

音速測定によるゴム質印象材の初期硬化挙動の観察

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

○古市哲也¹, 鈴木崇之¹, 村山良介¹, 田村ゆきえ¹,
瀧本正行¹, 坪田圭司^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 齊藤充良^{1,3}

Polymerization Characteristics of Elastomeric Impression Materials by Ultrasonic Measurement

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science Dental Research Center²,
Saito Dental Clinic³, Nihon University School of Dentistry

○FURUICHI Tetsuya¹, SUZUKI Takayuki¹, MURAYAMA Ryosuke¹, TAMURA Yukie¹,
TAKIMOTO Masayuki¹, TSUBOTA Keishi^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, SAITO Mitsuyoshi^{1,3}

【緒言】

印象材の硬化特性を把握することは、臨床での印象採得において挿入や撤去操作を行う上で極めて重要である。印象材の硬化特性は、動的粘弾性を計測することで評価されているものがほとんどであるが、動的負荷を加えることなく硬化特性を判定する手法も必要と考えられる。超音波透過法は、被計測物の物性を音響特性から評価する手法の一つである。ゴム質弾性体の音速は、硬化反応の進行に伴って上昇する。したがって、超音波透過法を用いることによって、印象材の硬化反応について非破壊的に計測することが可能である。そこで演者らは、非破壊による計測が可能な超音波透過法に着目し、これを用いることで印象材の硬化時の硬化挙動を測定し、硬化時の温度環境との関係について検討した。

【材料および方法】

供試したゴム質印象材は、Imprint 4 (IP4, 3M ESPE), Imprint 3 Quickstep (IP3, 3M ESPE), エグザミックスファイン (EF, GC), Virtual (VT, Ivoclar Vivadent), フュージョンII (FS, GC), Aquasil Ultra LV (AQ, Dentsply) および Panasil (PN, Kettenbach) である。超音波測定装置としてパルサーレーザ、縦波用トランスデューサおよびオシロスコープから構成されるシステムを用い、超音波伝搬時間と試片の厚みから縦波音速を求めた。縦波用トランスデューサは励振周波数 2.25 MHz 帯のものを用いた。測定には、トランスデューサとレーザ間に内径 5mm、高さ 1mm のストリップスを貼付し、円筒状隔壁として用いた。トランスデューサとレーザとを専用治具を用いて対向させた状態で固定し、製造者指示にしたがって練和した印象材を円筒状隔壁内に充填し、10 秒ごとに 10 分間測定を行った。測定の温度条件は、室温条件として 23±1°C、相対湿度 50±5% の恒温恒湿室で行い、10 分間室温で計測したもの (23°C 条件) と、臨床操作を想定して 60 秒後から発泡スチロール製保温箱内に試料および治具を設置し、セラミックヒーターを用いて 37°C に保った状態で計測したもの (37°C 条件) とした。硬化後の印象材はデュロメーターを用い Shore A 硬さの測定を行った。試料数は各製品について 10 個とした。なお、音速および Shore A 硬さは、各条件における 10 分後の値を 100 とし、経時的な上昇率として百分率表示した。また、音速あるいは Shore A 硬さが 100 に到達した時間を 100% 到達時間とした。

【成績および考察】

供試した印象材の硬化開始前の音速は、895~928 m/s であった。23°C 条件において、音速の上昇開始時間は IP4 が最も短く、EF が最も長い時間を示した。37°C 条件では、23°C 条件で音速の上昇開始時間の遅い製品については開始時間の短縮が認められた。すなわち IP4 以外の 6 製品において、37°C 環境で硬化反応の開始時間が早くなる傾向が示された。また、いずれの製品においても 37°C 条件で音速の上昇率が大きくなる傾向を示し、その結果音速がプラトーに達する時間の短縮が認められたが、その程度は製品によって異なるものだった。超音波測定装置を用いてゴム質印象材の硬化反応中の音速を測定することで、いずれの印象材においても硬化反応が進むに伴って縦波音速が上昇する傾向を示し、製品によって固有の音速を示した。製品の組成によって音速の値は異なることが考えられたが、供試したすべての印象材の硬化反応の進行を超音波透過法によって音速の変化として捉えることが可能であり、硬化挙動の判定の一助となることが示された。

【結論】

ゴム質印象材の硬化挙動は環境温度によって影響を受けるが、その傾向は製品によって異なるものであった。また、超音波透過法を用いることでその特性を評価することが可能であることが示唆された。

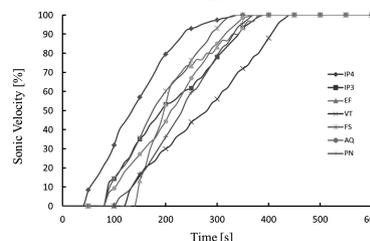


Fig 1. Changes in sonic velocity as a function of time.

ユニバーサルタイプボンディング剤のガラスセラミックに対するせん断接着強さ

日本大学松戸歯学部 保存修復学講座
○神谷直孝、杉山道紀、田川剛士、神谷昌宏、平山聡司

Shear bond strength of the universal type bonding agent to the glass ceramic

Department of Operative Dentistry, School of Dentistry at Matsudo
○KAMIYA Naotaka, SUGIYAMA Michinori, TAGAWA Tsuyoshi, KAMIYA Masahiro, HIRAYAMA Satoshi

【研究目的】

修復物や補綴物の口腔内リペアは、被着体として歯質のみでなくセラミックや金属が含まれるため、接着前処理が煩雑となる。近年、歯質とほとんど全ての修復材料に対し接着するユニバーサルタイプのボンディング剤が製品化され、臨床に普及している。本研究はセラミック修復の口腔内リペアを想定し、ガラスセラミックに対する各種ユニバーサルタイプボンディング剤およびシランカップリング剤の接着性評価を行うことを目的とする。

【材 料】

被着体として GN-1 セラミックブロック(ジーシー)、ユニバーサルタイプボンディング剤として G-プレミオボンド(ジーシー:GPB)、スコッチボンド ユニバーサル(3M ESPE:SBU)、および Crearfil Universal Bond(クラレ:CUB)を、シランカップリング剤としてセラミックプライマーII(ジーシー:GP)、クリアフィル セラミックプライマー(クラレ:CP)、リライエックス セラミックプライマー(3M ESPE:RP) を、コンポジットレジジンとしてクリアフィル AP-X(クラレ)を用いた。

【方 法】

GN-1 セラミックブロックをユニファストIIで包埋し、#320 耐水研磨紙で研磨した。①セラミックプライマー未処理:シランカップリング処理せず、GPB、SBU、CUBにて処理した。②セラミックプライマー処理:GP、CP、RPにてシランカップリング処理した後、GPB、SBU、CUBにて処理した。①、②の処理面上にφ=2.38 mmのモールド(ULTRADENT)を静置し被着面を規定した後、添付文書に従い光照射を行った。クリアフィル AP-Xをモールド内に填塞し、20秒間光照射を行い硬化させた後37°C水中に24時間保管した試験片をTC0群とした。また、TC0群と同様に作製しサーマルサイクル5000回処理を行った試験片をTC5000群とした。それぞれの試験片を小型卓上試験機(EZ-S、島津製作所)にて、クロスヘッドスピード1.0 mm/minでせん断接着強さを測定した(n=5)。

【成 績】

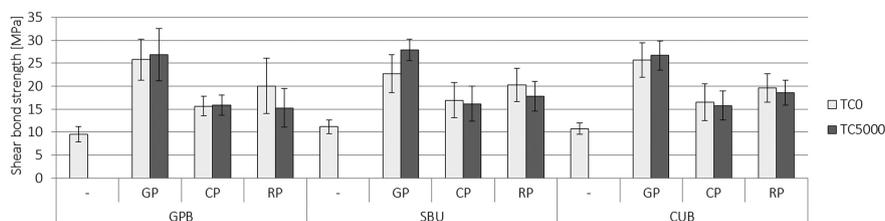


Fig. Shear bond strength of the universal type bonding agent to the glass ceramic

【考 察】

セラミックプライマー未処理のTC0群では、GPB、SBU、CUBとも接着強さに有意差は認めず、TC5000群ではいずれも接着強さが0であった。GPBはシランカップリング剤が未配合であり、SBU、CUBは配合されたシランカップリング剤の効果が低下しサーマルサイクルによる負荷によって剥離してしまうと考えられる。セラミックプライマー処理後では、TC0群、TC5000群とも、GPB、SBU、CUBのすべてにおいて未処理と比較して十分な接着強さを示し、サーマルサイクル前後の接着強さに有意差は認められなかった。

【結 論】

セラミック修復物の口腔内リペアを長期的に安定して維持させるには、ユニバーサルタイプボンディング剤を使用する場合においても、セラミックプライマーを用いてシランカップリング処理を行うべきことが示唆された。

スキャナーの違いとレジンコーティングの有無が CAD/CAM セラミックアンレー修復の窩洞適合性に及ぼす影響

¹⁾日本歯科大学 生命歯学部 接着歯科学講座 ²⁾ハーバード大学歯学部 修復・生体材料科学講座
○林 孝太郎¹⁾, 小川信太郎¹⁾, 前野雅彦^{1,2)}, I.L. Dogon²⁾, 奈良陽一郎¹⁾

Effect of difference in scanners and existence of resin-coating on cavity adaptation of CAD/CAM ceramic onlay restoration

¹⁾Department of Adhesive Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
²⁾Department of Restorative Dentistry and Biomaterials Sciences, Harvard School of Dental Medicine
○HAYASHI Kotaro¹⁾, OGAWA Shintaro¹⁾, MAENO Masahiko^{1,2)}, I.L. DOGON²⁾, NARA Yoichiro¹⁾

【研究目的】 歯科用 CAD/CAM システムを活用した審美的歯冠修復法の進展は目覚ましい。最近、光学印象採得時に必須であったパウダリングを必要としないスキャナーが開発され、システム化がなされている。一方、メタルフリー材料を用いた間接修復に際しては、歯質との接着一体化ならびに象牙質保護の観点から、レジンコーティング法の併用が望まれる。そこで今回、チェアサイド型歯科用 CAD/CAM システムを用いたデジタルレストレーションにおいて、パウダリング要否の点で異なる 2 種スキャナーの違いとレジンコーティングの有無がセラミックアンレー修復の窩洞適合性に及ぼす影響について評価検討を行った。

【材料および方法】 チェアサイド型歯科用 CAD/CAM システムには、最新のパウダーフリー・スキャナーを組入れた CEREC AC Omnicam (ver.4.3、以後、O) とパウダリングを必要とする CEREC AC Bluecam (ver.4.3、以後、B) (MC XL, SIRONA Dental Systems) を用いた。また、修復ブロックとしては、これまで全世界的に最も頻用されている CAD/CAM 用セラミックス：VITABLOCS Mark II (Shade:A3C, VITA) を選択した。実験手順としては、下顎左側第一大臼歯メラミン人工歯の 3 咬頭頂によって規格化を図った植立を経て、Fig. 1 に示す MODB マスター窩洞を窩洞形成器によって形成した。ついで、マスター窩洞の形状・寸法を精密再現したコピー窩洞メラミン人工歯 20 本を依頼作製し、O 群・B 群に区分(n=10)した。その後、非レジンコーティング(以後、C-)群およびレジンコーティング(以後、C+)群に区分(n=5)し、C+群には、Scotchbond Universal Adhesive と Filtek Supreme Ultra Flowable Restorative (3M ESPE) を用いて象牙質相当部に対し、レジンコーティングを施した。ついで、両群試料の光学印象を行い、未形成メラミン下顎左側第一大臼歯の形態コピー用光学印象データに基づく MODB アンレーを製作した。合着操作に際しては、製造者指示の前処理、すなわち、C-群では窩洞全体に対する Scotchbond Universal Adhesive 前処理と光照射を、C+群ではレジンコーティング部を含めた Scotchbond Universal Etchant (3M ESPE) によるリン酸処理を経て、Scotchbond Universal Adhesive 前処理と光照射を行った。また、アンレー体内面に対しては、リン酸処理を経て、Scotchbond Universal Adhesive 前処理を行い、光照射せずに接着性レジンセメント：RelyX Ultimate (3M ESPE) で合着し、37°C 水中に 1 時間保管した。その後、全試料は、歯軸(植立軸)に平行かつ中央窩を通り舌側壁窩縁に直交する面による頬舌的な切断および舌側壁窩縁に平行かつ中心窩を通る面による近遠心的な切断を行い、注水下で SiC ペーパー 2000 番による研磨を行った。ついで、4 片の切断研磨面に対し、Fig. 2 に示す 23 計測点におけるセメント厚さを Nikon Measure Scope MM-11(測定精度 1μm) で計測した。得られたデータは、各計測点について等分散を確認後、二元配置分散分析を行った。

【成績】 Table に全計測点における平均セメント厚さ(μm, n=5)を示す。分析の結果、頬側歯肉側壁(計測点 9, 11)、近遠心の軸壁部(16, 19)と凹隅角部(15, 20)における O の値は、B 値に比べ有意に小さかった。さらに、髄側壁(5)、近遠心の歯肉側壁(14, 21)、髄側壁および舌側壁との凹隅角(4)では、C+が C-に比べ有意に小さい値を示した。なお、それ以外の計測点においては、スキャナーの違いとレジンコーティングの有無はセメント厚さに有意な影響を与えていないことが判明した。

【考察ならび結論】 O は B に比べ、また C+は C-に比べ、同等または優れた窩洞適合性を示すことが判明した。特に軸側壁や軸側歯肉側線角部などのスキャナーから離れた計測点において、O は B に比べ優れた窩洞適合性を示したことから、パウダーフリータイプへのスキャナー改良は、パウダー層の存在による負の影響を排除した良好なスキャニング性能を獲得していると考えられた。また、レジンコーティングによって副次的に得られる窩洞隅角部のラウンド化は、光学印象の精度を高めると同時に、窩洞の陰形である修復物内面の形状再現性に寄与していると推察できる。

この研究の一部は JSPS 科研費 26462899 の助成を受けた。

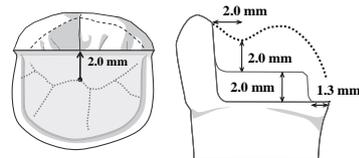


Fig. 1 Standardized MODB cavity

Table Mean value of resin cement thickness at 23 points

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
O C-	125.3	120.2	165.2	208.6	181.7	170.1	170.8	154.1	75.2	68.2	91.4	
O C+	133.2	107.1	155.7	173.0	133.9	128.2	150.4	144.8	78.2	74.4	80.4	
B C-	124.0	122.4	150.6	217.3	187.2	129.7	125.7	158.3	102.9	51.0	59.7	
B C+	104.0	89.9	154.7	187.2	169.3	137.3	136.2	172.8	113.3	61.7	62.5	
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
O C-	97.2	67.3	109.1	140.9	96.8	106.7	89.8	78.9	140.9	136.9	90.9	77.2
O C+	71.1	63.6	69.2	109.2	91.6	86.8	52.3	99.9	107.7	72.5	76.9	62.3
B C-	95.3	121.4	103.8	186.2	116.1	122.5	82.4	124.0	142.0	132.7	90.1	55.1
B C+	83.9	102.8	67.0	172.1	146.5	93.2	85.5	120.8	185.7	103.9	85.5	72.8

(μm)

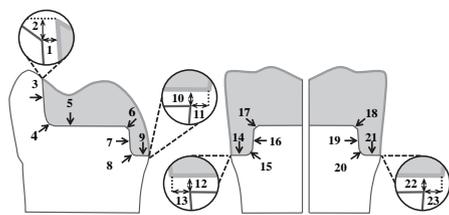


Fig. 2 23 measured points for resin cement thickness

歯科用ジルコニアの表面処理に関する研究
— シリカ改良型サンドブラスト処理によるプライマー処理の可能性について —
神奈川歯科大学大学院 歯学研究科 う蝕制御修復学講座
○岡田周策, 松島 大, 武村幸彦, 飯塚純子, 杉崎新一郎, 向井義晴

Study on Surface Treatment of Dental Zirconia
— Possibility of the Primer treatment to the Silica modified Surface using Sandblaster —
Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University
○OKADA Shusaku, MATSUSHIMA Dai, TAKEMURA Yukihiko, IIZUKA Junko,
SUGIZAKI Shinichiro, MUKAI Yoshiharu

【目的】 歯科用ジルコニアの症例は、鑄造修復に代わる審美材料という意味からも右肩上がり増加しているが、その一方で脱離しやすいという声も上がっていることも事実である。第141回日本歯科保存学会秋季大会において、歯科用ジルコニア表面をシリカ改良型サンドブラスト処理（ロカテックプラス）を行うことにより表面にシリカコーティングを行うことができることを発表した。表面にシリカコーティング層が形成されるのであれば、シランカップリング処理を行うことによってレジンセメントの接着性が向上する可能性を示唆している。そこで、本研究では、鏡面研磨した表面ロカテック処理するによりシリカコーティングを施し、市販のプライマーを用いた接着性向上の有無を微小引張り剪断試験にて比較した。

【材料と方法】 歯科用ジルコニアは、直径12mm、厚さ3mmに削り出された完全焼結体のイトリア系ジルコニア（Z-CAD, METOXIT）、およびセリア系複合ジルコニア（NANOZR, Panasonic社）を用いた。試料表面を中心線平均粗さ（Ra）が0.1 μ m以下なるまで自動研磨器（Doctor LAP, MARUTO社）にて鏡面研磨し試験に供した。試料は表面処理を行わず研磨のみの対照群と、表面処理を行う以下の3群すなわち1) ロカテック群：シリカ改良型サンドブラスト処理（ロカテックプラス, 3M ESPE）を試料までの距離10mm、噴射圧0.28MPa、噴射角度90°で15秒間行った。2) 焼成群：同様の処理を行った後にポーセレン焼成を想定して真空中で昇温スピード45°C/minで1000°Cまで上昇し1分間係留、徐冷をした。3) アルミナ群：アルミナサンドブラスト（ハイアルミナ, 松風）処理のみを行った。以上、合計4群を接着試験に供した。

接着試験は、①セラミックプライマーII（GC）とジーセムリンクエース（GC）、②AZプライマーとリライエックスユニセム2（3M ESPE）の2種類のプライマーとレジンセメントの組み合わせを用いた。まず、表面のプライマー処理を行った後、内径2.38mm、高さ1.5mmのシリコンチューブ（TYGON, サイゴバン）を被着面の面積を規定するため直径2.3mmの穴をあけたメンディングテープ上に置いてレジンセメントをチューブ内に充填し、LED照射器（Demi Plus, Kerr）にて20秒間光照射を行った。その後、重合した各レジンセメントにループ状ワイヤーをかけ、万能試験機（EZ-SX, Shimadzu）にてクロスヘッドスピード1.0mm/minで、微小引張り剪断試験を行った。接着試験の統計的な比較はGames-Howell検定を用い有意水準5%で検討した。

【結果および考察】 本実験において、セラミックプライマーII処理群、AZプライマー処理群ともにアルミナサンドブラスト処理のみを行ったアルミナ群が最も高い接着強さを示した。これは、ロカテック群と比較して表面がわずかに粗くなっているためと推察される。ロカテック群と焼成群においては、焼成群により高い接着強さが観察される傾向があったが、有意な差は認められなかった。今回の結果では、接着強度の分散が大きく、結果として標準偏差が非常に大きいものとなった。さらに、破壊面の多くは界面破壊を示し、表面の硬度が高いため処理が非常に困難であると推察された。

【結論】 本結果より、歯科用ジルコニア表面にシリカ改良型サンドブラスト処理を施し、プライマー処理を行ってもレジンセメントの有意な接着性向上は認められなかった。

ガラスアイオノマーセメントのレイヤリング時の色彩変化

¹⁾ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座

²⁾ 日本大学歯学部総合歯学研究所生体工学研究部門

○安藤 進¹⁾, 高見澤俊樹^{1, 2)}, 岩崎圭佑¹⁾, 今井 元¹⁾, 日野浦 光¹⁾, 宮 直利¹⁾, 細矢由美子¹⁾, 宮崎真至^{1, 2)}

Chronological color changes of layered glass ionomers

¹⁾ Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

²⁾ Division of Biomaterials Science Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○Ando S¹⁾, Takamizawa T^{1, 2)}, Iwasaki K¹⁾, Imai H¹⁾, Hinoura K¹⁾, Miya N¹⁾, Hosoya Y¹⁾, Miyazaki M^{1, 2)}

研究目的

充填用ガラスアイオノマーセメント (GIC) は、優れた臨床的特性特徴を有することから MI コンセプトに適合した修復材と考えられている。しかし、同じ歯冠修復物であるコンポジットレジン (CR) と比較すると、審美性に劣るとされている。CR 修復において、レイヤー法は審美の回復に有効であることが報告されている。そこで、レイヤー法の初層に GIC を、2 層目に CR を用いた GIC レイヤー法の経時的な色彩変化について、光学的性質および表面性状をパラメーターとして検討を加えた。

材料および方法

それぞれコントラスト比 (CoR) の異なる、手用練和高強度充填用 GIC の Fuji IX GP (CG, ジーシー), 機械練和高強度充填用 GIC の EQUIA Forte Fil (EF, ジーシー), 充填用レジン強化 GIC の Fuji Fil LC (LC, ジーシー) および光重合型レジンの Estelite Omega (EA, DA, トクヤマ) を用いた (Table 1)。

Code	Brand name	Shade	CoR	Mixing	Irradiation	Manufacturer
				Time (sec.)	Time (sec.)	
CG	Fuji IX GP	A2	0.94	20	—	GC
EF	EQUIA Forte Fil	A3	0.90	10	—	
LC	Fuji Fil LC	A2	0.72	10	20	
EA	Estelite Omega	EA2	0.64	—	10	Tokuyama
DA		DA2	0.82	—	10	

Group	Layer (mm)	
	1st	2nd
1	EA 1.0	CG 1.0
2	EA 1.0	EF 1.0
3	EA 1.0	LC 1.0
4	EA 1.0	DA 1.0
5	CG 2.0	—
6	EF 2.0	—
7	LC 2.0	—
8	EA 2.0	—
9	DA 2.0	—

試片は直径 6~8mm, 厚さ 1.0mm および 2mm の円板を 5 個ずつ作製し、その後、直ちに人工唾液に浸漬して 37±1°C で保管した。試片は Table 2 の組合せで 1 時間後からの色彩変化を経時的に測定した。

光学的変化については、フレキシブルセンサー (45 度円周照射垂直光, 照射面積 φ6.0 mm, 測定面積 φ3.0 mm) を取り付けた高速分光高度計 (D65 光源, 2 度視野下, 村上色彩) を用いて、白色および黒色背景の条件で測色した。色彩の評価は、CIEL*a*b* 表色系を用い、明度 (L*), 彩度 (C*ab), 色差 (ΔE*ab), 透明性の変化 (TP, CoR) によって行った。

表面性状については、FESEM (ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて観察を行い、考察資料とした

成績と考察

ΔE*ab の変化は、経時的に増加する傾向を示し、幾つかの組合せで 3.0 を超えていた。経時的に ΔE*ab を増減する光学的性質として、L* は増加因子となり、C*ab は減少因子であった。練和および硬化様式の違いは、ΔE*ab の経時的な変化に影響した。とくに、初期硬化に影響する因子は、色差にも影響を及ぼす因子になるものと考えられた。

GIC レイヤーは、単層に比べて色差、明度および彩度の変化量が少なかったことから、本手法は色彩コントロールに優れている修復法であることが示唆された。また、表面観察からは、表層マトリックスレジンの脱落による表面あれや表面気泡の顕在化が認められ、これらの表面性状の変化は CIEL*a*b* 値の変化量に及ぼしたことが示唆され、今後詳細な検討が必要と考えられた。

結論

GIC レイヤー法は、経時的に色彩をコントロールするのに優れた修復法であることが示された。

新規動揺歯固定および矯正用ブラケット接着材の曲げ特性

¹⁾岡山大学大学院 歯歯薬学総合研究科 生体材料学分野

²⁾岡山大学大学院 歯歯薬学総合研究科 総合歯科学分野

³⁾岡山大学病院 新医療研究開発センター

○入江正郎¹⁾, 田仲持郎¹⁾, 松本卓也¹⁾, 武田宏明²⁾, 鳥井康弘²⁾, 吉原久美子³⁾

Flexural Properties of a Universal Fixed Material.

¹⁾Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.

²⁾Department of General Dentistry, ³⁾Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital

○Masao Irie¹⁾, Jiro Tanaka¹⁾, Takuya Matsumoto¹⁾, Hiroaki Takeda²⁾, Yasuhiro Torii²⁾, Kuniko Yoshihara³⁾

【 緒言 】

動揺歯に不可欠な固定材は、歯質の動揺にも追従し安定して固定を行うため、レジンコンポジットのような脆性材料とは異なり、PMMAのような柔軟性を付与した材料が求められている。最近、前述の両方の目的に沿い、なおかつ光重合型で機能性モノマーを配合した矯正用ブラケットの接着材としても使用可能なユニバーサル・タイプの固定・接着材が開発された。そこで今回は、この新規の開発品について、1日後の曲げ特性を検討し、併せて市販の動揺歯固定材および矯正用ブラケット接着材と比較検討し、その有用性に関して検討したので報告する。

【 材料と方法 】

材料としては新規開発のユニバーサル・タイプ固定材 (EFM-100, Kuraray Noritake Dental) と、比較として市販の4種を使用した。方法は、テフロン®モールド (2×2×25 mm) に供試材を充填、セルロイドストリップスで圧接、クランプで固定して、20×3秒間光照射して硬化させ (Super-Bond C&B は37℃, 相対湿度100%中に8分間保存), 1日間37℃蒸留水中浸漬後、3点曲げ試験法 (支点間距離20 mm) で万能試験機 (5565, インストロン, 荷重速度1.0 mm/min) で測定、付属のソフト (シリーズ IX, インストロン) で曲げ強さ、曲げ弾性率および降伏点の変形量を算出した。

【 結果と考察 】

Table 1 & 2 に結果を示した。光重合型の EFM-100 は、動揺歯固定材および矯正用ブラケット接着材として従来多様されてきた PMMA からなる化学重合型の Super-Bond C&B と同等の特性を示し、G-FIX よりも弾性率が有意に小さく、変位量が有意に大きいため、より柔軟性に富むことが明らかとなった。また、光重合型矯正用接着材 (LC Orthomite & Kurasper F) と比較して強さや弾性率が有意に異なり、組成的にも異なることが想像される。

以上の結果から、EFM-100 は、動揺歯固定材および矯正用ブラケット接着材として多様されている従来のタイプとは重合方式が異なるが、類似の特性を示すことがわかった。今後、エナメル質に対する接着性を検討したい。

Table 1 Flexural properties of various fixed materials (as a fixed material).

Product (Manufacturer) Strength (MPa)	Mean (S.D., Range, N=10) Modulus of elasticity (GPa)	Deformation (mm)
Super-Bond C&B (SunMedical) 64.7 (4.2), 54.7-69.6	1.68 (0.15) A*, 1.43-1.88	2.47 (0.16) B, 2.08-2.72
G-FIX (GC) 86.3 (7.7), 75.4-99.7	2.23 (0.34), 1.75-2.89	2.78 (0.45) B, 2.09-3.38
EFM-100 (Kuraray Noritake Dental) 77.3 (3.7), 70.2-81.5	1.58 (0.11) A, 1.44-1.76	3.26 (0.42), 2.71-3.71

*: Means with the same letters (A, B) were not significantly different by Tukey test (p>0.05).

Table 2 Flexural properties of various fixed materials (as an orthodontic bracket material).

Product (Manufacturer) Strength (MPa)	Mean (S.D., Range, N=10) Modulus of elasticity (GPa)	Deformation (mm)
Super-Bond C&B (SunMedical) 64.7 (4.2), 54.7-69.6	1.68 (0.15) A*, 1.43-1.88	2.47 (0.16), 2.08-2.72
LC Orthomite (SunMedical) 135.6 (8.8), 124.5-149.5	11.06 (1.01), 9.04-12.98	0.72 (0.11) B, 0.51-0.86
Kurasper F (Kuraray Noritake Dental) 151.1 (11.0), 136.8-168.9	13.52 (1.44), 11.44-15.63	0.63 (0.18) B, 0.37-0.86
EFM-100 (Kuraray Noritake Dental) 77.3 (3.7), 70.2-81.5	1.58 (0.11) A, 1.44-1.76	3.26 (0.42), 2.71-3.71

*: Means with the same letters (A, B) were not significantly different by Tukey test (p>0.05).

新規自己接着レジンセメント(New マクセムエリート)の基本的諸性質

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹⁾, 総合歯学研究所生体工学研究部門²⁾, 佐藤歯科³⁾
○野尻貴絵¹⁾, 高見澤俊樹^{1,2)}, 辻本暁正^{1,2)}, 柴崎 翔¹⁾,
佐々木奈央¹⁾, 陸田明智^{1,2)}, 宮崎真至^{1,2)}, 佐藤幹武^{1,3)}

Bonding Performance and Mechanical Properties of Newly Self Adhesive Resin Cement
Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾,
Nihon University School of Dentistry, Sato Dental Clinic³⁾
○NOJIRI Kie¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, SHIBASAKI Sho¹⁾,
SASAKI Nao¹⁾, RIKUTA Akitomo^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, SATO Mikitake^{1,3)}

【緒言】

前処理を不要としながらも、様々な被着体に対して接着性を有する自己接着レジンセメントの臨床使用頻度が増加している。これらのレジンセメントは、機能性モノマーを組成中に含有することで、接着操作のステップを簡略化するとともにテクニックセンシティブ因子の低減化が可能とされている。一方、機能性モノマーの含有はその機械的性質に影響を及ぼすことが指摘されているものの、その詳細は不明な点が多いのも現状である。そこで演者らは、新規自己接着レジンセメントの機械的性質を3点曲げ試験から、接着性能については、剪断接着強さ試験から検討を行った。また、フィラー性状および接着界面の走査電子顕微鏡(以後、SEM) 観察を行い考察資料とした。

【材料および方法】

供試した自己接着レジンセメントは、Maxcem Elite 2 (Kerr, 光照射有 M2L, 光照射無 M2N), Maxcem Elite (Kerr, 光照射有 ML, 光照射無 MN) および G-CEM LinkAce (GC, 光照射有 LL, 光照射無 LN)の、合計3製品とした。

1.接着強さの測定

接着試片の製作に際して、ウシ下顎前歯歯冠部を常温重合レジンに包埋し、エナメル質あるいは象牙質平坦面を耐水性 SiC ペーパー#600 を用いて研削し、被着歯面とした。また、上部被着体として内径 4 mm, 高さ 2 mm の円筒形テフロン型にコンポジットレジンペーストを填塞、光照射後、24 時間大気中に保管したレジンディスクを用いた。被着面積の規定は、直径 4 mm の穴の開いた両面テープを被着体に貼付することで行った。接着試験に際しては、レジンディスク表面をアルミナサンドブラastingした後、超音波洗浄を行い、各製造者指示条件に従ってセメントを練和、セメント泥をレジンディスクに塗布、荷重 0.2 N の条件で被着歯面に圧接した。照射を行った条件では、レジン試片の両側面から 20 秒間照射を行い、照射なしの条件では、5 分間圧接したものを、それぞれ接着試験用試片とした。これらの試片については、37°C 精製水中に 24 時間保管後、通法に従って剪断接着強さを測定した。得られた値から平均値および標準偏差を求め各条件の接着強さ (MPa) とした。なお、試片の数は各条件 10 個とした。

2.曲げ試験

自己接着レジンセメントを製造者指示条件に従って練和後、2×2×25 mm の棒状試片としたものを曲げ試験用試片とした。各条件の試片に対して支点間距離 20.0 mm, C.H.S = 1.0 mm/min の条件で、万能試験機を用いて3点曲げ試験を行い、その際の曲げ強さを求めるとともに応力-ひずみ曲線から、曲げ弾性率およびレジリエンスまでのエネルギーを求めた。

3.SEM 観察

自己接着レジンセメントのフィラー性状および接着界面について SEM 観察を行った。

【成績および考察】

供試した自己接着レジンセメントの接着強さは、用いた製品によって異なるものであった。また、いずれの製品においても光照射を行った条件でその接着強さが高くなる傾向が認められた。一方、曲げ試験の結果からは、接着強さと同様にいずれの製品においても光照射条件で、その曲げ強さおよび曲げ弾性率が高くなる傾向を示した。SEM 観察からは、フィラーの大きさ、粒度分布およびフィラー形状はそれぞれ異なるものであった。

【結論】

自己接着性レジンセメントの基本的諸性能は、各製品によって異なることが判明した。従って、臨床でこれらの製品を使用する際には、用途に合わせた使用方法を選択する必要があることが判明した。

新規プライマー型レジンセメントにおける耐摩耗性評価

株式会社 ジーシー
○柿沼祐亮, 有田明史, 熊谷知弘

Wear resistance of the new primer type resin cement
GC CORPORATION, Tokyo, Japan
○Hiroaki Kakinuma, Akishi Arita, Tomohiro Kumagai

【研究目的】

CAD/CAM システムによって作製されたガラスセラミックやジルコニアインレー修復物は、高い物性と審美性を備えており、大臼歯部への適応が広がっている。しかし、CAD/CAM 修復物の適合性は、鋳造法と比較して劣ることから、インレーにおいて広いセメントラインが咬合面に露呈してしまう。また、長期にわたる咬合運動により、セメントの露呈面が選択的に摩耗することで、歯牙や修復物の破折を引き起こす可能性がある。さらに摩耗によりセメント表面の光沢が失われ、審美性の低下にもつながる。本発表では、プライマー型レジンセメント試作品 MSM-007A および他社製品の耐摩耗性を三体摩耗試験により評価したため報告する。

【材料および方法】

1. 材料

レジンセメントは、最終研究試作品 MSM-007A (ジーシー)、他社製品として Product A, Product B, Product C, Product D, Product E を使用した。

2. 試験体の作製

光重合硬化体は、各レジンセメント試験体の先端がφ2.1 mm になるように設計された金型に充填し、G-Light Prima II (ジーシー)を用いて上下 10 秒間ずつ光照射を行い硬化させた。化学重合硬化体は、レジンセメントを同様に金型に充填し、37 °C 下で 1 時間保持させた。さらに光重合および化学重合させた試験体は、水中に 24 時間浸漬させた。

3. 試験機の設置および測定

24 時間水中に浸漬させた試験体を、摩耗試験機に取り付けた。そして、グリセリンおよび PMMA 粒子を 1:1 で混合したスラリー中で、試験体の先端部と PMMA ブロックを接触させ、咬合を想定した運動(垂直・水平方向)を 10 万回行った。このとき、試験体には 300 g の荷重を与えて運動させた。摩耗試験前後の試験体の寸法を測定し、その差から摩耗量を算出した。

【結果および考察】

各社レジンセメントの咬合摩耗量を Fig. 1 に示す。MSM-007A の摩耗量は 5 μm 以下であり、他社製品と比較して優れた耐摩耗性を有することが分かった。MSM-007A は、「ナノフィラーテクノロジー」により無機ナノフィラーがモノマー中に均一に分散している。ナノフィラーは、粒径が小さい上に粒子の凝集がほとんど無いため、咬合運動によるフィラーの脱離が少なく、耐摩耗性の向上につながったと考えられる。また、多くの他社製品は、Self Cure の摩耗量が Light Cure と比較して著しく増大する傾向にある。一方、MSM-007A は過酸化水素系重合開始剤による優れた硬化性を有しているため、Self Cure 条件においても高い耐摩耗性を示したと考えられる。

【結論】

最終研究試作品 MSM-007A は、優れた耐摩耗性を有しているため、適合の悪い CAD/CAM などのインレー修復物においてもセメントラインの摩耗および審美性の低下による影響を受けにくく、最適な製品であることが示された。

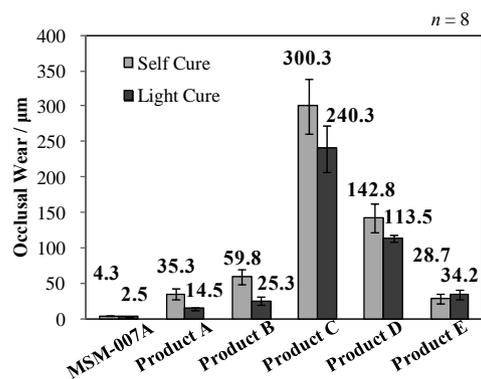


Fig 1. Result of Three-Body Wear Testing

CAD/CAM 用レジブロックへのサンドブラスト処理時間が レジセメントとの接着強さに及ぼす影響

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 花園歯科医院
○ 白土康司¹, 黒川弘康¹, 松吉佐季¹, 横川未穂¹, 瀧本正行¹,
飯野正義¹, 植田宏章¹, 宮崎真至¹, 山形哲則²

Influence of sandblasting time to CAD / CAM resin block on shear bond strength of resin cement

¹ Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, ² Hanazono Dental Clinic
○ SHIRATSUCHI Koji¹, KUROKAWA Hiroyasu¹, MATSUYOSHI Saki¹, YOKOKAWA Miho¹,
TAKIMOTO Masayuki¹, IINO Masayoshi¹, UETA Hirofumi¹, MIYAZAKI Masashi¹, YAMAGATA Tetsunori²

【研究目的】

CAD/CAM 用レジブロックへのサンドブラスト処理時間の違いがレジセメントの接着強さに及ぼす影響について、剪断接着強さを測定することによって検討した。

【材料および方法】

レジセメントとして、Estecem Adhesive Resin Cement (トクヤマデンタル), G-CEM Link Force (ジーシー), Rely X Ultimate Adhesive Resin Cement (3M ESPE) および Panavia V5 (クラレノリタケデンタル) を用いた。また、CAD/CAM 用レジブロックとしてセラスマート LT 12 (ジーシー) を用いた。

1. CAD/CAM 試片被着面の調整

セラスマートをジグに対して垂直にスライスした後、スライス面が平坦となるよう、耐水性 SiC ペーパー#600 を用いて厚さ 2.0 mm まで調整、常温重合レジに包埋したものを CAD/CAM 試片とした。この CAD/CAM 試片に、直径 6.0 mm の穴を開けたテープを貼付、被着面を規定した後、以下の条件で処理を行った。

- 1) 35% リン酸水溶液 (Ultra-Etch, Ultradent) を 15 秒間塗布した後、水洗、乾燥を行った (Control 群)。
- 2) アルミナ粒子 (50 μm) を用いて、被着面に対して 10 mm の距離から垂直に、サンドブラスト処理 (0.2 MPa) を 1, 2, 3, 5 および 10 秒間行った後、3 分間の超音波洗浄後にリン酸エッチング処理を施した (SB 群)。

2. 接着試験用試片の製作

処理面に対して各製造者指示条件のシランカップリング処理を行った後、内径 4 mm (直径 6 mm)、高さ 2 mm の円筒形テフロン型をテープで規定された被着面に位置するよう静置し、練和したレジセメントを充填、ストリプスを介して荷重 0.2 N の条件で圧接した。セメントを Dual-cure で硬化させる条件 (DC 群) では、2 方向から 30 秒間照射を行った。また、セメントを Self-cure で硬化させる条件 (SC 群) では、5 分間圧接したものを接着試験用試片とした。

3. 接着強さの測定

接着試験用試片を $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $90 \pm 5\%$ の条件で保管し、24 時間経過した試片について、万能試験機を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で剪断接着強さを測定した。なお、各条件における試片数は 10 個とした。

4. 表面粗さの測定

形状測定レーザ顕微鏡 (VK-9710, キーエンス) を用いて、サンドブラスト処理面の表面粗さを測定した。

5. 走査電子顕微鏡観察

サンドブラスト処理面および CAD/CAM 試片とレジセメントとの接合界面について、通法に従ってフィールドエミッション走査電子顕微鏡を用いて、加速電圧 10 kV の条件で観察した。

【成績および考察】

供試したレジセメントの 24 時間後の接着強さは、重合方式に関わらず Control 群と比較して SB 群で高い接着強さを示すものの、その傾向はサンドブラスト処理時間によって異なるものであった。このように、サンドブラスト処理時間が接着強さに影響を及ぼした要因としては、処理時間によるレジブロックの表面性状の変化および各レジセメントのヌレ性の違いなどが影響したものと考えられた。

【結論】

CAD/CAM 用レジブロックへのレジセメントの接着強さは、サンドブラスト処理時間に影響を受けることが判明した。

齲蝕と歯周病予防に有効なキトサンオリゴマー含有軟性チューインガムの試作

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 齲蝕学分野
○ 山田 志津香、池田 毅、柳口 嘉治郎、林 善彦

The trial production of soft-type chewing gum containing chitosan oligomer for preventing dental caries and periodontitis

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences
○ YAMADA Shizuka, IKEDA Takeshi, YANAGIGUCHI Kajiro and HAYASHI Yoshihiko

【緒言】

齲蝕と歯周病は、ヒトにおいて2大口腔疾患である。キトサンオリゴマーは、*in vitro* の系で直接的に典型的な齲蝕原性細菌である *Streptococcus (S) mutans* の発育をセメント/象牙質の脱灰のない pH6.5 の条件下で抑制する。抗生剤は薬剤アレルギーや耐性菌のようないくつかの負の効果をもたらす。しかし、キトサンオリゴマー（正に荷電している生体親和性を有する生分解性材料）は、*S. mutans* の細胞膜構成成分と結合し細胞膜の変形/破壊を引き起こし、細菌の生育を効果的に抑制することを、すでに *in vitro* と *in situ* で報告している。一方、典型的な歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* はグラム陰性細菌である。グラム陰性細菌では、負に荷電した LPS の抗原性オリゴ糖繰り返し単位とキトサンオリゴマーのアミノ基とがイオン結合を起こし、細菌への栄養枯渇と最終的な細菌死が生じる。

さらに、我々のグループは以前、限られた人数の被験者により典型的な歯周病原菌に対するキトサン含有ガムの効果について報告し、キトサン含有ガムが唾液中の成人性歯周病原性細菌の生育を抑制することを示唆した。

今回、ソフトタイプのガムを試作したので、これまでの味覚データを含めて紹介する。

【材料と方法】

市販のキシリトールガムをベースに、キトサンオリゴマーを5%添加した試作ガムを作製した。今回は特に少ないロットでも対応可能なソフトタイプガムを試作した（下図）。

【結果】

キトサンオリゴ糖を5%添加した添加濃度のガムを咀嚼すると、*in vitro* の系で *Streptococcus mutans* の発育抑制に必要な2%に近似したキトサンオリゴ糖濃度（2.34%）を唾液中に確認できた。

【これまで調査した使用感について】

本学倫理委員会の承認のもと、30名の成人男子を対象にインフォームド・コンセントののち、ガム咀嚼後の本ガム使用による齲蝕と歯周病の発生予防を目的とした場合の違和感、唾液分泌感、味について調査した。

違和感については、予防を目的とした場合、約8割の方が好意的な回答であった。唾液分泌に関しては全員が同程度以上と回答していた。味については、キトサンオリゴマー特有の味によって10点満点の3.9点であった。

【まとめ】

一般的にガム咀嚼によって齲蝕と歯周病の発生を予防することが可能であれば、使用者にとって有益である。今回、味の面で期待していた点数よりやや低かったが、唾液分泌量が増すこと、口腔細菌の発育を抑制することを考えた場合、総合的には使用する意味はあると考える。この新しいタイプの軟性のガムを咀嚼することは、外出先において歯磨きが行いにくい環境に役に立つだけでなく、唾液分泌を通して高齢者の口腔健康や生活の質の向上に大変有益であると思われる。

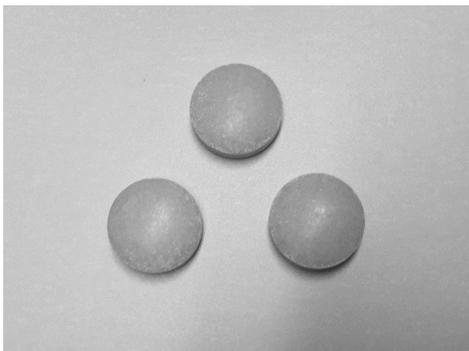


Figure 1. The newly produced soft-type chewing gum (a pellet size: 13mm in diameter and 6 mm in height) containing chitosan oligomer. Three pellets for one time are chewed.

謝辞：キトサンオリゴマーの提供と試作ソフトガム作製に協力いただいた甲陽ケミカル（株）武中大輔氏に深謝します。

マクロファージおよびラット実験的歯髄炎における microRNA21 発現

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
○奈良圭介、川島伸之、野田園子、橋本健太郎、Alamuddin Bakhit、興地隆史

Expression of microRNA21 in a macrophage cell line and experimentally-induced rat pulpal inflammation

Tokyo Medical and Dental University (TMDU) Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Division of Oral Health Sciences, Department of Pulp Biology and Endodontics
○Keisuke Nara, Nobuyuki Kawashima, Sonoko Noda, Kentaro Hashimoto, Alamuddin Bakhit,
Takashi Okiji

〈緒言〉

microRNA は、1 種類あるいは複数の標的 mRNA の相補的な配列を有する 18~25 塩基長の一本鎖 RNA で、標的 mRNA の遺伝子発現を調節する。現在 1000 以上の microRNA が報告されているが、そのほとんどの機能は未だ不明である。ところで、microRNA21 は、炎症時に発現が増加し、炎症を制御するのみならず、組織再生にも加担していると報告されている。今回、lipopolysaccharide (LPS) にて刺激したマウス株化マクロファージおよび LPS にて実験的に惹起したラット切歯歯髄炎における microRNA21 の発現について解析したので報告する。

〈材料および方法〉

1. 株化マクロファージにおける microRNA21 発現

マウス株化マクロファージ(RAW264.7: 理化学研究所)を、10%FBS 添加 DMEM (High Glucose) にて 35mm デイッシュ上で培養した。RAW264.7 に LPS (*E. Coli* 0111B4, Sigma Aldrich)を 10-1000ng/ml を加え、24 時間後に microRNA 専用のキット (mirVana™ miRNA Isolation Kit) を用いて RNA 抽出した。次いで、microRNA21 および microRNAU6 (ユニバーサルコントロール) それぞれ専用のプローブを用いて逆転写を行い complementary DNA を作製し、これをテンプレートとして microRNA21 および microRNAU6 に特異的な Taqman Probe を用いた real-time PCR を行い、microRNAU6 発現に対する相対的な microRNA21 発現を解析した。また、IL1 α 、TNF α 、TLR4 mRNA 発現についても、特異的プライマーを用いて real-time PCR (CFX96, BioRad) にて検討した。

2. ラット切歯炎症歯髄における microRNA21 発現

実験には 6 週齢 SD ラット(n=3)を使用した (動物実験許可番号: #0160361A)。塩酸ケタミン (100mg/kg、ケタラール®、第一三共) および塩酸キシラジン (10mg/kg、セレクトール®、バイエル薬品) 混合液の腹腔内投与により全身麻酔した後、上顎切歯に窩洞を形成し、#30 まで歯冠部歯髄を拡大した。その後、LPS 溶液 (10mg/ml) 約 1 μ l をペーパーポイントにて貼付し、窩洞に光硬化型ガラスイオノマーセメント (アイオノジット、DMG) を充填し、光照射にて硬化させ仮封を行った。12 時間後、ラットを屠殺し、切歯歯髄組織を摘出した。なお、LPS を貼付しなかった歯髄組織をコントロールとした。歯髄組織からの RNA 抽出および real-time PCR は、RAW264.7 と同様の方法にて行った。

〈結果と考察〉

1. RAW264.7 においては、TLR4 mRNA が常時発現していることが確認された。また、microRNA21 発現が LPS 濃度依存的に誘導された。さらに、炎症性サイトカインである IL1 α および TNF α mRNA 発現が LPS 刺激により増加した。RAW264.7 に LPS を添加することにより、TLR4 を介するシグナルが活性化し、microRNA21 および炎症性サイトカイン発現を誘導した可能性が高いと推察される。

2. ラット切歯歯髄組織において、正常歯髄においても microRNA21 の発現を認めたが、LPS 刺激により microRNA21 発現の有意な増加が認められた (Student's t-test, p<0.05)。microRNA21 の産生は、LPS に応答して歯髄内に浸潤した免疫担当細胞および歯髄細胞が重要な役割を担っている可能性が高いが、その詳細については今後さらなる検討が必要である。

〈結論〉

LPS にて刺激した株化マクロファージおよびラット切歯実験的歯髄炎において、microRNA21 の発現が認められた。

歯髄細胞が産生する TNF- α 誘導因子の探索

広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 統合健康科学部門 歯髄生物学研究室
○ 永安慎太郎、鈴木茂樹、小武家誠司、柴 秀樹

Exploration of a TNF- α -inducing factor produced by pulp cells

Department of Biological Endodontics, Integrated Health Sciences, Institute of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University

○ Nagayasu Shintaro, Suzuki Shigeki, Kobuke Seiji, Hideki Shiba

<研究目的>

歯髄炎の発症・進行メカニズムの解明は、歯髄炎の診断および歯髄保存療法の開発に必要である。これまでに、歯髄細胞とマクロファージの共培養系を用いた実験から lipopolysaccharide 刺激時に tumor necrosis factor (TNF)- α などの炎症性サイトカイン産生が相乗的に亢進することが明らかにされている (Yonehiro J, et al. *Int. Endod. J.* 2012)。これらの結果は、マクロファージが歯髄細胞の産生する液性因子を介した相互作用によって炎症の惹起に関わる可能性を示唆する。本研究ではマクロファージからの TNF- α 産生促進を誘導する歯髄細胞特異的因子を探索するために、歯肉線維芽細胞と比較し、歯髄細胞に高発現している遺伝子のタンパク質に着目した。さらに、マクロファージからの TNF- α 産生促進に関わるタンパク質以外の因子についても検討した。

<材料と方法>

供試細胞：マクロファージ：購入したヒト単球様細胞株 THP-1 を PMA で分化させマクロファージ様細胞とした。ヒト歯髄細胞：ヒトテロメラーゼ逆転写酵素および simian virus 40 の SV40T 抗原の遺伝子導入によって不死化した DP-1 (本学大学院、口腔外科学 太田耕司先生から御供与) と本学病院にて矯正学的理由で便宜抜歯されたヒト歯牙の歯髄から組織遊出法によって獲得した dental pulp cells (DPC) を用いた。歯肉線維芽細胞：本学病院において得られた余剰の歯肉組織から組織遊出法によって獲得した gingival fibroblasts (GF) を用いた。患者からの歯髄および歯肉獲得および使用については、本学臨床研究倫理審査委員会の承認 (承認番号：81) のもとを行った。歯髄細胞培養上清の TNF- α 誘導能の確認：10%血清存在下で DP-1、DPC、GF をサブコンフルエントまで培養し、PBS で洗浄、さらに、24 時間無血清で培養した後、それぞれの培養上清を分化 THP-1 に作用させ、TNF- α 産生量を ELISA キットによって測定した。遺伝子発現の網羅的解析：10%血清存在下で DP-1、GF をサブコンフルエントまで培養し、PBS で洗浄、さらに、24 時間無血清で培養した後、総 RNA を回収した。遺伝子発現は DNA マイクロアレイによって調べた。候補分子の TNF- α 産生促進能：DNA マイクロアレイで、GF と比較して DP-1 に発現している遺伝子を選択し、そのリコンビナントタンパク質を購入した。候補タンパク質を分化 THP-1 に作用させ、TNF- α 産生量を ELISA キットによって測定した。タンパク質以外の候補分子：回収した DP-1 と DPC の培養上清を proteinase k で処理後、分化 THP-1 に作用させ、TNF- α 産生量を ELISA キットによって測定した。

<結果>

GF と比較して DP-1、DPC の培養上清を添加した分化 THP-1 から強い TNF- α 産生誘導が確認された。マイクロアレイ解析によって DP-1 に高発現している遺伝子から選択したリコンビナント interleukin(IL)-1 β 、interferon alpha inducible protein (IFI) 6 は強い TNF- α 産生能を有した。培養上清中の IL-1 β の量は微量であった。また、抗 IFI6 抗体を加えた培養上清は、その抗体を含まない上清と同程度の TNF- α 産生が認められた。proteinase k で処理した DP-1 と DPC の培養上清は、TNF- α 産生量を優位に減少させた。

<考察>

歯髄細胞の培養上清中にマクロファージからの TNF- α 産生を促進する歯髄細胞特異的因子が含まれていることが明らかとなり、マイクロアレイ解析から IL-1 β および IFI6 を候補分子として挙げた。しかしながら、培養上清中のタンパク質量および抗体阻害実験の結果から、IL-1 β および IFI6 は TNF- α 産生促進能を有する候補分子ではないと考えられた。一方、培養上清の proteinase k 処理実験からタンパク質以外の因子が TNF- α 産生促進能に関わる可能性が示唆された。

ヒト歯髄培養細胞における LPS の Neuropsin 発現に与える影響

日本大学学戸歯学部 歯内療法学講座¹⁾ 口腔科学研究所²⁾ 神奈川歯科大学 歯髄生物学講座³⁾
○神尾直人¹⁾ 葉山朋美¹⁾ 室町幸一郎³⁾ 五味博之¹⁾ 喜多詰規雄¹⁾
上田幾大¹⁾ 三浦孝司¹⁾ 山浦賀弘¹⁾ 松島潔^{1,2)}

Effects of LPS on expression of Neuropsin in human dental pulp cells.

Department of Endodontics¹⁾ Research Institute of oral Science²⁾

Nihon University school of dentistry at Matsudo

Department of Pulp Biology and Endodontics Kanagawa Dental University³⁾

○KAMIO Naoto¹⁾ HAYAMA Tomomi¹⁾ MUROMACHI Koichiro³⁾ GOMI Hiroyuki¹⁾ KITAZUME Norio¹⁾
UEDA Ikuo¹⁾ MIURA Takashi¹⁾ YAMAURA Yoshihiro¹⁾ MATSUSHIMA Kiyoshi^{1,2)}

【緒言】

我々はこれまでに、plasmin や血漿 kallikrein がそのプロテアーゼとしての機能のみならず、受容体を介した細胞内シグナル伝達を誘発し、炎症の進行に寄与することを示唆した。Neuropsin は脳の海馬で長期増強に関与するセリンプロテアーゼとして同定され、また皮膚ケラチノサイトでは炎症性疾患とその創傷治癒に関与することが報告されている。今後他の組織でも詳細な機能や疾患との関連性が明らかになることが期待されるが、口腔領域での報告はない。Neuropsin はアミノ酸配列の相同性から kallikrein ファミリーに属し、これまでの研究から上記のプロテアーゼ同様に Protease activated receptors を介したシグナル伝達を誘発する可能性もある。そこで本研究ではヒト歯髄における Neuropsin の発現とグラム陰性菌の病原因子であるリポ多糖 (LPS) が Neuropsin 発現に与える影響について培養細胞を用いて基礎的な研究を行った。

【材料と方法】

ヒト歯髄培養細胞は、研究内容に同意を得た患者の矯正学的理由により抜去された歯牙より無菌的に歯髄を取り出し、10%FBS を含む α -MEM にてアウトグロースさせ 5-9 代継代したものを研究に供した。Neuropsin mRNA 発現を RT-PCR 法で、タンパク質発現を Western Blot 法にて検討した。

【結果】

ヒト歯髄培養細胞では Neuropsin mRNA およびタンパク質の恒常的な発現を認めた。
LPS 刺激により、濃度依存的に Neuropsin mRNA およびタンパク質発現は促進された。
LPS 刺激により、時間依存的に Neuropsin mRNA およびタンパク質発現は促進された。
LPS によるヒト歯髄培養細胞における Neuropsin 発現は、MAPKinase 阻害剤により抑制された。

【考察】

ヒト歯髄では Neuropsin が恒常的に発現しており、グラム陰性菌感染により LPS に曝されると、その発現量は増強すること、またその発現促進のシグナル伝達過程で MAPKinase を介することが示唆された。今後 Neuropsin がオートクライン的に細胞に作用し、シグナル伝達を与える可能性についての検討を行い、他のサイトカイン同様に歯髄炎や根尖性歯周炎の進行への関与について研究を進める。

本研究の一部は、日本学術振興会科学研究費補助金 (15K11131) の補助により行われた。

象牙芽細胞が有する Mincle を介した死細胞認識機構とその歯髄炎症反応における役割

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 歯科保存学分野

○細川由樹、湯本浩通、平尾功治、中西正、武川大輔、松尾敬志

The Role of Mincle as a sensor for necrotic cells in rat odontoblastic cells (KN-3) and dental pulp inflammation

Department of Conservative Dentistry, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School

○Yuki HOSOKAWA, Hiromichi YUMOTO, Kouji HIRAO, Tadashi NAKANISHI, Daisuke TAKEGAWA, Takashi MATSUO

【研究目的】

歯髄は、主に歯への刺激の知覚と細菌に対する免疫反応やそれらの侵襲に対する防御機能を担っている。齶蝕から歯髄炎への発症・進行において、その感染初期には自然免疫反応が働き、炎症が惹起される。歯髄組織の中で、齶蝕関連細菌等の刺激に対して最前線に位置する象牙芽細胞に焦点を当て、我々はこれまでに、ラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3) に、自然免疫機構に関与するレセプターのひとつである Nucleotide-binding Oligomerization Domain protein (NOD)-1 が発現しており、その特異的リガンドである D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (iE-DAP) 刺激により、KN-3 は CINC-1、CXCL2/3、MCP-1 等のケモカインを産生することとそれに関与するシグナル伝達系について、本学会 (日本歯科保存学会 2014 年度春季および 2015 年度春季学術大会) にて報告した。

近年、新たな自然免疫関連受容体として C 型レクチン” Macrophage inducible C-type lectin (Mincle) “が注目されている。Mincle は、主にマクロファージに発現し、細胞にストレスがかかると誘導され、カンジダや結核菌の構成成分を認識する他に、感染等により壊死に陥った細胞から放出される核内タンパク質 SAP130 (Spliceosome associated protein 130) も認識して炎症性サイトカインやケモカインの産生を増強する。すなわち、組織がダメージを受けた際の死細胞の除去とともに組織の再構築や修復の観点からも注目を浴びている。歯髄炎では、その早期に歯髄組織内の細胞が壊死に陥る事からも、歯髄炎の進行あるいは修復・治癒過程に Mincle が関与している可能性が考えられる。そこで本研究では、歯髄炎の病態メカニズム解明の一環として、象牙芽細胞における MINCLE の発現や機能解析を行った。

【材料及び方法】

ラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3) (九州歯科大学、北村知昭教授・西原達次教授より恵与) を 24-well plate に播種し、サブコンフルエントまで培養した。KN-3 を iE-DAP (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で 24 時間刺激した後、total RNA を抽出・精製後、Mincle の mRNA 発現 level を real-time PCR にて解析した。さらに、MAP Kinases や AP-1 阻害剤による前処理を行った場合の Mincle mRNA 発現 level も real-time PCR にて解析した。また、Mincle の機能に関しては、Mincle の特異的 ligand である Trehalose dimycolate (TDM; 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で KN-3 を刺激し、RT² Profiler PCR array (QIAGEN) にて炎症性 mediators の mRNA 発現 level を解析し、さらに CCL4 mRNA 発現に関しては、real-time PCR にて詳細に解析した。

【結果および考察】

1. iE-DAP で KN-3 を 24 時間刺激すると、Mincle の mRNA 発現誘導が認められ、p38 MAPK inhibitor (10 μM) や AP-1 inhibitor (5 μM) の前処理によりその発現誘導は抑制された。
2. TNF- α (0.01 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で KN-3 を 24 時間刺激すると、Mincle の mRNA 発現誘導が認められた。
3. TDM で KN-3 を 24 時間刺激し、PCR array を用いて炎症性 mediators の mRNA 発現 level を解析すると、CCL4 の mRNA 発現誘導が認められた。
4. iE-DAP で KN-3 を 24 時間刺激後、TDM で 4 時間刺激すると、CCL4 mRNA のさらなる発現増強が認められた。

本研究において、ラット象牙芽細胞 KN-3 では、NOD1-p38 MAPK-AP-1 の経路を介して Mincle の発現が増強され、さらに発現増強した Mincle を介して CCL4 mRNA 発現が増強されることが明らかとなった。これらの結果より、象牙芽細胞も感染等により壊死に陥った死細胞の認識機能を有し、歯髄炎の進行あるいは修復・治癒過程に Mincle が関与している可能性が示唆された。

MTI-II ペプチドの骨芽細胞における抗炎症効果の検討

¹九州歯科大学 口腔保存治療学分野、

²聖マリアンナ医科大学 大学院 疾患プロテオーム・分子病態治療学、³ながよし歯科
○平田-土屋志津¹、岡本一起²、中山皓平¹、永吉雅人³、諸富孝彦¹、北村知昭¹

Anti-inflammatory effects of MTI-II peptides on osteoblast.

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

²Clinical Proteomics and Molecular Medicine, St. Marianna University Graduate School of Medicine

³Nagayoshi Dental Clinic

○HIRATA-TSUCHIYA Shizu¹, OKAMOTO Kazuki², NAKAYAMA Kohei¹,

NAGAYOSHI Masato¹, MOROTOMI Takahiko¹, KITAMURA Chiaki¹

【目的】近年、歯科用顕微鏡、コーンビームCTといった器材の登場により、これまで把握できなかった複雑な根管形態、クラックや穿孔部を見逃さない高精度な歯内治療を行うことが可能となった。しかしながら、現状の歯内治療では、根管形成・洗浄により治癒機転に必要な環境を整備した後は生体自身の創傷治癒を待つしかない。近年、発癌や動脈硬化症の発症に慢性炎症が関与することが注目されている。また、効果的な骨再生誘導には炎症のコントロールが重要であることも指摘されている。歯内治療においても、根尖歯周組織に生じた骨欠損の再生を確実にするためには、感染制御と再生療法技術に加え、「慢性炎症制御」が重要と言える。これまでに我々は、炎症の主たるシグナル伝達経路である NF- κ B シグナルを直接抑制するステロイド受容体コアクチベーターMacromolecular Translocation Inhibitor II (MTI-II) に着目し、骨芽細胞における MTI-II の影響について検討してきた。その結果、MTI-II は TNF α による NF- κ B シグナルを抑制するとともに、抑制された骨芽細胞分化を回復することを明らかにしてきた。今回、臨床応用を想定して作製した、MTI-II の酸性アミノ酸領域を利用したペプチド (MTI-II ペプチド) の骨芽細胞における抗炎症効果について検討した。

【材料と方法】骨芽細胞様細胞である MC3T3-E1 細胞に NF- κ B ルシフェラーゼ発現プラスミドを遺伝子導入し、MTI-II ペプチドで前処理した後、炎症性サイトカイン TNF α (10 ng/ml) で刺激後にルシフェラーゼ活性を測定し、NF- κ B の転写活性を分析した。また、MTI-II ペプチドと TNF α で刺激後、調整した全 RNA から逆転写酵素を用いて cDNA を合成し、NF- κ B 標的遺伝子である Matrix metalloproteinase-2, 9 (MMP-2, 9) と Interleukin-6, 8, 12 (IL-6, 8, 12), TNF α , Cyclooxygenase-2 (COX-2) のプライマーを用いてリアルタイム PCR を行い、発現を分析した。

【結果】MC3T3-E1 細胞を TNF α で刺激すると、NF- κ B の転写活性が著しく上昇した。しかし、MTI-II ペプチドの添加により MTI-II ペプチド濃度依存的に NF- κ B の転写活性上昇が解除・抑制された。次に、細胞を TNF α あるいは MTI-II ペプチドで刺激したところ、MMP-2 の発現に変化はあまり認められなかった。一方、MMP-9 は、TNF α 刺激によって発現増加が認められたが、MTI-II ペプチド添加により MMP-9 の発現増加が解除・抑制された。同様に、IL-6, 8, 12 は TNF α 刺激によって発現増加が認められたが、MTI-II ペプチド添加によりその発現増加が解除・抑制された。さらに、TNF α と COX-2 の発現も、TNF α 刺激によって発現が増加し、MTI-II ペプチド添加によりその発現増加が解除・抑制された。

【考察】今回、MTI-II ペプチドは TNF α 刺激による NF- κ B シグナルを抑制することで、骨芽細胞において抗炎症効果を示すことが明らかとなった。以上の結果は、MTI-II ペプチドが根尖歯周組織に生じた慢性炎症を制御する薬剤となることを示唆している。

【結論】MTI-II ペプチドは、NF- κ B シグナルを抑制することで TNF α 刺激による炎症性サイトカインの発現を抑制する。

特許番号：4874798 (日本、査定済)、US 7932226 (米国、査定済)、特願 2014-257827

急性歯髄炎により誘導される歯痛錯誤の末梢神経機構

¹⁾日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座

²⁾日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門

○古宮 宏記¹⁾, 清水 康平^{1),2)}, 林 誠^{1),2)}, 鶴町 保^{1),2)}, 小木曾 文内^{1),2)}

**Mechanisms underlying referred tooth-pulp pain
following acute pulpitis**

¹⁾Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry,

²⁾Division of Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry

○Hiroki Komiya^{1),2)}, Kohei Shimizu^{1),2)}, Makoto Hayashi^{1),2)}, Tamotsu Tsurumachi^{1),2)},
and Bunnai Ogiso^{1),2)}

【研究目的】

急性歯髄炎が発症すると、隣在歯あるいは対合歯に歯痛錯誤が引き起こされた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る。この様な異所性に発症する異常疼痛のメカニズムの一つとして、三叉神経節および三叉神経脊髄路核に存在する侵害受容ニューロンの異常興奮が考えられているが、その詳細は不明である。そこで本研究では、急性歯髄炎によって引き起こされる歯痛錯誤発症における末梢神経機構の一端を解明することを目的とした。

【材料及び方法】

右側上顎第一臼歯歯髄(M1)内への Complete Freund's Adjuvant(CFA)投与3日目で、ラットをイソフルラン(1~4%)にて麻酔した。その後、同側顎二腹筋に双極電極を挿入し筋放電量が安定するまで静置し、同側上顎第二臼歯(M2)をポピドンヨードにて十分消毒した後、歯科用電動式ハンドピース(Tas-35LX, OSADA)と滅菌歯科用スチールバー(ISO No. 1/008~1/012, JOTA, Switzerland)を用いて露髄(歯冠中央部 0.5 mm)させ、滅菌ペーパーポイント(直径:0.15 mm, 長さ:1.5 mm, PIERCE ABSORBENT POINTS, No. 15)に浸漬した Capsaicin(3.0 μM, Wako)投与を行った。コントロールとして Capsaicin の溶媒液(Vehicle)のみを M2 に投与した群を Vehicle 群とした。それぞれの群で投与前後の反射性顎二腹筋活動を経時的に計測し筋活動量の解析を行った。

さらに、M1へのCFA投与およびM2へのFluorogold(FG)投与3日目に、ラットをイソフルラン(4%)にて浅麻酔後、三種混合麻酔薬(ドミツール0.375mg/kg, ミダゾラム2mg/kg, ベトルファール2.5mg/kg)にて深く麻酔し、通法に従いラットの灌流固定を行った。その後、同側三叉神経節を摘出し、連続組織標本を作成後、三叉神経節内でSatellite細胞の活性化マーカーであるGlial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)およびGlial間に存在するGap結合を構成するConnexin43 (Cx43)発現を免疫組織学的手法にて検索し、GFAPおよびCx43陽性細胞に取り囲まれたFG陽性細胞数について解析を行った。

【成績】

M1へのCFA投与3日目において、M2へのCapsaicin投与による反射性顎二腹筋活動は、投与後2分間でCFA群の方がVehicle群に比べ有意な増加を示した。さらに、M1へのCFA投与およびM2へのFG投与3日目で、Cx43を発現しているGFAP陽性細胞によって囲まれているFG陽性神経節細胞数の割合は、Vehicle群に比較してCFA群で有意に多かった。

【考察及び結論】

以上の成績から、M1歯髄炎はM2の痛覚過敏発症に関与することが示された。また、その発症メカニズムの一つとして、M1の炎症により三叉神経節内でのSatellite細胞の活性化およびそれに引き続くCx43の発現増加によって活性化型Satellite細胞がM2支配神経節細胞周囲にまで波及し、M2神経節細胞活動を亢進することによって引き起こされる可能性が示された。

実験的歯髄炎はラット視床におけるグリア細胞を活性化させる

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

○河村 隼¹, 金子友厚², 砂川光宏¹, 興地隆史¹

Experimental Pulpitis Causes Activation of Glial Cells in the Rat Thalamus

1 Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU).

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

○KAWAMURA Jun¹, KANEKO Tomoatsu², SUNAKAWA Mitsuhiro¹, OKIJI Takashi¹

(目的)

我々は、ラット臼歯に片側性に歯髄炎を惹起させると、惹起側と対側の視床組織において p38 MAPK 等の活性化が生じ、中枢神経系におけるグリア細胞の活性化や増加が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、ラット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詳細に検索することを目的とし、ミクログリアの活性化関連遺伝子である Allograft inflammatory factor 1 (Aif1)、interferon regulatory factor 5 (IRF5) と、アストロサイトの活性化関連遺伝子である Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3)、glucose transporter 1 (GLUT1) の定量的 mRNA 発現解析を行った。

(方法)

9 週齢雄性 SD ラット (n = 12) を 2 群に分け、実験群では細神経興奮性物質かつ起炎性物質である allyl-isothiocyanate (mustard oil : MO) を上顎左側第一臼歯の歯髄に適用した (n=8)。すなわち、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、0.5 μL の MO (1.019~1.025g/ml) 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 (クリアフィルトライエスボンド, クラレノリタケデンタル) 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。また、正常歯髄を対照とした (正常群; n=4)。次いで、実験群では MO 適用 10 分および 30 分経過後 (各 n = 4)、また正常群 (n = 4) については全身麻酔後直ちに対側視床を摘出し、mRNA 発現解析に供した。すなわち、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 Aif1、IRF5、STAT3、および GLUT1 mRNA の発現を定量した。統計学的解析には Mann-Whitney の U 検定 (Bonferroni 補正) を用いた。

本研究は、東京医科歯科大学及び新潟大学動物実験倫理委員会の指針を遵守し、同委員会の認可の下に実施された。

(結果)

MO 適応 10 分後では、Aif1、IRF5 mRNA の発現量は、正常群に比べて有意に増加した (P<0.05)。また、MO 適応 30 分後では、STAT3、GLUT1 mRNA の発現量が、正常群に比べて有意な増加を示した (P<0.05)。

(考察)

MO 適応により歯髄炎を惹起した実験群では、正常群に比べてグリア細胞活性化関連遺伝子である Aif1、IRF5、STAT3、GLUT1 の発現量が、有意に増加したことが示唆された。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やアストロサイトが活性化し、疼痛の誘導や維持に寄与することが示唆された。

(結論)

ラット臼歯に MO により歯髄炎を誘発した場合、術後短時間で対側の視床組織において、Aif1、IRF5、STAT3、GLUT1 の mRNA 発現亢進が生じることが確認された。

歯根肉芽腫における SIRT1 遺伝子の発現

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²
○工藤 洋¹, 武市 収^{1,2}, 羽鳥啓介^{1,2}, 牧野公亮¹, 勝呂 尚^{1,2}, 小木曾文内^{1,2}

The expression of SIRT1 in human periapical granulomas

Department of Endodontics¹ and Division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry

○Hiroshi Kudo¹, Osamu Takeichi^{1,2}, Keisuke Hatori^{1,2}, Kosuke Makino¹, Hisashi Suguro^{1,2}, Bunnai Ogiso^{1,2}

【背景】

SIRT1 は NAD⁺依存性ヒストン脱アセチル化酵素であり、細胞内の NF-κB, p53 などの標的タンパク質に作用することで生体内において多様な働きを担っている。近年の研究により SIRT1 は生体組織内での炎症やアポトーシスに影響を与えることから、生体機能の調節役として重要な役割を果たしていると考えられており、がん治療への応用も研究されている。また、ポリフェノール的一种である Resveratrol は SIRT1 を活性化することが判明しており、生体内における SIRT1 活性のメカニズム解明のために応用されている。

慢性根尖性歯周炎は種々の炎症により根尖部歯周組織に生じる病変であり、慢性炎症内での SIRT1 が炎症性細胞の活性や根尖病巣の成長に深く関与している可能性がある。

【研究目的】

根尖病巣内での SIRT1 の局在と同酵素の炎症性細胞活性化について、Real-time PCR 法及び蛍光抗体法を用いた免疫組織化学的染色により検討する。

【材料及び方法】

1. 供試試料

口腔内診査(咬合痛, 打診痛, 根尖部圧痛および瘻孔の有無)ならびに根尖部エックス線写真にもとづき、臨床的に歯根嚢胞と診断され、歯内外科処置または抜歯処置が適応とされた患者を被験者として、根尖病巣組織を外科的に採取した。採取されたサンプルはただちに分割し、一方は RNA 抽出, 他方は OCT コンパウンドに包埋, 凍結後, クリオスタットを用いて 5μm の凍結切片を作製した。すべてのサンプルは HE 染色を施し, 病理組織学的に歯根肉芽腫または歯根嚢胞であることを確認し, 歯根肉芽腫と判定された試料のみを実験に用いた。また, 完全水平埋伏歯の抜歯の際に採取した健康歯肉組織をコントロールとして用いた。なお, 試料の採取にあたっては歯学部倫理委員会の承認を得て実施した。(倫許 2014-6 号)

2. 細胞培養

U-937(単芽球様細胞株)を 10%FBS, 1%PSN を配合した RPMI1640 培地を用い, 5%CO₂, 37°Cにてインキュベートした。細胞は 1×10⁶/ml に調整し, LPS (*E.coli* 0111:B4 由来), Resveratrol (Sigma-Aldrich)にて刺激を行った。

3. 免疫組織化学的検索

凍結切片を用いて, 抗ヒト SIRT1 ラビットモノクローナル抗体及び FITC 抗ラビットポリクローナル抗体を用いて蛍光染色を行った。

4. Real-time PCR 法

組織または培養細胞から mRNA を抽出し cDNA に変換後, SYBR GreenI による Intercalator 法によりヒト SIRT1 特異的プライマーを用いて遺伝子発現を検索した。

【成績】

1. 歯根肉芽腫中の SIRT1 遺伝子の発現量は健康歯肉と比較して有意に高かった。
2. 歯根肉芽腫中に SIRT1 タンパクの発現しているリンパ球が局在していることが確認された。
3. U-937 は LPS または Resveratrol の単独刺激よりも双方の刺激により SIRT1 遺伝子の発現量増加が確認された。

【結論】

以上の成績から, SIRT1 は歯根肉芽腫中のリンパ球に発現し, その発現遺伝子量は健康歯肉組織と比較して有意に高かった。

歯根肉芽腫中における FOXO3A の発現

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²,
○石井佳笑¹, 羽鳥啓介^{1,2}, 武市 収^{1,2}, 牧野公亮¹, 小木曾文内^{1,2}

Expression of FOXO3A in human periapical granulomas
Department of Endodontics¹ and Division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry
○Kae Ishii¹, Keisuke Hatori^{1,2}, Osamu Takeichi^{1,2}, Kosuke Makino¹, Bunnai Ogiso^{1,2}

【背景】

Forkhead box O3A (FOXO3A) は、様々な癌において腫瘍抑制の役割を果たす転写因子であり、細胞増殖、アポトーシス、代謝、ストレス応答に関与している。近年の研究から関節リウマチ (RA) をはじめする慢性炎症で発現し、細胞のアポトーシス誘導性転写因子として知られる Fas ligand (FASL) の伝達機構を制御することで、慢性炎症を抑制すると報告されている。これらのことから、口腔内の慢性炎症で骨吸収を伴う根尖性歯周炎である歯根肉芽腫においても FOXO3A が発現し、その発生や増大に関与していることが示唆される。

【研究目的】

歯根肉芽腫および健常歯肉における FOXO3A のタンパクおよび遺伝子発現、FASL の遺伝子発現を検索する。

【材料および方法】

1. 供試試料

口腔内診査およびエックス線診査に基づき歯根嚢胞と臨床診断された患者のうち、外科的歯内療法または抜歯が適応と診断された患者を被験者として、根尖病巣組織を採取した。また、完全水平埋伏智歯の抜去の際に採取した健常歯肉組織をコントロールとして用いた。なお被験者には採取した組織を本研究に用いることを説明し、文書にて同意を得た。(日本大学歯学部倫理委員会:2014-6)

2. 供試試料の調製および病理組織学的検索

供試試料は採取後直ちに分割しホルマリン固定し、マイクロトームを用いて 4 μ m のパラフィン切片を作製した。通常法に従い、ヘマトキシリン・エオジン染色を行い、歯根肉芽腫と診断された試料を本研究に用いた。

3. 免疫組織化学的検索

供試試料中の炎症性細胞での FOXO3A の発現をアビジン・ビオチン酵素複合体 (ABC 法) にて免疫組織化学的に検索を行った。

4. Real time PCR 法

供試試料中の FOXO3A および FASL 遺伝子の発現を検索するために RNeasy mini kit[®]を用いて RNA を回収し、Takara Prime Script[®]を用いて cDNA を作製した。その後 FOXO3A および FASL の特異的プライマーを用い Smart Cycler[®]にて Real time PCR を行った。なお、各試料の遺伝子発現レベルは GAPDH により標準化した。

【成績】

1. 免疫組織学的検索において、FOXO3A は健常歯肉組織では発現は認められず、歯根肉芽腫中のリンパ球、形質細胞および好中球での発現が認められた。
2. Real time PCR 法において、歯根肉芽腫における FOXO3A 遺伝子および FASL 遺伝子の発現量は、健常歯肉組織と比較し有意に高かった。

【考察】

以上の成績から、慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫中に FOXO3A および FASL が発現し、その病態に関与していることが示唆された。

Interleukin-17 がラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3) の CCL20 産生に及ぼす影響

徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔科学部門
臨床歯学系 歯科保存学分野

○中西 正、武川大輔、平尾功治、湯本浩通、細川由樹、松尾敬志

Effects of interleukin-17 on CCL20 expression in rat odontoblastic cells (KN-3)

Conservative Dentistry, Clinical Dentistry, Oral Science
Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School
○Tadashi NAKANISHI, Daisuke TAKEGAWA, Kouji HIRAO,
Hiromichi YUMOTO, Yuki HOSOKAWA and Takashi MATSUO

【研究目的】

う蝕の進行により、う蝕細菌やその構成成分が象牙細管を通じて象牙芽細胞を侵襲することで歯髄炎が惹起される。歯髄炎発症のメカニズムをより詳細に解明するため、演者らはこれまでに、ラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3) における自然免疫に関与するレセプター群の役割について解析し、Nucleotide-binding Oligomerization Domain containing protein (NOD)1 が KN-3 に発現していること、NOD1 の特異的リガンドである D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (iE-DAP) 刺激により、CCL20 等のケモカイン産生が誘導されることを本学会 2014 年度春季および 2015 年春季学術大会にて報告してきた。また、歯髄炎の病態形成におけるリンパ球浸潤の役割について、Th17 細胞から産生される Interleukin(IL)-17/IL-17A (以下、IL-17) に着目しヒト歯髄線維芽細胞を用いて解析したところ、さまざまな炎症メディエーター産生を誘導しうることを本学会 2014 年秋季学術大会にて報告してきた。今回、歯髄炎病巣局所における IL-17 が象牙芽細胞の CCL20 産生に与える影響について解析することを目的とし、KN-3 を用いて検討した。

【材料と方法】

ラット象牙芽細胞様細胞 (KN-3: 九州歯科大学、北村知昭教授・西原達次教授より恵与) を 24-well plate に播種し、10% FBS 添加 α -MEM 培地にてサブコンフルエントまで培養後、IL-17 にて 24 時間刺激した後、上清を回収して ELISA 法を用い上清中の CCL20 濃度を定量した。さらに、IL-1 と共刺激を行ったときの CCL20 産生についても検討を加えた。また、KN-3 を一定時間刺激した後、蛋白を回収し、ウェスタンブロット法を用いて細胞内シグナルのリン酸化を検出した。

【結果および考察】

KN-3 に IL-17 を作用させたところ、CCL20 産生はほとんど認められなかった。一方、IL-1 は KN-3 における CCL20 産生を IL-1 濃度依存的に上昇させた。さらに、IL-17 を IL-1 と共刺激させたところ、相乗的に CCL20 産生が増強することが示された。また、ウェスタンブロットの結果より、MAPKs および I κ B α のリン酸化が亢進された。これらの結果より、IL-17 は歯髄炎局所においてケモカイン産生を調節している可能性が示唆された。

【結論】

KN-3 は IL-1 刺激により CCL20 を産生し、さらに IL-17 との共刺激によって CCL20 産生誘導が相乗的に増強されることが示された。

エナメルマトリックス蛋白の血管新生への効果

明海大学歯学部 機能保存回復学講座 保存治療学分野

○中村裕子、市村葉、井出祐樹、小澤有美、高良芳樹、横山博一、田辺一成、横瀬敏志

Effect of Enamel Matrix Protein on Angiogenic potential

Division of Endodontics and Operative Dentistry Department of Restorative and Biomaterials Sciences
Meikai University School of Dentistry

○Nakamura Y, Ichimura Y, Ide Y, Ozawa Y, Koura Y, Yokoyama H, Tanabe K, Yokose K

【目的】

組織損傷部における創傷治癒では、血管新生、細胞の遊走、分化、増殖といった一連の相互作用による組織再建が行われている。歯髄組織の損傷部や再生においても血管新生と細胞誘導は、初期における重要な条件であると考えられる。エナメルマトリックスタンパク質 (Emdgain®Gel (EMD)) は、歯周疾患に罹患した患者に対する外科的手術に用いることで、セメント質形成と歯根膜再生を促進することが知られており、垂直性骨欠損部の骨組織再生において良好な治療成績をあげている。しかし、その分子生物学的な作用は、十分に解明されていない。そこで、EMD の作用の一つとして、血管新生への効果を解明し、歯髄損傷部の治癒促進や歯髄再生への影響について検討したいと考えている。今回は、ラット脛骨損傷部の組織再生に関わる血管誘導の効果ならびに Diffusion Chamber を用いた血管誘導と結合組織誘導効果について検討した。

【材料と方法】

- 1) ラット脛骨に直径 1 mm の骨髄に達する窩洞を形成し、窩洞内に EMD を填入し 2, 4, 7 日後における損傷部の形態観察を行った。窩洞形成のみを行ったものをコントロールとして、創傷部における血管新生量を比較した。
- 2) Diffusion Chamber を用い、Chamber 内に EMD を注入し、両面を 0.22 μ m GSWP のメンブレン (MI 社製) で封鎖した。これをラット腹腔内および皮下組織に静置し、4 週間後に摘出した。Diffusion Chamber 表面に付着した血管および組織を観察した。Chamber 内に何も入れないものをネガティブコントロールとし、プロピレングリコールアルジネート PLGa を填入したものを比較対象とした。

【結果】

EMD を填入した窩洞内では、術後 4 日後から多数の血管新生が観察され、コントロール群とは血管新生量に有意な差が認められた。また、明らかな組織の早期再生が行われていることが認められた。

Diffusion Chamber 内に EMD を静置した群は、メンブレンを通過した EMD が徐々に溶出されることにより、メンブレン表面には結合組織と毛細血管の付着が認められた。PLGa を填入した群も薄い結合組織と毛細血管の付着が認められた。コントロール群では、Diffusion Chamber に付着は認められなかった。

【考察】

今回の検討結果により、EMD は、血管新生、血管誘導さらに結合組織の誘導に関わっている可能性がある。組織再生誘導における EMD の効果として、細胞誘導と血管新生が一因していると考えられ、歯髄再生の増殖因子の一つとしての可能性が示唆された。

培養骨芽細胞細胞膜 Ca チャネル活性化への必須微量元素ホウ素の至適添加濃度
○林 善彦、井川 一成、MLF キャパティ、山本裕也、山田志津香、大久保賢亮
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野

The proper concentration of supplemented essential trace element, boron
to Ca channel of cell membrane on cultured osteoblasts

○Yoshihiko Hayashi, Kazunari Igawa, Mark Luigi Fabian Capati, Yuya Yamamoto,
Shizuka Yamada, Ookubo Kensuke

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

【緒言】

周期表 5 番目の元素であるホウ素は、3A 族の非金属元素であるが、金属と非金属の両方の特徴をもっている。動物においては、植物とは異なり石灰化との関連で重要な微量元素とされており、最近では、ホウ素の影響を細胞レベルで検討した報告も行われている。我々の教室では、スーパーボンドシーラーの構成成分 TBB に含まれるホウ素 (B) による培養骨芽細胞増殖・分化への影響をすでに確認している (第 140 回日本歯科保存学会学術大会にて発表)。さらに、第 142 回同学術大会では、ホウ素の Ca チャネルへの影響の可能性を報告した。今回は、骨芽細胞に存在する Ca チャネルを介した Ca イオンの細胞質内 (内向き) 流入を特異的に抑制するチャンネルブロッカーであるニフェジピンを事前に培地へ加え、細胞内 Ca イオン濃度上昇の抑制が再現可能な至適濃度を検討したので報告する。

【材料と方法】

1) 至適ホウ素濃度

NOS-1 (ヒト骨芽細胞株) 細胞を使い、低濃度 TBB を培地に添加した MTT アッセイの結果から、0.125mM 添加無血清 α -MEM 培地で細胞の増殖傾向を確認できた。そこでホウ素を 0.1mM 培地に添加し培養実験を行った。

2) 細胞の培養

0.1mM ホウ素を添加無血清 α -MEM 培地で NOS-1 細胞を 35mm ガラスボトム培養皿に 3×10^5 個となるように播種した。対照群には、ホウ素無添加培地を用いた。細胞は、5%CO₂ 培養器内で通常どおり培養を行った。

3) 細胞内 Ca²⁺測定

細胞は 3 日間培養し、細胞内 Ca²⁺測定試薬である Fluo 4-AM (同仁化学) を細胞内へとりこませたのち、培養皿は共焦点レーザー顕微鏡 (ライカ TCS SL) ステージに取り付けた顕微鏡ステージ用 CO₂ (5%) 培養器 (Okolab S.r.L., NA, Italy) 内へ装着し観察・撮影を行った。蛍光観察条件は、励起波長: 495nm、蛍光波長: 518nm を参考とした。

4) ニフェジピンによる Ca チャネルの阻害

ホウ素の細胞膜安定化への影響を検討するため、L 型 Ca チャネルの特異的な阻害剤であるニフェジピンは 10 μ M となるよう培地に加え 30 分間培養した。その後、3) の条件で細胞内 Ca²⁺を測定した (n=3)。対照群 (n=3) は、ニフェジピンの溶媒に用いた 50%エタノールを実験群と同量培地に加えたものとした。

5) Ca²⁺蛍光の相対強度変化の解析

ニフェジピンを添加後細胞は 30 分間培養ののち、Fluo 4-AM 染色しレコーディング用緩衝液で細胞を被覆した。培養皿を顕微鏡ステージ用 CO₂ (5%) 培養器 (Okolab S.r.L., NA, Italy) 内装填後、細胞 5~6 個程度の視野を 10 秒に 1 回の割合でスキャンした。スキャン開始 2 分後に 10mM のホウ素を 0.1mM となるよう記録用緩衝液表面に滴下した。フェジピン添加群、非添加群に生じる滴下後 1 分間の蛍光強度変化は最小二乗法で回帰直線の傾きを求め比較した。

【結果と考察】

ニフェジピンをはじめジヒドロピリジン系薬は、L 型 Ca チャネルの N 部位に特異的に結合しその発現や活性を阻害する。Ca チャネルが阻害されると Ca イオンの細胞質への流入が抑制される。今回、ニフェジピン無添加群ではホウ素滴下後、1 分間の蛍光強度の上昇がみられ、ニフェジピン添加群では対照群と比べてホウ素滴下後、1 分間の蛍光強度上昇が有意に明瞭に抑制された ($P < 0.01$)。したがって、0.1mM ホウ素添加による骨芽細胞の活性化には、L 型 Ca チャネルの活性化も関与しているものと考えられる。

謝辞

本研究は、日本学術振興会科学研究費 (挑戦的萌芽研究、課題番号: 25670812) の助成によって実施した。

ヒト歯髄細胞における PDTC の Smad リン酸化に対する影響

日本大学松戸歯学部歯内療法学講座

○深井 譲滋, 青野 愛, 岡部 達, 田中 みどり, 酒井 きよ美, 太田 智子,
富田 敬, 高瀬 俊彦, 松島 潔

Effect of PDTC on Smad phosphorylation in Human Dental Pulp Cells

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Joji Fukai, Ai Aono, Tatsu Okabe, Midori Tanaka, Kiyomi Sakai, Tomoko Ohta,
Takashi Tomita, Toshihiko Takase and Kiyoshi Matsushima

<目的>

歯髄は、慢性う蝕や摩耗症、咬耗症などの軽度の外来刺激を受けると、硬組織形成を促進し修復象牙質の形成を行うことが知られており、炎症と硬組織形成は密接に関わると考えられている。prostaglandin E₂ (PGE₂)は、歯髄の硬組織形成に関わると考えられており、ヒト歯髄培養細胞を低濃度 PGE₂ で (0.1μM PGE₂)で刺激すると硬組織形成が促進されるが、高濃度 PGE₂ (1μM PGE₂)刺激では硬組織形成が抑制されるという二面性の働きを持つことが報告されているが、その制御機構については不明である。

また、近年、露髄面に対し硬組織形成を誘導するため、bone morphogenetic protein (BMP)を応用する研究が積極的に行われているが、その作用は炎症性サイトカインやケミカルメディエーターにより調整されていると報告されている。このことより、炎症状態の歯髄に対して BMP を作用させても良好な結果が望めないのではないかと推測される。臨床において、露髄した際にはすでに炎症状態であると予想され、そのため露髄面に対して BMP を応用するには硬組織形成に不利になる炎症反応をコントロールすることが必要であると考えられる。

このことから、本研究では象牙質再建療法確立の一助として、PDTC の Smad リン酸化に対する影響の検索を行った。

<方法>

(1) 細胞の調整

実験には矯正学的理由で抜去された歯から歯髄を無菌的に取り出し、PBS で十分に洗浄した後、約 2mm 角に細切した組織片を細胞培養プレートに静置して、10%ウシ胎児血清 (FBS)、100μg/ml penicillin G (明治製菓株式会社)、100ng/ml kanamycin sulfate (明治製菓株式会社)、0.3μg/ml fungizone (Gibco 社製, USA)を含む α-minimum essential medium (α-MEM, Gibco 社製, USA)を用いて 37°C, 5%CO₂, 95%気相下にて out growth し、5~9 代継代したものを歯髄培養細胞 (HDPC)として用いた。

(2) Western blot 法

Western blot 法においては一次抗体として、抗 Phospho-smad1/sm5/sm8 ウサギポリクローナル抗体 (Cell Signaling Technology 社製, USA)を用いた。二次抗体として Horseradish peroxidase を標識した抗ウサギ IgG ヤギ抗体 (Cell Signaling Technology 社製, USA)を用い、プロットティング検出試薬 (ECL prime Western Blotting Detection system®, GE 社製, USA)を用いて化学発光を行い、ImageQuant LAS 4000 mini (GE 社製, USA)を用いて検出を行った。

<結果および考察>

PGE₂ および NF-κB 阻害薬である 25μM ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (PDTC, CALBIOCHEM 社製)の smad1/5/8 のリン酸化に対する影響を western blot 法にて解析したところ、刺激 3 時間後の HDPC において、1μM PGE₂ 刺激によって smad1/5/8 のリン酸化は抑制されたものの、PDTC にて前処理を行うことによって control よりも高い smad1/5/8 のリン酸化の亢進が認められた。

このことから PGE₂ による硬組織形成の調整には主に smad が関わるものと示唆された。

今後、Alizarin red S 染色による石灰化物の形成についても検討を重ねる予定である。

Ectodin と wnt10a はラット培養歯髄細胞の dentinogenesis を誘導する

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野

○上田 堯之、門倉弘志、鈴木瑛子、高橋淳哉、石岡和仁、藤原ひかり、横瀬敏志

Ectodin and wnt10a induce dentinogenesis in rat dental pulp cells in vitro.

Division of Endodontics and Operative Dentistry, Department of Restorative and Biomaterials
Sciences, Meikai University School of Dentistry

○UEDA Takayuki, KADOKURA Hiroshi, SUZUKI Eiko, TAKAHASHI Junnya, ISHIOKA

Kazuhito, FUJIWARA Hikari, and YOKOSE Satoshi

(目的) 歯髄組織の発生と象牙質形成には多くの増殖因子やサイトカインが作用しホメオボックス遺伝子の発現をコントロールしている。最近、その因子のなかでも SOSTO ドメインを有する ectodin(SOSTOdc-1)が注目され、歯の数や咬頭の形態形成に深く関与することが示された。これに伴いわれわれは象牙芽細胞の分化と象牙質形成にもこの ectodin が深く関与することを明らかにした。今回は ectodin が象牙質形成を誘導するメカニズムをさらに詳しく調べるために wnt10a との関係を調べたので報告する。

(材料と方法) 8週齢のSDラットの切歯の歯髄から酵素分離方で初代歯髄細胞を分離し、実験に用いた。Ectodin の作用を調べるために SiRNA を発現ベクターに導入し ectodin の knock Down (KD 群)を行い、空ベクターを導入した対照群細胞 (Cont 群) と比較検討した。これらの細胞を 20 日間培養し、形態学的に石灰化象牙質形成を調べるために、ALP/Von kossa 染色を行った。また、ectodin, DSPP, BGP, wnt10a の mRNA の発現を調べるためにリアルタイム PCR を行い解析した。

(結果と考察) Ectodin を knock down した細胞は培養 20 日間を通してその mRNA の発現は Cont 群に比較して 10%未満を示し、knock down 効果が確認された。KD 群では象牙質石灰化結節の形成が有意に抑制され、DSPP, BGP, wnt10a の発現も Cont 群に比較して有意に抑制されていた。これらの結果は ectodin が wnt シグナルに作用して象牙質形成に重要な DSPP や BGP の発現を抑制していることがわかった。

(結論) ラット培養歯髄細胞において ectodin は wnt シグナルを介して dentinogenesis をコントロールしていることが示唆された。

ヒト歯髄細胞への低出力超音波(LIPUS)はオステオポンチンの発現を誘導する

東北大学大学院歯学研究科口腔生物学講座歯内歯周治療学分野¹⁾
東北大学大学院歯学研究科歯学イノベーションリサーチセンター²⁾ 東北大学名誉教授³⁾
○須藤瑞樹¹⁾、金谷聡介^{1),2)}、島内英俊³⁾、根本英二¹⁾

Low-intensity pulsed ultrasound enhances osteopontin expression in human dental pulp cell

Division of Periodontology and Endodontology¹⁾

Liaison Center for Innovative Dentistry²⁾

○Mizuki SUTO¹⁾、Sousuke KANAYA²⁾、Hidetoshi SHIMAUCHI¹⁾、Eiji NEMOTO¹⁾

[目的]

露出した歯髄に対して高い予知性を持つ象牙質再生法の確立は歯内療法最大の目標の1つである。細胞外基質タンパク質であるオステオポンチン(Osteopontin, OPN)は硬組織形成分化マーカーの一つであり、生体防御、組織修復、およびメカニカルストレスなどにおいて、その発現が誘導されることが知られている。また、修復象牙質が形成される過程において歯髄・象牙質界面にOPNが沈着し歯髄細胞が象牙芽細胞へと分化していくことが報告されており、修復象牙質の形成と密接に関係していると考えられている。

低出力超音波(Low-intensity pulsed ultrasound, LIPUS)は、1980年代に骨折治癒促進効果が証明されて以来、現在整形外科領域における理学療法として広く用いられている。LIPUSの照射は骨関連細胞に対してメカニカルストレスとして作用し、骨芽細胞の分化を促し、骨形成を促進することが報告されている。また、近年LIPUS照射は培養歯根膜細胞の分化を促進することも報告されている。しかしながら、歯髄組織領域におけるLIPUSの研究報告はほとんど知られていない。

本研究は、LIPUS照射がヒト歯髄細胞のOPNの発現にどのような影響を与えるかについて解析を行い、LIPUSの分化誘導能のポテンシャルについて検討を行った。

[材料および方法]

1. 供試細胞：ヒト歯髄細胞は東北大学病院で同意を得た炎症徴候のない健全な第三大臼歯から歯髄組織を分離し、同細胞を10% fetal bovine serum (FBS)添加α-MEM培地で継代培養して供試した。ヒト歯髄細胞は2代から8代まで継代培養したものを実験に供試した。
2. LIPUS照射：セーフス SAFHS 4000J(帝人ファーマ株式会社)を用いて有効強度30mW/cm²、音響作用周波数1.5MHzで20分間あるいは60分間を照射条件として一日一回照射した。
3. 細胞増殖・細胞遊走：ヒト歯髄細胞にLIPUS刺激を用い、細胞数測定および顕微鏡下での形態観察を行った。
4. Real-Time PCR：ヒト歯髄細胞を所定の条件で培養し、RNeasy[®](QIAGEN)を用いて全RNAを抽出し、DNase(DNA-free[™])処理を施し、Transcriptor First Stand cDNA Synthesis Kit (Roche Diagnostic)を用いて、PCR増幅を行った。PCR産物はiQ SYBR Green Supermix[®](Bio-Rad)を用いて調整し、CFX96 Touch[™] Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)を用いて解析を行った。
5. Adenosine-5'-triphosphate (ATP)産生：ヒト歯髄細胞にLIPUS照射する6時間前に培地交換を行い、LIPUS刺激を行ったのち、培養上清中のATP量をLL-100-1 菌士郎[®] ATP発光キット(東洋ビーネット)を用いて測定した。

[結果]

1. ヒト歯髄細胞をLIPUS照射後、培養24時間後および72時間後においてLIPUS照射群はコントロール群と比べて有意差を認めなかった。また、細胞遊走能においても明らかな有意差は認めなかった。
2. LIPUS照射により、ヒト歯髄細胞において72時間後にOPNの遺伝子発現量がコントロール群と比較して有意に増加した。
3. LIPUS照射により培養上清中のATP量はLIPUS照射後30分後まで有意差は認めなかったが、50分後のATP量は約8倍、60分後では約15倍に増強された。
4. ヒト歯髄細胞を1μM ATPで72時間刺激することによりOPNの遺伝子発現量がコントロール群と比較して有意に増加した。

[考察]

LIPUS照射のヒト歯髄細胞に与える影響について検討した結果、LIPUS照射により細胞外のATP量が有意に増加し、それに引き続きOPNの遺伝子発現量が有意に増加した。また、ヒト歯髄細胞をATPで刺激することによりOPNの遺伝子発現量が増加したことから、LIPUS照射によって細胞外に放出されたATPがOPNの発現誘導に関与している可能性が示唆された。これらの知見は、修復象牙質の形成誘導においてLIPUS照射が有効に作用する可能性を示唆するものと考えられる。

ラット冠部歯髄の再生歯髄様組織における DSPP と IL-6 の遺伝子発現について

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¹

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座歯髄生物学分野²

○伊藤崇史¹、金子友厚¹、末山有希子¹、興地隆史²

Gene Expression of DSPP and IL-6 in Engineered Coronal Pulp Tissues of Rat Molars

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences. ²Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○ITO Takafumi¹, KANEKO Tomoatsu¹, SUEYAMA Yukiko¹, OKIJI Takashi²

(目的)

我々は、第142回本学会において、間葉系幹細胞を混合した三次元複合型スキャホールドを、冠部歯髄を除去したラット上顎第一臼歯に移植すると、歯髄様組織の再生が生じることを報告した。そこで、本研究においては、再生歯髄組織の性状を解析するため、炎症性サイトカインとして interleukin-6 (IL-6)、象牙芽細胞マーカー分子として dentin sialophosphoprotein (DSPP) を取り上げ、再生歯髄組織におけるこれらの遺伝子発現状態を定量的に解析した。

(方法)

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施された。5週齢 Wistar 系雌性ラットの上顎第一臼歯を検索対象とした。全身麻酔下で被験歯を #1/2 ラウンドバーを用いて咬合面から露髄させた後、直下の歯髄組織をさらに削除した。次いで、窩洞を 2.5% 次亜塩素酸ナトリウム、15% EDTA (モルホニン)、およびリン酸緩衝食塩液を用いて洗浄後、ラット間葉系幹細胞 (PoieticsTM ラット間葉系幹細胞; ロンザジャパン株式会社) を混合した Matrigel[®]/ポリ乳酸スキャホールドを移植し、水硬性セメント (Cavit Pink; 3M ESPE Dental AG) を充填後、フロアブルコンポジットレジン (Beautiful Flow; 松風) をさらに積層し、窩洞を封鎖した。未処置の正常上顎第一臼歯をコントロールとした。移植3日、および7日間経過後の冠部歯髄および歯根歯髄を検索対象とし、通法に従い固定、脱灰後、作成した凍結切片をレーザーキャプチャーマイクロダイセクション用スライドに貼付し、実体顕微鏡下で移植部歯髄および根部歯髄をそれぞれ別々に採取した。これらの試料より全 RNA を抽出したのち、interleukin (IL)-6、および dentin sialophosphoprotein (DSPP) mRNA の発現変化を real time PCR を用いて定量解析した。

(結果)

細胞移植3日間経過例において、正常組織と比較して冠部歯髄で IL-6 mRNA の有意な上昇が認められた。一方、幹細胞移植7日間経過例においては、IL-6 mRNA の発現は3日経過例と比較して有意に減少したが、その一方で、冠部歯髄における DSPP mRNA 発現が正常組織と比較して有意な増加した。

(考察)

細胞移植3日間経過例の冠部歯髄および根部歯髄において、炎症性サイトカインである IL-6 mRNA の有意な発現上昇が観察されたが、これはスキャホールドを移植したことに対する歯髄の反応と考えられる。また、細胞移植7日間経過例では、象牙芽細胞マーカーである DSPP mRNA の顕著な発現上昇が冠部歯髄で認められたことから、移植部位における、象牙芽細胞の分化が促進されている可能性が示唆された。

(結論)

移植後3日経過例の移植部位において、炎症性サイトカイン IL-6 mRNA の増加および、7日経過例の移植部位において、象牙芽細胞特異的遺伝子 DSPP mRNA の増加が観察された。

各種ケイ酸カルシウム系セメントによるラット臼歯直接覆髄後の被蓋硬組織形成

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学口座 う蝕学分野¹

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 摂食機能保存学講座 歯髄生物学分野²

○枝並直樹¹, 吉羽邦彦¹, 武井絵梨花¹, 日向 剛¹, 竹内亮祐¹, 遠間愛子¹, 重谷佳見¹, 吉羽永子¹, 興地隆史²

Hard tissue barrier formation after pulp capping with calcium silicate-based cements in rat molars

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

²Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○ EDANAMI Naoki¹, YOSHIBA Kunihiko¹, TAKEI Erika¹, HINATA Go¹, TAKEUCHI Ryousuke¹, TOHMA Aiko¹, SHIGETANI Yoshimi¹, YOSHIBA Nagako¹, OKIJI Takashi²

【目的】

ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental) などのケイ酸カルシウム系セメントは、水酸化カルシウム (製剤) に代わる直接覆髄材として注目されており、水酸化カルシウム製剤と比較して同等以上の成績を示すとの臨床報告もなされている。一方、近年では ProRoot MTA の操作性の改善や硬化時間の短縮などを意図した新たなケイ酸カルシウム系セメントが開発されているが、これらの硬組織形成誘導能に関する知見は十分とは言えない。そこで、本研究では各種ケイ酸カルシウム系セメントによる直接覆髄後の被蓋硬組織形成過程について、ラット臼歯を用いて組織学的・免疫組織化学的に検討した。

【材料および方法】

被験材として、光硬化型の TheraCal LC (Bisco) および 試作ケイ酸カルシウム製材 (日本歯科薬品) を、またコントロールとして、ProRoot MTA を用いた。8 週齢 Wistar 系雄性ラットを用い、全身麻酔下で上顎第一臼歯をラウンドカーバイドバー (直径 0.8mm) で咬合面より露髄させ、次亜塩素酸ナトリウム液と過酸化水素水の交互洗浄後、滅菌生理食塩水にて洗浄止血した後、各種ケイ酸カルシウムセメントにて直接覆髄を施し、フロアブルコンポジットレジン (ビューティフィル フロー) で被覆した。覆髄処置 3、7、14 日後に PLP 固定液で灌流固定を行ったのち、摘出した試料を 10% EDTA で脱灰後、凍結切片を作成し、H-E 染色による組織学的観察を行うとともに、硬組織形成関連非コラーゲン性タンパクとして dentin matrix protein 1 (DMP1) および osteopontin (OPN)、さらに象牙芽細胞マーカーとして nestin の局在を酵素抗体染色により観察した。なお、本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号 新大研 207 号-3)。

【結果】

術後 3 日では、すべての群で覆髄部直下に変性層を認め、その下層に DMP1 および OPN 陽性反応が観察された。7 日後では、ProRoot MTA および試作ケイ酸カルシウム製材群では覆髄部に線維性基質の形成が観察され、これに一致して DMP1 陽性反応が、またその表層部に OPN 陽性反応が認められた。一方、TheraCal LC 群では、DMP1 および OPN 陽性反応層が観察されるものの、基質形成は不明瞭であった。14 日後では、すべての群で細管構造を一部伴う被蓋硬組織の形成が認められた。また、DMP1 陽性反応が被蓋硬組織全体に認められ、OPN 陽性反応は被蓋硬組織の表層部に観察された。さらに、被蓋硬組織直下には円柱状の新生象牙芽細胞様細胞の配列が観察され、nestin 陽性反応を示していた。

【考察】

直接覆髄 14 日後では、全ての実験群で細管構造を有する象牙質様の硬組織形成が認められたことから、TheraCal LC、試作ケイ酸カルシウム製材ともに ProRoot MTA と同様な硬組織形成誘導能を有することが示された。しかしながら、TheraCal LC 群では、初期に基質形成が遅延する傾向を示し、剤型の影響による可能性が示唆された。また、覆髄材と歯髄組織との界面部では、全ての実験群で象牙芽細胞様細胞の出現に先立ち DMP-1 および OPN 陽性反応が認められたことから、3 種の材料に対する共通の機序として、DMP-1 および OPN が象牙芽細胞様細胞の分化および被蓋硬組織形成過程の発動に何らかの役割を果たしていることが示唆された。

【結論】

TheraCal LC および試作ケイ酸カルシウム製材を用いて、実験的に露髄させたラット臼歯を直接覆髄したところ、ProRoot MTA と同様、被蓋硬組織形成が観察された。

ヒト歯髄細胞の石灰化における Calcium-sensing receptor の関与について

¹九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、²九州大学病院 歯内治療科、³九州大学病院口腔総合診療科
○水町博之¹、友清淳¹、長谷川大学¹、濱野さゆり¹、吉田晋一朗¹、杉井英樹¹、
芹田俊¹、御手洗裕美¹、和田尚久³、前田英史^{1,2}

The contribution to Calcium-sensing receptor on mineralization of human dental pulp cells.

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ²Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, ³Division of General Oral Care, Kyushu University Hospital
○Hiroyuki Mizumachi¹, Atsushi Tomokiyo¹, Daigaku Hasegawa¹, Sayuri Hamano¹, Shinichiro Yoshida¹, Hideki Sugii¹,
Suguru Serita¹, Hiromi Mitarai¹, Naohisa Wada³, Hidefumi Maeda^{1,2}

<研究目的>

Calcium-sensing receptor (CaSR) は、血中カルシウム濃度による副甲状腺ホルモン分泌調節を媒介する分子として同定された 7 回膜貫通型 G 蛋白共役受容体の一つであり、活性化することにより骨芽細胞の分化および石灰化を促進することが報告されている (Brown et al. 1993)。しかしながら、我々の研究室では、歯根膜細胞に CaSR の activator の一つである Ca^{2+} を投与した場合、石灰化が亢進し、CaSR の inhibitor を投与した場合には、さらに石灰化が促進することを報告した (Koori et al. 2014)。一方、ヒト歯髄細胞 (HDPCs) における CaSR の機能については十分に報告はなされていない。そこで、本研究では HDPCs の石灰化における CaSR の関与について検討することとした。

<材料および方法>

(1) SD ラット (5 週齢、雄性) の下顎臼歯部の組織切片を用いて、抗 CaSR 抗体による免疫組織化学的染色を行った。(2) 本研究の同意を得た 3 名の患者の抜去歯牙より歯髄組織を採取し、培養して得られた細胞を本研究に用いた。CaCl₂ を投与した群、および CaSR の他の activator として知られている Strontium Ranelate (SR; LKT) を投与した群、それぞれの群の HDPCs に対して抗 CaSR 抗体による免疫蛍光染色を行い、コントロール群との比較を行った。(3) HDPCs に CaCl₂ を投与して培養を行い、この培養系に CaSR の inhibitor である NPS2143 (Santa Cruz) を投与した群の石灰化について、Alizarin red S 染色法にて解析した。さらに *CaSR* および象牙質関連遺伝子 (*BMP-2*, *DMP-1*, *DSPP*, *OCN*) の発現を定量的 RT-PCR 法にて解析した。(4) SR 投与群、および SR と NPS2143 を同時投与した群においても同様に解析を行った。

<結果>

(1) 抗 CaSR 抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った結果、歯髄組織は陽性反応を示し、特に象牙芽細胞近傍の歯髄細胞において強い陽性反応を示した。また、象牙芽細胞は弱陽性反応を示した。(2) HDPCs を抗 CaSR 抗体を用いて免疫蛍光染色を行った結果、コントロール群において陽性反応を示したが、2 mM CaCl₂ 投与群、および 10 mM SR 投与群ではコントロール群と比較して陽性反応は亢進した。(3) 2 mM CaCl₂ 投与群において、HDPCs の石灰化は促進し、*CaSR* および象牙質関連遺伝子の発現が有意に上昇した。また、2 mM CaCl₂ と 5 μM NPS2143 を同時投与した群において、CaCl₂ 投与群と比較して石灰化は抑制され、*CaSR* および象牙質関連遺伝子の発現もまた有意に低下した。(4) 10 mM SR 投与群において、HDPCs の石灰化は促進し、*CaSR* および象牙質関連遺伝子の発現は有意に上昇した。10 mM SR と 7.5 μM NPS2143 を同時投与した群において、SR 投与群と比較して石灰化は抑制され、*CaSR* および象牙質関連遺伝子の発現もまた有意に低下した。

<考察>

象牙芽細胞近傍の歯髄細胞は、抗 CaSR 抗体に強い陽性反応を示し、象牙芽細胞は弱陽性反応を示すことから、CaSR の発現は、歯髄-象牙質複合体の維持に関与する可能性が推察された。また、HDPCs に CaSR の activator を投与した場合、CaSR の発現は亢進し、石灰化も促進する一方、CaSR の inhibitor を投与した場合には石灰化が抑制されたことから、HDPCs の象牙芽細胞様細胞への分化において CaSR は重要な役割を持つことが示唆された。これらの結果から、CaSR の activator は、直接覆髄材として有効な働きを持つ可能性が考えられた。

骨髄細胞による骨形成へのデキストランコーティングの効果

大阪歯科大学 口腔治療学講座

○宮本綾乃、杉本貞臣、中井啓介、前田博史、好川正孝、辻 則正、藪内崇督

Effect of dextran coating to sponge for bone formation by bone marrow cells

Department of Endodontics, Osaka Dental University

○Ayano Miyamoto, Sadaomi Sugimoto, Keisuke Nakai, Hiroshi Maeda, Masataka Yoshikawa,
Norimasa Tsuji, Takayoshi Yabuuchi

【緒言】

骨再生医療にとって、担体は幹細胞の増殖と分化を誘導するために重要な役割をもつ。歯周組織の再生医療にとっても担体は重要であり、歯槽骨欠損の形状に容易に適合する性質が要求される。今回我々は、形状付与が容易な担体材料としてスポンジに着目し、骨髄細胞によるホルマリン処理ポリビニルアルコールを素材とするスポンジ（ポリビニルホルマールスポンジ：PVF スポンジ）内での硬組織形成と、骨髄細胞の接着性を高める目的でデキストランをコーティングした、PVF スポンジ内での硬組織形成を *in vivo* で評価した。

【材料と方法】

- (1)骨髄細胞の調整：6週齢の雄性 Fischer344 ラットの大腿骨から骨髄細胞（rBMCs）を採取し、15%ウシ胎児血清と抗生物質を含む MEM 中で一週間の初代培養後、rBMCs の懸濁液（ 1×10^6 cells/ml）を調整した。
- (2)デキストランコート PVF スポンジへの骨髄細胞の播種および皮下埋入：PVF スポンジ（サイズ： $5 \times 5 \times 5$ mm 気孔：平均 130 μ m）をデキストラン溶液（分子量：10 kDa 濃度：精製水中 2 g/dl）に浸漬、乾燥させることによってデキストランコーティングを施し、走査型電子顕微鏡でコーティングの状態を観察した。このスポンジに rBMCs を播種し、Fischer ラットの背部皮下に埋入した。
- (3)スポンジ担体内の硬組織形成の評価：ラットからスポンジ担体を 4 週後に回収し、10%パラホルムアルデヒドで固定、10%ギ酸溶液で脱灰した後にパラフィン包埋して 6 μ m に薄切、ヘマトキシリンエオジンで染色して、組織学的評価を行った。また、埋入スポンジを凍結、粉碎、超音波処理した後、遠心分離（16,000 \times g）して、オステオカルシンを免疫化学的に定量した。次にギ酸で脱灰した後、カルシウムの生化学的定量分析を行った。統計学的有意差の検定には Tukey-Kramer 法（ $p < 0.01$ ）を用いた。

【結果】

- (1)走査型電子顕微鏡によるスポンジ表層の観察：無処理のスポンジでは微細な線維が互いに連結している様子が観察され、デキストランコーティングされたスポンジでは、厚く被覆されて太さを増す線維が確認できた。
- (2)埋入 PVF スポンジの組織所見：無処理のスポンジでは骨様組織は観察されなかったが、スポンジの線維の間に、密に配置された線維性結合組織が見られた。コーティング処理を行ったスポンジでは線維間に骨様組織の形成が認められた。
- (3)PVF スポンジ内オステオカルシンおよびカルシウム量：オステオカルシンのレベルは、無処理の PVF スポンジで 9.42 ± 5.67 ng/scaffold、デキストラン処理 PVF スポンジは、 25.28 ± 5.71 ng/scaffold であり、オステオカルシン量に有意差が認められた。また、カルシウム量は、無処理の PVF スポンジでは 79.41 ± 8.69 μ g/scaffold、デキストラン処理 PVF スポンジは 129.20 ± 19.69 μ g/scaffold で、PVF スポンジのデキストランコートによるカルシウム量の有意な増加が認められた。

【結論】

デキストラン処理を行った PVF スポンジに骨髄細胞を播種することによって、スポンジ内に骨様硬組織の形成が誘導された。無処理のスポンジにおいては、骨形成が誘導されなかったことから、デキストランがスポンジ内で骨髄細胞の接着に寄与し、より多くの幹細胞からの骨形成を可能にすることが示唆された。

細胞移植を用いない新規歯髄再生療法の開発

1. 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 齶蝕学分野
2. 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生物学分野
○松裏貴史¹, 松裏恵子², 柳口嘉治郎¹, 林善彦¹

A new method of dental pulp regeneration without any cell transplantation.

1. Department of Cariology, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University
2. Department of Cell Biology, Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University
○Takashi Matsuura, Viviane K.S. Kawata-Matsuura, Kajiro Yanagiguchi, Yoshihiko Hayashi

【背景・目的】

カリエスが歯髄まで到達し、不可逆性の歯髄炎が生じた際は、抜髄して根管充填を行う必要がある。しかし、抜髄をした歯は、歯根破折や根尖性歯周炎発生の可能性がある。そこで、もし抜髄後に歯髄を再生させることができれば、象牙質-歯髄複合体の再構築、歯髄免疫応答の再獲得によって、歯根破折や根尖性歯周炎発生のリスクを減らすことが出来ると考えられる。

歯髄再生の方法としては、リバスクラリゼーションおよび組織工学的なアプローチが試みられている。リバスクラリゼーションでは、その機序は不明瞭であり、どこまで純粋な歯髄組織が再生されているのかは疑問である。また、歯髄幹細胞を用いた組織工学的手法は、すでに単一施設での臨床試験が終了するところまで研究は進んでいる。しかし、この方法は、歯髄幹細胞を得る為に不要歯の抜歯と採血が必要である。また、歯髄幹細胞の培養・準備することも不可欠である。

そこで、今回我々は、幹細胞移植に付随する以上の点を回避するため、細胞移植を用いないで根管内に歯髄組織を再生させる方法の確立を目的として、実験を開始したので報告する。

【方法】

歯内療法実習用模型歯 (B22X-END, ニッシン) をタービンにつけたダイヤモンドラウンドバーを使って髄腔開拓し、手用ステンレスファイルにて#60 まで根管拡大し、17%EDTA 溶液に 5 分間浸漬後、3 ウェイシリンジにてよく水洗し、エアーをかけ、切削片が残っていないことをマイクロスコープにて確認後、5%次亜塩素酸ナトリウム溶液中に 1 日浸漬した。その後、PBS(-)にて 2 回洗浄し、滅菌ペーパーポイントにて根管を乾燥後、気泡が入らないように Vascular endothelial growth factor (VEGF) 含有コラーゲンを根管へ注入し、37°C で 10 分間培養した。その後、歯冠部をフジフィル LC (GC) にて仮封し、ペンキュアー (モリタ) にて 10 秒間光照射し、6 週齢 Wister 雄ラット背部へ移植した。3 週間飼育後、灌流固定を行った。その後、人工歯を取り出し、凍結切片を作成して H-E 染色を行った。また、VEGF を含有していないコラーゲンをネガティブコントロールとして用いた。

【結果】

ラット背部への皮下移植後 3 週で、移植した根管模型内の根尖部 2mm の部位に、ラット組織由来の線維芽細胞様の細胞が密に観察された。また、ネガティブコントロールにおいては、根尖部に細胞の進入は見られたものの、その細胞密度は低く、VEGF 含有のもので観察された様な線維芽細胞様の細胞はみられなかった。

【考察】

細胞移植をすることなく、足場と成長因子のみで、ラット背部皮下へ移植した根管模型の根管内に宿主の細胞を動員することに成功した。しかし、動員されたのは根尖部に局限していたため、足場および成長因子の条件を検討する必要がある。このことによって、最低でも側枝のある根尖側 3mm 以上は細胞を動員すること可能となる。

また、再生歯髄組織より上部の根管には、MTA による封鎖を考えている。根尖相当部の歯髄組織が再生されれば、発見の難しい根尖相当部の垂直性歯根破折および、根尖性歯周炎を防ぐことが出来ると考える。今後とも、実験を進めていくことによって、大きな設備が不要で簡単に実施することが可能な、新規歯髄組織再生方法の確立を試みる。

エナメル質に対する硫化水素の影響

鶴見大学歯学部歯内療法学講座¹⁾、鶴見大学歯学部保存修復学講座²⁾、鶴見大学歯学部口腔解剖学講座³⁾

○山口貴央¹⁾、英 將生²⁾、関水健宏¹⁾、田井康晴¹⁾、
山近梨奈¹⁾、千葉敏江³⁾、下田信治³⁾、細矢哲康¹⁾

Influences of Hydrogen Sulfide on the Surface Layer of Enamel

Department of Endodontology¹⁾, Department of Operative Dentistry²⁾, Department of Oral Anatomy³⁾,
Tsurumi University School of Dental Medicine

OYAMAGUCHI Takao¹⁾, HANABUSA Masao²⁾, SEKIMIZU Takehiro¹⁾, TAI Yasuharu¹⁾,
YAMACHIKA Rina¹⁾, CHIBA Tosie³⁾, SHIMODA Shinji³⁾, HOSOYA Noriyasu¹⁾

【緒言】 口腔内細菌が様々なタンパクを分解した際に発生する揮発性イオウ化合物(Volatile Sulfur Compounds : VSCs)は口臭の主たる原因であるが、他にも細菌性毒素の組織内移行の原因となる歯肉上皮の透過性亢進や歯周炎の進行に関連する歯肉結合組織における MMP 産生促進、あるいはアポトーシスの誘導促進などにも関与しているとの報告がある。一方、生体内において発生する微量の VSCs は抗炎症作用や抗酸化作用を示し、生体の恒常性維持に関与していることも明らかとされている。また口腔内での発生に加え、VSCs を含有する食品も多く、エナメル質が直接 VSCs に曝露される機会は非常に多いが、歯の硬組織に対する VSCs の影響に関する研究は行われていない。本研究では、VSCs のエナメル質表層への影響について観察するために、代表的な VSCs で口臭に関与する硫化水素(H₂S)をエナメル質表層に作用させる実験系を構築し、H₂S がエナメル質の表面性状、表面硬さならびに修復処置に与える影響に関して検討した。

【材料及び方法】 表面性状ならびに表面硬さを観察する被験歯として、10%中性ホルマリン水溶液に保管したヒト抜去小白歯 10 本を用いた。被験歯表面を注水下ラバーカップで清掃後、近遠心的に割断し、それぞれを実験側と対照側の被験試料として 24 時間蒸留水中に保管した。H₂S 供給源として、水硫化ナトリウム 50g を純水に溶解して 100ml に調整し、密閉容器中に被験試料とともに個々のシャーレに入れ設置した。なお、対照側は蒸留水と試料を個々のシャーレに入れ、同様に容器中に設置した。容器中のシャーレは、48 時間ごとに水硫化ナトリウム水溶液の交換と蒸留水の追加を行った。1 週間密封容器を室温で保管し、SEM による表面の観察と微小硬度計(MVK-E / AKASHI)でヌーブ硬さ(KHN)を測定(圧入荷重 100g、15 秒)した。

修復処置に与える影響を観察するために、牛歯を用いて剪断試験を行った。歯根を切断し髓室部分の歯髄を除去した後、歯頸部をガラスアイオノマーセメントで封鎖した。モールドにセットし、常温重合レジンで包埋した後に#100 と #600 の耐水研磨紙で研磨を行い試料とした。表面性状ならびに表面硬さを観察した条件と同様に、1 週間経過後に研磨面を歯質接着システムで処理(Clearfil SE BOND)し、規格チューブを用いてコンポジットレジン(Clearfil AP-X)を築盛した。24 時間水中浸漬後、クロスヘッドスピード 1.0mm/min で剪断試験を行った。表面硬さ試験ならびに剪断試験で得られた結果から、Student-*t* 検定を用いて、危険率 5%未満で統計的に検索した。

【結果および考察】 SEM による観察では、低倍率観察において対照側に比べ実験側で表面の粗造化が認められた。また、高倍率観察においては、対照側にはエナメル小柱の末端と思われる凹凸が観察されるのに対し、実験側では表面構造が崩壊して網目状の変化が認められた。また処置前の KHN は、実験側が 376.76±39.94 ならびに対照側が 374.77±36.81 であり有意差は認められなかった。処置開始 1 週間後では、実験側が 324.29±56.33 ならびに対照側が 377.04±34.42 となり、実験側で有意に硬さが減少した(p<0.001)。剪断試験の結果は、実験側で 14.4±5.3 MPa ならびに対照側で 13.1±5.2 MPa であり、統計的有意差は認められなかった。

【結論】 H₂S によりエナメル質表層の構造が変化し、エナメル表面の硬さが減少することで、歯質表面損失の原因の一つになることが示唆された。H₂S によりエナメル質表層に変化が生じて、コンポジットレジンの接着強さに影響しないことが示唆された。

本研究は、鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認 (No.1041, 1306) を受け遂行した。
本研究は、科学研究費助成事業 基盤研究(A) 25253100 の助成を受けて遂行した。
本研究において COI を開示すべき企業・団体はない。

試作ケイ酸カルシウムの覆髄剤としての特性

- 1) 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野
- 2) 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野
- 3) 朝日大学歯学部口腔構造機能発育学講座口腔生化学分野

○林佑美代¹⁾、堀雅晴¹⁾、河野哲¹⁾、川木晴美²⁾、玉置幸道³⁾、吉田隆一¹⁾

Characteristics of an experimental calcium silicate as pulp capping agent

- 1) Department of Endodontics, Asahi University School of Dentistry
- 2) Department of Oral Biochemistry, Asahi University School of Dentistry
- 3) Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry

○Hayashi Yumiyo¹⁾, Hori Masaharu¹⁾, Kawano Satoshi¹⁾, Kawaki harumi²⁾, Tamaki Yukimichi³⁾, Yoshida Takakazu¹⁾

【目的】

近年、MTA (Mineral Trioxide Aggregate) は、直接覆髄、アペキシフィケーション、リバスクラリゼーション、逆根管充填に幅広く応用され、臨床では高い評価を得ている。日本では直接覆髄への応用のみ認可されている。しかし、高額で、操作性が悪く、硬化時間が長いという欠点もある。MTA は硬組織形成作用を有し、良好な生体親和性、封鎖性、水酸カルシウムの強アルカリによる殺菌作用を示すことが報告されている。成分は二酸化ケイ素、酸化カルシウム、ケイ酸カルシウム、酸化アルミニウム、硫酸カルシウム、酸化ビスマスなどで構成され、工業用のポルトランドセメントに類似しており、MTA との主な共通成分はケイ酸三カルシウムやケイ酸二カルシウムである。本研究は MTA の成分であるケイ酸カルシウムを試作し、ヒト歯髄由来幹細胞での細胞毒性および細胞増殖を評価した。

【材料および方法】

試薬の炭酸カルシウム (CaCO₃, ナカライテスク, Lot No. M3N3631) と珪藻土 (SiO₂, ナカライテスク, Lot No. M8B1591) を重量比 5 : 1 で混合し、純水を加えたものを電気炉にて 1300°C で焼成し、得られた焼結塊を乳鉢、乳棒で粉砕、セメント粉末とした。得られた試作セメント粉末の成分同定には、X線回折分析 (Ultima IV, Rigaku) を用いた。試作セメント粉末に操作性、硬化性の向上を目的として、ピュア硬質石膏 (下村石膏) の添加について検討した。ケイ酸カルシウムと石膏を重量比 3 : 1 (以下 K3 群)、2 : 1 (以下 K2 群)、1.5 : 1 (以下 K1.5 群) で配合したものを試作し、純水で練和後に各試料についても X線回折分析により成分同定を行った。各種セメントをアクリル製の内径 10mm 高さ 5mm の円柱リングに充填し、硬化させた。LDH・WST 試験を行うため、96well 培養プレートにヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSC) を 4x10³/well の密度で播種し、浸漬培地を用いて細胞毒性および細胞増殖を評価した。また対照群には Control (以下 Con 群)、PROROOT MTA (デンツプライ三金, LOT 13073104) (以下 M 群)、Dycal (デンツプライ三金, LOT 120821) (以下 D 群)、石膏 (以下 P 群) を用い、比較検討した。

【結果】

試作セメント粉末はケイ酸カルシウム (Ca₂SiO₄) であることが X線回折 (2θ : 10-60°) より認められ、18° 近傍に水酸化カルシウムのピークが確認でき、試作セメント粉末は水酸化カルシウムを生成していることが判明した。ピュア硬質石膏添加による化合物への影響については、X線回折分析では認められなかった。LDH 試験では、K3 群は Con 群 P 群 M 群よりも数値が低く細胞毒性が低いこと、M 群は C 群よりわずかに値が高く、D 群は C 群より値が高く毒性が高いことを確認した。WST 試験では、K3 群は Con 群 M 群よりも値が高く、K3 群 Con 群ともに他群よりも細胞増殖が認められた。D 群は、K3 群 Con 群よりも値が低く細胞増殖はわずかであった。

【考察および結論】

試作ケイ酸カルシウムは炭酸カルシウムと珪藻土の混合物を焼成することで比較的簡単に入手可能であり、また X線回折分析での成分同定で水酸化カルシウムを生成していることも確認できた。さらに、ヒト歯髄由来幹細胞に対する毒性も低かった。以上の結果より、MTA に類似する効果が期待できるのではないかと考えられた。

象牙細管への次亜塩素酸ナトリウムの浸透性

¹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

²東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野

○若松里佳¹、竹中彰治¹、大墨竜也¹、坂上雄樹¹、興地隆史²

Penetration of sodium hypochlorite into dentinal tubules

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

²Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○WAKAMATSU Rika¹, TAKENAKA Shoji¹, OHSUMI Tatsuya¹, SAKAUE Yuuki¹, OKIJI Takashi²

【目的】次亜塩素酸ナトリウム(NaOCl)は根管壁の未切削領域の感染源の溶解除去が期待できるが、感染根管の象牙細管内には時に数100 μmもの距離まで細菌が侵入するため、単にNaOClを用いて根管洗浄するだけでは深部に侵入した細菌まで効果が及ばない可能性がある。本研究では、NaOClによるヒト抜去歯根中央部の洗浄効果を、クリスタルバイオレットの脱色を指標として比較検討した。本研究は新潟大学歯学部倫理審査委員会の承認を得て行われた。

【材料および方法】ヒト新鮮単根抜去歯(n=20)を被験歯とし、歯冠切断後、解剖学的根尖孔から1mm引いた長さを作業長として、6%NaOCl(ネオクリーナー;ネオ製薬工業株シク会社製)浴下でNi-Tiロータリーファイルを用いて根管形成を行った。すなわち、プログライダー(Dentsply社製)でガイドパス形成したのち、プロテーパー・ネクストX1-X5(Dentsply社製)で順次作業長まで形成した。次いで、解剖学的根尖孔から4mmの位置から長さ4mmの歯根中央部を歯軸に垂直に切り出し、6%NaOClおよび17%EDTA(ペントロン社製)を用いてそれぞれ5分間処理を行ったのち、1%クリスタルバイオレット溶液(武藤化学社製)に1日浸漬し試料片全体を染色した。その後、歯根分割面をマニキュアでコーティングしたのち無作為に4群(各n=5)に分け、2%あるいは6%NaOClに2分間もしくは20分間浸漬後、4% carboxymethyl cellulose sodium salt(SECTION-LAB社製)中に凍結包埋し、Cryofilm(川本法;SECTION-LAB社製)を用いて80 μmごとに厚さ8 μmの未固定凍結横断切片を作成した。これらの切片を光学顕微鏡(Nikon Eclipse E800社製)にて40倍で観察し、1%クリスタルバイオレット溶液の脱色距離を測定した。

【結果】Ni-Tiロータリーファイルにより切削された根管壁におけるNaOClの象牙細管への最大浸透深度(μm;平均±SD)は、それぞれ94.2 ± 20.6(2%, 2分)、146.3 ± 23.2(6%, 2分)、237.2 ± 18.4(2%, 20分)および332.8 ± 37.8(6%, 20分)であり、すべての群間において有意な差が認められた(p<0.05, Tukey's test)。また、最小浸透深度は、それぞれ51.9 ± 10.3(2%, 2分)、74.6 ± 20.2(6%, 2分)、91.1 ± 40.7(2%, 20分)および87.5 ± 39.4(6%, 20分)であり、2%, 20分作用群および6%, 20分作用群の間に有意な差は認められなかった(p>0.05)。さらに、6%, 20分作用群でも、未切削部位において脱色がみられない箇所が観察された。

【考察】Cryofilm(川本法)による凍結横断切片により、固定、脱灰の影響を排除した条件下でNaOClの象牙細管に対する洗浄効果を比較検討するとともに、根管の解剖学的形態の存在によるNaOClの浸透性の差異を観察することが可能となった。NaOClの濃度の増加および作用時間の延長とともに最大浸透深度も増加したことから、NaOClの洗浄効果は濃度と作用時間に依存することが示唆された。しかし、高濃度では、組織刺激性や細胞毒性が懸念されるため、至適濃度は更なる検討が必要と考えられる。一方で、NaOClの浸透性は観察部位によって差があり、とくに未切削部位において洗浄効果が全く認められない箇所が観察された。この結果から、フィンや楕円形の断面形態などの複雑な根管形態の存在下ではNaOClの洗浄効果を象牙細管内にまで及ぼすことは困難であり、その作用を増強させる洗浄方法を考慮する必要性が示唆された。

【結論】NaOClの象牙細管内への浸透は濃度の増加もしくは作用時間の延長により向上するが、今回用いた洗浄条件ではその効果は不十分である可能性が示唆された。

試作 EDTA 溶液による根管洗浄の有用性
—根管象牙質への影響の評価—

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学講座¹⁾

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学講座²⁾

○藤巻龍治¹⁾, 鈴木二郎¹⁾, 岡田周策²⁾, 石井信之¹⁾

Applicability of The Root Canal Irrigation with The Prototype EDTA Solution
— Evaluation of The Effect on Root Canal Dentin —

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University¹⁾
Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University²⁾
OFUJIMAKI Ryuji¹⁾, SUZUKI Jiro¹⁾, OKADA Shusaku²⁾, TANI-ISHII Nobuyuki¹⁾

【研究目的】

根管形成後の根管壁象牙質表面はスマヤー層で覆われており、根管洗浄液の浸透を阻害するとともに、根管充填物の封鎖性を低下させることが報告されている。このスマヤー層を除去する方法として EDTA 溶液による根管洗浄が有用と考えられている。しかしながら、EDTA 溶液には、過剰な根管の脱灰が危惧されている。

本研究の目的は、次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) 溶液と同程度の pH に調整した試作 EDTA 溶液を用いた根管象牙質の洗浄効果と脱灰に関する評価を行うことである。

【材料および方法】

実験には、神奈川歯科大学研究倫理審査委員会の承認に基づき、ヒト単根抜去歯 10 本を供試した。

実験 1. ナノインデンテーション法(超微小押し込み硬さ試験)による脱灰象牙質の評価

ヒト単根抜去歯の歯冠切除後、垂直方向に切断し、断面が上面となるようにオストロン(ジーシー)に包埋した。耐水研磨紙#2000 を用いて健康象牙質を露出させ、表面が平面となるまで研磨を行ない、象牙質表面にスマヤー層を実験的に誘導した。サンプルの半面をメンディングテープで覆い、残り半分に対し試作 EDTA 溶液(pH12.3 0.09mol/l EDTA, 日本歯科薬品)を1分、2分、5分、10分、60分と計時的に作用させ、各時間の根管象牙質表面硬さを、超微小押し込み硬さ試験機(ENT-1100a エリオニクス)にて、押し込み硬さ(HIT)、マルテンス硬さ(HM)および押し込み弾性率(EIT)の測定を行った。なお、統計学的解析は *Unpaired t-test* (P<0.01) を用いて行った。

実験 2. 脱灰象牙質の電顕的評価

実験 1 終了後の試験片に白金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡(SS-550, 島津製作所)にて観察を行ない、任意の点(3か所)を5,000倍で撮影し、脱灰状態の判定を行った。その後、象牙質表面をレジンで覆い垂直に切断し、断面に白金蒸着を施し、走査型電子顕微鏡(SS-550, 島津製作所)および電子線マイクロアナライザー(EPMA-8705TH, 島津製作所)にて観察を行い脱灰の程度についても検討した。

【結果】

実験 1. 計時的変化における HIT, HM および EIT の各項目について有意差は認められなかった。

実験 2. 象牙細管の開口とスマヤー層の除去および過度な脱灰象牙質は観察されなかった。

【考察および結論】

試作 EDTA 溶液は、象牙質硬さ試験の結果から統計学的に、根管内象牙質を過度に脱灰し破壊せず、効果的な象牙細管の開口とスマヤー層の除去が確認された。また、根管口部、根管中央および根尖部において、処理後の象牙質硬さの変化や、スマヤー層の除去効果など差はみられなかった。

以上より、試作 EDTA 溶液は、根管洗浄材として有用であることが示唆された。

根尖分岐様構造内におけるレーザー洗浄効果の解析

¹⁾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, ²⁾九州大学病院歯内治療科
○木原智子¹⁾, 松本妃可²⁾, 吉嶺嘉人¹⁾, 後藤康治¹⁾, 橋口 勇¹⁾, 前田英史¹⁾

Fluid analysis of laser-activated irrigation in apical ramifications of the simulated canal model

¹⁾Dept. of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dentistry, Kyushu University, ²⁾Dept. of Endodontology, Kyushu University Hospital
○KIHARA Tomoko¹⁾, MATSUMOTO Himeka²⁾, YOSHIMINE Yoshito¹⁾,
GOTO Yasuharu¹⁾, HASHIGUCHI Isamu¹⁾, MAEDA Hidefumi¹⁾

【目的】

根管治療を成功に導くには、根管系から壊死歯髄組織や細菌およびその産生物などを取り除くことが重要であり、一般的には、機械的清掃と化学的清掃を組み合わせて行われる。今日では化学的清浄液による根管系の清掃・消毒、すなわち、根管洗浄に重点が置かれる傾向にあり、シリンジ法、超音波法など各種の根管洗浄法が応用されている。近年、水に対する吸収特性が高い波長を持つ Er:YAG レーザー (2.94 μm) および Er,Cr:YSGG レーザー (2.78 μm) を用いた根管洗浄法が新たな試みとして報告されている。

本研究では、根尖分岐様の構造を備えた透明根管模型を用いて、Er:YAG レーザーをパルス照射した際に生じる流れを解析することで、効率的なレーザー洗浄法を確立することを目的とした。

【材料・方法】

1. 模擬根管模型

根管長 20 mm で分岐根管 (直径約 0.3 mm) を有するエポキシ樹脂製透明模型を模擬根管として用いた。

2. 洗浄方法

Er:YAG レーザー (Erwin AdvEr1: モリタ) に石英ファイバー製円錐型チップ R200T (コア径 200 μm: モリタ) を装着して、表示出力 30 mJ、繰り返し速度 20 pps (pulse per second)、注水・エア無しに設定した。根尖相当部から 18 mm の根管口相当部にチップ先端を静置してパルス照射した。

3. 撮影条件と流体解析

撮影には高速度デジタルカメラ (Phantom v711: Ametek) を使用し、照明装置として 250 W ハロゲン光源 (KL2500LCD: Carl Zeiss) を模擬根管の斜め前方に設置した。流れを捉えるためのトレーサーとして平均粒径 31 μm のポリスチレン製微粒子 (Fluoro-Max: Thermo Scientific) を 5 wt% で加えた蒸留水を気泡が生じないように模擬模型内に満たした。

レーザー洗浄時の根尖領域を連続撮影 (10,000 fps) し、流体を 2 次元流体解析ソフト (FlowNizer: Ditect) で解析した。

【結果および考察】

Er:YAG レーザーのパルス照射によって、根尖に至る管内全領域において流れが認められた。流速は根管上部では、約 4 m/s に達したのに対して、分岐管内では約 1 m/s であった。また、分岐根管が主根管から分岐する角度によって流体の動きに違いのあることが分かった。

主根管内には、レーザー照射に伴って蒸気泡とキャビテーション気泡が生じており、これによって分岐根管内にも急速な流れが発生したと考えられる。この根管洗浄法は、複雑な解剖学的根管形態の一つである分岐根管においても効率的な洗浄作用を示すと考えられる。

【結論】

Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄法では、主根管に加えて分岐根管内にも活発な流れが生じることから、根管系の清掃に有効である可能性が示唆された。

モーションキャプチャーシステムを用いたファイル操作解析のための力学的モデル

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¹, 小児歯科学分野²
○庭野和明¹, 中島 努², 齊藤一誠², 吉羽邦彦¹

A Dynamic Model for Analysis of File Manipulation with a Motion-Capturing System

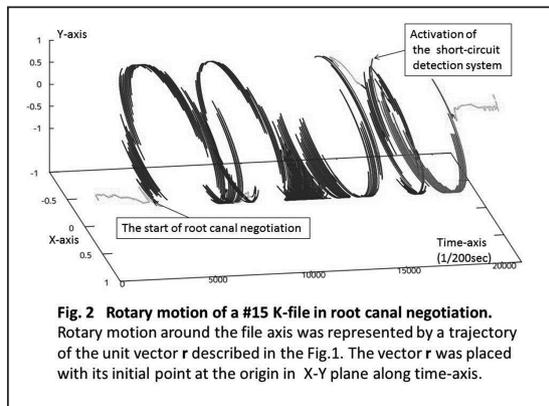
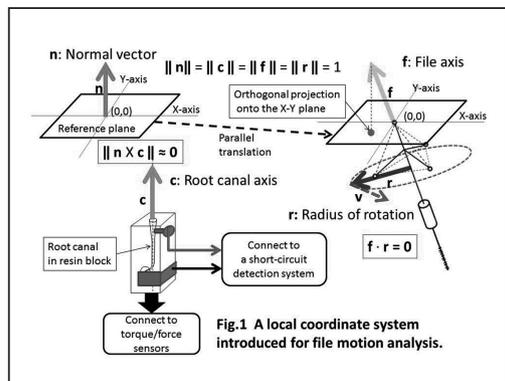
¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, ²Division of Pediatric Dentistry,
Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○NIWANO Kazuaki¹, NAKAJIMA Tsutomu², SAITOH Issei², and YOSHIBA Kunihiko¹

【緒言】歯内療法学模型実習における学習者の根管形成操作について、指導者が目視観察のみにより客観性のある指導、評価を行うことは困難である。我々は根管形成操作の客観的評価を与える手段として、これまで根管模型に作用するトルク、荷重を対象に検討を行ってきた。今回、根管形成中のファイルが示す位置、傾き、長軸周りの回転について解析可能かどうか検討するため、ファイル運動記述モデルを策定し、3次元動作解析装置を用いて観察した。

【材料および方法】解析のため3次元動作解析装置(VICON: Vicon Motion Systems社製)を用いた。マーカーを#15 Kファイル(MANI社製)のハンドル頭部にファイルの軸に一致させて接続し、下顎前歯を想定して配置した透明根管模型(トレーニングブロック: ZIPPERER社製)に対して穿通操作を行ってマーカーの3次元運動を200Hzで記録した。その際、根管模型を加工し、トルク・荷重センサと穿通を確認するための短絡検出センサへ接続した。両センサ出力は3チャンネルのアナログ入力信号としてVICONに接続し3次元運動と同期させて記録した。記録は臨床経験26年の歯科医師より採取した。なお操作中はアルコールワッテによるファイル清拭のみとし、短絡検出センサの動作音により穿通作業を中断しファイルを根管外へ取り出した。図1にファイル運動記述モデルを示す。同モデルは2つの3次元直交座標系すなわちグローバル座標系とローカル座標系よりなり、グローバル座標系によりファイル・マーカー連結体上に定義した代表点の3次元位置を記述した。ローカル座標系設定のため装置平面部(根管軸に近似的に垂直)にマーカーを3点設置して基準平面とし、同平面に平行にファイル・マーカー連結体代表点の3次元位置を原点とするローカル座標系XY平面を設定した。ローカル座標系ではファイル軸方向およびファイルの長軸周りの回転運動の記述を行った。ファイル軸方向はファイル長軸に平行なローカル座標系原点を起点とする単位ベクトルを求め、ローカル座標系XY平面への正射影により評価を行った。一方、軸を中心とした回転運動についてはマーカーが構成する正四面体底面(図1参照)の3角形の重心を原点として四面体底面の頂点方向への単位ベクトルを算出して解析を行った。

【成績】ファイル長軸を中心とした回転運動の解析結果例を図2に示す。微視的な観察ではWatch-winding motionを主体とした操作区間を反映した時計回り、反時計回りの反復運動が観察された。一方、より巨視的な観察では穿通操作時には主として時計回りの回転、ファイル取出しに際して一部、半時計回りの回転が認められた。またファイル軸方向の角変位の標準偏差はトルク、荷重が検出された区間で 3.0° であった。

【結論】ファイル運動の記述、解析に対し、本研究で構築した運動記述モデルは実際にファイルの代表点位置、傾き、長軸周りの回転を個別に検討が可能であり、有用と考えられた。またファイルの回転については観察のスケールにより異なる運動様式が認められる可能性が明らかとなったことから、評価方法についてさらに検討が必要と考えられた。※本研究は所属機関の倫理委員会による承認を得ている。



エンジン用根管拡大形成器具により拡大形成されたヒト抜去上顎側切歯根管壁面の観察

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座
○永島万理子、勝海一郎

Observation of Root Canal Wall on Maxillary Lateral Incisors
after Preparing Engine-driven Rotary Instruments
Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○NAGASHIMA Mariko, KATSUUMI Ichiroh

【はじめに】

ニッケルチタン製の WaveOne (Dentsply Maillefer, Switzerland) と RECIPROC (VDW, Germany) は、1本のファイルが時計回り・反時計回りの往復回転運動を繰り返すことで、迅速かつ正確な根管形成が可能であり、高い切削効率が得られるとされている。本研究は、WaveOne、RECIPROC、ステンレススチール製の K ファイル (マニー)、エンジン用 RT ファイル (マニー) で拡大形成されたヒト抜去上顎側切歯の根管壁面を観察した。

【材料および方法】

実験には、ヒト抜去上顎側切歯 4 本を用いた。実験に先立ち、#10 の K ファイルで根尖まで穿通し誘導路 (glide path) を形成した後、ランダムに以下の 4 つの群に分けて拡大形成を行った。作業長は解剖学的根尖から 1mm を減じた部位までとし、洗浄には 10% 次亜塩素酸ナトリウムと蒸留水各 2.5ml を用いた。すべての拡大形成は次亜塩素酸ナトリウム湿潤下で行った。また、専用モーターとしては WaveOne と RECIPROC は X-スマート (Dentsply Maillefer) を、エンジン用 RT ファイルはトライオート ZX (モリタ) を使用した。

A 群: WaveOne small で 2~3mm 振幅の弱圧によるペッキングモーションで拡大形成した後、根管内を洗浄しファイルに付着した切削片を除去した。

B 群: RECIPROC R25 で 2~3mm 振幅の弱圧による 3 回のペッキングモーションで拡大形成した後、ファイルと根管内の洗浄を行った。

C 群: K ファイル #10~#25 で拡大形成し、号数を上げるごとに根管内の清掃を行った。

D 群: エンジン用 RT ファイルで使用順序に従い拡大形成した。また、ファイル交換時にファイルと根管内の洗浄を行った。

各ファイルで拡大形成後、近心隅角と遠心隅角を結んだ切縁の midpoint と根尖孔を結んだ線を Dedeco® ELITE FIBRE-CUT DISCS (Dedeco International, U.S.A.) を使用して注水下で切断し、根管壁面を根尖側・中央・歯冠側の 3 カ所に分けてデジタルマイクロスコープ VHX-100 (KEYENCE) を用いて 175 倍の拡大下で観察した。

【結果とまとめ】

根管壁面は、A 群では全体的に滑らかに拡大形成されており、B 群ではいずれの部位においても拡大形成されていない部分が存在していた。C 群では歯冠側で拡大形成されていない部分が認められたが、その他の部位は滑らかに拡大形成されていた。D 群では中央で拡大形成されていない部分が一部認められたが、その他の部位は滑らかに拡大形成されていた。以上の結果から、使用するファイルの種類により根管壁面の表面形状は異なっていた。今後、さらに詳細な解析を進めていく予定である。

レジシン系根管充填用シーラー応用後の根尖歯周組織治癒に関する組織学的観察

- 1) 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学
 - 2) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座
- 飯野華絵¹⁾、新井恭子^{1,2)}、北島佳代子^{1,2)}、五十嵐 勝^{1,2)}

Histological observation of the apical periodontal healing after application of resin based root canal sealer

- 1) Advanced Operative Dentistry・Endodontics, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
- 2) Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
○IINO Hanae¹⁾, ARAI Kyoko^{1,2)}, KITAJIMA Kayoko^{1,2)} and IGARASHI Masaru^{1,2)}

【諸言】

根管充填は抜髄や感染根管治療の最後に行われ、根尖部根管の緊密な封鎖は根尖歯周組織の治癒促進に重要な役割を担っている。旧来のユージノール系根管充填用シーラーは残留ユージノールの影響による慢性炎症の残存があるため、近年では、組織刺激性が少なく根管壁接着性を有するレジシン系セメントや硬組織形成能が高い根管充填用糊材が報告されている。今回われわれはレジシン系根管充填用シーラーをラット上顎第一臼歯(M1)近心根の逆根管充填窩洞に応用し、根尖歯周組織の治癒経過を組織学的に観察したので報告する。

【材料および方法】

被験材料はメタシール soft (サンメディカル株式会社) とし、MTA Plus™(PREVEST DenPro®, India, Prevent Denpro Limited 製) をコントロールとして用いた。実験動物に6週齢のWister系雄性ラット(n=13)を使用し、全身麻酔下で手術台上に固定後、M1口蓋歯肉に2%キシロカイン(1/8アドレナリン含有)0.1mLで浸潤麻酔を行った。エキスカバーターで脱臼後、鉗子で抜去した。近心舌側根の根尖約0.5mmをダイヤモンドポイントで切断し、0.5mmの深さの逆根管充填用窩洞を形成した。窩洞内を乾燥後、被験材料で逆根管充填を施した後、抜歯窩に再植を行いそのまま静置した。実験期間は術後2週、4週とし、倫理規定術式に則り動物を安楽死後、実験歯を根尖歯周組織を含めて摘出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液中に固定した。その後、試料を10%EDTAで脱灰後、通法に従いパラフィン包埋を行い、厚さ6µmの連続パラフィン切片を作製し、HE染色を施して光顕にて観察した。なお本研究は日本歯科大学新潟生命歯学部倫理委員会の承認(承認番号NDUN-137)を得て実施された。

【結果および考察】

実験歯は全て抜歯窩に生着し、脱落したものはなく、歯肉の炎症や膿瘍形成例はなかった。コントロールのMTA群の術後2週では新生肉芽組織の形成がみられ、残存セメントと組織の界面には線維性癒痕治癒がみられ、線維組織での被包が開始していた。術後4週ではセメントに接する組織は線維性組織で硬組織添加はみられなかった。セメントの脱落した部位には肉芽組織の侵入がみられたが、残存するセメントとの界面に強い炎症所見はみられなかった。メタシール soft 群の術後2週では充填剤と根尖歯周組織の界面の一部分に炎症性細胞浸潤が認められた。術後4週では炎症性細胞浸潤は軽微で術後2週より根尖歯周組織の線維化が進行しており、MTA群の4週よりも強い線維化がみられた。

【結論】

レジシン系根管充填用シーラーはMTA同様に4週では骨性癒痕治癒にはいたらないものの、線維性治癒が認められた。

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がレジン材料に及ぼす影響

¹日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座 ²日本歯科大学

○前田宗宏¹、橋本修一²、石塚克巳¹、勝海一郎¹

Effect of new root canal sealer containing oleic acid, eugenol and zinc oxide on resin materials

¹Department of Endodontics, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University

²The Nippon Dental University

○Maeda M¹, Hashimoto S², Ishitsuka K¹ and Katsuumi I¹

【はじめに】

近年、根管充填後の支台築造に際し接着性レジンシステムを応用する機会が増加している。酸化亜鉛ユージノール系根管充填用シーラーから遊離したユージノールが接着性レジンの重合阻害に関与するとの指摘もある。本研究は、ユージノール濃度を低減した新規根管充填用シーラーがレジン系材料の表面硬度に及ぼす影響について検討をした。

【材料および方法】

1. 根管充填用シーラー

- 1) 新規根管充填用シーラー (チャンネルフィルシーラーNDU ; 以下 NDU シーラーと略、ビーブランドメディコデンタル) の組成

粉剤 (1 g 中) : 酸化亜鉛 (堺化学工業) 0.225 g, ロジン (荒川化学工業) 0.375 g, その他 0.4 g

液剤 (1ml 中) : オレイン酸 (日油) 0.4 ml, ユージノール (日本粉末薬品) 0.15 ml, その他 0.45 ml

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

- 2) 酸化亜鉛ユージノール系シーラー (チャンネルS ; 以下 CAN シーラーと略、昭和薬品化工、粉液比 3.33)

2. レジン系材料

- 1) 支台築造用デュアルキュアレジン (ユニフィルコア EM、ジーシー)

専用のディスペンサーを用いて適量を練和した材料を金型に填入した。

- 2) 接着性レジンセメント (レジセム、松風)

シリンジから適量を射出練和した材料を金型に填入した。

3. シーラー接触面のレジン表面硬度測定

レジンの硬度測定は、鈴木ら¹⁾の方法に準じて行った。練和したシーラーは、ガラス板上に載せた内径 20 mm、厚さ 2 mm の金属型に填入、上部をパラフィルムで覆い、ガラス板で圧接しながら 37°C、100% 湿度下に保管した。24 時間後にシーラーの硬化を確認し、シーラー硬化体とした。シーラー硬化体の表面に内径 10 mm、厚さ 2 mm の金属型を置き、シーラー硬化体表面にレジン系材料を気泡の入らないように填入し、20 秒間の照射 (Curing Light XL3000 ; 3M) を行った。シーラーを接触させないコントロールは、内径 10 mm、厚さ 2 mm の金属型に 2 種のレジンを填塞して同様の照射条件で硬化させた。全ての試験片は、37°C、100% 湿度下で 24 時間経過後に、シーラーとの接触界面のレジン表面硬度をブリネル硬度計 (MVK-H100 ; アカシ) で測定した。なお、測定は各条件につき 6 試料ずつ行った。

【結果および考察】

1. CAN シーラーと接触させたユニフィルコア及びレジセムの表面硬さはシーラー未処理のレジンに比べて有意に減少した。

2. NDU シーラーと接触させたユニフィルコア及びレジセムの表面硬さはシーラー未処理のレジンとの間に有意差はなかった。

根管充填後は支台築造を行うことで歯質の補強に努めることが重要であるが、既存のシーラーとレジン材料との組合せによっては、築造材料の表面硬さが低下することが明らかとなった。これに対して、チャンネルフィルシーラーNDU はシーラー硬化後のユージノールの遊離量が既存の酸化亜鉛ユージノール系シーラーに比べて少ないことから、レジン系築造材料の硬さを損ねないことが示された。

【文献】

- 1) 鈴木二郎ほか. 酸化亜鉛ユージノール系シーラーがレジンの重合性に及ぼす影響. 日歯保存誌 2011; 54: 297-305.

根尖孔を介した試作 S-PRG フィラー含有ルートキャナルシーラーの骨内組織反応

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科齶蝕学分野

○柳口嘉治郎, 山本耕平, 松裏貴史, 池田 毅, 辻本真規, 山田志津香, 林 善彦

Intrabony tissue reaction of a prototype S-PRG filler containing root canal sealer through apical foramen

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Yanagiguchi Kajiro, Yamamoto Kohei, Matsuura Takashi, Ikeda Takeshi, Tsujimoto Masaki,
Yamada Shizuka, Hayashi Yoshihiko

【緒言】

根管充填を行う場合、根管壁への緊密性を保つために固形のガッタパーチャポイントと根管充填用シーラーを併用する方法が広く用いられている。現在、根管充填用シーラーとして歯質接着性のない酸化亜鉛ユージノールセメントが多用されているが、ユージノールの組織刺激性も問題視されているため、非ユージノール系の製品の開発が進んでいる。根管充填用シーラーに求められる性質としては組織親和性を有し、根尖歯周組織の生物学的治癒を促進させること、材質が安定であること、容易に除去ができることなどが挙げられる。近年、歯質接着性を有するレジン系材料に急速な進歩がみられている。我々は第 134 回日本歯科保存学会にて、ラット臼歯の根尖部を用いた根管模型モデル内に根管充填用シーラーを充填後、ラットの顎骨内窩洞へ移植した研究で、スーパーボンド根充シーラーを用いた場合、速やかに炎症反応の減弱化が起こり早期に線維芽細胞の増殖が進行するが、AH プラスでは同様の観察期間内では軽度ではあるが炎症反応が持続することを報告した。さらに第 140 回日本歯科保存学会では機械的な除去を可能とした接着性シーラーであるメタシール Soft は組織親和性に関して優れた材料であることを報告した。本研究では新たに開発された試作イオン徐放性 S-PRG フィラー含有ルートキャナルシーラー（以下 S-PRG シーラー、松風）を同様の実験系を使って根尖周囲の組織反応を経時的に観察し、組織親和性に関して病理組織学的に検討を行った

【材料と方法】

1、根管模型の作製：ウイスター系雄性ラットの上顎第 2 臼歯根尖部 1mm をダイヤモンドディスクで切り出したのち、5%NaOCl に 8 時間浸漬し、有機質の除去を行った（根尖孔は 0.45mm 程度）。動物実験を行う直前にまず 15 分間 37°C の恒温槽に保管後、5%NaOCl にて洗浄を行いペーパーポイントで乾燥した後、S-PRG シーラーの充填を行い、直ちにラットの顎骨へ移植した。

2、下顎骨への移植：6 週令のウイスター系雄性ラットに、ペントバルビタールナトリウム（ソムノペンチル 25.9mg/kg）の腹腔内麻酔を施した後、術野を 3%イソジンと 70%アルコールで消毒した。下顎骨に達する切開を加え、皮膚骨膜弁を開き下顎骨の一部を露出させた。滅菌済みラウンドバーを用い低速回転で、オトガイ孔後方の咬筋附着部前縁に円形窩洞を形成し、S-PRG シーラーを充填した根管模型を移植した後、ガラスイオノマーセメントで仮封の後、骨膜弁を元の位置に戻し皮膚の縫合を行った。術後 1、3、7 日目、ペントバルビタールナトリウムの腹腔内の深麻酔下で 0.1M カコジル酸緩衝(pH7.4) 2%パラホルムアルデヒドと 2.5%グルタルアルデヒド液で灌流固定を行った。根管模型を含む下顎骨を可及的に小さく切り出し、同固定液に 1 時間、四酸化オスミウムで 1 時間の後固定を行った。通法により、アルコール脱水、エポキシレジン包埋後、厚さ 2 μm の切片を作製した。トルイジンブルー染色後、光学顕微鏡にて根管模型周囲の組織反応を観察した。

なお、本実験は、事前に内容を長崎大学先導生命研究支援センター動物実験施設に申請し、承認を受けたのち実施した。

【結果とまとめ】

術後 1 日目、根管模型の先端部 S-PRG シーラー周囲には好中球を主体とした炎症性細胞の浸潤が確認できた。術後 3 日目、根管模型先端部付近で S-PRG シーラーに接する部分に軽度の炎症性細胞の浸潤が観察されたが、術後 7 日目には炎症性細胞は観察されず根管模型先端部周囲は線維芽細胞によって満たされていた。今回の結果から、初期に軽度の炎症反応が生じるものの早期に線維芽細胞の増殖が進行することが明らかになった。これまでの同様の系での実験データと比較して本シーラーは組織親和性に関して優れた材料であると判定できる。今後さらに、初期反応など詳細に検討を加えたいと考えている。

S-PRG フィラー含有ルートキャナルシーラーを移植したラット脛骨の組織学的観察

明海大学 歯学部 機能保存回復学講座 保存治療学分野

○小谷依子、小林健二、日下洋平、横瀬敏志

Histological observation of rat tibiae implanted endodontic sealer containing S-PRG filler

Division of endodontics and Operative Dentistry, Department of Restorative and Biomaterials Sciences,
Meikai University School of Dentistry

○KOTANI Yoriko, KOBAYASHI Kenji, KUSAKA Yohei, YOKOSE Satoshi

【諸言】近年、フルオロシリケートガラスとポリアクリル酸の間での反応に基づいて合成された S-PRG フィラーが開発され様々な歯科材料に応用されている。この S-PRG フィラーは、フッ化物イオンに加えて、アルミニウム、ボロン、ナトリウム、シリコン、ストロンチウムといった多くのイオンを徐放する多機能性ガラスとして開発され、コンポジットレジンや歯磨剤、歯面コート材などに広く臨床応用されている。今回新たに S-PRG フィラーを含有した根管充填用シーラーが試作された。そこで今回、ラット脛骨に試作シーラーを移植することで周囲組織の反応を組織学的に観察し、検討することを目的に実験を行った。

【材料および方法】実験動物には6週齢の雌 SD 系ラット 8 匹を使用した。実験部位は左右の脛骨とし、脛骨 1 本に対し 1 部位とした。根管充填用シーラーには実験群として S-PRG フィラー含有根管充填用シーラー (松風、以下 SP) を、対照群にはキャナルス-N (昭和薬品、以下 CN) を使用した。実験はラットに対し、イソフルランによる吸入麻酔後、ペントバルビタールの腹腔内投与にて全身麻酔を施した後、脛骨の長軸方向に対してメスにて骨面まで達する切開を加え骨膜までの剥離を行い、脛骨を外科的に露出させた。次いでマイクロモーターにラウンドタイプスチールバー ($\phi 1\text{mm}$)を用い、注水下で皮質骨を穿孔し実験に供した。移植する試料は SP、CN とも練和直後に移植したグループ (練和群) と硬化後約 1 mm の球形に整形後に移植したグループ (硬化群) とに分けた。術後、2、4 週後にラットから脛骨を摘出して試料とし、通法に従いパラフィン包埋して連続切片を作製し、H-E 染色を行い、組織学的に観察した。

【結果および考察】練和群において、SP では、残留しているシーラーの粒子の周囲にわずかに骨形成が誘導されている所見が認められたのに対し、CN ではシーラーそのものが確認できず骨形成はなかった。硬化群では SP ではシーラーの周囲に新たな骨形成が誘導されている所見が認められた。CN では粒子周囲には骨形成はみられず、炎症性細胞の浸潤が認められた。S-PRG フィラーから徐放されるイオンにはシリカにフッ素よりも強い石灰化促進作用があることや、ストロンチウムに骨吸収抑制作用や骨形成作用があることなどの報告がなされており、今回の結果からも S-PRG フィラーから徐放されたイオンが何らかの形で骨形成に関与している可能性があることが推測された。今後 S-PRG フィラーの骨誘導能のメカニズムについての検討していく必要があると思われる。

【結論】S-PRG フィラー含有ルートキャナルシーラーを移植したラット脛骨における組織学的観察の結果、S-PRG フィラーが新たな骨形成誘導をしている像が認められた。以上の結果、S-PRG フィラー含有ルートキャナルシーラーの根管充填材としての有用性が示唆された。

新規バイオガラス配合根管充填シーラーの根管封鎖性の検討

九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野
○吉居慎二, 鷲尾絢子, 諸富孝彦, 北村知昭

Sealability of New Bioactive Glass Sealer for Root Canal Filling

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University
○YOSHII Shinji, WASHIO Ayako, MOROTOMI Takahiko, KITAMURA Chiaki

【目的】根管充填シーラー（以後シーラー）には良好な封鎖性・操作性及び根尖歯周組織への高い生体親和性が求められるが、現時点でこれらの所要性質を満たす理想的なシーラーは存在しない。根管治療後における根尖歯周組織の理想的な創傷治癒を導くためにも生体材料として適した物理化学的特性・生体親和性を有するシーラーの開発が求められる。これらの背景を元に我々は国内企業と共にバイオガラスを配合したシーラー（NSY-222）を開発してきた。今回、NSY-222を含む各種シーラーの封鎖性を分析するとともに、硬化後のシーラー／歯質界面を電界放出型走査電子顕微鏡（FE-SEM）で観察することで、根管内におけるシーラーの挙動とその変化が封鎖性に与える影響を検討した。

【材料と方法】水中保管されたヒト歯 62 本を、低速切断機を用いて歯根長 10 mm となるように歯軸と垂直に歯冠を切断除去したものを被験歯とした。被験歯のうち 2 本は根管形成を行わずに negative control とし、残り 60 本について根管形成・洗浄・乾燥を行った。その後、60 本の被験歯を無作為に 10 本ずつ、ユージノール系シーラー（側方加圧根充）群、非ユージノール系シーラー（側方加圧根充）群、無機系シーラー（側方加圧根充）群、無機系シーラー（シングルポイント根充）群、NSY-222（側方加圧根充）群、及び NSY-222（シングルポイント根充）群に分け根管充填を行った。根管充填終了後、すべての被験歯に対して以下の色素漏えい試験を行った。5 ml シリンジ中に、シリコン印象材と接着剤にて固定した被験歯を挿入後、被験歯の根尖側に擬似体液（SBF）を気泡が混入しないよう流し込み、瞬間接着剤にてシリンジ先端を封鎖、その後根管口側を 50 ppm 銅フタロシアニルテトラスルホン酸四ナトリウム塩水溶液（色素液）で満たし、シーリングテープで封鎖した。この際、SBF と色素液は等量となるよう調整した。1、3 日間、及び 1、2、3、4 週間経過後、根尖側の SBF の吸光度をマイクロプレートリーダーにて測定し（測定波長 630 nm）、漏出した色素液量を算出した。測定用コントロールとしては SBF を用い、容器内の 2 種の水溶液は測定毎に交換した。また、4 週間経過後に被験歯から切片を作成し FE-SEM にて硬化後シーラーと歯質との界面を観察した。FE-SEM 観察用の切片は、水平切断面、垂直切断面、及び根管壁表面等の様々な角度から界面観察ができるように作成した。

【結果および考察】ユージノール系シーラー群・非ユージノール系シーラー群と比較して、無機系根管充填シーラー群及び NSY-222 群では漏洩量が少なかった。またすべての群において根管充填後 1 週間以内で漏洩量が最も多く、その後経時的に減少する傾向が見られた。先の報告（第 137 回日本歯科保存学会秋季大会、JBMR part B. 2015;103(2):373-80）でも示されている通り、NSY-222 は、SBF に触れることで HAp 様結晶が生成する。今回の色素漏えい試験における差異は、この特性によるものと考えられる。また、FE-SEM による観察を行った際に NSY-222 では、歯質に良好に適合している所見が得られた。

【結論】新規バイオガラス配合根管充填用シーラー NSY-222 は、根管充填用シーラーとして期待される。

牛歯を用いた根管充填用シーラーMTA フィラペックスの封鎖性の評価

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯周・歯内療法学教室

○大島理紗、下地伸司、菅谷 勉、川浪雅光

Evaluation of sealing ability of root canal sealer MTA Fillapex using bovine teeth
Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University, Graduate School of Dental Medicine
○Risa Oshima, Shinji Shimoji, Tsutomu Sugaya and Masamitsu Kawanami

【目的】

Matrix trioxide aggregate (MTA) は、優れた硬組織形成能を有しており、逆根管充填や穿孔部の封鎖、直接覆髄などでその有効性が報告されているが、通常の根管充填に用いるには操作性が問題であった。近年、MTA を根管充填用シーラーに応用した製品が販売されており、日本でも MTA フィラペックスが入手可能となった。しかし、その根管封鎖性を評価した研究はほとんどないのが現状である。本研究の目的は、牛抜去歯を用いて MTA フィラペックスの根尖封鎖性について比較検討することである。

【材料と方法】

牛抜去単根歯を用い、根管長 15.0mm になるように歯冠側を切除した。0.02 テーパーステンレスファイルでアピカルサイズを#80 まで拡大し、さらに作業長 14.0mm として#140 まで根管拡大形成を行った。根管拡大形成終了後、次亜塩素酸ナトリウムで根管洗浄、ペーパーポイントで乾燥して、シーラーとガッタパーチャポイントを用いて側方加圧充填法で根管充填を行った。シーラーは①MTA フィラペックス チューブ (アンジェラス)、②キャナルス N (昭和薬品化工)、③AH プラス (デンツプライ デトレイ) の 3 種を用い、いずれもメーカー指示に従って使用した。

根管充填後、湿度 100%、37°C 環境下で 24 時間保存後、根尖孔を除いた歯根表面をネイルバーニッシュで被覆し、次の方法で封鎖性の評価を行った。Fluid filtration method を用いて 150mmH₂O で 2 時間、根尖部から 0.1%メチレンブルーを浸透させた。Fluid filtration method 後、歯根を歯軸方向に切断して根尖孔から歯冠側方向への色素侵入距離をデジタルマイクロスコープ下で計測した。統計学的分析は Kruskal-Wallis test、Mann-Whitney *U* test with Bonferroni correction を行った。

【結果と考察】

MTA フィラペックスは他の 2 種類のシーラーと比較して、根管充填がアンダーになったり、根尖孔から溢出しやすいなどの傾向はなく、またシーラー内に気泡が見られたり、シーラーの厚みが大きくなるなどの傾向もなかったことから、適度な流動性がある操作性にも問題はないと思われた。

Fluid filtration method による評価および根尖孔から根管内への色素侵入距離は、AH プラスが最も小さく、次いで MTA フィラペックス、キャナルス N の順で、MTA フィラペックスとキャナルス N は試料によって封鎖性にばらつきが見られたのに対して、AH プラスは安定した封鎖性を示した。デジタルマイクロスコープ観察では、いずれのシーラーも色素は根管壁とシーラーの間に侵入しており、ガッタパーチャポイントとシーラーの間、シーラー内部への色素侵入はなかった。

MTA フィラペックスは MTA を 40%含むことから根尖孔に硬組織を誘導する可能性があり、その特性を発揮させるためにも、封鎖性にばらつきを示した原因を解明することが重要と思われた。

【結論】

MTA フィラペックスの Fluid filtration method および色素侵入距離の計測による評価では、封鎖性はキャナルス N より高く AH プラスより低かった。

半導体レーザーを用いた根管洗浄時における蒸気泡の挙動

○本郷智之¹, 渡辺聡¹, 八尾香奈子¹, 佐竹和久¹, 海老原新¹, 小林千尋², 興地隆史¹

1. 東京医科歯科大学大学院 歯医学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
2. 東京医科歯科大学歯学部附属病院 歯科総合診療部

Kinetics of Vaporized Cavitation Bubbles during Root Canal Irrigation Activated by Diode Laser

OHONGO Tomoyuki¹, WATANABE Satoshi¹, YAO Kanako¹, EBIHARA Arata¹, KOBAYASHI Chihiro², and OKIJI Takashi¹

1. Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
2. Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital, Tokyo Medical and Dental University

【目的】

根管洗浄には様々な薬剤や方法が用いられてきたが、近年レーザーを用いた根管洗浄(laser-activated irrigation, 以下「LAI」)の有効性が報告されている。またコンピューター制御により LAI を行いやすくする処理を可能とした半導体レーザーが開発された。しかしながら、半導体レーザーを用いた LAI 時の根管洗浄液の挙動を調べた報告はほとんどない。本研究では、各種半導体レーザーを用いた LAI における根管内の蒸気泡の挙動を基礎的に検討することを目的とした。

【材料および方法】

模型底部から 6, 12 mm の位置に 2 つの側枝を有する J タイプ規格根管模型 (Thermafil Training Bloc, デンツプライメルフアー) に蒸留水を満たし、実験を行った。レーザー照射を行わない群をコントロール群とし、模型底部から 9 mm の位置で、810 nm 半導体レーザー (LIGHTSURGE 3000, オサダ) およびファイアチップ (SAT09, 同) で 2 W (40 mJ, 50 pps) にて照射した群 (LS 群), 980 nm 半導体レーザー (Alta MLS, Dental Photonics) および付属チップ (DS1-200, 同) で 2 W (45 mJ, 44 pps) にて照射した群 (AL 群), また同レーザーおよびチップを用いて内蔵コンピューターで thermo-optically powered (TOP) 処理した条件にて 2 W (45 mJ, 44 pps) で照射した群 (AL-TOP 群) の 4 群に分けて、蒸留水中の蒸気泡の発生挙動をハイスピードカメラ (VW-9000, キーエンス, 175 倍率) にて撮影し、その静止画像から蒸気泡の発生数と大きさを計測した。統計学的解析には一元配置分散分析および Tukey-Kramer 検定を用い、有意水準を 5% とした。

【結果】

蒸気泡の発生数は AL 群および AL-TOP 群においてコントロール群および LS 群に比較して有意に多く ($p < 0.05$), AL-TOP 群は AL 群より有意に多くの発生数を認めた ($p < 0.05$)。また AL-TOP 群は AL 群より有意に大きい蒸気泡の発生を認めた ($p < 0.05$)。

【考察】

LAI は根管内にキャビテーション、高速の水流、衝撃波を発生させるといわれており、また生じる蒸気泡はその発生と消失の過程において高速な水流を生じ、根管壁に対する剪断応力を生じるという報告もある。本研究では、レーザーの波長や TOP 処理の有無によって、蒸気泡の発生数やその大きさの違いを認めた。TOP 処理は、レーザーを多波長光 (1400-11000 nm) に変換するとともに熱出力の向上を図ろうとするものであるが、出力レーザーの水への吸収効率は 2940 nm の波長が最も大きいことから、吸収効率向上にも寄与すると思われる。また蒸気泡の発生機序はレーザー波長の水への吸収のみでなく、チップ先端におけるエネルギーの熱エネルギーへの急速な変換にも影響されると考えられている。TOP 処理前のチップが 5-10% の変換効率であるのに対し、TOP 処理後では約 90% の変換効率になるとされているものの、その機序についてはいまだ不明な点が多い。LAI の清掃効率は洗浄液の流速等にも影響されると考えられ、根管洗浄に応用するにはさらなる研究・検討を要する。

【結論】

Alta MLS による TOP 処理を行ったチップを用いた照射においては、TOP 非処理照射および 810 nm 半導体レーザー照射と比較して大きい蒸気泡が有意に多数発生した。しかしながら、蒸気泡の発生数や大きさが清掃効果に及ぼす影響についてはさらに検討する必要がある。

マイクロCTを用いた下顎切歯根管形態の三次元的評価法

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

Three Dimensional Evaluation Methods of Root Canal Morphology for Mandibular Incisor Using Micro-CT

Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○NISHIDA Taro, KATSUIMI Ichiroh

【はじめに】

下顎切歯は単根管であるが、歯根が強度に扁平しており、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である。根管形態の評価を行った研究は様々なものがあるが、単純エックス線撮影や試料の分割による研究は平面的な評価に終始したものが多く、近年、試料を非破壊的に三次元的な観察が可能なマイクロCTがさまざまな分野で用いられている。本研究は、マイクロCTを用いた下顎切歯の連続的な断層撮影を行い、三次元画像を構築後、根管形態を三次元的に評価することを目的に行った。

【材料と方法】

実験には齶蝕のないヒト抜去下顎切歯 50 本 (単根管歯 44 本, 2 根管歯 6 本) を用いた。マイクロCT (ELE-SCAN, 日鉄エレクトックス) を用い、管電圧 80kV, 管電流 70 μ A, スライス厚 52.9 μ m の条件で、根尖から歯冠部まで連続的に断層撮影を行った。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った。抜去歯の使用に際しては、日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認 (NDU-T2011-20) を得た。

三次元画像上で根管を抽出し、解剖学的根尖から 1mm の高さにおける根管断面とセメント・エナメル境 (CEJ) の高さにおける断面で規定した仮想根管 (VC) を作図した。根尖 1mm の部位から CEJ までの根管 (C) と VC の体積を計測した。C と VC の重ね合わせ像を作成し、仮想根管から逸脱した根管 (DC) の体積を計測した。また、根管の逸脱度を DC/C で規定し評価した。また、計測結果は Student の t 検定を用い統計分析を行った。

【結果】

根管の体積の平均は単根管歯 2.92mm³, 2 根管歯 3.97mm³ であった。仮想根管の体積の平均は単根管歯 2.94mm³, 2 根管歯 4.95mm³ であり、統計分析の結果、群間に有意差 (p < 0.01) を認めた。逸脱した根管の体積の平均は単根管歯 1.22mm³, 2 根管歯 1.84mm³ であった。根管の逸脱度の平均は 42.9% で、単根管歯 42.6%, 2 根管歯 45.1% であった。また、根管の逸脱度は最大 92.1%, 最小 10.2% であった。

【まとめ】

本研究により、根管形態を三次元的に評価することが可能となった。根管の逸脱度はさまざまな値を示し、下顎切歯根管形態の複雑性が窺われた。近年、臨床では単純エックス線撮影だけでなく CBCT を用いた診査が行われており、三次元的な根管形態の評価法を用いることにより、さらに正確に患歯の形態を評価をすることが出来る可能性が考えられた。今後、さらに詳細な検討を行う予定である。

非外科にてフェネストレーション由来の症状が消失した 1 症例

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科保存学分野

○川上克子、森元陽子、尾形晴香、達山祥子、徳田雅行、西谷佳浩

A case of disappeared symptom treated by filling with MTA in apical fenestration.

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate school of Medical and
Dental Sciences

○Yoshiko Kawakami, Yoko Morimoto, Haruka Ogata, Syoko Tastuyama, Masayuki Tokuda, Yoshihiro Nishitani

〔緒言〕根尖にフェネストレーションが存在し、根管治療中や根管充填後に症状が改善しない場合、外科的に歯根端切除を行い根尖を骨内に入れる手法が一般的である。根管充填後に症状が消失しない原因として、ガッタパーチャやシーラーなどの影響が考えられている。そこで、生体親和性の高い材料を用いて根尖部の充填を行うことで、症状の改善を試みた症例を報告する。

〔症例〕40歳女性。部位は右側上顎犬歯。齶蝕が原因で抜髄処置を行い、根管充填の2週間経過後から夜間に鈍痛があり、徐々に強くなっていた。ブラッシング痛も出現し、咀嚼時痛も増してきたため当科に来院。打診痛(+)、根尖部圧痛は違和感程度、動揺度0、歯肉溝3mm以下。デンタルエックス線像では根尖まで根管充填が行われていた。

〔既往歴〕特記事項なし

〔治療経過〕初診時に根管上方のみのGPPを除去するも、除去中に強い痛みを訴えた。処置後、頓服薬を3回内服したとのこと。2回目の来院時、自発痛はないものの、根尖部圧痛を強く認めた。処置は、患者の強い希望により浸潤麻酔下にて行い、GPPをほぼ除去するも、EMR後に持続的な放散痛が出現した。追麻を行うと痛みは増悪し、痛みは40分間持続した。3回目には根尖部圧痛は残存していたが、根管治療時に痛みはなかった。初診から一週間後にCBCTを撮影し、根尖が数mm頬側の骨から露出していることを確認した。フェネストレーションに対する治療方針は、まずMTAにてアピカルプラグを形成し、症状が消失しなければ歯根端切除を行うこととした。CBCTにおいて根尖部にGPPが残存していたため、浸潤麻酔下で完全に除去した。その後、温熱痛が生じ、根尖部圧痛も認めていたため、水酸化カルシウム剤にて貼薬を行い、3ヶ月間経過観察をした。症状が消失したことを確認後、MTAにてアピカルプラグを形成し、経過は良好である。

〔考察〕本症例では、初診時の問診および症状、上顎犬歯であるという点からフェネストレーションを疑い、早期にCBCTを撮影して確定診断を行った。フェネストレーションにおいて根管充填後の痛みの原因はGPPおよびシーラーと考えられたため、これらを除去した後に、症状が軽減したことを確認した。一般的にフェネストレーションの処置とは根尖を切除し根尖部を骨内に入れることにより充填剤による粘膜への影響を軽減させる方法が行われている。しかし、近年広く使用されているMTAは生体親和性が高いため、生体に異物として認識されにくいことが期待される。MTAで根尖の充填を行えば、症状が消失しない場合でも歯根端切除を行う際に逆根管充填が不要になるため、まずはMTAにて充填を試みることにした。

〔結論〕非外科でフェネストレーションに由来する症状の改善が、MTAの充填により認められた症例である。

フェネストレーションが原因の難治性根尖性歯周炎に対して歯根端切除術およびMTAセメントによる逆根充を行った1症例

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科保存学分野

○森元陽子、川上克子、尾形晴香、達山祥子、宮下桂子、徳田雅行、西谷佳浩

A case of apicoectomy with reverse root canal filling of the MTA cement for treatment-resistant apical periodontitis caused by apical fenestration

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate school of Medical and Dental Sciences

○Yoko Morimoto, Yoshiko Kawakami, Haruka Ogata, Syoko Tatsuyama, Keiko Miyashita, Masayuki Tokuda, Yoshihiro Nishitani

緒言

日常臨床において根管治療を継続するも根尖部圧痛、咬合痛、打診痛などの症状が消失せず、いわゆる難治性根尖性歯周炎と診断される症例が存在する。なかでも根尖部のフェネストレーションによって惹起される難治性症例は、デンタルエックス線からの診断が困難であり、原因不明の難治性疾患として扱われることが多い。

今回、上顎犬歯に根尖部圧痛と打診痛が持続し、難治性根尖性歯周炎と診断されて、一般開業医から紹介されたフェネストレーションが原因の1症例について報告する。

症例

34歳女性。2008年に交通事故で上顎前歯部歯冠破折した。近医で11, 21は抜歯、13は根管治療を受けた後にブリッジを作製したが、同部の根尖部付近の圧痛は消失せず、時々自発痛も認めていた。2010年6月から近医で再根管治療を受けるも症状が改善しなかったため、2012年11月に当科へ紹介され来院した。

全身的既往歴

1983年 川崎病 (鹿児島大学医学部小児科にて治療・完治)

治療経過

2012年11月から前担当医にて再根管治療を開始した。根尖部圧痛が少し軽減したところで2014年2月に根管充填を行ったが1週間後に自発痛が生じたため、根充材を除去し貼薬を継続した。2014年4月に発表者への担当医変更。根尖部圧痛と打診痛が持続し、根尖部に硬結様の腫瘤を認める難治性根尖性歯周炎であることからフェネストレーションを疑い、確定診断のためにCBCTを撮影した。CBCTによりフェネストレーションを確認したため、2014年7月に歯根端切除術およびMTAセメントによる逆根充を行った。

予後

術後2ヶ月で症状は完全に消失した。補綴処置に移行し、1年後の経過は良好である。

考察

本症例では根管治療後の疼痛発現、根尖部圧痛と硬結様の腫瘤を認めるという所見、およびフェネストレーションが29.1%という高い頻度で上顎犬歯に出現することが多いことから根尖部フェネストレーションを疑った。CBCT撮影による確定診断を行った後に外科的根管治療(歯槽骨から突出した部分を切除し、根尖を生体親和性の高いMTAセメントにて封鎖)を行った結果、術後は速やかに根尖部圧痛が消失し経過も良好である。

結論

難治性根尖性歯周炎として治療期間が長期に及んでいる症例は、早期にフェネストレーションを疑い、CBCTによる確定診断を行った上で治療を行うことが重要である。

難治性根尖性歯周炎に対するマイクロエキスカベータの有効性の評価

¹⁾大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

²⁾岡口歯科クリニック

○松井沙織¹, 野杵由一郎¹, 岡口守雄², 呉本勝隆¹, 米田直道¹, 恵比須繁之¹, 林 美加子¹

Efficacy evaluation of Micro Excavate for refractory apical periodontitis

¹⁾Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology

²⁾Okaguchi dental clinic

○MATSUI Saori¹, NOIRI Yuichiro¹, OKAGUCHI Morio², KUREMOTO Katsutaka¹,

YONEDA Naomichi¹, EBISU Shigeyuki¹, HAYASHI Mikako¹

【目的】

根尖性歯周炎の難治化には根尖孔外バイオフィームの関与が報告されており、既存の器具では根管内からの除去は不可能であると考えられてきた。また、根管内のアンダーカットになった部分の感染歯質は大幅に歯質を削除する必要があり、残存歯質の菲薄化を招く。これらの問題に対して、近年、マイクロスコープ下で用いて目視下で感染歯質を選択的に除去できるマイクロエキスカベータが開発された。そこで本研究の目的は、難治性根尖性歯周炎に罹患した歯において、マイクロエキスカベータ (OK Micro Exca: 背戸製作所) を使用し根尖あるいは根尖孔外に残存している感染源を除去し形態学的に検索すること、また根管内細菌の定量を行い難治性根尖性歯周炎に対するマイクロエキスカベータの臨床的有効性を評価することである。

【方法】

本研究は大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認を受け遂行された。(承認番号; H26-E34)

岡口歯科クリニックに来院した成人の難治性根尖性歯周炎罹患患者、50 症例を対象症例として、マイクロエキスカベータによる根尖付近の感染源の除去を行った。

1. 通常の根管治療の手順を行っても治癒傾向が認められず難治性根尖性歯周炎と診断された患者に対して、歯科用マイクロスコープ下でマイクロエキスカベータを用いて根尖付近の感染源の除去を行った。マイクロエキスカベータの搔爬により得られた根尖部試料を直ちに固定液に浸漬した。研究室において、通法に従って調整し、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて微細形態学的観察を行った。
2. 一方、根管治療開始時と根管充填直前にマイクロエキスカベータによって得られた根尖部試料の一部を、研究室において、InstaGene matrix (Bio-Rad, USA) を使用し遺伝子を抽出した。そして、リアルタイム PCR により根尖部付近の細菌の定量を行った。統計学的有意差の検討は、Student's t test を用いて行った。

【結果および考察】

難治性根尖性歯周炎に罹患した歯に対して、マイクロスコープ下において、マイクロエキスカベータの使用により、根管内から 50 症例中 32 症例で細菌及びバイオフィーム構造が観察された (右図)。これにより根尖付近の感染歯質の除去が可能であることが推察された。根管は多種多様で非常に複雑な構造を呈しており、特に根尖 3 mm 付近は解剖学的形態が複雑で残存細菌が多いと報告されている¹⁾。マイクロエキスカベータを使用することで除去困難であった根尖部付近の感染源を除去できることが示唆された。

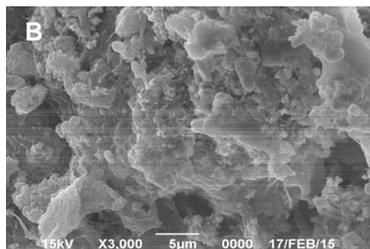
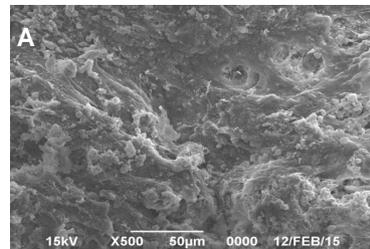
【結論】

マイクロスコープ下においてマイクロエキスカベータを使用することは、難治化に強く関与していると考えられる根尖部の感染歯質を除去することが可能であり、難治性根尖性歯周炎の治療に有用であった。

【参考文献】

- 1) F. J. Vertucci. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 58 : 589-599, 1984.

本研究の一部は、JSPS 科研費 15H05021 の助成を受けたものです。



SEM images of extraradicular biofilm
(A ×500 B ×3,000)

3D プリント技術の外科的歯内療法処置症例での活用

東京歯科大学歯科保存学講座¹⁾, 東京歯科大学口腔顎顔面外科学講座²⁾

○ 加藤広之¹⁾ 神尾 崇²⁾ 関谷紗世¹⁾ 宮吉教仁¹⁾ 村松 敬¹⁾ 古澤成博¹⁾

The potential application of 3D printing technology in the surgical endodontics

Department of Endodontics and Clinical Cariology*, Department of Oral and Maxillofacial Surgery**,
Tokyo Dental College

○ Hiroshi KATO*, Takashi KAMIO**, Sayo SEKIYA*, Norihito MIYAYOSHI*,
Takashi MURAMATSU*, Masahiro FURUSAWA*

【緒言】先の第142回本学会において我々は、歯科用コーンビームCT(CBCT)画像データとパーソナル3Dプリンタを用いて、“過剰歯癒着と臼傍歯癒合を伴う複雑な形態を呈した下顎第二大臼歯”を有する患者の歯・顎骨立体造形モデル(3Dモデル)を作製し、診断ならびに処置方針立案、患者とのインフォームドコンセントなどに有用であることを報告した。今回、外科的歯内療法処置を必要とした2症例の治療マネージメントにおいて歯・顎骨3Dモデルの活用を試みたので報告する。なお本報告は東京歯科大学倫理規定に則り、患者から書面を以て同意および承諾を得ている。

【症例】歯・顎骨3Dモデル作製には、東京歯科大学千葉病院保存科に来院した患者2名のCBCT画像(DICOM)を元データとした。画像データを医用画像アプリケーション;Volume Extractor 3.0 (i-Plants Systems)でCADデータに構築し、熱溶解積層方式のパーソナル用3Dプリンタ;Value3D MagiX MF-2000(ムトーエンジニアリング)を使用しABS樹脂製3Dモデルを造形した。用途に応じて等倍モデルあるいは1.5倍大モデルを複数個作製した。

《症例1》患者は48歳の男性、上顎右側中・側切歯部の母指頭大の歯根嚢胞の治療依頼で来院。CBCTでthrough and throughの広範囲の骨欠損を認め、特に口蓋側皮質骨の欠損は患歯歯根全長近くに及んでいた。画像検査結果に加えて3Dモデルを用い患者に骨欠損状況や根尖部周囲の外科処置の困難性、施術時のリスク等について示説し、処置方針への理解が得られた。3Dモデルで立体的構造を事前に把握でき骨欠損域に近接する切歯管等に留意しつつ嚢胞摘出術ならびに歯根端切除術を行った。

《症例2》患者は37歳の女性、上顎右側第一大臼歯の難治性根尖性歯周炎の治療依頼で来院。画像診断上、近心頬側根根尖周囲と根分岐部の歯槽骨欠損を認めた。3Dモデルを用いて頬側面観、上顎洞側面観から骨欠損状況を観察、患者に骨欠損状況から近心頬側根切除術の適応症であることを示説し、処置方針への理解が得られた。3Dモデルで確認できた上顎洞穿孔リスクに留意し、歯根切除術(root amputation)を実施した。

【考察】CBCTは歯科における診断手法に大きな変革をもたらし、歯内療法分野でも様々な恩恵を享受できるようになった。しかしCBCTはPCモニターでの観察のため三次元的な形態情報を歯内治療の実践に反映するには限界がある。デンタルインプラント領域や口腔外科領域での3Dモデル活用が一般的となった現在においても、歯内治療への3Dプリント技術を応用した報告はごく僅かであり、顎骨形態の観察を含む報告に関しては著者らの報告¹⁾以外に存在しない。今回用いたパーソナル3Dプリンタは、多くの企業が使用する産業用3Dプリンタと比較し極めて経済的なシステム構成で3Dモデル作製が可能である。その造形コストは産業用3Dプリンタの数十分の1程度ながら造形分解能はCBCTの空間分解能とほぼ同程度である。先の本学会報告において、歯内治療上の各用途での3Dモデル利用拡大の可能性について述べたが、今回、CBCTによる精査が必要な難治性根尖性歯周炎の外科的歯内療法処置症例においても3Dモデルの有用性は極めて高いことを明らかにできた。将来的には3Dモデル作製が外科的歯内療法処置術における標準的プロトコルとなることも期待でき、3Dプリント技術の応用価値は高いと考える。

【結論】CBCT画像データによる3Dプリンタで作製した歯・顎骨3Dモデルは、外科的歯内療法処置が必要な患歯の形態や病的骨欠損を含む顎骨形態および周囲解剖学的構造の立体的な把握、診断と処置方針立案、手術器材到達性確認やアプローチ部位の事前確認など治療シミュレーションならびに患者へのインフォームドコンセントに極めて有用な情報ツールとして活用できることが明らかとなった。なお本学会では今回作製した3Dモデルを供覧する予定である。

文献:

1) Kato H & Kamio T (2015): Diagnosis and Endodontic Management of a Fused Mandibular Second Molar and a Paramolar with a Conocrescent Supernumerary Tooth Using Cone-beam CT and 3D Printing Technology: A Case Report. Bull Tokyo Dent Coll, 56(3): (in printing)

新規 EDTA 系補助材および Optimum Torque Reverse エンドモーターによる根管形成
—根管形成時の電流値および応力可視化による評価—

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学講座¹⁾
神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学講座²⁾
○鈴木二郎¹⁾, 藤巻龍治¹⁾, 岡田周策²⁾, 石井信之¹⁾

Root canal preparation by newly EDTA auxiliary gel and Optimum Torque Reverse device

—Evaluation by root canal preparation current value and stress visualization—

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry,
Kanagawa Dental University¹⁾

Department of Cariology and Restorative Dentistry, Graduate School of Dentistry,
Kanagawa Dental University²⁾

OSUZUKI Jiro¹⁾, FUJIMAKI Ryuji¹⁾, OKADA Shusaku²⁾, TANI-ISHII Nobuyuki¹⁾

【研究目的】

Ni-Ti ファイルによる根管形成時に、EDTA 製材を使用するとスミヤー層除去や潤滑材としてファイル最大トルク値を低下させ、マイクロクラック予防効果が期待されている。また、Optimum Torque Reverse (OTR) エンドモーターは、安全かつ効率的な根管形成を追求し、従来のトルクリバースとは異なる回転制御方式によって駆動し、Ni-Ti ファイルを用いた低負荷設定時の根管切削性が改善され、新規 EDTA 系補助材との併用により、ファイル保護効果を有しながら効率的な根管形成が行えることを第 142 回本学会にて報告した。本研究は、新規 EDTA 系補助材および OTR による根管形成時応力を、エンドモーターの電流値変化および根管模型応力可視化により評価することを目的とした。

【材料および方法】

実験には、プラスチック製根管模型（デンツプライ三金）、Ni-Ti ファイル ProTaper NEXT X1・X2（デンツプライ三金）、新規 EDTA 系補助材（日本歯科薬品）、電流測定機能を付与した OTR エンドモーターとしてデンタポート ZX OTR モジュール（モリタ製作所）、対照には精製水 (DW) を使用し、根管模型を #15 K-File（マニー）にて作業長決定後、根管内に新規 EDTA 系補助材または DW を満たし下記実験に供試した。

実験 1. 根管形成時の電流値変化

OTR エンドモーター 300rpm, OTR 作動値 : 0.6Ncm および非 OTR 作動値（トルクリバース作動値） : 0.6Ncm にて、通常に従い ProTaper NEXT X1 および X2 ファイルを用いた根管形成時の、エンドモーター電流値変化をオシロスコープ (Yokogawa DL1740) にて測定した。

実験 2. 根管形成時応力の可視化

実験 1 と同様に根管形成を行い、根管形成を行った際のプラスチック製根管模型応力陰影の撮影を行った。

【成績】

実験 1. 新規 EDTA 系補助材の使用によりオシロスコープ電圧波形低減を認めた。また、OTR 作動においては、電圧波形の低減および波形収束時間の短縮を示した。

実験 2. 根管形成時応力陰影は、いずれの条件に於いても外湾側ではファイル先端部付近、内湾側では全体的な陰影発生状況を視認することが可能となった。

【考察および結論】

電流値測定機能を付与したエンドモーターを用いてプラスチック根管模型に対する根管形成時の電流値変化を測定し、同時に根管形成時応力の可視化による評価を行ったところ、新規 EDTA 系補助材を用いた OTR による根管形成は、根管切削時応力減少に有用と思われた。また、根管外湾側ファイル先端部および内湾側全体での応力集中が判明したため、このことを考慮した上で、湾曲部へのアプローチ方法を今後検討する。