

## ブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略

### — 表層下脱灰病巣体部における唾液由来有機質のラマン分析とブリーチングによる変化 —

神奈川歯科大学 口腔治療学講座 保存修復学分野<sup>1</sup>, 生体機能学講座 生化学・分子生物学分野<sup>2</sup>  
○飯塚純子<sup>1</sup>, 向井義晴<sup>1</sup>, 谷口紀江<sup>2</sup>, 長谷川晴彦<sup>1</sup>, 倉持江里香<sup>1</sup>, 富山 潔<sup>1</sup>, 椎谷 亨<sup>1</sup>, 高垣裕子<sup>2</sup>, 寺中敏夫<sup>1</sup>

### Remineralization strategy for enamel subsurface lesions utilizing bleaching therapy

#### — Micro-Raman spectroscopic analysis of salivary components in the body of enamel subsurface lesions before and after bleaching —

Department of Oral Medicine, Division of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental College<sup>1</sup>

Department of Functional Biology Division of Biochemistry and Molecular Biology, Kanagawa Dental College<sup>2</sup>

○IIZUKA Junko<sup>1</sup>, MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>, TANIGUCHI Motoe<sup>2</sup>, HASEGAWA Haruhiko<sup>1</sup>, KURAMOUCHI Erika<sup>1</sup>,  
TOMIYAMA Kiyoshi<sup>1</sup>, SHIYA Toru<sup>1</sup>, TAKAGAKI Yuko<sup>2</sup>, TERANAKA Toshio<sup>1</sup>

【研究目的】エナメル質表層下脱灰病巣を形成している表層にはサブミクロンレベルの孔や裂溝が存在し、病巣体部に侵入したタンパク質等の有機物が再石灰化の進行を妨げている可能性が指摘されている。我々はエナメル質表層下脱灰病巣に侵入している有機物を分解し効果的な再石灰化を誘導するための手段の一つとしてオフィスブリーチング材の有効性を検討してきた。136回本学術大会においては、表層下脱灰病巣には選択的に唾液タンパク質が侵入・結合し、35%過酸化水素を主材とするオフィスブリーチング材を作用させると、それら有機質と無機質の結合が解離されることを報告した。そこで本研究では Transversal Microradiography (TMR) と顕微ラマン分光法を用いて、侵入した唾液由来の有機質と表層下脱灰病巣を構成する無機質との関係を解析するとともに、ブリーチングによる病巣内有機質の除去効果についても評価・検討した。

【材料および方法】ウシ下顎中切歯よりエナメル質片を直径5mmの円柱状に切り出し平坦な面を作製後、耐水研磨紙2,000番で研磨を行った。耐酸性バーニッシュにて試験面を2×3mmに規定後、脱灰緩衝液(0.1M lactic acid, 8% methylcellulose, pH 4.6)に37℃で10日間浸漬し表層下脱灰病巣を作製した。試料は以下に示す3群に分けた。1) control群: エナメル質表層下脱灰病巣。2) saliva群: control群と同様に病巣を作製した後、氷冷下にて採取した自己安静時唾液(0.02% NaN<sub>3</sub>添加)に37℃で5日間浸漬した。唾液は1日1回交換した。3) bleaching群: 同様に病巣を作製後、安静時唾液に浸漬した。その後、HiLite(松風)を3回を1setとし2set処理した。TMRによる分析: 基準病巣となるcontrol群のエナメル質片から厚さ150μmの薄片を切り出し、TMR撮影(PW3830, 管電圧25kV, 管電流15mA, 照射時間20分)を行い、分析用ソフト(Inspektor)を用いてミネラルプロファイルを作成した。ラマン分光光度計による分析: 各処理後、表面に付着した唾液やブリーチングにより変性したタンパク質等を取り除くため脱イオン水にて洗浄、自然乾燥し、顕微ラマン分光光度計(Nicolet Almega XR, Thermo Fisher scientific)を用いて測定した。測定条件は励起波長780nm, 露光時間10秒, 露光回数10回, 出力レベル10mW, アパーチャ100μmスリット, グレーディング360lines/mmとした。計測部位は表層部および、病巣体部(エナメル質表面より60μm付近, 80μm付近)とした。

【結果】ミネラルプロファイルの結果から表層65%および病巣体部30%のミネラル密度を有する典型的な表層下脱灰病巣が作製されたことが確認された。ラマン分光分析から計測部位により検出量は異なるものの、有機質由来と考えられるamide I, amide IIIおよびCH<sub>2</sub>wagのピークは、control群, bleaching群と比較し、saliva群で強く検出された。また3群全ての計測部位においてPO<sub>4</sub><sup>3-</sup>のラマン散乱ピークであるν<sub>1</sub>, ν<sub>2</sub>, ν<sub>4</sub>のピークが検出された。control群とbleaching群では、これらはほぼ同じ強度であった。またCO<sub>3</sub><sup>2-</sup>のピークも同様に検出された。

【考察】特に表層において、有機質の指標であるamide I, amide IIIおよびCH<sub>2</sub>wagがcontrol群, bleaching群と比較しsaliva群で有意に高く検出されたことから、唾液に浸漬することで脱灰病巣表層中に唾液由来の有機質が侵入し、オフィスブリーチ処理を施すことにより、有機質とミネラルの結合が解離され、脱イオン水で容易に除去されることが示唆された。また病巣体部60μmでは3群間における有機質指標の検出値に有意差は認められなかったが、80μmではcontrol群, bleaching群と比較しsaliva群で有意に高く検出された。これはsaliva群の表層内および80μm付近のミネラル密度の高い部分には多くの唾液タンパク質が吸着している一方、60μm付近では吸着するミネラル密度が約30%と低いと、吸着量が相対的に少なかったことに由来すると考えられた。

【結論】唾液由来の有機質は表層下脱灰病巣深部まで取り込んでおり、その量は病巣を構成している無機質の量に依存する可能性が示唆された。また、オフィスブリーチ材を適用することにより深部にまで取り込まれた有機質とミネラルの結合が解離され、容易に溶出されることが示唆されたことから、本方法をブラウンスポット等の着色エナメル質表層下脱灰病巣面に適用した場合には、審美性の回復も兼ねた効果的な再石灰化誘導手段となるものと考えられた。

アパタイト光触媒を利用した歯の漂白  
—第2報 過炭酸ナトリウム/アパタイト光触媒系を利用した漂白—

<sup>1</sup>朝日大学歯学部歯冠修復学分野

<sup>2</sup>朝日大学歯学部歯科理工学分野

○野田陽子<sup>1</sup>, 亀水秀男<sup>2</sup>, 玄 太裕<sup>1</sup>, 藤井和夫<sup>1</sup>, 駒田裕子<sup>2</sup>, 小竹宏朋<sup>1</sup>, 堀田正人<sup>1</sup>

**Bleaching with apatite photocatalyst**

**- Part 2 Bleaching using Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·1.5H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/apatite photocatalyst system -**

<sup>1</sup> Department of Operative Dentistry, Asahi University School of Dentistry

<sup>2</sup> Department of Dental Material Science, Asahi University School of Dentistry

○NODA Yoko<sup>1</sup>, KAMEMIZU Hideo<sup>2</sup>, GEN Taiyu<sup>1</sup>, FUJII Kazuo<sup>1</sup>, KOMADA Yuko<sup>2</sup>

KOTAKE Hiroto<sup>1</sup>, HOTTA Masato<sup>1</sup>

**【研究目的】**

新規アパタイト光触媒は、二酸化チタン同様、照射下で活性酸素を発生し、強い酸化作用を示す。本研究では、アパタイト光触媒の応用展開として、歯の漂白への適用について検討してきた。通常、歯の漂白、特にオフィスブリーチングでは、過酸化水素水が利用されており、二酸化チタンの併用によって低濃度化が図られている。前回、新規アパタイト光触媒も二酸化チタン同様、漂白助剤として良好な漂白効果が得られた。今回は、漂白剤/漂白助剤として過炭酸ナトリウム/アパタイト光触媒系の新規漂白剤を試作し、着色モデルを用いて、漂白剤としての利用可能性について検討した。

**【材料および方法】**

**1. アパタイト光触媒の調整:** アパタイト光触媒は、前回同様 La-OAP (ランタンオキシアパタイト) を使用した。La-OAP は、ピロリン酸カルシウム、酸化ランタン、炭酸カルシウムを湿式で混合し、電気炉にて 1,400°C、大気下で 4 時間加熱合成した。合成後、メノウ乳鉢で粉碎し、200 メッシュのふるいにかけて粒径を整え、アパタイト光触媒の粉末試料として使用した。

**2. アパタイト焼結体着色モデルの作製:** 実験には、市販の HAP 焼結体 APP-100 (10×10×2mm, 相対密度 99%以上, PENTAX) を使用した。この HAP 焼結体を使用して、着色モデルを作製した。すなわち、HAP 焼結体をメチレンブルー (MB) 水溶液に一定期間浸漬して着色させた。

**3. 新規漂白剤 (過炭酸ナトリウム/アパタイト光触媒) の試作と色素分解能実験:** 市販の過炭酸ナトリウム粉末 50wt% と合成アパタイト光触媒粉末 50wt% をメノウ乳鉢で混合し、新規漂白剤として調整した。過炭酸ナトリウム漂白剤の色素分解能を検討するため、粉末を MB 水溶液 (10ppm) へ投入し、各経過時間での濃度を測定した。

**4. 漂白方法と測色:** 調整した漂白剤粉末 (0.5g) と蒸留水 (0.25ml) とをラバーカップ内で混合して泥状で調整して使用した。着色した HAP 焼結体表面に泥状の漂白剤を適量塗布し、直ちにハロゲンランプ (PLH-75, PHILIPS) により照射した。焼結体と光源との距離は 5 mm に固定し、垂直に 1 分間照射した。焼結体表面の色調変化は、簡易測色計 Shade Eye NCC (松風) により測色した。色彩表示には CIE 1976 L\*a\*b\* 表色系を用い、漂白の程度は色差 ( $\Delta E$ ) と L\*, b\* 値で評価した。なお、漂白処理は 3 回行い、統計処理は、一元配置分散分析と多重比較検定 (Turkey-Kramer) で行った。

**【結果と考察】**

漂白回数が多いほど、L\* 値、b\* 値とも増加し、漂白の程度が大きくなった。3 回処理後は、着色前の L\* 値と b\* 値に近づき、また、漂白前後の色差も大きくなった。

過炭酸ナトリウムは、MB 水溶液に入れると過酸化水素が発生し、時間の経過とともに色素分解されて透明になる。練和直後に塗布して照射したものに比べて 10 分放置した後に塗布した方が漂白効果が高かった。新規漂白剤は、蒸留水と練和ししばらく放置した後に、塗布し照射した方が良いと思われる。

過炭酸ナトリウムの量が多いほど、漂白効果の高い傾向がみられるが、低濃度の過炭酸ナトリウムでも、良好な漂白効果が得られた。焼結体は 30 分間処理により、はじめて表面硬さが低下する傾向が見られた。よって、処理回数が多くなっても、硬さ等への影響は少ないと思われる。今回、アパタイト焼結体による着色モデルを使用して漂白効果を検討したが、着色歯に対しても同様な結果が期待できると思われる。

## アパタイト光触媒(La-OAP)/HAP 複合体の特性

<sup>1</sup>朝日大学歯学部歯科理工学分野

<sup>2</sup>朝日大学歯学部歯冠修復学分野

○駒田裕子<sup>1</sup>, 亀水秀男<sup>1</sup>, 野田陽子<sup>2</sup>, 堀田正人<sup>2</sup>

### Characteristics of HAP / apatite photocatalyst(La-OAP) complex

<sup>1</sup>Department of Dental Material Science, Asahi University School of Dentistry

<sup>2</sup>Department of Operative Dentistry, Asahi University School of Dentistry

○KOMADA Yuko<sup>1</sup>, KAMEMIZU Hideo<sup>1</sup>, NODA Yoko<sup>2</sup>, HOTTA Masato<sup>2</sup>

#### 【目的】

新規アパタイト光触媒 (La-OAP, ランタンオキシアパタイト) は, 二酸化チタン同様, 光照射下で活性酸素を発生し, 強い酸化作用を示す. 前回, アパタイト光触媒の色素分解実験 (ハロゲンランプ光源) を行った結果, 高い分解能を示すことがわかった. また, 発育阻止円による抗菌性試験においても良好な結果が示唆された. しかしながら, オキシアパタイト (OAP) は, ハイドロキシアパタイト (HAP) のような高い吸着性を示さず, あまり細菌や有害な有機化合物を吸着しないことがわかっている. そこで, 本研究では, 高い吸着性と光触媒能 (可視光応答型) を有したアパタイトセラミックスの開発を目的として, アパタイト光触媒と吸着性の高い HAP との複合体を作製し, その特性 (吸着性, 色素分解能, 抗菌性等) について検討した.

#### 【材料および方法】

**1. アパタイト光触媒の合成と調整:** アパタイト光触媒は, La-OAP (ランタンオキシアパタイト) を使用した. La-OAP は, 前回と同様の方法で合成した. 合成後, メノウ乳鉢で粉碎し, 200 メッシュのふるいにかけて粒径を整え, アパタイト光触媒の粉末試料として使用した. **2. アパタイト光触媒/HAP 複合体の作製:** アパタイト光触媒粉末と HAP 粉末をそれぞれ 25/75, 50/50, 75/25 (重量比) の割合で混合し, 3 種類の混合物を調整した. その後, 粉体または圧粉体を各種温度 (300~1,400°C) で大気中, 1 時間加熱処理して複合体試料を作製した. なお, HAP は湿式法にて合成したものを使用した. **3. 複合体の色素吸着能と色素分解能:** 複合体の可視光に対する光触媒能を検討するために白色光 (LED 光源) による色素分解実験を行った. すなわち, 複合体試料 (0.25g) を 10ml メチレンブルー水溶液 (MB 水溶液, 濃度: 10ppm) の入ったガラス瓶に投入した後, LED 光源により光照射を行った. 各時間 (10~60 分間) 照射後, MB 水溶液の濃度を測定し, 照射時間との関係を調べた. なお, 濃度測定には, 紫外可視分光光度計 (UV-1800) を用いた. 各照射時間に対して 3 回測定し, 各々の濃度の平均値を求めた. 有意差検定は, 一元配置分散分析と多重比較検定により行った. **4. 複合体の拡散反射スペクトル:** 作製した複合体の拡散反射スペクトルを求めるために, 紫外可視近赤外分光光度計 (UV-3600) に積分球付属装置を装着して測定した. なお, 標準試料として硫酸バリウムを使用した. **5. 複合体の抗菌性:** 複合体粉末を浸透させたフィルター (5 mm φ) について細菌発育阻止円試験を行った. La-OAP にそれぞれ蒸留水を加えて 0.25g/ml のスラリー液を調整し, フィルターに 10 μl 滴下して浸透させてから寒天培地に裏返しに設置した. 設置後上下から光照射を 60 分間行い, 4~6 時間培養した. 培養後, 試料の周囲に生じる細菌発育阻止円の有無を観察した.

#### 【結果と考察】

複合体は, LED 光源の可視光 (400~750nm, ピーク波長 440nm) に十分応答していることがわかった. 複合体試料の光照射下での色素分解能に関して, 混合比や処理温度による影響が見られた. 重量比が 25/75 の場合, 処理温度が 500~1,100°C の複合体試料では, 50~60 分間光照射で MB 水溶液はほぼ脱色され, 透明になった. 1,200~1,400°C の複合体試料では, 500~1100°C の場合に比べて色素分解能が低かった. 吸着能に関して, 処理温度 500~1,400°C の複合体試料では, どの処理温度間でも有意差はみられず, MB 水溶液濃度は 24 時間後, 5.7~6.3ppm に低下した. また, 重量比が 50/50, 75/25 の場合, La-OAP の割合が多いことから, 色素分解能は高く, 短時間で脱色されたが, 吸着能は低かった. 適切な混合比と適切な処理温度で, 吸着能および色素分解能の高いアパタイト光触媒/HAP 複合体を作製することが可能であることがわかった.

## 光干渉断層装置を用いた歯質の観察

### ～ホワイトニング前後の歯質の変化について 第2報～

昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科学部門<sup>1</sup>, 株式会社吉田製作所<sup>2</sup>  
昭和大学歯学部歯科保存学講座歯科理工学部門<sup>3</sup>, 昭和大学歯学部歯科放射線学教室<sup>4</sup>  
○松尾涼子<sup>1</sup>, 小林幹宏<sup>1</sup>, 千田真弓<sup>2</sup>, 鹿熊秀雄<sup>2</sup>, 宮崎隆<sup>3</sup>, 岡野友宏<sup>4</sup>, 真鍋厚史<sup>1</sup>

### Teeth surface observation after bleaching by optical coherence tomography ~the second part~

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology,  
Showa University School of Dentistry<sup>1</sup>  
The Yoshida Dental MFG.CO., LTD<sup>2</sup>

Department of Conservative Dentistry, Division of Oral Biomaterials and Technology,  
Showa University School of Dentistry<sup>3</sup>

Department of Radiology, Showa University School of Dentistry<sup>4</sup>

○MATSUO Ryoko<sup>1</sup>, KOBAYASHI Mikihiro<sup>1</sup>, CHIDA Mayumi<sup>2</sup>, KAKUMA Hideo<sup>2</sup>,  
MIYAZAKI Takashi<sup>3</sup>, OKANO Tomohiro<sup>4</sup>, MANABE Atsufumi<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

近年、白くて美しい歯は人々の QOL の向上には欠かせない要因となり、審美歯科に対する関心の高まりとともにホワイトニングを希望する患者も増加してきている。ホワイトニング剤の歯質に対する影響はいまだ不明な点が多く、ホワイトニング剤によりエナメル質を保護するペリクルは除去され、エナメル質表面になんらかの影響を及ぼしていると考えられている。また、漂白処置後に問題となる知覚過敏の発生や色の後戻りなどの問題を回避するために、漂白処置後は適切な歯面処理材を用いて処置を行うことが重要であると考えられる。前回、光干渉断層装置 (Swept-Source Optical Coherence Tomography; 以下 SS-OCT) を用いて、オフィスホワイトニング処置前後の歯質の変化を経時的に観察し、オフィスホワイトニング処置後は処置前に比較して、エナメル質表層の光反射強度に増加傾向が示されたことから、本研究では SS-OCT で得られる光反射強度を数値化し、オフィスホワイトニング処置前後による歯質の変化を検討した。

#### 【材料および方法】

試料は歯冠部唇側面に齶蝕がなく修復充填物や亀裂のない変色ヒト抜去歯を合計 5 本用いた。なお、本研究で使用した抜去歯は本学歯学部医の倫理委員会の承認を得たものである (承認番号 2011-035 号)。抜去後すみやかに歯石等の沈着物をスケーラーにて除去し、歯面清掃後 ShadeEyeNCC (松風) にて測色し、吉田製作所製試作 SS-OCT を用いてホワイトニング処置前の試験面を唇側から撮影した。オフィスホワイトニング剤として 35% 過酸化水素を主成分とする Shofu Hi-lite (松風) を使用し、健全エナメル質唇面に設定した試験面を使用説明書に示されている術式に準じオフィスホワイトニング操作を行った。ホワイトニング操作は 1set を 3 回のホワイトニング操作とし、5set のホワイトニング処置、すなわち合計で 15 回のホワイトニング処置を行った。また、それぞれのホワイトニング処置の間に 20 分間水中保管の時間を設けた。ホワイトニング処置後、ShadeEyeNCC にて試料の測色と SS-OCT を用いてホワイトニング処置前と同部位の試料撮影を行った。

#### 【結果および考察】

SS-OCT を用いたホワイトニング処置前後のエナメル質の観察において、ホワイトニング処置後の光反射強度は強くなる傾向を示し、エナメル質内部では光透過性が亢進する傾向が得られた。また、ホワイトニング処置前後で得られる反射強度スペクトルには明らかな違いが得られた。すなわち、オフィスホワイトニング処置後、光反射強度はエナメル質表層から深部にかけて急激に現象する傾向を示した。エナメル質、象牙質ではオフィスホワイトニング剤に含まれる過酸化水素から発生したフリーラジカルによって  $\beta$ -カロテンなどの有機着色物質が分解され、光透過性が亢進したことで反射強度が減少し、SS-OCT 受光部で捉える光が弱くなったと考えられた。また、歯質内部で光浸透性が更新し、エナメル質表層では反射強度が強くなることによって、反射強度スペクトルに明らかな違いがでると示唆された。

## 骨粗鬆症モデル動物、卵巣摘出ラットにおける炭酸ガスレーザーの組織学的研究

奥羽大学 歯学部 歯科保存学講座 保存修復学分野

○和田 康弘、門倉 弘志、西村 翼、渡辺 崇、山崎 崇秀、菊井 徹哉、横瀬 敏志

Effects CO2 laser irradiation in ovariectomy Rat (osteoporosis model animal)

Division of Operative Dentistry Department of Conservative Dentistry Ohu university school of dentistry

○Yasuhiro Wada, Hiroshi Kadokura, Tubasa Nishimura, Takashi Waktanabe, Takahide Yamazaki, Tetsuya Kikui, Satoshi Yokose

【目的】 我々は既に炭酸ガスレーザーを Low-Level Laser Therapy (LLLT) 条件で照射することにより骨の形成が促進することを報告している。骨組織は、骨形成と骨吸収による骨リモデリングが、ほぼ等しく骨量の変化が認められないために恒常性が維持されている。しかし、骨粗鬆症では骨吸収の増加に対して骨形成量が変わらないことによる骨量減少や骨形成の低下に対して骨吸収を抑制するメカニズムに不均衡が生じた結果、総じて骨量の低下を認める病態である。高齢社会を迎え、骨の代謝疾患である骨粗鬆症患者における歯科治療が高頻度で行われている。しかし、骨粗鬆症では歯の支持となる歯槽骨の骨量の変化が起こるため、歯科の治療リスクも考慮しなければならない。そこで炭酸ガスレーザー照射を応用し歯槽骨の骨形成が可能であれば、骨粗鬆症患者の QOL 向上が期待できる。骨粗鬆症の原因としてはホルモン、サイトカインの役割が明らかにされてきている。近年、骨の過成長を伴う sclerosteosis と van Buchem 症候群の遺伝疾患から骨細胞による分泌蛋白 sclerostin の遺伝子 SOST の欠失変異が骨の形成に関与していることが解ってきた。また骨細胞はメカノセンサーとして機能し骨形成、骨吸収に関与しているのではとの報告がある。この sclerostin は Wnt のアンタゴニストとして働き  $\beta$ -catenin の核内移行を阻害して骨形成の働きを抑制することが知られている。このように近年、骨細胞の働きが注目されてきているが、骨粗鬆症と骨細胞の関係についての研究は少なく、その詳細は不明な点が多い、そこで今回我々は卵巣摘出術を行った骨粗鬆症モデル実験ラットに炭酸ガスレーザーを照射した場合の骨細胞と骨形成について研究を行った。

【方法】 実験動物には 12 週齢 雌 SD ラットを用いた。骨粗鬆症モデル動物の作製には、奥羽大学動物実験の規定に従い、卵巣摘出術を行った。術後 4 週間経過したラットを用い、骨量の低下を確認するために二重 X 線吸収測定法 (DEXA) を用いて大腿骨の骨塩量測定を行った。レーザー照射実験には以下の 2 群を用いた。卵巣摘出を行った OVX 群にレーザー照射を行った OVX+レーザー群、擬似手術を行った Sham 群にレーザー照射を行った Sham+レーザー群を用いた。それぞれの群を軟エックス線やヘマトキシリン染色にて新生骨量の組織学的解析、骨細胞についての骨形態計測を用いた解析を行った。また免疫染色を行い骨細胞における sclerostin 蛋白発現についても比較検討を行った。

【結果】 OVX 群では骨塩量の減少が確認された。一方 Sham 群では骨塩量の著明な変化は認められなかった。LLLT 条件のレーザー照射実験では OVX+レーザー群に顕著な骨造成は認められなかった。Sham+レーザー群では新生骨の増生が認められた。OVX+レーザー群と Sham+レーザー群の骨細胞の形態に差は認めなかった。sclerostin 蛋白発現にも両者における著明な差は認められなかった。

【考察】 卵巣摘出術を行いエストロゲン減少に伴う、骨粗鬆症モデルラットでは、レーザーによる著明な骨造成を今回は確認出来なかった。骨細胞の形態や分泌蛋白の sclerostin の発現において有意差は認めなかった。しかしながら、新生骨形成においては OVX+レーザー群では骨量の増加が抑制されている傾向が示唆された。

上顎臼歯抜歯によるラット海馬歯状回での一酸化窒素産生動態  
-*in vivo* brain micro dialysis 法による検討-

日本大学松戸歯学部 小児歯科学講座  
○塚本亮一、荒井清司、前田隆秀

Upper molar extraction induced nitric oxide production in the rat hippocampal Dentate gyrus  
- *in vivo* brain microdialysis study -  
Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Department of Pediatric dentistry  
○Ryoichi TSUKAMOTO, Kiyoshi ARAI, Takahide MAEDA

**【諸言】**一酸化窒素 (Nitric oxide, NO) は一酸化窒素合成酵素 (Nitric oxide synthase, NOS) を介して産生されるフリーラジカルで、生体の恒常性に重要な役割を担っている。口腔内の様々な病態痛により、痛覚伝導路第一次中継核で、シナプス可塑性変化である長期増強 (LTP, Long term potential) 様の現象が認められるが、この LTP 発現にはグルタミン酸受容体の可塑性変化や NO が関与することが明らかにされている。情動記憶や学習に関与する海馬には NO 産生細胞の存在が確認されているが、NO の過剰な産生は細胞障害性に働く一方、短期記憶形成時に起こる LTP 現象に関与しているとの報告がある。本研究では、口腔内に関わる疼痛が嫌悪・不安等の負の感情として記憶されると考えられる海馬での NO 産生動態を明らかにすることを目的とし、上顎臼歯抜歯が海馬歯状回内における NO 産生反応を *in vivo* brain microdialysis 法によりリアルタイムで測定を行った。

**【材料と方法】**実験動物として、Sprague-Dawley 系雄性ラット8週齢 (21匹) を使用した。ラットを抱水クロラル (300 mg / kg) による全身麻酔後、定位脳手術装置に固定し、頭部皮膚を切開剥離した。頭蓋骨の冠状縫合および矢状縫合の融合部 (bregma) を基準点とし、その部位から後方3.8 mm、右側方2.0 mm、脳表層より深さ2.5 mmの位置に歯科用エンジンにて穴をあけ、右側海馬歯状回 (HDG) にガイドカニューレ (長さ13 cm) を挿入後、歯科用セメント (Fuji II LC EM, GC社製) およびアンカービスにて固定した。術後1週間の回復期間を設定し、実験当日にHDGに埋入したガイドカニューレに透析プローブ (Eicom社製) を挿入し、マイクロシリンジポンプ (EP-60; Eicom社製) に接続された人工脳脊髄液 Hank's balanced solution (NaCl, 8.0 g/L; KCl, 0.4 g/L; glucose, 1.0 g/L; KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>, 6 mg/L; Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>, 47.0 mg/L, pH 6.9) を流速 2.0 μL / min にて灌流させ、10分毎に還流液中に回収されるNO最終代謝産物 (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>およびNO<sub>3</sub><sup>-</sup>) を連続的に測定した。灌流開始3時間でNO遊離量が安定したことを確認後、1) エーテルにて吸入麻酔を行い、上顎両側臼歯抜歯を行った群 (n=7)、2) エーテル麻酔のみを行った群 (n=7) および3) コントロール群 (n=7) の3群に分け実験を行った。NO代謝産物濃度の測定には、酸化窒素分析システム (ENO-10; Eicom社製) を使用した。脳還流液は、オートインジェクター (AS-10; Eicom社製) に集められ、10分毎に自動的に輸送され、紫外可視分光検出器 (NOD-10, 吸光度540 nm; Eicom社製) を使用した。分析結果は、クロマトグラムデータ処理装置 (SIC社製) にて記録した。

**【結果】**上顎臼歯抜歯を行った結果、前値を100%とした場合、術後30分でNO<sub>2</sub><sup>-</sup>およびNO<sub>3</sub><sup>-</sup>は、16%および14%の増加を認めた (p<0.05)。一方、エーテル吸入麻酔のみ行った群およびコントロール群においては、前値と比較して有意差は認められなかった。

**【考察および結論】**上顎臼歯抜歯によりラット海馬歯状回内でNO代謝産物の上昇が明らかとなった。NOは神経伝達物質として働くことが知られており、三叉神経領域、特に歯髄-歯根膜からの情報の中枢への投射系が疼痛の感覚弁別性・情動感情性に関与すると考えられ、同時に海馬内において何らかの中枢性過敏反応が影響した可能性が示唆された。さらに、抜歯直後の急性ストレス反応により血中コルチコステロン濃度が上昇し、海馬内に存在する神経型NOS (nNOS)、誘導型 (iNOS) が賦活化した可能性や、血管内皮型NOS (eNOS) 由来NOの血管拡張作用による血流量増加等が関与していることも考えられ、今後の検討が必要である。

## 象牙質知覚過敏抑制材 “ナノシール” に対する血液や唾液の影響

<sup>1</sup> 鶴見大学歯学部 総合歯科 <sup>2</sup> 医療法人財団 共生会 浅野歯科 <sup>3</sup> 日本歯科薬品株式会社  
○矢作保澄<sup>1</sup> 山口博康<sup>1</sup> 浅野倉栄<sup>1,2</sup> 横田兼欣<sup>3</sup> 常川勝由<sup>3</sup>

### Clinical Evaluation of Desensitizing Effectiveness of “Nanoseal”

<sup>1</sup> Department of General Dentistry and Clinical Education

Tsurumi University School of Dental Medicine

<sup>2</sup>Asano Dental Clinic, <sup>3</sup>Nippon Shika Yakuhin Co.,

○Hozumi Yahagi<sup>1</sup>, Hiroyasu Yamaguchi<sup>1</sup>, Souei Asano<sup>1,2</sup>, Kazuyoshi Yokota<sup>3</sup>, Masayoshi Tsunekawa<sup>3</sup>

#### 【目的】

新しい象牙質知覚過敏 (Dentin Hypersensitivity : Hys) 抑制材 ナノシールはブラシで歯面を擦る操作が必要なく、塗布して水洗するだけで、歯面にナノ粒子の層を形成し、象牙細管を封鎖してHys抑制効果を発現する新材料である。今回、我々は血液及び唾液により汚染された象牙質面へのナノシール適用の可能性について確認すべく、象牙細管封鎖性試験を実施した。

#### 【材料および方法】

ウシ下顎中切歯の歯頸部直下から8mm根尖側の位置を硬組織切断機で水平に切断し、得られた円筒状試片を2分割した後、表面を600番の耐水研磨紙まで順次研磨し、超音波洗浄を30分間作用させて象牙細管開口を伴う象牙質試験片とした。唾液は成人1名のパラフィン咀嚼刺激唾液を採取後、3000rpmで10分間の遠心分離を行った上澄を0.2μmのフィルターを通じたものとした。血液モデル溶液は、アルブミン5%およびγグロブリン2.5% (いずれも生化学用試薬、和光純薬工業) になるように滅菌精製水に溶解させて調製した。これらの唾液および血液モデル溶液を試験片が完全に浸かるようにし、密封して37℃の環境下で24時間接触させてそれぞれ唾液処理群、血液処理群とし、無処理群として同時間精製水中に保管した。その後、試験片を取り出して表面の液を紙製ワイパーで押さえるようにして拭き取った後、試験片の半面にPVC製テープでマスキングし、ナノシール (日本歯科薬品株式会社製) をメーカー指定の方法で塗布を行った。このとき、無処理群とした試験片に対しては、短時間の塗布 (3秒, 5秒, 8秒) 及び濡れた歯面を想定し、塗布前のナノシール液を水で2倍, 4倍に希釈して塗布する条件を加えた。水洗を行った後、マスキングのテープを取り外して再度水洗、乾燥後、白金コーティング、フィールドエミッション走査型電子顕微鏡 (日本電子社製 JSM-7000F : FE-SEM) を用いて観察を行った。

#### 【結果】

各試験片のナノシールを塗布しない部分のFE-SEM観察から、超音波洗浄による象牙細管の開口を確認できた (図1)。ナノシールの塗布により、唾液処理群、血液処理群および無処理群いずれも象牙質表面はナノシールの生成物と思われる凝集物で完全に被覆され、同時に象牙細管も封鎖されている像が確認された (図2~4)。無処理群の短時間塗布、希釈した液を塗布した場合においても同様であった。

#### 【結論】

知覚過敏抑制材 “ナノシール” は、血液、唾液が付着した歯面、濡れている歯面に対しても通常の使用方法で効果を発揮し、塗布時にナノシールの液が接触さえすれば、その効果が期待できることが示唆された。

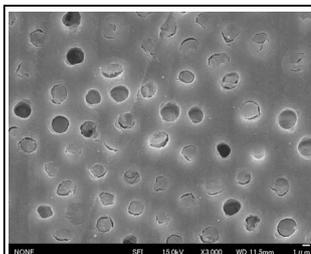


図1. 超音波処理後  
(ナノシール塗布前)

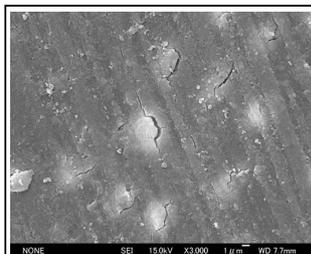


図2. 無処理群  
(ナノシール塗布後)

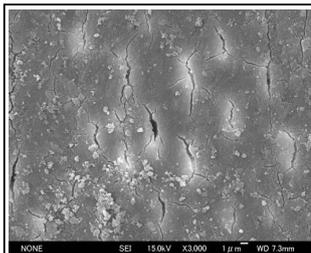


図3. 唾液処理群  
(ナノシール塗布後)

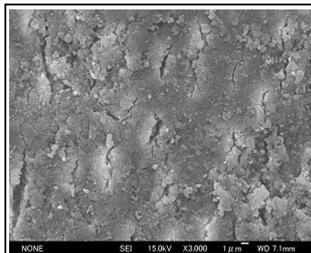


図4. 血液処理群  
(ナノシール塗布後)

## 材料除去後の S-PRG フィラー配合材料の根面象牙質脱灰抑制効果

<sup>1</sup>北海道大学大学院歯学研究科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歯科保存学教室

○宮田さほり<sup>1</sup>, 田中佐織<sup>1</sup>, 松田康裕<sup>2</sup>, 橋本直樹<sup>2</sup>, 佐野英彦<sup>2</sup>, 川浪雅光<sup>1</sup>

### Efficiency of the materials containing S-PRG in preventing demineralization of the root dentin after removing materials

<sup>1</sup>Department of Periodontology and Endodontology, <sup>2</sup> Department of Restorative Density, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

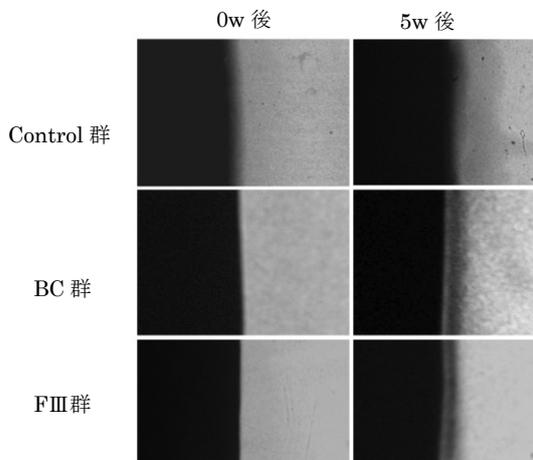
○MIYATA Saori<sup>1\*</sup>, TANAKA Saori<sup>1</sup>, MATSUDA Yasuhiro<sup>2</sup>, HASHIMOTO Naoki<sup>2</sup>, SANO Hidehiko<sup>2</sup>, KAWANAMI Masamitsu<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯科医療の進歩により重度の歯周病罹患歯を保存する症例が増加している。歯周治療後にみられる露出歯根象牙質は、齶蝕に罹患しやすく、また罹患後は進行が早い。ため抜髄あるいは抜歯に至る症例も見られる。露出した歯根面に対する予防法の確立が望まれる。S-PRG フィラー配合歯面コーティング材バリアコートは F<sup>-</sup>をはじめ、Na<sup>+</sup>, BO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, Sr<sup>2+</sup>, SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, Al<sup>3+</sup>などのイオン徐放性を持ち、齶蝕予防効果が報告されている。しかし、臨床応用した際に、材料は様々な外力により脱離することが考えられる。このような場合に材料脱離後も塗布面や周囲の根面象牙質に脱灰抑制効果が認められれば、臨床応用の価値が高まると考えられる。本研究の目的はバリアコートを露出根面象牙質に 24 時間塗布後に除去した場合の脱灰抑制効果を検討し、歯周治療後の根面齶蝕予防への応用を目指すことである。

#### 【材料と方法】

実験には抜去後水中保管した健全ヒト小白歯 5 本を使用した。これらをルートプレーニングし、歯根象牙質を露出させ、マイクロカッティングマシンにて頬舌方向に 200 μm の厚さに薄切した。エナメル象牙境から上下 2mm 幅の歯面を試験面とし、その部位を除く面をスティッキーワックス (Kerr, USA) にて被覆した。材料は S-PRG フィラー配合材料である BC:バリアコート (松風) とグラスアイオノマーセメントの FIII:Fuji III (GC) を使用した。試験面に BC と FIII を塗布、24 時間後に塗布した材料を除去した。材料を塗布しないものを Control とし、Control、BC、FIII の 3 群に分け、これらの試料を pH サイクル装置に 6 週間入れ、人工齶蝕を発生させた。pH サイクルでは pH4.5 の脱灰溶液と pH7.0 の再石灰化溶液を 120 分間隔で 1 日 6 回のサイクルで還流させ、1 サイクルで初期の pH に戻るまでの時間 (回復時間) は平均 52.17 ± 3.82 分とした。1 週ごとに Transverse Microradiography (TMR) を Softex X-ray システム (CSM-2, Softex) を用いて撮影 (撮影条件 14kV, 4mA, 20 分) し、得られた写真は光学顕微鏡に接続した CCD カメラと汎用画像処理ソフトウェア imageJ を用いて取り込み、観察を行った。



#### 【結果と考察】

Control の試料では表層の溶解と脱灰の進行が認められたが、BC 群および FIII 群では表層の脱灰が抑制され、表層下脱灰が認められた。BC 群は pH サイクル 1 週間後より表層下脱灰が見られ、6 週間には再石灰化層は消失し、脱灰の進行が観察された。これらの結果より、S-PRG フィラー配合材料は材料除去後も一定期間脱灰抑制効果を示すと考えられる。それは、材料塗布期間中に根面構造が変化し、材料が脱離した後も根面に抗脱灰作用をもつイオンが残り、pH サイクルの中で効果を示した可能性が考えられる。今後、歯周治療後の露出した歯根象牙質に対して、S-PRG フィラー配合材料をリコールの際などに定期的に塗布することで齶蝕予防効果が期待される。

#### 【結論】

S-PRG フィラー配合材料は、歯根象牙質に 24 時間塗布した後に除去しても 5 週間にわたり脱灰抑制効果を示した。

## 唾液による総合的な口腔検査法の開発

### (第4報)多項目唾液検査システム(AL-55)の口腔状態の経時変化に対するモニタリングの基礎的検討

<sup>1</sup>ライオン株式会社、<sup>2</sup>アークレイ株式会社、<sup>3</sup>愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○内山千代子<sup>1</sup>、高木悠希<sup>1</sup>、斉藤浩一<sup>1</sup>、西永英司<sup>1</sup>、山本高司<sup>1</sup>、村越倫明<sup>1</sup>、福田功<sup>2</sup>、大久保章男<sup>2</sup>、  
高橋亨典<sup>3</sup>、須崎明<sup>3</sup>、有本憲弘<sup>3</sup>、松井治<sup>3</sup>、五味明良<sup>3</sup>、富士谷盛興<sup>3</sup>、千田彰<sup>3</sup>

#### Development of comprehensive salivary test system

#### 4<sup>th</sup> report: Monitoring efficiency of oral condition in salivary multi-test system (AL-55)

<sup>1</sup>Lion Corporation, <sup>2</sup>ARKRAY Inc., <sup>3</sup>Department of Operative Dentistry, School of Dentistry,  
Aichi Gakuin University

○UCHIYAMA Chiyoko<sup>1</sup>, TAKAGI Yuuki<sup>1</sup>, SAITO Koichi<sup>1</sup>, NISHINAGA Eiji<sup>1</sup>, YAMAMOTO Takashi<sup>1</sup>,  
MURAKOSHI Michiaki<sup>1</sup>, FUKUTA Isao<sup>2</sup>, OKUBO Akio<sup>2</sup>, TAKAHASHI Kyosuke<sup>3</sup>, SUZAKI Akira<sup>3</sup>,  
ARIMOTO Norihiro<sup>3</sup>, MATSUI Osamu<sup>3</sup>, GOMI Akira<sup>3</sup>, FUJITANI Morioki<sup>3</sup>, SENDA Akira<sup>3</sup>

【背景・目的】唾液による総合的な口腔検査法の確立を目指し、演者らは、う蝕、歯周病、口腔清潔度に関与する7項目の唾液因子（[う蝕] う蝕原性菌数、pH、酸緩衝能、[歯周病] 潜血、白血球、蛋白質、[口腔清潔度] アンモニア）を5分間で測定できる多項目唾液検査システム（AL-55）を開発した。これまでに、231名の被験者を対象とした横断的研究を行い、AL-55の検査結果と、う蝕、歯周病等の病態との相関を確認し、AL-55の検査機器としての基本性能を明らかにした（第136回日本歯科保存学会学術大会）。しかしながら、AL-55の歯科臨床への応用のためには、患者の口腔状態の変化を経時的にモニタリングできることが重要であるが、その検討については未だ行われていない。そこで本研究では、歯科医院の患者を対象とした6ヶ月間の縦断的研究で、AL-55および口腔内の検査結果の推移を比較し、AL-55の口腔状態の経時変化に対するモニタリングの有用性を検討した。

#### 【対象および方法】

【対象】愛知県内の開業歯科医院5施設に通院する患者のうち、同意を得られた成人57名（50.3±12.6歳、男性24名、女性33名）を被験者とした。

【試験方法】試験期間は6ヶ月間とし、初回および1、3、6ヶ月後に、AL-55による検査と口腔内の検査を実施した。なお、その間の歯科治療、口腔ケアは通常通り行った。

【AL-55による検査】蒸留水3mlによる洗口吐出液を試料とし、AL-55により測定した。

【口腔内の検査】う蝕についてはPlaque control record（以下PCR）、歯周病についてはProbing depth（以下PD）を評価した。口腔清潔度については、洗口吐出液中の総菌数をPolymerase Chain Reaction法にて測定した。

【解析】試験期間におけるAL-55および口腔内の検査結果の経時的推移を比較検討した。また、各回の検査における両者の相関について、Spearman相関解析にて評価した。

なお、本研究はシミック（株）倫理審査委員会の承認を受け遂行した（承認番号2012-01）。

#### 【結果と考察】

【う蝕】試験期間を通じてPCRは改善し、う蝕原性菌数も同様に低下傾向を示したが、pHおよび酸緩衝能の推移はPCRのそれと連動しなかった。また、各回の検査において、これら3項目はPCRと有意な相関は示さなかった。その原因として、被験者の年齢層が高く、歯周病を主訴とする被験者の比率が高かったこと、および、う蝕の病態の推移を評価するには、今回の6ヶ月間の試験は短期間であったことなどが考えられる。これら3項目はう蝕の発生および進行に深く関与していることが知られており、今後更なる検討が必要である。

【歯周病】試験期間を通じてPDは改善し、潜血、白血球、蛋白質も同様に低下傾向を示した。さらに、各回の検査においても、PDとこれら3項目との間に有意な相関を認めた。したがって、これら3つの検査項目は、経時的な歯周病の病態の推移を反映することが明らかとなった。

【口腔清潔度】試験期間を通じて、総菌数とアンモニアは同様の推移を示し、また、各回の検査においても、両者は有意な相関を示した。したがって、アンモニアは、経時的な総菌数の推移を反映することが明らかとなった。

【結論】歯科医院の患者を対象とした6ヶ月間の縦断的研究において、AL-55および口腔内の検査結果は同様の推移を示し、AL-55は口腔状態の経時変化に対するモニタリングに有用であることが明らかとなった。

## 卒前臨床実習における新規教育プログラム「臨床実地問題作成演習」に関する 学生アンケート調査

<sup>1)</sup> 東京歯科大学歯科保存学講座、<sup>2)</sup> 東京歯科大学歯周病学講座、<sup>3)</sup> 東京歯科大学千葉病院総合診療科  
○ 加藤広之<sup>1)</sup>、末原正崇<sup>1)</sup>、太田幹夫<sup>2)</sup>、勢島 典<sup>2)</sup>、亀山敦史<sup>3)</sup>、春山亜貴子<sup>3)</sup>、齋藤 淳<sup>2)</sup>

### Making examination questions on clinical conservative dentistry as new program in undergraduate clinical training: A survey study

<sup>1)</sup> Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College, <sup>2)</sup> Department of Periodontology, Tokyo Dental College,

<sup>3)</sup> Division of General Dentistry, Tokyo Dental College Chiba Hospital

○KATO Hiroshi<sup>1)</sup>, SUEHARA Masataka<sup>1)</sup>, OTA Mikio<sup>2)</sup>, SESHIMA Fumi<sup>2)</sup>, KAMEYAMA Atsushi<sup>3)</sup>,  
HARUYAMA Akiko<sup>3)</sup>, SAITO Atsushi<sup>2)</sup>

【研究目的】 歯科大学・歯学部における臨床実習は、卒前歯学教育の総まとめとして重要な教育段階であり、各大学で個性ある独自の学習プログラムへの取り組みが進められている。東京歯科大学の第5学年次臨床実習は、診療科別のローテート形式で行われている。千葉病院保存科における臨床実習は、約9週を前期・後期に分け、一般的な臨床ケースを主体としたカリキュラムとなっている。これまで診療参加型実習の推進を中心に教育プログラムの改変を進める中で、臨床実習中の問題発見解決型思考の育成が大きな課題となっていた。そこで今回我々は、平成23年度第5学年臨床実習の後期カリキュラムにおける新規教育プログラムとして、学生自らが臨床症例のなかでの問題発見解決の視点を理解することを目的とした「臨床実地問題作成演習」(以下、作成演習)を策定し、実施した。今回は「作成演習」の概要と教育プログラムとしての有効性と、今後への課題とを検討するために行った学生アンケート調査の結果について報告する。

【材料および方法】 平成23年度第5学年生の保存科臨床実習・後期(平成23年10月1日～平成24年3月12日)において、5つのローテート班(25～26名)毎に教育プログラムとして「作成演習」を1回実施した。実施時期は後期臨床実習第2週の100分を「作成演習」の実施枠とした。「作成演習」では、保存科臨床実習の各班学生を、さらに4つの小グループ(6～7名)に分け、各グループに1名の指導専任教員を配置した。国家試験既出問題の視覚資料(口腔内写真およびエックス線写真)を使用したPC用プレゼンテーション(PowerPoint:マイクロソフト)で作成したフォーマット上で、歯内療法学系、歯周病学系、保存修復学系の3分野の臨床実地問題作成の課題を原則2人1組で行わせた。問題作成後、各グループで学生同士による作成問題のプレゼンテーションならびにブラッシュアップを実施させた。その後、指導教員による視覚資料情報の解説、作成問題に対する問題点の指摘、追加ブラッシュアップの指導を行った。教員による解説、指導にあたっては、実際の臨床症例での問題抽出・問題解決と同様の思考過程は、臨床実地問題の構造や解答過程と関連のあることを、学生が認識できるよう留意した。「作成演習」終了後、課題と同一の視覚資料を用いたポストテストを実施し、さらにその解説を行った。各班の保存科臨床実習の最終週に保存科臨床実習と「作成演習」とに関する『臨床実習実施後アンケート』を学生に対して行った。アンケート用紙への氏名記入は任意であることを明記して実施した。

【結果】 「作成演習」は、各ローテート班で策定したタイムスケジュールに沿って実施できた。学生が作成した臨床実地問題は、同じ課題でも異なった視点から作られた問題が数多くみられた。学生間ブラッシュアップでの修正作業では、問題作成の視点と設定の合理性、視覚資料情報の解釈と問題文との整合性について討議がなされ、臨床症例での問題発見の思考過程に関する相互確認が行われた。回答協力により回収できたアンケートのうち、今回の結果集計の対象として用いたのは「作成演習」実施日の全出席者119名分であった。アンケートでは保存系教科の前期まで理解度で「修復系」を不得意とする学生が62%を占め、「歯内系」「歯周系」の約3倍であった。後期実習後には3分野共に80%以上の学生が理解度向上と答え、「作成演習」に対しても70%以上の学生が臨床実地問題や臨床症例に接する視点への効果があった、と回答した。また、「作成演習」の前・後期での実施希望が47%、保存系以外での演習実施希望が65%と、本プログラムへの指示を示す回答が多く得られた。

【結論】 東京歯科大学千葉病院保存科臨床実習において新たに行った教育プログラム「作成演習」は、臨床実習を効果的に行う上で効果的な教育手法になるものと考えられた。

## 兵庫医科大学病院における卒後臨床歯科研修の実際と今後の課題

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○本田 公亮, 藤原 正識, 長谷川 誠実

Status and Challenging Issues of Post-graduate Clinical Training for Dentists at Hyogo College of Medicine Hospital

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine

○Kosuke HONDA, Masanori FUJIWARA, Makoto HASEGAWA

### (緒言)

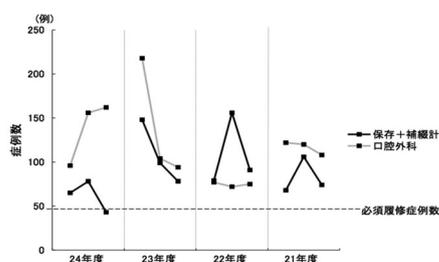
2006年4月から歯科医師免許取得後の臨床研修が義務化され、各歯科大学、歯学部、医科大学または医学部の歯科、歯科口腔外科、および病院歯科、一般歯科医療施設において独自の歯科研修カリキュラムが立案されることとなった。臨床研修期間は1年間と定められているが、一般の医師と同様に2年間の臨床研修を行っているところも少なくない。本学においても2年間としているが、最初の1年間のみを本学卒後研修センター管理とし、2年目以降は「臨床研修歯科医」ではなく、「歯科レジデント」として歯科口腔外科の所属となる。したがって2年目以降の学外関連病院への出向も視野にいれ、1年目の臨床歯科研修において歯科医師としての最低限の診療能力を身につけさせることを目的としている。ところで当科は医学部の歯科口腔外科ではあるが、口腔外科関連学会の専門医、指導医の他に、保存、補綴、小児歯科の学会専門医、指導医が教員として在職する。そのため歯学部、歯科大学に近似した研修プログラムを作成することを試みてきた。しかし一方、大学病院であることから高い専門が重視され、特に医学部の歯科という使命上、身体的、精神的にハイリスクな患者を対象に診療を行わなければならない、臨床歯科研修に適した患者が不足しているのが実情である。今回過去4年間の本学における臨床歯科研修の状況を省み、指導医側および研修医側からみた問題点を検証する。そして今後研修の質を高めるためにはどのような点を改善すれば良いのかについて検討した。

### (対象と方法)

- (1) 研修カリキュラムの性質が異なる3つの臨床研修施設、本学(兵庫医科大学)、朝日大学歯学部、島根大学医学部を対象にし、研修医および指導医数、研修医の選択方法、研修期間、研修プログラムの特徴について比較した。
- (2) 上記各研修施設における歯科保存、および補綴分野関連の研修カリキュラムの割合、研修方法、研修評価方法について調べた。
- (3) 本学の附属病院において歯科保存、および補綴分野での研修を行う上で指導方法、評価方法にどのような点が問題になるのかを分析し、改善の可能性があるのかについて検討した。

### (結果および考察)

本学において毎年3名の研修医が履修した全症例数の中で、保存・補綴関連の症例が占める平均割合は平成21年度で41.5%(82±20例)、22年度で59.3%(109±40例)、23年度で43.9%(108±36例)、24年度で30.7%(61±17例)であった。左下図に示すように平成22年度では口腔外科関連の履修症例数よりも保存・補綴関連の症例数の方が全体的に多くなっていたが、平成24年度では保存・補綴関連の症例数が顕著に少なくなった。またいずれの年度においても研修医間で履修症例数に明瞭な差がみられたが、これは治療の進捗状態や研修医の臨床能力の差などが影響したものと思われた。しかし各年度間でも履修症例数に差が生じた。この結果から前年度の研修状況を十分に省みた次年度の研修カリキュラムの実施ができていなかったことが考えられた。



## 研修歯科医が入力した修復分野に関するポートフォリオの質的分析

岡山大学病院 総合歯科

○桑山香織, 河野隆幸, 塩津範子, 武田宏明, 大塚恵理, 鳥井康弘

**Text-mining analysis of trainee dentists' portfolios associated with restorative dentistry**  
Comprehensive Dental Clinic, Okayama University Hospital

○KUWAYAMA Kaori, KONO Takayuki, SHIOTSU Noriko, TAKETA Hiroaki, OHTSUKA Eri, TORII Yasuhiro

### 【緒言】

岡山大学病院では、H18年度から電子ポートフォリオシステムを用いた歯科医師臨床研修を行っている。研修歯科医は、日々の診療に対する感想や疑問点を診療後に電子ポートフォリオに入力する。それに対して、指導歯科医はアドバイスを入力する。ポートフォリオを入力することによって、研修歯科医は診療を振り返りや気づきを得ることが出来る。このポートフォリオは、臨床経験の少ない研修歯科医が診療を行った際の感想や疑問、そして、振り返りや気づきが含まれるデータベースである。したがって、将来的には、このデータベースを活用して効率的な歯学臨床教育を行いたいと考えている。今回、H21年度からH24年度の3年間に研修歯科医が入力したポートフォリオの中から、修復分野に関連したポートフォリオを抽出し、質的分析を行うことによって、修復分野に関するキーワードの出現頻度や処置とキーワードの関係を分析した。

### 【対象および方法】

H21年からH24年度に岡山大学病院で臨床研修をうけた159人の研修歯科医が、総合歯科および専門診療科で臨床研修を行った際に電子ポートフォリオシステムに入力した21,599件のポートフォリオの中から、修復分野に関連した2,359件のデータを分析対象とした。

ポートフォリオの分析として、

1. 入力されている処置を、覆髄、グラスアイオノマー充填、レジン充填、メタルインレー、レジンインレー、メタルアンレー、その他の修復物（エステニア等）、漂白、その他の9項目に分類・集計
2. ポートフォリオの入力項目の一つである研修内容に対する感想を、WordMiner®（日本電子計算株式会社）を用いてテキスト・マイニングを行い、出現頻度が100以上のキーワードを抽出
3. 処置とキーワードの関連性を分析のために、WordMiner®を用いて対応分析とキーワードの有意性テストを行った。

### 【結果】

処置の割合は、レジン充填（47.5%）、メタルインレー（22.3%）、その他（21.1%）の順が多かった。抽出された出現頻度が100以上のキーワードは62項目で、患者（42.1%）、カリエス（28.3%）、レジン充填（26.6%）、除去（24.2%）、充填（20.3%）等の割合が多かった。処置内容とキーワードについて対応分析を行ったところ、第1成分は固有値が0.16、寄与率が70.14%、第2成分は固有値が0.03、寄与率が12.86%で、第1成分と第2成分を軸として布置図を作成したところ、処置と関連したキーワードが近接していた。また、処置別の頻度による有意性検定を行ったところ、「レジン充填」ではレジン充填、充填、レジン、研磨、カリエス処置が、「メタルインレー」ではメタルインレー、セット、調整、印象、インレーが上位に位置していた。また、処置の割合が低かった「漂白」は歯、患者、説明が、「覆髄」は歯髄、軟化象牙質、カリエスが上位に位置していた。

### 【考察】

対応分析や有意差テストを行うことによって、それぞれの処置と関連性の高いキーワードを抽出できた。それぞれの処置と関連性の高いキーワードを含むポートフォリオをデータベース化し、研修歯科医が診療を行う前に能動的に活用することによって、より効率的な臨床研修を行うことが出来るのではないかと考える。

## ダイヤモンドパウダー配合歯磨剤の歯牙に対する影響について

サンスター株式会社<sup>1</sup>、サンスタースイスエスエー<sup>2</sup>  
○橋 亜希<sup>1</sup>、長谷川 謹崇<sup>1</sup>、藤澤 考一<sup>2</sup>

### The effects of a toothpaste containing diamond powder on teeth

Sunstar Inc.<sup>1</sup>, Sunstar Suisse S.A.<sup>2</sup>  
○Aki Tachibana<sup>1</sup>, Noritaka Hasegawa<sup>1</sup>, Koichi Fujisawa<sup>2</sup>

#### 【緒言】

ダイヤモンドは、天然でもっとも固い物質であるといわれている。一般的には、その硬度ゆえ過度に歯面を傷つけるのではないかと懸念から市販の歯磨剤への適応は避けられている。一方近年、その高い硬度や特性を利用し、非常に平滑な表面が必要とされる HDD の記録面など、優れた鏡面を得ることができる研磨剤として注目されている。そこで、本研究では新規ダイヤモンドパウダーを配合した歯磨剤の有効性および歯牙有害性を評価することを目的とした。

#### 【材料および方法】

試験サンプルはダイヤモンドパウダー配合歯磨剤(以下ダイヤモンド歯磨剤)、ダイヤモンドパウダープラセボ歯磨剤(以下プラセボ歯磨剤)、市販されているホワイトニング歯磨剤 A、B (以下市販品 A、B) の 4 種類で行った。

Radioactive dentin abrasion(RDA)、Radioactive enamel abrasion(REA)は Hefferren の方法(1976)に基づいて Therametric Technologies, Inc. で試験を行った。Pellicle cleaning ratio(PCR)は Stookey らの方法(1982)に基づいて Precedent Research, Inc. で行った。

歯面平滑性試験は以下の手順で行った。

1. 牛歯のエナメル質歯片を 3mm×6mm に切り取り、歯科用重合レジンで包埋し、歯片の表面を研磨紙(P1200、P1500 の順)で鏡面研磨した。
2. エッチング処理として 0.2 M 塩酸に 180 秒、飽和炭酸ナトリウム水溶液に 60 秒、1%(v/v)フィチン酸に 60 秒の順で浸漬させた。各水溶液と水溶液の浸漬操作の間は、蒸留水に 30 秒以上浸漬させた。エッチング処理後の牛歯ブロックは縦半分にテープを貼付け、未処理部位とした。
3. ハブラシを設置した BSI 準拠の歯ブラシ磨耗試験機にセットし、各サンプルの 3 倍希釈液中、荷重 150 gf で 3,000 回往復させた。
4. 洗浄後、形状測定レーザーマイクロSCOPEで歯面の算術平均粗さ Ra を測定した。各部位の算術平均粗さ Ra より以下の式から Ra 変化率を求めた。

$$\text{Ra 変化率}(\%) = ((\text{未処理部位 Ra} - \text{ブラッシング部位 Ra}) / \text{未処理部位 Ra}) \times 100$$

#### 【結果】

1. RDA：プラセボ歯磨剤及び市販品 B と比較して低い値を示し、市販品 A と同等程度であった。
2. REA：プラセボ歯磨剤及び市販品 B と比較すると高い値であったが、市販品 A と同等程度であった。
3. PCR：プラセボ歯磨剤及び市販品 B と比較して高い値を示し、市販品 A と同等程度であった。
4. 歯面平滑性：プラセボ歯磨剤、市販品 A 及び市販品 B と比較して、高い値であった。

#### 【考察】

RDA 及び REA 試験結果より、ダイヤモンド歯磨剤の歯牙有害性は市販品と同等レベルであり、ISO11609 に定められている規格上限値と比較して、十分に許容される値であることが示された。また、PCR 及び歯面平滑性試験結果より、ダイヤモンド歯磨剤はホワイトニング歯磨剤として十分な性能を有していることが示された。

### 日本人における下顎第二大臼歯の槌状根の髓床底形態について

1)日本大学松戸歯学部歯内療法学講座 2)日本大学松戸歯学部放射線学講座 3)日本大学口腔科学研究所  
○鈴木 誠<sup>1)</sup>, 中澤 弘貴<sup>1)</sup>, 喜多詰 規雄<sup>1)</sup>, 上田 幾大<sup>1)</sup>, 冨田 敬<sup>1)</sup>, 辻本 恭久<sup>1)3)</sup>, 金田 隆<sup>2)3)</sup>, 松島 潔<sup>1)3)</sup>

#### A morphological study of the floor of pulp chamber of the mandibular second molars with c-shaped root in a Japanese population

○Suzuki Makoto<sup>1)</sup>, Nakazawa Hiroataka<sup>1)</sup>, Kitadume Norio<sup>1)</sup>, Ueda Ikuo<sup>1)</sup>, Tomita Takashi<sup>1)</sup>,  
Tsujiimoto Yasuhisa<sup>1)2)</sup>, Kaneda Takashi<sup>2)3)</sup>, Matsushima Kiyoshi<sup>1)2)</sup>

1)Department of Endodontics Nihon University School of Dentistry at Matsudo

2)Department of Radiology Nihon University School of Dentistry at Matsudo

3)Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

【研究目的】槌状根は、下顎大白歯の近・遠心の2本の歯根が頰側では癒合するが、舌側では2根が縦の溝で隔てられて癒合せず、歯根概形が槌状を呈し、根管がC字状になりやすい。そのため、根管の容積が大きくなり、残髄や清掃不良が起こりやすくなり、出血や痛みの要因になる。歯内療法の成否は術者がいかに根管形態を熟知しているかが第一の要因となる。根管形態が複雑になる槌状根では歯髓腔の形態を詳細に調査する必要があると考えられる。本研究では医療用CT画像を用いて、現代日本人の下顎第二大臼歯における槌状根の出現頻度および髓床底の形態を検討した。

#### 【材料および方法】

##### (対象)

2009年1月から2011年12月までの期間に本学付属病院を受診した20歳代から30歳代の患者のCT画像を試料とした(男性284名, 女性299名)。左右両側の下顎第二大臼歯が萌出している画像のうち2根に分岐した歯と槌状根を呈する歯を対象とした。根管充填や補綴物による障害陰影のあるもの、カリエスなどによって歯冠が崩壊している歯は除外した。2根が頰舌側ともに、完全に癒合して1根となった歯, 3根の歯は試料には含まれない。本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認を得て行った(承認番号:EC 11-037号)。

##### (CTの撮影条件)

64列 Multi-detector row CT装置は(Aquilion<sup>TM</sup>64, 東芝メディカルシステムズ株式会社)で、エックス線ビーム幅32mm, 検出器0.5mm幅で頭尾方向に64列配置されている。撮影条件は管電圧120kv, 管電流100mA, ヘリカルピッチ(以下HPと略す)は, 41, 1.0sec/rotationで骨表示画像を用いた。なお, HPはCT装置メーカーの推奨値を用いた。咬合平面に平行な面を軸位断面(水平断面)として撮像した。

##### (方法)

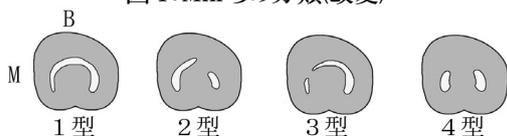
1. 槌状根の出現頻度: 根尖1mmまで歯根が癒合しているものを槌状根と定義し, 槌状根と2根に分岐している歯に分類した。統計分析は, JMPにより, カイ2乗検定を行った。
2. 髓床底の形態: セメント・エナメル境から歯根側3mmの水平断面画像を用い, Minら(2006)の分類(図1)に従って髓床底の形態を分類した。

【結果および考察】左右両側が槌状根となった頻度は男性23.3%, 女性42.8%, 左右側いずれか片側が槌状根となった頻度は男性14.4%, 女性11.4%であった。少なくとも左右側のいずれかに槌状根が出現する頻度は男性37.7%, 女性54.2%で, 槌状根は男性より女性に有意に多く認められた( $P<0.01$ )。

左右両側が槌状根となった場合で, 髓床底の形態が左右側で同じ型となった頻度は男性17.3%, 女性30.1%であった。髓床底の形態が左右側で異なった型となった頻度は男性6.0%, 女性12.7%であった。槌状根の髓床底形態は左右側で異なる型となることがあるため, 型の頻度については左右側を一括して検討した。男女とも1型が最も多く見られた(男性64.7%, 女性65.2%), 次いで2型が多く(男性19.1%, 女性22.1%), 3型と4型は少なかった。

以上の結果から, 1)槌状根は男性より女性に多く認められたこと, 2)槌状根の髓床底形態は, 槌状になる歯根概形と同様に, C字状である1型が最も多く, 性差が認められないことが明らかとなった。

図1: Minらの分類(改変)



なお, この研究は本学, 解剖学1講座, 近藤信太郎 教授の協力を得て行った。

## The Ability of Optical Coherence Tomography to Image Bone Lesion: Comparison between Porcine Maxilla and Mandible

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

○ *J. Ding, S. Watanabe, T. Anjo, Y. Iino, C. Kokuzawa, A. Ebihara, H. Suda*

**Introduction:** The purpose of this study was to compare the ability of optical coherence tomography (OCT), a new noninvasive imaging method, in detection of bone lesion between the porcine maxilla and mandible.

**Materials and methods:** Twenty pieces of bone plate were obtained from ten porcine maxillae and mandibles on the same side. The internal bone surface was ground to be flat, and the external surface was maintained intact. A round bur was used to create a deep groove on the internal surface with the remaining bone thickness ranged roughly from 0 to 1.5mm. Then each groove was filled with fresh meat to simulate periapical granulation tissue. A swept-source OCT (SS-OCT) was used to scan and image the external bone surface along the groove. When the bottom of the groove just disappeared on the OCT images, the corresponding site on the external bone surface was marked, and the bone thickness under the groove was calculated as  $L_s$ . After that, all bone plates were scanned by micro-computed tomography (MCT), and the thickness between the marked site and the bottom of the groove was calculated as  $L_r$ . The values of  $L_s$  and  $L_r$  of maxilla and mandible were statistically analyzed by Student's *t*-test.

**Results:** The mean values of  $L_s$  and  $L_r$  were 1.19mm and 0.86mm in the maxilla, and 1.09mm and 0.78mm in the mandible, respectively. There was no significant difference between them ( $P > 0.05$ ).

**Conclusions:** Under the limitation of the present study, OCT may present equal ability in terms of imaging depth in the detection of apical lesion in the porcine maxilla and mandible.

## ヒト抜去歯を用いたマイクロ CT による歯髓腔の 3D 画像観察 —内視鏡モードでの観察—

日本歯科大学新潟病院総合診療科

○安達 詠子, 江面 晃

Observation by micro-CT 3D image of pulp cavities using extracted human teeth

—Method using endoscopic mode—

Comprehensive Dental Care, Niigata Hospital, The Nippon Dental University

○ADACHI Eiko, EZURA Akira

### 【緒言】

歯髓処置ならびに根管治療を行うためには、歯髓腔の解剖学的形態を熟知している必要がある。歯髓腔の形態を理解するためには、X 線写真や墨汁注入透明標本などを用いて行ってきた。近年は、マイクロ CT 画像を利用することも多くなってきている。マイクロ CT 画像は、試料を被破壊的に詳細な構造を 3 次的に再現することができ、任意の部位でのスライスや内部の観察が可能である。そこで抜去歯をマイクロ CT で撮影し、医用画像処理ソフトウェアの内視鏡モードを応用して歯髓腔内の 3 次元構築を行って観察したので報告する。

### 【試料および方法】

当科所蔵の抜去時期、年齢、性別不明の歯根完成ヒト抜去歯を、マイクロ CT 装置（島津製作所製 SMX100CT）で撮影の後、3 次元画像処理ソフトウェア（3D BON, RATOC 社）で立体構築および医用画像処理ソフトウェア（Real INTAGE, サイバネット社）の内視鏡モードで抜去歯の髓室と根管を観察した。

### 【結果】

観察された画像の一部を下図に示す。

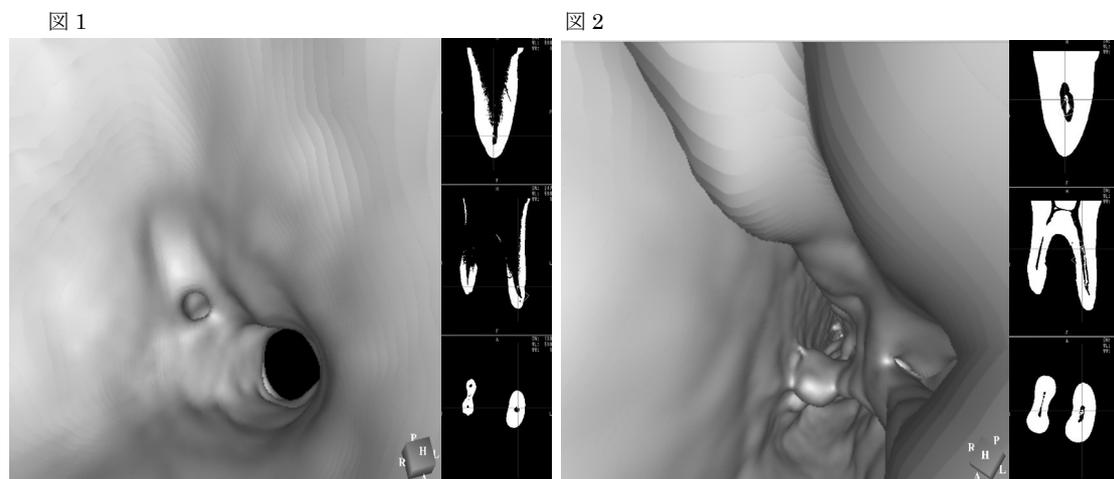


図 1；下顎右側第一大臼歯遠心根根尖 1/3 の歯冠側からの観察で、根尖孔部での湾曲と側枝を認める。

図 2；同歯遠心根中央から根尖部方向の観察で、歯髓の石灰変性と思わせる像を認める。

### 【結論】

これまでの X 線写真観察、透明標本やマイクロ CT による立体像・透視像の観察と異なり、内視鏡モードでの観察では根管に入ったような画像が得ることができた。これらの画像により歯髓腔の解剖学的形態や病的变化の理解を容易にするばかりか、あたかもリーマーの先端に目があるような像を示すことで、リーマー挿入時の手指感覚と根管の状態を理解することも容易になる。

## マイクロフォーカスX線CT装置による下顎切歯根管形態の評価 (第3報)

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座  
○西田太郎、勝海一郎

Evaluation of Root Canal Morphology in Mandibular Incisor by Micro-focus X-ray CT Device, Part 3  
Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo  
○NISHIDA Taro, KATSUUMI Ichiroh

### 【はじめに】

下顎切歯は単根歯であるが、歯根が強度に扁平しており、唇舌的な根管の分岐や湾曲、さらには根尖分岐などが認められ、治療難度の高い歯種とされる。

本研究はマイクロフォーカスX線CT装置を用いて連続的な断層撮影を行い、三次元像を構築後、下顎切歯の歯軸と根尖の根管形態の分析を行った。

### 【材料および方法】

実験にはヒト抜去下顎前歯 50 本を用いた。歯根外形を肉眼的に観察後、マイクロフォーカスX線CT装置 (ELE-SCAN, 日鉄エレックス) を用い、管電圧 80kV、管電流  $70\mu\text{A}$ 、スライス厚  $52.9\mu\text{m}$  の条件にて、根尖から歯冠部まで連続的に断層撮影を行った。また、根尖部の詳細な画像を得るために、スライス厚  $21.1\mu\text{m}$  で根尖部約 6mm について追加撮影を行った。得られた断層像は画像処理ソフト (TRI/3D-BON, ラトックシステムエンジニアリング) により三次元構築を行い、歯軸方向と根尖の根管形態の分析に供した。

#### 1. 歯軸

三次元構築した全体像を基に唇舌断面像を作成した。右図の様に断面像の髄角と根尖開孔部を直線①でつなぎ、①を三等分した垂線②を引いた。②とそれぞれの根管唇側壁面、舌側壁面の交差する点をつなぎ、その線の中点 M1、M2 を作図した。根管が複数認められる歯は唇側根管の唇側壁面と舌側根管の舌側壁面を作図に用いた。根管中央の軸方向である M1 と M2 を通る直線③をひき、その延長線が歯冠表面と交差した位置の存在する部位を、唇側と切端、および舌側に分類した。

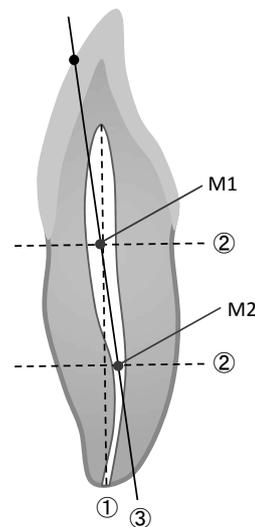


図 歯軸方向

#### 2. 根尖の根管形態

三次元構築した根尖部の画像から、根尖の根管形態を観察できる唇舌断面像、近遠心断面像を作成し、根尖の根管形態を単一狭窄型、テーパー型、パラレル型、フレア型、根尖分岐型、複数狭窄型に分類した。

### 【結果とまとめ】

#### 1. 歯軸

根管中央の軸方向が歯冠表面と交差した位置は、唇側が 46%、切端が 54% で舌側に交差した歯は認められなかった。

#### 2. 根尖の根管形態

根尖部における根管形態は唇舌断面像では単一狭窄型 24%、テーパー型 24%、パラレル型 26%、フレア型 6%、根尖分岐型 18%、複数狭窄型 2% であった。近遠心断面像では単一狭窄型が 10%、テーパー型が 14%、パラレル型 74%、フレア型 2% であった。また、唇舌断面像・近遠心断面像の両方で単一狭窄型を示した歯は 2%、テーパー型は 4%、パラレル型は 22% 存在した。

本研究により、髄室開拓部から根管へのファイルなどの挿入、器具操作の難しさ、アピカルシート設置の困難さがうかがわれた。今後さらに詳細な分析を行う予定である。

## 量子ドットを使ったD-グルコサミンの細胞内移行のナノイメージング解析 第3報：細胞膜を介した量子ドットの取込み状況

1 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野、2 (株) ケア・フォー バイオ事業部、3 産業技術総合研究所 生産計測技術研究センター

○井川一成1、謝 明芳2、大庭英樹2、3、林 善彦1

### Nano-imaging analysis for the intracellular transportation of D-glucosamine using quantum dot The third report: The uptake imaging through cell membrane

1Department of Cariology, Nagasaki University Graduate school of Biomedical Sciences, 2Biotechnology Division of Care Four Company Ltd., 3Measurement Solution Research Center, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

○Igawa Kazunari1, Xie Ming-Fang2, Ohba Hideki2, 3, Hayashi Yoshihiko1

**はじめに** D-グルコサミン (MW:約 215) はキチンの完全加水分解物で、変形性関節炎に効果があるとされており、欧米を含め世界的に利用されている。当教室では、キチン/キトサンに関して12年以上にわたり基礎的、臨床的研究を行ってきた。初期炎症反応が弱く、鎮痛効果を含め種々な生理活性作用を有するD-グルコサミンに注目している。現在、D-グルコサミンの細胞内への移行および細胞内での動態を解明する研究に着手している。今回、量子ドットの細胞膜への取込まれる過程を検討したので報告する。

#### 材料と方法

1) D-グルコサミンと量子ドットの結合：0.2g D-グルコサミンを1mLのPBSに溶解し4℃で一晩静置する。カルボキシル化量子ドット{コロイド法によってセレン化カドミウムCdSe (3-4nm程度)にZnSを被覆}50μLを加えて攪拌後、さらに0.1M EDC (1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩)溶液100μLを加え静かに混ぜた(量子ドットのコア径は約3nmだが、最終的修飾物の径は15nm程度となる)。

2) 培養細胞の調整：NOS-1細胞をガラスボトムカルチャーディッシュ(World Precision Instruments, Ltd., FD35-100)に $2 \times 10^5$ 個程度(短時間実験は $6 \times 10^5$ 個程度)となるように播種した(10%FBS添加α-MEMを使用)。細胞は、CO<sub>2</sub>(5%)培養器内で通常どおり培養を行った。

3) D-グルコサミン結合量子ドットの取り込み：細胞への取り込みは、D-グルコサミン濃度が0.2%となるよう調整した培地で継代直後から培養した。培地は3日目に交換した。別に短時間の実験群では、D-グルコサミン濃度が0.05%、0.005%となるよう調整した。

4) 染色：CellMask™ Plasma Membrane Stain (C10045) (Molecular Probes, Inc., USA)で細胞膜を生体染色した。

5) 観察：細胞は、顕微鏡ステージCO<sub>2</sub>(5%)培養器(okaLab)内で培養した。播種後1, 2, 5, 7日目に顕微鏡ステージCO<sub>2</sub>(5%)培養器内で培養しながら共焦点レーザー顕微鏡(ライカTCS SL)にて観察・撮影を行った。量子ドットと細胞膜の蛍光観察条件は、それぞれ励起波長：385nm, 554nm, 最大蛍光波長：525nm, 567nmを参考とした。

**結果** 量子ドットは極めて輝度の強い黄緑色の蛍光として明瞭に観察できた。細胞膜の蛍光色素染色で、量子ドットの細胞膜への付着、細胞内への移行を観察できた。量子ドットの細胞内での残留は、培養7日目に明瞭に減少していた。また、培養5日、7日後においても核内への移行は観察できなかった。D-グルコサミンの最も生理活性を高める濃度は0.005%であるが、量子ドットの観察は細胞内取り込みが少なく、0.05%が短時間の観察では適当であった。また、D-グルコサミンと結合させない量子ドット単体では細胞への取り込みは極めて少ない事も判明した。

**まとめ** 量子ドットに結合したD-グルコサミンの培養骨芽細胞への細胞膜を介した取込みをイメージングできた。量子ドット単体では細胞への取り込みはない事を再確認できた。量子ドットとの結合は、カルボキシル基とアミノ基との結合であり細胞内へ入っても解離しないと考えられるので、今回の観察はD-グルコサミンの細胞膜内への移行を示している事となる。レーザー顕微鏡による3D観察は、量子ドットの位置関係を観察するうえで極めて有益である。

本研究は科学研究費(挑戦的萌芽研究課題番号22659345)によって実施した。

**文献** 1. Matsunaga T, Yanagiguchi K, Yamada S, Ohara N, Ikeda T, Hayashi Y, Chitosan monomer promotes tissue regeneration on dental pulp wounds, Journal of Biomedical Materials Research A, 76(4): 711-720, 2006

2. Kaida K, Yamashita H, Toda K, Hayashi Y, Effects of glucosamine on the tooth pulpal nociceptive responses in the rat, Journal of Dental Sciences, in press, 2013

## ラット臼歯皮下移植後の歯髄腔内に出現する骨芽細胞様細胞

<sup>1</sup>松本歯科大学 口腔解剖学第2講座, <sup>2</sup>新潟大学大学院医歯学総合研究科  
口腔健康科学講座 歯学分野, <sup>3</sup>松本歯科大学 歯科保存学第2講座  
○細矢明宏<sup>1</sup>, 吉羽邦彦<sup>2</sup>, 吉羽永子<sup>2</sup>, 笠原悦男<sup>3</sup>, 中村浩彰<sup>1</sup>

### Osteoblast-like Cells in Dental Pulp after Subcutaneously Transplantation of Rat Molar

<sup>1</sup>Department of Oral Histology, Matsumoto Dental University; <sup>2</sup>Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences; <sup>3</sup>Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University  
○HOSOYA Akihiko<sup>1</sup>, YOSHIBA Kunihiko<sup>2</sup>, YOSHIBA Nagako<sup>2</sup>, KASAHARA Etsuo<sup>3</sup>, NAKAMURA Hiroaki<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯の移植や外傷後の歯髄腔内に骨様組織が形成されることが、多数の形態学的研究により明らかにされている。しかし、歯髄腔内に出現する骨芽細胞様細胞は、歯髄細胞が分化したものか、あるいは外部から遊走してきた間葉細胞に由来するかは不明である。そこで本研究では、歯髄の潜在的骨様組織形成能を明らかにする目的で、green fluorescent protein (GFP) 発現ラット臼歯を野生型ラット腹部皮下へ移植し、歯髄腔内における骨様組織形成過程を組織学的ならびに免疫組織化学的に観察した。

#### 【材料と方法】

4週齢 GFP 発現ラット上顎第一臼歯を抜歯し、ただちに野生型ラット腹部皮下へ他家移植した。5, 10, 20 日後に移植歯を周囲組織と共に取り出し固定、通法に従い矢状断パラフィン切片を作製し、H-E 染色ならびに免疫組織化学的手法にて、 $\alpha$ -平滑筋アクチン、Smad4, Runx2, Osterix, Osteopontin, GFP の局在を観察した。また、移植前の上顎第一臼歯を同様に処理したものを対照歯とした。

#### 【結果】

対照歯は歯根が形成途中であり、象牙前質表面に円柱状の象牙芽細胞が配列していた。移植 5 日後、歯髄上部に壊死が生じ典型的な象牙芽細胞は消失したが、根尖部の象牙質に接して多数の細胞を封入した新生硬組織が認められた。10 日後、壊死組織の回復とともに、歯冠部歯髄で島状に線維性骨様組織が形成された。20 日以降、根尖部および歯冠部歯髄に形成された硬組織は量を増し、組織学的に骨様を呈した。

幹細胞および前駆細胞マーカーの一つである  $\alpha$ -平滑筋アクチンは、対照歯の歯髄細胞では陰性であったが、移植 10 日後の歯冠部歯髄において多数の陽性細胞が観察された。骨芽細胞分化マーカーの Smad4, Runx2, Osterix, Osteopontin は、対照歯の根尖部象牙芽細胞ならびにその近傍の subodontoblastic layer の細胞で陽性反応が認められた。移植後、これらの反応は、根尖部および歯冠部歯髄の骨芽細胞様細胞で観察された。歯の細胞由来であることを示す GFP は、根尖部および歯冠部歯髄の骨芽細胞様細胞で陽性を示した。

#### 【考察】

皮下移植後の歯髄腔内に形成される骨様組織は、歯髄組織に由来することが明らかとなった。根尖部歯髄では、移植前から骨芽細胞分化マーカーを発現する細胞が認められ、これらの細胞が移植後早期に象牙質に接する骨様組織を形成したと考えられた。一方、歯冠部歯髄で島状に形成された骨様組織は、歯髄の未分化細胞が  $\alpha$ -平滑筋アクチン陽性の前駆細胞を経て骨芽細胞様細胞へと分化し、形成したものと考えられた。従って、歯髄には分化段階の異なる骨芽細胞前駆細胞が存在し、広範囲な歯髄傷害後に骨様組織を形成することが示唆された。

## CFA 誘導性歯髄炎により発症する舌痛覚過敏に対する Toll-like Receptor4の関与

<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> 日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門

○大原 絹代<sup>1),2)</sup>, 清水 康平<sup>1),2)</sup>, 勝呂 尚<sup>1),2)</sup>, 武市 収<sup>1),2)</sup>, 平 亜希子<sup>1)</sup>, 鶴町 保<sup>1),2)</sup>, 小木曾 文内<sup>1),2)</sup>

### Toll-like receptor 4 in the trigeminal sensory neurons is involved in tongue-referred pain following tooth pulp inflammation

<sup>1)</sup> Departments of Endodontics, Nihon University School of Dentistry,

<sup>2)</sup> Divisions of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○Kinuyo Ohara<sup>1) 2)</sup>, Kohei Shimizu<sup>1) 2)</sup>, Hisashi Suguro<sup>1) 2)</sup>, Osamu Takeichi<sup>1) 2)</sup>, Akiko Hira<sup>1)</sup>,

Tamotsu Tsurumachi<sup>1) 2)</sup> and Bunnai Ogiso<sup>1) 2)</sup>

【研究目的】歯髄に炎症が引き起こされると、歯痛だけでなく顔面や舌の痛みを発症する症例に遭遇することがあるが、これは適切な診断と治療を行う上で大きな問題となっている。このような疼痛異常の発症メカニズムとして、三叉神経節(TG)細胞に発現する Toll-like receptor (TLR) が考えられているが、その神経機構に関しては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、歯髄炎によって舌に引き起こされる異所性疼痛異常に対してTG細胞に発現する TLR4 の役割を解明することを目的とした。

【材料及び方法】SD系雄性ラット(9w)の左側下顎第一臼歯を露髄させ、歯髄に Complete Freund's adjuvant (CFA)を投与した後に仮封し、CFA 誘導性歯髄炎モデルを作製した。歯髄処置前から処置後 21 日目まで、浅麻酔下にて左側舌背部に熱あるいは機械刺激を与え、頭部引っ込み反射閾値を測定した。また舌外側部に逆行性トレーサーである FluoroGold (FG)を 0.5µl 投与した後に歯髄処置後 3 日目で同モデルラットを灌流固定し、舌を支配する TG 細胞における TLR4 発現について免疫組織学的手法を用いて解析した。

さらに、歯髄炎モデルラットの TG 内に TLR4 アンタゴニスト(LPS-RS)を 3 日間持続投与し、舌への熱刺激あるいは機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値の変化を解析した。その後、舌外側部に逆行性トレーサーである FG を 0.5µl 投与し、TLR4 の内因性リガンドである HSP70 を標識物質 (Alexa Fluor 594) にて可視化し、歯髄に投与して仮封を行った。処置後 3 日目に、TGを光学顕微鏡にて観察し、HSP70 陽性細胞の有無を確認した。また、TLR4 の外因性リガンドであるLPSを歯髄に投与し、頭部引っ込み反射閾値を測定した。

【結果】CFA 処置後、舌の熱および機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値の有意な低下が認められ、この閾値低下は9日間続いた。また、歯髄炎発症後、TG 細胞において TLR4 発現が多数観察されたが、これらの内64.7%は舌への FG 投与によってラベルされたFG 陽性細胞であった。CFA 投与後、LPS-RSの三叉神経節内への持続投与により、舌の熱および機械刺激に対する頭部引っ込み反射閾値の低下が抑制された。また、HSP70 あるいは LPS の歯髄投与により、歯髄への CFA 投与と同様、投与後3日目に頭部引っ込み反射閾値の有意な低下が認められた。さらに、Alexa Fluor 594 で標識された HSP70 を歯髄に投与することによって、多くの FG 非陽性細胞が Alexa Fluor 594 陽性を示した。

【考察及び結論】以上の結果から、炎症歯髄で合成された HSP による TG 細胞での TLR4 産生亢進が舌の痛覚過敏を誘発する可能性が示唆された。すなわち、歯髄炎が発症により炎症歯髄で合成された HSP がTGに運ばれ、さらに炎症歯髄を支配するTG細胞から HSP が放出される。一方、舌を支配するTG細胞においては TLR4 の合成が亢進し、炎症歯髄を支配するTG細胞から放出された HSP が舌を支配するTG細胞に発現した TLR4 と結合することによりTG細胞活動が上昇し、結果的に舌の痛覚過敏を発症させるという疼痛メカニズムによるものと考えられた。

## 掲示および発表なしのため削除

### メカニカルストレスによりマウス歯髄組織に惹起される HSP27 の発現

<sup>1)</sup>松本歯科大学 歯科保存学第2講座

<sup>2)</sup>松本歯科大学病院 総合診療室

○佐藤将洋<sup>1)</sup>, 藤井健男<sup>2)</sup>, 山本昭夫<sup>1)</sup>, 笠原悦男<sup>1)</sup>

#### HSP27 Expression Induced by Mechanical Stress in the Mouse Dental Pulp Tissue

<sup>1)</sup>Department of Endodontics and Operative Dentistry, Matsumoto Dental University School of Dentistry

<sup>2)</sup>Comprehensive Examination Room, Matsumoto Dental University Hospital

○Masahiro Sato<sup>1)</sup>, Takeo Fujii<sup>2)</sup>, Akio Yamamoto<sup>1)</sup>, Etsuo Kasahara<sup>1)</sup>

**目的:**我々はマウスの歯列にコンポジットレジン修復などの歯科保存治療で行う歯間分離を行い、このメカニカルストレスの負荷によりその後の歯髄に惹起される組織変化について検討し、第136回の本学会大会において特に象牙芽細胞の活性化、すなわち第三象牙質形成傾向へのシグナル因子として Runx2<sup>1)</sup> に着目しその結果を報告した。また、Chromogranin A (ChgA) についても着目歯髄への発現を明らかにしたので<sup>2)</sup>、歯髄においても何らかの傷害修復を担っていると考察し、137回の本学会大会において報告した<sup>3)</sup>。今回は、種々のストレスの負荷により組織・細胞に誘導され、生体防御機構に中心的な役割を果たすと考えられているストレスタンパク質である HSP27 について検討した。

**方法:**実験には8週齢 ddY 雄性マウス計18匹を用い、臼歯間へのウェッジ挿入による3時間の歯間分離を行った。ウェッジ除去直後から3日後まで、当該部組織を経時的に上顎骨ごと採取し、病理組織学的検索に供した。歯髄組織における HSP27 の発現状況の観察には蛍光抗体法を使用した。採取した組織を、通法に従い厚さ4μmのパラフィン切片とし、脱パラフィン後に Proteinase K (Dako Japan, Tokyo) で5分間処理後、蛍光標識を施した抗体を反応させた。抗体には Anti-mouse HSP27 antibody (sc-65567, Santa Cruz Biotechnology, Inc, Dallas), 抗体の蛍光標識には Zenon® Alexa® Fluor labeling kit (Invitrogen, Carlsbad) を用い、1μgの抗体に対して5μlのZenon IgG labeling reagent を加えて抗体標識を行った。標識した抗体はPBSで希釈し、最終濃度1μg/mlで60分間室温にて組織と反応させた。反応終了後、PBSで洗浄し Fluorescent Mounting Medium® (Dako Japan, Tokyo) で封入して蛍光顕微鏡 (BX61, Olympus, Tokyo) を用いて観察した。

**結果:**ウェッジ未挿入の対照群の歯髄では一部の細胞に HSP27 が弱く発現していた。実験群では、ウェッジ除去直後群(0分群)の歯髄組織全域に HSP27 の強調された発現があった。発現している細胞は、歯髄固有細胞、血管内皮細胞が主体であった。ウェッジ除去3時間群においては、0分群と同様な細胞に発現しているほか、象牙芽細胞層とその近傍の歯髄細胞にも発現増強が認められた。しかし、この部の発現はウェッジ除去9時間群ではかなり減弱し、ウェッジ除去3日群(3日群)では、歯髄組織全域において発現が弱まり、対照群と同レベルになっていた。

**考察:**実験群の観察結果から、今回の HSP27 の発現状況による検証においても先の Runx2 の時と同様に、ウェッジ挿入による一時的な発現増強があるが、その発現は比較的短時間の内に弱まる(実験3日群)ことが確認された。ウェッジ挿入の負荷によって歯髄に発現増強した HSP27 は、一過性のものであり、歯間分離による傷害性刺激は歯髄細胞や象牙芽細胞などに致命的な傷害は与えないものと思われた。なお、対照群の歯髄における弱い発現は先に報告した Runx2<sup>1)</sup> や ChgA<sup>2,3)</sup> の発現と同じく、咬合圧などの生理的メカニカルストレスに対して HSP27 が恒常的に発現しているものと推察された。

**結論:**短時間のウェッジ挿入は、歯髄組織において速やかなストレス関連因子の発現を引き起こすが、速やかに消退したことから、HSP27 の発現状況を指標とする限り歯髄組織に与える障害性は低いことが示唆された。

会員外共同研究者: 中野敬介, 岡藤範正, 川上敏行 (松本歯科大学大学院 硬組織疾患制御再建学講座)

#### 文献:

- 1) 佐藤将洋, 他: 実験的歯間分離によりマウスの歯髄に発現する硬組織関連因子. 第136回日本歯科保存学会, P-84, 2012.
- 2) 佐藤将洋, 他: Chromogranin A のマウス歯髄と歯周組織における発現. J Hard Tissue Biol 20: 295-300, 2011
- 3) 佐藤将洋, 他: メカニカルストレスによりマウス歯髄組織に発現する Chromogranin A. 第137回日本歯科保存学会, P-36, 2012.

### 実験的歯髄炎はラット視床におけるミクログリアを活性化させる

1 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 機能再構築学講座 歯髄生物学分野

2 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

3 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

○河村 隼<sup>1</sup>, 金子友厚<sup>2</sup>, 山中裕介<sup>2</sup>, 伊藤崇史<sup>2</sup>, 砂川光宏<sup>1</sup>, 興地隆史<sup>2</sup>, 須田英明<sup>1,3</sup>

#### Experimental Pulpitis Causes Activation of Microglia in the Rat Thalamus

1 Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences

2 Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences.

3 Global Center of Excellence (GCOE) Program: International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Diseases

○KAWAMURA Jun<sup>1</sup>, KANEKO Tomoatsu<sup>2</sup>, YAMANAKA Yusuke<sup>2</sup>, ITO Takafumi<sup>2</sup>, SUNAKAWA Mitsuhiro<sup>1</sup>, OKIJI Takashi<sup>2</sup> and SUDA Hideaki<sup>1,3</sup>

#### (目的)

我々は、ラット臼歯に歯髄炎を惹起させると、惹起側とは対側の視床組織において p38 MAPK の活性化が生じ、視床の免疫担当細胞であるグリア細胞の増加も起こることを報告した(Kaneko et al., J Endod, 2010, 2013)。そこで本研究においては、実験的歯髄炎惹起後の視床グリア細胞の活性化についてさらに詳細に検索することを目的とし、活性化ミクログリアのマーカーの一つである OX6(抗クラス II MHC)を用いた免疫組織化学的解析を行うとともに、グリア細胞活性化関連遺伝子である Itgam (CD11b)、Aif1( IBA-1)および抗原提示細胞関連遺伝子である CD86 の定量的 mRNA 発現解析を行った。

#### (方法)

5 週齢雄性 Wistar ラットの下顎左側第一臼歯(n=40)を以下の 3 群に分類した。実験群: 生活断髄後、lipopolysaccharide (LPS)を貼薬し、コンポジットレジンを用いて仮封 (n=16)。コントロール群: 生活断髄後、生理食塩液を貼薬し、コンポジットレジンを用いて仮封 (n=16)。正常群: 生活断髄を行わない正常歯髄 (n=8)。

実験群、コントロール群の動物に対し、pentobarbital sodium (30 mg/kg) による全身麻酔下で、1/2 ラウンドバーを用いて被験歯を咬合面から切削後、根管口付近で歯髄を切断したのち、5  $\mu$ l の LPS(1 mg/ml)もしくは生理食塩液をマイクロシリンジで滴下後、ワンステップボンディング材(クリアフィルライエスボンド, Morita) およびフロアブルコンポジットレジン(UniFill Flow, GC)で窩洞を封鎖した。実験群、コントロール群については生活断髄 24 および 72 時間経過後(各 n=8)、また正常群については全身麻酔後直ちに対側視床を摘出し、免疫組織化学的解析(各 n=4)および mRNA 発現解析(各 n=4)に供した。免疫組織化学的解析については、4%パラホルムアルデヒド固定凍結切片を作製し、一次抗体として OX6 を用いて酵素抗体染色を行った後、各観察期間における OX6 陽性ミクログリアの密度を定量した。また、分子生物学的検解析については、全 RNA を抽出し、cDNA の合成を行った後、リアルタイム PCR を用いて Itgam、Aif1、および CD86 mRNA の発現を定量した。統計学的解析には Kruskal-Wallis 検定および Mann-Whitney の U 検定(Bonferroni 補正)を用いた。

#### (結果)

免疫組織学的検索: 72 時間後まで、実験群、コントロール群ともに、正常群に比べて OX6 陽性ミクログリアの密度は増加した(P<0.05)。各観察期間とも、実験群の方がコントロール群に比べて OX6 陽性ミクログリアの密度は有意に大きかった(P<0.05)。

分子生物学的検索: 72 時間後まで、Itgam、Aif1、および CD86 mRNA の発現量は、実験群、コントロール群ともに、正常群に比べて増加した(P<0.05)。各観察期間とも、実験群の方がコントロール群に比べて Itgam、Aif1、および CD86 mRNA の発現量は有意に大きかった(P<0.05)。

#### (考察)

LPS により歯髄炎を惹起した実験群では、コントロール群に比べてクラス II MHC 陽性ミクログリアの密度に加えて、グリア細胞活性化のマーカー遺伝子 Itgam、Aif1 および抗原提示細胞の活性化に関連する CD86 の発現量が、有意に高値を示した。従って、ラット臼歯に歯髄炎が生じると、痛みの神経シグナルの伝達により視床においてミクログリアが抗原提示細胞として活性化することが示唆された。

#### (結論)

ラット臼歯に対する歯髄炎誘発により、対側視床組織でクラス II MHC 陽性ミクログリアの増加および Itgam、Aif1 および CD86 mRNA の発現亢進が生じることが確認された。

## ラット切歯実験的歯髄炎が幹細胞関連遺伝子の発現に与える影響

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

○伊藤崇史、金子友厚、山中裕介、興地隆史

### Influence of experimental pulpitis on the expression of stem cell related markers in rat incisors

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

○ITO Takafumi, KANEKO Tomoatsu, YAMANAKA Yusuke, OKIJI Takashi

#### (目的)

我々は、ヒト歯髄組織と同様に、ラット臼歯歯髄組織中にも幹細胞関連遺伝子の発現が認められるとともに、幹細胞関連マーカーを発現する細胞が存在することを報告した(Kaneko et al., Cell Tissue Research, 2013)。しかし、これらの細胞の実態、あるいは歯髄における幹細胞関連遺伝子の発現動態の詳細は、依然として不明な点が多い。そこで本研究では、ラット切歯に歯髄炎を誘発した場合に幹細胞関連遺伝子発現にどのような変化が生じるのかを検索するために、幹細胞関連遺伝子 CD105 および CD146 mRNA の発現を RT-PCR を用いて解析した。

#### (方法)

5 週齢雄性 Wistar ラットの下顎切歯(n=12)を検索対象とした。実験群の動物に対し、8% chloral hydrate (350 mg/kg) による全身麻酔下で、1/2 ラウンドバーを用いて被験歯を水平方向に切削後、根管口付近で歯髄を切断したのち、1 µl の LPS (1 mg/ml) を貼薬後、水硬性セメント (キャビトン, GC) で窩洞を封鎖した (n=6)。コントロール群として生活断髄を行わない正常歯髄 (n=6) を用いた。実験群については生活断髄 24 および 72 時間経過後 (各 n=3)、また正常群については全身麻酔後直ちに切歯歯髄組織を摘出し、免疫組織化学的解析(コントロール群のみ n=3) および mRNA 発現解析(各 n=3) に供した。

免疫組織学的解析については、2% パラホルムアルデヒド固定凍結切片を作成し、CD146 および抗 microtubule-associated protein 1-B (MAP1-B) 抗体を一次抗体とした酵素抗体二重染色を行った後、正常切歯歯髄組織における CD146 および MAP1-B 二重陽性細胞の密度を定量した。

また、分子生物学的検解析については、全 RNA を抽出し、cDNA の合成を行った後、RT-PCR を用いて endoglin (CD105)、および CD146 mRNA の発現を確認した後、ImageJ ソフトウェアを用いて発現量を半定量的に解析した。統計学的解析には Mann-Whitney の U 検定 (Bonferroni 補正) を用いた。

#### (結果)

免疫組織学的検索において、正常切歯歯髄組織における CD146+/MAP1-B+ 陽性幹細胞様細胞の存在が確認された。これらは主として血管周囲に小型類円形の細胞として少数が確認された。

一方、分子生物学的検索においては、CD105 および CD146 mRNA の発現は、生活断髄・LPS 貼付 24 および 72 時間経過群とも、コントロール群よりも有意に低かった ( $P < 0.05$ )。

#### (考察)

CD146 は melanoma cell adhesion molecule と呼ばれ、血管内皮細胞のマーカーとして知られるのみならず、各種の間葉系幹細胞における発現が認められている。また CD105 も同様に各種の間葉系幹細胞における発現が認められており、新生血管内皮細胞に特異的なマーカーであることが知られている。炎症性刺激が結合組織の間葉系幹細胞の挙動に及ぼす影響はほとんど知られていないが、本研究では、LPS により歯髄炎を惹起した実験群では、正常歯髄に比べて CD105 および CD146 mRNA の発現量が有意に低値を示した。従って本実験条件では、炎症刺激により歯髄における幹細胞関連遺伝子の発現が低下し、組織修復に負の影響が及ぼされることが示唆された。

#### (結論)

LPS で誘発したラット切歯実験的歯髄炎においては、起炎 72 時間経過後までは、歯髄幹細胞に関連する CD105 および CD146 mRNA の発現抑制が生じることが確認された。

## α-TCP/Te-CP セメントの覆髄剤への応用

### 3) 病理組織学的評価

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> 歯科理工学分野<sup>2)</sup>  
○武田進平<sup>1)</sup>、河野 哲<sup>1)</sup>、神山智佳子<sup>1)</sup>、長谷川智哉<sup>1)</sup>、土井 豊<sup>2)</sup>、吉田隆一<sup>1)</sup>

## Application of α-TCP/Te-CP Cement to Pulp Capping Materials

### 3) Histopathological Evaluation

Department of Endodontics<sup>1)</sup>, Department of Dental Materials Science<sup>2)</sup>,  
Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

○TAKEDA Shinpei<sup>1)</sup>, KAWANO Satoshi<sup>1)</sup>, KAMIYAMA Chikako<sup>1)</sup>, HASEGAWA Tomoya<sup>1)</sup>, DOI Yutaka<sup>2)</sup>, YOSHIDA Takakazu<sup>1)</sup>

#### 【目的】

現在、直接覆髄剤として主に用いられている水酸化カルシウム製剤は早期に被蓋硬組織を形成し、その形成量も多い。しかし、pH12.5の強アルカリ性のため歯髄刺激が強く、場合によっては歯髄の広範囲な壊死を生じることや、形成される被蓋硬組織は裂隙を認め、多孔質であるため、被蓋硬組織の形成後にも辺縁漏洩による感染の危険性があることなどの問題点も指摘されている。一方、リン酸カルシウム化合物からなるα-TCP/Te-CPセメントは、生体親和性が高く、硬組織を誘導するため注目されている。我々は第135回および第136回日本歯科保存学会において、α-TCP/Te-CPセメントの各種練和液による理工学的諸性質への影響を検討した結果、α-TCP/Te-CPセメントは練和液を選択することで、覆髄剤として有用な性質が得られることを報告した。今回は、ラット臼歯露髄面に対し本セメントを応用し歯髄反応と被蓋硬組織の形成について病理組織学的に検討した。

#### 【材料および方法】

##### 1. 材料

α-TCP/Te-CPセメントは、炭酸カルシウムと第二リン酸カルシウム二水塩をモル比5:6で機械混合したものを、1500℃で5時間加熱し、得られた焼結塊を粉砕したものをセメント粉末とし、1Mリン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比2.0で練和したもの(以下; α-TCP/Te-CP I群)、2Mリン酸二水素ナトリウム水溶液と粉液比1.5で練和したもの(以下; α-TCP/Te-CP II群)、1Mクエン酸水溶液と粉液比2.5で練和したもの(以下; α-TCP/Te-CP III群)を実験に用いた。また、対照として水酸化カルシウム製剤であるダイカルを用いた。

##### 2. 方法

生後8週齢の雄性ラット(Wistar系)40匹に全身麻酔を施し、右側上顎第一臼歯にラバーダム防湿下で点状露髄させ、6%次亜塩素酸ナトリウムと3%過酸化水素水によるケミカルサージェリーを行い、生理食塩水で洗浄し、止血を確認した。その後、α-TCP/Te-CPセメントあるいは水酸化カルシウム製剤(ダイカル®)で直接覆髄を行った。7日および14日後に全身麻酔下にて灌流固定後、被験歯を上顎骨ごと取り出し、中性脱灰後にパラフィン包埋し、その後連続切片を作製し、H-E染色を行い、光学顕微鏡下で病理組織学的に検討した。

#### 【結果および考察】

いずれの材料でも覆髄7日後、14日後ともに歯髄に明らかな炎症細胞は認められなかった。α-TCP/Te-CP I群では覆髄7日後で一層の被蓋硬組織の形成を認めた。さらに、覆髄14日後には被蓋硬組織の厚さが増し、露髄部は封鎖されていた。しかし、形成された被蓋硬組織は一部に細胞を封入し、細管様構造は不明瞭であった。α-TCP/Te-CP II群では覆髄7日後では被蓋硬組織の形成は認めなかったが、覆髄14日後では明瞭な細管様構造を持つ厚い被蓋硬組織の形成を認め、露髄部は完全に封鎖されていた。α-TCP/Te-CP III群では覆髄7日後では被蓋硬組織の形成は認めなかったが、覆髄14日後では細管様構造を持つ厚い被蓋硬組織の形成を認め、露髄部は完全に封鎖されていた。ダイカル群では覆髄7日後で一層の被蓋硬組織の形成を認めた。さらに、覆髄14日後には被蓋硬組織の厚さが増し、露髄部は封鎖されていた。しかし、形成された被蓋硬組織は裂隙を認め、多孔質で不完全であった。α-TCP/Te-CP II群およびα-TCP/Te-CP III群のように、細管構造を有する均一な被蓋硬組織で露髄面を封鎖することにより、歯髄への感染の危険性を減少させると考えられることから、本セメントは覆髄剤として有用な材料であることが示唆された。

## 酸化マグネシウムを基材とした根管シーラーの接着に関する検討

東京歯科大学歯科保存学講座  
○湯浅 一洋 間 奈津子 山村 啓介 柏木 勢 森永 一喜

Evaluate of adhesion of magnesium oxide-based root canal sealer  
Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College  
○Kazuhiro Yuasa, Natsuko Aida, Keisuke Yamamura, Sei Kashiwagi and Kazuki Morinaga

### 【目的】

根管充填シーラーは、根管処置後の根尖部組織治癒に大きく関わり、根管充填において重要な働きを持つ。根管充填に用いるシーラーには具備すべきいくつかの重要な条件があり、根管の封鎖性、接着性や生体親和性が求められる。本研究は、新規開発した酸化マグネシウムを基材とした根管充填用シーラー (Magnesium oxide-based root canal sealer) を用いて、側方加圧充填および垂直加圧充填後の根管充填材と根管壁との接着強さについて検討することである。

### 【材料および方法】

試料は抜去ヒト上顎中切歯 (歯周病罹患により抜去された歯牙) を使用した。根管は根尖 40 号、06 テーパーに形成し、その後 3% 次亜塩素酸ナトリウム溶液と 18% EDTA 溶液にて根管洗浄を行った。根管充填用シーラーには MGO シーラー® (ネオ製薬株式会社)、AHplus® (デンツプライ三金株式会社) を使用した。根管充填にはガッタパーチャポイントを用いた側方加圧充填とオブチュラ II® (Texceed) を使用した垂直加圧充填を行った。

実験群として側方加圧充填は、LM 群 (ガッタパーチャポイント+MGO シーラー)、LA 群 (ガッタパーチャポイント+AHplus)、LC 群 (ガッタパーチャポイントのみ) の 3 群とした。垂直加圧充填は、VM 群 (ガッタパーチャポイント+MGO シーラー)、VA 群 (ガッタパーチャポイント+AHplus)、VC 群 (ガッタパーチャポイントのみ) の 3 群とした (各群 n=5)。充填後一週間湿度 100% 環境下にて保存した。観察部位は、根尖から 5mm の位置で厚さ 1mm となるよう水平にスライスし試料を作製した。スライスを金属板に設置しオートグラフ (AG-10kNIS; 島津製作所) にプランジャーを接続、クロスヘッドスピードを 0.5mm/min に設定し push-out strength bond test を行い、根管壁と根管充填材との接着強さを評価した。得られた圧力からガッタパーチャポイントを押し出すのに必要とした圧力 (MPa) を算出した。

### 【結果および考察】

LM 群は 2.55MPa と最も高い圧力を示し、他の群より高い値を示した。LM 群はシーラーを使用していない LC 群、VC 群に対し有意に高い値を示した。さらに最大検出力のグラフより LM 群ではガッタパーチャポイントの脱落より先にプランジャー先端部が試験片を突き抜けた。このことから、側方加圧充填時には高い接着力が得られることが考えられる。また垂直加圧充填時と側方加圧充填時を比較すると、垂直加圧充填時で接着力が小さい傾向が認められた。さらに LM 群は VM 群に対し有意に高い接着力を認めたことから、MGO シーラーは垂直加圧充填時に用いるオブチュラ II のような高温を与える充填法に適さないことが考えられる。

### 【結論】

MGO シーラーを用いた根管充填材は、根管壁と強く接着することが確認された。また、垂直加圧充填に比較し、側方加圧充填での接着力が高いことが示唆された。

## 新規イオン徐放性 S-PRG フィラー含有根管シーラーの生体適合性の検討

<sup>1</sup>北海道大学大学院歯学研究科歯周歯内療法学教室

<sup>2</sup>株式会社 松風

○田中佐織<sup>1</sup>, 宮治裕史<sup>1</sup>, 西田絵利香<sup>1</sup>, 金山和泉<sup>1</sup>,  
加藤昭人<sup>1</sup>, 中塚稔之<sup>2</sup>, 川浪雅光<sup>1</sup>

### Biocompatibility of new ion-releasing root canal sealer containing S-PRG filler

<sup>1</sup>Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine

<sup>2</sup>SHOFU INC.

○TANAKA Saori<sup>1\*</sup>, MIYAJI Hirofumi<sup>1</sup>, NISHIDA Erika<sup>1</sup>, KANAYAMA Izumi<sup>1</sup>,  
KATO Akihito<sup>1</sup>, NAKATSUKA Toshiyuki<sup>2</sup>, KAWANAMI Masamitsu<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

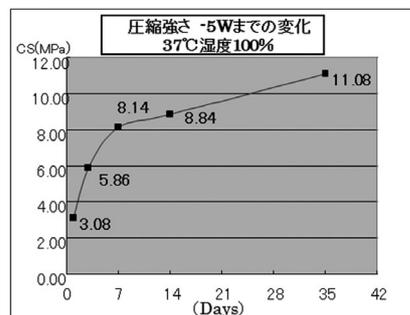
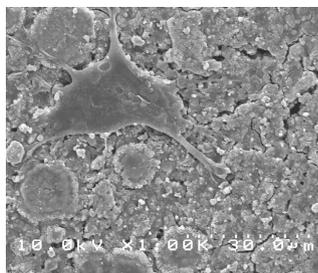
根管充填用シーラーは、根管充填後に根尖周囲組織に接触する可能性があり、生体適合性が求められる。最近では、臨床応用されるようになってきたレジン系シーラーは生体親和性が良好とされている。一方、新たな根管充填材料として S-PRG フィラー含有根管シーラーが松風により開発された。S-PRG フィラーはコンポジットレジンや歯面コーティング剤など、主に修復分野で応用され、Fをはじめ、Na<sup>+</sup>, B03<sup>3-</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Si03<sup>2-</sup>, Al<sup>3+</sup>などのイオン徐放性を持ち、再石灰化促進や抗菌性が報告されている。本研究では新規イオン徐放性 S-PRG フィラー含有根管シーラーを用いて、その生体適合性を検討したので報告する。

#### 【材料と方法】

本実験には、S-PRG フィラー含有シーラーSI-R20502を用いた。シーラーを練和し、直径4ミリ、高さ1ミリに成形し、37℃、湿度100%中で2時間保管し、硬化させたものを試料とした。表面形態をSEMにて観察した。細胞親和性評価のために、24 well plate に試料を静置し、1万個に調整したMC3T3-E1細胞を播種して、2時間培養を行った後にSEMにて細胞の性状を観察した。また作製した試料の圧縮強さを1日後及び1、2、5週後に測定した。次にラットに全身麻酔下、局所麻酔下で試料を背部皮下に埋植、術後10日および5週後に組織学的観察を行った。

#### 【結果と考察】

試料のSEM観察では、表面は粗造で約1-2μmの小孔が観察される部位がみられた。培養2時間後の試料では、細胞の伸展を確認(下図左)、細胞親和性は良好であると考えられた。圧縮強さは、1週間まで急激に増加しその後5週まで緩やかに上昇した(下図右)。ラット皮下への埋植10日後の組織学的観察では、材料周囲に若干のリンパ球の浸潤が認められたが、概ね良好な生体適合性を示した。また埋植5週間後では炎症性細胞浸潤などの炎症所見はなく、生体適合性は良好であると考えられた。シーラーの硬化が5週まで継続して進行し、それに伴って生体適合性も向上した可能性が考えられる。



#### 【結論】

新規イオン徐放性 S-PRG フィラー含有シーラーの生体適合性は良好であることが示された。

## オレイン酸、ユージ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の寸法変化と硬化度

<sup>1</sup>日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座, <sup>2</sup>共同利用研究センターRI 研究室  
○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>

### Size-changing and Hardening rates of new root canal sealer contained mainly with oleic acid, eugenol and zinc oxide

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

#### 【研究目的】

第 137 回の本学会において、従来の酸化亜鉛ユージノール系シーラーと含有ユージノール量を低減させた新規根管充填用シーラーでは、細菌発育阻止帯の形成と遊離したユージノール量との間には相関が認められることを報告した。今回は、シーラーの継時的な寸法変化と硬化度について検討を行った。

#### 【材料】

##### 1. 新規根管充填用シーラーの組成

粉 剤 (1g 中) : 酸化亜鉛 (堺化学工業) 0.4g、ロジン (荒川化学工業) 0.4g、その他 0.2g

液 剤 (1ml 中) : オレイン酸 (日油) 0.75ml、ユージノール (日本粉末薬品) 0.15ml、その他 0.1ml

粉剤 1g に対して液剤 0.5ml の割合で 30 秒間練和し、各実験に用いた (粉液比 2.0)。

##### 2. シーラー寸法変化試験

1. の比率で 30 秒間練和したシーラーをガラス平板上に置いた内径 6mm、高さ 12mm のステンレス製円柱形分割型に過剰に充填した。金型の上方にもう一枚のガラス平板を押し付けクランプで強く締め付けたまま、練和開始から 5 分後に恒温高湿器中 (37°C、100%湿度) に 24 時間静置した。試料の両端は注水下で耐水研磨紙上を往復させて平滑な面とした。試料を金型から取り出し、両端間を測定単位 10 $\mu$ m で測定してから、37°C の蒸留水中に保存した。試料を 1, 3, 6, 7, 10, 14, 21, 25, 30, 40 日後にそれぞれ測定し、蒸留水浸漬前の値と比較した。なお、測定は各条件につき 3 試料ずつ行った。

##### 3. シーラー硬化度試験

内面を粗造にした内径 8mm、長さ 5mm のガラス管を 50mm $\times$ 50mm のガラス板上に置き、練和したシーラーを充填した。練和開始から 5 分後に恒温高湿器 (37°C、100%湿度) に移し、24 時間静置した。試料を 1, 3, 6, 7, 10, 14, 21, 25, 30 日間 37°C の蒸留水中に浸漬し、硬化度測定用試料とした。先端径 1mm、長さ 100mm の測定針を装着したテクスチャーアナライザ (EZ Test、島津製作所) の試料台上に、自家製固定装置を用いて試料の上面が測定針に接触するように固定後、測定針が試料の中央部に進入するように調整した。1mm/sec の速度で測定針が試料に進入する際の荷重変化は、専用データ処理ソフト (TRAPEZIUM、島津製作所) で記録し、硬化度の比較に用いた。なお、測定は各条件につき 3 試料ずつ行った。

#### 【結果とまとめ】

1. 新規シーラーの寸法は、蒸留水に浸漬後 3 日目まで一過性に減少するものの、その後は徐々に増加し、30 日目まで練和直後に比べて 0.12% 増加して平衡状態に達した。

2. 新規シーラーの硬化度は、減少することなく 3 日目まで経時的に増加し、その後平衡となった。

今回の実験結果から、新規シーラーは通常の酸化亜鉛ユージノール系シーラーにおける根尖部封鎖性低下の一因とされたシーラー硬化時の収縮傾向が飛躍的に改善され、膨張型を示すことが明らかとなった。今後はシーラーの臨床応用時の留意点などについて詳細な検討を進めていく予定である。

## 新規接着性レジン系シーラーのコロナルリーケージの評価

サンメディカル株式会社研究開発部<sup>1</sup>, 日本大学松戸歯学部保存修復学講座<sup>2</sup>

日本大学松戸歯学部歯内療法学講座<sup>3</sup>

○大槻晴夏<sup>1</sup>, 山本裕也<sup>1</sup>, 小里達也<sup>1</sup>, 若松尚吾<sup>2</sup>, 山本憲廣<sup>2</sup>, 松島潔<sup>3</sup>, 池見宅司<sup>2</sup>

### Evaluation of newly developed adhesive root canal sealer on coronal leakage

Sun Medical Co., Ltd. Research Department<sup>1</sup>

Department of Operative dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo<sup>2</sup>

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

○Haruka Otsuki<sup>1</sup>, Yuya Yamamoto<sup>1</sup>, Tatsuya Ori<sup>1</sup>, Shogo Wakamatsu<sup>2</sup>, Norihiro Yamamoto<sup>2</sup>,  
Kiyoshi Matsushima<sup>3</sup>, Takuji Ikemi<sup>2</sup>

#### 【緒言】

根管治療に使用される材料の一つとして根管充填用シーラーがある。ユージノール系や非ユージノール系、エポキシレジン系、アクリルレジン系などの様々なタイプが存在しており、その殆どは歯質接着性が付与されていない。シーラーの使用目的は根管充填材の緊密性をより高め、歯冠側からの細菌侵入と根尖孔側からの滲出液を抑制することであり、歯質接着性を有するシーラーには無菌化の獲得が難しい根管内の先駆細菌叢を樹脂含浸層にて封じ込めることも期待できる。接着性レジン系シーラーとして4-META/MMA-TBB レジンのスーパーボンド根充シーラーやセルフエッチングタイプのMetaSEALが根管象牙質への接着性に優れることが報告されており、これらはレジンであるが故に再根管治療に至った場合の除去性への不安があった。最近、MetaSEALの除去性を改良して硬化後でも軟質な物性を有するメタシール Soft が発売されたが、その根管封鎖性については明らかではない。そこで本研究ではメタシール Soft のコロナルリーケージを評価するべく、*in vitro*での色素浸入試験並びに細菌侵入試験を行い、MetaSEALと比較検討を行ったので報告する。

#### 【材料及び方法】

実験には生理食塩水中にて冷凍保管された40歳以上のヒト単根抜去歯牙を使用した。歯牙は根尖から約12mmの位置にて歯冠部分を切除し、メルファー社製Kリーマー#15にて穿通させた後に同社のHファイルを用いて#60まで拡大形成した。次に、モルホニン歯科用液(昭和薬品化工株)にて2分、次いで2.5%NaOCl水溶液にて2.5分間の根管洗浄を行った後に水洗した。ペーパーポイントにて根管内部の水分を除去した後、メタシール Soft 付属のエンドノズルを用いて根管内部にメタシール Soft またはMetaSEAL(共にサンメディカル株)を填入し、シングルポイント法にて根管充填を行った(n=3)。根充後のサンプルは37℃湿潤化にて24時間保管した後、スーパーボンドを用いて歯冠側にガラス管を隙間が生じないように固定した。色素浸入試験サンプルは精製水を、細菌侵入試験サンプルには液体培地を各々3mL入れた遠心チューブに根尖部2mm程度が浸漬するように静置した。ガラス管内には1%メチレンブルー水溶液もしくはStreptococcus mutans及びLactobacillus Caseiを混合した細菌懸濁液を各々入れ、パラフィルムを用いて開口部から漏洩しないように軽く巻き付けて37℃の湿度95%環境下にて保管した。色素浸入試験は1, 5, 9, 21, 28日経過後のメチレンブルー漏洩量を確認するため、マイクロプレートリーダー(Model 680, Bio-Rad)を用いて吸光度を測定した。細菌侵入試験については侵入の有無を培地の混濁度合を指標として目視にて確認した。

#### 【結果及び考察】

メチレンブルー漏洩量を測定した結果、各測定期間においてメタシール Soft とMetaSEAL共にコントロールの精製水と同等の吸光度であった。細菌侵入試験においても4週間までは培地の混濁はなく、目視による細菌の侵入は確認されなかった。漏洩が認められなかった理由として、両製品共に4-METAとHEMAを基材とした親水性シーラーで歯質浸透性と拡散性に優れる結果と考える。また、重合開始剤が親水性であることから浸潤した歯質界面での重合性が高く、さらに重合時の収縮応力が歯質方向に向かうために歯質界面での隙間が生じにくかったものと推察した。

#### 【結論】

二種の接着性レジン系シーラーを用いてシングルポイント法にて根充したサンプルのコロナルリーケージを*in vitro*で評価した結果、両シーラー共に4週間までの期間において根尖からの色素並びに細菌漏洩は確認されなかった。以上のことから、メタシール Softの根管封鎖性は4週まではMetaSEALと同程度の性能を有していることが示唆された。

## 新たな接着性レジン系シーラーである MetaSEAL soft の除去に関する基礎的研究

1 日本大学松戸歯学部歯内療法学講座 2 日本大学口腔科学研究所

○馬場俊晃<sup>1</sup>, 川島正<sup>1,2</sup>, 五味博之<sup>1</sup>, 酒井きよ美<sup>1</sup>, 三浦孝司<sup>1</sup>, 辻本恭久<sup>1,2</sup>, 松島 潔<sup>1,2</sup>

### Basic Study on removal of MetaSEAL which is a new resin-based endodontic sealer

1 Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

2 Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○BABA Toshiaki<sup>1</sup>, KAWASHIMA Tadashi<sup>1,2</sup>, GOMI Hiroyuki<sup>1</sup>, SAKAI Kiyomi<sup>1</sup>, MIURA Takashi<sup>1</sup>,  
TSUJIMOTO Yasuhisa<sup>1,2</sup>, MATSUSHIMA Kiyoshi<sup>1,2</sup>

### 緒言

近年、様々な接着性レジン系シーラーが開発され、歯科臨床に応用されるようになってきている。接着性レジン系シーラーは適切な処理がなされた根管壁象牙質に対して接着性を有し、また、良好な根管封鎖性を示すことが報告されている。しかし、接着性レジン系シーラーの問題として、再根管治療の適応となった際の除去が困難であることが指摘されている。近年発売された MetaSEAL soft (MS-soft, サンメディカル) は硬化後の物性が軟質であり、再根管治療の際にファイルなどによる除去が容易であるよう開発された接着性レジン系シーラーである。本研究では、MS-soft の持つ、除去が容易であるという性質について、既存の接着性レジン系シーラーである MetaSEAL (MS, サンメディカル) および酸化亜鉛ユージノールセメントである CANALS (CNL, 昭和薬品化工) との比較により検討した。

### 方法

固形根管充填材として、06 テーパーのガッタパーチャポイント、シーラーとして MS, MS-soft, CNL を実験に供した。透明レジン製規格根管模型(#80, 06 テーパー, 根管長 16 mm)を 15 根管用意し、MS 群, MS-soft 群, CNL 群の 3 群(n=5)に分けた。

06 テーパーのガッタパーチャポイントを用いたシングルポイント法によって模型に根管充填を行った後、すべての試料を 37°C, 100%湿度の条件下で 24 時間硬化させた。硬化した根管充填材料を NRT-GPR(マニー)を用いたクラウンダウン法により除去した。その際、除去に要する時間を計測するとともに、除去前後の重量を計測し、除去された根管充填材料の重量を算出した。

計測された値は全て、一元配置の分散分析後、Tukey 検定により ( $p < 0.05$ ) で統計処理を行った。

### 結果

根管充填材料の除去に要した時間:MS>CNL>MS-soft の順に根管充填材料の除去に時間を要した。MS 群と MS-soft 群の間に有意差( $p < 0.05$ )が認められた。

除去された根管充填材料の重量:MS-soft>CNL>MC の順に除去された根管充填材料の量が多かったが、全群において、有意差は認められなかった。

### 結論

MetaSEAL soft は接着性レジン系シーラーでありながら、CANALS と同程度に除去が可能である事が判明した。

## 新規接着性シーラーの細胞毒性について

サンメディカル株式会社研究開発部<sup>1</sup>, 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野<sup>2</sup>  
○山本裕也<sup>1</sup>, 大槻晴夏<sup>1</sup>, 小里達也<sup>1</sup>, 林善彦<sup>2</sup>

### Cytotoxicity evaluation of a newly developed adhesive root canal sealer

Sun Medical Co., Ltd. Research Department<sup>1</sup>  
Department of Cariology, Unit of Translational Medicine, Medical and Dental sciences, Nagasaki University<sup>2</sup>  
○Yuya Yamamoto<sup>1</sup>, Haruka Otsuki<sup>1</sup>, Tatsuya Ori<sup>1</sup>, Yoshihiko Hayashi<sup>2</sup>

#### 【研究目的】

歯内療法において感染歯質の除去と清掃, 並びに緊密な充填が治療予後に大きく影響する。現在, 根管充填用シーラーとして酸化亜鉛-ユージノール系やアクリルレジン系, エポキシレジン系等の様々なシーラーがガッタバーチャポイントとの併用により臨床応用されているが, 不十分な根管封鎖性による二次的な細菌感染で再根管治療に至ることもある。近年, より封鎖性を高めることを目的として接着性シーラーが開発され, 4-META/MMA-TBB レジンであるスーパーボンド根充シーラー(サンメディカル株式会社)や4-META含有のセルフエッチングタイプのMetaSEAL(Parkell, Inc.)が市販されるようになった。しかし, これら接着性シーラーは優れた接着性能と根管封鎖性を有している反面, 再根管治療時の除去が困難との指摘もある。レジンでありながら重合後でも軟質な物性を発現することで機械的な除去を可能とした接着性シーラー・メタシール Soft(サンメディカル株式会社)が発売されたが, その生体親和性についての報告はない。そこで本研究ではメタシール Softの生体親和性に関して, ISO規格に準じてチャイニーズハムスター繊維芽細胞株 V79 を用いた細胞毒性試験を行った。更に, すでに臨床実績のあるスーパーボンド根充シーラーやMetaSEALと比較検討したので報告する。

#### 【材料及び方法】

細胞毒性試験はISO10993に準拠したMTT assay法にて行った。メタシールSoft, スーパーボンド根充シーラー及びMetaSEALの各シーラーを10×10×1mmの孔の開いたテフロンモールドに充填し, ガラス板で挟み込んで37°Cで24時間重合させて硬化体を作製した。各硬化体25枚を $\alpha$ -modified minimal essential medium( $\alpha$ -MEM, life technologies社), 5%(wt%) fetal bovine serum(FBS, Hyclone社), 0.05%(wt%)カナマイシン(京都和光純薬社)からなる培養液10mlに投入し, 37°Cで24時間抽出して試験培地を調製した。次にチャイニーズハムスター線維芽細胞株V79を96ウェルマイクロプレートに $1.0 \times 10^4$  cells播種して37°C, 5%CO<sub>2</sub>環境下で24時間培養した後, 各試験培地及びコントロールとして未浸漬の培地それぞれに交換して更に24時間培養した。培養後にテトラゾリウム塩WST溶液(Premix WST-1, タカラバイオ社)を10  $\mu$  L添加して37°C, 5%CO<sub>2</sub>環境下で2時間培養後にマイクロプレートリーダー(Bio Rad社)にて蛍光測定(Ex/Em: 450/630nm)を行った(n=3)。コントロールの測定値に対する百分率を製品ごとに算出し, 有意差検定は一元配置分散分析の後, 多重比較としてTukey法を用いて有意水準5%で行った。

#### 【成績及び考察】

コントロールを基準とした測定値に対する百分率がメタシール Soft, MetaSEAL 及びスーパーボンド根充シーラーの順に 8.4%, 11.7%, 85.7%であった。スーパーボンド根充シーラーの細胞毒性が有意に低い結果となり, メタシール Soft と MetaSEAL の間に有差は認められなかった。スーパーボンド根充シーラーは MMA を基材とした疎水性シーラーであるのに対して, メタシール Soft 及び MetaSEAL は HEMA を基材とした親水性シーラーである。親水性シーラーの方が培養液中に未反応モノマーが溶出しやすく, また培養液の pH も酸性に傾いていたことから 4-META の溶出も合わさるため細胞毒性が高くなったものと考えられる。しかしながら, MetaSEAL は米国で 2007 年に発売以来, 約 6 年間にわたり臨床応用されており, MetaSEAL と同程度の細胞毒性であったメタシール Soft も, 臨床においてはこれと同等の生体親和性を有すると推察された。

#### 【結論】

メタシール Soft の細胞毒性試験を MTT 法により評価した結果, その細胞毒性はスーパーボンド根充シーラーと比較して明らかに劣っていたが, MetaSEAL とは同等であった。

## 垂直破折歯根の破折間隙の化学的拡大が接着後の封鎖性に及ぼす効果

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  
○西尾 啓英, 菅谷 勉, 川浪 雅光

### The effect of chemical enlargement on sealing of the gap of vertical root fracture

Department of Periodontology and Endodontology,  
Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University  
○Takahide Nishio, Tsutomu Sugaya, Masamitsu Kawanami

#### 【緒言】

垂直破折した歯根の治療は、破折線の細菌を除去して接着、封鎖することが基本である。その方法の一つに、根管内から破折線を超音波スケーラーで切削し、感染歯質を除去するとともに接着性レジンの流入スペースを形成する方法がある。しかし、根管内から破折線を歯根膜に達するまで切削するには、多くの時間と熟練を必要とする。そこで、薬剤によって化学的に破折間隙を溶解、拡大することで接着性レジン流入スペースを確保できれば、術式が簡易化できる可能性が考えられる。

本研究の目的は破折間隙を化学的に拡大することが、接着性レジンによる接着性、封鎖性に及ぼす影響を検討することである。

#### 【材料と方法】

ヒト抜去歯 10 本から、歯冠を切除してセメント質を除去し、約  $10 \times 10 \times 1$  mm の象牙質片 20 個を作製した。象牙質片は象牙細管に平行な方向で破折させ、元の位置に復位し、両端をメガボンドで固定して、破折間隙の化学的拡大を行う処理群と、破折間隙の処理を行わない未処理群に無作為に分けた。処理群では、試料の破折間隙を 10% クエン酸/3% 塩化第二鉄水溶液(表面処理材グリーン、以下 10-3) 5 分、10% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液(ネオクリーナー) 2 分の処理を 3 回繰り返した。その後、両群とも芳香族スルフィン酸塩(アクセル) 処理 10 秒、10-3 処理 10 秒を行って、スーパーボンド(混和ラジオペーク)をモノマー液 4 滴、キャタリスト 1 滴、ポリマー粉末 1 杯を混和して、破折間隙上に滴下した。

24 時間後、0.5% 塩基性フクシンに 24 時間浸漬し、試料中央部で切断して光学顕微鏡下で①試料の厚み、②破折間隙幅、③スーパーボンド流入率：試料の厚みに対するスーパーボンドの侵入長さの割合、④色素侵入率：試料の厚みに対する色素侵入距離の割合を計測するとともに、断面の SEM 観察を行った。

#### 【結果と考察】

試料の厚みは処理群が  $1183.5 \pm 328.4 \mu\text{m}$ 、未処理群が  $1058.8 \pm 249.0 \mu\text{m}$  で有意差は認められなかった。破折間隙幅は、処理群の根管側が  $115.6 \pm 78.6 \mu\text{m}$ 、歯根表面側が  $46.0 \pm 21.0 \mu\text{m}$ 、未処理群がそれぞれ  $28.9 \pm 15.4 \mu\text{m}$ 、 $11.4 \pm 7.6 \mu\text{m}$  で、根管側、歯根表面側とも未処理群と比較して処理群の方が有意 ( $p < 0.05$ ) に広がった。スーパーボンド流入率は、処理群が  $92.8 \pm 22.7\%$ 、未処理群が  $17.7 \pm 22.7\%$  で処理群の方が有意 ( $p < 0.05$ ) に高く、歯根表面近くまで流入していた。色素侵入率は、処理群が  $9.8 \pm 4.2\%$ 、未処理群が  $29.3 \pm 3.6\%$  で、処理群が有意 ( $p < 0.05$ ) に低かった。

また SEM 観察では、未処理群はスーパーボンドが破折間隙に流入していても象牙質との間に間隙が生じている部分が多かったのに対して、処理群では間隙が見られる部分はわずかで、長いレジントグも観察された。

以上の結果から、破折間隙内に薬剤が侵入して象牙質を溶解し、破折間隙幅が広がり、水洗、乾燥が確実にできるようなるとともに、スーパーボンドが流入しやすくなって、封鎖性が向上したと考えられた。

#### 【結論】

破折間隙を 10% クエン酸/3% 塩化第二鉄水溶液と次亜塩素酸ナトリウムで処理することは、破折間隙を拡大してスーパーボンドによる破折間隙の封鎖性を向上させるのに効果的であることが示唆された。

## 根管內歯根接着法による垂直歯根破折歯の破壊抵抗性に関する研究

神奈川県歯科大学口腔治療学講座歯内療法学分野  
○三橋 晃、天川 丹、川島榮里子、石井信之

### The Study of the Fracture Resistance of the repaired Vertical Root Fracture

Kanagawa Dental University

○Akira Mitsuhashi, Akira Amakawa, Eriko Kawashima, Nobuyuki Tani- Ishii

#### 【研究目的】

近年、歯科用マイクロスコープの普及により、診断時に歯根の亀裂や破折の存在を確認することが可能になった。従来、垂直歯根破折歯は抜歯の対象であったが、接着性材料（スーパーボンド、接着性レジン）やMTAセメントの開発により、保存療法への応用が可能になりつつある。垂直歯根破折歯の保存療法は、抜歯後に口腔外で歯根を接着後に再植する方法と抜歯せずに根管内から歯根接着を行う方法（根管内歯根接着法）に大別される。後者は抜歯による歯根膜傷害がないことを長所とする。本研究は、垂直性歯根破折歯が歯根接着後の咬合力負荷に対する破壊抵抗性を比較検討することを目的とした。

#### 【材料および方法】

実験にはヒト単根抜去歯を用いて垂直歯根破折モデルを作製し、種々の接着性材料で歯根接着後に破壊抵抗性を測定し比較検討した。垂直歯根破折モデルは、破折歯を再現するために歯根の表層側方向よりダイヤモンドディスク（松風社製）を用いて根管に達するまで亀裂を作成した。根管内歯根接着法は破折単根抜去歯を髓腔開拓後に、Ni-Ti ローターファイル・プロテーパー（デンツプライ三金）を使用してF3まで根管形成後、オブチュラIIにより垂直加圧根充を行った。根尖3mmのガッタパーチャーを残して根管形成し、歯科用マイクロスコープ下で根管内より亀裂部分を象牙質を超音波チップ（OSADA社製）で調整し、スーパーボンド（サンメディカル社製）を用いて亀裂を修復した。

単一のファイバーポストを用いて築造したシングルポスト群、複数のファイバーポストを用いて築造したマルチポスト群、および根管形成後ファイバーポストにより築造をしない対照群に分類した。

- ①シングルポスト群：単一のファイバーポストとレジンにて築造した群（i-TFCシステム；サンメディカル社製）
- ②マルチファイバーポスト群：複数のファイバーポスト（FibreKor；ペントロンジャパン）を根管内径に合わせてスーパーボンドとともに築造を行った群
- ③対照群：根管形成後、築造形成を施していない歯根破折歯

実験群すべての試料を恒温恒湿槽に7日間浸漬固定後、即時重合レジン（ジーシー社製）にて歯根部を固定し、負荷条件を一定にするために切縁側を水平に切断し、同部位にオートグラフ（島津社製）を使用して、歯牙に歯冠方向より負荷をかけ（0.5mm/min、チャートスピード200mm）破壊抵抗性を測定した。また破断面をレーザー顕微鏡（OLYMPUS社製OLS1100）で観察し、破壊挙動を分析し、評価した。

#### 【成績】

各実験群は、いずれも対照群に比較して破壊抵抗性は増強した。ファイバーポストを使用した実験群はファイバーポスト未使用群と比較して破壊抵抗性は増強し、さらに複合ファイバーポスト群では、高い破壊抵抗性を示す傾向があった。

#### 【考察および結論】

破折歯を修復した手技を比較検討した結果、ファイバーポストを挿入した方がその破壊抵抗性は高く、ファイバーポストの物性を反映したものと考えられる。さらに複数のポストを組み合わせた方がより歯質を強化することが示唆された。

## 多根歯における電気歯髄診査の反応

鶴見大学歯学部口腔顎顔面放射線・画像診断学講座<sup>1)</sup>、附属病院総合歯科<sup>2)</sup>、  
歯周病学講座<sup>3)</sup>、短期大学部歯科衛生科<sup>4)</sup>

○市古敬史<sup>1)</sup>、大藏眞太郎<sup>1)</sup>、矢作保澄<sup>2)</sup>、八島章博<sup>3)</sup>、小林一行<sup>4)</sup>、山口博康<sup>2)</sup>、小林 馨<sup>1)</sup>

### Responses of electric pulp testing in multi rooted teeth

Tsurumi University, School of Dental Medicine,  
Department of Oral and Maxillofacial Radiology and Diagnosis<sup>1)</sup>,  
Department of General Dentistry<sup>2)</sup>, Department of Periodontology<sup>3)</sup>,  
Tsurumi Junior College, Department of Dental Hygiene<sup>4)</sup>.

○Takashi Ichiko<sup>1)</sup>, Shintaro Okura<sup>1)</sup>, Hozumi Yahagi<sup>2)</sup>, Akihiro Yashima<sup>3)</sup>, Kazuyuki Kobayashi<sup>4)</sup>  
Hiroyasu Yamaguchi<sup>2)</sup> and Kaoru Kobayashi<sup>1)</sup>

#### 【目的】

大臼歯の感染根管治療において、一部の歯髄に生活反応が認められることがある。また、多根歯の一根に根尖透過像を有していても、他の根管に生活反応を認める場合がある。そのため多根歯の感染根管の診査では、根管ごとの歯髄診断が重要である。本研究では多根歯の診査および歯髄診断法について報告する。

#### 【方法】

鶴見大学歯学部附属病院総合歯科2における歯内療法症例のうち、多根歯各根管で生活、失活反応を示す大臼歯6症例(上顎第一大臼歯2例、第二大臼歯3例、下顎第一大臼歯1例:男性5名、女性1名 平均年齢49歳)に対し、通法に従い診査した。生活反応については電気歯髄診断法 Analytic vital Scanner で判定した。

#### 【結果】

6症例19根管中、11根管に失活根が認められた。失活反応を示した根管は、上顎では5歯中頬側8根、口蓋根1根、下顎では1歯中頬側根2根であった。症例について示す。

**症例1:** 64歳男性、上顎左側第一大臼歯でIn修復、歯周ポケットは最深値5mm、頬側にフィステルが認められた。電気診において頬側根2根が失活し、口蓋根は53値を示した。

**症例2:** 66歳女性、上顎左側第二大臼歯でIn修復(近心に間接覆髄)、歯周ポケットは最深値で11mm、電気診において頬側根2根が失活し、口蓋根は62値を示した。X線所見で根尖部透過像を示した。

**症例3:** 33歳男性、下顎第一大臼歯でIn修復(近心に間接覆髄)、歯周ポケットは最深値で2mm、電気診において頬側の2根が失活を示し近心舌側根36値、遠心舌側根48値を示した。頬側部に膿瘍が認められた。

**症例4:** 44歳男性、上顎右側第一大臼歯で歯周ポケットは最深値で2mm、クラウン再製作のため覆髄し、形成後、頬側2根が失活、口蓋根が56値を示した。

**症例5:** 40歳男性、上顎右側第二大臼歯、修復物は認められず、遠心に歯髄腔に達する透過像(う蝕)が認められる。歯周ポケットは最深値で4mm、電気診において遠心頬側根54値以外は失活を示した。

**症例6:** 40歳男性、上顎右側第一大臼歯に修復物下にう蝕を認めた。歯周ポケットは最深値で4mm、電気診において近心頬側根が失活、遠心頬側根48値、口蓋根45値を示した。

#### 【考察】

本研究より多根管である場合、特に歯髄に近接した覆髄がされた部位からの感染が考えられた。多根歯の場合、詳細な電気歯髄診断を行わずに根管治療を行った場合、治療途中に生活反応を示す場合があり、根管に切削刺激など加えた場合、著しい疼痛を伴う。また、途中から浸潤麻酔処置を行わなければならない、患者の不信感を与えてしまう可能性も考えられ、ラポール形成にも影響を与える可能性がある。近年、先制疼痛抑制の概念より、手術中の疼痛刺激は術後疼痛を及ぼし、難治性疼痛発症の原因になりうることも考えられるため、術中の疼痛刺激は避けることが望ましい。本症例における各根管への電気刺激による診査法は、各根のエナメル歯頸部に限局してプローブを接触させ診査する必要がある。また、唾液などの流入を避け、乾燥状態を保つ必要がある。さらに金属修復物がある場合は本術式の応用が困難であり術式を改良する必要もあり、多根歯の生活歯髄反応診査として検討する予定である。

#### 【結論】

多根歯の診査では、根管ごとの電気歯髄診断が必要である。

#### 【文献】

Mumford JM. Pain perception threshold and adaptation of normal human teeth. *Arch Oral Biol.* 1965; 10: 957-68.

### 深在性う蝕に対する歯髄温存療法と直接覆髄法の臨床成績について

<sup>1)</sup> 鶴見大学歯学部保存修復学講座

<sup>2)</sup> 鶴見大学歯学部歯内療法学講座

○今井文彰<sup>1)</sup>、田崎達也<sup>1)</sup>、山本要<sup>2)</sup>、細矢哲康<sup>2)</sup>、桃井保子<sup>1)</sup>

#### Clinical results of indirect and direct pulp capping for deep caries

<sup>1)</sup> Department of Operative Dentistry and <sup>2)</sup> Department of Endodontology,  
Tsurumi University School of Dental Medicine

○IMAI Fumiaki<sup>1)</sup>, TASAKI Tatsuya<sup>1)</sup>, YAMAMOTO Kaname<sup>2)</sup>, HOSOYA Noriyasu<sup>2)</sup>, MOMOI Yasuko<sup>1)</sup>

**緒言:** 今回、う蝕が歯髄に近接した深在性う蝕歯で、歯髄症状が無い、あっても軽微で臨床的健康歯髄と診断できた症例に対して行った歯髄温存療法と直接覆髄法の臨床成績を報告する。この研究の背景には、できるだけ歯髄を保存することが望ましいというわれわれの共通認識がある。なぜなら、無髄歯は有髄歯とくらべ、歯根破折しやすく、歯髄からの警告信号が失われ、外来侵襲に対する生体防御反応が欠如し、変色するなど深刻な問題を有するためである。また、抜髄の成功率が決して100%ではない事実からも歯髄保存は強く推奨される。

**材料と方法:** 歯髄温存療法と直接覆髄法は、同一術者が同一施設内で行った。エックス線検査によりう蝕が歯髄に近接している歯を対象とした。歯髄症状は無いまたは軽微で、歯髄が臨床的に健康と診断できた症例に限った。全症例麻酔下で施術し、必要に応じて隔壁を使用して全症例にラバーダムを装着した。感染象牙質の除去は、最初、低速のスチールラウンドバーで大半の軟化象牙質を除去し、次いでう蝕検知液を複数回使用して検知液に濃染したう蝕象牙質をスプーンエキスカベータで慎重に除去した。う蝕象牙質を完全に除去すると露髄が危ぶまれると判断した場合に、う蝕象牙質をあえて残置する歯髄温存療法を採用した。この場合、6%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で残したう蝕象牙質を5分間洗浄した後、軽く乾燥しう蝕象牙質部分に覆髄剤を貼付した。覆髄剤には、 $\alpha$ -TCP (リン酸三カルシウム)の粉末に3Mixの粉末(メトニダゾール3+セファクロル1+シプロフロキサシン1)を10~20%加え、これをポリカルボン酸主成分の溶液と練和したもの、もしくは水酸化カルシウム系材料を用いた。覆髄後、接着性コンポジットレジンで暫間充填した。一方、やむなく露髄に至った場合に、直接覆髄法を採用した。この場合、6%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で露髄面を5分間洗浄した。軽く乾燥した露髄面に、 $\alpha$ -TCPの粉末に3Mixの粉末を10~20%加え、これを生理的食塩水と練和したものを直接貼付し、その上を歯髄温存療法で用いた $\alpha$ -TCP+3Mixで覆った。または、水酸化カルシウム系材料を用いた。直接覆髄後、接着性コンポジットレジンで暫間充填した。歯髄温存療法54歯、直接覆髄法28歯について、術後6ヶ月以上経過した時点で診査を行った。

**結果:** 歯髄温存療法を施した54歯のうち、44本が生活反応を示し10本が抜髄または失活し、歯髄温存療法の成功率は82%であった。一方、直接覆髄法を施した28歯のうち、16本が生活反応を示し12本が抜髄または失活し、直接覆髄の成功率は57%であった。歯髄温存療法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixで81%、水酸化カルシウム系材料で73%であった。直接覆髄法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixで57%、水酸化カルシウム系材料で56%であった。両治療とも若年者が成績良好という結果は示されなかった。

#### 結論

歯髄温存療法の方が直接覆髄法より臨床成績が良好であった。歯髄温存療法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixの方が水酸化カルシウム系材料より高く、直接覆髄法の成功率は、 $\alpha$ -TCP+3Mixと水酸化カルシウム系材料とでほぼ変わらなかった。歯髄温存療法も直接覆髄法も若年者が成績良好という結果は示されなかった。日本歯科保存学会のう蝕治療ガイドラインは、歯髄に達するような深在性う蝕で、歯髄が臨床的に健康または可逆性の歯髄炎の症状を呈する場合は非侵襲性間接覆髄(歯髄温存療法)を行うよう推奨している。今回、使用した覆髄剤はガイドラインが示すものと異なるが、歯髄温存療法の臨床的有用性があらためて確認できた。う蝕が歯髄に近接しているが歯髄症状が無い軽微な場合には、歯髄温存療法を第一選択と考えるべきことが示された。

## 矯正装置の違いにより挺出を行った 2 症例

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○今泉一郎 鈴木洋子 田中 毅 北村成孝 柴田直樹 中田和彦 中村 洋

### Two Cases of Orthodontic Extrusion using Different Orthodontic Appliance

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University

○Ichiro Imaizumi, Yoko Suzuki, Tsuyoshi Tanaka, Naritaka Kitamura, Naoki Shibata,  
Kazuhiko Nakata, and Hiroshi Nakamura

#### 【緒言】

日常臨床において、歯肉縁下にまで及ぶ齶蝕および歯冠歯根破折にしばしば遭遇する。深い歯肉縁下では、無菌的な根管処置や確実な補綴処置が行えず、予後不良となることも少なくない。このままの状態では修復処置を行うと炎症が長期間残存し、歯周組織の破壊を招くことになる。このような場合には、歯肉切除、外科的挺出、矯正的挺出などの方法により、これらの問題を解決し、歯の保存が試みられる。その中でも矯正的挺出は、比較的安全で予知性が高く、有効な方法と考えられている。

今回、我々は、方法の異なった矯正的挺出を 2 症例行い、それぞれの矯正的挺出を比較し、有用性を検討したので報告する。

#### 【症例 1】

患者は 17 歳女性。自転車により転倒し、上顎左側側切歯の歯冠部が破折した。上顎左側側切歯は、歯槽骨頂で歯冠歯根破折し、歯肉縁下に完全に埋伏していた。審美的な早期の回復を希望された為、歯肉切除を行い、TEK を装着した。矯正的挺出は、審美的な回復を考慮し、マルチブラケットを装着し、ストレートワイヤーと TEK の歯頸部最下部に装着したボタンをエラスチックゴムにて結紮し、挺出を行った。患歯の挺出に伴い、TEK の切端を削合した。予定した挺出量まで行い、その位置で固定した。

#### 【症例 2】

患者は 54 歳女性。上顎左側側切歯の動揺と腫脹を主訴に来科した。口内法 X 線診査では、補綴物の下には、カリエスが認められ、根尖部には透過像がみられた。補綴物を除去したところ、カリエスは歯肉縁下深く、このままの状態では保存不可能と判断した。患歯の歯根長は長く、矯正的挺出を行えば、保存は可能であると判断した。印象採得後、模型上で矯正装置を作成し、装着した。定期的のエラスチックスレッドを交換し、矯正的挺出を行った。

#### 【考察および結論】

矯正的挺出期間中の装置の破損や前歯では長期間にわたり矯正用ワイヤーが見えることが問題となることがある。今回、歯肉縁下のう蝕、または破折により、そのままでは保存が難しいと思われる症例に対して、異なる装置により矯正的挺出を行った。患歯の隣在歯の状況や審美的な要求などにより矯正的挺出方法が選択され、それぞれの方法において比較検討を行った。症例 1 では、早期から TEK を装着することが可能であるため、装置の破損のリスク軽減や審美的な回復が可能であるが、挺出量がやや少なく限界があった。また、症例 2 では、TEK の中にワイヤーを埋入したことにより、ほとんど装置が見えない為、矯正的挺出期間中でも良好な審美的な回復が可能で、さらに十分な挺出量が確保できた。従って、必要な挺出量や隣在歯の状況などを考慮に入れ、矯正的挺出方法を検討する必要があると思われた。

### 根未完成歯の長期的観察

<sup>1)</sup>奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野

<sup>2)</sup>奥羽大学歯学部口腔衛生学講座

○佐々木重夫<sup>1)</sup>, 佐藤穂子<sup>1)</sup>, 釜田 朗<sup>1)</sup>, 今井啓全<sup>1)</sup>, 佐藤 克<sup>1)</sup>,  
山崎信夫<sup>1)</sup>, 山田眞義<sup>1)</sup>, 齋藤高弘<sup>2)</sup>, 木村裕一<sup>1)</sup>

#### The Long-term Observations of Immature tooth

<sup>1)</sup>Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

<sup>2)</sup>Department of Preventive Dentistry, Ohu University School of Dentistry

○SASAKI Shigeo<sup>1)</sup>, SATO Yasuko<sup>1)</sup>, KAMADA Akira<sup>1)</sup>, Imai hiroaki<sup>1)</sup>, SATO Masaru<sup>1)</sup>,  
YAMAZAKI Nobuo<sup>1)</sup>, YAMADA Masayoshi<sup>1)</sup>, SAITO Takahiro<sup>2)</sup>, KIMURA Yuichi<sup>1)</sup>

【緒言】 根未完成歯に対する歯内療法はアペキシゲネーシスとアペキシフィケーションに大別される。生活歯髄切断法を施術し、正常歯髄を残存させて歯根の正常な発育を継続させるアペキシゲネーシスに比較して、感染根管治療あるいは抜髄法を適応とするアペキシフィケーションは漏斗状を呈している根尖部付近を施術範囲としているため治療に関してはより困難な症例であるといえる。今回、中心結節の破折より歯髄感染した下顎左側第二小臼歯に対してアペキシフィケーションを施術し、根管充填後から6年間の経過観察が可能であった症例を経験したので報告する。

【症例】 患者：初診時11歳0か月女児。主訴：歯が痛い（下顎左側第二小臼歯）。現病歴：1か月前より同部の違和感を認めるも放置。既往歴：貧血症状にて時々クエン酸第一鉄ナトリウム（フェロミア錠：エーザイ）を服用。現症：下顎左側第二小臼歯に中心結節を認める。同歯の自発痛と咀嚼痛ならびに頰側根尖部歯肉の腫脹と圧痛は認められるが、所属リンパ節（左側顎下リンパ節）の腫脹は認められない。動揺度は0度、歯冠全周の歯周ポケットも正常範囲（2.0mm以内）であった。電気歯髄診断器（ANALYTIC PULP TESTER<sup>®</sup>：Analytic technology）では反対側同名歯（ $\overline{5}$ ）との比較において閾値が高い傾向にあったが、生活反応（測定回数3回  $\overline{5}$  : 55,  $\overline{5}$  : 45~50）を示した。また、エックス線写真所見では反対側同名歯と同様に歯根が未完成であり、患歯の根尖部に円形の透過像が観察された。

【処置および経過】 頰側根尖部歯肉の腫脹とエックス線写真所見による根尖部透過像が認められたが、電気歯髄診断に生活反応を示したため初回の治療は局所麻酔下で行った。歯髄組織の除去後、根尖部からの血液ならびに膿液浸出液の湧出が認められたので、根管治療開始より約1か月間は根管内にフェノール系の根管消毒剤（METHOCOL<sup>®</sup>：ネオ製薬）を貼薬した。その後、水酸化カルシウム製剤（Calcipex：日本歯科工業）を1か月毎に貼薬交換するとともに二重仮封の上部にコンポジットレジン（プラディア<sup>®</sup>「培地」：昭和薬品化工）を行う前にはフェノール系薬剤を貼薬した。治療開始時の根管長は20.0mm、測定に使用したKファイル（品番053：ZIPPERER）は#90（φ0.90mm）であった。感染根管治療開始より6か月経過後のエックス線写真所見において根尖部透過像の消失が認められたが、根尖部硬組織の形成が確認されるには1年7か月を要した。治療開始より1年10か月経過時に3回目の根管内細菌培養検査（1回目：10か月経過時陽性、2回目：1年3か月経過時陽性）が陰性所見を示したので、ガッタパーチャを用いた垂直加圧根管充填（Obtura II：モリタ）を行った。その後、根管充填材上部をグラスアイオノマー系セメント（BASE CEMENT：松風）で裏層し、コンポジットレジン（SOLARE P：GC）修復を施して経過観察とした。根管充填後1年、2年、5および6年経過時のエックス線写真所見においても問題なく経過していたもののその後の明瞭な歯根尖の延長は認められなかった。

【考察および結論】 本症例ではエックス線写真所見による根尖部透過像の存在ならびに口腔内所見における頰側根尖部歯肉の腫脹が認められたにもかかわらず、電気歯髄診断において生活歯としての反応が認められた。根未完成歯は根完成歯に比較して根尖部の歯髄組織や歯周軟組織の血流量が多いとされ、本症例が生活反応を示したことから根未完成歯の歯髄は旺盛な生活力を有しているといえる。根尖部の硬組織の閉鎖には1年7か月を要したが、通常6か月～1年との報告もあり、アペキシフィケーションにおける根尖部硬組織の形成を左右する要因としては根尖開口部やその周囲の歯根膜の状態、歯根の発育程度、根尖病巣の大きさ、さらには根尖部に対する治療手技および使用薬剤などが考えられる。今回は水酸化カルシウム製剤以外のフェノール系薬剤を多用したことが根尖部の硬組織形成に影響を及ぼしていたことも推察される。また、本症例において根管充填後の歯根尖の延長は認められなかったのは早期にヘルトビッチ上皮鞘が壊死に陥っていたことが考えられる。

根未完成歯の歯髄は旺盛な生活力を有するため、歯内治療に際してはより綿密な診査が必要である。また、アペキシフィケーションにおける根尖部硬組織の形成は治療手技や使用薬剤の影響を受けるため慎重な対応が重要である。

## Electro-Magnetic Apical Treatment — 嚢胞性疾患に対する対応 —

<sup>1)</sup>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, <sup>2)</sup>医療法人とみなが歯科医院  
○富永敏彦<sup>1,2)</sup>, 湯本浩通<sup>1)</sup>, 坂東直樹<sup>1,2)</sup>, 平尾功治<sup>1)</sup>, 平尾早希<sup>2)</sup>, 加古晋也<sup>2)</sup>, 前田やよい<sup>2)</sup>,  
山口由美子<sup>2)</sup>, 高比良一輝<sup>2)</sup>, 松尾敬志<sup>1)</sup>

### Electro-Magnetic Apical Treatment — Treatment of Cystic-like lesion

<sup>1)</sup>Department of Conservative Dentistry, Institute of Health BioSciences, The University of Tokushima Graduate School, <sup>2)</sup>Tominaga Dental Clinic

○Toshihiko TOMINAGA<sup>1,2)</sup>, Hiromichi YUMOTO<sup>1)</sup>, Naoki BANDO<sup>1,2)</sup>, Kouji HIRAO<sup>1)</sup>, Saki HIRAO<sup>2)</sup>,  
Shinya KAKO<sup>2)</sup>, Yayoi MAEDA<sup>2)</sup>, Yumiko YAMAGUCHI<sup>2)</sup>, Kazuki TAKAHIRA<sup>2)</sup>, Takashi MATSUO<sup>1)</sup>

【研究目的】 これまでに我々は、病原細菌の消毒及び治癒促進に応用されている高周波治療に着目し、第 131 回秋季本学会にて“電磁波照射の口腔内細菌に対する殺菌効果”<sup>1)</sup>、第 134 回春季本学会にて“大きな根尖病変を有する歯の根尖孔外及び根尖部根管内に電磁波照射を行い、良好な治癒を示した症例、さらに第 135 回秋季本学会にて電磁波照射による骨芽細胞の Growth Factor の発現・産生誘導について報告した。根尖部に生じる歯槽骨欠損を伴う疾患として、歯根嚢胞の好発が報告されており、臨床所見や X 線所見のみでは診断が困難な症例も多く、病変部の大きさとして 200 mm<sup>2</sup> 以上のサイズを有する<sup>2)</sup>等の諸説がある。このような嚢胞性疾患が、根管治療により治癒するかどうかの予知することも困難なため、抜歯や歯根端切除術を含めた嚢胞摘出術等の外科的処置を施されることが多いのも事実である。そこで本研究では、嚢胞性疾患に対して非外科的治療法である「電磁波根尖療法: Electro-Magnetic Apical Treatment (EMAT)<sup>3)</sup>」を応用し、その有用性ならびに発展性について検討を行ったので報告する。

【術式】 (徳島大学病院臨床研究倫理審査委員会にて承認: 臨床試験番号: 第 906 号)

通法通り根管拡大・清掃後、麻酔下にて根管を冷却生理食塩水で満たし、根尖周囲の骨吸収最先端から 1 mm 離れた部位を照射開始点とし、2 mm 間隔で最終的に根尖部根管内に 1 回ずつ 500 kHz, 1 秒/回で電磁波を照射した。

#### 【症例】

(症例 1) 患者: 31 歳男性、主訴: 36 の軽度自発痛及び咀嚼時痛

現症: 36 根尖部に軽度の腫脹を認め、動揺度 M2, 舌側遠心部に 4 mm のポケットを認めたが、その他は 3 mm 以下であった。デンタル X 線撮影及び CT 検査の結果、全根管とも根管充填材は根尖部まで達しておらず、遠心根を取り囲む約 19.5 × 8.0 mm の境界明瞭な X 線透過像が認められ、その下端部は下歯槽管に近接していた。

治療経過: 根管充填材除去後、遠心根管より出血と排膿が認められた為、開放処置を行った。数回にわたり根管拡大を行うものの、臨床症状に著明な変化は認められなかった。X 線透過像の大きさ等から従来の感染根管治療のみによる治癒は困難であると判断し、根管拡大後に電磁波を照射し、即時に垂直加圧根管充填を行った。根管充填 1 週間後では動揺は認めず、4 カ月後の CT 検査において骨再生様像を認め、現在も麻痺等の症状もなく、経過良好である。

(症例 2) 患者: 59 歳男性、主訴: 11, 12, 13 部の圧痛及び根尖部の腫脹

現症: 11, 12, 13 相当根尖部に弥漫性の腫脹と軽度の圧痛と 13 に M1-2 の動揺を認めたが、打診痛は認めず、歯周ポケットも全て 3 mm 以下であった。デンタル X 線撮影及び CT 検査の結果、13 から 21 根尖部に至る約 19.1 × 23.6 mm の境界明瞭な類円形の X 線透過像を認め、透過像内には逆性過剰歯の歯冠が含まれていた。また、13 根尖部の外部吸収も認められた。電気歯髓診断の結果、11, 12, 13 に歯髓生活反応は認めなかった。

治療経過: 11, 12, 13 の髓腔開拓を行うと、13 から多量の褐色浸出液が認められた為、根管拡大及び減圧処置を行った。引き続き根尖部の拡大・形成を行った後、電磁波を照射し、即時根管充填を行った。デンタル X 線撮影による経過観察では、根管充填約 5 カ月後で嚢胞壁周囲に X 線不透過像が、約 9 カ月後に 13 根尖部を中心とした X 線不透過像の充進を認めた。根管充填 2 週間後には 13 の動揺度は M0 まで改善し、現在まで臨床症状はなく、経過は良好である。

【考察および結論】 EMAT は、嚢胞性疾患に対する新たな非外科的治療法として有用である可能性が示唆された。

(参考文献) 1) Yumoto H *et al.*: J Appl Microbiol. 2012. 2) Eversole RL. Clinical Outline of Oral Pathology., 2<sup>nd</sup> ed. 1984.

3) 富永敏彦: 四国歯誌 2011.

## ヒト *DMP-1* 遺伝子領域における long non-coding RNA の同定

広島大学大学院医歯薬保健学専攻医歯薬学研究所  
顎口腔顎部医科学講座 健康増進歯学研究室  
○星野博昭、鈴木茂樹、小武家誠司、藤井理史、西村英紀

### The identification of novel long non-coding RNA in *Dentin Matrix Protein-1* genetic locus

Department of Dental Science for Health Promotion Division of  
Cervico-Gnathostomatology Hiroshima University Graduate School of Biomedical Sciences

○Hiroaki Hoshino , Shigeki Suzuki , Seiji Kobuke , Masashi Fujii , Fusanori Nishimira

<研究目的>近年、ヒトやマウスの大規模なゲノム解析が進み、これまで「意味のない」とされてきた非遺伝子座領域中のゲノム配列においても、micro RNAをはじめとした蛋白質をコードしない non-coding RNA (ncRNA) が転写される事が明らかとなってきた。その中でも、long ncRNA は一般的に 200 bp 以上の長さを持つものと定義され、数十 bp の micro RNA と区別される。long ncRNA のゲノム上での局在や総数、及び各種組織や細胞での発現パターンは未だ十分に解明されていないものの、いくつかの long ncRNA が、局所のクロマチンリモデリングや DNA のメチル化などの epigenetic な変化を引き起こすことで、その近傍遺伝子の発現を調節する事が明らかとなってきている。Dentin matrix protein-1 (*DMP-1*) は、Dentin sialophosphoprotein (*DSPP*)、Bone sialoprotein (*BSP*) などと共に Small Integrin Binding Ligand N-linked Glycoproteins (*SIBLINGs*) family に属する分泌性タンパク質で、歯科・口腔領域においては、歯牙及び歯槽骨の形成・成熟に必須の役割を果たす。また、全身的には、腎臓近位尿細管でのリンの再吸収を抑制する Fibroblast growth factor-23 (*FGF-23*) の血中濃度を調節することで、リン代謝に重要な役割を果たす。更に、形質転換した癌細胞の浸潤に寄与することが近年明らかとなり、癌細胞マーカーとしても注目されている。このような背景から、*DMP-1* の発現調節メカニズムを解明することは極めて重要であるものの、これまでの多くの報告は転写因子やその結合部位の同定といった genetic な解析に留まっているのが現状であり、epigenetic な観点からの解明に関しては報告が無い。そこで本研究では、*DMP-1* プロモーター領域に着目し、long ncRNA の探索・同定並びにその機能解析を行うことで、如何にして *DMP-1* 発現が調節されるのかを解明することで、将来的にこれら研究領域・疾患治療への一助とすることを目的とした。

<材料及び方法>1. *DMP-1* プロモーター領域における新規 RNA の同定：12 種類の培養ヒト骨肉腫由来細胞及び口腔組織由来細胞を血清存在下でサブコンフルエントまで培養後、低血清培地で 24 時間培養した後に total RNA を回収した。oligo dT primer を用いて cDNA を作製し、*DMP-1* プロモーター領域に約 100 bp の間隔で作製した primer pair を用いて半定量性 PCR を行った。2. 新規 RNA の全長クローニング：PCR で増幅が見られた領域を起点に、GeneRacerKit (Life and Technologies) を用いて、新規 RNA の 5' 及び 3' 末端のクローニングを行った。

<結果>12 種類の細胞のうち、HSC-2 (squamous cell carcinoma of mouth : 口腔扁平上皮癌細胞株)、Ca9-22 (gingival carcinoma of gingiva : 歯肉癌細胞株)、HO-1-u-1 (squamous cell carcinoma of mouth floor : 口腔底扁平上皮癌細胞株)、Sa3 (squamous cell carcinoma of upper gingiva : 上顎歯肉扁平上皮癌細胞株) において、*DMP-1* プロモーター領域に PCR で増幅される領域があることを見出した。Reverse transcriptase (-) のコントロールサンプルでは増幅が見られなかったことから、この増幅産物は genomic DNA のコンタミネーションではなく、この領域に新規の転写産物が存在する事を示した。更に GeneRacerKit を用いた解析により、この新規 RNA が相補鎖に存在し、その全長が約 1.2 kb であることが明らかとなった。また、この新規 RNA を発現する 4 種の細胞株では、他 8 種類と比較して有意に高い *DMP-1* 遺伝子の発現を認めた。

<考察>演者らがクローニングした新規 RNA にはアミノ酸配列をコードする塩基配列が存在しないことから、この新規 RNA が *DMP-1* 領域に発現する long ncRNA である可能性が高いと考えられた。また、新規 long ncRNA の発現パターンと *DMP-1* 遺伝子発現パターンとの間に正の相関があることから、*DMP-1* 遺伝子発現がこの long ncRNA により制御されている可能性が強く示唆された。その検討結果についてもあわせ報告する。

### 新たな骨分化メカニズムの解明(WNT 活性化機序との関連)

<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

○月野和 隆<sup>1)</sup>、小野寺 晶子<sup>2)</sup>、吉澤 佑世<sup>1)</sup>、篠 宏美<sup>2)</sup>、齋藤 暁子<sup>2)</sup>、  
手銭 親良<sup>1)</sup>、間 奈津子<sup>1)</sup>、東 俊文<sup>2)</sup>、森永 一喜<sup>1)</sup>

### Determination of a new osteoblast differentiation mechanism (relationship to WNT activation mechanism)

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

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

○Takashi Tsukinowa<sup>1)</sup>、Shoko Onodera<sup>2)</sup>、Yuusei Yoshizawa<sup>1)</sup>、Hiromi Shino<sup>2)</sup>、Akiko Saito<sup>2)</sup>、  
Chikara Tezen<sup>1)</sup>、Natsuko Aida<sup>1)</sup>、Toshifumi Azuma<sup>2)</sup>、Kazuki Morinaga<sup>1)</sup>

#### 【背景、目的】

歯周病の治療やインプラント治療において炎症による骨再生抑制を防ぎ、新生骨形成を効果的に促進する治療法の開発は重要な課題である。我々は歯槽骨再生において重要な役割を果たすヒト歯根膜(HPDL)細胞を用いて、炎症と骨再生抑制が TGF- $\beta$  による IGF-1-P13 キナーゼ経路抑制により生ずることを報告してきた。骨再生抑制機序では近年、Wnt 経路抑制物質が注目されている。そこで今回、HPDL における Wnt 経路の検討を行う。

#### 【方法】

HPDL 細胞を Lonza より購入し、SCGM(BulletKit® Stromal cell growth medium, Lonza)を用いて 37°C、CO<sub>2</sub> 濃度 5% 下で培養した。実験に際しては、12 穴プレートに 3×10<sup>5</sup> cells/cm<sup>2</sup> で播種し、一昼夜インキュベートした。翌日、骨分化誘導培地(OBM:  $\alpha$ -MEM に 50mg/ml L-ascorbic acid と 10mM  $\beta$ -glycerophosphate を添加) ±100 $\mu$ M Dexamethasone(R&D Systems、以下 Dex)に交換し、同時に 50ng/ml BMP2/7(R&D Systems)を添加し、72h 培養後、RNA を抽出した。BMP2/7 群と BMP2/7+Dex 群について Microarray 法(網羅的遺伝子発現解析法)及び IPA 解析(遺伝子ネットワーク解析)を行い、WNT 経路に関わる因子を抽出した。また、それぞれ抽出した遺伝子、及び骨形成マーカーである ALP についてリアルタイム PCR (Applied Biosystems 7500 Fast) で確認した。さらに、ALP 染色(Roche Diagnostics)にて骨芽細胞への分化を確認した。

#### 【結果】

Dexamethazone は BMP2/7 による HPDL 骨芽細胞分化誘導 (ALP 酵素活性) を強力に増強した。この時、IPA 解析および RT-PCR 法による検討から Wnt 経路抑制因子 (SOST、SFRP2、DKK1、DKK2) の著名な発現変化を認めた。特に DKK1 発現は増加し、DKK2、SFRP2 は発現減少することから、Wnt 経路抑制因子として DKK2、SFRP2 が重要であることが示唆された。

#### 【考察】

Wnt 経路阻害因子に対する特異抗体が骨再生を促進することが期待されているが、HPDL 細胞では DKK2、SFRP2 が骨再生促進のための標的分子として重要である可能性が示唆された。

## TGF- $\beta$ 1 による骨形成抑制作用時の WISP-2 発現と骨形成との関与

<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  
○吉澤 佑世<sup>1)</sup>、篠 宏美<sup>2)</sup>、月野和 隆<sup>1)</sup>、小野寺 晶子<sup>2)</sup>、齋藤 暁子<sup>2)</sup>、  
手銭 親良<sup>1)</sup>、間 奈津子<sup>1)</sup>、東 俊文<sup>2)</sup>、森永 一喜<sup>1)</sup>

### Relevance of WISP-2 expression and bone formation at the time of suppression of bone formation by TGF- $\beta$ 1

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

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

○Yuusei Yoshizawa<sup>1)</sup>, Hiroshi Shino<sup>2)</sup>, Takashi Tsukinowa<sup>1)</sup>, Shoko Onodera<sup>2)</sup>, Akiko Saito<sup>2)</sup>, Chikara Tezen<sup>1)</sup>,  
Natsuko Aida<sup>1)</sup>, Toshifumi Azuma<sup>2)</sup> and Kazuki Morinaga<sup>1)</sup>

#### 【目的】

ヒト歯根膜は間葉系組織として線維芽細胞を主としているが、多くの未分化細胞をもち歯槽骨との位置関係から歯槽骨再生細胞の源としても注目される。我々はこれまでヒト歯根膜細胞の骨分化誘導における情報伝達機序を詳細に検討してきた。今回、骨組織維持に重要な役割を果たすことが示唆されているが、あまり機序のわかっていない Wnt signaling のヒト歯根膜細胞骨分化誘導における役割について検討する。

#### 【材料および方法】

細胞はヒト歯根膜細胞(HPDL 細胞, Lonza, Switzerland)を使用し、骨芽細胞分化には  $\alpha$ -MEM (Life Technologies, USA) に 50  $\mu$ g/ml L-ascorbic acid (Wako, Osaka)、10 mM  $\beta$ -glycerophosphate (Wako) を添加した骨分化誘導培地 (OBM) を使用した。5-8 継代の細胞を  $1 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup> で播種し、37°C、5% CO<sub>2</sub> 環境下で 96 時間培養後、それぞれの分析に用いた。OBM に 1 ng/ml TGF- $\beta$ 1 を添加して培養したものを 1 回投与群、1 ng/ml TGF- $\beta$ 1 を添加した OBM を 12 時間毎に交換したものを複数回投与群、その複数回投与群に 200 ng/ml IGF-1 を添加したものを IGF 投与群、OBM のみで培養したものを対照群とした。ALP 活性染色、および骨分化マーカーである ALP の mRNA 発現を Real-time PCR により検出し、同条件における Wnt-1 inducible signaling pathway protein 2 (WISP-2) タンパクの発現をウエスタンブロット法にて検出した。さらに、Wnt3a を添加して HPDL 細胞を培養し、骨分化マーカーと WISP-2 発現について検討した。統計処理には一元配置の分散分析、および Bonferroni の多重比較検定を用いた。

#### 【結果および考察】

ALP 活性染色による骨分化誘導の検討では、TGF- $\beta$ 1 1 回投与群で誘導促進し、複数回投与群では逆に誘導阻害を認めた。また、複数回投与群に IGF-1 を加えた IGF 投与群では ALP 活性の回復が見られた。Real-time PCR においても ALP の mRNA 発現で同様の結果が得られた。すなわち 1 回投与群では明らかに発現が増加し、複数回投与群では有意に発現が低下した。また、IGF 投与群では ALP 発現の復帰が認められた。ウエスタンブロット法による WISP-2 タンパク発現の結果は ALP の mRNA 発現の結果と類似しており、1 回投与群は WISP-2 タンパクの発現が増加し、複数回投与群では著しく発現が低下した。また、IGF 投与群でも WISP-2 タンパク発現の回復が確認された。TGF- $\beta$ 1 の複数回投与による骨芽細胞分化の抑制作用下で、骨分化マーカーである ALP の発現と WISP-2 の発現が連動していることから、WISP-2 は骨形成において重要な因子であると考えられた。また、TGF- $\beta$ 1 によって抑制された WISP-2 の発現が IGF-1 添加により回復したことから、PI3K/Akt 経路と Wnt signaling とのクロストークの存在が示唆される。

また、WISP が標的因子である骨分化調節因子として重要な Wnt3a の添加において、骨分化誘導促進効果が認められた。WISP-2 の mRNA が骨形成中の骨芽細胞や Alkaline Phosphatase (ALP) 陽性の骨髄細胞、軟骨細胞において高く発現していることが報告されていることから、WISP-2 は骨形成に大きく関与していることが予測される。発生段階では Wnt- $\beta$ catenin 経路が骨芽細胞の細胞死を抑制し骨芽細胞の成熟を促進するとされているが、Osteolineage 細胞では Wnt 経路単独ではなく多くの複雑な相互作用を持ちながら骨組織維持に大きな役割を果たしていることが示唆された。

#### 【結論】

HPDL 細胞での TGF- $\beta$ 1 による骨芽細胞分化の抑制作用下において、WISP-2 の発現と骨形成の促進との関連性が示唆された。

bFGF の非臨界骨欠損における血管新生および骨再生のエクソ線学的検討

1) 日本大学大学院歯学研究科 歯学専攻応用口腔科学分野 2) 日本大学歯学部 保存学教室歯周病学講座

3) 日本大学歯学部 総合歯学研究所 高度先端医療研究部門 4) 日本大学歯学部

○木上理紗<sup>1</sup>, 佐藤秀一<sup>2, 3</sup>, 宇田川麻美<sup>1</sup>, 土屋紀子<sup>1</sup>, 津徳亮成<sup>1</sup>, 新井嘉則<sup>4</sup>, 伊藤公一<sup>2, 3</sup>

X-ray study of bFGF on angiogenesis and bone regeneration within non-critical-sized bone defects in rat calvaria

1) Division of Applied Oral Science, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan

2) Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

3) Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

4) Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Risa Kigami<sup>1</sup>, Shuichi Sato<sup>2, 3</sup>, Asami Udagawa<sup>1</sup>, Noriko Tsuchiya<sup>1</sup>, Katsuyoshi Tsunori<sup>1</sup>,  
Yoshinori Arai<sup>4</sup>, Koichi Ito<sup>2, 3</sup>

【目的】

塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) は、血管新生作用と未分化間葉系細胞の増殖誘導能を有し、組織の発生および細胞の分化、創傷治癒の過程できわめて重要な働きをしていることが知られている。そこで、本研究では、ラット頭蓋骨に非臨界骨欠損を作製し bFGF を含浸させたコラーゲンスポンジを設置し、初期の血管新生と骨再生に対する bFGF の影響について、血管造影およびマイクロ CT を用いて観察することを目的とした。

【材料および方法】

7 週齢のラット 40 匹にイソフルレンによる吸入ガス麻酔後、ペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) を腹腔内に注射し、全身麻酔を施した。ついで、ラットの頭頂部に 2% 塩酸リドカイン (1:80,000 アドレナリン含有歯科用キシロカインカートリッジ) 約 0.5ml を用いて局所麻酔を施し、頭部皮下に切開を加えた。そして、ラットの頭頂骨に矢状縫合を避けるように、両側に直径 2.7 mm の非臨界骨欠損をトレファインバーを使用して作製した。直径 2.7 mm のコラーゲンスポンジにそれぞれ、生理食塩水と 0.1% bFGF および 0.3% bFGF を含浸させ欠損部に設置し骨膜および皮膚を縫合した。生理食塩水と 0.3% bFGF, 生理食塩水と 0.1% bFGF, 0.1% bFGF と 0.3% bFGF の 3 群を作製した。その後、in vivo マイクロ CT (R\_mCT, 理学メカトロニクス, 東京) を用いて、術直後を 0 週とし、生理食塩水と 0.1% bFGF の群を 3 匹、生理食塩水と 0.3% bFGF の群を 3 匹、0.1% bFGF と 0.3% bFGF の群を 4 匹、計 10 匹ずつ 1 週から 4 週まで毎週 CT 撮影および血管造影を行った。血管造影方法は、全身麻酔後に CT 撮影を行った後、ラットの腹部に 2% 塩酸リドカイン 1 ml を用いて局所麻酔を施し、ラットの心臓を剖出させた。還流固定と同じ方法を用いて、生理食塩水で脱血させ安楽死させた後、10% 中性緩衝ホルマリン溶液を使用して全身を固定した。ついで、血管造影剤 (イオパニロン注 370 バイエル薬品株式会社, 大阪) 20 ml を自動注入機を用いて毎分 1.25  $\mu$ l の速度で全身に注入した後、2 度目の CT 撮影を行い、血管造影を行った後に CT 撮影を行い、造影前と造影後の画像の差分を計測して血管新生と骨再生を評価した。

【結果】

マイクロ CT による観察から実験側および対照側ともに、術後 2 週から 4 週まで継続的に新生血管様組織および新生骨様組織の増加量を有意に認めた ( $p < 0.05$ )。術後 3 週の 0.1% bFGF 側で欠損部のおよそ 1/3 に新生血管様組織および新生骨様組織が観察され、0.3% bFGF 側では欠損側のおよそ半分に観察された ( $p < 0.05$ )。術後 4 週の対照側では、欠損部のおよそ 1/3 に観察され、0.1% bFGF 側は欠損部のおよそ 2/3 に観察され、0.3% bFGF 側では欠損部のほぼ全体に観察された ( $p < 0.05$ )。

【考察および結論】

bFGF 側では、血管造影法を用いたマイクロ CT 撮影により、術後 2 週から早期に骨欠損部への血管の侵入が認められ、継続的に血管新生を認めた部位で、骨再生が観察された。また、0.1% bFGF 側よりも 0.3% bFGF 側の方が、早期に血管形成が生じ骨再生をより多く促進することが示された。

## ラット頭頂骨に作製した骨欠損に対する PTH (1-34) の間歇投与の効果

日本大学大学院歯学研究科 歯学専攻応用口腔科学分野<sup>1</sup>

日本大学歯学部 保存学教室歯周病学講座<sup>2</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>3</sup>

○津徳亮成<sup>1</sup>, 佐藤秀一<sup>2,3</sup>, 山田 豊<sup>2,3</sup>, 蓮池 聡<sup>2,3</sup>, 吉巻友裕<sup>1</sup>, 木上理紗<sup>1</sup>, 伊藤公一<sup>2,3</sup>

### Effect of the intermittent administration of PTH in rat calvaria defect.

<sup>1</sup>Division of Applied Oral Science, Nihon University Graduate School of Dentistry, Tokyo, Japan

<sup>2</sup>Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

<sup>3</sup>Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Tokyo, Japan

○Katsuyoshi Tsunori<sup>1</sup>, Shuichi Sato<sup>2,3</sup>, Yutaka Yamada<sup>2,3</sup>, Akira Hasuike<sup>2,3</sup>, Tomohiro Yoshimaki<sup>1</sup>, Risa Kigami<sup>1</sup>, Koichi Ito<sup>2,3</sup>

#### 【目的】

副甲状腺ホルモン (PTH) は、生体内のカルシウム濃度を調節するホルモンとして知られている。PTH (1-34) は、PTH をリコピナントすることにより作られた骨粗鬆症薬である。骨芽細胞に作用することで骨形成を促し、破骨細胞に作用することで骨吸収を促進する 2 つの作用を有する。PTH の持続投与は、骨吸収を誘導し、骨量を減少するが、間歇投与することによって、骨形成が有意に促進させられることが知られている。そこで、PTH (1-34) の間歇投与による骨再生を検討するために、ラット頭頂骨に作製した臨界骨欠損および非臨界骨欠損の骨再生の動態をマイクロ CT による観察および組織学的検討を行った。

#### 【材料および方法】

12 週齢のラット (F344/Jcl) に、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内注射 (50 mg/kg) の全身麻酔を行った。ついで、ラット頭頂部に 2% 塩酸リドカイン (1 : 80,000 アドレナリン含有歯科用キシロカインカートリッジ) 約 0.5ml を用いて局所麻酔を施し、頭部皮下に切開を加えて皮膚骨膜弁を形成、剥離、翻転した。そして、ラットの頭頂部に矢状縫合に添って左側に直径 2.7 mm のトレファインバーを用いて非臨界骨欠損を作製、右側には直径 5.0 mm のトレファインバーを用いて臨界骨欠損を作製した。その後、骨膜は吸収性縫合糸を、皮膚は非吸収性縫合糸を用いて縫合を行った。実験群として手術日を 0 週とし、PTH (1-34) (商品名 : テリボン, 旭化成ファーマ) を 10 匹、毎日 13 μg 腹腔内投与した。コントロール群には、同様の骨欠損を作製した後に、同量の生理食塩水を 10 匹投与した。実験動物用 3D マイクロ X 線 CT (マイクロ CT, 理学メカトロニクス, 東京) を用いて、4 週目まで隔週で撮影した。4 週目にて組織標本を採取し、4% パラホルムアルデヒドにて固定、4% EDTA にて脱灰を行い、パラフィン包埋し HE 染色にて組織学的観察を行った。

#### 【結果および考察】

マイクロ CT 観察の結果から非臨界骨欠損側において実験群はコントロール群と比較し、術後 2 週から術後 4 週まで新生骨が有意に観察された ( $p < 0.05$ )。また、臨界骨欠損側においては、術後 3 週から術後 4 週まで新生骨が有意に実験群において観察された ( $p < 0.05$ )。組織学的には、実験群の両骨欠損側において骨芽細胞様細胞が観察された。とくに、既存骨辺縁周囲に骨芽細胞様細胞がコントロール群と比較し、有意に観察された。

#### 【結論】

PTH (1-34) の間歇投与は、ラット頭頂骨に作製した骨欠損に対して、既存骨辺縁の骨芽細胞に作用することによって、早期に骨再生を促進することが示唆された。

### BMP とエムドゲインの併用が水平性骨欠損の歯周組織治癒に及ぼす影響

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  
\*北海道大学大学院歯学研究科 口腔機能学講座 リハビリ補綴学教室,  
○齋藤 恵美子, 齋藤 彰\*, 弓削文彦\*, 中島利徳\*, 上北広樹\*, 川浪雅光

#### Periodontal healing after implantation of BMP and Emdogain in horizontal defects of dogs

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine, \*Department of Oral Rehabilitation, Division of Oral Functional Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine,

○SAITO Emiko, SAITO Akira\*, YUGE Fumihiko\*, NAKAJIMA Toshinori\*, UEKITA Hiroki\*,  
KAWANAMI Masamitsu

#### 【目的】

Bone morphogenetic protein (BMP) は、骨形成能を持つ成長因子であり、口腔領域では、すでに歯槽骨および顎骨の再建や増大などに臨床応用されている。しかし、歯周組織欠損部に応用した場合、歯槽骨の形成は促進するが、骨性癒着や根吸収を生じることが報告され、いまだ臨床応用されていない。一方、Enamel matrix derivative (EMD、以下 エムドゲイン)は、エナメルマトリックス蛋白からなり、歯根膜細胞の分化、増殖を促進して、結合組織性付着の形成を促進することが報告されている。しかし、歯周組織欠損部でBMPとエムドゲインを併用した場合、歯周組織の治癒にどのように影響するのか、まだ明らかにされていない。

本研究の目的は、再生が困難と考えられる水平性骨欠損部に対して、BMPとエムドゲインの併用が、歯周組織再生に与える影響を検索することである。

#### 【方法】

本研究は、北海道大学動物実験指針に基づいて、承認を得て行った。(承認番号 第08-0257号) 実験部位はビーグル犬5頭の上下前歯50歯を用いた。実験に先立ち、ビーグル犬に固形飼料を与え、週1回のブラッシングと0.5%クロルヘキシジン塗布により、歯周組織の健康を確立した。水平性骨欠損は前歯のCEJより高さ4mmの歯槽骨を削除して作製し、露出根面はスクーリング・ルートプレーニングをおこなって、歯根膜とセメント質を除去した。その後、24%EDTAにて根表面を3分間処理、水洗した後、以下の5群に分けて処置を行い、その後、肉肉弁を復位縫合した。SEB群(N=10)は、根面にエムドゲインゲル4.0 $\mu$ lを塗布した後、BMP4.0 $\mu$ lを配合したコラーゲン膜(3×3×3 mm)の移植を行った。

MEB群(N=10)は、エムドゲインゲル4.0 $\mu$ lとBMP4.0 $\mu$ lを混和した後、コラーゲン膜(3×3×3 mm)に配合し移植した。

B群(N=10)は、BMP4.0 $\mu$ lを配合したコラーゲン膜(3×3×3 mm)を移植した。

E群(N=10)は、根面にエムドゲインゲル4.0 $\mu$ lを塗布した後、コラーゲン膜(3×3×3 mm)の移植を行った。

対照としてC群(N=10)は、根面にコラーゲン膜(3×3×3 mm)の移植を行った。

観察期間は、8週とした。評価方法は、通法に従い病理組織標本作製して、HE染色後に病理学的観察および組織計測を行った。統計学的分析は、Kruskal-Wallis testを用いた。

#### 【結果と考察】

術後の治癒は、肉眼的に歯肉の炎症もほとんど認められず、概ね良好であった。組織計測では、上皮のダウングロースは、C群が74.9 $\pm$ 8.1%で、他の3群よりも有意(P<0.01)に大きかった。新生骨の高さは、SEB群(40.5 $\pm$ 5.1%)、MEB群(40.1 $\pm$ 6.8%)が、C群(-1.4 $\pm$ 2.4%)、E群(1.6 $\pm$ 2.0%)よりも有意(P<0.01)に大きかった。新生セメント質の長さ、SEB群(61.6 $\pm$ 7.8%)、E群(38.3 $\pm$ 11.2%)が、C群(3.0 $\pm$ 4.0%)、B群(5.8 $\pm$ 7.6%)よりも有意(P<0.01)に大きかった。骨性癒着は、MEB群(6.0 $\pm$ 10.3%)、B群(1.1 $\pm$ 2.6%)が、C群(0.0 $\pm$ 0.0%)、SEB群(0.0 $\pm$ 0.0%)よりも有意(P<0.01)に大きかった。SEB群は、骨性癒着を認めなかった。

以上の結果より、SEB群では、エムドゲインが根面の歯根膜細胞の増殖を促進し、骨欠損部に移植したBMPが根面のセメント質形成に協調的に関与したことが、一方、骨欠損部では、BMPによる骨形成に際して、エムドゲインによって増殖した細胞が供給された可能性が考えられた。それに対して、BMPとエムドゲインを混合したMEB群の場合、硬組織形成が促進されて、根面で骨性癒着の発生が促進された可能性が示唆された。以上のことより、BMPとエムドゲインは、骨欠損と根面に分けて移植することによって、水平性骨欠損部において歯周組織再生を促進する可能性が示唆された。

## 三次元培養した間葉系幹細胞由来軟骨細胞を用いた歯周組織再生のメカニズム解析

株式会社ジーシー  
○山中 克之, 熊谷 知弘

### Investigation of periodontal tissue formation mechanism using 3D-cultured mesenchymal stem cell derived chondrocyte.

GC Corporation  
○Katsuyuki Yamanaka, Tomohiro Kumagai

#### 【研究目的】

我々は強度と気孔径を最適化させた機能性 scaffold に骨髄由来間葉系幹細胞 (以下 MSC) を播種し、軟骨分化させた細胞 (Mesenchymal stem cell derived chondrocyte, 以下 MSC-DCs) が大腿骨の全周性骨欠損モデルの再生に有用である事を報告しており (原田紀子ら. 日整会誌 86, 2012), 本大会ではさらに歯周組織の再生にも有用である事を別途報告している。本研究では MSC-DCs からなる軟骨様組織から骨が形成されるメカニズム解析を目的に, MSC-DCs 移植体の作製から移植後の経時変化を組織学的に検索し, 評価を行ったので報告する。

#### 【材料および方法】

三次元培養MSC-DCs移植体に最適なscaffoldは, 気孔率 (70-90%), 圧縮強度 (0.05-0.80 MPa), および気孔径 (260-740  $\mu$ m) の異なる12種類のPLGA (LA:GA=75:25, MW.120,000) scaffoldの中から軟骨形成効率と形状安定性から選定した (金子正ら. 再生医療 12, 2012)。4週齢F344ラット大腿骨・脛骨骨髄を10%FBS, 3 ng/ml FGF-2 含有 $\alpha$ MEM培地で培養してMSCを増殖させ (Tsutsumi S et al. BBRC., 2001), PLGA scaffoldに播種した後, 軟骨分化誘導を行い, 頭蓋用 $\phi$ 9 $\times$ 2 mm, 上顎用3 $\times$ 3 $\times$ 1 mmの3次元培養MSC-DCs移植体を作製した。10週齢の同系ラットを2群に分け, 頭蓋骨骨膜下, および上顎歯槽骨第一臼歯頰側骨膜下に前述の移植体を移植した (各群N=3)。比較対照としてscaffoldのみを移植する群 (各群N=3) を設定した。2, 4, 8週後にラットを安楽死させた後, 頭蓋および上顎を回収し,  $\mu$ CTおよび各種病理組織学的評価 (H&E染色, Alcian Blue染色, TRAP染色) を行った。

#### 【結果】

頭蓋骨および上顎歯槽骨の骨膜下へ移植したMSC-DCs移植体中のAlcian Blue陽性の軟骨組織は移植後2週の早期から減少し始め, 骨組織へと置換されるに従って減少した。移植体内部への血管侵入も移植後2週から多数観察され, 血球系細胞の浸潤が観察された。骨髄の形成も移植後2週から再生した骨内部で観察され, 移植後の経過日数に依存して成熟していく傾向にあった。移植後8週には巨核球の存在も確認され, 造血機能を有した骨・骨髄組織が形成されている事が確認された。TRAP陽性細胞の出現は上顎歯槽骨の方が頭蓋骨と比較して早く, 軟骨と骨の界面に多く見られた。形状は不定で多核の破骨細胞とは異なっていた。骨芽細胞は新生骨の表面に並んで観察され, 軟骨の表面を覆うように骨を形成していく様子が観察された。 $\mu$ CTによる評価では頭蓋骨, 上顎歯槽骨ともに移植体の外周部に一層の石灰化組織が早期に観察され, その後内部で散発的な石灰化組織の形成が観察された。

#### 【考察および結論】

MSC-DCs移植体は早期に骨, 骨髄へと置換され, 境界部にはTRAP陽性細胞が観察され, 新生骨表面には骨芽細胞が観察されたことから, 軟骨内骨化のメカニズムで骨が形成されていることが示唆された。また, 移植体表面では宿主骨膜性の骨形成が観察され, 移植体と骨膜の作用により骨が形成されている事が示唆された。MSC-DCs移植体の骨化では移植体中に血管が入り込むことで, 軟骨が肥大化して石灰化し, TRAP陽性細胞による吸収が起こり, これに呼応する形で宿主由来骨芽細胞による骨形成が起こり, 骨が再生したものと推測される。この作用機序は大腿骨, 頭蓋骨, 上顎歯槽骨の全てのモデルで類似しており, MSC-DCs移植体は使用する部位に関係することなく, 軟骨内骨化のメカニズムで早期に骨を形成する新しい再生治療材料になりうるものと考えられる。

### Activin A がヒト歯根膜細胞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口腔機能修復学講座歯科保存学研究分野、<sup>2</sup>九州大学病院歯内治療科、  
<sup>3</sup>アデレード大学歯学部歯周病学講座

○杉井英樹<sup>1</sup>, 前田英史<sup>2</sup>, 友清淳<sup>3</sup>, 山本直秀<sup>1</sup>, 郡勝明<sup>1</sup>, 和田尚久<sup>2</sup>, 門野内聡<sup>2</sup>, 濱野さゆり<sup>1</sup>,  
長谷川大学<sup>1</sup>, 祐田明香<sup>1</sup>, 寺松陽子<sup>1</sup>, 河野清美<sup>2</sup>, 吉田晋一郎<sup>1</sup>, 赤峰昭文<sup>1,2</sup>

#### The effect of Activin A on human periodontal ligament cells.

<sup>1</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, <sup>2</sup> Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, <sup>3</sup> Colgate Australian Clinical Dental Research Centre, School of Dentistry, University of Adelaide. ○Hideki Sugii<sup>1</sup>, Hidefumi Maeda<sup>2</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>3</sup>, Naohide Yamamoto<sup>1</sup>, Katsuaki Koori<sup>1</sup>, Naohisa Wada<sup>2</sup>, Satoshi Monnouchi<sup>2</sup>, Sayuri Hamano<sup>1</sup>, Daigaku Hasegawa<sup>1</sup>, Asuka Yuda<sup>1</sup>, Yoko Teramatsu<sup>1</sup>, Kiyomi Kono<sup>2</sup>, Shinichiro Yoshida<sup>1</sup>, Akifumi Akamine<sup>1,2</sup>

【研究目的】 Activin A は transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) superfamily に属する inhibin $\beta$  の 2 量体蛋白質であり、脳下垂体からの FSH 分泌促進、中胚葉誘導作用、そして濃度依存的組織分化誘導といった多くの事象への関与が明らかにされている。骨に関しては、*in vitro* では骨形成抑制の報告が多く存在する。一方、*in vivo* では骨形成、骨折治癒の促進といった報告がなされている。口腔領域ではマウス歯胚間葉の初期で歯小嚢に発現が認められ、Activin A の変異体は歯根膜組織を含めた上顎臼歯以外の歯が欠損することが知られている。しかしながら現在のところ、ヒト歯根膜組織に対する Activin A の作用については明らかにされていない。そこで本研究では(1)ヒト歯根膜細胞(HPDLCs)における Activin A の発現、ならびに(2) Activin A が HPDLCs の走化性、遊走能、増殖能、骨芽細胞様分化、そして線維芽細胞様分化に及ぼす影響、(3)歯根膜組織の創傷部位における Activin A の発現について検討した。

【材料および方法】 矯正治療を目的に本院を受診し、本研究に同意を得られた 3 名の患者の抜去歯牙より歯根膜組織を採取し、10%Fetal Bovine Serum 含有の $\alpha$ -MEM(10%FBS/ $\alpha$ -MEM)にて 4-7 継代培養した細胞を HPDLC-3S(23 歳男性)、-3Q(21 歳女性)、-30(20 歳女性)として本研究に用いた。(1) HPDLCs における inhibin $\beta$ 、Activin receptor- I a, - I b, - II a, - II b の遺伝子発現を、PCR 法を用いて解析した。(2) modified Boyden Chamber assay, Scratch wound healing assay, 及び Proliferation assay(Takara)を用いて、Activin A が HPDLCs の走化性、遊走能、増殖能に及ぼす影響について検討した。次に、Activin A の存在下で培養した HPDLCs において Alizarine red 染色ならびに骨及び、線維関連遺伝子発現について解析した。(3) ラット歯根膜傷害モデル(5 週齢、雄性、SD ラット)の左側上顎臼歯部の組織切片を用いて Activin A 抗体(R&D Systems)ならびに IL-1 $\beta$ 抗体(Santa Cruz Biotechnology)による免疫組織化学的染色を行った。また、炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ) にて刺激した HPDLCs における inhibin $\beta$  の遺伝子発現について解析した。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)HPDLCs において inhibin $\beta$  及び 4 種類の Activin receptor の遺伝子発現を認めた。(2) 100ng/ml の Activin A 存在下で、HPDLCs の走化性及び、遊走能は刺激後 2 日目、そして増殖は刺激後 3 日目で有意に促進する結果が得られた。また、Activin A は Ca 含有培地にて培養した HPDLCs における Alizarin red 陽性反応を抑制する傾向が認められた。一方、Activin A 単独で刺激した HPDLCs では、COL-1、Periostin の遺伝子発現が有意に促進した。(3) ラット歯根膜傷害モデルを用いて Activin A 抗体、IL-1 $\beta$ 抗体による免疫組織化学的染色を行った結果、傷害側では創部近傍の歯根膜組織にていずれも強い陽性反応を認め、非傷害側では Activin A 抗体に弱陽性反応を呈した。また、IL-1 $\beta$ 抗体に陽性反応は存在しなかった。IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 刺激 (12, 24 時間) 下で HPDLCs における inhibin $\beta$  の発現は有意に促進した。

【考察】 本研究の結果から、傷害によって惹起された炎症性サイトカインにより、炎症早期に Activin A の発現が促進することが示唆された。また、組織の治癒過程において細胞の走化性、遊走能、増殖は重要な過程であるが、本研究において、Activin A は HPDLCs に対してこれらを有意に促進し、さらに HPDLCs の骨芽細胞様分化を抑制し、線維芽細胞様分化を促進することが示唆された。これらのことより、Activin A は歯根膜組織の創傷治癒に関与していることが推察された。

【結論】 (1) HPDLCs は inhibin $\beta$  及び 4 種類の Activin receptor 遺伝子を発現している。(2) Activin A は HPDLCs の走化性、遊走能、増殖能、そして線維芽細胞様分化を促進し、骨芽細胞様分化を抑制する。(3) 傷害を受けた歯根膜組織は、炎症病態下で Activin A の発現を促進する。

## 異なる濃度のナノ $\beta$ -TCP 分散液でコーティングした コラーゲンスキャフォールドの特性評価

北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室  
○宮治 裕史, 西田 絵利香, 村上 秀輔, 川浪 雅光

### The properties of collagen scaffold modified by nano $\beta$ -TCP dispersion with different concentrations.

Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine.

○MIYAJI Hirofumi\*, NISHIDA Erika, MURAKAMI Shusuke, KAWANAMI Masamitsu.

#### 【研究目的】

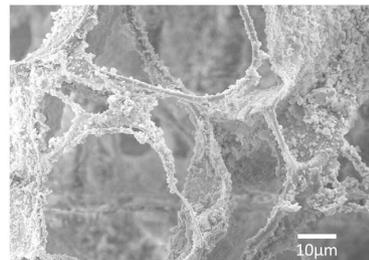
$\beta$ -三リン酸カルシウム ( $\beta$ -TCP) は優れた骨伝導性, 生体親和性を有するが, 歯周組織再生用スキャフォールドとして応用するには, 吸収が遅く生体内に長期に残存する問題点がある. 我々は  $\beta$ -TCP をナノサイズ粒子にすることで表面積が拡大され, 吸収性をはじめとした様々な活性が上昇すると考え, ナノ  $\beta$ -TCP 分散液でコラーゲンスキャフォールドをコーティングして生体応用した. その結果, 骨増生效果を認め, 同時にスキャフォールドの吸収性が促進された (第 137 回日本歯科保存学会学術大会にて発表). 今回さらに, ナノ  $\beta$ -TCP 分散液の濃度を変えてコーティングを行い, スキャフォールドの特性変化について評価したので報告する.

#### 【材料および方法】

$\beta$ -TCP (平均粒径 2.3  $\mu\text{m}$ , 富田製薬より提供) をナノ粉砕機にて粉砕し, 両性イオン界面活性剤と有機溶媒 (NMP) を用いて分散液を作製した. ナノ  $\beta$ -TCP の粒径は平均 84nm であった. コラーゲンスキャフォールド (テルダーミス (R), オリンパスステルモバイオマテリアルより提供) を  $6 \times 6 \times 3\text{mm}$  の大きさに裁断, 3 種類の濃度 (0.1, 1, 5wt%) に調整したナノ  $\beta$ -TCP 分散液でコーティング後, 洗浄乾燥した. コントロールとして溶媒のみで処理したスキャフォールドを用意した. 各試料の重量および圧縮強度を測定した. また SEM にて各試料の表面および内部を観察した. 細胞親和性の評価として, MC3T3-E1 細胞をスキャフォールドに播種して 24 時間後に SEM 観察した. 次にラット背部皮下へ各試料を移植して, 10 日後に組織標本作製, 顕微鏡観察を行った. また, 移植後 10 日の各スキャフォールドを皮下より摘出して スキャフォールドに含まれる細胞の DNA 量を計測した.

#### 【結果と考察】

コラーゲンスポンジはコーティングによって若干変色したが形状に変化は見られなかった. 試料の重量は分散液濃度に依存して増加, 圧縮強度は 5wt% 分散液コーティングスキャフォールドでコントロールの約 2 倍を示し有意に向上した. SEM 観察においてコラーゲンスキャフォールドの表面にナノサイズの  $\beta$ -TCP 粒子が付着しているのが観察され, スキャフォールド表面と内部の粒子付着状態は同等であった. また  $\beta$ -TCP 分散液の濃度依存性に付着粒子が増加した. 培養試験の結果, スキャフォールド表面への細胞の付着伸展を認めた. また, ラット背部皮下へ移植されたスキャフォールド周囲への炎症性細胞浸潤もほとんど認められず, 細胞・組織親和性は良好であると考えられた. また, ナノ  $\beta$ -TCP コーティングによってスキャフォールドへの線維芽細胞, マクロファージ等の ingrowth が多く認められ, 血管新生も盛んであった. DNA 測定の結果, 5wt% コーティングスキャフォールドはコントロールの約 4 倍, 1wt% で約 3 倍の値であり, ナノ  $\beta$ -TCP 分散液の濃度依存性に細胞の ingrowth が増加することが明らかとなった.



SEM image of nano  $\beta$ -TCP scaffold

#### 【結論】

ナノ  $\beta$ -TCP 分散液のコーティング濃度依存性にコラーゲンスキャフォールドの強度および生体適合性が向上した.

## エレクトロスピンニング法によるナノファイバーコラーゲン膜の作製

日本大学松戸歯学部 再生歯科治療学講座<sup>1</sup>、歯科生体材料学講座<sup>2</sup>

○村山 優<sup>1</sup>, 牧村英樹<sup>1</sup>, 大鹿沙弥香<sup>1</sup>, 横田容子<sup>1</sup>, 染井千佳子<sup>1</sup>, 菊地信之<sup>1</sup>, 木村功<sup>1</sup>, 谷本安浩<sup>2</sup>, 和田守康<sup>1</sup>

### Fabrication of nano-fiber collagen membrane using the electrospinning

Departments of <sup>1</sup>Renascent Dentistry and <sup>2</sup>Dental Biomaterials Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Yu MURAYAMA<sup>1</sup>, Hideki MAKIMURA<sup>1</sup>, Sayaka OOSHIKA<sup>1</sup>, Yoko Yokota<sup>1</sup>, Chikako SOMEI<sup>1</sup>, Nobuyuki KIKUCHI<sup>1</sup>,

Koh KIMURA<sup>1</sup>, Yasuhiro TANIMOTO<sup>2</sup> and Moriyasu WADA<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

歯周病や歯根のう胞等を原因とする骨欠損やインプラント埋入時における骨増生にGTR、GBR膜（細胞遮断膜）等を用いた歯周組織再生法は早くから臨床の場で応用されてきた。細胞遮断膜の所要条件として細胞の吸着性、生体親和性、多孔質性などが挙げられ、特に吸収性膜の場合には膜の吸収にともない、機械的強度が減少しスペースメイキング能力もなくなるため、吸収スピードは組織再生と同じ速さである事が理想である。

また近年、エレクトロスピンニング技術の再生医療用材料への応用が検討されている。エレクトロスピンニング法とは、高分子溶液などに高電圧を流すことによってノズルから溶液を金属コレクタに対してスプレーしつつ、溶媒を蒸発させることで電氣的に紡糸する方法である。これにより数ナノ～数マイクロメートル径の細いファイバーを作ることが可能である。ナノファイバーは広い表面積を有し、細胞や生体成分の湿潤が容易に起こると考えられ、またナノファイバーが複雑に絡まり合って3次元構造を形成するため、多方向に対して優れた機械的性質を有するものと考えられる。そこで本研究ではナノ～サブミクロンスケールのコラーゲンやPLLAファイバーを歯周組織再生治療の細胞遮断膜として臨床応用することを目指し、まず今回はエレクトロスピンニング法によりナノファイバー構造を有するコラーゲン膜の作製を試みた。

#### 【材料及び方法】

本研究では出発原料として、吸収性高分子材料であるアテロコラーゲンパウダー（高研）を用い、また溶媒には1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール（和光）を用いた。これらにより60mg/mlの溶液を調製し、エレクトロスピンニングすることにより、コラーゲンナノファイバーを作製した。エレクトロスピンニングによるナノファイバー膜の作製条件は、印加電圧20kV、溶液量2.0ml/h、ノズル間とコレクタ板までの距離10cmとした。また作製したナノファイバー膜の収集を容易にするため、ステンレス製のコレクタ板表面にアルミ箔を貼り付けた。

作製したナノファイバーコラーゲン膜について、電界放射走査電子顕微鏡（FE-SEM；JSM-6340F、JEOL）により構造観察を行なった。

#### 【結果および考察】

本研究で作製したナノファイバーコラーゲン膜のFE-SEM観察の結果、約300～700nm以下のナノファイバーで形成された3次元構造が確認できた。一般にエレクトロスピンニング法により作製されるナノファイバーの構造は、ポリマーの分子量、ポリマー溶液の濃度、印加電圧やコレクタとノズル間との距離などに影響される。特にポリマー溶液の濃度は重要であり、濃度が低いとファイバー化せず、ビーズ（粒子状形成物）が発生し、濃度が高いとファイバー化するファイバー径が大きくなる。そのためエレクトロスピンニング法を応用する際、最適なポリマー濃度を選定する必要があるが、本研究の場合には60mg/mlの濃度が最適であった。その一方で今回得られたナノファイバーコラーゲン膜の機械的強度は低く、操作性に難があり、今後は膜の機械的強度の向上のためにPLLAとの複合化などが考えられる。

以上のことから、エレクトロスピンニング法により得られたナノファイバーコラーゲン膜は、その構造面から歯周組織再生治療での細胞遮断膜として有用であると想定されるが、今後各種生体由来因子の吸着設計および機械的性質などの観点からさらなる検討を行っていく予定である。

***Porphyromonas gingivalis* からなるバイオフィルム性モデル実験系作製の試み**

○藤原 守、林 善彦  
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齲蝕学分野

**The preliminary *in vitro* study for biofilm formation consisting of *Porphyromonas gingivalis***

○Fujiwara Mamoru, Hayashi Yoshihiko  
Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

緒言

これまで我々の教室では、齲蝕原性細菌である *S. mutans* および成人性歯周炎の代表的な原因菌である *Porphyromonas gingivalis* (P. g 菌) に対し、甲殻類由来の多糖であるキチンを脱アセチル化することによって得られるキトサンが、高い発育抑制作用を有することを明らかにした (第 131 回日本歯科保存学会学術大会)。

しかしながら従来、抗菌活性の評価は寒天平板或いは静置された培養液中での菌増殖の抑制を図ることによってなされてきた。このような“浮遊形態の細菌”に対する効果を明らかにすることはそれ自体一定の意味はある。しかし、より実際の口腔環境および感染形態に近いバイオフィルム様状態となった菌を対象とすることが、臨床に資する所は大きく、基礎研究においては不可欠な実験手法となっている。

P. g 菌からなるバイオフィルムに関しては多くの報告がなされているが、その多くは形成されたバイオフィルムの形状、遺伝子発現、などに関する研究からなっており、バイオフィルムそれ自体がいかんして形成されていくか、その発達・成長過程自体を扱ったものは少ないようである。P. g 菌バイオフィルムの形成モデル実験において、すでに菌体外マトリックス様構造物が形成されることが観察されている。また、浮遊形態の菌には感受性を示す抗菌剤でも、必ずしもバイオフィルム中の菌に対しては効果を有するわけではないことも報告されている。

以上のような背景の下で、バイオフィルムをも含めた P. g 菌への種々な抗菌活性物質の影響を検討するために必要となる、バイオフィルム形成モデルの基礎データを得る目的で今回の実験・観察を行った。

方法

今回、疑似血管画像解析装置である Cellix VenaFulux システム (Cellix 社、アイルランド) に装着した Vena8 バイオチップ内でのバイオフィルム形成条件を種々検討した。すなわち、灌流速度を種々変化させることによって、バイオフィルムの形成過程は光学顕微鏡を用いて直接観察・撮影を行った。

結果とまとめ

Vena8 バイオチップの流路を構成するカバーガラス上で、流量を調整すること {低速灌流状態 (0.05dyne/cm<sup>2</sup> 以上)} で P. g 菌の経時的な集積を観察・確認できた。キトサンを始めとした生物由来の抗菌物質は、一般に殺菌的作用と共に静菌作用も有しているとされている。

今回、キトサンによる P. g 菌バイオフィルムの形成阻害効果の有無を明らかにするための基礎的なデータとして、形成過程の光学顕微鏡観察ができた意義は大きいものと考えている。今後は、今回のバイオフィルムモデル系を用い、キトサンの種類、濃度、作用時間を変化させた時の抗菌作用を検討したいと考えている。

文献

1. Fujiwara M, Hayashi Y, Ohara N, Inhibitory effect of water-soluble chitosan on growth of *Streptococcus mutans*, *New Microbiologica*, 27(1), 83-86,2004
2. Hayashi Y: Application of chitosan oligosaccharide and glucosamine in dentistry. In *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives: Biological Activities and Applications*, ed. Se-Kwon Kim, CRC Press- Taylor & Francis Group, 447-460, 2010.

Papillon-Lefevre 症候群患者の口腔内細菌叢  
- 特に歯周ポケット内細菌について -

日本大学松戸歯学部<sup>1</sup> 口腔微生物学,<sup>2</sup> 再生歯科治療学,<sup>3</sup> 小児歯科学講座  
○平田亮太郎<sup>1</sup>, 牧村英樹<sup>2</sup>, 荒井清司<sup>3</sup>, 横田容子<sup>2</sup>, 木村 功<sup>2</sup>, 長濱文雄<sup>2</sup>, 前田隆秀<sup>3</sup>, 和田守康<sup>2</sup>

Oral microflora of Papillon-Lefevre syndrome  
-Detection of bacteria in periodontal pocket-

Departments of <sup>1</sup> Microbiology and Immunology, <sup>2</sup> Renascent dentistry and <sup>3</sup> Pediatric dentistry,  
Nihon University School of Dentistry at Matsudo  
○Ryoutaro HIRATA<sup>1</sup>, Hideki MAKIMURA<sup>2</sup>, Kiyoshi ARAI<sup>3</sup>, Yoko YOKOTA<sup>2</sup>, Koh KIMURA<sup>2</sup>, Fumio NAGAHAMA<sup>2</sup>,  
Takahide MAEDA<sup>3</sup> and Moriyasu WADA<sup>2</sup>

【研究目的】

Papillon-Lefevre症候群(PLS)は、手足の過角化および乳歯列、永久歯列における高度な歯周組織破壊を示し、成人までに無歯顎となってしまう難治性の歯周疾患を伴う症候群である。本症候群は常染色体劣性遺伝で発症し、カテプシンC遺伝子の変異が発症と関連しているカテプシンCの酵素活性欠如により皮膚の上皮細胞剥離脱落を阻害し過角化症の要因となるといわれており、口腔内では接合上皮の早い代謝と剥離しやすい傾向が歯周疾患を誘導する要因となっているとされる。歯科領域における本疾患の治療法としては、抗菌薬による歯周病関連細菌の除去、ならびに口腔内ケアであるが、本症例における口腔内細菌叢の文献は散見される程度である。そこで今回我々は、PLS患者の歯周ポケット内浸出液より試料を採取、培養し、無作為に100菌株を選択し、16S rRNA遺伝子の配列をもとに菌種同定を行ったところ興味深い知見を得たので報告する。

【対象と方法】

日本大学松戸歯学部付属病院・小児歯科を受診した初診時年齢10歳5ヶ月の女児の歯周ポケット内浸出液を実験に供した。近医で歯周治療を行っていたが、歯の動揺がおさまらないことを主訴として紹介来院した。乳歯列期からの歯周疾患と乳歯の早期脱落が認められた。先天性角化症と若年性歯周炎であったため遺伝子検査を行った結果、PLSと診断された。採取した歯周ポケット内浸出液は、超音波分散後、血液寒天培地に接種した。嫌気培養後、100株を分離培養し、染色体DNAを抽出した。16S rRNA遺伝子をPCRにて増幅し、塩基配列を決定した。得られた塩基配列はDDBJのblastデータベースにて検索し、菌種を同定した。また、歯周病原性細菌の検出比率を検討するため総菌用培地として血液寒天培地、黒色色素産生菌用の選択培地としてカナマイシン、ヘミン、メナジオン含血液寒天培地、*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. a*) 用選択培地としてAASM培地、さらに真菌である*Candida albicans* (*C. a*)用の選択培地としてカンジダサブロー培地を使用した。培養方法は通法に従った。加えて、通法に従いDNA genotypeを検討した。本実験は日本大学松戸歯学部倫理委員会(承認番号EC 12-006)の承認を、被験者および保護者には事前説明したのち同意を得て行った。

【結果】

血液寒天培地から分離した100株の菌種同定を行ったところ、次の結果を得た。最も優勢であったのは*Streptococcus*属の59%であり、*S. anginosus*, *S. sanguinis*, *S. intermedius*の3菌種が大半を占めていた。次に優勢なのは*Actinomyces*属の24%であり、*A. naeslundii*が多かった。また歯周病原性細菌種の検出比率を検討したところ、PLSで検出頻度が高いとされ、侵襲性歯周炎の主要な原因菌である*A. a* は検出されなかった。慢性歯周炎への関連が深い黒色色素産生菌はわずかながら検出された。さらに興味深いことに、*C. a*を培養したところ集落形態が異なる2種類の*C. a*が検出されDNA genotypeを検討した結果genotype A, 及びCが検出された。

【考察】

PLSにおける歯周病治療として抗菌剤投与による治療の有効性が示されているが、安易な抗菌剤投与は菌交代現象を引き起こし、より重篤な疾患へとつながる可能性が示唆され、抗菌剤の選択、真菌の影響など治療法に関して更なる検討が必要なものと推察された。

## 東京歯科大学水道橋病院における歯周外科治療の臨床結果

東京歯科大学口腔健康臨床科学講座総合歯科学分野<sup>1</sup>, 歯周病学講座<sup>2</sup>  
○早川裕記<sup>1</sup>, 細川壮平<sup>1</sup>, 古澤成博<sup>1</sup>, 齋藤 淳<sup>2</sup>

### Clinical outcome of surgical periodontal therapy at Tokyo Dental College Suidobashi Hospital

Division of General Dentistry, Department of Clinical Oral Health Science<sup>1</sup>,  
Department of Periodontology<sup>2</sup>, Tokyo Dental College  
○HAYAKAWA Hiroki<sup>1</sup>, HOSOKAWA Sohei<sup>1</sup>, FURUSAWA Masahiro<sup>1</sup>, SAITO Atsushi<sup>2</sup>

#### 【目的】

深い歯周ポケットの残存は、清掃用具の到達を困難にし、歯周ポケット内部が歯周病原細菌の温床となり、さらなる歯周炎の進行につながる。歯周外科治療は歯周基本治療では除去できない原因因子の除去、歯周組織の生理的な形態の回復、審美性の改善を目指しているが、科学的根拠や確立した治療指針に基づき適切に実施する必要がある。そのためには、術者自身が行っている臨床結果について評価し、併せて検討することも重要となる。今回、我々は所属診療科における歯周外科治療の現状を把握し、臨床結果について評価することを目的に調査を行った。

#### 【材料および方法】

東京歯科大学水道橋病院総合歯科において、2010年4月から2012年3月までの期間に行われた歯周外科治療を対象とした。歯周外科記録用紙(1.症例基本情報 2.歯周外科の種類 3.手術部位 4.初診時、基本治療後および外科後の歯周パラメーターの項目を含む)を使用して術者が記録し、提出されたものを解析した。

#### 【結果および考察】

中等度から重度歯周炎を有する患者計80名(男性31名,女性49名,平均年齢54歳)に対し歯周外科治療が、計17名の術者により行われ、症例総数は138であった。歯周基本治療後に行われた歯周外科手術の内訳は、フラップ手術102例、歯周組織再生療法29例、歯周形成外科7例であった。フラップ手術および歯周組織再生療法の症例は、骨内欠損(1壁性から3壁性)が17例、根分岐部病変は12例であった。歯周組織再生療法としては、エナメルマトリックスデリバティブ(EMD, 先進医療として実施)または骨移植が選択されていた。歯周外科治療後の再評価の結果、フラップ手術群では、プロービングデプスの減少は平均3.9mm, アタッチメントゲインは平均2.3mmであった。歯周組織再生療法群は、それぞれ4.0mm, 2.8mmであった。歯周組織再生療法群はフラップ手術群と比較し、4mm以上のアタッチメントゲインの割合が多く、初診時8mm以上の深い歯周ポケットにおいて、有意に大きなアタッチメントゲインが認められた( $p < 0.05$ )。プロービング時の出血は歯周基本治療後に60%と高い値を示していたが、歯周外科治療後、16%に改善された。治療による動揺度の有意な変化は認められなかった。

#### 【結論】

歯周外科手術は、主にフラップ手術が選択されており、歯周組織再生療法ではEMDの応用症例が大部分を占めていた。深い歯周ポケットに対しては、歯周組織再生療法の有用性が示唆された。

## ヒノキチオール配合ジェルを用いた口腔ケアが口臭及び口腔内環境に与える影響

<sup>1)</sup>福岡歯科大学 総合歯科学講座 総合歯科学分野

<sup>2)</sup>福岡歯科大学 口腔医療センター

○伊波幸作<sup>1)</sup>, 鈴木奈央<sup>1)</sup>, 米田雅裕<sup>2)</sup>, 山田和彦<sup>1)</sup>, 岩元知之<sup>1)</sup>, 榊尾陽介<sup>1)</sup>, 藤本暁江<sup>1)</sup>, 瀬野恵衣<sup>1)</sup>, 春名一人<sup>1)</sup>, 安 忠大<sup>1)</sup>, 入江丹佳子<sup>1)</sup>, 西原哲世<sup>1)</sup>, 仲西宏介<sup>1)</sup>, 廣藤卓雄<sup>1)</sup>

### Effect of mouth cleaning by hinokitiol-containing gel on oral malodor and oral conditions

<sup>1)</sup>Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

<sup>2)</sup>Center for Oral Diseases, Fukuoka Dental College

○Iha K<sup>1)</sup>, Suzuki N<sup>1)</sup>, Yoneda M<sup>2)</sup>, Yamada K<sup>1)</sup>, Iwamoto T<sup>1)</sup>, Masuo Y<sup>1)</sup>, Fujimoto A<sup>1)</sup>, Seno K<sup>1)</sup>, Haruna K<sup>1)</sup>, Yasu T<sup>1)</sup>, Irie T<sup>1)</sup>, Nishihara T<sup>1)</sup>, Nakanishi K<sup>1)</sup>, Hirofuji T<sup>1)</sup>

【研究目的】ヒノキチオールは、歯周病関連嫌気性菌に優れた抗菌活性を示すことから、歯科口腔領域では、古くから歯周疾患治療剤として利用されている。口臭の主成分である揮発性硫黄化合物は、舌苔や歯周ポケットに棲息する嫌気性菌が含硫アミノ酸を分解することによって発生する。臨床的にも、口腔由来の病的口臭の主な原因は歯周疾患であることから、ヒノキチオールは、口臭のコントロールに有効であると予想される。我々は、ヒノキチオール配合口腔ケア用ジェルによる歯、口腔粘膜、舌苔を含む口腔清掃の口臭改善効果を、ヒノキチオール無配合口腔ケア用ジェルを使用した場合と比較することによって評価してきた。第 137 回日本歯科保存学会秋季学術大会では、途中経過を報告したが、今回は統計学的分析を加えて比較検討を行った。

【対象および方法】本研究は、福岡歯科大学・福岡医療短期大学倫理委委員会の承認を得て実施した。口臭を主訴として福岡歯科大学医科歯科総合病院口臭クリニック科を受診した真性口臭症患者 18 名に対して、ランダム化比較試験を行った。被験者は、第三者によって無作為にヒノキチオール配合ジェル群 (実験群、9 名) とヒノキチオール無配合ジェル群 (対照群、9 名) に割り当てられた。口腔清掃は 1 日 3 回 (毎食後)、以下の通りを行うよう指示した。1) 歯ブラシにジェルを 1 cm 取る、2) 歯と歯肉の清掃を 3 分間行う、3) 舌ブラシで 5 回舌清掃を行う、4) 歯磨き終了後ゆすいだ後に、再度ジェルを 2cm 指に取り、口腔内全体にマッサージしながら広げ、清掃後 30 分は飲食をしない。使用開始前 (ベースライン) と 4 週後に、口臭検査 (官能検査・ガスクロマトグラフィーによる硫化水素濃度とメチルメルカプタン濃度の測定) と口腔内診査 (歯周ポケット・プロービング時出血 (BOP)・プラークインデックス (PII)・舌苔スコア・舌表面の保湿度) を実施した。歯周組織検査は 6 点法で行い、舌表面の保湿度は口腔水分計 (ムーカス<sup>®</sup>、ライフ (株)) を用いて測定した。検査当日は、起床時より飲食および歯面清掃を禁止した。

【結果と考察】ベースライン解析において、実験群 (52.2 ± 11.4 years) と対照群 (57.2 ± 8.6 years) の間に、口臭レベルと口腔内状態の統計学的違いはみられなかった。ベースラインと 4 週後の結果を比較したところ、口臭検査においては、実験群で官能検査スコア、硫化水素濃度、メチルメルカプタン濃度に有意な改善が、対照群で官能検査スコアに有意な改善が認められた (図 1)。特に実験群では 2 名が、官能検査スコアで「口臭なし」と判定するスコア 1 以下に改善した。口腔内診査においては、実験群で平均歯周ポケット、BOP の割合、PII の有意な減少がみられた。一方、対照群では BOP の割合に若干の改善があったものの、統計学的有意差はみられなかった。舌苔スコアと舌表面の保湿度については、両群ともに変化しなかった。

【結論】ヒノキチオール配合口腔ケア用ジェルによる口腔清掃は、歯周組織の状態を改善することによって口臭の改善に寄与すると考えられる。

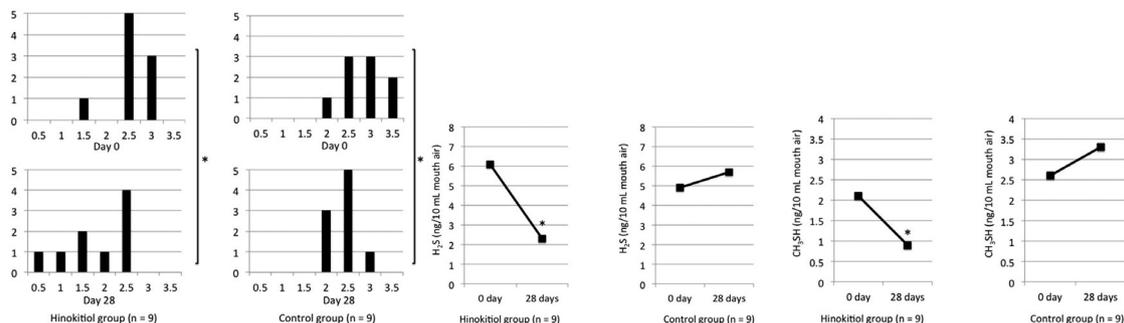


図 1. 口臭レベルの変化。官能検査スコア (左)、硫化水素濃度 (中)、メチルメルカプタン濃度 (右)。\*  $P < 0.05$

### 高齢双生児の歯周病における遺伝因子と環境因子の関与

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学<sup>1</sup> (口腔治療学教室)、顎口腔機能再建学講座<sup>2</sup> (歯科補綴第二教室)

○三木康史<sup>1</sup>、山下元三<sup>1</sup>、北垣次郎<sup>1</sup>、池上久仁子<sup>1</sup>、久保田実木子<sup>1</sup>、粟田敏仁<sup>1</sup>、梶川哲宏<sup>1</sup>、竹立匡秀<sup>1</sup>、柳田学<sup>1</sup>、野崎剛徳<sup>1</sup>、  
山田聡<sup>1</sup>、久留島悠子<sup>2</sup>、松田謙一<sup>2</sup>、池邊一典<sup>2</sup>、北村正博<sup>1</sup>、前田芳信<sup>2</sup>、村上伸也<sup>1</sup>、大阪ツインリサーチグループ<sup>3</sup>

#### Genetic and environmental factors in periodontitis among elder twins

1) Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry 2) Department of Prosthodontics, Osaka University Graduate School of Dentistry 3) Center for Twin Research, Osaka University Graduate School of Medicine

○Koji Miki, Motozo Yamashita, Jirouta Kitagaki, Kuniko Ikegami, Mikiko Kubota, Toshihito Awata, Tetsuhiro Kajikawa  
Masahide Takedachi, Manabu Yanagita, Takenori Nozaki, Satoru Yamada, Yuko Kurushima, Kenichi Matsuda, Kazunori Ikebe,  
Masahiro Kitamura, Yoshinobu Maeda, and Shinya Murakami, Osaka Twin Research Group

〔研究目的〕 高齢者を対象とした歯周組織の状態や歯列形態に関する遺伝因子と環境因子の関連を総合的に検討した研究は、歯科の分野において十分になされていない。ヒトの形質や多因子が複雑に関与する疾患において、遺伝因子と環境因子との相対的な重要度を調べる方法の一つとして、双生児研究法は「ゴールドスタンダード」とみなされている。遺伝因子が完全に同一である一卵性双生児においても、高齢期に達した時、後天的な環境因子の蓄積により歯列形態、生活習慣病としての歯周病の重篤度に差異を生じることが予想される。そこで本研究は、長期間にわたって環境因子の影響を受けてきた高齢双生児を対象に、歯周病と口腔内の形態的特徴とについて、一卵性双生児 (MZ) 間と二卵性双生児 (DZ) 間との類似度を比較することによって、遺伝因子ならびに環境因子による影響を統計学的に検討することを目的とした。

〔材料と方法〕 対象：大阪大学大学院医学研究科附属ツインリサーチセンターにおいて検診を受けた高齢双生児のうち、卵生診断がなされたペアを対象とした。(本研究は大阪大学大学院歯学研究科・歯学部及び歯学部附属病院倫理審査委員会の承認 (承認番号：H21-E2-3) を受け実施されたものである。)

方法：各被験者に対し、以下の検査を実施した。①全残存歯数。②プロービングポケット深さ (PPD)：大阪大学歯学部附属病院歯周病診療室の歯科医師により、6点法にて実施した。③平均歯槽骨吸収率：パノラマレントゲン写真をもとに、Schei のルーラーを用いて歯槽骨の吸収率を算出した。④上下顎歯列の大きさ：各被験者の歯列模型を作製し左右第一小臼歯頰側咬頭間距離を歯列弓幅径として測定した。上記項目に対して各双子ペア間における級内相関係数の検定を行った。

〔結果〕 高齢双生児 57 組は、平均年齢 69.8±11.4 歳、(MZ: 46 組、DZ: 11 組、男: 63 人、女: 51 人、喫煙経験：無: 65 人 有: 27 人 喫煙者: 20 人) 平均現在歯数 20.0±11.0 本、平均歯槽骨吸収率 2.04±1.96、平均 PPD 2.90±1.87mm であった。上顎歯列弓幅径長さに関する級内相関係数は、MZ: 0.95、DZ: 0.87、下顎は MZ: 0.84、DZ: 0.63 となり、同項目については遺伝因子による影響が大きいことが明らかとなった。現在歯数、平均歯槽骨吸収率、平均 PPD に関する級内相関係数はそれぞれ (MZ: 0.64、DZ: 0.83)、(MZ: 0.43、DZ: 0.51)、(MZ: 0.34、DZ: 0.54) となり、これらの項目に関しては環境因子による影響が大きいことが明らかとなった。

〔考察並びに結論〕 口腔の形態的要素である顎骨歯列の大きさは、高齢者においても遺伝因子による影響が大きいことが示唆された。その一方で、歯周病の進行については、遺伝因子よりも加齢の過程で暴露される様々な環境因子による影響が大きいことが推察された。高齢者一卵性双生児間におけるDiscordantペアの環境因子を調査することにより、歯周病に及ぼす糖尿病や肥満などの全身疾患ならびにライフスタイルなどの環境因子の影響をヒト遺伝学にもとづき明らかとしていく予定である。

〔謝辞〕 本研究は大阪ツインリサーチグループ：米田悦啓、早川和生、岩谷良則、畑澤順、依藤史郎、加藤憲司、本多智佳、林 知里、渡邊幹夫、秋山明子 (大阪大学大学院医学系研究科附属ツインリサーチセンター) による高齢双生児レジストリーを基盤とした総合的研究 (代表：大阪大学医学系研究科、早川和生) の一環として実施されたものであり、厚く謝意を申し上げます。

## 関節リウマチ患者におけるトシリズマブ治療の歯周状態への影響

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

新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部<sup>2</sup>

○小林哲夫<sup>1,2</sup>、岡田 萌<sup>1</sup>、石田光平<sup>1</sup>、小島杏里<sup>1</sup>、吉江弘正<sup>1</sup>

### Effect of tocilizumab medication on periodontal condition in rheumatoid arthritis patients

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

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital<sup>2</sup>

○Tetsuo Kobayashi<sup>1,2</sup>, Moe Okada<sup>1</sup>, Kohei Ishida<sup>1</sup>, Anri Kojima<sup>1</sup>, Hiromasa Yoshie<sup>1</sup>

#### 【目的】

インターロイキン6 (IL-6) の過剰産生は、関節リウマチ (RA) ならびに慢性歯周炎 (CP) に共通した病因の1つであることが知られている。近年、トシリズマブ (TCZ) を用いた IL-6 受容体 (IL-6R) 標的治療は、RA 患者において高い寛解率が報告されているが、歯周炎に対する効果については未だ評価が成されていない。そこで今回は、CP を有する RA 患者を対象に、TCZ 治療の有無間での、歯周状態、血清中のサイトカイン、炎症マーカー、および歯周病原細菌に対する免疫グロブリン G (IgG) 抗体価について比較・解析を行った。

#### 【材料および方法】

インフォームドコンセントが得られた CP を有する RA 患者 55 名のうち、TCZ 治療中の患者 28 名 (TCZ 群)、ならびに TCZ 以外の RA 治療中の患者 27 名 (コントロール群) を対象とした。ベースライン時と 8 週後の再評価時に各々、歯周検査、RA 検査、ならびに血清検査を行った。歯周検査として、歯肉炎指数 (GI)、プロービング時の出血 (BOP)、プロービングポケット深さ (PPD)、臨床的アタッチメントレベル (CAL) を、RA 検査として、疾患活動度 (DAS28) を、血清検査としては、リウマチ因子 (RF)、抗環状化シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体)、C 反応性蛋白 (CRP)、マトリックスメタロプロテアーゼ-3 (MMP-3)、腫瘍壊死因子 alpha (TNF- $\alpha$ )、IL-6、および 4 種の歯周病原細菌 (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*) に対する IgG 抗体価を ELISA 法にて測定した。

#### 【結果および考察】

研究期間中、口腔内・RA 状態における副作用は特に認められなかった。ベースライン時における比較では、コントロール群と比べて TCZ 群で血清 IL-6 濃度が有意に高く、他の評価項目では有意差は認められなかった。一方、再評価時の比較では、コントロール群と比べて TCZ 群において GI、BOP、CRP、MMP-3 が有意に低下していた。ベースライン時から再評価時までの変化量の比較では、コントロール群と比べて TCZ 群で GI、BOP、PPD、CAL、MMP-3、IL-6 が有意に著しい減少量を認められた。いずれの評価時でも 2 群間において、年齢、性別、喫煙状態、ステロイド薬、抗リウマチ薬、非ステロイド性抗炎症薬、歯周病原菌特異的 IgG 抗体価、ブランクコントロールレベルで有意差は見られなかった。したがって、今回観察された TCZ 群での歯周状態の改善は TCZ の作用による可能性が考えられる。すなわち、TCZ は IL-6R の IL-6 結合部位に結合することで IL-6 シグナルを競合的に抑制し血清 IL-6 レベルを低下させる。血清 MMP-3 レベルは血清 IL-6 レベルと相関することが報告されており、今回の TCZ 群における IL-6、MMP-3 の減少結果と矛盾しない。更に、今回の結果、TCZ 群のみに抗 CCP 抗体の変化量と PPD および CAL の変化量との間に有意な正の相関が認められた。口腔内細菌で唯一、シトルリン化変換酵素を保有する *P. gingivalis* に対して特異的な IgG 抗体価で群間差が見られなかったことから、*P. gingivalis* 由来シトルリン化  $\alpha$ -enolase と相同性が高いシトルリン化  $\alpha$ -enolase ペプチド 1 が関与している可能性が考えられる。 会員外共同研究者：村澤 章博士、伊藤 聡博士、小林大介博士 (新潟県立リウマチセンター)

## 励起蛍光を応用したプラーク認識除去システム

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科部門<sup>1)</sup>、長田電機工業(株)<sup>2)</sup>  
○伊佐津克彦<sup>1)</sup>、高島 英利<sup>1)</sup>、長田 将治<sup>2)</sup>、長谷川篤司<sup>1)</sup>

### Effect of the experimental light-induced fluorescence aided plaque removal system

Department of Conservative dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,  
Showa University School of Dentistry<sup>1)</sup>, Osada Electronic Co., LTD<sup>2)</sup>  
○Katsuhiko Isatsu<sup>1)</sup>, Hidetoshi Takashima<sup>1)</sup>, Masasi Osada<sup>2)</sup>, Tokuji Hasegawa<sup>1)</sup>

#### 【目的】

近年、デンタルプラークに起因する歯周病と糖尿病や動脈硬化などの全身疾患との関連や、デンタルプラークを構成している細菌を誤嚥することによる肺炎についての報告が多く認められている。デンタルプラークは複数の細菌が形成するバイオフィルムの典型で、この中に存在している細菌に抗菌薬はほとんど効果を発揮することができないため、物理的にバイオフィルムを破壊することが必要である。したがって、デンタルプラーク除去の基本は本人あるいは介助者などによる機械的関与が必要で、プラーク付着部位を視覚的に正しく認識することは、治療効果を最大限に引き出すカギとなる。言い換えるなら、口腔および全身の健康維持のためにはプラークの量、付着部位、そして活動性を定期的に正しく認識することが必須である。

従来、付着しているプラークの評価は染めだし液などを用いて行うのが一般的であるが、高齢者や在宅看護の受診者では染色後の清掃が決して容易ではない。そこで、近年、染め出しなしにプラークの蛍光特性を利用するプラーク認識システムが開発、市販に至っている。我々は第 132、134 回大会で、この光誘導蛍光システムによるプラークの検出は、プラーク染めだし液に比較し鋭敏でないものの、質的評価の可能性について発表した。

この概念を基に 405nm の光源をシステム内で供給できるよう改良した新規プラーク認識除去システムを試作したので報告する。なお、波長約 405nm の十分な光量を確保するために LD 光源を採用した。

#### 【材料と方法】

対象：口腔衛生指導またはメンテナンスを目的に来院した患者を対象として、405nm の LD 光源をにした超音波スクレーパーで口腔内の歯石・プラーク除去を行った。デンタルチェアの無影灯下では、口腔内 4000lux 前後であるが、診療室の照明だけでは、500～600lux 前後であった。

405nm の LD 光源は 30～400lux の輝度で、無影灯を使用することで 405nm の光はほとんど認識できなかった。

しかしながら、無影灯を使用せず、405nm の光源だけで、プラークを十分認識でき、歯肉辺縁の状態や補綴物辺縁の状態を容易に認識できた。

暗視野では、わずかに赤く蛍光するプラークを観察できたが、通常の室内では、プラークが赤く蛍光することは確認できなかった。

#### 【結果および考察】

LD 光源の照射により、暗視野内ではかすかに赤く蛍光するプラーク付着部と考えられる歯面を識別できることが確認できた。また、出力 80 mW の LD 光源を照明とする術野は十分に明るく、保護メガネ装着時にも他の照明を使用せずに口腔内を観察でき、プラーク除去を適切に実施できた。訪問診療など十分な輝度が期待できない場合に、本機は有用であると考えられる。今後さらに大きな出力で検討する事により、プラークの質的評価への検討が可能であると考えられる。