

垂直歯根破折歯の接着再植法に関する研究
—接着時の条件が接着強さに及ぼす影響について—

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○恩田 康平、初岡 昌憲、鈴木 康一郎、川本 雅行、坂中 幸誠、加茂野 太郎、山本 一世

Study of vertically fractured teeth by adhesion and replantation
Influence of condition at the time of the adhesion for tensile bond strength

Department of operative dentistry, Osaka dental university

○Onda Kohei, Hatsuoka Yoshinori, Suzuki Koichiro, Kawamoto Masayuki,
Sakanaka Kosei, Kamono Tarou, Yamamoto Kazuyo

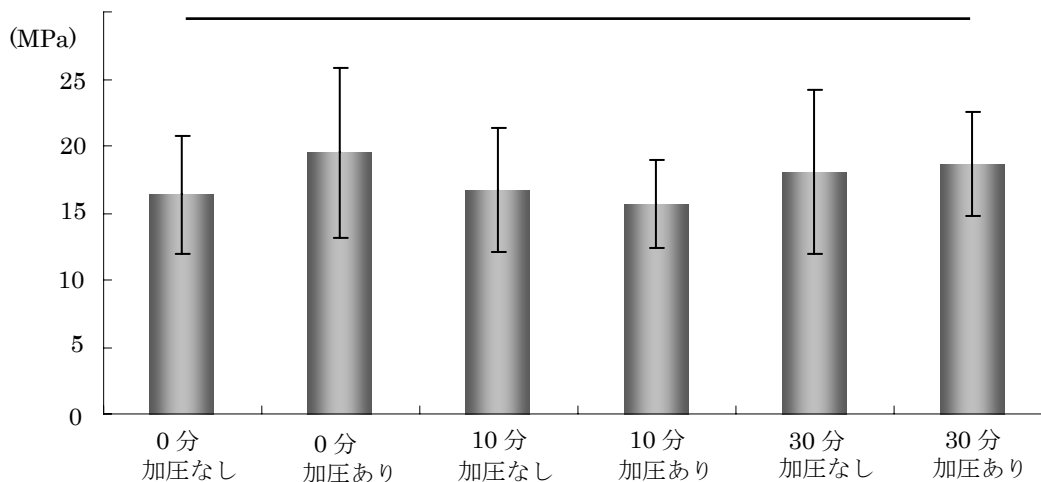
【緒言】

抜歯適応とされてきた垂直歯根破折歯に対して、接着性セメントにて再建を行い、その後再植を行うことにより天然歯を保存することが可能となっている。その場合、歯根膜の状態は再植の予後に影響を与える要因の一つであり、歯根膜の乾燥や傷害を防ぐことが重要とされている。今回我々は、再建時の操作方法が接着強さに及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】

実験には抜歯後冷凍保存した健全なウシ前歯の歯根を使用した。人工的に縦破折させた歯根をティースキーパー-NEO (ネオ製薬工業) にて洗浄し、破折面をスーパーボンド C&B (サンメディカル 以下、SB) を使用し製造者指示に従い接着操作を行った。再建時の操作方法として、接着後 0 分、10 分、30 分後に水中浸漬したもの、同様に水中浸漬までクリップを用いて加圧し続けたものとしなかったもの計 6 条件を設定し、それぞれ試料数を 10 とした。24 時間 37℃ 水中浸漬後、接着界面が 1.0×1.0mm のダブル型試料を作成し、小型卓上試験機 (EZ-test、島津製作所) を用いて微小引張強さを測定した。その後、破断面を走査型電子顕微鏡 (JSM-5610LU、JEOL) を用いて観察した。得られた結果は、一元配置分散分析および Tukey の分析を用いて統計学的に検討を行った (P<0.05)。

【結果および考察】



微小引張り接着強さの結果を上表に示す。微小引張り接着強さにおいて各条件間で有意差は認められなかった。

破断面の観察において、加圧した条件群では界面破壊が主に観察されたが、加圧をしなかった条件群では加圧したものと比較して、レジンセメントでの凝集破壊像が多く観察された。

今回の結果から、SB で歯根破折歯の接着再建を行う場合、セメント硬化時の加圧や湿潤環境は接着強さに大きな影響を与えないことが判明した。したがって、歯根膜の損傷を最小限度に止めるために、接着後、加圧等をせず、ただちに抜歯窩に戻すのが望ましいと考えられる。しかし、加圧しなかった群では加圧群と比較して、レジンセメントの凝集破壊像が多く観察されたことから、セメント層の劣化が予後に悪影響を与える可能性も危惧されるため、これについては今後検討を加える予定である。

ビーム状試料の断面積が微小引張り接着強さに及ぼす影響

日本歯科大学 生命歯学部 歯科保存学講座

○山田 正、原 学、長谷川 充、貴美島 哲、柵木 寿男
長倉 弥生、久保田 賢一、奈良 陽一郎、勝海 一郎

Effect of sectional area on micro-tensile bond strength of beam specimen

Dept. of Endodontics and Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

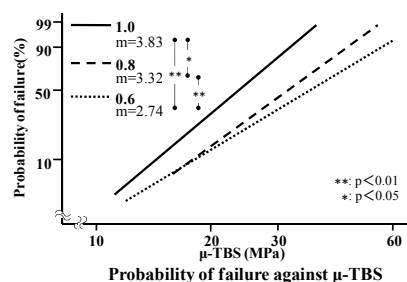
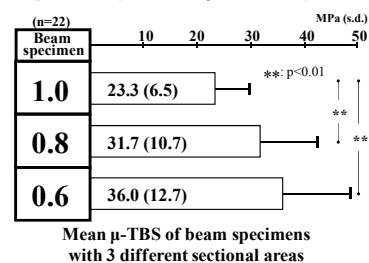
○YAMADA Tadashi, HARA Manabu, HASEGAWA Mitsuru, KIMISHIMA Tetsu, MASEKI Toshio
NAGAKURA Yayoi, KUBOTA Kenichi, NARA Yoichiro, KATSUUMI Ichiroh

【緒言】 Sanoらによって考案されたMicro-tensile bond testは、被験歯の抜去が必須ではあるものの、健全歯面のみならず、臨床において修復対象となる齶蝕やくさび状欠損に罹患した狭小歯面に対する微小引張り接着強さ(以下、 μ -TBS)の測定が可能であることから、内外の研究者に広く採択されている。また、佐野らは接着修復後の抜去歯試料から切り出した板状試料にダンベル状トリミングを行い、最狭窄部の被着断面積(以下、断面積)を 1.0 mm^2 に近似させることの意義と有用性を報告している。一方、Shonoらは接着修復歯一試料から多数の整列したビーム(角柱)状試料を切り出し、トリミングすることのない方法を考案し、 μ -TBS値測定に際しての効率化と研究の広がりにも寄与した。さらに、当教室の大下らはビーム状試料の断面形態について検討し、正方形断面形態を有する試料は本来の接着強さ獲得と当該実験系の信頼性向上に有効であることを報告している。これらを背景として、近年のビーム状試料法では、貴重なヒト抜去歯を有効活用しながら、かつ可及的多数のデータ集積を行うことを目的に、断面積の縮小化がなされた試料による測定が行われている。そこで本研究では、断面積 1.0 mm^2 未満の試料に焦点を絞り、ビーム状試料の断面積の変化が μ -TBS値とその値の信頼性に及ぼす影響を明らかにすることを目的に評価検討を行った。

【材料および方法】 被験歯には0.1%チモール溶液保存のヒト抜去健全下顎大白歯 18 本を、レジン接着システム/修復用レジンには Clearfil Tri-S Bond / Clearfil AP-X (Kuraray Medical) を用いた。試料作製に先立ち、大下らの方法に準じて、被験歯の近遠心頬側 2 咬頭頂および舌側近心咬頭頂によって決定される基準面と植立用規格化円筒モールド基底面が平行になるよう植立し、ついで、基準面と平行に、注水下における咬合面側からの概研削、耐水 SiC ペーパー 800 番までの順次研磨を行い、歯質試料とした。その後、Clearfil Tri-S Bond による製造者指定の歯面処理、C-factor 標準化を図るための規格化テフロン製モールド併用による填塞体積一定を図った Clearfil AP-X の一塊充填を行った。これら修復試料は湿ボックス中に 24 時間保管後、接合界面に対し垂直的切断を行い、一修復試料から 4 本のビーム状試料を得た。なお、ビーム状試料には 3 種、すなわち $1.0 \times 1.0 \text{ mm}$ (1.0)、 $0.8 \times 0.8 \text{ mm}$ (0.8)、 $0.6 \times 0.6 \text{ mm}$ (0.6) の断面積 ($n=24$) を設定し、クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件下で μ -TBS 値の測定を試みた。得られた値は、一元配置分散分析と Games-Howell 法による多重比較、さらにメジアンランク法によるワイブル分析による検討を加えた。

【成績】 Fig. 1 に 3 種ビーム状試料の平均 μ -TBS 値 (s.d.) を示す。分析の結果、ビーム状試料の断面積の変化は μ -TBS 値に有意な影響を与えており、1.0 の μ -TBS 値は $0.8 \cdot 0.6$ の同値より有意 ($p < 0.01$) に小さいことが判明した。しかし、0.8 の μ -TBS 値と 0.6 の同値との間には有意差は認められなかった。Fig. 2 にワイブル分析結果を示す。3 種試料のワイブル係数 (m 値) は、 $1.0:3.83$ 、 $0.8:3.32$ 、 $0.6:2.74$ を示し、1.0 の m 値は $0.8/0.6$ の同値より有意 ($p < 0.05/0.01$) に大きく、同様に 0.8 の m 値は 0.6 の同値より有意 ($p < 0.01$) に大きいことが判明した。したがって、各試料固有の μ -TBS 値獲得に際しての信頼性は 1.0 が最も優れ、断面積の縮小に伴いその信頼性は有意に低下することが明らかとなった。

【結論および考察】 本実験の結果、ビーム状試料の μ -TBS 値は断面積の縮小に伴い増大するものの、各試料固有の接着強さ獲得に際しての信頼性は低下することが判明した。試料に何らかの構造的欠陥が一定に存在すると仮定した場合、断面積の縮小化によって欠陥数(応力集中部の数)が減少し、試料破断には大きなエネルギーが必要となることが知られており、これは本実験における μ -TBS 値の変化を裏付けている。しかし、断面積の縮小化は、試料調整時のストレスによる影響を増大させ、さらに欠陥数の減少に基づく不均一な破壊が生じ、信頼性に影響していると考えられる。以上より、ビーム状試料を用いた μ -TBS 値の測定に際しては、試料断面積に対する慎重な対応が求められる。



G - BONDの接着性の改良に関する研究

虎の門病院歯科

○宇野 滋, 森上 誠, 杉崎順平, 山田敏元

A study on the improvement of bonding capability of G-BOND

Toranomom Hospital, Department of Dentistry

○UNO Shigeru, MORIGAMI Makoto, SUGIZAKI Jumpei, YAMADA Toshimoto

G-BOND (ジーシー) は 4 年前に市販されたリン酸エステル系モノマーと 4-MET を配合したワンボトル・ワンステップの接着システムであるが、その後接着性、特にエナメル質との接着を向上させるために改良が進められてきた。我々は、第 126 回日本歯科保存学会にてその改良試作品 (GBA300) に接着性について報告したが、今回さらに改良を進めた試作 G-BOND (GBA400) の接着性について検討を行ったので報告する。

【材料と方法】 1. ヒト抜去臼歯に対する微小引張り強さ (μ TBS) : ヒト抜去臼歯歯冠部のエナメル質および象牙質を #180 の耐水研磨紙で平坦に研削しこれを被着面とし、GBA400 あるいは G-BOND を用いて試料を作製した。24 時間水中保存後、1 × 1mm の棒状に切り出し μ TBS を測定した。コンポジットレジンには AP-X を用いた。

2. 切削面荒さの影響 : ヒト抜去臼歯のエナメル質および象牙質を #180、#320 あるいは #600 の耐水研磨紙にて研削し、これを被着面とした。GBA400 あるいは G-BOND にて接着処置後 AP-X を充填。24 時間水中に保存後従来のせん断接着強さを測定した。

3. エアブロー圧の影響 : #320 の耐水研磨紙で研削した面を被着面とした。GBA400 を塗布後のエアブローを、0.05MPa × 12 秒、0.2MPa × 6 秒あるいは 0.35MPa × 3 秒の条件で行い、上記 2 と同様に接着試験試料を作製し、せん断接着強さを測定した。

4. サーマルサイクリングの影響 : #320 の耐水研磨紙で研削した被着面に対して GBA400 および G-BOND を用いて接着試料を作製した。5°C—55°C のサーマルサイクリング 20,000 行った後、せん断接着強さを測定した。

5. SEM および TEM 観察 : GBA400 および G-BOND による接着界面の SEM ならびに TEM 観察を行った。

【結果】 μ TBS および各切削荒さによるせん断接着強さ (MPa) を表に示す。GBA400 の μ TBS は象牙質においては G-BOND と有意差はなかった ($p > 0.05$) が、エナメル質においては有意に高値を示した ($p < 0.05$)。また、GBA400 の #180 および #320 で研削したエナメル質に対するせん断接着強さは G-BOND に比べ有意に高かった ($p < 0.05$)。一方、GBA400 の接着に対するエアブロー圧およびサーマルサイクリングの影響は認められなかった ($p > 0.05$)。

象牙質との接着界面の SEM および TEM 観察では、界面に認められるいわゆる nano-interaction zone が G-BOND に比べ GBA400 では厚く、zone 中にアパタイト結晶の残存がより多く認められた。

研削面	μ TBS		Shear bond strength					
	#180		#180		#320		#600	
	enamel	dentin	enamel	dentin	enamel	dentin	enamel	dentin
GBA400	33.6(5.4)	50.1(6.6)	31.2(9.0)	28.5(5.3)	31.5(4.7)	27.9(4.4)	38.8(7.0)	29.2(7.2)
G-BOND	20.9(6.2)	45.9(9.4)	15.5(1.5)	26.9(2.1)	19.7(6.4)	27.1(4.7)	27.0(5.9)	29.7(3.1)

Mean (sd) MPa, vertical line: not significant ($p > 0.05$)

【まとめ】 GBA400 の組成では、リン酸エステル系モノマーの含有量は G-BOND よりも増加されており、pH も G-BOND の 2.0 より 1.2 へと低下した。UDMA を dimethacrylate へと変更し親水性および浸透性の増強を図っている。この組成変化により脱灰力が増し、エナメル質との接着が改善したものと思われる。一方、象牙質においては、G-BOND に比べ深い脱灰部へ十分にレジンモノマーが浸透し、強固な interaction zone が形成されたものと考えられる。今回の改良により、G-BOND の接着性は向上すると思われる。

コンポジットレジンの種類がセルフエッチシステムの歯質接着性に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹, 総合歯学研究所生体工学研究部門², 刀圭会協立病院³

○高見澤俊樹^{1,2}, 辻本暁正¹, 山本 明¹, 渡邊孝行¹,
吉田武史¹, 安藤 進^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 長谷川 賢³

Influence of Type of Resin Composites on Bond Strength of Self-Etching Adhesives

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²

Nihon University School of Dentistry, Tokeikai Kyoritsu Hospital³

○TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, TSUJIMOTO Akimasa¹, YAMAMOTO Akira¹, WATANABE Takayuki¹,
YOSHIDA Takeshi¹, ANDO Susumu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, HASEGAWA Ken³

【緒言】

近年、術式の簡略化を目的に 2 あるいは 1 ステップセルフエッチ接着システムの臨床使用頻度が高まっている。これらのシステムの接着機構については、いまだ不明の点が多いものの、その接着強度あるいは接着耐久性に関しては界面の機械的性質が重要と考えられている。そこで、演者らはセルフエッチシステムの接着機構を解明する研究の一環として、接着界面の上部構造であるコンポジットレジン種類の違いがセルフエッチシステムの歯質接着性に及ぼす影響について検討した。すなわち、2 あるいは 1 ステップセルフエッチシステムのアドヒーズ処理後、その上部構造を機械的強度の異なるコンポジットレジンを使用することで、その歯質接着性に及ぼす影響を剪断接着強さの測定から検討した。また、考察資料として接着試験後の破壊形式および破断面の SEM 観察を行った。

【材料および方法】

供試した接着システムとして、2 ステップの Unifill Bond (GC, 以後 UF), 1 ステップの G-Bond (GC, 以後 GB) および試作の GBA 400 (GC, 以後 G4) の 3 製品を用いた。また、コンポジットレジンとして有機複合フィラータイプの Solare (GC, 以後 SL) およびハイブリッドタイプの AP-X (Kuraray Medical, 以後 AP) の 2 製品を用いた。

1. 曲げ強さ試験

2×2×25 mm の棒状試片を製作、24 時間大気中に保管した後、万能試験機 (Instron, Type 5500R) を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min の条件で 3 点曲げ強さを測定した。なお、試片の数はそれぞれ 10 個とした。

2. 接着強さ測定用試片の製作

実験に際して、ウシ下顎前歯を常温重合型レジンに包埋後、エナメル質あるいは象牙質を露出させ SiC ペーパーの #600 番まで研磨したものを用いた。各製造者指示条件に従って、エナメル質および象牙質面にアドヒーズを塗布した後に照射器 (Optilux 501, sds Kerr) を用いて光照射を行った。その後、内計 4 mm、高さ 2 mm の円筒形テフロン型に異なるタイプのコンポジットレジンを充填、光照射を 20 秒間行ったものを接着試験用試片 (以後、試片) とした。

3. 剪断接着試験および破壊形式の分類

製作した試片を 23 時間水中浸漬した後、万能試験機を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min の条件で剪断接着強さ試験を行った。また、試験終了後の試片に関しては、実体顕微鏡を用いてその破断面の破壊形式を分類評価した。なお、試片の数は各条件につき 10 個とした。

4. SEM 観察

破断面の観察を行った試片の代表例および接着界面については、通法に従って SEM 観察用試料を製作した後、フィールドエミッション型 SEM (ERA-8800FE, Elionix) を用いて撮影を行った。

【成績および考察】

エナメル質における接着強さは、SL 群で 14.8~16.6 MPa の、AP 群では 17.3~22.0 MPa の範囲を示した。象牙質においては、9.6 MPa~16.6 MPa の、AP 群では 16.1~21.5 MPa の範囲を示し、いずれのアドヒーズにおいても SL 群と比較して AP 群が有意に高い値を示した。また、いずれの被着体およびコンポジットレジンにおいても UF 群が GB および G4 に比較して有意に高い値を示した。このことは、ボンド層の厚みあるいは上部構造物の強度が歯質接着性に影響を及ぼした可能性が示唆された。

【結論】

コンポジットレジン種類がセルフエッチシステムの歯質接着性に影響を及ぼすことが判明した。

カリソルブ処置後の接着性に対する再評価

昭和大学 歯学部 齲蝕・歯内治療学講座
山田嘉重, 真鍋厚史, 増田宜子, 那須裕弥, 清水由子, 久光久, 松本光吉

Re-evaluation of adhesive effect after Carisolv treatment

Showa University School of Dentistry Department of Clinical Cariology and Endodontology
Yoshishige Yamada, Atsufumi Manabe, Yoshiko Masuda, Yuya Nasu, Yuko Shimizu,
Hisashi Hisamitsu, Koukichi Matsumoto.

【本研究の目的】

Carisolv が厚生労働省の許認可を受けて約 1 年が経過し、多くの臨床歯科医師に普及してきている。Carisolv による齲蝕除去後の修復材として、主にコンポジットレジンが使用されており、多くのボンディングシステムを装備しているコンポジットレジンシステムが開発、応用されている。しかしながら Carisolv を用いた齲蝕除去後の窩壁に対する充填材の接着性に対する評価に対してはまだ十分に解明されていないのが現状である。そこで今回の研究目的は、Carisolv による齲蝕除去後の歯面とコンポジットレジンとの接着性能を辺縁漏洩試験によって観察、評価することである。

【材料および実験方法】

歯周病等の原因により抜去された齲蝕を有する新鮮ヒト抜去歯（水中保管）90 本を使用した。全ての齲蝕部位は、齲蝕検知液を目安に Carisolv を用いて完全に除去した後、無作為に 15 本ずつ 6 グループに分類した。各グループは、グループ 1；トータルエッチング法（フォトボンド）。グループ 2、3；2 ステップセルフエッチング法（メガボンド FA, フルオロボンド II）。グループ 4～6；オールインワンセルフエッチング法（G-ボンド、トライエスボンド、ボンドフォース）により処理後、コンポジットレジン充填を行った。全ての充填処置が終了後、各グループから 5 本ずつを用いたサブグループ I と、残りの 10 本を使用したサブグループ II に分類した。サブグループ I は、レジン充填直後に色素（ローダミン B）を用い辺縁漏洩試験を行った。サブグループ II は、レジン充填後に 5℃ と 55℃（共に水道水に浸漬）を 1 サイクルとしたサーマルサイクリングを 10000 サイクル施行後に色素（ローダミン B）を用い辺縁漏洩試験を行った。全ての試験歯は、辺縁漏洩試験後に歯軸方向にて分割し、辺縁漏洩の程度を実体顕微鏡にて評価した。

【結果】

辺縁漏洩試験の結果、レジン充填直後に辺縁漏洩試験を行ったサブグループ I の結果では、全てのグループにおいて、明らかな辺縁漏洩は観察されなかった。一方サーマルサイクリングを行った後の辺縁漏洩試験すなわちサブグループ II では、各グループとも幾つかの試験歯に辺縁漏洩が観察された。サブグループ II の各歯間における辺縁漏洩試験の結果では 2 ステップセルフエッチング法が最も少なかった。

【考察】

Carisolv による齲蝕除去後の歯面とコンポジットレジン間の接着性能を試片製作直後の辺縁漏洩試験で評価した結果、いずれの接着システム間で大きな有意差は生じなかった。しかし、サーマルサイクリング後の結果では統計学的には、各グループ間に著しい差は認められなかったものの、トータルエッチング法やオールインワンセルフエッチング法が 2 ステップのセルフエッチング法と比較して辺縁漏洩の割合が多く観察された。以上のことから、Carisolv を用いた齲蝕除去後のコンポジットレジン充填に対しては 2 ステップのセルフエッチング法を選択する方が辺縁漏洩防止の点から有用であると推察される。

耐水性と耐摩耗性に優れたコンポジットレジンの開発について

-疎水性シランカップリング剤の効果-

神奈川県立歯科大学口腔治療学講座保存修復学分野, ミュンヘン大学歯学部, 東京理科大学工業化学科
 ○二瓶智太郎¹, クンツェルマン・カール・ハインツ², 大橋 桂¹, 森 梨江¹, 近藤行成³, 好野則夫³, 寺中敏夫¹

Development of restorative composites having water and wear resistance

-Effect of hydrophobic silanes-

¹Div. of Restorative Dentistry, Dept. of Oral Medicine, Kanagawa Dental College,

²Dental School of LMU, ³Tokyo Univ. of Science

NIHEI T¹, KUNZELMAN KH², OHASHI K¹, MORI R¹, KONDO Y³, YOSHINO N³ and TERANAKA T³

【研究目的】

我々が合成、開発した重合性基含有芳香族系シラン(*p*-MBS)で処理したガラス面に対するコンポジットレジンの接着強さは、サーマルストレス後においてもほとんど低下することなく、耐久性に優れていた^{1,2)}。また、撥水性、撥油性、および耐酸性が高いフッ化炭素鎖のシランカップリング剤を3-メタクリロイルオキシプロピルトリメトキシシラン(3-MPS)にある割合で混合したシランを用いて同様に接着試験を行った結果においても、優れた長期接着耐水性が得られたことを報告した³⁾。今回は、この2種の疎水性シランカップリング剤で改質したフィラーを用いて試作コンポジットレジンを作製し、摩耗試験によりカップリング効果の有効性と耐水性を検討した。

【材料および方法】

実験に供したシランカップリング剤は、3-MPS、フッ化炭素鎖が4つの4Fと8つの8F、合成した*p*-MBSの4種とし、フッ化炭素鎖と3-MPSとの混合割合(wt%)は4Fと3-MPSを20:80、8Fと3-MPSを10:90に調製した。

1. 試作コンポジットレジンの製作

ベースレジンには、Bis-GMAとTEGDMAを50:50(容量比)の割合で混合し、光重合触媒にはカンファーキノンを用いた。フィラーとしては平均粒径0.04 μ mの球状型シリカと3 μ mの粉砕型バリウムガラスを1:15(重量比)の割合で混合し用いた。シラン処理はフィラー重量比で3.0wt%の各シランをトルエン中に溶解してフィラーを懸濁し、130 $^{\circ}$ Cで2時間還流し、エバポレーターにて溶媒を減圧留去し、恒温恒湿器中(45 $^{\circ}$ C, 80%)で18時間静置乾燥させた後、90 $^{\circ}$ Cで3時間加熱処理を施した。シラン処理後、処理フィラーをベースレジンに85wt%となるように複合し、試作光重合型コンポジットレジンを作製した。また、シラン処理していないフィラーを含有させたコンポジットレジン(Unmodified)も作製した。

2. 摩耗試験

各コンポジットレジンを経径10mm、幅7mm、厚さ5mmのシリコンモールド内に填塞し、40秒間光照射し硬化させ、円盤状のホイールに接着し、室温1日保管後、ACTA wear machine (ACTA3, Willytec GmbH)に装着し研磨を行った。研磨後、蒸留水220ml中にmillet150gの入った混合液中で摩耗試験を200,000回行った。なお、milletは50,000回ごとに交換した。摩耗試験後、3D-scanner (Laserscan 3D Pro, Willytec GmbH)にて摩耗量を測定した。その後、摩耗表面を研磨用ディスクにて再度削除を行い、新鮮面を出すと共に研磨を施し、37 $^{\circ}$ C蒸留水中に180日保管した後に前述と同様に摩耗試験を行った。なお、試料数は各群12個とし、市販コンポジットレジンのAP-X(クラレメディカル)も同様に試料を作製し試験を行った。また、得られた値はそれぞれ平均値と標準偏差を求め、一元配置分散分析およびPost-Hoc Tukey multiple comparison testsの多重比較検定を行った。

【成績および考察】

ACTA wear machineによる摩耗試験の結果、Controlの3-MPS群は室温保管後で36 μ mであったが、水中保管後で61 μ mと有意に高い値を示した($p<0.05$)。また、フィラー処理していないUnmodified群は室温保管後で93 μ m、水中保管後で121 μ mと他群と比較して各保管後において最も高い摩耗量であった($p<0.05$)。4F/3-MPS群と*p*-MBS群の摩耗量は、室温保管後でそれぞれ32 μ mと33 μ m、水中保管後で33 μ mと37 μ mであり、各保管後においてControl群と比較して有意に低い値であった($p<0.05$)。しかしながら、長鎖のフッ化炭素鎖を含む8F/3-MPS群の摩耗量は室温保管後で47 μ m、水中保管後で69 μ mとControl群に比べ有意に高い値であった($p<0.05$)。また、市販コンポジットレジンのAP-X群の摩耗量は室温保管後で39 μ m、水中保管後で50 μ mと4F/3-MPS群および*p*-MBS群と比べ有意に高い値であった($p<0.05$)。以上の結果より、短鎖のフッ化炭素鎖を混合したシランカップリング剤と3-MPSの分子骨格にベンゼン環を導入したシランカップリング剤で処理したフィラーを含むコンポジットレジンの摩耗量は、Control群(3-MPS)と比較して有意に低い値であったことから、発表者らが3-MPSにフッ化炭素鎖を添加した混合シランで試作したコンポジットレジンの引張り試験において有意に高い強度を維持したこと⁴⁾、またガラス面処理に対するレジンの引張り接着強さも維持した¹⁾ことから、疎水性基を導入したシランカップリング剤を用いるとシランカップリング層にベースレジンとの優れた相溶性と高い疎水層が構築され耐摩耗性と耐水性も向上したと考えられた。

【参考文献】

- 1) 二瓶ら: 歯材器 24, 1-8, 2000.
- 2) 大橋ら: 歯材器 24, 247-252, 2002.
- 3) 二瓶ら: 歯材器 19, 495-501, 2000.
- 4) Nihei *et al.*: *J Dent Res* 81, 482-486, 2002.

MI ペーストのフッ化物添加が歯質の再石灰化に及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹、総合歯学研究所生体工学研究部門²、青島歯科医院³

○川本 諒¹、利根川雅佳¹、島村 穰¹、田久保周子¹、
山口佳奈子¹、瀧川智義^{1,2}、宮崎真至^{1,2}、青島 裕³

Effect of Fluoride Contained MI paste Application Remineralization of Tooth Substrate

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²

Nihon University School of Dentistry, Aoshima Dental Clinic³

○ KAWAMOTO Ryo¹, TONEGAWA Motoka¹, SHIMAMURA Yutaka¹, TAKUBO Chikako¹,
YAMAGUCHI Kanako^{1,2}, TAKIGAWA Tomoyoshi^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, AOSHIMA Yutaka³

【緒言】

齲蝕は、脱灰と再石灰化との動的平衡が崩れた結果として生じる事が判明することによって齲蝕病巣へのアプローチにも変化が認められてきた。すなわち、齲蝕病巣の早期発見早期治療という考え方から、齲蝕リスクを低減化させ、口腔内の脱灰および再石灰化という動的平衡をいかにコントロールするかが重要と考えられている。演者らの教室では、脱灰抑制・再石灰化促進作用が臨床的にも注目されているカゼインホスホペプチド-非結晶性リン酸カルシウム (CPP-ACP) の歯質再石灰化に関する一連の研究を行っている。本実験では、CPP-ACP ペーストにフッ化物を添加することによって、歯質に生じた変化を非破壊的に物質の状態変化を測定可能である超音波パルス法を用いて検討した。また、SEM 観察を併せて行うことで考察資料とした。

【材料および方法】

1) 測定用試片の製作

供試した歯は、2~3 歳齢のウシ抜去下顎前歯のうち、破折あるいは石灰化不全歯を除いたものとした。実験に際して、硬組織精密低速度切断機 (Isomet 1000, Buehler) を用いて供試歯の唇側エナメル質および象牙質を 4×4×1 mm のブロックとして切り出した。次いで、このブロックの全面について耐水性 SiC ペーパーの #2,000 まで順次研磨し、これを測定用試片 (以後、試片) とした。

2) 脱灰溶液への浸漬

0.1M 乳酸緩衝液 (pH 4.75) を調整、これに試片を 10 および 30 分間浸漬した後、人工唾液 (pH 7.0) に浸漬保管した。また、試片の脱灰溶液への浸漬に先立って CPP-ACP ペースト (Tooth Mousse, GC) およびプラセボペースト (CPP-ACP 未含有) の 10 倍希釈液に 10 分間浸漬した。その後、同様に 0.1M 乳酸緩衝液への浸漬した後、37℃人工唾液中に保管した。なお、脱灰液への浸漬は、1日2回行った。

3) 超音波伝播時間の測定

測定には、超音波送受信装置としてパルサーレシバー (MODEL 5900, Panametrics), オシロスコープ (Wave Runner LT584, Lecroy) および試料台からなるシステムを用いた。試片を試料台に静置、トランスドューサーを接触させ、超音波透過法によって縦波で発せられる超音波の伝播時間をそれぞれ測定した。次いで、各試片の厚みを測定し、それぞれの縦波音速を求めた。

測定時期としては、溶液浸漬前、浸漬後 1 から 7 日までは一日毎、その後 7 日毎に 28 日まで測定した。

なお、測定は 23±1℃、相対湿度 50±5% の恒温恒湿室で行い、試片の数は、各条件についてそれぞれ 6 個とした。

【成績および考察】

エナメル質および象牙質試片の音速は、脱灰溶液に浸漬した試片では、人工唾液に浸漬したコントロール試片と比較して経時的にその音速が減少する傾向が認められた。この音速の減少傾向は、歯質の無機成分が減少していることを示すものであるところから、脱灰溶液によって歯質の無機成分が溶出したものと考えられた。

【結論】

本実験の結果から、超音波パルス法を用いることによって、歯質の脱灰状態を非破壊的に測定することが可能であることが示唆された。

炎症性刺激を受けた細胞への Heal Ozone の影響

¹⁾北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座 ²⁾北海道大学病院・歯科診療センター

³⁾宮崎市 たけさき歯科医院

可知華子¹⁾・野田 守²⁾・小松久憲¹⁾・嶽崎美花³⁾・佐野英彦¹⁾

Effect of Heal Ozone on cellular viability in HeLa stimulated with LPS

¹⁾Department of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

²⁾Hokkaido University Hospital Center for Dental Clinics ³⁾Takesaki Dental Clinic, Miyazaki
KACHI Hanako¹⁾, NODA Mamoru²⁾, KOMATSU Hisanori²⁾, TAKESAKI Mika²⁾, SANO Hidehiko²⁾

【研究目的】

近年、オゾンの殺菌効果を利用し、う蝕象牙質中の細菌抑制を行うオゾン発生装置が開発・利用されている (Heal Ozone, KaVo)。これまでに、オゾン処理時間が長いと代謝活性は低下するが、細胞が直接オゾンに曝されなければ、影響が小さいことが明らかになった。本実験では、オゾンガスの炎症性刺激を受けた細胞への影響を調べるために、LPS 刺激をしたヒト由来細胞 HeLa をオゾンガスで処理した時の代謝活性について検討した。

【材料および方法】

【細胞】 ヒト由来培養細胞として、 α -MEM(10%FCS添加)にて培養した付着細胞のHeLaを用いた。

【炎症性刺激】 炎症性刺激を加えるために、0, 10, 20, 50 μ g/mLのLPSを用いた。

【Heal Ozone処理】 HeLa細胞をトリプシン処理後、遠心により回収し、 0.2×10^6 cells/mLになるように細胞濃度を調整し、48-wellの培養プレートに0.5mLずつ接種した。24時間培養後、confluentな状態になったことを確認し、0, 10, 20, 50 μ g/mLのLPSを加え、24時間後に、0~60秒間、Heal Ozone装置を用いて処理した。

【SDH活性の測定】 Heal Ozone (HO) 処理後、0, 2, 4, 24時間後にSDH活性を測定した (CellTiter-Glo, Promega)。HO処理後の各時間で、HO処理0秒、LPS 0 μ g/mLを対照群とし相対活性を計算した。同一培養時間でHO処理とLPS刺激を因子としてTwo-way ANOVAを行い($p < 0.05$)、Dunnett's testにより対照群と比較検定した。

【結果および考察】

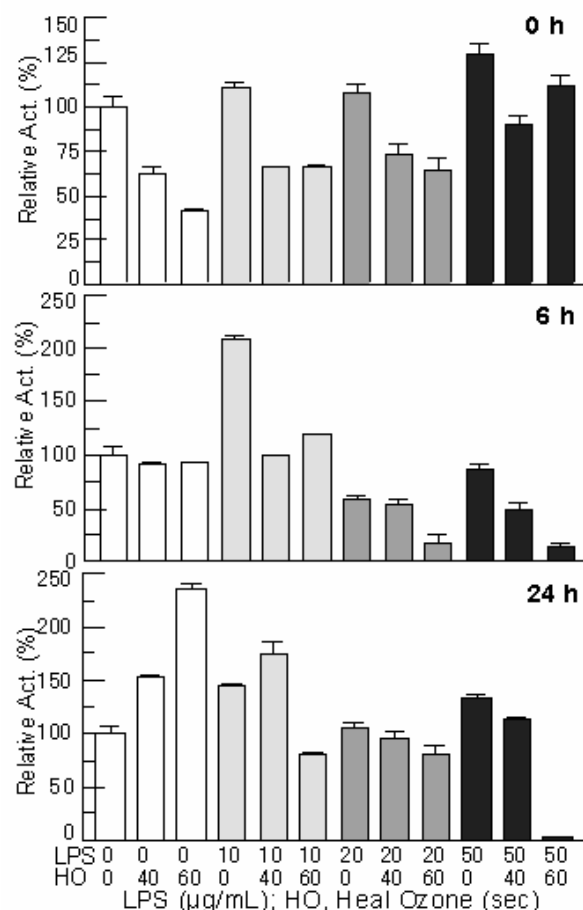
図に0, 6, 24時間の結果を示す。0時間では、HO処理により活性が有意に低下したのに対し、LPS刺激のみでは活性は増加し、HO処理と組み合わせると活性は減少した。

6時間においては、HO処理のみでは活性はほぼ回復した。一方、中濃度、高濃度でLPS刺激を受けた群は活性が低下した。

24時間では、HO処理のみの群では活性は増加した。しかしながら、LPS刺激ならびにHO処理を組み合わせを行った群では、活性は複雑な変化を示した。

Two-way ANOVAでは、全ての培養時間で因子間に交互作用を認めた。($p < 0.01$)

以上の結果から、HOは短時間的には細胞代謝活性を低下させるが、時間の経過と共に代謝を促進することが示唆された。炎症性刺激を受けた細胞では、細胞が受けている刺激の程度によるが、HOによる代謝活性の促進作用は認められなかった。従って、LPS刺激に対する細胞内での反応とHO処理による細胞内での反応が相互に影響していることが示唆された。



可視光応答型酸化チタン光触媒含有の漂白材 (GC TiON in office) の漂白効果に関する研究

東医歯大・院・う蝕制御
○大槻 昌幸、岸 綾香、田上 順次

Study on effect of a bleaching agent containing titanium oxide photo-catalyst (GC TiON in office)
Tokyo Medical and Dental University, Cariology and Operative Dentistry
Masayuki OTSUKI, Ayaka KISHI, Junji TAGAMI

研究目的 本研究では、可視光応答型酸化チタン光触媒を含有する漂白材 (GC TiON in office、以下 TiON と略す、GC America, USA) をヒト抜去歯を用いて評価し、漂白処置回数、光照射時間、照射光源が及ぼす影響、他の漂白材料との比較について評価した。

材料および方法 ヒト抜去前歯の歯面を清掃後、以下の漂白処置を行った。**第1群 (Tion-60)** : TiON の reactor を塗布後、乾燥し、Syringe A および B の混和ジェルを塗布してハロゲン可視光線照射器 (コピー、ジーシー製) で 60 秒間光照射を行った。照射後、5 分放置して、水洗してジェルを除去した。**第2群 (TiON-30)** : 第1群と同様に TiON で漂白処置を行った。その際、光照射を 30 秒、その後の放置時間を 5 分 30 秒とした。**第3群 (TiON-120)** : 第1群、第2群と同様に TiON で漂白処置を行った。その際、光照射を 120 秒 (2 分)、その後の放置時間を 4 分とした。**第4群 (TiON-LED)** : TiON で漂白処置を行った。ただし、光照射は LED 可視光線照射器 (G-ライト、ジーシー製) を用いた。**第5群 (HiLite)** : 松風ハイライト (松風製) を用いて、製造業者の指示を参考にして、漂白処置を行った。**第6群 (Pyrenes)** : ピレーネ (三菱ガス化学製) を用いて、製造業者の指示通りに漂白処置を行った。いずれの実験群においても処置を 10 回繰り返し、処置前と毎回の処置終了時に、歯科用色彩計 (シェードアイ NCC、松風製) にて測色を行い、L*、a*、b*値を算出した。

成績 いずれの実験群においても、漂白回数が増すごとに L*値が上昇して明度の上昇が認められ、それに応じて色差値も増大した。TiON においては 3 回の処置で明度は大きく上昇し、その後の上昇の程度は緩やかだった (第1~4群) また、漂白効果は目視でも確認できた。第1、2および3群の結果から、照射時間の違いにより、漂白効果に大きな差は認められなかった。実験群1と4の結果を比較すると、TiON において、照射器による漂白効果の差は認められなかった。TiON と他の2種の漂白材料を比較すると (第1、5、6群)、3種の材料間で漂白効果に大きな差が認められなかった。

考察 本研究において、TiON では、光照射の増減 (30 秒、120 秒) による漂白効果の差は認められなかった。また、ハロゲン照射器と LED 照射器 (波長 405nm、470nm) において、漂白効果に大きな差が認められなかった。本材料中の可視光応答型酸化チタン光触媒は、より低い波長の可視光に反応性が高いことから、LED 照射器の光量の低い 405nm の青紫光も有効であったものと考えられる。また、TiON が、より高濃度の過酸化水素を用いている松風ハイライトとほぼ同程度の漂白効果であったのは、TiON の光触媒が効果的に作用したものと考えられる。TiON より低濃度の過酸化水素を用いているピレーネが、TiON とほぼ同程度の漂白効果を示したのは、触媒の相違も考えられるが、照射時間の差 (TiON 1 分、ピレーネ 5 分) も影響を与えたものと思われる。本実験ではヒト抜去前歯を用いたが、多量の歯を入手することは困難であり、また、個体差も大きく鋭敏な評価は困難と考えられる。比較的入手が容易なウシ抜去歯等を用いた変色歯モデルを作成して、これを用いた漂白材料の評価法を確立すべきである。

結論 可視光応答型酸化チタン光触媒を含有する漂白材 (GC TiON in office) について、ヒト抜去を用いて評価を行ったところ、漂白効果は光照射時間、照射光源の種類の影響をあまり受けずに、3 回までの処置回数で明度が上昇して漂白効果が認められた。また、他の漂白材料 (松風ハイライト、ピレーネ) と比べて、漂白効果に大きな差は認められなかった。

本研究の一部は、東京医科歯科大学 歯と骨の GCOE として遂行された。

歯科における切削騒音低減デバイス開発のための音質解析

¹大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座(歯科保存学教室)

²大阪大学大学院人間科学研究科

○ 山田朋美¹, 桑野園子², 恵比須繁之¹

Analysis of Sound Quality of dental air turbines for the noise decreasing device

¹Department of restorative Dentistry and Endodontology Osaka university Graduate School of Dentistry

²Osaka University Graduate School of Human Sciences

Tomomi Yamada¹, Sonoko Kuwano² and Shigeyuki Ebisu¹

【目的】

エアタービンハンドピースの音(タービン音)は、国際工業規格により騒音レベル(A特性音圧レベル)のみで評価される。その結果、メーカーによる騒音レベル低減が進められてきた。しかしながら、我々の調査では、依然、半数を超える患者が治療音に不快感を訴えており、現状での音圧低減手法のみでは十分な効果を上げているとはいえない。そこで、我々は、新たな手法による切削騒音低減デバイスの開発をめざした研究を進めている。これまでに、タービン音には超音波域にいたる高周波成分が豊富に含まれることなどを明らかにし、一般騒音とは大きく異なる音響特性を有することを示した。今回、タービン音に関して「快-不快」といった主観的な心理評価値と、騒音レベルなどの客観値との関係を明らかにすることを目的として、心理評価実験による音質解析を行った。

【方法】

大阪大学歯学部附属病院診療室にて、空転および人工歯を切削した時のタービン音の計測および収録を行った。タービンヘッド部より30 cmの距離に1/4インチコンデンサマイクロホン(UC-29, リオン)を設置し、騒音計(NA-40, リオン)にて騒音レベルを計測した。収録した各タービンの空転音および切削音を原音とし、①原音全体を5 dBおよび10 dB減衰、②原音中の部分的な周波数成分の減衰を行い、各刺激5秒となる合計40の実験音を作成した。各実験音の客観値として、精密騒音計(LA1250, 小野測器)および音質評価ソフトウェア(7691, B&K)により、等価騒音レベル(L_{Aeq}), sharpnessおよびfluctuation strengthを算出し、音質解析ソフトにてFFT解析を行った。心理評価実験は、大阪大学人間科学研究科に設置された防音室においてSD法(Semantic Differential)を用いて実施した。20名の被験者を対象に、ヘッドホン(SRM313, STAX)を介しランダムな順序で実験音を示した。各被験者の2回の心理評価値の間に有意な相関があることを確認したうえで、統計ソフト(SPSS)によりデータ(n=24000)を解析した。

【結果と考察】

音圧レベルの減衰と「大きい-小さい」といった心理評価値の間には有意な相関が認められた($r=0.933, P<0.001$)。音質を変化させない場合、空転音および切削音共に L_{Aeq} 65 dBで「どちらかという小さい」と評価された。一方、「どちらかという嫌ではない」との評価は、空転音では63 dBであり、切削音では推定45 dBであった。「全く嫌ではない」と評価されるには、予測式により、空転音では50 dB, 切削音では30 dB以下まで減衰させる必要があることがわかった。突出した周波数成分を減衰させたところ、減衰させた周波帯域によって「不快」「嫌な」などの印象が改善されるケースと全く変化がないケースが認められた。周波数成分や変動感が不快感に関与していることが示された。

【結論】

タービン音に対する心理評価値には音圧レベルだけではなくsharpnessやfluctuation strengthが関与していることがわかった。不快感軽減のためには音圧レベルだけでは限界があり音質の改善が有効であるが示唆された。

【文献】

1. T. Yamada, S. Ebisu and S. Kuwano, A questionnaire survey on the effect of the sound of dental drills on the feeling of patients in dental clinics, J. Acoust. Sci. and Tech., 27, 305-308, 2006.
2. 山田朋美、恵比須繁之. 歯科治療機器放射音の広帯域周波数解析, 日本音響学会聴覚研究会資料, H-2007-129, 37, 743-747, 2007.

歯根膜特異的 Periostin アイソフォームは歯根膜細胞の硬組織形成分化を促進する

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 (口腔治療学教室)

○ 田内拓史、山田 聡、前田憲一郎、藤原千春、梶川哲宏、岩山智明、小澤康宏、柳田 学、
橋川智子、北村正博、村上伸也

Periostin isoform specific for human periodontal ligament promotes cytodifferentiation of periodontal ligament cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○ Takushi Tauchi, Satoru Yamada, Kenichiro Maeda, Chiharu Fujihara, Tetsuhiro Kajikawa, Tomoaki Iwayama,
Yasuhiro Ozawa, Manabu Yanagita, Tomoko Hashikawa, Masahiro Kitamura and Shinya Murakami

[目的]

我々はこれまでに独自に作製したカスタマイズド DNA マイクロアレイ (PerioGen Chip) を用い、ヒト歯根膜細胞を *in vitro* で硬組織形成細胞へと分化誘導した際の経時的な遺伝子発現変化を解析した結果、Periostin 遺伝子の高い発現上昇を見出している。さらに、マウスにおける解析の結果、Periostin にはいくつかのアイソフォームの存在が報告されているが、我々はヒト歯根膜細胞において 5 種類のアイソフォームを単離、同定しそれぞれを TYPE I、II、III、IV、V と命名し、中でも TYPE II が歯根膜特異的な新規アイソフォームであることを報告してきた。そこで今回我々は、Periostin 各アイソフォームの発現および歯根膜細胞における機能について詳細な検討を行ったので報告する。

[材料および方法]

- 1) ヒト各細胞株における Periostin アイソフォームの発現解析：ヒト歯根膜細胞、ヒト皮膚由来線維芽細胞、ヒト骨髓由来間葉系細胞、ヒト脂肪組織由来未分化間葉系幹細胞を石灰化誘導培地 (10%FCS, 10mM β -glycerophosphate, 50 μ g/ml ascorbic acid 含有 α -MEM) にて長期培養を行い、経時的に採取した RNA を用いて、リアルタイム PCR およびアイソフォーム特異的 RT-PCR にて Periostin 各アイソフォームの発現解析を行った。
- 2) 歯根膜細胞における各 Periostin アイソフォームの機能解析：ヒト歯根膜細胞より単離した Periostin アイソフォーム TYPE I、TYPE III および新規アイソフォームである TYPE II の発現ベクターを作製し、マウス歯根膜細胞株である MPDL22 に強発現させた。それら細胞を石灰化誘導培地にて長期培養を行い、通法に従いアルカリフォスファターゼ活性の測定およびアリザリンレッド染色を行った。
- 3) 歯根膜細胞における Periostin の機能解析：マウス Periostin をターゲットとした siRNA を用い MPDL22 の内在性 Periostin を抑制した。同細胞株を石灰化誘導培地にて長期培養を行い、アルカリフォスファターゼ活性の測定およびアリザリンレッド染色を行った。
- 4) 歯根膜細胞における Periostin アイソフォーム TYPE II と Integrin α V の関係：Periostin アイソフォーム TYPE II を強発現させた MPDL22 を Integrin α V 中和抗体存在下で石灰化誘導培地にて長期培養を行い、アルカリフォスファターゼ活性の測定およびアリザリンレッド染色を行った。

[結果および考察]

歯根膜特異的 Periostin アイソフォーム TYPE II は、他の細胞株と比較して歯根膜細胞で非常に高い発現を示した。Periostin アイソフォーム TYPE II を強発現させた MPDL22 では、コントロールおよび他のアイソフォームと比較して有意に高いアルカリフォスファターゼ活性および石灰化物形成能を示した。一方、siRNA にて内在性 Periostin の発現を抑制した MPDL22 ではコントロールに比べてアルカリフォスファターゼ活性は有意に抑制された。さらに Periostin アイソフォーム TYPE II 強発現 MPDL22 において Integrin α V 中和抗体濃度依存的にアルカリフォスファターゼ活性および石灰化物形成能が抑制された。

以上の結果より、歯根膜特異的 Periostin アイソフォーム TYPE II は、Integrin α V を介して歯根膜細胞の硬組織形成分化を促進する可能性が示唆された。

歯肉縁下プラークの Toll-like receptor (TLR) 2 および TLR4 刺激作用と 歯周病臨床パラメーターの関連性について

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周病学分野

○吉村篤利、吉岡英将、山口竜亮、金子高士、原宜興

Relationship between the ability of subgingival plaque to induce Toll-like receptor (TLR)2- or
TLR4-mediated stimulation and periodontal parameters

Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Atsutoshi Yoshimura, Hidenobu Yoshioka, Ryusuke Yamaguchi, Takashi Kaneko, Yoshitaka Hara

(目的)

歯周病の発症は、デンタルプラークの付着と密接に関連する。プラーク中の細菌菌体成分が Toll-like receptor (TLR) 等のパターン認識分子により認識されると、炎症性サイトカインや各種化学伝達物質が産生され、歯周組織に炎症反応が誘導される。細菌細胞壁を構成するペプチドグリカンやリポタンパクは TLR2 によって認識され、グラム陰性菌外膜を構成するリポ多糖 (LPS) は TLR4 によって認識される。我々はこれまでに、歯肉縁上プラークの TLR4 刺激作用がプラーク採取部位のプラークスコアおよびブロービング時の出血 (BOP) と正の関連性を示し、TLR2 刺激作用が歯周ポケットの深さ (PD) およびクリニカルアタッチメントレベル (CAL) と負の関連性を示すことを報告した。本研究では、慢性歯周炎患者から歯肉縁下プラークを採取し、TLR2 および TLR4 刺激作用と歯周病臨床パラメーターの関連性について検討した。

(材料および方法)

長崎大学附属病院を受診し、1ヶ月以内に抗生剤、抗炎症剤の投与、歯周治療を受けておらず、本研究への協力に同意の得られた84名の慢性歯周炎患者を対象とした。各患者の口腔内でPD最大値を示す部位を被験部位とした。被験部位を簡易防湿し、歯肉縁上プラークを可及的に除去した後、歯肉縁から縁下3mmまでの歯肉縁下プラークを滅菌スケーラーで採取した。プラークのTLR2およびTLR4刺激作用は、それぞれの刺激に特異的に応答するCHO/CD14レポーター細胞および7.19/TLR2レポーター細胞をプラークで刺激し、18時間後のレポーター分子(CD25)発現量を、コントロールリガンドにより誘導されたレポーター分子発現量と対比することにより解析した。プラーク中の*Porphyromonas gingivalis*菌数、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*菌数および総菌数はTaqManプローブを用いた定量的Real-time PCR法で解析した。

なお、プラークの採取は、長崎大学歯学部倫理審査委員会に承認された方法に基づいて行われた。

(結果)

1. 歯肉縁下プラークのTLR4刺激作用とプラーク指数(PII)に正の関連が認められた。
2. 歯肉縁下プラークのTLR2刺激作用とBOPに弱い負の関連が認められた。
3. 上記1、2以外にTLR2およびTLR4刺激作用とPII、BOP、PD、CALとの有意な関連は認められなかった。
4. BOP、PD、CALと歯肉縁下プラークの*P. gingivalis*菌数には正の関連が認められた。

(結論および考察)

歯肉縁下プラーク中の*P. gingivalis*菌数は、BOP、PD、CALと正の関連性を示したにもかかわらず、TLR2およびTLR4刺激作用とこれらの指数に強い関連性は認められず、歯周炎進行に伴う*P. gingivalis*菌数の増加とTLR2およびTLR4刺激作用は、連動していなかった。PIIと歯肉縁下プラークのTLR4刺激作用の関連は、歯肉縁上プラークの蓄積が歯肉縁下プラークのTLR4刺激作用に影響を与えていることを示していると考えられ、歯肉縁下プラークの炎症誘導作用を制御するために歯肉縁上プラークの付着を抑制することが重要であることが示唆された。

2型糖尿病が実験的歯周炎による骨破壊に与える影響
東北大学大学院歯学研究科 口腔生物学講座 歯内歯周治療学分野
○仲西 慶浩、 荘司佳奈子、 後藤良介、 島内英俊

Effects of type 2 diabetes mellitus on bone destruction in experimental periodontitis
Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Biology,
Tohoku University Graduate School of Dentistry
○Yoshihiro Nakanishi, Kanako Shoji, Ryosuke Goto, Hidetoshi Shimauchi

〔目的〕

糖尿病は世界で2億4600万人が罹患している生活習慣病であり、歯周病の主要なリスクファクターのひとつである。そのうちの95%以上がインシュリン非依存性の2型であり、欧米では約80%が肥満を併発するのに対して日本では非肥満型が多いとされている。しかし、非肥満型2型糖尿病が歯槽骨の骨代謝に与える影響に関する報告はほとんどない。今回、我々はラットに実験的歯周炎を惹起して骨破壊を促進した場合、歯槽骨の骨吸収能・骨形成能に及ぼす影響に関して検討を行い、興味ある知見を得たので報告する。

〔材料および方法〕

1. **実験動物**：非肥満型糖尿病疾患モデルとして12週齢のGKラット、健常モデルとして同週齢のWistar系ラットを用いた。
2. **実験的歯周炎の惹起**：ラット右側下顎第一臼歯の歯肉溝にゴム輪を挿入し、機械的刺激による歯槽骨の吸収を惹起させた。左側は無処置で対照側とした。2週間後に屠殺し下顎骨を摘出した。
3. **pQCTによる根分岐部海綿骨の骨密度測定**：下顎第一臼歯周囲の顎骨を含む頬舌側方向中央部の根分岐部海綿骨量を測定した。
4. **bone nodule assay**：第一臼歯から第三臼歯までの歯槽骨を用いて細胞培養を行い、アスコルビン酸とデキサメタゾンを追加して骨芽細胞への分化誘導後、 β -グリセロホスフェートにより石灰化ノジュール形成を促進させた。20日後に固定し、翌日 von Kossa 染色を行った。ノジュール数と面積はNIH imageを用いて画像解析した。
5. **RT-PCR法による歯槽骨中の骨代謝マーカーの測定**：下顎骨はRNAlater中に4℃1晩浸漬後、-80℃で保存した。CRYO-PRESSを用いて顎骨を破碎し、total RNA抽出後、逆転写反応によりcDNAを合成し、特異的プライマーを用いて増幅させた。骨形成マーカーとしてcbfa1, osteocalcin, col1, ALPを、骨吸収マーカーとしてTRAP, cathepsin Kについて検討した。mRNA発現の比較にはcomparative Ct法を用いた。
6. **組織学的観察**：下顎骨は低温で6週間EDTA脱灰しパラフィン包埋した。下顎第一臼歯周囲を含む頬舌方向の切片を作成し、根分岐部の炎症状態について観察した。
7. **統計処理**：2元配置分散分析後、Scheffeの多重比較検定を用いた。

〔結果と考察〕

1. **根分岐部海綿骨の骨密度所見**：Wistarラット、GKラットともに実験側で対照側と比較して有意に骨密度が低下していた($p < 0.01$)。GKラット対照側では、Wistarラット同側と比較して有意に骨密度が高かったが($p < 0.001$)、実験側間では有意差はなかった。
 2. **Bone nodule assay**：石灰化ノジュール数と面積は、実験側・対照側ともにGKラットで有意に減少した($p < 0.0001$)。
 3. **歯槽骨中の骨代謝マーカー発現**：歯槽骨中のmRNA発現は、GKラットの実験側においてALP・cbfa1・col1・TRAPの発現はWistarラットの同側と比較して減少する傾向を示した。ただし、統計学的な有意差はなかった。
 4. **組織学的観察**：GKラット実験側ではWistarラット同側と比較して、炎症性細胞の浸潤が広範囲に認められた。
- 以上の結果から、GKラットは健常ラットと比べ、実験的歯周炎によって引き起こされる骨代謝回転の変化が低く、さらに歯周組織の炎症反応が増悪されることが示唆された。

半月状歯肉弁歯冠側移動術後治癒の組織学的評価

北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室、*学術支援部

○半田良平、齋藤彰、齋藤恵美子、原橋宏幸、本間義幸*、川浪雅光

Histological evaluation of healing after semilunar coronally positioned flap

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, *Support Section for Education and Research, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine
HANDA Ryohei, SAITO Akira, SAITO Emiko, HARAHASHI Hiroyuki, HONMA Yoshiyuki*, KAWANAMI Masamitsu

【目的】

辺縁歯肉の退縮は審美障害、口腔衛生状態の低下および歯肉歯槽粘膜異常を引き起こし、根面う蝕や象牙質知覚過敏症、根面の磨耗の原因因子となる。

露出根面の被覆法として、半月状歯肉弁歯冠側移動術が 1986 年に Tarnow により紹介された。この術式は弁に緊張がかからないため、口腔前庭の短縮が生じず、歯間乳頭の高さの喪失がなく審美的であり、ヒトの 3mm 以下の歯肉退縮に有効であると臨床の評価を得ている。しかし術後の治癒形態については組織学的評価がなされていない。そこで本研究の目的は半月状歯肉弁歯冠側移動術の治癒過程における、根面と歯肉弁の付着様式を組織学的に観察することである。

【材料および方法】

実験にはビーグル犬 8 頭の 38 前歯を用いた。前歯部の頬側歯肉を剥離し、各被験歯の根面が CEJ から 4mm 根尖側まで露出するように歯槽骨を削除して歯肉退縮モデルを作製した。4 週後、組織が上皮化して各被験歯に歯肉退縮が生じていることを確認し、半月状歯肉弁歯冠側移動術を行った。被験歯の露出根面をルートプレーニングし、CEJ にラウンドバーでノッチを付与した。辺縁歯肉の形態に平行して半月状の切開を入れた後、歯肉溝切開で部分層弁を作製して可動性を持たせた。半月状歯肉弁を歯冠側へ移動し、辺縁を CEJ の位置に置き生理食塩水で湿らせた滅菌ガーゼで 5 分間圧迫した。術後、臨床的に歯肉退縮の計測を行った。

観察期間は術後 0 週 (n=10)、1 週 (n=10)、2 週 (n=10)、4 週 (n=10) とした。病理標本は固定、脱灰後、通法に従いパラフィン包埋し、厚さ 5 μm の頬舌縦断連続切片を作製した後、H-E 重染色を行い、組織学的観察及び計測を行った。組織学的計測はルートプレーニングした根面における血餅、上皮、結合組織および新生セメント質の距離を計測し、根面の最根尖側からノッチまでの距離に対する百分率で示した。

【結果】

1 週群の 2 部位は術後の感染により、正常な治癒が見られなかったため評価から除外したが、他部位は肉眼的に異常所見はなく、炎症も観察されなかった。CEJ のノッチから歯肉辺縁までの距離は観察期間終了後 0 週で 0.05mm、1 週で 0.68mm、2 週で 0.38mm、4 週で 0.1mm であり、良好な根面被覆が得られた。

半月状歯肉弁歯冠側移動術の直後では、弁と根面間の約 80% が血餅で満たされ、根吸収は観察されなかった。術後 1 週ではルートプレーニング面の 65.3% に上皮のダウングロースが見られ、その根尖側 21.9% に結合組織が見られた。8 部位中 2 部位に、結合組織で付着した根面の一部に根吸収が観察された。術後 2 週では、上皮のダウングロースが 68.4%、結合組織による付着が 26% 見られた。4 部位に根吸収が観察された。術後 4 週の上皮のダウングロースは 73.3%、結合組織による付着は 19.8% 見られ、新生セメント質の形成が根尖側に 6.9% 観察された。1 部位に根吸収が観察された。

【結論】

半月状歯肉弁歯冠側移動術の術後 4 週では、根面と歯肉弁の付着は、上皮のダウングロースが歯冠側約 70% で、結合組織による付着が約 20% であった。上皮のダウングロース量は術後 1 週でほぼ 4 週と同等であった。新生セメント質の形成は術後 4 週から根尖側に認められた。

侵襲性歯周炎歯肉組織におけるコルチゾールと細胞接着装置構成タンパクの局在

広島大学大学院 医歯薬学総合研究科 先進医療開発科学講座 歯周病態学分野¹,
広島大学病院 障害者歯科²,

○林田浩一^{1,2}, 常国徳子¹, 加治屋幹人¹, 藤田剛¹, 柴秀樹¹, 内田雄士¹,
吉野宏¹, 河口浩之¹, 栗原英見¹

Distribution of cortisol and the cell adhesion proteins in gingival tissue from aggressive periodontitis.

¹Department of Periodontal Medicine, Division of Frontier Medical Science, Hiroshima University Graduate
School of Biomedical Sciences, ²Special Care Dentistry, Hiroshima University Hospital.

○Koichi Hayashida^{1,2}, Noriko Tsunekuni¹, Mikihiro Kajiya¹, Tsuyoshi Fujita¹,
Hideki Shiba¹, Yushi Uchida¹, Hiroshi Yoshino¹, Hiroyuki Kawaguchi¹, Hidemi Kurihara¹

[目的]

ストレス刺激は歯周炎のリスクファクターのひとつであり歯周炎の発症に関与していると考えられている。コルチゾールは副腎皮質において産生されるグルココルチコイドであり、ストレス刺激によって産生が促進される。私どもは、侵襲性歯周炎患者において、健常者と比較して唾液中のコルチゾール濃度が有意に上昇していることを以前報告した。歯肉上皮細胞は歯周組織防御の最前線であり、細胞接着装置構成タンパク発現を制御することによって外部からの刺激を遮断する役割を担っている。本実験では、ストレス刺激によって誘導される生体反応と歯周炎との関連を解明することを目的として、歯肉上皮細胞におけるタイトジャンクションおよびギャップジャンクションの発現とコルチゾールとの関係に着目し、以下の実験を行なった。

[材料および方法]

- 1) コルチゾールの局在を間接的に調べるために、インフォームドコンセントが得られた侵襲性歯周炎患者および慢性歯周炎患者から、主に歯周外科時に切除された歯肉片を用いて、抗 corticosteroid binding globulin (以下 CBG) ヤギ IgG を用いて、ABC 法による免疫染色を行った。また、connexin 43 および ZO-1 についても同様に免疫染色によって、歯肉組織における発現を調べた。健常者歯肉組織は歯冠修復治療のために歯肉切除した組織を用いた。
- 2) 培養ヒト歯肉上皮細胞 (以下 HGEC) の細胞接着装置に対するコルチゾールの影響を調べるために、HGEC に dexamethasone を 5 日間作用させ、ZO-1 タンパク発現を Western blot 法で解析した。

[結果]

- 1) 侵襲性歯周炎患者由来の歯肉組織では、歯肉上皮細胞に CBG の強い陽性反応が認められたが、健常者由来のものでは検出限界以下であった。健常者由来の歯肉組織において、歯肉上皮細胞間に connexin 43 および ZO-1 の発現が認められた。侵襲性歯周炎患者では検出限界以下であった。
- 2) dexamethasone は、HGEC の ZO-1 タンパク発現量を減少させた。

[結論]

以上の結果から、侵襲性歯周炎患者におけるストレス反応は特徴的であり、コルチゾールの発現量が慢性的に増加し、細胞間接着が脆弱化することによって、歯周炎を進行させることが示唆された。