

## MTA は C2C12 の骨芽細胞へ分化を促進する

<sup>1)</sup> 日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座 <sup>2)</sup> 日本大学歯学部生化学教室

<sup>3)</sup> 日本大学歯学部衛生学教室 <sup>4)</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>5)</sup> 日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門

○岩田桜子<sup>1)</sup> 林 誠<sup>1,4)</sup> 小林慶美<sup>1)</sup> 神尾いつか<sup>1)</sup> 鈴木直人<sup>2,5)</sup> 前野正夫<sup>3,5)</sup> 小木曾文内<sup>1,4)</sup>

### MTA promotes osteoblastic differentiation of C2C12 cells

Departments of <sup>1)</sup>Endodontics, <sup>2)</sup>Biochemistry and <sup>3)</sup>Oral Health Sciences, Nihon University School of Dentistry,

<sup>4)</sup>Divisions of Advanced Dental Treatment and <sup>5)</sup>Functional Morphology, Dental Research Center, Nihon

University School of Dentistry

○Sakurako Iwata<sup>1)</sup>, Makoto Hayashi<sup>1,4)</sup>, Yoshimi Kobayashi<sup>1)</sup>, Itsuka Kamio<sup>1)</sup>,

Naoto Suzuki<sup>2,5)</sup>, Masao Maeno<sup>3,5)</sup>, Bunnai Ogiso<sup>1,4)</sup>

#### 【研究目的】

近年、Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は歯根端切除術における逆根管充填材、穿孔封鎖材および直接覆髄剤などに応用できる歯内治療用セメントとして広く認知されている。これまでに MTA の臨床的有用性を裏付ける多くの研究が行なわれており、そのひとつに硬組織形成促進作用があげられる。実際の生体内では、未分化間葉系細胞が硬組織形成細胞に分化、増殖することが考えられるが、MTA がどのような機序で細胞の分化に関与するのかは未だ不明な点が多い。そこで硬組織形成細胞に与える MTA の作用を解明する研究の一環として、未分化間葉系細胞の分化の振り分けに及ぼす MTA の影響について検討した。

#### 【材料および方法】

##### 〈被験材料〉

被験材料として MTA (Pro Root, DENTSPLY) を用いた。材料は製造者指示通りに混和後、直径 9.0mm 厚さ 3.0 mm に調製し、37℃、湿度 100% で 24 時間硬化させ、その後 DMEM 培地中に 3 日間浸漬したものをを用いた。

##### 〈細胞培養〉

未分化間葉系細胞のモデル細胞である C2C12 を使用した。培養は 10% fetal bovine serum (FBS)、1% penicillin-streptomycin-neomycin が添加された DMEM 培地にて 37℃、湿度 100%、0.5%CO<sub>2</sub> 存在下で行った。培養方法は C2C12 を 6 穴プレートに播種 (2×10<sup>4</sup> /well) して 2 日間培養した後、FBS 濃度を 5% に低下し、被験材料を静置させたメンブレンフィルター (Cell culture insert, BD Falcon) を設置して 7 日間培養した。なお材料を入れずメンブレンフィルターのみ設置したものをコントロール群とした。

##### 〈細胞増殖の測定〉

C2C12 を上記方法にて培養し、Cell Counting Kit-8 (同仁化学) を用いて培養 1, 3, 5 および 7 日後に細胞数を測定した。

##### 〈分化マーカーの遺伝子発現〉

C2C12 の分化の指標となるマーカーの遺伝子の発現を real-time PCR 法で解析した。すなわち、C2C12 を上記方法にて培養し、骨芽細胞の分化マーカー (Runx2、Osterix)、軟骨細胞の分化マーカー (Sox9)、脂肪細胞の分化マーカー lipoprotein lipase (LPL) および筋芽細胞の分化マーカー、(MyoD)、を培養 1, 3, 5 および 7 日後に解析した。

##### 〈統計分析〉

統計分析は、Mann-Whitney *U* test を用いて、有意水準 5% にて統計学的検定を行った。

#### 【成績】

細胞増殖は MTA とコントロール群は類似した増殖傾向を示したが、培養 1 日目と 5 日目において MTA はコントロール群と比較して有意に細胞数が増加した。Runx2、Osterix、および SOX9 発現は MTA 添加によってコントロール群より有意に増加した。一方、MyoD および LPL 発現は、MTA 添加によって有意に低下した。

#### 【考察】

以上のことから MTA により未分化間葉系細胞の細胞増殖には大きな影響は与えないが、分化の振り分けにおいて硬組織形成細胞へと誘導する可能性が示唆された。

中枢神経過敏化を生じたラット視床 MD 核における  
*N*-methyl-D-aspartate レセプターの役割

1 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 摂食機能保存学講座 歯髄生物学分野, 2 グローバル COE プログラム:  
歯と骨の分子疾患科学の国際教育拠点, 3 東京医科歯科大学歯学部附属病院 総合診療科 クリーンルーム歯科外来,

4 新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野

○ チョックチャナチャイサクン ウライワン<sup>1,2</sup>, 金子実弘<sup>1</sup>, 金子友厚<sup>4</sup>, 河村 隼<sup>1,2</sup>,  
砂川光宏<sup>1,3</sup>, 興地隆史<sup>4</sup>, 須田英明<sup>1,2</sup>

The role of *N*-methyl-D-aspartate receptors in the thalamic mediodorsal nucleus  
during central sensitization

1 Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, 2 Global Center of Excellence (GCOE) Program; International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone diseases, 3 Clean Room, University Hospital, Faculty of Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, 4 Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences.

CHOKECHANACHAISAKUL Uraiwan<sup>1,2</sup>, KANEKO Mitsuhiro<sup>1</sup>, KANEKO Tomoatsu<sup>1</sup>, KAWAMURA Jun<sup>1,2</sup>,  
SUNAKAWA Mitsuhiro<sup>1,3</sup>, OKIJI Takashi<sup>4</sup>, SUDA Hideaki<sup>1,2</sup>

**[Objective]** The thalamic mediodorsal (MD) nucleus is one of the major sites that receive afferent information from the tooth pulp. Increased responsiveness of the tooth pulp driven neurons (TPDNs) may reflect the central sensitization, in which *N*-methyl-D-aspartate receptors (NMDAR) may be involved. In order to elucidate the functional role of NMDAR in the sensitized thalamus, we here performed the neuronal activity recording and the gene expression analysis of NMDAR subunit NR2A and NR2D in rats, following application of mustard oil (MO), an inflammatory irritant and a small fiber excitant, to the tooth pulp.

**[Materials and Methods]** Nine-week-old male Sprague-Dawley rats were used. Dental pulp exposure was performed to apply MO on the left maxillary first molar. At 10 minutes after MO application, MK-801, an NMDAR antagonist, was micro-injected to the thalamic MD. At 30 minutes, naloxone was given systemically. During the experiment, neuronal responsiveness in the thalamic MD was recorded. At each time point after the MO application, contra- and ipsi-lateral thalamic tissues were excised for real-time PCR analysis of NR2A and NR2D mRNA. Statistical analysis was made by ANOVA.

**[Results]** After the MO application to the tooth pulp, TPDNs responsiveness was significantly increased in the thalamic MD nucleus. The responsiveness was significantly decreased after MK-801 micro-injection near the recording site ( $P < 0.05$ , Mann-Whitney U-test), but it was again increased significantly after the naloxone systemic administration ( $P < 0.01$ , Mann-Whitney U-test).

Real-time PCR analysis revealed that NR2A and NR2D mRNA in the contra-lateral thalamus showed a significant increase at ten minutes after the MO application ( $P < 0.05$ ). At two minutes after the MK-801 application, the expression was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The decreased NR2A and NR2D mRNA expression by MK-801 was increased again after the naloxone systemic administration.

**[Discussion]** Expression levels of NR2A and NR2D mRNA in the thalamus paralleled with the changes of neuronal responsiveness. Thus, NMDAR subunit NR2A and NR2D may play roles in the central sensitization in the thalamus.

## ロイヤルゼリーは歯根膜細胞の石灰化ノジュール形成を促進し、 炎症性サイトカイン・ケモカイン産生を抑制する

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)

○柳田 学、兒嶋由子、森 健太、山田 聡、村上伸也

### Royal jelly promotes the calcified nodule formation of periodontal ligament cells and suppresses inflammatory cytokine and chemokine production

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

Manabu YANAGITA, Yuko KOJIMA, Kenta MORI,

Satoru YAMADA, Shinya MURAKAMI

#### (目的)

近年、自然食志向から薬剤に代わり天然材料を用いる気運が高まっている。蜂蜜、ロイヤルゼリー、プロポリス等みつばち産品は日々の食卓で用いられ、あるいは健康食品として一般に広く知られている。ロイヤルゼリー(RJ)は動物実験によって花粉症症状の軽減、肝機能保護、コレステロール低下等が確認されていることから、生体恒常性の維持や生体防御機構に影響を及ぼす成分が豊富に存在することが予想される。一方、歯根膜細胞は硬組織形成細胞への分化能を有することが知られており、口腔内の種々の環境変化に応じて歯槽骨のリモデリングに関与している。我々はこれまでマウス歯根膜細胞において石灰化培地での長期培養により石灰化ノジュール形成を誘導することを報告してきた。また、歯根膜細胞は *P.gingivalis* の LPS 刺激により炎症性サイトカイン・ケモカインを産生することも報告されている。本研究ではマウス歯根膜由来細胞を用いて、RJ による石灰化関連遺伝子の発現及び石灰化ノジュール形成の制御、LPS 刺激によって誘導される炎症性サイトカイン・ケモカイン産生に及ぼす影響について検討した。

#### (材料及び方法)

1. 細胞：マウス歯根膜由来クローン細胞(MPDL)は 2.5 週齢の BALB/c マウスの下顎臼歯歯根面より組織を採取して限界希釈法にてクローニングして得られたクローンのうちアルカリフォスファターゼ(ALP)活性の高いクローン (MPDL22) を 10%FCS 含有  $\alpha$ -MEM にて培養した。
2. 骨関連遺伝子の発現：RJ 存在下非存在下での MPDL22 における I 型コラーゲン、オステオポンチン(OPN)、オステオカルシン(OCN)、osterix の発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。
3. 石灰化ノジュール形成能の解析：培養した細胞層を Dahl らの方法でアリザリン染色を行い比較検討した。
4. 炎症性サイトカイン・ケモカインの産生：MPDL22 を RJ 存在下非存在下で *P.gingivalis* の LPS にて刺激して 48 時間培養した後に培養上清中の IL-6、CXCL10 濃度を ELISA 法にて検討した。

#### (結果)

1. RJ 存在下で培養することにより、MPDL22 において OPN、OCN、osterix の発現が亢進した。
2. MPDL22 を石灰化培地で長期培養した際、RJ 存在下では石灰化ノジュール形成は促進した。
3. IL-6、CXCL10 の産生量は RJ 濃度依存的に抑制されることが明らかとなった。

#### (結論及び考察)

RJ は MPDL22 において骨関連遺伝子の発現や石灰化ノジュール形成を亢進すること、IL-6・CXCL10 産生を抑制することから歯根膜細胞の骨芽細胞様分化を促進する効果と抗炎症作用を併せ持つことが明らかとなった。このことから、RJ は歯周組織の炎症、歯槽骨吸収を抑制し、歯周炎の病態改善あるいは予防に応用できる可能性が示唆された。(本研究の一部は山田養蜂場みつばち研究助成基金の援助を受けて実施した)

### GDNF がヒト歯根膜細胞の走化性に及ぼす影響について

<sup>1)</sup>九州大学大学院歯学研究院歯科保存学研究分野、<sup>2)</sup>九州大学病院歯内治療科  
○山本直秀<sup>1)</sup>、前田英史<sup>2)</sup>、友清惇<sup>1)</sup>、藤井慎介<sup>2)</sup>、和田尚久<sup>2)</sup>、門野内聡<sup>1)</sup>、河野清美<sup>1)</sup>、郡勝明<sup>1)</sup>  
寺松陽子<sup>1)</sup>、木原智子<sup>2)</sup>、赤峰昭文<sup>1)2)</sup>

#### The Effects of Glial Cell-Line-Derived Neurotrophic Factor on Chemotaxis of Human Periodontal Ligament Cells.

<sup>1)</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University,  
<sup>2)</sup> Department of Endodontology, Kyushu University Hospital  
Naohide Yamamoto<sup>1)</sup>, Hidefumi Maeda<sup>2)</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>1)</sup>, Shinsuke Fujii<sup>2)</sup>, Naohisa Wada<sup>2)</sup>, Satoshi Monnouchi<sup>1)</sup>, Kiyomi Kono<sup>1)</sup>, Katuaki Koori<sup>1)</sup>, Yoko Teramatsu<sup>1)</sup>, Tomoko Kihara<sup>2)</sup>, Akifumi Akamine<sup>1)2)</sup>

**【目的】** Glial Cell-Line-Derived Neurotrophic Factor (GDNF) は種々の細胞に対して運動能や増殖の促進、形態発生の誘導、抗アポトーシス作用など生体に対し多様な生物活性を持つことが知られている。しかしながら現在のところ、歯根膜細胞に対する GDNF の作用については十分に解明されていない。そこで本研究では、(1) 歯根膜組織における GDNF の発現、ならびに(2) GDNF が培養ヒト歯根膜細胞 (HPLC) の走化性に与える影響について検討した。

**【材料および方法】** (1) SD ラット (5 週齢、♂) の右側下顎臼歯部の組織切片および GDNF 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った。(2) 矯正治療を目的として本院を受診し、本研究への賛同が得られた患者 3 名から抜去した歯牙より歯根膜組織を採取し、10% Fetal Bovine Serum 含有の  $\alpha$ -MEM にて 6-7 継代培養した細胞を HPLC-2G (30 代、♀)、HPLC-3D (20 代、♀)、ならびに HPLC-3M (20 代、♂) として本研究に用いた。これらの HPLC を用いて、RT-PCR 法にて GDNF のレセプターである GFR  $\alpha$ -1、RET 及び NCAM の mRNA の発現について解析した。次に、RGD ペプチド、RGE ペプチド、インテグリン  $\alpha$  v  $\beta$  3 中和抗体、および mouse control IgG (いずれも 500ng/mL または 1  $\mu$ g/mL) で前処理後、50ng/mL の recombinant human GDNF (rhGDNF, PeproTech) を添加し、modified Boyden Chamber 法にて GDNF による HPLC の走化活性に及ぼす影響について検討した。なお本研究は九州大学大学院歯学研究院倫理委員会の承認を得て実施された。

**【結果】** (1) GDNF 抗体を用いて免疫組織化学的染色を行った結果、歯槽骨表面の骨芽細胞、歯根膜組織中の細胞の一部、および有細胞セメント質表面のセメント芽細胞の細胞質内に陽性反応が認められた。一方、根分岐部付近の歯根膜組織では陽性反応を示す細胞は極めて少数であった。(2) HPLC は、GDNF レセプターである GFR  $\alpha$ -1 及び NCAM の mRNA を発現していたが、RET の mRNA 発現は検出されなかった。また走化性試験の結果から、GDNF で刺激した 3 種の HPLC において約 2-3 倍に走化性が促進することが明らかになった。この GDNF による効果は、RGD ペプチドまたはインテグリン  $\alpha$  v  $\beta$  3 中和抗体による前処理によって、非刺激群とほぼ同程度まで抑制された。一方、RGE ペプチドまたは mouse control IgG による前処理は、GDNF 刺激に影響を及ぼさなかった。

**【考察】** 本研究の結果から、GDNF は RGD 配列を含んだ細胞外マトリックスならびにインテグリン  $\alpha$  v  $\beta$  3 を介してヒト歯根膜細胞の走化性を促進する働きがあることが示唆された。またこの GDNF のシグナルは、GFR  $\alpha$ -1 または NCAM を介したものであると考えられる。これまでに GDNF は、神経前駆細胞や腎上皮細胞において、特定の細胞外マトリックスおよびインテグリン受容体の mRNA の発現を誘導することによって走化性を促進し、組織再生に関与することが報告されている。しかしながら、GDNF は HPLC のインテグリン  $\alpha$  v  $\beta$  3 の mRNA 発現には影響しなかったことから、RGD 配列を含んだ細胞外マトリックスが走化性の促進に関与していると思われる。今後さらに、歯根膜組織における GDNF 合成のメカニズムとシグナル伝達機構、そしてヒト歯根膜細胞の走化性の誘導に関与する細胞外マトリックスならびに他のインテグリンの関与を含め、GDNF による走化性の誘導が歯根膜組織の再生に及ぼす影響について明らかにしていこうと考えている。

**【結論】** (1) GDNF は歯周組織中において歯槽骨表面の骨芽細胞、歯根膜組織中の細胞の一部および有細胞セメント質表面のセメント芽細胞の細胞質中に発現する。(2) GDNF は HPLC に対し、RGD 配列を含んだ細胞外マトリックスならびにインテグリン  $\alpha$  v  $\beta$  3 を介して走化性を誘導する。

bFGF が未分化なヒト歯根膜細胞株の線維芽細胞様分化に及ぼす影響について

<sup>1)</sup>九州大学大学院歯学研究院歯科保存学研究分野、<sup>2)</sup>九州大学病院歯内治療科  
河野清美<sup>1)</sup>、前田英史<sup>2)</sup>、和田尚久<sup>2)</sup>、藤井慎介<sup>2)</sup>、友清淳<sup>1)</sup>、門野内聡<sup>1)</sup>、山本直秀<sup>1)</sup>、郡勝明<sup>1)</sup>、寺松陽子<sup>1)</sup>、  
木原智子<sup>2)</sup>、赤峰昭文<sup>1) 2)</sup>

**The effects of basic fibroblast growth factor on the fibroblastic differentiation of human undifferentiated periodontal ligament cell lines**

<sup>1)</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University

<sup>2)</sup>Department of Endodontology, Kyushu University Hospital

Kiyomi Kono<sup>1)</sup>, Hidefumi Maeda<sup>2)</sup>, Naohisa Wada<sup>2)</sup>, Shinsuke Fujii<sup>2)</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>1)</sup>, Satoshi Monnouchi<sup>1)</sup>, Naohide Yamamoto<sup>1)</sup>, Katsuaki Koori<sup>1)</sup>, Yoko Teramatsu<sup>1)</sup>, Tomoko Kihara<sup>2)</sup>, and Akifumi Akamine<sup>1) 2)</sup>

**【目的】** 線維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor : FGF) は、現在ヒトにおいて 22 種類が同定されており、その中で basic FGF (bFGF) は、血管新生および軟骨細胞や骨細胞の増殖を促進し、骨、軟骨形成において重要な働きを持つことが知られている。また歯根膜細胞に対しては、その増殖能ならびに走化性を亢進し、歯周病変部位へ応用した臨床治験の結果では高い歯周組織再生能を有することが明らかになっており、歯周組織の再生療法のサイトカイン治療薬としての認可が待たれている。しかしながら、そのメカニズムについては解明されていない点も多く残されている。本研究では、当研究室において樹立した未分化なヒト歯根膜細胞株 (1-11 細胞株, J Cell Physiol 2008; 1-17 細胞株, Differentiation 2008) を用いて、その線維芽細胞様分化に及ぼす bFGF の影響について検討した。

**【材料および方法】** (1) 免疫組織化学的解析 ; 5 週齢の雄性 Sprague-Dawley rat 下顎第一臼歯歯根膜組織の連続切片を作製し、ヤギ抗ヒト bFGF 抗体を用いて歯根膜組織における bFGF 発現細胞の検出を行った。陽性部位の検出には ABC-DAB 法を用いた。

(2) 1-11 細胞株ならびに 1-17 細胞株の遺伝子発現解析 ; 1-11 細胞株ならびに 1-17 細胞株を 2% fetal bovine serum 含有  $\alpha$ -Minimum Essential Medium 培地中で培養し、50ng/mL の bFGF を添加後 48 時間で、total RNA を回収し、RT-PCR 法にて FGF receptor1(FGFR1)と FGFR2、collagen1(Col I)、alpha-smooth muscle actin( $\alpha$ -SMA)、および fibrillin1 (FBN1)の遺伝子発現について検討した。

**【結果と考察】** (1) 抗bFGF抗体を用いた免疫染色の結果、歯根膜組織中の血管内皮細胞は強い陽性反応を示し、一方歯根膜細胞は散在性に陽性反応を示した。歯根膜組織では、生理的条件下で血管内皮細胞だけではなく歯根膜細胞にもbFGFを発現していることが示唆された。

(2) 1-11 細胞株および 1-17 細胞株は、ともに FGFR1 を発現し、FGFR2 はほとんど検出されなかった。また、bFGF にて刺激した 1-11 細胞株において、Col I、 $\alpha$ -SMA、および FBN1 の遺伝子発現が抑制された。1-17 細胞株では Col I および  $\alpha$ -SMA の発現が抑制されたが、FBN1 の発現には影響が認められなかった。 $\alpha$ -SMA は機能的な歯根膜細胞において発現することが知られているが、最近、bFGF が、皮膚の myofibroblast において  $\alpha$ -SMA の発現を抑制し、 $\alpha$ -SMA 陰性 fibroblast の数を増加させることによって、創傷治癒にかかわっていることを示唆する報告がなされており、bFGF が未分化な歯根膜細胞における  $\alpha$ -SMA の発現を抑制することで歯根膜再生に関与している可能性が推察された。Col I は骨、象牙質、セメント質、歯根膜の主要なコラーゲンであることが知られており、歯根膜細胞を bFGF にて刺激すると Col I の発現が減少するという報告がある。私達が今回用いた未分化な歯根膜細胞でも同様に bFGF 刺激により Col I の発現が抑制されたことから、bFGF が硬組織および歯根膜線維芽細胞への分化を制御している可能性が示唆された。また、FBN1 は弾性線維の構成成分で、弾性線維の周囲に網目構造を形成し保持と強度を与えることが知られている。bFGF は細胞外基質を制御することで歯根膜組織の再生を担うことも知られていることから、今回細胞株によって bFGF 刺激後の FBN1 発現量が異なっており、分化段階の違いによって弾性線維を含む細胞外基質ひいては歯根膜組織の再生へ与える影響が異なる可能性があることが示唆された。以上のことから、bFGF は FGFR1 を介して未分化な歯根膜細胞を刺激し、Col I、 $\alpha$ -SMA、FBN1 の発現を抑制することで歯根膜再生を制御する可能性が示唆された。

**【結論】** 歯根膜細胞は FGFR1 ならびに bFGF を発現している。また bFGF は、1-11 細胞株における Col I、 $\alpha$ -SMA、および FBN1 の遺伝子発現、ならびに 1-17 細胞株における Col I および  $\alpha$ -SMA の遺伝子発現を抑制し、歯根膜細胞の分化を制御している。

## ヒト歯根膜および歯髓細胞の免疫抑制特性に関する研究

<sup>1</sup>九州大学病院 歯内治療科、<sup>2</sup>九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野  
○和田尚久<sup>1</sup>、前田英史<sup>1</sup>、藤井慎介<sup>1</sup>、友清淳<sup>2</sup>、赤峰昭文<sup>1,2</sup>

### Immunomodulatory properties of human periodontal ligament cells and dental pulp cells

<sup>1</sup>Department of Endodontology, Kyushu University Hospital

<sup>2</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University  
○Naohisa Wada<sup>1</sup>, Hidefumi Maeda<sup>1</sup>, Shinsuke Fujii<sup>1</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>2</sup>, Akifumi Akamine<sup>1,2</sup>

【研究目的】近年、歯根膜および歯髓組織中に幹細胞集団が存在することが報告され、新たな組織再生の細胞源として注目されている。しかしながら、自己由来歯根膜あるいは歯髓幹細胞を移植する場合、その分化および増殖能に個人差があるために患者によっては十分な量の幹細胞を得ることが困難な場合がある。一方、同種異系細胞を移植すると、宿主が移植細胞に対する免疫反応を引き起こすことが考えられるが、骨髄由来幹細胞はその免疫反応に対する抑制能を有することが報告されている。そこで本研究では、同種異系歯根膜および歯髓細胞移植の可能性を検討する目的で各細胞の免疫特性について解析した。

【材料および方法】矯正治療を目的として抜去された小臼歯より得られた3-6継代のヒト歯根膜細胞 (HPDL) およびヒト歯髓細胞 (HDP) を用いて実験を行った。1) 各細胞群の細胞表面抗原発現をフローサイトメトリー分析法にて、また石灰化誘導能および脂肪細胞誘導能を各誘導培地を用いたアッセイにて解析した。2) 各細胞群を、分裂促進剤である ConA 刺激下の同種異系ヒト末梢血単核細胞 (ConA-PBMC) あるいは同種異系リンパ球混合培養反応 (MLR) との共培養を行い、各細胞群の PBMC 増殖に対する作用を thymidine 取込み実験にて解析し、さらにトリパンブルー取込実験及び Annexin V を用いたアポトーシス検出を行った。3) 定量的 RT-PCR 法にて各遺伝子発現について検討した。

#### 【結果および考察】

1. HPDL および HDP はヒト骨髄間葉系幹細胞 (BMSC) と同様の細胞表面抗原の発現様式および分化能を示した。
2. ConA-PBMC および MLR との共培養において HPDL、HDP あるいは BMSC は PBMC の増殖を抑制した。アポトーシス検出実験ではコントロール群と差がなく、PBMC の増殖抑制は細胞死によるものではなく細胞分裂の阻害によるものであることが示唆された。
3. HPDL および HDP を ConA-PBMC とトランスウェルを用いて共培養を行ったところ、同様に増殖抑制作用を示したことから、HPDL および HDP は可溶性の増殖阻害因子を分泌していることが示唆された。しかしながら、無刺激の HPDL および HDP の培養上清を ConA-PBMC 培養に添加した培養実験では PBMC 増殖に変化はなく、一方で IFN- $\gamma$  刺激した両細胞の培養上清添加群では増殖抑制を示した。
4. ConA-PBMC と共培養した HPDL および HDP において、細胞増殖抑制作用が報告されている TGF- $\beta$ 1, hepatocyte growth factor (HGF) および indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) の発現が上昇していた。また、ConA 刺激下の PBMC では IFN- $\gamma$  発現が上昇していたことから、HPDL および HDP に対して IFN- $\gamma$  刺激を加えたところ TGF- $\beta$ 1 および HGF の発現に変化はなかったが IDO 発現およびその活性の上昇が認められた。さらに IDO 拮抗薬の 1-MT を ConA-PBMC と HPDL との共培養系に添加したところ HPDL による PBMC 増殖抑制が阻害された。

【結論】HPDL および HDP は主に可溶性因子による免疫抑制能を示した。抑制因子のうち IDO は、活性化された同種異系 PBMC によって産生された IFN- $\gamma$  によって両細胞においてその発現が誘導された。以上より同種異系歯根膜および歯髓細胞は HLA 不適合ドナーからの移植後の組織再生あるいは同種異系反応の抑制に有用な細胞源となりうる可能性が示された。

共同研究者: Stan Gronthos (Mesenchymal Stem Cell Group, Division of Haematology, IMVS, University of Adelaide),  
P. Mark Bartold (School of Dentistry, University of Adelaide, CACDRC, University of Adelaide)

未分化なヒト歯根膜細胞株の分化に及ぼすカルシウムの影響について

<sup>1)</sup>九州大学大学院歯学研究院歯科保存学研究分野、<sup>2)</sup>九州大学病院歯内治療科

○郡勝明<sup>1)</sup>、前田英史<sup>2)</sup>、藤井慎介<sup>2)</sup>、友清淳<sup>1)</sup>、門野内聡<sup>1)</sup>、和田尚久<sup>2)</sup>、河野清美<sup>1)</sup>、山本直秀<sup>1)</sup>、寺松陽子<sup>1)</sup>、木原智子<sup>2)</sup>、赤峰昭文<sup>1) 2)</sup>

The effects of calcium on differentiation of human periodontal ligament stem/progenitor cell lines

<sup>1)</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, <sup>2)</sup>Department of Endodontology, Kyushu University Hospital

Katsuaki Koori<sup>1)</sup>, Hidefumi Maeda<sup>2)</sup>, Shinsuke Fujii<sup>2)</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>1)</sup>, Satoshi Monnouchi<sup>1)</sup>, Naohisa Wada<sup>2)</sup>, Kiyomi Kono<sup>1)</sup>, Naohide Yamamoto<sup>1)</sup>, Yoko Teramatsu<sup>1)</sup>, Tomoko Kihara<sup>2)</sup>, Akifumi Akamine<sup>1) 2)</sup>

**【目的】**セメント質ならびに骨基質においてカルシウムは主要な構成成分であるが、一方、細胞外カルシウムは骨芽細胞に直接作用することによって、石灰化を増進させる働きがあることが報告されている。我々は、第128回ならびに第129回日本歯科保存学会学術大会において、カルシウムによって刺激されたヒト歯根膜細胞(HPLC)が、骨形成タンパク質であるBone Morphogenetic Protein 2 (BMP2)、ならびにセメント質/骨関連遺伝子であるOsteopontin(OPN)およびOsteocalcin(OCN)の発現を促進することを報告した。しかしながら、未分化な歯根膜細胞の分化に及ぼすカルシウムの影響については不明であることから、本研究では、最近我々が報告した2種のヒト歯根膜前駆細胞株(1-11細胞株及び1-17細胞株)を用いて、未分化な歯根膜細胞に与える増殖能、分化能および石灰化能に与える影響について検討した。

**【材料および方法】**1-11細胞株及び1-17細胞株は、10%Fetal Bovine Serum含有の $\alpha$ -MEM中で培養を行い、カルシウム刺激群には5mMのCaCl<sub>2</sub>を加えて培養を行った。細胞増殖実験は、48-wellのプレート上に1wellあたり $5 \times 10^3$  cellsを播種し、24時間及び72時間培養後の細胞数を、Cell Proliferation Assay kit (MILLIPORE社)を用いてImmuno Mini NJ-2300にて計測した。また、セメント質/骨関連遺伝子としてRUNX2、OPN、OCN、TGF- $\beta$ 1及びBMP2、ならびにカルシウム感知受容体であるcalcium sensing receptor (CaSR)の遺伝子発現を定量的PCR法にて解析を行った。石灰化アッセイはvon Kossa染色法にて評価した。

**【結果】**24時間及び72時間カルシウム刺激下で培養した両細胞株ともに無刺激群と比較して有意に細胞数の上昇が認められた。次に、14日間カルシウム刺激を行った両細胞株におけるRUNX2、OPN、OCN、TGF- $\beta$ 1ならびにBMP2の遺伝子発現について3日ならびに7日目と比較検討した。1-11細胞株では、7日目にOPNの発現が上昇したが、RUNX2及びBMP2の遺伝子発現は有意に低下し、OCN及びTGF- $\beta$ 1の発現には変化が認められなかった。14日目にはBMP2を除く他の遺伝子発現は有意に促進した。一方1-17細胞株では、刺激後7日目にはRUNX2、OPN、OCN、TGF- $\beta$ 1及びBMP2の遺伝子発現は有意に上昇し、14日目にはRUNX2及びTGF- $\beta$ 1の発現は有意な上昇を維持していたが、OPN、OCN及びBMP2の遺伝子発現はコントロールと同レベルであった。3日間の刺激では、両細胞株ともに、いずれの遺伝子発現にも変化が認められなかった。また両細胞株をカルシウムにて5日間刺激した際のCaSRの遺伝子発現について検討した。1-11細胞株では5日目に発現が促進したのに対し、1-17細胞株では4日目には有意に発現が上昇していた。さらに4週間カルシウム刺激した両細胞株は、von Kossa染色陽性反応を示し、特に1-17細胞株において強い陽性反応が認められた。

**【考察】**細胞外カルシウムは、未分化なヒト歯根膜細胞の増殖ならびにセメント芽細胞/骨髄細胞様細胞への分化を促進させる働きを有しており、このカルシウム刺激によるシグナルは、CaSRを介したものである可能性が示唆された。また1-11細胞株の分化の進行が1-17細胞株よりも遅延したのは、Runx2ならびにBMP2の発現と関連した可能性があるかと推察される。これまでの我々の報告<sup>1), 2)</sup>から、1-17細胞株は1-11細胞株よりもより未分化な歯根膜細胞株であると考えており、今後さらに、歯根膜細胞の分化段階とカルシウム刺激によるRunx2ならびにBMP2の発現との関連性について詳細に検討していく必要があると考えている。

**【結論】**細胞外カルシウムは未分化なヒト歯根膜細胞株の増殖を促進し、さらにセメント質/骨関連遺伝子の発現の上昇ならびに石灰化を誘導した。

(参考論文)

<sup>1)</sup> Fujii et al. J Cell Physiol 2008; <sup>2)</sup> Tomokiyo et al. Differentiation 2008

## 電気刺激が歯周組織線維芽細胞に与える影響

日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座<sup>1</sup>, 医療法人社団 玉翔会 玉澤歯科医院<sup>2</sup>,  
株式会社テクノリンク<sup>3</sup>

山下亜希<sup>1</sup>, 山下 穰<sup>1</sup>, 玉澤 賢<sup>2</sup>, 佐藤 聡<sup>1</sup>, 竹石龍右<sup>3</sup>

### Effect of electrical stimulation on the periodontal fibroblasts

Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University<sup>1</sup>  
Gyokushoukai Medical Juridical Person, Tamazawa Dental Office<sup>2</sup>, Techno Link Co., Ltd.<sup>2</sup>

YAMASHITA Aki<sup>1</sup>, YAMASHITA Joe<sup>1</sup>, TAMAZAWA Ken<sup>2</sup>, SATO Soh<sup>1</sup>, TAKEISHI Ryouyuke<sup>2</sup>

### 【目的】

電気刺激は、リハビリテーションやペインクリニックなどの理学療法の分野にて広く応用されている。しかしながら、歯科領域においては、電気刺激が口腔組織にどのような効果をもたらすのかは不明な点も多く、それらについての報告も少ない。そこで、本研究では、電気刺激が歯周組織由来の線維芽細胞に対しどのような影響をもたらすのかを明らかにするべく *in vitro* における実験を行なった。

### 【材料および方法】

#### 1. ヒト歯周組織由来線維芽細胞の分離と培養

ヒト歯周組織は、日本歯科大学新潟病院を受診され抜歯処置を予定した患者より同意を得た後、廃棄予定とされる抜去歯からの組織を採取し研究を行った。抜去歯は、処置後培養液中(15%FBS含有 DMEM-F12)に4℃下にて一晩保存した。その後、採取する組織は、歯根膜組織と歯肉組織とし、それら組織をメスにて採取し細断を行い、細胞培養用シャーレに静置して細胞の伸展増殖による初代培養を行った。初代培養により得た細胞は、シャーレ上にて sub-confluent の状態であることを確認した後、0.25% trypsin にて処理し、継代培養を行った。研究には、第5継代までの細胞を用いた。なお、本研究は、日本歯科大学新潟生命歯学部倫理委員会の承諾を得ている(許可番号:ECNG-H-8)。

#### 2. 電気刺激装置と刺激方法

電気刺激装置は、理学療法機器テクトロン EMS 2H® (Techno Link 社、新潟)を用いた。実験には、24well 細胞培養用プレートを用い、プラチナ電極を組み込み、波形はエムキューブ波と呼ばれるパルス幅変調方式 2.7KHz を用い電流を 10mA とした。

各種ヒト線維芽細胞は、培養液(15%FBS含有 DMEM-F12)で  $1.5 \times 10^3$  cells/ml に調整し、24well 細胞培養用プレートに播種( $1.5 \times 10^3$  cell/well)した。培養液交換は、2日おきに行った。

電気刺激は、播種後3日目より1日1回刺激し、1分、5分、10分の3群に分別した。

#### 3. 評価方法

細胞評価方法は、AlamarBlue™(Invitrogen 社)を用いた細胞呼吸時のミトコンドリア活性による還元染色を用いてその蛍光度を測定し検討を行った。測定日は、播種後2日目、4日目、8日目、10日目を測定し、電気刺激を行ったものをテスト群とし、非刺激のものをコントロール群として比較検討を行った。

測定結果は、t-test および Wilcoxon rank sum test を用いて統計解析を行った。(p<0.05)

### 【結果および考察】

ヒト歯根膜由来線維芽細胞は、コントロール群と比較しテスト群において10日目で高い細胞活性がみられた。しかしながら、ヒト歯肉由来線維芽細胞においては、各測定において、テスト群とコントロール群の群間に大きな差はみられなかった。

以上の結果より、電気刺激は、ヒト歯根膜由来線維芽細胞の細胞呼吸におけるミトコンドリア活性を高め、歯周治療への可能性が示唆された。

## bFGF がヒト歯根膜細胞の microRNA 発現に及ぼす影響

新潟大学超域研究機構<sup>1</sup> 新潟大学大学院医歯学総合研究科<sup>2</sup>  
奥井 桂子<sup>1,2</sup> 本田 朋之<sup>1</sup> 奥井 隆文<sup>1</sup> 高橋 直紀<sup>1,2</sup> 土門 久哲<sup>1,2</sup> 山崎和久<sup>1,2</sup>

The effect of bFGF on microRNA expression profiles in human periodontal ligament cells.  
Center for Transdisciplinary Research, Niigata University<sup>1</sup>  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences<sup>2</sup>  
Keiko Okui<sup>1,2</sup>, Tomoyuki Honda<sup>1</sup>, Takafumi Okui<sup>1</sup>, Naoki Takahashi<sup>1,2</sup>, Hisanori Domon<sup>1,2</sup>,  
and Kazuhisa Yamazaki<sup>1,2</sup>

### 【目的】

近年、わずか 20 数塩基のタンパク質をコードしない RNA 分子である microRNA (miRNA)により遺伝子発現が制御されることが明らかになってきた。miRNA は、ターゲットである messenger RNA (mRNA)に対して部分的相補的に結合して分解を促進、あるいは翻訳抑制を誘導することによりタンパク発現を抑制し、発生・分化・細胞増殖など多岐にわたる生命現象に関与すると考えられている。一方、線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor: bFGF) は再生の場において、未分化間葉系幹細胞を含んだ歯根膜細胞の分化を抑制し増殖を促進する。bFGF による歯周組織再生のメカニズムにも miRNA が関与している可能性があるが未だ報告はない。

本研究の目的は、bFGF が歯根膜細胞の miRNA 発現に及ぼす影響を網羅的に解析、その生物学的機能を明らかにすることである。

### 【材料および方法】

#### (1) マイクロアレイによる miRNA 網羅的発現解析

bFGF (100ng/ml)で培養ヒト歯根膜細胞 (N=2) を 24 時間刺激後、全 RNA を AGPC 法にて抽出し、miRNA 発現をマイクロアレイ (Agilent Tech, human microarray Rel12.0) により網羅的に解析した。

#### (2) マイクロアレイ結果の検証

bFGF 刺激で 2 倍以上の発現上昇が認められた hsa-miR-29b について、サンプル数を増やしその発現をリアルタイム PCR 法にて定量解析した。(N=6)

#### (3) hsa-miR-29b の標的遺伝子の発現解析

hsa-miR-29b と部分的相補的に結合する mRNA をデータベース (Target Scan human5.1) を用いて検索、ターゲットとなりうる Collagen type1  $\alpha$ 1 (COL1A1)、Collagen type3  $\alpha$ 1 (COL3A1)、Elastin (ELN)、Hyaluronan Synthase 3 (HAS3)について、bFGF 刺激 24 時間後の発現をリアルタイム PCR 法にて定量解析した。(N=6)

#### (4) hsa-miR-29b の過剰発現解析

歯根膜細胞に hsa-miR-29b の前駆体または Negative Control (100nM, 24 時間)をトランスフェクトした際の標的遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法にて解析した。

### 【結果および考察】

(1)培養歯根膜細胞において、アレイに搭載されていた 851 個の human miRNA のうち、201 個が検出された。その内、bFGF 刺激によりコントロールと比較して 2 倍以上の増減を示したものは 12 個であった。3 倍以上の増減を示すものはなかった。

(2) bFGF 刺激 24 時間後に hsa-miR-29b の発現は有意に増加した。

(3) bFGF 刺激 24 時間後に COL1A1, COL3A1, ELN は有意に減少した。HAS3 の発現に変化はなかった。

(4) hsa-miR-29b を過剰発現させた場合においては、COL1A1, COL3A1, ELN の mRNA 発現に変化は認められなかった。

歯根膜細胞において、bFGF 刺激により変動する miRNA の数は少なく、その変動幅も小さかった。hsa-miR-29b の過剰発現実験より、hsa-miR-29b が COL1A1, COL3A1, ELN の発現調節に及ぼす影響は mRNA レベルでは認められなかった。加えて、bFGF 刺激での hsa-miR-29b の発現上昇は 2 倍程度であることから、bFGF による COL1A1, COL3A1, ELN の mRNA 発現低下への関与は非常に少ないものであると考えられる。

意図的に骨粗鬆症を惹起した雄ラット下顎骨の皮質骨に関する研究

日本歯科大学新潟病院総合診療科  
○馬場玲子、江面 晃

Research of Experimental Osteoporosis of the Mandibula cortical bone in Male Rat's

Niigata Hospital, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University  
BABA Reiko, EZURA Akira

【研究目的】

高齢社会に伴い骨粗鬆症が注目されている。骨粗鬆症は骨密度の低下と骨質の劣化の影響を受ける全身疾患と定義される。Grossi らの疫学的調査より骨粗鬆症が歯周病のリスクファクターの一つであると提示され、第 130 回春季保存学会にて、Ca・P 欠乏飼料を用い意図的に骨粗鬆症を惹起したラット下顎骨の海綿骨の脆弱化が促進することを報告した。今回は海綿骨の解析に用いたラット下顎骨の皮質骨の形態学的計測を行い検討することを目的とした。

【材料および方法】

1. 実験動物

第 130 回春季保存学会に用いた雄ラットの左側下顎骨を用いマイクロ CT 撮影をした。

2. マイクロフォーカス X 線 CT (以下マイクロ CT) による撮影

マイクロ CT (島津製作所: SMX-100T-SV) を用い、下顎骨を管電圧 42kV 管電流 41 μA にて撮影した。撮影したデータを 3 次元解析ソフト (ラトック社製: 3D-BON) を用い計測を行った。

3. 皮質骨の計測

対象歯は第一大臼歯, 第二大臼歯, 第三大臼歯とした。測定は歯周ポケット測定に準じた 6 点法にてセメント-エナメル境 (以下 CEJ) から歯槽骨頂部までの距離とした。皮質骨の幅は歯頸部の頬舌の断面図から 6 点法と同じ部位を計測か所とした。

【結果】

CEJ から歯槽骨頂部までの距離の計測では 10 週・20 週の Ca・P 欠乏群と Cont 群の間では統計的に有意差は認めなかった。皮質骨の幅は頬側で明確な差がみられないが、舌側では対象歯全ての近心・中央・遠心でおおむね統計的に有意差が認められた。

皮質骨の幅の結果

第一大臼歯 類側	第二大臼歯			第三大臼歯			近心	中央	遠心
	近心	中央	遠心	近心	中央	遠心			
10週Cont群	0.29±0.08	0.27±0.06	0.31±0.11	0.38±0.03	0.40±0.02	0.55±0.18	0.49±0.03	0.45±0.02	0.49±0.15
10週Ca・P欠乏群	0.26±0.04	0.21±0.03	0.32±0.05	0.30±0.05	0.32±0.07	0.41±0.11	0.48±0.10	0.36±0.05	0.33±0.07
20週Cont群	0.31±0.04	0.26±0.01	0.36±0.02	0.51±0.20	0.63±0.28	0.52±0.08	0.49±0.02	0.47±0.10	0.59±0.08
20週Ca・P欠乏群	0.22±0.03	0.19±0.10	0.27±0.06	0.31±0.04	0.31±0.03	0.43±0.11	0.33±0.06	0.34±0.06	0.33±0.05
舌側	近心	中央	遠心	近心	中央	遠心	近心	中央	遠心
10週Cont群	0.19±0.06	0.28±0.04	0.34±0.02	0.32±0.06	0.36±0.03	0.36±0.04	0.34±0.08	0.29±0.07	0.35±0.05
10週Ca・P欠乏群	0.23±0.06	0.20±0.03	0.24±0.02	0.19±0.03	0.20±0.04	0.27±0.07	0.20±0.05	0.20±0.04	0.23±0.05
20週Cont群	0.24±0.03	0.27±0.02	0.34±0.04	0.32±0.09	0.31±0.00	0.33±0.07	0.25±0.02	0.30±0.07	0.30±0.06
20週Ca・P欠乏群	0.16±0.03	0.15±0.03	0.22±0.04	0.19±0.04	0.18±0.02	0.20±0.02	0.19±0.07	0.15±0.02	0.19±0.02

Mean±SD    Mann-Whitney's U test\* : p<0.05

【考察】

本実験の 10 週・20 週はともに Ca・P 欠乏群の舌側において皮質骨の幅が有意に差を認めた。これは頬側に比べ舌側の骨皮質が薄いためと推測される。cont 群と Ca・P 欠乏群の 10 週・20 週の比較では有意差はなく経時的変化は得られなかった。

骨粗鬆症に罹患すると海綿骨に空洞化がみられ、皮質骨が薄くなる。そのために空洞化した海綿骨は歯の支持が脆弱となり、薄くなった皮質骨がたわむことで骨吸収が促進されると推測される。

## ラット脱分化脂肪細胞を用いた歯周組織再生能の検討

日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座  
菅原淳道 佐藤 聡

**A study of periodontal tissue regenerative by using Dedifferentiated Fat Cell**  
Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University  
Atsunori Sugawara, Soh Sato

### 【研究目的】

近年、歯周組織再生を目的とし、幹細胞を応用した研究が数多くなされている。しかし、幹細胞は組織中に含まれる割合がごくわずかであること、また他細胞群の混入なしに単離するのが困難であることが指摘されている。一方、Matsumotoらは、脂肪細胞より成熟脂肪細胞を単離、培養し脱分化することで幹細胞と同等の分化能をもった脱分化脂肪細胞(Dedifferentiated Fat Cell: DFAT)を得る方法を確立している。DFATは間葉系幹細胞とほぼ同様の細胞表面抗原発現パターンを示し、脂肪細胞のみならず、中胚葉系細胞である骨芽細胞、軟骨細胞、さらには外胚葉系である神経細胞などに分化転換することがすでに明らかにされており、再生療法の新たな細胞源として期待できる。

本研究は、DFATによる組織再生法の可能性を検討する目的で、DFATを Scaffold と共にラットの上顎臼歯部に作製した骨欠損部に移植した際の歯周組織再生能を検討した。

### 【材料および方法】

#### 動物および材料

実験動物は、脂肪組織採取のため10週齢の雄性SD系GFPラットを使用した。移植には6週齢の雄性SD系ラットを用いた。Scaffoldは、アテロコラーゲンスポンジ(KOKEN)を使用した。

#### 方法

DFATの調製は、Matsumotoらの方法に従いSD系GFPラット皮下脂肪組織より調製した。

歯槽骨欠損の作製は、部位を上顎左側第一臼歯口蓋側とし、生理食塩液注水下で歯科用ラウンドバー(ISO standard 010)を用いて、歯槽骨、歯根膜、セメント質を切削し作製した。

移植は、DFAT/scaffold群、scaffold群の2群で行い、観察期間は0、4週とした。DFAT/scaffold群は、DFATをscaffoldに播種し、翌日に移植を行った。Scaffold群はDFATの播種を行わず、scaffoldのみ移植を行った。

移植後0、4週目に各群のラットを断頭し、固定、脱灰を行ったのち脱水し、パラフィンへ包埋した。その後連続切片を3μm厚で前頭断にて作製した。切片はH-E染色を行い、光学顕微鏡を用いて観察した。さらにGFPの検出のため、抗GFP抗体(AS ONE)を用いて免疫組織化学的観察を行った。

### 【結果】

歯周組織再生は、移植後4週でDFAT/scaffold群、scaffold群共に認められた。また移植後4週のDFAT/scaffold群では、歯槽骨欠損部の骨、歯根膜、結合組織においてGFP陽性細胞を認めた。

### 【考察】

MORIKUNIらは、GFPラット由来の脂肪幹細胞を骨欠部に移植し、新生骨面、新生歯根膜においてGFP陽性細胞の発現を認め、歯周組織再生が行われていることを報告している。本研究においても新生骨面、新生歯根膜さらには結合組織においてGFP陽性細胞を認めた。DFATは幹細胞と比較し分化段階が後期であることが報告されているが、幹細胞と同様に多分化能を示し歯周組織再生に関与している可能性が考えられる。

### 【結論】

ラット歯槽骨欠損部へ移植したDFATは、歯周組織再生へ関与することが示唆された。

## 超音波照射の歯肉上皮細胞に対する影響について

<sup>1</sup>昭和大学歯学部歯周病学教室、<sup>2</sup>東京薬科大学薬学部薬物送達学教室、<sup>3</sup>九州歯科大学口腔顎顔面外科学講座、<sup>4</sup>九州歯科大学感染分子生物学講座  
山本松男<sup>1</sup>、史春<sup>1</sup>、白井通彦<sup>1</sup>、滝口尚<sup>1</sup>、菅野真莉加<sup>1</sup>、野瀬冬樹<sup>1</sup>、根岸洋一<sup>2</sup>、富永和宏<sup>3</sup>、西原達次<sup>4</sup>

### The effect of ultrasonic wave on gingival epithelial cells

<sup>1</sup>Dept. of Periodontology, Showa University Dental School, <sup>2</sup>Dept. of Drug and Gene Delivery Systems, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, <sup>3</sup>Dept. of Maxillofacial Diagnostic and Surgical Science, Kyushu Dental College, <sup>4</sup>Dept. of Infections and Molecular Biology, Kyushu Dental College  
Matsuo Yamamoto<sup>1</sup>, Chun Shi<sup>1</sup>, Michihiko Usui<sup>1</sup>, Takashi Takiguchi<sup>1</sup>, Marika Sugano<sup>1</sup>, Fuyuki Nose<sup>1</sup>, Yoichi Negishi<sup>2</sup>, Kazuhiro Tominaga<sup>3</sup>, Tatsuji Nishihara<sup>4</sup>

#### 【研究目的】

歯科医療において、超音波は歯石除去、プラーク除去、ルートプレーニング等に応用されてきた。歯周組織に存在する歯石を除去するのに欠くことのできない存在である。歯周ポケット局所においては超音波照射のキャビテーション効果によりプラークが除去されることが報告されているが、歯周組織に与える影響について詳細に検討した報告は少ない。そこで、本研究では、バイオフィルムの除去可能な超音波照射条件が歯肉上皮細胞に与える影響について検討した。

#### 【材料および方法】

24穴プレートに *Streptococcus mutans* (GS-5株) のバイオフィルムを形成させ、超音波照射を行った。超音波発生装置はソノポール KTAC-4000-4ch (NEPA GENE社) を使用し、バイオフィルム除去に適した条件(発振子・超音波照射時間・Duty比)を検討した。また、ヒト歯肉上皮細胞株 Ca9-22細胞を用いて、超音波照射後の細胞増殖、死細胞数、細胞障害性、及び炎症性サイトカイン産生への影響を検討した。種々の超音波照射条件で刺激し、24時間後にサンプルを回収した。細胞増殖はWST assay、死細胞数はトリパンプルー染色、細胞障害性はLDH値、IL-1 $\beta$ 産生量はELISA法にて評価した。

#### 【結果】

バイオフィルムの除去効果は、1Mhzの発振子を用いた場合、超音波照射時間1分、Duty比40%の条件で照射すると、最も効率が高かった。一方、3Mhzの発振子を用いた場合、超音波照射時間3分、Duty比40%の条件で使用するとバイオフィルム除去率は高い値を示した。次に、歯肉上皮細胞に対する超音波照射の細胞障害性を評価するために、培養上清中のLDH値を測定した。3Mhzの発振子を用いると、超音波照射時間に関わらず、Duty比40%~90%でLDH値は上昇した。1Mhzの発振子では、超音波照射時間3分の条件で使用すると、Duty比50%~90%で高い細胞障害性を示した。超音波照射の細胞増殖への影響を検討するために、WST assayを行った。1Mhz、3Mhz双方の発振子においても、超音波照射時間3分の条件で使用すると、Duty比80%~90%の条件で細胞増殖は有意に抑制された。さらに、バイオフィルム除去効率の高かった1Mhz、超音波照射時間1分、Duty比40%と、3Mhz、超音波照射時間3分、Duty比40%の2つの条件に着目し、トリパンプルー染色による死細胞数とIL-1 $\beta$ 産生量を測定した。後者の条件で、死細胞数・IL-1 $\beta$ 産生量は有意に上昇した。以上の結果より、1Mhz、超音波照射時間1分、Duty比40%の条件がプラーク除去効果に優れ、歯肉上皮細胞に対する障害性が低いことが示唆された。

#### 【考察】

今回の研究でバイオフィルムを除去するのに適した種々の条件の中で歯肉上皮由来細胞に与える影響が比較的少ない条件を見つけることができた。細胞安全性のみならず、細胞機能においてもより広範な解析を要し、また異なる細胞種においても詳細な検討が必要である。

## Streptococci 由来 histone 様 DNA 結合タンパク質が THP-1 細胞のサイトカインバランスに及ぼす影響

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 発達予防医歯学部門  
健康長寿歯科学講座 歯科保存学分野  
○湯本浩通、高橋加奈子、平尾功治、松尾敬志

**Effects of Histone-Like DNA binding Protein from streptococci on cytokine balance of THP-1 cells**  
Department of Conservative Dentistry, Institute of Health BioSciences, The University of Tokushima Graduate School  
○Hiromichi YUMOTO, Kanako TAKAHASHI, Kouji HIRAO, Takashi MATSUO

### 【研究目的】

多くの微生物の Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs)は、Pattern Recognition Receptors (PRRs)を介して自然免疫応答を活性化させる。我々は、streptococci 由来 Histone-Like DNA binding Protein (HLP)は、streptococci 内で高度に保存され (アミノ酸配列で 89-94% の identity)、細胞外にも分泌されて 2 量体を形成する事を明らかにし、また HLP 単独刺激は、ヒト単球系細胞 (THP-1 cells) において MEK-ERK1/2 及び SAPK/JNK 経路を介して、IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインの産生を増強する事、さらには Pam3CSK4 や Lipoteichoic acid (LTA) (Toll-Like Receptor-2;TLR2 ligands)、Muramyl dipeptide (MDP) (Nucleotide-binding Oligomerization Domain 2; NOD2 ligand)などの PAMPs との共刺激により、炎症性サイトカインの産生を増強する事も報告した (Cellular Microbiology, 2008)。また、我々は、HLP が streptococci 自身の生存や増殖に必須の蛋白質である事 (Molecular Microbiology, 2008) も報告した。しかしながら、HLP の宿主生体免疫反応に及ぼす影響については、不明な点が多い。本研究では、HLP で未分化あるいは Macrophage 様細胞へ分化させた THP-1 細胞を刺激し、包括的かつ同時に定量できる Bio-Plex 測定法を用いて、サイトカインの産生量を解析した。

### 【材料および方法】

#### 1. rHLP の発現と精製

*Streptococcus intermedius* の *hlp* 遺伝子をクローニング後、大腸菌内で GST 融合蛋白質として発現誘導させた後、GST の切断・除去と Affinity Chromatography により rHLP を精製した。rHLP への LPS contamination は、LAL assay により、0.05 U/ $\mu$ g rHLP protein 未満である事と LPS の非混入を polymyxin B (Lipid A への結合による阻害)添加実験により確認した。

#### 2. THP-1 細胞への刺激

rHLP (25, 50  $\mu$ g/ml)で、未分化あるいは macrophage 様分化 THP-1 細胞を 4, 8 あるいは 24 時間刺激した。

#### 3. サイトカイン発現と産生量の解析

培養上清中の IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  について、Bio-Plex 測定法を用いて定量し、さらにサイトカインの mRNA 発現量を RT-PCR 法にて確認した。

### 【結果および考察】

1. rHLP で未分化 THP-1 細胞を 8 または 24 時間刺激すると、特に TNF- $\alpha$  と IL-10 の mRNA 発現および蛋白産生量が増加した。

2. rHLP で macrophage 様に分化させた THP-1 細胞を 8 または 24 時間刺激した場合、TNF- $\alpha$  と IL-10 に加えて、IL-12, IFN- $\gamma$ や GM-CSF の mRNA 発現および蛋白産生量が増加した。

これらの結果より、HLP の単独刺激は、IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインに加えて、IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$ や GM-CSF の発現・産生を誘導し、宿主生体免疫反応を増強する可能性が示唆された。また、HLP の宿主細胞に及ぼす影響に関して、さらに詳細な検討が必要と考え、サイトカイン以外の遺伝子発現について、現在、Microarray による遺伝子発現解析を行っている。

(会員外共同研究者)

弘田克彦、三宅洋一郎 (徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 口腔微生物学分野)

## 開裂抵抗性 Dentin sialophosphoprotein 発現株の作製

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 顎口腔頸部医科学講座 健康増進歯学研究室  
○鈴木茂樹、小武家誠司、西村英紀

The establishment of stable cell lines expressing cleavage-resistant Dentin sialophosphoprotein

Department of Dental Science for Health Promotion Division of Cervico-Gnathostomatology Hiroshima  
University Graduate School of Biomedical Sciences  
Shigeki Suzuki, Seiji Kobuke, Fusanori Nishimura

＜研究目的＞歯の支持組織である象牙質は TypeI collagen が豊富に存在する骨に似た組織であり、コラーゲン以外に多量に存在する非コラーゲンタンパクが、象牙質の特徴を規定していると考えられる。Dentin phosphoprotein (DPP) 及び Dentin Sialoprotein (DSP) は、象牙質に最も多量に存在する非コラーゲンタンパクであり、それぞれ象牙質形成に必須の役割を果たすと考えられている。DSP はプロテオグリカンとして、DPP は高度にリン酸化されたタンパクとして象牙質に沈着する。DSP と DPP は *Dentin sialophosphoprotein (DSPP)* という 1 遺伝子が合成された後、DSPP precursor protein が開裂されることにより DSP と DPP となり象牙質に沈着する。興味深いことに、これまで象牙質からは全長の DSPP タンパクは抽出できず、必ず DSP と DPP に開裂されると考えられている。近年の報告から、Bone Morphogenetic Protein-1 (BMP-1) protein family に属する proteases が、DSPP の開裂に必須であることが示唆されている。しかしながら、DSPP が如何にして開裂されるのか、また、その開裂が DSPP の機能発現に及ぼす影響については未だ明らかではない。そこで本研究では、開裂抵抗性 DSPP を発現する細胞株を作製し、開裂のメカニズムを解明することを目的とした。＜材料および方法＞1. 正常及び開裂抵抗性 DSPP expressing retrovirus の作製：マウス切歯 cDNA をテンプレートとした PCR により、DSPP タンパクコード領域（正常 DSPP をコード）のクローニングを行った。次に、mutagenesis kit を用いて、BMP-1 認識配列である MQ（メチオニン-グルタミン）を IH（イソロイシン-ヒスチジン）に置換し、開裂抵抗性 DSPP のクローニングを行った。これら正常及び開裂抵抗性 DSPP クローンを retrovirus expression vector にそれぞれ ligation した。2. 正常及び開裂抵抗性 DSPP 安定発現株の樹立：293 細胞を用いて通法に従いレトロウイルスを作製し、MC3T3（マウス前骨芽細胞株）及び C3H/10T1/2（マウス間葉系幹細胞株）に感染させた。その後 G418 で選択培養を行い、それぞれ複数の安定発現細胞株を樹立した。3. DSP 抗体を用いたウエスタンブロッティング法により細胞上清中の DSP (DSPP) のサイズや発現量の検討を行った。＜結果＞MC3T3 細胞株では、正常 DSPP、開裂抵抗性 DSPP、コントロールそれぞれ 3 種のクローン用安定発現株を、C3H/10T1/2 ではそれぞれ 2 種の安定発現株を作製した。これら細胞上清中の DSP のタンパクサイズ並びに量を DSP 特異抗体によるウエスタンブロッティングにて解析した結果、MC3T3、C3H/10T1/2 共に正常 DSPP では 100kDa 以下にスメアーに広がるバンドを認めた。開裂抵抗性 DSPP では 100kDa 以上に強いバンドを認め、100kDa 以下には全くバンドを認めなかった。コントロールではバンドを認めなかった。＜考察及び結論＞以上の結果より、MC3T3、C3H/10T1/2 を用いて、それぞれ正常及び開裂抵抗性 DSPP を発現する安定細胞株を樹立することに成功した。更に、ウエスタンブロッティングの結果から、DSPP の開裂抑制はその細胞外分泌を抑制しないだけでなく、更に開裂抵抗性 DSPP では正常 DSPP より強いバンドシグナルを認めることが明らかとなった。また、開裂抵抗性 DSPP において 100kDa 以下にバンドを認めなかったことから、DSPP の開裂が完全に抑制されていることも示唆された。これら結果から DSPP の開裂はその分泌に影響を与える可能性が示唆されたが、正常及び開裂抵抗性 DSPP の細胞分化や石灰化に対する影響については現在検討中である。

参考文献：Dentin sialoprotein and dentin phosphoprotein have distinct roles in dentin mineralization. Suzuki, S., Sreenath, T., Haruyama, N., Honeycutt, C., Terse, A., Cho, A., Kohler, T., Müller, R., Goldberg, M., and Kulkarni, A. B.: Matrix Biol. 2009 May;28(4):221-9. Genetic evidence for key roles of decorin and biglycan in dentin. Haruyama, N., Sreenath, T. L., Suzuki, S., Yao, X., Wang, Z., Wang, Y., Honeycutt, C., Iozzo, R. V., Young, M. F. and Kulkarni, A. B.: Matrix Biol. 2009 Apr;28(3):129-36.

## TGF- $\beta$ 1 及び BMP2/7 による HPDL 細胞の骨分化機構における PI3K/mTOR/p70S6K の関与

<sup>1)</sup>東京歯科大学歯科保存学講座 <sup>2)</sup>東京歯科大学学生化学講座 <sup>3)</sup>口腔科学研究センター  
○間奈津子 <sup>1)3)</sup> 手銭親良 <sup>1)3)</sup> 落合宏美 <sup>2)</sup> 岡田晶子 <sup>2)3)</sup> 山本康人 <sup>2)</sup> 東俊文 <sup>2)3)</sup> 中川寛一 <sup>1)</sup>

### Involvement of PI3K/mTOR/p70S6K in osteogenic differentiation mechanism of HPDL cells by TGF- $\beta$ 1 and BMP2/7

<sup>1)</sup>Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

<sup>2)</sup>Department of Biochemistry, Tokyo Dental College

<sup>3)</sup>Tokyo Dental College Oral Health Science Center

○Natsuko Aida<sup>1)3)</sup>, Chikara Tezen<sup>1)3)</sup>, Hiromi Ochiai<sup>2)</sup>, Shoko Okada<sup>2)3)</sup>,  
Yasuhito Yamamoto<sup>2)</sup>, Toshifumi Azuma<sup>2)3)</sup> and Kan-Ichi Nakagawa<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

骨髄間葉系幹細胞は様々な細胞に分化する。これらの骨髄間葉系幹細胞が分化するメカニズムについては TGF- $\beta$ 、BMP、ステロイドホルモン、PPAR $\gamma$ などが関与するとされるが、口腔内に豊富に存在する間葉系幹細胞の分化メカニズムの検討は臨床への応用が期待できるにもかかわらず、未だ十分に解明されていない。歯根膜は heterogeneous な細胞集団であり、幹細胞や前骨芽細胞などの未分化前駆細胞などが含まれることが報告されている。しかし歯根膜細胞から骨芽細胞への分化及びその石灰化にいたる動態については不明な点が多い。そこで本研究では TGF- $\beta$  ファミリーの情報伝達において MAPK および PI3K からの情報調節は重要であるため、骨分化の中心的役割を果たしている TGF- $\beta$ 、BMP による歯根膜細胞の骨分化メカニズムに焦点を当て、臨床応用における問題点を検討する。

#### 【材料と方法】

細胞は、正常ヒト歯根膜由来細胞 (HPDL) (Lonza, Switzerland) を使用した。培養液は  $\alpha$ -MEM に L-Ascorbic Acid と  $\beta$ -Glycerophosphate を添加した骨芽細胞分化誘導培地 (OBM) を使用した。5~8 継代の細胞を  $1 \times 10^5$  cell/cm<sup>2</sup> で播種し、TGF- $\beta$  1 (1 ng/ml) と BMP2/7 (100 ng/ml)、インヒビターとして PI3K 阻害剤 (LY294002) と mTOR 阻害剤 (Rapamycin) を各々に添加し培養した。ALP 活性染色及び、0、96 時間における骨分化マーカーを real-timePCR により検出した。また、TGF- $\beta$  1、BMP2/7 刺激下において、LY294002 あるいは Rapamycin 添加によるリン酸化 Smad への影響をウエスタンブロット法にて検出した。

#### 【結果及び考察】

TGF- $\beta$  1 刺激下で ALP 活性は著しく増加した。一方、BMP2/7 刺激下では TGF- $\beta$  1 刺激下に比べ、ALP 活性は中程度であった。LY294002 添加により、TGF- $\beta$  1、BMP2/7 が誘導する ALP 活性の増加は抑制された。しかし、Rapamycin の添加下では TGF- $\beta$  1 による ALP 活性の増加は抑制されるが、BMP によるそれには著明な抑制は認められなかった。TGF- $\beta$  1、BMP2/7 刺激により共に骨芽細胞への分化マーカータンパク質の発現亢進が認められた。TGF- $\beta$  ファミリーの情報伝達において PI3K からの情報調節が重要であり、TGF- $\beta$  1、BMP2/7 刺激下では PI3K/Akt 経路を阻害すると、共に強力に分化抑制に働くことが示された。しかし mTOR/p70S6K 経路の阻害では、TGF- $\beta$  1 刺激においては分化抑制が認められるが、BMP2/7 刺激下では著明な抑制は見られなかった。また、LY294002 及び Rapamycin を添加した際、TGF- $\beta$  1 刺激下においてリン酸化 Smad3 量の減少が見られたが、BMP2/7 刺激下においてはリン酸化 Smad1/5/8 量に減少は認められなかった。

これらのことから、骨髄由来間葉系幹細胞での報告とは異なり、HPDL 細胞では BMP2/7 よりも TGF- $\beta$  1 で強く骨芽細胞分化が誘導されることが示された。また、BMP2/7 による HPDL 細胞の骨芽細胞分化には PI3K/mTOR/p70S6K 経路は重要ではないことが考えられる。しかし、TGF- $\beta$  1 による HPDL 細胞の骨芽細胞分化には PI3K/mTOR/p70S6K 経路が重要であること、また Smad3 のリン酸化を必要とすることが示唆された。

#### 【結論】

歯根膜細胞では TGF- $\beta$  1 や BMP2/7 の使用により骨分化誘導は認められるが、BMP2/7 では骨髄間葉系幹細胞と同じような著しい骨分化誘導は観察されなかった。また、BMP2/7 は TGF- $\beta$  1 よりヒト歯根膜細胞での骨芽細胞分化誘導能が低く、TGF- $\beta$  1 と BMP2/7 における骨芽細胞分化の際の PI3K 経路は、異なる調節機構を果たしていることが示唆された。

## 歯周病原細菌の感染による全身性炎症性反応に抗する免疫応答の意義

○成石浩司<sup>1</sup>, 園井教裕<sup>3,4</sup>, 大森一弘<sup>3</sup>, 前田博史<sup>3</sup>, 高柴正悟<sup>3</sup>, 國松和司<sup>2</sup>

岩手医科大学歯学部口腔機能保存学講座<sup>1</sup> 歯内療法学分野,<sup>2</sup> 歯周病学分野,<sup>3</sup> 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野,<sup>4</sup> 国立療養所栗生楽泉園歯科

### Significance of Immunization for Protection to Systemic Inflammatory Response Induced by *Porphyromonas gingivalis*

Koji Naruishi<sup>1</sup>, Norihiro Sonoi<sup>3,4</sup>, Kazuhiro Omori<sup>3</sup>, Hiroshi Maeda<sup>3</sup>, Shogo Takashiba<sup>3</sup>, Kazushi Kunimatsu<sup>2</sup>

Division of <sup>1</sup>Endodontology, and <sup>2</sup>Periodontology, Iwate Medical University,

<sup>3</sup>Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, <sup>4</sup>National Sanatoriumu Kuriu-Rakusen-En

#### 【緒言】

免疫は、細菌やウイルス抗原に抗する必須の生体防御反応である。しかし、臨床的には局所の免疫応答が強くなると、その組織の炎症反応も強くなるため、歯周病のような局所の免疫性炎症性疾患では、免疫応答の強さに呼応して病巣の進展・増悪が見られる。このため、局所炎症における腫脹や発熱などの徴候による苦痛が生じるので、免疫応答の重要性は多くの患者に理解されにくい面がある。

そこで、本研究では感染免疫応答の意義をあらためて確認するため、代表的な歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) による *in vivo* 感染モデルを作製し、免疫の有無による局所・全身の反応性の違いを様々な角度から検討した。

#### 【対象および方法】

***in vivo* 感染/免疫モデル:**  $2.5 \times 10^8$  CFU の *P. gingivalis* W83 を雄性 Balb/c マウス (週齢: 8~10) (日本クレア) の右側背側皮下に1週間に1度のペースで0, 1 および3回注射して免疫(感作)した後、同量の *P. gingivalis* W83 を右側背側皮下に注射した(Bacterial challenge)。その後、12, 24 および48時間経過後にマウスを屠殺して皮膚病巣、血清および肝臓を回収した。またマウスの全身状態の変化は実験期間を通して観察し、体重は毎日測定した。なお、免疫の回数に応じて、免疫なし群、免疫1回群および免疫3回群と計3群に分けて比較検討した。

**感染皮膚病巣および肝臓の病理組織学的検討:** 感染皮膚病巣および肝臓は組織回収後、速やかに通法に従いパラフィン包埋し、ヘマトキシリン-エオジン染色を行って鏡検した。

**血清 IL-6 濃度の測定:** 血清は Bacterial challenge の後、12, 24 および48時間後に採血し、遠心分離法にて回収した。血清中の IL-6 濃度は、市販の ELISA キット (R&D) を用いて測定した。各群の有意差は Student's *t*-test によって検定した。

**血中の免疫グロブリン G(IgG) の検出:** 血中の IgG の検出は、ウエスタンブロット法によって行った。すなわち、*P. gingivalis* W83 の超音波破碎抗原を SDS-PAGE に展開した後、PVDF 膜に転写し、マウス血清 (1:100,000) を一次抗体、HRP 標識抗マウス IgG 抗体 (Amersham) を二次抗体として反応させた。検出は ECL 蛍光発色システム (Pierce) を用いて行った。

**生存率の検定:** 各群の生存率の違いは、Bacterial challenge (この実験系のみ  $1.0 \times 10^9$  CFU) の後、14日間のマウスの生死を調べて Kaplan-Meier の生存曲線を作成した後、Log-rank test によって比較検討した。

#### 【結果】

1. Bacterial challenge の24時間後の皮膚の病理組織所見において、免疫の回数に相応して、特に免疫3回群の皮膚炎症巣内に白血球系細胞の著明な浸潤が見られた。免疫なしの群では全く白血球系細胞の浸潤は見られず、むしろ健常像と差異がなかった。
2. 免疫なし群において、Bacterial challenge の12~24時間後の血清 IL-6 レベルが劇的に上昇した。一方、免疫3回群の血清 IL-6 レベルは免疫なし群と比較して有意に低値を示した。
3. Bacterial challenge の24時間後の免疫なし群の体重は有意に減少したものの、免疫3回群の体重は減少しなかった。また Bacterial challenge した後の免疫3回群の生存率は、免疫なし群と比較して有意に改善した。
4. Bacterial challenge の24時間後の肝臓の病理組織所見において、免疫なし群では肝細胞の膨張が見られた。また、免疫1回群の肝臓では、好中球の浸潤が見られたのに対し、免疫3回群の肝臓では著明な炎症所見が見られなかった。
5. 免疫3回群の血清中に *P. gingivalis* W83 全菌体蛋白抗原と反応する IgG 抗体が検出された。一方、免疫なし群および免疫1回群の血清中には、その IgG 抗体は検出されなかった。

#### 【考察および結論】

本研究結果は、局所感染に抗する免疫応答は局所の炎症病巣を悪化させる一方、全身性炎症性反応から生体を守る必須の生体システムであることを、あらためて認識させるものであった。

## Twisted File による Single File Canal Preparation について

東京歯科大学歯科保存学講座

○吉澤佑世 末原正崇 額賀智之 柳沢哲秀 齋藤健介 山田雅司 牛窪敏博 中川寛一

### Single File Canal Preparation using Twisted Ni-Ti files

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○YOSHIZAWA YUUSEI, SUEHARA MASATAKA, NUKAGA TOMOYUKI, YANAGISAWA AKIHIDE,  
SAITO KENSUKE, YAMADA MASASHI, TOSHIHIRO USHIKUBO, NAKAGAWA KAN-ICHI

#### 【目的】

ニッケルチタン製のファイルが歯内療法処置に導入されて久しい。この間、根管形成の効率化・システムの再構築・根管への追従性を目的としてファイルの形状や形成術式に検討が加えられ、当該ファイルを用いた回転切削による根管形成が実際の臨床に受け入れられつつある。一方、機器としての Ni-Ti ファイルは、しなやかで彎曲根管の形成に有効である反面、切削効率や機器破折の問題、取り扱いなど根管治療用切削器具に特有な問題も指摘されている。Ni-Ti ファイルによる根管の形成は、いわゆるコロナル・アピカルテクニック（クラウンダウン法など）を用いて歯冠側より順次根端側に向かって進める。特にテーパードファイルを全回転型のエンジンに装着して行う根管形成は、既存の根管に対してファイルの切削位置をコントロールしつつ行う必要がある。最近 Ni-Ti ファイル素材の改変、ファイル製作法の改良と処理とによって柔軟性・切削効率・破断耐性に優れる TF ファイル (Twisted file: SybronEndo) が開発された。本ファイルは従来の研削行程とは異なり、素材をねじることによって成型されており構造上の脆弱性が減少するとされている。このような特徴を生かし、TF ファイルでは根管を一本のファイルで形成するシングルファイルテクニックが可能となり、さらに根管の状態により従来のクラウンダウン法も用いることによって、より安全に根管形成が可能となるとされている。

今回我々は TF ファイルによるシングルファイルテクニックについて、術式、根管形成の状況、臨床応用について検討した結果を報告する。

#### 【材料および方法】

##### ① 抜去歯による根管形成状態ならびに Single cone 法によるガッタパーチャの適合性

上顎第一大臼歯(n=10)を髓室開拡後、TF ファイル#25-0.08 を用いてシングルファイルテクニックによる根管形成を実施した。なお根管形成にあたっては一歯ごとにファイルを交換するとともに、形成時は潤滑材・清掃材として EDTA 製剤ならびに次亜塩素酸ナトリウム溶液・過酸化水素水を併用した。対照として K3 (K3 ENDO, SybronEndo) によるクラウンダウン法を設定した。形成後前後の根管の状態をマイクロ CT を用いて比較し、さらに同サイズ・テーパーのガッタパーチャを根管に挿入し併せて素の適合性を検討した。

##### ② 根管形成後の TF ファイルの状態

根管形成後のファイルの状況を検討する目的で、ファイル表面を実体顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡により観察した。

#### 【結果】

TF ファイルは、シングルファイルの適用に際しても根管に良好に追従し、短時間に規定の根管サイズへの形成が可能であった。根管の彎曲や形成時の切削抵抗が大きい症例ではファイル自体が大きく変形(伸び)したが、破折した症例は皆無であった。これに対し K3 では、切削抵抗の大きな症例で掘進性が劣りかつ破断例も認められた。

#### 【考察および結論】

TF ファイルは耐破断性に優れるとともに、良好な切削性を有し、シングルファイルテクニックによる根管形成が可能であることが確認された。しかしながら実際の臨床応用に際しては、ファイル応用前のパスの確認や、根管口の明示など髓室開拡時から十分な配慮が必要と考えられる。

## Ni-Ti ロータリーファイルによる根管形成の評価

### —規格根管模型におけるプロテーパーと手用ファイルによる根管形成の比較—

神奈川県立歯科大学 口腔治療学講座 歯内療法学分野<sup>1)</sup>

湘南短期大学 歯科衛生学科<sup>2)</sup>

○鈴木二郎<sup>1)</sup>, 西村知子<sup>1)</sup>, 佐藤武則<sup>1)</sup>, 渡部弘隆<sup>1)</sup>, 榎本光夫<sup>1)</sup>, 平嶺倫子<sup>1)</sup>, 長谷 徹<sup>2)</sup>, 石井信之<sup>1)</sup>

Evaluation of Ni-Ti rotary files on the root canal preparation for the standard root canal model

Department of Oral Medicine, Division of Endodontics, Kanagawa Dental College<sup>1)</sup>

Department of Dental Hygiene, Shonan Junior College<sup>2)</sup>

○SUZUKI Jiro<sup>1)</sup>, NISHIMURA Tomoko<sup>1)</sup>, SATO Takenori<sup>1)</sup>, WATABE Hirotaka<sup>1)</sup>, ENOMOTO Mitsuo<sup>1)</sup>,  
HIRAMINE Michiko<sup>1)</sup>, NAGATANI Tohru<sup>2)</sup>, TANI-ISHII Nobuyuki<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

近年, Ni-Ti ロータリーファイルは, 操作性・柔軟性・切削効率がさらに向上し短時間で根管形成を行うことが可能である。また, 国内歯科大学では 29 校中 (2009 年 1 月末現在) 診療室で 21 校, 基礎実習で 7 校が Ni-Ti ファイルプロテーパーによる根管形成を採用し, 湾曲根管の根管形成に有効な器具として使用している。本研究は, 歯学部 3 年生歯内療法基礎実習に, 規格上顎第 1 小臼歯模型を用いてステンレススチール製手用ファイルと Ni-Ti ロータリーファイルによる根管形成を行い, 使用器具の相違による所要時間, 偶発事故および根管形態を比較検討した。

#### 【材料および方法】

初めて歯内療法基礎実習を受講し, ステンレススチール製手用ファイルによる標準拡大形成法および側方加圧根管充填法を経験した本学歯学部 3 年生 125 名 (男 77 名, 女 48 名) を被験者とした。規格上顎第 1 小臼歯模型 (B22X-38 ニッシン) を使用し, 髓腔開拓後 #15 K-File (ピヤス) にて作業長を決定, 頬側根管 65 名, 口蓋側根管 60 名が Ni-Ti ファイル (プロテーパー, デンツプライ三金) を専用マイクロモーター (X-SMART デンツプライ三金) に装着し使用手順に従い F1 ファイルまで根管形成を行った。対照として頬側根管 60 名, 口蓋根管 65 名がステンレススチール製手用ファイル (ピヤス) #40 まで標準拡大形成法を行い, 根管洗浄には 0.5%NaClO を用いて拡大形成終了後, デジタルエックス線画像処理装置 (ULTIMATE ヨシダ) にて根管形成の評価を行った。また, 根管形成所用時間測定および被験者アンケートを実施し, 統計処理には Unpaired t-test を用いた。

#### 【成績および考察】

実習を行った 125 名中, ステンレススチール製手用ファイル群 4 名 (3.2%) と Ni-Ti ロータリーファイル群 3 名 (2.4%) にファイル破折が認められた。また, 削片等による根管閉塞がステンレススチール製手用ファイル群 7 名 (5.6%) と Ni-Ti ロータリーファイル群 3 名 (2.4%) に認められた。Ni-Ti ロータリーファイル群では, ジップや著しい根管変位は認められなかった。根管形成所用時間は, ステンレススチール製手用ファイル群 32.9±13.6 分 (mean±SD) と Ni-Ti ロータリーファイル群 11.3±2.8 分 (mean±SD) であり統計学的有意差が認められた (P<0.01)。被験者アンケートでは, ステンレススチール製手用ファイルと Ni-Ti ロータリーファイルの併用を希望する者が 58.1% と過半数を占め, 次いで Ni-Ti ロータリーファイル単独の使用が 34.7%, ステンレススチール製手用ファイル単独の使用は 4.8% であった。

#### 【結論】

Ni-Ti ロータリーファイルプロテーパーによる根管形成は, ステンレススチール製手用ファイルの根管形成と比較して約 1/3 の所要時間で適切な根管形成が可能であった。また, 今回使用した規格上顎第 1 小臼歯模型は, 平均的な天然歯根管形態を有し根管形成を習得するのに適切であった。

## 超音波洗浄効果に関する模擬根管を用いた解析

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  
磯辺量子, 吉嶺嘉人, 松本妃可, 後藤千里, 牛島 寛, 佐藤浩美, 坂田篤信, 赤峰昭文

### The effects of ultrasonic irrigation in root canal models

Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University  
Ryoko Isobe, Yoshito Yoshimine, Himeka Matsumoto, Chisato Goto,  
Kan Ushijima, Hiromi Sato, Atsunobu Sakata, Akifumi Akamine

#### 【研究目的】

根管治療を成功に導くには、根管系から細菌などの有害物質を除去することが必要である。リーマー・ファイルなどの機械的器具による根管の拡大・形成のみでは、これを達成することは困難であり、化学的薬剤を用いた洗浄操作の併用が必須である。根管の化学的洗浄法として、一般的には洗浄用シリンジを用いた方法が用いられているが、根尖近くでの洗浄効果が低いとする報告もあり、超音波や音波を応用した振動に基づく方法の有効性を指摘する意見も多い。

本研究では、高速度撮影用カメラを用いて超音波チップの振動とキャビテーション気泡の発生の様子を観察し、更に模擬根管モデル内において、超音波装置による洗浄効果に直接影響すると考えられる流体の可視化を試みた。

#### 【材料および方法】

高速度カメラをPCに接続し、レンズの前方に蒸留水を容れたガラス製セル(高さ15mm×幅10mm×奥行1mm)または模擬根管(長さ12mm×先端部直径1.0mm)を設置した。超音波装置として、発振周波数28-32KHzのバリオス(Varios 350: Nakanishi)をエンド用モード1-5の出力で使用した。また、超音波チップとして#15および#25のU-ファイル(長さ33mm)を用いた。実験1ではチップの振幅およびキャビテーション気泡発生の様子を観察し、実験2では模擬根管内に可視化のための球形ガラスビーズを含む蒸留水を容れた状態での流体パターンの観察を行った。

#### 【成績】

(実験1) チップの振幅は、#25に比べて#15で大きい傾向を示した。また、出力モード3以上で振幅は顕著に増加した。この振れは、主にチップの先端2mmの領域において観察された。一方、キャビテーション現象に伴う微細な気泡の発生は、チップ先端部および一定の間隔を置いた共振点に局限して認められた。この気泡は、出力が高いほど多数発生していた。

(実験2) チップ側方への微小な流体と根管全体に及ぶ流体が観察された。また、後者はチップを根尖から離れた位置に設置した場合でも観察され、出力が高いほど急速な攪拌作用を生じていた。

#### 【考察】

超音波を応用した際の洗浄メカニズムは、チップの振動が超音波として洗浄液に伝達されることで、根管内に微小な流れやキャビテーションを誘発することによって考えられているが、詳細なメカニズムに関しては不明な点が残されている。今回の観察では、キャビテーション気泡の発生はチップの先端など一部に局限していたが、低出力においてもチップに近傍した領域では微小な流れが生じていた。根管内の活発な攪拌作用を期待する場合、高出力での使用が望ましいが、チップの振幅が大きくなり、根尖近くまたは細い根管では根管壁を切削する危険性があり、根尖から離れた位置での使用が安全であると考えられる。今後更に、湾曲した根管や細い根管における流体の解析が必要と思われる。

#### 【結論】

超音波による根管洗浄においては、根管の形状に応じて、チップのサイズ、チップの位置、出力モードなどを考慮して使用する必要があることが示唆された。また、今回用いた解析方法は根管内での超音波による洗浄効率を調べる上で、有効な手段と思われる。

## 特殊電解還元水の根管治療への応用 (1) スミヤー層除去効果

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野<sup>1)</sup> (株) エー・アイ・システムプロダクト<sup>2)</sup>  
○武田進平<sup>1)</sup>、河野 哲<sup>1)</sup>、岡島眞裕<sup>2)</sup>、吉田隆一<sup>1)</sup>

### *Application of root canal treatment using electrolytic-reduction ion water*

#### (1) Effect of removing smear layer

Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry<sup>1)</sup>,  
A.I.System products Corp.<sup>2)</sup>

○TAKEDA Shinpei<sup>1)</sup>, KAWANO Satoshi<sup>1)</sup>, OKAJIMA Masahiro<sup>2)</sup>, YOSHIDA Takakazu<sup>1)</sup>

#### 【目的】

根管治療において、根管の無菌化の獲得には機械的清掃とともに根管洗浄が重要な操作の一つである。我々は、根管拡大後のスミヤー層の除去に強電解酸性水が有効であることを報告してきた。しかし、酸化作用が強い強電解酸性水は金属の腐食が問題とされている。一方、純水を電気分解して得られるマイナスイオンを多量に含む特殊電解還元水（以下、電還元水）は、pH12 前後の無色無臭の液体であり、近年では、食品、化粧品および医療分野に応用され、無害・無刺激で生体安全性に優れ、高い洗浄効果を有していることが報告されている。そこで、今回我々はこの電還元水を歯科領域において根管洗浄に応用することを目的に、抜去歯の形成根管を用いて根管清掃効果について検討した。

#### 【実験材料および方法】

電還元水はS-100（エー・アイ・システムプロダクト社）を使用し、被験歯としてヒト単根抜去歯を用いた。歯冠を除去した後、作業長を根尖より1mm短く設定し、通法に従って#45まで根管形成を行った。次いで、ENAC 6型（オサダ社）を用いて、流量30ml/min、スケール3にて電還元水および蒸留水を連続的に注入しながらチップを作業長まで挿入し、それぞれ1分および5分間作用させ根管洗浄を行った。使用チップは#40のプラグータイプのチップを用いたプラグー群と、常に新鮮な溶液で根管を満たすことが可能となるように#40の根管洗浄用ニードル（ニプロ社製グリーンウォッシングニードル）を鑑着し、チップ先端から溶液が出るようにした試作チップ群の二群を設定し、それぞれを組合せて作用させた。作用後は水洗により根管内の残存溶液を除去した。その後、直ちに歯根を縦切断し、臨界点乾燥後、オスミウムコーティングを行い、根尖部の作業長から約1mm歯冠側よりの部位をSEM観察し清掃効果を検討した。

#### 【結果および考察】

- 1) 電還元水プラグー群は、作用時間1分では根管壁にスミヤー層を認め、象牙細管開口部は不明瞭であった。作用時間5分では根管壁にスミヤー層を認めるものの、象牙細管開口部の明瞭な像も多く観察できた。
- 2) 電還元水試作チップ群は、作用時間1分と5分ともに根管壁にスミヤー層を認めるものの、象牙細管開口部の明瞭な像が多く観察でき、5分間作用させる方がより著明であった。
- 3) 蒸留水プラグー群は、作用時間1分、5分ともに根管壁全面をスミヤー層が覆い、象牙細管開口部は観察出来なかった。
- 4) 蒸留水試作チップ群は作用時間1分では根管壁全面をスミヤー層が覆い、象牙細管開口部は観察出来なかった。作用時間5分では根管壁にスミヤー層を認め、象牙細管開口部は不明瞭であった。

以上より、電還元水はスミヤー層除去効果が認められ根管洗浄に有用であることが示唆された。しかし、電還元水にはEDTAのようなキレート作用による脱灰能力はなく、電還元水の洗浄効果は分子間力におけるイオン間相互作用による剥離作用によるものである可能性が考えられる。今後、電還元水にスミヤー層の成分である無機質の脱灰能力があるかどうかについて検討していくことが必要であると考えられる。

### 活性化次亜塩素酸水(パフェクトリア)を用いた根管洗浄の効果

○今井 昭彦 1)、野田 隆二 2)、野口 宗則 3)

1)東京都 今井歯科医院、2)東京都 野田歯科医院、3)栃木県 デンタルサロン パンデミック

The effect of root irrigation by using Hypochlorous acid

○Akihiko Imai 1), Takaji Noda 2), Munenori Noguchi 3)

1)Tokyo Imai Dental Clinic, 2)Tokyo Noda Dental Clinic, 3)Tochigi Dental Salon Pandemic

#### 【緒言】

根管治療において良好な結果を得る為には機械的拡大と根管洗浄が不可欠である。従来、根管洗浄においては次亜塩素酸ナトリウム(以下NaOCl)と過酸化水素水(以下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)の交互洗浄やEDTAなどの化学的洗浄が用いられてきた。しかしながらNaOClは組織刺激性が強く口腔内に漏洩すると障害性が強いいため使用時には注意が必要である。また効率よく洗浄効果を期待するのであれば多量で洗浄を続ける必要があり、NaOCl、EDTAなどはこのような使用には適さないと推察される。当院では3年前から全ての根管治療時に中性で上皮障害性の弱い活性化次亜塩素酸水(パフェクトリア、以下PPW)を用いて、良好な結果を得られたので報告する。

#### 【対象および方法】

抜髄、初回の感染根管治療後、根管充填までの根管貼薬の回数をカウントし、PPWを用いる以前と用いた後の比較を行った。根管充填は全ての症状(自発痛、打診痛、滲出液等)の消失後行うものであるからその回数が減少すればPPWの効果があるものと推察した。方法は抜髄、感染根管治療を行なう際、超音波スケーラーにファイル装着し、650rpmのPPWによる根管洗浄を機械的拡大時ファイルアップの度に行った。

#### 【結果】

PPW使用前6年間とPPW使用后3年間の根管充填までの平均根管貼薬回数

	抜髄歯数	感染根管治療歯数	合計	根管貼薬回数	平均根管貼薬数(回/歯)
PPW使用前(平成13年7月～平成19年6月)	1061	1070	2131	2698	1.27
PPW使用后(平成19年7月～平成22年6月)	255	407	662	547	0.83

#### 【考察】

PPWの使用前平均1.27回/1歯から使用后平均0.83回/1歯と明らかに根管充填までの根管貼薬回数は減少した。これはPPWを用いた後の方が早く臨床症状が消失したためと考えられる。以上により、PPWを用いて根管洗浄を行えば根管内の無菌化がすみやかに進むことが示唆された。もちろん全体の患者数、患歯数、1回の治療時間、術法の変化等、根管充填までの治療回数が少なくなる要因は他にも考えられる。しかしながら同一の術者がPPWの使用以外には同一の条件下に行った臨床の結果には統一性はあると思われる。治療時ラバーダム使用下では、今までのNaOClとH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>の洗浄と異なりPPWを超音波洗浄で多量に使用することにより機械的洗浄も期待できる。また、たとえ口腔内に少量漏洩したとしてもほぼ中性(PH7.2)のPPWには何らの為害性も見られなかった。以上によりPPWは今後の研究の余地はあると思われるが歯内療法においては非常に効果のある機能水であると推察された。

#### 【文献】

中村裕子, 杉山遼, 小比木雄ほか: Enterococcus faecalis が形成するバイオフィームに対する中性電解機能水パーフェクトペリオの抗菌効果に関する基礎的研究 日歯内 31:1, 2010

ザマン ショウカット, マティン カイルール, 岡田彩子, 花田信弘, 田上順次: 電解水に含まれる有効塩素の上皮細胞(KB-cells)増殖に及ぼす影響 第56回国際歯科研究学会日本部会(JADR)総会・学術大会プログラムおよび講演抄録集 2008: 82

## ペースト状の化学的清掃剤が根管象牙質に及ぼす影響 第1報) 次亜塩素酸ナトリウムについて

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野  
○森 春菜, 関根源太, 服部真丈, 堀 雅晴, 吉田隆一

### The Effect of Paste Chemical Cleaner on Root Canal Dentin Part1:Sodium Hypochlorite Paste

Asahi University School Of Dentistry  
Department of Endodontics, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation  
○Mori Haruna, Sekine Genta, Hattori Masahiro, Hori Masaharu, Yoshida Takakazu

#### <緒言>

根管治療において、次亜塩素酸ナトリウムは欠かすことのできないものである。しかし液状のものは搬送時や使用時の口腔内への漏洩、衣服への付着、強圧で使用した時の根尖孔外への溢出などが度々問題になっている。また、近年頻用されている Ni-Ti ファイルを使用する際は、常に根管を湿潤させておく必要があり、液体では流動性が高く停滞性に乏しい。安全性、有用性の点からペースト状の清掃剤の使用が推奨されるが、長時間の根管内での使用により、根管象牙質の物性的変化により歯の脆弱化が懸念される。

そこで本実験では、ペースト状の次亜塩素酸ナトリウムを根管象牙質に作用させた後、根管象牙質のナノ硬さの測定を行なうことで、ペースト状の次亜塩素酸ナトリウムが歯質に及ぼす影響を検討した。

#### <材料および方法>

実験にはウシの下顎前歯を抜歯後、生理食塩水中に浸潤させ冷蔵庫内に4℃で保存した物を用いた。初めに、歯冠部を解剖学的歯頸線に沿って切断し抜髄を行った。次に歯根を長軸方向に2分割した後、歯頸部から1cmの位置で切断したものを試料とした。試料の根管部分に薬剤を作用させたものを被試験試料、薬剤を作用させていないものをコントロールとした。被試験試料は薬剤の性状と作用時間の2つの条件を分けて試験を行った。薬剤は10%次亜塩素酸ナトリウム溶液(ネオクリーナー「セキネ」、ネオ製薬)、10%次亜塩素酸ナトリウムペースト(チャンネルクリーナー、ビーブランド)の2種類を用いた。作用時間は5分、10分、15分間作用させた。試験後は樹脂包埋を行い、硬化後は根管の水平断が露出するまで耐水研磨紙#400～#1500まで研磨し、計測用の試料とした。

次亜塩素酸ナトリウムが歯根部象牙質に及ぼす影響を検討するため、断面のナノ硬さ測定を行った。ナノ硬さ試験には、超微小押し込み硬さ試験機(MZT-522, アカシ)を用いた。測定圧子はベルコピッチ圧子を使用し、測定条件は負荷荷重20mN、負荷速度2.0mN/秒、負荷保持時間10秒、脱負荷時間10秒に設定した。測定位置は、最初の測定点を根管表面0～50μmの間に設定し、その点から50μmずつセメント質方向に測定点を移動させ、表層から200μmまでの4層の深さまでを計測した。また、測定は7点測定後、最大値と最小値を除いた5点の測定値とした。計測によって得られたユニバーサル硬さおよび塑性変形率の平均値および標準偏差を求め、コントロールと比較するためt検定によりp<0.05で統計処理し有意差検定を行った。

#### <結果>

ユニバーサル硬さは、液状、ペースト状共に、5分、10分、15分のすべてにおいて表層から50μmまでの範囲に有意に硬さの減少が認められた。50～100μmまでの層では、5分の液状と10分のペースト状のみに有意差を認め、100～200μmの層では、すべてで有意差は認められなかった。

塑性変形率は、15分例の液状、ペースト状共に表層から100μmまでの範囲で数値の増加が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。

#### <考察>

次亜塩素酸ナトリウムは根管象牙質の表層50μmまでの範囲で硬さを減少し、また、長時間の作用により塑性変形率が増加し、すなわち弾性が減少することが明らかとなった。これは、象牙質内のコラーゲンなどの有機質が溶解されることによるものと考えられる。

以上より、ペースト状の次亜塩素酸ナトリウムを液体の代替品として利用することが可能であるが、長時間の作用で根管象牙質の脆弱化の危険性が高くなることが示唆された。

## 各種根管洗浄法における効果の比較検討

奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野  
佐藤穂子, 六角玲奈, 木村裕一, 天野義和

**Comparative study on effects of various root canal irrigation methods**  
Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry  
SATO Yasuko, ROKKAKU Rena, KIMURA Yuichi, AMANO Yoshikazu

【緒言】根管治療において根管洗浄には、化学的薬剤を用いた化学的清掃や補助器具として超音波振動装置を応用する方法、そして近年ではEr:YAG レーザーも応用されている。そこで、本研究では側枝が付随した試作透明根管模型を用いて薬剤による交互洗浄、超音波振動装置による洗浄およびEr:YAG レーザーによる洗浄を行い、その洗浄効果を比較検討することを目的とした。

【材料および方法】試作透明根管模型として長さ 21.0 mm, 作業長 18.5 mm, アピカルシート部の大きさが #60, 根管相当部の彎曲が 5° の単根管模型に  $\phi 0.2$  mm の側枝を根尖孔相当部から 12.5 mm の位置 (側枝 1) と 7.5 mm の位置 (側枝 2) に付与したもので、側枝および根尖孔相当部は模型外に開放しているものを 40 本、使用した。乾燥させた根管模型に墨汁を根尖孔および側枝相当部から溢出するまで注入し、均一に染色したものを試料とした。方法として次の 4 つのグループに分けて行った (n=10)。Group 1: 洗浄用シリンジ (ネオイリゲーションシリンジ: ネオ製薬) を用い、10% 次亜塩素酸ナトリウムを根管相当部に満たし、スムーズブローチで 30 秒間攪拌、5.0 ml の 3% 過酸化水素水で中和した Group 2: 超音波振動装置 (バリオス<sup>®</sup>: ナカニシ) に #35 のチップを装着して作業長まで挿入し、生理食塩液注水下で 30 秒間洗浄した Group 3: Er:YAG レーザー (Erwin AdvErL: モリタ製作所) に管内照射用円錐型チップ R300T を用い、注水下 10 pps, 30 mJ の出力でチップ先端を作業長より 1 mm 短い状態からゆっくり引き上げながら (0.5 mm/sec) 30 秒間照射した Group 4: Er:YAG レーザー (Erwin AdvErL: モリタ製作所) にチップ R300T を装着し、注水下 10 pps, 40 mJ の出力でチップ先端を作業長より 1 mm 短い状態からゆっくり引き上げながら (0.5 mm/sec) 30 秒間照射した。これらの洗浄前後の模型をデジタルカメラで撮影し、根管口、側枝 1、側枝 2、根尖孔相当部の 4 か所の彩度を画像処理ソフト (Photoshop 5.0, Adobe) にて計測し、彩度が高くなった状態を除去が進行したと判定した。また、結果は Kruskal Wallis および Mann-Whitney U-test を用い、危険率 5% で統計学的分析を行った。

【結果】各測定部位における洗浄後の彩度を下表に示す。各測定部位において Group 間を比較すると根管口相当部は 4 つの Group 間で有意差は認められなかったが、Group 1 と 4 の 2 群間では有意差が認められた (a)。側枝 1、側枝 2 および根尖孔相当部において 4 つの Group 間で有意差が認められた。

表 各測定部位における洗浄後の彩度の測定結果 (%)

グループ 部位	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
根管口	29.7 $\pm$ 5.4 <sup>a</sup>	32.4 $\pm$ 6.6	34.0 $\pm$ 12.6	39.1 $\pm$ 9.6 <sup>a</sup>
側枝 1	42.4 $\pm$ 11.2	32.2 $\pm$ 6.1	47.8 $\pm$ 13.9	44.4 $\pm$ 12.3
側枝 2	37.5 $\pm$ 6.1	29.7 $\pm$ 6.0	46.6 $\pm$ 7.6	47.7 $\pm$ 7.6
根尖孔	48.2 $\pm$ 13.5	30.6 $\pm$ 4.0	50.6 $\pm$ 12.5	55.1 $\pm$ 9.3

a: Mann-Whitney U-test (p<0.05)

【考察および結論】今回の実験では Er:YAG レーザーを使用した場合がすべての測定部位において最も高い洗浄効果が認められた。これは攪拌による対流、化学的清掃または振動による洗浄法に比較して Er:YAG レーザー照射によって生じる圧力波の方の洗浄効果が高かったためと考えられる。今後さらに交互洗浄の回数、超音波振動装置および Er:YAG レーザー装置の強さとの関係を調べる必要がある。以上の結果から Er:YAG レーザーを使用した洗浄法は根管治療において有効な洗浄法であることが示唆された。

### 歯頸部からの漏洩に対する接着性シーラーの効果

医療法人社団生成会池袋歯科診療所<sup>1</sup>、東京医科歯科大学大学院 全部床義歯補綴学分野<sup>2</sup>、摂食機能保存学講座歯髓生物学分野<sup>3</sup>、先端材料評価学分野<sup>4</sup>

○市村賢二<sup>1</sup>、須田光昭<sup>1</sup>、市村賢太郎<sup>1</sup>、福岡陽子<sup>1</sup>、乾はな子<sup>1</sup>、平島祐生<sup>2</sup>、石村瞳<sup>3</sup>、高橋英和<sup>4</sup>

### Effect of adhesive root canal sealer on Coronal Leakage

Ikebukuro Dental Office<sup>1</sup>, Complete Denture Prosthodontics<sup>2</sup>, Pulp Biology and Endodontics  
Department of Restorative Sciences<sup>3</sup> and Advanced Biomaterials<sup>4</sup>, Graduate School, Tokyo  
Med & Dent Univ.

○ICHIMURA Kenji<sup>1</sup>、SUDA Mitsuaki<sup>1</sup>、ICHIMURA Kentaro<sup>1</sup>、FUKUOKA Yoko<sup>1</sup>、INUI Hanako<sup>1</sup>、HIRASHIMA Yuki<sup>2</sup>、ISHIMURA Hitomi<sup>3</sup>、TAKAHASHI Hidekazu<sup>4</sup>

歯頸部からの漏洩が治療結果を左右するとされ、根管内の封鎖性を接着性シーラーの使用により向上させられと考えられる。石村他は各種接着性シーラーにて根管充填後に歯頸部からの漏洩試験を行い、ハイブリットシールがある程度成績が良いことを報告している。しかし、これらは、静的な実験で歯は常に咬合力という力を受けている。ポスト形成され金属のポストがセットされた歯には根管内に大きな応力が発生する。このような状態で根管充填剤の密閉性が維持できるかを検証するために本実験を行った。

#### 方法

抜歯直後の新鮮単根歯 33 本に亀裂などが無いことを確認しと後、根尖からの長さが 15 mm になるよう歯冠を切断し、無作為に各 11 本 3 グループに分類した。通法に従い根管拡大を行い、直径 1.0 mm、長さ 20 mm のステンレス棒を 10 ミリ根尖孔より 5 ミリ) の位置まで挿入できるよう根管形成を行い固定装置に固定した。このステンレス棒に電磁式材料試験機 (MMT-250NB-10、島津) にて 4 N/sec の加圧スピードで 10N から 50N の負荷を連続的に荷重し 10N から 50N の負荷を連続的に荷重した後に石村らの方法に殉じた歯頸部からの漏洩試験を行った。

根管充填はガッターパーチャポイントと次のいずれかの根管充填シーラーを用いて行った。1) キャナルス (昭和薬品、以後 CN)、2) メタシール (サンメディカル、以後 MS)、3) スーパーボンドシーラー (サンメディカル、以後 SB)。根管充填後 2 8 日間保管後に、根管充填前と同様にステンレス棒に歯軸と直交した方向に負荷を加えた。

#### 結果 および考察

根管充填前の根管内への荷重は、根管内からの応力が根表面へ如何なる影響を及ぼすかを根管充填前後でひずみゲージにて計測するために行ったものであるが、この力により根管内に亀裂が生じたとしても接着性のシーラーの使用により、これを補うと思われたが、傾向はうかがえるものの有意な差を見出すことが出来なかった。根管充填前後に 50N まで力に加え、メチレンブルーの溶液が根尖から流出する量を分光計にてその濃度を測定し判定した。漏洩濃度は、CN、SB、MS の順で MS が一番成績が良かったが統計的な優位さは得られなかった。

参考文献 石村瞳、他：接着性根管充填材のコロナルリーケージに関する評価、  
日歯保存誌 52 (2)：131-137, 2009

水酸化カルシウム貼薬が接着性根管充填用シーラーに及ぼす影響の解析 (第1報)

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

齊藤桐枝 後藤康治 前田英史 畦森雅子 赤峰昭文

Calcium hydroxide intracanal medication influences the gutta-percha-filled area  
with resin-based root canal sealer (Part I)

Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of  
Dental Science, Kyushu University

Kirie SAITO, Yasuharu GOTO, Hidefumi MAEDA, Masako UNEMORI and Akifumi AKAMINE

目的：近年、接着性根管充填用シーラーが開発され、その高い根尖封鎖性が注目を集めている。スーパーボンドシーラー（以下SBS）もその一つであり、シングルポイント法（以下SP法）での使用をメーカーは推奨している。このSP法は、根尖部に残存する水酸化カルシウム製剤（カルシペックスII）の影響を受けやすく、その一方で、熱可塑性ガッタパーチャ法であるサーマフィル法（以下TF法）は、チャンネルN（以下CN）との組み合わせにおいて、カルシペックスIIの影響を受けにくいことを我々は報告している。本実験の目的は、シーラーとしてSBSを用いた時、カルシペックスIIの影響を受けにくい根管充填法を検討することである。

材料と方法：透明レジブロック製のストレート根管模型32個を、回転式器具であるEndoWaveを用いて、#30（06テーパー）まで拡大した。模型はカルシペックスIIを填入する根管とカルシペックスIIを填入しない根管（コントロール）との2つのグループに分け（各n=16）、各グループの根管を37°Cの環境下において、SP+SBS、SP+CN、TF+SBS、TF+CNの4つの方法で充填した（各n=4）。SP法では、ポイント（#30、06テーパー）の全周にシーラーを塗布し根管内で数回、上下させながら充填した。TF法では、根管上部の3分の1にシーラーを塗布し、加熱したTF（#30）を充填した。SBSを用いる時は、通常通り、根管充填前に根管を清掃後、歯面処理を行い、ダッペンディッシュ冷却器を用いてSBSを混和し、根管充填を1分以内に行った。根管充填後、すべての標本を作業長から1mmと3mmの位置にて水平に切断し、ガッタパーチャが占める面積の割合（the percentage of gutta-percha-filled area、以下PGP）を測定した。データはStudentのt検定を用いて分析し、比較検討した（ $P < 0.05$ ）。

成績：作業長から1mmの時、SP+SBSにおいてPGPはカルシペックスII填入根管の方がカルシペックスII填入なし根管よりも有意に小さかった（ $P < 0.01$ ）。またTF+SBSの方が、SP+SBSよりもPGPは有意に大きかった（ $P < 0.05$ ）。一方、作業長から3mmの時のPGPは、カルシペックスII填入根管とカルシペックスII填入なし根管との間に有意差がみられなかった（ $P > 0.05$ ）。

考察：カルシペックスII填入根管において、SP法にSBSまたはCNを組み合わせた時、PGPの減少がみられた。これはシーラーが根尖部に填入したカルシペックスIIと混ざることによって性質が変化したためと考えられた。一方、TF法にSBSまたはCNを用いた時、PGPは減少しなかった。これは加熱により軟化したガッタパーチャが根尖部へと垂直に流動するのに従って、シーラーが薄い膜となって根尖方向へ広がるため、根尖部のカルシペックスIIの影響を受けにくかったからと考えられた。またSBSは、加熱により硬化時間の短縮が起こるが、今回の実験では根管充填途中の硬化は避けることができたと推察された。

結論：SBSにSP法を用いた時、PGPはカルシペックスII填入の影響を受けたが、SBSにTF法を用いた時、PGPはカルシペックスII填入の影響を受けにくかった。従って、カルシペックスIIを根管貼薬剤として臨床応用する際、SBSとTF法を組み合わせる根管充填を行うと、根管封鎖性が高まる可能性が示唆された。

## 各種接着性レジン系ルートキャナルシーラーの根管象牙質に対する微小引張接着強さ

<sup>1</sup> 日本大学松戸歯学部う蝕抑制審美治療学講座

<sup>2</sup> 日本大学大学院松戸歯研究科

<sup>3</sup> 日本大学大学院松戸歯学部歯内療法学講座

○小里達也<sup>1</sup>, 藤田(中島)光<sup>1</sup>, 関根哲子<sup>2</sup>, 川島正<sup>3</sup>, 辻本恭久<sup>3</sup>, 松島潔<sup>3</sup>, 池見宅司<sup>1</sup>

### Microtensile bond strength of adhesive root canal sealers to radicular dentin

<sup>1</sup>Department of Dental Caries Control and Aesthetic Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

<sup>2</sup>Nihon University Graduate School of Dentistry at Matsudo

<sup>3</sup>Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Ori Tatsuya<sup>1</sup>, Fujita (Nakajima) Kou<sup>1</sup>, Sekine Satoko<sup>2</sup>, Kawashima Tadashi<sup>3</sup>, Tsujimoto Yasuhisa<sup>3</sup>, Matsushima Kiyoshi<sup>3</sup> and Ikemi Takuji<sup>2</sup>

#### 【緒言】

臨床現場にて日常的に行われている歯内療法の処置には、主としてガッターパーチャポイントとルートキャナルシーラーを根管内に加圧充填する方法である。近年、接着性を付与させたレジン系のルートキャナルシーラー（接着性レジン系シーラー）が各社から販売されている。これらは、歯冠部歯質の接着性コンポジットレジン修復と同様の概念で、抜髄後の根管象牙質にも接着封鎖がより有効であるとの考えに基づき開発されたものであり、露出した根管象牙質にレジン浸透・重合硬化させることにより、過度の加圧を必要とせずに微小漏洩の抑制、ならびに抜髄によって脆弱化した歯根の補強効果に繋がることが期待されている。そこで本研究は、製品形態の異なる4種の接着性レジン系シーラーを用いて、これらの接着性能を明らかにする事を目的として、微小引張接着試験、ならびに走査型電子顕微鏡(SEM)を用いた接合界面の形態学的観察を行った。

#### 【材料および方法】

冷蔵保管されたヒト新鮮抜去歯を用いて歯冠部および歯髄を除去し、ピーソーリーマー(#6, マニー)を用いて拡大形成した。15% EDTAを根管内に2分間作用させた後、2.5% NaClOにて2.5分間処理し、精製水にて洗浄を行った。接着性レジン系シーラーとして、MetaSEAL™(Parkell, USA)、スーパーボンド根充シーラー(以下RC-Sealer, サンメディカル)、Epiphany®(Pentron, USA)、Epiphany® SE™(Pentron, USA)の4種を使用し、それぞれメーカー指示通りに処理した後に根管充填を行った。試験体を37°C湿潤下にて2週間保管し、歯の長軸方向に対して水平に研削し根管中央部を露出させ、平坦に研磨して厚さ1mmの連続切片を作製した。被着面が1mm<sup>2</sup>になるようダンベル型にトリミングし、C.H.S 1mm/minにて微小引張接着試験を行った。得られたデータはTukey-Kramer(p<0.05)にて統計処理を行った。SEMサンプルは、観察面を6N HClおよび1% NaClOにてそれぞれ処理し、洗浄乾燥後、白金蒸着を施して接合界面の観察を行った。

#### 【結果および考察】

微小引張接着試験の結果、RC-Sealer: 28.3±6.2(MPa)、MetaSEAL™: 24.8±5.3(MPa)、Epiphany®: 5.7±3.2(MPa)、Epiphany® SE™: 8.0±4.0(MPa)であり、RC-SealerおよびMetaSEAL™の微小引張接着強さは、Epiphany®あるいはEpiphany® SE™に比較して、有意に高い接着強さを示した。試験後の破壊様式は、RC-SealerおよびMetaSEAL™では、全ての試料においてシーラー自体の凝集破壊が確認されたのに対して、Epiphany®およびEpiphany® SE™では、殆どが歯質とシーラー間の界面剥離であった。また、接合界面のSEM観察では、RC-SealerおよびMetaSEAL™では、接合部に樹脂含浸層が形成されており、多くのレジントグも確認された。これに対して、Epiphany®およびEpiphany® SE™では、接合部付近には亀裂が散見され、部分的にレジントグの形成は認められたが樹脂含浸層は確認できなかった。

歯内療法処置の際に、根管を殺菌するためにNaClOが使用されるが、一般的に接着性レジンの多くはNaClOによる重合阻害を受ける。今回使用した接着性レジン系シーラーのうち、RC-SealerおよびMetaSEAL™はNaClOによる重合阻害の影響は認められなかったが、接合界面に亀裂が散見されたEpiphany®およびEpiphany® SE™はNaClOの影響を受け、接合部の重合が不十分となった可能性が考えられた。

#### 【結論】

接着性レジン系シーラー種により、その接着性能が大きく異なることが判明した。また、RC-SealerおよびMetaSEAL™は根管象牙質との接着に優れており、過度の加圧を必要とせずに緊密な充填が可能であると考えられた。

## オレイン酸、ユーキノールおよび酸化亜鉛を主剤とした 新規根管充填用シーラー中のユーキノール遊離動態

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座<sup>1</sup>，共同利用研究センター アイソトープ研究施設<sup>2</sup>  
○前田宗宏<sup>1</sup>，橋本修一<sup>2</sup>，石塚克巳<sup>1</sup>，勝海一郎<sup>1</sup>

### Release of eugenol from new root canal sealer contained with oleic acid, eugenol and zinc oxide

Department of Endodontics & Operative Dentistry<sup>1</sup>，  
Section of Radioisotope Research, Research Center for Odontology<sup>2</sup>，  
Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo  
○Maeda M<sup>1</sup>，Hashimoto S<sup>2</sup>，Ishitsuka K<sup>1</sup> and Katsuumi I<sup>1</sup>

#### 【はじめに】

酸化亜鉛ユーキノールセメントは、歯髄鎮痛消炎剤、根管充填用シーラーなどに用いるが、高濃度のユーキノールがセメントから遊離した場合には、生体に有害作用を生じることが指摘されてきた。第132回の本学会において、オレイン酸、ユーキノールおよび酸化亜鉛を主剤とした新規根管充填用シーラーでは、ユーキノール量が低減されているにもかかわらず、臨床応用時に具備すべき物性が従来の製品とほぼ同等であることを報告した。今回は、<sup>3</sup>Hで標識したユーキノールを用いて、シーラー中のユーキノール遊離動態について検討を行った。

#### 【材料および方法】

##### 1. ユーキノールの放射性標識化合物の調製

ユーキノールの放射性標識化合物は、New England Nuclear 社においてユーキノール (Aldrich, USA) を触媒交換法により<sup>3</sup>Hで標識し、精製した<sup>3</sup>H-ユーキノールを実験に使用した。

##### 2. 新規根管充填用シーラーの組成

新規根管充填用シーラーの液剤中には<sup>3</sup>Hで標識したユーキノールを使用した。

- ・粉 剤 (1g 中) : 酸化亜鉛 (和光純薬) 400mg、ロジン (和光純薬) 400mg、その他 200mg
  - ・液 剤 (1ml 中) : オレイン酸 (和光純薬) 0.75ml、<sup>3</sup>H-ユーキノール 0.15ml (1.0mCi/ml)、その他 0.1ml
- 粉剤 1g に対して液剤 0.5ml の割合で練和した。

対照シーラーには、キャナルス (昭和薬品化工) を使用し、粉剤 1g と<sup>3</sup>H-ユーキノール含有キャナルス液 0.3ml (0.15mCi/ml) とを練和し、比較した。

##### 3. シーラーからのユーキノール移行実験

###### ① シーラーからのユーキノール遊離実験

新規根管充填用シーラーから遊離するユーキノール量の測定を行った。練和直後のシーラーを内径 8mm、深さ 4 mm の円筒形プラスチック製容器に填塞し (表面積 : 0.502 cm<sup>2</sup>)、50 ml の生理食塩液に浸漬した (試料数は 3 個)。室温下で外液を 90 rpm で攪拌し、外液を経時的に 0.1 ml ずつ採取した。採取した試料には 10ml の Aquasol-2 (Perkin-Elmer) を加え、液体シンチレーションカウンタ (LSC-6100, ALOKA) で放射エネルギーを測定した。

###### ② セメントから歯髄へのユーキノール移行

生後 7 週齢のウイスター系 SPF 雄性ラット (180~220g) をペントバルビタールで腹腔内麻酔後、下顎切歯をダイヤモンドポイント (No. 111, 松風) を用いて歯頸部で切断し、切断面の中央で直径 0.5 mm のツイストドリルバー (ISO:005, Meisinger) を用いて、非注水下で歯質を深さ約 5 mm の円筒形に削除した。切削部を生理食塩液で洗浄、ペーパーポイントで乾燥後に各シーラーを下顎切歯窩洞部に填塞した。経時的に歯髄を摘出し、歯髄湿重量を秤量後に放射エネルギーを液体シンチレーションカウンタ (LSC-6100, ALOKA) で測定した。

#### 【結果とまとめ】

1. 新規根管充填用シーラーから生理食塩液へのユーキノールの遊離は、填塞後 5 分で最大値を示した。
2. 新規根管充填用シーラーから歯髄へのユーキノールの遊離は処置後 20 分で最大値を示し、遊離総量はキャナルスよりも減少した。

今回の実験結果から、新規根管充填用シーラー中のユーキノールの外液中への遊離量は練和直後に最大であることが明らかとなった。また、歯髄内におけるユーキノールの遊離は、填塞後 20 分で最大値を示すなど *in vitro* 実験とは異なる様相を示していた。

## マイクロフォーカス X 線 CT を用いた下顎第二小白歯捻転根管の観察：症例報告

東北大学病院総合歯科診療部<sup>1</sup>、東北大学大学院歯学研究科口腔病態外科学講座口腔病理学分野<sup>2</sup>、  
保存修復学講座歯科保存学分野<sup>3</sup>

○下西 充<sup>1</sup>、清水良央<sup>2</sup>、渡邊弘淳<sup>1</sup>、高橋 健<sup>1</sup>、遠藤直樹<sup>1</sup>、齊藤 修<sup>1</sup>、小松正志<sup>3</sup>

### An Observation of Rotated Canal in Human Mandibular Secondary Premolar Tooth using Microfocus X-ray CT System

<sup>1</sup>Division of Comprehensive Dentistry, Tohoku University Hospital, <sup>2</sup>Division of Oral Pathology,

<sup>3</sup>Division of Operative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○SHIMONISHI Mitsuru<sup>1</sup>, SHIMIZU Yoshinaka<sup>2</sup>, WATANABE Hiroatsu<sup>1</sup>, TAKAHASHI Ken<sup>1</sup>, ENDOU Naoki<sup>1</sup>,  
SAITO Shu<sup>1</sup>, KOMATSU Masashi<sup>3</sup>

#### 【緒言】

根の捻転は単根歯にみられる変化で、しばしば螺旋状にねじれる。出現部位は上顎の側切歯および犬歯にみられることがあるが、まれには下顎の小白歯にもみられる。捻転した根管の場合、根管治療を行うことはかなり困難を要する。例え根尖までファイル等が尖通したとしても根管拡大・形成していくに従い根尖まで到達する前にステップを生じるか、根尖の破壊を起こしかねない。本症例は、急性症状を伴った下顎第二小白歯の根管治療を試みたが、捻転根管を有したためやむなく抜歯した後、マイクロフォーカス X 線 CT で観察したのでその詳細を報告する。

#### 【症例】

患者：58歳 女性

主訴：下顎右側臼歯部腫脹、自発痛

現病歴：平成22年1月に下顎右側臼歯部の腫脹および疼痛を訴え、近くの歯科医院を受診した。下顎第二小白歯の感染根管治療を行うが、1ヶ月経っても症状が改善されないため、平成22年2月東北大学病院歯科部門を来院した。

現症：打診痛、咬合痛がみられ、デンタル X 線写真(図1)で下顎右側犬歯、第一および第二小白歯根尖部に透過像が見受けられた。

診断：下顎右側第一および第二小白歯急性化膿性根尖性歯周炎

治療経過：初診時、下顎右側第一および第二小白歯の感染根管治療および骨膜下膿瘍を切開した。その際、下顎右側第二小白歯の根尖へは15号までしか拡大できなかつた。後日、二度、下顎右側第二小白歯の根管拡大形成を試みるが、異常な彎曲を確認し、患者へその旨を伝えたとこ抜歯を希望した。同意を得た後、抜歯を行った結果、根尖部舌側に向けて新たな彎曲を確認した。抜去歯はホルマリンで固定後、根管の走行をみるため、マイクロフォーカス X 線 CT で観察した(図2、3)。

#### 【まとめ】

マイクロフォーカス X 線 CT で下顎右側第一小白歯の根管の走行を確認したところ、根尖の彎曲部位に従来の走行とは異なる方向に根管形成がされていた。また、根尖付近では副根管がみられ、根尖口が2個確認された。今回、患者の希望により抜歯することから、下顎右側第二小白歯捻転歯の根の形態、根管の走行を確認することができた。今回の症例から、歯内療法において二次元的 X 線画像とともに3次元の歯科用 X 線 CT 画像の有用性が確認できた。



図1：デンタル X 線写真像

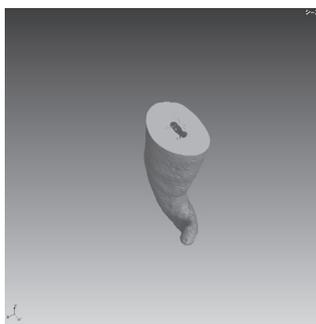


図2：CT 立体構築像

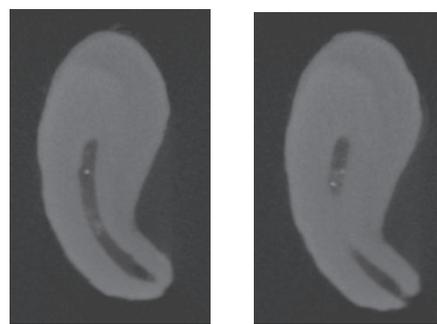


図3：根尖彎曲部マイクロフォーカス X 線 CT 断層像

## 広範囲な外部吸収を伴う歯にMTAを応用した3症例

大阪歯科大学 口腔治療学講座  
○曾川浩二、池永英彰、藤平智広、奥野一吉、林 宏行

### Effect of mineral trioxide aggregate on 3cases of extensive external resorption

Department of Endodontics, Osaka Dental University  
SOGAWA Koji, IKENAGA Hideaki, FUJIHIRA Tomohiro, OKUNO Kazuyoshi, HAYASHI Hiroyuki

#### 【緒言】

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は、細胞・組織傷害作用が低く、硬組織形成を伴う創傷治癒に優れ、親水性で防湿が不確実となる場合にも適した材料であり、歯内療法材料として臨床に広く応用されている。これまでわれわれは、臨床の場において、根管壁への穿孔や大白歯の髄床底への穿孔にはMTAテクニックを応用し、多くの症例で良好な結果を得ている。今回われわれは、広範囲な外部吸収を伴う歯の欠損部の修復・封鎖にMTAを応用し、以下の結果を得たので報告する。

#### 【症例】

(症例1) 患者は38歳女性で、当院来院1年半前に自転車で転倒、上顎前歯部を強打した結果、左側上顎第一小臼歯は破折し保存不可能との診断のもと抜去された。側切歯および犬歯は歯髄保存不可能と判断され、紹介医のもとで感染根管治療が行われた、一方中切歯は生活反応が戻らず根管治療が行われたが、3歯ともに症状に改善がみられず、当院を紹介され来院した。中切歯および側切歯は通常の根管治療後根管充填を完了、犬歯は歯根歯頸部寄りに外部吸収と思われる大きな欠損部を認めたため、根管充填後に頬側粘膜炎を剥離、欠損部の肉芽組織を除去後、MTAにて修復・封鎖し、後日歯頸部は審美性を考え光重合レジン充填を行った。半年後の経過観察では歯頸部に軽度の発赤を認める以外は経過良好であった。

(症例2) 患者は53歳女性で、既往歴によると17年前に交通事故に遭い上顎右側の前歯から第一大臼歯におよぶ歯槽骨の骨折を生じ、口腔外固定を受けたと言う。当院へは上顎右側第二小臼歯の違和感を主訴として来院、エックス線診査によって歯根中央部に根管と交通する外部吸収が確認された。患歯は感染根管治療を行い、根管充填後粘膜炎を剥離、歯根吸収部をMTAにて封鎖、2年後自覚症状もなく良好に経過している。

(症例3) 患者は48歳男性で、約30年前にバスケットボールが顔面にぶつかり、上顎左側側切歯を破折した。その後、歯内治療と補綴処置を行った。数年前から歯肉腫脹を繰り返し、自発痛が発現したために近医にて保存不可能と判断抜歯を勧められ、セカンドオピニオンを求め当院に来院した。口腔内所見では、エックス線所見では歯根中央部に外部吸収を疑う透過像が認められ、通常の歯内治療および歯周外科を行うことにした。外部吸収欠損部は、粘膜炎を剥離、肉芽組織を除去後MTAにて封鎖した。現在経過は良好である。

#### 【まとめ】

外部吸収は歯根膜細胞内に破歯細胞が出現して歯根表層から象牙質が吸収されることであり、その治療にあたっては吸収の程度によって、非外科処置、外科的処置またはその併用を適切に選択する必要がある。今回のような歯頸部および歯根部に生じた広範囲に及ぶ外部吸収に対しては、適切な感染根管処置および緊密な根管充填後、粘膜炎を剥離し、十分な病変部の除去とその部の緊密な修復・封鎖が不可欠である。今回われわれは、広範囲に及ぶ外部吸収を有する患歯に対して感染根管処置を行い、根管充填後歯頸部欠損部をMTAにて修復・封鎖した結果、経過は良好であった。以上の結果から、MTAは歯頸部の広範囲な外部吸収の欠損部への修復・封鎖材として有効であることが示唆された。

## 側枝由来のために原因歯特定が困難な症例

鹿児島大学大学院歯学総合研究科顎顔面機能再建学講座歯科保存学分野  
○徳田雅行、川上克子、鳥居光男

### A complicated case which is difficult to diagnose the cause tooth with lateral canal-derived periapical lesion

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate School of  
Medical and Dental Medicine

○TOKUDA Masayuki, KAWAKAMI Yoshiko, TORII Mitsuo

#### [緒言]

歯肉に瘻孔を認める症例において、原因歯を特定する方法として、デンタルエックス線写真や電気歯髄診 (EPT) が有用である。しかし、EPT は、対象歯が補綴歯である場合は無効であり、また、明確な根尖部透過像がない場合などは、デンタルエックス線での確定診断も困難になる。今回、根管治療した後に、補綴歯である隣在歯が主原因であり、その側枝が病変の波及経路と判明した症例について報告する。

#### [症例]

患者：57 歳女性

主訴：1 か月前から、下顎右側側切歯 (42) から犬歯 (43) の頬側歯肉に、腫脹や根尖部圧痛がある。

現症：42、43 共に、打診痛 (-)、動揺 0、歯周ポケット全周 3mm 以下。42、43 間の唇側の根尖部歯肉に、瘻孔を認める。

42 は EPT に反応があった。43 は補綴歯のため EPT が不可。

瘻孔の原因歯特定の為に、42 と 43 の唇側歯肉の瘻孔からアクセサリーポイントを挿入し、デンタルエックス線撮影をしたところ、42 の根中央へ挿入された。42 の根尖部から 43 の近心側に及ぶエックス線透過性の亢進を認めたが、43 の根尖部に異常所見は認められなかった。

既往歴：特記事項なし

#### [治療経過]

42 が生活歯であったため、原因の特定ができず、切開排膿処置にて経過観察していたが、1 か月後に EPT に反応しなくなった。

42 の感染根管治療開始後、速やかに腫脹や漏孔が消失した。3 か月間の貼薬期間後に根管充填した。

しかし、半年後に歯肉腫脹が再発したため、切開処置にて経過観察をしていた。ところが、状態が改善しなかったため、根管充填の 13 か月後に、歯根端切除をおこなった。歯根端切除の際に、43 の根尖部まで病巣の広がりや骨欠損を認めたため、42 からの感染の波及による 43 の失活を疑った。

抜糸後、43 の切削診により矢であることを確認し、感染根管処置を開始した。根管治療中、カルシペックスを貼薬した際に、歯肉を通して同剤の漏出を認めたため、側枝の存在を疑い CT 撮影をした。CT の 3 次元画像において、42 と 43 の根尖から唇側におよぶ病巣を認め、43 の近心側側枝からはカルシウム製剤が漏出していた。また、根管充填後のデンタルエックス線においても、側枝からシーラーの漏出が見られた。これらの所見から、42 が失活に至った原因は、43 の側枝由来による感染の波及であると推察した。

43 の根管充填の 4 か月後も、再発症状なく経過は良好である。

#### [考察]

本症例では、補綴歯 (43) 由来の感染が側枝を経由して隣在歯 (42) に波及していると判断出来ず、確定診断に至るまでに長期間 (1 年 8 か月) を要した。主原因歯の感染根管治療を早期におこなっていたら、広範囲におよぶ骨欠損を惹起しなかった可能性がある。しかし、初診時のデンタルエックス線像において 43 に根尖病変は認められず、瘻孔から挿入したポイントも 43 に到達せしなかったため、失活歯であると判断することが困難であった。

今回の症例から、根尖部にエックス線透過像を認めなくとも、根側面に透過像を認める場合は、失活している可能性を考えるべきであろう。

## 窩洞形成時のミラー・スキル修得に実習方法の違いが与える影響

1.九州歯科大学 齲蝕歯髄疾患制御学分野, 2.九州歯科大学 総合診療学分野  
西野字信<sup>1</sup>、矢野淳也<sup>1</sup>、永吉雅人<sup>1</sup>、鷲尾絢子<sup>1</sup>、平田志津<sup>1</sup>、吉居慎二<sup>1</sup>、西藤法子<sup>1</sup>、  
寺下正道<sup>2</sup>、北村知昭<sup>1</sup>

### Effects of differences in practice methods on mastering mirror-skills for cavity preparation

1. Div. of Pulp Biology, Operative Dentistry and Endodontics, Kyushu Dental College

2. Div. of Comprehensive Dentistry, Kyushu Dental College

NISHINO Takanobu<sup>1</sup>, YANO Junya<sup>1</sup>, NAGAYOSHI Masato<sup>1</sup>, WASHIO Ayako<sup>1</sup>, HIRATA Shidu<sup>1</sup>, YOSHII Shinji<sup>1</sup>,  
SAITO Noriko<sup>1</sup>, TERASHITA Masamichi<sup>2</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

【目的】デンタル・ミラーの使用は歯科治療に必須の技術であり、歯科用顕微鏡等による高精度な治療技術の導入が進む昨今においては特に修得すべき技術といえる。従来からミラー・スキル修得に関する臨床基礎実習は行われているものの、学生が卒業時にミラー・スキルを十分修得しているとは言い難く、効率的・効果的な技術修得の教育方法が模索されている。今回、ミラー・スキル修得に効果的な実習・教育方法を確立することを目的として、当分野で考案したミラー・スキル修得用器具を用い、窩洞形成実習方法の違いが学生の技術向上とミラー・スキル修得時の着目点に与える影響を検討した。

【方法】研究への参加を希望した本学歯科学科学生を被験者とし、特定実習を行う群（グループ1）と特定実習を行わない群（グループ2）の2群にランダムに振り分けた。実習期間は連続する5日間とし、上顎右側第一大臼歯のMOII級窩洞を、直視ではなくミラー使用下で形成する実習を実施した。グループ1が実施した特定実習では、1日につき20分間、通常の机に設置可能なミラー・スキル修得用器具を用いて、ミラー越しにアルファベットを書く作業を行わせた後に実際の窩洞形成実習を行わせた。グループ2では特定実習を行わずに窩洞形成実習を行わせた。評価項目としては、窩洞形成所要時間および窩洞形態を客観的に評価するとともに、学生の主観的自己評価（形成時の着目点、VASスケールによる実習の満足度、等）を記録して検討を行った。測定は毎日行い、得られたデータは一元配置分散分析およびTukey-KramerのHSD検定により統計学的有意差の検定を行った。

【結果】実習期間中に測定した形成所要時間は、両グループともに減少傾向が認められ、特定実習の有無にかかわらず連続した実習による習熟が認められた。一方、窩洞形態は、1日目では両グループ間に大きな差は認められなかったが、経時的に両グループ間で差が認められた。被験者自身の着目点に関するチェック項目数は、ミラー・スキル実施時に重要な診療姿勢に関する項目の選択がグループ1では増加傾向を、グループ2では減少傾向を示していた。器具の取扱いと操作に関する項目では両グループともに減少傾向を示し、窩洞形態に関する項目では両グループで増加傾向を示していた。VASによる評価においては、両グループとも多少の差はあるものの増加傾向を示していた。

【考察】今回、実習方法の違いに関わらず、連続した期間に実習を集中することで、窩洞形成スキルや器具取扱いの習熟、および被験者自身の窩洞形成に対する着目点が高度化することが示された。一方、自宅でも使用可能なミラー・スキル修得用器具を用いた特定実習を実施することで、歯科治療に必須の技術であるミラー・スキル遵守に対する意識が向上することが示唆された。以上の結果は、我々が考案したミラー・スキル修得用器具を用いた持続的トレーニングが治療技術と意識の向上に有効であることを示唆している。

【結論】高精度な歯科治療に必須の技術であるミラー・スキル修得には、今回示したような実習器具による持続可能な練習法と、学生の修得状況に応じたフィードバックや自己評価のシステムを構築することが効果的である。

### 臨床実習開始前学生のNiTiロータリーファイルを用いた歯内治療学実習のアンケート調査

- 1) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座      2) 日本歯科大学新潟病院 総合診療科  
○新井恭子<sup>1)</sup>、北島佳代子<sup>1)</sup>、横須賀隆史<sup>2)</sup>、佐藤友則<sup>2)</sup>、石黒仁和本子<sup>1)</sup>、大石繁康<sup>1)</sup>、北野芳枝<sup>1)</sup>、  
田久昌次郎<sup>1)</sup>、朝比奈壮郎<sup>1)</sup>、木村正子<sup>1)</sup>、貝津 徹<sup>1)</sup>、井野場朗子<sup>1)</sup>、五十嵐 勝<sup>1)</sup>

#### Questionnaire survey concerning impression of Endodontic laboratory using with the NiTi rotary files in dental students prior to clinical clerk ship

- 1) Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University  
2) Comprehensive Dental Care at Niigata Hospital, The Nippon Dental University

○ARAI Kyoko<sup>1)</sup>, KITAJIMA Kayoko<sup>1)</sup>, YOKOSUKA Takashi<sup>2)</sup>, SATOH Tomonori<sup>2)</sup>, ISHIGURO Niwako<sup>1)</sup>, OHISHI Shigeyasu<sup>1)</sup>,  
KITANO Yoshie<sup>1)</sup>, TAKYU Shojiro<sup>1)</sup>, ASAHINA Takeo<sup>1)</sup>, KIMURA Masako<sup>1)</sup>, KAIZU Toru<sup>1)</sup>, INOBA Saeko<sup>1)</sup>, IGARASHI Masaru<sup>1)</sup>

#### 【緒言】

NiTi製のファイルは、優れた柔軟性と高い根管の追従性があることから、湾曲根管に有効な器具として臨床応用されている。その普及率は欧米に比べ本邦では低く、歯学部教育でも学生には講義で知識を伝授しているものの実習に取り入れている大学は少ない。今回われわれは、臨床実習開始前の第4学年生に対してNiTiロータリーファイルで透明根管模型を拡大形成する実習を行い、事前・事後アンケート調査を行ったのでその結果を報告する。

#### 【材料および方法】

アンケート対象者は本学の第4学年生で、臨床基礎実習において樹脂製根管模型3歯、ヒト抜去大白歯1歯に対し、ステンレススチール製ファイルを用いた通法の拡大形成と側方加圧根管充填を修了している91名である。拡大形成には30度の湾曲を有する透明根管模型(ENDO-TRAINING-BLOC A0177、DENTSPLY)を使用し、10号の専用ファイルで予め根尖孔まで穿通してから作業長を決定した。NiTiファイルにはProTaper(DENTSPLY)を使用し、ファイルの使用方法は手順に従いSX、S1、S2、F1を用いて各自1ブロックを手持ちで拡大した。トルクコントロールエンジンにはX-Smart(DENTSPLY)を用いた。各ファイル使用後にはオキシドールで根管洗浄を行った。拡大形成終了後、ファイル刃部の伸びと破折、ステップの形成の有無を肉眼で確認した。事前アンケートでは、NiTiファイルの認知状態と知識・使用経験、および拡大形成に使用する透明根管模型の湾曲度に関する意見を尋ねた。事後アンケートでは実際に拡大形成を行った後の湾曲度に関する意見を再度尋ね、拡大中、拡大結果についての質問を行い、事前・事後間の比較を行った。

#### 【結果】

事前アンケートでは、NiTiファイルを知っていると答えた学生が16名(17.6%)で、実習で使用する根管模型の湾曲度に関する学生の回答は、中等度と強いが57.1%を占めていた。事後アンケートでは湾曲度に対する回答の強いが減少し、弱い・無いが増加した。また、拡大操作に費やした時間が早かったと回答した学生が70名(76.9%)、専用ファイルよりNiTiファイルのほうが使いやすいと回答した学生が84名(92.3%)、将来自分の診療でNiTiファイルを使ってみたいと回答した学生が85名(93.4%)、総合的にNiTiファイルは良いと回答した学生が87名(95.6%)であった。

#### 【考察】

事前アンケートでNiTiファイルを知っていると回答した学生がわずかに17.6%だったことは、前学年で講義は行われていたもののNiTiファイルに対する興味や関心が薄いと考えられる。実習前後で根管模型の湾曲度に対する意識が変化したことから、NiTiファイルは30度の湾曲根管でも十分に拡大形成を行うことができ、1ブロックのみの拡大形成実習でも、実際に自分が体験することでNiTiファイルが湾曲根管に適していることが理解できたと考えられる。その結果、NiTiファイルへの評価が専用ファイルよりも高くなったと推察できる。将来臨床で使用したいと回答した学生が93.4%と非常に高く、臨床基礎実習でNiTiファイルを使用することは、将来のNiTiファイルの普及に大きく貢献していると考えられ、今後の治療レベルの向上に役立つものと思われる。今回は各学生が根管模型1本のみの実習となったため、今後はさらにNiTiファイルを用いた実習の時間を多くし、模型の本数を増やしていくべきと考えられる。

#### 【結論】

臨床実習開始前学生のNiTiロータリーファイルを用いた歯内治療学実習は、学生のアンケート結果から非常に有用であることが示され、将来のNiTiファイルの普及と治療レベルの向上に貢献するものである。

## 歯内療法学実習用人工歯を用いた教育効果の向上について

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座

○諸橋利朗、川島 正、辻本恭久、富田 敬、小塚昌宏、岡部 達、和田陽子、松島 潔

### Educational Effects by New Method using Endodontic Practice Teeth

Department of Endodontics

Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○ MOROHASHI Toshiaki, KAWASHIMA Tadashi, TSUJIMOTO Yasuhisa, TOMITA Takashi

KOZUKA Masahiro, OKABE Tatsu, WADA Yoko, MATSUSHIMA Kiyoshi

#### 【研究目的】

歯内実習にヒト抜去歯を用いると、歯の条件の違いにより、根管治療が難しくなったり、同一条件で評価するのが難しくなる。そこでわれわれは歯学部、大学院生、研修医に対して行われる歯内療法学実習において、同一条件で教育および評価ができるヒトの歯と同条件の人工歯の開発を行った。第129回および131回日本歯科保存学会において、ヒト抜去歯で行う評価よりも、一定に規格化された人工歯を用いることによって、評価も同一条件で行えるため歯内療法の実習教育に有用であることを報告している。今回は実習教育の効果をより向上させることを目的に4年次生の歯内療法学実習において実習方法を改良し、教育にどのような効果があったかを検討した。

#### 【材料および方法】

昨年度は人工歯を植立した顎模型を用いて歯根が見えない状態で練習を行い、同じ顎模型で実習試験を行った。今年度は実習を開始する前にまず根管系の形態を3Dソフト等を用いて解剖学的な知識を十分に学ばせた。次にニッシン製上顎第一小白歯をフィルムケースに植立して明視下にて実習を行い、その後顎模型をマネキンに装着し、実習試験を行った。試験終了後、人工歯を顎模型からはずして①感染歯質（着色部）の部位別取り残し ②X線上での根管充填の状態 ③アクセスオープニングの外形 ④穿孔数のデータを集計し、昨年度のデータを比較検討した。

#### 【成績および考察】

①感染歯質（着色）の部位別取り残し率：%（昨年度%）

	coronal third	middle third	apical third	髓床底
頰側根管	41.9 (42.9)	33.3 (10.5)	49.6 (67.6)	47.9 (44.8)
口蓋根管	14.0 (18.1)	26.4 (29.5)	41.9 (55.2)	

②根管充填の状態：%（昨年度%）

	Under filling-Over extension	Under filling-Under extension	Over filling-Over extension	Over filling-Under extension	good filling
頰側根管	33.3 (32.4)	32.5 (58.1)	0 (2.9)	3.4 (50.0)	30.8 (3.8)
口蓋根管	33.3 (37.1)	34.2 (41.9)	0 (4.8)	1.8 (37.3)	30.6 (8.6)

③アクセスオープニングの外形の過剰切削部：%（昨年度%）

部位	頰側	口蓋側	遠心側	近心側	良好
	6.2 (3.8)	7.8 (9.5)	21.7 (46.7)	15.5 (20)	37.2 (20)

④穿孔数の割合：19.4%（41.2%）

今年度は練習時に人工歯をフィルムケースに植立して明視下でいつでも直接観察できる状態で歯内実習の練習を行った。天然歯と違い、半透明なのでその特性を生かし、あらゆる角度から3次的に見ることができると拡大・形成・根管充填のステップ毎の確認を十分に行うことができた。その後実習試験を行い評価したところ、練習でフィルムケースを用いず、いきなり顎模型で練習を行った昨年度より良好な結果を得られた。

【結論】実習試験の事前に3Dソフトを見たり、半透明の人工歯を直接観察しながら練習を行うことは、根管の拡大・形成、感染部の取り残しやす部位、穿孔を起こしやすい部位等をイメージとして視覚を通して十分に学習することができ、その結果実習試験の好成績が得られたことから歯内療法学実習教育効果の向上がみられたことが示唆された。

## 岡山県の介護施設における口腔ケアのアンケート調査

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野<sup>1</sup> 生体材料学分野<sup>2</sup>  
○難波尚子<sup>1</sup> 河田有祐<sup>1</sup> 伊東孝<sup>1</sup> 吉田靖弘<sup>2</sup> 前田博史<sup>1</sup> 鈴木一臣<sup>2</sup> 高柴正悟<sup>1</sup>

### A Questionnaire Survey of Oral Care in Nursing Homes in Okayama

<sup>1</sup>Department of Pathophysiology-Periodontal Science, <sup>2</sup>Department of Biomaterials,  
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences  
○Naoko NAMBA<sup>1</sup>, Yusuke KAWATA<sup>1</sup>, Takashi ITO<sup>1</sup>, Yasuhiro YOSHIDA<sup>2</sup>, Hiroshi MAEDA<sup>1</sup>,  
Kazuomi SUZUKI<sup>2</sup>, Shogo TAKASHIBA<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

近年の急速な高齢化の進展に伴い、要介護認定者が急増している。厚生労働省の「平成19年度介護保険事業状況報告」によると、平成20年3月末の要介護認定者は453万人と平成13年3月末の256万人から77%増となっている。このような状況の中で、要介護者の健康を維持する手段として口腔ケアが注目され、歯周病や齦蝕などの口腔疾患の予防だけでなく、誤嚥性肺炎などの疾患の予防・軽減効果も期待されている。

そこで、口腔ケアに対する介護現場のニーズを充足するような方法を探索および開発することを目的として、要介護者への口腔ケアの実態を把握するべく、岡山県内の介護施設を対象として口腔ケアに関するアンケート調査を実施し、集計・分析したので報告する。

#### 【方法】

岡山県内の典型的な介護施設を幅広く対象とし、病院・診療所は対象外とした。

1. 調査内容 口腔ケアの実施状況、口腔ケアの現状評価と今後の取り組み等
2. 調査対象 岡山県内の介護施設の施設長、ケアマネジャー  
同施設介護担当者
3. 調査時期 平成22年2月～3月
4. 調査方法 アンケート用紙の郵送による留置とFaxによる返送  
アンケート結果をもとに回答した2施設へのヒアリング

#### 【成績】

アンケートの回答率は、41.9%（介護施設13施設、介護担当者58名）であった。全ての介護施設が口腔ケアを実施しており、口腔ケアにかかる時間は3分未満が44.8%、5分未満が43.1%と短時間であり、負担感については8～9割のものが全く思わない、それほど思わないと回答した。介護施設の過半数が現在の口腔ケアでほぼ十分と回答したのに対し、介護担当者は不十分だと回答した者が過半数を占めた。一方、介護施設も介護担当者もほぼ全員が口腔ケアへの取り組みを充実すべきだと回答しているが、そのうちの過半数は現状維持が精一杯と回答した。実施上の問題点としては、介護職員の知識・教育に起因すると過半数が指摘しており、介護職員の人数や施設の設備、要介護者側の問題が続き、約2割のものが器具や薬品等に起因すると指摘した。

#### 【考察】

口腔ケアを負担と感じるものは少ないが、大半が取り組みを充実すべきだと回答する中で、過半数が現状維持が精一杯と回答していることから、口腔ケアの所要時間は5分未満であれば負担と感じにくい、それ以上は負担となることが考えられる。さらに口腔ケアを充実させるためには、介護職員の質や数に起因する問題を解決することが望まれるため、誰でも簡単に実施できて効果が得られる方法や材料等の開発が急務であると考えられる。今回は、施設の形態を考慮し、要介護度と残存歯数などの項目も交えながら、より一層口腔ケアの充実が望まれる現場へ絞ったアンケート調査を実施し、現場のニーズを具体化する予定である。

#### 【結論】

回答が得られた施設では口腔ケアが普及しているが、その実態に関しては改善の余地があるとの現場認識であった。

北海道大学病院歯科診療センターにおける造血幹細胞移植前の口腔感染源除去  
—感染根管治療への対応—

<sup>1</sup>北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯科保存学教室

<sup>2</sup>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

<sup>3</sup>北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 高齢者歯科学教室

川本千春<sup>1</sup>、福山麻衣<sup>1</sup>、小松久憲<sup>1</sup>、大木彩子<sup>1</sup>、田中 享<sup>1</sup>、田中佐織<sup>2</sup>、下地伸司<sup>2</sup>、阿部貴恵<sup>3</sup>、佐野英彦<sup>1</sup>

Treatment of Infected Root Canals as Oral Disinfection for Hematopoietic Stem Cell Transplantation  
in Hokkaido University Hospital Center for Dental Clinics

<sup>1</sup>Department of Restorative Dentistry, <sup>2</sup>Department of Periodontology and Endodontology, <sup>3</sup>Department of Gerodontology,

Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

KAWAMOTO Chiharu<sup>1</sup>, FUKUYAMA Mai<sup>1</sup>, KOMATSU Hisanori<sup>1</sup>, OHKI Saiko<sup>1</sup>, TANAKA Toru<sup>1</sup>,

TANAKA Saori<sup>2</sup>, SHIMOJI Shinji<sup>2</sup>, ABE Takae<sup>3</sup> and SANO Hidehiko<sup>1</sup>

【緒言】

近年、北海道大学病院歯科診療センターでは移植前の口腔感染源除去を目的に受診する患者が年々増加している。このような状況から北大病院歯科診療センターでは平成 18 年 3 月より口腔ケアチームを発足し移植前の口腔内の感染除去および移植前後の口腔ケアを行い移植医療における口腔管理体制を徹底した。今回は口腔ケアチーム発足後の口腔感染源除去の実態とくに造血幹細胞移植前患者における感染根管治療について調査、検討を行った。

【対象および方法】

口腔ケアチーム発足後から平成 22 年 3 月の 4 年間に造血幹細胞移植前の感染源除去を目的として北海道大学歯科診療センターを受診した患者を対象とした。感染源となりうる治療対象歯の検討に際しては、口腔内診査および X 線写真撮影（デンタル、オルソパントモグラフィ）を行い、各科で協議、決定した。初診時の根管治療歯の決定を明らかな根尖部病変を認める歯（以下+群）、根尖周囲の歯根膜腔の拡大を疑う歯（以下±群）、歯根膜腔が明瞭に観察できる歯を、さらに根管充填が過不足ないもの（以下-群）と根充材が根尖に達していない、いわゆる根充不足歯（以下 u 群）とに分類した。また、処置内容は抜歯と再根管治療に分類した。

【結果】

対象期間中に当センターを受診した造血幹細胞移植予定患者の総数は 132 名で、男性 80 名、女性 52 名であった。原疾患は悪性リンパ腫 37 名、急性骨髄性白血病 33 名、急性リンパ性白血病 19 名、骨髄異形性症候群 9 名、多発性骨髄腫 6 名、慢性骨髄性白血病 5 名、成人 T 細胞白血病 5 名、菌状息肉腫 4 名、再生不良性貧血 3 名、その他 11 名であった。移植別には同種骨髄移植 86 名、自家末梢血幹細胞移植 20 名、臍帯血移植 8 名、同種末梢血幹細胞移植 6 名、中止 8 名であった。根管治療歯の状況は（総数 520 本）±群が 180 歯（34.0%）と最も多く、次に+群が 149 歯（28.1%）、-群が 107 歯（20.2%）で u 群が 94 歯（17.7%）であった。根管治療歯の大部分（79.8%）が再治療の対象と判断された。再根管治療を必要とされた歯（総数 423 歯）に対する処置内容では抜歯が 68 歯（16.1%）、ヘミセクション 1 症例、トライセクション 1 症例で再根管治療歯は 167 歯（39.5%）、未処置歯が 186 歯（43.9%）であった。

【考察】

造血幹細胞移植患者に対する感染根管治療は口腔ケアチーム発足前より行われていたが肝腎を含めた移植患者は前回の平成 15 年の小松らによる報告より増加している。患者 1 名あたり平均 3.2 本の治療を必要としており、再根管治療は 1 名あたり 2.7 本である。今回、再治療が必要とされた歯のうち抜歯は 16.1%と平成 15 年の報告の 26.5%より減少したがこれは医科との連携がよりスムーズになり、治療期間の確保が可能になったためと考えられる。しかし、感染根管治療では根尖まで拡大し根尖の状況を把握する必要があるため多大な時間を要している。また、担当医の技術的な差もあることから十分な治療時間が必要と考え、医科担当部署との更なる連携が必要と思われる。今後さらにデータを集積して造血幹細胞移植患者の歯科治療をより良いものにしていきたい。

## 北海道大学病院歯科診療センターにおける造血幹細胞移植前の歯周感染除去

<sup>1</sup>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

<sup>2</sup>北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯科保存学教室

<sup>3</sup>北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 高齢者歯科学教室

田中佐織<sup>1</sup>、下地伸司<sup>1</sup>、齋藤奈々子<sup>1</sup>、川本千春<sup>2</sup>、阿部貴恵<sup>3</sup>、菅谷 勉<sup>1</sup>、川浪雅光<sup>1</sup>

### Periodontal therapies as Oral Disinfection for Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Hokkaido University Hospital Center for Dental Clinics

<sup>1</sup>Department of Periodontology and Endodontology, <sup>2</sup>Department of Restorative Dentistry, <sup>3</sup>Department of Gerodontology,  
Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

TANAKA Saori<sup>1</sup>, SHIMOJI Shinji<sup>1</sup>, SAITO Nanako<sup>1</sup>, KAWAMOTO Chiharu<sup>2</sup>, ABE Takae<sup>3</sup>, SUGAYA Tsutomu<sup>1</sup> and KAWANAMI Masamitsu<sup>1</sup>

**【緒言】**造血幹細胞移植療患者は、放射線治療や大量の化学療法による骨髄抑制と移植後の免疫抑制のために、造血幹細胞が生着するまでの期間に重症感染症を生じやすく、その予防のために移植治療前に口腔内の感染源となり得る歯に対する処置を行う必要がある。

北大病院歯科診療センターでは、2006年3月より造血幹細胞移植を含む臓器移植患者を対象として口腔内感染源除去を目的とした歯科治療、及び移植前後の口腔ケアを円滑に行うために口腔ケアチームを発足した。現在、口腔内感染源除去に関しては、保存・補綴・口腔外科の複数科の歯科医師が共同で治療計画を立案し、看護師・衛生士の協力の下、医科担当部署との連携をはかり、歯科治療を行っている。

今回、口腔ケアチーム発足後の口腔内感染源除去、とくに歯周治療の実態を調査した結果、興味ある知見を得たので報告する。

**【対象と方法】**口腔ケアチーム発足後の2006年4月から2010年3月の間に造血幹細胞移植前の口腔内精査および感染源除去を目的として、北海道大学病院血液内科から紹介により歯科診療センターを受診した患者を対象とした。また対照として、発足前の患者についても調べた。対象患者の性別、年齢、居住地、原疾患、造血幹細胞移植療法の種類、歯科治療可能期間、歯周治療の内容、抜歯本数とその原因などを分類して臨床的検討を加えた。

**【結果】**対象期間中に当センターを受診した患者総数は123名(男性74名、女性49名)で、年齢は～29歳15名、30～39歳21名、40～49歳33名、50～59歳35名、60～歳19名であった。原疾患は、悪性リンパ腫36名、急性骨髄性白血病33名、急性リンパ性白血病17名、骨髄異形成症候群9名、多発性骨髄腫5名、慢性骨髄性白血病4名、菌状息肉腫4名、その他15名であった。造血幹細胞移植療法は同種骨髄移植86名、自家末梢血幹細胞移植17名、同種末梢血幹細胞移植5名、臍帯血移植8名、中止7名であった。歯科治療可能期間は4～250日であった。残存歯は0～32歯(平均24.3歯)で、抜歯本数は148歯(平均1.2歯)で原因は歯周炎が44歯、根尖性歯周炎が9歯、齶蝕が61歯、智歯周囲炎が10歯、その他が24歯であった。歯周治療はprobing depthが1～3mm(1955歯)では、TBIのみが377歯、Scalingまでが1508歯、SRPまでが69歯、抜歯が2歯、4～6mm(709歯)では、TBIのみが63歯、Scalingまでが429歯、SRPまでが187歯、抜歯が23歯、7～mm(48歯)では、TBIのみが1歯、Scalingまでが13歯、SRPまでが13歯、抜歯が19歯であった。一方、チーム発足前は患者総数32名(男性13名、女性19名)、抜歯本数は64歯(平均2.0歯)で原因は慢性歯周炎が19歯、根尖性歯周炎が9歯、齶蝕が11歯、智歯周囲炎が6歯、その他が19歯であった。

歯周治療を行った患者で、造血幹細胞移植後の骨髄抑制期間中に重篤な感染症を生じた患者はいなかった。

**【考察】**以前は歯石を取り残す可能性が高いとされる7mm以上のprobing depthを有する単根歯や分岐部病変を有するprobing depth 5mm以上の大白歯は抜歯が望ましいと考えていた。しかし、今回の調査ではその様な歯でもHygieneの確立、徹底したScaling、SRPなどの歯周治療を行うことにより、感染源とならずに保存可能な歯も多いことが明らかになった。また医科との連携により、治療期間の確保が可能となり、歯周基本治療後の再評価により保存、抜歯を判断できる症例も増えたため、抜歯数が減少したと考えられる。さらに治療期間が十分にあれば、仮補綴やGVHD発症前に行うことが望ましいと考えられる最終補綴も早期に行うことができる。

歯科治療や口腔ケアが円滑に行われることで患者のQOLは向上すると考えられる。今後はさらにデータを集積し、造血幹細胞移植療患者に対して行う効果的で安全な歯科治療方針の確立を目指したい。

### 妊婦の歯周病に対する活性化次亜塩素酸電解水の効果

○野田 隆二<sup>1</sup> 佐野 祥平<sup>1</sup> 今井 昭彦  
野田歯科医院<sup>1</sup> 今井歯科医院

#### Pregnancy periodontal diseases by using Hypochlorous acid

Noda Dental Clinic<sup>1</sup> Imai Dental Clinic

Takaji Noda<sup>1</sup> Syohei Sano<sup>1</sup> Akihiko Imai

【緒言】 妊娠時において、歯周病が起こることは知られている。これは、妊娠に伴い分泌されるホルモンであるエストラゲンやプロゲステインにより歯周病原菌である *P. intermedia* や *P. nigrescens* が増加するためである。また、妊娠時の歯周病は低体重児出産や早産に影響する事も知られている。しかしながら、妊産婦の歯周治療はつわりなどのために歯みがきによる効果的な歯口清掃も困難なため、有効な歯周治療を行うことも出来ないことも多い。近年、活性化次亜塩素酸電解機能水(パーフェクトペリオ:以下PPW)が歯周病原菌の殺菌に有効であることが報告されている。これは、次亜塩素酸の殺菌効果によるもので薬剤と異なり胎児への影響が少なく安全に口腔内の歯周病原菌を殺菌することから妊婦の歯周病の改善に有効と思われる。そこで演者らは、妊婦の歯周病に対してPPWが有効であるかどうか知るために本研究を行った。また、PPWには、う蝕原因菌への殺菌作用もあるのでプラークの付着抑制効果についても観察した。

【対象および方法】 対象は、演者らが行っている妊産婦健診において平成20年7月から平成21年8月の期間中に受診を受けた107名のうち歯周病の症状がみられた62名である。この62名に対し十分な説明の後PPWによる歯周疾患治療の同意をえた31名を実験群とし、その他の31名を対象群とした。まず両群に対し4点法による歯周ポケットの測定とプラークスコアの測定を行った後、実験群に対してはPPWを用いて歯周ポケット内の超音波洗浄を行った。また対象群には実験群と同様の術式で蒸留水にて超音波洗浄をおこなった。その後、1週間後の歯周ポケットおよびプラークスコアを測定し両群の結果からPPWと蒸留水の効果について比較を行った。

【結果】 歯周ポケットの1週間後の変化は、対象群では平均4.03±0.81mmから3.97±0.82mmと若干の減少がみられたが、実験群で平均4.07±0.74mmから2.70±0.54mmと大きく減少しており実験の前後での有意な差がみられた(P<0.001)。また、プラークの付着状況でも対象群のPCR値が74%から64%に減少していたのに対し実験群では76.5%から36%と約半減し著しい効果が認められた。(P<0.001)

【考察】 これまで、妊婦の歯周病に対しては、そのメカニズムは解明されたものの、胎児への影響を考慮し妊婦に対する積極的な治療は避けられてきた。そこで今回演者らは、次亜塩素酸の殺菌効果に着目してPPWを用いて妊婦の歯周病患者に対してポケット内の超音波洗浄を行った。その結果、蒸留水を用いた対象群と比較すると歯周ポケットの減少が確認されたことからPPWによる歯周ポケット内の超音波洗浄により歯周病原菌が減少し炎症症状が改善していくことが示唆された。前述の通り、PPWには生体毒性が少なく、また施術は無麻酔下で行えるため妊婦にも安全に効果的な治療法であると思われた。したがってPPWによる歯周ポケット内の超音波洗浄は妊婦の歯周病に対する現時点での有効な治療法であると示唆された。さらに、プラークの付着状況も大幅に減少していたことからPPWが*S. mutans*などのう蝕原因菌に対しての効果があることが明らかになった。妊娠中は、つわりや食習慣の変化、唾液の分泌抑制などの影響で口腔内が不潔になりやすく、う蝕に対する予防も必要になるが、つわりにより歯口清掃が出来ない妊婦も多くみられることからPPWの使用により、プラークの付着減少などの抑制効果があることが認められた。今回は、協力が得られた妊婦が少なかったが、今後継続して本研究を行いPPWによる妊婦の歯周病の改善効果およびう蝕原因菌の活動の抑制効果について検討していきたい。

【文献】 久我原萌子、大橋一友：妊婦の歯周病と早産との関連についての文献検討 川崎医療福祉大学 Vo18 No1 2008 227-237. 竹内康雄、坂東由記子ほか：次亜塩素酸電解水の抗菌作用と細胞毒性の検討 第130回日本歯科保存学会学術大会抄録集、49ページ、2009. 小柳岳大、マティン カイルールほか：次亜塩素酸電解水及び洗口剤の短時間作用によるう蝕病原菌に及ぼす効果 第130回日本歯科保存学会学術大会抄録集、50ページ 2009. 田上順次、マティン カイルール、小柳岳大ほか：う蝕治療・予防におけるパーフェクトペリオ応用の可能性 日本歯科評論 (Vol170(4)/通刊810号) 4月号 2010.

## シャープニングによるスケーラーの形態変化についての考察

日本歯科大学新潟病院 総合診療科  
○横山剛之, 塩沢恵美, 馬場玲子, 江面 晃

Consideration about Morphological of Scaler with Sharpning  
Niigata Hospital, Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University  
YOKOYAMA Goshi, SHIOZAWA Megumi, BABA Reiko, EZURA Akira

### 【研究目的】

スケーラーのシャープニングは刃部を研磨することで再度、刃としての切れ味を再生させる作業であるが、この際に研磨により少しずつ刃部の形態は変化していく。これまでの研究では、シャープニング後の形態変化を圧痕をつけて計測したり、電動シャープナーでの形態変化をノギスを使用して計測したものが報告されている。今回、シャープニング後の刃部の形態変化をマイクロ CT を用いて観察したので報告する。

### 【方法】

Hu-Friendly 社製・グレーシーキュレット 5/6 (以下スケーラー) を使用し、衛生士によるアーカンサスストーンとシャープニングオイルでのシャープニングを行ったスケーラー 4 本 (DH1・2・3・4) と、Nordent 社製・電動式スケーラー研磨器インストリニュー (以下インストリニュー) でのシャープニングを行ったスケーラー 2 本 (I1・2) の計 6 本を対象とした。衛生士によるシャープニングには特に方法の制約を設けず、各個人が平素行っている手法とした。なお、シャープニングを行った衛生士は全員右利きである。インストリニューでのシャープニングは共同演者 2 名が行った。シャープニング後のスケーラーは実際に診療で使用し、その後再度シャープニングするという条件とした。

新品のスケーラーを coltène whaledent 社製・シリコン印象材アフィニスで印象採得し、その陰影をマイクロ CT で撮影した画像をコントロールとする。シャープニング後のスケーラーを同様に印象採得し、その陰影を撮影する。マイクロ CT 画像を 3 次元解析し、形態変化を観察した。

なお、マイクロ CT 画像の撮影は島津製作所製 SMX-100T-SV を用い撮影した。

### 【結果】

① DH1・2・3・4 では刃部の形態は徐々に直線傾向が強くなり、本来のゆるやかなカーブは早期に失われてしまっていた。

② 今回、この傾向は奇数番手 (5) よりも偶数番 (6) の方が顕著にみられた。

③ 衛生士によるシャープニングの場合、手技による影響が大きいと考えられた。

### 【考察】

キュレットタイプのスケーラーは、シャープニング時に刃部の形態が直線的に研磨される傾向があり、徐々にシッケルタイプスケーラーの形態に近くづいていくことが認められた。また、奇数番手より偶数番手の方が傾向が顕著であったことから術者の利き手などの影響もあり、偶数番手の方がよりカーブを描きながらのシャープニングが難しいのではないかと考えた。

本来の形態を意識したシャープニングを行うことでスケーラー自体の消耗を軽減させることができると思われる。刃部の形態変化を少なくできれば、歯周治療の精度の向上に役立つものと考えられる。