の治療方針の内、感染根管治療ケース(74歯)が最も多かった(78.7%)。

#### 【結論・考察】

治療が困難または症状が改善しないことを理由に傷病名 Per で紹介され、根尖性歯周炎の診断のもと当科にて再根管治療を行うケースが最も多いことが判明した。大白歯の紹介が多いのは、複数かつ複雑な根管形態が根管治療を困難にし、紹介に至るのではないかと推察される。以上のことから、当科は地域かかりつけ医院からの紹介患者を一方的に受け入れるのではなく、地域歯科医院と緊密に連携を取り、治療方針に関する情報を共有する必要があることわかった。緊密な連携と情報の共有によって再根管治療率が減少し、歯内治療全体のレベルの向上につながるのではないかと考える。

## 未経験者によるニッケルチタン製ロータリーファイルを用いた根管形成に 根管形成方法の違いが及ぼす影響

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野  
○中野奏美, 牧圭一郎, 豊田康氣, 山本里沙子, 平野恵子, 春日柚香, 大森智史, 海老原新, 興地隆史

### **Influence of different shaping techniques on nickel-titanium rotary instrumentation performed by inexperienced operators**

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

○NAKANO Kanami, MAKI Keiichiro, TOYODA Kouki, YAMAMOTO Risako, HIRANO Keiko, KASUGA Yuka, OMORI Satoshi, EBIIHAHA Arata, OKIJI Takashi

【目的】ニッケルチタン製ロータリーファイル (以下「NiTi ファイル」) の卒前教育への導入に際し, 初学者に適した形成術式を見出し評価することは, 学習効果向上と形成中のエラー防止の両面で重要である。本研究では, NiTi ファイル使用経験のない卒前学生が, クラウンダウン (CD) 法あるいはシングルレングス (SL) 法で根管形成を行なった際の根管追従性, 作業時間, 根管形成中に生じたエラーの頻度, および「形成しやすさ」についての学生の評価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 (以下「学生」) 48 名を対象とした (倫理申請番号: C2022-022)。学生は, NiTi ファイルを用いた根管形成の Web 講義を事前に受講した上で, 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) に対して, Vortex Blue (0.06 テーパー: Dentsply Sirona) およびトライオート ZX2 (モリタ製作所) を用いて, CD 法もしくは SL 法で各 1 根管形成を行なった。また, 学生を半分に分け, 一方は CD 法, もう一方は SL 法を先に行うよう課題設定した。ステンレススチール製手用 K ファイル (Zipperer, 以下「K ファイル」) #10, #15 にてグライドパス形成を行った後, CD 法では連続回転 (回転数 500 rpm, トルク設定値 3.0 Ncm) で, #30→#25→#20 の順に 2 mm ずつ作業長を延ばしながら根尖まで形成後, #25→#30 の順に根尖を拡大した。SL 法では OTR (Optimum Torque Reverse) モード (回転数 500 rpm, トリガートルク 0.8 Ncm) で, #20→#25→#30 の順に根尖まで形成した。次いで, 作業時間, 根尖から 0~3 mm における根管追従性 (centering ratio), ファイル破折, レッジ形成等のエラーの頻度, および「形成しやすさ」についての学生の評価を解析した。作業時間および centering ratio は二元配置分散分析および Bonferroni 法による多重比較検定で, またエラー発生頻度はフィッシャーの正確確率検定で, それぞれ有意水準 5% で統計解析を行った。

【結果】根管形成中のエラーは, CD 法で 2 根管 (レッジ 2 根管), SL 法では 3 根管 (レッジ 2 根管, ファイル破折 1 根管) で生じた。各計測点における centering ratio, 形成時間とも CD 法と SL 法に有意差は認めなかった ( $p > 0.05$ )。一方, SL 法, CD 法の順に形成した場合は, 逆順で行なった場合と比較して, SL 法の作業時間が有意に長くなった ( $p < 0.05$ )。形成課題の順番は centering ratio には影響を与えなかった ( $p > 0.05$ )。35% の学生が CD 法, 48% の学生が SL 法の方が形成しやすいと評価した。

【考察】CD 法, SL 法ともに centering ratio および形成時間に差を認めなかったことから, どちらの形成方法も初学者に推奨できると考えられる。CD 法は各ファイルの挿入深度を事前に規定して行ったため, 感覚に依存する部分が少なかったのに対して, SL 法では作業長までファイルを挿入する必要があり, その挿入圧等の加減が難しかったことにより, 最初に SL 法で形成した場合形成時間が延長した可能性が示唆された。

【結論】NiTi ファイル未経験の学生による根管形成では, CD 法と SL 法は同等の根管形成能を示した。異なる形成法による実習課題の実施順序が形成時間に影響を与える可能性が示された。

## 髓室開拓窩洞における認識差の一般化可能性に関する検証

日本歯科大学附属病院 総合診療科1 (歯内療法)  
○飯塚 純平、井出 葵、塚本 真世、天野 佑大、本野 順士朗、秋山 果穂  
小柳 圭史、長谷川 達也、北村 和夫

**Validation of the generalizability of misrecognitions at access cavity preparation**  
Division of General dentistry 1 (Endodontics), The Nippon Dental University Hospital  
○Jyunpei Iizuka, Aoi Ide, Mayo Tsukamoto, Yudai Amano, Motono Jyunshirou, Kaho Akiyama  
Katofumi Koyanagi, Tatsuya Hasegawa, Kazuo Kitamura

### 【目的】

根管治療において、髓室開拓の適否は根管治療全体の成否を大きく左右する極めて重要な治療過程である。井出らは2次元ユークリッド空間の検証から、上顎右側第一大臼歯(#16)および上顎右側第二大臼歯(#17)における髓室開拓窩洞の設定は根管口の認識差から共に過剰となる傾向があり、特に臨床経験の浅い歯科医師においては遠心側への偏りがあることを示した(158回春季大会, Int J Microdent2023)。しかしながら、研究対象が限定的でありその傾向が一般化できるかについては疑問が残った。そこで、これらの一般化可能性について調査を進めるため、本年度の臨床研修歯科医師を対象に加えて同様の実験を行うことで年度間において認識差があるか否かを検証した。

### 【材料・方法】

本研究は、日本歯科大学生命歯学部研究倫理委員会の承認のもと実施した(承認番号:NDU-T2022-07)。適格基準として、2023年12月時点で日本歯科大学附属病院に所属する臨床研修歯科医師のうち、本研究の趣旨に同意を得ることができた者を対象とした(Resident Dentist 2023(RD23)群(N=65))。年度間比較を行うため昨年度集計したデータをそれぞれResident Dentist 2022(RD22)群(N=73)、General Dentist (GD)群(N=75)として再集計した。データは全て匿名化され、中心基準点(CRP; Central reference point)を基準とした座標位置をそれぞれ取得した。CRPは頬側面溝と中心溝の交点( $x, y$ )=(0, 0)と定義し計測を行った。計測は3名の測定者により実施され、平均値を代表値とした。窩洞外形の境界点(MP; Margin point)として外形線上のX軸-正方向の最大点をMBMP、X軸-負方向の最大点をDBMP、Y軸-負方向の最大点をPMPと定義し座標を取得した。一般的に典型とされる位置関係(TA0; Typical access outline)、抜去歯サンプルより得られた平均的な位置関係(SA0; Suggested access outline)との誤差を比較するため、既存の論文により示された座標から回答より得られた座標を減算した絶対値を認識差として定量化し比較を行った。集計データは、変動係数ならびにノンパラメトリック検定(Steel-Dwass法)にて統計解析を行った。

### 【結果】

根管口の位置関係は、RD22群とRD23群の両群ともに#16, #17においてMB根管とDB根管の認識が遠心側に偏っている傾向が認められた。変動係数からRD22群とRD23群の両群ともにP根管に近遠心的なばらつきが認められた。根管口の認識差に関して、SA0においてMB根管の頬舌的および近遠心的誤差に、TA0においてはMB根管に加えてDB根管の近遠心的誤差にそれぞれ有意差を認めた。窩洞外形に関して、RD22群とRD23群の両群ともにDBMPがより遠心側に設定されており正三角形の形状をとる傾向が認められた。

### 【考察】

今回の結果から、Residentの両群ともに上顎大白歯における根管口の遠心側への認識の偏りがあることから、窩洞外形が遠心側に過剰に設定されている傾向が示された。これらの結果から、年度間での差は少なく、MB根管の見落としや遠心側への過剰切削による穿孔などの偶発症の潜在性が示唆された。また、P根管の近遠心的な認識のばらつきから、口蓋側の窩洞外形設定が曖昧になっていることも年度間の差がなく示された。今後、他の歯種での検証に加えて、各教育機関での差異や教育介入による認識差の是正の検証など随時行っていく必要がある。将来的に、得られた大規模データを活用することで臨床研修における教育システムの構築や機能学習によるAI診断技術への発展が今後期待される。

## 異なるテーパーのガッタパーチャポイントが根管到達度に及ぼす影響

吉岡デンタルキュア

○吉岡 俊彦

### Impact of Gutta-Percha Points with Different Tapers on Root Canal Reachability

Yoshioka Dental Cure

○Toshihiko Yoshioka

#### 【研究目的】

近年、1根管に対して1本のガッタパーチャポイント（以下GP）とケイ酸カルシウム系のシーラーを使用した根充方法（Sealer based obturation）が注目されている。根管形成に使用した最終形成ファイルと同じサイズ・テーパーのGPを選択するのが一般的だが、実臨床では同じサイズ・テーパーのGPでは作業長に到達しないことがある。特に25号などの細かいサイズでは作業長に到達しないことが多い。また、GPには個体差が存在することはよく知られているが、その個体差の程度や到達性に及ぼす影響について詳細な報告はない。本研究では根管模型に対して25号0.06テーパーの根管形成を行い、その根管に対してGPのテーパーおよび製造会社を変えて作業長への到達性を調べた。

#### 【材料および方法】

根管模型として作業長が約21mmのS字状根管を使用した。上部形成後にROTATE NiTiファイルを使用し、#25 0.06を最終形成ファイルとして根管形成を行った。ファイル先端の到達位置はマイクロスコープを用い、視認にて根尖開口部とした。根管形成後に#25のKファイルおよびデジタルノギスを用いて作業長の測定を行った。

ガッタパーチャポイントは以下の5種類とした。

- ・ VDW. ROTATEガッタパーチャ #25 0.04 テーパー (V4)、#25 0.06テーパー (V6)
  - ・ Sure Dent社製ガッタパーチャ #25 0.04 テーパー (S4)、#25 0.05テーパー (S5)、#25 0.06 テーパー (S6)
- それぞれのGPをケースからランダムに6本取り出し試料とした。根管充填用ピンセットを用い、根管内にGPを挿入し、根管内に入っていた部分の長さをデジタルノギスにて測定し、作業長との差を到達度とした。各群の到達度に関して、統計学的評価（TukeyのHSD検定）を行った。

#### 【結果】

GP	V4	V6	S4	S5	S6
到達度 (平均)	-0.08	-0.94	-0.16	-0.74	-0.68
SD	0.08	0.27	0.21	0.40	0.13

V4およびS4はV6、S5、S6に比べて作業長への到達度が統計的に有意に小さかった。

#### 【考察】

本研究の結果から、#25 0.06のNiTiファイルで形成した根管模型では、テーパーの小さいGP（V4およびS4）が作業長への到達性が優れていることが示された。これは、同一のテーパーでは根管内壁とGPの摩擦が増え、GPの進行が阻害されたと考えられる。テーパーを小さくすると作業長を超えることも懸念されたが、本実験ではGPの逸出は1本（+0.2mm）だけであった。GP間の個体差が到達度に影響を及ぼすことも示唆された。臨床的に悪影響を及ぼすほどではないと考えられるが、数本のGPを試適し最も作業長に近いGPを使用することも検討すべきである。今後は、異なるサイズのGPの使用、より太い根管形成での検証、シーラーの使用による変化、抜去歯での検証などを行う必要があると考えている。

#### 【結論】

根管模型に対しNiTiファイル（#25 0.06）で根管形成を行い、テーパーおよび製造会社が異なる5種のガッタパーチャポイントで到達度を調査した結果、テーパーが0.04のGPが0.05および0.06のGPと比較し、作業長の近くまで到達することが確認された。



## レジン系根管シーラーの根管封鎖に及ぼす根管前処理の影響

<sup>1</sup>岩手医科大学歯学部 歯科保存学講座 歯治療学分野

<sup>2</sup>岩手医科大学 医療工学講座

○相上雄亮<sup>1</sup>, 清水峻介<sup>1</sup>, 浅野明子<sup>1</sup>, 武本真治<sup>2</sup>, 野田 守<sup>1</sup>

### Effect of pretreatment on sealing ability of resin-based endodontic sealers.

<sup>1</sup>Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry,  
School of Dentistry, Iwate Medical University

<sup>2</sup>Department of Biomedical Engineering, Iwate Medical University

○Yusuke Aigami<sup>1</sup>, Shunsuke Shimizu<sup>1</sup>, Akiko Asano<sup>1</sup>, Shinji Takemoto<sup>2</sup>, Mamoru Noda<sup>1</sup>

#### [目的]

根管充填の手法として、ニッケルチタン合金製ロータリーファイルで規格窩洞を形成し、ガッタパーチャポイントと根管シーラーによりシングルポイント充填をする方法が増加している。シングルポイント充填では、歯質接着性を有するレジン系根管シーラーや石灰化を促進するバイオセラミック系シーラーが推奨されている。これらの根管シーラーは根管象牙質との接着や石灰化により根管封鎖を実現している。我々はこれまでに根管充填時の根管シーラーによる封鎖性に及ぼす要因を明らかにすることを目的として、ウシ歯根管に6種類の根管シーラーで根管充填し、色素浸透試験により根管封鎖性について検討してきた<sup>1,2)</sup>。無機系シーラーではシーラー部および象牙質部に色素浸透が認められたが、レジン系シーラーでは種類によって色素浸透割合が異なっていた。本研究ではレジン系シーラーでの根管封鎖に着目し、根管充填前のEDTA処理が根管シーラーでの封鎖性に及ぼす影響を色素浸透試験と界面観察により検討した。

#### [材料と方法]

本研究では3種類のレジン系根管シーラー (AH Plus jet (AHP: Dentsply Sirona), メタシール soft およびメタシール soft ペースト (MET および MSP: いずれもサンメディカル)) を用いて、ウシ歯根管に根管充填した。根管充填は通法にしたがって ISO 規格 140 号まで K-ファイルで根管形成し、18% EDTA 溶液 (ULTRADENT), 3% NaOCl 溶液 (ULTRADENT) および生理食塩水 (大塚製薬) でそれぞれ1分間洗浄し、乾燥させた (E+群)。洗浄後に各種シーラーでシングルポイント充填し、37°Cの恒温槽中に1日間静置後、トルイジンブルー水溶液を根尖側から接触させ、3日間静置した (各N=6)。3日後、根尖側から厚さ1mmの試料を4枚切断した。試料の両面をデジタル顕微鏡 (ViTny UM12, Microlinks Technologies) で撮像し、シーラー (SE) 領域とシーラーから20μm外側の象牙質 (DE) 領域での色素浸透割合を画像解析ソフト (ImageJ, NIH) を用いて算出した。また、一部の試料はオスミウムコーティング後、走査型電子顕微鏡 (SEM: SU8010, 日立ハイテク) で観察した。参考試料として、EDTA処理しない根管に対しても同様に根管充填、色素浸透試験を行った (E-群)。色素浸透割合はKruskal-Wallis検定またはMann-WhitneyのU検定で行った ( $\alpha=0.05$ )。本研究は岩手医科大学動物実験委員会の承認を受けて行った (#02-002 および#04-002)。

#### [結果および考察]

AHPでは、E+群およびE-群ともにSEおよびDE領域にはほとんど色素浸透は認められなかった。METおよびMSPでは、E+群でSEおよびDE領域には、根尖側から歯冠側の試料に連続的な色素浸透が観察された。E-群ではSEおよびDE領域に僅かな色素浸透が見られた。E+群とE-群間での比較では、SE領域およびDE領域においてAHPに色素浸透割合に有意差は認められなかった ( $P>0.05$ ) が、METとMSPでは有意差が認められE+群に色素が浸透していることが明らかになった ( $P<0.05$ )。

SEM観察の結果、3種類の根管シーラーはE+群およびE-群ともに大部分で根管シーラーと根管象牙質が緊密に接していた。強拡大で観察したところ、管間象牙質での樹脂含浸層や象牙細管内でのレジントグは観察されなかった。一方で、充填した根管シーラーの一部には亀裂や粒子とマトリックスとの剥離が観察された。

EDTA処理により象牙細管が開口することで、根管シーラーと根管象牙質の接着面積が増大することが期待できる。しかし、本研究で用いたレジン系シーラーでは開口した象牙細管へのレジントグの形成や樹脂含浸層が観察されなかったことから、接着不良による接着界面での色素浸透が生じたと考える。また、これまでにAHPの硬化体は疎水性、METとMSPは親水性であること<sup>2)</sup>が明らかになっており、水溶性の色素の浸透が異なっていると考える。したがって、用いる根管シーラーの特性を考慮した上での根管充填の前処置が根管封鎖性に重要であることが示唆された。

1) 相上ら. 第158回歯科保存学会講演抄録集 p.112, 2) 相上ら. 第159回歯科保存学会講演抄録集 p.32

## 侵襲性頸部外部吸収を伴う歯に対して外科的にコンポジットレジンで修復し 根管治療を行った症例

東京歯科大学 歯内療法学講座

○田宮 資己, 井瀬 智之, 中島 龍, 倉持 仁, 谷 洗希, 山田 雅司, 古澤 成博

### Surgical restoration of a tooth with invasive cervical resorption with composite resin and root canal treatment; A case of report

Department of Endodontics Tokyo Dental College

○Yoshiki Tamiya, Tomoyuki Inose, Ryo Nakajima, Jin Kuramochi, Kouki Tani,  
Masashi Yamada, Masahiro Furusawa

#### 【緒言】

歯の吸収には内部吸収と外部吸収が存在するが、いずれも歯髄腔側と歯根膜側とが交通することで歯内療法が困難となる。内部吸収は歯髄の不可逆的な変質により歯髄腔側より歯質の吸収が起こる。一方、外部吸収は様々な分類があるが、その中でも侵襲性頸部外部吸収 (ICR) は、吸収が根尖側に及ぶほど治療が困難になることが知られている。

前回、我々は炎症性外部吸収を伴う歯に外科的に肉芽組織の除去と MTA セメントを用いた吸収部の修復を行い、良好な経過を得られた症例を報告した。しかしながら、穿孔性の侵襲性頸部外部吸収において歯髄の保存が困難な場合、修復後に根管治療を継続して行う必要がある場合は、コンポジットレジン (以下 CR) (クリアフィル®) 修復も選択肢としてあげられる。今回は ICR を伴う歯の吸収部を機械的に除去し、CR を用いて口腔内から歯髄腔への漏えいを確実に遮断した状態で根管治療を行うことで、良好な予後が得られた一症例を報告する。

#### 【症例】

患者は 26 歳の女性、上顎左側第一大臼歯の違和感を主訴として来院した。2018 年頃から歯周治療を受けていた歯科医院で同部の歯質吸収を指摘された。初診時の臨床症状は、自発痛、垂直打診痛、動揺は認めず、温刺激にも反応は認めなかったが冷刺激、歯髄電気診には反応を認め、同部を探針で擦過すると出血を認めた。歯周組織検査の結果は遠心頬側が 5 mm、他は 3 mm 以下であった。デンタルエックス線画像で歯頸部に及ぶ大きな透過像を認めたため、吸収の範囲を特定するために、歯科用コーンビーム CBCT を撮影した。検査結果より、ICR (Heithersay GS の分類クラス III) を伴う慢性潰瘍性歯髄炎 (Asymptomatic irreversible pulpitis/Normal apical tissues) と診断した。治療方針は、外科的に外部吸収部の搔爬および修復を行い、創部の治癒を確認後、歯髄の保存が困難な場合は根管治療を行うこととした。本症例は患者に治療方針、それに伴うリスクを説明し同意を得て治療を行った。開示すべき利益相反はない。

#### 【治療経過】

外科処置は以下の手順で行った。まずは浸潤麻酔を行い、上顎左側第一大臼歯部頬側歯肉を全層弁フラップで剥離翻転した。術野を手術用顕微鏡下で明視化し、吸収部に侵入した肉芽組織の搔爬と、軟化象牙質の機械的除去を行った。軟化象牙質は髄腔内で広範囲に及び、除去するためには歯髄の保存は難しいと判断し、後日根管治療を行うこととした。吸収部の歯周組織の止血を行い、乾燥下で歯面処理後に歯質欠損部を CR で修復し、フラップを復位後に縫合した。後日、創部の治癒が得られたのちにラバーダム防湿下で咬合面より髄室開拓し、髄腔内より修復部の形態を修正した。修復が確実に行われていることを手術用顕微鏡下で確認できたため抜髄・根管治療および根管充填を行った。

#### 【結果・考察】

外科処置後、根管充填後ともに臨床症状は無く、エックス線画像上でも外部吸収の進行は認められない。本症例より、ICR の外科的修復後に根管治療が必要な症例では、吸収部を CR で修復することは有用であると思われた。

### 3 根管を有する上顎小臼歯に対して CBCT を併用し歯内療法を行った症例

松本歯科大学歯科保存学講座

○森川雅己、岩崎 拓也、水谷 莉紗、増田 宜子

#### Endodontic treatments of the right maxillary first premolars with three root canals using CBCT.

Department of Operative Dentistry, Endodontology, and Periodontology, Matsumoto Dental University,  
Shiojiri, Nagano, Japan

○Masaki Morikawa, Takuya Iwasaki, Risa Mizutani, Yoshiko Masuda

【緒言】近年マイクロスコープと CBCT の発展・普及により根管治療における根管形態の割合および根管数に関する報告は目覚ましいものがあり正確な根管治療に大きく貢献している。本症例はデンタルエックス線画像では正確に確認できなかった 3 根 3 根管の上顎第一小臼歯を CBCT によって確認し、根管治療の良好な治癒経過を得られたので報告する。

#### 【症例 1】

患者：61 歳男性

主訴：詰め物が取れて冷たいものがしみる。

現病歴：一ヶ月前に詰め物が取れて冷たいものがしみるようになったため当院へ来院した。既往歴：腎臓疾患。

現症：14：深在性のう蝕あり。冷温水痛 (+)、歯髄電気診で生活反応を認めた。全周歯周ポケットは 3.0mm であった。デンタル X 線所見にて根管形態が複雑であることが確認できたが、正確な根管形態と根管数が確認出来ないため CBCT 撮影を行った。CBCT 所見：3 根管であり、根管上部で頬舌 2 根管に分岐し頬側根は根中央部で 2 根に分岐していることが確認された。根尖部に透過像は見られない。近心頬側根は湾曲しており。全ての根管の根尖付近は狭窄していた。診断：14：急性化膿性歯髄炎

【治療経過】麻酔抜髄を行った。マイクロスコープ下で 3 根管口を確認し手用ファイルでの機械的拡大と 6%NaOCl+17% EDTA で洗浄を行った。米国へ 1 か月行くためキャンフェニックス (ネオ製薬工業) 後、2 重仮封を行った。1 カ月後に再度根管処置を行った。Ni-Ti ファイルを使用し拡大形成行いガッタパーチャポイントとバイオシーシーラー (ヨシダ) で根管充填を行い、良好な治癒経過を得た。

#### 【症例 2】

患者：54 歳男性

主訴：歯茎の腫れが気になる。

現病歴：定期健診の際、歯肉の腫脹を訴えた。既往歴：特記事項なし。

現症：14：自発痛 (-) 垂直打診 (+) であった。14 と 15 間の根尖部相当歯肉に瘻孔があり、オキシドールで発泡した。根尖部歯肉圧痛を認め、デンタル X 線で 14 の根管充填の不足を認めた。過去の CBCT 所見で 3 根管であり、近心根と遠心根の離開度は小さい。診断：14：慢性化膿性根尖性歯周炎

【治療経過】マイクロスコープ下で 3 つの根管口を確認し、根充材の除去後手用 K ファイル #10 で電氣的根管長を測定した。機械的根管拡大と 6%NaOCl+17%EDTA で洗浄を行った。滅菌ペーパーポイントで根管乾燥後、水酸化カルシウム系で根管貼薬を行い、水硬性セメントとグラスアイオノマー仮封材で 2 重仮封を行った。2 か月後、患者さんの現症が無くなり瘻孔の消失を認めたため、ガッタパーチャーとキャナルシーラー BG multi (日本歯科製品) で根管充填を行い、良好な治療経過を得た。

#### 【考察および結論】

3 根の上顎第一小臼歯は、Turner の分類のクラス e となり<sup>1)</sup>、その割合は 1.7 %で 3 根管の割合は 2.2 %であった<sup>2)</sup>。デンタル撮影にて根管形態が不明慮な場合は CBCT を用いることによって正確な処置を行えることが示唆された。

1) Turner CG II: Root number determination in maxillary first premolars for modern human populations. Am J Phys Anthropol, 54: 59-62, 1981.

2) Ahmad IA, Alenezi MA: Root and root canal morphology of maxillary first premolars: a literature review and clinical considerations. J Endod. 42:861-872, 2016.

## 垂直性歯根破折を伴う下顎大白歯に口腔外接着再植法を適用した長期症例

<sup>1</sup> 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第1講座,

<sup>2</sup> 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学,

<sup>3</sup> 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座, <sup>4</sup> 日本歯科大学

○新井恭子<sup>1</sup>, 北島佳代子<sup>1,2</sup>, 佐藤友則<sup>1</sup>, 清水公太<sup>3</sup>, 鎗田将史<sup>2</sup>, 五十嵐勝<sup>4</sup>, 両角俊哉<sup>1,2</sup>

### A long-term case of internal adhesive therapy and intentional replantation for mandibular molar with vertical root fracture

<sup>1</sup>Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata,

<sup>2</sup>Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata, <sup>3</sup>Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata,

<sup>4</sup>The Nippon Dental University

○ARAI Kyoko<sup>1</sup>, KITAJIMA Kayoko<sup>1,2</sup>, SATOH Tomonori<sup>1</sup>, SHIMIZU Kota<sup>3</sup>, YARITA Masafumi<sup>2</sup>,  
IGARASHI Masaru<sup>4</sup>, MOROZUMI Toshiya<sup>1,2</sup>

【緒言】垂直性歯根破折歯は保存療法が困難であり、多くの場合、抜歯が適応となる。近年、破折歯を接着材料にて保存する接着修復法が報告されている。接着修復法には、非外科的に根管内から接着する根管内接着法と、破折歯を抜去して口腔外で接着した後に再植する口腔外接着再植法がある。今回われわれは、完全垂直破折を起こした下顎大白歯失活歯に対し、口腔外接着再植法を適用し、良好に経過している長期症例について報告する。

【症例】50歳の女性。下顎左側第一大臼歯の違和感を主訴に来院した。瘻孔形成と近心根周囲に9mmの深いポケットがみられ、近心根の垂直性歯根破折と診断し、口腔外接着再植法を応用することとした。治療は、日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った(承認番号: ECNG-H-41)。術式は以下の通りである。

- 1) 浸潤麻酔後、歯根膜組織にダメージを与えないように鉗子のみで抜歯を行った。
- 2) 歯根表面の歯石や異物を除去した後、患歯を氷冷した歯の保存液(ティースキーパー「ネオ」、ネオ製薬工業)に浸漬し、歯根膜組織の乾燥を防止した。
- 3) 歯冠部を鉗子で把持し、破折片が復位することを確認した。
- 4) 破折片の歯根膜部を保存液で湿潤したガーゼで包み、さらにガーゼ外面をパラフィルムで被覆した。
- 5) マイクロスコープを用いて、根管口部から根尖孔部付近まで根管に沿って内方の汚染物をダイヤモンドポイントで除去した。さらに根管内の破折面周囲歯質をカーバイトバーで切削し、歯根表面の象牙質を薄く残存させ、髓室内と根管内に大きな窩洞を形成した。破折小片が隙間なく復位することを確認した。
- 6) 近心根管と遠心根管を繋ぐコの字型の0.9mmワイヤーを製作し、復位した歯の根管にスムーズに挿入できることを確認した。
- 7) 根管内象牙質面に接着処理を施し、デュアルキュア型歯科用支台築造材料(クリアフィルDCコアオートミックスONE, クラレノリタケデンタル)を窩洞に充填し、さらにワイヤーを根管内に埋め込んで光照射した。
- 8) 歯根尖3mmを切断除去し、逆根管充填用窩洞を形成後、MTAで逆根管充填を施した。
- 9) 患歯を抜歯窩に再植し、咬合面を交差する単純縫合で歯を緩く暫間固定した。
- 10) 7日後に抜糸を行った。

術直後のエックス線所見では逆根管充填が死腔なく行われていると判断でき、近心根を取り囲むびまん性透過像がみられた。術後3か月でそれらの縮小を認めるが、根分岐部の骨欠損がみられた。術後1年では近心根の骨形成が明らかとなり、びまん性透過像は消失しているが、根分岐部の骨欠損には変化がみられなかった。術後4年6か月で近心根周囲に歯槽硬線ははっきりと確認でき、根分岐部の骨形成を認めた。歯周ポケットは歯根中央部で4~6mmみられるが、プロービング時の出血と動揺はみられない。術後7年1か月の現在、患者の自覚症状はなく、良好に経過している。

【考察】口腔外接着再植法では、破折片の接着に生体親和性が高く湿潤下でも高い重合率を示す4-META/MMA-TBB系接着性レジンセメントを用いる場合があるが、本症例では機械的強度の高いデュアルキュア型歯科用支台築造材料を用いた。歯根膜へ化学的刺激を起こさないように留意し、歯面処理材を使用することで、歯根膜の保護は十分でできると考えられる。本症例では、現在も歯根中央部に歯周ポケットの残存はみられるものの、プロービング時の出血は認められず、ブラークコントロールも安定している。経過観察時には咬合の確認を行い、再破折の予防を目的として必要に応じて咬合調整を行っている。これらの結果、長期にわたり良好に経過し、根分岐部にも骨形成がみられたと考えられる。

【結論】完全垂直破折を起こした下顎左側第一大臼歯失活歯に対し、デュアルキュア型歯科用支台築造材料とワイヤーを用いた口腔外接着再植法を適用したところ、術後約7年1か月の長期にわたる良好な結果を得ることができた。

## 炎症性腸疾患患者においてステロイド漸減投与下での 感染根管治療が奏功した症例

広島大学大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室

○平田-土屋志津、宮田-有田彩加、西藤-中山法子、多賀竜太郎、武田克浩、柴 秀樹

### A successful case of endodontic treatment under steroid tapering in a patient with inflammatory bowel disease

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

○HIRATA-TSUCHIYA Shizu, MIYATA-ARITA Ayaka, SAITO-NAKAYAMA Noriko,  
TAGA Ryotaro, TAKEDA Katsuhiko, SHIBA Hideki

【緒言】炎症性腸疾患（クローン病と潰瘍性大腸炎）は遺伝的素因、環境因子あるいは腸内細菌叢の破綻等によって免疫異常が生じて発症する疾患である。炎症性腸疾患は、慢性炎症が口腔から肛門までの消化管に生じるとともに、全身の免疫機能が低下する。また、消化管のみならず関節や皮膚、眼等に炎症性病変等の合併症症状が出る場合もあるが、原因は明らかでない。近年、炎症性腸疾患と根尖性歯周炎に関する報告（Halboub E, et al. *Eur Endod J*, 2024）があるが、明確な治療方針の確立には至っていない。本発表では、近医で $\Gamma$ 34の根管治療を行うも根尖部病変が増大したため広島大学病院歯科保存診療科を紹介されたクローン病患者に対し、医科との連携によるステロイド漸減投与下での感染根管治療が奏功した症例を報告する。

【症例】45歳男性。主訴：左下小白歯部の違和感。現病歴：左下小白歯部に激しい自発痛が生じ、近医で根管治療を開始した。急性症状が消失したため根管治療開始から2ヶ月後にデンタルエックス線撮影をしたところ、治療開始前と比較して $\Gamma$ 34根尖部透過像が増大していたため、クローン病の合併症あるいはその治療薬の副作用との関連を精査する目的で当科へ紹介された。臨床所見： $\Gamma$ 3には咬合痛と打診痛はなかった。 $\Gamma$ 4には咬合痛はないが、打診痛があった。 $\Gamma$ 34根尖相当部歯肉の圧痛があり、プロービングの深さは全周3mm以内で、動揺度は0度であった。コーンビームCT画像から $\Gamma$ 34間の頬側皮質骨破壊を認めた。また、 $\Gamma$ 34根尖周囲には根管充填材料あるいは根管貼薬剤と思われる不透過像を認めた。全身の現病歴：クローン病（11歳で発症、初診時クローン病活動度 CDAI：122.8、判定は緩解）、薬剤性鼻炎、副鼻腔炎、アレルギー性結膜炎。初診時服薬（薬効分類名を記載）：免疫抑制剤、ヒト型抗ヒト TNF $\alpha$ モノクローナル抗体製剤、合成副腎皮質ホルモン製剤、プロトンポンプ・インヒビター、骨粗鬆症治療剤、睡眠導入剤、活性型ビタミンD3製剤、ロイコトリエン受容体拮抗薬、アレルギー性疾患治療剤、マクロライド系抗生物質製剤

【診断】 $\Gamma$ 34慢性根尖性歯周炎

【治療方針】 $\Gamma$ 34感染根管治療と合成副腎皮質ホルモン製剤の漸減投与（本院消化器内科担当医と連携）

【治療経過】治療内容を患者に説明し、同意を得た。コンポジットレジンをを用いて隔壁形成後、ラバーダム防湿下で感染根管治療を行った。感染歯質の除去のため作業長 $\Gamma$ 3: 21.0 mm、 $\Gamma$ 4: 16.5 mm、それぞれ40号と60号まで根管を形成した。 $\Gamma$ 4の根尖から排膿が認められた。根管洗浄液（EDTA, NaOCl, 生理食塩水）と超音波装置による根管洗浄と根管貼薬（水酸化カルシウム製剤）を1年1ヶ月間繰り返し行った。その間8ヶ月かけて、合成副腎皮質ホルモン製剤の漸減投与（投与量2.5 mgから0 mg）が行われた。この期間中のクローン病活動度 CDAIは108-167で、判定は緩解～中等度で悪化は認められなかった。根尖からの排膿等の臨床症状消失と、根管内細菌培養検査での陰性を確認した後、根管充填を行った。根管充填から1年4ヶ月後のデンタルエックス線画像では、根尖部透過像の縮小が認められた。

【考察】炎症性腸疾患患者は、う蝕、歯周病および根尖性歯周炎の有病率が高いことが多くのシステマティックレビューで報告（Marruganti C, et al., *Caries Res*, 2021、Papageorgiou SN, et al., *J Clin Periodontol*, 2017）されているが、医科との連携による各疾患の治療方針は未だ確立されていない。炎症性腸疾患患者は同時期に多くの治療薬（生物学的製剤（ヒト型抗ヒト TNF $\alpha$ モノクローナル抗体製剤等）、合成副腎皮質ホルモン製剤、免疫抑制剤等）を服薬しなければならないため、それらが引き起こす副作用あるいは薬剤同士の相互作用による症状の変化を注意深く確認する必要がある。今回の症例でも、炎症性腸疾患の合併症または治療薬による副作用と考えられる様々な症状（う蝕、根尖性歯周炎、皮膚発疹、関節炎、鼻炎、アレルギー性結膜炎等）が生じており、症状改善のため医科と連携し、変更または中止する薬剤の選定を行った結果、ステロイド漸減投与が第一選択となった。感染根管治療と併行してステロイド漸減投与を行うことで、通常より期間は長かかったが、根尖周囲組織の病変の縮小が認められた。炎症性腸疾患患者の歯内治療において良好な治療成績を得るには、医科と連携しながら全身的な症状や治療薬の副作用を考慮することが不可欠である。

## 形態異常を伴う 5 根管性上顎第一大臼歯に非外科的歯内療法を行った 1 症例

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座  
○神尾直人, 葉山朋美, 深井謙滋, 渡邊昂洋

### Non-surgical Endodontic Treatment of 5 Root Canal Maxillary First Molar with Malformation : A Case Report

Department of Endodontics, Nihon University school of dentistry at Matsudo  
○KAMIO Naoto, HAYAMA Tomomi, FUKAI Joji, WATANABE Takahiro

#### 【緒言】

上顎第一大臼歯は口蓋根、近心頬側根および遠心頬側根の 3 根の場合が大多数であり、近心頬側根は 1 もしくは 2 根管を有することが広く知られている。今回、歯冠部には齶蝕がみられないものの腫脹と瘻孔を生じた形態異常のある上顎左側第一大臼歯に対し、歯科用 CBCT とマイクロスコープを用いた診断・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：11 歳の男子

主訴：歯茎が頻繁に腫れる

現病歴：1 年前から歯内の腫脹と消退を繰り返しているとのことで開業医を受診したところ、歯根の形態異常がみられたため、精査および治療希望のため紹介来院。

現症：自発痛- 打診痛± 瘻孔+ (口蓋側) 電気診+ (閾値の上昇)

ブローピング深さ遠心頬側で 5mm

診断：上顎左側第一大臼歯 慢性根尖膿瘍 (一部に生活歯髄を有する)

根管形態：近心頬側根 (MB, MB2)、遠心頬側根 (DB)、遠心口蓋根 (DP) および口蓋根 (P) の 4 根 5 根管性

治療方針：感染根管治療

治療内容についての十分なインフォームドコンセントを行い、また治療の成果について学術大会にて報告する旨を文書にて患者本人および両親から同意を得たうえで治療を開始することとした。

#### 【治療経過】

患者は歯科治療経験がなく、表面麻酔、浸潤麻酔およびラバーダム防湿のトレーニングから開始し、以後浸潤麻酔は毎回の治療で実施した。ラバーダム防湿下にて髓室開拓を行い、冠部歯髄が壊死していることを確認した。髓室と根管が最も明確な近心頬側から治療を行い、MB と槌状を呈する DB、彎曲のある P は穿孔に留意しながら治療を進めた。3 回目の治療で瘻孔は消失したが、DB と P 間に存在する未探索の DP 根は髓床底ロードマップも存在しなかったため、CBCT にて位置の確認を入念に行い超音波チップにて探索し穿通に至った。その際 DP 根は完全に失活していることを確認した。根管貼薬剤は水酸化カルシウム製剤を、穿通後の根管拡大には ProTaper Gold を主に用いた。治療を開始して 4 か月目 (治療 6 回目) に再度 CBCT 撮影を行い、DB、P は未穿通であるものの根尖病変が改善傾向にある事を確認し、すべての根管に対しガッタパーチャ材と酸化亜鉛ユージノールシーラーにて垂直加圧根管充填を行った。

#### 【考察】

最も治療困難であった DP 根は根管口が完全に第 3 象牙質様の硬組織で覆われており、失活していることも確認された。このような歯髄腔の圧迫が結果として歯髄を失活させる場合がある事は、象牙質粒や陥入歯の報告などではみられる。また、約 50% で 2 根管みられる近心頬側根に比べ、2 根管性の遠心頬側根もしくは口蓋根の頻度はわずかであると考えられている。今回、CBCT により 3 次的に 5 根管性の根管形態の把握を図り、マイクロスコープ下にて適切にかつ最小限の侵襲で治療を行うことが可能であったため、形態異常を伴う歯根形態を有していたとしても良好な結果を得ることができたと考えられる。

## 逆根管充填の再発

吉岡デンタルオフィス  
吉岡 隆知

### Recurrent apical periodontitis after retrograde filling.

Yoshioka Dental Office  
○YOSHIOKA Takatomo

#### 緒言

モダンテクニックによる逆根管治療は、CBCT の診断と歯科用実体顕微鏡を用いた手術により従来の歯根端切除術の成功率を高めたものといえる。長期予後も 9 割を超える成功率が報告されている。逆根管充填材には EBA、MTA、Bioactive Glass などが用いられており、信頼性も高い。材料を原因とする失敗の報告はほとんど見られない。

今回、EBA を用いて逆根管充填後に再発した症例について報告する。

#### 経過

患者は初診時 34 歳の女性で、近医より上顎左側中切歯および側切歯の逆根管治療を依頼された。歯科用実体顕微鏡下でフラップを作成して患部に到達し、肉芽を搔爬後に超音波チップを用いて逆根管窩洞を形成した。EBA セメント (Bosworth, USA) をもちいて逆根管充填した。術後経過は良好で 1 年後に根尖部透過像は消失した。

以後、紹介元で経過観察した。9 年 5 ヶ月後のデンタル X 線写真で逆根管充填の不透過性が消失した。EBA セメントが消失したのか、造影性がなくなったのかはわからない。17 年 2 ヶ月後に根尖部透過像が出現した。19 年 3 ヶ月後に根尖部圧痛が出て、再度当院依頼となった。

CBCT を撮影したところ、両歯とも逆根管充填材料は見られず、根尖病変が認められた。臨床症状があったためリエントリーして再度逆根管治療を行った。中切歯の逆根管窩洞内は空で周囲骨に EBA と思われる残渣が見られた。これは CBCT には写っていなかった。側切歯は窩洞内にも周囲骨にも EBA の痕跡は全くなかった。逆根管窩洞は小さくなり、歯根切断面を見ると窩洞内に硬組織の沈着が見られた。両歯とも逆根管窩洞形成をして BG マルチ (日本歯科薬品) で逆根管充填を行った。

#### 考察

逆根管充填で使用した EBA セメントの造影性が 10 年ほどでなくなる症例を時々経験する。今回はさらに根尖性歯周炎が再発したためにリエントリーした。その結果、EBA セメントは根管内に全く見られなかった。どのようなメカニズムで流出したのか不明である。さらに側切歯では根管内に硬組織の沈着が見られたが、この組織がどのようなものなのかも不明である。セメント質かその類似組織かとも思うが、根尖性歯周炎が存在しているようなところでできるのだろうか。逆根管充填材の長期予後については不明であり、かつ長期経過での組織反応にはまだわからないことが多く、今後の研究が待たれる。

#### 結論

約 10 年で逆根管充填に用いた EBA セメントの造影性がデンタル X 線写真で見えなくなり、根尖性歯周炎が再発した。リエントリーすると、根尖部の炎症組織とともに根管内に硬組織の添加が見られた。

## 脂肪酸ベース・イオン液体の抗バイオフィーム能の検討

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

○柳川 万由子, 中島 麻由佳, Yan Chunyang, Lorena Alejandra Zegarra Caceres, 多部田 康一

### Investigation of the anti-biofilm efficacy of fatty acid-based ionic liquids

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Mayuko Yanagawa, Mayuka Nakajima, Yan Chunyang, Lorena Alejandra Zegarra Caceres, Koichi Tabeta

#### 【目的】

イオン液体 (Ionic Liquids: ILs) は陽イオンと陰イオンの組み合わせから成る常温で液体の塩であり, 細胞膜破壊による強力な殺菌効果を有する抗菌性物質である。近年, 成熟バイオフィームの破壊・除去効果を併せ持つ IL が報告され, 新規バイオフィーム治療薬としての応用が期待されるが, 医薬品としての応用にはさらに生体安全性を向上させる必要がある。脂肪酸は細胞膜の構成成分の一つであり, 食品を介して日常的に摂取される。また, 一部の脂肪酸は抗菌効果を有することも報告されている。そこで本研究では, イオン供与に脂肪酸を用いた脂肪酸 IL を創生し, その生体安全性および抗菌・抗バイオフィーム効果を評価し, 歯周医薬品としての応用可能性について検討することを目的とした。

#### 【材料および方法】

コリンと各種脂肪酸をモル比 1:1 にて混合し, 脂肪酸 IL を作製した。各脂肪酸 IL の歯周病原細菌 (*Porphyromonas gingivalis* ATCC33277 株) に対する抗菌効果を最小発育阻止濃度 (MIC) と最小殺菌濃度 (MBC) の測定にて評価した。さらに *P. gingivalis* バイオフィームに対する効果を live/dead 染色にて評価した。各種脂肪酸単体においても同様の検証を行い, IL 化による抗菌・抗バイオフィーム効果の向上を確認した。脂肪酸 IL の細胞毒性について, ヒト歯肉上皮細胞株 epi4 に対する MTT 試験を行うと共に, 最小細胞毒性濃度/MIC を算出し安全域 (抗菌効果が得られる濃度と毒性が出る濃度のレンジ) の評価を行った。既報にて歯周病原細菌に対する抗菌・抗バイオフィーム効果が確認されたコリン-ゲラン酸 (Choline and Geranate: CAGE) IL においても同様の検証を行い, 脂肪酸 IL との比較対象とした。

#### 【結果と考察】

本研究においては 5 種の脂肪酸 IL (長鎖脂肪酸 A,B, 中鎖脂肪酸 C,D,E) において抗菌効果が認められ, MIC・MBC は CAGE と同程度以下であった。特に長鎖脂肪酸 A-IL は CAGE の 1/100 濃度で作用し, 極めて高い抗菌効果が確認された。さらに live/dead 染色の結果より, いずれの脂肪酸 IL も抗バイオフィーム効果を示し, 特に長鎖脂肪酸 A-IL は CAGE と比較して有意に高い抗バイオフィーム効果を有することが示された。脂肪酸単体では, 各脂肪酸 IL の 100 倍以上の濃度で抗バイオフィーム効果が認められたことから, IL 化によって著しく効果が増強されることが確認された。細胞毒性について, MIC の低い脂肪酸 IL ほど最小細胞毒性濃度も低くなる傾向が認められたが, 安全域は CAGE が 4 倍であったのに対して長鎖脂肪酸 A-IL では 31 倍, 中鎖脂肪酸 C-IL では 64 倍であり, 顕著な安全性の向上が認められた。これらのことから新規歯周医薬品としての応用の可能性を有すると考えられる。

#### 【結論】

本研究において作製した脂肪酸 IL において, 既存 IL と比較した際の生体安全性の向上, 歯周病原細菌に対する抗菌および抗バイオフィーム効果の向上を認めた。



***Porphyromonas gingivalis* が AOM-DSS 大腸がんモデルマウスに及ぼす影響とそのメカニズムの解析**

<sup>1</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

<sup>2</sup>新潟大学医歯学総合病院 高度医療開発センター

○本杉駿弥<sup>1</sup>, 高橋直紀<sup>1</sup>, 都野隆博<sup>2</sup>, 峯尾修平<sup>1</sup>, Tran Thi Thuy Diep<sup>1</sup>, 植田優太<sup>1</sup>, 多部田康一<sup>1</sup>

An adverse effect of periodontal pathogens in AOM-DSS-induced cancer model in mouse

<sup>1</sup>Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and dental Sciences

<sup>2</sup>Division of Pioneering Advanced Therapeutics, Niigata University Medical and dental Hospital

○Shunya motosugi<sup>1</sup>, Naoki Takahashi<sup>1</sup>, Takahiro Tsuzuno<sup>2</sup>, Shuhei Mineo<sup>1</sup>,

Tran Thi Thuy Diep<sup>1</sup>, Yuta Ueda<sup>1</sup>, and Koichi Tabeta<sup>1</sup>

[背景と目的] 大腸がんの発症・進行における腸内細菌叢の関与が知られるがその詳細は不明である。また主要な歯周病原細菌のひとつである *Fusobacterium nucleatum* の関与も既知であるが、その他歯周病原細菌の関与の詳細は明らかではない。近年の腸内細菌叢研究から、大腸における粘膜表面に存在する粘膜関連細菌叢 (Mucosa-associated microbiota; MAM) と糞便細菌叢 (Lumen-associated microbiota; LAM) は菌叢構成に相違があり、前者が大腸がんの病態をより反映すると報告されている。本研究の目的は、歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) と *Prevotella intermedia* (*P.i*) が大腸がんの発症・進行に及ぼす影響とそのメカニズムを MAM と LAM に着目して *in vivo* と *in vitro* で検討することである。更に大腸腺腫患者由来検体における MAM と LAM についても解析し、ヒト大腸がんの病態への関与を検討することである。

[材料と方法] *in vivo* においては、6週齢の C57BL/6 雄マウスにアゾキシメタン (AOM) を腹腔内投与後、2.5%デキストラン硫酸ナトリウム溶液 (DSS) の飲水 (7日間) と通常飲水 (14日間) を3セット行うことで薬剤誘導性大腸がんモデルマウスを確立した。*P.g* および *P.i* はカルボキシメチルセルロースに懸濁し、実験期間にわたり3日に1回の頻度で  $1 \times 10^9$  CFU ずつフィーディングニードルを用いて経口投与した。大腸がんの重症度は、ポリープ数測定および腸管組織の免疫染色 (PCNA・ $\beta$ -catenin) にて評価した。*in vitro* においては、ヒト腸管上皮細胞株 (Caco-2) に対する *P.g* もしくは *P.i* の付着能を adhesion assay にて検討した。LAM および MAM の解析は、マウス腸管内容物もしくは腸管粘膜スワブから DNA を抽出後、16SrRNA アンプリコンシーケンス解析を行った。また抽出した DNA を用いて、*P.g* もしくは *P.i* に対する特異的プライマーによる conventional PCR を行った。ヒト臨床検体は、新潟大学医歯学総合病院消化器内科を受診し、大腸腺腫に対する内視鏡的切除手術予定の患者から採取した LAM と MAM から DNA を抽出し、16SrRNA アンプリコンシーケンス解析および *P.g* もしくは *P.i* に対する特異的プライマーを用いた real-time PCR を行った。

[結果と考察] *in vivo* において、*P.g* 投与群では Sham 群と比較してポリープ数および PCNA・ $\beta$ -catenin 陽性細胞の有意な増加を認め、*P.g* 投与が大腸がんを重症化させることが示唆された。菌叢解析では  $\alpha$  多様性については顕著な差異は認めなかったが、 $\beta$  多様性については LAM と MAM の間に異なる傾向を認めた。また *P.g* 投与群では、LAM と MAM の双方で *Porphyromonadaceae* 細菌群の占有率が Sham 群と比較して有意に高く、conventional PCR においては *P.g* が LAM よりも MAM で多く検出された。ヒト臨床検体における real-time PCR においても *P.g* は LAM よりも MAM での検出が多い傾向を認め、*P.g* が腸管粘膜表面へ移行しやすいことが示唆された。さらに *in vitro* での adhesion assay において、*P.g* は *P.i* と比較して Caco-2 への付着能が高いことが確認された。以上の結果から、*P.g* が大腸がんを重症化させること、またそのメカニズムとして *P.g* の腸管粘膜面への高付着力の関与が示唆された。

[謝辞] 臨床検体採取においては、新潟大学医歯学総合病院消化器内科 寺井崇二先生、佐藤裕樹先生、高橋一也先生、中島尚先生に多大なご協力を頂きました。この場を借りて御礼申し上げます。

本研究は、新潟大学動物実験倫理委員会 (承認番号: SA01375) および新潟大学における人を対象とする研究等倫理審査委員会 (承認番号: 2021-0229) の承認を得ている。

## Metal-Phenolic Networks 操作 Symbiosis 細菌群を用いた細菌叢移植技術の開発研究

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野<sup>1</sup>

○中島麻由佳<sup>1</sup>, Yan Chunyang<sup>1</sup>, 柳川万由子<sup>1</sup>, 多部田康一<sup>1</sup>

### Transplantation of Metal-Phenolic Networks Engineered Symbiotic Oral Microbiota

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences<sup>1</sup>

○Mayuka Nakajima<sup>1</sup>, Yan Chunyang<sup>1</sup>, Mayuko Yanagawa<sup>1</sup>, Koichi Tabeta<sup>1</sup>

#### 【研究背景および目的】

近年、歯周病の病因として病変部局所の Dysbiosis (病原性の高い細菌叢) が認知された。Symbiosis (病原性の低い細菌叢) の獲得には積極的な細菌叢への介入が必要であるが、現治療体系では細菌除去後の介入がなく、容易に Dysbiosis へ後戻りすることが課題である。本研究では、Dysbiosis 除去と同時に患者個人の健全歯周組織由来の Symbiosis 構成細菌群を移植し、Symbiosis を即時獲得させる新規治療技術開発を目的とする。Symbiosis 構成細菌群が着着するためには Dysbiosis 除去に用いる抗菌剤存在下でも生存可能なストレス耐性を獲得する必要がある、その為の細菌体操作として、最新の生体工学技術である Metal-Phenolic Networks (MPN) の応用による細菌体表面へのナノ被膜 (ナノプロテクター) 形成技術について報告する。

#### 【材料および方法】

*Streptococcus mitis* ATCC903 をモデル細菌として使用した。MPN ナノプロテクターの形成は、細菌懸濁液へタンニン酸 (5mg/mL, 50 $\mu$ L) と塩化鉄(III)六水和物 (1.25mg/mL, 50 $\mu$ L) を添加し、混和後、さらに PBS (300 $\mu$ L) を添加し行った。細菌体表面への MPN ナノプロテクターの形成を透過型電子顕微鏡 (TEM) と共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) にて観察した。MPN ナノプロテクターの *S. mitis* への毒性を増殖曲線の測定及び Live/Dead 染色にて確認した。また、MPN 処理された *S. mitis* (MPN-*S. m*) のヒト歯肉上皮細胞株 epi4 に対する毒性を MTT 試験した。さらに、MPN-*S. m* の各種抗菌剤 (クロルヘキシジングルコン酸塩、ミノサイクリン塩酸塩、及びオキシテトラサイクリン塩酸塩) への耐性能をコロニー形成単位 (CFU) の測定により評価した。

#### 【結果と考察】

*S. mitis* 表面上における均一な MPN ナノプロテクターの形成が確認された。MPN-*S. m* は、未処理細菌と比較して培養開始 6 時間までは増殖数が低かったが、9 時間以降では有意差がなく同程度増殖した。また Live/Dead 染色の結果、MPN 処理による有意な細菌生存率の低下は認められず、これらの結果から MPN ナノプロテクターは *S. mitis* へ有害な影響を及ぼさないことが示された。また、MTT 試験の結果、MPN-*S. m* 添加による epi4 に対する毒性は認められなかった。さらに、いずれの抗菌剤処理においても MPN-*S. m* は、未処理細菌と比較して有意に高い生存率を保持することが確認された。

#### 【結論】

MPN ナノプロテクターの形成により、口腔細菌が抗菌剤へのストレス耐性を獲得することが明らかとなった。MPN ナノプロテクター形成技術を Symbiosis 構成細菌群の移植治療へ応用できる可能性が示唆された。

## 高グルコース条件下培養がヒト歯肉由来血管内皮細胞に及ぼす影響

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

○川上 惇<sup>1</sup> 丸山昂介<sup>2</sup> 鈴木亮太郎<sup>1</sup> 八板直道<sup>1</sup>  
佐藤遥香<sup>1</sup> 鈴木優矢<sup>1</sup> 両角祐子<sup>2,3</sup> 佐藤 聡<sup>1,2,3</sup>

### Effects of high glucose condition on human gingival endothelial cells

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  
○Sunao Kawakami<sup>1</sup>, Kosuke Maruyama<sup>2</sup>, Ryotaro Suzuki<sup>1</sup>, Naomichi Yaita<sup>1</sup>,  
Haruka Sato<sup>1</sup>, Yuya Suzuki<sup>1</sup>, Yuko Morozumi<sup>2,3</sup>, Soh Sato<sup>1,2,3</sup>

### 【緒言】

血管内皮細胞は、血管の内腔を被覆しており、血管の恒常性の維持や炎症時の細胞間接着因子の制御などの役割を担っている。歯周組織にも微小血管は豊富に存在し、ヒト歯肉由来血管内皮細胞 ( human gingival endothelial cells : HGEC ) やヒト歯根膜由来血管内皮細胞 ( human periodontal ligament endothelial cells : HPDLEC ) は生体防御機構の一つとして機能している。近年、歯周炎は、心血管疾患や糖尿病などの全身疾患と関連すると報告されており、特に糖尿病と歯周炎の双方向の関係性は重要視されている。糖尿病は、毛細血管の萎縮と血管新生の不全を引き起こすことで、微小血管障害を生じるといわれていることから、歯周組織の微小血管にも影響を与えることが考えられる。われわれは、高血糖状態を想定した高グルコース条件下において、HPDLEC の細胞増殖の抑制および細胞間接着因子の発現量が増加することを明らかにし、高グルコースは歯周組織においても、血管新生不全や、炎症反応および免疫反応へ影響を及ぼしている可能性を示した。しかし、高グルコース条件下での HGEC への影響は、十分な検討がされていない。そのため本研究は、HGEC を高グルコース条件下で培養した際の、細胞増殖および細胞間接着因子について検討を行った。

### 【材料および方法】

細胞は、治療上の理由により抜去された歯に付着した歯肉を獲得し、培養を行った。培養した歯肉細胞から、抗 CD31 抗体コーティング・マグネットビーズ ( Dynabeads® CD31 Endothelial Cell : Invitrogen, CA, USA ) を用いて、HGEC を分離した。分離した HGEC を培養し、細胞増殖および細胞間接着因子 ( intercellular adhesion molecule 1 : ICAM-1, vascular cell adhesion molecule 1 : VCAM-1 ) について検討を行った。培養条件は、グルコースを添加していない培地 ( control ), グルコースを添加した培地 ( 5.5mM, 11.0mM, 22.0mM ) とした。細胞増殖は、HGEC を  $1.5 \times 10^3$  cells / well に調整し、96 well plate に播種した。各培養条件にて培養を行い、培養 1, 2, 4, 6, 8 日目に Alamar Blue™ Cell Viability Reagent ( Thermo Fisher Scientific, CA, USA ) を用いたミトコンドリア還元染色を行い、蛍光度測定にて細胞増殖の検討を行った。細胞間接着因子の検討は、HGEC を  $1.5 \times 10^5$  cells に調整し、60mm Dish に播種した。各条件で培養した HGEC を培養 2, 6 日に回収し、Real-time PCR にて細胞間接着因子の発現を検討した。本研究は、日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った ( 許可番号 : ECNG-H-163 )。

### 【結果および考察】

HGEC の細胞増殖は、経目的に増加を示し、培養 1, 2 日目では control とグルコースを添加した培地との間に有意な差を認めなかった。4 日目以降は、高グルコース条件下において増殖の抑制を認めた。細胞間接着因子は、ICAM-1, VCAM-1 とともに遺伝子発現量が経目的に増加する傾向を認めた。

本研究結果から、高血糖状態は歯周組織の血管内皮細胞に影響を及ぼし、歯周炎の病態を進行させる可能性が示された。

## バイオフィルムに対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による 抗菌光線力学療法の殺菌効果

愛知学院大学歯学部 歯周病学講座<sup>1</sup>、歯内治療学講座<sup>2</sup>

○小野皓大<sup>1</sup>、岩村侑樹<sup>1</sup>、樋口直也<sup>2</sup>、大野祐<sup>1</sup>、西田英作<sup>1</sup>、菊池毅<sup>1</sup>、三谷章雄<sup>1</sup>、林潤一郎<sup>1</sup>

Bactericidal effect for periodontal biofilm by aPDT with ICG nanosphere and diodelaser  
Departments of Periodontology<sup>1</sup>, and Endodontics<sup>2</sup>, Scool of Dentistry, Aichi Gakuin University  
○ONO Kota<sup>1</sup>, IWAMURA Yuki<sup>1</sup>, HIGUCHI Naoya<sup>2</sup>, OHNO Tasuku<sup>1</sup>, NISHIDA Eisaku<sup>1</sup>,  
KIKUCHI Takeshi<sup>1</sup>, MITANI Akio<sup>1</sup>, HAYASHI Jun-ichiro<sup>1</sup>

【目的】歯周治療において、根分岐部や深い歯周ポケットなどに対して機械的除去単独ではバイオフィルムを完全に  
取り除くことは困難であり、化学的療法では保護作用によりバイオフィルム中の細菌には薬剤が浸透しにくい  
ため効果が得にくい。一方、レーザーによるポケット内細菌の殺菌方法として、抗菌光線力学療法 (aPDT) の有効性が  
報告されている。

我々は、光感受性物質としてインドシアニンググリーンを封入し、キトサンコーティングしたポリ乳酸のナノ粒子と  
半導体レーザー (810nm) を用いた aPDT の方法を考案し、研究を重ねてきた。これまでに浮遊細菌への殺菌効果  
および実際の歯周ポケットにおける殺菌効果を確認したが、バイオフィルムについては、明確な基礎研究のデータが  
なかった。そこで今回、歯面初期定着細菌の一つである *Streptococcus gordonii* (以下 S. g.) と歯周病原細菌の一つ  
である *Porphyromonas gingivalis* (以下 P. g.) の2菌種複合バイオフィルムにて殺菌効果を確認したため報告を行う。

【方法】吸光度計 (600nm) を用い OD=0.1 に調整した P. g. と S. g. の菌液を 96 ウェルプレートの各ウェルに注  
入し、嫌気状態にて3日培養したものを単一バイオフィルムとして使用した。また、複合バイオフィルムについては、  
S. g. 菌液 (OD=0.01) を各ウェルにて嫌気状態にて1日培養し、S. g. 菌液の除去後、P. g. 菌液 (OD=0.4) を注入し2日  
培養を行い、P. g. 菌液の除去したものを用いた。

歯周ポケット内照射モデルとして、バイオフィルム上にナノ粒子を添加後、半導体レーザー (LIGHTSURGE  
SQUARE、オサダ社) の照射 (ピーク出力 0.7W, duty cycle 50%, 間欠照射 60 秒照射ごとに 10 秒休止) を試料より  
10mm 上方から単一バイオフィルムに対し1分、複合バイオフィルムに対しては1分、3分、5分行った。照射後、  
段階希釈を行った菌液を寒天培地に播種した。培地を 37°C、嫌気状態にて培養し、コロニーカウントによる生菌数測  
定を行った。評価項目は、コントロール群、レーザー群 (バイオフィルムにナノ粒子を添加せずレーザー照射を行っ  
た群)、ナノ粒子群 (バイオフィルムにナノ粒子を添加したがレーザー照射を行わなかった群) と aPDT 群 (バイオ  
フィルムにナノ粒子を添加しレーザー照射を行った群) の比較による生菌数の減少率とした。

歯周ポケット外照射モデルとして、単一、複合バイオフィルムとともに歯肉モデル (3mm の牛肉片) を 96 ウェル  
プレートの上のせ、歯肉モデルより 10mm 上方、ピーク出力 2.0W、エアブロー冷却 (2.0L/min) 下に変更し間  
欠照射を行った。照射後は歯周ポケット内照射と同様に生菌数測定を行い、減少率を算出した。

【結果】コントロール群と aPDT 群の生菌数の比較を行ったところ、歯周ポケット内照射モデルにおいて、P. g. 単  
一バイオフィルム、S. g. 単一バイオフィルム共に、93%以上の生菌数の有意な減少を認めた。複合バイオフィルムで  
は、P. g. 生菌数、S. g. 生菌数ともに 90%以上の有意な減少を認めた。さらに歯周ポケット外照射モデルにおいても、  
歯周ポケット内照射モデルと同様に、P. g. 単一バイオフィルム、S. g. 単一バイオフィルム共に aPDT 群で、90%以上  
の有意な減少を示した。また、複合バイオフィルムでは、aPDT 群で 90%以上の有意な生菌数減少を示したが、レ  
ーザー群・ナノ粒子群では有意な減少は認められなかった。

【考察】今回の基礎研究により、単一バイオフィルムよりも実際の構造に近い複合バイオフィルムにおいても、半  
導体レーザーとインドシアニンググリーン封入ナノ粒子を用いた aPDT の有効性が確認された。

## 歯根膜組織由来細胞は培養骨芽細胞の骨形成を抑制する

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野

○小林典加、西田伊織、門倉弘志、横瀬敏志

### Periodontal ligament cells inhibit the bone formation of cultured osteoblastic cells

Division of Endodontics and Operative Dentistry,

Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry

○KOBAYASHI Norika, NISHIDA Iori, KADOKURA Hiroshi, YOKOSE Satoshi

【目的】歯根膜組織は歯根表面のセメント質と歯槽骨の間に存在し、直接的な結合（アンキローシス）を抑制する機能を有する。すなわち歯根膜組織には骨代謝を制御していることは十分に考えられる。

近年、矯正力負荷時に歯根膜組織由来細胞（PDL）から sclerostin が分泌され、骨細胞の機能を制御すると報告された。しかし骨形成における PDL の詳細な機能は不明である。臨床的にも根尖性歯周炎や歯周病の治療における歯周組織再生療法において歯根膜細胞の骨代謝に対する作用は重要な要因となる。

このような背景のもと、本研究では PDL が骨芽細胞にどのような影響を与えているかを調べるために、ラットの歯根表面から分離した PDL とラット頭蓋骨由来骨芽細胞培養系を用いて解析したので報告する。

【材料と方法】本研究は、明海大学実験動物倫理委員会の承認（A2035）を得て行なった。実験動物は8週齢の雌SDラット8匹を用いた。

細胞分離:骨芽細胞は Yokose らの方法に従い、頭蓋骨を摘出後トリプシンコラゲナーゼ酵素液を用いて分離した。PDL は、Kadokura らの方法を応用し、ラット下顎臼歯を抜歯後、ディスパーゼ酵素液にて分離し用いた。

細胞培養:PDL を 10cm シャーレに播種し 10% 仔牛血清を含む  $\alpha$  MEM にて培養した。2日ごとに 10cm シャーレより上清を回収し新鮮な 10% 仔牛血清を含む  $\alpha$  MEM と 1:1 の割合で混合し conditioned medium として骨芽細胞の培養に用いた。また対照群として細胞の入っていない 10cm シャーレに 10% 仔牛血清を含む  $\alpha$  MEM を入れ静置し同様の方法にて conditioned medium を調整し用いた。

骨芽細胞は 6 穴プレートに播種したのち、PDL の conditioned medium (PDL 群) および対照群 (CONT 群) をそれぞれ 2 日ごと作用させ 3 週間培養を行った。全群の骨芽細胞の培地に石灰化分化誘導を行なった。

観察:骨芽細胞は培養 3 週目にアルカリフォスファターゼ染色および von Kossa 染色を行い形態学的に観察した。また培養した骨芽細胞からトータル RNA を抽出後、cDNA を作製し、Real-time PCR により骨芽細胞の骨代謝に関わるマーカーである *Alp*, *Bgp*, *Wnt* シグナルに関わる *Axin*, *Lef-1* および増殖マーカーである *Ki67* の遺伝子発現を探索した。加えて conditioned medium に使用した PDL と比較のために皮膚由来の線維芽細胞から同様の方法で Real-time PCR により骨代謝に関わる *Sost*, *Fgf2*, *Wnt1*, *Wnt5a*, *Ectodin* の mRNA の遺伝子発現を探索した。

【結果と考察】培養骨芽細胞の ALP 染色および von Kossa 染色の結果から、CONT 群では石灰化結節を認めたが PDL 群では石灰化結節をほとんど認めなかった。さらに、骨芽細胞のリアルタイム PCR の結果から、PDL 群は Cont 群と比較して *Bgp* および *Axin2* の遺伝子発現が有意に抑制していた。*Alp*, *Lef1*, *Ki67* に関しては全群で差は見られなかった。

また培養 PDL および線維芽細胞の遺伝子発現を見ると、PDL は線維芽細胞と比較して *Sost*, *Wnt5a*, *Fgf2*, *Ectodin* の遺伝子発現が亢進しており、*Wnt1* の遺伝子発現は抑制されていた。

*Sost*, *Wnt5a*, *Fgf2*, *Ectodin* は骨形成を抑制する分泌タンパク質として知られており、また *Wnt1* は骨形成を促進する分泌タンパク質として知られている。これらの結果から、培養 PDL は骨形成を抑制する様々な分泌タンパク質を産生し、骨芽細胞の骨形成を抑制する可能性が考えられる。すなわち PDL によって骨形成や骨吸収が制御されている可能性が示唆された。

【結論】PDL はカノニカル Wnt シグナル経路を抑制する sclerostin を発現し、骨細胞だけでなく PDL も骨形成を制御することが示唆された。

## 審美的歯冠色に対する肌の色と状態の影響

<sup>1</sup>九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

<sup>2</sup>九州歯科大学歯学部歯学科

○鷺尾絢子<sup>1</sup>, 阿部美月<sup>2</sup>, 金田彩花<sup>2</sup>, 小崎颯太<sup>2</sup>, 北村知昭<sup>1</sup>

### Effects of skin color and skin condition on aesthetic tooth crown color

<sup>1</sup>Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,

<sup>2</sup>School of Dentistry, Faculty of Dentistry,

Kyushu Dental University

○WASHIO Ayako<sup>1</sup>, ABE Mizuki<sup>2</sup>, KANADA Ayaka<sup>2</sup>, KOZAKI Sota<sup>2</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

#### 【目的】

歯の治療では機能性と審美性の回復が共に強く求められており、疼痛除去、感染・炎症の除去、機能回復に加え、審美的満足が得られて患者は心身共に健康な状態を取り戻す。歯の審美的要素の1つである「歯冠色」に対して不満を感じている患者は多く、「白い歯」になることでポジティブな心理状態になることが報告されている(西村ら, 2006)が、歯冠色を単純に白色にすれば顔貌の審美性が向上するとは言えない。顔貌の審美性は歯冠色だけで決定されず顔全体の調和によって影響を受け、同様に、歯冠色は肌の色、加齢による肌の状態(皺など)、口唇・目・髪の色に影響を受ける。しかしながら現状では、個々の患者顔貌に適した歯冠色を決定するのに有用な判断基準はない。本研究の目的は、審美的な歯冠色に対する認識、および肌の色・状態と調和のとれた歯冠色の認識について調査し、肌の色と状態が歯冠色の審美性に及ぼす影響を明らかにする上での基盤を構築することである。

#### 【方法】

本研究の主旨などに理解と同意を得た九州歯科大学教員・医員・研修医・職員・大学院生・学部学生・九州歯科大学附属病院保存治療科を受診した患者の368名を対象とした(九州歯科大学倫理委員会 承認番号; 23-13, 23-18)。

〈方法1〉審美的な歯冠色の認識を明らかにするために、明度で並べたVITA classical shade (VITA社)を用いて、対象者に「美しい」歯冠色と「白い」歯冠色の調査を行った。

〈方法2〉photo AC (AI人物素材ベータ版)の実在しない人物のフリー素材画像を使用し、Photoshopで肌の色(明度)・状態(20代~80代相当の肌状態)と歯冠色(方法1で最も回答率が多い「美しい」歯冠色と「白い」歯冠色)を加工した。肌の色・状態と調和のとれた歯冠色の認識を明らかにするため、加工した画像を示し、肌の色・状態と歯冠色の調和がとれているものの調査を行った。

#### 【結果】

調査対象者の内訳は、性別は男性46.7%・女性53.3%、年代は10代5.7%・20代54.1%・30代16.6%・40代12.8%・50代8.4%・60代1.9%・70代0.5%、職業は歯科医師33.4%・歯科衛生士4.6%・22.6%・歯科医師を除く教員1.9%・医療関係者4.9%・歯学部学生47.3%・その他7.9%であった。

〈結果1〉美しい歯冠色として「C1」を、白い歯冠色として「B1」を回答する割合が多かった。

〈結果2〉美しい歯冠色「C1」相当色に対しては標準的な肌の色を、白い歯冠色「B1」相当色に対しては明度の高い肌の色を調和がとれていると回答する割合が多かった。また、肌の色は同じであっても、美しい歯冠色「C1」相当色に対しては60代相当の肌状態を、白い歯冠色「B1」相当色に対しては20代相当の肌状態を調和がとれていると回答する割合が多かった。

#### 【考察】

今回の結果より、「白い」歯冠色が「美しい」歯冠色であるとは限らないこと、「肌の色・状態」は審美的な歯冠色の選択に重要な要素となることが示唆された。

#### 【結論】

患者の審美的QOLの向上において、歯科医療専門職は個々の肌の色・状態と調和のとれた歯冠色を患者へ提示する必要がある。

## 弱アルカリ性美白歯磨剤におけるホワイトニング後の歯質強化の評価

株式会社ジーシー

○佐藤 亜紀, 有馬 恵美子, 佐藤 拓也

### Evaluation of tooth structure strengthening after whitening with weak alkaline whitening toothpaste

GC CORPORATION

○Aki Sato, Emiko Arima, Takuya Sato

#### 【目的】

ホワイトニングは過酸化物を含有した製剤によって歯の表面および内部の着色物質を分解するため、歯質を切削することなく歯を漂白することが可能である。ホワイトニング後の歯面は表層のペリクルや有機物が除去され、着色物質が沈着しやすくなることや、耐酸性が低下することが知られている。一方で、ホワイトニング後はフッ化物イオンを取り込みやすい状態となることから、安定したアパタイトの形成を促し、歯質強化の効果が期待できるとも言われている。本研究では、MFP（モノフルオロリン酸ナトリウム、フッ化物イオンとして1,450 ppm）を配合した弱アルカリ性の美白歯磨剤（SG71）がホワイトニング後の歯面に与える歯質強化能について評価することを目的とした。

#### 【材料と方法】

比較対照試料はMFP（フッ化物イオンとして950 ppm）が配合されている、ルシエロ歯みがきペースト ホワイト（RW, GC Corporation）とし、陰性対照試料は蒸留水（D.W.）とした。牛エナメル質を包埋した試験片を耐水研磨紙#1200まで研磨し、0.25 μmのダイヤモンドペーストを用いて鏡面研磨した。牛歯試験片は3領域に分割し、各被験材料を同一の牛歯内で評価した。試験前のビッカース硬さを測定した。歯科用漂白材はティオン オフィス（GC Corporation）を用い、照射器はG ライトプリマII Puls（GC Corporation）を使用した。ホワイトニング処置はティオン オフィスの使用方法に従い、1分間の照射後11分静置を3サイクル繰り返した。ホワイトニング後のビッカース硬さを測定した。各歯磨剤を塗布し37℃恒温槽中で16時間静置した。歯磨剤を水洗し、試験後のビッカース硬さを測定した。試験後のビッカース硬さについて統計処理を行いTukey-Kramerの検定にて有意差検定を行った（N=6）。

#### 【結果と考察】

牛エナメル質の硬さは試験前259.8±20.0 HVであったが、ホワイトニング直後は249.0±21.3 HVとなり、わずかに低下した。Fig. 1に試験後のビッカース硬さを示す。D.W.への浸漬後、硬さに変化は見られなかったが（247.1±9.1 HV）、RW及びSG71の塗布によりエナメル質の硬さは向上した（RW：300.1±10.3 HV、SG71：320.4±9.6 HV）。また、SG71塗布後の硬さはD.W.浸漬後、RW塗布後より有意に高いことが認められた（p<0.05）。ホワイトニング後はエナメル質表層の有機物等が除去されフッ化物イオンが取り込まれやすくなったことに起因し、フッ化物配合歯磨剤の塗布後は歯質が強化されたと考察した。また、フッ化物イオン濃度が高いSG71はRWよりもさらに歯質を強化したと考えられた。

#### 【結論】

今回評価した弱アルカリ性美白歯磨剤は、ホワイトニング直後のエナメル質に対して、フッ化物イオンを効率的に供給し、歯質を強化することが示唆された。さらにフッ化物イオン濃度が高いSG71は、RWよりもホワイトニング後の使用により適していると考えられた。

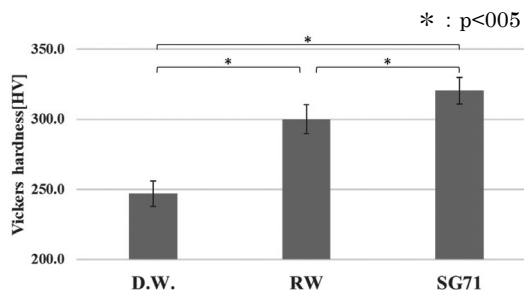


Fig.1 Vickers hardness test results

## PTC ペーストと歯磨剤の組み合わせの効果について

株式会社ジーシー

○扇 悠輔, 横沼 久美子, 有馬 恵美子, 佐藤 拓也

### Effectiveness of the combination of PTC paste and toothpaste.

GC Corporation

○Yusuke Ohgi, Kumiko Yokonuma, Emiko Arima, Takuya Sato

#### 【研究目的】

多くの患者がステインケアや歯面の白さを望んでおりプロフェッショナルケア（以下プロケア）は重要である。しかし、ステインの沈着具合に応じてプロケアに要する時間が増加することで、う蝕や歯周病へのメンテナンス時間の減少につながることが考えられる。本研究では、新規に開発した弱アルカリ性美白歯磨剤（SG71）を用いて、プロケアとセルフケアアイテムの組み合わせがステインの沈着性に与える影響について評価した。

#### 【材料および方法】

使用材料：組み合わせ A (PTC レギュラー (GC) +ルシエロペースト (GC)),  
組み合わせ B (PTC ペースト ルシエロホワイト (GC) +SG71 (1450ppmF))

試験方法：牛歯包埋体を作製し、耐水研磨紙 #120, #320, #600, #1000, #1500  
で研磨した (N = 8)。研磨した牛歯包埋体を Table 1 に示す順番で試験を行った。  
各試験条件は Phase 1 にて 37 °C の紅茶溶液に 66 時間浸漬し着色した。Phase 2

では PTC カップ II (GC) を用いて回転数 1000 rpm で 30 秒間の PTC を実施した。Phase 3, 5, 7, 9 では 37 °C の紅茶溶液で 21 時間浸漬し再着色した。Phase 4, 6, 8 では歯磨剤の 3 倍希釈懸濁液で 1000 往復ブラッシングをした。各 Phase 終了時に分光測色計 CM-700d (コニカミノルタ社製) で測色し,  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  を記録した。Phase 2 を基準としてそれ以降の Phase 3 ~ 9 との色差  $\Delta E^*ab$  を算出した。また, Phase 3 以降の歯面の白さについて下記式 (1) を用いて白さの指標である Whiteness ( $W^*$ ) を算出した。 $W^*$  は数値が高いほど白いことを示す。検定には対応の無い t 検定を用いた。

$$W^* = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad \dots (1)$$

#### 【結果および考察】

Fig. 1 より B は Phase 5 ~ 9 において色差が有意に小さくなった。これは、PTC 以降の歯面の色変化が小さいことを示しており、B は A よりも再着色しにくいと推察した。Phase 3 より A, B 間の色差に有意性がないことから、PTC 後の歯面に対するステインの沈着性に差が無いと考えられた。Fig. 2 より Phase 4 では有意差が見られない。しかしながら、その後の着色とブラッシングを繰り返す過程で B の  $W^*$  は一定を保っているのに対し、A の  $W^*$  は徐々に低下した。特に、Phase 8, 9 の B において  $W^*$  は有意に高かった。以上の結果より歯磨剤の繰り返し使用によって B では一定の白さをキープでき、A ではステインを落としきれないために沈着性が高くなることが示唆された。これは、新規に開発した弱アルカリ性美白歯磨剤 (SG71) に高濃度に配合した微細炭酸カルシウムの清掃剤が効率良く歯面のステインを除去しているためだと考えられた。

#### 【結論】

PTC ペースト ルシエロホワイトと新規に開発した弱アルカリ性美白歯磨剤 (SG71) の組み合わせでは、ステインの沈着を抑制し歯面の白さをキープする性能が確認できた。これにより日常的に本歯磨剤を使用することで次回来院時のプロケアでのステイン除去時間の短縮が期待できると考えられた。

Table 1. Order of experiments.

Order	Operation	Order	Operation
Phase 1	Staining	Phase 6	Brushing
Phase 2	PTC	Phase 7	Re-staining
Phase 3	Re-staining	Phase 8	Brushing
Phase 4	Brushing	Phase 9	Re-staining
Phase 5	Re-staining		

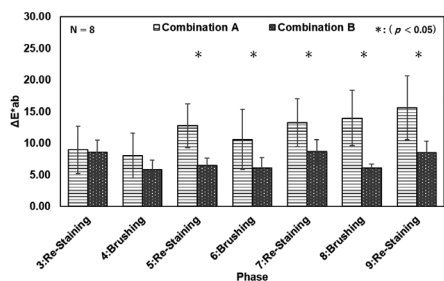


Fig.1. Color difference for each Phase compared to Phase 2.

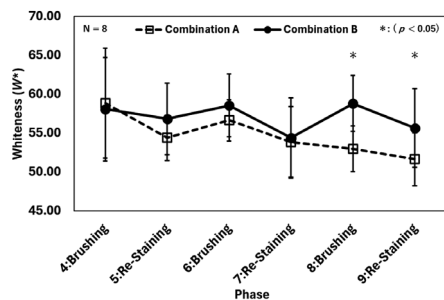


Fig.2. Whiteness results for each phase in this study.



## 高校学校歯科検診結果と生活習慣に関するアンケート調査

福岡歯科大学 総合歯科学講座<sup>1)</sup>、福岡歯科大学医科歯科総合病院健診センター<sup>2)</sup>、  
福岡歯科大学 口腔治療学講座<sup>3)</sup>、福岡歯科大学 社会歯科学講座<sup>4)</sup>

○畠山 純子<sup>1,2)</sup>、吉永 泰周<sup>2,3)</sup>、松崎 英津子<sup>2,3)</sup>、谷口 奈央<sup>2,4)</sup>、大城 希美子<sup>2,3)</sup>、米田 雅裕<sup>1,2)</sup>

### Questionnaire survey regarding high school dental examination results and lifestyle habits

<sup>1)</sup>Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College, <sup>2)</sup>Medical Examination Center, Fukuoka Dental College Medical and Dental Hospital, <sup>3)</sup>Department of Odontology, Fukuoka Dental College, <sup>4)</sup>Department of Preventive and Public Health Dentistry, Fukuoka Dental College.

○Junko Hatakeyama<sup>1,2)</sup>, Yasunori Yoshinaga<sup>2,3)</sup>, Etsuko Matsuzaki<sup>2,3)</sup>  
Naoh Taniguchi<sup>2,4)</sup>, Kimiko Ohgi<sup>2,3)</sup>, Masahiro Yoneda<sup>1,2)</sup>

#### 【目的】

学校歯科検診により、幼児期から高校生までは歯科健診義務期間であり、口腔衛生の重要性の啓発の機会がある。口腔の衛生状態と全身の健康の間には密接な関連のあることが知られており、継続した口腔衛生の習慣付けは非常に重要である。福岡歯科大学医科歯科総合病院健診センターでは、2020年度より毎年福岡市近郊の私立高校にて、全校生徒約2000人の学校歯科検診を実施し、結果を個人宛に送付して歯科治療の啓発活動を行っている。歯科検診所見や口腔保健・生活習慣病に関連するアンケート調査結果の経年的データベースの構築と経時的変化の評価により、幼少期からのシームレスな口腔保健の確立が、成人や高齢者の生涯にわたるヘルスプロモーションに繋がることを目的とする。

#### 【方法】

福岡県内の私立高等学校の2020年度1年生(666人)、2021年度2年生(655人)、2022年度3年生(644人)に歯科検診および質問紙調査を行った生徒のうち、同意を得たものを対象とした。ただしデータに不備のあったものを解析対象から除いた。2020年5月および2021年8月の高等学校において学校歯科医会の基準により「未処置歯、処置歯、要注意歯の合計」「永久歯喪失歯」「歯列・咬合・顎関節の状態」「歯垢の有無」について歯科健診を実施した。検診受診者のうち同意を得られた生徒に対して検診当日に質問紙により「歯磨き回数」「歯磨き時間」「歯ブラシ交換頻度」「フロス・歯間ブラシの使用」について調査を行った。倫理的配慮として、福岡学園倫理審査委員会の審査を受け、許を得て行った(許可番号 第548号)。

#### 【結果】

歯科検診の結果からは、「未処置歯、処置歯、要注意歯の合計」は学年が上がるごとに増加し、特に右上第2大臼歯では1年次約16%、2年次約25%、3年次約38%であった。「未処置歯」は3年間で全体的に大きな変化はなかったものの、5本以上未処置歯を持つ割合がやや増加していた。「処置歯」は5本以上の処置歯を持つ割合が、1年次8.5%、2年次10.2%、3年次16.3%と増加していた。「永久歯喪失歯」は1本喪失したものが1年次1.4%、2年次1.7%、3年次0.7%であり、4本喪失したものが1年次0.5%、2年次0.6%、3年次3.3%と増加していた。「歯列・咬合・顎関節の状態」はスコア2(要精密検査)が1年次1.1%、2年次4.5%、3年次5.1%であった。「歯垢の有無」はスコア1(若干付着)とスコア2(相当量付着)の合計が1年次25.1%、2年次25.8%、3年次22.5%と若干減少していた。「歯磨き回数」は3年間で回数が増加していた。「歯磨き時間」は3年間で5分未満が減少していた。「歯ブラシ交換頻度」は3ヶ月以内に交換する割合が増えていた。「フロス・歯間ブラシの使用」は使用しているが3年間ともに20%前後であり、変化がなかった。

#### 【考察】

高校生までは学校歯科健診が義務付けられているが、高校卒業後になると自発的な定期歯科受診は低下し、口腔衛生の維持は、本人の自覚とそれまでに培われた口腔衛生習慣に依存している。学校保健安全法で定められた高校生の歯科検診受診をさらに効果あるものにするため、アンケート調査による意識づけとその後のフィードバックを行った。1年生から3年生次の処置歯数が増加していることから、歯科医院を受診しう蝕の治療を受けていることが示唆された。しかし未処置歯が5本以上は増加していることから、結果の通知だけでは不十分であり、より積極的な口腔保健指導が必要なが示唆された。今後も啓発活動を継続する必要があると考える。

【謝辞】本研究はJSPS科研費22H03407の助成を受けたものである。

【学会外共同研究者】樗木晶子、濱中一平、堤 貴司、谷口祐介

## 化学療法関連口腔粘膜炎に対する $\beta$ -cry の効果について

<sup>1)</sup>京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学

<sup>2)</sup>宇治徳洲会病院 歯科口腔外科

○大迫文重<sup>1)</sup>、山本俊郎<sup>1)</sup>、足立圭司<sup>1)</sup>、中村 亨<sup>1,2)</sup>、金村成智<sup>1)</sup>

### Effects of $\beta$ -cry on chemotherapy-related oral mucositis

<sup>1)</sup>Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science,

<sup>2)</sup>Department of Oral Surgery Dentistry Uji Tokusyukai Hospital

○OSEKO Fumishige<sup>1)</sup>, YAMAMOTO Toshiro<sup>1)</sup>, ADACHI Keiji<sup>1)</sup>, NAKAMURA Toru<sup>1,2)</sup>, KANAMURA Narisato<sup>1)</sup>

【緒言】  $\beta$ -クリプトキサンチン ( $\beta$ -cry) は、カロテノイドでプロビタミン A として免疫系の成長、発達、維持をサポートする必須栄養素である。 $\beta$ -cry を多く含む食品を長期間摂取すると、ヒトや動物の血中  $\beta$ -cry 濃度が徐々に上昇し、発がん抑制、DNA 修復支援、抗酸化・抗炎症作用、骨粗鬆症や変形性膝関節症予防が報告されている。これまでの研究で、 $\beta$ -cry は *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) による炎症に関して、歯根膜細胞に対して抗炎症作用を持つことが示されている。

また、がん化学療法口腔粘膜炎を予防するためには、口腔衛生と機能の維持・管理が必要とされている。口腔粘膜炎は、5-フルオロウラシル (5-FU) などの化学療法剤による上皮細胞への直接的な障害に加えて、口腔粘膜細胞における活性酸素種 (ROS) の細胞毒性や、NF- $\kappa$ B や MAP キナーゼなどの転写制御因子の活性化による炎症性サイトカインやマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の過剰産生によって引き起こされると考えられている。さらに、化学療法剤により上皮バリアが破壊され、感染症に罹患しやすくなり、口腔内細菌による二次感染や口腔粘膜炎の長期化につながる。口腔粘膜炎の治療は、主に対症療法で対処されているため、持続可能で効果的な予防・治療法が求められている。そこで本研究では、頭頸部扁平上皮癌の化学療法で頻繁に使用され、高い割合で口腔粘膜炎を引き起こす 5-FU および *P. gingivalis* 由来の LPS を用いて、口腔粘膜上皮細胞に対する  $\beta$ -cry の作用を検討した

【材料と方法】 ヒト口腔粘膜由来正常上皮細胞 (hOMK) を播種し 5-FU、 $\beta$ -cry、*P. gingivalis* 由来の LPS を添加した。細胞生存率を WST アッセイで、細胞の増殖と形態は Hoechst33342 で核染色し、倒立蛍光位相差顕微鏡で細胞形態を観察して細胞数をカウントした。また mRNA 発現を quantitative RT-PCR で、培養上清中のサイトカイン (IL-6、IL-8) の産生量を ELISA で、活性酸素の産生量を ROS アッセイで、NF- $\kappa$ B 発現量を NF- $\kappa$ B 活性アッセイ解析でそれぞれ評価した。

【結果】 5-FU 群では、コントロール群と比較して有意に細胞増殖が抑制されたが、 $\beta$ -cry 群では有意な増加を認めた。5-FU 群は、コントロール群と比較して、インターロイキン (IL) -6、IL-8、MMP-2、MMP-9 の mRNA 発現が有意な増加を認めた。一方  $\beta$ -cry 群および 5-FU+ $\beta$ -cry 群では、コントロール群と比較して有意な増加を認めなかった。

また 5-FU+ $\beta$ -cry 群では、5-FU 群と比較して、IL-8 および MMP-9 の mRNA 発現は有意な減少を認めた。さらに、5-FU 群および 5-FU+ $\beta$ -cry 群は、コントロール群と比較して IL-6 および IL-8 産生が有意に増加し、5-FU+ $\beta$ -cry 群では 5-FU 群に比べ IL-8 産生が有意な減少を認めた。5-FU 群および 5-FU+ $\beta$ -cry 群では、コントロール群と比較して ROS 産生が有意に増加したが、5-FU+ $\beta$ -cry 群では 5-FU 群と比較して有意な減少を認めた。また、5-FU 群および 5-FU+ $\beta$ -cry 群では、コントロール群に比べ NF- $\kappa$ B 発現が有意な増加を認めた。

加えて、5-FU+*P.gingivalis* LPS 群では、5-FU 群と比較して IL-6 および IL-8 の産生が有意に増加し、5-FU+*P.gingivalis* LPS + $\beta$ -cry 群は、5-FU+*P.gingivalis* LPS 群と比較して IL-6 産生が有意な減少を認めた。

【結語】  $\beta$ -cry は化学療法による口腔粘膜炎を減弱させる可能性が示唆された。

## 歯科臨床基礎実習時における感染対策操作の評価方法の確立

岡山大学 <sup>1)</sup> 大学院医歯薬学総合研究科, <sup>2)</sup> 学術研究院医歯薬学域 歯周病態学分野,  
岡山大学病院 <sup>3)</sup> 歯科・歯周科部門, <sup>4)</sup> 卒後臨床研修センター 歯科研修部門

○上田 彩華 <sup>1)</sup>, 伊東 有希 <sup>2)</sup>, 畑中 加珠 <sup>3)</sup>, 大森 一弘 <sup>2)</sup>, 山本 直史 <sup>4)</sup>, 高柴 正悟 <sup>2)</sup>

### Establishment of an evaluation method for infection control work in preclinical dental training.

<sup>1)</sup> Department of Pathophysiology-Periodontal Science, <sup>1)</sup> Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,

<sup>2)</sup> Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University,

<sup>3)</sup> Department of Periodontics and Endodontics, Division of Dentistry, Okayama University Hospital,

<sup>4)</sup> Department of Dental Training, Postgraduate Clinical Training Center, Okayama University Hospital

○UEDA Ayaka <sup>1)</sup>, ITO-SHINODA Yuki <sup>2)</sup>, HATANAKA Kazu <sup>3)</sup>, OMORI Kazuhiro <sup>2)</sup>,  
YAMAMOTO Tadashi <sup>4)</sup>, TAKASHIBA Shogo <sup>2)</sup>

#### 【目的】

歯科医療の臨床現場では、米国疾病予防管理センター (Centers of Disease Control and Prevention: CDC) のガイドラインに従って、標準予防策を基盤とした感染対策が行われてきた。近年、新興感染症が社会問題となり、歯科医院における交差感染や感染症の伝播についての懸念から、歯科医療従事者として医療を提供する上で感染予防策が重要である。しかしながら、歯科系学生の感染安全管理に関する意識や実践のレベルを向上させる困難さに直面している現実がある。歯科衛生士養成校において感染安全管理における教育の現状は座学が主体で、感染対策操作に特化した実習は実施されていない。これまでに学生の相互実習を通じた飛沫唾液を検体として汚染程度を評価している報告はあるが、歯科用ファントムを用いた臨床基礎実習における汚染評価に関する報告はない。さらに、飛沫や接触した汚染範囲が視覚的に明瞭化できる方法があると術者や介助者の感染予防策に対する意識づけに有用であると考えられるが、その報告も数少ない。

本研究の目的は、食品を用いた安全な感染対策操作の評価方法を確立し、模型実習において応用することである。基礎研究で感染評価方法の有効性を確認し、臨床研究で対象者にファントム実習を実施し汚染範囲の測定と評価方法が妥当であるかを検討した。

#### 【材料と方法】

##### 1. 基礎研究

市販ヨーグルト中の乳酸菌 ATP 量を、ルミテスター Smart<sup>®</sup> とルシパック A3 Surface<sup>®</sup> を使用して測定した。次いでヨーグルト中の生菌数を寒天培地にて培養し測定した。乳酸菌 ATP 量の測定と同時に視覚的評価もできるように、ヨーグルトと蛍光塗料 (手洗いチェッカー<sup>®</sup>) の混合液を調製し、唾液代用材料として使用した。

##### 2. 臨床研究 (岡山大学倫理審査委員会: 承認番号 #2308-032)

歯科医師 10 名、歯科研修医 10 名、歯学部 5 年生 10 名の計 30 名を対象に、歯科用ファントムの模型実習を実施した。主要評価項目は、手術後のサージカルマスクおよびフェイスシールドの表面の乳酸菌 ATP 量を測定した。副次評価項目は、歯科ユニット周囲の 5 部位の発光の有無を測定した。また、サージカルマスクおよびフェイスシールドの発光箇所面積と接触回数を評価した。

統計解析は、主要評価項目の乳酸菌 ATP 量および副次評価項目の発光面積の 3 群間の差を Kruskal-Wallis 検定を用いて解析した。また、副次評価項目の歯科ユニット周囲 5 項目における発光の有無は、Fisher の正確確率検定を用いて解析した。統計処理には JMP (JMP Japan) を使用して検定を行い、 $p < 0.05$  を有意差ありと判定した。

#### 【結果】

##### 1. 基礎研究

ヨーグルト中の乳酸菌 ATP 量と生菌数の間には正の相関が認められた。またヨーグルトと蛍光塗料との混合液では、乳酸菌 ATP 量と発光程度を同時に確認することができ、混合液はヨーグルトのみの場合と比較しても乳酸菌 ATP 量に変わりがなかった。

##### 2. 臨床研究

主要評価のサージカルマスク表面の乳酸菌 ATP 量は 3 群間で有意な差は認められなかったが、経験年数に応じた乳酸菌 ATP 量の減少が認められた。フェイスシールドでは、3 群間で有意な差があった。副次評価では 5 項目中スツールのみ発光に有意な差があった。サージカルマスクおよびフェイスシールドの接触回数と発光面積では、どちらも 3 群間における有意な差はなかった。

#### 【考察】

本研究の結果から、乳酸菌 ATP と蛍光塗料を混合した唾液代用材料を用いることで、模型実習において歯科ユニット周囲汚染量の評価方法を確立できた。また、考案した感染対策操作の評価方法を用いて実習中の汚染範囲の測定したところ、経験年数による感染対策操作の差が明らかとなった。

本研究によって模型実習での汚染評価が初めて可能となったことから、歯学系学生が基礎実習の段階で医療安全・感染管理への意識向上、さらには自身の行動変容を図ることに活用できる可能性を示唆する。