

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会
2015年度秋季学術大会（第143回）
第17回 日韓歯科保存学会学術大会
プログラムおよび講演抄録集

Program and Abstracts,
The 143rd Meeting of the Japanese Society of Conservative Dentistry
The 17th JSCD/KACD Joint-Scientific Meeting
November 12-13, 2015, Tokyo

2015年11月12日（木），13日（金）
東京都 文京シビックホール



■ 会場へのご案内 ■

文京シビックホール

〒112-0003 東京都文京区春日 1-16-21

TEL 03-5803-1100

東京ドームホテル

〒112-8562 東京都文京区後楽 1-3-61

TEL 03-5805-2111

◆会場周辺図



◎東京メトロ丸ノ内線・南北線 後楽園駅……【直結】

◎都営地下鉄三田線・大江戸線 春日駅（文京シビックセンター前）

→→→文京シビックセンター連絡通路【直結】

◎JR 中央・総武線水道橋駅→→→【徒歩約 10 分】

○車でお越しの方（高速道路ご利用の方）

首都高速 5 号線池袋線

都心環状線からお越しの方は西神田ランプ，高島平方面からお越しの方は飯田橋ランプを降りて白山通りをお入りください。白山通りを巣鴨方面へ進み，春日通りとの交差点（春日町交差点）を左折し，1 つ目の信号を左折すると，左側に文京シビックセンターの駐車場入り口があります。

駐車場（高さ制限 2.5 m）は，有料（30 分 250 円）でシビックセンター地下 1 階，地下 2 階に 130 台分あります。ただし，満車になる場合もあります。

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会

2015 年度 秋季学術大会（第 143 回）

第 17 回 日韓歯科保存学会学術大会

プログラムおよび講演抄録集

Program and Abstracts,

The 143rd Meeting of the Japanese Society of Conservative Dentistry

The 17th JSCD/KACD Joint-Scientific Meeting

November 12-13, 2015, Tokyo

会 期：2015 年 11 月 12 日（木） 9：30～17：00
2015 年 11 月 13 日（金） 9：30～17：00

学会会場：文京シビックホール

〒112-0003 東京都文京区春日 1-16-21

TEL：03-5803-1100, FAX：03-5800-2230

日本歯科保存学会 HP：<http://www.hozon.or.jp>

学術大会 HP：<http://kokuhoken.jp/jscd143>

A 会 場：1F 大ホール

B 会 場：2F 小ホール

ポスター会場：B1F 多目的室，練習室 1・2

企業展示会場：1F・2F 大ホールホワイエ

学術大会に参加される方へ、お知らせとお願い

◆今回の学術大会では、講演会場がA会場（1F 大ホール）、B会場（2F 小ホール）の2会場、ポスター会場はB1F 多目的室、練習室1・2、また企業展示会場は1F・2F 大ホールホワイエとなっております。

◆会場のご案内

11月12日（木）

開会の辞	: A会場（9：30～9：40）
日韓若手セッション	: A会場（9：40～11：10）
研究発表（口演）：B1～8	: B会場（9：40～11：10）
韓国招待講演	: A会場（11：10～12：10）
認定研修会	: A会場（13：00～14：00）
60周年記念講演（区民公開講座）	: A会場（15：00～16：30）
ポスター発表（韓国のみ）	: ポスター会場（14：10～14：50）
企業展示	: 企業展示会場（9：30～17：00）

11月13日（金）

ポスター発表	: ポスター会場（9：30～10：30）
シンポジウム	: A会場（10：30～12：30）
編集連絡委員会	: 26F スカイホール（12：30～13：30）
特別講演	: A会場（13：30～14：30）
研究発表（口演）：A1～13	: A会場（14：30～16：50）
: B9～19	: B会場（14：30～16：30）
企業展示	: 企業展示会場（9：30～16：00）
閉会の辞	: A会場（16：50～17：00）

11月12日、13日の両日

講師控室：大ホール 1F 楽屋3・5
KACD・JSCD 理事控室：26F スカイホール（10：00～17：00）
クローク：大ホール 1F ロビー

◆受付は11月12日、13日ともに9：10から大ホール1Fの学術大会総合受付にて行います。事前登録がお済みの方は、事前に送付した参加証をご持参のうえ、コンgresバック引換コーナー（大ホール2F）までお立ち寄りください。資料等をお渡しいたします。当日登録の方は、受付に用意されている当日参加登録用紙に必要事項をご記入のうえ、当日受付にて登録を行ってください（当日参加登録費：10,000円）。

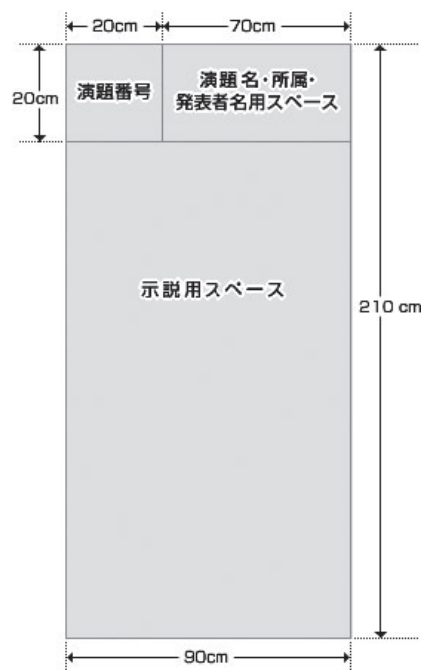
◆今回の学術大会では、60周年記念事業（記念講演会・記念式典・祝賀会）を、例年、認定研修会が行われている第1日目の11月12日（木）の午後に開催します。よって認定研修会は11月12日（木）13：00から開催しますので、ご来場時間のご確認をお願いいたします。

口頭発表者へのお願い

- ◆口演時間は、一般演題は発表8分です。また、質疑応答は2分です。発言は座長の指示に従ってください。口演に使用できるプロジェクターは1台となっております。
 - ◆当日お持ちいただいたデータ（メディア：USB フラッシュメモリ、CD-ROM のいずれか一方をご用意ください）のPC 試写は以下の時間で可能です。2 日目に口演される発表者が、前日に受付することも可能です。
- PC 試写時間：11 月 12 日（木）9：10～12：00、11 月 13 日（金）9：10～13：00
- ※ A 会場，B 会場いずれの発表も，大ホール 1F ホワイエ内の PC 受付にお越しください。

ポスター発表者へのお願い

- ◆ポスター発表は、11 月 12 日（木）、13 日（金）の両日、ポスター会場（B1F 多目的室，練習室 1・2）にて行います。なお、すべてのポスターは2 日間、掲示してください。
- ◆ポスターパネルは、掲示可能なスペースが横 90 cm，縦 210 cm で、そのうち最上段の縦 20 cm は演題名等用のスペースとし、本文の示説用スペースは横 90 cm，縦 190 cm とします。
- ◆最上段左側の横 20 cm，縦 20 cm は演題番号用スペースで、演題番号は担当校が用意します。また、ポスター掲示用の押しピンは、発表者自身で用意してください。
- ◆最上段右側の横 70 cm，縦 20 cm のスペースに、演題名，所属，発表者名を表示してください。なお、演題名の文字は、1 文字 4 cm 平方以上の大きさとし、また、共同発表の場合、発表代表者の前に○印を付けてください。演題名は英文を併記してください。
- ◆ポスター余白の見やすい位置に、発表代表者が容易にわかるように手札判（縦 105 mm，横 80 mm）程度の大きさの顔写真を掲示してください。
- ◆ポスターには図や表を多用し、見やすいように作成し、3 m の距離からでも明確に読めるようにしてください。なお、図や表および説明文は英文で記載してください。内容は研究目的，材料および方法，成績，考察，結論などを簡潔に記載してください（※症例報告の場合は，緒言，症例，経過，予後，考察，結論）。
- ◆ポスターを見やすくするために，バックに色紙を貼ることは発表者の自由です。
- ◆ポスターの準備は，下記の日時で行ってください。
11 月 12 日（木） 9：10～10：00
- ◆ポスター発表および質疑応答の日は以下のとおりです。
韓国（KP1～19）：11 月 12 日（木） 14：10～14：50
その他のポスター：11 月 13 日（金） 9：30～10：30
ポスター発表および質疑応答の時間は，発表者はポスター前に立って自由に討論を行ってください。
- ◆ポスター撤去は以下の時間内に行ってください。
11 月 13 日（金） 17：00～17：30



座長の先生へのお願い

- ◆口演における次座長の先生は、15分前までに、次座長席にご着席ください。

理事，編集連絡委員，一般会員へのお知らせ

- ◆特定非営利活動法人日本歯科保存学会 設立 60 周年記念式典および祝賀会を，下記の日程で行います。
記念式典 11 月 12 日（木）18：00～18：30 東京ドームホテル 天空の間
祝賀会 11 月 12 日（木）18：30～20：00 〃
※記念式典と祝賀会の間に優秀発表賞の表彰式を行います。
- ◆編集連絡委員会は，11 月 13 日（金）12：30～13：30 26F スカイホールにて行います。

企業展示のお知らせ

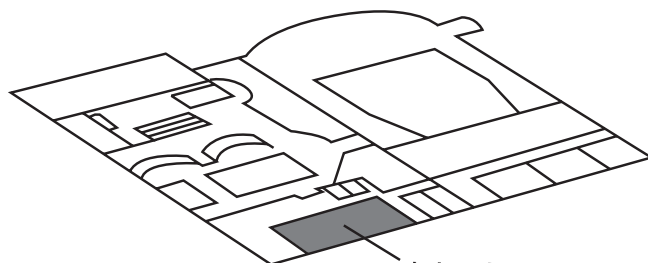
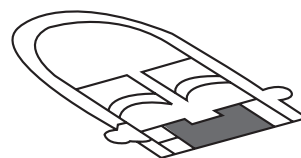
- ◆協賛各社による企業展示を，展示会場（1F・2F 大ホールホワイエ）にて行います。展示時間は以下をご参照ください。
11 月 12 日（木）9：30～17：00
11 月 13 日（金）9：30～16：00

会場案内図

26F

スカイホール

- ・KACD 控室 (12 日)
- ・JSCD 理事控室 (12 日・13 日)
- ・編集連絡委員会 (13 日)



小ホール

B 会場

2F

B 会場 (小ホール)

- ・研究発表 (12 日・13 日, 口演)

1F

総合受付

- ・参加登録受付
- ・新入会, 年会費受付

A 会場 (大ホール)

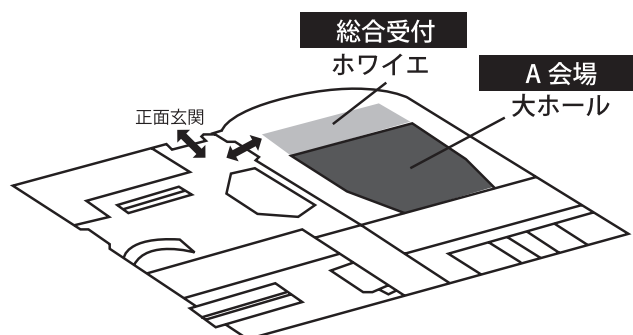
- ・開会式 (12 日)
- ・日韓若手セッション (12 日・口演)
- ・韓国招待講演 (12 日)
- ・認定研修会 (12 日)
- ・60 周年記念講演 (12 日)
- ・シンポジウム (13 日)
- ・特別講演 (13 日)
- ・研究発表 (13 日, 口演)
- ・閉会式 (13 日)

企業展示 (1F・2F ホワイエ)

PC 受付

クローク

講師控室①(楽屋 3), 講師控室②(楽屋 5)



総合受付

ホワイエ

A 会場

大ホール

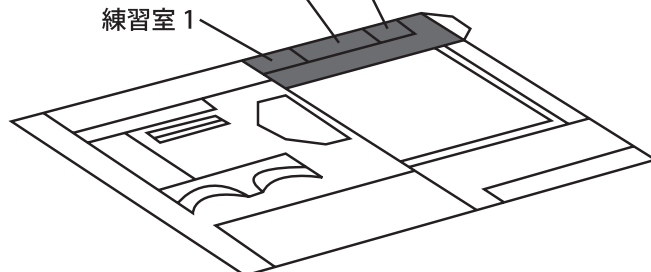
正面玄関

ポスター会場

練習室 2

多目的室

練習室 1



B1F

ポスター会場 (練習室 1, 多目的室, 練習室 2)

学術大会スケジュール 前日 11月11日(水)

時間	アルカディア市ヶ谷 7F			日本大学会館
	鳥海	雲取	吉野	
10:00				
	10:30~11:30 教育問題委員会		10:30~11:30 認定委員会	
11:00				
	11:30~12:30 医療合理化委員会	11:30~12:30 表彰委員会	11:30~12:30 国際交流委員会	
12:00				
	12:30~13:30 学会のあり方委員会	12:30~13:30 学術用語委員会	12:30~13:30 広報委員会	
13:00				
	13:30~14:30 研究活性化委員会		13:30~14:30 倫理/COI 合同委員会	
14:00				
15:00				15:00~17:30 理事会
16:00				17:30~18:00 日本歯科医学会会長との 懇談会
17:00				

アルカディア市ヶ谷

〒102-0073 東京都千代田区九段北 4-2-25 TEL: 03-3261-9921

日本大学会館

〒102-8275 東京都千代田区九段南 4-8-24 TEL: 03-5275-8132

※アルカディア市ヶ谷と日本大学会館は靖国通りを挟んでほぼ向かいの位置にあり、徒歩で3~4分の距離です。

学術大会スケジュール 第1日目 11月12日(木)

時間	総合受付 (大ホールエントランス)	A会場 (大ホール)	B会場 (小ホール)	ポスター会場 (多目的室, 練習室1・2)	企業展示会場 (大ホールホワイエ)
9:10	受付開始				
9:30		開会式		9:10~10:00 ポスター準備	
10:00		9:40~11:10 日韓若手セッション	B1 B2 B3 B4 B5 休憩 B6 B7 B8		
11:00		11:10~12:10 韓国招待講演		10:00~14:10 ポスター掲示	9:30~17:00 企業展示
12:00					
13:00		13:00~14:00 認定研修会			
14:00				14:10~14:50 ポスター発表 (韓国のみ)	
15:00		15:00~16:30 60周年記念講演 (区民公開講座)		14:50~17:00 ポスター掲示	
16:00					

東京ドームホテル 天空の間
 18:00~18:30 記念式典
 18:30~20:00 記念祝賀会

学術大会スケジュール 第2日目 11月13日(金)

時間	総合受付 (大ホールエントランス)	A会場 (大ホール)	B会場 (小ホール)	ポスター会場 (多目的室, 練習室1・2)	企業展示会場 (大ホールホワイエ)	26F スカイホール
9:10	受付開始			9:10~9:30 ポスター掲示		
9:30						
				9:30~10:30 ポスター発表		
10:00						
11:00						
		10:30~12:30 シンポジウム				
12:00						
					9:30~16:00 企業展示	12:30~13:30 編集連絡委員会
13:00						
		13:30~14:30 特別講演		10:30~17:00 ポスター掲示		
14:00						
		A1	B9			
		A2	B10			
		A3	B11			
15:00		A4	B12			
		A5	B13			
		休憩	休憩			
		A6	B14			
		A7	B15			
		A8	B16			
16:00		A9	B17			
	受付終了	A10	B18			
		A11	B19			
		A12				
		A13				
		閉会式				
17:00				17:00~17:30 ポスター撤去		

60周年記念講演

研修コード【2908】

講演名：食育は噛むことから始まる～味覚は心と気持ちを豊かにする～

日時：2015年11月12日（木）15時00分～16時30分

会場：A会場（大ホール）

座長：千田 彰 教授
（日本歯科保存学会前理事長，愛知学院大学歯学部保存修復学講座）

演者：三國清三 先生
（オテル・ドウ・ミクニ オーナーシェフ）

演者略歴

1954年 北海道増毛町生まれ。15歳で料理人を志し、札幌グランドホテル、帝国ホテルにて修業。
1974年 駐スイス日本大使館の料理長に就任。大使館勤務の傍ら、フレディ・ジラルデ氏に師事する。その後も、トロワグロ、オーベルジュ・ドウ・リル、ロアジス、アラン・シャペル等の三つ星レストランで修業を重ね1983年帰国。
1985年 東京・四ツ谷にオテル・ドウ・ミクニをオープン。
1999年 フランスの高級レストランの料理人を中心とする組合（フランス高級料理組合）に日本人で初めて加入。日本フランス料理技術組合を発足。こちらはフランスの組合と日本の組合が相互に協力して行政との交渉や広報活動、料理人の育成や子どもの味覚教育等に取り組む組織。
2000年 九州・沖縄サミット福岡蔵相会合の総料理長を務める。
2007年 厚生労働省より卓越した技能者「現代の名工」として表彰される。
2010年 フランス共和国農事功労章オフィシエを受勲。
2011年 フランスヴェルサイユ宮殿にて、フランス料理がユネスコ世界無形文化遺産へ登録されたことを祝したガラ・ディナー「世紀の晩餐会」が開催され、料理をサポートするグランシェフの日本代表として参加。
2012年 全日本・食学会 副団長に就任。
2013年 6月、総理大臣官邸にて行われた、オランダ・フランス共和国大統領と安倍総理大臣による「日仏ワーキングランチ」の総料理長を務める。
11月、フランスの食文化への功績が認められフランソワ・ラブレール大学にて名誉博士号を授与される。
12月、農林水産大臣および経済産業大臣より、2015年ミラノ国際博覧会日本館サポーターに任命される。
2014年 9月、一般財団法人（2015年1月1日より公益財団法人へ移行）東京オリンピック・パラリンピック競技大会組織委員会顧問会議の顧問に就任。
2015年 公益財団法人ラグビーワールドカップ2019組織委員会顧問に就任。
現在、子どもの食育活動や、復興支援活動「子どもたちに笑顔を！」笑顔プロジェクトを継続している。



韓国招待講演

研修コード【2199】

講演名：Introduction of NDBE (National Dental Board Examination) of Korea

日時：2015年11月12日(木) 11時10分～12時10分

会場：A会場(大ホール)

座長：興地隆史 教授

(日本歯科保存学会理事長, 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)

演者：Dong-Hoon Shin 教授

(President of KACD, Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Dankook University)

演者略歴

- 1978 D. D. S., Seoul National University School of Dentistry (-1984)
- 1984 Postgraduate Program in Conservative Dentistry Seoul National University Dental Hospital (-1987)
- 1985 M. S., Seoul National University School of Dentistry (-1987)
- 1989 Parttime Lecturer of Conservative Dentistry, Dankook University School of Dentistry (-1990)
- 1990 Ph. D, Seoul National University School of Dentistry (-1992)
- 1990 Full-time Lecturer of Conservative Dentistry, Dankook University School of Dentistry (-1992)
- 1992 Assistant Professor of Conservative Dentistry, Dankook University School of Dentistry (-1996)
- 1996 Associate Professor of Conservative Dentistry, Dankook University School of Dentistry (-2002)
- 1997 Visiting Professor, UTHSCSA, San Antonio, Texas, USA (-1998)
- 2002 Professor of Conservative Dentistry, Dankook University School of Dentistry (-present)
- 2003 President of Professor's Association, Dankook University (-2004)
- 2005 Visiting Professor, UTHSCSA, San Antonio, Texas, USA (-2006)
- 2011 Dean, Dankook University School of Dentistry (-2013)
Chairman, Committee on Dental Examination, National Health Personnel Licensing Examination Board (NHPLB) (-present)
- 2013 25th President of Korean Academy of Conservative Dentistry (-2015)



Awards and honors : Award of "New Investigator" of Korean Dental Association 1993

Memberships, offices and committee assignments in professional societies : Member of Korean Dental Association, Member of Korean Academy of Conservative Dentistry, Member of International Association of Dental Research, Member of Academy of Operative Dentistry

特別講演

研修コード【2708】

講演名：痛みへの対応～痛みの診断・治療のスペシャリストになるために～

日 時：2015年11月13日（金）13時30分～14時30分

会 場：A会場（大ホール）

座 長：松島 潔 教授

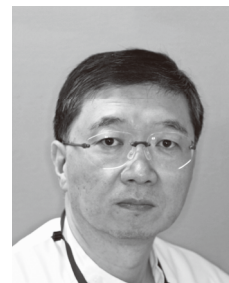
（日本歯科保存学会2015年度秋季学術大会大会長，日本大学松戸歯学部歯内療法学講座）

演 者：牧山康秀 教授

（日本大学松戸歯学部附属病院顎脳機能センター長・脳神経外科科長，日本大学松戸歯学部頭頸部外科学教室）

演者略歴

1982年 日本大学医学部卒業
日本大学医学部脳神経外科学教室
1989年 米国ヴァージニア医科大学脳神経外科
1991年 埼玉県立小児医療センター脳神経外科
2003年 りんご会東十条病院脳神経外科
2004年 日本大学松戸歯学部脳神経外科講師
2006年 日本大学松戸歯学部頭頸部外科教授



学会等活動

日本脳神経外科学会（専門医，評議員），日本頭痛学会（専門医），日本口腔顔面痛学会（暫定指導医）

演 者：小見山 道 准教授

（日本大学松戸歯学部顎口腔機能治療学講座）

演者略歴

1989年 日本大学松戸歯学部卒業
1990年 日本大学松戸歯学部総義歯補綴学講座
1998年 日本大学博士（歯学）
2003年 日本大学松戸歯学部講師
2003年 ベルギー王国ルーベンカトリック大学歯学部客員教授（～2005年）
2011年 日本大学松戸歯学部顎口腔機能治療学講座准教授
日本大学松戸歯学部附属病院口・顔・頭の痛み外来責任者



学会等活動

日本補綴歯科学会（指導医，代議員），日本疼痛学会（理事），日本顎関節学会（指導医，評議員），日本口腔顔面痛学会（常任理事，指導医），日本顎口腔機能学会（評議員），日本歯科心身医学会（評議員）

International Association of Dental Research（President for Neuroscience Group），Asian Academy of Craniomandibular Disorders（Council member），International Association for the Study of Pain

シンポジウム

研修コード【2199】

保存治療のスペシャリティの追求

日 時：2015 年 11 月 13 日（金）10 時 30 分～12 時 30 分

会 場：A 会場（大ホール）

コーディネーター：興地隆史 教授

（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 歯髓生物学分野，日本歯科保存学会理事長）

コーディネーター略歴

1984 年 東京医科歯科大学歯学部卒業
1988 年 東京医科歯科大学大学院歯学研究科修了
東京医科歯科大学歯学部第三歯科保存学教室助手
1994 年 イエテボリ大学客員研究員（～1995 年）
1999 年 東京医科歯科大学歯学部附属病院講師
2001 年 新潟大学歯学部附属病院総合診療部教授
2003 年 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教授
2015 年 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髓生物学分野教授



学会等活動

日本歯科保存学会（理事長，専門医・指導医），日本歯内療法学会（常任理事，専門医・指導医），日本接着歯学会（理事），日本外傷歯学会（理事，認定医），日本顕微鏡歯科学会（理事，認定指導医），日本歯科理工学会（Dental Materials Senior Advisor），日本歯科医学教育学会（評議員），日本口腔科学会（評議員），日本歯科審美学会，歯科基礎医学会，IADR など

講演 1：日本歯科保存学会専門医の立場

演 者：住友雅人 名誉教授

（日本歯科医学会）

演者略歴

1969 年 日本歯科大学卒業
1973 年 日本歯科大学大学院歯学研究科（歯科理工学専攻）修了
日本歯科大学口腔外科学第 1 講座助手
1974 年 日本歯科大学歯科麻酔学教室助手
1980 年 ロンドン大学イーストマン歯科病院（英国），トゥルク大学医学部歯学科（フィンランド）留学（～1981 年 10 月）
1996 年 日本歯科大学歯学部共同利用研究所教授（歯科麻酔学併任）
2001 年 日本歯科大学歯学部附属病院長



2008年 日本歯科大学生命歯学部部長
2013年 日本歯科大学名誉教授

学会等活動

日本歯科医学会会長（2期目）、日本歯科医学教育学会（名誉会員）、日本歯科麻酔学会（名誉会員）、日本歯科医師会（正会員）

講演2：歯科医療の専門医制度の政策

演 者：和田康志 先生
（厚生労働省医政局歯科保健課）

演者略歴

2001年 日本大学松戸歯学部卒業
厚生労働省医政局歯科保健課歯科衛生係
2002年 富山県厚生部健康課医員
2005年 厚生労働省医政局医事課試験免許室主査
2006年 厚生労働省医政局医事課試験免許室試験専門官
2008年 厚生労働省医政局医事課試験免許室歯科保健課歯科医師臨床研修専門官
2011年 厚生労働省医政局医事課試験免許室保険局医療課課長補佐
2014年 厚生労働省医政局医事課試験免許室医政局歯科保健課歯科医療専門官
2015年 厚生労働省医政局医事課試験免許室課長補佐



講演3：保存修復の最前線

演 者：宮崎真至 教授
（日本大学歯学部保存学教室修復学講座，日本歯科保存学会）

演者略歴

1987年 日本大学歯学部卒業
1991年 日本大学大学院修了，歯学博士
日本大学助手
1994年 米国インディアナ州立大学歯学部留学（～1996年）
2003年 日本大学講師
2005年 日本大学歯学部保存学教室修復学講座教授
2014年 日本大学歯学部附属歯科病院病院長



学会等活動

日本歯科保存学会（理事，専門医・指導医），日本大学歯学会（常任理事），日本接着歯学会（常任理事，専門医），日本歯科理工学会（理事），日本歯科審美学会（常任理事），IADR，日本口腔衛生学会，日本歯科医学教育学会，国際歯科学士会，等

第2日目 A会場

講演4：抜髄・抜歯しない歯内療法

演 者：寺内吉継 先生

(医療法人社団インテリデント CT & 米国式根管治療センター, 日本歯内療法学会)

演者略歴

1992年 日本大学歯学部卒業
1994年 東京医科歯科大学歯学部歯科保存学第三講座研修医終了
2007年 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系
摂食機能保存学講座歯髓生物学分野（歯髓生物学分野）博士課程修了
医療法人社団インテリデント CT & 米国式根管治療センター理事長
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯髓生物学分野非常勤講師
Plénido Dental School 専任講師



学会等活動

日本顕微鏡歯科学会（指導医）、歯内療法学会関東甲信越静支部（理事）、日本歯科保存学会（会員）、日本歯内療法学会（会員）、AAE（会員）、AAE 2016 workshop 担当、Pathways of the Pulp 11th edition, Chapter 19: Managing Iatrogenic Endodontic Events 著者

講演5：歯周治療の最前線

演 者：栗原英見 教授

(広島大学大学院医歯薬保健学研究院 応用生命科学部門 歯周病態学研究室, 日本歯周病学会)

演者略歴

1980年 広島大学歯学部歯学科卒業
大阪大学研究生・大阪大学歯学部附属病院医員
1983年 岡山大学歯学部歯科保存学第二講座助手
1984年 岡山大学歯学部附属病院第二保存科講師
1989年 米国エモリー大学, Dental Research Center 研究員（文部省長期在外研究員）
1991年 米国 Eastman Dental Center 研究員
1992年 岡山大学歯学部歯科保存学第二講座助教授
1995年 広島大学歯学部歯科保存学第二講座教授
2002年 広島大学大学院医歯薬学総合研究科先進医療開発科学講座歯周病態学分野教授
2012年 広島大学大学院医歯薬保健学研究院応用生命科学部門歯周病態学研究室教授



学会等活動

日本歯科保存学会（理事, 専門医・指導医）、日本歯周病学会（常任理事, 専門医・指導医）、日本口腔検査学会（副会長）、歯科基礎医学会、日本歯科教育学会、日本免疫学会、日本細菌学会、日本再生医療学会、日本人類遺伝学会、日本組織培養学会、日本老年医学会、日本リウマチ学会、International Association for Dental Research (IADR), Asia-Pacific Society of Periodontology (APSP)

認定研修会

研修コード【2504】

講演名：日本歯科保存学会認定医を目指す（歯周病治療）

日時：2015年11月12日（木）13時00分～14時00分

会場：A会場（大ホール）

座長：佐藤 聡 教授
（日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座）

演者：山本松男 教授
（昭和大学歯学部歯周病学講座）

演者略歴

1992年 東京医科歯科大学歯学部卒業
1996年 東京医科歯科大学大学院修了・博士（歯学）
1997年 米国アーカンソー州立医科大学内分泌部門・骨粗鬆症センター（ポスドク）
2000年 鹿児島大学歯学部助手（歯周病学）
2002年 鹿児島大学生命科学資源開発研究センター助教授
2005年 昭和大学歯学部教授（歯周病学）



学会等活動

日本歯周病学会（理事，専門医・指導医）
日本歯科保存学会（理事，専門医・指導医）
日本医工ものづくりコモンズ

第1日目 A会場

特定非営利活動法人

日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会 (第 143 回)

第 17 回日韓歯科保存学会学術大会 一般発表プログラム

演題の読み方：上段：A は A 会場 (1F 大ホール), B は B 会場 (2F 小ホール), P はポスター会場 (B1F 多目的室, 練習室 1・2) を示し, 次の 1~3 桁は演題番号, 下 4 桁は口演開始時刻, () 内は分野, 下段【 】は日本歯科医師会生涯研修個人カードの研修コードを示します。

(例) 上段 A1-0910. (修復) → A 会場, 演題番号 1 番, 午前 9 時 10 分, 修復分野

下段 【2603】 → 研修項目 VI-3) 修復法と修復材料

第 1 日目 11 月 12 日 (木) A 会場 (1F 大ホール)

9 : 30~9 : 40 開会の辞.....日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会 大会長 松島 潔
理事長挨拶.....日本歯科保存学会 理事長 興地隆史

9 : 40~11 : 10 日韓若手セッション

座長 齋藤隆史 (北医大歯・日本歯科保存学会国際交流委員長)

Juhea Chang (大韓歯科保存学会国際交流委員長)

AE1-0940. (修復) Internal adaptation of resin composites : Influence of polymerization shrinkage and stress
【2603】.....○ Seung Hoon Han¹, Sung Ho Park²

(¹Conservative Dentistry, St. Vincent Hospital, Catholic University of Korea,

²Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University)

AE2-0950. (歯内) Evaluation of Two Types of Endodontic Sealers in Dentin Penetration and Retrievability
【2503】.....○ Hyunsuk Kim, Euisong Kim, Seung-jong Lee, Su-jung Shin
(Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital, Yonsei University)

AE3-1000. (歯内) Cytotoxic Effects of New Calcium Silicate-based Sealers on an Osteoblastic Cell Line
【2503】.....○ Alamuddin Bakhit, Nobuyuki Kawashima, Kentaro Hashimoto,
Sonoko Noda, Keisuke Nara, Takashi Okiji
(Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
(TMDU))

AE4-1010. (歯内) Pulp infection induced osteonecrosis of the jaw in the BPs administration mice
【2503】.....○ Noriko Mutoh, Nobuyuki Tani-Ishii
(Department of Pulp Biology and Endodontics, Kanagawa Dental University)

AE5-1020. (歯内) Clinical performance vs. Ultrastructural biomineralization
【2503】 of Pozzolan-based MTA root canal sealer
.....○ WooCheol Lee
(Department of Conservative Dentistry, Seoul National University, School of Dentistry)

- AE6-1030. (歯内) Pressure Generated Outside the Apex During Root Canal Irrigation
 Activated by Diode Laser and Er : YAG Laser
○ Satoshi Watanabe¹, Kanako Yao¹, Kazuhisa Satake¹, Tomoyuki Hongo¹,
 Arata Ebihara¹, Chihiro Kobayashi², Takashi Okiji¹
 (¹Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical
 and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU),
²Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital,
 Tokyo Medical and Dental University (TMDU))
- AE7-1040. (歯内) Isthmuses in Mesial Root of Myanmar Mandibular First Molar with Vertucci's Type IV
 Canal Configuration : a Micro Computer-based Tomographic Study
○ Maung Maung Kyaw Moe, Jung-Hong Ha, Myoung Uk Jin,
 Young Kyung Kim, Sung Kyo Kim
 (Department of Conservative Dentistry, Kyungpook National University)
- AE8-1050. (その他) Biocompatibility of Novel Type I Collagen Purified from Tilapia Fish Scale :
 An In Vitro Comparative Study
○ Jia Tang, Takashi Saito
 (Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,
 School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido)
- 11 : 10~12 : 10 韓国招待講演
 13 : 00~14 : 00 認定研修会
 14 : 10~14 : 50 韓国ポスター発表 (ポスター会場にて)
 15 : 00~16 : 30 60 周年記念講演

第1日目 B会場

第1日目 11月12日(木) B会場(2F 小ホール)

9:40~11:10 研究発表

座長 真鍋厚史(昭大歯)

- B1-0940. (修復) カキタンニンのポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する酸産生抑制効果
【2501】○富山 潔¹, 長谷川晴彦¹, 椎谷 亨¹, 渡辺清子², 河田 亮³, 東 一善³, 齋藤正寛⁴,
高橋 理³, 浜田信城², Exterkate RAM⁵, 向井義晴¹ (¹神歯大院・う蝕制御修復,
²神歯大院・微生物感染, ³神歯大院・神経組織発生, ⁴東北大院歯・保存,
⁵Department of Preventive Dentistry, Academic Center for Dentistry Amsterdam (ACTA))
- B2-0950. (修復) S-PRG フィラー含有コンポジットレジン中の *Streptococcus mutans* の糖代謝活性に対する
【3102】 抑制効果
...○三木彩希¹, 真柳 弦³, 安彦友希³, 騎馬和歌子², 北川晴朗², 北川蘭奈¹, 林 美加子¹,
高橋信博⁴, 今里 聡² (¹阪大院歯・感染制御(保存), ²阪大院歯・歯科理工学,
³東北大院歯・歯学イノベーションリエゾンセンター, ⁴東北大院歯・口腔生化学)
- B3-1000. (その他) 人工唾液中での小窩裂溝封鎖材のフッ素溶出と脱灰抑制効果について
【2603】○テウエ ジン イ, ロメロ マリア ハシタ ロザリオ, 中嶋省志,
島田康史, 田上順次(医科歯科大・う蝕制御)

座長 横瀬敏志(明海大)

- B4-1010. (歯内) BMP-1 によるヒト歯髄細胞膜糖鎖の変化
【2503】○室町幸一郎, 石井信之(神歯大院・歯内)
- B5-1020. (歯内) 象牙質-歯髄複合体の創傷治癒を促進する象牙質基質分解産物の同定
【2503】○小道俊吾, 高橋雄介, 岡本基岐, 林 美加子(阪大院歯・感染制御(保存))

座長 小方頼昌(日大松戸歯)

- B6-1040. (歯周) SAA は血管内皮細胞における接着分子の発現を上昇させる
【2504】○西田英作, 相野 誠, 岩村侑樹, 佐々木康行,
林 潤一郎, 三谷章雄(愛院大歯・歯周病)
- B7-1050. (歯周) ベルベリンはヒト歯根膜細胞アルカリフォスファターゼを抑制し細胞増殖を誘導する
【2504】○池野修功, 金谷聡介, 根本英二, 須藤瑞樹,
向阪幸彦, 島内英俊(東北大院歯・歯内歯周)
- B8-1100. (歯周) Spry2 抑制による M1 マクロファージへの分化抑制メカニズムの解析
【2504】○後村 亮, 讃井彰一, 福田隆男, 豊田敬介, 山道研介,
秋山 元, 西村英紀(九大院歯・口腔機能(歯周))

11:10~12:10 韓国招待講演(A会場にて)

13:00~14:00 認定研修会(A会場にて)

14:10~14:50 韓国ポスター発表(ポスター会場にて)

15:00~16:30 60周年記念講演(A会場にて)

第 1 日目 11 月 12 日 (木) ポスター会場 (B1F 多目的室, 練習室 1・2)

9 : 10 ~ 10 : 00 ポスター準備
 10 : 00 ~ 14 : 10 ポスター掲示
 14 : 10 ~ 14 : 50 ポスター発表 (KP1 ~ 19)
 14 : 50 ~ 17 : 00 ポスター掲示

韓国ポスター発表

- KP1. (修復) Evaluation of single-visit endodontic and restorative treatment under general
 【2904】 anesthesia for special needs patients
○ Juhea Chang¹, Hae-Young Kim²
 (¹Special Care Clinic, Seoul National University Dental Hospital,
²Department of Health Policy and Management, College of Health Sciences &
 Department of Public Health Sciences, Postgraduate School, Korea University)
- KP2. (修復) Effect of NT-APP Deposition of monomers on Adhesion to Enamel and its durability
 【2604】○ Geum-Jun Han, Jae-Hoon Kim, Byeong-Hoon Cho
 (Department of Conservative Dentistry, Seoul National University School of Dentistry)
- KP3. (修復) Forced eruption of maxillary incisor teeth with lingual approach : a case report
 【2599】○ Bo-ram Kim, Dong-hoon Shin, Chan-eui Hong, Yong-bum Cho
 (Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Dankook University)
- KP4. (修復) Management of traumatized anterior tooth by multidisciplinary approach for
 【2704】 esthetic enhancement
○ Eun-Ji Kim, Jung-Hong Ha, Young Kyung Kim, Sung Kyo Kim, Myoung Uk Jin
 (Department of Conservative Dentistry, Kyungpook National University)
- KP5. (修復) Analysis of temperature rise of bulk-fill composite and flowable composite during
 【2603】 photocuring according to the thickness increment
○ Young-Hoon Kim¹, Eun-Young Noh¹, Young-Tae Cho², Seong-Ha Hwang³, Bin-Na Lee¹,
 Hoon-Sang Chang¹, Yun-Chan Hwang¹, Won-Mann Oh¹, In-Nam Hwang¹
 (¹Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University,
²Department of Manufacturing technology and Design Eng., Jeonju University,
³Department of Environment and Energy Eng., Chonnam National University)
- KP6. (修復) Interdisciplinary treatment of white spot lesion : A case report
 【2501】○ Hee-Won Ku, Hyoung-Hoon Jo, Jeong-Bum Min
 (Department of Conservative Dentistry, Chosun University)
- KP7. (修復) The effect of lithium disilicate thickness on the bond strength between resin cement and ceramic
 【2604】○ Hyun-young Lee¹, Juhea Chang², Ho-Hyun Son¹
 (¹Department of Conservative Dentistry and Dental Research Institute, School of Dentistry,
 Seoul National University, ²Special Care Clinic, Seoul National University Dental Hospital)
- KP8. (修復) Management of crown-root fracture using mini tube appliance (MTA)
 【2605】 and superelastic wire with indirect method
○ Yoo-Jin Lee, Hyoung-Hoon Jo, Jeong-Bum Min
 (Department of Conservative Dentistry, Chosun University)

第1日目 ポスター会場

- KP9. (歯内) Management of immature permanent molar with apical periodontitis
 【2503】○ Ga-Young Choi, Yun-Mi Hong, Sangwon Kwak,
 Hyeon-Cheol Kim, Jeong-Kil Park, Sung-Ae Son
 (Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Pusan National University)
- KP10. (歯内) Efficacy of various irrigation methods for the removal of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste in the root canal
 【2503】○ Ui-Jung Lee, Ho-Keel Hwang
 (Department of Conservative Dentistry, Chosun University)
- KP11. (歯内) Healing of Intra-alveolar Root Fractures Followed by Endodontic Treatment with MTA
 【2503】○ Dohyun Kim, Eui-seong Kim
 (Department of Conservative Dentistry, Yonsei University College of Dentistry)
- KP12. (歯内) Biological Properties of EndoSequence Bioceramic Root Repair Materials
 【2503】○ Jung-Hwan Kim, Go-Woon Lee, Bin-Na Lee, Hoon-Sang Chang,
 Yun-Chan Hwang, In-Nam Hwang, Won-Mann Oh
 (Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University)
- KP13. (歯内) Reconstruction of Fractured Tooth Using a Thermoplastic Template
 【2704】○ Sooyun Kim, Su-Jung Shin, Sunil Kim, Joeng-Won Park
 (Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital,
 College of Dentistry, Yonsei University)
- KP14. (歯内) Clinical management of horizontal mid-root fractures in maxillary anterior teeth
 【2503】○ Su-jin Kim, Su-Jung Park, Sung-Ok Hong, Seok-Ryun Lee
 (Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University)
- KP15. (歯内) Long term Results Comparing MTA and Super EBA for Root-end Sealing
 【2503】 in Endodontic Microsurgery
○ Sunil Kim¹, Eui-seong Kim²
 (¹Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital, College of Dentistry,
 Yonsei University, ²Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry,
 Yonsei University)
- KP16. (歯内) Combined Nonsurgical and Surgical Endodontic Therapy in the Treatment
 【2503】 of Dens Invaginatus Type II
○ Ha Na Lee, Jung-Hong Ha, Myoung Uk Jin, Sung Kyo Kim, Young Kyung Kim
 (Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Kyungpook National University)
- KP17. (歯内) Effect of bonding of post to root canal dentin on stress distribution : FEA
 【2604】○ Jae-Hyun Lee¹, Jae-Yoon Choi¹, Bin-Na Lee¹, Hoon-Sang Chang¹,
 Yun-Chan Hwang¹, Won-Mann Oh¹, Young-Tae Cho², In-Nam Hwang¹
 (¹Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University,
²Department of Manufacturing Technology and Design Eng., Jeonju University)
- KP18. (歯内) Management of complicated crown-root fracture by surgical extrusion with 180° rotation
 【2599】○ Ju-Hyun Lee, Jung-Hong Ha, Myung Uk Jin, Young Kyung Kim, Sung Kyo Kim
 (Department of Conservative Dentistry, Kyungpook National University)
- KP19. (歯内) Management of complicated crown-root fracture of maxillary anterior tooth
 【2704】○ Bo-Kyung Park, Hyoung-Hoon Jo, Ho-Keel Hwang
 (Department of Conservative Dentistry, Chosun University)

第2日目 11月13日(金) A会場(1F 大ホール)

- 9:30~10:30 ポスター発表(ポスター会場にて)
 10:30~12:30 シンポジウム
 12:30~13:30 編集連絡委員会(26F スカイホールにて)
 13:30~14:30 特別講演
 14:30~16:50 研究発表

座長 山本一世(大歯大)

- A1-1430, (修復) フロアブルレジンによる大白歯咬合面1級修復の接着信頼性
 【2603】 一咀嚼想定の動的荷重ストレスによる影響—
○河合貴俊, 柵木寿男, 奈良陽一郎(日歯大・接着)
 A2-1440, (修復) 各種コンディショナーを塗布した歯根象牙質に対する
 【2603】 レジン添加型グラスアイオノマーセメントの接着性能の評価
○サード アムル¹, 井上 剛¹, 池田正臣², 二階堂 徹¹, 田上順次¹
 (1)医科歯科大院・う蝕制御, (2)医科歯科大院・口腔機能再建工学)
 A3-1450, (修復) 先制医療の実現化へ向けた光学的齲蝕診断法の開発
 【3101】○足立哲也¹, 山本俊郎¹, 市岡宏顕¹, Marco Boffelli^{1,2}, Wenliang Zhu³, 金村成智¹,
 Giuseppe Pezzotti² (1)京府医大院医・歯科口腔科学, (2)京都工芸繊維大・セラミック物理,
 (3)阪大医・整形外科)

座長 野田 守(岩医大歯)

- A4-1500, (修復) 試作光リフレクトメータを用いた人工初期齲蝕モデルの観察
 【3101】○村山良介¹, 高橋史典¹, 古市哲也¹, 鈴木崇之¹, 島村 稔¹, 崔 慶一¹, 黒川弘康^{1,2},
 宮崎真至^{1,2}, 三畑幸則³, 近藤 貢⁴ (1)日歯大・保存修復,
 (2)日歯大総合歯学研究所・生体工学, (3)モリタ東京製作所, (4)近藤歯科医院)
 A5-1510, (修復) 根面う蝕の硬さ-深さ曲線における軟化の特徴
 【2501】○清水明彦(兵庫医大・歯科口腔外科)

座長 新海航一(日歯大新潟)

- A6-1530, (修復) マイクロCTを用いたコンポジットレジンおよび
 【2603】 グラスアイオノマーセメント修復物周囲の根面脱灰抑制効果の解析
○カイン ウィンザン, 住谷雄大, 中村圭喜, 半場秀典,
 二階堂 徹, 田上順次(医科歯科大院・う蝕制御)
 A7-1540, (修復) コンポジットレジンの弾性率がレジン支台築造歯の内部応力分布に及ぼす影響
 【2603】○千葉彩香¹, 畑山貴志¹, 貝ノ瀬公典¹, 中島正俊¹, 若林則幸², 田上順次¹
 (1)医科歯科大院・う蝕制御, (2)医科歯科大院・部分床義歯補綴)
 A8-1550, (修復) くさび状欠損を想定したクラックと脱灰の進行モデルに関する検討
 【2501】○中村圭喜, 半場秀典, 住谷雄大, カイン ウィンザン,
 二階堂 徹, 田上順次(医科歯科大院・う蝕制御)

第2日目 A会場

座長 平山聡司（日大松戸歯）

- A9-1600.（修復） 新規近赤外光口腔内カメラによるフィッシャーシーラント面の観察
【2304】○高森一乗（日大歯・小児歯科）
- A10-1610.（修復） 成人を対象とした Tooth Wear に関する調査
【2599】 （第三報）多変量解析による酸蝕症関連因子の年齢階級別検討
.....○北迫勇一¹，佐々木好幸²，高垣智博¹，田上順次¹
（¹医科歯科大院・う蝕制御，²医科歯科大研究・産学連携推進機構）
- A11-1620.（修復） 口腔内カメラの映像を見ながら行う窩洞形成
【2601】 第2報：直視で行う上顎大白歯一級の窩洞形成との比較
.....○藤江英宏^{1,2}，林 応璣¹，齋藤 渉¹，英 將生¹，藤江 進²，
桃井保子¹（¹鶴大歯・保存修復，²藤江デンタルクリニック）

座長 川浪雅光（北大院歯）

- A12-1630.（その他） ADAMTSL6 β を介したマルファン症候群モデルにおける組織破壊機構の解析
【3199】○折本 愛，二木正晴，石河真幸，半田慶介，齋藤正寛（東北大院歯・保存）
- A13-1640.（その他） Pannexin 3 は細胞内 ATP と Ca²⁺濃度を調整する，骨芽細胞分化の新規制御因子である
【2299】○石河真幸，齋藤正寛（東北大院歯・保存）

16：50～17：00 閉会の辞

第2日目 11月13日(金) B会場(2F 小ホール)

- 9:30~10:30 ポスター発表(ポスター会場にて)
 10:30~12:30 シンポジウム(A会場にて)
 12:30~13:30 編集連絡委員会(26F スカイホールにて)
 13:30~14:30 特別講演(A会場にて)
 14:30~16:30 研究発表

座長 永田俊彦(徳大院)

- B9-1430. (歯周) アメロジェニンが炎症過程におけるマクロファージの形質転換におよぼす影響
 【2504】○山道研介, 福田隆男, 讃井彰一, 豊田敬介, 後村 亮,
 西村英紀(九大院歯・口腔機能(歯周))
 B10-1440. (歯周) 日本人侵襲性歯周炎患者のヒトエクソーム解読と遺伝子多型解析
 【2504】○北垣次郎太, 宮内静香, 山下元三, 山田 聡, 北村正博,
 村上伸也(阪大院歯・免疫制御(治療))
 B11-1450. (歯周) 大規模並列シーケンサーを用いた侵襲性歯周炎のゲノム解析
 【2504】○須藤毅顕^{1,2}, 岡田随象², 小林宏明¹, 御給美沙¹, 田中敏博^{2,3}, 和泉雄一¹
 (1)医科歯科大・歯周病, (2)医科歯科大・疾患多様性遺伝,
 (3)医科歯科大・疾患バイオリソースセンター)

座長 中田和彦(愛院大歯)

- B12-1500. (歯内) マウス骨髄由来新規間葉系幹細胞集団における神経分化能の解析
 【2503】○伊藤祥作, 山内裕香子, 山本由美子, 成瀬陽菜, 伊藤勇紀,
 林 美加子(阪大院歯・感染制御(保存))
 B13-1510. (歯内) TNF- α 誘導性 NF- κ B シグナルは象牙芽細胞様細胞の石灰化能を阻害する
 【2503】○中山皓平¹, 平田-土屋志津¹, 永吉雅人², 諸富孝彦¹, 北村知昭¹
 (1)九歯大・保存, (2)ながよし歯科)

座長 五十嵐 勝(日歯大新潟)

- B14-1530. (歯内) ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞において IL-1 β 誘導 MMP-13 は Wnt16 シグナルを介して
 【2503】 細胞増殖を調節する
○檜山太希¹, 尾関伸明¹, 山口秀幸¹, 長谷奈央子¹, 川合里絵¹, 茂木眞希雄²,
 中田和彦¹(1)愛院大歯・歯内治療, (2)愛院大薬・生体機能化学)
 B15-1540. (歯内) 高周波電流刺激によるラット頭蓋骨欠損部への骨再生
 【2503】○佐藤賢人¹, 菅谷 勉¹, 中谷充宣¹, 工藤 愛¹, 前田良子¹, 猪俣慶久¹,
 川浪雅光¹, 富永敏彦²(1)北大院歯・歯周・歯内, (2)とみなが歯科)
 B16-1550. (歯内) S-PRG フィラー抽出液の支台歯形成面被覆・象牙細管封鎖効果
 【2501】○山本信一^{1,2}, 韓 臨麟¹, 興地隆史³(1)新大院医歯・う蝕,
 (2)山本歯科クリニック, (3)医科歯科大・歯髄生物)

第2日目 B会場

座長 木村裕一（奥羽大歯）

- B17-1600.（歯内） S-PRG フィラーの根管充填用シーラーへの応用と生物学的機能評価
【2503】○眞弓佳代子，宮治裕史，宮田さほり，村上秀輔，西田絵利香，
部 佳奈子，田中佐織，川浪雅光（北大院歯・歯周・歯内）
- B18-1610.（歯内） Er：YAG レーザーを利用した根管洗浄の根管側枝清掃効果
【2503】○八尾香奈子¹，本郷智之¹，佐竹和久¹，渡辺 聡¹，海老原 新¹，小林千尋²，
興地隆史¹（¹医科歯科大院・歯髓生物，²医科歯科大病院・歯科総合診療部）
- B19-1620.（歯内） 次亜塩素酸ナトリウムおよび EDTA で処理した象牙質ディスクにおける
【2503】 歯乳頭細胞の接着と分化
.....○橋本健太郎¹，川島伸之¹，野田園子¹，奈良圭介¹，Alamuddin Bakhit¹，齋藤正寛²，
興地隆史¹（¹医科歯科大院・歯髓生物，²東北大院歯・保存）

16：50～17：00 閉会の辞（A会場にて）

第2日目 11月13日(金) ポスター会場 (B1F 多目的室, 練習室1・2)

9:10~9:30 ポスター掲示

9:30~10:30 ポスター発表 (P1~144)

10:30~17:00 ポスター掲示

17:00~17:30 ポスター撤去

優秀発表賞選考対象演題 P1~3 (修復), P4~6 (歯内), P7~9 (歯周)

- P1. (修復) 実験的 *in situ* デンタルバイオフィルム構成細菌の包括的解析
 【3099】○和氣菜々子¹, 朝日陽子¹, 町 博之², 野杵由一郎¹, 恵比須繁之¹, 林 美加子¹
 (1) 阪大院歯・感染制御 (保存), (2) 阪大歯附属歯科技工士学校)
- P2. (修復) 多種イオン徐放性フィラー含有試作アドヒーズプレジンをを用いた
 【2603】 直接覆髄法に関する免疫組織化学的研究
○川嶋里貴¹, 鈴木雅也², 新海航一² (1) 歯大院新潟・硬組織機能治療,
 (2) 歯大新潟・保存 II)
- P3. (修復) オフィスブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略
 【2501】 一唾液浸潤モデルによる検討一
○飯塚純子¹, 國松雄一¹, 谷口紀江², 高垣裕子³, 向井義晴¹ (1) 神歯大院・う蝕制御修復,
 (2) 神歯大院・放射線応用科学, (3) 神歯大院・硬組織分子細胞生物)
- P4. (歯内) 培養ヒト歯髄に対する prostaglandin EP4 レセプターアゴニストの影響
 【2503】○大倉直人¹, 吉羽永子¹, 吉羽邦彦¹, 小田陽平², 興地隆史³ (1) 新大院医歯・う蝕,
 (2) 新大院医歯・組織再建口腔外科学, (3) 医歯科歯科大院・歯髄生物)
- P5. (歯内) ヒト骨格筋幹細胞を用いた象牙芽細胞分化における象牙芽細胞擬態マトリックスの役割
 【2503】○尾関伸明¹, 山口秀幸¹, 長谷奈央子¹, 檜山太希¹, 川合里絵¹, 茂木真希雄²,
 中田和彦¹ (1) 愛院大歯・歯内治療, (2) 愛院大薬・生体機能化学)
- P6. (歯内) 歯科用電気機器が心臓植込み型電子機器に与える電磁障害について
 【2402】○工藤義之¹, 櫻井秀人¹, 志賀華絵¹, 岡田伸男¹, 野田 守¹, 中居賢司²
 (1) 岩医大歯・う蝕, (2) 岩手県赤十字血液センター)
- P7. (歯周) 歯肉上皮細胞における TLR3 を介した TLR2 発現上昇の機構
 【2504】○森 健太, 柳田 学, 久保田実木子, 長谷川詩織, 山下元三,
 山田 聡, 北村正博, 村上伸也 (阪大院歯・免疫制御 (治療))
- P8. (歯周) 歯根膜幹細胞培養上清は歯周組織の創傷治癒を促進する
 【2504】○永田 瑞¹, 岩崎剣吾², 赤澤恵子¹, 小牧基浩², 横山尚毅³, 遠井政行¹, 和泉雄一¹,
 森田育男⁴ (1) 医歯科歯科大院・歯周病, (2) 医歯科歯科大院・ナノメディスン (DNP),
 (3) 大日本印刷 (株) 研究開発センター・ライフサイエンス第1研究所,
 (4) 医歯科歯科大院・分子細胞機能)
- P9. (歯周) アメロジェニン会合分子 Grp78 がヒト歯根膜幹細胞/前駆細胞株の細胞遊走時に及ぼす
 【2504】 分子機構
○豊田敬介, 福田隆男, 讃井彰一, 山道研介, 後村 亮,
 西村英紀 (九大院歯・口腔機能 (歯周))
- P10. (修復) コラーゲン分解性についてハイドロキシプロリン法と光学顕微鏡による分解深さの測定法の比較
 【2299】○ ISLAM Md. Sofiqul¹, KHUNKAR Sahar J¹, 中嶋省志¹, SADR Alireza^{1,2},
 二階堂 徹¹, 田上順次¹ (1) 医歯科歯科大院・う蝕制御, (2) ワシントン大歯)

第2日目 ポスター会場

- P11. (修復) Er: YAG laser 切削象牙質面に生成される熱変性層の性状分析
【2603】○加藤千景¹, 新海航一² (¹日歯大新潟・総合診療, ²日歯大新潟・保存Ⅱ)
- P12. (修復) ⁴⁴Ca 安定同位体添加再石灰液による象牙質再石灰化層の同位体顕微鏡分析
【2599】○平石典子¹, 大槻昌幸², 田上順次², 森尾郁子¹
(¹医科歯科大国際交流センター, ²医科歯科大院・う蝕制御)
- P13. (修復) 浸透性レジン (ICON[®]) で処理したエナメル質初期う蝕の脱灰抵抗性に対する熱負荷の影響
【2603】○高篠奈美¹, 中嶋省志¹, 島田康史¹, 田上順次¹, 角 保徳²
(¹医科歯科大院・う蝕制御, ²国立長寿医療研究センター病院)
- P14. (修復) 免疫染色を用いた齲蝕検知液の性能評価
【3102】○市川琴奈¹, 小林幹宏¹, 稲垣里奈¹, 新妻由衣子¹, 森崎弘史², 桑田啓貴²,
真鍋厚史¹ (昭大歯・保存・美容歯科, ²昭大歯・口腔微生物)
- P15. (修復) 非洗浄下における化学-機械的齲蝕除去法の問題点に関する検討
【2501】○山田嘉重¹, 木村裕一², 菊井徹哉¹ (¹奥羽大歯・修復, ²奥羽大歯・歯内)
- P16. (修復) フッ化物含有歯科材料によるフッ素のエナメル質への取り込みと結合状態の評価
【2501】○奥山克史^{1,2}, 松田康裕^{2,3}, 山本洋子⁴, 橋本直樹², 林 美加子⁴, 佐野英彦², 玉置幸道¹
(¹朝日大歯・理工, ²北大院歯・修復・歯内, ³北医大歯・う蝕制御,
⁴阪大院歯・感染制御 (保存))
- P17. (修復) ピロリドンカルボン酸による象牙質コラーゲンの分解抑制,
【2501】 および象牙質の脱灰抑制に関する検討 (第2報)
.....○井上志磨子¹, 今崎麻里¹, 石動 更², 小倉 卓², 藤川晴彦¹
(¹ライオン (株) 研究開発本部・オーラルケア研究所,
²ライオン (株) 研究開発本部・機能科学研究所)
- P18. (修復) 新規 S-PRG フィラー配合バーニッシュの象牙質脱灰抑制能
【2501】 ー再石灰化溶液浸漬後の脱灰抑制能ー
.....○片岡あい子^{1,2}, 椎谷 亨¹, 藤野富久江², 富山 潔¹, 飯塚純子¹, 長谷川晴彦¹,
倉持江里香¹, 大橋 桂³, 二瓶智太郎³, 向井義晴¹ (¹神歯大院・う蝕制御修復,
²神歯大短大・歯科衛生学科, ³神歯大院・クリニカル・バイオマテリアル)
- P19. (修復) *In vitro* における感染象牙質モデルの作製法に関する検討
【2599】○永井悠太¹, 新海航一², 葛城啓彰³, 織田洋武³ (¹日歯大院新潟・硬組織機能治療,
²日歯大新潟・保存Ⅱ, ³日歯大新潟・微生物)
- P20. (修復) 非う蝕性歯頸部欠損の光干渉断層計を用いた臨床評価
【2501】○和田郁美¹, 島田康史¹, サダル アリレザ^{1,2}, 中嶋省志¹, 田上順次¹, 角 保徳³
(¹医科歯科大院・う蝕制御, ²ワシントン大歯・修復, ³国立長寿医療研究センター病院)
- P21. (修復) Er, Cr: YSGG レーザーで窩洞形成後コンポジットレジン修復したラット歯における
【2603】 歯髄の免疫組織学的観察
.....○高田真代¹, 鈴木雅也², 羽下-辻村麻衣子³, 新海航一²
(¹日歯大院新潟・硬組織機能治療, ²日歯大新潟・保存Ⅱ, ³日歯大新潟・解剖学Ⅱ)
- P22. (修復) 光重合型レジン強化型ケイ酸カルシウム覆髄材の窩洞洗浄・
【2599】 処理の違いによる封鎖性への影響について
.....○横山章人, 田中久美子, 大原直子, 山路公造, 吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)

- P23. (修復)
【3101】 Er:YAG レーザー照射象牙質におけるレジン添加型グラスアイオノマーセメントの
接着性に及ぼすカルボン酸と金属塩の合剤による歯面処理の影響
.....○鶴田あゆみ, 堀江 卓, 富士谷盛興, 千田 彰 (愛院大歯・保存修復)
- P24. (修復)
【2502】 新規レジン系知覚過敏抑制材の象牙細管封鎖性について
.....○保尾謙三, 岩田有弘, 小正玲子, 三浦 樹, 吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)
- P25. (修復)
【2502】 リン酸カルシウムペースト系知覚過敏抑制材の漂白効果に及ぼす影響
.....○古澤一範, 岩佐一弘, 谷本啓彰, 保尾謙三, 吉川一志, 山本一世 (大歯大・保存)
- P26. (修復)
【2502】 リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材の知覚過敏抑制効果
—超音波透過法による検討—
.....○竹中宏隆¹, 川本 諒^{1,2}, 黒川弘康^{1,2}, 下山侑里子¹, 石井 亮¹, 瀧川智義^{1,2},
平井一孝¹, 宮崎真至^{1,2}, 天野 晋³
(¹日大歯・保存修復, ²日大歯総合歯学研究所・生体工学, ³天野歯科医院)
- P27. (修復)
【2604】 新規1ボトル1ステップボンディングシステムの
象牙質知覚過敏症罹患モデル象牙質に対する接着性
—サーマルサイクルの影響—
.....○岩田有弘, 恩田康平, 廣田陽平, 井村和希, 山本一世 (大歯大・保存)
- P28. (修復)
【2604】 知覚過敏抑制材塗布後のレジン-象牙質接着界面の観察
.....○田中久美子, 大原直子, 横山章人, 西山依理子, 山路公造,
吉山昌宏 (岡大院医歯薬・保存修復)
- P29. (修復)
【2501】 根面う蝕へのナノシール塗布によるダイアグノデント測定値の変動
.....○加藤昭人, 宮治裕史, 田中佐織, 井上加菜, 西尾啓英,
川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
- P30. (修復)
【2604】 10-MDP 含有レジンセメントの象牙質接着界面の解析
.....○吉原久美子¹, 長岡紀幸², 吉田靖弘³ (¹岡大病院・新医療研究開発センター,
²岡大歯・先端領域研究センター, ³北大院歯・生体材料工学)
- P31. (修復)
【2604】 セルフアドヒーズセメント中の MDP 濃度が接着強さに及ぼす影響
.....○大原直子¹, 田中久美子¹, 澁谷和彦², 横山章人¹, 竹内晶子¹, 山路公造¹, 西谷佳浩³,
吉山昌宏¹ (¹岡大院医歯薬・保存修復, ²北歯科医院, ³鹿大院医歯・修復歯内)
- P32. (修復)
【3102】 CAD/CAM ブロックの表面処理の違いがレジンセメントとの接着強さに及ぼす影響
.....○市川真理子¹, 川本千春¹, 西川圭吾², 門脇佳孝¹, 星加修平¹, 池田考績¹, 田中 享¹,
佐野英彦¹ (¹北大院歯・修復・歯内, ²北大病院歯科診療センター・生体技工部)
- P33. (修復)
【3001】 各種歯面コーティング材を応用した象牙質面の EPMA 分析
...○有田祥子¹, 鈴木雅也², 風間-小出未来³, 新海航一² (¹日歯大院新潟・硬組織機能治療,
²日歯大院新潟・保存Ⅱ, ³日歯大院新潟・先端研究センター)
- P34. (修復)
【2604】 セルフエッチングアドヒーズシステム “Peak SE” の歯質接合界面の SEM 観察
.....○森上 誠, 陶山雄司, 宇野 滋, 山田敏元, 杉崎順平 (虎の門病院・歯科)
- P35. (修復)
【2501】 アクセル処理が象牙質とレジンとの接着強さに及ぼす影響
.....○村瀬由起¹, 日下部修介¹, 小竹宏朋¹, 作 誠太郎², 堀田正人¹
(¹朝日大歯・修復, ²さくデンタルクリニック)
- P36. (修復)
【2603】 各種光源の種類および照射条件がコンポジットレジン修復の接着強さに及ぼす影響
.....○宮地秀彦, 竹内 摂, 森川裕仁, 津谷佳代, 山本一世 (大歯大・保存)

第2日目 ポスター会場

- P37. (修復)
【2604】 サーマルサイクリングがユニバーサルアドヒーズの接着強さに及ぼす影響
.....○島村 稔¹, 田村ゆきえ¹, 高見澤俊樹^{1,2}, 吉田ふみ¹, 大内 元¹, 坪田圭司^{1,2},
金澤知恵¹, 宮崎真至^{1,2}, 松村正鴻³ (¹日大歯・保存修復,
²日大歯総合歯学研究所・生体工学, ³松村歯科医院)
- P38. (修復)
【2604】 セラミック補修修復におけるユニバーサルタイプ接着システムの接着強さ
.....○岡田伸男, 志賀華絵, 伊藤誠之, 菅 徹也, 八木亮輔, 野田 守 (岩医大歯・う蝕)
- P39. (修復)
【2603】 Effect of simulated gingiva and pulpal pressure on microleakage of flowable composite restorations
.....○ Gao Bo¹, Wang Renke¹, Huang Dingming¹, IWATA Naohiro², YOSHIKAWA Kazushi²,
YAMAMOTO Kazuyo² (¹Department of Endodontics and Operative Dentistry,
West China School of Stomatology, Sichuan University,
²Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University)
- P40. (修復)
【2603】 「G-プレミオ ボンド」の水分量及び脱灰力の評価
.....○坂本美由紀, 有田明史, 熊谷知弘 ((株) ジーシー)
- P41. (修復)
【2203】 フッ素配合歯磨粉でのブラッシングによる新規コンポジットレジン
「アイゴス」のフッ素リチャージ能の評価
.....○水田悠介¹, 松浦理太郎¹, 坂本 猛¹, 加藤喬大¹, 山本哲也²
(¹山本貴金属地金 (株), ²高知大医・歯科口腔外科)
- P42. (修復)
【2603】 新規コンポジットレジンの機械的諸性質
.....○遠藤 肇¹, 高見澤俊樹^{1,2}, 古宅真由美¹, 寺井里沙¹, 佐藤愛子¹, 土屋賢司³,
升谷滋行^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 福本敬一⁴ (¹日大歯・保存修復,
²日大歯総合歯学研究所・生体工学, ³土屋歯科クリニック, ⁴福本歯科医院)
- P43. (修復)
【2603】 新規コンポジットレジン「アイゴス」の生物学的特性
.....○松浦理太郎¹, 水田悠介¹, 坂本 猛¹, 加藤喬大¹, 山本哲也²
(¹山本貴金属地金 (株), ²高知大医・歯科口腔外科)
- P44. (修復)
【2604】 新規ボンディング材「iGOS-BOND」の接着性評価
.....○坂本 猛, 大川内一成, 安楽照男 (山本貴金属地金 (株))
- P45. (修復)
【2605】 電動歯ブラシがコンポジットレジン修復の表面性状に与える影響の分析
.....○油井知雄, 泉川昌宣, 松田康裕, 伊藤修一, 斎藤隆史 (北医大歯・う蝕制御)
- P46. (修復)
【2603】 新規光重合型支台築造レジンの各種性能
.....○八尾 勉, 土川益司, 今井啓文 (サンメディカル (株) 研究開発部)
- P47. (修復)
【2604】 酸性, アルコール性ドリンクへの浸漬が各種ペーストタイプコンポジットレジン表面の
微細構造に及ぼす影響
.....○韓 臨麟¹, 山本信一^{1,2}, 興地隆史³ (¹新大院医歯・う蝕,
²山本歯科医院, ³医科歯科大院・歯髄生物)
- P48. (修復)
【2603】 紅茶液に浸漬したフロアブルとペーストタイプのコンポジットレジンの変色について(第1報)
.....○堀 彩香, 小川由佳, 白井エミ, 林 応璣, 田崎達也,
大森かをる, 桃井保子 (鶴大歯・保存修復)
- P49. (修復)
【2605】 紅茶への浸漬とブラッシングが二ケイ酸リチウムガラスセラミックスの色調変化に及ぼす影響
.....○佐藤治美¹, 鈴木雅也², 加藤千景², 菊地ひとみ¹, 宮崎晶子¹, 土田智子¹, 筒井紀子¹,
元井志保¹, 煤賀美緒¹, 両角祐子³, 佐野 晃⁴, 新海航一² (¹日歯大新潟短大,
²日歯大新潟・保存Ⅱ, ³日歯大新潟・歯周病, ⁴デンタルプロ (株))

- P50. (修復)
【2603】 修復用グラスアイオノマーにおけるナノフィラー含有レジンコーティング材の有用性
.....○吉満亮介, 福島庄一, 熊谷知弘 ((株) ジーシー)
- P51. (修復)
【3101】 音速測定によるゴム質印象材の初期硬化挙動の観察
...○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} (¹日大歯・保存修復, ²日大歯総合歯学研究所・生体工学, ³齊藤歯科医院)
- P52. (修復)
【2603】 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
.....○神谷直孝, 杉山道紀, 田川剛士, 神谷昌宏, 平山聡司 (日大松戸歯・保存修復)
- P53. (修復)
【2603】 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
.....○林 孝太郎¹, 小川信太郎¹, 前野雅彦^{1,2}, IL Dogon², 奈良陽一郎¹
(¹日歯大・接着, ²ハーバード大歯・修復・生体材料科学)
- P54. (修復)
【3102】 歯科用ジルコニアの表面処理に関する研究
ー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ー
.....○岡田周策, 松島 大, 武村幸彦, 飯塚純子, 杉崎新一郎,
向井義晴 (神歯大院・う蝕制御修復)
- P55. (修復)
【2603】 グ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
.....○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} (¹日大歯・保存修復, ²日大歯総合歯学研究所・生体工学)
- P56. (修復)
【2603】 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
.....○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
(¹岡大院医歯薬・生体材料, ²岡大院医歯薬・総合歯科,
³岡大病院・新医療研究開発センター)
- P57. (修復)
【2604】 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
.....○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} (¹日大歯・保存修復, ²日大歯総合歯学研究所・生体工学,
³佐藤歯科)
- P58. (修復)
【2604】 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
.....○柿沼祐亮, 有田明史, 熊谷知弘 ((株) ジーシー)
- P59. (修復)
【2604】 CAD/CAM 用レジンプロックへのサンドブラスト処理時間が
レジンセメントとの接着強さに及ぼす影響
.....○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 (¹日大歯・保存修復, ²花園歯科医院)
- P60. (修復)
【2599】 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
.....○山田志津香, 池田 毅, 柳口嘉治郎, 林 善彦 (長大院医歯薬・齲蝕)
- P61. (歯内)
【2503】 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
.....○奈良圭介, 川島伸之, 野田園子, 橋本健太郎, Alamuddin Bakhit,
興地隆史 (医科歯科大院・歯髄生物)
- P62. (歯内)
【2599】 歯髄細胞が産生する TNF- α 誘導因子の探索
.....○永安慎太郎, 鈴木茂樹, 小武家誠司, 柴 秀樹 (広大院医歯薬・歯髄生物)

第2日目 ポスター会場

- P63. (歯内) ヒト歯髄培養細胞における LPS の Neuropilin 発現に与える影響
 【2503】 …○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} (¹日大松戸歯・歯内療法, ²日大松戸歯口腔科学研究所, ³神歯大・歯髄生物)
- P64. (歯内) 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
 【2503】 ……………○細川由樹, 湯本浩通, 平尾功治, 中西 正, 武川大輔, 松尾敬志 (徳大院・保存)
- P65. (歯内) MTI-II ペプチドの骨芽細胞における抗炎症効果の検討
 【2503】 ……………○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 (¹九歯大・保存, ²聖マリアンナ医大院・疾患プロテオーム・分子病態治療, ³ながよし 歯科)
- P66. (歯内) 急性歯髄炎により誘導される歯痛錯誤の末梢神経機構
 【2503】 ……………○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} (¹日大歯・歯内療法, ²日大歯総合歯学研究所・機能形態)
- P67. (歯内) 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
 【2503】 ……………○河村 隼¹, 金子友厚², 砂川光宏¹, 興地隆史¹ (¹医科歯科大院・歯髄生物, ²新大院医歯・う蝕)
- P68. (歯内) 歯根肉芽腫における SIRT1 遺伝子の発現
 【2503】 ……………○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} (¹日大歯・歯内療法, ²日大歯総合歯学研究所・高度先端医療)
- P69. (歯内) 歯根肉芽腫中における FOXO3A の発現
 【2503】 ……………○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} (¹日大歯・歯内療法, ²日大歯総合歯学研究所・高度先端医療)
- P70. (歯内) 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
 【2503】 ……………○中西 正, 武川大輔, 平尾功治, 湯本浩通, 細川由樹, 松尾敬志 (徳大院・保存)
- P71. (歯内) エナメルマトリックス蛋白の血管新生への効果
 【2503】 ……………○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 (明海大歯・保存治療)
- P72. (歯内) 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
 【2503】 ……………○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 (長大院医歯・う蝕)
- P73. (歯内) ヒト歯髄細胞における PDTC の Smad リン酸化に対する影響
 【2503】 ……………○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 (日大松戸歯・歯内)
- P74. (歯内) Ectodin と wnt10a はラット培養歯髄細胞の dentinogenesis を誘導する
 【2503】 ……………○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 (明海大歯・保存治療)
- P75. (歯内) 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
 【2503】 ……………○須藤瑞樹¹, 金谷聡介^{1,2}, 島内英俊³, 根本英二¹ (¹東北大院歯・歯内歯周, ²東北大院歯・歯学イノベーションリエゾンセンター, ³東北大学)
- P76. (歯内) 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
 【2503】 ……………○伊藤崇史¹, 金子友厚¹, 末山有希子¹, 興地隆史² (¹新大院医歯・う蝕, ²医科歯科大院・歯髄生物)

- P77. (歯内) 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
【2503】○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 (¹新大院医歯・う蝕, ²医科歯科大院・歯髄生物)
- P78. (歯内) ヒト歯髄細胞の石灰化における Calcium-sensing receptor の関与について
【2503】○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} (¹九大院歯・口腔機能 (歯科保存), ²九大病院・歯内治療科, ³九大病院・口腔総合診療科)
- P79. (歯内) 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
【2503】○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 (大歯大・口腔治療)
- P80. (歯内) 細胞移植を用いない新規歯髄再生療法の開発
【2503】○松裏貴史¹, 松裏恵子², 柳口嘉治郎¹, 林 善彦¹ (¹長大院医歯薬・齲蝕, ²長大院医歯薬・細胞生物)
- P81. (歯内) エナメル質に対する硫化水素の影響
【2599】○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 (¹鶴大歯・歯内療法, ²鶴大歯・保存修復, ³鶴大歯・口腔解剖)
- P82. (歯内) 試作ケイ酸カルシウムの覆髄剤としての特性
【2503】○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 (¹朝日大歯・歯内, ²朝日大歯・理工, ³朝日大歯・口腔生化学)
- P83. (歯内) 象牙細管への次亜塩素酸ナトリウムの浸透性
【2503】○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 (¹新大院医歯・う蝕, ²医科歯科大院・歯髄生物)
- P84. (歯内) 試作 EDTA 溶液による根管洗浄の有用性
【2403】○藤巻龍治¹, 鈴木二郎¹, 岡田周策², 石井信之¹ (¹神歯大院・歯内, ²神歯大院・う蝕制御修復)
- P85. (歯内) 根尖分岐様構造内におけるレーザー洗浄効果の解析
【2503】○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 (¹九大院歯・口腔機能 (歯科保存), ²九大病院・歯内治療科)
- P86. (歯内) 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
【2503】○庭野和明¹, 中島 努², 齊藤一誠², 吉羽邦彦¹ (¹新大院医歯・う蝕, ²新大院医歯・小児歯科)
- P87. (歯内) 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
【2503】○永島万理子, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P88. (歯内) レジ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
【2503】○飯野華絵¹, 新井恭子^{1,2}, 北島佳代子^{1,2}, 五十嵐 勝^{1,2} (¹日歯大院新潟・硬組織機能治療, ²日歯大新潟・保存 I)
- P89. (歯内) オレイン酸, ユージノールおよび酸化亜鉛を主剤とした
【2503】○前田宗宏¹, 橋本修一², 石塚克巳¹, 勝海一郎¹ (¹日歯大・保存, ²日歯大)

第2日目 ポスター会場

- P90. (歯内) 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
【2503】○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 (長大院医歯・齲蝕)
- P91. (歯内) 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
【2503】○小谷依子, 小林健二, 日下洋平, 横瀬敏志 (明海大歯・保存治療)
- P92. (歯内) 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
【2503】○吉居慎二, 鷲尾絢子, 諸富孝彦, 北村知昭 (九歯大・保存)
- P93. (歯内) 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
【2503】○大島理紗, 下地伸司, 菅谷 勉, 川浪雅光 (北大院歯・歯周・歯内)
- P94. (歯内) 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
【2503】○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医科歯科大院・歯髓生物, ²医科歯科大病院・歯科総合診療部)
- P95. (歯内) 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
【2305】○西田太郎, 勝海一郎 (日歯大・保存)
- P96. (歯内) 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
【2503】○川上克子, 森元陽子, 尾形晴香, 達山祥子, 徳田雅行,
西谷佳浩 (鹿大院医歯・修復歯内)
- P97. (歯内) 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
【2503】 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
.....○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 (鹿大院医歯・修復歯内)
- P98. (歯内) 難治性根尖性歯周炎に対するマイクロエキスカバータの有効性の評価
【2503】○松井沙織¹, 野村由一郎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 (¹阪大院歯・感染制御 (保存), ²岡口歯科クリニック)
- P99. (歯内) 3D プリント技術の外科的歯内療法処置症例での活用
【2503】○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 (¹東歯大・保存, ²東歯大・口腔顎顔面外科)
- P100. (歯内) 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
【2503】 ー根管形成時の電流値および応力可視化による評価ー
.....○鈴木二郎¹, 藤巻龍治¹, 岡田周策², 石井信之¹
(¹神歯大院・歯内, ²神歯大院・う蝕制御修復)
- P101. (歯内) 象牙質/幹細胞ハイブリッド骨補填材の機能評価
【2503】○奥野公巳郎¹, 川本晴美², 田中雅士¹, 小栗健策¹, 森 春菜¹, 河野 哲¹,
近藤信夫², 吉田隆一¹ (¹朝日大歯・歯内, ²朝日大歯・口腔生化学)
- P102. (歯内) 同種移植による抜髄後歯髓再生治療法の開発
【2503】○庵原耕一郎¹, 藤田将典^{1,2}, 村上真史¹, 中島美砂子¹
(¹国立長寿医療研究センター・再生歯科医療, ²愛院大歯・歯内治療)
- P103. (歯内) 根分歧部病変を伴う歯内-歯周疾患 I 型病変の一症例
【2598】○松崎英津子, 二階堂美咲, 中山英明, 松本典祥, 畠山純子, 水上正彦, 佐々木由梨,
松本和磨, 池崎綾香, 稲永晃子, 西崎竜司, 赤尾瑛一, 春名千英子, 中牟田博敬,
泉 利雄, 阿南 壽 (福歯大・修復・歯内)

- P104. (歯内) 愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科の初診紹介患者に関する実態調査
 【2503】○久保田真衣, 平野文菜, 江場久哲, 稲本京子, 中田和彦 (愛院大歯・歯内治療)
- P105. (歯内) 福岡歯科大学歯内治療学基礎実習で使用した天然歯に類似した
 【2598】 歯髄腔を有する新型人工歯の評価
○二階堂美咲, 泉 利雄, 佐々木由梨, 松本和磨, 池崎綾香, 稲永晃子, 中山英明,
 西崎竜司, 赤尾瑛一, 水上正彦, 畠山純子, 松本典祥, 春名千英子, 松崎英津子,
 中牟田博敬, 阿南 壽 (福歯大・修復・歯内)
- P106. (歯内) 20 度湾曲根管を付与した根管壁着色透明模型の実習応用評価
 【2598】 一手用 K ファイルと NiTi ロータリーファイルでの拡大形成—
○北島佳代子^{1,2}, 新井恭子^{1,2}, 飯野華絵², 横須賀孝史³, 佐藤友則³, 松田浩一郎³,
 北野芳枝¹, 朝比奈壮郎¹, 反町香子¹, 三好敏朗¹, 五十嵐 勝^{1,2}
 (¹日歯大新潟・保存 I, ²日歯大院新潟・硬組織機能治療, ³日歯大新潟・総合診療)
- P107. (歯内) マイクロ CT を用いた側方加圧根管充填修得の教育効果の評価について
 【2503】○増田宜子¹, 坂井信裕², 荻野玲奈³, 馬場 聖¹, 宮崎 隆³
 (¹昭大歯・保存・歯内, ²昭大歯・保存・理工, ³昭大歯・歯科薬理)
- P108. (歯周) オートファジーを用いたヒトケラチノサイトの LPS 刺激適応能
 【2202】○萩尾佳那子¹, 大野 純², 山口真広³, 谷口奈央⁴, 山田和彦¹, 米田雅裕¹, 廣藤卓雄¹
 (¹福歯大・総合歯科, ²福歯大・病態構造, ³福歯大・高齢者歯科, ⁴福歯大・口腔健康科学)
- P109. (歯周) *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS は歯肉上皮細胞の
 【2504】 アンジオポエチン様タンパク質 2 産生を誘導する
○大野 祐¹, 山本弦太¹, 西田英作¹, 後藤久嗣¹, 神谷洋介¹, 菊池 毅¹, 山田章三¹,
 茂木真希雄², 三谷章雄¹ (¹愛院大歯・歯周病, ²愛院大薬・生体機能化学)
- P110. (歯周) ブラッククミン種子精油の *Fusobacterium nucleatum* に対する抗菌作用
 【2807】○徳田雅行¹, 森元陽子¹, 川上克子¹, 中杉 徹², 村川拓士², 渋谷耕司³, 西谷佳浩¹
 (¹鹿大院医歯・修復歯内, ²稲畑香料 (株) 応用研究部, ³OHS 研究所)
- P111. (歯周) Alkannin はヒト歯根膜由来細胞の CCR5 ligand 産生を抑制する
 【2504】○細川義隆¹, 細川育子¹, 進藤 智^{1,2}, 尾崎和美³, 松尾敬志¹
 (¹徳大院・保存, ²日本学術振興会特別研究員 DC2, ³徳大院・口腔保健支援)
- P112. (歯周) ヒト歯肉線維芽細胞での炎症性サイトカイン発現に対する microRNA の影響
 【2504】○松井沙莉¹, 能田佳祐¹, 小方頼昌^{1,2} (¹日大松戸歯・歯周治療学,
²日大松戸歯口腔科学研究所)
- P113. (歯周) 歯周炎モデルラットにおける 11β-HSD1 発現の比較・検討
 【2504】○中田貴也¹, 澤井宏文², 益崎裕章³, 藤田敦子¹, 大久保 直², 梅田 誠⁴
 (¹大歯大院・歯周病, ²大歯大・内科学, ³琉球大医・第二内科, ⁴大歯大・歯周病)
- P114. (歯周) 糖尿病ラットにおける VEGF 発現は *Porphyromonas gingivalis* LPS による
 【2504】 歯槽骨破壊を促進する
○津守紀昌, 河野智生, 重松伸寛, 森田浩正, 梅田 誠 (大歯大・歯周病)
- P115. (歯周) 日本人慢性歯周炎患者の歯肉溝渗出液中の EB ウイルスと *P. gingivalis* ゲノムの定量解析
 【2504】○加藤彩子¹, 山崎瑞穂¹, 小方頼昌^{1,2} (¹日大松戸歯・歯周治療学,
²日大松戸歯口腔科学研究所)
- P116. (歯周) 酸化チタンの LPS 分解能について
 【2504】○松島友二, 鈴木琢磨, 白川 哲, 長野孝俊, 糸日谷洋大, 五味一博 (鶴大歯・歯周病)

第2日目 ポスター会場

- P117. (歯周) 炎症性サイトカインで刺激したヒト歯根膜細胞由来の GDNF は PC12 の
【2504】 神経細胞分化を促進する
.....○吉田晋一郎¹, 山本直秀¹, 和田尚久³, 友清 淳¹, 長谷川大学¹, 濱野さゆり¹,
祐田明香¹, 御手洗裕美¹, 杉井英樹¹, 前田英史^{1,2} (¹九大院歯・口腔機能 (歯科保存),
²九大病院・歯内治療科, ³九大病院・口腔総合診療科)
- P118. (歯周) 破骨細胞原性に対する IL-15 と RANKL の相乗効果について
【2206】○菊池 毅¹, 岡部猪一郎¹, 相野 誠¹, 神谷洋介¹, 藤村岳樹¹, 後藤久嗣¹, 岡田康佑¹,
黒須康成¹, 茂木真希雄², 三谷章雄¹ (¹愛院大歯・歯周病, ²愛院大薬・生体機能化学)
- P119. (その他) アメロチン遺伝子欠失マウスはエナメル質石灰化不全を呈する
【2201】○中山洋平^{1,2}, 岩井泰伸¹, 小方頼昌^{1,2} (¹日大松戸歯・歯周治療学,
²日大松戸歯口腔科学研究所)
- P120. (歯周) 高グルコースは NF κ B 経路を介してヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を抑制する
【2504】○嘉藤弘仁¹, 田口洋一郎¹, 野口正皓¹, 山内伸浩¹, 富永和也², 田中昭男², 梅田 誠¹
(¹大歯大・歯周病, ²大歯大・口腔病理)
- P121. (歯周) Osterix の下流にある ZBTB16 はヒト歯根膜由来間葉系幹細胞における
【3104】 骨芽細胞分化を制御する
.....○鬼塚 理^{1,2}, 岩田隆紀², 朴 聖俊³, 中井謙太³, 大和雅之², 岡野光夫², 和泉雄一¹
(¹医科歯科大・歯周病, ²東京女子医大・先端生命医科学研究所,
³東大医科学研究所・ヒトゲノム解析センター)
- P122. (歯周) 真菌由来代謝産物 (+)-terrein は RANKL 誘導性破骨細胞分化を抑制する
【2504】○中川沙紀¹, 大森一弘², 山本総司¹, 小林寛也¹, 後藤絢香², 中村亜里紗¹,
山本直史², 高柴正悟¹ (¹岡大院医歯薬・歯周病態, ²岡大病院・歯周科)
- P123. (歯周) 再構成歯胚を用いた接合上皮の起源の探索
【2504】○氷室沙羅, 相澤 怜, 関 辰明, 山本松男 (昭大歯・歯周病)
- P124. (歯周) 青色 LED 光が歯周病原細菌と歯肉線維芽細胞に与える影響
【2504】○石黒一美, 大久保美佐, 倉治竜太郎, 藤田美也子, 沼部幸博 (日歯大・歯周病)
- P125. (歯周) ヒト口腔上皮細胞と歯肉線維芽細胞において低酸素環境が誘導する遺伝子発現の比較
【2504】○木戸淳一, 板東美香, 中島由紀子, 梶浦由加里, 稲垣裕司, 生田貴久,
坂本英次郎, 成石浩司, 永田俊彦 (徳大院・歯周歯内)
- P126. (歯周) 歯周炎と血液・尿中バイオロジカルマーカーとの関連解析
【2504】○中島麻由佳^{1,2}, 多部田康一¹, 宮内小百合¹, 杉田典子¹, 小松康高¹, 本田朋之¹,
高橋直紀¹, 宮澤春菜¹, 有松 圭¹, 皆川高嘉¹, 松田由実^{1,2}, 佐藤圭祐^{1,2},
山崎和久², 吉江弘正¹ (¹新大院医歯・歯周, ²新大院医歯・口腔保健)
- P127. (歯周) 高精細多孔チタン膜による顎骨増生に関する研究
【3103】○石幡浩志¹, 遠藤直樹², 須藤瑞樹¹, 向阪幸彦¹, 小松秀裕¹, 丸山顕太郎¹, 遠藤 学³,
佐々木啓一⁴, 長谷川 博³ (¹東北大院歯・歯内歯周, ²東北大院歯・総合歯科診療部,
³福島県立医大病院・歯科口腔外科, ⁴東北大院歯・口腔システム補綴)
- P128. (歯周) S-PRG フィラー抽出液由来イオンによるマウス歯周炎モデル抑制機構の解析
【2504】○小林洋子, 兼平正史, 半田慶介, 齋藤正寛 (東北大院歯・保存)
- P129. (歯周) 組織再生用ナノ酸化グラフェンスキャフォールドによる骨新生効果
【2504】○西田絵利香¹, 宮治裕史¹, 滝田裕子², 岩永敏彦³, 加藤昭人¹, 川浪雅光¹
(¹北大院歯・歯周・歯内, ²北大院歯・学術支援部, ³北大院医・組織細胞学)

- | | |
|------------|--|
| P130. (歯周) | ダイレクト・コンバージョンによる機能的なヒト骨芽細胞の創出 |
| 【3104】 |○山本健太 ^{1,2} , 山本俊郎 ¹ , 佐藤良樹 ^{1,2} , 大迫文重 ¹ , 雨宮 傑 ¹ , 金村成智 ¹
(¹ 京府立医大院医・歯科口腔科学, ² 京府立医大院医・免疫学) |
| P131. (歯周) | IL-6 レセプター阻害による関節リウマチ患者の歯周炎症の改善 |
| 【2402】 |○小林哲夫 ^{1,2} , 小島杏里 ¹ , 島田惇史 ¹ , 吉江弘正 ¹ (¹ 新大院医歯・歯周, ² 新大歯・総診) |
| P132. (修復) | S-PRG フィラーの生体活性を有する歯科材料への応用のための細胞生物学的評価 |
| 【3102】 |○新谷耕平 ¹ , 川木晴美 ² , 森田侑宜 ¹ , 玄 太裕 ¹ , 近藤信夫 ² , 堀田正人 ¹
(¹ 朝日大歯・修復, ² 朝日大歯・口腔生化学) |
| P133. (歯周) | 歯周病原細菌計測システムの開発に関する研究 |
| 【2207】 |○金田研郎 ¹ , 門 貴司 ¹ , 根津尚史 ² , 伊藤大輔 ¹ , 市岡勇輝 ¹ , 遠藤一彦 ² , 古市保志 ¹
(¹ 北医大歯・歯周歯内, ² 北医大歯・生体材料工学) |
| P134. (歯周) | Er:YAG レーザーによるインプラント周囲病変に対する効果:臨床的, 細菌学的, |
| 【2504】 | 生化学的マーカーに関する研究
.....○小松康高 (新大院医歯・歯周) |
| P135. (歯周) | 双生児法を用いた肥満と歯周炎の関連性の解析 |
| 【2504】 |○三木康史 ¹ , 山下元三 ¹ , 東山弥生 ¹ , 池上久仁子 ¹ , 津島賢一朗 ¹ , 久保田実木子 ¹ ,
鈴木美麻 ¹ , 岩山智明 ¹ , 藤原千春 ¹ , 北垣次郎太 ¹ , 柳田 学 ¹ , 野崎剛徳 ¹ ,
池邊一典 ² , 北村正博 ¹ , 前田芳信 ² , 村上伸也 ¹ ,
大阪大学ツインリサーチグループ ³ (¹ 阪大院歯・免疫制御 (治療),
² 阪大院歯・歯科補綴第二, ³ 大阪大学ツインリサーチグループ) |
| P136. (歯周) | 自己血由来多血小板フィブリン膜とβ-TCP による歯周組織再生効果:症例シリーズ |
| 【2504】 |○奥田一博 ¹ , 中島 悠 ¹ , 小林美登 ¹ , 神谷真菜 ¹ , 堀水 慎 ¹ , 川瀬知之 ² ,
吉江弘正 ¹ (¹ 新大院医歯・歯周, ² 新大院医歯・歯科薬理) |
| P137. (歯周) | ラット実験モデルを用いた歯周炎とインプラント周囲炎の病理組織学的比較 |
| 【2609】 |○高森雄三, 中村弘隆, 藏本明子, 吉村篤利, 鶴飼 孝, 尾崎幸生, 白石千秋,
山下恭徳, 泉 聡史, 小林弘樹, 小山美香, 原 宜興 (長大院医歯薬・歯周) |
| P138. (歯周) | 歯周病原細菌 <i>Porphyromonas gingivalis</i> の新規検出キットの臨床における有用性 |
| 【2203】 |○高山沙織 ¹ , 今村健太郎 ¹ , 齋藤 淳 ¹ , 井上英子 ² , 中山洋平 ² , 小方頼昌 ² , 白川 哲 ³ ,
長野孝俊 ³ , 五味一博 ³ , 両角俊哉 ⁴ , 秋石和宏 ⁵ , 渡辺香里 ⁶ , 吉江弘正 ⁴ (¹ 東歯大・歯周,
² 日大松戸歯・歯周治療学, ³ 鶴大歯・歯周病, ⁴ 新大院医歯・歯周,
⁵ デンカ生研 (株) 試薬研究開発部, ⁶ 昭和薬品化工 (株)) |
| P139. (歯周) | 歯磨剤に配合される抗炎症剤がヒト由来細胞のサイトカイン産生に与える影響 |
| 【2504】 |○木平成子, 田代亜衣香, 林 よし子 (サンスター (株)) |
| P140. (歯周) | 405 nm の励起蛍光によるプラークの質的評価について |
| 【2504】 |○伊佐津克彦, 瀧野浩之, 勝又桂子, 山田 理, 池田 哲,
高島英利, 長谷川篤司 (昭大歯・保存・総合診療) |
| P141. (歯周) | 幅広段差植毛歯ブラシのプラーク除去効果について |
| 【2504】 |○小林一行 ¹ , 渡辺孝章 ¹ , 早坂奈美 ² , 国友栄治 ² , 玉木裕子 ¹ ,
松田裕子 ¹ (¹ 鶴大短大・歯科衛生科, ² 小林製薬 (株)) |
| P142. (歯周) | 税務署職員における口腔衛生指導 (航空自衛隊隊員との比較) 第3報 |
| 【3002】 |○車田文雄 ¹ , 長岡正博 ³ , 廣瀬公治 ¹ , 齋藤高弘 ¹ , 佐藤穂子 ² , 佐々木重夫 ² , 木村裕一 ²
(¹ 奥羽大歯・口腔衛生, ² 奥羽大歯・歯内, ³ 奥羽大歯・薬理) |

第2日目 ポスター会場

- P143. (その他) シナリオベース実習を用いた体験先導型臨床基礎教育の教育効果
【2598】○諸富孝彦, 西藤法子, 吉居慎二, 平田-土屋志津, 鷺尾絢子, 市丸-末松美希,
中川愛加, 中山皓平, 大塚麻衣, 藤元政考, 松山篤史, 浦田真梨子, 花田可緒理,
宮原宏武, 北村知昭 (九歯大・保存)
- P144. (その他) 重度歯周疾患患者における長期歯牙凍結保存後の意図的再植術 10 年経過の予後
【2025】○牧村英樹, 小島早絵, 菊地信之, 長濱文雄, 和田守康 (日大松戸歯・再生歯科治療)

講演抄録

60 周年記念講演	2
韓国招待講演	3
特別講演	4
シンポジウム	6
認定研修会	12

一般研究発表

口演発表

日韓若手セッション：AE 1 ～ 8	13 ～ 20
第 1 日目 B 会場：B 1 ～ 8	21 ～ 28
第 2 日目 A 会場：A 1 ～ 13	29 ～ 41
第 2 日目 B 会場：B 9 ～ 19	42 ～ 52

ポスター発表

韓国：KP1 ～ 19	53 ～ 71
第 2 日目：P1 ～ 144	72 ～ 215

食育は噛むことから始まる ～味覚は心と気持ちを豊かにする～

オテル・ドゥ・ミクニ

三國清三

歯で「噛む」ことが「食べる」ことの出発点。私は料理人として、「なぜ歯があるのか？」を考えます。自然のものは固く薄味が多い。それを噛み砕くために丈夫な歯があり、噛み砕いたときに食材から出るエキスを、舌や口の中の味覚のセンサーがキャッチして、「甘い、酸っぱい、しょっぱい、苦い、うま味」の5味を感じます。つまり料理のおいしさも「噛む」ことから始まるのです。

「甘いもの、やわらかいもの」が好まれる最近では、味覚の幼児化もみられます。「歯をくいしばって働こう」という感覚もないし、「歯をくいしばる」という言葉さえ聞かなくなっています。ネズミを使った実験で、固いエサを食べているネズミは何度でもチャレンジして出口にたどり着くが、やわらかいエサしか食べていないネズミは途中でへばってしまうという結果も出ているようです。これは人にも当てはまるのではないのでしょうか。

イタリアの「スローフード」。これは消えつつある郷土料理や質の高い小生産者の食品を守ること。質の高い素材を提供してくれる小生産者を守ること。子どもたちを含めた消費者全体の味覚を守り、教育するための活動です。

フランスには「味覚の週間」があります。これは行政とプロの料理人が手を組み、子どもの味覚教育のために行っている活動です。それを受け私も、2000年から小学生を対象に全国で味覚の授業を行っています。「甘い、酸っぱい、しょっぱい、苦い、うま味」、この5味を小学校6年生くらいまでにしっかりと認識させることにより、「見る、聞く、嗅ぐ、触る、味わう」の5感が開花します。

子どもたちは人のことをよく見て心配するようになります。「今日は悲しそうだね？ 嬉しそうだね？ 何かあったの？」それが気付きの芽生える瞬間です。人のことを気付き、思いやりの心をもつようになります。

日本フランス料理技術組合を作り6人で始めたこの活動も、今では60人まで増えました。今でも、年に2回ですが全国の小学校を廻っています。活動を始めた2000年頃は小学校から家庭科教室がなくなり、代わりにパソコン教室が増えていきました。学校からも「食育なんか」と抵抗がありましたが、1校やり2校やりと継続しているうちに、今では行政が後押しするようになり、全国各地の学校から依頼がくるまでになりました。今後も仲間たちとともに、続けられるかぎり食育活動に励みたいと思います。

Introduction of NDBE (National Dental Board Examination) of Korea

Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Dankook University

Dong-Hoon Shin

Way of modern dental education has been changed from the old-fashioned cramming system to self-leading mode. Furthermore, its goal moves from the concept of “What do you know?” to that of “What are you able to do?”. That is called as “competency-based learning”. We believe that the educational quality will be raised and the new accreditation system we’ve got will be well-balanced through these kinds of changes.

Dental licensure is intended to ensure that only qualified individuals are licensed to provide dental treatments to the public. Applicants should demonstrate clinical knowledge, skills and abilities necessary to safely practice dentistry.

NDBE in Korea is enforced in the form of paper test only. Because it is only possible to evaluate applicants whether they know fragmentary understanding or not, it is unjust to label this kind of examination as a real qualifying examination. Therefore, it is considered that another type of examination should be adopted to complement the weakness of paper test, for example, data-presenting type and case-based questions. Additionally, clinical performance examination is going to be introduced in a near future.

Nowadays, two-step tests were imposed to the applicants who qualified as a dentist at foreign countries, after evaluating whether they learn adequate dental curriculum corresponding to national dental education: first one for basic dental knowledge, second one for clinical performance competency. After then, they have the same chance to take a NDBE like the Korean dental school graduates.

When think about the possibility of personal interchange, there comes a time for the cross recognition of qualified professional manpower. If so, international accreditation of the dental curriculum and globalization of the NDBE will be needed.

痛みへの対応～痛みの診断・治療のスペシャリストになるために～

日本大学松戸歯学部付属病院顎脳機能センター，脳神経外科

日本大学松戸歯学部頭頸部外科学教室

牧山康秀

1. 痛みとは何か，その機能は何か

国際疼痛学会は痛みを「不快な感覚と感情を経験することであり，組織の損傷が起きるか，あるいは起きえるような状況にともない，また，そのような損傷について記述される」と定義している．すなわち，痛みは単なる信号ではなく，「経験」である．

痛みはその原因により侵害受容性疼痛，神経障害性疼痛，心因の関与の強い疼痛と分類されるが，本来の機能である生体に対する警告としての痛みは侵害受容性疼痛の一部にみられるのみであり，そのほかの痛みはいわば非機能性疼痛といえることができる．したがって，それらの痛みは不要のものであり治療の対象とされる．

2. 痛みの診断そして治療

初めに，侵害受容性疼痛の有無を診断し原因疾患の除去では除痛が達成できないことを確認する．当施設のような痛みの専門外来では，各専門診療科でこのプロセスがほぼ終了してから受診するので，小見山准教授ら痛み外来の歯科スタッフが歯原性疼痛機序の関与がないことを今一度確認し，また必要に応じて医科が加わって，例外的な機序で生じた痛みでないかについて検討確認する．

非歯原性疼痛の受診者がほとんどであるが，代表的疾患として筋・筋膜痛症状群，非定型歯痛，医科の関与が必須のものとして口腔内灼熱症候群（BMS：burning mouth syndrome，舌痛症），三叉神経痛（まれに舌咽神経痛），非定型歯痛/顔面痛，まれに群発頭痛，各種の三叉神経ニューロパチー，身体表現性障害（身体症状症）が挙げられる．この領域では腫瘍性病変や悪性疾患が一定数含まれることが繰り返し強調されているので，画像診断を中心とした診断の裏づけが必須となる．また三叉神経痛のうち症候性のものは，症状からだけでは診断不可能である．

痛みの原因診断に加えて，当該の痛みが患者に与えている生活上の不自由，精神的負担の大きさを半定量的に評価することが必須である．慢性の疼痛での治療目標は痛みの完全な除去ではなく，またその達成は非現実的である場合が多いこと，一方，疼痛の一定程度の軽減により患者の生活上の不自由と負担が著明に軽減される例が少ないことを説明して理解を得る．患者・治療者間での治療目標の共有を図ることは，中等症以上の例では不可欠である．疼痛の完全な除去を目標とすることは，良好な予後に結びつかないことが多い．

3. 痛みの診断・治療のスペシャリストを目指して，明日からどうするか？

当施設では，心療歯科を含む各専門歯科，歯科麻酔，脳神経外科，耳鼻咽喉科，精神神経科のスタッフをそろえた包括的な痛み診療が可能となっている．しかし，当施設を訪れるような疾患の患者は通常の歯科大学の付属病院や総合病院，歯科オフィスで日々経験されるところであり，当初診断に難渋することとなりやすい．

特に顎顔面領域の神経障害性疼痛（舌痛症，非定型歯痛/顔面痛，三叉神経痛，舌咽神経痛，三叉神経ニューロパチー）では，歯科領域での診断の方向性がおおむね決まる段階で医科の併診が必要となろう．一般に慢性疼痛はペインクリニック，神経内科，脳神経外科で扱うことが多いので，各施設では平生から地域で信頼できる専門医とコミュニケーションをとり，共通のterminologyを構築する必要がある．この場合，非定型歯痛，舌痛症などは疾患名さえもはじめて聞くという場合が少なくないので，当初は紹介状への総説の添付なども有効である．

また近年では画像診断センターをもつ地域も増えてきているので，これらに依頼するのも一法である．口腔顔面領域の疼痛の原因検索のために，具体的な疑い診断名とともに三叉神経の全走行を含む検索を要する旨を明らかにして画像診断を依頼すると，意思疎通が容易となろう．このような依頼は，悪性疾患による三叉神経ニューロパチーが否定しえない場合には特に必要となる．

こうして施設内や地域での各専門家との意思疎通が可能になれば，スペシャリストを目指す＜基礎作り＞をしたといえるのではないだろうか．

痛みへの対応～痛みの診断・治療のスペシャリストになるために～

日本大学松戸歯学部顎口腔機能治療学講座

小見山 道

歯科医師の一般臨床で、最も多く対峙する患者の深刻な訴えは歯痛である。歯科医師はこの問題を解決するために、日々診療を行っている。しかし数パーセントの割合で、疼痛軽減を目的とした歯科治療に対してほとんど良好な反応を示すことのない症例を経験する。ほとんどの歯痛は歯髄炎や歯周炎が原因であるが、近年、歯および歯周組織に原因がないにもかかわらず歯に痛みを感じる状態、すなわち非歯源性歯痛と呼ばれる病態の存在が明らかになってきた。ここで注意したいのは、原因不明の歯痛のほとんどは心身医学的問題から発症するのではなく、歯以外の場所に明らかな病態を伴う歯痛の原因疾患が存在するという事実である。そこで日本口腔顔面痛学会は、活動の一環として非歯源性歯痛の診療ガイドラインを作成し、広く臨床に供すべく発刊した。これまでは、非歯源性歯痛は従来の歯科の知識にはなかったために正式な歯痛の分類になく、また学部教育でも言及されないため、診断法・治療法について全く情報がなかった。このガイドラインは、歯科診療にかかわるすべての医療関係者を対象に、非歯源性歯痛に関する基礎的知識から治療体系までを呈示した。そのなかで、非歯源性歯痛の原疾患は、①筋・筋膜性歯痛、②神経障害性歯痛（三叉神経痛、带状疱疹、求心路遮断性疼痛など）、③神経血管性歯痛、④上顎洞性歯痛、⑤心臓性歯痛、⑥精神疾患による歯痛（身体表現性障害、統合失調症、大うつ病性障害など）、⑦特発性歯痛（非定型歯痛を含む）、⑧その他のさまざまな疾患により生じる歯痛のグループに分類し、それぞれの診査・診断から治療までを網羅した。

今回の講演では、まず非歯源性歯痛のなかで最も頻度の高い、筋・筋膜性歯痛の臨床例を紹介する。筋・筋膜性歯痛は、主として咀嚼筋の筋・筋膜痛が原因となり関連痛としての歯痛を生じる病態である。咬筋では上下顎臼歯部に関連痛を生じ、側頭筋では上顎臼歯部に発生する場合が多い。原因筋の触診で、当該歯に誘発痛を生じることで診断し、治療としては原因筋に対する理学療法やホームケアで対処する。

また根管治療に対して執拗に抵抗する歯痛には、神経障害性疼痛と感作の概念を知る必要がある。神経障害性疼痛（neuropathic pain）は、1994年に国際疼痛学会（International Association for the Study of Pain：IASP）によって「神経系の損傷や機能不全が原因となって生じる痛み」と定義され、さらに2008年に「体性感覚伝導路の損傷や病変によって直接に引き起こされる痛み」と再定義されている。新しい定義では、神経障害性疼痛は「炎症や外傷に伴う強い侵害刺激の負荷によって惹起される痛覚伝導系の感受性増大（感作）による痛み」と明確に区別された。抜髄後に痛みが遷延するか根管になんら問題が見当たらない場合は、まずはこれらの可能性を検討する必要がある。治療としては、神経障害性疼痛を適応とする薬剤の投与や中枢に対する疼痛抑制のための投薬となる。

関連して、ガイドラインのなかで紹介されている特発性歯痛（非定型歯痛）であるが、現在では Persistent Dento-Alveolar Pain Disorder：PDAP という定義に変化した。PDAP の診断基準は、①持続性：少なくとも1日8時間、月に15日以上疼痛が3カ月以上存在する、②疼痛：IASPの基準により定義される（感覚異常を含む）、③局在：最大疼痛は解剖学的領域に規定される、④検査を追加しても特定されない（歯科、神経学的検査+/-口腔内CTやMRIによる画像検査）である。疫学に関するシステマティックレビューでは、根管治療（歯内療法）に継発する歯に原因を認めない疼痛の頻度は3.4%との報告がある。また末梢の体性神経支配に対する局所麻酔ブロックにより、PDAP患者の半数は有意な疼痛の減少がなく、その多様性から鑑みて、PDAPは末梢および中枢神経機能双方における神経機能の異質な変化を含む可能性がある。治療としては、症例集積研究が、抗てんかん薬や三環系抗うつ薬の経口的な薬物療法による疼痛抑制の有効性を示唆している。

本講演が、マイクロスコープにより根管治療の精度が格段に向上した現在においても混迷を極める、原因不明の歯痛に対する解決のヒントを提供し、日本保存学会の先生方の日常臨床での悩み深い症例への対応の一助になれば幸甚である。

シンポジウム開催のねらい

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

日本歯科保存学会理事長

興地隆史

日本歯科保存学会は1955年の設立以来60年間にわたり、修復・歯内・歯周三領域の専門家が一致協力しながら、「歯を保存し機能させる」ための総合的取り組みを行う学会として活動を続けてまいりました。この間本学会が、三領域での研究・臨床・教育活動などを通じて国民の口腔保健の増進に多大な貢献を果たしたことは疑いありません。

ところが社会構造や疾病構造はこの間大きく変貌を遂げており、本学会にも時代の潮流に即した取り組みが従前以上に求められています。その一つのトピックとして、「医療の専門性」のあり方を挙げることができます。

すなわち、「専門性の追求」というまでもなくこれまでの医療界全体における主要な潮流であり、歯科保存学領域においても、三領域それぞれの粉骨砕身ともいべき努力の賜物として高度の専門分化が図られつつ今日にいたっています。この動向は社会の要請を背景としており、また高レベルの医療の提供が社会に多大な貢献を果たしていることというまでもありません。ところが近年では、高度に専門化・細分化された現代の医療体系を見つめ直した結果として、「総合診療専門医制度の構築」などを含めた「専門医制度の見直し」がしばしば話題になることも周知のとおりです。このような趨勢からは、本学会では今後、歯科保存学三領域間の連携を推進することが従前以上の意味合いをもつようにも思われます。

本シンポジウム「保存治療のスペシャリティの追求」では、60周年記念大会にふさわしい内容として、また上述の背景を踏まえつつ、歯科保存学領域での専門性のあり方をさまざまな視点からご講演いただきます。すなわち、和田康志先生（厚生労働省医政局歯科保健課）には、「歯科医療の専門医制度の政策」と題して今後の専門医制度構築についての情報をご提示いただいた後、住友雅人先生（日本歯科医学会会長）からは、「日本歯科保存学会専門医の立場」と題して本学会の専門性のあり方へのご提言を頂戴いたします。さらに宮崎真至先生（日本歯科保存学会）、寺内吉継先生（日本歯内療法学会）、栗原英見先生（日本歯周病学会）からは、修復・歯内・歯周三領域の専門的医療の最前線をご披露いただきます。

日本歯科保存学会が、歯科保存学三領域の共同体という独自の「スペシャリティ」の下、歯科界のなかでいかなる役割を果たすべきかについて、本シンポジウムを通じて議論が高まることとなれば幸いです。

講演1：日本歯科保存学会専門医の立場

日本歯科医学会

住友雅人

厚生労働大臣が受理し、広告ができる専門医の資格を、日本歯科保存学会専門医は有していない。

日本歯科保存学会の専門医資格申請の審議結果は、平成18年2月21日付で学会長に提出された。その報告書では、「昨今の高齢者化社会に伴う処置が困難な齲蝕や歯内疾患の増加と患者のニーズの高度化に対して、高い技術力をもって対処できる専門医は必要ということになる。専門医の数は限られているため、それらの症例に対してすべて専門医自身が対応することはできず、専門医には一般臨床医を直接的、間接的に支援するという重要な役目も課されている。専門医と一般臨床医との間の連携を積極的に作るよう指導する。こうしたシステムを構築することによって、齲蝕や歯内治療の予防、治療、術後管理に関して全体的なレベルの向上を図りたいとしている。（抜粋ママ）」が評価され『可』となった。

しかし平成18年12月21日付の日本歯科医師会からの厚生労働省への回答は、「国民の視点に立つと、この資格名を広告すると一般の診療所の歯科医師と専門医との判別がつき難く、これによる医療現場と国民の混乱が予想されることから了承しかねる」であった。

時は経ち、平成24年8月9日に開催された学会専門医制在り方第4回打ち合わせ会の記録は次のとおりである。「保存は歯周、歯内、充填となっているのだが、歯周が先に広告可能な専門医を取得してしまったこと、また歯内も専門医を希望しているので、保存の専門医は何かという問題があり、接着や審美等とともに整理が必要」「専門医制度の構築については、各専門医の専門範囲を明確に提示できることが重要」「歯科総合医と専門医の二層制案を提案する。歯科総合医という一層部分には保存、補綴、歯周、外科に入ってもらう必要がある」「専門医認定という第三者的な機関で評価を得ていることが大変重要であり、国民の信頼感にもつながる」などである。

これらの考え方は現執行部も引き継いでおり、医科の専門医制度が整ってきたこともあり、学会ではより具体的な検討が行われている。また、厚生労働省に設置された歯科医療の専門性に関するワーキンググループの第1回の会議が平成27年4月23日に開催されたところから舞台はそこに移された感はあるが、本分科会の専門医は、現在、医科で進められている総合診療専門医を目指す専攻医の指導医およびプログラム総括責任者の立場が望ましいと考える。

講演2：歯科医療の専門医制度の政策

厚生労働省医政局歯科保健課

和田康志

わが国では、保健・医療・福祉の連携の下、世界最長の平均寿命や高い保健医療水準を達成してきた。その一方、急速な少子高齢化、国民意識の変化等、大きな環境の変化に直面しており、医療保険制度や介護保険制度等の社会保障制度を将来にわたり持続していくため、さまざまな対応を図ってきた。

歯科保健医療を取り巻く状況は、子どものむし歯の減少や8020達成者の増加等にみられるように歯および口腔の健康状態は着実に改善している一方で、高齢化の進展に伴い、患者像も全身疾患を有するケースや寝たきりで外来に受診できないケースなど多様化してきている。こうした状況に対応するために、卒前教育から生涯研修までの一連の過程を通じて、歯科医師の資質向上を行っていくことが重要である。

併せて歯科医療の提供体制も従来の歯科医療機関内で完結する歯科医療に加えて、内科医療機関や介護保険施設等とも連携を図りながら歯科医療を提供していく形態が求められている。

こうした状況を踏まえて、歯科医師の資質向上等について多方面から検討を行うため、2015年1月に「歯科医師の資質向上等に関する検討会」を設置し、歯科医師の需給問題、女性歯科医師の活躍、歯科医療の専門性について、各ワーキンググループにおいて議論を開始したところである。

このなかで、歯科医療の専門性に関するワーキンググループについては、

1. 国民が求める歯科医療の多様化に対応しつつ、安全・安心な歯科医療を提供するために、すべての歯科医師に求められる要件等について
2. 歯科医療のなかですでに位置づけられている専門医について
3. 専門性についての情報の在り方について

という論点を明示し議論を行っているところであり、こうした動向等について概説する。

講演3：保存修復の最前線

日本大学歯学部保存学教室修復学講座

日本歯科保存学会

宮崎真至

齲蝕に対する積極的介入としての歯質切削については、これを行う前に考慮すべき事項がある。すなわち、齲蝕とは脱灰と再石灰化を繰り返すプロセスであり、そのバランスが脱灰に偏った状態が長期にわたって継続することで齲窩が形成される。そこで、齲蝕治療の第一の原則は、脱灰と再石灰化とのバランスをコントロールすることと認識されている。そのためにも、カリエスリスクファクターを把握するとともに、齲蝕の自然史を理解することによって「齲蝕の過程に対する治療」としての予防処置を行うことが肝要となる。歯質の石灰化促進を有するものとしては、バイオアクティブガラスやペプチドなどが検討されており、一部は臨床応用されている。また、歯磨剤にもフッ化物以外に再石灰化促進作用を発揮する物質を含有させるなど、多くの検討がされている。さらに、バイオアクティブな機能を発揮する修復材なども市販され、その効果について基礎および臨床的検討がされている。

一方、積極的介入を伴う歯冠修復処置においては、齲蝕に関する知見の蓄積あるいは接着技術の飛躍的向上によって Minimal Intervention という明確な方向性が示されている。これに伴って、歯質接着性を有するコンポジットレジン臨床使用頻度が増加するとともに、これに関するエビデンスの蓄積が精力的に行われてきた。今日では、優れた歯質接着材を用いることによって、光重合型コンポジットレジンを用いた機能と審美とを両立させた歯冠修復処置が可能にしている。また、その適応症は前歯の小窩洞のみならず、歯冠破折などの比較的大型窩洞や臼歯部咬合面あるいは隣接面を含む窩洞などへも適応範囲が拡大している。これまで、間接修復に頼っていたものが、コンポジットレジンシステムを用いることで即日修復が可能となったことは、特に患者にとっては大いなる福音である。

保存修復処置は、カリオロジーという理論的な学問体系の構築、歯質接着という基本技術およびこれを扱う臨床手技によって支えられ、発展してきた。すなわち学理の構築、材料の発展ならびに臨床技法の確立によって審美的歯冠修復処置が可能となっている。本講演では、齲窩を形成する前の処置に用いられる最新の器材とともに、齲窩を形成した場合の歯冠修復処置について、基礎研究とともに臨床テクニックの最前線について考えてみたい。

講演4：抜髄・抜歯しない歯内療法

医療法人社団インテリデント CT & 米国式根管治療センター

日本歯内療法学会

寺内吉継

日々の診療において、大変懸念していることがある。適切なペリオやエンド処置を行えば保存可能な歯に、抜歯・インプラントが施されているケースが激増しているのだ。同時に、上述のような歯の保存可否に関するセカンドオピニオンを求められる機会も増えている。こうした憂慮すべき状況は、一般的には、インプラントの利益率と成功率が保存治療のそれと比較して高いといわれていることに起因していると考えられる。特に、感染根管の処置は、抜歯と比べて大変高度なテクニックが要求されるにもかかわらず、診療報酬が著しく低く抑えられている点と大いに関係していると思われる。現状の診療報酬の下では、いかに高潔な倫理観をもった歯科医師でも、歯を保存する努力よりも安易な抜歯を選択するのは当然といえよう。

翻って90年代以降の歯内療法の環境を概観すると、歯科用実体顕微鏡とCBCTの普及、顕微鏡下で使用可能な多種多様なマイクロインストルメンツやMTAの開発、多くのリサーチャーからのエビデンス等により、難治性根尖性歯周炎の原因が解明されてきた。これにより歯内治療方法が飛躍的に改善し、インプラントに勝るとも劣らない予知性と高い成功率を誇るようになったのだ。

今回のシンポジウムでは歯内療法の原点に立ち返り、歯髄を保存することの重要性と難治性の根尖性歯周炎の原因についての的を絞り考察したい。また、抜髄しなければ感染根管に発展することはないため、歯髄保存のためのVital Pulp Therapyを本講演では臨床的にエビデンスベースに紐解いていきたい。さらに、感染根管治療が成功すれば抜歯は無用になる。1本でも多くの歯を救うために、困難な感染根管処置についても同様に取り上げていきたい。具体的には、①根尖まで穿通、または根管充填材が根尖まで到達していても治癒しない原因不明な難治性の根尖性歯周炎、②破折器具やレジンなどが存在するためその根尖側にある感染が除去できない場合の根尖性歯周炎等、難易度が高い症例を集めその解決方法を紹介する。これら難治性の根尖性歯周炎でも、適切なプロトコルの下で処置を進めれば長期保存可能であることも示していきたい。

もう安易な抜髄や抜歯は時代遅れなのだ。

講演5：歯周治療の最前線

広島大学大学院医歯薬保健学研究院 応用生命科学部門 歯周病態学研究室

日本歯周病学会

栗原英見

歯周治療の最前線というタイトルをいただいているので、「歯周病の診断」「歯周病治療」「歯周病学会の今後の方向性」のそれぞれについて論じたい。

1. 歯周病の診断

歯周病のなかでも、慢性歯周炎は歯周局所における歯周病関連細菌の感染に対する宿主応答の結果として歯周組織破壊が生じる、慢性炎症である。したがって、宿主応答に影響を与える因子を十分に診断できる能力が求められる。とりわけ、「環境因子・後天的な因子」は治療の対象となる因子であり重要である。糖尿病は感染に対する宿主防御能を低下させることから、この因子の代表であり、患者数も多い。また、歯周病原細菌の感染を把握するための、細菌検査や血清学的な検査についても十分な知識が求められる。

2. 歯周病治療

「抜いて入れる」は歯周病罹患歯に対して古くから実施されてきたが、8020運動の進展や国民の健康意識の向上から、“歯を抜かない”治療が国民から求められている。歯周病治療の目的は、歯を保存し機能させることである。歯周病の病因・病態研究が進み炎症の除去だけでなく、サイトカイン療法や細胞移植療法などの分子細胞生物学を背景とした組織再生治療が臨床的に実施されるにいたっている。また、歯周病専門医には単に歯周病だけでなく、関連する全身的な疾患について十分理解し、内科医等との積極的な連携が要求される。さらに、日本歯周病学会では歯周病リスクを管理できる専門医による“残存歯を保存するための”インプラント治療を推進している。

3. 歯周病学会の今後の方向性

1) 歯周病予防の推進

歯周病が多くの全身的な疾患に関連し、歯周病治療が医療費の抑制に大きな役割を担うことが明らかになってきたことから、大学生、20歳代などの若年者への意識の改革を目指した予防活動が必要である。

2) 専門医の偏在解消と患者の高齢化への対応

日本歯周病学会員・歯周病専門医は歯科大学・歯学部がある地域に偏在しており、全国的にみると歯周病専門医へのアクセスビリティに大きな差がある。今後、高齢者の歯周病治療や医科歯科連携を強化していくには、この専門医偏在の解消がきわめて重要である。

3) 医科歯科連携の推進

歯周病専門医がさらに医科歯科連携を進めていくためには、全身管理を含めた内科的知識・技能の向上が必要である。また、慢性歯周炎の全身への影響の程度を、医師などほかの医療従事者に共通言語として提示できる指標作りが求められている。

日本歯科保存学会認定医を目指す（歯周病治療）

昭和大学歯学部歯周病学講座

山本松男

わが国における高齢化の進展や疾病構造の変化に伴い、国民の健康の増進の重要性が増大しており、健康づくりや疾病予防を積極的に推進するため、平成12年に国民健康づくり運動として「健康日本21」が開始された。平成14年には健康増進法が成立し、国家レベルで超高齢社会の時代での健康増進に取り組んでいる。昭和の時代には早期発見早期治療といわれていたが、さらに現在は予防、根本的な治療、再生医療へとより高い段階のゴールを目指している。歯科に関しては、平成元年に8020運動が提唱され健康に関する先取的な取り組みが開始された。前述の健康日本21に組み込まれ、歯科単独でなく健康行政全体の中での位置づけが明確になっていった。医療に携わるものだけではなく、国民全体にも歯や口腔に対する関心が増え、その結果きわめて短期間に一人平均現在歯数がどの年齢においても伸びている。また、中学生以下の年齢における一人平均むし歯数の急速な減少には目を見張るものがある。

しかし、諸手を挙げて喜ぶわけにはいかない。中高年における、処置の必要な歯の数や歯周疾患罹患率は上昇する傾向が続いている。歯や歯周組織を人生の終盤まで健康な状態で維持していくことには、それなりの努力と時間、経済的な負担が必要であることは疑いのないところである。また、歯周病などの慢性炎症を伴う疾患では、糖尿病を代表とする、いわゆる全身の状態との相互の関連が指摘され、それを裏付ける研究も広く進められている。さらに疫学的な研究によれば、残存歯数の減少と身体機能の低下や認知症などとも関連性が指摘されたり、義歯により咀嚼機能が回復されたものでも摂取食品の変化などにより肥満が進むなどの報告もみられ、天然歯による咀嚼機能の維持はやはり尊いものであることが再認識される。歯を保存する歯科医療は、まさに健康を支える大きな使命を担っている。

日本歯科保存学会では、歯科保存学の専門的知識・臨床技術を高め、生涯にわたる研修を図ることを通して健康増進に寄与することを目的としている。本認定研修会では、本会認定医（歯周治療）を目指す若手歯科医師を想定し、歯周病の知識や技術に加え、歯周治療の特徴やいわゆる全身性疾患を有する患者さんや服薬中患者さんの治療における注意事項等について、一般歯科診療で遭遇する例や工夫事例を用いて概説する。認定医認定への申請の参考になるよう、口腔内写真の撮り方などについても触れる。

Internal adaptation of resin composites: Influence of polymerization shrinkage and stress

○Seung Hoon Han¹, Sung Ho Park²

¹*Conservative Dentistry, St. Vincent Hospital, Catholic University of Seoul, Korea*

²*Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea*

I. Object:

The first purpose of this study was to compare internal adaptations of different composites in two cavities of different C-factors. The second one was to find out the relationships between internal adaptation and polymerization shrinkage strain and stress.

II. Materials & Methods:

One hundred human 3rd molars were divided into high and low C-factor groups. High and Low C-factor groups were divided into 5 subgroups depending on the material used: Filtek supreme (3M), Charisma Diamond (Heraeus Kulzer), Amelogen Plus (Ultradent), Tetric Evoceram Bulk fill (Ivoclar Vivadent), Venus Bulk fill (Heraeus Kulzer). After application of dentin adhesive, composite resin was filled or built up to be the identical dimension. After thermo-mechanical load cyclings, SS-OCT images were taken and the percentage of imperfect margin (%IM) was calculated. Internal adaptations were compared in two ways: among the different materials and between the two cavity configurations. Linear polymerization shrinkage % was measured using a custom-made Linometer. The polymerization shrinkage stresses of 5 composite materials were measured in two ways: under a zero-compliance condition and under a compliance-allowed condition. The relationship between internal adaptation and polymerization stress was investigated.

III. Results:

Highly significant difference was found between internal adaptations in high and low C-factor groups. %IM turned out to be group 2, group 1 ≤ group 4 < group 3, group 5 in High C-factor group. It was shown as group 2, group 4 ≤ group 1, group 3 < group 5 in Low C-factor group. In Low C-factor cavity, the relationship between %IM and polymerization stress under the zero-compliance condition was found to be lower ($R^2=.498$, regression analysis).

IV. Conclusion:

Inferior internal adaptation was found in the cavity of high C-factor. Internal adaptation, polymerization shrinkage and stress were different depending on resin composites. At low C-factor cavity, the polymerization shrinkage stress measured under the zero-compliance condition showed lower correlation to internal adaptation.

Seung Hoon Han

Department of Conservative Dentistry, St.Vincent Hospital,

Catholic University of Seoul, Seoul, Korea

Han7537@hotmail.com

Evaluation of Two Types of Endodontic Sealers in Dentin Penetration and Retrieability

○Hyunsuk Kim, Euseong Kim, Seung-jong Lee, Su-jung Shin

*Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital,
Yonsei University, Korea*

I. Object:

This study was aimed to evaluate the removing efficacy and the amount of residual sealer in a single canal filled with either Endosequence BC (Brasseler, Savannah, GA, USA) or AH plus (Dentsply DeTrey, Konstanz, Germany).

II. Materials & Methods:

Canal obturation with gutta percha and sealer using continuous wave technique was performed in twenty-eight human teeth. Group 1 (n=13) used AH Plus sealer, and Group 2 (n=15) EndoSequence BC sealer. After 7 days, the root fillings were removed using Gates Glidden drills and the NiTi rotary system. Retreatment time was measured in seconds. Canal cleanliness was examined by scanning electron microscopy (SEM). The remaining debris in the canal space and penetration into dentinal tubules were evaluated by confocal microscopy. Retreatment time was compared by Student's t-test and the difference in sealer penetration and remaining debris between the groups were analyzed by the Mann-Whitney test ($P<0.05$).

III. Results:

There was no significant difference between the two groups in the amount of dentin penetration, amount of debris, or retreatment time. With respect to penetration depth, the AH Plus group showed a slightly higher percentage than the BC group, with a significant difference only in the portion 6mm from the apex ($P<0.05$). SEM images showed significant debris remaining on the canal walls in both groups, while canal patency in retreatment was achieved in every specimen.

IV. Conclusion:

The present study shows that the EndoSequence BC sealer and the AH Plus sealer have similar efficacy in dentin penetration and retrievability.

Hyunsuk Kim

**Department of Conservative Dentistry,
Gangnam Severance Hospital,
Yonsei University, Seoul, Korea
GUMDORY@yuhs.ac**

Cytotoxic Effects of New Calcium Silicate-based Sealers on an Osteoblastic Cell Line

○Alamuddin Bakhit, Nobuyuki Kawashima, Kentaro Hashimoto,
Sonoko Noda, Keisuke Nara, Takashi Okiji

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

I. Object:

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) is a calcium silicate-based material that shows high biocompatibility and used widely for various endodontic applications. In these days, various MTA-derived calcium silicate-based sealers are developed and used in clinics. The aim of this study was to evaluate the cytotoxicity of two new calcium silicate-based sealers to an osteoblastic cell line (MC3T3-E1).

II. Materials & Methods:

Two calcium silicate-based sealers, Well-Root® ST (WR: Vericom, Korea), and Endoseal® MTA (ES: Maruchi, Korea) were used in this study. AH Plus® (AH: Dentsply, DeTray, Germany) and MTA Fillapex® (FP: Angelus, Brazil) were used for control. Freshly mixed sealers were inserted in cylinders (8 mm in inner diameter and 5 mm long) and were divided into fresh and set groups. In the fresh group, the specimens were immediately incubated in 3 ml of cell culture medium (alpha MEM) for 24 h at room temperature. In the set group, the specimens were stored at 37°C, 100% humidity for 14 days before the incubation in the culture medium. Then, MC3T3-E1 cells (mouse calvaria-derived clonal osteoblastic cells; Riken, Japan) were treated with the sealer extracts (1/4- or 1/16-diluted) for 72 h and relative cell numbers were measured with a WST-8 assay (Cell Counting Kit-8, Dojindo, Japan). Statistical analysis was performed by Tukey-Kramer's methods.

III. Results:

In the fresh group, most of the samples except 1/16-diluted WR suppressed the cell growth ($p < 0.05$). In particular, 1/4-diluted AH, FA, and ES showed severe suppression. In the set group, however, most samples except 1/4-diluted FA, WR, and ES did not induce the suppression of the cell growth.

IV. Conclusion:

Newly developed calcium silicate-based sealers, Well-Root® ST and Endoseal® MTA, showed similar or weaker cytotoxicity to MC3T3-E1 cells compared to AH Plus® and MTA Fillapex®.

Alamuddin Bakhit

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

alam@bakhit.com

Pulp infection induced osteonecrosis of the jaw in the BPs administration mice

○Noriko Mutoh, Nobuyuki Tani-Ishii

Department of Pulp Biology and Endodontics, Kanagawa Dental University

I. Object:

A bisphosphonates (BPs) administration is chiefly worked for the treatment of osteoporosis or metastasis of malignant tumors. The bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw (BRONJ) induced the exposure of jaw bone to the oral cavity, indicated that the special attentions must be paid for the application of BPs in the periodontal disease patients. To date, there is no available data on the cause and effect of BRONJ, although clinical cases have been gradually increased in number since the first report in 2002. The present study aims to clarify the relationship between oral administration of BPs and osteonecrosis of the jaw using the murine experimental model.

II. Materials & Methods:

ICR mice were divided into three groups: sham, ovariectomized (OVX) and OVX + Alendronate (ALN) Fosamax®. Experimental BRONJ was induced by ALN treatment and pulpal exposure. Both ALN and placebo were administered to the oral cavity of animals 2 days per week for 2-8 weeks. Materials were collected from animals scanned by Micro-CT, and prepared for conventional histological procedure using paraffin sections and hematoxyline and eosin staining.

III. Results:

Calculation of body weights of each of the groups revealed an increase of sham + ALN and ALN, decrease of sham + ALN, OVX, OVX + ALN compared with the starting weight. ALN increased cortical bone thickness and experimental group of using OVX + ALN was regenerated. Histological analysis were induced the periodontal tissue destruction, rescued bone density, inflammatory cell infiltration, and the fibrosis of bone marrow spaces. In the severe cases of the periodontal tissue destruction, the exposure of bone to the oral cavity also occurred following the degeneration of osteocyte and bone marrow.

IV. Conclusion:

The administration of ALN induced the pathological features similar to BRONJ: the severe periodontal tissue destruction is followed by the exposure of bone. The BRONJ-like lesion occurring in our experimental model may be induced by the disorder of bone metabolism and blood circulation.

Noriko Mutoh

**Department of Pulp Biology and Endodontics,
Kanagawa Dental University, Yokosuka, Japan
mutoh@kdu.ac.jp**

Clinical performance vs. Ultrastructural biomineralization of Pozzolan-based MTA root canal sealer

○WooCheol Lee

Department of Conservative Dentistry, Seoul National University, School of Dentistry

I. Objectives:

Recent application of the Mineral trioxide aggregates (MTA) in the field of Endodontics has brought a change of treatment modalities. MTA has been used as perforation repair, root-end filling, pulp-capping and root canal filling material. MTA root canal fillings should not be considered as a routine procedure but used only this type of filling is needed. In order to make a successful root canal obturation with this material, several application methods have been introduced. However, root canal filling with using MTA is still difficult and challenging process. Recently, root canal sealers made of MTA have been developed. Among them, Pozzolan-based MTA sealer has gaining a concern. Pozzolan-based MTA material is reported to have acceptable clinical and biological properties according to a few recent researches. Therefore, a clinical and biological performance of newly developed Pozzolan-based MTA sealer can be discussed in this lecture.

II. M&M:

The root canals were obturated with gutta-percha (GP) and pozzolan-based MTA sealer by using continuous wave of condensation technique. The biomineralization ability under different obturation conditions was evaluated.

III. Results:

Scanning electron microscopy analysis at dentin-MTA interfaces verified the extension of ultrastructural biomineralization. Handling of pozzolan-based MTA sealer during the obturation procedure will be presented. Clinical radiographs of root canal treated tooth using pozzolan-based MTA sealer will also be discussed.

IV. Conclusion:

The use of pozzolan-based MTA sealer during the root canal obturation procedure would provide the intratubular tight sealing.

This study and presentation is supported by Ministry for Health, Welfare & Family Affairs through the Korea Healthcare Technology R&D Project (Grant no. A120815).

WooCheol Lee, DDS, PhD, Professor

Department of Conservative Dentistry,

Seoul National University School of Dentistry, Seoul, Korea

jimin525@snu.ac.kr

Pressure Generated Outside the Apex During Root Canal Irrigation Activated by Diode Laser and Er:YAG Laser

○Satoshi Watanabe¹, Kanako Yao¹, Kazuhisa Satake¹, Tomoyuki Hongo¹,
Arata Ebihara¹, Chihiro Kobayashi², and Takashi Okiji¹

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

²*Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital,*

Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan

I. Objective:

To investigate pressure generated outside the apex during laser-activated irrigation (LAI) with a new diode laser system and an Er:YAG laser compared to the passive ultrasonic irrigation (PUI) and the conventional irrigation (CI).

II. Materials & Methods:

Plastic root canal models instrumented with a working length of 20 mm to an apical size #40 were used. They were assigned to one of the following groups (n = 10, each):

- 1) LAI with diode laser group: distilled water in the model canal was activated by a pulsed diode laser (Alta MLS, Dental Photonics, USA) at a power setting of 6 (120 mJ, 16 pps) with a computer-controlled heat tip (DS1-200, Dental Photonics, $\phi = 200 \mu\text{m}$) positioned 10 mm short of the working length.
- 2) LAI with Er:YAG laser group: distilled water was activated by an Er:YAG laser (Erwin AdvErL, Morita, Japan; 30 mJ, 10 pps) with a cone-shaped tip (R200T, Morita; $\phi = 200 \mu\text{m}$) positioned 10 mm short of the working length.
- 3) PUI group: PUI was performed with an ultrasonic file (#20 U-file; SHOFU, Japan) driven by an ultrasonic device (Piezon Master 400, EMS, Switzerland; highest power setting) positioned 2 mm short of the working length.
- 4) CI group: a conventional syringe with a 27 gauge flat needle (Nipro needle and syringe, Nipro, Japan) was placed 2 mm short of the working length and 1 ml of distilled water was delivered into the canal.

Each irrigation was done 10 times for 20 seconds each. The mean maximum pressure caused by the irrigation was measured with a pressure sensor (AP-12S, Keyence, Japan) connected via a plastic tube to the model. Data were analyzed by using one-way ANOVA and Tukey-Kramer test at a significance level of 0.05.

III. Results:

The LAI groups and the PUI group showed significantly lower mean maximum pressure compared to the CI group ($p < 0.05$). There were no significant differences among the LAI groups and the PUI group ($p > 0.05$).

IV. Conclusion:

Under the conditions of this preliminary study, the pressure generated outside the apex during the LAI was smaller than that generated by the conventional irrigation method. Nevertheless, the possibility of irrigant extrusion through the apical foramen should be taken into consideration during the LAI.

Satoshi Watanabe

Pulp Biology and Endodontics, Department of Oral Health Sciences,

Graduate School of Medical and Dental Sciences.

Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

s.watanabe.endo@tmd.ac.jp

Isthmuses in Mesial Root of Myanmar Mandibular First Molar with Vertucci's Type IV Canal Configuration: a Micro Computer-based Tomographic Study

○Maung Maung Kyaw Moe*, Jung-Hong Ha, Myoung Uk Jin, Young Kyung Kim, Sung Kyo Kim

Department of Conservative Dentistry, Kyungpook National University, Daegu, Korea

I. Introduction: Isthmus, one of the intrinsic complexities of root canal system, is the potential space for microbes and accumulation of debris from mechanical debridement procedure. Accumulation of debris is the undesirable consequence of root canal shaping and therefore, isthmus is clinically significant in non-surgical as well as surgical endodontics, especially in apical region. Vertucci's type IV is the most common root canal type in mesial root of mandibular first permanent molars. Therefore, the aim of this study was to investigate the profile of isthmus in mesial root of Myanmar mandibular first molar.

II. Materials and Methods: Seventy five extracted mandibular first permanent molars with Vertucci's types IV canal configuration from Myanmar people were selected and scanned using a Micro CT machine (SkyScan 1272, Bruker, Belgium) at 10 μ m isotropic voxel size, 125 μ A, 80 kV, 1 mm aluminum filter, and 180° rotation. To explore isthmus in the apical region, the apical 6 mm of mesial root and canal system were extracted and constructed three dimensional (3D) model by CTAn software and visualized by CTvol software. Types of isthmus were studied and categorized three dimensionally from 3D models of root and canal system. From two dimensional slides, the incidence of isthmus was also evaluated as partial or complete isthmus by counting the number of slides showing either partial or complete isthmus from apex to 1, 1 to 2, 2 to 3, 3 to 4, 4 to 5 and 5 to 6 mm levels. Fifty sections for each level and 300 sections for apical 6 mm region of each specimen were evaluated. Total 22500 sections were examined for apical 6 mm region of 75 specimens by CTvol software.

III. Results: For 3D types of isthmus, five 3D types of isthmus were observed in this study as sheet complete type (31%), sheet incomplete type (7%), tubular incomplete type (4%), mixed complete type (38%) and mixed incomplete type (20%) in apical 6 mm region. In two dimensional sections, the incidence of isthmus is (5.76%) at apex to 1 mm, (44.21%) at 1 to 2 mm, (73.41%) at 2 to 3 mm, (77.12%) at 3 to 4 mm, (74.72%) at 4 to 5 mm and (70.88%) at 5 to 6 mm levels, respectively. Partial isthmus was more common than complete isthmus at all levels.

IV. Conclusion: Mesial root of Myanmar mandibular first permanent molar with Vertucci's type IV canal configuration reveals the high incidence of isthmus in apical 6 mm region. The findings in this study show that isthmus is a complex structure and difficult to shape, clean and fill by conventional techniques. The majority of the specimens were composed of sheet and tubular or cannula structure and they were also difficult to classify in 2D and 3D views.

Maung Maung Kyaw Moe,

Postgraduate student,

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry,

Kyungpook National University, Daegu, Korea

mmkm10472@gmail.com

Biocompatibility of Novel Type I Collagen Purified from Tilapia Fish Scale: An In Vitro Comparative Study

○Jia Tang, Takashi Saito

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

I. Objective:

The purpose was to compare the effect of tilapia scale collagen and porcine skin collagen on MDPC-23 cell *in vitro*.

II. Materials & Methods:

MDPC-23, a rat odontoblast-like cell line, was used. Type I collagen from tilapia scale (T-COL) (Taki chemical, Japan) and porcine skin (P-COL) (Nitta gelatin, Japan) were used. Cells were inoculated on those collagen-coated 35mm tissue culture polystyrene dish. Non-coated plates were taken to be the control. Morphology of cell was observed under phase contrast microscopy (19 hours, 44 hours, 3d). Cell number was counted manually by a hemocytometer (2d, 3d, 4d). Cell differentiation was evaluated in terms of alkaline phosphatase activity (ALP activity) (6d, 8d, 10d) and real time RT-PCR (7d, 10d). Cell mineralization was observed by alizarin red staining (10d) and quantified by Cetylpyridinium Chloride (CPC) extraction. Tukey's multiple comparison test was used for statistical analysis.

III. Results:

T-COL promoted the cell proliferation on 2d and 3d ($p<0.05$), while P-COL only promoted the cell proliferation on 2d ($p<0.05$). ALP activity was up-regulated on T-COL and P-COL for the three time points ($p<0.05$). *BSP* mRNA expression was enhanced by T-COL (1.21-fold) and P-COL (1.25-fold) at 7d ($p<0.05$). T-COL and P-COL accelerated the mineralization by two-fold to that of control ($p<0.05$). No significant differences were detected between the two types of collagen in each experiment. Matsumoto (Matsumoto R et al., 2011) reported a five-fold higher ALP activity promoted by T-COL in comparison to P-COL on human mesenchymal stem cells. The potential reason for different result obtained in this work might due to different type of cells used and experimental design.

IV. Conclusion:

T-COL displayed comparable capacity to P-COL in promoting cell proliferation, differentiation and accelerating cell mineralization. It hence holds sound potential to be used as an alternative choice to mammalian collagens for tissue regeneration study in dental field.

Jia Tang

**Division of Clinical Cariology and Endodontology,
Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry,
Health Sciences University of Hokkaido, Tobetsu, Japan**
tangjia@hoku-iryo-u.ac.jp

カキタンニンのポリマイクロバイアルバイオフィルムに対する酸産生抑制効果

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 う蝕制御修復学講座¹, 微生物感染学講座², 神経組織発生学講座³,
東北大学大学院歯学研究科口腔修復学講座 歯科保存学分野⁴,
Department of Preventive Dentistry, Academic Center for Dentistry Amsterdam (ACTA)⁵
○富山 潔¹, 長谷川晴彦¹, 椎谷 亨¹, 渡辺清子², 河田 亮³, 東 一善³, 齋藤正寛⁴, 高橋 理³, 浜田信城²,
Exterkate R.A.M.⁵, 向井義晴¹

Inhibitory effect of condensed tannin extracted from astringent persimmon on acidogenic capacity of polymicrobial biofilms

¹ Dept. of Cariology and Restorative Dent, ² Dept. of Microbiology, ³ Dept. of Histology, Embryology and Neuroanatomy,
Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University,
⁴ Dept. of Restorative Dentistry, Div. of Operative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry,
⁵ Department of Preventive Dentistry, Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA), The Netherlands
○ TOMIYAMA Kiyoshi¹, HASEGAWA Haruhiko¹, SHIYA Toru¹, WATANABE Kiyoko², KAWATA Akira³, HIGASHI Kazuyoshi³,
SAITO Masahiro⁴, TAKAHASHI Osamu³, HAMADA Nobushiro², Exterkate R.A.M.⁵, MUKAI Yoshiharu¹

【研究目的】口腔バイオフィルムは、糖の摂取に関わらず様々な酸を産生するが、齲蝕発生時、乳酸が重要な役割を果たすことが知られている。口腔バイオフィルムは多種菌とともに齲蝕原生菌を含んでおり、スクロース摂取頻度の増加により酸産生能および酸耐性能に優れたこれらの割合の増加とともに、乳酸産生量の増加、pHの低下が生じ、歯質の脱灰を引き起こす。このような口腔バイオフィルム中の齲蝕原生菌の乳酸産生を生体に害を及ぼさず、しかも持続的に抑制できる抗菌薬を開発することは重要である。縮合型タンニンは *S. mutans* に吸着し易いことから、その発育阻止や歯質および修復物への付着抑制能の高いことが指摘されている。我々は第138、139、140および142回本学会において、渋柿由来の縮合型タンニンを含有させた食品・化粧品等の原料 (Pancil PS-M: リリース科学工業株式会社) が短期および長期培養ポリマイクロバイアルバイオフィルム中の細菌細胞を破壊する可能性があること、さらには緑茶タンニンや0.2%グルコン酸クロルヘキシジンよりも持続的にポリマイクロバイアルバイオフィルムの増殖を抑制できることを報告した。今回、Pancil PS-M のポリマイクロバイアルバイオフィルムの乳酸産生に対する抑制効果を分析する目的で、Pancil PS-M 処理前後の乳酸産生量の分析を行った。

【材料および方法】ポリマイクロバイアルバイオフィルム形成用材料には直径12 mm 厚さ150 μm のカバーガラス (Menzel, Braunschweig, Germany) を用いた。処理剤には、4 wt% Pancil PS-M、Corsodyl (0.2 wt% グルコン酸クロルヘキシジン, GlaxoSmithKline) を用いた。実験群は、(1) 非処理群 (Cont), (2) 4.0 wt% Pancil PS-M 群 (P), (3) 0.2 wt% グルコン酸クロルヘキシジン群 (C) の3群とした (n=6)。ポリマイクロバイアルバイオフィルムの培養には一被験者から採取した刺激唾液を用いた。培養液には unbuffered McBain 2005 (0.2%スクロース含有) 培養液を用い、50倍希釈となるように刺激唾液を混入した。培養液の交換は10時間、14時間のサイクルで行ない、使用済み培養液のpH測定を行った。培養24時間の時点で各処理剤 (P, C) あるいは滅菌脱イオン水 (Cont) に5分間浸漬後、嫌気条件下 (CO₂: 10.0%, H₂: 10.0%, N₂: 80.0%, 37℃) で48時間、培養した。乳酸産生量の測定は、バイオフィルムが付着した円盤状ガラス試片を Bacto Peptone Water (BPW) に浸漬した後、乳酸測定キット (日本バイオコン株式会社) を用いて、薬液処理後および培養終了時点で行なった。乳酸産生量および pH 測定値は、One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準5%にて統計学的分析を行ない、各処理剤がポリマイクロバイアルバイオフィルムの酸産生に与える影響を比較検討した。

【結 果】24時間培養したポリマイクロバイアルバイオフィルムに薬液処理を行い、その後、バイオフィルム培養を継続した結果、処理直後 (乳酸産生減少率: P = 40.9%, C = 40.3%) および、その後の培養停止時点での乳酸産生量は、P 群、C 群が Cont 群に比較して有意に抑制された、さらには、培養停止時点では、C 群の乳酸産生量が増加するのに対し、P 群では顕著に抑制されていた (P = 51.2%, C = 23.3%)。また、P および C 群の処理直後における使用済み培養液の pH は、Cont に比較して有意に上昇し (Cont = 4.2, P = 6.8, C = 6.7)、その後48時間培養を継続すると、C 群では pH が下降するものの P 群の pH 下降は有意に抑制された (Cont = 4.1, P = 6.0, C = 4.8) (p<0.05)。

【考 察】P 群が C 群よりも持続的な乳酸産生抑制効果を示したことから、Pancil PS-M 中の縮合型タンニンは、細菌細胞に対し長時間にわたってダメージを与え続けていると考えられた。また、本研究では、ポリマイクロバイアルバイオフィルムモデルが、抗菌剤の生菌抑制効果だけでなく乳酸産生量の抑制効果およびその後の持続性についても評価できるモデルであることが示された。

【結 論】Pancil PS-M は口腔バイオフィルムの乳酸産生を処理直後に抑制するだけでなく、その後少なくとも48時間の乳酸産生を抑制できる可能性が示された。

S-PRG フィラー含有コンポジットレジンの *Streptococcus mutans*

の糖代謝活性に対する抑制効果

大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子制御学講座(歯科保存学教室)¹、顎口腔機能再建学講座(歯科理工学教室)²、

東北大学大学院歯学研究科 歯学イノベーションリエゾンセンター³、口腔生物学講座(口腔生化学分野)⁴

○三木彩希¹、真柳 弦³、安彦友希³、騎馬和歌子²、北川晴朗²、北川蘭奈¹、林 美加子¹、高橋信博⁴、今里 聡²

Inhibitory effects of resin composites containing S-PRG filler on glucose metabolism of *Streptococcus mutans*
Department of Restorative Dentistry and Endodontology¹, Department of Biomaterials Science², Osaka University Graduate School of Dentistry
Liaison Center for Innovative Dentistry³, Division of Oral Ecology and Biochemistry⁴, Tohoku University Graduate School of Dentistry
○Saeki Miki¹, Gen Mayanagi³, Yuki Abiko³, Wakako Kiba², Haruaki Kitagawa², Ranna Kitagawa¹, Mikako Hayashi¹, Nobuhiro Takahashi⁴, Satoshi Imazato²

【研究目的】

フルオロボロアルミノシリケートガラスの表層にグラスアイオノマー相を有する S-PRG フィラー (松風) は、 BO_3^{3-} , F^- , Na^+ , Al^{3+} , SiO_3^{2-} , Sr^{2+} といった多種のイオンを放出する特性を備えている。われわれはこれまで、S-PRG フィラーを含有するコンポジットレジン (CR) の硬化体表面では *Streptococcus mutans* の増殖が抑制されることを明らかにし、さらに、その作用が主に BO_3^{3-} と F^- の溶出に起因するものであることを報告してきた (第 136 回日本歯科保存学会学術大会, 第 62 回日本歯科理工学会学術講演会)。

ところで、抗菌性を示す成分は、増殖阻害には至らない低濃度でも細菌に対して何らかの抑制作用を発揮する場合があることが知られている。そこで今回は、S-PRG フィラーを含有する CR の *S. mutans* の糖代謝活性に対する抑制効果を、低濃度レベルの BO_3^{3-} と F^- の作用と合わせて検討した。

【材料および方法】

1. CR 硬化体表面での pH 低下抑制効果の検討: Bis-GMA 70%/TEGDMA 30% のモノマー組成で、S-PRG フィラーを 55.9 (vol)% 含有する試作 CR を調製した。ディスク状の CR 硬化体表面に、試料端から中心に至る深さ 1 mm の溝を形成し、微小 pH 電極を固定した後、その上に 1×10^8 CFU/g に濃縮した *S. mutans* NCTC10449 菌塊を接触させた。菌塊に PPB 100 μL を滴下して 37°C にて 60 分間静置した後、0.5% グルコース 500 μL を滴下し、37°C 下での pH 変動を 120 分後まで記録した。コントロールには S-PRG フィラーの代わりにシリカフィラーを含む CR を使用し、試料数は各群につき 3 とした。

2. BO_3^{3-} , F^- 存在下での代謝活性の測定: H_3BO_3 または NaF を蒸留水に溶解させて BO_3^{3-} と F^- の標準溶液を作製した。各標準液を、S-PRG フィラーからの溶出濃度の 25%, 12.5%, 6.25% となるように希釈後、*S. mutans* 菌液を加えて (1×10^5 または 1×10^6 CFU/mL) 嫌気培養を行った。18 時間培養後、吸光度測定により増殖を判定すると同時に、XTT assay にて細菌の活性を評価した。

3. BO_3^{3-} , F^- 存在下での酸産生能の測定: S-PRG フィラーからの溶出濃度の 12.5% に希釈した BO_3^{3-} または F^- 標準液に *S. mutans* 菌液を加え (約 1×10^8 CFU/mL), 37°C 下で 4 分間静置した。その後、0.5% グルコース 100 μL を滴下し、pH スタットを用いて経時的な酸産生量を測定した。得られた酸産生量曲線の傾きから、酸の産生速度を算出した。

【結果】

コントロール CR ではグルコース添加 15 分後から pH が低下し始め、120 分後には約 4.2 に達したのに対し、S-PRG フィラー含有 CR では、35 分後から pH 低下が始まり、120 分経過後も約 4.8 にとどまった。また、増殖に影響がみられない濃度の BO_3^{3-} または F^- の存在下でも、XTT assay での有意な活性抑制が認められた。さらに、低濃度のこれらのイオンの存在によって、グルコース添加 10~30 分後の酸産生速度の有意な低下が確認された。

【考察および結論】

S-PRG フィラーを含有する CR 表面では、*S. mutans* の糖代謝による pH 低下の抑制がみられた。S-PRG フィラーには酸の中和作用があることも知られているが、今回の結果からすれば、溶出した BO_3^{3-} または F^- によって *S. mutans* の代謝活性が抑制されたこともその一因となっているものと考えられる。 BO_3^{3-} と F^- は、*S. mutans* に対して、増殖抑制には至らない低い濃度レベルであっても糖代謝抑制効果を示すことより、S-PRG フィラー含有 CR 表面では、持続的な pH 低下抑制効果が発現される可能性が期待される。

人工唾液中での小窩裂溝封鎖材のフッ素溶出と脱灰抑制効果について

¹ 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系専攻摂食機能保存学講座う蝕制御学分野

○テウエ ジン イ¹、ロメロ マリア ハシント ロザリオ¹、中嶋省志¹、島田康史¹、田上順次¹

Monitoring the Fluoride Release and Demineralization Inhibition Potential of Fissure Sealants in Simulated Salivary Solutions

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

OTHWE Zin Ei¹, ROMERO Maria Jacinta Rosario H.¹, NAKASHIMA Syozi¹, SHIMADA Yasushi¹, TAGAMI Junji¹

Background and Purpose: Fluoride incorporation into fissure sealants (FS) is a viable way for caries prevention through its potential to inhibit demineralization with the release of fluoride into enamel. Numerous in vitro studies have been carried out on the fluoride measurement of dental materials but without the involvement of salivary proteins. Salivary phosphoproteins are key in tooth mineral regulation processes and preventing mineral precipitation on tooth surfaces. It has recently been reported that casein can potentially mimic the mineral regulatory function of salivary phosphoproteins in vitro (Romero et al., 2015). The aim of this study was to monitor the fluoride release (FR) of FS in artificial saliva (AS) solutions containing the salivary phosphoprotein homologue casein and assess the potential for protection against demineralization to the adjacent enamel surfaces that is exposed to the AS and not in direct contact with the PFS.

Materials and Methods. 2 x 2 x 0.5 mm Class I cavities were prepared in bovine enamel blocks (n=10) and were filled with either: control – non-fluoride containing adhesive and flowable composite resin (C), Estelite Flow Quick (Tokuyama Dental); test groups - fluoride containing FS: light cured resin sealant Teethmate F-1 (TF) (Kuraray Noritake Dental) and glass ionomer cement Fuji VII (FVII) (GC Corporation). Specimens were then incubated in AS (1mM CaCl₂, 3mM KH₂PO₄, 100mM NaCl, 100mM Na acetate, 0.02% NaN₃, 100 µg/ml casein), pH 6.3 at 37°C. AS were refreshed every 2 days for 14 days and FR were measured accordingly. Data were analyzed using Two way ANOVA with Bonferroni adjustment. Morphological assessment of adjacent enamel surfaces was performed in additional specimens (n=3) by using scanning electron microscopy. After the incubation of the enamel blocks in AS, the specimens were subsequently demineralized for 5 days at pH 4.8. Protection of the adjacent enamel surfaces from demineralization were assessed using released calcium ion measurements and swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) imaging done before and after demineralization. Total FR was measured similarly from sealant discs (n=5) incubated in deionized water (DW) for 14 days.

Results. FVII showed significantly higher (p<0.05) cumulative FR at all times than TF and control whereas TF (p>0.05) with control (Fig.1). Total FR of TF was higher (p<0.05) in DW than in AS. TF and FVII exhibited similar Ca measurements (p>0.05) which are lower than the control (p<0.05). Observation with SS-OCT showed that 50% of TF specimens had some protection against demineralization at the adjacent enamel (Fig.2-A) while other groups showed no apparent protection (Fig. 2-B,C)

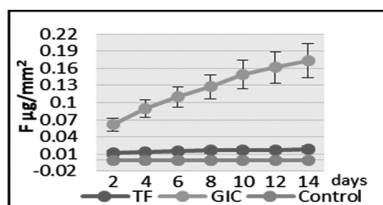


Fig.1- Cumulative fluoride release in AS containing casein

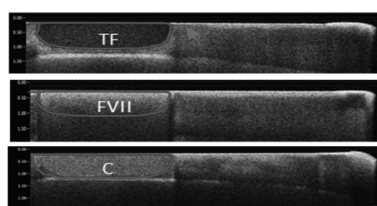


Fig. 2. SS-OCT imaging

Conclusion. Fluoride release of TF in casein-containing AS was considerably lower than FVII. Nevertheless, TF exhibited comparable or even better anti-demineralization potential. Both TF and FVII may provide protection to the adjacent enamel surface. Further studies are needed to compare and explain the mechanisms of fluoride release and utilization in different types of solutions.

BMP-1 によるヒト歯髄細胞膜糖鎖の変化

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学講座

○室町 幸一郎, 石井 信之

BMP-1 alters membrane glycosylation in human dental pulp cells

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

○MUROMACHI Koichiro, TANI-ISHII Nobuyuki

【目 的】

メタロプロテアーゼである BMP-1 は dentin sialophosphoprotein (DSPP) や dentin matrix protein-1 (DMP-1) などを分解することで象牙質の基質形成に関与すると考えられている。また、ヒト象牙質・歯髄複合体において齶蝕により修復象牙質が形成される際に BMP-1 の発現が亢進すること、BMP-1 が dynamin 依存性のエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、骨形成に関わる分泌タンパク質である CCN2/CTGF の発現を亢進することを報告してきた(第 141 回 日本歯科保存学会 秋季学術大会)。

細胞膜には種々のタンパク質や脂質が存在するが、それらには糖鎖が結合しており、糖タンパク質や糖脂質として細胞間の情報伝達や分泌タンパク質のリザーバーなど多彩な機能を有している。また、細胞の分化に伴い糖鎖の修飾に変化が現れることが知られており細胞の表現型を反映するマーカーとしても有用であると考えられている。この糖鎖はタンパク質との結合様式によって 2 つに大別され、タンパク質中のアスパラギン残基と結合する N 型糖鎖と、セリンやスレオニンと結合する O 型糖鎖が知られている。これまでの研究から BMP-1 がプロテアーゼ活性非依存的に分泌タンパク質生成を調節することが明らかになりつつあるが、それらと接する細胞膜糖鎖の発現に及ぼす影響については不明である。そこで本研究では、BMP-1 がヒト歯髄培養細胞の細胞膜糖タンパク質修飾に及ぼす影響を明らかにすることを目的に、Lectin microarray を用いて糖鎖の変化を検索した。

【材料および方法】

治療目的で抜歯予定の患者に研究のインフォームドコンセントを行い、同意を得た後に抜去された健全歯から歯髄を抽出し研究に用いた。なお本研究は神奈川歯科大学倫理委員会の承認を得て行った。(承認番号: 277)

- 1) 細胞培養: ヒト健全歯から歯髄を抽出したのち、3 代継代培養した細胞をヒト歯髄培養細胞として実験に用いた。
- 2) 細胞膜画分の抽出: recombinant human BMP-1 (100 ng/ml) で刺激したのちに、Mem-PER Eukaryotic Membrane Protein Extraction Reagent Kit を用いて細胞膜画分を抽出した。
- 3) Lectin microarray: 細胞膜画分のサンプルを LecChip(GlycoTechnica)にて解析し、細胞膜上の糖鎖プロファイリングの変化を検索した。

【結 果】

- 1) control 群と比較し BMP-1 において N 型糖鎖の修飾に有意な減少を認めた。
- 2) control 群と比較し BMP-1 において O 型糖鎖の修飾に有意な増加を認めた。

【考 察】

今回の結果から、BMP-1 による刺激によりヒト歯髄の細胞膜糖鎖に変化が現れることが明らかとなった。しかしながらこれらの糖鎖修飾の変化が BMP-1 のプロテアーゼとしての働きによるものか、あるいは糖転移酵素の発現を調節するなど細胞に直接働きかけるものであるかは今後の検討課題である。

本研究は、平成 27 年度科学研究費補助金 (若手研究 (B) No. 26861609) により行った。

象牙質-歯髄複合体の創傷治癒を促進する象牙質基質分解産物の同定

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)

○小道俊吾, 高橋雄介, 岡本基岐, 林 美加子

Identification of degraded dentin matrix components promoted wound healing process of dentin-pulp complex

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

○KOMICHI Shungo, TAKAHASHI Yusuke, OKAMOTO Motoki, HAYASHI Mikako

【研究目的】

全身の組織において細胞外基質 (Extracellular Matrix: ECM) は酸や酵素によって分解され、分解された ECM はその組織において生理学的活性を持ち創傷治癒を促進させるという報告がある。う蝕環境下においても、歯髄にとつての ECM である象牙質基質タンパク (Dentin Matrix Components: DMCs) が酸や酵素によって分解されると考えられ、Matrix metalloproteinase (MMP) 分子により分解された DMCs が象牙質-歯髄複合体の創傷治癒を促進することをわれわれは第 139 回、第 142 回日本歯科保存学会で報告してきた。

そこで本研究では、象牙質-歯髄複合体の創傷治癒促進作用を持つ DMCs 分解産物中に存在する創傷治癒を促進する特定の分子の同定を目的とし、DMCs 分解産物中に含まれるタンパクの詳細な解析ならびに DMCs 分解産物中の細胞増殖を促進する分画の検索をおこなった。

【方法】

本研究に用いたヒト象牙質試料は英国 Birmingham 大学 School of Dentistry Tooth Bank Ethics Committee の承認を受け研究を実施した (承認番号 90/H0405/33)。

ヒト DMCs と組換え MMP 分子 (MMP-1, MMP-20) を 37℃ で 24 時間反応させて、これまでにわれわれが象牙質-歯髄複合体創傷治癒の顕著な促進効果を報告した DMCs 分解産物を作成し、非分解の DMCs をコントロールとして以下の実験をおこなった。

1) 分解 DMCs 中タンパクの差異解析

MMP-1, MMP-20 により生成された DMCs 分解産物について、LC-ESI-MS/MS により質量分析を行い得られたマススペクトルに対し Mascot software を用いてデータベースとの照合をおこないタンパクの同定および差異解析をおこなった。

2) 細胞増殖を促進する分画の検索

DMCs 分解産物を液体クロマトグラフィーにて親水性に基づく分離を行い、得られたピークを各リテンションタイムに基づき 14 の分画に分類し、回収をおこなった。ヒト歯髄由来幹細胞 (DPSCs, LONZA) を 5,000 cells / well の濃度で播種し、各分画の存在下で 5 日間培養し、細胞増殖能を WST-1 法にて評価した。統計学的有意差検定は、One-way ANOVA および Tukey-Kramer 検定にておこなった (危険率 5%)。

【結果および考察】

1) 非分解 DMCs, DMCs 分解産物中のタンパクのうち大部分は共通であったが、MMP-1 および MMP-20 による DMCs 分解産物中に特有なタンパクがそれぞれ 58 種類, 30 種類、両試料に共通のタンパクが 17 種類同定された。

2) MMP-1 および MMP-20 による DMCs 分解産物中に、非分解 DMCs と比較し、有意に細胞増殖を促進する分画が認められた ($p < 0.05$)。

以上の結果より MMP-1 および MMP-20 により生成された DMCs 分解産物にはおのおの固有のタンパクが溶出しており、これらのタンパクもしくはタンパクを含む分子群の中に細胞増殖を促進する分画の存在が示唆された。今後、細胞増殖促進作用が認められた分画におけるタンパクの詳細な解析をおこない、創傷治癒を促進する分子の同定ならびに構造解析をおこなっていく予定である。

(本研究は JSPS 科研費 25462958 の助成を受けたものです。)

SAA は血管内皮細胞における接着分子の発現を上昇させる

愛知学院大学歯学部歯周病学講座

○西田 英作、相野 誠、岩村 侑樹、佐々木 康行、林 潤一郎、三谷 章雄

Upregulation of adhesion molecules in human aortic endothelial cells by serum amyloid A.

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, Nagoya, Japan

○NISHIDA Eisaku, AINO Makoto, IWAMURA Yuki,

SASAKI Yasuyuki, HAYASHI Jun-ichiro, MITANI Akio

【緒言】

近年、ペリオドンタルメディスンの研究の中で、歯周病と動脈硬化症の関連性が示唆されているが、それらは主に疫学的研究によるものである。一方、モデルマウスを用いた報告では、動脈硬化症易発症マウス (ApoE ノックアウトマウス) に歯周炎を惹起させると、急性炎症マーカーである血清アミロイド A (SAA) が上昇し、コントロールマウスと比較して、大動脈の内膜におけるプラーク形成が大きくなったとの報告もある。しかしながら、モデルマウスを用いた報告においても、多くは現象を確認しているのみで、歯周病が動脈硬化性疾患を誘発する詳細なメカニズムに関しては不明な点が多い。そこで今回我々は、そのメカニズムを解明する基礎的研究として、SAA に着目し、ヒト大動脈血管内皮細胞 (HAEC) を用いて、SAA が血管内皮細胞にどのような影響をおよぼすかを *in vitro* で解析した。

【材料および方法】

HAEC は 6 穴プレートに 1×10^5 cells/well にて播種、培養した。実験に供した細胞の継代数は 6~7 継代とし、コンフルエントに達するまで培養した。その細胞に対し、リコンビナントヒト SAA (rhSAA) にて刺激後、RNA を抽出した。cDNA に変換後、Atherosclerosis PCR Array を用いて rhSAA 刺激前・刺激後の経時的な遺伝子発現の変化を解析した。次に SAA 刺激時に重要な役割を担う receptor をスクリーニングするために、rhSAA 刺激前・刺激後の HAEC において qPCR 法にて、過去に報告のある SAA receptorの中から候補を検索した。さらに、PCR array の結果とスクリーニングされた SAA receptor からそのカスケードの仮説を立て、qPCR 法にて rhSAA 刺激前・刺激後における各遺伝子の経時的な発現変化を調べた。

【結果】

PCR array の結果、HAEC において rhSAA 刺激前後を比較したところ、接着分子である ICAM1、VCAM1、SELE が顕著に上昇し、中でも SELE の発現が最も上昇した。また、rhSAA 刺激後、遺伝子レベルにおいて最も発現が上昇する receptor は TLR2 であることが分かった。そこで rhSAA 刺激後、TLR2 signaling 下流の遺伝子 NFkB1、TNF の発現を検討したところ、それらは顕著に上昇しており、同時に SELE の発現も上昇することが分かった。

【考察】

HAEC に rhSAA を添加、刺激することにより顕著に上昇した ICAM1、VCAM1、SELE は、動脈硬化発症初期のプラーク形成過程の初期段階にて、血中の単球が、血管内皮細胞と接着 (テダリング)、その後血管内皮細胞上で回転現象 (ローリング) を起こすのに重要な接着分子である。その中で最も発現が上昇した SELE は、炎症性因子によってその発現が誘導され、血管内皮細胞表面への接着において重要な分子である。つまり、本研究では、血管内皮細胞は SAA 刺激によって炎症状態となった結果、単球を内皮表面に引き寄せているという状況を *in vitro* で再現することができた。また、HAEC において、rhSAA 刺激で最も発現の上昇した TLR2 は、そのシグナル伝達系が活性化されると、炎症性サイトカインの発現を増強することが知られているが、本研究では、TLR2 signaling 下流の NFkB1、TNF の炎症性因子の発現が上昇していることが分かった。

【結論】

今回の結果より、SAA は血管内皮細胞の TLR2 を介して炎症性因子の産生を誘導し、その後血管内皮表面の接着分子発現を誘導することで単球/マクロファージを集積させる可能性が示唆された。

ベルベリンはヒト歯根膜細胞アルカリフォスファターゼを抑制し細胞増殖を誘導する

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
○池野 修功、金谷 聡介、根本 英二、須藤 瑞樹、向阪 幸彦、島内 英俊

Berberine induces cell proliferation of hPDL cells with decreasing ALP expression.

Department of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry
○IKENO Shuko, KANAYA Sousuke, NEMOTO Eiji, SUTO Mizuki, SAKISAKA Yukihiro, SHIMAUCHI Hidetoshi

【目的】

歯周炎によって喪失した組織の再生には、多くの細胞が協調して包括的に組織を再構築することが必要である。歯根膜細胞は、再生に必要な様々な細胞への分化が可能な未分化間葉系細胞の供給源となることが知られている。

これまで、生薬は全身疾患のみならず口腔内疾患の治療および予防に用いられてきた。イソキノリンアルカロイドの一種で黄連の茎から抽出されるベルベリンは、主に止瀉薬として口内炎の治療に用いられてきた。近年、骨芽細胞をベルベリンで刺激すると、Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) p38 の活性化および Cyclooxygenase-2 (COX-2)発現増強を介して、骨分化マーカーであるオステオポンチン(OPN)、オステオカルシン(OCN)および Runt-related transcription factor 2 (Runx2)の発現を増強し石灰化を促進することから、骨再生への有用性が示唆されている。しかし、歯周組織に及ぼす作用についてはまだ報告がない。そこでベルベリンがヒト歯根膜由来細胞の増殖や分化に及ぼす影響について解析を行った。

【材料と方法】

インフォームドコンセントを得た患者の健全抜去歯よりヒト歯根膜細胞 (hPDL) を採取した。コンフルエントになった hPDL をベルベリン存在下にて 2% FBS α -MEM 培地にて所定時間培養したものを用いた。

- ①細胞増殖は WST-8 を用いた比色法、cyclin D1 の遺伝子発現を定量リアルタイム PCR 法により測定を行った。
- ②ベルベリンが細胞分化におよぼす影響についての解析：Alkaline phosphatase(ALP) 活性は p-Nitrophenyl-phosphate を基質とした比色法を用い、ALP 遺伝子発現は定量リアルタイム PCR 法を用いて測定した。
- ③シグナル伝達における MAPK の関与については各種 MAPK (p38、Erk1/2、JNK) 阻害剤を用いて検討を行った。さらに MAPK のリン酸化は Western blot 法を用いて解析を行った。

【結果と考察】

hPDL をベルベリン刺激すると 1 μ g/ml をピークとして細胞増殖が促進された。さらに同濃度のベルベリン刺激により ALP 活性の抑制がみられた。

- ①ベルベリン刺激により Cyclin D1 遺伝子の発現増強および細胞増殖の促進がみられた。
- ②ベルベリン刺激により ALP 遺伝子の発現および ALP 活性は抑制された。
- ③MAPK p38、Erk1/2、JNK のリン酸化が確認された。ALP 遺伝子および ALP 活性の抑制は MAPK 阻害剤 (ERK1/2)の添加においてのみ解除された。一方、Cyclin D1 遺伝子および細胞増殖にはこれらの阻害剤は影響を与えなかった。

【結論】

hPDL において、ベルベリンは MAPK/ERK 経路を介して ALP を抑制し、細胞増殖に対しては同シグナル非依存的に促進することが示唆された。これらの知見から漢方薬の薬効成分を新たな歯周組織再生療法に応用できる可能性が示唆された。

Spry2 抑制による M1 マクロファージへの分化抑制メカニズムの解析

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯周病学分野
○後村亮、讃井彰一、福田隆男、豊田敬介、山道研介、秋山元、西村英紀

Inhibition of Spry2 suppresses differentiation of macrophage into M1 phenotype

Department of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University
○Ryo Atomura, Terukazu Sanui, Takao Fukuda, Kyosuke Toyoda, Kensuke Yamamichi, Hajime Akiyama,
Fusanori Nishimura

【目的】

Sprouty2 (Spry2) は古典的 MAPK である ERK の抑制因子であり、これまでに演者らは、Spry2 を抑制し、bFGF と EGF で刺激を行うと、骨芽細胞の増殖と分化が亢進し、歯肉上皮細胞の増殖は抑制され、さらに、歯根膜細胞の増殖、遊走が亢進することを報告した (Sanui *et al.* 2015 *J. Cell Biochem.*)。これらのことから、Spry2 は新たな歯周組織再生療法を確立する上で標的分子となる可能性を見出した。また、演者らは前回、Spry2 抑制マクロファージを *Porphyromonas gingivalis* LPS と IFN- γ で刺激を行うと、M1 (炎症性) 型から M2 (抗炎症性) 型へと分化が強制的に転換され、そのメカニズムとして、Spry2 を抑制すると Rac1 が活性化されることによりマクロファージの efferocytosis (アポトーシス細胞の認識と除去) が誘導され、M2 型に分化がシフトする可能性を示した (第 142 回日本歯科保存学会春季学術大会)。しかしながら、Spry2 による M1 型への分化抑制のメカニズムは明らかではない。そこで本研究では、Spry2 の抑制が M1 マクロファージへの分化にどのような影響を与えるのかを検討することとした。

【材料及び方法】

マウスマクロファージ様細胞株 J774.1 を用い、リポフェクション法により Control siRNA 及び Spry2 siRNA を導入した後、歯周病原細菌である *P. gingivalis* の LPS と IFN- γ にて刺激を行い、以下の解析を行った。

1. 通常、マクロファージに Pg LPS で刺激を行うと、Inhibitor of Kappa B (IkB) の分解、Nuclear Factor-Kappa B (NF- κ B) の活性化が起こり、M1 型へ分化する。そこで、Spry2 抑制が IkB の分解、NF- κ B の活性化に及ぼす影響についてウェスタンブロッティング法で検討した。
2. 過去の研究より、成長因子の受容体であるチロシンキナーゼ型受容体 (RTK) の下流にある Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) および Akt は LPS の受容体である Toll-Like Receptor (TLR) の下流にある NF- κ B シグナルをクロストークにより抑制することが分かっている。そこで、Spry2 抑制が PI3K、Akt に及ぼす影響についてウェスタンブロッティング法で検討した。

【結果】

1. IFN- γ +Pg LPS にて刺激した J774.1 マクロファージにおいて、Spry2 を抑制すると、対照群と比較して、IkB の分解および NF- κ B の活性化が抑制された。
2. 対照群と比較して Spry2 抑制マクロファージでは PI3K の活性化、Akt の活性化が亢進した。

【考察】

今回の結果から、Spry2 を抑制すると PI3K/Akt の活性化が亢進することにより、IkB の分解、NF- κ B の活性化が抑制され、M1 マクロファージへの分化シグナルが抑制されることが示唆された。これらの結果より、Spry2 の抑制は炎症の収束に関わる可能性があることから、Spry2 は新しい歯周組織再生療法の開発に対して一助を担うことが期待される。現在、Spry2 抑制が IFN- γ 受容体シグナルの下流に及ぼす影響についても検討を加えている。

【結論】

Spry2 を抑制すると、歯周病原細菌の感染で活性化した M1 マクロファージの表現型が強制的に M2 マクロファージへと転換され、歯周組織再生に不可欠な炎症状態の収束に寄与することが示唆された。

フロアブルレジンによる大臼歯咬合面 1 級修復の接着信頼性 —咀嚼想定の動的荷重ストレスによる影響—

日本歯科大学 生命歯学部 接着歯科学講座

○河合 貴俊, 柵木 寿男, 奈良 陽一郎

Bonding reliability of class 1 occlusal molar restoration using flowable resin composite —Influence of dynamic load stress simulating mastication—

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

○KAWAI Takatoshi, MASEKI Toshio, NARA Yoichiro

【目的】フロアブルレジン近年、コンポジットレジン国内販売シェアの 50%以上を占めるに至っている。また物性の改良改善に伴い、臼歯部咬合面修復に適応とする製品が少数ながらも登場している。本研究では、フロアブルレジンによる大臼歯咬合面 1 級修復の接着信頼性について、咀嚼想定の動的荷重ストレスによる影響を含め評価検討した。

【材料および方法】被験歯には、本学部倫理審査委員会の承認を得たヒト抜去健全上顎大臼歯 42 本を用いた。修復用レジンには、臼歯部咬合面適応のフロアブルレジン 2 種、Clearfil Majesty ES Flow (Low) (EF: クラレノリタケデンタル) と MI Low Flow (LF: ジーシー)、および対照としてユニバーサルレジンの Filtek Supreme Ultra Universal Restorative (SU: 3M ESPE) を選択した。接着システムには Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE) を共用した。まず全被験歯に対し透明レジンによる咬合面形態再現用コアの作製を経て、被験歯の 3 咬頭頂による基準面に基づく規格化植立を行った。ついで、規格化窩洞形成器を用いて Fig. 1 に示す規格化咬合面 1 級窩洞 (C 値: 4.2) の形成、窩壁への接着処理、咬合面形態再現用コアを併用による窩底部から 2.0 mm を基準とした分割積層充填、湿ボックス中の 24 時間保管、形態修正・仕上げ研磨を経て、動的荷重ストレス負荷群 (S+) と非負荷群 (S-) に区分した。S+ 群には、常温重合レジンによる対合体を介し、修復物表面を含む被験歯咬頭内斜面に対する荷重負荷設定を行い、37°C 水中、157 N (16 kgf) × 30 万回 (90 回/分) の動的荷重ストレスを負荷した。その後、全試料は植立軸に平行かつ頬舌側窩縁に直行する 4 回の縦切断と頬舌側窩縁に平行な 2 回の縦切断を行い、断面積 1.0 mm² のビーム状試料 3 片を得た。全試料はクロスヘッドスピード 1.0 mm/分 で 微小引張接着強さ (μ-TBS) 値を測定し、得た値は Kruskal-Wallis 検定、Mann-Whitney 検定の後にメジアンランク法による Weibull 分析によって接着信頼性の評価を行った。なお、ビーム状試料調整中に離断が生じた試料 (ptf) については、Kruskal-Wallis 検定と Mann-Whitney 検定では 0 MPa としてデータに含め、Weibull 分析では除外した。

【成績および考察】EF/LF/SU 修復における μ-TBS 中央値 (MPa) は S- : 23.3/27.0/24.6, S+ : 22.1/16.0/14.3, ptf 数は S- : 1/2/0, S+ : 2/6/0 であった。分析の結果、ストレス有無にかかわらず、修復用レジンの違いは μ-TBS 値に有意な影響を与えないものの、LF・SU 修復では、ストレス負荷によって μ-TBS 値の減弱が認められた。Fig. 2 に、S-/S+ 条件下における 3 種修復間の μ-TBS に対する累積破壊確率の違いを示す。EF/LF/SU 修復のワイブル係数 (Wm) は、S- : 2.1/2.7/3.7, S+ : 2.2/3.5/2.5 であった。分析の結果、S- 条件では、EF・LF 修復の Wm 値が SU 修復値と比較して有意に小さいものの、S+ 条件では、LF 修復の Wm 値が EF・SU 修復値より有意に大きかった。またストレス負荷による各修復の Wm 値の変化は、EF で変化なし、LF で有意に大きくなり、SU で有意に小さくなった。更に臨床的示唆に富む S+ 条件下の累積破壊確率 10% に対する推定応力値は、EF 値 (8.7MPa) が SU 値 (7.3MPa) と同等、LF 値 (12.3MPa) より有意に小さかった。以上の結果から、EF・LF 修復は、レジン硬化時の重合収縮によって、S- 条件下においても不顕性の接着破壊が生じていることが推察できた。更にストレス負荷によって、Wm 値に基づく信頼性は同等または向上を呈するものの、その実態は ptf の増加を伴い、確実な接着信頼性の獲得に至っていないことが考えられた。

【結論】フロアブルレジンによる大臼歯咬合面 1 級修復の接着信頼性は、ユニバーサルレジンによる修復と比較して、修復直後では劣る傾向にあり、さらに咀嚼想定動的荷重ストレスの負荷によって不確実となることが推測された。

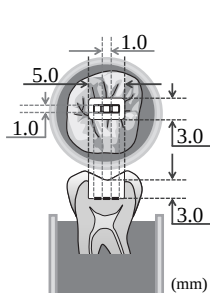


Fig. 1 Standardized class 1 occlusal cavity and three beam specimens for μ-TBS test

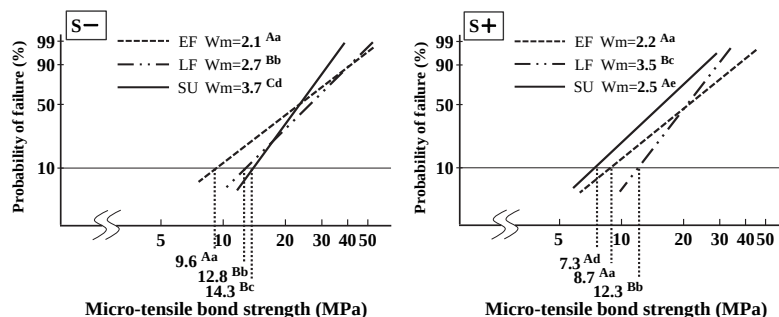


Fig. 2 Difference in the probability of failure against μ-TBS among three restorations
Different letters mean significant difference at $p < 0.05$.
Uppercase; among three restorations, lowercase letters; between S+ and S-

この研究の一部は JSPS 科研費 26462899 の助成を受けた。

各種コンディショナーを塗布した歯根象牙質に対する
レジン添加型グラスアイオノマーセメントの接着性能の評価

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う蝕制御学分野

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建工学分野

○サード アムル¹、井上 剛¹、池田 正臣²、二階堂 徹¹、田上 順次¹

Effect of dentin conditioning on bond strength of resin-modified glass ionomer cement to root dentin.

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University(TMDU)

²Oral Prosthetic Engineering, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University(TMDU)

○SAAD Amr¹, INOUE Go¹, IKEDA Masaomi², NIKAIDO Toru¹, TAGAMI Junji¹

Introduction: A resin-modified glass ionomer cement (RMGIC) has ability to bind physico-chemically to tooth structures without prior treatment. Previous studies reported dentin conditioning improved dentin bond strength. However, there were little information about dentin bonding performance of RMGIC to root dentin. Therefore, the aim of this study was to measure the microtensile bond strengths (μ TBS) of RMGIC to sound and artificial caries-affected root dentin using various dentin conditioners.

Materials and Methods. Sound and artificial caries-affected dentin (ACAD) were obtained from bovine root. ACAD lesion was created by immersion in demineralizing solution for 60 hours according to the previous methodology (Joves et al, 2013). Lesion depth (about 150 μ m) was confirmed by a swept-source optical coherence tomography system (Santec OCT-2000, Santec Co., Komaki, Japan). The specimens were ground with #600 SiC paper to obtain standardized smear layer and randomly divided to four groups; no conditioning (Non), Cavity Conditioner (CC) for 10 sec, Self Conditioner (SC) for 10 sec, and 17% EDTA (neutral pH) for 60 sec. A RMGIC (Fuji II LC capsule, GC, Japan) was then mixed and applied on the conditioned dentin. They were stored in artificial saliva for 24 hours before μ TBS test. Mode of failure after debonding was checked by scanning electron microscope (SEM).

Results.: Mean μ TBS values (MPa) and standard deviations in are shown in the Table. Two-way ANOVA revealed that both “type of dentin” and “conditioner” have a significant effect of the μ TBS to dentin. The μ TBSs in Sound were significant higher than those in ACAD for each conditioning group ($p < 0.05$). For sound dentin, there were statistically significant differences in μ TBS among the all conditioners except between CC and EDTA ($p > 0.05$). SC provides the highest value, followed by EDTA and CC. The lowest value was obtained in Non. For ACAD, SC and CC provided the highest values, in which there was no statistical difference ($p < 0.05$).

Conclusion: The effect of dentin conditioning on bond strength of RMGI depended on materials and the type of dentin. SC demonstrated superior μ TBSs to both sound and caries-affected root dentin.

Table. Mean μ TBS values of RMGIC to root dentin (MPa)

	Non	CC	SC	EDTA
Sound	12.9 $\pm$ 2.8 ^a	18.3 $\pm$ 3.3 ^c	25.3 $\pm$ 3.6	21.5 $\pm$ 3.7 ^c
ACAD	8.0 $\pm$ 2.4	11.9 $\pm$ 2.1 ^a	14.6 $\pm$ 3.5 ^a	1.3 $\pm$ 2.9

*Number of samples for each group=15, groups with same letters are not significantly different.

先制医療の実現化へ向けた光学的齲蝕診断法の開発

1:京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学 2:京都工芸繊維大学工学部セラミック物理学

3:大阪大学医学部整形外科

○足立哲也¹、山本俊郎¹、市岡宏顕¹、Marco Boffelli^{1,2}、Wenliang Zhu³、金村成智¹、
Giuseppe Pezzotti²

The development of optical dental caries diagnostic method lead to the implementation of preemptive medicine

1:Department of Dental Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine 2: Kyoto Institute of Technology, Ceramic Physics Laboratory 3: Department of Orthopedic Surgery, Osaka University Medical School

○Tetsuya Adachi¹, Toshiro Yamamoto¹, Hiroaki Ichioka¹, Marco Boffelli^{1,2}, Wenliang Zhu³, Narisato Kanamura¹,
Giuseppe Pezzotti²

(目的) 歯の喪失は、審美性、発音、咀嚼や嚥下に支障をきたし、全身の健康状態に影響を与える。この原因の約9割が齲蝕と歯周病で占められている。そのため齲蝕を早期に発見し、治療することは、QOL (Quality of Life) の維持に重要となる。近年、疾患を発症前に高い精度で予測し、疾患の発症を防止する先制医療 (Preemptive medicine) と呼ばれる概念が注目されている。歯科分野で先制医療を実現するには、齲蝕を高感度かつ高精度に検出し、予知性を有する診断法の開発が必要である。これまで、齲蝕の画像診断として主にエックス線検査が行われてきたが、この検査では初期の脱灰を透過像として観察することができなかった。また、定量性や客観性の点で不十分で、術者の主観的な判断に頼らざるを得なかった。我々は、非接触かつ非侵襲的に分子構造や結晶性を評価することができるラマン分光法に着目し、齲蝕の新規診断方法になり得るか検討した。

(方法) 京都府立医科大学倫理委員会の承認のもと (ERB-C-136)、インフォームド・コンセントを得た上で、歯周炎や智歯周囲炎により抜歯された廃棄予定の歯を検体とした。検体は修復・補綴処置されていない齲蝕歯を使用し、デンタルエックス線装置 DIGORA Optime UV (Soredex, Finland)、マイクロCT撮影装置 SkyScan1172 (Bruker, MA, USA) で齲蝕の大きさや深度をもとに分類した。ラマン分光測定はトリプルラマン分光装置 T64000 (HORIBA, 京都市) を使用し、歯の構造解析を行った。酸蝕歯モデルでは、健全歯を炭酸飲料 (pH2.5) に30秒から30分間浸漬し、それによって生じるエナメル質の最表層の脱灰の過程を、レーザーマイクロスコプ VK-X (Keyence, 大阪)、ラマン分光法を用い経時的に観察した。

(結果) デンタルエックス線では検出不可能で、高分解能マイクロCTで検出可能な約200 μ mの齲蝕をラマン分光にて解析した。ラマン分光解析の結果、齲蝕周囲のエナメル質の結晶構造由来のラマンピークは健全エナメル質のラマンピークより低周波側へ移動し、半値幅が増加することが確認できた。また齲蝕周囲のエナメル質のラマン散乱強度は齲蝕の大きさと逆相関し、低下することが確認できた。これらの新たな指標を用いることで、齲蝕の定量化が可能となった。また、酸蝕歯モデルにおいて、炭酸飲料に浸漬したエナメル質表層は、脱灰されていることをレーザー顕微鏡で確認した。その表面をラマン分光解析したところ、ハイドロキシアパタイトに帰属するラマンシフトのピーク位置が高周波数側に移動することが明らかとなった。

(考察) 齲蝕は、歯の構成成分であるハイドロキシアパタイトが齲蝕原因菌である *Streptococcus mutans* の産生する酸により、歯が脱灰されて実質欠損が起こった状態である。今回得られた齲蝕におけるエナメル質のラマン散乱強度の低下やラマンピーク位置の変化、半値幅の増加は、酸によるハイドロキシアパタイトの非化学量論的な組成の変化、結晶学的な構造変化に起因することが考えられる。またラマン分光法は、酸蝕歯モデルにおけるエナメル質の初期の表層脱灰においても、ハイドロキシアパタイト由来のラマンピーク位置の変化を検出することができた。これらの結果より、ラマン分光法は将来齲蝕になるリスクの高い歯をスクリーニングし、齲蝕を発症前に診断することができる可能性があり、先制医療を実現する診断方法になり得ることが示唆された。

試作光リフレクトメータを用いた人工初期齲蝕モデルの観察

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

モリタ東京製作所³, 近藤歯科医院⁴

○村山 良介¹, 高橋 史典¹, 古市 哲也¹, 鈴木 崇之¹, 島村 穰¹, 崔 慶一¹,

黒川 弘康^{1,2}, 宮崎 真至^{1,2}, 三畑 幸則³, 近藤 貢⁴

Observation of Artificial Carious Lesion Using Optical Time Domain Reflectometer

Department of Operative Dentistry¹, Division of Biomaterials Science,

Dental Research Center² Nihon University School of Dentistry, J. Morita Tokyo Mfg. Corp.³, Kondo Dental Clinic⁴

○MURAYAMA Ryosuke¹, TAKAHASHI Fuminori¹, FURUICHI Tetsuya¹, SUZUKI Takayuki¹, SHIMAMURA Yutaka¹, SAI Keiichi¹, KUROKAWA Hiroyasu^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, MIHATA Yukinori³, KONDO Mitsugu⁴

【緒言】 ミニマルインターベンションの普及に伴って、齲蝕を早期に発見することが望まれている。初期齲蝕はエナメル質の表層下脱灰を特徴とし、その進行の度合によって白斑を呈した際にはじめて目視が可能である。しかし、チェアサイドにおいてこのような基質の変化を定量的に評価し、介入の指標となり得る診断法は未だ確立されていないのが現状である。これまで演者らは、歯質における脱灰抑制および再石灰化傾向を、1310 nm および 840 nm の波長を有する OCT を用いて検討し、第 138 回日本歯科保存学会春季学術大会において発表した。今回、チェアサイドで、より簡便に計測が可能であり、さらに小型化を計ったペン型プローブを有した光リフレクトメータ OTDR(Optical Time Domain Reflectometer)を用い、人工初期齲蝕モデルのエナメル質脱灰の程度を評価した。

【材料および方法】 試片は、ウシ下顎前歯歯冠部唇側面中央付近の歯質を、モデルトリマーを用いて直径 4~6mm のエナメル質および象牙質で構成されたブロックとして切り出し、調整した。人工初期齲蝕モデルの製作は、エナメル質表面に直径 3mm の円筒状チップを固着し、8%メチルセルロースを注入、24 時間静置した後、その上層に pH4.6 の乳酸からなる溶液を注入、37℃で 30 日間静置し、人工初期齲蝕部位と健全部位が存在する試片を作成した。脱灰の状況は超音波透過法による縦波音速の系時的变化を測定することで評価した。

超音波送受信装置としては、パルサーレーザ（Model 5900PR, Panametrics）、縦波用トランスデューサ（V112, Panametrics）およびオシロスコープ（Wave Runner LT584, LeCroy）から構成されるシステムを用いた。さらに試片表層の脱灰状況の観察には走査型レーザ顕微鏡（KEYENCE, VK-9700）を用いた。

計測には波長 1310nm の試作光リフレクトメータ（モリタ東京製作所）を用いた。さらに、波長 1310nm の TD-OCT 装置を同時に使用し、イメージ像の変化を客観的に把握した。すなわち、TD-OCT から信号強度分布グラフを得ることで信号強度を解析し、ピーク値およびその非対称な波形のピーク強度値から 86.5%に低下した値（ $1/e^2$ 値）におけるピーク波形の基底幅（ $1/e^2$ 幅）を求め、経時的变化に対する変化量との関連性について検討した。また、波形の積分値を求め、定量的に評価した。

【成績および考察】 試作光リフレクトメータによる人工初期齲蝕部位の信号強度分布（A-scan）は、健全面に比べ高いものであり、波形の基底面は増加する傾向が得られた。TD-OCT から得られた信号強度分布を解析した結果、波形の基底面に一致する $1/e^2$ 幅は健全面よりも有意に増加した。積分値は若干の変化があったものの、有意の差は無かった。人工初期齲蝕部位の超音波縦波音速の変化は、経時的に減少する傾向が得られた。レーザ顕微鏡による人工初期齲蝕部位のエナメル質表面は、健全面に比べ粗造な面を呈しており、エナメル質の表層を一部残し、内部に広がることを示すものであった。これらのことから $1/e^2$ 幅の増加はエナメル質表層の光学的性質の変化に起因するものと考えられる。すなわち、人工初期齲蝕部位は表層下脱灰によってエナメル質の構造が崩れ、内部での光干渉性が向上したため、信号検出が可能になったものと考えられた。

【結論】 本実験で用いた試作光リフレクトメータは、人工初期齲蝕部位と健全面の信号の差を検出することが可能であった。以上のことから、試作光リフレクトメータによる初期齲蝕病巣の評価が可能であることが示唆された。



Fig 1.
Optical Time Domain
Reflectometer

根面う蝕の硬さ-深さ曲線における軟化の特徴

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座

○清水明彦

The Common Characteristic of Hardness-Depth Curve in Root Caries
Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine
○SHIMIZU Akihiko

【緒言】

高齢者や口腔機能の低下した患者などに多発する根面う蝕については、その対応が難しく、多くの歯科医が適切な治療法を模索しているのが現状であろう。咬合面う蝕の場合は、う蝕表層から深部に向ってその硬さを増し、軟化開始部より深部では健全象牙質の硬さを維持している。それ故、臨床でスプーンエキスカバータを使っとう蝕を削除すると、次第に切削抵抗が大きくなりそれ以上の削除は困難なエンドポイントに至る。しかし臨床で根面う蝕を削除する場合、削除を繰り返しても、硬さの変化が分からず、削除のエンドポイント分からないことが多い。

そこで本研究の目的は、根面う蝕の硬さを微小硬度計で測定し、軟化のパターンを明らかにすることである。

【材料と方法】

ヒト抜去歯（兵庫医大倫理審査承認番号 586 号）の中から根面う蝕を有する歯を選んだ。歯軸方向に耐水研磨紙を使って歯をすり減らし、最終的に#8000 番で仕上げ研磨し、う蝕断面を露出させた。微小硬度計（Akashi MVK-E）を用いて、荷重 25g、負荷時間 15 秒の条件でヌーブ硬さを測定した。

硬さ測定は、う窩底中央部から象牙細管の走行に沿って 50 μm 間隔で歯髄壁部までとした。また対照としては、硬さを測定したう蝕部に近く、かつセメント質が存在する健全歯根象牙質について、セメント-象牙境から同様に歯髄壁部までの硬さを測定した。

得られたデータから、硬さ-深さ曲線を作成し、根面う蝕における軟化の様相を健全象牙質の硬さと比較した。

【結果】

う蝕の程度により硬さ-深さ曲線のパターンに違いはあるものの、多くの根面う蝕において、う蝕の表層部から歯髄壁部に至る全域において、硬さが低下しているのが認められた（右図）。

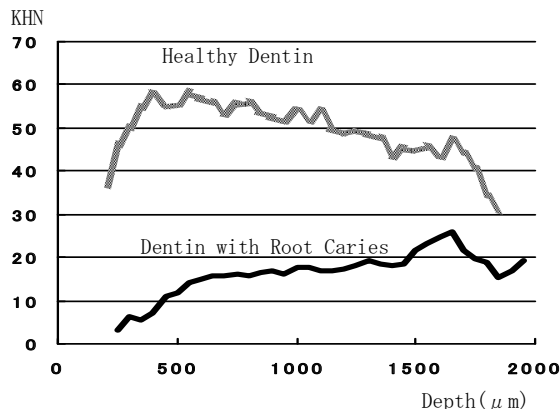
一方、う蝕によっては、その最深部において、健全象牙質と同等、あるいはそれ以上の硬さを示すものもあった。

【考察】

う蝕における軟化のパターンを明らかにするために、硬さ-深さ曲線を作成したところ、ほとんどの根面う蝕では表層部から歯髄壁部に至る全域において硬さが低下していたが、その理由として、以下のようなことが考えられる。根面象牙質を覆うセメント質は、その厚みにおいても硬さにおいても咬合面エナメル質の 20 分の 1 ほどであり、う蝕の侵襲により容易に崩壊し消失すると考えられる。短時間のうちにセメント質を失った歯根象牙質は、咬合面象牙質のように生活反応を利用してう蝕の侵襲を食い止める時間的余裕がなく、その結果、象牙質の全域がう蝕の影響を受け、う蝕の直下から歯髄壁部に至る全域に渡って硬さが低下したものと推察される。

【まとめ】

抜去歯の根面う蝕について、硬さ-深さ曲線を作成し軟化のパターンを調べたところ、多くの根面う蝕においては、う蝕表層部から歯髄壁部に至る象牙質の全域において硬さが低下していることが示された。



マイクロ CT を用いたコンポジットレジンおよび
ガラスアイオノマーセメント修復物周囲の根面脱灰抑制効果の解析

東京医科歯科大学大学院 歯科学総合研究科 口腔制御学分野
○カイン ウィンザン、住谷雄大、中村圭喜、半場秀典、二階堂徹、田上順次

Micro-computed tomography assessment on in vitro root demineralization around resin composite and glass ionomer restorations

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○KHINE Win Zan, SUMITANI Yuta, NAKAMURA Keiki, HAMBA Hidenori, NIKAIDO Toru, TAGAMI Junji

Background and Purpose: In the aged population, there is an increase in number of exposed root surfaces, leading to an increase in prevalence of root caries. Restoration of root dentin carious is challenging and several restorative materials, such as resin composite, glass ionomer cement, and resin-modified glass ionomer cement, have been used. Micro-CT assessment enabled 3D nondestructive analysis in mineral density (MD) and mineral loss (ML) of enamel demineralization (Hamba H. et al., J Dent, 2011). Therefore, the purpose of this study was to assess inhibitory effect of three different types of restorative materials against acid attack around the restorations by using micro-CT.

Materials and Methods: The dentin specimens were prepared from buccal surfaces of bovine roots. In each specimen, a cavity (2 mm diameter and 2 mm depth) using a diamond bur (#202, Shofu, Japan) surrounding by 1 mm tooth structure was prepared. All surfaces of each specimen were ground with #600 SiC paper under running water. One of three restorative materials; Clearfil SE Bond/Clearfil Majesty ES High Flow (Kuraray Noritake Dental, Japan) (SE-ES), FL-BOND II/Beautiful Flow F10 (Shofu, Japan) (FL-BF), and Fuji VII capsule (GC, Japan) (Fuji VII), was placed in the cavity according to the manufacturers' instructions. They were then immersed in artificial saliva (pH 7.0) for 24 hrs at incubator (37°C). The surfaces of the restorations were ground with #600 SiC paper under running water. All surfaces of each specimen were covered with nail varnish, leaving a window (3 mm x 3 mm) exposed on the polished surface. They were immersed in demineralizing solution (pH 4.5) for 24 hr, followed by 72 hr. All the specimens were scanned with micro-CT (Inspexio SMX-100 CT, Shimadzu) (1024 x 1024, 5 µm/pixel) at three times; before demineralization, and after 24 hr and 96 hr demineralization, respectively. Following this, the MD and ML values of dentin around the restorations were calculated from the mineral profile of each specimen (TRI/3D BON, -DIF, -TMD, Ratoc, Tokyo, Japan). The data were statistically analyzed by one-way ANOVA with Tukey's test. In order to confirm and compare the micro-CT results, the same specimens are being observed with scanning electron microscopy.

Results: Fuji VII showed the lowest lesion depth among three groups after 24 and 96 hr demineralization, followed by FL-BF and SE-ES. Fuji VII showed the highest MD after 24 hr and 96 hr demineralization. SE-ES and FL-BF showed similarity in MD after 24 hr demineralization, while FL-BF showed higher MD value than SE-ES after 96 hr demineralization. The ML value provided with Fuji VII was significantly lower than those with SE-ES and FL-BF after 24 hr and 96 hr demineralization. However, there were no significant differences between SE-ES and FL-BF after both 24 hr and 96 hr demineralization.

Conclusion: Fuji VII has more inhibitory effect on root dentin demineralization compared to SE-ES and FL-BF. Micro-CT demonstrated quantitative assessment of detecting mineral loss, mineral density and lesion depth of root dentin around the filling materials.

コンポジットレジン®の弾性率が レジン支台築造歯の内部応力分布に及ぼす影響

¹ 東京医科歯科大学大学院 摂食機能保存学講座 う蝕制御学分野

² 東京医科歯科大学大学院 摂食機能保存学講座 部分床義歯補綴学分野

○千葉彩香¹ 畑山貴志¹ 貝ノ瀬公典¹ 中島正俊¹ 若林則幸² 田上順次¹

**The influence of elastic moduli of resin composites on stress distributions in resin build-up teeth
with or without fiber posts.**

¹ Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University

² Removable Partial Prosthodontics, Tokyo Medical and Dental University

○Ayaka Chiba¹, Takashi Hatayama¹, Kimisuke Kainose¹, Masatoshi Nakajima¹, Noriyuki Wakabayashi², Junji Tagami¹

【目的】

近年、根管処置歯の修復において広く用いられているファイバーポスト・コンポジットレジン支台築造法は、重篤な歯根破折などのトラブルを回避することができると報告されている。これは、これまで用いられてきた金属製既成ポストや鋳造ポストと比べ、象牙質に近い弾性率をもつファイバーポストおよびコンポジットレジンを用いることで、ポスト先端部における応力集中を軽減できることによるものとされている。一方で、実際に用いられているコンポジットレジンの弾性率は象牙質より低く、また様々であることが報告されている。しかしながら、コンポジットレジンの弾性率がレジン支台築造歯の内部応力分布にどのような影響を与えるかについての報告は少ない。本研究の目的は、レジンポスト&コアおよび歯根の内部、さらに両者の接着界面に生じる最大応力を基に、コンポジットレジンの弾性率が内部応力分布に及ぼす影響をファイバーポスト埋入の有無の影響とともに、有限要素法を用いて検証を行うことである。

【方法】

根管治療後の第一小臼歯歯根、歯根膜、歯槽骨、根管充填材、レジンコアおよびセラミッククラウンからなる三次元ボリュームを製作した。各部は接着していると仮定し、弾性係数とポアソン比は報告されている実験値を引用し、象牙質の弾性率はこれまでの報告から 18000 MPa、コンポジットレジンの弾性率に関しては 12000/18000/24000 MPa の 3 種類に設定した。6 mm のポスト窩洞にファイバーポストを埋入したものと埋入していないコンポジットレジン支台築造モデルを作成し、各モデルを六面体要素により分割し、節点数 178,860、要素数 126,336 で有限要素法解析を行った。骨の底面を固定し、歯軸方向から頬側に 45° 傾斜した 400N の荷重をクラウン頬側咬頭頂に負荷し、ポストコアおよび歯根内部のミーゼス応力並びにレジンコアと歯根の接合界面におけるせん断応力を算出した。

【結果および考察】

本実験の条件下では、今回用いたコンポジットレジンの弾性率のどのモデルにおいても、重篤な歯根破折を誘発するポスト先端部における応力集中は認められなかった。一方で、舌側(非荷重側)歯槽骨頂部に見られた歯根部の応力集中は、ファイバーポスト埋入の有無による影響は少なく、コンポジットレジンの弾性率が高くなるにつれ減少した。

また、レジンコア上面中央部に生じた内部応力をファイバーポスト埋入により著しく軽減させることができたが、レジンコアの舌側(非荷重側)歯頸部辺縁ではファイバーポスト埋入により内部応力を増加させ、コンポジットレジンの弾性率が低いほどその影響は大きかった。

舌側(非荷重側)および頬側(荷重側)歯頸部のレジン-歯根接合界面に生じたせん断応力において、ファイバーポストの埋入による軽減効果はなく、コンポジットレジンの弾性率を高くすることにより小さくなった。

本研究の解析モデルでは、歯質とコンポジットレジンが完全に接着していることを想定し各部の応力を算出している。接着界面が部分的に破断することによりレジン支台築造歯の内部応力分布は変化し、コンポジットレジンの弾性率やファイバーポストの有無の影響は変わってくるものと思われるが、完全接着モデルにおいてレジン支台築造歯の接着の破断リスクを軽減させるためには、象牙質に近似した、もしくはやや高い弾性率のコンポジットレジンを選択することが有用であると考えられる。

【結論】

歯根内部および接合界面に生じる応力は、ファイバーポスト埋入によって軽減されず、コンポジットレジンの弾性率を高くすることにより小さくなった。レジンコア内部の応力分布では、コンポジットレジンの弾性率が高くなることにより応力が大きくなったが、ファイバーポスト埋入による応力の増減は部位によって異なった。

くさび状欠損を想定したクラックと脱灰の進行モデルに関する検討

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野
○中村圭喜, 半場秀典, 住谷雄大, カインウィンザン, 二階堂徹, 田上順次

Relationship between micro-crack and demineralization using micro-CT
Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
○Keiki Nakamura, Hidenori Hamba, Yuta Sumitani, Khine Win Zan, Toru Nikaido, Junji Tagami

【緒言】

近年、ブラキシズムによる咬耗や加齢変化によってエナメル質の菲薄化が問題となっている。エナメル質が菲薄化した歯牙に過度な咬合力が加わることにより、エナメル質から象牙質へ達するクラックが生じる可能性がある。特に、歯頸部に生じるくさび状欠損の多くは、エナメル質の咬耗やブラキシズムが原因であることが示唆されているが、クラックと欠損との関係については不明な点が多い。試料を破壊することなく三次元的に観察可能なマイクロ CT は、内部構造の観察に有用であり、演者らは、歯牙に生じたクラックの観察およびミネラルの定量評価が可能であることを報告した(第 140 回日本歯科保存学会)。本研究の目的はマイクロ CT を用いて、微小クラックと脱灰進行の関係を検討することである。

【材料と方法】

抜歯後に水中保管されたヒト健全小臼歯 6 本を使用した。抜去歯の使用に際しては、東京医科歯科大学倫理審査委員会の承認(第 725 号)を得た。軟組織を除去し、歯面をブラシで清掃後、常温重合レジンを用いて試料台に固定し、マイクロ CT (SMX-100CT, 島津製作所)を用いて、管電圧 100 kV、管電流 30 μ A、解像度 1024 $\times$ 1024 pixel、スライス厚 10 μ m、ビームハードニング補正の条件下で連続的な断層撮影を行った。断層撮影された画像は、画像処理ソフト (TRI/3DBON, ラトックシステムエンジニアリング)により三次元構築を行い、観察・分析に供した。CEJ から 1mm 以外の根面にネイルバーニッシュを塗布し、人工脱灰液に 7, 14 日間浸漬した。脱灰後に断層撮影を行い、クラックの程度および脱灰変化を解析した。また、観察後の試料を包埋、半切し、研磨後に SEM 観察を行った。実験期間中は試料の乾燥を防ぐために、密閉パック(湿度 100%)にて保管した。マイクロ CT と SEM 観察で得られたエナメル質および象牙質に生じた亀裂の幅および浸透を求め、統計学的処理を行った。

【結果および考察】

マイクロ CT 観察において、クラックが観察されない群では根面に平面的な脱灰が観察され、CEJ に沿って脱灰が進行する像が観察された。一方クラックが認められた群では、有意に高い脱灰によるミネラル喪失を示した。脱灰の進行により、CEJ のエナメル質が菲薄になって残存する形態が観察された。SEM 観察では、マイクロ CT と同様にクラックが観察され、クラックに沿って脱灰が進行している像が観察された。クラック周囲の脱灰程度が大きかったことから、脱灰がクラックに沿って進行した場合に、くさび状欠損をより速く進行させる可能性を示唆した。日常的に観察されるクラックにおいて、歯頸部に生じたクラックは咬合による可能性が高く、今後の検討課題である。

【結論】

歯冠部にクラックを有する歯牙はクラックを認めない歯牙よりも脱灰が進行することが示唆された。マイクロ CT 解析は、三次元的にクラックおよび脱灰を観察することができ、くさび状欠損を想定したモデルの経時的観察に有用であることが示された。

新規近赤外光口腔内カメラによるフィッシャーシーラント面の観察

日本大学歯学部小児歯科学講座
○高森一乗

Observation with new near infrared dental camera of disk surface after applied pit and fissure sealants

Department of Pediatric Dentistry, Nihon University School of Dentistry
○TAKAMORI Kazunori

【緒言】

新しく認可された波長 780nm のレーザーを応用した透過光齲蝕検査装置である DIAGNOcam (以下 cam とする) は、永久歯のみでなく乳歯齲蝕にも有効性が高いことを演者は報告した¹⁾。本装置の特徴としてエックス線被曝なく齲蝕の画像検査が可能であることより、今後小児歯科臨床で幅広く応用されていくものと考ええる。

フィッシャーシーラント (以下 FS とする) は、乳歯や幼若永久歯の小窩裂溝部の齲蝕予防効果が高いことより臨床で頻用されている。我々は臨床において FS 填塞面を cam にて観察し、歯質よりやや陰影を呈することを報告した²⁾。cam は FS 下、周囲の齲蝕検査にも応用が可能と考えられるが、cam を用いて FS 処置後の歯面を詳細に検討した研究はない。今回、各社の FS が cam の取得画像にどのような影響を与えるかについて基礎的な検討を行ったところ興味ある知見が得られたので報告する。

【試料ならびに方法】

工業用アパタイトディスクを用い、ディスク表面に深さ 1.0mm となるように裂溝を想定した溝を形成し、FS をメーカー指示に従って填塞した。FS として Teeth mate F1^R 2.0 (以下 TF_n (無色), TF_r (赤色), TF_w (白色 (不透明)) とする; Kuraray Noritake Dental), ClinproTM Sealant (以下 CS とする; 3M), Beauty Sealant (以下 BS とする; SHOFU), Fuji III LC (以下 III LC とする; GC) を用いて、光照射器 (Pencure, モリタ) にて 30 秒間照射を行った。なお歯面処理に関しては各メーカーの指示に従って行った。填塞後に cam にて画像採取し、得られた画像データを画像解析ソフト Image J (NIH) を用いて各 FS のコントラストを 256 階調にて 3 か所測定し、最も高い値を代表値とした。

【結果】

各 FS の填塞前・後のコントラスト値の変化は、CS が最も大きく次いで BS, TF_w であった。TF_n, TF_r は填塞前後でほとんど変化が認められず、III LC は両者の中間程度の変化を示した。TF_n, TF_r と III LC 間には有意差が見られなかったが BS ならびに CS 間とは有意差を認め、製品やその色調により cam 画像の特性が異なることが明らかとなった。

【まとめならびに考察】

基礎研究において填塞面の cam 画像のコントラストは歯冠色を呈する FS 製品において大きく変化することが明らかとなった。その理由として含有物ならびにその量の違いによるものと考えられた。

cam の齲蝕検査は、健全歯質と齲蝕罹患歯質とのコントラストの変化をその要点としており、FS 下、周囲の齲蝕検査においては、FS の製品によりその画像特性が異なることを考慮に入れる必要がある。一方で FS とディスク表面との境界は明瞭であることより、FS の填塞状況の確認に本装置の有用性が示唆された。

【文献】

- 1) 高森一乗他：乳歯齲蝕検査に DIAGNOcam を使用した症例；日レ歯誌 25, 148-152, 2014.
- 2) 高森一乗他：乳歯ならびに幼若永久歯の齲蝕診査に歯科診断用口腔内カメラを用いた症例；障歯誌 35, 405, 2014 (抄).

成人を対象とした **Tooth Wear** に関する調査 (第三報) 多変量解析による酸蝕症関連因子の年齢階級別検討

東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野¹ 東京医科歯科大学研究・産学連携推進機構²

○北迫勇一¹、佐々木好幸²、高垣智博¹、田上順次¹

Epidemiological study on Tooth Wear for adult population

Part 3: Factors associated with the incidence of erosive wear: A logistic regression analysis

¹Cariology and Operative Dentistry, Graduate school of Medical and Dental Sciences, ²Research and

Industry-University Alliance Organization, Tokyo Medical and Dental University

○Yuichi Kitasako¹, Yoshiyuki Sasaki², Tomohiro Takagaki¹, Junji Tagami¹

[研究目的]

演者らは、第 139 回および第 140 回保存学会において、成人を対象とした **Tooth Wear** に関する調査報告した。今回、多変量解析を用いて酸蝕症関連因子の年齢階級別検討を試みたので報告する。

[材料と方法]

本研究趣旨に同意が得られた被験者 1108 名 (平均年齢 49.1 歳) に対し、**Tooth Wear** に関する口腔内診査を全顎的に行った後、生活習慣に関するアンケート調査を実施した。すなわち、アンケート調査では、各種酸性飲食物の摂取状況 (種類と頻度) のほか、夜中に水を摂取する頻度、寝酒の有無、胸やけの有無ならびに持続的な嘔吐の有無 (有の場合はその頻度) について調査した。**Tooth Wear** スコア結果は、10 歳年齢階級、酸蝕有無 (酸蝕症群・非酸蝕症群)、各種アンケート結果は、10 歳年齢階級および酸蝕有無別に各々 % 表示で集計した。その後、両結果を、ロジスティクス解析 (変数増減法: **Step-wise** 法で変数選択) を用いて統計学的に解析し、酸蝕症と関連する日常生活習慣について検討を行った。

[結果および考察]

酸蝕症は、全世代を通じ 26.2% で認められた。各世代における酸蝕症関連因子のオッズ比・95% 信頼区間値・p 値を表 1 に示す。10-30 代では炭酸飲料など酸性飲料が、40 代~70-80 代では、これに加えて酸性果実が主たる要因として関連していた。また、スポーツ飲料が全世代において要因となりうる事が示唆され、その背景としてスポーツ時の摂取のみならず、熱中症対策と全世代で摂取される影響が考えられた。

[結論]

多変量解析を用い年齢階級別の酸蝕症関連因子について検討した結果、世代間で異なる要因 (酸性飲食物など) と全世代に共通する要因 (スポーツ飲料など) が示唆された。

Table 1. Stepwise multiple logistic regression analyses for association of erosive tooth wear in different age groups.

	Odds ratio	95%CLs		p-Value		Odds ratio	95%CLs		p-Value
		Lower	Upper				Lower	Upper	
15-29 yrs (EP: n = 59, EN: n = 132)									
● Carbonated soft drinks					(40-49 yrs cont.)				
AE vs. ST & NE	3.50	2.13	6.13	< .0001	● Energy drinks				
● Sport drinks					AE vs. ST & NE	4.71	1.46	16.10	0.0086
AE & ST vs. NE	2.11	1.48	3.05	< .0001	● Orange & Grapefruit juice				
					AE vs. ST & NE	4.09	1.57	12.59	0.0059
30-39 yrs (EP: n = 48, EN: n = 132)									
● Carbonated soft drinks					● Repeated vomiting				
AE vs. ST & NE	4.35	2.48	8.15	< .0001	WE vs. MO & NE	5.81	1.67	30.08	0.0107
● Energy drinks					50-59 yrs (EP: n = 41, EN: n = 141)				
AE & ST vs. NE	1.85	1.08	3.21	0.0254	● Grapefruit				
● Vinegar drinks					AE vs. ST & NE	3.89	1.99	8.64	0.0002
AE vs. ST & NE	5.69	2.04	20.55	0.0021	● Sport drinks				
● Orange & Grapefruit juice					AE vs. ST & NE	2.50	1.16	5.81	0.0211
AE vs. ST & NE	4.63	2.52	9.15	< .0001	● Vinegar drinks				
● Consumption of acidic drinks per day					AE & ST vs. NE	1.90	1.25	5.81	0.0027
3T & 1-2T vs. NE	3.67	1.47	13.69	0.0180	60-69 yrs (EP: n = 48, EN: n = 138)				
● Drink water around midnight					● Grapefruit				
AE & ST vs. NE	1.64	1.04	2.66	0.0254	AE vs. ST & NE	3.34	1.96	5.99	< .0001
● Repeated vomiting					● Carbonated soft drinks				
WE vs. MO & NE	3.73	1.26	11.87	0.0157	AE & ST vs. NE	2.30	1.49	3.60	0.0002
40-49 yrs (EP: n = 45, EN: n = 146)									
● Orange					● Sport drinks				
AE & ST vs. NE	2.60	1.53	4.84	0.0010	AE & ST vs. NE	1.72	1.16	2.56	0.0071
● Foods in sweetened vinegar					70-89 yrs (EP: n = 49, EN: n = 129)				
AE & ST vs. NE	3.94	1.97	8.45	0.0002	● Apple				
● Carbonated soft drinks					AE vs. ST & NE	1.82	1.27	2.61	0.0010
AE vs. ST & NE	3.06	1.47	6.55	0.0027	● Have a drink at bedtime				
● Sport drinks					AE vs. ST & NE	3.81	1.41	17.14	0.0199
AE vs. ST & NE	12.65	4.61	59.37	< .0001					

EP: Erosive wear positive group, EN: Erosive wear negative group, AE: Almost every day (5 or more days per week), ST: Sometime (1 to 4 days per week), NE: Never, 3T: 3 times or more, 1-2T: 1-2 times, WE: over 1 time per 1 week, MO: over 2 time per 1 month.

口腔内カメラの映像を見ながら行う窩洞形成 第2報：直視で行う上顎大臼歯一級の窩洞形成との比較

¹ 鶴見大学歯学部保存修復学講座, ² 藤江デンタルクリニック

○藤江英宏^{1,2}, 林応璣¹, 齋藤渉¹, 英將生¹, 藤江進², 桃井保子¹

Cavity Preparation with Live Video Captured by an Intraoral Camera

Report 2: A Comparison with Class 1 Cavity Preparation in Upper Molar under Direct Vision

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine¹

Fujie Dental Clinic²

○FUJIE Hidehiro^{1,2}, HAYASHI Oki¹, SAITO Wataru¹, HANABUSA Masao¹, FUJIE Susumu², MOMOI Yasuko¹

【緒言】私たちは第 141 回学会大会にて口腔内カメラの映像をテレビモニターで見ながら行う窩洞形成がミラーで見ながら行う方法よりも正確であることを報告した。しかしミラーで見ながら行う窩洞形成は概して直視での窩洞形成のレベルに達しない学生が多い。今回の研究の目的は窩洞形成の実習を終了した学生に追加で短時間の口腔内カメラのトレーニングをさせた場合、直視での窩洞形成と比較して口腔内カメラの映像を見ながら行う窩洞形成がどの程度正確にできるかを調べた。なおこの研究に利益相反関係にある企業はない。

【材料および方法】保存修復学の講義および実習を終了し、実技試験にも合格した学生 24 人 (男性 12 人, 女性 12 人) を対象者とした。この研究は本学歯学部倫理審査委員会の承認を受けた (受付番号 1104)。彼らは正規の実習の中で直視での窩洞形成の実習を 30 時間受けている。対象者は実験の直前に 2 時間 30 分のトレーニングを受けた。トレーニングは口腔内カメラの使い方と映像を見ながら左上第一大臼歯の窩洞形成する内容であった。今回の実験では口腔内カメラ (サテライトスコープ DP6ver. 2, アールエフ) の映像を液晶テレビ (アクオス LC-13S1-S, シャープ) に映して行ったが、映像は 180 度回転し左右反転したものを用いた。実験ではマネキンの左上第一大臼歯の人工歯の窩洞形成を 1 本目は直視で、2 本目は口腔内カメラの映像を見ながら行わせた。人工歯は咬合面が平坦になっていて、その中央には円柱状 (直径 7mm, 深さ 4mm) にピンク色のセメント (キャビトン EX, ジーシー) が充填されている。そのセメントの回りには黄色い石膏 (ニュープラストーン, ジーシー) が充填されている。対象者はインレー形成用ダイヤモンドポイント (301, 松風) で人工歯の中央にあるセメントをできるだけ完全に削りとり、なおかつまわりの石膏をできるだけ削らないように指示された。形成には時間制限を設けずに対象者が終了したと思うところまで行わせた。実験終了後、直視および口腔内カメラを使って窩洞形成した人工歯の重量を測定した。削り過ぎた石膏の重量と削り残したセメントの重量を算出し、2 つの方法を比較した。正確に窩洞形成できるほど、削り過ぎと削り残しの材料の重量は少なくなるはずである。統計解析は 2 つの材料の重量をウィルコクソンの符号付順位検定 (有意水準 5%) で行った。窩洞形成にかかった時間についても測定し、対応のある T 検定 (有意水準 5%) を行った。

【結果】削り過ぎた石膏の重量は直視と口腔内カメラを使った場合、それぞれ 62.7 ± 21.1 mg, 69.6 ± 26.2 mg で有意差はなかった。削り残しのセメントの重量は直視と口腔内カメラを使った方法でそれぞれ 22.0 ± 10.1 mg, 20.3 ± 7.8 mg で有意差はなかった。窩洞形成に要した時間については直視と口腔内カメラを使った方法でそれぞれ 355 ± 81 秒, 409 ± 70 秒であり、口腔内カメラを使った方が有意に長い時間を必要とした。

【考察】今回の実験では直視による窩洞形成と口腔内カメラの映像を見ながら行う窩洞形成を比較しているが、トレーニング時間が大きく異なる。直視で窩洞形成をトータル 30 時間行ったのに対して、口腔内カメラは 2 時間 30 分だった。それでも実験の結果、削り過ぎの石膏と削り残しのセメントの重量に有意差が認められなかった。そこから考えられることは口腔内カメラを使う窩洞形成は比較的短時間のトレーニングで合格レベルの正確性を得られるということである。窩洞形成に要する時間について口腔内カメラを用いる方が若干長かったが、トレーニング時間が直視に比べてはるかに少ないことを考慮すると、口腔内カメラを使う窩洞形成は必ずしも長時間になるとは言えない。今後、実験の前提条件を一致させた研究を行う必要がある。

今回の実験では窩洞形成中の対象者の姿勢に大きな違いが見られた。口腔内カメラの映像を見ながら行う窩洞形成では背筋がのびた良い姿勢を保っていたのに対して、直視での窩洞形成では大きく姿勢を崩し極端に前かがみになっていた。つまり診療姿勢に関しては口腔内カメラを用いる方法の方がはるかに優れていた。

【結論】口腔内カメラの映像を見ながら行う左上第一大臼歯の窩洞形成はトレーニング時間が比較的短いにもかかわらず、長時間トレーニングした直視での窩洞形成と有意差のないレベルの正確性に達することが示された。

ADAMTSL6 β を介したマルファン症候群モデルにおける組織破壊機構の解析

東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座 歯科保存学分野
○折本 愛、二木 正晴、石河 真幸、半田 慶介、齋藤 正寛

Analysis of tissue destruction mechanism by ADAMTSL6 β in a Marfan syndrome mice model.
Department of Restorative Dentistry, Division of Operative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry
○Ai Orimoto, Masaharu Futagi, Masaki Ishikawa, Keisuke Handa, Masahiro Saito

【背景】

ADAMTSL6 β は ADAMTS super family に属する細胞外マトリックス (ECM) でオキシタラン線維の主成分である fibrillin-1 (Fbn-1) の重合に関与している。これまで我々は、Fbn-1 の遺伝子変異が原因でおこるマルファン症候群 (Marfan's syndrome; MFS) のモデルマウスを用いて、ADAMTSL6 β が歯根膜で崩壊されたオキシタラン線維を修復する作用を有している事を見出した。しかし ADAMTSL6 β を介したオキシタラン線維の重合促進作用に関して、どのような ECM ネットワークを介してオキシタラン線維形成を誘導しているかは不明な点が多い。近年、同じく ADAMTS super family に属する ADAMTS メタロプロテアーゼと ADAMTSL6 β が結合する事が報告され、これらの分子の複合体がオキシタラン線維の形成機構に関与している事が報告された。そこで本研究では、MFS のモデルマウスを用いて、ADAMTSL6 β が誘導するオキシタラン線維形成促進作用に関して、同症候群の主たる死因である解離性大動脈瘤への関与が報告されている ADAMTS4 に及ぼす影響を、組織破壊が進行する平滑筋層で解析した。

【方法】

1. C1039G/TSL6 β -TG の作製: 解離性大動脈瘤を発症する MFS モデルマウス (C1039G) に、ADAMTSL6 β を全身で過剰発現する transgenic マウス (TSL6 β -TG) を交配したモデルマウス (C1039G/TSL6 β -TG) を作製した。解離性大動脈瘤の解析は、心エコー (小動物用超音波高解像度イメージングシステム、プライムテック) および大動脈弓部の血管平滑筋層を HE 染色および Elastica van Gieson (EVG) 染色にて解析した。
2. Versican 分子の発現解析: ADAMTSL6 β 、ADAMTS4 および ADAMTS4 の基質である Versican G1 domain Fragment (VG1F) の抗体を用いて免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡で解析した。
3. 組換え ADAMTSL6 β 、ADAMTS4 の精製: His-Tag を付加した ADAMTSL6 β 、ADAMTS4 の発現ベクターを浮遊旋回培養可能な 293F 細胞に遺伝子導入し、48 時間培養後の上清を Ni-NTA 担体を使用し精製を行った。
4. ADAMTSL6 β と ADAMTS4 の結合解析: 組換え ADAMTSL6 β 、ADAMTS4 添加後のマウス血管平滑筋細胞に対する免疫染色と、これらのタンパク質を用いた Pull-down assay により解析した。

【結果】

C1039G/TSL6 β -TG マウスに関して、C1039G と比較して Fbn-1 陽性のオキシタラン線維形成は促進されるものの、解離性大動脈瘤を引き起こす大動脈弓部の血管平滑筋層において、生後 3 ヶ月から 8 ヶ月にかけて弾性板の菲薄化と崩壊の促進が HE および EVG 染色で観察された。また心エコー解析から C1039G と比較して C1039G/TSL6 β -TG は解離性大動脈瘤で見られる大動脈弓部は拡張していた。組織破壊状況を調べると、C1039G/TSL6 β -TG の大動脈弓部では ADAMTS4 の発現上昇に伴い VG1F の蓄積が亢進していた。また、TSL6 β -TG マウスにおいて、強発現した ADAMTSL6 β 陽性のオキシタラン線維上で ADAMTS4 と局在が一致し、VG1F の蓄積も亢進していた。そこで次に、ADAMTSL6 β と ADAMTS4 の組換えタンパク質をマウス血管平滑筋細胞に添加すると、ADAMTSL6 β により誘導されたオキシタラン線維上に ADAMTS4 が取り込まれることと、さらに Pull-down assay の結果、ADAMTSL6 β と ADAMTS4 は直接結合することが明らかになった。

【結論】

本研究によって ADAMTSL6 β は ADAMTS4 との直接結合を介して Fbn-1、Versican 複合体を分解することを明らかにした。またこの現象は、MFS の解離性大動脈瘤において組織破壊に促進的に働くことが示唆された。今後、MFS の歯周炎ならびに解離性大動脈瘤予防の目的に ADAMTSL6 β をオキシタラン線維の形成不全を予防する新たな創薬として開発するためには、ADAMTSL6 β と ADAMTS4 結合機構を解明し、組織破壊を誘導しない正常なオキシタラン線維再生能を有する ADAMTSL6 β 製剤の技術開発が必要になることが示唆された。

Pannexin 3 は細胞内 ATP と Ca^{2+} 濃度を調整する、骨芽細胞分化の新規制御因子である

東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座 歯科保存学分野
○石河 真幸、齋藤 正寛

**Pannexin 3 functions as an ER Ca^{2+} channel, hemichannel, and gap junction
to promote osteoblast differentiation.**

Department of Restorative Dentistry, Division of Operative Dentistry,
Tohoku University Graduate School of Dentistry
○Masaki Ishikawa, Masahiro Saito

【背景】 歯、軟骨および骨などの硬組織では、原基細胞が種々の因子による相互作用と制御によって増殖、分化し、適当な大きさと機能をもった器官へと形成される。これらの過程において数々の因子の関与が報告されているが、前駆細胞の増殖からの細胞周期離脱、分化過程を総合的に制御する因子の研究が進められている。また、そのような因子の機能が制御できなくなると様々な病態を引き起こすことも明らかにされつつあり、歯周病や根尖病巣を引き起こす慢性炎症や細胞死に関わる事も予想されている。私どもはマウス新生児の歯の cDNA ライブラリーから、硬組織形成に必須である候補因子として Pannexin 3 (Pannx3) を同定した。Pannx3 は新規の Gap junction protein family に属する Pannx family (Pannx1-3) のメンバーで、4 回膜貫通型の膜タンパクである。近年、Pannx1 の hemichannel を介した ATP release が macrophage の遊走、活性することで炎症を躍起することが報告されていることから、Pannx3 も同様の機能を有する事が示唆されている。そこで本研究では、Pannx3 の発現パターンや機能解析を行い、Pannx3 の機能不全または恒常性破壊を起因とした病態の解明、特に歯周炎や根尖性歯周炎に深く関与する慢性炎症への関係性の明らかにすることとする。

【方法】

1. 免疫染色: 骨組織における Pannx3 の発現を確認する為に、Pannx3 抗体を用いて組織標本における免疫染色を行い、confocal microscope にて観察した。
2. Pannx3 の in vitro および ex vivo での機能解析: Pannx3 発現 vector および shRNA を骨細胞系細胞株 C2C12 cells や初代骨芽細胞 に transfection し、qPCR および ALP または Alizarin Red 染色にて細胞の分化を観察した。また、Adenovirus Pannx3 および Pannx3 antigen-peptide を用いて中足骨の組織培養を行い、time lapse により骨成長を観察した。
3. Pannx3 の channel 機能解析: Hemichannel の機能を調べる為に、Pannx3 を強発現させた C2C12 cells の細胞内 ATP の細胞外への放出能を Luminometer により観察した。Pannx3 ER Ca^{2+} channel の機能解析の為に、Pannx3 強発現 C2C12 cells に対して Ca^{2+} indicator, Fura-2 を用いて細胞内 Ca^{2+} 濃度を測定した。Gap junction の機能を調べる為に、Pannx3 強発現 C2C12 cells に Ca^{2+} indicator Fluo-4 および NP-EGTA (Caged Ca^{2+}) を作用させて Ca^{2+} wave を confocal microscope で観察した。

【結果】 Pannx3 は硬組織、特に歯、軟骨および骨に発現することを免疫染色および Northern blotting により明らかにした。さらに、Pannx3 は骨細胞系細胞株 C2C12 cells、初代骨芽細胞および中足骨の組織培養を用いた機能解析により骨の成長を促すことがわかった。その分子機構は、骨芽細胞分化過程において細胞と細胞外基質をつなげる Pannx3 hemichannel から放出した細胞内 ATP が purinergic 受容体に結合し、PI3K/Akt signaling を活性化することがわかった。PI3K/Akt signaling は小胞体膜にある Pannx3 ER Ca^{2+} channel の Ca^{2+} 放出を促し、細胞間にある Pannx3 gap junction の機能を介して近隣細胞に波及し、また細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させることで Calmodulin signaling を活性化させることも示唆された。これらの結果より、Pannx3 は細胞内 Ca^{2+} 調節機構を介して骨芽細胞分化マーカーの発現調節が行われることが明らかになった。

【結論】 Pannx3 は相互活性調整機構をもつ 3 機能 (hemichannel、ER Ca^{2+} channel、gap junction) を介して骨芽細胞分化を促進する新規制御因子であることが示唆された。また、既に報告がある Pannx1 と同様に、Pannx3 の ATP release も組織依存的に炎症を躍起する起因因子になることが十分予想される。このように Pannx3 は歯周炎または根尖性歯周炎の病態への理解および骨再生を目的とした創薬への応用が期待できる。今後、これら病態における Pannx3 の機能のさらなる解析を行い、Pannx3 をターゲットとした新医療ツールの開発に挑んでいきたい。

アメロジェニンが炎症過程におけるマクロファージの形質転換におよぼす影響

九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯周病学分野
○山道研介¹⁾、福田隆男¹⁾、讃井彰一¹⁾、豊田敬介¹⁾、後村亮¹⁾、西村英紀¹⁾

The effect of amelogenin on the modulation of macrophage phenotype during inflammatory responses.

¹⁾ Department of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science,
Kyushu University

○Kensuke Yamamichi¹⁾, Takao Fukuda¹⁾, Terukazu Sanui¹⁾, Kyosuke Toyoda¹⁾, Ryo Atomura¹⁾, and
Fusanori Nishimura¹⁾

【目的】

歯周組織の再生にエナメル基質タンパク質 (EMD: Emdogain Gel) が用いられているが、異種蛋白であることから、EMD 成分のどの分子がいかなる作用で再生を促進するかについて、詳細に解明することは極めて重要な課題である。しかし、長年 EMD の作用機序の解明を試みる研究が続けられてはいるにもかかわらず、歯周組織再生・歯肉上皮の down growth 阻害・抗炎症作用などに対するシグナル伝達分子レベルでの統一的な見解は得られていない。一方、EMD による歯周外科処置に、疼痛・腫脹の軽減を伴う治癒促進効果があることが経験的に知られている。実際アメロジェニンが炎症性/抗炎症性サイトカイン産生の面から抗炎症作用を示す報告が存在する (Almqvist *et al.*, 2012. *Cytokine*)。本研究ではアメロジェニンの免疫応答に及ぼす影響を検討することを目的とし、マイクロアレイ解析によりマクロファージ株におけるアメロジェニン刺激が関与する遺伝子群について網羅的解析を行った。

【材料及び方法】

1. 使用細胞：ヒト単球系細胞株 U-937 をフォルボールエステル (PMA : 50 nM) で 24 時間刺激し、マクロファージへ分化誘導を行った。
2. アメロジェニンの精製：マウス胎児 cDNA より GST 融合アメロジェニンを作成後、on column 精製した。
3. マイクロアレイによる変動遺伝子の網羅的解析：U-937 細胞を amelogenin (10 µg/mL), LPS (50 ng/mL), LPS + Amelogenin の各群で 0, 4, 8, 12, 24 時間の time course で刺激後、total RNA を抽出し、各時間における遺伝子発現をマイクロアレイ (illumina 社 HumanHT-12 v4chip) により網羅的に解析した。
4. ヒートマップ解析：GO 解析により炎症関連遺伝子を抽出し Amelogenin 刺激特異的な遺伝子発現変動を確認した。
5. マイクロアレイ解析の検証：Amelogenin 刺激特異的に亢進していた代表的炎症関連遺伝子・抗炎症関連遺伝子について Real-time PCR 法・Western Blotting 法・ELISA 法を用いてマイクロアレイの再現性を確認した。
6. マクロファージの表現形の確認：M2 型(創傷治癒型)マクロファージのマーカーである Arginase1 の発現及び、細胞の形態変化について共焦点レーザー顕微鏡を使用して観察した。

【結果】

1. ヒートマップ解析において、LPS + Amelogenin 刺激で特異的に増幅していた抗炎症関連遺伝子 TSG-6、抗酸化関連遺伝子 SOD2、代表的炎症関連遺伝子 IL-6、TNF- α について遺伝子発現の増幅と蛋白質発現の亢進を確認した。
2. 共焦点レーザー顕微鏡において、LPS 刺激では M1 型に特徴的な円状の細胞形態を呈したのに対し、Amelogenin 刺激においては IL-4 刺激で誘導した M2 マクロファージと同様に、Arginase1 の発現及び紡錘形への細胞形態の変化を確認した。

【考察】

マクロファージ分化した U-937 細胞において、アメロジェニン刺激で炎症・抗炎症作用の両方が活性化される事が示唆される一方、TSG-6 に代表される抗炎症遺伝子の著明な増幅が確認された。また、ヒートマップ解析により炎症・抗炎症関連遺伝子における経時変化の傾向が確認できたことから、アメロジェニン刺激は炎症の早期には炎症を促進し、後期には抗炎症作用を促進する可能性が示唆され、さらに、M2 マクロファージへの分化を促進している可能性が示された。現在、アメロジェニンによる抗炎症・抗酸化作用の分子基盤についてさらに詳細に検討を進めている。

【結論】

ヒトマクロファージ様細胞株 U-937 において、アメロジェニン刺激は、抗炎症・抗酸化作用及び、M2 マクロファージへの分化促進作用があることが示唆された。

日本人侵襲性歯周炎患者のヒトエクソーム解読と遺伝子多型解析

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 (口腔治療学教室)
○北垣次郎太、宮内静香、山下元三、山田聡、北村正博、村上伸也

Identification of genetic risk factor for aggressive periodontitis in Japanese population

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
○Jirouta Kitagaki, Shizuka Miyauchi, Motozo Yamashita, Satoru Yamada, Masahiro Kitamura,
Shinya Murakami

<目的>

侵襲性歯周炎は、若年者に発症し急速な歯周組織破壊を認める歯周炎で、その罹患率は1000-2000人に1人である。疾患発症の病因論として、慢性歯周炎とは異なり家族内集積を認めることから、侵襲性歯周炎の発症には遺伝的要因が関与していると考えられている。炎症性サイトカイン等の一塩基多型 (SNP: Single Nucleotide Polymorphism) が疾患発症要因の一つである可能性が示唆されているが、詳細は依然として不明なままである。これまでの侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索は、機能が既に報告されている単一遺伝子の遺伝子多型解析にとどまり、網羅的な遺伝子多型解析を行っていないことが本疾患の疾患関連遺伝子の解明に至っていない原因と考えられる。そこで本研究では、ゲノムワイドアプローチによる日本人侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索を行った。

<方法および結果>

大阪大学歯学部附属病院を受診し侵襲性歯周炎と診断された患者のうち、本研究への参加を応諾された患者57名の血液を採取した (大阪大学ヒトゲノム研究承認番号533)。侵襲性歯周炎患者の平均年齢は32.35歳、平均歯周ポケット値は4.20mm、4mm以上の歯周ポケットの割合は51.17%、歯周組織の平均炎症面積 (PISA: Periodontal Inflamed Surface Area) は1263.89mm²で、Scheiのルーラーを用いた歯槽骨の平均吸収度は37.61%であった。血液よりゲノムDNA抽出後にエクソーム解析を実施し、遺伝子多型解析を行ったところ、侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子として、Gタンパク質共役受容体 (GPR126: G protein-coupled receptor 126) の新規SNP (c.3086 G>A, p.Arg 1029 Gln) を同定した。疾患群でのマイナー対立遺伝子頻度 (MAF: Minor allele frequency) が1.754%であったのに対し、日本人の遺伝子リファレンスライブラリーデータベースにおける対照群でのMAFは0.274%であり、p値は0.0136、オッズ比は6.49、95%信頼区間は1.18~35.83となり、SNPの出現頻度に統計学的有意差を認めた。

GPR126のノックアウトマウスで四肢形成に異常が認められることや、ゲノムワイドアプローチによりGPR126が思春期特発性側弯症の原因遺伝子の一つであることが報告されていることから、GPR126が硬組織形成に重要な役割を担っていることが推測される。そこで次に、歯根膜細胞の分化におけるGPR126の影響を検討した。ヒト歯根膜細胞 (HPDL: Human periodontal ligament cells) に野生型GPR126もしくは、新規SNPを含んだ変異型GPR126を遺伝子導入し、β-グリセロリン酸 (5 mM) とアスコルビン酸 (50 μg/ml) を含むαMEM培地にて4日間石灰化誘導した後に、GPR126のシグナル下流因子cAMPの発現をELISAにて、Runx2、骨シアロタンパク、オステオポンチン、BMP-7の発現をリアルタイムPCRにてそれぞれ検討した。その結果、HPDLにおいて野生型GPR126はcAMPの発現を上昇させ、石灰化関連因子の発現を上昇させた。一方、変異型GPR126が遺伝子導入されたHPDLではcAMPの発現上昇ならびに石灰化関連因子の発現上昇は認められなかった。

<結論>

本研究では、ゲノムワイドアプローチを用いた日本人侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子探索を行った。その結果、侵襲性歯周炎の疾患関連遺伝子としてGPR126を同定した。また、野生型GPR126はHPDLの分化を促進させたが、新規SNPを含んだ変異型GPR126を過剰発現させたHPDLでは、分化の促進が認められなかった。以上の結果より、新規SNPによりGPR126のシグナル伝達が抑制されると、GPR126誘導性のBMP-7の発現上昇を介した石灰化関連因子の発現上昇認められないことが明らかとなった。その結果、GPR126依存性の歯根膜組織の恒常性維持が破綻をきたし、侵襲性歯周炎が惹起されると考察される。

大規模並列シーケンサーを用いた侵襲性歯周炎のゲノム解析

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野¹

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 疾患多様性遺伝学分野²

東京医科歯科大学 疾患バイオリソースセンター³

○須藤 毅顕^{1,2}、岡田 随象²、小林 宏明¹、御給 美沙¹、田中 敏博^{2,3}、和泉 雄一¹

Genetic analysis of aggressive periodontitis using a massively parallel sequencer

Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences,

Tokyo Medical and Dental University¹

Department of Human Genetics and Disease Diversity, Graduate School of Medi-

cal and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University²

Bioresource Research Center, Tokyo Medical and Dental University³

○Takeaki Sudo^{1,2}, Yukinori Okada², Hiroaki Kobayashi¹, Misa Gokyu¹, Toshihiro Tanaka^{2,3}, Yuichi Izumi¹

【背景】

侵襲性歯周炎は急速な歯周組織の破壊をきたす特殊な歯周炎であり、早期に骨吸収を引き起こし、歯の喪失を招く。この疾患の特徴として、全身的に健康であること、急速な組織破壊を引き起こすこと、家族集積性があることがあげられる。侵襲性歯周炎は、罹患率の低さと家族集積性から遺伝子変異の関与が示唆されており、炎症性サイトカイン遺伝子などの1塩基多型 (Single nucleotide polymorphisms : SNPs) の解析を中心とした候補遺伝子アプローチによる探索が行われてきたが、原因遺伝子の同定には至っていない。全エクソーム解析は、大規模並列シーケンサーを用いた網羅的な塩基配列決定法であり、遺伝子疾患の原因遺伝子同定に数多く利用されている。本研究では侵襲性歯周炎患者における大規模並列シーケンサーを用いたエクソーム解析を、多くの遺伝情報を共有する家系内で行い、侵襲性歯周炎の発症進行に関与するゲノム解析を行うことを目的とした。

【方法】

東京医科歯科大学歯学部附属病院の歯周病外来を通じて収集された侵襲性歯周炎 2 家系を対象とし、侵襲性歯周炎罹患患者 5 名および非罹患患者 1 名について、末梢血より抽出したゲノム DNA を用いて Ion Proton による全エクソーム解析を行った。得られた遺伝子変異に対して、下記の filtering を実施した。(1) 低 depth 変異の除去、(2) Insertion/deletion の除去、(3) 罹患者に共通した変異以外の除去、(4) 同義置換の除去、(5) 公共データベース (Human Genetic Variation Browser、1000-genome database、NHLBI Exome Sequence Project) に登録され頻度 1% 以上のコモンバリエーションの除去。絞り込まれた変異の確認をサンガーシーケンス法にて行った。本研究は、東京医科歯科大学 歯学部倫理審査委員会の承認を得た後、実施された (倫理承認番号 : 890)。

【結果】

エクソームシーケンスにより、約 50,000 個の遺伝子変異を各サンプルにおいて同定し、filtering を通じて家系毎にそれぞれ 41 変異、379 変異に絞り込んだ。2 家系に共通して変異を認める変異候補遺伝子が存在しており、これらの変異はサンガーシーケンスにおいて確認された。

【考察】

エクソーム解析により、侵襲性歯周炎の原因候補遺伝子を同定した。他の侵襲性歯周炎患者を対象として本遺伝子の変異を検索する予定としている。

マウス骨髄由来新規間葉系幹細胞集団における神経分化能の解析

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)

○伊藤祥作, 山内裕香子, 山本由美子, 成瀬陽菜, 伊藤勇紀, 林美加子

The analysis of a new murine mesenchymal population for neural differentiation.

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

○ITO SHOUSAKU, YAMAUCHI YUKAKO, YAMAMOTO YUMIKO, NARUSE HARUNA, ITOH YUKI, HAYASHI MIKAKO

【研究目的】

象牙質・歯髄複合体を構成する細胞集団は歯髄腔内に存在する間葉系幹細胞に由来すると考えられている。しかしながら、この間葉系幹細胞については、未だ単離には成功しておらず不明な点が多い。間葉系幹細胞は、歯髄のみならず骨髄にも存在することがわかっている。そこで我々はマグネティックビーズを用いた簡便な精製法によりマウス骨髄細胞から間葉系幹細胞の濃縮に成功したことを本学会 2009 年度秋季学術大会 (第 131 回) にて報告した。そして、その新規幹細胞集団 (HipOP: High purified osteoprogenitors) は、高い硬組織再生能を持っていることがわかっている。今回、我々は新規幹細胞集団の神経細胞への分化能について解析し、新しい知見が得られたので報告する。

【材料と方法】

- 1) マウス骨髄 (C57BL/6J) から骨髄細胞を調整し、10%FBS 含有 α MEM 中で培養する。培養 3 日目に PBS にて浮遊細胞を除去する。2 週間培養の後、トリプシン・EDTA 処理により付着細胞を回収する (骨髄ストローマ細胞: BMSCs)。
- 2) 回収した骨髄ストローマ細胞と、血球系細胞のマーカー分子に対する抗体 (抗 CD5、抗 CD45、抗 CD11b、抗 Gr-1、抗 7-4、抗 Ter-119、抗 CD45R) を結合したマグネティックビーズとを反応させる。反応後、細胞をマグネティックカラムに注入し、カラムから流出してきた細胞を回収する (新規幹細胞集団: HipOPs)。
- 3) HipOPs を非接着性基材上で、bFGF (40ng/ml) と EGF (20ng/ml) を含む DMEM/F12 培地にて培養した。
- 4) 形成された神経細胞塊 (Neurosphere) を蛍光免疫染色法にて Nestin の発現を確認した。さらに、形成された Neurosphere を回収し、bFGF (40ng/ml) と EGF (20ng/ml) を含む DMEM/F12 培地にて継代培養をおこなった。
- 5) BMSCs および HipOPs を bFGF と EGF 存在下にて 1 週間培養したのち、それぞれに含まれる神経前駆細胞の割合について Limiting dilution 法にて評価した。

【結果】

- 1) 間葉系幹細胞集団 HipOPs は、bFGF および EGF 存在下で Neurosphere を形成した。この Neurosphere は神経前駆細胞マーカーである Nestin 陽性であることがわかった。
- 2) Limiting dilution 解析の結果、BMSCs に含まれる神経前駆細胞の割合が 1/50000 であったのに対し、HipOPs に含まれる神経前駆細胞の割合は 1/400 であった。つまり、HipOPs は 120 倍以上神経前駆細胞が濃縮された幹細胞集団であることがわかった ($t=36.1$, $p<0.0001$)。

【結論】

新規幹細胞集団 (HipOPs) は、高い神経分化能をもつ幹細胞集団であることが明らかとなった。本研究結果から、HipOPs は、硬組織のみならず神経組織の再生にも有用であることが示唆された。

TNF- α 誘導性 NF- κ B シグナルは象牙芽細胞様細胞の石灰化能を阻害する

九州歯科大学口腔保存治療学分野¹、ながよし歯科²
○中山皓平¹、平田-土屋志津¹、永吉雅人²、諸富孝彦¹、北村知昭¹

The Effect of NF- κ B Signalling on Odontoblast-like Cells
Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University¹
Nagayoshi Dental Clinic²

○NAKAYAMA Kohei¹, HIRATA-TSUCHIYA Shizu¹, NAGAYOSHI Masato², MOROTOMI Takahiko¹, KITAMURA Chiaki¹

【目的】

歯髄最表層に配列している象牙芽細胞の主要な機能は象牙質形成であるが、歯髄における炎症応答にも関与していることが知られている。炎症性サイトカインのひとつである腫瘍壊死因子(TNF- α)は炎症早期から産生され、様々な炎症性サイトカインを誘導するとともに、炎症時の重要なシグナル伝達経路である NF- κ B シグナルを亢進する。しかしながら、象牙芽細胞の炎症応答における TNF- α 誘導性 NF- κ B シグナルの役割については十分に明らかにされていない。本研究では、象牙芽細胞の特徴を有するラット下顎切歯歯髄由来細胞株 KN-3 における TNF- α 誘導性 NF- κ B シグナルと石灰化能との関係について検討した。

【材料と方法】

KN-3 細胞にアスコルビン酸及び β グリセロリン酸を加えた状態で、炎症性サイトカイン TNF- α の存在下・非存在下において、細胞増殖能に対する影響を調べるために WST-8 アッセイを行った。また、石灰化能に及ぼす影響はアルカリフォスファターゼ(ALP)活性の測定と Alizarin red S 染色で確認した。次に、NF- κ B ルシフェラーゼ発現プラスミドを遺伝子導入した KN-3 細胞を TNF- α (10 ng/ml)で 12 時間刺激後にルシフェラーゼ活性を測定し、NF- κ B の転写活性を検討した。さらに、炎症関連性マーカーであるインターロイキン 6、8(IL-6、8)、マトリックスメタロプロテアーゼ 9(MMP-9)の発現をリアルタイム RT-PCR 法により確認した。最後に、TNF- α 刺激した KN-3 細胞に NF- κ B シグナル阻害剤である BAY11-7082 (1 nM $\sim$ 1 μ M)を加え、石灰化能に対する NF- κ B シグナル阻害の影響を ALP 活性の測定と Alizarin red S 染色により検討した。

【結果】

TNF- α 刺激は KN-3 細胞の増殖能には影響を与えなかったが、石灰化能の指標である ALP 活性と Alizarin red S 染色は TNF- α 濃度依存的に抑制された。一方、NF- κ B の転写活性は TNF- α 濃度依存的に上昇するとともに、IL-6、IL-8、および MMP-9 の発現上昇が認められた。さらに、TNF- α 刺激によって抑制された ALP 活性および Alizarin red S 染色は、BAY11-7082 濃度依存的にその抑制が解除された。

【考察】

以上の結果より、炎症性サイトカイン TNF- α は象牙芽細胞の石灰化能を抑制すること、また、その抑制は NF- κ B シグナルを阻害することで解除されることが示唆された。

【結論】

TNF- α は NF- κ B シグナル経路を介して象牙芽細胞様細胞株 KN-3 の石灰化能を抑制する。

ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞において IL-1 β 誘導 MMP-13 は Wnt16 シグナルを介して細胞増殖を調節する

○ 檜山太希, 尾関伸明, 山口秀幸, 長谷奈央子, 川合里絵, 茂木眞希雄*, 中田和彦
愛知学院大学歯学部歯内治療学講座
*愛知学院大学薬学部生体機能化学講座

IL-1 β -induced matrix metalloproteinase-13-regulated proliferation of osteoblastic cells-derived from human skeletal muscle stem cells mediated by Wnt16 signaling pathway

○ Taiki Hiyama, Nobuaki Ozeki, Hideyuki Yamaguchi, Naoko Hase, Rie Kawai, Makio Mogi* and Kazuhiko Nakata
Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
*Department of Medicinal Biochemistry, School of Pharmacy, Aichi Gakuin University

【研究目的】

これまでに我々は, $\alpha 7$ integrin 陽性ヒト骨格筋幹細胞を用いた骨芽細胞分化誘導法を確立し, このヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞を fluorescence activated cell sorting (FACS) により高純度化する方法を構築した (Ozeki N. et al., *Exp Cell Res.* 2006, 2014). さらに, このヒト骨芽細胞の炎症性サイトカイン添加における細胞増殖については, 内在の a disintegrin and metalloprotease (ADAM) -28 および matrix metalloproteinase (MMP) -13 の発現が必須であり, これらふたつのタンパク質を含んだ細胞増殖に繋がるユニークなシグナルカスケードの存在を明らかにした. 近年, 骨芽細胞分化誘導関連因子として Wnt シグナル伝達経路が注目されている. Wnt シグナル伝達経路は胚発生, 形態形成や癌などに関連するタンパク質ネットワークで, Wnt の関与するシグナル伝達経路として, β -カテニンを介したカノニカル経路, PCP 経路 (Wnt/JNK 経路), Wnt/ Ca^{2+} 経路の3種類が知られている. 興味深いことに Moverare ら (*Nat Med.* 2014) は, 骨芽細胞分化に Wnt16 が関与すること, さらに我々は, induced pluripotent stem cells (iPS 細胞) 由来高純度象牙芽細胞を用いた同様の実験系で, サイトカイン誘導による細胞増殖が, Wnt5 シグナルを介することを明らかにした (Ozeki N. et al., *Exp Cell Res.* 2014).

そこで本研究では, ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞の炎症性サイトカイン interleukin (IL) -1 β で誘導される細胞増殖における, Wnt16 と MMP-13 の新規な生理的役割を明らかにするため, siRNA を用いて詳細な検討を行った.

【材料および方法】

ヒト骨格筋幹細胞を用いて新規に確立した骨芽細胞分化誘導法により, 高純度に骨芽細胞に分化誘導させた後, Real time-PCR 法と Western Blot 法により IL-1 β 誘導 Wnt16 と MMP-13 発現を評価した. さらに培養液中の MMP-13 活性は, 特異的 MMP-13 抗体にて免疫沈降後, 酵素活性を評価した. IL-1 β による細胞増殖は BrdU 標識 cell proliferation ELISA により評価した. Wnt16 および MMP-13 siRNA を用いた遺伝子のノックダウンにより, ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞の増殖過程における Wnt16 と MMP-13 のシグナルカスケードの検索を行った.

【結果】

ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞において, IL-1 β 誘導 Wnt16, MMP-13 遺伝子発現および MMP-13 活性上昇がコントロールと比較して統計学的有意 ($P < 0.01$) に認められた. Wnt16 および MMP-13 siRNA 処理により, IL-1 β による細胞増殖の抑制が惹起され, コントロールと比較して統計的有意差 ($P < 0.01$) が認められた. さらに, siRNA を用いたシグナルカスケードの検索により, IL-1 β による細胞増殖は Wnt16 $\rightarrow$ MMP-13 シグナルカスケードを介して制御されていることが明らかとなった.

【考察および結論】

ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞中の IL-1 β 誘導 MMP-13 は, Wnt16 シグナルを介して MMP-13 タンパク質を誘導し, 細胞増殖を調節することが示唆された. これまでに我々は, マウスならびにヒト純化象牙芽細胞中の MMP-3 により, 細胞増殖が制御されること, またその制御は Wnt5 の遺伝子ならびにタンパク質発現を伴うことを明らかにした. 今回, IL-1 β による骨芽細胞と象牙芽細胞の増殖が, 種類は異なるとはいえ Wnt ならびに MMP の産生誘導を介した特異的なシグナルカスケードを持つことを明示できたことから, この細胞増殖誘導機構についてさらに検討中である.

高周波電流刺激によるラット頭蓋骨欠損部への骨再生

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¹⁾、とみなが歯科²⁾
○佐藤賢人¹⁾、菅谷 勉¹⁾、中谷充宣¹⁾、工藤 愛¹⁾、前田良子¹⁾、猪俣慶久¹⁾、川浪雅光¹⁾、富永敏彦²⁾

Bone regeneration in rat calvarial defects by high-frequency electric stimulation

Department of Periodontology and Endodontology, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University¹⁾
Tominaga Dental Clinic²⁾

○Takahito Sato¹⁾、Tsutomu Sugaya¹⁾、Mitunori Nakatani¹⁾、Megumi Kudo¹⁾、Nagako Maeda¹⁾、
Yoshihisa Inomata¹⁾、Masamitsu Kawanami¹⁾、Toshihiko Tominaga²⁾

【諸言】 骨再生を促進する電流刺激法や電磁波刺激法として、直流刺激、交流刺激、パルス電磁波刺激、静電結合型電磁波刺激などが報告されており、一部は難治性の骨折等に臨床応用されている。一方、高周波電流装置は根管の無菌化等に用いられており、近年、無菌化だけでなく、骨芽細胞の活性化や根尖病変の治癒促進など、骨形成への効果も示唆されている。本研究の目的は、高周波電流刺激が骨再生を促進するかを病理組織学的に検討することである。

【材料と方法】 Wister 系ラット(9 週齢)17 匹の頭皮を切開、剥離して骨膜を切除後、外径 4.8 mm のトレフィンバーを用いて頭蓋骨に骨欠損を 2 か所作製した。高周波電流刺激を与えないラットを対照群とし、高周波電流刺激を与えるラットでは、左側の骨欠損を刺激群として欠損中央部に $\phi 0.1$ mm の能動電極を設置し、対極は能動電極から左側に 10mm 離れた皮膚に刺入した。右側の骨欠損は能動電極を設置しない非刺激群とした。電流刺激として、左側の骨欠損に生理食塩水を満たし 500kHz、Duty70%の高周波電流を 1.0 秒間通電し、これを 5 回繰り返した。なお、過熱を避けるため生理食塩水は通電ごとに交換した。刺激群には 4, 7, 11 日後にも経皮的に骨欠損部に能動電極を刺入して、同様に高周波電流を 1.0 秒間、5 回通電した。

8 週後に頭蓋骨を摘出、ホルマリンで固定、 μ CT 撮影を行って画像を 3 次元構築し、硬組織の形成率を計測した。さらに、脱灰薄切標本を作製してヘマトキシリン-エオジン染色を行い、骨欠損の長さや新生骨の長さを計測、新生骨形成率を求めた。計測には骨欠損中央部とその前後 0.5mm および 1.0mm の標本を用いた。

計測結果は SPSS を用いて Kruskal-Wallis 検定、Mann-Whitney U 検定を行った。なお、本実験は北海道大学動物実験委員会の承認を得て行った。

【結果】 μ CT による硬組織形成率は対照群が $12.6 \pm 6.2\%$ 、刺激群が $56.6 \pm 16.4\%$ 、非刺激群が $33.0 \pm 11.2\%$ で、刺激群と非刺激群は対照群より有意($p < 0.005$)に高く、また刺激群は非刺激群よりも有意($p < 0.005$)に高かった。

刺激群と非刺激群の新生骨は母床骨よりやや薄く、一部は未熟で、新生骨周囲には多くの骨芽細胞がみられた。母床骨切断面付近の骨細胞に萎縮、消失等は認められなかった。また、一部の標本では新生骨が欠損部のみではなく母床骨の上部や下部、母床骨とは連続せずに骨欠損部に孤立して形成されていた。

組織計測による新生骨形成率は、対照群では $12.7 \pm 4.6\%$ 、刺激群が $56.7 \pm 16.7\%$ 、非刺激群 $38.0 \pm 11.2\%$ で刺激群と非刺激群は対照群より有意($p < 0.005$)に高く、刺激群は非刺激群より有意($p < 0.05$)に高かった。

【考察】 高周波電流刺激により高い骨再生効果が認められたが、能動電極を設置しなかった非刺激群でも骨再生が促進されたことから、今回の通電条件より低いエネルギー量でも骨再生効果があると考えられ、電流量や通電時間、通電回数、或いは空中伝播する電磁エネルギーなどを検討することで、より効果を高めることが可能と思われた。また、高周波電流刺激により骨再生が促進されるメカニズムは今のところ不明であり、今後解明すべき点は多いものの、今回用いた周波数は人体に障害はほとんどないと考えられること、他の再生療法などと組み合わせることも可能であることから、今後の発展が期待できる。

【結論】 高周波電流刺激によりラット頭蓋骨欠損部での骨再生が促進されることが明らかとなった。

S-PRG フィラー抽出液の支台歯形成面被覆・象牙細管封鎖効果

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、山本歯科クリニック²、
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³

○山本信一^{1,2}、韓 臨麟¹、興地隆史³

Surface Coating and Dentinal Tubule-occluding Ability of S-PRG Filler Extract Solutions on Ground Human Dentin

¹Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan; ²Yamamoto Dental Clinic; ³Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo

Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan,

○YAMAMOTO Shinichi^{1, 2}, HAN Linlin¹, OKIJI Takashi³

研究目的：Surface pre-reacted glassionomer filler (S-PRG フィラー) は、フッ化物 (F)、ストロンチウム (Sr)、ホウ素などの各種イオン徐放能を備えており、う蝕予防効果や静菌効果などを期待して種々の歯科材料に添加されている。一方、我々は S-PRG フィラー水中懸濁液の上清 (以下、S-PRG フィラー抽出液) を人工唾液と混和すると沈澱物が生じることを確認すると共に、人工脱灰象牙質面に同抽出液、次いで人工唾液を塗布すると表層が析出物で覆われることを観察している¹⁾。本研究ではこの現象が象牙質形成面保護に応用可能かを確認する端緒として、支台歯形成された象牙質面に S-PRG フィラー抽出液と人工唾液との処理を行い、形成面被覆・象牙細管封鎖効果を検証した。

材料および方法：S-PRG フィラー抽出液 (固形物非含有; SF0; 松風社提供) および S-PRG フィラー50%含有のセラミックス材 (SF50; 松風社提供) を被験材料とした。また、新鮮ヒト抜去大臼歯を被験歯とした (新潟大学歯学部倫理委員会承認済み)。被験歯の歯冠部に、全部被覆冠修復のための支台歯形成法に準じてダイヤモンドポイントにて象牙質に達する支台歯形成を行った。次いで、アクリル酸溶液 (10%) で歯面処理 (5 秒) し水洗した後、SF0 あるいは SF50 を 30 秒塗布してから、直ちに人工唾液中に 7 あるいは 28 日保管した。被験材料を塗布せず人工唾液中に同期間保管した歯を対照群とした。その後、ダイヤモンドディスクで象牙質塗布面 (近遠心、頬舌側および咬合面の 5 面) を切り取り観察試片とし、臨界点乾燥を行った後、走査電子顕微鏡 (SEM; 日立 2300) にて観察するとともに、単位面積あたりの象牙細管の総数に対する封鎖率を算出した。また、各試片縦断面における F, Sr, Ca の分布を波長分散型電子線マイクロアナライザー (EPMA; EPMA1610, 島津) で解析した。

結果：対照群では象牙細管周囲に人工唾液中のミネラル成分と思われる析出物が観察されたが、象牙質の脱灰像や象牙細管の開口は明瞭であった。一方、SF0 もしくは SF50 塗布群では、粒子状析出物で象牙細管開口部が大部分封鎖されており、管間象牙質におけるコラーゲン線維の露出も観察されなかった。これらの変化は SF50 塗布群で SF0 塗布群より、また保管 28 日後で 7 日後と比較して顕著であった。象牙細管封鎖率は SF0, SF50 塗布群とも対照群より有意に高値を示した ($P < 0.05$)。EPMA により、SF0 もしくは SF50 塗布群で Sr, F が塗布面表層部 10-30 μm の深さまで取り込まれたことが確認されるとともに、塗布群、対照群とも表層における Ca 濃度の僅かな上昇が観察された。

考察：演者らは、S-PRG フィラー抽出液と人工唾液との混和により形成された析出物の組成の解析から、その形成機序として両者に含まれるイオン間の化学反応による錯塩形成などを推定している¹⁾。今回の観察の結果、SF50 が SF0 と比較して析出物の形成はより顕著であり、象牙細管や管間象牙質に対する高い被覆・封鎖効果を備えることが示唆されたが、これは、人工唾液との反応生成物に加えて S-PRG フィラー自体の塗布面への沈着も生じたことが反映されたとと思われる。また、S-PRG フィラー抽出液に含まれる F, Sr の塗布面への取り込みは、我々がこれまで S-PRG フィラーを添加された修復材料を対象として行った研究と同様に検出されており、S-PRG フィラー抽出液にこれらの材料と同様の効果が期待されると考えられる。一方、対照試片でも表層部に限って、わずかな Ca 高濃度領域が観察されたが、これは人工唾液中の Ca の取り込みによると思われる。本研究の結果は、S-PRG フィラー抽出液と人工唾液との二段階処理が、生活歯形成後の象牙質面の保護や象牙質知覚過敏症の抑制に有効な可能性を示唆するものである。

結論：支台歯形成された象牙質面に S-PRG フィラー抽出液と人工唾液との二段階処理を行うことにより、析出物による象牙細管開口部の封鎖や表層への F, Sr の取り込みが生じた。

参考文献

韓 臨麟、興地隆史：S-PRG フィラー抽出液の人工脱灰象牙質に対する象牙細管封鎖効果、日歯保存誌 58 (1) 11-25, 2015

S-PRG フィラーの根管充填用シーラーへの応用と生物学的機能評価

北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室

○眞弓佳代子, 宮治裕史, 宮田さほり, 村上秀輔, 西田絵利香, 薮佳奈子, 田中佐織, 川浪雅光

Evaluation of biological function of root canal sealer applied with S-PRG filler

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

○MAYUMI Kayoko*, MIYAJI Hirofumi, MIYATA Saori, MURAKAMI Shusuke,
NISHIDA Erika, SHITOMI Kanako, TANAKA Saori, KAWANAMI Masamitsu

【研究目的】

S-PRG (Surface prereacted glassionomer) フィラーは、多機能性ガラスフィラーの表面にガラスアイオノマー相を形成した3層構造からなり、F⁻をはじめ、Na⁺、BO₃³⁻、Al³⁺、SiO₃²⁻、Sr²⁺のイオンの徐放効果により、再石灰化亢進、抗菌性などの特性を発現することから根管充填用材料への応用が期待されている。しかし、S-PRG フィラーとその複合材料を生体内で使用した場合の生物学的機能はいまだ明らかではない。そこで本研究では、S-PRG フィラーの細胞増殖、抗菌効果をイオン徐放性の無いシリカフィラーと比較検討した。また、S-PRG フィラー含有根管充填用シーラーに対する細胞・組織応答について、シリカフィラー含有シーラーおよび市販のユージノール系シーラーと比較検討した。

【材料と方法】

S-PRG フィラー (松風) およびシリカフィラー (松風) の混濁液を組織培養ディッシュに滴下後、乾燥してコーティング被膜を作製した。まず MC3T3-E1 細胞および NIH3T3 細胞を各フィラー被膜へ播種し、1, 3, 5 日培養後の細胞増殖量を評価した。次に、同様に作製した各フィラーのコーティング被膜上に *S. mutans* を播種し、24 時間培養後に濁度を測定して抗菌性の評価を行った。

次に、S-PRG フィラー含有シーラー (松風)、シリカフィラー含有シーラー (松風)、およびキャナルス (昭和薬品化工) を指定の粉液比にて練和してチューブに流し込み、直径 5 ミリ、高さ 2 ミリのディスクを作製した。各々のシーラーの表面性状、細胞親和性および抗菌性について SEM 観察にて評価した。さらに、3 種類のシーラーディスクをラットの背部皮下に埋入し、10 日後の生体親和性について組織学的観察を行い、炎症の程度を比較検討した。なお動物実験は北海道大学動物実験委員会の審査承認を受けて行った (承認番号 12-02)。

【結果と考察】

S-PRG フィラーコーティング被膜での培養試験の結果、S-PRG フィラーの配合量依存的に細胞増殖が促進された。一方、シリカフィラー被膜では細胞増殖性に変化を認めなかった。また、S-PRG フィラーはシリカフィラーに比較して菌の増殖抑制効果を認めた。S-PRG フィラーのガラスアイオノマー層と徐放イオンが生物学的特性を持つ可能性が示唆された。

次に S-PRG フィラー含有シーラーおよびシリカフィラー含有シーラーへ細胞を播種培養した結果、ディスク表面への細胞の付着伸展を認めたが、キャナルス表面では細胞伸展は認めなかった。*S. mutans* の付着増殖はいずれのシーラーでも認めなかった。ラットの背部皮下埋入後の組織学的観察の結果、S-PRG フィラー含有シーラーでは他シーラーに比較してペルオキシターゼ陽性細胞、CD68 陽性マクロファージの浸潤が少なかった。細胞浸潤のスコアでは、S-PRG フィラー含有シーラーが最も少なく、キャナルスが最も高かった。シーラーに配合された S-PRG フィラーは生体親和性を向上させる効果があると考えられた。

【結論】

S-PRG フィラーはシリカフィラーに比較して良好な細胞親和性および抗菌性を示した。また、S-PRG フィラー含有シーラーはシリカフィラー含有シーラー、ユージノール系シーラーと比較して良好な生体親和性を示した。

Er:YAG レーザーを利用した根管洗浄の根管側枝清掃効果

○八尾香奈子¹, 本郷智之¹, 佐竹和久¹, 渡辺 聡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

Cleaning Efficacy of Er:YAG Laser-activated Root Canal Irrigation for Lateral Canals

○YAO Kanako¹, HONGOU Tomoyuki¹, SATAKE Kazuhisa¹, WATANABE Satoshi¹, EBIHARA Arata¹, KOBAYASHI Chihiro² and OKIJI Takashi¹

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

²Oral Diagnosis and General Dentistry, Dental Hospital, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

【目的】

根管洗浄は歯内療法の重要なステップの一つであり、通常はシリンジを使用する根管洗浄 (conventional irrigation, 以下 CI) や超音波洗浄 (passive ultrasonic irrigation, 以下 PUI) が用いられている。一方、演者らは Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄 (laser-activated irrigation, 以下 LAI) の有効性や安全性を検討しており、LAI で生じる根尖孔外への圧力や洗浄液の溢出量がチップ設定位置や出力に応じて有意に変化すること、あるいは LAI での根尖孔外への洗浄液溢出量は CI よりも少ないことなどすでに報告している¹⁾。本研究では、LAI が根管側枝に高い清掃効果を及ぼす可能性に着目し、その作用を水酸化カルシウム材除去効果を指標として評価した。

【材料および方法】

模型底部から 6 mm, 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, Dentsply Maillefer; n = 30) を模擬根管として用いた。この側枝部に水酸化カルシウム材 (カルシベック II, 日本歯科薬品) を 1.0% メチレンブルーで染色したものを満たし、以下の 3 種類の洗浄を行った。

- 1) LAI 群: Er:YAG レーザー装置 (Erwin AdvErL, モリタ製作所) および付属チップ (R200T, 同) を使用し、模擬根管内に満たした蒸留水に対して 30 mJ、10 pps の出力条件で作用させた。
- 2) PUI 群: 超音波装置 (Piezon Master 400, EMS, 最小設定値) を用い、超音波チップ (#15 U-file, 松風) を使用し、模擬根管内に満たした蒸留水に作用させた。
- 3) CI 群: 27G 洗浄針およびシリンジを用いて、1 ml の蒸留水で 20 秒間洗浄を行った。

各群とも根管模型の底部から 6 mm, 12 mm 手前にチップまたは洗浄針の先端を設置し、各 20 秒×3 回、計 60 秒間作用させたのち、20 秒ごとに 27G 洗浄針およびシリンジを用いて蒸留水で洗浄した。

実験結果は手術用顕微鏡 (OPMI Pico with MORA interface, Carl Zeiss) および医用動画記録システム (DATA Gen PRO for DENTAL, セブンスディメンジョンデザイン) にて記録し、画像解析ソフトウェア (Photoshop CS5, Adobe) を用いて、側枝における実験前後の水酸化カルシウム材の面積を計測し、側枝における水酸化カルシウム材除去率を評価した。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】

チップまたは洗浄針の先端を根管模型の底部から 6 mm の位置として洗浄した場合、水酸化カルシウム材除去率は LAI 群、PUI 群が CI 群に比べ有意に高かった ($p < 0.05$)。一方、チップまたは洗浄針の先端を 12 mm の位置に設置して洗浄した場合は、LAI 群の水酸化カルシウム材除去率は PUI 群、CI 群に比べ有意に高値であった ($p < 0.05$)。

【考察および結論】

今回の実験条件では、LAI は、チップ先端から離れた位置に存在する側枝に対し、PUI および CI よりも優れた水酸化カルシウム材除去効果を示すことが判明した。LAI、PUI とも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されており、今回の結果は、LAI ではこれらの作用が離れた位置まで及びやすいことを示唆するものである。従って、洗浄液溢出の可能性が低いと考えられる低出力根管上部照射においても、LAI が側枝に対する洗浄効果を示すことが推察される。

【文献】

- 1) 佐竹和久、渡辺聡、井手彩集他、Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄時に生じる根尖孔外の圧力、日本レーザー歯学会誌 2014. 08; 25 (2): 70-74.

次亜塩素酸ナトリウムおよび EDTA で処理した象牙質ディスクにおける歯乳頭細胞の接着と分化

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

*東北大学 大学院歯学研究科 口腔修復学講座 歯科保存学分野

○橋本健太郎、川島伸之、野田園子、奈良圭介、Alamuddin Bakhit、齋藤正寛*、興地隆史

Attachment and Differentiation of Dental Papillae Cells on Sodium Hypochlorite and/or EDTA-treated Dentin Disks

Tokyo Medical and Dental University (TMDU) Graduate School of Medical and Dental Sciences Div. of Oral Health Sciences Dept. of Pulp Biology and Endodontics, *Tohoku University Graduate School of Dentistry Dept. of Restorative Dentistry Div. of Operative Dentistry

○Kentaro Hashimoto, Nobuyuki Kawashima, Sonoko Noda, Keisuke Nara, Alamuddin Bakhit, Masahiro Saito*, Takashi Okiji

<緒言>

根尖性歯周炎を発症した根未完成歯の根部歯髄を再生させることを目的とした *revascularization* と呼ばれる手法が注目されている。本法においても通常の根管処置と同様に細菌の排除が重要であり、次亜塩素酸ナトリウム (NaOCl) 溶液による洗浄を十分に行う必要がある。しかし、NaOCl は象牙質表面の変性させ、細胞の象牙質への接着や分化を阻害すると報告されているため、6%溶液ではなく 1.5%溶液の大量使用が推奨されている。一方、NaOCl 処理後、EDTA 処理により細胞の接着が回復すると報告されているが、NaOCl および EDTA 処理後の細胞接着や遺伝子発現の検討は十分にはなされていない。今回、濃度の異なる NaOCl および EDTA で処理したウシ象牙質ディスクに対するマウス歯乳頭細胞の接着および分化について検討したので報告する。

<材料および方法>

ウシ抜去切歯の歯冠を除去後、K ファイル#40 にて歯髄を除去、全周ファイリングを行った。次いで 1%NaOCl 溶液 (次亜塩 6%「ヨシダ」、ヨシダ製薬) で洗浄後、Isomet®にて歯軸と垂直に切断して厚さ 1 mm の象牙質ディスクを作成し、70%エタノールに 5 分間浸漬して滅菌後、培養液 (α MEM+10%FBS) に 24 時間浸漬したのち実験に使用した。これらの象牙質ディスクを NaOCl 処理群 (1.5%あるいは 6%NaOCl 溶液に 5 分間浸漬) と非処理群 (リン酸緩衝食塩液中で保管) にわけ、さらにスミアクリン (3% EDTA 溶液、日本歯科薬品) あるいは 17% EDTA (同仁化学研究所) 溶液に 10 分間浸漬することにより EDTA 処理を行った。

被験細胞としてマウス歯乳頭細胞(Mouse Dental Papillae cells: MDPs)を使用し、AcGFP (*Aequorea coerulescens* green fluorescent protein) 発現ベクター (自作) をトランスフェクション (Neon, Life Technologies) して蛍光ラベル (transient expression) を行った。象牙質ディスクを 48 ウェルプレートに入れ、各ウェルに MDP 細胞を 4×10^4 個播種し、24 時間後に蛍光顕微鏡下で細胞接着を観察した。また、培養 48 時間後に MDP 細胞から抽出した RNA を cDNA に逆転写した後、骨芽・象牙芽細胞マーカー発現をリアルタイム PCR (CFX96, BioRad) にて解析した。

<結果および考察>

NaOCl 非処理群: 蛍光ラベルした細胞の接着は、EDTA 処理により大きな影響を受けなかった。骨芽・象牙芽細胞マーカー発現において、EDTA 溶液処理により *Alp*、*Bmp2*、*Dmp1*、*Dspp* の発現の増加 ($p < 0.05$, Tukey-Kramer) が認められた。EDTA の濃度は、遺伝子発現量に大きな影響を与えなかった。

NaOCl 処理群: 6%NaOCl で処理した象牙質ディスク上に MDP 細胞は全く認められなかった。1.5%NaOCl で処理した群では少数ながら MDP 細胞を認めたが、線維芽細胞様の形態ではなく円形をしており、ディスクに伸展できていないと推察された。EDTA 処理により、6%、1.5%両群で MDP 細胞が観察され、特に 1.5%NaOCl 溶液+17% EDTA 溶液処理群では線維芽細胞様の形態を示していた。遺伝子発現の解析において、6%NaOCl 処理群では、EDTA 処理後においても象牙質ディスクに播種した MDP 細胞から RNA 抽出はできなかった。1.5%NaOCl 処理群においては、EDTA 非処理の象牙質ディスクに播種した MDP 細胞からの RNA 抽出ができなかったが、EDTA 処理により RNA 抽出は可能となった。特に 1.5%NaOCl 処理後スミアクリンで処理した象牙質ディスク上で培養した MDP 細胞において、通常のディッシュで培養した MDP 細胞と比較して、*Dspp* の発現の増加が認められた ($p < 0.05$, Tukey-Kramer)。

<結論>

NaOCl 処理により MDP 細胞の接着および骨芽・象牙芽細胞マーカー発現は抑制されるが、1.5% NaOCl 処理後に EDTA 処理を行うことにより接着能の回復および骨芽・象牙芽細胞マーカー発現の亢進が認められた。

Evaluation of single-visit endodontic and restorative treatment under general anesthesia for special needs patients

○Juhea Chang¹, Hae-Young Kim²

¹*Special Care Clinic, Seoul National University Dental Hospital, Seoul, Korea*

²*Department of Health Policy and Management, College of Health Sciences & Department of Public Health Sciences,
Postgraduate School, Korea University, Seoul, Korea*

I. Object:

The aims of this study were to evaluate the clinical outcomes of single-visit endodontic & restorative treatment under general anesthesia (GA) and to investigate factors associated with the success of restored endodontically- treated teeth.

II. Materials & Methods:

Data were collected from 381 endodontically-treated teeth (203 patients) under GA at a special care clinic due to a lack of patients' cooperation. All endodontic treatments were performed during a single day, and post-endodontic restorative treatments other than indirect crown restorations were completed on the same day. A total of 268 teeth (70.2%) were followed-up for 3 - 81 months [mean (SD): 31.5 (20.4)]. Survival was defined as the treated teeth being present in a patient's dentition while success was defined as the restoration being intact requiring no additional treatment. Statistical analysis was performed using the Kaplan-Meier analysis with Log-rank test to compare the mean survival time. Fisher's exact test was applied in the evaluation of the survival rate. SPSS version 20 was used, and a type one error rate of 0.05 was applied.

III. Results:

No differences existed between the followed-up and non-followed-up patients and their teeth in terms of demographic factors and dental conditions ($p < 0.05$). At the end of the observation period, 10 teeth had a crown fracture (survival rate: 96.3%), and 8 teeth had secondary caries (success rate: 93.3%). There was a significant difference in the survival rate of teeth with attrition or erosive defects (97.7%) and teeth without defects (90.9%) ($p < 0.05$). No significant difference was found in the relation with tooth type, periapical condition, and the presence of adjacent teeth ($p > 0.05$).

IV. Conclusion:

Single-visit endodontic & restorative treatment under GA showed high rates of survival and success for the treated teeth. GA-dental treatment may be a viable option for special needs patients with insufficient cooperation to save their dentition.

Juhea Chang

Special Care Clinic,

Seoul National University Dental Hospital, Seoul, Korea

juhchang@snu.ac.kr

Effect of NT-APP Deposition of monomers on Adhesion to Enamel and its durability

○Geum-Jun Han, Jae-Hoon Kim, Byeong-Hoon Cho

*Department of Conservative Dentistry,
Seoul National University School of Dentistry, Seoul, Korea*

I. Object:

This study investigated the effect of a pencil-type low-power non-thermal atmospheric pressure plasma (NT-APP) jet on the adhesion of composite resin to enamel and its durability.

II. Materials & Methods:

Microshear bond strengths (MSBS) of composite resin to enamel after helium (He) plasma treatment with no monomer, benzene and 1,3-butadiene were compared with that of the conventional enamel bonding. After plasma treatment of etched enamel, the adhesive of Scotchbond Multi-Purpose (3M ESPE) was applied. The MSBS were evaluated after 24 hrs from bonding and after 5,000 times of thermocycling. The data were analyzed using two-way ANOVA and *post hoc* Duncan test at a 5% level of significance. Weibull analysis was also performed.

III. Results:

According to 2-way ANOVA, the groups using plasma deposition of benzene and 1,3-butadiene exhibited significantly higher MSBS than conventional enamel bonding group ($p < 0.05$). After thermocycling, however, the MSBS decreased significantly ($p = 0.000$) and the differences between treatments were not observed. The Weibull characteristic strengths of both monomer-deposited groups also decreased to that of the control group, but the Weibull moduli of both groups maintained high values after thermocycling.

IV. Conclusion:

The plasma deposition with 1,3-butadiene or benzene enhanced the adhesion of composite resin to the enamel, but their effect on adhesion durability needs to be improved.

Cho, Byeong-Hoon

Department of Conservative Dentistry,

Seoul National University School of Dentistry, Seoul, Korea

chobh@snu.ac.kr

Forced eruption of maxillary incisor teeth with lingual approach :a case report

○Bo-ram Kim, Dong-hoon Shin, Chan-eui Hong, Yong-bum Cho

*Department of Conservative Dentistry,
School of Dentistry, Dankook University, Cheonan, South Korea*

I. Introduction:

The treatment strategy of a crown-root fracture in anterior tooth is complex because of the esthetics problem. There are several different treatment options such as an orthodontic or surgical extrusion, a crown lengthening and an extraction. In this clinical case report, forced eruption with lingual approach was used in the anterior tooth to minimize esthetic impairment.

II. Case Presentation:

1. Sex/Age: M/14
2. Chief complaint (C.C): Fracture of upper anterior tooth due to hit by a ball
3. Past Dental history (PDH): N.S.
4. Present illness (P.I): Per (+), Mob (-), Pal (+), crown fracture with pulp exposure
5. Impression: Complicated crown-root fracture on #21
6. Tx plan: Forced eruption followed by post and crown of #21

III. Conclusion:

Orthodontic force eruption is a method of treatment for deeply fractured teeth to preserve natural tooth and periodontal structures. One treatment option for submerged roots is forced eruption but a major disadvantage of this technique is the necessity for the placement of an unaesthetic orthodontic appliance, especially when the tooth involved is a maxillary incisor. Forced eruption with lingual approach is a treatment modality that minimizes esthetic impairment during orthodontic treatment.

Bo-ram Kim

**Department of Conservative Dentistry,
School of Dankook University, Cheonan, South Korea
kbr0511@hanmail.net**

Management of traumatized anterior tooth by multidisciplinary approach for esthetic enhancement

○Eun-Ji Kim, Jung-Hong Ha, Young Kyung Kim, Sung Kyo Kim, Myoung Uk Jin

*Department of Conservative Dentistry,
Kyungpook National University, Daegu, Korea*

I. Introduction: Treatment of fractured teeth depends on the level of the fracture line and the amount of remaining tooth. If the fracture margin is located subgingivally, forced eruption can be considered as one of the treatment choices. However, because the coronal movement of the gingival attachment during the extrusion process, it is necessary to recontour the gingival line. Also, the presence of pre-existing diastema causes esthetic problems on the restoration of tooth. This case report presents esthetic management of traumatized anterior tooth using forced eruption, composite resin restoration on the adjacent tooth and gingivectomy.

II. Case Presentation:

1. Sex/age : M/44
2. Chief Complaint (C.C) : Crown fracture on #21
3. Past Dental History (PDH) : Tooth fracture by trauma, 2 days ago
4. Present Illness (P.I) : Complicated crown-root fracture on #21
Per (+), Pal (-) Mob (0), Cold (+), EPT (5/64)
Interdental space between #11 and #21
5. Impression : Complicated crown-root fracture on #21
6. Tx. Plan : Root canal treatment on #21, Forced eruption on #21, Gingivectomy on the maxillary anterior teeth
Composite resin restoration on #11, All-ceramic crown on #21

III. Conclusion: In this case, there were some limitations on the restoration of fractured tooth because the dentition possessed pre-existing esthetic problems like high lip line and diastema. Improper gingival line of the anterior teeth was corrected by gingivectomy which results in the esthetic gingival contour. And the use of direct bonding restoration on the adjacent tooth provided the symmetrical and harmonious arrangement of the dentition. The key factors in a successful functional and esthetic rehabilitation of complicated crown fracture are multidisciplinary approaches. In addition to forced eruption, more satisfying esthetic results could be obtained with concern, such as gingivectomy and direct bonding restoration.

Eun-Ji Kim

Postgraduate student,

Department of Conservative Dentistry,

Kyungpook National University, Daegu, Korea

Blue11ej@hanmail.net

Analysis of temperature rise of bulk-fill composite and flowable composite during photocuring according to the thickness increment

○Young-Hoon Kim¹, Eun-Young Noh¹, Young-Tae Cho², Seong-Ha Hwang³, Bin-Na Lee¹, Hoon-Sang Chang¹,
Yun-Chan Hwang¹, Won-Mann Oh¹, In-Nam Hwang¹

¹Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju, Korea

²Dept. Of Manufacturing technology and Design Eng., Jeonju University, Jeonbuk, Korea

³Dept. Of Environment and Energy Eng., Chonnam National University, Gwangju, Korea

I. Object: The purpose of this study was to examine ordinary flowable composite resin and flowable bulk-fill composite resin which had been reported to exhibit difference in curing properties through polymerization heat analysis.

II. Materials & Methods: After cutting the acrylic plate, which ranged from 0.5 mm to 5.0 mm with a thickness difference of 0.5 mm, a hole was perforated with a diameter of 5.5 mm at the center. Then, acrylic plate with a thickness of 0.5 mm, the identical size, was attached to one side, and the mold was formed in the shape of cavity with one side for resin injection being blocked. G-aenial Flo (GF, GC, Japan), the high flowable composite resin, and SDR (SDR, Dentsply Caulk, USA), the high flowable bulk-fill resin, were injected into acrylic mold. Light polymerization was performed for 80 seconds after fixing the polymerization tip of Dr's Light (GoodDoctors Co., Seoul, KOREA), the curing light with radiation intensity of 1787 mW/cm², temperature changes which resulted from polymerization of injected high flowable composite resin were measured at 30 frames per second by using FLIR SC620 (FLIR Systems AB, Stockholm, Sweden), the infrared thermal imaging camera. Then, the pattern of temperature rise by time was analyzed. Based on maximum temperature rise point, the temperatures on same line up to 2.5 mm towards both sides were compared by time.

III. Results: Maximum temperature rise was reduced in SDR up to the thickness of 2.0 mm as thickness increased, but no significant change was observed in the thickness ranging 2.0 mm to 5.0 mm. In all of 2 different types of resin, rapid temperature rise was observed from initiation of polymerization up to 5 seconds in the thickness below 1.5 mm and the temperature rise decreased, and constant temperature rise was observed up to 80 seconds. Maximum temperature was measured at 80 seconds although similar pattern of temperature elevation was exhibited in the thickness of 2.0 mm. Temperature peak arrival time in the thickness above 2.0 mm was found to be longer as thickness increased. In relation to peak temperature arrival time, GF reached peak temperature at 16.58 seconds in the thickness of 2.0 mm and 29.67 seconds in the thickness of 5.0 mm while SDR reached peak temperature at 8.93 seconds in the thickness of 2.0 mm and 12.93 seconds in the thickness of 5.0 mm, suggesting that SDR reached peak temperature faster than GF ($p < 0.01$).

IV. Conclusion: Bulk-fill high flowable composite resin is expected to be capable of polymerization at deeper depth in shorter polymerization time, compared to ordinary high flowable composite resin. However, more in-depth research would need to be conducted to examine relationship with polymerization rate in the period ahead.

Young-Hoon Kim

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry,

Chonnam National University, Gwangju, Korea

E-mail: dokki09@hanmail.net

Interdisciplinary treatment of white spot lesion : A case report

○Hee-Won Ku, Hyoung-Hoon Jo, Jeong-Bum Min

Department of Conservative Dentistry, Chosun University, Gwangju, Korea

I. Introduction:

White spot lesions are early signs of demineralization under intact enamel, and some of labial white spots are associated with fixed orthodontic treatment. White spot lesions may be an esthetic problem for some patients. Various treatment options for white spot lesion have been suggested including bleaching, resin infiltration, microabrasion, megabrasion, direct resin restoration, porcelain laminate veneer, and all ceramic crown. The conventional treatment approach of white spot lesion is based on restoration, which, in most instance, is quite invasive.

This case report presents the management of white spot lesions based on minimal invasive treatment technique using bleaching, resin infiltration, microabrasion.

II. Case Presentation:

< Case >

1. Sex / Age : F / 27
2. Chief Complaint(C.C) : Whitish discoloration on anterior teeth
3. Present Illness(P.I) : White spot lesions on #13,12,11,21,22,23
4. Impression : Enamel decalcification
5. Tx. plan : 1) #13-23 enamel microabrasion
2) Nightguard vital bleaching on upper anterior dentition
3) Resin infiltration on superficial irregularities

III. Conclusion:

There is limit to manage all cases of white spot lesions using one single method. Thus, combination of various treatment options and modification of treatment sequence should be considered for minimal invasive management of white spot lesion.

Hee-Won Ku

Department of Conservative Dentistry,

Chosun University, Gwangju, Korea

dndnd21@naver.com

The effect of lithium disilicate thickness on the bond strength between resin cement and ceramic

○Hyun-young Lee¹, Juhea Chang², Ho-Hyun Son¹

¹ *Department of Conservative Dentistry and Dental Research Institute, School of Dentistry, Seoul National University,*

² *Special Care Clinic, Seoul National University Dental Hospital, Seoul, Korea*

I. Object:

This study aimed to evaluate the effect of thickness of lithium disilicate restoration on the bond strength between resin cement and ceramic cemented using a universal adhesive.

II. Materials & Methods:

Twelve 12×14×5mm e. max CAD (shade A3 LT) specimens were fabricated and sintered. The specimens were embedded into acrylic resin and polished. The surface of specimens was treated with 4% hydrofluoric acid for 4 min, and was applied with Single Bond Universal (3M EPSE). Pre-cured composite resin cylinders with a diameter of 0.8mm (n=20) were cemented using Rely X ultimate (3M EPSE). The specimens were polymerized with light curing (800mW/cm²) as followed; Group A: control, without lithium disilicate plate being covered on the cemented cylinders; Group B: with a 2mm-thick lithium disilicate plate; Group C: with a 4mm-thick lithium disilicate plate. The specimens were stored in water for 24 h and subjected to a micro-shear bond strength test. Analysis of variance (ANOVA) and Turkey's multiple-comparison test were applied to identify the statistical significance (p<0.05).

III. Results:

Group A showed the highest bond strength (16.89 ± 3.91 MPa) followed by Group B (16.50 ± 4.39 MPa). Both groups did not show a significant difference. Group C showed the significantly lower bond strength (11.53 ± 3.85 MPa) than other groups (p<0.05).

IV. Conclusion:

The 2 mm thickness of restorations recommended by the manufacturing company did not affect the bond strength between the resin cement and lithium disilicate ceramic. But a higher thickness of ceramic decreased the bond strength.

Hyun-young Lee

Department of Conservative Dentistry and Dental Research Institute,

Seoul National University, School of Dentistry, Seoul, Korea

rlfls100@snu.ac.kr

Management of crown-root fracture using mini tube appliance(MTA) and superelastic wire with indirect method

○Yoo-Jin Lee, Hyoung-Hoon Jo, Jeong-Bum Min

Department of Conservative Dentistry, Chosun University, Gwangju, Korea

I. Introduction:

Fracture of the tooth below the gingival attachment or crest of the alveolar bone presents a very difficult restorative problem. Preservation of the gingival biologic width and crown ferrule are critical for the long term success of the treatment. Forced eruption is a treatment option for the teeth with subgingival fracture line.

II. Case Presentation:

< Case 1>

1. Chief complaint(C.C) : My upper tooth were broken.
2. Present Illness(P.I) : Crown-root fracture with pulp exposure of #21 (air(-),per(+),mob(-),EPT(-))
3. Impression : Crown-root fracture with pulp exposure of #21
4. Tx.plan :
 1. Non-surgical root canal treatment of #21 and post, core build up of #21
 2. Forced eruption of #21 with MTA and .012 Ni-Ti wire with indirect method
 3. Resin build up of #11 for space closure(between #11 and #21) and crown restoration of #21

< Case 2>

1. Chief complaint(C.C) : My upper tooth were broken.
2. Present Illness(P.I) : Crown-root fracture with pulp exposure of #12 (air(+),per(+),mob(-),EPT(+))
Subluxation of #11 (air(+),per(+),mob(-),EPT(-/-))
3. Impression : Crown-root fracture with pulp exposure of #12, Pulp necrosis of #11
4. Tx.plan :
 1. Non-surgical root canal treatment on #11,12 and post, core build up of #12
 2. Forced eruption of #12 with MTA and .012 Ni-Ti wire with indirect method, Crown restoration of #12

III. Conclusion:

Provisional core build up and forced eruption with MTA and superelastic wire have shown good clinical results and patient's satisfaction. It allows an esthetic provision during extrusion period and requires the minimum of specialized orthodontic materials and skills. In addition, placement of MTA using indirect method could minimize intraoral working time and reduce patient's discomfort. Forced eruption with MTA and superelastic wire with indirect method can be suggested as a simple treatment option dealing with traumatic injuries of anterior teeth.

Yoo-Jin Lee

Department of Conservative Dentistry,

Chosun University, Gwangju, Korea

freesia_yj@naver.com

Management of immature permanent molar with apical periodontitis

○Ga-Young Choi, Yun-Mi Hong, Sangwon Kwak, Hyeon-Cheol Kim, Jeong-Kil Park, Sung-Ae Son

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Pusan National University, Yangsan, Korea

I. Introduction:

Conventionally, treatment option for infected, non-vital, immature teeth with open apex includes apexification with calcium hydroxide. But this treatment requires long-term application of calcium hydroxide and multiple visit over 6 months before completion of root-end closure. Today, as an alternative to apexification with calcium hydroxide, placement of an apical barrier using mineral trioxide aggregate(MTA) is widely used. More recently, pulp revascularization is introduced for new treatment option for necrotic open apex teeth. When this treatment option is not indicated for the teeth, MTA barrier may be another treatment option. This case report will present successful root canal treatment of immature tooth which has 3 canals in mesial root and distal root with open apex.

II. Case presentation:

1. Sex/Age: M/12Y
2. Chief Complaint: Evaluation and treatment on #36 (referred from local dental clinic)
4. Present Illness: pain (-), percussion (+), mobility (-), periapical lesion with open apex on #36
5. Dx.: Pulp necrosis(Prior RCT) with chronic apical periodontitis on #36
6. Tx. plan: Apexification on #36

III. Conclusion:

Several previous studies have confirmed successful outcomes including healing of periapical lesions in most of immature teeth that were treated with an MTA apical plug. Although treatment with MTA barrier does not appear to improve lengthening and thickness of root canal wall, clinical outcome is successful without any signs and symptoms and periapical radiolucency. When immature teeth have roots which have closed apex and open apex each, conventional root canal treatment and MTA apexification can be applied in a manner together.

Ga-Young Choi;

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Pusan National University

Yangsan, Korea

myloen@naver.com

Efficacy of various irrigation methods for the removal of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste in the root canal

○Ui-Jung Lee, Ho-Keel Hwang

Department of Conservative Dentistry, Chosun University, Gwangju, Korea

I. Object:

The aim of this study was to compare the removal efficacy of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste in the apical part of the root canal among three irrigation methods; conventional syringe, sonic and ultrasonic irrigation methods.

II. Materials & Methods:

90 extracted single-rooted teeth were prepared and PROTAPER·NEXT™ (Dentsply Maillefer, Ballagiues, Switzerland) was used up to X3 for root canal shaping. The crowns were removed horizontally at the cemento-enamel junction with a diamond disk. The roots were split longitudinally without damaging the root canal. Between two longitudinal section of roots, the wider one was chosen to make standardized groove at the apical 3rd. Then, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste (Calcipex II, Nishika, Shimonoseki, Japan) was placed into the standardized groove. Finally, split two sections of roots were reassembled by using melted sticky wax. All samples were randomly divided into 3 groups: conventional syringe irrigation, sonic irrigation (Endoactivator, Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK) and ultrasonic irrigation (DH tip, epdent, Seoul, Korea). As a irrigant, 5mL 2.5% NaOCl was used. Evaluation of the measurement of remaining $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste was done under a dental operating microscope (Global, St. Louis, MO) at 19X magnification. The amount of remaining $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste was scored by using 4 steps scale described in van der Sluis et al: score 0, the groove is empty; score 1, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste is present in less than half of the groove; score 2, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste covers more than half of the groove; and score 3, the groove is completely filled with $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste. The results were statistically evaluated using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney test. The level of significance was set at $\alpha=0.05$.

III. Results:

The results showed that the groups treated with sonic(group2, 0.8 ± 0.81) and ultrasonic(group3, 1.0 ± 1.02) devices had significantly effective in removing $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste from groove than the group treated with conventional syringe irrigation(group1, 1.53 ± 0.82)($P < 0.05$). However, there was no significant difference between sonic and ultrasonic irrigation group.

IV. Conclusion:

The use of additional(sonic and ultrasonic) irrigation protocols enhanced $\text{Ca}(\text{OH})_2$ paste removal when compared with the use of only conventional syringe irrigation in root canal.

Ho-Keel Hwang

Department of Conservative Dentistry,

Chosun University, Gwangju, Korea

rootcanal@hanmail.net

Healing of Intra-alveolar Root Fractures Followed by Endodontic Treatment with MTA

○Dohyun Kim, Euseong Kim

Department of Conservative Dentistry, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Korea

I. Object:

The purpose of this retrospective study was to evaluate the healing type and to assess the outcome of intra-alveolar root fractures followed by endodontic treatment with mineral trioxide aggregate (MTA) as a filling material.

II. Materials & Methods:

The clinical database of the Department of Conservative Dentistry at Yonsei University Dental Hospital, Seoul, Korea, was searched for patients with histories of intra-alveolar root fractures and endodontic treatments with MTA between October 2005 and September 2014. The radiographic healing at the fracture line was evaluated independently by two examiners, classified into four types according to Andreasen and Hjørting-Hansen:

- (1) Healing with calcified tissue
- (2) Interposition of connective tissue
- (3) Interposition of connective tissue and bone
- (4) Interposition of granulation tissue without healing.

The criteria for “healing” included the absence of clinical signs and/or symptoms and radiographic evidence of healing with calcified tissue, connective tissue, or connective tissue and bone. The criteria for “non-healing” included any clinical signs and/or symptoms or radiographic evidence of interposition of granulation tissue without healing.

III. Results:

Of the 22 root-fractured teeth received endodontic treatment with MTA, 19 cases came for follow-up after a period of at least 3 months. 17 of the 19 teeth (89.5 %) exhibited healing of the root fractures. For each healing type, 7 teeth (36.8%) showed healing with calcified tissue, 8 teeth (78.9%) showed interposition of connective tissue, 2 teeth (10.5%) showed interposition of connective tissue and bone, and 2 teeth (10.5%) showed interposition of granulation tissue without healing.

IV. Conclusion:

Within the limitations of this study, intra-alveolar root fractures showed satisfactory healing outcomes after endodontic treatment with MTA. MTA could be considered as a suitable filling material for the endodontic treatment of intra-alveolar root fractures.

Dohyun Kim

Department of Conservative Dentistry, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Korea

dohyun0kim@yuhs.ac

Biological Properties of EndoSequence Bioceramic Root Repair Materials

**○Jung-Hwan Kim, Go-Woon Lee, Bin-Na Lee, Hoon-Sang Chang, Yun-Chan Hwang, In-Nam Hwang,
Won-Mann Oh**

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju, Korea

I. Object:

EndoSequence Root Repair Material (ERRM) (Brasseler USA, Savannah, GA, USA) is a calcium phosphate silicate material with a bioceramic component. To overcome the basic handling difficulties associated with MTA, ERRM comes premixed in a ready-to-use container. The aim of this study was to compare the biological properties of MTA and ERRM.

II. Materials & Methods:

MC3T3-E1 cells were cultured in recommended culture conditions and exposed to the test materials. The cell viability was evaluated by XTT assay. The expressions of alkaline phosphatase (ALP) and osteocalcin (OCN) at gene level were detected by real-time PCR. Osteogenic differentiation and mineralization were measured by ALP staining method. Each experiment, containing triplicate independent samples, was repeated at least twice, and qualitatively identical results were obtained. One-way analysis of variance followed by Tukey's Post Hoc test was used to determine any statistically significant differences according to the test materials with the use of SPSS 18.0 software program (SPSS, Chicago, IL). Differences were considered significant at $p < .05$.

III. Results:

Cell viability of ERRM in dilutions of 1, 1/2 and 1/4 was lower than MTA ($p < .05$). There was no statistically significant difference in cell viability between materials in dilutions of 1/10 ($p < .05$). The mRNA level of osteogenic genes increased significantly in MTA and ERRM group compared to the control ($p < .05$). MTA and ERRM led to an increase in ALP staining compared to the control.

IV. Conclusion:

ERRM had similar biological properties when compared with MTA, suggesting that ERRM can be desirable alternative to MTA for root-end filling material.

Jung-Hwan Kim

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry,

Chonnam National University, Gwangju, Korea

E-mail: nardy99@naver.com

Reconstruction of Fractured Tooth Using a Thermoplastic Template

○Sooyun Kim, Su-Jung Shin, Sunil Kim, Joeng-Won Park

*Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital
College of Dentistry, Yonsei University, Korea*

I. Introduction:

In case of a substantial loss of tooth structure due to injury, direct composite resin restoration can be a good treatment option in terms of conservation of the tooth, cost and time. However, direct restoration of the missing structure can be challenging without any guidance, and in this regard, a putty index fabricated from a diagnostic wax-up is widely favored by dentists in clinical settings. The problem with a putty index is, though, it cannot provide guidance for the facial surface of the restoration. Because the facial surface is what determines the esthetics of the restoration, designing the facial contour of the restoration without any guidance can be overwhelming, especially for less experienced dentists. Use of a customized vacuum formed template has been introduced to solve this problem, and many successful clinical case reports have been published. In this case report, a maxillary incisor with a class II crown fracture was restored with packable and flowable composite resin using a thermoplastic template.

II. Case Presentation:

1. Sex/age: M/30Y
2. Chief Complaint (C.C): I fell down and fractured my tooth. I have no pain or discomfort.
3. Past Dental History (PDH): Temporary restoration on #21 with Glass Ionomer cement (yesterday, ER)
4. Present Illness (P.I): per(-), mob(-) cold(+) on #21
with Class II crown fracture
5. Impression: Class II crown fracture on #21
6. Tx Plan: Impression taking for a template fabrication and composite resin filling on #21

III. Conclusion:

Fabrication of a thermoplastic template requires many additional steps including impression taking, cast fabrication, diagnostic wax-up, and cast duplication, and this might be thought as inefficient. However, in chair-side, use of a thermoplastic template was able to save both time and effort. The contour of the restoration was close to the diagnostic wax-up which was previously confirmed with the patient, and the patient was satisfied with the result. However, during this procedure, some composite resin had flowed into the interproximal regions. Even though it could be easily scraped off with a blade, a modification of the template to cover only the facial side could have been considered for a better outcome.

Sooyun Kim

**Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital,
College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea**

Sooyun228@yuhs.ac

Clinical management of horizontal mid-root fractures in maxillary anterior teeth

○Su-jin Kim, Su-Jung Park, Sung-Ok Hong, Seok-Ryun Lee

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Korea

I. Introduction:

Root fractures are combined injuries of pulp, dentin, cementum, and periodontal ligament. They have been reported to occur in 0.2% to 7% of all traumatic injuries to teeth. The location of the root fracture had a strong significant effect on tooth survival. The prognosis of injured teeth involving horizontal mid-root fractures is poor and depends heavily on pulpal vitality, periodontal health and the repositioning of the tooth to its original position. This case report presents the clinical management of horizontal mid-root fractures in maxillary anterior teeth.

II. Case Presentation:

<Case 1>

1. Sex/Age : M/16
2. Chief Complaint (C.C) : For evaluation of #11 (Referred from L/C)
3. Present Illness (P.I) : Per(++), mob(+), EPT(+) on #11, Per(+), mob(+), EPT(+) on #21, 22
4. Impression : Horizontal root fracture on #11, Subluxation on #21, 22
5. Tx plan : Splinting and follow-up for evaluation of RCT #11, 21, 22

<Case 2>

1. Sex/Age : M/18
2. Chief Complaint (C.C) : For evaluation of #11, 21, 22 (Referred from OMS)
3. Present Illness (P.I) : Per(+), mob(+++), EPT(-), cold (-) on #21, Per(-), mob(+), EPT(+), cold (+) on #11, 22
4. Impression : Horizontal root fracture on #21, Uncomplicated crown fracture on #11, 22
5. Tx plan : Splinting and follow-up for evaluation of RCT #21, Resin filling on #11, 22

III. Conclusion:

The prognosis of the root fractured tooth is influenced by variable factors, such as the patient's age, stage of root growth, mobility of the coronal fragment, and diastasis of the fragments. In case 1, fractured tooth presented positive pulp sensitivity healed with calcified tissue. But pulpal necrosis developed in case 2, root canal therapy is applied only to the coronal fragment using MTA. So far, these cases of horizontal mid-root-fractured teeth which were carefully monitored have a favorable prognosis.

Su-jin Kim

Department of Conservative dentistry, School of Dentistry,

Wonkwang University, Iksan, Korea

takaragod@gmail.com

Long term Results Comparing MTA and Super EBA for Root-end Sealing in Endodontic Microsurgery

○Sunil Kim¹, Euseong Kim²

¹*Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea*

²*Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea*

I. Object:

The purpose of the present study was to evaluate and compare the long-term clinical outcomes of endodontic microsurgery when Mineral trioxide aggregate (MTA) and Super Ethoxy-Benzoic Acid (Super EBA) were used as root-end filling materials in a prospective randomized controlled study.

II. Materials & Methods:

The Patients who previously evaluated 1-year follow-up were recalled 4 years after endodontic microsurgery, and treated teeth were classified as healed or not healed based on clinical and radiological examination. Two different root end filling materials, MTA and Super EBA were to be compared.

III. Results:

A total of 148 teeth (from 192 teeth were examined at the 12-month) were re-examined at the 4-year follow-up; 62 teeth were in the MTA group, and 86 teeth were in the Super EBA group. The overall recall rate was 77%. The overall success rate was 89.2%, and the success rates in the MTA and Super EBA groups were 90.3% and 88.4%. The statistical analysis of these success rates did not show any significant difference between the groups ($P = .793$).

IV. Conclusion:

In this long term prospective randomized controlled study, there was no significant difference in the clinical outcomes of endodontic microsurgery when MTA and Super EBA were used as root end filling materials.

Sunil Kim

Department of Conservative Dentistry, Gangnam Severance Hospital,
College of Dentistry, Yonsei University, Seoul, Korea

seone1@yuhs.ac

Combined Nonsurgical and Surgical Endodontic Therapy in the Treatment of Dens Invaginatus Type II

○Ha Na Lee, Jung-Hong Ha, Myoung Uk Jin, Sung Kyo Kim, Young Kyung Kim

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Kyungpook National University, Daegu, Korea

I. Introduction:

Type II dens invaginatus is invagination is enamel-lined and extends into the pulp chamber but remains within the root canal with no communication with the periodontal ligament. Combined surgical treatment should be performed only when the conservative treatment has failed. When nonsurgical treatment is impractical the endodontic therapy should be complemented by surgery. This case report describes the use of combined nonsurgical and surgical approaches in the treatment of type II dens invaginatus.

II. Case Presentation:

<Case 1>

1. Sex/age : F/10
2. Chief Complaint (C.C) : No pain, referred from the department of pediatric dentistry due to abscess on #41
3. Past Dental History (PDH) : Initiated RCT on #41 two weeks ago due to spontaneous pain
4. Present Illness (P.I) : Per (+), Pal (+), Mob (1), Probing depth (543/633)
5. Treatment plan : Root canal treatment on #41

<Case 2>

1. Sex/age : M/15
2. Chief Complaint (C.C) : No pain, unusual root canal configuration on #22
3. Past Dental History (PDH) : Incision and drainage on labial gingiva above #22 one month ago
4. Present Illness (P.I) : Per (-), Pal (+), Mob (0), Probing depth (222/222)
5. Treatment plan : Root canal treatment on #22

III. Conclusion:

Type II. Irregularities in root canal system in this case, including isthmus and c-shaped root configuration, are inaccessible for instruments, irrigation solution, and medicament, which finally lead to the failure of conventional root canal treatment. Therefore combined nonsurgical and surgical approaches would be a better option for complete disinfection of the complex root configuration than nonsurgical treatment only.

Ha Na Lee

Postgraduate student, Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry,

Kyungpook National University, Daegu, Korea

pipizzing@naver.com

Effect of bonding of post to root canal dentin on stress distribution : FEA

○Jae-Hyun Lee¹, Jae-Yoon Choi¹, Bin-Na Lee¹, Hoon-Sang Chang¹, Yun-Chan Hwang¹, Won-Mann Oh¹
Young-Tae Cho², In-Nam Hwang¹

¹*Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry, Chonnam National University, Gwangju, Korea*

²*Dept. Of Manufacturing Technology and Design Eng., Jeonju Universtiy, Jeonbuk, Korea*

I. Object: Clinically, FRC(Fiber-Reinforced Composite) post is available instead of metallic post in the dentin and adhesion of dental root through the adhesion with the modulus of elasticity similar to the dentin. In this study, investigate how adhesion status of dentin and post and the material of post affected the dispersion in aspect of stress induced within the root canal of post by using the finite element analysis method.

II. Materials & Methods: This study was to survey and produce extracted natural tooth and model tooth for the finite element model of upper central incisor which lost the tooth crown completely with the ceramic crown, composite resin core, cylindrical-shaped titanium(Ti) or FRC post.

To design the finite element model, applying the load of each 100 N to the incisal edge parallel to the tooth axis by each model(P1) and to the center of lingual surface at an angle of 45 degrees to the tooth axis (P2).

III. Results:

1. FRC post showed stress concentration at the bottom of post with the adhesion under P1 load, but the phenomenon of stress concentration on the top without the adhesion. Under P1 load, FRC post has shown less distribution of stress than surround dentin, but the Ti post showed larger distribution of stress than surround dentin.
2. Under bonded status, the stress concentration occurred at the same point in dentin with both materials. Under debonded status, FRC post showed the stress concentration at the same point in dentin with both materials were not adhered. Ti post showed the stress concentration in the part of dentin contacting with labial side on the bottom of post.
3. The case adding P2 load has shown several times through dozens of times larger stress concentration in the whole model and dentin than that of case adding P1 load. In the post showed that both materials increase a little in case with adhesion, but the stress concentration of post under P2 load increased remarkably in a state without adhesion.

IV. Conclusion: In this study, FRC post with the similar elasticity of tooth structure that properly adhere to the tooth structure did not sustain damage of surrounding tissue according to the stress concentration on post. Otherwise, post with higher modulus elasticity material(metallic post) than dentin can result unfavorable stress concentration with the strong possibility of causing damage to the surrounding tissue without adhesion to the tooth structure.

Jae Hyun Lee

Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry

Chonnam National University, Gwangju, Korea

Denti84@gmail.com

Management of complicated crown-root fracture by surgical extrusion with 180° rotation

○Ju-Hyun Lee, Jung-Hong Ha, Myung Uk Jin, Young Kyung Kim, Sung Kyo Kim

Department of Conservative Dentistry, Kyungpook National University, Daegu, Korea

I. Introduction:

Crown-root fractures are frequently difficult to treat and prognosis is unpredictable. A number of techniques, such as crown lengthening, orthodontic or surgical extrusion, have been described for treatment of crown-root fractures. To restore the biological width, surgical extrusion can be chosen when osteotomy/osteoplasty and dental traction are not viable. This case report presents the management of crown-root fracture on the anterior teeth through surgical extrusion with 180° rotation with good results in two patients.

II. Materials, Methods & Results:

The first case involves a 39-year-old female who was broken left central incisor as a result of accident on the stairs. Intraoral and radiographic examinations revealed a complicated crown fracture. After removal of the fracture fragment, the tooth margin was subgingival and extended apically to the alveolar crest on the palatal aspect. The distance from the gingival margin to the fracture margin was approximately 2 mm. The second case involves a 21-year-old male who was broken right central incisor after fell during sports practice. On evaluation was observed complicated crown fracture with invasion of biological width through the palate. After removal of the fracture fragment, the distance from the gingival margin to the fracture margin was approximately 3 mm. For both cases, surgical extrusion with tooth rotation consisted of extraction, 180° rotation and replantation, thus restoring the biological width. Two patients were followed up for 8 and 7 months respectively. There were no radiographic and clinical signs of progressive root resorption, marginal bone loss nor periapical lesion in these cases.

III. Conclusion:

For treatment of crown-root fractures, one should have knowledge about the more safe alternatives, which present a better prognosis, in order to maintain the damaged structures at health condition, aesthetically and functionally. The surgical extrusion takes less time than other techniques, enables more precise identification of the fracture line after extraction, and maintains the esthetic properties of the fractured and adjacent teeth, whereas a gingivectomy or crown lengthening in the anterior region may compromise esthetics. Surgical extrusion with 180° rotation would be considered for the treatment of teeth with crown-root fracture.

Ju-Hyun Lee

Postgraduate student,

Department of Conservative Dentistry,

Kyungpook National University, Daegu, Korea

jufofoi@naver.com

Management of complicated crown-root fracture of maxillary anterior tooth

○Bo-Kyung Park, Hyoung-Hoon Jo, Ho-Keel Hwang

Department of Conservative Dentistry, Chosun University, Gwangju, Korea

I. Introduction:

The crown-root fracture of anterior tooth is common in cases of dental trauma. When the fractured line is subgingival margin, there are many difficulties in restoration. Various treatment options could be considered. This case report presents the surgical management of complicated crown-root fracture of maxillary anterior teeth.

II. Case Presentation:

< Case 1>

1. Sex/age : M/23
2. Chief Complaint(C.C) : Maxillary anterior tooth was broken due to slip down injury
3. Present Illness(P.I) : #11 Complicated crown-root fracture with pulp exposure Per(+) Mob(-)
#21 Horizontal Crown fracture with pulp exposure Per(+) Mob(-)
4. Impression : #11 Complicated crown-root fracture, #21 Horizontal Crown fracture
5. Tx. Plan : #11 Surgical extrusion (with 180° rotation) + RCT + Crown
#21 RCT + Reattachment of fragment using fiber-reinforced post

< Case 2>

1. Sex/age : F/54
2. Chief Complaint(C.C) : Maxillary anterior tooth was broken due to traffic accident
3. Present Illness(P.I) : #11 Complicated crown fracture with pulp exposure and Intrusion state Per(+) Mob(-)
#21 Incisal edge crown fracture Per(+) Mob(-)
4. Impression : #11 Complicated crown-root fracture and intrusion, #21 Incisal edge crown fracture
5. Tx. Plan : #11 Surgical extrusion and repositioning + RCT + Crown, #21 Resin build up

III. Conclusion:

Surgical extrusion can be suggested as an appropriate treatment option in the management of complicated crown-root fracture in permanent anterior teeth. Surgical extrusion is a one-step and less time-consuming procedure that allows dentist to examine the root fractured surface. These cases were restored by surgical extrusion successfully.

Bo-Kyung Park

Department of Conservative Dentistry,

Chosun University, Gwangju, Korea

tgmk@s@nate.com

実験的 *in situ* デンタルバイオフィルム構成細菌の包括的解析

1 大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)

2 大阪大学歯学部附属歯科技工士学校

○和氣菜々子¹, 朝日陽子¹, 町博之², 野杻由一郎¹, 恵比須繁之¹, 林美加子¹

Comprehensive analyses on formation of *in situ* dental biofilms

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

²Osaka University Dental Technology Institute

○WAKE Nanako¹, ASahi Yoko¹, MACHI Hiroyuki², NOIRI Yuichiro¹, EBISU Shigeyuki¹, HAYASHI Mikako¹

<研究目的>これまで多種多様な *in vitro* デンタルバイオフィルム形成モデルが開発され、それを用いた研究報告が行われてきた。しかしながら、ヒトの口腔内のデンタルプラークは *in vitro* で形成されたバイオフィルムとは異なり、700 種以上の細菌種が存在し、多種多様な口腔内環境や宿主因子に影響される。従って、ヒト口腔内でデンタルプラークを形成し、評価できるモデルを開発し、その形成メカニズムや制御・抑制法を検討することが重要である。そこで今回、我々が新規に開発した口腔内装置を用いハイドロキシアパタイト (HA) ディスク上で実験的デンタルバイオフィルムを形成し、その定量分析および 3 次元的検索を行った。さらに、形成したデンタルバイオフィルムにおいて 16SrRNA 遺伝子を標的としたシーケンス解析を用いて、その構成細菌を経時的に同定し、包括的な解析を行った。

<材料および方法>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 H24-E4)。同意の得られた被験者 10 人より試料を採取し、実験に供した。口腔内の装置中に固定した 8 つのアパタイトディスク上に形成されたデンタルバイオフィルムを経時的 (1、4、8、12、24、48、60、72、96 時間後) に評価した。被験者のブラッシング方法、ブラッシング時間は均一化した。デンタルバイオフィルム構成細菌の定量については、アパタイトディスク上に形成されたバイオフィルムを回収後、羊血液寒天培地に播種し、経時的に colony forming unit (CFU) を測定した。また、生菌と死菌をそれぞれ LIVE/DEAD® キットにて染色後、共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM) により経時的な 3 次元観察を行った。また得られた CLSM 像より経時的に厚みの測定を行った。さらに、各時間ごとに DNA を抽出後、16SrRNA 遺伝子を標的とし、次世代シーケンサー IonPGM® を用い pyrosequencing を行い、得られたシーケンスデータは QIIME® を用いて解析した。

<成績> 1. バイオフィルム形成細菌の生菌数測定および CLSM による定量的 3 次元的解析

バイオフィルム形成細菌数は 12 時間まで急速に増加を示し、その後 48 時間まで少しずつ増加を示し、60 時間後に再び急速に増加し、72 時間後でプラトーに達した。これにより 96 時間後までの細菌の生菌数は 2 相性に増加した。また、CLSM 像より、時間の経過とともにコロニー数が増加し、様々な形態型の細菌種を含み、生菌と死菌の混在したコロニーが観察できた。その厚みの増加はおおよそ生菌数の増加と同様に 2 相性の増加傾向を示した。

2. 構成細菌の包括的同定

被験者 10 人のデータには個人差が認められたが、一定の傾向が認められた。それは、まず門レベルにおいて、16 時間までは Firmicutes 門が優勢であり、その後 48 時間後に Fusobacteria 門および Bacteroidetes 門の割合が増加した。さらに、属レベルではおおよそ 16 時間まで Streptococcus 属が 20% 以上を占め、48 時間後以降に Fusobacterium 属および Porphyromonas 属などの偏性嫌気性菌が優勢となり、96 時間後には統計学的に有意に増加していた。 ($p < 0.05$)

<考察および結論> 通性嫌気性菌である Streptococcus 属が急速な増加を示した後、バイオフィルム内が嫌気的環境になることで、その後偏性嫌気性菌である Fusobacterium 属や Porphyromonas 属が急速な増加を示したのではないかと考察される。本研究により、ヒトの口腔内で形成した実験的歯肉縁上デンタルバイオフィルムの形成は定量的に 2 相性の増加を示し、これはデンタルバイオフィルム中の構成細菌が通性嫌気性菌 (Streptococcus 属) から偏性嫌気性菌 (Fusobacterium 属、Porphyromonas 属) へと細菌叢が変化することにより起こることが明らかとなった。

(本研究の一部は科学研究費補助金 (基盤研究 (B) 15H05021, 24390425, 基盤研究 (C) 26462878) の補助の下に行われた)

多種イオン徐放性フィラー含有試作アドヒーズプレジンを用いた 直接覆髄法に関する免疫組織化学的研究

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専攻

²⁾ 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

○川嶋 里貴¹⁾, 鈴木 雅也²⁾, 新海 航一²⁾

Immunohistochemical study on the effects of an experimental adhesive resin contained multi-ion releasing fillers on the direct pulp-capping

¹⁾Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

²⁾Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

○KAWASHIMA Satoki¹⁾, SUZUKI Masaya²⁾, SHINKAI Koichi²⁾

【研究目的】

S-PRG フィラーは、多機能性ガラス、グラスアイオノマー相および表面改質層の3層からなり、Na, Al, Si, F, Sr およびBの6種類のイオンを徐放するという機能性フィラーである。SrとBは石灰化促進作用を有することから、S-PRG フィラーを配合したアドヒーズプレジンを直接覆髄材として応用できる可能性がある。これまで我々は、ラット露髄面に対しS-PRG フィラーを含有する試作アドヒーズプレジンを用いた場合、S-PRG フィラー無配合のものと比較して早期に修復象牙質を形成することを報告した(第142回日本歯科保存学会春季学術大会)。そこで本研究では、S-PRG フィラー含有試作アドヒーズプレジンをラット露髄面に応用した際、露髄面の治癒態度に及ぼす影響について免疫組織化学的に検討した。本研究は、本学動物実験倫理委員会の承認を得て行った(承認番号:152)。

【材料と方法】

8～9週齢の雄性SD系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭を露髄させ、創面をADゲル(クラレノリタケデンタル)にて5分間処理を行った。次に6%NaClOと3%H₂O₂による交互洗浄を行い、止血を確認してから直接覆髄に移行した。実験群を下表に示す。4種類の試作アドヒーズプレジンは、フルオロボンドシェイクワン(松風)を基本組成とし、各々、S-PRG フィラーを0, 13, 27, 40wt%含有している。まず、A液とB液を1滴ずつ採取して混和した後、露髄面を含む窩洞全面に塗布した。20秒間放置し、エアー乾燥後、Candelux(モリタ)を用いて光照射を10秒間行った。ControlはMTAセメント(プロルートMTA:デンツプライ三金)で覆髄後、窩洞内面処理にフルオロボンドシェイクワンを用いたものとした。次いで、コンポジットレジン(ビューティフィルフロープラスF03:松風)を窩洞に填塞して光照射を40秒間行い、処置を完了した。観察期間(14日と28日)後に屠殺、4%PFA溶液で固定後、摘出した試料を10%EDTA溶液にて脱灰した。通法にてパラフィン連続薄切切片を作製し、免疫組織化学染色(Nestin, HSP-25)を行い、光学顕微鏡を用いて観察した。

【結果および考察】

いずれの実験群においても歯髄組織に炎症性変化を認めず、ほとんどの試料で修復象牙質の形成を認めたが、形成された修復象牙質の量や形状は実験群によって様々であった。観察期間28日においてGroup 2と3は、Controlと同等の完全象牙質橋を認めたが、その厚みは薄くControlには及ばなかった。Nestinの染色では、14日後で、一部の試料にわずかな陽性反応を認めたが、28日後ではいずれの試料にも陽性反応を認めなかった。したがって、S-PRG フィラーから放出されるSrイオンが象牙芽細胞様細胞の分化を促進し、Bイオンが石灰化に関与した可能性が考えられる。また、HSP-25の染色では、多くの試料で14日後と28日後に陽性反応を認めたが、実験群間で差は認められなかった。したがって、露髄させた際の象牙芽細胞の損傷が大きいものの、象牙芽細胞が分化されたことを示唆していると思われる。

【結論】

S-PRG フィラーを含有する試作アドヒーズプレジンは、Controlには及ばないものの、S-PRG フィラー無配合のものと比較して早期に修復象牙質を形成した。免疫組織学的染色の結果、Nestinでは、14日後で一部の試料に陽性反応を認めたが28日後では認めなかった。一方、HSP-25の陽性反応は28日後でも認められた。

Group (n=6)	Experimental adhesive resin	
	Filler contents (wt%)	
	S-PRG filler (3 μm)	Silica filler (1 μm)
Group 1	0	40
Group 2	13	27
Group 3	27	13
Group 4	40	0
Control	MTA cement Fluorobond shakeone	

オフィスブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略 — 唾液浸潤モデルによる検討 —

神奈川歯科大学大学院 歯学研究科 う蝕制御修復学講座¹, 放射線応用科学講座²,
口腔科学講座 硬組織分子細胞生物学分野³

○飯塚純子¹, 國松雄一¹, 谷口紀江², 高垣裕子³, 向井義晴¹

Remineralization strategy for enamel subsurface lesions by in-office bleaching therapy

— Evaluation with saliva infiltration model —

Department of Cariology and Restorative Dentistry¹, Department of Radiopraxis Science², Division of Molecular and Cellular
Biology of Mineralized Tissues, Department of Oral Science³, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University
○IIZUKA Junko¹, KUNIMATSU Yuichi¹, TANIGUCHI Motoe², TAKAGAKI Yuko³, MUKAI Yoshiharu¹

【目的】表層下脱灰の形態を有するエナメル質初期齲蝕病巣には唾液由来タンパク質等の有機質が侵入しており、それらが再石灰化の進行を妨げている可能性がある」と指摘されている。我々はエナメル質初期齲蝕病巣に侵入している有機質を分解し効果的な再石灰化を誘導するための手段の一つとしてオフィスブリーチ剤の有効性を検討してきた¹⁻³。141 回本学術大会においては、オフィスブリーチング剤が病巣深部まで入り込んだ唾液由来有機質を分解し、効果的な再石灰化を誘導する可能性を報告した。前実験モデルは 14 日間の短期間唾液浸漬を行った表層下脱灰病巣であるが、より実際のエナメル質初期齲蝕表層下脱灰病巣に近づけるため、本研究では、作製した表層下脱灰病巣を安静時唾液に 28 日間浸透させた後ブリーチングを施し、その後再石灰化することによるブリーチング剤の再石灰化誘導への有効性を Transversal Microradiography (TMR) にて評価した。

【材料と方法】ウシ下顎中切歯よりエナメル質片を直径 5 mm の円柱状に切り出し耐水研磨紙 2,000 番で研磨後、耐酸性パーニッシュにて試験面を 2×3 mm に規定し、以下の 5 群に分けた。1) 基準脱灰病巣群 (D 群): エナメル質片を脱灰緩衝液 (0.1 M lactic acid, 8 % methylcellulose, 0.2 ppm F, pH 4.6) に 37 °C で 10 日間浸漬して表層下脱灰病巣を作製した。2) 基準脱灰病巣→唾液浸漬群 (DS 群): 1) と同様の表層下脱灰病巣を作製後、氷冷下にて採取した安静時唾液 (0.02 % NaN₃ 添加) に 37 °C で 28 日間浸漬した (神奈川歯科大学研究倫理委員会承認番号 第 160 番)。唾液は 1 週間に 3 回交換した。3) 基準脱灰病巣→再石灰化群 (DR 群): 1) と同様に表層下脱灰病巣を作製した後、再石灰化溶液 (1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 130 mM KCl, 20 mM Hepes, pH 7.0) に 37 °C で 28 日間浸漬した。なお、再石灰化溶液は 7 日毎に交換した。4) 基準脱灰病巣→唾液浸漬→再石灰化群 (DSR 群): 2) と同様に安静時唾液に 28 日間浸漬し、その後再石灰化溶液に 28 日間浸漬した。5) 基準脱灰病巣→唾液浸漬→ブリーチング→再石灰化群 (DSBR 群): 2) と同様に安静時唾液に 28 日間浸漬後、オフィスブリーチング剤である松風 HiLite を適用 3 回を 1 セットとして 2 セット施術し、再石灰化溶液に 28 日間浸漬した。各群処理後、エナメル質片から厚さ 150 μm の薄片を切り出し、TMR 撮影 (PW 3830, 管電圧 25 kV, 管電流 15 mA, 照射時間 20 分) 後、分析用ソフト (TMR2000, Inspektor) を用いてミネラルプロファイルを作製、ミネラル喪失量 (IML) を測定した。統計分析は、one-way ANOVA ならびに Tukey の検定を用い有意水準 5 % にて行った。

【結果および考察】D 群の結果から、表層に 58 % および病巣体部に 33 % のミネラル密度を有する表層下脱灰病巣が作製されたことが確認できた。また、DS 群ならびに DR 群では、D 群と比較し有意な IML の減少が確認されたことから、28 日間唾液または再石灰化溶液に浸漬することで再石灰化が進行することが確認された。一方、DSR 群は DS 群に比較し有意な IML の減少が確認されたが DR 群とは有意差が認められなかった。これは再石灰化がある程度進行しても唾液成分により抑制がかかる可能性を示している。また、DSBR 群は他の 4 群と比較し有意に減少した。とくに DSBR 群が DSR 群に比較して有意な IMR の減少を示した結果は、唾液由来の有機質がブリーチングによって除去され、ハイドロキシアパタイトの結晶生長を促進した可能性を示す結果であると考えられた。

【結論】唾液成分が浸潤したエナメル質表層下脱灰病巣をブリーチング処理することにより、効果的な再石灰化を誘導できる可能性がある。

1) 飯塚純子ら。ブリーチング法を利用したエナメル質表層下脱灰病巣の再石灰化戦略 第 1 報 30%過酸化水素水による唾液成分タンパク質の化学的変化。日歯保存誌 55, 127-133, 2012

2) Junko Iizuka *et al.*, Chemical alteration by tooth bleaching of human salivary proteins that infiltrated subsurface enamel lesions – Experimental study with bovine lesion model systems-. Dent Mater J 33, 663-668, 2014

3) 飯塚純子ら。エナメル質表層下脱灰病巣における唾液由来有機質のラマン分析とブリーチングによる変化 —審美的な再石灰化療法の開発を目指して—。歯科審美 27, 1-7, 2014

培養ヒト歯髄に対する prostaglandin EP4 レセプターアゴニストの影響

- 1 新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻口腔健康科学講座 う蝕学分野
- 2 新潟大学大学院医歯学総合研究科 顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野
- 3 東京医科歯科大学医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野

○大倉直人¹ 吉羽永子¹ 吉羽邦彦¹ 小田陽平² 興地隆史³

Effect of prostaglandin EP4 receptor agonist on cultured human dental pulp tissue

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

2Division of Tissue Regeneration and Reconstruction, Department of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial Region, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

3Department of Pulp Biology and Endodontics, Tokyo Medical and Dental University (TMDU) Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Naoto Ohkura¹, Nagako Yoshida¹, Kunihiro Yoshida¹, Yohei Oda² and Takashi Okiji³

【研究目的】

Prostaglandin (PG) E₂ は炎症、痛み、組織修復などに重要な役割を演じる生体内調節因子で、歯髄においてもこれらの方面への関与が推定されている。一方、PGE₂ は EP4 などのレセプターと結合することで生理活性を発揮するが、歯髄における PG レセプターの局在や機能については極めて知見に乏しい。我々はこの点に着目し、ヒト歯髄では EP4 が象牙芽細胞や血管周囲組織に発現していること、さらに lipopolysaccharide 添加により培養ヒト歯髄組織で EP4 mRNA 発現が著明に亢進することを見いだしている。本研究では、歯髄における EP4 を介した PGE₂ の機能の一端を解明することを目的とし、培養ヒト歯髄組織に EP4 アゴニストを作用させ、組織修復への関与が知られる α -smooth muscle actin (α SMA) の発現、および血管新生関連分子の発現への影響を解析した。

【材料と方法】

矯正治療で要拔牙と診断された 18-25 歳男女の智歯を使用した(新潟大学歯学部倫理委員会 承認番号 21-R17-09-10)。拔牙は厚さ 1mm にスライスした後、EP4 アゴニスト (lubiprostone: 1mM) もしくはコントロールとして EP4 アゴニスト非添加の培養液(10%仔牛血清、ペニシリン、ストレプトマイシン、アスコルビン酸含有 Dulbecco modified Eagle medium)中で 37°C、CO₂ 濃度 5%で 1 週間培養した。その後、実体顕微鏡下で象牙前質を含むように歯髄組織を単離し、RNA 抽出キット (TRIzol, Life technologies, USA)で mRNA を抽出後、逆転写を行い cDNA を作製した。この cDNA 0.5 μ g を用い、 α SMA、筋線維芽細胞誘導因子として transforming growth factor β 1 (TGF- β 1)、血管新生因子として vascular endothelial growth factor A (VEGF-A)、および内部標準として β アクチンの遺伝子発現をリアルタイム PCR で解析した。さらに、培養歯髄組織をパラフィン切片とし、 α SMA と CD31 (血管内皮細胞マーカー) の発現を酵素抗体法および蛍光抗体法で観察した。

【結果】

Lubiprostone 添加条件での mRNA 発現レベルは、コントロールと比較して α SMA、TGF- β 1 および VEGF-A でそれぞれ 1.56 倍、1.60 倍、2.92 倍に有意に増加した。また、lubiprostone 添加条件下で血管周皮細胞および一部の線維芽細胞様細胞で α SMA 陽性反応が確認された。さらに、lubiprostone 添加条件での CD31 陽性反応は、lubiprostone 非添加の組織と比較して長く、かつ太い傾向を認めるとともに、血管新生初期に認められる tip-cell 様の構造にもシグナルが観察された。

【考察】

Lubiprostone 添加条件では α SMA ならびに TGF- β 1 の mRNA 発現亢進、および血管周皮細胞と線維芽細胞様細胞での α SMA 発現亢進が確認された。これについては、TGF- β 1 が線維芽細胞を α SMA 陽性細胞の筋線維芽細胞に分化させることから、この誘導経路の一部に EP4 が関与していることを示唆する所見と考えられる。一方、VEGF-A の遺伝子発現の増加と、CD31 陽性 tip-cell 様細胞の出現からは、EP4 が血管新生に関与している可能性が示唆される。

【結論】

Lubiprostone の添加によって、培養ヒト歯髄で α SMA、TGF- β 1 および VEGF-A の mRNA 発現が亢進するとともに、血管周皮細胞や線維芽細胞様細胞における α SMA 発現や CD31 陽性 tip-cell 様構造の出現が観察された。

ヒト骨格筋幹細胞を用いた象牙芽細胞分化における 象牙芽細胞擬態マトリックスの役割

○ 尾関伸明, 山口秀幸, 長谷奈央子, 檜山太希, 川合里絵, 茂木眞希雄*, 中田和彦
愛知学院大学歯学部歯内治療学講座
*愛知学院大学薬学部生体機能化学講座

Roles of mimicking odontoblast-like cell matrix on odontoblast differentiation of human skeletal muscle stem cells

○ Nobuaki Ozeki, Hideyuki Yamaguchi, Naoko Hase, Taiki Hiyama, Rie Kawai, Makio Mogi* and Kazuhiko Nakata
Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
*Department of Medicinal Biochemistry, School of Pharmacy, Aichi Gakuin University

【研究目的】

近年、組織特異的な細胞外マトリックス (extracellular matrix : ECM) を培養系に応用して、生体に近い培養・移植環境を3次的に構築する脱細胞化技術が注目を集めている。この技術は、組織から界面活性剤などにより細胞成分を除去し、タンパク質のみを残存させるものであり、得られた ECM は種々の細胞培養の基盤として応用されている。ECM は幹細胞の機能や分化を制御する幹細胞ニッチを提示し、幹細胞の組織分化や機能の制御に関与していると報告されている (Hoshiba et al., *J Biol Chem.* 2009)。

本研究では、我々が新規に確立したヒト象牙芽細胞 (Ozeki et al., *J Biol Chem.* 2014) の培養と脱細胞化により精製した象牙芽細胞擬態マトリックス (Mimicking odontoblast-like cell matrix: Mom)を用いて、ヒト骨格筋幹細胞の象牙芽細胞分化における Mom の役割について検討を行った。

【材料および方法】

セルソーターを用いて $\alpha 1$ integrin 陽性ヒト骨格筋幹細胞由来象牙芽細胞を 98%以上高純度化し、実験に用いた。通法に従い細胞培養後、PBS 含有 0.5% Triton-X-20mM NH_4OH を用いて、Mom の抽出・精製を行った。さらに精製した Mom 上にヒト骨格筋幹細胞を播種し 7 日目に total RNA とタンパク質を抽出し、象牙芽細胞分化マーカー (DSP, MMP-20) 遺伝子およびタンパク質の発現動態を Real time-PCR 法と Western Blot 法により評価した。また、精製した Mom の構成マトリックス成分を免疫染色により検討した。ヒト骨格筋幹細胞由来骨芽細胞と軟骨細胞の培養により、骨芽細胞擬態マトリックスならびに軟骨細胞擬態マトリックスを精製し、象牙芽細胞分化能を比較検討した。

【結果および考察】

精製した Mom 上に播種したヒト骨格筋幹細胞は、統計的に有意な象牙芽細胞分化マーカーの遺伝子およびタンパク質の発現亢進、ならびにアルカリホスファターゼの活性化と石灰化の亢進を認めた。さらに Mom には、他の骨関連細胞により精製した擬態マトリックスと比較して、Laminin 111 および Osteonectin が特異的に存在することが明らかとなった。他の2種類の擬態マトリックスでは、象牙芽細胞分化誘導は認められなかった。興味深いことに、ヒト骨格筋幹細胞から象牙芽細胞分化誘導に必須な BMP-4 を幹細胞が自己分泌することを確認した。また、ヒト骨格筋幹細胞と Mom との接触において、初期に働く幹細胞表層のメカニカルセンサー分子が $\alpha 7$ integrin であること、さらに、本タンパク質が Mom 上の Laminin 111 と Osteonectin をパターン認識することで、象牙芽細胞分化を導く分子機構であることを初めて明らかにした。

【結論】

象牙芽細胞擬態マトリックス (Mom) は、ヒト骨格筋幹細胞を用いた象牙芽細胞分化に有用な誘導因子ならびに基盤となる可能性を示した。

歯科用電気機器が心臓植込み型電子機器に与える電磁障害について
岩手医科大学・歯学部・歯科保存学講座・う蝕治療学分野¹⁾
岩手県赤十字血液センター²⁾

○工藤義之¹⁾, 櫻井秀人¹⁾, 志賀華絵¹⁾, 岡田伸男¹⁾, 野田 守¹⁾, 中居賢司²⁾

The Influence of Dental Electronic Apparatus on Implantable Heart Devices

Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry¹⁾,
Japanese Red Cross Iwate Blood Center²⁾

School of Dentistry, Iwate Medical University

○Kudo Yoshiyuki¹⁾, Sakurai Hideto¹⁾, Shiga Hanae¹⁾,

Okada Nobuo¹⁾, Noda Mamoru¹⁾, Nakai Kenji²⁾

【目的】

本邦において心臓植込み型電子機器装着者は急増しており、装着者の歯科受診も増加している。心臓植込み型電子機器装着者が安全に歯科治療を受けるためには、歯科治療に使用する電気機器が植込み型電子機器に与える影響を調査する必要がある。本研究では歯科用電気機器が心臓ペースメーカー(PM)、植込み型除細動器(ICD)に与える電磁障害を *in vitro* で検討した。

【材料および方法】

歯科用電気機器として(1)電気的根管長測定器: Endodontic meter S-II (貫製作所, S-II), ROOT ZX(モリタ ZX), APIT 1(オサダ電機工業, AP1), APIT 11(オサダ, AP11), (2)超音波器具: ENAC 10W (オサダ, ENAC), キャビトロンセレクト(デンツプライ社, CAB), (3)電気メス: BROG (モリタ, BR) を用いた。

電磁干渉の測定は Irnich 人体ファントムを用いた。体内に通電する歯科用電気機器の電磁干渉を Irnich 人体ファントムの水槽内に通電させて電磁干渉を測定した。心臓植込み型電子機器には PM (Adapta DR: 日本メドトロニック社, 東京), ICD (Evera DR: 日本メドトロニック社, 東京) を使用し、ノイズの発生の有無をプログラマ (2090W: 日本メドトロニック社, 東京) を用いて、それぞれ5回ずつ5秒間測定した。検出感度は PM では 0.5mV, ICD では 0.15mV で行った。

【結果および考察】

歯科用機器を使用した際のペースメーカー、ICD での電磁干渉の発生状況を Table に示す。

	S-II	ZX	AP1	AP11	ENAC	CAB	BR
PM	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	20 %	100 %
ICD	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	60 %

Table Incidence of Electromagnetic Interference on pacemaker and ICD by using dental electronic devices. (n=5)

電気的根管長測定器ではいずれの機種においても PM, ICD のいずれに対しても電磁干渉は認められなかった。超音波機器 CAB では PM に対して 20%の電磁干渉が認められた。電気メス BR では PM, ICD の両者に対して電磁干渉が認められた。

【結論】

今回の実験の範囲では、電気的根管長測定器では電磁干渉は認められず、超音波機器では電気メスでは PM や ICD に対して電磁干渉を認めた。今後、より多くの歯科医療機器での電磁障害について検証すべきであると考えられた。

本研究の一部は JSPS 科研費「24592879」, 「15K11127」の助成を受けた。なお、本研究に関する利益相反はない。

歯肉上皮細胞における TLR3 を介した TLR2 発現上昇の機構

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)
○森健太、柳田学、久保田実木子、長谷川詩織、山下元三、山田聡、北村正博、村上伸也

Upregulation of TLR2 via TLR3 activation in human gingival epithelial cells

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○Kenta Mori, Manabu Yanagita, Mikiko Kubota, Shiori Hasegawa,
Motozou Yamashita, Satoru Yamada, Masahiro Kitamura and Shinya Murakami

【目的】

様々な慢性炎症性疾患において壊死細胞由来の自己核酸が、Toll-like receptors (TLRs) を介して炎症の遷延化に関与しているとの報告が近年なされている。歯周炎病変部において炎症性細胞浸潤、ポケットの形成、歯槽骨の破壊等に加え歯肉上皮の断裂・壊死などを認める。しかし、歯周組織における壊死細胞由来物質と TLRs との相互関係に関する報告はなされていない。そこで、本研究では自己由来の核酸を認識すると報告されている TLR3 および歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS (*P. g.* LPS) の主要な受容体である TLR2 に着目し、歯肉上皮細胞が壊死細胞から放出される自己核酸に曝露されることにより、どのような炎症反応および免疫応答を惹起するか検討した。

【材料及び方法】

- ①歯肉上皮細胞に及ぼす壊死細胞の影響：壊死細胞上清を以下の方法で調整した。すなわち、ヒト歯肉上皮細胞株 (epi 4) を培地に懸濁した後、凍結融解を繰り返し、遠心分離することで得られた上清を Necrosis Cell Supernatant (NCS) として実験に用いた。epi 4 を NCS で 24 時間刺激した後の IL-6、IL-8 産生量を ELISA 法を用いて検討した。さらに、epi 4 の *TLR3* mRNA 発現を TLR3 特異的 small interfering RNA (si RNA) をトランスフェクションすることにより knock down し、NCS で 24 時間刺激した後の培養上清中の IL-6、IL-8 産生量を ELISA 法を用いて検討した。
- ②TLR3 刺激による歯肉上皮細胞における TLRs 発現の変化：epi 4 を TLR3 のアゴニストである Poly (I:C) で 24 時間刺激した後、*TLRs* mRNA 発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。また、epi 4 を様々な TLRs のアゴニストで 24 時間刺激した後の *TLR2*、*TLR3* mRNA 発現をリアルタイム PCR 法にて検討した。さらに、epi 4 を Poly (I:C) で 48 時間刺激した後の TLR2、TLR3 発現をフローサイトメトリー法により検討した。また、Poly (I:C) で 48 時間前処理した epi 4 を、*P. g.* LPS でさらに 24 時間刺激した後の培養上清中の IL-6、IL-8 産生量を ELISA 法を用いて検討した。
- ③インターフェロン β (IFN β) 刺激によって誘導される歯肉上皮細胞における TLR2 発現の変化：epi 4 を Poly (I:C) で刺激した後の IFN β mRNA 発現および IFN β 産生量をリアルタイム PCR 法および ELISA 法を用いて検討した。次に epi 4 を IFN β で 24 時間刺激した後の *TLR2* mRNA 発現をリアルタイム PCR 法を用いて検討した。また、epi 4 を IFN β で 48 時間刺激した後の TLR2 発現をフローサイトメトリー法を用いて検討した。IFN β で 48 時間前処理した epi 4 を、*P. g.* LPS でさらに 24 時間刺激した後の培養上清中の IL-6、IL-8 産生量を ELISA 法を用いて検討した。

【結果】

NCS は濃度依存的に epi 4 からの IL-6、IL-8 の産生量を誘導し、*TLR3* mRNA 発現を knock down することで NCS 刺激により誘導される IL-6 および IL-8 産生は抑制された。TLRs アゴニスト刺激の中で Poly (I:C) 刺激によってのみ、epi 4 において *TLR2*、*TLR3* mRNA 発現が上昇した。また、epi 4 において Poly (I:C) による 48 時間前処理後の *P. g.* LPS 刺激による IL-6、IL-8 産生量は Poly (I:C) 未処理群と比較して増加した。epi 4 において Poly (I:C) 刺激により IFN β の産生を認め IFN β 濃度依存的に TLR2 発現の上昇を認めた。さらに epi 4 において 48 時間 IFN β 前処理を行うことにより *P. g.* LPS 刺激による IL-6、IL-8 産生量は増加した。

【考察及び結論】

本研究結果から、感染・ストレス・外傷等に伴う歯周組織の破壊により歯肉上皮細胞が壊死することで放出される自己由来核酸を歯肉上皮が認識して炎症反応を活性化し、さらに TLR3 を介した刺激により TLR2 発現を増強させることで *P. g.* LPS を強く認識し、歯周炎の遷延化・増悪を招く可能性が示唆された。そしてこの TLR2 発現上昇のメカニズムの一つとして、TLR3 刺激により誘導される IFN β 産生が関与している可能性が示唆された。

歯根膜幹細胞培養上清は歯周組織の創傷治癒を促進する

東京医科歯科大学大学院 歯科学総合研究科 歯周病学分野¹
東京医科歯科大学大学院 歯科学総合研究科 ナノメディスン (DNP) 講座²
大日本印刷株式会社 研究開発センター ライフサイエンス第1研究所³
東京医科歯科大学大学院 歯科学総合研究科 分子細胞機能学分野⁴

○永田瑞¹、岩崎剣吾²、赤澤恵子¹、小牧基浩²、横山尚毅³、遠井政行¹、和泉雄一¹、森田育男⁴

Culture medium from periodontal ligament stem cells enhance periodontal wound healing
Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹, Department of Nanomedicine (DNP), Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University², Research & Development Center, Life Science Laboratory, Dai Nippon Printing Co., Ltd.³, Department of Cellular Physiological Chemistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University⁴
○NAGATA MIZUKI¹, IWASAKI KENGO², AKAZAWA KEIKO¹, KOMAKI MOTOHIRO², YOKOYAMA NAOKI³, TOOI MASAYUKI¹, IZUMI YUICHI¹, MORITA IKUO⁴

【目的】

歯根膜幹細胞 (PDLSC) は歯根膜から単離、培養される間葉系幹細胞 (MSC) 様細胞集団であり、*in vitro*において骨、脂肪、軟骨への分化能を示し、*in vivo*においてはセメント質、歯根膜、歯槽骨様組織を形成することが報告されている。その分化能および組織形成能から、培養 PDLSC を用いた歯周組織再生治療が提唱され、PDLSC 移植によって歯周組織が再生される報告が数多くなされている。これまで、我々は PDLSC 移植による歯周組織再生において、移植した細胞の多くが局所に生着していないにもかかわらず歯周組織の再生が促進されていることを観察し、PDLSC 移植による組織再生が移植細胞から放出されるパラクライン因子に由来するものではないかと仮説を立てた。本研究の目的は、PDLSC 由来パラクライン因子を含む培養上清 (PDLSC-CM) の移植による歯周組織修復について、動物モデルを用いて検討することである。

【材料と方法】

健全抜去歯より回収した歯根膜組織から酵素処理法を用いて PDLSC を単離・培養した。コロニーを形成しながら増殖した PDLSC を回収し、15%FBS 添加 α -MEM 培地にて培養した。細胞の骨芽細胞および脂肪細胞への分化誘導は、骨芽細胞分化誘導培地 (アスコルビン酸 50 μ g/mL、デキサメタゾン 10⁻⁸ M、 β -グリセロリン酸 10 mM)、脂肪細胞分化誘導培地 (Lonza) をそれぞれ用いて約 3 週間の培養を行った。石灰化の可視化には von Kossa 染色、脂肪細胞の染色には Oil red O 染色を用いた。PDLSC-CM の調整は、無血清 DMEM 中で PDLSC を 48 時間培養した後、培養上清を遠心、フィルトレーションを行い回収した。培養上清の濃縮には限外濾過を行い、通常濃縮 PDLSC-CM (約 27 倍) および高濃縮 PDLSC-CM (約 450 倍) を作製した。コントロール群として無血清 DMEM のみをインキュベート、濃縮した Control-CM を作製した。PDLSC-CM 中のタンパク質濃度は Bradford 法を用いて計測した。PDLSC-CM をセメント芽細胞 (HCEM2)、血管内皮細胞 (HUVEC)、骨芽細胞 (HCO)、口腔上皮細胞 (HGEP) へ 48 時間作用させた後、WST-8 assay にて各培養細胞の増殖への影響を検討した。また、マウスマクロファージ細胞株 RAW264.7 細胞への抗炎症作用を、IFN- γ 刺激後の TNF- α 遺伝子発現の測定により検討した。実験的歯周組織欠損をラット下顎第一臼歯部頰側に外科的に作製し、PDLSC-CM をコラーゲンスポンジに含浸し移植した。術後 4 週にてラットを屠殺し、マイクロ CT により歯槽骨形成を観察した。

【結果と考察】

PDLSC は骨芽細胞分化誘導後において von Kossa 染色陽性、また脂肪細胞分化誘導後において Oil red O 染色陽性を示した。細胞増殖試験より、PDLSC-CM は Control-CM と比較して有意に HCEM2、HUVEC、HCO の増殖を促進した。また IFN- γ 刺激を行った RAW264.7 細胞において、PDLSC-CM は Control-CM と比較して有意に TNF- α の遺伝子発現を抑制した。術後 4 週のマイクロ CT において、濃縮された PDLSC-CM では Control-CM と比較し有意に歯槽骨再生の促進が観察された。また PDLSC-CM は、高濃縮でより歯槽骨再生を促進する傾向が認められた。

【結論】

歯根膜幹細胞培養上清の移植は歯周組織の創傷治癒を促進し、新たな歯周組織再生法となる可能性が示唆された。

アメロジェニン会合分子 Grp78 が ヒト歯根膜幹細胞/前駆細胞株の細胞遊走時に及ぼす分子機構

九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯周病学分野
○豊田敬介、福田隆男、讃井彰一、山道研介、後村亮、西村英紀

Grp78 is critical for amelogenin-induced cell migration in a human periodontal ligament stem/progenitor cell line
Department of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University
○Kyosuke Toyoda, Takao Fukuda, Terukazu Sanui, Kensuke Yamamichi, Ryo Atomura,
and Fusanori Nishimura

【目的】

歯周組織の再生にエナメル基質タンパク質 (EMD: Emdogain Gel) が用いられているが、異種蛋白であることから、EMD 成分のどの分子がいかなる作用で再生を促進するかについて、詳細に解明することは極めて重要な課題である。我々は、EMD の 90 % 以上を占めるアメロジェニン分子が再生に果たす分子基盤を解明するために、プロテオーム解析による骨芽細胞における新規アメロジェニン会合分子の検索を行ってきた。その結果、新規アメロジェニン会合分子 Grp78 を同定し、さらに Grp78 がアメロジェニンの骨芽細胞内への取り込みと細胞増殖に重要であることを明らかにした。(Fukuda et al., PLoS One 2013;8(10):e78129)

歯周組織再生に歯根膜の再生が必須であることを考慮し、本研究ではヒト歯根膜幹細胞/前駆細胞株において、アメロジェニン誘導性の細胞遊走促進時における細胞骨格制御に対して Grp78 が及ぼす影響について検討した。

【材料及び方法】

- (1) 歯根膜細胞における Grp78 の発現分布の検討：ヒト歯根膜細胞株 (cell line 1-17) を、免疫蛍光染色時に細胞膜透過処理 (digitonin: 50 mg/mL) の有無に分け、細胞質内と細胞膜上の Grp78 の発現を共焦点蛍光顕微鏡で観察した。
- (2) アメロジェニンの Grp78 依存性細胞内取り込みの確認：共焦点蛍光顕微鏡において、amelogenin 刺激の前後での、細胞膜上におけるアメロジェニンと Grp78 の共局在を、Grp78 ノックダウン条件と比較検討した。
- (3) 歯根膜細胞におけるアメロジェニン刺激および Grp78 が関与する pathway の解析：cell line 1-17 を Grp78 のノックダウンの有無に分け、amelogenin (10 µg/mL) で 4 時間刺激後、マイクロアレイ (illumina 社 HumanHT-12 v4 chip) にて発現変動遺伝子群の解析を行った (DAVID software)。
- (4) アメロジェニンと Grp78 が細胞遊走に及ぼす影響の検討：Grp78 を強発現、または sGrp78 をノックダウンし、amelogenin 刺激時の細胞遊走 (wound healing assay)、細胞増殖 (WST-8 assay) について確認した。
- (5) アメロジェニンと Grp78 による細胞遊走活性化経路の確認：アメロジェニン刺激と Grp78 強発現による細胞骨格の変化 (共焦点蛍光顕微鏡) および細胞遊走に重要な Rho シグナルの活性化 (Rho-GTP pulldown assay) を確認した。更に Rac1 特異的阻害剤 NSC2376 (100 µM) を用いてその葉状仮足形成におよぼす影響を観察した (共焦点蛍光顕微鏡)。

【結果】

- (1) 歯根膜細胞において Grp78 が細胞質のみならず、細胞膜上にも発現している事を確認した。
- (2) アメロジェニンが細胞膜上に発現している Grp78 依存的に細胞内へ取り込まれることを確認した。
- (3) アメロジェニン刺激と Grp78 発現量が細胞遊走関連遺伝子群の発現に影響することを確認した。
- (4) 歯根膜細胞において、アメロジェニン刺激による細胞遊走能の促進を認めたが、Grp78 強発現による更なる亢進が確認された。しかし、Grp78 のノックダウン時には、アメロジェニン誘導性の細胞遊走促進効果は消失した。歯根膜細胞の細胞増殖においては、アメロジェニン刺激および Grp78 強発現に関わらず有意差は認められなかった。
- (5) アメロジェニン刺激と Grp78 強発現により、葉状仮足形成と Rac1 経路の活性化が確認された。一方で、アメロジェニン誘導性の葉状仮足形成は Grp78 のノックダウンおよび Rac1 特異的阻害剤により抑制された。

【結論】

ヒト歯根膜幹細胞/前駆細胞株 1-17 において、アメロジェニン刺激による細胞遊走効果は Grp78 依存性であり、その効果は Grp78 を介して Rac1 が活性化されることで促進されることが明らかとなった。

Comparative study of demineralized collagen degradation determined by hydroxyproline assay and microscopic depth measurement

○ISLAM Md. Sofiqul¹, KHUNKAR Sahar J¹, NAKASHIMA Syozi¹, SADR Alireza^{1,2}, NIKAIDO Toru¹, TAGAMI Junji¹

¹Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

²University of Washington School of Dentistry, Seattle, USA.

コラーゲン分解性についてハイドロキシプロリン法と光学顕微鏡による分解深さの測定法の比較

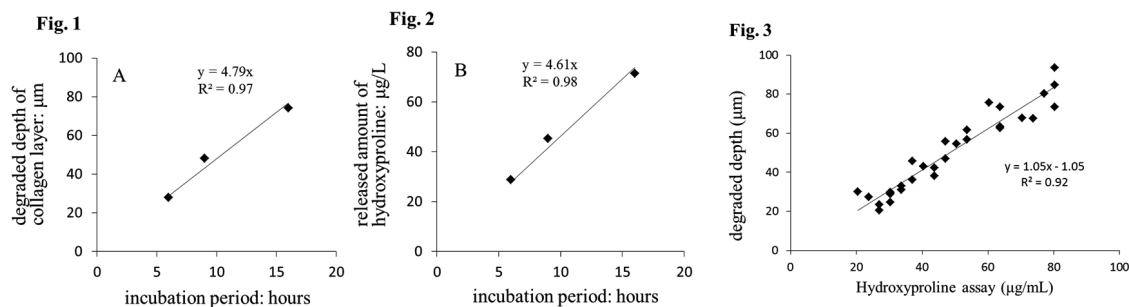
○ISLAM Md. Sofiqul¹, KHUNKAR Sahar J¹, 中嶋省志¹, SADR Alireza^{1,2}, 二階堂徹¹, 田上順次¹

¹東京医科歯科大学う蝕制御学分野, ²ワシントン大学歯学部

Introduction: Quantification of collagen degradation is an important parameter to evaluate dentin caries progression or the efficacy of caries prevention. Traditionally, efficacy of the collagen degradation inhibitors has been evaluated by hydroxyproline assay (**Hyd**) which has been regarded as gold standard method; however this assessment does not provide any visual or dimensional information of the degraded collagen in demineralized lesion. We have proposed a simple approach to measure depth of degraded collagen matrix by microscopic observation technique (**Mic**). Thus the aim of this study was to validate **Mic** by comparing it to **Hyd**.

Materials and Methods: Specimens of bovine root dentin blocks were embedded in acrylic resin, and were polished using silicon carbide papers. The polished tooth surfaces were covered with nail varnish leaving a window of approximately 1.5×2.5mm in diameter. Then, the specimens were demineralized in pH4.3 acetate buffer for 3 days to create incipient lesions. The demineralized specimens were allocated into 3 groups for different exposure periods (6, 9 and 16 hours) to collagenase enzyme solution. After collagenase challenge for each exposure period, the specimens were sectioned into thin sections (200-220μm). Degraded depth of the demineralized collagen matrix was measured by **Mic**. Following the collagenase challenge, the enzyme solutions were allocated to **Hyd** using the simplified chloramines-T method. Correlation between **Mic** and **Hyd** was evaluated by Pearson correlation analysis. In addition, anti-collagen degradation efficacy of 0.12% CHX was evaluated by treating the demineralized dentin specimens for 1 hour followed by exposure to the collagenase solution for 16 hours. The degraded collagen depth was measured by **Mic**.

Result and Discussion: **Mic** and **Hyd** revealed that mean depths of the degraded collagen and amount of hydroxyproline in 3 exposure periods were 27.8±3.8 μm and 28.7±4.2 μg for 6 hours, 48.1±8.6 μm and 45.3±6.1μg for 9 hours, and 74.2±9.7 μm and 71.3±8.0 μg for 16 hours, respectively (Fig. 1 and 2). The Pearson correlation analysis between **Mic** and **Hyd** revealed significantly higher correlation (r=0.94, CI: 0.88~0.97, p<0.0001: Fig. 3). Good linearity was noted between the exposure periods and data obtained in **Mic** or **Hyd** (R²=0.92). T-test revealed that the depth of collagen degradation in CHX group (28.6±3.3 μm) was significantly lower than that of control group (53.1±7.8 μm; p<0.01). An excellent Pearson correlation between **Mic** and **Hyd**, as well as the good linearity validated **Mic** for the quantification of collagen degradation. Furthermore, the significant reduction in the degraded depth in CHX group than the control group supported the validity of **Mic**.



Er:YAG laser 切削象牙質面に生成される熱変性層の性状分析

¹ 日本歯科大学新潟病院総合診療科

² 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

○加藤千景¹、新海航一²

Analysis of heat denaturation layer of an Er:YAG laser irradiated-dentin

²Department of Operative Dentistry, School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
○KATO Chikage¹, SHINKAI Koichi²

【目 的】

本研究の目的は、Er:YAG laser 切削面の熱変性層と各種表面処理後の切削面の TEM 観察・EPMA 分析を行うことにより熱変性層生成の一端を明らかにすることである。

【実験方法】

- 1) TEM 分析：①ヒト抜去歯から 5×5×5mm の象牙質片を作製した。②Er:YAG laser (Erwin, tip:FTB-80, J. Morita Mfg Corp) を用いて以下の照射条件で窩洞形成と表面処理を行った。実験群 1：耐水研磨紙 #120～#600 (対照群)、実験群 2:50mJ/10pps 照射、実験群 3:150mJ/10pps 照射、実験群 4:250mJ/10pps 照射、実験群 5:50mJ/10pps 照射後 150mJ/10pps 照射、実験群 6：150mJ/10pps 照射後 H₃PO₄ にて 30 秒処理、実験群 7：150mJ/10pps 照射後 H₃PO₄ にて 30 秒処理、その後 NaClO にて 90 秒処理、実験群 8：150mJ/10pps 照射後 H₃PO₄ にて 30 秒処理、その後シランカップリング処理、実験群 9：150mJ/10pps 照射後 50mJ/10pps 照射。③試料は脱灰後樹脂包埋し、薄切切片を作製しトルイジンブルー染色を行った。④その後超薄切切片を作製しリンタンゲステン酸染色後 TEM 観察を行った。
- 2) EPMA 分析：同一歯から同様に試料を作製し各種表面処理後、EPMA 分析を行った。

【結 果】

1) TEM 観察：

実験群 1：主にコラーゲン線維の多い管間象牙質が染色されており、コラーゲン線維の少ない管周象牙質は染色されていなかった。管周象牙質の中に象牙細管の辺縁が認められる部位も存在した。

実験群 2、3、4 および 5：管間象牙質表層に、構造が不明瞭で不均一に濃く染色される薄層が観察された。この染色層はレーザー照射群に共通して認められ、トルイジンブルー染色で濃く染色された層に比較し薄く、直下には正常な象牙質と同様な像がみられた。この染色層はコラーゲン線維が熱変性して生じた層と考えられる。また、これらの実験群の所見には、顕著な差は認められなかった。

実験群 6：管間象牙質表層に濃く染色される薄層が認められたが、レーザー照射群に比較し、滑沢であり、表層の一部に白く抜けたようなアモルファスな像も認められた。

実験群 7：管間象牙質表層に濃く染色される薄層が認められたが、他の実験群と比較して非常に薄いものであった。

実験群 8：管間象牙質表層に濃く染色される薄層が認められたが、その表面は凹凸が少なく滑沢であった。また、表層に白く抜けたようなアモルファスな像も所々に認められた。

実験群 9：表層に白く抜けるようなアモルファスな像を認めたが、直下にはレーザー照射面に特有な不均一で濃く染色される薄層が認められた。

2) EPMA 分析：

Ca、P、Mg、F、Cu について分析を行った結果、各元素のマッピング観察では実験群間に差を認めなかった。また、各試料の表層から内側にかけて各元素の濃度分析を比較した結果、実験群 2 と 4 では、レーザー照射直下の Ca と P の濃度が内層に比較して若干低下していた。また、実験群 1, 2, 3, 4 および 6 では、レーザー照射直下の Mg 濃度が内層に比較して若干低下していた。一方、F と Cu の濃度変化はすべての実験群において認められなかった。

本研究の一部は、科学研究費若手 (B) (課題番号：25861815) の補助によって行われた。

^{44}Ca 安定同位体添加再石灰化液による象牙質再石灰化層の同位体顕微鏡分析

○平石典子¹, 大槻昌幸², 田上順次², 森尾郁子¹

(1. 東京医科歯科大学国際交流センター, 2. 東京医科歯科大学大学院う蝕制御学分野)

^{44}Ca doped pH-cycling study on Dentin Remineralization by Isotope Microscopy

○N. Hiraishi¹, M. Otsuki², J. Tagami², I. Morio¹

(1. Tokyo Medical and Dental University International Exchange Center, 2. Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University)

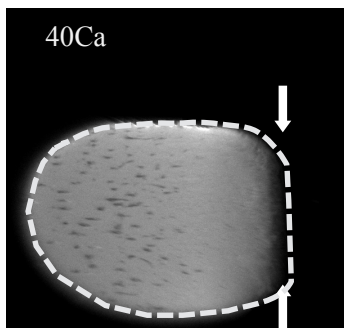
概要: う蝕脱灰病巣の発症とその経過を調べるために、pH サイクリング法による歯質脱灰化、再石灰化後の評価は国際的評価方法の一つで、微細エックス線装置による Transverse microradiography (TMR)法が用いられている。これは、歯質試料横断面でのマイクロラジオグラフの撮影量を測定するものだが、脱灰歯質からの Ca の再析出したものか、再石灰化液(唾液)由来の新たな Ca の取り込みかは判別できない。そこで、本研究では、 ^{44}Ca 安定同位元素を加えた再石灰化溶液(pH 7.0)を調整し、この再石灰化液に象牙質サンプルを浸漬させ、同位体カルシウムの取り込みを、同位体顕微鏡システムで測定し、脱灰歯質からの再析出 Ca および再石灰化液(唾液)からの Ca 取り込みの分布を区別化し、象牙質う蝕予防のフッ素効果もあわせて評価した。

方法: ^{44}Ca 安定同位元素含有再石灰化液は 1.5 mmol/L $^{44}\text{CaCl}_2$, 0.9 mmol/L KH_2PO_4 , 130 mmol/L KCl , 20 mmol/L HEPES buffer pH 7.0 に調整した。牛歯根部象牙質ブロックを使い、脱灰液(pH 5)にて初期脱灰層を作成後、脱灰液処理 2 時間(pH 5)→フッ素(0%, 0.2%)2 時間→ ^{44}Ca 含有再石灰化液(pH 7)20 時間の順で 14 日間 37°C で pH サイクリング法を行った。歯質試料横断薄切面を研磨後、同位体顕微鏡にて ^{40}Ca (intrinsic, 脱灰歯質からの再析出) および ^{44}Ca (extrinsic, 再石灰化液(唾液)からの Ca 取り込み)の分布を観測した。同位体顕微鏡システムは Camera IMS 1270 (Gennevilliers Cedex, France)を使用、SIMS (Secondary Ionization Mass Spectrometer: 二次イオン質量分析計)にて、同位元素の分布のイメージング化を試みた。

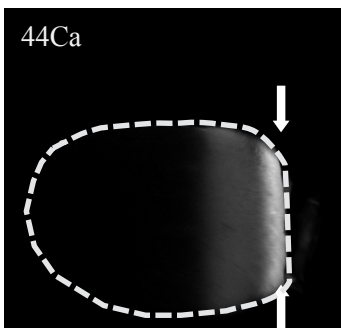
結果と考察: ^{44}Ca (extrinsic)の取り込みはフッ素処理群が高く、フッ素処理群の($^{44}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$)比率は表層に大きな値でみられたことから、唾液からの Ca 取り込みはフッ素によって高まるが、表層に偏在することが分かった。 ^{40}Ca (intrinsic, 脱灰歯質由来の再析出)は、フッ素未処理群では表層及びその表層下にも見られ、一方で 0.2% フッ素処理群は ^{40}Ca (intrinsic)の分布が表層には少なく表層下のみに見られた。総計 Ca ($^{44}\text{Ca} + ^{40}\text{Ca}$)分布は、フッ素未処理群で均一性がみられたが、0.2% フッ素処理群は表層下に総計 Ca 分布の少ない層がみられた。結果より、フッ素処理により、唾液からの Ca の取り込みは増えるが、表層に耐酸性の高いフルオロオパタイトができるため、表層下のより耐酸性の低い層は脱灰液の影響を受けやすく、表層下は Ca 量の低い層が表れたと考えられる。

フッ素処理群イメージ像

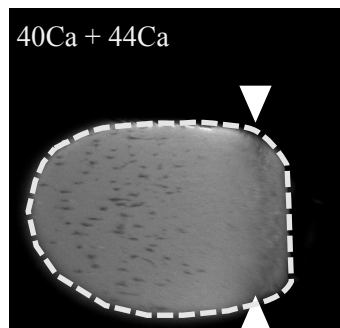
表層には ^{40}Ca は少ない
(between arrows)



表層に ^{44}Ca 取り込み多い
(between arrows)



表層下に総計 Ca 量少ない層がある
(between arrow heads)



浸透性レジン (ICON®) で処理したエナメル質初期う蝕の脱灰抵抗性に対する熱負荷の影響

東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 う蝕制御学分野¹

国立長寿医療研究センター病院 先端医療部口腔機能再建科²

○高篠奈美¹、中嶋省志¹、島田康史¹、田上順次¹、角保徳²

Effect of thermocyclic stress on acid resistance of resin-infiltrated incipient enamel lesion *in-vitro*

Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences,

Tokyo Medical and Dental University¹

Division of Oral and Dental Surgery, Department of Advanced Medicine, National

Center for Geriatrics and Gerontology²

○Nami Takashino¹, Syozi Nakashima¹, Yasushi Shimada¹, Junji Tagami¹, Yasunori Sumi²

【緒言】表層下脱灰を呈するエナメル質初期う蝕に対して、これまでフッ化物の使用やブラークコントロールにより再石灰化の促進あるいは進行停止が可能であることが知られている。しかし再石灰化がある程度達成されても白濁がいつまでも残り、審美的問題が残る場合がある。この審美的問題の対処として、microabrasionあるいはペニア修復などが行われてきたが、これらの処置では健全エナメル質を切削する量が多くなる。最近、市場導入された浸透型レジン (ICON®) は、歯質を切削することなく、歯面処理により脱灰病変の表層を除去し、TEGDMA を主成分とするレジンを浸透させることで、脱灰の進行を停止させ、審美的問題も軽減できるとされている。本実験では牛歯エナメル質の脱灰病変に浸透型レジンを塗布し、サーモサイクルの熱負荷を与えて病変とレジンの間にギャップの形成が起るか、またサーモサイクルが脱灰の抵抗性にどのような影響を及ぼすか、インビトロの評価を行った。

【材料と方法】5×5 mm の面積を有する牛歯エナメル質のレジン包埋試料を作成し、エナメル質表面をシリコン研磨紙にて研磨。2×2 mm の脱灰窓を設定し、それ以外の健全歯面はマニキュアにて被覆した。19 日間脱灰して、エナメル質表層下脱灰病変を作成した。その後、業者指示により ICON を塗布した。ICON 塗布群を 3 群 (サーモサイクル 0 回 : TC/0、5000 回 : TC/5000、10000 回 : TC/10000) に分け、TC/5000 と TC/10000 群には熱負荷 (5℃-55℃、浸水時間 30 秒) を与えた。次いで ICON 塗布群は、2 回目の脱灰 (pH4.5、7 日間) を行った。溶出した Ca を電極にて測定して、脱灰抵抗性を評価した。コントロール群として、ICON を塗布していない群も同様に脱灰し Ca 測定を行った。また初期う蝕病変とレジンの間のギャップ形成の有無については、光干渉断層計 (OCT) と電顕を用いて検討した。

【結果および考察】Ca 測定に関してコントロール群 ($1.75 \pm 0.189 \text{ mg Ca/mm}^2$) と 2 つの TC 群 (TC/5000 : $0.075 \pm 0.046 \text{ mg Ca/mm}^2$ 、TC/10000 : $0.086 \pm 0.048 \text{ mg Ca/mm}^2$) の間に有意差を認めた ($P < 0.01$)。しかしながら 2 つの TC 群内では有意差は認められなかった (Fig1)。同様な傾向が脱灰後の pH に認められ、コントロール群では pH 約 4.8 であったのに対し、ICON 群ではほとんど変化なしの pH 約 4.5 であった (Fig2)。OCT と SEM 観察にてレジンと脱灰病変の界面を観察したところ、ギャップは認められず脱灰像も観察されなかった (Fig3)。これらのことから、10000 回の熱負荷にもかかわらず脱灰抵抗性に変化が起きなかったのは、レジンと歯質との高い適合性および熱負荷によるレジンの質的劣化があまり起きなかったことによると推察された。

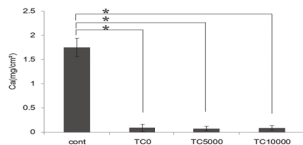


Fig1. Amount of calcium release (mg/cm²) after second demineralization (* $p < 0.0083$, Wilcoxon rank sum test with Bonferroni correction)

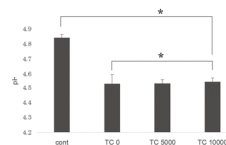


Fig2. Changes in pH (* $p < 0.0083$, Wilcoxon rank sum test with Bonferroni correction)

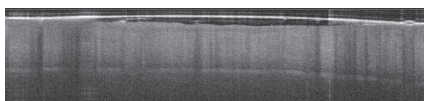
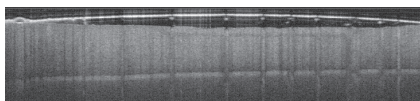


Fig3. OCT image after thermocycling 5000 times and demineralizing



OCT image after thermocycling 10000 times and demineralizing

免疫染色を用いた齲蝕検知液の性能評価

昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科学部門¹

昭和大学歯学部歯学科口腔微生物学講座²

○市川 琴奈¹、小林 幹宏¹、稲垣 里奈¹、新妻 由衣子¹、森崎 弘史²、桑田 啓貴²、真鍋 厚史¹

Performance evaluation of caries staining agent detective liquid with immunostaining

Department of Conservative Dentistry, Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology, Showa University School of Dentistry¹

Department of Oral Microbiology and Immunology, Showa University School of Dentistry²

○Kotona Ichikawa¹, Mikihiro Kobayashi¹, Rina Inagaki¹, Yuiko Niizuma¹, Hirobumi morisaki²,
Hirotaka Kuwata², Atsufumi Manabe¹

【研究目的】

現在の齲蝕検知液（カリエスチェック（1%Acid red-poly-propylene glycol））（日本歯科薬品）（以後 KC）の動粘度設定の下限值が性能発揮の限界を示すものではない。第 144 回日本歯科保存学会にて、稲垣らの研究では KC の動粘度と齲蝕象牙質に対する染色性との相関性についてピッカース硬さとダイアグノデント値で確認した。その結果性能発揮に相応しい KC の動粘度（動粘度の違いによって齲蝕象牙質に対する染色性が異なり、動粘度が低くなるにつれて染色性は高くなる）の設定下限値を求めたところ、その結果下限値は 270mm²/S 付近が妥当であり、KC の動粘度 263mm²/S では過剰に sclerotic dentin を染色してしまうという報告であった。

今回はその結果をふまえ、動粘度 332mm²/S の KC で染色した部位を切削除去した象牙質における *Streptococcus mutans*（以後 SM 菌）の残存の有無を細菌学的に調べるために免疫染色を行った。さらに象牙質断面走査型電子顕微鏡（以後 SEM）を用いて象牙質の断面を調べることで、KC の性能を評価した。

【材料及び方法】

A sample : Kinematic viscosity (mm ² /s)	R1:461	R2:377	R3:332	R4:263
--	--------	--------	--------	--------

Table 1 Caries staining agent detective liquid which controlled kinematic viscosity

齲蝕検知液は Table 1 に示した動粘度の異なる試作 4 種の検知液を用いた。ヒト抜去歯は昭和大学歯学部医の倫理委員会（承認番号；2014-037）の承認を得たものを用いた。抜去歯を diamond band saws (EXAKT) にて 350 μ m の厚さ冠状断で切断し、試験片を作製した。試験片を KC で染色後、染色部位を球形ラウンドバーにて切削削除し、免疫染色と SEM の試料とした。象牙質内の SM 菌を観察するため、免疫染色のブロッキングには Bloking one (nacalai tesque) を用い、SM 菌の表層タンパク質の 1 つである WapA の抗体を作製し一次抗体として用い、抗ウサギ IgG-AP (Roche) を二次抗体として用いた。発色試薬には NBT/BCIP solution (Roche) を用いた。その後、正立顕微鏡 (Nikon) にて試験片を観察した。また連続する試験片を R1～R4 の KC でそれぞれ染色して同様に免疫染色を行い観察した。その後 R3、R4 で染色した部位を除去した後、歯片を走査電子顕微鏡 (S-4700, 日立) を用いて象牙質の形状を観察し評価した。

【結果および考察】

連続する 2 つの試験片を R3 にて染色し、片方の染色された象牙質を切削除去した後、免疫染色を行った結果、削除した試験片では SM 菌の大幅な減少が見られた。また、連続する 5 つの試験片を R1～R3 でそれぞれ染色し同様に免疫液染色を行い観察した結果、3 つの試験片は明らかな相違は見られず、R4 で染色後は、染色部位を切削除去した試験片では SM 菌は認められなかった。

また、免疫染色、SEM を観察した結果から R3 では sclerotic dentin を保存できており、R4 では削除していることがわかった。

以上のことより、R4 の動粘度の KC では再石化可能な象牙質を必要以上に削除しているため、R3 の動粘度は KC の性能発揮に相応しい範囲であると考えられる。

非洗浄下における化学—機械的齲蝕除去法の問題点に関する検討

¹奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学分野

²奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯内療法学分野

○山田嘉重¹，木村裕一²，菊井徹哉¹

Evaluation on a problem of a chemo-mechanical caries removal reagent under non irrigated condition

¹Division of Operative Dentistry, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

²Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

○YAMADA Yoshishige¹, KIMURA Yuichi², KIKUI Tetsuya¹

【緒言】

歯科医院に通院が難しい在宅患者などに対しては回転切削器具とコンボジットレジンを用いた従来の齲蝕処置が困難である場合が多く、従来の方法以外の処置法を選択しなければならない。回転切削器具を使用しない齲蝕の除去法としては化学—機械的齲蝕除去法があり、我々は新規化学—機械的齲蝕除去剤としてプロメライン酵素とオレンジオイルを主成分とした B0 試薬を開発し評価を行ってきた。その結果回転切削器具を使用した場合と比較してコンボジットレジンの接着に顕著な問題を生じないことを日本歯科保存学会を含むいくつかの学会で報告した。化学—機械的齲蝕除去剤と除去用エキスカだけで齲蝕除去が行えるため本齲蝕処置は在宅患者等の患者の齲蝕処置に適した方法であると期待される。通常は塗布した化学—機械的齲蝕除去剤と切削した軟化齲蝕象牙質はその後、流水で洗浄除去を行うことで完全に除去することが可能である。しかし在宅患者は寝たきりである場合も少なくなく、健全な患者と異なり洗口も困難である場合が多い。だが在宅患者に対する齲蝕除去後の齲蝕象牙質および齲蝕除去剤の除去法についての問題点の検討はまだなされていない。齲蝕象牙質および齲蝕除去剤が窩洞内に残留しているとその後修復材の接着に影響を与えてしまうため確実な除去は予後を考慮する上で大変重要となる。本研究では非洗浄下におけるこれらの問題点に対して検討を行った。

【材料および実験方法】

本研究では咬合面、近心・遠心隣接面、歯頸部に人工齲蝕を有する人工歯 20 本を使用した。化学—機械的齲蝕除去剤は B0 試薬を使用しスプーンエキスカを用いて人工齲蝕の除去を行った。齲蝕除去剤は除去の状態の判定を容易にするため事前に赤色に染色して使用した。塗布した人工齲蝕および齲蝕除去剤の除去は①乾燥したガーゼで拭き取る②窩洞内に数滴洗浄液を滴下した後ガーゼで拭き取る③窩洞内に数滴洗浄液を滴下した後、探針で窩洞内を 5 秒間撹拌した後ガーゼで拭き取るという方法を施行した。また滴下する洗浄液として (a) 精製水、(b) 3% 過酸化水素水、(c) 10% EDTA を使用した。除去法②、③において十分に除去ができないと考えられる場合は同様の操作を繰り返し行い何回繰り返したかを記録した。最終的に齲蝕窩洞の形態や位置の違いで齲蝕除去剤や人工齲蝕の除去にどのように違いが生じるのか、滴下する洗浄液の違いで差異が生じるのかを評価した。

【結果】

ガーゼによる拭き取りのみの方法および窩洞内に洗浄液を滴下後ガーゼで拭き取る方法ともに窩洞内から齲蝕除去剤や人工齲蝕を完全に除去することは出来なかった。残存は主に窩洞の側壁に観察された。探針で撹拌した後にガーゼで拭き取ることで今回評価した全てのタイプの齲蝕窩洞において除去は可能となった。しかしどの窩洞においても 3 回前後操作を繰り返す必要があることが確認された。今回評価した 3 種類の洗浄液の違いにおいて顕著な効果の違いは確認されなかったものの、10% EDTA 使用時が他の洗浄液使用時と比べ良好な傾向を示した。

【考察】

窩洞内に洗浄液が満たされた状態で撹拌することにより、齲蝕除去剤および人工齲蝕象牙質が洗浄液内で浮遊しその結果ガーゼにより拭き取りが容易になったものと推察される。また窩洞の側壁に除去剤等が残留し易いことから、側壁部に留意して撹拌する必要がある。洗浄液については明確な差は認められなかったが、10% EDTA 使用時に良好な傾向を示したことから除去に際しては 10% EDTA 溶液の使用が推奨される。

【結論】

窩洞内を洗浄液で満たした後探針等で窩洞内を撹拌することで、時間を要するが非注水下の条件においても化学—機械的齲蝕除去や軟化象牙質を除去することが可能であることが確認された。

フッ化物含有歯科材料によるフッ素のエナメル質への取り込みと結合状態の評価

¹朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野、
²北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室、
³北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系う蝕制御治療学分野
⁴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)、
○奥山克史^{1,2}、松田康裕^{2,3}、山本洋子⁴、橋本直樹²、林美加子⁴、佐野英彦²、玉置幸道¹

Evaluation of fluoride binding with and uptake to enamel on fluoride-containing dental materials

¹ Department of Dental Materials Science, Asahi University School of Dentistry,
² Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University,
³ Division of Clinical Cariology and Endodontology, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
⁴ Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry,
○Katsushi OKUYAMA^{1,2}, Yasuhiro MATSUDA^{2,3}, Hiroko YAMAMOTO⁴, Naoki HASHIMOTO², Mikako
HAYASHI⁴, Hidehiko SANO², Yukimichi TAMAKI¹

【研究目的】フッ化物含有歯科材料によるう蝕抑制効果について、数多くの報告がなされている。このう蝕抑制効果はハイドロキシアパタイトのOH基がFと置換されることにより、耐酸性の強いフルオロアパタイトが形成されることが要因の一つと考えられている。しかし、材料から取り込まれたフッ素全てがOH基と置換しているかは不明である。本研究ではフッ化物含有歯科材料から歯質に取り込まれたフッ素量を若狭湾エネルギー研究センター設置のマイクロPIGE/PIXE装置で測定するとともに、KOHで試料を処理することにより、OH基が置換され歯質に結合しているフッ素も測定することで、歯質とフッ素との結合状態について検討した。

【材料および方法】ヒト健全抜去小臼歯および大臼歯を本研究に使用した(北海道大学大学院歯学研究科倫理委員会:承認番号2013第7号にて承認)。歯を歯軸に平行に近遠心的に半切した後、頬側面および舌側面エナメル質にフッ化物含有材料のFuji IX Extra (EX: GC)、Clinpro XT varnish (CL: 3M ESPE)、PRG バリアコート (PR: 松風) をそれぞれ塗布し、それ以外の部分をスティッキーワックスで被覆した。1日または7日後に各材料を除去後、1日6サイクルのpHサイクル(pH4.5-7.0)⁽¹⁾に4週間供した。pHサイクル後、脱灰された面を含むように試料を歯軸に平行に頬舌的に半切し、2分割した試料それぞれ約500μmの厚さに調整した。分割した向かい合う薄切試料の1つについて1M KOHに24時間浸漬震盪後、5分間水洗を行った(KOH処理群)。もう一方の試料はKOH処理を行わなかった(KOH未処理群)。その後各試料についてエナメル質表層から歯質内方向へフッ素およびカルシウム濃度をPIGE/PIXEを用いて線分析を行った⁽²⁾。試料の表層は健全部の平均カルシウム濃度の5%を示す部位とし、表層から10μmごとにフッ素濃度を平均し、200μmまでの積算フッ素濃度量により評価した。試料数は各6個とし、各材料におけるKOH処理によるフッ素量の比較は、t検定を用い有意水準5%にて統計処理を行った。

【結果および考察】EXおよびCLでは、いずれの期間においてKOH処理群がKOH未処理群より小さいフッ素量を示した。これに対しPRではKOH処理後フッ素量の減少傾向は認めなかったものの、有意差は認めなかった。KOH処理によるフッ素量減少の程度は材料や材料との接触期間により異なっている傾向を認めた。これらの結果より、取り込まれたフッ素の一部がフルオロアパタイトに変換され、残りのフッ素はフッ化カルシウム等の形で歯質に付着し、KOH処理により溶解したことを示している。また、材料の組成の違いからフッ素やその他元素の溶出形態が異なり、OHと置換されるフッ素の割合に相違が認められたものと考えられる。さらにpHサイクルによる影響も相違の原因の一つであると思われる。

【結論】PIGE/PIXEを用いることで、歯質に取り込まれたフッ素のうち歯質に結合しているフッ素量を確認できることが示された。今後はフッ化物供給の形態やフッ化物溶液浸漬における影響を評価し、フッ素の歯質への結合について、より詳細に検討する予定である。

【参考文献】

- (1) Matsuda Y et al. A newly designed automatic pH-cycling system to simulate daily pH fluctuations. Dent Mater J 25(2), 280-285, 2006.
- (2) Yasuda K et al. Progress of in-air microbeam system at the Wakasa Wan Energy Research Center. Nucl Instr and Meth B 269(20), 2180-2183, 2011.

ピロリドンカルボン酸による象牙質コラーゲンの分解抑制、 および象牙質の脱灰抑制に関する検討 (第2報)

ライオン株式会社 研究開発本部 ¹オーラルケア研究所 ²機能科学研究所
○井上志磨子¹、今崎麻里¹、石動更²、小倉卓²、藤川晴彦¹

Effects of pyrrolidone carboxylic acid on dentin collagen degradation and demineralization (The second report).

¹Oral Care Research Laboratories, ²Functional Materials Science Research Laboratories,
Research & Development Headquarters, Lion Corporation
○INOUE Shimako¹, IMAZAKI Mari¹, ISURUGI Sara², OGURA Taku², FUJIKAWA Haruhiko¹

【研究目的】

近年、加齢や歯周病罹患等により歯肉が退縮し、その結果露出する歯根面のう蝕増加が懸念されている。我々はこれまでにピロリドンカルボン酸 (以下、PCA) が、根面う蝕の予防に重要な、象牙質コラーゲン分解抑制効果および象牙質の脱灰抑制効果に寄与することを見出した (第138回日本歯科保存学会学術大会)。今回は、新たに開発したPCAとフッ化物 (以下、F) を配合した歯磨剤で両効果を評価すると共に、PCAの残存コラーゲンへの影響をラマン分光分析により解析し、本歯磨剤の有用性を検証することを目的とした。

【材料および方法】

<実験1：象牙質コラーゲンの分解抑制・象牙質の脱灰抑制評価>

- 1) 材料：脱灰液 (酢酸:100mM, pH4.8) 浸漬によりコラーゲンを露出させた牛歯根象牙質切片 (処置面：約2mm×220μm)
- 2) 処置剤：歯磨剤 (F配合、F+PCA配合) の水3倍希釈液
- 3) 方法：以下、a)、b)、a)、c) 順で pH サイクル試験を3サイクル実施 (n=6)
a) 象牙質切片を処置剤に3分間浸漬後水洗浄、b) 再石灰化液 (CaCl₂:1.5mM, KH₂PO₄:5mM, 酢酸:100mM, NaCl:100mM、コラゲナーゼ:2U/ml、pH6.5) に16h浸漬、c) 脱灰液 (酢酸:100mM, pH4.8) に5h浸漬
- 4) 評価：顕微鏡観察による消失コラーゲン深さ (μm)、TMR法によるミネラル損失量 (vol%×μm) および脱灰深さ (μm)
- 5) 解析：Student の t-test により群間比較した。

<実験2：象牙質コラーゲンへのPCAの影響>

- 1) 材料：脱灰液 (酢酸:100mM, pH4.8) 浸漬によりコラーゲンを露出させた牛歯根象牙質切片 (処置面：約2×3mm)
- 2) 処置剤：歯磨剤 (プラセボ (FとPCAを無配合)、F配合、F+PCA配合) の水3倍希釈液
- 3) 方法：象牙質切片を処置剤に3分間浸漬後水洗浄し、再石灰化液 (CaCl₂:1.5mM, KH₂PO₄:5mM, 酢酸:100mM, NaCl:100mM、コラゲナーゼ:2U/ml、pH6.5) に5h浸漬 (n=5)
- 4) 評価：共焦点ラマン顕微鏡 (alpha300R, WITec) を使い、レーザー波長532nm、レーザーパワー35mW、測定時間10秒、積算回数10回、測定領域1.0×1.0μm²の条件で象牙質切片の残存コラーゲンの表面構造を評価した。
- 5) 解析：Tukey 多重比較検定により群間比較した。

【結果および考察】

<実験1> F配合群およびF+PCA配合群の消失コラーゲン深さは22.5±9.9、5.7±5.1 (μm)、ミネラル損失量は1514±219、224±531 (vol%×μm)、脱灰深さは204.7±57.2、84.9±41.3 (μm) と、いずれもF+PCA配合群の値が有意に低く (p値<0.01)、PCAによるコラーゲン分解抑制効果および脱灰抑制効果が認められた。PCAによりコラーゲンの分解が抑えられ、象牙質内部への酸の浸透や象牙質内部で溶解したミネラルイオンの拡散が抑制されたこと、また、PCAによる象牙質へのF取込向上やコラーゲンへの吸着等が総合的に寄与したと推察される。

<実験2> ラマン分光分析により876cm⁻¹付近にあるヒドロキシプロリンのピークエリアを算出した結果、プラセボ群とF配合群に比べF+PCA配合群は有意に大きかった。ヒドロキシプロリンはコラーゲン特有のアミノ酸であり、コラーゲンの構造安定化の指標となるものである。PCAは消失コラーゲン量の抑制だけでなく、残存コラーゲンの構造を保護している可能性が示唆された。

【結論】

F+PCA配合歯磨剤は象牙質コラーゲンの分解抑制効果と象牙質の脱灰抑制効果を併せ持つことを明らかにした。PCAはコラーゲンの保護に関与していることが示唆された。

新規 S-PRG フィラー配合バーニッシュの象牙質脱灰抑制能
ー再石灰化溶液浸漬後の脱灰抑制能ー

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯制御修復学講座¹⁾, 短期大学部 歯科衛生学科²⁾,
クリニカル・バイオマテリアル講座³⁾

○片岡あい子^{1,2)}, 椎谷 亨¹⁾, 藤野富久江²⁾, 富山 潔¹⁾, 飯塚純子¹⁾, 長谷川晴彦¹⁾, 倉持江里香¹⁾,
大橋 桂³⁾, 二瓶智太郎³⁾, 向井義晴¹⁾

Anti-demineralization effect of novel S-PRG filler containing varnishes on dentin
after the immersion of remineralization solution

Department of Cariology and Restorative Dentistry¹⁾, Department of Dental Hygiene, Junior College²⁾,

Department of Clinical Biomaterials³⁾, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University

○KATAOKA Aiko^{1,2)}, SHIYA Toru¹⁾, FUJINO Fukue²⁾, TOMIYAMA Kiyoshi¹⁾, IIZUKA Junko¹⁾, HASEGAWA
Haruhiko¹⁾, KURAMOCHI Erika¹⁾, OHASHI Katsura³⁾, NIHEI Tomotaro³⁾, MUKAI Yoshiharu¹⁾

【研究目的】第 141 回, 第 142 回日本歯科保存学会学術大会において, S-PRG フィラー配合バーニッシュの歯根象牙質脱灰抑制能を *in vitro* にて明らかにしたが, 口腔内での材料劣化の影響を反映した実験系ではなかった. 本実験の目的は, 材料を塗布した歯根象牙質が一定期間唾液に曝された状況を模倣した上で, その後の象牙質脱灰抑制能を検討することである.

【材料および方法】ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより 5 mm 根尖側の位置で水平断して得られた円筒状象牙質片をさらに歯軸方向に 2 分割し, #2,000 の耐水研磨紙で象牙質試験面を平坦に仕上げた. その後, 6 本のプラスチック製容器の底に, 6 つずつ象牙質試料を固定した. 象牙質面に 3 × 1 mm に窓開けしたマスキングテープを貼付し, MI Varnish (GC America; MIV) もしくは PRG バーニッシュ I (松風; PV) (S-PRG フィラー 40%) を専用チップにて塗布後, プラスチックスパチュラにて成形した. テープ除去後, 材料塗布部に隣接して新鮮象牙質試験面が 3 × 1 mm 露出するように耐酸性ネイルバーニッシュを塗布した. その後, 100% 湿潤下で 1 時間静置した群を MIV 0 日経過群 (MIV0 群) および PV 0 日経過群 (PV0 群) とした. また, 再石灰化溶液 (1.5mM CaCl₂, 0.9mM KH₂PO₄, 130mM KCl, 20mM Hepes, 0.1 ppm F, pH7.0) に 3 日間浸漬した群をそれぞれ MIV 3 日経過群 (MIV3 群) および PV 3 日経過群 (PV3 群) とした. 再石灰化液は毎日交換した. なお対照群として, 被験面以外をすべて耐酸性ネイルバーニッシュで被覆する群をそれぞれ CONT0 群および CONT3 群とした. 脱灰試験は 50mM 酢酸ゲルを使用して 37 °C で 1 週間行った. その後, 厚さ 300 μm の薄切片を切り出し, TMR 撮影 (PW 3830, 管電圧 25 kV, 管電流 15 mA, 照射時間 20 分), ミネラルプロファイルの作成後, 平均ミネラル喪失量 (IML: vol% × μm) を測定した. 6 群間における IML の比較には, one-way ANOVA および Tukey の多重比較検定 (有意水準 5%) を用いた.

【結果および考察】平均ミネラルプロファイル: CONT0 群ではミネラル密度の低い表層と病巣体部が認められた. PV0 群, PV3 群では深さ約 10 μm 付近にミネラル密度 38 vol% の明瞭な表層が観察されたが, PV3 群は PV0 群と比較してわずかに深い病巣体部を示した. MIV0 群, MIV3 群ではほぼ同様な病巣体部を示したが, MIV0 群では深さ約 10 μm 付近にミネラル密度約 30 vol% の表層, MIV3 群では約 18 vol% の表層が観察された. 平均 IML: CONT0 群, MIV0 群, PV0 群, CONT3 群, MIV3 群, PV3 群のそれぞれで, 4076.9 ± 146.2, 2935.2 ± 210.7, 2284.5 ± 316.3, 1963.7 ± 303.9, 3212.9 ± 151.6 および 2378.0 ± 222.8 であった. MIV0 群, PV0 群, CONT3 群, MIV3 群, PV3 群は CONT0 群に比較し有意差が認められた (p < 0.05). 一方, 他のグループ間においては有意差が認められなかった (p > 0.05).

MIV では 3 日間の浸漬によって被験歯面表層の脱灰抵抗が低下した. これは材料劣化による影響と考えられる. 一方, PV については 0 日浸漬群と 3 日浸漬群においてミネラルプロファイルの形に顕著な違いは見られなかった. これは PV に含有される S-PRG フィラーのフッ化物リチャージ能により, フッ化物イオンが再徐放されたためであると考えられた.

今回, 口腔内での経時的変化を想定しての 2 種類のバーニッシュを比較したが, 3 日浸漬後において IML に有意差は認められず, PV の脱灰抑制能が高いという結果は得られなかった. 今後, 再石灰化溶液中のフッ化物濃度を変化させ, より口腔内に近似した環境における経時的変化の影響を検討していく予定である.

【結論】S-PRG フィラー配合バーニッシュは, フッ化物リチャージ能により材料劣化を補償し, 脱灰抑制能を維持する可能性がある.

*In vitro*における感染象牙質モデルの作製法に関する検討

¹ 日本歯科大学新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学専攻

² 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

³ 日本歯科大学新潟生命歯学部微生物学講座

○永井悠太¹、新海航一²、葛城啓彰³、織田洋武³

Study on an infected dentin model preparation *in vitro*

¹Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

²Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

³Department of Microbiology, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

○NAGAI Yuta¹、SHINKAI Koichi²、KATSURAGI Hiroaki³、ODA Hirotake³

[研究目的]

現在の齲蝕治療は、除去すべき感染象牙質（齲蝕象牙質外層）の鑑別法として齲蝕検知液による染色を応用しているが、現実としてはこの方法を用いても感染象牙質の完全除去は困難であり、象牙細管内細菌の残存が認められることが多いという。また、歯髄に近い深在性齲蝕では露髄を避けるために、あえて最深部の感染象牙質を残存させてその上に覆髄剤を貼付する暫間の間接覆髄（IPC）もある。原則的に感染象牙質の完全除去は必須であるが、象牙質中に残存している細菌を何らかの方法で殺菌できれば治療効果が向上すると考えられる。

感染象牙質中の細菌を殺菌する方法はいくつか研究報告されているが、これからも検討すべき課題が多く残されている。この領域の研究を進めるにあたり *in vitro* では、感染象牙質モデルの的確な作製法の確立が必要である。そこで今回は、感染象牙質モデルの作製法について検討した。

[材料および方法]

被験歯はチモール液中に冷蔵保存しておいたヒト抜去大白歯で、齲蝕および修復処置のないものを使用した。Isomet（Buehler）を用いて歯頸部で歯根を切除した後、約 1.0mm の厚さで歯冠部を長軸方向に連続切断し、象牙質の薄板（3.0mm×3.0mm×1.0mm）を1歯から3個ずつ、合計18個作製した。これらの象牙質薄板を0.2M酢酸ナトリウム水溶液中に浸漬し、37℃恒温室中で1ヶ月間脱灰処理を行った。その後、2気圧、121℃で15分間オートクレーブ滅菌を行い、実験試料とした。

ペリクル付与の影響を検討するため、試料を2つに分け、濾過滅菌した唾液中あるいは滅菌蒸留水中に各試料を浸漬して37℃、5%CO₂環境下で24時間保管した。それぞれをペリクル（+）群とペリクル（-）群とした（n=9）。

さらに、各実験群を3つずつに分け、*Streptococcus mutans* の菌液（full culture）100μl中に各試料を浸漬して37℃、5%CO₂環境下で1時間、2時間および4時間培養した。それぞれを培養1時間群、培養2時間群および培養4時間群とした。

規定時間培養後、菌液から試料を取り出し、滅菌蒸留水でよく洗浄した。その後、滅菌したエキスカベーターで試料を破碎し、破砕片を採取してbrain heart infusion（BHI）培地に塗抹した。塗抹培地は37℃、5%CO₂環境下で24時間培養した。

[結果と考察]

ペリクル（+）群では、培養1時間群、培養2時間群および培養4時間群すべてにおいて十分なコロニー数が培地上で観察された。一方、ペリクル（-）群では、いずれの実験群においても培地上にコロニーはほとんど観察されなかった。これらの実験結果から、*Streptococcus mutans* は付着能を有するが、象牙質薄板上にペリクル形成がない場合には、感染象牙質モデル作製中の操作で付着細菌が剥がれてしまう可能性があると考えられる。

したがって、あらかじめ脱灰した象牙質薄板を試料に用いて感染象牙質モデルを *in vitro* で作製するには、濾過滅菌した唾液中に試料を浸漬し、あらかじめペリクルを付与する必要性があることが明らかとなった。

非う蝕性歯頸部欠損の光干渉断層計を用いた臨床評価

¹⁾東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野,

²⁾ワシントン大学歯学部修復学分野, ³⁾国立長寿医療研究センター病院

○和田郁美¹, 島田康史¹, サダルアリレザ^{1,2}, 中嶋省志¹, 田上順次¹, 角保徳³

Cross-sectional assessment of Non Carious Cervical Lesion using SS-OCT

¹⁾Department of Cariology and Operative Dentistry Tokyo Medical and Dental University,

²⁾Department of Restorative Dentistry University of Washington School of Dentistry,

³⁾National Center for Geriatrics and Gerontology

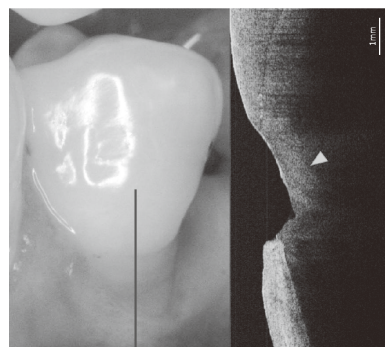
○WADA Ikumi¹, SHIMADA Yasushi¹, SADR Alireza^{1,2}, NAKASHIMA Syozi¹, TAGAMI Junji¹, SUMI Yasunori³

【研究目的】非う蝕性歯頸部欠損 (noncarious cervical lesion: NCCL) の成因として、過度の機械的刺激 (abrasion) やアブフラクション (abfraction) 等が指摘されている。しかしながら、NCCL の発症メカニズムは不明な点が多く、その予防も困難である。波長走査型光干渉断層計 (SS-OCT) は非破壊で組織の断層画像を得ることができ、歯質の脱灰評価に利用することができる。本研究では中心波長 1300nm の走査型光干渉断層計 (SS-OCT: Swept Source-Optical Coherence Tomography) を利用して、NCCL の成因を調査し、SS-OCT の有用性を検討することを目的とした。

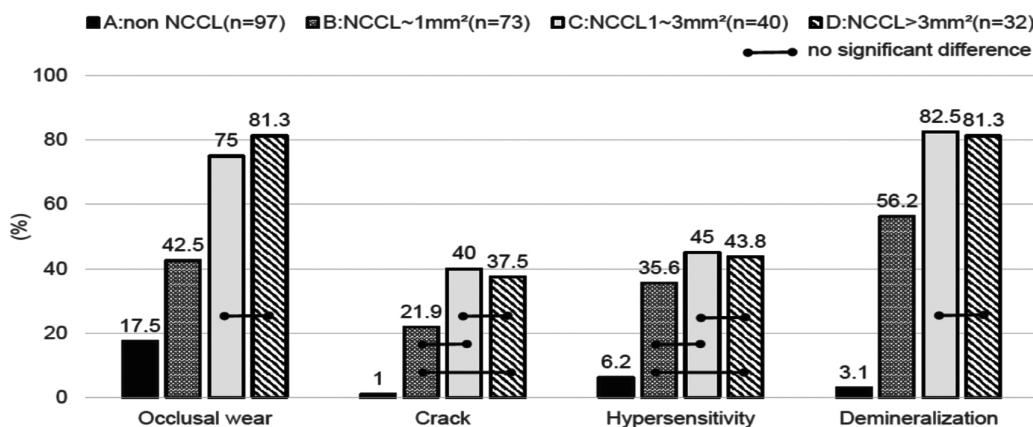
【材料および方法】本研究では被験者 35 人、242 本の臨床試験歯における非破壊観察を行った。本研究は SS-OCT (プロトタイプ 2; パナソニックヘルスケア、愛媛、日本) を用いて行われた。In vitro の実験系から得られた脱灰と非脱灰の減衰係数の閾値を基に、臨床にて口腔内の NCCL の SS-OCT 画像を撮影し、減衰係数の閾値を利用した歯頸部象牙質の脱灰の評価を行った。また、NCCL の大きさの二次元計測と歯頸部エナメル質の亀裂の有無を SS-OCT を用いて評価し、咬耗と知覚過敏についてもチェアサイドにて臨床評価を行った。

【成績】象牙質の脱灰所見は NCCL を有する歯の 69% にみられた (Figure 1)。1mm² 以下の NCCL では 56% に脱灰がみられ、NCCL の断面積が大きくなると 80% 以上に増加した。また、象牙質の露出を伴う咬耗所見は NCCL を有する歯の 60% にみられ、大きくなると 75% に増加していた (Figure 2)。

【考察・結論】SS-OCT の結果から、象牙質のミネラルの減少及び咬耗は NCCL が大きくなるほど関与しており、これら歯頸部欠損の病因子として考慮できる可能性が示唆された。



(Figure 1) NCCL with demineralization was found. In SS-OCT, brightness of dentin beneath the NCCL was increased compared with intact zone.



(Figure 2) frequency (%) of Occlusal wear, Crack, hypersensitivity, Demineralization in each NCCL size group. Occlusal wear, Crack, hypersensitivity, Demineralization were significantly increased in small NCCLs compared with intact teeth.

Er,Cr:YSGG レーザーで窩洞形成後コンポジットレジン修復した ラット歯における歯髄の免疫組織学的観察

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専攻
² 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座、³ 日本歯科大学新潟生命歯学部解剖学第2講座
○高田真代¹、鈴木雅也²、羽下-辻村麻衣子³、新海航一²

Immunohistology observation of the rat pulp in the resin composite restorations with the Er,Cr:YSGG laser cavity preparation

¹ Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata
² Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
³ Department of Histology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
○TAKADA Mayo¹, SUZUKI Masaya², HAGA-TSUJIMURA Maiko³, SHINKAI Koichi²

【緒言】

我々は、Er,Cr:YSGG レーザーで形成した窩洞に対して各種接着システムを用いて修復を行い、24 時間後と 14 日後の歯髄反応を比較検討した結果、レーザー切削によって熱影響を受けたラット歯髄は、使用した接着システムに関わらず時間の経過とともに治癒する傾向にあることを第 142 回日本歯科保存学会で報告した。今回は、さらに免疫組織化学染色を行ってレーザー切削後における歯髄の創傷治癒について観察した。本研究は、本学動物実験倫理委員会の承認を得て行った(整理番号: 155)。

【材料および方法】

8~9 週齢の雄性 SD 系ラットの上顎第一臼歯近心咬頭部に Er,Cr: YSGG レーザーを用いて窩洞形成を行った。レーザーの照射距離はチップ先端から約 1.5mm とし、照射条件は 40Hz、Water30%、Air50%に設定し、出力はエナメル質で 2.5W、象牙質で 2.0W とした。窩洞に対する接着システムは、Group 1: 2 ステップセルフエッチングシステム (Mega Bond : MB、クラレノリタケデンタル)、Group 2 : 40%リン酸水溶液 (K-etchant : KET、クラレノリタケデンタル) を用いて 30 秒間処理後に水洗乾燥し、MB を用いて処理、Group 3 : KET で 30 秒間処理後に水洗乾燥、10~15%次亜塩素酸ナトリウム溶液 (AD Gel、クラレノリタケデンタル) を 90 秒処理後に水洗乾燥、さらに MB を用いて処理、Group 4 : 1 ステップセルフエッチングシステム (Tri-S bond ND Quick、クラレノリタケデンタル) とした。歯面処理後、フロアブルレジン (Clearfil Majesty LV、クラレノリタケデンタル) で修復した。Control は歯面処理を行わず、グラスアイオノマーセメント (Fuji VII、GC) で修復した。修復処置を行ってから 24 時間あるいは 14 日間の観察期間を経た後、4%PFA 溶液による経心的灌流固定を行い屠殺した。摘出試料は 10%EDTA 溶液による脱灰後、通法に従ってパラフィン包埋を行い、連続薄切切片を作製し、免疫組織化学染色 (酵素抗体法: HSP25、蛍光抗体法: MMP3、CD146) を施した。光学顕微鏡または蛍光顕微鏡を用いて、染色した薄切切片を観察した。

【結果および考察】

いずれの実験群においても免疫組織化学染色を行った 24 時間後の試料では、髄角部の細胞、窩洞の象牙細管の走行に位置する象牙芽細胞層および水腫の周囲にある細胞に HSP25、MMP3 および CD146 に対して強い陽性反応を示した。同様に 14 日後の試料では、髄角部の細胞と修復象牙質周囲の細胞に HSP25、MMP3 および CD146 の陽性反応を認めたものの、24 時間後に比べて弱い反応であった。したがって、レーザーを用いて窩洞形成した場合、レーザー切削により生じた機械的ならびに熱的刺激により象牙芽細胞層が傷害を受け、象牙芽細胞が一時的に消失して水腫形成が生じるものの、新たに歯髄幹細胞から象牙芽細胞に分化したと考えられる象牙芽細胞様細胞が再配列することが明らかとなった。また、レーザー切削後における歯髄の創傷治癒過程では、歯髄組織が有する血管新生、炎症制御および細胞分化などの機能が活性化され、修復象牙質の形成が促進される可能性が示唆された。また、観察期間ごとでは、各実験群間に顕著な差は認めなかった。

【結論】

Er,Cr:YSGG レーザーで窩洞形成した歯の歯髄は、レーザー切削による機械的ならびに熱的刺激で一時的に傷害を受けるが、コンポジットレジン修復後、短期間のうちに創傷治癒することが免疫組織学的観察からも確認された。

光重合型レジン強化型ケイ酸カルシウム覆髄材の 窩洞洗浄・処理の違いによる封鎖性への影響について

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野
○横山章人, 田中久美子, 大原直子, 山路公造, 吉山昌宏

Influence of Pretreatment of the Cavity on Sealing Ability of Resin-Modified Calcium Silicate Pulp Protectant

Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction
Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University
○YOKOYAMA Akihito, TANAKA Kumiko, OHARA Naoko, YAMAJI Kozo, YOSHIYAMA Masahiro

【研究目的】

近年, MTA セメントと同じケイ酸カルシウムを主成分とする光重合型覆髄材が開発されている。この覆髄材は親水性モノマーが配合され、歯質接着性と封鎖性の向上と、それによる安定した歯髄保護効果が期待され、裏層材料としても使用可能とされる。本研究では、窩洞の洗浄あるいは酸処理が光重合型レジン強化型ケイ酸カルシウム覆髄材と象牙質との間の封鎖性に与える影響について検討することを目的とした。

【材料および方法】

光重合型レジン強化型ケイ酸カルシウム覆髄材として TheraCal LC (Bisco, 以下 TheraCal) を用いた。ヒト下顎切歯の抜去歯牙の近心面および遠心面にダイヤモンドポイントを用い直径 2mm、深さ 1.5mm の円錐台形窩洞を形成した。被験歯を 4 群に分け、以下の①～④の処理を行った。

- ①処理を行わない (NT 群)
- ②ネオクリーナー「セキネ」(ネオ製薬) 1 分間処理後、オキシドール (ケンエー) とで交互洗浄 (NC 群)
- ③モルホニン (昭和薬品化工) 1 分間処理後、ネオクリーナーで 1 分間処理し、オキシドールと交互洗浄 (EDTA 群)
- ④K-ETCHANT ゲル (クラレノリタケデンタル) にて 10 秒間処理、水洗 (PA 群)

次に生理食塩水で洗浄し、綿球にて余剰な水分を除去し、TheraCal を裏層し、20 秒間光照射を行った。その後プライマーおよびボンディング処理は行わずに、Clearfil AP-X (クラレノリタケデンタル) を填塞し光重合させた。

24 時間 37℃ 水中浸漬後、マニキュアにてコーティングし、0.2% 塩基性フクシン水溶液中に 37℃、24 時間浸漬した。

歯牙を長軸方向に切断し、断面を光学顕微鏡にて観察した。色素浸入がコンポジットレジンと象牙質との界面に留まり TheraCal まで達していないものを Score 0、コンポジットレジンと TheraCal の境界付近で浸入が止まっているものを Score 1、TheraCal と象牙質との間に色素浸入を認めるが、窩洞隅角部まで達していないものを Score 2、窩洞隅角部を越えて色素浸入が認められるものを Score 3 として判定し、最も浸入程度の大きいものをその窩洞の代表値とし、各 Score の窩洞数 (n=10) を集計し検討した。

【成績および考察】

本研究の結果、NT 群、NC 群、EDTA 群において Score 0 の窩洞は殆ど認められず、Score 1 が最も多く認められた。また PA 群においては Score 0 の窩洞数が最も多く認められた。本研究ではプライマーおよびボンディング処理を行わずにコンポジットレジンで填塞したため、殆どの窩洞でコンポジットレジンと歯質との間に色素浸入が認められた。多くの窩洞では TheraCal までは色素浸入を認めず、TheraCal が象牙質との界面に一定の封鎖性を有することが示唆された。リン酸エッチング処理を行った場合にはスミア層の除去と表層の脱灰を生じ、コンポジットレジンと歯質との接着性が向上して、色素浸入が浅くなったのではないかと考えられる。TheraCal に対するリン酸処理の影響を確認するにはさらなる検討が必要と考えられる。

Er:YAG レーザー照射象牙質におけるレジン添加型ガラスイオノマーセメントの接着性に及ぼすカルボン酸と金属塩の合剤による歯面処理の影響

愛知学院大学歯学部保存修復学講座

○鶴田あゆみ, 堀江 卓, 富士谷盛興, 千田 彰

A Study of the Development of the Adhesive System Specific to Er:YAG-lased Dentin-Conditioning Effects of Carboxylic Acid-Metal Salt on Bond Strength of Resin-modified Glass-ionomer Cement to Laser-affected Dentin-
Aichi Gakuin University, School of Dentistry, Department of Operative Dentistry
○Tsuruta Ayumi, Horie Taku, Fujitani Morioki, Senda Akira

【緒言】

痛みを生じないと言われている程度の低出力でEr:YAG レーザー照射した象牙質には、構造欠陥や変性層が生じ、レジン系ボンディング材を使用して接着したコンポジットレジンの象牙質接着性は低下することが知られている。一方で、Er:YAG レーザー照射した象牙質において、レジン接着システムとしてのレジン添加型ガラスイオノマーセメント (RMGI) は、レジン系ボンディング材に比し安定した接着性を示すが、接着強さの測定値は低いことを著者らは明らかにした (第 141 回日本歯科保存学会)。

そこで、本研究は、Er:YAG レーザー照射象牙質に対し良好な接着性を示す接着システムの開発を目指し、レーザー照射により生じた変性層を強化し RMGI の接着強さの向上を図る目的で、カルボン酸と金属塩の合剤による歯面処理効果について検討した。

【材料および方法】

新鮮抜去ウシ前歯に象牙質平坦面 (#600) を調製し、Er:YAG レーザーにより低出力照射 (50 mJ/1 pps) あるいはフイニッシング照射 (50 mJ/1 pps 照射後 150 mJ/1 pps で仕上げ照射) した。次いで、これら照射面ならびに非照射面を 20 %ポリアクリル酸 + 3 %塩化アルミニウム水溶液 (A1 群)、あるいは 10 %クエン酸 + 2 %塩化第二鉄水溶液 (Fe 群) による歯面処理を施し、Fuji Lining Bond LC を塗布後 Clearfil AP-X を填塞し、微小引張接着強さを検討した (Tukey-Kramer の多重比較検定, $\alpha=0.05$)。また破壊形態 (実体顕微鏡)、および接合界面の様相 (SEM) も検討した。

【結果】

非照射象牙質では、歯面処理剤を併用しなかった場合 (NT 群) の接着強さは約 12 MPa、A1 群あるいは Fe 群における接着強さはいずれも約 24 MPa であり、歯面処理剤を併用しなかったものに比し有意に高い値を示した ($p<0.05$)。一方、レーザー照射象牙質において歯面処理剤を併用しなかったもの (NT50 群, NT50+150 群) は接着強さの計測が不可能であった。また、A150 群あるいは A150+150 群の接着強さは 5 ~ 7 MPa、Fe 50 群あるいは Fe50+150 群のそれは 10 ~ 13 MPa であり、Fe 群の方が効果的であった。レーザー照射した Fe 群の破壊形態は、界面破壊ならびに変性層から RMGI にわたる混合破壊がレーザー照射した A1 群の場合より多く認められた。このことは、Fe 群の場合、変性層が強化され、この層と RMGI 層の両層に歪みが集中するようになり、その結果、接着強さが向上したものと考えられた。

Table. Early bond strengths of RMGI to Er:YAG lased dentin treated with various conditioning agents (MPa)

NT0	11.56(3.28) ^{abc}	NT50	— [§]	NT50+150	— [§]
A10	23.73(5.44) ^{adefg}	A150	6.98(3.51) ^{dj}	A150+150	4.92(3.56) ^{cek1}
Fe0	23.45(5.57) ^{bhijk}	Fe50	12.79(4.58) ^{fh1}	Fe50+150	10.03(5.77) ^{gi}

*The same superscript letters indicate significant difference ($p<0.05$). n=15, Mean (SD)

[§]Unmeasurable level due to loss of RMGI during the preparation for adhesive test specimens.

【結論】

Er:YAG レーザー照射された象牙質に対しては、10 %クエン酸 + 2 %塩化第二鉄水溶液による歯面処理が、レジン接着システムとしての RMGI 系レジン接着システムの接着性向上に効果的であることが判明した。

新規レジン系知覚過敏抑制材の象牙細管封鎖性について 大阪歯科大学 歯科保存学講座

○保尾謙三, 岩田有弘, 小正玲子, 三浦 樹, 吉川一志, 山本一世

Effect of new dentin desensitizer on dentin permeability for the treatment of dentin hypersensitivity

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○YASUO Kenzo, IWATA Naohiro, KOMASA Reiko, MIURA Tatsuki,
YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

【研究目的】

象牙質知覚過敏症の治療法には、イオン導入、薬物塗布、レーザー照射や接着性材料による罹患部位の被覆などがあり、薬物塗布に用いられる知覚過敏抑制材には、グルタルアルデヒド系、無機塩系、レジン系があるが、レジン系知覚過敏抑制材はレジンの被膜による優れた象牙細管封鎖性を有している。新規発売された G-Premio Bond (GC) は、短時間処理により接着可能な 1 ボトル 1 ステップボンディングシステムであるが、知覚過敏抑制材としても使用することができる。そこで、今回我々は、レジン系知覚過敏抑制材 G-Premio Bond の象牙細管封鎖性について、象牙質透過抑制率（以下、透過抑制率）を測定し検討を行ったので報告する。

【材料と方法】

被験歯に健全ヒト抜去大臼歯を用い、モデリングトリマーと耐水研磨紙にて #600 まで研磨し、直径 8 mm、厚さ 1 mm の象牙質ディスク試料を作製した。善入ら¹⁾に準じて作製された装置を用いて、象牙細管内液を満たした試料ステージに試料を装着し、内圧を 25 mmHg に規定した。知覚過敏抑制材として、Nanoseal (日本歯科薬品、以下 NS), Teethmate Desensitizer (Kuraray Noritake Dental, 以下 TD), G-Premio Bond (GC, 以下 GP), G-Guard (GC, 以下 GG), Scotchbond Universal Adhesive (3M ESPE, 以下 SU), Shield Force Puls (Tokuyama Dental, 以下 SF) を用い、業者指定の通り操作を行い塗布したものをそれぞれ NS 群, TD 群, GP 群, GG 群, SU 群, SF 群とした。各知覚過敏抑制材の塗布前後の象牙細管内液の移動量から透過抑制率を測定し (n=5)、一元配置分散分析および Tukey の分析により統計処理を行った。なお、本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 大歯医倫 110767 号)。

【結果ならびに考察】

NS・TD 群はそれぞれ透過抑制率に有意差は認められなかった。GP・GG・SU・SF 群はそれぞれ透過抑制率に有意差は認められなかった。GP・GG・SU・SF 群は NS・TD 群と比べて有意に高い透過抑制率を示した。これは、無機塩の結晶物により被膜を形成する知覚過敏抑制材に比べて、レジン系知覚過敏抑制材の方がより強固な被膜を形成し、象牙細管を封鎖したためと考えられる。

【結論】

新規レジン系知覚過敏抑制材 G-Premio Bond は、従来のレジン系知覚過敏抑制材と同程度の高い象牙細管封鎖性を有することが示唆された。

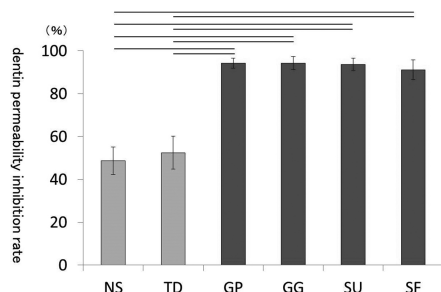


Fig. 1 Measurements of the permeability inhibition ratio of each dentin desensitizers

善入ら. 知覚過敏罹患モデル象牙質へのレーザー照射が透過性に与える影響について. 日歯保存誌 2008 ; 51 : 48-62.

リン酸カルシウムペースト系知覚過敏抑制材の漂白効果に及ぼす影響

大阪歯科大学 歯科保存学講座
○古澤 一範 岩佐 一弘 谷本 啓彰 保尾 謙三 吉川 一志 山本 一世

Effect of a Desensitizer on Vital Teeth Bleaching of Calcium Phosphate Based Paste

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University
○Furusawa Kazunori, Iwasa Kazuhiro, Tanimoto Hiroaki, Yasuo Kenzo,
Yoshikawa Kazushi, Yamamoto Kazuyo.

【目的】

漂白直後および漂白中に生じる象牙質知覚過敏の発生率は、軽度のものを含めると 55～75%との報告があり、エナメル質に存在するエナメル葉や微小亀裂の存在がその発生に関与すると考えられている。また有髄歯の漂白に対して、近年、二酸化チタンを触媒として過酸化水素水の濃度を減少させ、刺激を抑制する製品が市販されている。一方ハイドロキシアパタイトに対して作用する知覚過敏抑制材が市販されており、漂白との併用について期待されている。本研究はティースメイト®AP ペースト（クラレノリタケデンタル;以後 AP）をメーカー指示に従って塗布した際の漂白効果に及ぼす影響について検討した。

【材料と方法】

冷凍保管牛歯を解冻し、歯根を切断して歯髄を除去した後、髓腔内を 5%次亜塩素酸溶液で 1 分間処理し、水洗、乾燥後、37%リン酸ゲル(K - etchant, クラレノリタケデンタル)にて 1 分間処理し、水洗、乾燥を行った。煮出した紅茶を着色液とし、被験歯を 7 日間浸漬し、変色試料とした。変色した唇側面中央部を歯科用色彩計シェードアイ NCC(松風)で測色し、CIE L*a*b*を求めた(術前)。術前測色後、TiON in Office(GC;以後 Tion)の Reactor を塗布し乾燥させた後、Syringe A および B の混合ジェルを塗布し、漂白用 LED 照射器(コスモブルー, GC)にて 10 分間照射した。この操作を 3 回同一部位に行い、漂白処置後、再度測色を行なった(1 回目術後)。その後生理食塩水中に保管し、7 日間毎に合計 4 回漂白処置を行い、漂白処置後、再度測色を行なった(2～4 回目術後)。その後、再度着色液に浸漬し、7 日間ごとに測色を行った。得られた CIE L*a*b*の値から、漂白前との色差値 ΔE を算出した(コントロール群)。

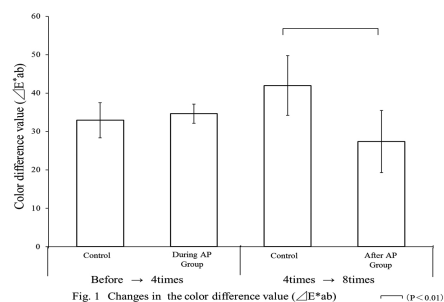
また TiON in Office でコントロールと同様に漂白処置を行い、漂白後 AP を毎回塗布おこなった条件を漂白中 AP 群、4 回の漂白処置後、着色液に浸漬し 7 日ごとの測定毎に AP で処理を行った条件を漂白後 AP 群とし、得られた CIE L*a*b*の値から、漂白前との色差値 ΔE を算出した。塗布方法として AP を 20 秒間ラバーカップにて行った。測定結果は一元配置分散処理および Tukey の検定により統計処理を行った ($P < 0.01$)。なお、漂白面について通法により処理した後、走査型電子顕微鏡(JSM-5610LU, JEOL;以後 SEM)にて観察を行った。

【結果ならびに考察】

L*, a*は、コントロール群と比較して漂白中 AP 群、漂白後 AP 群ともに後戻りを抑制している傾向を示し、b*はコントロールと同様の傾向を示した。 ΔE の結果を Fig.1 に示す。コントロール群と漂白後 AP 群で有意な差が認められた。塗布方法として、ラバーカップを使用したことにより緊密に塗布できたのではないかと考えられる。SEM 観察の結果、漂白中、漂白後ともにコントロールと同様にエナメル質の構造と考えられる像が観察された。

【結論】

AP は、リン酸四カルシウムと無水リン酸水素カルシウムにグリセリンとポリエチレングリコールを加えペースト化され、フッ化ナトリウムを添加した弱アルカリ性のペーストである。リン酸四カルシウムと無水リン酸水素カルシウムが塗布後、口腔内の水分と反応しハイドロキシアパタイトに転化することを応用した知覚過敏抑制材は、漂白効果に影響を及ぼさず後戻りを抑制している傾向が示唆された。



リン酸カルシウム系知覚過敏抑制材の知覚過敏抑制効果 -超音波透過法による検討-

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

○竹中宏隆¹, 川本 諒^{1,2}, 黒川弘康^{1,2}, 下山侑里子¹,
石井 亮¹, 瀧川智義^{1,2}, 平井一孝¹, 宮崎真至^{1,2}, 天野 晋³

Evaluation of Desensitizer Based Calcium Phosphate by Means of Ultrasonic Device.

¹Department of Operative Dentistry, ²Division of Biomaterials Science, Dental Research Center Nihon University
School of Dentistry, ³AMANO Dental Clinic

○Takenaka Hiroataka¹, Kawamoto Ryo^{1,2}, Kurokawa Hiroyasu^{1,2}, Shimoyama Yuriko¹,
Ishii Ryo¹, Takigawa Tomoyoshi^{1,2}, Miyazaki Masashi^{1,2}, Amano Susumu³

【研究目的】

象牙質知覚過敏症に対する処置には、これまで多くの方法が提案されてきた。特に、患部に塗布することでその疼痛を軽減する知覚過敏抑制材は、様々なタイプの製品が臨床応用されているものの、即効性および持続的な効果に優れるものは少ないのが現状である。そこで演者らは、生体親和性に優れたリン酸カルシウム系知覚過敏抑制材に着目し、その性状の違いが知覚過敏抑制効果に及ぼす影響について検討した。すなわち、ティースメイトディセンシタイザー（粉液タイプ、以後 TD）およびティースメイト AP ペースト（ペーストタイプ、以後 AP、ともにクラレノリタケデンタル）を象牙質に塗布することで生じた脱灰あるいは再石灰化という変化を、非破壊的に物質の状態変化を測定可能である超音波透過法を用いて測定した。またレーザー顕微鏡（LSM）観察および走査電子顕微鏡（SEM）観察を併せて行い、表面性状の変化ならび象牙質封鎖性について比較検討した。

【材料および方法】

1. 象牙質知覚過敏試片の製作

ウシ抜去下顎前歯の唇側象牙質を 4×4×1mm のブロックとして切り出し、耐水性 SiC ペーパーの#2,000 まで順次研磨した。これら試片に対して超音波洗浄を 30 分間行い、象牙細管の開口を伴う知覚過敏モデルを製作した。

2. pH サイクルの設定

口腔内環境をシミュレートするために、37℃人工唾液（pH 7.0）の浸漬保管に先立ち、以下の条件で pH サイクルを設定した。

- 1) 0.1M 乳酸緩衝液（pH4.75）に 10 分間浸漬（以後、De 群）
- 2) 脱灰液への浸漬に先立って、AP または TD を 1 度塗布（以後、AP 群、TD 群）
- 3) 脱灰液への浸漬に先立って、AP または TD を塗布し、これを 7 日毎に行う（以後、Repeat-AP 群、Repeat-TD 群）
なお、pH サイクルは 1 日 2 回、28 日間行った。またコントロールとして実験期間を通じて人工唾液への浸漬のみを行う群（以後、Control 群）を設定した。

3. 超音波伝播時間の測定

超音波測定装置（Model 5900, Panametrics）を用いて、縦波で発せられる超音波の伝播時間を測定し、各試片の厚みから計算式を用いて縦波音速を求めた。

4. レーザー顕微鏡観察

所定期間の浸漬が終了した試片について、レーザー顕微鏡を用いて表面性状の変化を観察した。

5. SEM 観察

FE-SEM（ERA8800-FE, エリオニクス）を用いて、象牙細管内への知覚過敏抑制材の浸透性を評価した。

【成績および考察】

Control 群では実験期間を通じて音速の変化は認められなかったものの、De 群では低下する傾向を示した。TD-Repeat 群において塗布直後は音速の上昇を認めるものの、その後の pH サイクルにより音速の低下を生じた。一方、AP-Repeat 群では、pH サイクルによる音速の低下は生じにくい傾向を示し、28 日後には TD-Repeat 群と有意差を認めなかった。

また LSM 観察から、塗布直後には象牙細管開口部が完全に封鎖された像が観察されたが、AP および TD 群においては時間の経過に伴って、象牙細管が開く傾向が認められた。一方 AP-Repeat 群、TD-Repeat 群において 28 日後には象牙細管は完全に封鎖され、象牙質表面には粒状堆積物が認められた。SEM 観察からは AP-Repeat、TD-Repeat 群において象牙細管深部まで浸透している像が観察された。

【結論】

AP は歯質の脱灰抑制および象牙細管の封鎖性において TD と同様に有効であり、継続的に塗布することで象牙質知覚過敏の抑制に寄与することが示唆された。

新規 1 ボトル 1 ステップボンディングシステムの
象牙質知覚過敏症罹患モデル象牙質に対する接着性
—サーマルサイクルの影響—

大阪歯科大学歯科保存学講座

○岩田有弘, 恩田康平, 廣田陽平, 井村和希, 山本一世

Tensile bond strength of new 1-bottle 1-step bonding system on
an *in vitro* Model of Hypersensitive Dentin

—Effect of Thermal Cycling on Tensile Bond Strength—

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

OIWATA Naohiro, ONDA Kohei, HIROTA Youhei, IMURA Kazuki, YAMAMOTO Kazuyo.

【緒言】

象牙質知覚過敏症には歯頸部知覚過敏, 根面知覚過敏および窩洞形成後の象牙質面露出による術後性知覚過敏などある。象牙質知覚過敏症の治療法としては, 薬液塗布, イオン導入法, レーザー照射や接着性材料による罹患部位の被覆などがある。象牙質知覚過敏症の要因の 1 つとして細管内液の移動が提唱されているが, 我々の研究グループはヒト歯髄内圧を設定した象牙質知覚過敏症罹患モデル象牙質¹⁾を作成し, 1 ボトル 1 ステップボンディングシステムの接着試験を行い, 罹患モデル象牙質では接着強さが有意に低下することを報告した²⁾。また, 新規に発売されたジーシーG-プレミオボンド(株式会社ジーシー, 以下 PB)についても同様の試験を行い, 象牙質知覚過敏症罹患モデル象牙質に対する接着強さは低下しないことを報告した。本研究では, PB の象牙質知覚過敏症罹患モデル象牙質に対する接着における, サーマルサイクルの影響について実験を行ったので報告する。

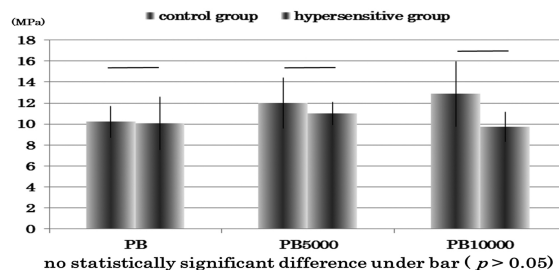
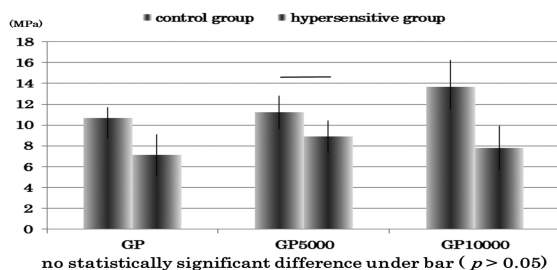
【材料及び方法】

抜去ヒト大臼歯歯冠部象牙質を用い, 歯冠側面を耐水紙 #600 まで研磨した厚さ 1mm の象牙質ディスクを作成した。知覚過敏症罹患モデル象牙質の作成方法は, 善入らの方法¹⁾を利用し, 再現した。また, 充填材料としては 1 ボトル 1 ステップボンディングシステムとして, PB および G-ボンドプラス(株式会社ジーシー, 以下 GP)を使用した。光重合型コンポジットレジンとして, CLEARFIL®AP-X(クラレノリタケデンタル, シェード A3)を使用した。

知覚過敏症罹患モデル象牙質被着面の接着面積を 3mm に規定し, 上記の PB および GP を使用し, 製造業者指定の方法にて接着操作を行い, 罹患象牙質群とした。また, 厚さ 1mm の象牙質ディスクを装置に装着せずに上記と同じく接着操作を行い, コントロール群とした。接着後 37℃ 水中に 24 時間保管したのち, 5℃ と 55℃ の水中に 40 秒間ずつ 5000 回および 10000 回浸漬するサーマルサイクルを行った。接着試験は万能試験機 IM-20 (INTESCO) を用い, クロスヘッドスピード 0.3mm/min にて引張強さの測定を行い, 平均値および標準偏差を算出した (n=7)。得られた結果は一元配置分散分析および Tukey の検定により統計処理を行った (p=0.05)。なお, 本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 大歯医倫 110767 号)。

【結果および考察】

GP では 24 時間後とサーマルサイクル 10000 回において有意な差が認められたが, PB ではサーマルサイクルによる接着強さの有意な低下は認められなかった。象牙質知覚過敏症罹患モデル象牙質表層には水分が存在すると考えられるため, 熱負荷を受ける環境下では接着が破壊されてしまうことが考えられるが, PB においてはサーマルサイクルの影響は受けないことが認められた。



1) 善入寛仁, 吉川一志, 山本一世. 知覚過敏症罹患モデル象牙質へのレーザー照射が透過性に与える影響について. 日歯保存誌 2008; 51: 48-62.

2) HATTORI Yasunao, Iwata Naohiro, YASUO Kenzo, YOSHIKAWA Kazushi and YAMAMOTO Kazuyo. Study on Adhesion of Composite Resin using an *in vitro* Model of Hypersensitive Dentin. J Conserv Dent 2015; 58: 26-34.

知覚過敏抑制材塗布後のレジーン-象牙質接着界面の観察

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野
○田中久美子, 大原直子, 横山章人, 西山依理子, 山路公造, 吉山昌宏

Observation of the Resin-dentin Interface after the Hypersensitive Desensitizer Application
Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction,
Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○TANAKA Kumiko, OHARA Naoko, YOKOYAMA Akihito, NISHIYAMA Eriko, YAMAJI Kozo, YOSHIYAMA Masahiro

【研究目的】

象牙質知覚過敏症においては、処置が多岐にわたり、知覚過敏抑制材の塗布から日を改めてコンポジットレジン修復を行うケースがある。本研究では、知覚過敏抑制材塗布後の接着システムの接着性を評価することを目的とし、レジーン-象牙質接着界面の観察を行った。

【材料及び方法】知覚過敏抑制材にはMS コート ONE (サンメディカル)、F-バニッシュ 歯科用 5% (東洋製薬化成)、ナノシール (日本歯科薬品) を使用した。う蝕のないヒト抜去小臼歯の歯冠部象牙質平面を露出し、超音波洗浄を 30 分間行うことで象牙細管を開口させ、象牙質知覚過敏モデルとした。知覚過敏抑制材を塗布し 7 日間 37℃ 水中保管した後、接着システムにてコンポジットレジンを実盛した。接着システムには、クリアフィルメガボンド FA (クラレノリタケデンタル) を、実盛するコンポジットレジンにはクリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル, シェード A3) を用いた。無処理のものをコントロール群とした。

接着界面の色素浸透の観察：コントロール群および処理群に対し、接着試料体を作製した。接着界面に対して垂直に切断し、接着界面の上下 2mm を残してネイルバーニッシュで被覆した。0.2% 塩基性フクシン水溶液に 24 時間浸漬した後、試料体を縦断し、実体顕微鏡の 100 倍下で試料体を観察した。

象牙細管内へのプライマーの浸透の観察：コントロール群および処理群に対し、接着試料体を作製するにあたり、プライマーの浸透を評価するために、メガボンド FA プライマーにローダミン B (Aldrich) を 0.07% 配合した。接着試料体を包埋した後、接着界面に対して垂直に切断して研磨を行い、アルゴンレーザーによる共焦点レーザー顕微鏡 (CLSM, μ Radian, Bio-rad Laboratories) の観察用試料とした。観察に際して、コンピュータ解析用ソフトウェア (LaserSharp2000, Bio-rad Laboratories) を用いた。

【成績および考察】コントロール群、3 種の知覚過敏抑制材を 7 日間作用させた処理群のいずれにおいても接着界面に色素の浸透すなわち辺縁漏洩を認め、また、象牙細管内にプライマーの浸透を認めた。知覚過敏抑制材による象牙細管封鎖の程度が接着界面の辺縁漏洩と象牙細管内へのプライマーの浸透に影響を及ぼすことが考えられた。今後、臨床に活かすため、材料の特性および象牙質被着面の詳細な検討が必要である。

【結論】3 種の象牙質知覚過敏抑制材を 7 日間作用させ、接着試料体を作製し、接着界面を観察した結果、接着界面の辺縁漏洩と象牙細管内へのプライマーの浸透を認めた。

根面う蝕へのナノシール塗布によるダイアグノデント測定値の変動

北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室
○加藤昭人, 宮治裕史, 田中佐織, 井上加菜, 西尾啓英, 川浪雅光

Changes in DIAGNOdent values for root caries applied with Nanoseal

Department of Periodontology and Endodontology,
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine
○KATO Akihito, MIYAJI Hirofumi, TANAKA Saori, INOUE Kana,
NISHIO Takahide, KAWANAMI Masamitsu

【目的】

高齢になると歯周病の罹患率が向上し、歯根を支える歯槽骨の破壊が進んで歯根が露出するケースが後を絶たない。また、歯肉は加齢に伴って徐々に退縮するため歯根露出した歯が多く観察され、根面う蝕が発生しやすい。近年、歯科用知覚過敏抑制材料として開発されたナノシール（日本歯科薬品）は、フルオロアルミノシリケートガラスのナノ分散液とリン酸を主体としており、歯面塗布により表面に耐酸性ナノ粒子層を形成することが確認されている。また、in vitro において人工的に脱灰した象牙質面へナノシールを塗布することで、耐酸性が向上したことが報告されている。したがって実際の口腔内の根面う蝕にもナノシールを塗布することで歯質の性状が変化する可能性が考えられる。そこで本研究では、根面う蝕にナノシールの塗布を行い、う蝕診断器ダイアグノデントペンの測定値の変化を評価した。

【対象と方法】

本研究は北海道大学病院自主臨床研究審査委員会（承認番号 自 012-0046 および 自 013-0285）の承認を受けて行った。対象患者は北海道大学病院歯科診療センターに通院中の根面う蝕を有する患者 36 名（男性 18 名、女性 18 名、平均 67.3 歳）とし、置換ブロック法でランダム化して 2 群に分けた。ナノシール塗布群では、ロビンソンブラシでう蝕歯面を清掃後、ナノシールの A 液、B 液を等量採取、混和し、ニシカマイクロアプリーケーターにて患部に混和液が十分いきわたるように塗布した後水洗を行う方法で、開始月のベースラインから毎月 1 回ナノシール塗布を行った。コントロール群ではナノシールを塗布せず毎月 1 回歯面清掃と水洗のみを行った。なお研究参加期間中の根面う蝕部の口腔ケアには、両群とも研磨剤無配合のプロサールハミガキ（日本歯科薬品）を使用した。ナノシール塗布前のベースラインおよび 3 か月後、6 か月後にダイアグノデントペン（KaVo Dental, ドイツ）を用いて根面う蝕部のダイアグノデント値を測定し、患者観察項目としてカリエス面積、歯頸部からの距離、歯髄の有無の検査をベースラインおよび 6 か月後に行った。また、北海道大学病院通院中の患者より承諾を得て採取した抜去歯の根面う蝕にナノシールを塗布して SEM 観察を行い、ナノ粒子の付着状態を評価した。

【結果】

ナノシール塗布群のダイアグノデント値は、ベースラインで 28.9 ± 5.6 、3 か月後で 23.6 ± 5.7 、6 か月後で 21.5 ± 8.2 であった。一方、コントロール群では、ベースラインで 29.3 ± 7.9 、3 か月後で 32.5 ± 11.8 、6 か月後で 35.7 ± 15.6 であった。ナノシール塗布群の 3 か月後、6 か月後のダイアグノデント値は、ベースラインと比較して有意に減少したが、コントロール群では経時的にダイアグノデント値の上昇が認められた。また、ナノシール塗布群とコントロール群で比較すると、3 か月後、6 か月後ともダイアグノデント値に有意差が認められた。患者観察項目は両群間で差はなく、ベースラインと比較して 6 か月後でも変化はほとんど認められなかった。抜去歯根面う蝕部へのナノシール塗布後の SEM 観察では、う蝕表面にナノ粒子の付着が認められた。

【結論】

根面う蝕にナノシールを毎月塗布することで 3 か月後、6 か月後のダイアグノデント値が低下した。

10-MDP 含有レジンセメントの象牙質接着界面の解析

¹岡山大学病院新医療研究開発センター, ²岡山大学歯学部先端領域研究センター, ³北海道大学大学院歯学研究科生体材料工学教室

○¹吉原久美子, ²長岡紀幸, ³吉田靖弘

Analysis of the dentin/10-MDP containing resin cement interface

¹Center for Innovative Clinical Medicine, Okayama University Hospital, ²Advanced Research Center for Oral and Craniofacial Sciences, Okayama University, ⁴Department of Biomaterials, Hokkaido University

○Kumiko YOSHIHARA¹, Noriyuki NAGAOKA², Yasuhiro YOSHIDA³

【研究目的】

歯科接着材料に含まれる機能性モノマーは、歯質のアパタイトと反応しカルシウム塩が形成されることが報告されている^{1,2)}。とくに、10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (10-MDP) は、歯質のカルシウムと反応し層状の自己組織化物を形成する。このカルシウム塩は水に難溶性であることから、長期耐久性の向上につながるが示唆されている^{3,4)}。本研究では、10-MDP 含有レジンセメントと象牙質でも同様の塩の形成について解析を行うことを目的とし、10-MDP を含有するレジンセメントやプライマーを象牙質への塗布時の象牙質表面の X 線回折分析と、セメントやそのプライマーと象牙質の接着界面の透過電子顕微鏡での観察とを行った。

【材料および方法】

10x 8x 1 mm の牛歯象牙質を SiC 研磨紙(#600)で研磨し、EDprimer, PanaviaV5 Tooth Primer(いずれも Kuraray Noritake Dental)を塗布し、20 秒後、エアブローした。また同様に、牛歯象牙質に PanaviaF2.0, Panavia SA cement (いずれも Kuraray Noritake Dental)を塗布し、20 秒後にエタノールで洗浄して、セメント部分を除去した後、エアブローした。すべてのサンプルは X 線回折(CuK α 40 kV, 200mA; RINT2500, Rigaku)で測定した。

透過電子顕微鏡観察試料として倫理委員会での承認を受けたヒト抜去大白歯 8 本を用い、被着象牙質を SiC 研磨紙(#600)で研磨後、以下の処理を各 2 本ずつ行った。1)EDprimer を塗布し、20 秒後にエア乾燥し、PanaviaF2.0 を築成; 2)EDprimer を塗布せず、PanaviaF2.0 を築成; 3)Panavia SA cement を築成; 4)PanaviaV5 Tooth Primer PanaviaV5 を塗布し、20 秒後にエア乾燥し、PanaviaV5 を築成し、セメント築成後はいずれのサンプルも光照射器 (Bluephase 20i, Ivoclar vivadent) を用いて 20 秒間重合させた。その後、24 時間 37°C 水中保管した後、エポキシ樹脂で包埋し、ダイヤモンドナイフとマイクロームを用いて薄切し、透過電子顕微鏡 (TEM) (JEM-1200EX II, Jeol)観察を行った。

【結果】

X 線回折の結果(右図)から、いずれのサンプルでも 10-MDP-Ca 塩に帰属されるピークが確認された。とくに EDprimer で強いピークが認められた。

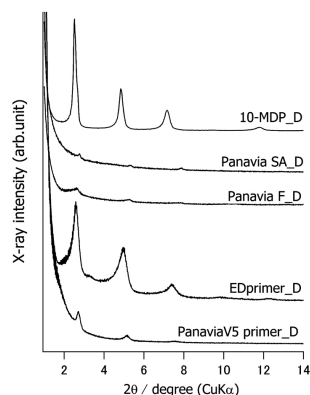
透過電子顕微鏡による、歯質-セメント界面の観察からも、いずれのサンプルにおいても層状の構造物が確認された。

【考察および結論】

10-MDP を含有しているセメントやプライマーと歯質との接着でも、機能性モノマーと歯質のアパタイトの反応によるカルシウム塩の層状構造が確認され、機能性モノマーと象牙質のアパタイトが化学的に結合していることが示唆された。

【参考文献】

- 1)Yoshihara K et al. J Dent Res 2011;90:602-6.
- 2)Yoshihara K et al. Dent Mater 2013;29:888-97.
- 3)Yoshihara K et al. Acta Biomater 2010;6:3573-82.
- 4)Yoshida Y et al. J Dent Res. 2012;91:376-81



XRD patterns of 10-MDP containing primer/ cement applied on dentin

セルフアドヒーズセメント中の MDP 濃度が接着強さに及ぼす影響

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 生体機能再生・再建学講座 歯科保存修復学分野
²北歯科医院, ³鹿児島大学大学院医歯薬学総合研究科 顎顔面機能再建学講座 歯科保存学分野
○大原直子¹, 田中久美子¹, 澁谷和彦², 横山章人¹, 竹内晶子¹, 山路公造¹, 西谷佳浩³, 吉山昌宏¹

Effect of MDP concentration in Self-adhesive Resin Cement on Bond Strength

¹Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,
²Kita Dental Clinic, ³Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Field of Oral and Maxillofacial Rehabilitation, Kagoshima Graduate School of Medical and Dental Sciences
○OHARA Naoko¹, TANAKA Kumiko¹, SHIBUYA Kazuhiko², YOKOYAMA Akihito¹, TAKEUCHI Akiko¹, YAMAJI Kozo¹, NISHITANI Yoshihiro³, YOSHIYAMA Masahiro¹

[目的]

MDP (10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate) は接着性レジンモノマーであり, セルフアドヒーズセメントにも配合され実用されているものの, MDP の濃度変化に伴うセメントの接着強さの挙動や至適濃度についての報告は見当たらない. 本研究では, 試作セメントの MDP の配合濃度を変化させ, MDP の配合濃度が歯質接着強さに及ぼす影響とその接着耐久性について検討を行った.

[材料と方法]

試作セルフアドヒーズセメントとしてフッ化ナトリウムを配合したセメントと未配合のセメントを作製した. 両セメントにおいて, MDP 配合量を 3.3wt%, 6.6wt%, 9.9wt% の 3 段階に変化させたものを作製した. 被着歯面は, 健全ヒト抜去大白歯の咬合面象牙質平坦面を耐水研磨紙 (#600) にて研磨したものと, 被着体はエステニア (クラレノリタケデンタル) ブロックを, アルミナサンドブラスト (5s), 超音波洗浄 (2min), リン酸エッチング (5s), 水洗乾燥後にシラン処理を行ったものとした. 各レジンセメントにて接着した試料体を 37℃ の水中に 24 時間保管後, 1.0×1.0mm² の短冊状に切り出し, 初期硬化時の微小引張接着強さを測定した. 微小引張試験後の試料は, 走査電子顕微鏡を用いて破断面形態の観察を行った.

さらに, 接着耐久性を調べるため, 接着試料を 37℃ 水中 24 時間保管後, 5℃ と 55℃ のサーマルサイクルを 5000 回負荷し, 微小引張接着強さと破断面形態の観察を行った.

統計解析は, one-way ANOVA および Tukey method を用いて有意水準 5% で統計解析を行った.

本研究は岡山大学医歯薬学総合研究科の倫理委員会の許可 (承認番号 189 号) を得て実施した.

[結果および考察]

MDP 濃度 3.3wt% のセメントの接着強さが最も低く, MDP 濃度が 6.6wt%, 9.9wt% のセメントの接着強さは, 3.3wt% の濃度のセメントと比較し接着強さの向上を認めた. 濃度が 6.6wt% のセメントと 9.9wt% セメントの接着強さを比較した場合, 接着強さのさらなる向上は認めなかった. サーマルサイクル 5000 回負荷後の比較では, 全ての MDP 濃度において接着強さの低下を認めなかった. フッ化ナトリウムの配合の有無による差も認めなかった. 破断面観察では, 全てのセメントにおいてセメント凝集破壊と, セメント-象牙質間での界面破壊の混合破壊が多く認められた.

以上の結果より, MDP の接着強さの向上効果は 6.6% の濃度でプラトーに達することが明らかになった. 5000 回のサーマルサイクル負荷では, 接着強さの低下は認められず, 接着安定性を示していた. 今後, さらにサーマルサイクル負荷条件を追加し, 研究をすすめる予定である.

CAD/CAM ブロックの表面処理の違いがレジンセメントとの接着強さに及ぼす影響

北海道大学大学院歯学研究科口腔健康科学講座歯科保存学教室

*北海道大学病院歯科診療センター 生体技工部

○市川真理子, 川本千春, *西川圭吾, 門脇佳孝, 星加修平, 池田考績, 田中享, 佐野英彦

Effect of surface treatments on bond strengths between a CAD/CAM block and a resin cement

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

*Department of Dental Medical Laboratory Hokkaido University Hospital

○Mariko ICHIKAWA, Chiharu KAWAMOTO, Keigo NISHIKAWA, Yoshitaka KADOWAKI, Shuhei HOSHIKA
Takatsumi IKEDA, Toru TANAKA, Hidehiko SANO

【研究目的】

ハイブリッドレジンブロックによる CAD/CAM 冠は内面のサンドブラスト処理やプライマーの使用などが推奨されている。セラミックス冠や鋳造金属冠では、ロカテック処理が接着の向上に寄与すると言われている。ロカテック処理は、アルミナサンド表面にシリカコーティングされた粒子を高エネルギーで被着面に衝突させてシリケート層を形成した後にシランカップリングを行うことによって、強固な接着を得るというものである。しかしながらハイブリッドレジンブロックによる CAD/CAM 冠に関してはロカテック処理の効果は十分に検討されていない。本研究の目的は CAD/CAM ブロックの表面処理の違いがレジンセメントの接着強さに及ぼす影響を検討することである。

【材料および方法】

被着体として歯科切削加工用レジン材料のセラスマート (GC) CAD/CAM レジンブロックを使用した。試験片の大きさは、縦、横、高さ: 10×12×7.5mm とし、被着面はすべて耐水研磨紙#600 で研磨した。セラスマート被着面の表面処理は以下の通りである: ①未処理のもの②サンドブラスト処理 (50 μ 、1.5 atm) (以下 SB) ③セラミック接着処理材 (セラミックプライマー (GC)) (以下 P) ④サンドブラスト処理+セラミック接着処理材 (以下 SB+P) ⑤ロカテック処理 (以下 R)。ロカテック処理はロカテックプラス (3M ESPE) を試料までの距離 10 mm、噴射圧 0.28 Mpa、噴射角度 90° で 13 秒間噴射し、エスベジル (3M ESPE) にてシランカップリングを行った。レジンセメントにはジーセムリンクエース (GC) を使用して、メーカー指示に従い各被着面どうしを合わせるように 4 方向から光照射を行った。作製した試料 (5 種類) を 37°C 水中に 24 時間保存後、精密低速切断機 Isomet により注水下にて被着面に対して垂直に切断し、被着界面が 1.0 mm² の角柱型のビームを作製した。微小引張り試験には小型卓上試験機 (EZ-Test, Shimadzu) を用い、クロスヘッドスピード 1 mm/min の条件下で測定した。なお、各条件ごとのビーム状試料は 10 本とした。統計処理は Tukey test を用いて行った ($p < 0.05$)。処理後の CAD/CAM 表面を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。

【結果】

接着強さの結果を以下に示す。接着強さは SB+P で最も高い接着強さを示し、未処理で最も低い接着強さを示した。また、SB、P、R 間で有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。SEM 観察では、未処理および P でバーによる切削痕が認められた。また、SB では切削痕は認めなかったが、表面が粗造になっており、P 及び SB+P では表面が滑らかであった。R は表面に微粒子が付着している像が観察された。

	No treatment	SB	P	SB+P	R
MPa (mean $\pm$ SD)	38.15 $\pm$ 9.8 ^a	66.76 $\pm$ 11.0 ^b	64.83 $\pm$ 9.3 ^b	90.50 $\pm$ 13.9 ^c	70.62 $\pm$ 13.8 ^b

Same letters indicate no significant difference ($p > 0.05$)

【考察】

SB+P の高い接着強さには、表面が粗造であることによる機械的嵌合に加えて、プライマーによる化学的接着が寄与しているものと思われる。R はハイブリッドレジンブロックでは SB+P ほど有効ではなかった。R については今後検討する必要がある。

【結論】

ロカテック処理が最も高い接着強さを示すと予測したが、サンドブラスト+セラミック接着処理材が最も高い接着強さを示した。

各種歯面コーティング材を応用した象牙質面の EPMA 分析

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専攻

² 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座、³ 日本歯科大学新潟生命歯学部先端研究センター

○有田祥子¹、鈴木雅也²、風間-小出未来³、新海航一²

EPMA analysis of the dentin surface applied various tooth coating materials

¹Advanced Operative Dentistry, The Nippon Dental University Graduate School of Dentistry at Niigata

²Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

³Advanced Research Center, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

○ARITA Shoko¹, SUZUKI Masaya², KAZAMA-KOIDE Miku³, SHINKAI Koichi²

【目的】

我々は、根面象牙質に各種歯面コーティング材を応用し長期保管後の剪断接着強さを測定するとともに、剪断接着強さ試験後の試料に対して pH サイクリングを行い、接着破壊面の脱灰深度を測定した結果、グラスアイオノマー系歯面コーティング材は多種イオン徐放性レジン系歯面コーティング材と比較して象牙質接着強さは小さいが、剪断接着試験後の脱灰抑制効果はレジン系より高いことを第142回日本歯科保存学会で報告した。象牙質面の脱灰抑制効果は、コーティング材から徐放される各種イオンの働きによるものと考えられるが、応用象牙質面に取り込まれたイオンについて分析した報告は少ない。そこで今回は、ヒト抜去歯の歯根象牙質に各種歯面コーティング材を応用し長期間保管した試料を用いて、象牙質中への各種イオンの取り込み状態について EPMA を用いて分析した。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を得てから施行した。(許可番号 ECNG-H-156, ECNG-H-196)

【実験方法】

本実験では 0.1%チモール液中に冷蔵保存していたヒト抜去歯（前歯と小臼歯）を用いた。卓上研磨盤と耐水研磨紙（#120、600）を用いて歯根頬側面に平坦な象牙質面を形成した後、下表に示す各種歯面コーティング材を象牙質面に応用した。作製した試料は 37℃蒸留水中に 32 日間保管し、その間 4 日おきに 500 回ずつ合計 4000 回のサーマルサイクリングを行った。保管後の試料に対し、歯面コーティング材の上からカーボンペースト（COLLIDAL GRAPHITE、イーエムジャパン株式会社）を塗布、エポキシ樹脂（EPON812 RESIN EMBEDDING KIT, TAAB Laboratories Equipment Ltd）にて包埋した。卓上研磨盤と耐水研磨紙（#200、1200）を用いて歯面コーティング材と象牙質の界面を露出させてから、ダイヤモンドペースト（9 μm、3 μm、1 μm）で鏡面研磨を行った。次に Au にて蒸着を行った後、EPMA（JXA-8900、日本電子）を用い、歯面コーティング材と象牙質の界面における F⁻、Sr²⁺、SiO₃²⁻、P、Ca²⁺、Al³⁺および Na⁺の取り込み状態について分析を行った。

Group	Tooth coating materials
BC1	Experimental PRG Barrier Coat (S-PRG filler: 0 wt%, Silica filler: 50 wt%)
BC2	Experimental PRG Barrier Coat (S-PRG filler: 17 wt%, Silica filler: 33 wt%)
BC3	Experimental PRG Barrier Coat (S-PRG filler: 33 wt%, Silica filler: 17 wt%)
BC4	PRG Barrier Coat (S-PRG filler: 50 wt%, Silica filler: 0 wt%)
CV	Clinpro XT Varnish
FJ	GC Fuji VII

【結果および考察】

EPMA 分析の結果、いずれの試料においてもイオンマッピングにおいて象牙質面で各種イオンが検出された。グラスアイオノマー系歯面コーティング材である CV と FJ では、歯面コーティング材を応用した象牙質界面で F⁻ と Sr²⁺が検出された。したがって、これらの材料から放出された F⁻ と Sr²⁺は象牙質表層に取り込まれたことが明らかとなった。一方、多種イオン徐放性レジン系コーティング材である BC1、BC2、BC3 および BC4 では、歯面コーティング材-象牙質界面における象牙質面上で検出された F⁻ と Sr²⁺のレベルは非常に低かった。これらはコーティング材非応用面の象牙質縦断面におけるイオンマッピングと類似した所見を示したことから、これらのレジン系歯面コーティング材から放出された F⁻ と Sr²⁺は象牙質表層へほとんど取り込まれなかったと考えられる。

【結論】

グラスアイオノマー系歯面コーティング材から放出された F⁻ と Sr²⁺は、応用面の象牙質表層に取り込まれた。

セルフエッチングアドヒーズシステム “Peak SE” の歯質接合界面の SEM 観察

虎の門病院・歯科

○森上 誠、陶山雄司、宇野 滋、山田敏元、杉崎順平

An SEM observation of the bonding-interface created with a self-etching adhesive system “Peak SE”

Toranomon Hospital, Department of Dentistry

○Morigami M, Suyama Y, Uno S, Yamada T, Sugizaki J

【研究目的】

2013 年にウルトラデント社より、Peak SE Primer および Peak LC Bond よりなる 2 ステップタイプの接着システムである Peak SE が市販されるに至った。本研究では、Peak SE を用いてヒト新鮮抜去歯にレジン修復を行った場合のエナメル質および象牙質との接合界面について SEM 観察を行ったので報告する。

【材料および方法】

1. Peak SE について

Peak SE Primer は、ジェットミックスシリンジというシリンジ形態をとっており、シリンジ内で酸液とレジン液を混合（混合後 30 日間使用可能）してから、シリンジにプライマー塗布用チップ（ブラックミニブラシチップ）を装着し、窩洞に直接アプローチして歯面処理を行うことができるようになっている。また、Peak LC Bond は、接着性モノマーとして GDMA phosphate を用いており、シリンジにボンド塗布用チップ（インスパイラルブラシチップ）を装着して、プライマー処理面に軽くブラッシングしながら塗布するという使用法の光重合型ボンディング材である。Peak SE を用いたレジン修復の手順については、まず、窩洞内面を完全に乾燥させずに湿潤した状態で、Peak SE Primer を攪拌しながら 20 秒間塗布し、エアブローは行わず、歯面上から直接ハイボリュームで 3 秒間吸引する。プライマー処理面に対して、Peak LC Bond を 10 秒間光照射して重合させる。次に、コンポジットレジンを充填して歯冠形態を回復し、硬化後、通法に従って仕上げ・研磨を行う。

2. 接合界面の SEM 観察

健全なヒト新鮮抜去大白歯の歯冠中央部を歯軸に垂直に切断し、#1,000 の耐水シリコンカーバイドペーパーにて研磨した面をエナメル質および象牙質の被着面とした。この被着面に対して、前述の手順でプライマーおよびボンディング処理を施した後、修復用レジン Amelogen Plus（ウルトラデント社）を築盛して光照射し、重合させた。その後、直ちに半切し、エポキシレジンにより包埋した。1 週間後に、この試料を耐水シリコンカーバイドペーパーおよびダイヤモンドペーストで研磨した後、Ar イオンシャワー装置（EIS-200ER, エリオニクス）を用いて Ar イオンエッチングを 1keV, 1.8mA/cm² の条件で 35 秒間行った後、白金蒸着を施し、SEM（ERA-8900FE, エリオニクス）にて観察し、写真撮影を行った（虎の門病院臨床試験的研究審査小委員会承認 No.926）。

【結果および考察】

エナメル質および象牙質との接合界面の SEM 観察より、修復用レジン硬化したボンディング材と緊密に接合しており、ボンディング材とエナメル質および象牙質との接合界面には gap の生成は認められなかった。エナメル質表層はこまかくエッチングされた様相を呈しており、表層に生じた微小な凹凸にボンディング材が嵌合している像が観察され、Peak SE Primer のエナメル質に対する脱灰力が比較的強いことが明らかとなった。象牙質表層には約 1 μm の幅のハイブリッド層が観察された。

【結 論】

本研究の結果より、修復用レジンとボンディング材さらにボンディング材とエナメル質および象牙質は、いずれも緊密に接合していることが明らかとなり、Peak SE は有用な接着システムであることが示唆された。

アクセル処理が象牙質とレジンとの接着強さに及ぼす影響

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学

¹さくデンタルクリニック

○村瀬由起, 日下部修介, 小竹宏朋, 作誠太郎¹, 堀田正人

The Influence of Reducing agent on Tensile Bond Strength of Dentin to Resin

Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi

University, School of Dentistry

Saku Dental Clinic¹

○MURASE Yuki, KUSAKABE Syusuke, KOTAKE Hiroto, SAKU Seitaro¹, HOTTA Masato

【研究目的】第 142 回春季学術大会にてレーザー照射面, 非照射面共にエタノール/芳香族スルフィン酸塩 (アクセル) 処理を行うことでメガボンドと歯質の引張り接着強さが向上することが示唆された。そこで今回はアクセル処理を行うことで各種ボンディング材と歯質との引張り接着強さが向上するかどうか検討した。

【材料および方法】1. 被験歯: 朝日大学歯学部倫理委員会の承認 (No. 25148) を得ている新鮮抜去歯を歯軸に対して垂直方向に切断し, 耐水研磨紙 #800 にて研磨を行い, 象牙質平面を作製して用いた。2. 引張り接着強さ試験: 象牙質の接着には各種ボンディングシステム, メガボンド (クラレノリタケデンタル, 以下 MB), フルオロボンド II (松風, 以下 FB), G-Premio BOND (ジーシー, 以下 GB), BOND Force II (トクヤマ, 以下 BF) を用いた。ボンディングシステムは業社の指定どおりを行い, 内径 3.0mm, 深さ 2.0mm のテフロンモールドを固定し, フロアブルコンポジットレジンのビューティフィルフロー F02 (A2, 松風) 填入後, 光照射器 (デントクラフトブルーレックス, YOSHIDA MB) で 20 秒間照射したものを接着測定用試料とした。MB で接着させたものを A 群とし, MB で接着させる前にアクセル (サンメディカル) 処理したものを B 群とした。FB で接着させたものを C 群とし, FB で接着させる前にアクセル処理したものを D 群とした。GB で接着させたものを E 群とし, GB で接着させる前にアクセル処理したものを F 群とした。BF で接着させたものを G 群とし, BF で接着させる前にアクセル処理したものを H 群とした (Table. 1)。各試料を 10 個作製した。接着測定用試料を作成後, 37°C, 湿度 95% に 24 時間保管後, オートグラフ AGS-5 kNX (島津製作所) によりクロスヘッドスピード 0.5 mm/min にて引張り, 接着強さを測定した。得られたデータは, 一元配置分散分析 (ANOVA) と多重比較試験 (Fisher's PLSD) を用いて有意水準 5% で統計学的に分析を行った。

【結果】各群の引張り接着強さ測定値 (mean±SD) は A 群が 15.8±6.3MPa, B 群は 20.9±6.7MPa, C 群は 14.4±6.4MPa, D 群は 24.8±6.7MPa, E 群は 11.5±3.1MPa, F 群は 13.3±2.8MPa, G 群は 15.1±3.9MPa, H 群は 14.1±3.3MPa であった。B 群と E 群, C 群と D 群, D 群と E 群, D 群と F 群, D 群と G 群, D 群と H 群で有意差が認められた (Fig. 1)。

Table1 Condition of tensile bond strength measurement

condition	content
A	MB→BEAUTIFIL Flow
B	Accel→MB→BEAUTIFIL Flow
C	FB→BEAUTIFIL Flow
D	Accel→FB→BEAUTIFIL Flow
E	GB→BEAUTIFIL Flow
F	Accel→GB→BEAUTIFIL Flow
G	BF→BEAUTIFIL Flow
H	Accel→BF→BEAUTIFIL Flow

MB: MEGA BOND
FB: Fluoride BOND II
GB: G-Premio BOND
BF: BOND Force II
Accel: reducing agent

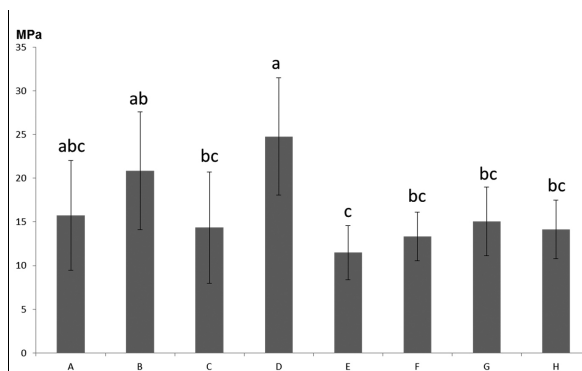


Fig1 Tensile bond strength of the dentin
Difference letters are significantly different (P<0.05)

【考察およびまとめ】各種ボンディングシステムで接着する前にアクセル処理を行うことで, 2 ステップタイプのボンディング材は引張り接着強さの向上が認められた。接着強さが向上したボンディングシステムは, エタノール/芳香族スルフィン酸塩 (アクセル) 処理によりボンディング材の重合硬化が促進されたと考えられた。

各種光源の種類および照射条件がコンポジットレジン修復の接着強さに及ぼす影響

大阪歯科大学 歯科保存学講座
○宮地秀彦 竹内 摂 森川裕仁 津谷佳代 山本一世

The effect of various light irradiators and irradiation time for bond strength of composite restoration

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○Hidehiko MIYAJI, Osamu TAKEUCHI, Yuto MORIKAWA, Kayo TSUTANI, Kazuyo YAMAMOTO

【目 的】

直接コンポジットレジン修復の発展において、光照射器の新規開発・改良は大きな要素の一つである。中でも青色 LED を光源とした光照射器の登場は、照射器本体の小型・軽量化にとどまらず、低消費電力・低発熱・長寿命といった利点も伴うことから、臨床現場での活躍の場が急速に広がりつつある。しかしながら同時に、従来からのハロゲン光源などを応用した光照射器もいまだ現役で数多く用いられている。それに加えて、近年のコンポジットレジンやボンディング材は照射時間の短縮を謳った新製品が近年数多くリリースされている。その結果、それぞれの光照射が有する光出力量や光特性の違いなどにおいて十分な理解が得られぬまま、各種照射器を混同したまま短い照射時間で用いられることが少なくない。その結果、コンポジットレジンの硬度や歯面接着強度が想定通りの数値に達していない臨床例も数多く見受けられる。そこで今回、各種光照射器を用いて幾つかの照射時間を設定した接着試験を一同に行うことで、それぞれの特性・接着強さを検証することとした。

【材料と方法】

ウシ前歯歯冠唇側にモデルトリマーで象牙質を露出させ、耐水ペーパー(#600)で面出しを行った。次いで真鍮製モールド(φ3.0mm、高さ 2.0mm)で被着面および充填部を規定した後、各種光重合型ボンディング材(Megabond(クラレノリタケ)、G-premio bond(ジーシー、以下 G-premio))を用いてメーカー指定の方法で歯面接着処理を行い、次いで処理面に各種光照射器(XL3000(スリーエムヘルスケア)、ARCLight(Air Techniques Inc., USA)、G-Light prima2plus(ジーシー、以下 G-light2p))を用い、それぞれにプリセットされている設定下で 3 秒間、5 秒間または 10 秒間光照射を行った。照射後モールド内に歯冠修復用コンポジットレジン(クリアフィル AP-X(クラレノリタケ))を充填し、各種光照射器を用いて同条件下で光照射を行った。硬化後に試料体を 37℃水中に 24 時間浸漬後、IM-20(インテスコ)を用いて引張試験(CHS:0.3mm/min)を行った。

【結果・考察】

右に実験結果を示す。Megabond において LED 光源照射器を使用した群はいずれも高い接着強さを示し、その照射時間において有意差は認められなかった。このことから LED 照射器の使用は臨床上有用であると考えられる。また G-premio において、Arclight-3s 群は有意に低い値を示した他は有意な差が認められなかった。これは適応症例および照射時間に配慮すれば、同ボンディング材は臨床上十分有用である事を示すと考えられる。

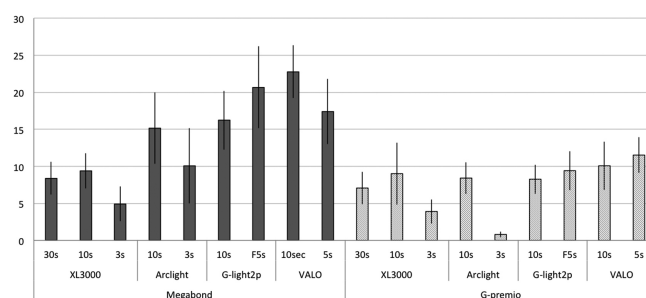


Fig. Results of bond strength (MPa)

【結 論】

各種光照射器を適切な照射時間で用いることによって、各種光重合型ボンディング材は象牙質に対し、臨床上十分な接着強度を発揮できることが示唆された。

サーマルサイクリングがユニバーサルアドヒーズの接着強さに及ぼす影響

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

○島村 穰¹，田村ゆきえ¹，高見澤俊樹^{1,2}，吉田ふみ¹，大内 元¹，
坪田圭司^{1,2}，金澤知恵¹，宮崎真至^{1,2}，松村正鴻³

Influence of Thermal Cycling on Bond Strength of Universal Adhesive

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

Nihon University School of Dentistry, Matsumura Dental Clinic³

○SHIMAMURA Yutaka¹，TAMURA Yukie¹，TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}，YOSHIDA Fumi¹，OUCHI Hajime¹，
TSUBOTA Keishi^{1,2}，KANAZAWA Tomoe¹，MIYAZAKI Masashi^{1,2}，MATSUMURA Seiko¹

【緒言】

近年，エッチ&リンスおよびセルフエッチいずれのモードにおいても使用可能なユニバーサルタイプのアドヒーズが開発，臨床応用されている。また，このアドヒーズは被着体に合わせた前処理を不要とすることで，処理時間の短縮とともにテクニックセンシティブ因子の低減化が可能なところから，補修修復への応用にも期待がもたれている。しかし，このアドヒーズは，臨床応用されて日も浅いため，その接着耐久性の詳細については不明な点が多い。

そこで演者らは，ユニバーサルアドヒーズの歯質接着耐久性に関する研究の一環として，サーマルサイクル（以後 TC）負荷後の接着試験からエナメル質および象牙質への接着耐久性について検討を行った。

【材料および方法】

1. 接着システム

供試したユニバーサルアドヒーズとしては，Scotchbond Universal Adhesive（以後 SU，3M ESPE），G-Premio Bond（以後 GP，ジーシー）および All-Bond Universal（以後 AU，Bisco）の合計 3 製品を，対象として 2 ステップシステムである Clearfil Mega Bond（以後 MB，クラレノリタケデンタル）を用いた。また，レジンペーストとしては，Clearfil AP-X（クラレノリタケデンタル）を用いた。

2. 接着試験

ウシ下顎前歯歯冠部エナメルおよび象牙質面を，SiC ペーパー#600 まで研磨したものを被着面とした。被着面に対して各アドヒーズを製造者指示条件に従って塗布した後，内径 2.38 mm の Ultradent 接着試験用治具を歯質表面に固定し，その高さが 1.5mm 程度になるようにレジンペーストを填塞，照射を行ったものを接着試験用試片とした。これらの試片は 37℃ の精製水中に 24 時間保管したものを Base line とし，この試片に対してサーマルショック試験装置（B type，トーマス科学）を用いて 5～55℃ の水中浸漬を 1 サイクルとする TC を 3,000，10,000，20,000 および 30,000 回負荷した。これらの試片は万能試験機（Type5500R，Instron）を用いてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件でその剪断接着強さを測定した。なお，各条件における試片の数は 10 個とした。得られた平均値および標準偏差から，有意水準 0.05 の条件で統計学検定を行った。

3. アドヒーズ処理面および接合界面の SEM 観察

各アドヒーズ塗布後のエナメルおよび象牙質処理面および接合界面の SEM 観察に関しては，通法に従って試片を製作し，FE-SEM（ERA-8800 FE，Elionix）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】

供試したユニバーサルアドヒーズの接着強さは，用いた被着体によって異なる傾向を示した。すなわち，エナメル質に対する接着強さは，AU ではいずれの TC 条件においてもその接着強さに変化は認められなかった。一方，SU および GP では TC 3,000 回で上昇する傾向を示し，TC 30,000 回において Base line と同程度の接着強さを示した。また，象牙質に対する接着強さは SU および GP においては，TC による影響は少なかったものの，AU においては TC 負荷によって，その接着強さが上昇する傾向が認められた。このことは，用いたアドヒーズの組成あるいは塗布方法の違いが，その接着耐久性に影響を及ぼしたものと考えられた。

【結論】

エナメルおよび象牙質に対するユニバーサルアドヒーズの接着強さは，用いた製品によって異なるものの，いずれの TC 負荷条件においても変化は少なく，良好な接着耐久性を示した。

セラミック補修修復におけるユニバーサルタイプ接着システムの接着強さ

岩手医科大学歯学部 歯科保存学講座 う蝕治療学分野
○岡田伸男, 志賀華絵, 伊藤誠之, 菅 徹也, 八木亮輔, 野田 守

Tensile Bond Strength of Universal Adhesives to Repair Ceramic Restoration
Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry, School of
Dentistry, Iwate Medical University

○Okada Nobuo, Shiga Hanae, Ito Masayuki, Kan tetsuya, Yagi Ryousuke, Noda Mamoru

【目的】

近年, セラミック材料の補修修復に, ユニバーサルタイプ接着システムが使用されている。これらの接着システムは, セラミック, 金属, 歯質など異なる被着面に対し, 簡便な操作で接着が可能で, 良好な臨床成績を収めていると報告されている。しかしながら, システムにより組成が異なっていることから, 接着機構や接着強さに違いが生じることが考えられた。そこで本研究では, セラミック補修修復を想定下で, ユニバーサルタイプ接着システムの接着強さの比較検討を行った。

【材料および方法】

接着システムとして, G-Premiobond:GPB, Scotchbond Universal Adhesive: SU, All-Bond Universal: AU, Universal Primer: UP および Beauti Bond Multi: BM, 対照として従来型接着システムである C&B Repair Kit: RK を用いた。被着体セラミックとして, GN Ceram Block, GC, 修復材料としてフロアブルコンポジットレジン (MI LOW Flow, GC) を使用した。

セラミックブロックを耐水研磨紙#600 で研磨し 10 分間超音波洗浄を行い, 各種接着システムを, 業者指示に従い被着体表面に塗布した。ステンレスモールド (内径 4mm, 高さ 3mm) を置き, フロアブルコンポジットレジンを 1.5mm 厚さで積層充填し, 各層で 20 秒間光照射を行った。試料は, 相対湿度 100% で 24 時間保管し, 万能試験 (INSTRON4202) にて引っ張り接着強さを測定した (cross head speed at 0.5mm/min)。また破断面を実体顕微鏡にて観察を行った。

得られたデータは One-way ANOVA にて統計学的に分析を行った。 ($P < 0.05$, $n=12$)

【結果】

セラミックに対する各種接着システムの引っ張り接着強さを図に示す。

セラミックに対する引っ張り接着強さ (GPB: 18.2 ± 5.6 MPa, SU: 14.9 ± 3.2 MPa, AU: 16.4 ± 3.4 MPa, UP: 15.9 ± 3.3 MPa, BM: 14.9 ± 4.3 MPa および RK: 16.4 ± 3.1 MPa) は, すべてに接着システムにおいて有意差を示さなかった。

接着破壊様式において, GPB, AU, UP および RK は, レジン凝集破壊様式を示し, SU と BM では, 混合破壊様式を示した。

【考察】

Su において混合破壊様式が多いことから各種システムの構成成分の違いあるいは被着体に接着阻害をするような成分が残留している可能性が示唆された。

【結論】

セラミック材料の補修修復において, ユニバーサルタイプ接着システムは, 従来型接着システムと同程度の接着強さを認めた。今後は EPMA などの成分分析を行い, 接着機構の違いについて検討する必要がある。

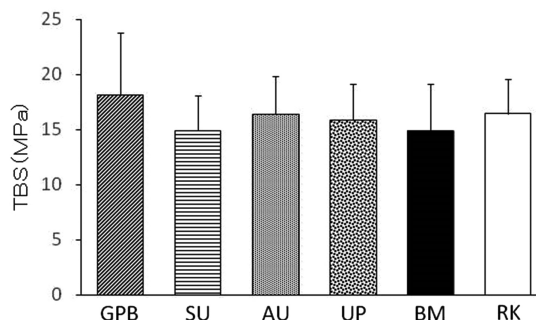


Fig. Tensile Bond Strength of Universal Adhesives to Ceramic Block

Effect of simulated gingiva and pulpal pressure on microleakage of flowable composite restorations

Department of Endodontics and Operative Dentistry, West China School of Stomatology, Sichuan University¹,
Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University²
○Gao Bo¹, Wang Renke¹, Huang Dingming¹, IWATA Naohiro², YOSHIKAWA Kazushi², YAMAMOTO Kazuyo².

Purpose: Marginal microleakage of resin restoration is an unavoidable problem in adhesive dentistry, which can lead to clinical symptoms such as pulp irritation, postoperative sensitivity and border dye of restorations. It has been suggested that hydrostatic pulp pressure can weaken the bond strength between dentin and resin. However, there are few studies concerning the microleakage in the simulated clinical conditions. Via the construction of simulated hydrostatic pulp pressure and simulated gingiva model, the aim of this study is to investigate the effects of simulated pulp fluid and gingival fluid on marginal microleakage of composite restorations in class V cavity.

Materials and methods: V-shaped cavities were fabricated on buccal cervical surfaces of 144 none-carious premolars. They were divided into 3 groups according to different interventions: the control group(C group) with no intervention; The simulated pulpal pressure group(P group) with 15cm H₂O hydrostatic pulpal pressure; The combined group(PG group) with simulated gingiva made from 1% agar gel and 15cm H₂O simulated pulp pressure. Each group was divided into 6 subgroups (n=8) according to the different adhesive systems used, including the self-adhesive flowable composite and self-etching bonding agents. The samples were instantly stored in 37°C water for 24h after restorations were completed, then immersed in silver nitrate solution and cut into two halves. The leakage depth was measured at resin-tooth interface. Two samples were randomly selected from each subgroup for scanning electron microscope observations. Between-group differences were assessed using nonparametric Kruskal-Wallis analysis, a series of Mann-Whitney tests were used for post hoc comparisons.

Results: All samples exhibited good marginal adaptation at resin-enamel interfaces. As for resin-dentin interfaces, the microleakage depths for each adhesive systems in C group were similar with no statistic differences. The microleakage depths in P group were larger than that in C group for all adhesive systems, the total-etch adhesive system exhibited the largest microleakage in P group. All adhesive systems in PG group exhibited severe microleakage. The microleakage depths in PG group were significantly larger than that in C and P groups.

Conclusions: When no hydrostatic pulp pressure and simulated gingiva applied, the new self-adhesive flowable composite exhibit similar marginal microleakage to the conventional adhesive systems. The water contamination induced by simulated gingiva could severely increase microleakage at resin-dentin interfaces for all adhesives used in this study, especially for self-adhesive system. Inspired by the results of this simulation experiment, when clinically restoring the cervical cavities of vital pulp teeth, using self-adhesive composite may lead to better marginal adaptation, but using total-etching bonding agents should be avoided. While dealing with subgingival tooth cavity surfaces, it is better to change the subgingival cavity surface into supragingival surface via proper treatment before resin restoration.

「G-プレミオ ボンド」の水分量及び脱灰力の評価

株式会社 ジーシー
○坂本美由紀, 有田明史, 熊谷知弘

Evaluation of Amount of Water and Demineralizing Ability of “G-Premio BOND”

GC CORPORATION, Tokyo, Japan
○MIYUKI SAKAMOTO, ARITA AKISHI, KUMAGAI TOMOHIRO

【研究目的】

ワンステップ型ボンディング材はセルフエッチングシステムであり、歯質に対する脱灰力が酸性モノマーと含有水分量に依存すると考えられる。弊社から短時間処理を可能とするために脱灰力を強化したボンディング材である「G-プレミオ ボンド」を発売した。本発表では脱灰力とエアー乾燥前後の水分量に着目し、G-プレミオ ボンドと各種ボンディング材とを比較したので報告する。

【材料および方法】

ボンディング材は G-プレミオ ボンド, G-ボンド プラス, 製品 A, B, C, D を用いた。水分量はカールフィッシャー水分計 (MCU-610, KEM) を用い、電量滴定法で測定した。エアー乾燥前の水分量は直接法, エアー乾燥後の水分量はボンディング材を練和紙に塗布後、各社推奨のエアー圧で乾燥させ、その後サンプルを集め水分気化法で測定した。脱灰力の評価は走査型電子顕微鏡 SEM (Miniscope TM3000, HITACHI) を用いて脱灰面観察を行った。サンプルは抜去牛歯を SiC 耐水研磨紙 (#1500) で研磨し、ボンディング材を塗布し、各社推奨の処理時間経過後にエアー乾燥を行い、アセトンでボンディング材を洗浄、5000 倍で SEM 観察を行った。

【結果および考察】

エアー乾燥前後の水分量を Figure 1, エナメル質脱灰面の SEM 観察画像を Figure 2 に示す。エナメル質脱灰面の観察から、脱灰力は研磨痕が見られない G-プレミオ ボンドが最も強く、次いでエナメル小柱が明瞭にみられる G-ボンド プラス, 製品 A の順となり、一部エナメル小柱構造がみられる製品 C, 若干のスメアーの溶解がみられる製品 D, ほぼ脱灰していない製品 B となる。エアー乾燥前の水分量はアセトン溶媒系の製品 A, G-プレミオ ボンド, G-ボンド プラスが 28.3 %, 24.4 %, 19.5 % の順で多く、アルコール溶媒系の製品 B, C, D は 12.2 %, 7.4 %, 3.3 % と低い値を示した。脱灰力は水分量の多いアセトン溶媒系のボンディング材で高い傾向がみられた。つまり、水分量が多いほど酸性モノマー中の酸の解離がよく起こり、歯質脱灰を促進すると考えられる。また、脱灰力は酸性モノマーの種類及び濃度にも依存すると考えられ、G-プレミオ ボンドは多量の水分と酸性モノマー MDP と 4-MET が効果的に歯質を脱灰すると示唆される。また、エアー乾燥後の水分量は全て約 3 % でありボンディング材による差はほとんどなかった。G-プレミオ ボンドの場合、アセトンによる水分の揮発、親水性モノマー HEMA を用いていないこと、乾圧での乾燥という条件によりアルコール溶媒系のボンディング材と同等の水分量まで乾燥できると考えられる。

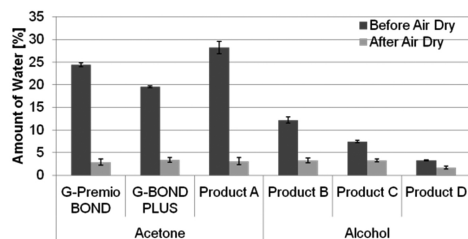


Figure 1. Amount of Water

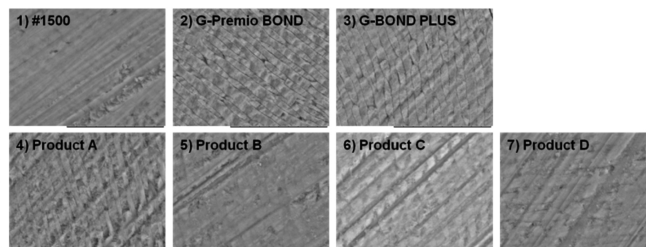


Figure 2. SEM images of Demineralized Enamel surface

【結論】

ワンステップ型ボンディング材において含有水分量が多いと脱灰力が強くなる傾向がある。また、エアー乾燥前の水分量に関わらず乾燥後の水分量は約 3 % となっており、G-プレミオ ボンドは多い水分量により充分な脱灰力を示し、乾燥を行うことで水分が十分除去されることがわかった。

フッ素配合歯磨粉でのブラッシングによる 新規コンポジットレジン「アイゴス」のフッ素リチャージ能の評価

山本貴金属地金株式会社¹, 高知大学医学部歯科口腔外科学講座²

○水田悠介¹, 松浦理太郎¹, 坂本猛¹, 加藤喬大¹, 山本哲也²

Fluoride recharge characteristic of new composite resin “iGOS” brushed with dental paste containing fluoride

Yamamoto Precious Metal Co., Ltd.,¹

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kochi Medical School, Kochi University²

○Yusuke Mizuta¹, Ritaro Matsuura¹, Takeshi Sakamoto¹, Takahiro Kato¹, Tetsuya Yamamoto²

【目的】 フッ化物イオンを徐放する歯科材料は、2次う蝕の予防や歯の再石灰化促進など様々な効果が期待されている。本研究では、新開発のコンポジットレジン「アイゴス」および市販のコンポジットレジンのフッ素リチャージ能と歯原性菌 *Streptococcus mutans* に対する被付着性を、フッ素配合歯磨粉を用いて評価した。

【材料および方法】 「アイゴス ユニバーサル」(山本貴金属地金, 以下ヤマキン: フッ素徐放性有), 市販3製品 (A および B: フッ素徐放性有, C: フッ素徐放性無) および歯冠用硬質レジン「ルナウィング」(ヤマキン: フッ素徐放性無) を直径 12 mm, 厚み 1.0 mm の金型に充填し, 歯科技工用重合装置 (LED CURE Master, ヤマキン) を用いて硬化後, 耐水研磨紙 (P2000) で表面を研磨し試験片とした。試験片表面の算術平均粗さ (RS_a) は, 共焦点レーザースキャン顕微鏡 (LSM 700, カールツァイス) で測定した。

①フッ素リチャージ試験: フッ化物イオン徐放後の試験片のリチャージは, ISO14569-1 を参考に簡易歯ブラシ摩耗試験機を用いて行った。試験片をフッ素配合歯磨粉懸濁液中に固定し, 加重 2.0 N, 滑走速度 850 mm/s で歯ブラシを 500 回滑走させた。ブラッシング後の試験片は流水で十分洗浄し, 15 mL の蒸留水に浸漬した。浸漬してから 24 h 後に試験片を取り出し, 流水で十分洗浄を行い再度 15 mL の蒸留水に 24 h 浸漬した。以上の操作を計 4 回行った。試験片を取り出した後の浸漬水のフッ化物イオン濃度は, イオンメーター (F-55, 堀場製作所) で測定した。

②*Streptococcus mutans* 付着試験: *Streptococcus mutans* を BHI 液体培地で前培養し, 600 nm における吸光度が約 0.02 となるよう希釈した菌液と 2% スクロース含有 BHI 溶液を等量混合した懸濁液を播種菌液とした。24 穴培養プレートにウエルに試料を設置し, 播種菌液を 1 mL 添加後, 37°C の恒温器で 24 h 好気培養した。PBS(-) で洗浄後, 試験片をクリーンなウエルに移し, Microbial Viability Assay Kit-WST (同仁化学) の試験薬を添加後 2 h 呈色させ, 反応液の 450 nm における吸光度をマイクロプレートリーダー (サンライズ, テカン) で測定した。なお試験片は, 耐水研磨紙 (P2000) で表面研磨後のものと 5 回目のブラッシング後の蒸留水に浸漬する前のものを用いた。また, 吸光度はルナウィングの表面研磨後の値を 100 として相対値で算出した。

【結果および考察】 フッ素配合歯磨粉懸濁液中でブラッシングすることで, フッ素徐放性のあるアイゴス, 市販品 A および B にフッ素リチャージ能が認められた。これらのフッ化物イオンの徐放量は, リチャージの回数を重ねるほど低下する傾向が見られたが, アイゴスでは 3, 4 回目のリチャージ後のフッ化物イオン徐放量がほぼ一定となっており, 安定したリチャージ能を有していることが示唆された (Fig. 1)。ブラッシング前後の RS_a はいずれの試験片もブラック付着が急増する 0.2 μm よりも小さく, 表面粗さの違いによる *Streptococcus mutans* 付着量の差異は少ないといえる。しかし, ブラッシング前後の *Streptococcus mutans* 付着試験では (Fig. 2), フッ化物イオンの徐放量が比較的多いアイゴスおよび市販品 A は, う蝕原性菌の付着量が少ないことが明らかになった。

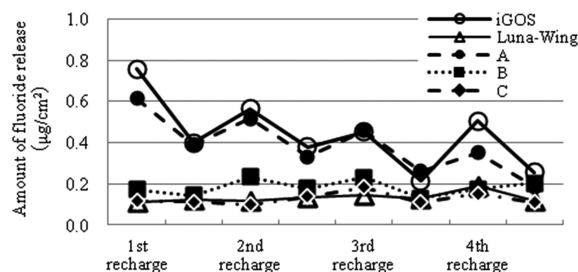


Fig.1 Amount of fluoride release of composite resins brushed with dental paste containing fluoride

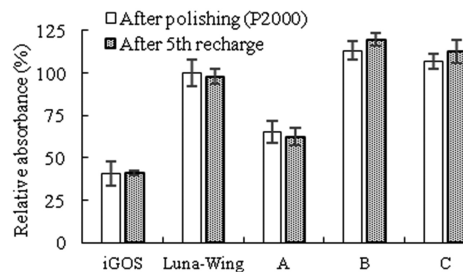


Fig.2 Adhesion of *Streptococcus mutans* on composite resins

新規コンポジットレジン¹の機械的諸性質

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部門²，
土屋歯科クリニック³，福本歯科医院⁴

○遠藤 肇¹，高見澤俊樹^{1,2}，古宅真由美¹，寺井里沙¹，
佐藤愛子¹，土屋賢司³，升谷滋行^{1,2}，宮崎真至^{1,2}，福本敬一⁴

Mechanical Properties of Newly Developed Resin Composites

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

Nihon University School of Dentistry，Tsuchiya Dental Clinic³，Fukumoto Dental Clinic⁴

○ENDO Hajime¹，TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}，KOTAKU Mayumi¹，TERAI Risa¹，SATO Aiko¹，
TSUCHIYA Kenji³，MASUTANI Shigeyuki^{1,2}，MIYAZAKI Masashi^{1,2}，FUKUMOTO Keiichi⁴

【緒言】

光重合型コンポジットレジン¹は、これまでフィラーあるいはマトリックスレジン²の改良によって審美性ととも
に機械的性質の向上が図られてきた。また、操作性の向上を目的としてレジンペーストの流れを特徴とし
たフロアブルレジン³あるいは硬化深度を向上させることを目的としたバルクフィルなどのコンポジットレジン⁴も
広く臨床応用されている。これらのコンポジットレジン⁵は、それぞれの目的に適した臨床応用がなされてい
ると考えられるものの、機械的性質あるいは重合時の収縮などについての情報が必要である。そこで演者らは、最
近市販されたコンポジットレジン⁶の機械的諸性能を知るために、無機フィラー含有量、曲げ強さおよび曲げ弾
性率、体積重合収縮率の測定を行うとともに考察資料として硬化物のフィラー形状の走査電子顕微鏡（SEM）
観察を行った。

【材料および方法】

供試したコンポジットレジン⁷は、Herculite Ultra Flow（HF，Kerr），Herculite Ultra（HU，Kerr），
BEAUTIFIL Bulk Flow（BB，松風），BEAUTIFIL NEXT（BN，松風）の4製品とした。

1) 無機フィラー含有量（wt%）

レジンペーストの約 50 mgf を、熱重量測定装置（TG/DTA6300，セイコーインスツルメント）の試料皿に移送し、
25～800℃まで昇温速度 10 Cel/min の条件で加熱し、その残存重量を求めた。無機フィラー含有量は、加熱
前の重量と加熱後の残存量とから減量（wt%）を求め、100－減量（wt%）として算出した。なお、試片の
数は各製品についてそれぞれ 3 個とした。

2) 曲げ試験

ISO 4049 の基準に従って 2×2×25 mm の棒状試片を製作した後、24 時間水中に保管したものを曲げ試験測定
用試片とした。曲げ試片に対して支点間距離 20.0 mm，クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で、万能
試験機（Type 5500R，Instron）を用いて 3 点曲げ強さを測定し、曲げ強さおよび応力－歪曲線の傾きから曲
げ弾性率を求めた。なお、試片の数はそれぞれ 6 個とした。

3) 体積重合収縮率（vol%）

体積重合収縮率の測定は、精製水を満たしたディラトメーター内にレジンペーストを設置し、照射に伴って生
じる体積変化を照射開始から 180 秒後までガラス管内の精製水を目盛り移動量（mm）から体積収縮率（vol%）
ととして算出した。なお、測定は各製品について 3 回行った。

4) 走査型電子顕微鏡（SEM）観察

コンポジットレジン⁸のフィラー性状を観察するため、通法に従いイオンコーター（Quick Coater Type SC-705，サン
ヨー電子）で金蒸着を施し、FE-SEM（ERA-8800 FE，Elionix）を用いて加速電圧 10kV で観察した。

【成績および考察】

供試したコンポジットレジン⁹の曲げ強さは、115.2～148.1 MPa の、曲げ弾性率は 6.0～11.0 GPa であり、ユニバ
ーサルタイプのコンポジットレジン¹⁰は、フロアブルおよびバルクフィルタイプに比べて高い値を示した。一
方、体積重合収縮率は、ユニバーサルタイプのコンポジットレジン¹¹で小さくなる傾向を示した。SEM 観察の結
果からは、供試したコンポジットレジン¹²のフィラー性状は、用いた製品によって異なるものであった。

【結論】

供試したコンポジットレジン¹³の機械的性質は、用いた製品によって異なるものであった。したがって、コン
ポジットレジン¹⁴の臨床使用時には、それぞれの機械的性質を把握したうえで、特徴を生かした使い分けが
必要である。

新規コンポジットレジン「アイゴス」の生物学的特性

1 山本貴金属地金株式会社, 2 高知大学医学部歯科口腔外科学講座
○松浦理太郎¹, 水田悠介¹, 坂本猛¹, 加藤喬大¹, 山本哲也²

Biological evaluation of new composite resin “iGOS”.

1 Yamamoto Precious Metal Co., Ltd.,

2 Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kochi Medical School, Kochi University

○Ritaro Matsuura¹, Yusuke Mizuta¹, Takeshi Sakamoto¹, Takahiro Kato¹, Tetsuya Yamamoto².

【目的】補綴物より徐放されるフッ化物イオンは、二次う蝕の予防や歯の再石灰化促進など様々な効果が期待されている。本研究では、新しく開発したフッ素徐放性フィラー含有コンポジットレジン「アイゴス」(山本貴金属地金株式会社)、および市販のコンポジットレジンのう蝕原性菌 *Streptococcus mutans* に対する抗菌性と、ヒト急性単球性白血病由来細胞株 THP.1 細胞に対する細胞毒性を評価した。

【材料および方法】アイゴスおよび2種の市販のコンポジットレジン(A, B)を硬化後、耐水研磨紙(P2000)で研磨したものを試料とした。抗菌性は試験片に対する *Streptococcus mutans* の付着性を、細胞毒性は試料で培養した THP.1 細胞の生存率を測定することにより評価した。

1) *Streptococcus mutans* 付着試験: *Streptococcus mutans* を BHI 液体培地で前培養し、600 nm における吸光度が約 0.02 となるよう希釈した菌液と、2%スクロース含有 BHI 溶液を等量混合した懸濁液を播種菌液とした。24 穴培養プレートのウェルに $\phi 12 \times 1$ mm の試料を設置し、播種菌液を 1 mL 添加後、37°C の恒温器で 24 時間好気培養した。PBS(-)で洗浄後、試験片をクリーンなウェルに移し、Microbial Viability Assay Kit-WST (同仁化学) の試験薬を添加後 2 時間呈色させ、反応液の 450 nm における吸光度を測定した。

2) THP.1 細胞生存率試験: THP.1 細胞を RPMI1640 培地にて 10.0×10^4 cells/mL に希釈した細胞懸濁液を調製した。24 穴培養プレートのウェルに $\phi 15 \times 1$ mm の試料を設置し、細胞懸濁液を 1 mL 添加後、炭酸ガスインキュベーター (5% CO₂, 37°C) にて 72 時間培養した。培養後、細胞懸濁液を等量のトリパンブルー液と混合し、血球計算盤にて染色されていない細胞(生細胞)と染色された細胞(死細胞)を個別にカウントした。総細胞(生細胞と死細胞の合計数)に占める生細胞の割合を細胞生存率とした。

【結果および考察】フッ素徐放性フィラーを含有するアイゴスおよび市販品 A は、市販品 B に対して低い吸光度を示し、*Streptococcus mutans* 付着抑制が認められた (Fig.1)。細胞生存率試験において、アイゴスはフッ素徐放性フィラーを含有していない市販品 B と同等の結果を示し、THP.1 細胞の細胞生存率に影響を及ぼさないものと考えられた (Fig.2)。この結果より、フッ化物イオンは抗菌性には影響するが、細胞毒性には別の因子が関与することが示唆された。現在、各試料からのフッ化物イオンの徐放量を分析し、抗菌性あるいは細胞毒性との関連性について検証している。

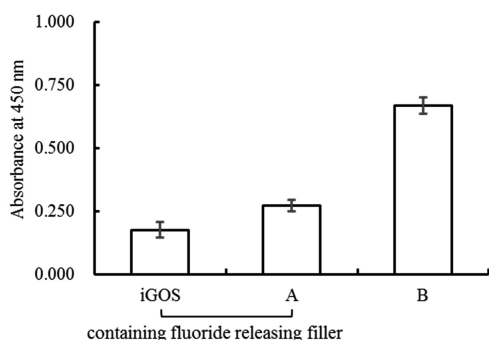


Fig.1 Adhesion of *Streptococcus mutans* on composite resins

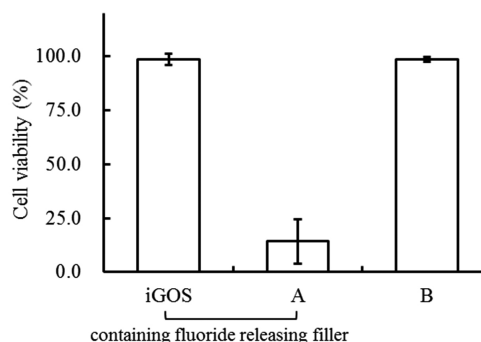


Fig.2 Viability of THP.1 cells on composite resins

新規ボンディング材「iGOS-BOND」の接着性評価

山本貴金属地金株式会社
○坂本 猛, 大川内 一成, 安楽 照男

Evaluation of newly developed dental bonding agent “iGOS-BOND” about adhesive property.

Yamamoto Precious Metal Co., Ltd.
○SAKAMOTO Takeshi, OHKAWAUCHI Kazunari, ANRAKU Teruo

【目的】

近年, MI 治療のコンセプトや操作の簡略化の観点から, 1 ステップ 1 液タイプの歯科用ボンディング材が一般的になっている. この種のボンディング材には, 重合性を持ちながら, 歯質の脱灰と, カルシウムイオンとの化学的相互作用を期待してリン酸基を持つモノマーを用いる. このような接着性モノマーとしては, 水に対して不溶性の 10-methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate (MDP) が代表的である. 1つの仮定として, 高い接着力を得るには, 脱灰能力や化学的相互作用だけでなく接着組成が高い均一性を保つこと重要な条件の1つと考えられる. 新規なリン酸モノマーを使用して開発したボンディング材, 「iGOS-BOND (以下 iGB: 山本貴金属地金, 以下ヤマキン)」を用いてコンポジットレジン「iGOS (ヤマキン)」を歯質に接着し, 接着性の評価を行なった.

【材料および方法】

接着対象にはウシ下顎前歯を使用し, 研磨して平滑な被接着面を得た後に内径 $\Phi 25$ mm, 高さ 20 mm のリングにモデリングコンパウンド (ジーシー) で埋没して上面に被接着面がある円柱状の試験体を作製した. 耐水研磨紙 (P600) で研磨, 水洗後にブロワーで乾燥し, $\Phi 3$ mm の穴を開けた耐水テープでマスキングした. ここに iGB を塗布後, ブロワーで乾燥し, 光照射器 (ペンキュアー2000: モリタ) で 10 秒間光硬化した. マスキング部に合わせてゴム製 O リングを設置し, O リング内に iGOS (Universal A3) 充填後, 上から 1 kN の荷重をかけながら十分に光硬化した. 硬化面上にレジンセメント (パナビア F2. 0: クラレノリタケ) を適用し, $\Phi 5$ のステンレス棒を固定した. 試験体は 37°C の水中で一日保存し, 万能試験機 (EZ-GGRAPH: 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード 1 mm/min で引張試験を行ない, エナメル質, 象牙質それぞれへの接着強さを評価した. また, 小型電子顕微鏡 (TM3030: 日立製作所) でエナメル質, 象牙質それぞれのボンダー歯質間の接着界面の観察を行なった.

【結果】

iGB は $\Phi 3$ mm の接着面において, エナメル質に対して 11.11 MPa, 象牙質に対して 9.59 MPa の接着強さを示した. 小型電子顕微鏡によりエナメル質と象牙質の接着界面を観察したところ, コントラクションギャップはみられなかった.

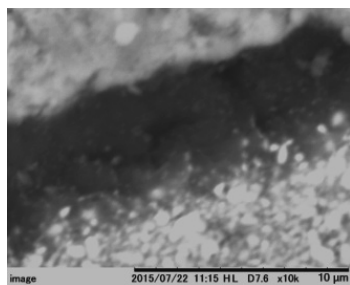


Fig. 1 Interface between enamel and a layer of iGB

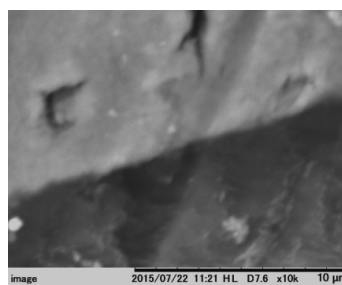


Fig. 2 Interface between dentin and a layer of iGB

【考察】

iGB は製品としては新規なリン酸モノマーを採用したが, エナメル質と象牙質に対して良好に接着する. このリン酸モノマーを用いることによって, 脱灰作用だけでなく, ボンディング材組成に高い均一性を付与することができた. さらに, この高い組成の均一性により, ボンディング材が再現良く高い接着性を獲得できたと考えられる.

電動歯ブラシがコンポジットレジン修復の表面性状に与える影響の分析

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 う蝕制御治療学分野
○油井知雄, 泉川昌宣, 松田康裕, 伊藤修一, 斎藤 隆史

Analysis of the effects of electric toothbrush has on surface property of the composite resin restoration

Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Ishikari-Tobetsu, Hokkaido, Japan
○Yui Tomoo, Izumikawa Masanobu, Matuda Yasuhiro, Ito Shuichi, Saito Takashi

研究目的

ブラーク除去の主体は手用歯ブラシであったが、近年では様々な電動歯ブラシが開発され、簡易的かつ効果的にブラークが除去できることから広く利用されている。電動歯ブラシの清掃効果に影響を与える因子としては運動方式、振動数、振動振幅の違いなどが挙げられる。現在、電動歯ブラシの主流は音波領域の振動数を応用した音波歯ブラシや超音波振動を機械的振動と併用し、清掃効率の向上を図る超音波歯ブラシなどが利用されている。そこで本研究では日常臨床の修復処置において使用頻度の高いコンポジットレジン修復に対して振動数が違う電動歯ブラシが表面性状に与える影響や外来性色素沈着の影響について調査した。

材料および方法

コンポジットレジン試料（以下レジン試料）は直径 13 mm, 厚さ 3 mm の丸板の光重合型ガラスアイオノマー系コンポジットレジン（松風:ビューティフルフロー）を耐水研磨紙 #400、#600、#1200、#2000 の順に研磨した。対象の電動歯ブラシは音波式電動歯ブラシのダイヤモンドクリーン（フィリップス社製、以下歯ブラシ A）と超音波式電動歯ブラシのスマイルエックス（伊藤超短波株式会社、以下歯ブラシ B）を比較した。ブラッシング時間は 1 歯にあたり 30 秒間歯ブラシが当たると仮定し、4 週間に相当する 42 分間を評価した。ブラッシング圧は電動秤上で測定し、100g の圧力を保ちながら研磨剤、発泡剤が無配合のコンクールジェルコート F (weltec) を塗布して行った。両者の電動歯ブラシでブラッシング後のレジン試料は以下の通り検討した。①走査形電子顕微鏡(SEM)にてレジン表面のフィラーとマトリックスレジンの状態を観察、撮影した。②走査型プローブ顕微鏡 (SPM)でレジン試料を任意に 3 点測定し、その平均値を摩耗後の表面粗さ (Ra) とした。③ブラッシング後のレジン試料を赤ワインに 37°C, 3 日間浸漬し、着色の程度を分光色彩・色差計 (NF333 日本電色工業) を用いて各試料を 5 回測定した (n=3)。なおブラッシング後の飲食物浸漬による明度 (L*), 色度 (a*, b*) の変化を測色し、色差 (ΔE) を求めた。

結果

SEM の結果から歯ブラシ A ではフィラーの露出や脱落が認められ、粗造感を呈していた画像が得られた。一方、歯ブラシ B ではブラッシング前後による目立った凹凸の像は認めなかった。SPM の結果からは歯ブラシ A の Ra 値は 177nm であったが、歯ブラシ B では 140nm となり、歯ブラシ A と比較して表面荒さは低かった。また飲食物浸漬後の ΔE の結果からは歯ブラシ A は 2.8 であったが、歯ブラシ B では 2.1 を示したことから外来性色素沈着の影響は少ないことが判明した。

考察

本研究の結果から歯ブラシ A ではブラッシングに伴いコンポジットレジンのマトリックスレジンの研削とフィラーの脱離や露出などにより表面性状が粗造になり、外来性色素沈着が強くなったと考えられた。一方、歯ブラシ B ではブラッシングに伴うコンポジットレジン修復の表面性状の与える影響は少なく、経年的劣化を抑制できる可能性が示唆された。

新規光重合型支台築造レジンの各種性能

サンメディカル研究開発部

○八尾勉、土川益司、今井啓文

Properties of Light Cure Type of Composite Resins for Foundation Restoration

Sun Medical Co., Ltd. Research and development department

○Yao Tsutomu, Tsuchikawa Masuji, Imai Hirofumi

[緒言]

近年、鑄造支台築造体による歯根破折の問題やメタルフリーへの移行が進んでいることもあり、レジン支台築造の関心が高まっている。さらに、2014年に保険診療報酬の改定では、残存歯質量によってはスクリーポストを使用しなくても保険点数が算出できるようになり、レジン支台築造の需要は今まで以上に増加することが予想される。そのような状況の中、サンメディカルでは硬化性、重合時の収縮性に優れたフロアブルタイプの光重合型支台築造用レジン PFC-163 (以後、PFC) を開発した。本発表では、PFC の各種性能に関して、従来製品と比較し評価することを目的とした。

[材料及び方法]

Table1.the used materials

Material	Type	Filler content (wt%)	Manufacture	Code
PFC-163	Flowable	70	Sun Medical	PFC
Metafil Flo	Flowable	66	Sun Medical	MF
i-TFC Core Resin	Paste	86	Sun Medical	iC

1.重合収縮率の測定

直径 15mm、高さ 3mm のテフロン型に各レジンを充填し、光照射器にて十分に重合させた。重合前のペーストおよび重合させた試験片の密度を乾式密度計(アキュビック II 1340、島津製)で測定し、その密度差から重合収縮率を算出した。重合収縮率の計算式は「重合収縮率 = (重合後密度 - 重合前密度) / 重合後密度 × 100」で行った。

2.コントラクションギャップの測定(ギャップ幅)

内径 6mm × 高さ 5mm のセラミックスチューブに各レジンを充填し、光照射器にて十分に重合させた。上部厚み 2mm を切断し、耐水ペーパー #2000 にて研磨を行い、その後、超音波洗浄 30min 行った。洗浄後、マイクロスコープ(VX-900,キーエンス)にて切断面を観察し、チューブとレジンのコントラクションギャップ(ギャップ幅)を測定した。

3.曲げ強さおよび弾性係数

金型に各レジンを充填し、光照射器にて十分に重合させて作製した 2×2×25mm の試験片を 37℃水中に 24 時間浸漬後、オートグラフ (AG-IS 1kN, 島津製作所) にて支点間距離 20mm、試験速度 1mm/min で測定した。(n = 5)

4.硬化深さの測定

直径 4mm、深さ 15mm の穴を持つ金型に各レジンを充填し、20 秒間光照射した。重合後、硬化体を取り出し、未硬化部分を除去し、硬化深さを測定した。(n = 3)

[結果]

Table2. the physical properties of various resin

Material	Polymerization shrinkage (vol%)	Contraction gap (μm)	Curing depth (mm)	Flexural strength (MPa)	Elastic modulus (GPa)
PFC	3.2	22.8	6.3(0.1)	135.9(8.6)	8.0(0.2)
MF	4.9	44.2	2.3(0.1)	130.3(3.1)	6.7(0.2)
iC	2.1	23.4	3.8(0.1)	137.3(4.4)	15.3(1.2)

1)重合収縮率：PFC は iC より高いが MF より低い値を示した。

2)ギャップ幅：PFC は iC と同等の値を示し、MF より低い値を示した。

3)硬化深さ：PFC は MF、iC と比較して有意に高い値を示した。

4)曲げ強さ：すべて有意差が確認されなかった。

5)弾性係数：PFC は iC と MF の間の値を示した。

本結果より PFC は、高い硬化性と低い重合収縮性を確認することができた。

[結論]

PFC は従来品と同等の強度に加え、高い硬化性と低い重合収縮性を示し、残存歯質量の多い髄腔保持形態などの支台築造に有用な材料であることが示唆された。

酸性、アルコール性ドリンクへの浸漬が各種ペーストタイプコンポジットレジン表面の微細構造に及ぼす影響

新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座う蝕学分野¹, 山本歯科医院²,
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髓生物学分野³

○韓 臨麟¹, 山本信一^{1,2}, 興地隆史³

Effect of Acidic and Alcoholic Drinks on the Surface Ultrastructure of Composite Resins

Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan¹, Yamamoto Dental Clinic², Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), Tokyo, Japan³,

○HAN Linlin¹, YAMAMOTO Shinichi^{1,2}, OKIJI Takashi³

緒言

複雑な口腔内環境では、歯の硬組織だけではなく、コンポジットレジン修復物にも影響を及ぼすことが知られている。とくにココア (pH2.2)、ジュース (pH3.5) などの酸性飲料水、あるいは有機物を劣化させるアルコール類などの嗜好により、修復物表面劣化の進行が生じることが懸念される。¹⁾ また、Professional Mechanical Tooth Cleaning (PMTc) などによっても修復物表面構造の粗造化が生じうる。

本研究では、新規ペーストタイプ充填用コンポジットレジンの理化学的性質を検討するために酸性あるいはアルコール含有ドリンクに浸漬した後の表面微細構造的変化を観察した。比較検討するには使用頻度の高い従来型充填用ペーストタイプコンポジットレジンの2種を用いた。

材料および方法

ナノフィラーが高密度に配合されている新規 MI グレースフィル (GC) を用いた。また、対照として、表面処理が施されたガラス粉末や有機フィラー配合のクリアフィル®マジスティ ES-2 (クラレノリタケデンタル) およびシリカ系マイクロフィラー配合のクリアフィル® AP-X (クラレノリタケデンタル) の3種を用いた。ココアと 100 % のオレンジジュースを酸性飲料水として用いた。また、アルコール飲料として純米酒 (アルコール 15%) を用いた。

直径 25mm のアクリル試料台に直径 10 × 3 mm のくぼみを形成し、それぞれ、実験材料を填入し、光重合させた後、自動研磨機にダイヤモンド研磨盤を取り付け 1200 番まで研磨を行い、対照用研磨面試片とした。これらの試片をオレンジジュース、ココアおよび純米酒を 20 ml の入れたポリ容器に 8 時間浸漬し、浸漬試片 (各 n = 3) とした。また、対照用研磨面試片は、蒸留水中に同様な時間で保管した。また、上記の方法で研磨面作成後、低速ハンドピースに装着したマイクロブラシにメルサージュをつけ、50g 程度の荷重を加えながら 300 rpm の速度で 30 秒間試片の研磨を行い、PMTc 試片 (各 n = 3) とした。これら試片は、蒸留水中で 2 分間超音波洗浄後、金の薄膜蒸着を施したのち、走査電子顕微鏡 (S2300, 日立) による表面微細構造観察を行った。

結果

MI グレースフィルは、研磨面試片では細かいフィラーによるなめらかな表面形状を示しており、PMTc 後ではマトリックスレジンの摩耗やフィラーの脱離が僅かに見られたが、酸性あるいはアルコールドリンク浸漬後では、フィラーの脱離は明瞭には観察されなかった。一方、クリアフィル® AP-X では、PMTc あるいは3種のドリンク浸漬後にフィラーの脱離やマトリックスレジンの摩耗が観察された。また、クリアフィル®マジスティ ES2 では、PMTc 後にフィラーの脱離が観察されるとともに、ココア浸漬後も細かいフィラーの脱離が見られた。

考察

高い物性を求めるために、充填用コンポジットレジンに多くのフィラー (8 割前後) が添加されている。従って、マトリックスレジンにおけるフィラーとの接着状態、フィラーの充填率および均等配合などがコンポジットレジンの理化学的性質への影響が大きい。中にはフィラーのシラン処理が最も重要な因子である。即ち、徹底的なフィラーのシラン処理によって、フィラーとマトリックスレジンの接着は強固になり、酸性あるいはアルコール性物質などの外部要因によっても簡単に脱落を生じないと考えられる。MI グレースフィルは、ナノフィラーが高密度 (82%wt) にベースレジンに配合されたことや、フィラーのシラン処理あるいはフィラーの均一配合などの諸要素によって研磨後における表面光沢の獲得や酸性やアルコール性飲料に対しても耐性が示され、表面構造の安定性に寄与すると思われる。

結論: フィラーのシラン処理、充填率あるいは均等配合等がレジンの表面微細構造の変化に影響を与える。

参考文献: 1, 韓 臨麟, 福島正義, 興地隆史: 新規フロアブルレジンの表面性状観察 —各種ドリンク浸漬後の変化—; 日歯保存誌 52: 184-189, 2009.

紅茶液に浸漬したフロアブルとペーストタイプの コンポジットレジンの変色について(第1報)

鶴見大学歯学部保存修復学講座

○堀 彩香, 小川由佳, 臼井エミ, 林 応璣, 田崎達也, 大森かをる, 桃井保子

Discoloration of flowable- and paste-type resin composites immersed in tea solution (Part 1)

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

○HORI Ayaka, OGAWA Yuka, USUI Emi, HAYASHI Oki, TASAKI Tatsuya, OHMORI Kaoru, MOMOI Yasuko

目的: フロアブルコンポジットレジンをペーストタイプと比較した場合に懸念される物性の1つに、色調安定性がある。私たちは、両タイプの色調安定性を光照射前後の色調変化の点から検討し、本学会で報告した¹⁾。今回は、外来色素による変色の程度が両タイプでどのように異なるかを、3社の代表的なフロアブルとペーストタイプコンポジットレジンを紅茶液に浸漬することで比較検討した。ここでは、7日後までの初期の色調変化を報告する。

材料および方法: アルミ製モールド

(高さ3 mm, 内径7 mm) 内に, Table 1

に示すコンポジットレジン (シェード

A3) を填塞し, 1方向から20秒間光照射し (OPTILUX 501, Kerr) ディスク

状試片を得た。照射側のレジン表面を,

同一術者が流水下で耐水研磨紙#1200

を用い15秒間研磨した。その後, 試片を紅茶液に浸漬し37℃で保管した。紅茶液は, ティーバッグ (コープ, 2 g) 3袋

を250 mLの熱湯で5分間抽出した後, 15分間室温で放冷し作製した。測色は, 紅茶液浸漬前, 浸漬後1, 3, 5, 7

日後に, 分光式色差計 (SE2000, 日本電色) を用い白, 黒, グレー背景で行った。なお, 試片は測色直前に超音波で15

秒間洗浄した。色差 (ΔE) は, 各試片の表面中央部の $L^*a^*b^*$ 値から算出した。結果は, 分散分析と Tukey の多重比較

で統計処理した ($\alpha=5\%$, $n=5$)。多重比較は, 同一メーカーのフロアブルとペーストタイプの比較と, 各コンポジット

レジンにおける経時的変化の比較に用いた。

結果および考察: 各レジンの色差の結果を Table 2

に示す。MA・ma の比較では, 全浸漬期間において

有意差を認めなかった。MI・mi の比較では, 5日後

にフロアブルの方が色差が大きく, SU・su の比較

では, 全浸漬期間においてペーストの色差がフロ

アブルタイプより有意に大きかった。浸漬期間に

よる比較で, MA, ma, および MI では, 1日後と

5日後の間に有意差が認められ, mi と SU では有

意差を認めなかった。また, su では, 1日後と比べ

5日後と7日後の色差が有意に大きい値を示した。

色差は, 全ての試片で浸漬5日を過ぎると変化が

小さくなる傾向にあった。変色の程度はフィラー

含有量の差と必ずしも一致せず, フィラーとマトリックスの界面, ベースモノマーの成分, 触媒などの因子が変色に

関与する事が示唆された。視認できる色の差は色差値3.3以上との報告²⁾から, 今回の加速変色試験の評価では, 試験

に供したコンポジットレジンの初期の色調安定性は良好といえる。今後, 長期的な評価を検討する予定である。

結論: フロアブルレジンの紅茶液浸漬による初期の色調変化は, ペーストタイプと同等かそれ以下であった。

参考文献: 1) 林応璣ら, フロアブルタイプとペーストタイプコンポジットレジンの光照射前後の色調変化-第138回日

本歯科保存学会 p165, 2) Ruyter IE *et al.*, Color stability of dental composite resin materials for crown and bridge

veneers. Dent. Mater. 3: 246~251, 1987.

Table 1 Resin composites tested in this study

	Composite	Code	Filler content (wt%)	Manufacturer
Flowable	CLEAFIL MAJESTY ES Flow	MA	75	Kuraray Noritake Dental
	GC MIFIL	MI	69	GC
	FILTEK Supreme Ultra	SU	65	3M ESPE
Paste	CLEAFIL MAJESTY ES-2	ma	78	Kuraray Noritake Dental
	MI GRACEFIL	mi	82	GC
	FILTEK Supreme Ultra	su	78	3M ESPE

Table 2 Color difference (ΔE) of flowable- and paste-type resin composites immersed in tea solution. Mean (s.d.), $n=5$

	1-day	3-day	5-day	7-day
MA	0.6 (0.3) [#]	0.8 (0.2)	1.3 (0.4) [#]	1.0 (0.4)
ma	1.0 (0.2) [#]	1.2 (0.3)	1.6 (0.3) [#]	1.3 (0.2)
MI	1.7 (0.4) [#]	2.4 (0.6)	3.3 (0.7) [#]	2.5 (0.7)
mi	1.2 (0.6)	1.5 (0.6)	2.0 (0.6)	1.9 (0.6)
SU	1.0 (0.3)	1.2 (0.2)	1.5 (0.4)	1.5 (0.4)
su	2.0 (0.3) ^{#○}	2.7 (0.3)	3.1 (0.4) [#]	3.4 (0.9) [○]

Vertical lines exhibit statistical differences between flowable and paste resin composites. Mean having same symbols indicate statistical differences among each immersion period within each resin composite.

紅茶への浸漬とブラッシングが二ケイ酸リチウムガラスセラミックスの色調変化に及ぼす影響

¹日本歯科大学新潟短期大学 ²日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第2講座

³日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座 ⁴デンタルプロ株式会社

○佐藤治美¹ 鈴木雅也² 加藤千景² 菊地ひとみ¹ 宮崎晶子¹ 土田智子¹ 筒井紀子¹

元井志保¹ 煤賀美緒¹ 両角祐子³ 佐野 晃⁴ 新海航一²

Effects of short-term immersion in tea and toothbrushing on color changes of lithium disilicate glass-ceramics

¹The Nippon Dental University College at Niigata

²Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

³Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata

⁴DENTALPRO. CO., Ltd.

○Harumi Sato¹, Masaya Suzuki², Chikage Kato², Hitomi Kikuchi¹, Akiko Miyazaki¹, Satoko Tsuchida¹,
Noriko Tsutsui¹, Shiho Motoi¹, Mio Susuga¹, Yuko Morozumi³, Akira Sano⁴ and Koichi Shinkai²

【目 的】

歯冠修復に用いる材料の色調安定性は、予後を大きく左右する要因である。これまで我々は、光重合型コンポジットレジンにコーヒークリームに浸漬した場合、1週後で統計学的有意な色調変化を認めたことを報告した(第138回日本歯科保存学会)。また、二ケイ酸リチウムガラスセラミックスを紅茶液に3週間浸漬した場合、表面が荒いほど経時的に色差値が有意に増加したことを報告した(第22回日本歯科色彩学会)。セラミックスはコンポジットレジンに比較して硬度、耐摩耗性および化学的安定性に優れる特徴をもつが、ブラッシングによる色調変化についてはあまり明らかにされていない。そこで今回は、刷毛あるいはラバーを植立した歯ブラシを試作し、紅茶液に浸漬した二ケイ酸リチウムガラスセラミックスの色調に対するブラッシングの影響について検討した。

【材料および方法】

1. 試料および歯ブラシ:二ケイ酸リチウムガラスセラミックス(IPSe. max プレス LT インゴット, A2, Ivoclar Vivadent)を直径12mm、厚さ3mmのディスク状に切断した。両面を耐水研磨紙#2400で仕上げたものを試料とした。歯ブラシはナイロン毛(7ミル、ふつう)と粒子無配合ラバー(熱可塑性エラストマー)の2種類を試作した(デンタルプロ)。

2. 紅茶液への浸漬:紅茶ティーバッグ(日東紅茶デイルークラブティーバッグ, 三井農林)1袋を150mLの熱湯に1分間入れて抽出した紅茶液を300mL作製した。作製した紅茶液をビーカーに移し、セラミック試料表面がビーカー内面や他の試料と接触しないよう袋に入れ、37℃恒温恒湿槽で3週間浸漬した。対照群として蒸留水を用いた(n=6)。

3. ブラッシング:試料の測色面に対して歯ブラシ清掃面が90°に接するよう試料を刷掃試験機に固定し、ブラッシングを行った。刷掃条件は、刷掃回数70/min、ブラシ圧160gf、刷掃時間3分30秒とした。

4. 測 色:測色は白色シートを背景とし、歯科用測色計(Shade eye NCC, 松風)を用いて行った。1試料につき3回計測して平均値を算出し、浸漬前、1週後、2週後、3週後およびブラッシング後のL*a*b*を計測し、色差(ΔE)を算出した。結果は、一元配置分散分析を用いて有意水準0.05で統計学的解析を行った(エクセル統計2010 for Windows, 社会情報サービス)。

【結果および考察】

1. 浸漬前と3週後のL*a*b*は、紅茶液ではa*とb*が有意に増加し、蒸留水ではa*が有意に減少した。L*に変化は認められなかった。
2. 浸漬前と3週後のΔEは、紅茶液が1.44~1.45、蒸留水が0.83~1.33であった。
3. 紅茶液に浸漬した試料の3週後とブラッシング後のL*a*b*を比較した結果、ナイロン毛ではブラッシング後でa*とb*の有意な減少を認めた。ラバーではa*で減少傾向を示したが、b*に変化は認められなかった。また、両者ともL*に変化は認められなかった。
4. 浸漬前と3週後と浸漬前ブラッシング後の色差を比較した結果、紅茶液と蒸留水、ナイロン毛とラバーのいずれの条件においても有意差は認められなかった。

本実験条件では、紅茶液に浸漬したセラミック試料はナイロン毛でのブラッシングによりa*とb*が有意に減少したが、色差に有意な影響を及ぼすものではなかった。今後、セラミック表面の性状を観察して紅茶液の着色状態を明らかにするとともに、試験条件や刷毛素材による影響についてさらに検討を加える予定である。

修復用グラスアイオノマーにおけるナノフィラー含有レジンコーティング材の有用性

株式会社ジーシー

○吉満亮介, 福島庄一, 熊谷知弘

The effect of nano filled resin-coating on glass ionomer restoratives

GC CORPORATION, Tokyo, Japan

○Ryosuke Yoshimitsu, Syouichi Fukushima, Tomohiro Kumagai

[緒言]

修復材料として使用される従来型グラスアイオノマーは修復用コンポジットレジンと比較して、歯質への自己接着性、フッ素徐放性等の利点を有しているが、強度、耐摩耗性等の物性が劣っている。この問題の解決策として充填用グラスアイオノマーとレジンコーティング材を組み合わせることでグラスアイオノマーの特長を有したまま、高強度、高い耐摩耗性等の特長を持ったシステムとして弊社ではEQUIAシステムを海外にて提供してきた(EQUIAは充填用グラスアイオノマーであるEQUIA Fil, 国内販売名「フジIXGPエクストラ」)とナノフィラー含有レジンコーティング材であるEQUIA Coat, 国内販売名「G-ガード」を組み合わせたシステム。また、2015年には新規技術によりさらに物性向上したEQUIA Forte(EQUIA Forte Fil, EQUIA Forte Coat)を開発した。本発表ではEQUIA システムの有用性に着目し、三体摩耗試験と三点曲げ試験による曲げ強度と耐摩耗性について報告する。

[実験内容]

EQUIA Forte (EQUIA Forte Fil, EQUIA Forte Coat), EQUIA (EQUIA Fil, EQUIA Coat), 製品A, 製品Bを使用した。

1. 三体摩耗試験

咬合摩耗試験用金型にサンプルを充填, 37℃, 100%R. H. の条件下で1時間静置した。金型から取り外した後, 37℃, 蒸留水中で23時間静置し, コーティング群は各コーティング材を塗布, 照射し, 試験体とした。対牛歯エナメルにおいて, PMMA (アクリコン AC) : グリセリン=1 : 1 のスラリーを介して荷重 300g の水平滑走 20000 回後の摩耗量を測定した。

2. 三点曲げ試験

2mm×2mm×25mm の金型にサンプルを充填し, 37℃, 100%R. H. の条件下で10分間静置した。#320 耐水研磨紙にて研磨し, コーティング群は各コーティング材を1面のみ塗布, 照射し, 37℃, 蒸留水中で24時間静置し試験体とした。荷重面の反対がコーティング面となるように試験体を置き, オートグラフ (クロスヘッドスピード: 1 mm/min) を用いて曲げ強度を測定した。

[結果・考察]

各試験結果を Fig. 1, 2 に示す。各試験より EQUIA Forte, EQUIA は他のグラスアイオノマーよりも少ない摩耗量であり, 高い曲げ強度を示した。これはナノフィラー含有レジンコート材を塗布することでグラスアイオノマー表面の凹凸が滑沢になり, クラックが入りにくくなるためだと考えられる。

[結論]

グラスアイオノマー表面へのナノフィラー含有レジンコート材塗布によって高い耐摩耗性, 曲げ強度を付与できることを示し, 歯冠修復に有用であることが示唆された。

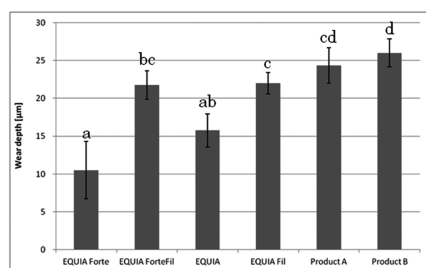


Fig.1 Wear Resistance

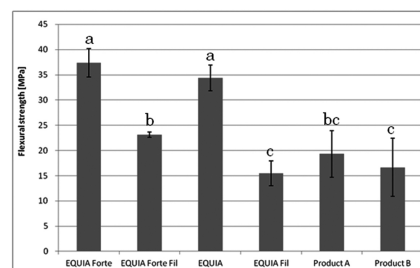


Fig.2 Flexural Strength

*Same letters in a graph indicate no significant difference.

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
斉藤歯科医院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}, 斉藤充良^{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填塞、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℃、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℃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℃に保った状態で計測したもの (37℃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℃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℃条件では、23℃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℃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℃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。

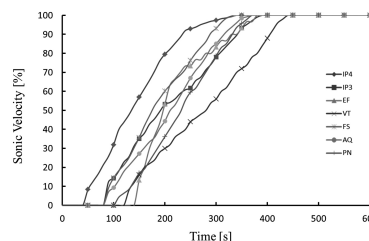


Fig 1. Changes in sonic velocity as a function of time.

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℃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】

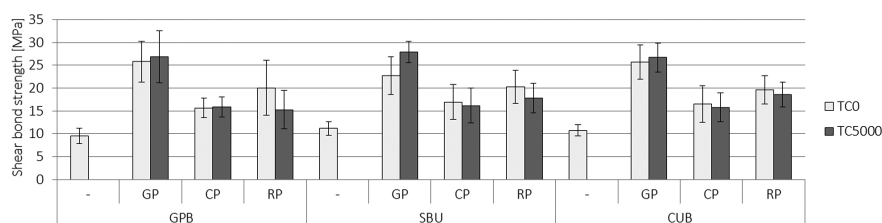


Fig. Shear bond strength of the universal type bonding agent to the glass ceramic

【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. Dogon ²⁾, 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 Kotaro ¹⁾, OGAWA Shintaro ¹⁾, MAENO Masahiko ^{1,2)}, I.L. DOGON ²⁾, NARA Yoichiro ¹⁾

【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、修復用ブロックとしては、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℃ 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。

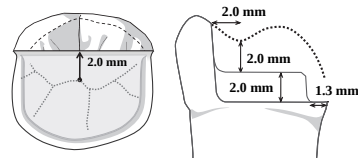


Fig. 1 Standardized MODB cavity

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)

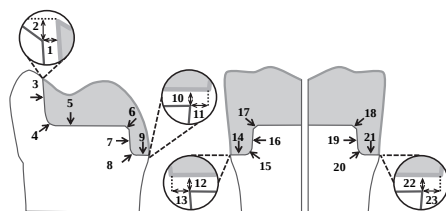


Fig. 2 23 measured points for resin cement thickness

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 Yukihiro, 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で増加しているが、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 1.0 mm/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、ロカテック群に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)。

Table1. Materials used in this study							Table2. Methods of layering technique		
Code	Brand name	Shade	CoR	Mixing	Irradiation	Manufacturer	Group	Layer (mm)	
				Time (sec.)	Time (sec.)			1st	2nd
CG	Fuji IX GP	A2	0.94	20	—	GC	1	EA 1.0	CG 1.0
EF	EQUIA Forte Fil	A3	0.90	10	—		2	EA 1.0	EF 1.0
LC	Fuji Fil LC	A2	0.72	10	20		3	EA 1.0	LC 1.0
EA	Estelite Omega	EA2	0.64	—	10		4	EA 1.0	DA 1.0
DA		DA2	0.82	—	10	Tokuyama	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℃ 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, エリオニックス) 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 】

Table1 & 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℃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。

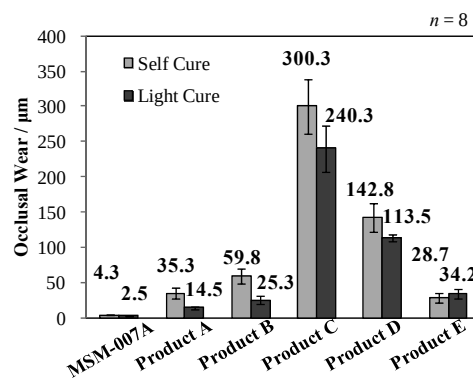


Fig 1. Result of Three-Body Wear Testing

CAD/CAM 用レジンブロックへのサンドブラスト処理時間が レジン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

¹Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry, ²Hanazono 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 用レジンブロックへのサンドブラスト処理時間の違いがレジン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】

レジンセメントとして、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 用レジン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、常温重合レジンに包埋したものを 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、練和したレジンセメントを填塞、ストリップスを介して荷重 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 試片とレジン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】

供試したレジンセメントの 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ンブロックの表面性状の変化および各レジン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 用レジンブロックへのレジン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で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。

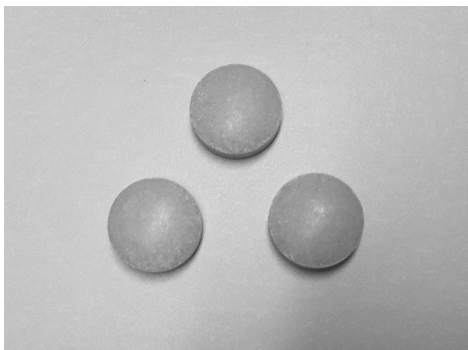


Figure 1. The newly produced soft-type chewing gum (a pellet size: 13mm in diameter and 6 mm in height) containing chitosan oligomer. Three pellets for one time are chewed.

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 pulp 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 ディ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ア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 歯髄生物学的研究室
○ 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

日本大学松戸歯学部 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。齲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、齲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 μ g/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 μ g/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 μ M) や AP-1 inhibitor (5 μ M) の前処理によりその発現誘導は抑制された。
2. TNF- α (0.01 μ g/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 Komiya¹⁾²⁾, Kohei Shimizu¹⁾²⁾, Makoto Hayashi¹⁾²⁾, Tamotsu Tsurumachi¹⁾²⁾,
and Bunnai Ogiso¹⁾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)をポビ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 μ M, 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(ドミトール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Glia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日目に於いて、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、ポリフェノールの一種である 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℃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に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、ミクロトームを用いて 4μm のパラフィン切片を作製した。通法に従い、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 (Emdgen®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 mGSWP 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齲蝕学分野

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/smaw5/smaw8 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エゾンセンター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、Transcript 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 1 μ M 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 口腔健康科学講座 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 Kunihiro¹, 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 1 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。 CaCl_2 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 CaCl_2 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 CaCl_2 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 CaCl_2 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 CaCl_2 と 5 μM NPS2143 を同時投与した群において、 CaCl_2 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 齲蝕学分野
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) 含有コラーゲンゲルを根管内へ注入し、37℃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ゲル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、歯頸部をグ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 (CaCO_3 , ナカライテスク, Lot No. M3N3631) と珪藻土 (SiO_2 , 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℃ で焼成し、得られた焼結塊を乳鉢、乳棒で粉碎、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 4×10^3 /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 (Ca_2SiO_4) 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 (Dentsply 社製) でグラ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 4 mm の位置から長さ 4 mm 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 $\pm$ SD) は、それぞれ 94.2 $\pm$ 20.6 (2%, 2 分)、146.3 $\pm$ 23.2 (6%, 2 分)、237.2 $\pm$ 18.4 (2%, 20 分) および 332.8 $\pm$ 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 $\pm$ 10.3 (2%, 2 分)、74.6 $\pm$ 20.2 (6%, 2 分)、91.1 $\pm$ 40.7 (2%, 20 分) および 87.5 $\pm$ 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⁾

○FUJIMAKI 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ミ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。このスミ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、象牙質表面にスミ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ミ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ミ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、スミ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で行われる。今日では化学的洗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、根尖に至る根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、分岐根管内では約 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4面体底面(図1参照)の3三角形の重心を原点として4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。

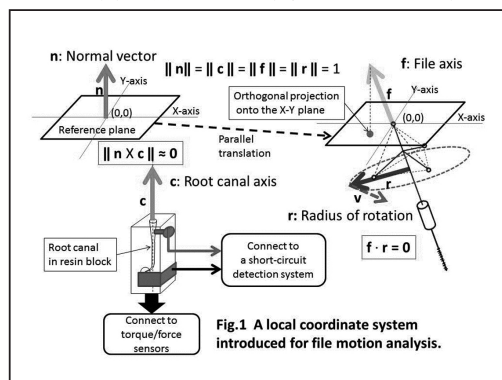


Fig. 1 A local coordinate system introduced for file motion analysis.

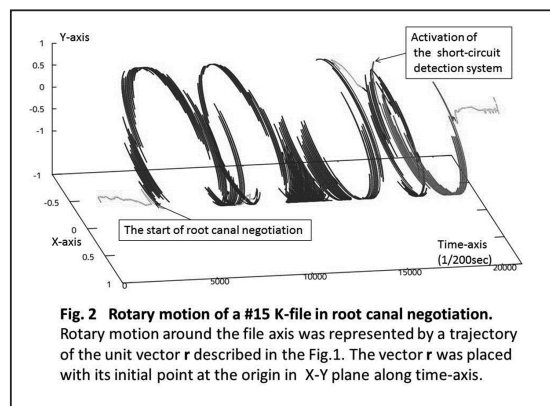


Fig. 2 Rotary motion of a #15 K-file in root canal negotiation. Rotary motion around the file axis was represented by a trajectory of the unit vector r described in the Fig.1. The vector r was placed with its initial point at the origin in X-Y plane along time-axis.

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、高い切削効率を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、ユーギ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。酸化亜鉛ユーギノール系根管充填用シーラーから遊離したユーギ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、ユーギ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 (キャナルフィルシーラー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、ユーギノール (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) 酸化亜鉛ユーギノール系シーラー (キャナルス ; 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℃、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 秒間の光照射 (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光照射条件で硬化させた。全ての試験片は、37℃、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、キャナルフィルシーラーNDU はシーラー硬化後のユーギノールの遊離量が既存の酸化亜鉛ユーギ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. 酸化亜鉛ユーギ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齲蝕学分野

○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 Kaji, 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カッター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同部位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、オートガイ孔後方の咬筋付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 μ m 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端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 とともに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 銅フタロシアニン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℃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、適度な流動性があって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 歯科学総合研究科 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) およびサファイアチップ (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 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, KATSUUMI 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ことが多い。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】

実験には齲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 $70\mu\text{A}$, スライス厚 $52.9\mu\text{m}$ 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 2.92mm^3 , 2 根管歯 3.97mm^3 であった。仮想根管の体積の平均は単根管歯 2.94mm^3 , 2 根管歯 4.95mm^3 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 1.22mm^3 , 2 根管歯 1.84mm^3 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 C B C T 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。齲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 3 mm 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, Kaogoshima 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瘍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瘍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。

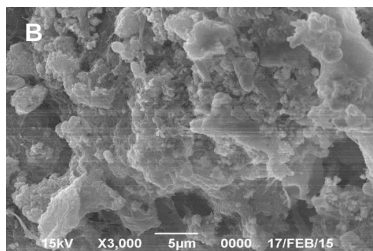
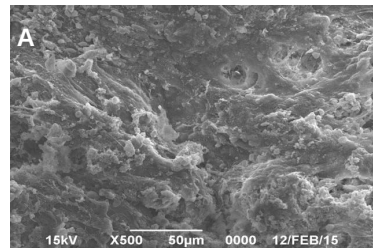
【結論】

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、“過剰歯癒着と臼歯癒着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施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 Concreted 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、通法に従い 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。

象牙質 / 幹細胞ハイブリッド骨補填材の機能評価

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構造機能発育学講座口腔生化学分野

○奥野公巳郎¹⁾ 川木晴美²⁾ 田中雅士¹⁾ 小栗健策¹⁾ 森 春菜¹⁾ 河野 哲¹⁾ 近藤信夫²⁾ 吉田隆一¹⁾

Evaluation of dentin / stem cell hybrid materials as a bone substitute

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

2) Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure, Function and Development,
Asahi University School of Dentistry

○Okuno Kumio¹⁾ Kawaki Harumi²⁾ Tanaka Masashi¹⁾ Oguri Kensaku¹⁾ Mori Haruna¹⁾

Kawano Satoshi¹⁾ Kondoh Nobuo²⁾ Yoshida Takakazu¹⁾

【研究目的】

歯周病や根尖病変、あるいは腫瘍による骨欠損、加齢による骨量減少などの問題が高齢化により増加している。それに伴い、顎骨に骨補填材を用いた骨再生療法を適用する症例も増えてきている。骨欠損の治療に用いる骨補填材としては、自家骨移植がゴールドスタンダードであるが、その代用材料として歯科あるいは整形外科領域では、ハイドロキシアパタイト（以下 HA）、 β -リン酸三カルシウム（以下 β -TCP）等のリン酸カルシウム系骨補填材が臨床応用されており、骨伝導能を示す材料として報告されているが、生体吸収性や親和性における問題点も同時に指摘されている。一方、象牙質は骨に類似した生体硬組織であり、抜去歯から自家移植への供給可能な生体材料としての可能性を有している。これまでに我々は、象牙質を骨補填材として応用するために、幹細胞を組み合わせた複合材料を作製し、象牙質顆粒がヒト骨髄由来幹細胞やヒト歯髄由来幹細胞の増殖と骨芽細胞様細胞への分化を促進することを報告してきた。今回はこれら 2 種の幹細胞と比較対照として既存の骨補填材を用いて、それぞれ骨補填材顆粒・幹細胞凝集複合体を作製しマウス皮下埋植後 3～6 週間の動態について検討した。

【材料および方法】

象牙質顆粒作製のため、抜去歯は患者の同意のもと、朝日大学歯学部倫理委員会の承認（第 23111 号）を得て採取し、抜歯直後に -80°C で凍結保存した。これらの抜去歯から象牙質顆粒を作製し、整粒した後オートクレーブ滅菌した。比較対照としてオスフェリオン（オリンパス社）、ネオボーン（MMT 社）を同様に処理した。作製した顆粒とヒト骨髄由来幹細胞、ヒト歯髄由来幹細胞を 7 日間培養し、骨補填材顆粒・幹細胞凝集複合体を作製した。そして、ヌードマウス（6 週齢、雄性、体重：約 25g）の左側背部皮下に骨補填材を埋植（20 mg/匹）し、3 週間後および 6 週間後に摘出して通法に従い樹脂包埋切片、パラフィン包埋切片を作製し、組織化学的検討を行った。

【結果】

埋植後 3 週間では、骨補填材のみを埋植した群に比べ、幹細胞凝集複合体埋植群を埋植した群で、いずれの幹細胞を用いた場合でも、骨補填材顆粒間に線維性コラーゲンに富む骨芽細胞マーカー陽性細胞の豊富な組織が形成されており、特に象牙質顆粒・幹細胞凝集複合体埋植群で顕著に観察された。埋植後 6 週間では象牙質およびオスフェリオン埋植群で顆粒周囲に硬組織様組織が形成されており、幹細胞との凝集複合体埋植群で硬組織様組織が形成が顕著であった。

【結論および考察】

象牙質・幹細胞凝集複合体埋植群が象牙質のみを埋植した群と比較して硬組織様の組織誘導に優れていたことから、象牙質顆粒は、複合体の作製に用いた 2 種の幹細胞の足場として適しており、抜去歯の骨再生療法への活用が有望であることが示唆された。そして、象牙質と体性幹細胞を自家移植が可能な骨補填材料として利用した象牙質 / 幹細胞ハイブリッド骨補填材の有用性が示された。

同種移植による抜髄後歯髄再生治療法の開発

¹⁾国立長寿医療研究センター 幹細胞再生医療研究部 再生歯科医療研究室

²⁾愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○庵原 耕一郎¹⁾, 藤田 将典^{1,2)}, 村上 真史¹⁾, 中島 美砂子¹⁾

Pulp Regeneration by Transplantation of Allogenic Pulp Stem Cells

¹⁾Laboratory of Dental Regenerative Medicine, Department of Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology, Research Institute, Obu, Japan

²⁾Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○Koichiro Iohara¹⁾, Masanori Fujita^{1,2)}, Masashi Murakami¹⁾, Misako Nakashima¹⁾

【目的】

私どもは歯髄幹細胞を抜髄根管に自家移植する歯髄再生治療法の臨床研究を行い、安全性および、電気診、MRI にて有効性を確認した。一方、自家移植は、移植に十分な細胞の培養に時間がかかる。このため安全性をあらかじめ確保して保存している細胞を同種移植の方が効率的、経済的であると考えられる。実際に脳梗塞等においては、同種移植の臨床研究・治験が進められている。ただし、造血幹細胞移植などで同種移植を行う際は、免疫応答が生じるため、移植時に移植組織の HLA を合わせ、免疫抑制剤を使用する必要がある。しかし、間葉系幹細胞を移植する際には免疫反応がほとんど起こらないという報告がある。そこで今回、イヌのハプロタイプ解析後、歯髄幹細胞を抜髄根管内にハプロタイプ一致、不一致の 2 通りの同種移植を免疫抑制剤を用いずに行い、安全性・有効性を確認した。また、同じ細胞の複数回移植を行い同様に安全性・有効性を検討した。

【材料および方法】

1. イヌ膜分取歯髄幹細胞の分取

イヌの抜去歯から歯髄を採取した後、歯髄幹細胞を分取し、7 代目まで増幅・凍結保存した。

2. ハプロタイプ解析

イヌの血液よりハプロタイプの解析を行った。

3. 抜髄後根管内同種移植の安全性・有効性評価

イヌ上下顎前歯部に、ハプロタイプ一致 7 匹、ハプロタイプ不一致 7 匹で抜髄処置後、歯髄幹細胞を同種移植した。安全性試験として、一般状態、体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量及び剖検を行った。また、有効性試験として 3 ヶ月後に標本を採取し、H-E 染色、マッソン・トリクロム染色、PGP9.5、BS-1 lectin の免疫染色を行い、歯髄組織再生を評価した。また先に移植したものと同一細胞を別の歯に移植し、3 ヶ月後に同様の解析を行った。

【結果】

歯髄幹細胞を同種移植してもハプロタイプが一致、不一致ともに安全性に問題がなかった。また、複数回移植をしても同様に安全性に異常はみられなかった。移植後 3 ヶ月目においてハプロタイプが一致、不一致共に、血管新生、神経侵入を伴う歯髄の再生が確認でき、それぞれ再生量に差はみられなかった。また、一度移植したイヌに複数回移植した場合においても歯髄が再生されることが確認でき、炎症所見も特にみられなかった。

【結論】

これらの結果より、同種移植による歯髄再生治療の安全性、有効性が示唆された。

根分岐部病変を伴う歯内-歯周疾患 I 型病変の一症例

福岡歯科大学口腔治療学講座 歯科保存学分野

○松崎 英津子, 二階堂 美咲, 中山 英明, 松本 典祥, 畠山 純子, 水上 正彦, 佐々木 由梨,
松本 和磨, 池崎 綾香, 稲永 晃子, 西崎 竜司, 赤尾 瑛一, 春名 千英子, 中牟田 博敬,
泉 利雄, 阿南 壽

Endodontic-Periodontal Disease with Bifurcation Involvement: A Case Report

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College
○MATSUZAKI Etsuko, NIKAIIDO Misaki, NAKAYAMA Hideaki, MATSUMOTO Noriyoshi, HATAKEYAMA Junko,
MINAKAMI Masahiko, SASAKI Yuri, MATSUMOTO Kazuma, IKEZAKI Ayaka, INANAGA Akiko,
NISHIZAKI Ryuji, AKAO Eiichi, HARUNA Chieko, NAKAMUTA Hiroyoshi, IZUMI Toshio, ANAN Hisashi

【緒言】

根分岐部病変を伴う歯内-歯周疾患は日常の臨床で比較的良好に遭遇する疾患である。本疾患は歯内領域および歯周領域の多様な原因で発症することもあり、診断を誤ると原因因子が長期に残存するため、炎症は遷延し良好な予後を得ることが困難になる場合がある。今回、心的状態が不安定で歯科治療に対して極度の不安感を訴えるうつ病患者の根分岐部病変を伴う歯内-歯周疾患に遭遇し、根管内嫌気性菌培養試験を併用した感染根管治療を施すことにより、破壊された根分岐部の骨組織は良好な治癒を示したため、その症例と治療経過について報告する。

【症例】

患者:37 歳、女性。主訴:下顎右側第 2 大臼歯の咬合痛および歯肉腫脹。全身既往歴:うつ病、不眠症。現病歴:2008 年 10 月初旬、47 に強い咬合痛を感じたため、近医を受診した。その際、47 の根尖病変を指摘され、痛いときは処置できないという説明を受けた。そのため、他院を受診したが、根管治療は時間がかかるという説明を受け、特に処置は施されなかった。また、抗生物質等の処方も受けなかった。その後、痛みはやや減少した。2009 年 1 月 21 日、前医を受診した際に、47 の歯肉腫脹を指摘され、切開・排膿処置を受けた。その際に、47 の分割あるいは抜歯の提案を受けたが、怖くなったため同年 2 月 21 日、47 の精査および加療を希望し、福岡歯科大学医科歯科総合病院を受診した。また、患者は口臭に対する悩みが深く、毎日長時間のブラッシングを行っている。臨床所見:47 は自発痛(-)、打診痛(+)、頬側歯肉腫脹(+)、動揺(-)、根尖部圧痛(+)、瘻孔(-)であった。また、頬側中央部にのみ 6 mm の歯周ポケットを認めた。根分岐部にはファーケーションプローブがわずかに挿入でき、1 度の根分岐部病変 (Lindhe の分類) を認めた。他に 4 mm 以上の歯周ポケットを有する歯は 8 歯、BOP 陽性の歯は 11 歯であり、すべての歯に動揺は認められなかった。

【治療】

信頼関係の構築を目的として、口腔内清掃指導およびスケーリング処置から治療を開始するとともに、心療内科での治療も開始された。心的状態の改善は認められたが、根管内の細菌感染に強い不安感を訴えていたため、47 には、根管内嫌気性菌培養試験を併用した感染根管治療を施した。初回培養試験時、根管内からは多数の嫌気性菌のコロニーが観察された。数回の根管治療後に歯周ポケットは 3 mm 以下となり、ファーケーションプローブを挿入することはできず、付着の回復が窺われた。また、臨床症状は認められず、根管からの細菌のコロニーもほとんど観察されなくなった。初診から約 3 ヶ月後、デンタリス KEZ® (ネオ製薬工業) およびガッタパーチャポイントによる側方加圧根管充填が施された。根管充填 8 ヶ月後、47 に臨床症状はなく、エックス線上で歯根周囲の透過像の消失および骨組織の著明な回復が認められたため、臨床的に経過良好と判断し全部鑄造冠を装着した。現在まで臨床症状の再発はなく、良好に経過している。

【考察および結論】

患歯は良好な治療経過を辿っていることより、歯内-歯周疾患の治療において、的確な検査および診断の重要性が示唆された。また、心的状態が不安定な患者の QOL の向上に歯科的貢献を果たすことができたものと考えられた。

愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科の初診紹介患者に関する実態調査

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○久保田 真衣、平野 文菜、江場 久哲、稲本 京子、中田 和彦

Survey on new patients referred to the endodontic clinic of
Aichi Gakuin University Dental Hospital
Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Mai Kubota, Fumina Hirano, Hisanori Eba, Kyoko Inamoto, Kazuhiko Nakata

【研究目的】

愛知学院大学歯学部附属病院は、臨床歯科医学の教育研究機関であるとともに、安心、安全な歯科医療を提供する総合医療機関として、東海地方で中心的役割を果たしている。そのため、外部の医療機関から専門的な診査や診断、あるいは治療の依頼も多く、歯内治療科にも多数の患者が紹介により来院している。その数は年々増加傾向にあり、スムーズな受け入れ体制の構築や地域医療機関との緊密な病診連携の推進は喫緊の課題となっている。また近年、患者の歯の健康に対する意識向上とともに高度で質の高い歯科医療に対する需要も高まっており、大学病院の歯内治療科としての役割をより明確にしていく必要がある。そこで本研究では、他の歯科医院から本学歯学部附属病院歯内治療科宛ての紹介状を持参して来院した初診患者を対象に、医療情報を調査し、その傾向を分析した。

【対象および方法】

2014年4月から9月までの6ヶ月間で、愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科宛ての紹介状を持参し、本院総合初診科に来院した患者231名(170歯科医院)を対象とした。基本情報(性別、年代、患者居住地と紹介元歯科医院所在地)、紹介目的、依頼部位、臨床症状、診断名、紹介元で根管処置が困難とされた要因、本院での処置方針、方針決定後の患者動向について調査を行い、紹介元からの情報と本院で得られたデータを比較検討した。

【結果】

男女比は、男性29%、女性71%であった。年齢構成は、30歳代が25%と最多で、次いで50歳代が20%であった。患者居住地、紹介元所在地ともに97%が愛知県内、さらに約半数は名古屋市内であった。紹介目的は、93%が治療依頼であり、次に精査依頼が6%、そして不明が1%であった。依頼部位は、上下顎第一および第二大臼歯が全体の58.4%を占めていた。臨床症状に関しては、紹介状の21%に症状自体の記載がなかった。「疼痛」が、紹介元、本院ともに最も多く認められた臨床症状であったが、「疼痛がある」と記載された紹介状のうち37%は、疼痛の性状については具体的な記述がなかった。診断名は、紹介元、本院ともに「根尖性歯周炎」が最も多かったが、診断名の記載がない紹介状が23%認められた。紹介元と本院で、診断の相違が紹介患者全体の26.5%に認められ、そのうち診断名の相違が62.5%、部位の相違が37.5%であった。紹介元で根管処置が困難となる要因があると診断された症例は、全体の35.5%であった。その要因として、歯根破折、根管内異物(器具破折)、穿孔、根管閉鎖等が記載されていたが、実際に明確な原因が認められたのはそのうちの49%であった。歯内治療科で診断後の処置方針としては、「感染根管処置」が61%、「抜歯」が13%で、その他に、経過観察(9%)、抜髄処置(8%)、齶蝕処置(4%)、処置不要(2%)、その他(3%)であった。診断後の患者動向として、本院での処置希望が72%(当科での処置:61%、口腔外科への依頼:8%、その他:3%)で、紹介元で治療継続が24%、紹介元以外での処置が2%、その他(経過観察等)が2%であった。

【考察および結論】

今回の調査から、本院歯内治療科に期待されている主な役割は、マイクロスコープや歯科用コーンビームCT等の特殊機器を必要に応じて適用した難症例への対応、ならびに精査と確定診断であることが確かめられた。しかし、そのために要する労力と時間などを考慮すると、現行の体制のままでは今後のニーズに十分対応できなくなると推測される。また、初診紹介患者の多くが診断後に当科での処置を希望した理由は、十分な説明とラバーダム防湿をはじめとする基本に則った歯内治療に納得したためと考えられる。したがって、当科での診療経過と結果の情報を紹介元歯科医院に確実にフィードバックし、基本原則を遵守した歯内治療の重要性を改めて啓蒙していく必要がある。そして、今後大学病院の歯内治療科として、社会から求められる歯内治療(歯髄保存と根管処置)を確実に提供し続けるために、円滑な対応ができるような新たなシステムづくりが急務である。

福岡歯科大学歯内治療学基礎実習で使用した天然歯に類似した 歯髄腔を有する新型人工歯の評価

福岡歯科大学口腔治療学講座歯科保存学分野

○二階堂 美咲, 泉 利雄, 佐々木 由梨, 松本 和磨, 池崎 綾香, 稲永 晃子, 中山 英明,
西崎 竜司, 赤尾 瑛一, 水上 正彦, 畠山 純子, 松本 典祥, 春名 千英子, 松崎 英津子,
中牟田 博敬, 阿南 壽

Evaluation of new artificial teeth containing pulp cavity similar to the natural teeth in endodontic basics training at Fukuoka Dental College

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College

○NIKAIDO Misaki, IZUMI Toshio, SASAKI Yuri, MATSUMOTO Kazuma, IKEZAKI Ayaka, INANAGA Akiko,
NAKAYAMA Hideaki, NISHIZAKI Ryuji, AKAO Eiichi, MINAKAMI Masahiko, HATAKEYAMA Junko,
MATSUMOTO Noriyoshi, HARUNA Chieko, MATSUZAKI Etsuko, NAKAMUTA Hiroyoshi, ANAN Hisashi

【研究目的】

歯内治療学基礎実習は、歯髄に対する検査、診断、治療計画の立案・治療といった一連の基本的な技能を習得することを目的としており、卒前臨床実習および卒後臨床研修の基盤となる重要な過程である。そこで、昨年度まで実習で用いていた人工歯の問題点として示された直線的な根管を改良するとともに、よりリアルな抜髄時の感覚の取得を目的として、新規に人工歯を作製した。今回、4年次の歯内治療学実習に新しい人工歯を導入し、最終日に学生へのアンケート調査を行ったので報告する。

【方法】

平成27年度4年次学生97名を対象とした。抜髄法、根管充填法の基礎実習を新たな人工歯を用いて行い、実習最終日に無記名のアンケート調査を行った。

【材料】

ニッシン社製人工歯（歯髄腔に着色剤含有） A-END3B001 #11 #14 #16 #45

【成績】

アンケートの概要を以下に示す。

・「削ってみてどうでしたか。」「透明根管で実際根管の走行を見ることができましたが実習はどうでしたか。」の設問に対しては、概ねやりやすかったとの回答を得た。

・抜髄時に良かった点については、天蓋除去の体験ができた 27%、本物の出血みたいだった 15%、根管が見えてよかった 34%、根管の拡大がしやすかった 10%、模型に付けて実際の治療みたいに行えた 14%であった。

・抜髄時に悪かった点については、人工歯の破損 6%、削片の根管への圧入 56%、根尖からの着色剤の漏出 22%、根管形成の難易度 12%であった。

【考察】

新規の人工歯を用いた基礎実習を行うことにより、学生からは「根管の構造を見ながら体験できてよかった」、「出血が本物みたいだった」など、概ね良好との回答を得た。一方、「詰まりやすい」、「硬い」、「模型から人工歯がファイリング中に外れる」、「着色剤が根尖から外に出る」など多くの問題点も指摘された。今回の指摘を基にして、さらなる改良の必要性が考えられた。

【結論】

4年次の歯内治療学実習に新しい人工歯を導入し、最終日に学生へのアンケート調査を行うことにより、歯髄腔を有する新型人工歯の抜髄及び根管充填の実習における有用性が示唆された。

20 度湾曲根管を付与した根管壁着色透明模型の実習応用評価 — 手用 K ファイルと NiTi ロータリーファイルでの拡大形成 —

- 1) 日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第 1 講座、
2) 日本歯科大学大学院 新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学、3) 日本歯科大学新潟病院 総合診療科
○北島佳代子^{1,2)}、新井恭子^{1,2)}、飯野華絵²⁾、横須賀孝史³⁾、佐藤友則³⁾、松田浩一郎³⁾、
北野芳枝¹⁾、朝比奈壮郎¹⁾、反町香子¹⁾、三好敏朗¹⁾、五十嵐 勝^{1,2)}

Application of a transparent plastic model with 20 degree curved canal and dyed root canal wall for
preclinical endodontic training -Canal preparation using hand files and NiTi rotary files-

- 1) Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata,
2) Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University Graduate School of Life
Dentistry at Niigata, 3) Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital
○KITAJIMA Kayoko^{1,2)}, ARAI Kyoko^{1,2)}, IINO Hanae²⁾, YOKOSUKA Takashi³⁾, SATOH Tomonori³⁾,
MATSUDA Koichiro³⁾, KITANO Yoshie¹⁾, ASAHINA Takeo¹⁾, SORIMACHI Kyoko¹⁾, MIYOSHI Toshiro¹⁾
and IGARASHI Masaru¹⁾

【目的】 本学の臨床前歯内療法学基礎実習では、根管拡大形成実習をステンレススチール製手用 K ファイル (SSK) で学んだ後、最後に湾曲の強い透明根管模型を用いたニッケルチタン製ロータリーファイル (NiTi) 実習を平成 20 年度から実施している。教員がその実習を評価する際、拡大前後に撮影した画像を重ねて判定するが、時間と労力を必要とし、実習直後の学生自己評価やフィードバックができないという問題がある。そこで、根管壁表層を着色した透明根管模型を開発し、模型の概要を第 140 回、第 141 回本学会で報告した。今回われわれは、SSK と NiTi で拡大形成した模型を分析し、実習応用評価について検討したので報告する。

【材料と方法】 対象は、本学部平成 26 年度第 4 学年学生 55 名である。根管模型は、下顎第一小臼歯の歯冠の付いたエポキシレジン製の四角柱 (10×10×13mm) で、02 テーパーの 20 度 J 字型湾曲根管が付与されている (ホクシンエレクトロニクス)。根管断面は円形で、根管壁が厚さ 0.1mm の着色樹脂でできており、根管長は 21.0mm、根尖孔径は 0.15mm で底面に開口している。根管を #10 SSK (25mm、GC) で穿通し、作業長を設定した後、まず SSK を用いて 30 分間の拡大形成を行った。拡大形成法は、プレカーブを付与した器具でファイリング主体に行い、任意の号数まで拡大した。次に、NiTi ロータリーファイルでの拡大では、WaveOne® Primary (25mm、先端直径 #025/テーパー .08、DENTSPLY) を用い、X-SMART™ PULS (DENTSPLY) に装着し、手順に従い拡大を行った。学生は拡大形成後に自己評価を行い、偶発事故の有無等を記録した。実習終了後に模型を回収し、頬舌近遠心の 4 方向から撮影した画像で評価した。本研究は倫理審査を受け、被験者の個人情報保護の下で実施された。

【結果ならびに考察】 SSK での最終拡大号数は、#15 が 5 名、#20 が 9 名、#25 が 32 名、#30 が 4 名、#35 が 5 名であった。step 形成や根管からの逸脱がない良好例は、最終拡大号数 #15 と #20 で 2 例、#25 で 6 例、#30 で 1 例であった。step 形成は 15 例、根管からの逸脱は 30 例、zip 形成は 11 例であった。#35 の 5 例では、湾曲中央部での根管からの逸脱が 2 例、zip 形成が 3 例みられた。根管の着色残存は、湾曲部全体や根管中央部の他、step や逸脱部から根尖側の未処理の根管や zip 形成の根尖内湾側にみられた。SSK では根管がストレート化し、湾曲開始部の歯冠側では根管湾曲の反対壁、湾曲開始部では内湾壁、根尖部では外湾部の着色が消失していた。全体的には、.02 テーパーの SSK で最終拡大号数が細かい場合には、拡大不足となりやすく、また手用ファイルの材質上、湾曲根管の拡大では、step や zip を形成し、逸脱しやすかった。一方 NiTi では、湾曲中央部と根尖部での step 形成が各 1 例、根尖部での根管からの逸脱例が 4 例、zip 形成が 3 例であった。根管の着色残存は、根尖部のみが 34 例、湾曲開始部の根尖側半のみが 17 例、湾曲部全体が 4 例で、湾曲開始部から歯冠側の残存例はなかった。模型根尖部の着色層の幅は、根管径 0.15mm に両側壁着色層 0.2mm を加えた約 0.35mm であるため、25 号相当の NiTi で拡大した場合、根尖部の着色が残存しても拡大が不十分ではなく、過不足のない均等な拡大形成が行われたことを意味し、NiTi 形成が湾曲根管に適していることを示している。

【結論】 本根管模型は、根管拡大形成部位が容易に観察でき、拡大成功の可否や偶発事故等を確認しやすく、学生自己評価にも効果的であり、歯内療法学基礎実習への応用に有効であることが示された。

マイクロ CT を用いた側方加圧根管充填修得の教育効果の評価について

昭和大学歯学部・歯科保存学講座・歯内治療学部門¹・歯科理工学部門²・歯科薬理学講座³

○増田 宜子¹、坂井 信裕²、荻野 玲奈³、馬場 聖¹、宮崎 隆³

Evaluation of educational effects of root canal obturation by lateral condensation using micro-computed tomography in dental students.

Showa University, School of Dentistry, Dept. of Conservative Dentistry, Division of Endodontology¹, Division of Oral Biomaterials and Technology³, Dept. of Pharmacology²

○Yoshiko MASUDA¹, Nobuhiro SAKAI², Reina OGINO³, Satoru BABA¹, Takashi MIYAZAKI³

(目的) 昭和大学歯学部 3 年生の基礎実習において側方加圧根管充填の評価として従来のデンタル X 線写真に加えマイクロ CT を用いて 3 次元的に解析し第 34 回日本歯科医学教育学会にて発表した。今回、我々はマイクロ CT による 3 次元的な画像による根管充填解析を教材として用いた後、再度側方加圧根管充填を行いマイクロ CT 3 次元画像の教育効果を評価することを目的とした。

(対象及び方法) 本学歯学部第 3 学年の学生を対象とした。人工歯 (Nissin: S-12-500) を使用し通常の規格形成法 (昭和大方式) にて根管拡大しガッタパーチャーポイント (GP) とキャナルス N (昭和薬品化工) を用いて側方加圧根管充填を行った。デンタル X 線撮影にて根管充填の到達度と密度を評価した。到達度良好、密に充填されている評価良好の人工歯を選びマイクロ CT (ScanXmate-LO90H: コムスキャンテクノ社) を用いて測定し画像構築 (RATOC 社: TRI/3D-VIE) した。GP の湾曲とポイント下部の空隙の有無によってそれぞれ根管充填: 良好 (ほとんど GP に湾曲がない, ポイント下部空隙がない)、やや良好 (やや湾曲しているが許容範囲, ポイント下部空隙があるが許容範囲)、不良 (湾曲した GP がある, ポイント下部空隙がある) に分類した。根尖孔からセメントーエナメル (C-E) 境までの根管内の死腔の体積を測定した (TRI/3D-VIE: ラトックシステムエンジニアリング)。

(結果)

最初の根管充填では、デンタル X 線画像において根管充填の評価が良好であった 7 本中、GP の湾曲の有無に関して良好は 2 本、やや良好は 2 本、不良は 3 本であった。ポイント下部空隙の有無では、良好は 2 本、やや良好は 3 本、不良は 2 本であった。C-E 境断面での死腔の有無は 7 本中 6 本に死腔が認められそのうち 5 本はわずかな死腔だが、2 本は明らかに空隙があった。2 本目、3 本目に挿入したと推測される GP が底部まで到達していないものがみられた。根尖孔からセメントーエナメル (C-E) 境までの根管内の死腔の体積は、2 回目が 1 回目より減少していたものが多いが同等か増加しているものもあった。

(考察及び結論) デンタル X 線撮影にて根管充填を良好と判断していたが、マイクロ CT にて加圧充填状態が不良なものが多く側方加圧根管充填を習得していない学生が多いことがわかった。2 回目は明らかに GP の湾曲が減少したが側方への圧が弱いことがわかった。根管口明示が不良のものやポイントの充填方法に個人的な特徴があり 2 本目の挿入深度が浅いものなどそれぞれの学生によって修得出来ていないポイントを指摘できるため細かい指導が出来教育効果が上がると思われる。GP 挿入圧やスプレッダーによる側方への加圧の強度を理解することが難しいことからどのように教育すると良いのかを今後は検討していきたい。CT 画像を教材として用いることによってそれぞれの学生の修得出来ていない事柄が細かく理解できた。全ての学生の根管充填の評価を CT 画像にて行うには時間や労力の問題もあり難しいが、効率よく教育効果を上げるために今後も用いていきたい。マイクロ CT 3 次元画像を用いることは学生教育において有効であることが示唆された。

オートファジーを用いたヒトケラチノサイトの LPS 刺激適応能

1 福岡歯科大学総合歯科学講座総合歯科学分野、2 病態構造学分野、3 高齢者歯科学分野、
4 口腔保健学講座 口腔健康科学分野
○萩尾佳那子¹、大野純²、山口真広³、谷口奈央⁴、山田和彦¹、米田雅裕¹、廣藤卓雄¹

LPS-stimulated adaptation in human keratinocytes by autophagy

1 Department of General Dentistry, Division of General Dentistry, Fukuoka Dental College
2 Department of Morphological Biology, Division of Pathology, Fukuoka Dental College
3 Department of General Dentistry, Division of Geriatric Dentistry, Fukuoka Dental College
○Kanako Hagio¹, Jun Ohno², Masahiro Yamaguchi³, Kazuhiko Yamada¹, Nao Taniguchi¹
Masahiro Yoneda¹, Takao Hirofujii¹

【研究目的】

歯周組織の被覆上皮組織およびポケット接合上皮組織を構成するケラチノサイト (KC) は、内因性および外因性ストレスに対する対処法を展開していると考えられる。とくに、歯周病においては、接合上皮 KC は Lipopolysaccharide (LPS) のターゲットとなる。それらの刺激に対して、自食作用であるオートファジーを用いた適応の可能性を検討した。

【材料・方法】

1) ヒト KC への LPS 刺激: ヒト KC には HaCaT 細胞を用いて、10%FBS 含有 DMEM で培養した。E. coli 由来および P. gingivalis 由来 LPS を各濃度で培地に添加して、16 時間反応させた。コントロールは、LPS 非添加群および LPS 阻害剤の Polymyxin B (PMB) を LPS に混合して検討した。2) オートファジー誘導の判定: (1) LC3 によるオートファゴゾームの検出、(2) オートファジー関連遺伝子 (Atg5, Atg12, Beclin-1, p62 および LC3) の免疫細胞染色 (ICC) 法および Western blotting (WB) 法による検索。3) 細胞内 ROS 発現の検索: LPS 刺激およびコントロール細胞での細胞内 ROS 発現を、ROS/RNS Detection Kit により検索した。さらに、ROS 関連遺伝子の発現を WB 法により検討した。4) Toll-like receptor 4 (TLR4) シグナルのオートファジー誘導への関与: LPS 刺激およびコントロール細胞での TLR4 と TLR4 のシグナル下流遺伝子 MyD88 および TRIF 発現を WB 法にて検索。5) 阻害実験によるオートファジー経路の検討: MyD88 阻害剤および PI3KC3 複合体・阻害剤である 3-methyladenine (3-MA) および Wortmannin (Wm) を用いて、WB 法にて検討した。6) 1) ~ 5) 実験での E. coli Bioparticle の細胞内取り込みの検討。

【結果・考察】

1) LPS 刺激による KC でのオートファジー誘導は細胞内 ROS 蓄積に関与する: 刺激 KC においては、細胞内 ROS の蓄積が明らかとなった。この ROS 蓄積に関連して、phospho-AMPK 発現および PI3K/Beclin-1 発現が増強された。3-MA および Wm 投与により阻害されたことより、PI3K/Beclin-1 経路の活性化がオートファジー誘導に関与することが示唆された。しかしながら、ROS 蓄積は経時的にオートファジー発現が亢進するに伴い、減弱傾向がみられた。また、LPS 刺激によりオートファジーが誘導された細胞においては、E. coli 由来の Bioparticle の細胞内への取り込みが明らかとなった。細胞内での particle の局在は、autophagosome と一致した。この結果は、particle の取り込みにオートファジーが関与することを示している。2) TLR4 シグナルの活性化はオートファジーを誘導し、細胞内 ROS 蓄積を減弱する: LPS 刺激により、TLR4 発現が認められた。同発現は、LPS+PMB 添加群で減弱したことから、LPS 刺激に特異的に TLR4 シグナルが展開されることが明らかとなった。刺激細胞においては、TLR4 シグナルの下流に位置する MyD88 および TRIF 発現も確認された。さらに、MyD88 阻害剤の投与により、オートファジー・マーカーである LC3-II および phospho-Beclin-1 発現が減弱し、細胞免疫染色においても autophagosome 陽性細胞数も減少した。同様に、Bioparticle の取り込みも減少した。この結果は、TLR4→MyD88 経路がオートファジー誘導に関与することを示唆している。また、TLR4/MyD88 経路の活性化が、細胞内 ROS 蓄積を減少させることが阻害剤の投与実験から明らかとなった。しかしながら、phospho-AMPK 発現は MyD88 阻害によっても変化しなかった。

【結論】

以上の結果から、ヒト KC は LPS 刺激により、TLR4/MyD88→AMPK→PI3K/Beclin-1 経路の活性化によりオートファジーが誘導された。さらに、細胞内 ROS 検索および Bioparticle 取り込み実験から、LPS 刺激により誘導されたオートファジーは、LPS ストレス回避に関与する可能性が示唆された。

*Porphyromonas gingivalis*由来LPSは歯肉上皮細胞の
アンジオポエチン様タンパク質2産生を誘導する

愛知学院大学歯学部歯周病学講座¹、薬学部生体機能化学講座²

○大野祐¹ 山本弦太¹ 西田英作¹ 後藤久嗣¹ 神谷洋介¹ 菊池毅¹ 山田章三¹ 茂木眞希雄² 三谷章雄¹

Porphyromonas gingivalis LPS induced the production of Angiopoietin-like protein in human gingival epithelial cell.

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University¹

Department of Medicinal Biochemistry, School of Pharmacy, Aichi Gakuin University²

○ONO Tasuku¹, YAMAMOTO Genta¹, NISHIDA Eisaku¹, GOTO Hisashi¹, KAMIYA Yosuke¹,

KIKUCHI Takeshi¹, YAMADA Syozo¹, MOGI Makio², MITANI Akio¹

【目的】

歯周病は歯周病原細菌による慢性炎症性疾患であり、歯周病原細菌の内毒素や歯周局所の炎症メディエーターにより心臓・血管系疾患、糖尿病やがんなどの全身疾患のリスクが上昇することが知られている。近年、アンジオポエチン様タンパク質2 (Angiopoietin-like protein2: Angptl2) が慢性炎症に関与する重要な因子であることが明らかにされ、Angptl2 シグナル制御によるがんや糖代謝異常の新しい治療戦略の可能性が報告されている。しかしながら、歯周病における Angptl2 の関与についてはほとんど知られていない。本研究では歯周病における Angptl2 の役割についての基礎的研究として歯肉上皮細胞での Angptl2 の関与について検討した。

【材料及び方法】

(1)歯肉上皮細胞における Angptl2 遺伝子発現およびタンパク産生の確認

ヒト歯肉上皮細胞株である Ca9-22 を用い *Escherichia coli* および *Porphyromonas gingivalis* 由来 LPS にて刺激を行い、Angptl2 遺伝子発現を qPCR 法にて確認を行った。また *P. gingivalis* 由来 LPS 刺激時の Angptl2 タンパク産生を Western blotting 法にて確認を行った。

(2)Angptl2 産生経路の検討

Ca9-22 を用い、RNA 干渉により *P. gingivalis* 由来 LPS のレセプターとして知られている TLR2, 4 遺伝子ノックダウンを行い、*P. gingivalis* 由来 LPS 刺激による Angptl2 および炎症性サイトカイン遺伝子発現およびタンパク産生の変化について確認した。

(3)歯周組織破壊における Angptl2 の役割

Ca9-22 に recombinant human Angptl2 刺激を行い、炎症性サイトカインおよび MMP-13 遺伝子発現について確認を行った。

【結果及び考察】

Ca9-22 においては *E. coli* 及び *P. gingivalis* 由来 LPS により、刺激後 24h をピークに Angptl2 遺伝子の有意な発現増強が確認された。またタンパク産生においても *P. gingivalis* 由来 LPS 刺激後 24h, 48h において Angptl2 産生の増加が認められた。そこで LPS による Angptl2 産生経路を明らかにするため TLR2 及び 4 のノックダウンを行ったところ、Angptl2 遺伝子発現が対照群と比較して TLR2siRNA 群では約 70%、また TLR4siRNA 群では約 50%程度にまで抑制された。

Ca9-22 への Angptl2 の影響について検討したところ、刺激後 1 h において IL-1β、IL-6、TNF-α などの炎症性サイトカインおよび MMP-13 の遺伝子の発現増強を認めた。

【結論】

本研究より *P. gingivalis* 由来 LPS 刺激により歯肉上皮細胞から Angptl2 が産生されたことから、歯周病局所においても Angptl2 が産生されることが示唆された。歯周病において Angptl2 は歯肉上皮細胞に作用し各種炎症性サイトカイン産生を誘導し、慢性炎症を遷延化させるだけでなく、MMP-13 活性を増強することで歯周組織破壊に影響する可能性が考えられた。

ブラッククミン種子精油の *Fusobacterium nucleatum* に対する抗菌作用

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野¹, 稲畑香料株式会社応用研究部², OHS 研究所³

○徳田雅行¹, 森元陽子¹, 川上克子¹, 中杉徹², 村川拓士², 渋谷耕司³, 西谷佳浩¹

Antimicrobial effects of essential oil-extracted fractions of Black cumin (*Nigella sativa* L.) seeds for *Fusobacterium nucleatum*

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹, Applied Research Laboratory, Inabata Koryo Co., LTD². Laboratory for Oral Health Science³

○TOKUDA Masayuki¹, MORIMOTO Yoko¹, KAWAKAMI Yoshiko¹, NAKASUGI Toru², MURAKAWA Takushi², SHIBUYA Koji³, NISHITANI Yoshihiro¹

[研究目的]

口臭予防は快適な個人生活および社会生活を送るうえで重要である。口臭の原因の一つとして *Fusobacterium*, *Porphyromonas* などの口腔細菌が産生する H_2S , CH_3SH などの揮発性硫黄化合物があげられる。これまで口臭を予防するために抗菌性化合物 (塩化セチルピリジウム、トリクロサン等) がデンタルペーストやデンタルリンスに配合されてきた。一方、口臭を効果的に抑制するには、口臭産生菌の活動を抑制することと、口臭成分を消臭することが重要である。中杉らはインドなどで食品素材として使用されているブラッククミン (*Nigella sativa* L.) 種子精油が CH_3SH に対して、非常に強い消臭活性を示すこと、さらに主要な消臭活性物質が thymoquinone であることを報告した (58th 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会, 2014)。そこで今回は、口臭の原因菌である *F. nucleatum* に対するブラッククミン精油の抗菌作用について評価し、さらにその抗菌活性物質について調べた。

[材料と方法]

1-1. 植物材料

インド産のキンボウゲ科の一年生草本であるブラッククミンの種子精油

1-2. 供試試料の調製

本種子をミルで粉碎後、常法により水蒸気蒸留を行うことにより得た精油 (28 g) をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに供し、*n*-ヘキサンおよびエタノールで順次展開して粗分画し、両画分をそれぞれ濃縮することにより、ヘキサン溶出画分 (5.09 g) とエタノール溶出画分 (20.59 g) を得た。つぎに両画分のうち、*F. nucleatum* に対して強い抗菌活性を示したエタノール溶出画分について、*n*-ヘキサノン酢酸エチル系溶媒を用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより、fr. E-1 ~ fr. E-8 に再分画した。

2. 抗菌試験

1) 使用菌株: *Fusobacterium nucleatum* ATCC25586

2) 供試試料: ブラッククミン種子精油、シリカゲルカラムクロマトグラフィー分画物および試薬類

(Thymoquinone, thymohydroquinone, thymol, carvacrol, *p*-cymene, terpinen-4-ol, *l*-carvone, limonene, piperitone, linalool, 8-hydroxy *p*-cymene, 1,8-cineole, terpineol)

3) 培地: Tryptic Soy Broth (TSB) + ヘミン + メナジオン

4) MIC (最小発育阻止濃度) 試験: 96well plate にサンプルを段階希釈調製し、予め前培養した各菌株を分注し、嫌気下にて 1~2 日間培養し判定した。

[結果]

ブラッククミン種子精油は、*F. nucleatum* に対して強い抗菌活性を示した (MIC15.6 ppm)。シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより粗分画したエタノール溶出画分の MIC は 7.8 ppm であったが、*n*-ヘキサン溶出画分の活性はみられなかった。次に抗菌活性の強かったエタノール溶出画分のシリカゲルカラムクロマトグラフィー再分画物 fr. E-2 ~ fr. E-8 のうち、fr. E-2 の収量が最も多く、強い抗菌活性を示した。そこで本画分に含まれる物質についてそれぞれ抗菌活性を調べたところ、thymoquinone が強い抗菌活性を有することが判った。

[考察及び結論]

今回、ブラッククミンおよびその主要成分が *F. nucleatum* に対して高い抗菌活性を有することが認められた。この成分を豊富に含有するブラッククミン種子精油は、高い消臭効果を併せ持つことから口臭予防および歯周病予防への有用性が期待される。

Alkannin はヒト歯根膜由来細胞の CCR5 ligand 産生を抑制する

¹⁾徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯科保存学分野 ²⁾徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯科保存学分野
日本学術振興会特別研究員 DC2 ³⁾徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔保健支援学分野
○ 細川義隆¹⁾、細川育子¹⁾、進藤智²⁾、尾崎和美³⁾、松尾敬志¹⁾

The effect of alkannin on CCR5 ligands production from human periodontal ligament cells

¹⁾Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School, ²⁾JSPS Research Fellow DC2, Department of Conservative Dentistry, The University of Tokushima Graduate School, ³⁾Department of Oral Health Care Promotion, The University of Tokushima Graduate School
○ Yoshitaka Hosokawa¹⁾, Ikuko Hosokawa¹⁾, Satoru Shindo²⁾, Kazumi Ozaki³⁾, Takashi Matsuo¹⁾

【研究目的】

歯周病は歯周病関連細菌により惹起される慢性炎症性疾患であり、細菌に対する免疫応答が歯槽骨吸収をはじめとする歯周組織破壊に関与している事が報告されている。近年、免疫担当細胞の中でもCC chemokine receptor (CCR5) 陽性細胞が歯周炎の炎症性骨吸収に関与している事が明らかとなった (Ferreira *et al.*, J.Dent. Res.,90(5),632-637,2011)。また、CCR5のリガンドであるCC chemokine ligand (CCL)3, CCL4ならびにCCL5の歯周炎組織での発現に関する報告はあるが、歯周組織構成細胞においてはその産生機構に関する報告は少なく不明な点が多い。

alkanninはルリジサに含まれる天然色素であり、抗酸化作用、抗菌作用、抗癌作用など様々な生理活性作用がある事が報告されている。しかしながら、抗炎症作用に関する報告は少なく、歯周組織構成細胞に対するalkanninの作用に関しての報告はなく不明である。

本研究では、alkanninがヒト歯根膜由来細胞 (HPDLC) のCCR5 ligand産生に与える影響に焦点を絞り検討を行った。また、alkanninがケモカイン産生に関与しているシグナル伝達経路であるNF- κ Bに与える影響に関しても明らかにする事を目的として実験を行った。

【材料および方法】

HPDLCはLonza社より購入し、10%FBSを含むDMEM培地にて培養し実験に用いた。HPDLCをalkannin存在下あるいは非存在下にて24時間IL-1 β 刺激を行い、CCL3, CCL4ならびにCCL5産生をELISA法にて、細胞内シグナル伝達 (NF- κ B) の活性化をwestern blot法にて解析を行った。また、IL-1 β 誘導CCR5 ligand産生に関与するシグナル伝達経路を解明するためにNF- κ B阻害物質にて前処理後IL-1 β 刺激を行い、CCL3およびCCL5産生に関してELISA法を用い検討した。

【成績】

IL-1 β 刺激はHPDLCのCCL3およびCCL5産生を誘導したが、CCL4産生は誘導しなかった。alkanninはIL-1 β が誘導したHPDLCのCCL3およびCCL5産生を濃度依存的に抑制した。また、alkanninはIL-1 β が誘導したHPDLCのI κ B- α 分解を阻害したが、NF- κ B p65のリン酸化は抑制しなかった。NF- κ B阻害剤はIL-1 β が誘導したHPDLCのCCL3およびCCL5産生を有意に抑制した。

【考察および結論】

今回の結果より、IL-1 β はHPDLCのCCR5 ligand (CCL3, CCL5)産生を誘導する事によりCCR5陽性細胞の歯周炎病変局所への浸潤・集積に関与している事が示唆された。また、alkanninはHPDLCのNF- κ B経路を阻害する事によりIL-1 β が誘導するHPDLCのCCL3およびCCL5産生を抑制できる事が明らかとなった。ゆえにalkanninはCCR5 ligand産生を抑制し、CCR5陽性細胞の浸潤を減少させることにより、歯周炎病変局所において炎症性骨吸収を抑制できる可能性が示された。

ヒト歯肉線維芽細胞での炎症性サイトカイン発現に対する microRNA の影響

日本大学松戸歯学部 歯周治療学講座¹、口腔科学研究所²
○松井 沙莉¹、能田佳祐¹、小方 頼昌^{1,2}

Effects of microRNAs on the expression of inflammatory cytokines in human gingival fibroblasts
Department of Periodontology¹, Research Institute of Oral Science², Nihon University School of Dentistry at Matsudo
○Sari Matsui¹, keisuke Noda and Yorimasa Ogata^{1,2}

【研究目的】

歯周病は、歯周病原菌に起因する感染症であるが、宿主および環境因子が、歯周病の発症と進行に大きく影響する。歯周炎局所での慢性炎症は、炎症性サイトカインの持続的な産生を引き起こし、好中球、マクロファージおよび線維芽細胞からのマトリックスメタロプロテアーゼやプロスタグランジンの産生を誘導し、破骨細胞の活性化や、歯周組織の破壊に関与すると考えられる。

MicroRNA (miRNA) は、長さ約 22 塩基の一本鎖ノンコーディング RNA で、標的 mRNA の 3' 末端非翻訳領域に結合して翻訳抑制を引き起こし、遺伝子発現を調節する。歯周炎の発症と進行への miRNA の役割を解明するため、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF) での炎症性サイトカイン遺伝子発現に対する miRNA の影響について検索した。

【材料および方法】

フラップ手術時およびインプラント 2 次手術時に得られた炎症性および非炎症性歯肉を用いて miRNA マイクロアレイを行った結果、炎症性歯肉で miR-223 と miR-200b の発現が上昇した。miR-223 または miR-200b の発現プラスミドを HGF に導入後、IL-1 β (1 ng/ml) または TNF- α (10 ng/ml) で 24 時間刺激し、炎症性サイトカイン (IL-1 β 、IL-6) と miR-223 の標的である I κ B kinase α (IKK α) と mitogen-activated protein kinase phosphatase-5 (MKP-5) の遺伝子発現レベルをリアルタイム PCR、タンパク発現を Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) または Western blotting で検索した。日本大学松戸歯学部倫理委員会承認 (EC10-0401 号、EC14-023 号)

【結果および考察】

歯肉線維芽細胞を炎症性サイトカイン (IL-1 β 、IL-6、TNF- α) で 24 時間刺激すると、miR-223 と miR-200b の発現量が増加した。

歯肉線維芽細胞に miR-223 を過剰発現させると、IL-1 β と IL-6 の mRNA 量は増加し、IL-1 β または TNF- α で刺激すると、さらに IL-1 β と IL-6 の mRNA 量は増加した。IL-1 β と IL-6 のタンパク量は、IL-1 β で刺激すると増加し、miR-223 を過剰発現させるとさらに IL-1 β と IL-6 のタンパク量は増加した。歯肉線維芽細胞に miR-223 inhibitor を導入し、miR-223 の発現を抑制すると、IL-1 β と IL-6 の mRNA 量は減少した。

歯肉線維芽細胞に miR-200b を過剰発現させると IL-1 β と IL-6 の mRNA とタンパク量は減少した。歯肉線維芽細胞に miR-200b を過剰発現させ、IL-1 β または TNF- α で刺激しても、IL-1 β と IL-6 の mRNA とタンパク量は減少した。

miR-223 の標的遺伝子の MKP-5 の mRNA 量は、miR-223 を過剰発現させると減少したが、IKK α の mRNA 量は、miR-223 を過剰発現しても変化しなかった。しかし、Western blot の結果、miR-223 を過剰発現させると IKK α のタンパク量は減少した。以上の結果より、miR-223 は IKK α の発現を、翻訳のプロセスで抑制していると考えられた。

miR-223 の過剰発現により IL-1 β と IL-6 の mRNA 量が増加し、IL-1 β または TNF- α 刺激で、さらに IL-1 β と IL-6 の mRNA 量が増加したのは、miR-223 が NF- κ B の活性を抑制する IKK α と MAPK の p38 の活性を抑制する MAP-5 を阻害したためと考えられた。また、miRNA の標的遺伝子を予測するデータベースの TargetScan から、NF- κ B を活性化する I κ B kinase β (IKK β) が miR-200b の標的遺伝子として考えられた。現在、さらなる miR-223、miR-200b の標的遺伝子の検索および直接的、間接的作用について検索中である。

歯周炎モデルラットにおける 11 β -HSD1 発現の比較・検討

大阪歯科大学大学院歯学研究科(歯周病学専攻)¹ 大阪歯科大学内科学講座²

琉球大学医学部第二内科³ 大阪歯科大学歯周病学講座⁴

○中田貴也¹ 澤井宏文² 益崎裕章³ 藤田敦子¹ 大久保 直² 梅田 誠⁴

Comparison of the 11 β -HSD1 expression in periodontitis model rats

Graduate Sch. Dentistry (Dept. Periodontology) Osaka Dental University¹

Department of Internal Medicine, Osaka Dental University²

2nd Department of Internal Medicine, University of Ryukyus³

Department of Periodontology, Osaka Dental University⁴

○Takaya Nakata¹, Hirofumi Sawai², Hiroaki Masuzaki³, Atuko Fujita¹, Tadashi Ohkubo², Makoto Umeda⁴

【目的】

グルココルチコイドは副腎皮質ホルモンの 1 つであり代謝や免疫応答に及ぼす様々な効果を持っている。また、コルチゾールはヒトにおける主要なグルココルチコイドホルモンである。11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type1 (以下 11 β -HSD1) は、不活性型であるコルチゾンから活性型であるコルチゾールに変換する酵素であり、11 β -HSD1 は脂肪組織(特に内臓脂肪)や肝臓で高発現しており過剰な活性化はアディポサイトカイン分泌異常を引き起こしメタボリックシンドロームに重要な役割を果たしている事が明らかになっている。

生活習慣病の一つであるメタボリックシンドロームは、内臓脂肪型肥満に高血圧・高血糖・高脂血症の要因がある状態であり、動脈硬化症のリスクが上がると言われている。近年、メタボリックシンドロームと歯周病には関わりがあると言われている。マウスを用いた実験で 11 β -HSD1 の阻害剤がメタボリックシンドロームを改善する事が報告されており、ヒトにおけるメタボリックシンドロームの新規治療薬として期待されている。メタボリックシンドロームは脂肪組織の慢性炎症と考えられていることから、歯周組織の慢性炎症である歯周病と 11 β -HSD1 との関連性について検討した。

【材料および方法】

生後 7 週齢 Wistar 系雄性ラットにイソフルレンによる吸入麻酔を行なった後、ペントバルビタールにて腹腔内に注射し全身麻酔を行なった。実験側は歯周炎のモデルとして上顎左側第二臼歯部の歯頸部に 5-0 の絹糸を全周に巻き近心頬側で結紮した。また、対照側の上顎右側第二臼歯部は無処置とした。結紮 3 日目にラットを安楽死させ上顎両側第二臼歯部から歯肉を採取した。

採取した歯肉から TRIzol[®] Reagent を用いて total RNA を抽出し、吸光度計を用いて total RNA の濃度を算出した。使用する total RNA 量が 20ng になるように各検体ごとに算出して 11 β -HSD1, 11 β -HSD2, TNF- α , GAPDH のプライマーと TaqMan[®]RNA-to-Ct[™] 1-Step Kit, StepOnePlus Real Time PCR System を用いて real-time PCR を行い、各 RNA の発現量の解析を行った。

【結果】

結紮群での TNF- α の RNA 発現量が亢進しているラットに関して、11 β -HSD1 の RNA 発現量は結紮群の方が対照群と比較して有意に増加していた。一方、11 β -HSD2 の RNA 発現量に関しては結紮群と対照群との間に有意差は認められなかった。

【考察】

結紮群での 11 β -HSD1 の発現量は対照群と比較して有意に多いことより、歯周組織中の炎症において 11 β -HSD1 の関与が認められた。今後 n 数を増やし、免疫化学染色を行う。また 11 β -HSD1 の阻害剤を使用して歯周病と 11 β -HSD1 の関連性をさらに検討していきたい。

糖尿病ラットにおける VEGF 発現は *Porphyromonas gingivalis* LPS による歯槽骨破壊を促進する。

大阪歯科大学 歯周病学講座

○津守 紀昌、河野 智生、重松 伸寛、森田 浩正、梅田 誠

VEGF expression in diabetic rats promotes alveolar bone resorption by *Porphyromonas gingivalis* LPS.

Department of Periodontology, Osaka Dental University

○TSUMORI NORIMASA, KONO TOMOO, SHIGEMATSU NOBUHIRO, MORITA HIROMASA, UMEDA MAKOTO

【目的】糖尿病は歯周病の重要なリスクファクターの1つであり、糖尿病患者では高頻度で歯周病を発病し、またその病状が重篤化することが以前から知られている。血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) は、血管内皮細胞の増殖・分化、および血管透過性の亢進、血管拡張作用などを持つ糖タンパクで、非常に重要な血管新生因子である。VEGF は、胎生期の血管形成、組織構築、黄体形成などの健常な血管新生に関与するだけでなく、固形腫瘍、慢性関節リウマチ、糖尿病性網膜症、炎症、創傷治癒などの病的な状態での血管新生や血管透過性亢進にも重要な役割を果たす。糖尿病の合併症は脳梗塞、心筋梗塞、網膜症、腎症、神経障害、歯周病などがあげられるが、そのすべてが血管障害に起因し、VEGF と深い関係がある。

Porphyromonas gingivalis は代表的な歯周病原細菌であり、その LPS は歯槽骨破壊に関与することは報告されているが、糖尿病により歯周組織に発現した VEGF が *P. gingivalis* LPS による歯槽骨破壊にどのような影響を与えるかはまだ明らかになっていない。そこで、本研究では *P. gingivalis* LPS を歯肉に注射することにより実験的歯周炎を作成して、歯周組織での VEGF 発現と破骨細胞の局在を観察することにより、糖尿病によって起こった歯周組織での VEGF 発現が歯周病による骨吸収にどのような影響を与えるかを明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】8週齢の糖尿病群として血糖値 200mg/dL 以上のⅡ型糖尿病モデルである GK 系雄性ラットを実験群、健全群として Wistar 系雄性ラットを対照群とし、両群の両側第二臼歯口蓋側歯間乳頭部に *P. gingivalis* LPS を注射し、さらに同部歯肉溝に 4-0 絹糸を結紮することにより実験的歯周炎を作成した。その後ラットを安楽死させ、マイクロエックス線 CT にて、両群の骨吸収像を撮影し、セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定した。測定部位は第一臼歯遠心根、第二臼歯近心根、遠心根、第三臼歯近心根とした。試料は EDTA にて 1 ヶ月脱灰し、脱水、パラフィン包埋後、連続切片を作成した。切片は抗 VEGF モノクローナル抗体の免疫組織化学的染色および酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い光学顕微鏡にて観察し、両群を比較、検討を行った。

【結果および考察】マイクロ CT 画像では対照群と比べ実験群で顕著な骨吸収がみられた。セメント・エナメル境から歯槽骨頂までの距離を測定すると第二臼歯近心根、第二臼歯遠心根、第一臼歯遠心根、第三臼歯近心根の順で大きく、対照群と比べて実験群の方が有意に高い値を示した。抗 VEGF モノクローナル抗体の免疫組織化学的染色では歯槽骨の骨縁上および歯肉結合組織中の血管周囲および骨膜上に、対照群と比較して VEGF が強く発現していた。TRAP 染色では歯槽骨の骨膜上には実験群、対照群ともに TRAP 陽性細胞の局在がみられた。

以上の結果から、糖尿病ラットでは高血糖状態により歯周組織に発現した VEGF が *P. gingivalis* LPS による歯槽骨吸収に影響を与えることがうかがわれた。今後、糖尿病による歯周病の増悪のメカニズムを解明する上で、VEGF の働きをより明らかにすることが重要であると考えられる。

日本人慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中の EB ウイルスと *P. gingivalis* ゲノムの定量解析

日本大学松戸歯学部歯周治療学講座¹, 日本大学口腔科学研究所²,
○加藤彩子¹, 山崎瑞穂¹, 小方頼昌^{1,2}

Quantitative analysis of Epstein-Barr virus DNA and *Porphyromonas gingivalis* associated with Japanese chronic periodontitis patients

Department of Periodontology¹, Research Institute of Oral Science²,

Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Ayako Kato¹, Mizuho Yamazaki¹, Yorimasa Ogata^{1,2}

【研究目的】

歯周炎は、歯周ポケット内のプラーク中の歯周病原菌により惹起される炎症性病変である。細菌感染に対する生体の炎症反応は、免疫担当細胞により制御されるが、マトリックスメタロプロテアーゼや炎症性サイトカインが歯周組織で過剰に産生されると、結合組織の破壊や骨吸収等の臨床症状を生じる。近年 Epstein-Barr ウイルス (EBV) が、歯周炎の発症と進行に関与するという報告が認められる。我々は、日本人慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液から、EBV と *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) を検出し、5 mm 以上の深い歯周ポケット部位で EBV と *P. gingivalis* が高率に検出されることを報告した。今回我々は、慢性歯周炎患者の歯周病変部位および健常部位の歯肉溝滲出液中の EBV と *P. gingivalis* ゲノムの定量解析を行った。

【材料および方法】

慢性歯周炎患者 25 名の 5 mm 以上の深いブロービングポケット深さ (PPD) 部位と同患者の 3 mm 以下の浅い PPD 部位に、滅菌ペーパーポイントで 30 秒間、3 回挿入して歯肉溝滲出液を採取し、DNA を抽出した。また健常者 13 名の 3 mm 以下の健常 PPD 部位 2 ヶ所から同様の方法で歯肉溝滲出液を採取し、対照群として比較検討を行った。EBV および *P. gingivalis* に対する特異的プライマーを用いてリアルタイム PCR (SYBR Green 法) を行い、EBV および *P. gingivalis* ゲノムを定量した。本研究は、日本大学松戸歯学部倫理委員会承認 (EC11-027-1) を得た。

【結果】

25 名の慢性歯周炎患者の 5 mm 以上の深い PPD 部位から採取した歯肉溝滲出液中の EBV と *P. gingivalis* のゲノムコピー数は $3.74 \times 10^3 \sim 2.83 \times 10^9$ copies/ml および $2.73 \times 10^5 \sim 6.65 \times 10^9$ copies/ml であった。また、同一患者の 3 mm 以下の浅い PPD からの歯肉溝滲出液中の EBV と *P. gingivalis* のゲノムコピー数は $4.37 \times 10^4 \sim 9.13 \times 10^6$ copies/ml および $3.97 \times 10^6 \sim 2.13 \times 10^9$ copies/ml であった。一方、健常者の 3 mm 以下の PPD からの歯肉溝滲出液中の EBV および *P. gingivalis* のゲノムコピー数は、 $1.27 \times 10^4 \sim 2.66 \times 10^8$ copies/ml および $4.16 \times 10^6 \sim 6.62 \times 10^9$ copies/ml であった。EBV のゲノムコピー数は、慢性歯周炎患者の深い PPD 部位では、浅い PPD 部位に比べて約 300 倍、*P. gingivalis* のゲノムコピー数は約 3 倍高値を示した。EBV は、慢性歯周炎患者の深い PPD の 20 部位 (80%)、浅い PPD の 10 部位 (40%)、健常者の浅い PPD の 13 部位 (50%) で検出された。*P. gingivalis* は、慢性歯周炎患者の深い PPD の 20 部位 (80%)、浅い PPD の 9 部位 (36%)、健常者の浅い PPD の 7 部位 (27%) で検出された。さらに、慢性歯周炎患者の深い PPD の 17 部位 (68%)、浅い PPD の 3 部位 (12%)、健常者の浅い PPD の 4 部位 (15%) では、EBV と *P. gingivalis* の共感染が認められ、慢性歯周炎の進行した病変部位で最も高値を示した。

【考察】

歯周病変部位では、EBV および *P. gingivalis* が多量に共存し、歯周組織の破壊に関与している可能性が示唆された。EBV は、約 90% 以上の健康成人に潜伏感染しているが、歯周炎患者の深い PPD 部位では、高率で EBV と *P. gingivalis* が共感染しており、歯周病原菌の代謝産物が EBV を再活性化化する可能性が考えられた。EBV の再活性化はサイトカインの産生異常を引き起こし、歯周病の進行や歯槽骨吸収に関与すると考えられる。今後、ウイルスと歯周炎の発症・進行のメカニズムが解明されることにより、歯周病の診断や治療法が変化する可能性が示唆される。

研究協力者：日本大学細菌学講座 今井健一、落合邦康

酸化チタンの LPS 分解能について

鶴見大学歯学部歯周病学講座

○松島 友二 鈴木 琢磨 白川 哲

長野 孝俊 糸日谷 洋大 五味 一博

Study of LPS resolution of titanium oxide

○Yuji Matsushima, Takuma Suzuki, Shirakawa Satoshi,

Nagano Takatoshi, Itohiya Hiro, Kazuhiro Gomi

Department of Periodontology, School of Dental Medicine, Tsurumi University

【目的】

日本で開発された光触媒作用を有する酸化チタンは広く社会で応用されており、特定波長域の光が照射されるとヒドロキシラジカルやスーパーオキシドアニオンを発生する。これらの活性酸素種による酸化還元作用が有機質分解や殺菌性などの作用を示すと考えられており、酸化チタンの光触媒作用を利用した機能製品として、すでに手術室のタイルや空気清浄機のフィルター、医療用カテーテルなどに応用され成果を挙げている。

現在医科領域における応用として人口関節や癌、難治性感染症の治療など臨床応用への研究が進んでおり、歯科領域でもすでに歯の漂白や義歯の洗浄剤の成分として利用されているが、歯科治療に関しての研究が少ないのが現状である。そこで我々は酸化チタンの光触媒作用に着目し、歯周疾患に罹患した根面へ酸化チタンを作用させることで感染あるいは汚染の除去ができるのではないかと考え、酸化チタンを根面に作用させることで根面性状の評価および LPS の分解能の評価を行い、象牙質上での酸化チタンの LPS 分解能を評価することを本研究の目的とした。

【材料および方法】

今回の実験には酸化チタンとして石原産業株式会社の酸化チタン粉末である ST-01 を用いた。特徴として ST-01 は、色は白色、粒径が 7 nm と極めて小さく、光触媒の活性が高いことが挙げられる。この酸化チタンの光触媒作用に着目し、歯周病に罹患した根面に作用させることで感染もしくは汚染が除去される可能性があると考え、根面に酸化チタンを応用し、一定時間作用させた後、位相差電子顕微鏡で根面の性状を観察した。また、歯周炎を惹起する物質のひとつであると考えられている LPS が酸化チタンによって分解されているかは不明の為、LPS の分解能を評価した。

LPS 分解能は、96 Well Plate に、1 EU に調整した LPS100 μ l を滴下、その後、酸化チタンの励起（活性酸素種の発生）を目的に、波長 352 nm 前後のスパイラル型 15 W ブラックライト (Jefcom 社) を用い照射距離 10 cm に規定し、5 時間照射をおこない LPS がどれだけ分解されたかを評価した。LPS の検出には Toxin Sensor (GenScript) を用い、吸光度を測定することで酸化チタンの LPS 分解能を評価した。

【結果および考察】

酸化チタンの添加で LPS が低下したことから、酸化チタンにブラックライトを照射することで、活性酸素種が発生し、LPS が分解されたと考えられる。また象牙質のディスク上に付着させた LPS に酸化チタンを応用することで LPS が分解されることが認められたことから、象牙質表面に付着させた LPS においても酸化チタンは作用すると考えられる。しかしながら象牙質表面に付着させた LPS は、象牙質のディスクを用いなかった結果と比較して、LPS の分解に有意差を認めなかった。これは象牙質の内部に含浸した LPS を酸化チタンが分解しきれなかったことによるものと考えられる。また、歯根表面および SRP 後の歯根面に酸化チタンを作用させることにより歯根表面の異物が除去されたことから、LPS を含めた根面性状の改善が酸化チタンには期待できると考えられる。

LPS は、酸化チタンの量に依存して分解され、象牙質のディスク上でも同様であった。象牙質の表層でも酸化チタンの光触媒作用が有効に働くことが示唆された。

炎症性サイトカインで刺激したヒト歯根膜細胞由来の GDNF は PC12 の神経細胞分化を促進する

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

○吉田晋一郎¹、山本直秀¹、和田尚久³、友清淳¹、長谷川大学¹、
濱野さゆり¹、祐田明香¹、御手洗裕美¹、杉井英樹¹、前田英史^{1,2}

Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) from human periodontal ligament cells treated with proinflammatory cytokines promotes neurocytic differentiation of PC12 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

○Shinichiro Yoshida¹, Naohide Yamamoto¹, Naohisa Wada³, Atsushi Tomokiyo¹, Daigaku Hasegawa¹,

Sayuri Hamano¹, Asuka Yuda¹, Hiromi Mitarai¹, Hideki Sugii¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【目的】歯根膜組織は豊富な感覚神経による支配を受けており、種々の侵害刺激や組織損傷への応答を示し、歯周組織の恒常性維持に重要な役割を持つと考えられている。Glial Cell-Line Derived Neurotrophic Factor (GDNF)は、種々の細胞に対して多様な生物学的活性を示すことが知られており、近年、組織修復や神経再生への関与が数多く報告されている。我々は以前、GDNF がヒト歯根膜細胞 (HPDLCs) に対して RGD 配列を含んだ細胞外マトリックスならびにインテグリン $\alpha v \beta 3$ を介して走化性を誘導することを報告している (山本ら、第 133 回日本歯科保存学会)。しかしながら、GDNF の歯根膜組織における創傷治癒や神経再生に及ぼす影響については十分な解明がされていない。そこで本研究では、歯根膜組織の傷害部位における GDNF の発現解析、ならびに HPDLCs 由来の GDNF が PC12 細胞の神経細胞様細胞分化に及ぼす影響について検討した。

【材料および方法】(1) ラット歯根膜傷害モデル (SD ラット、5 週齢、雄性) の左側上顎臼歯部切片を用いて抗 GDNF 抗体、抗 IL-1 β 抗体による免疫蛍光染色を行った。(2) 本研究に同意が得られた 3 名の患者の抜去歯牙より歯根膜組織を採取し、培養して得られた細胞を本研究に用いた。HPDLCs を炎症性サイトカイン (IL-1 β 、TNF- α) で 24 時間刺激し、その培養上清に含まれる GDNF タンパク濃度を ELISA 法を用いて解析した。(3) GDNF が PC12 細胞の神経細胞様細胞分化に及ぼす影響を検討するため、GDNF 含有培地に mouse control IgG または GDNF 中和抗体をそれぞれ 2 週間添加し、神経突起の伸長を検討した。さらに IL-1 β で刺激した HPDLCs より得られた培養上清 (IL-1 β -CM) を用いて同様の検討を行い、神経再生関連因子 (Gap-43 および Sprr1A) の遺伝子発現を定量的 RT-PCR 法を用いて解析した。

【結果】(1) 免疫蛍光染色の結果、傷害を与えたラット歯根膜周囲組織の創部近傍における歯根膜細胞は抗 GDNF 抗体および抗 IL-1 β 抗体に陽性反応を示した。(2) 炎症性サイトカインで刺激した HPDLCs 由来の GDNF 量は、非刺激群と比較して GDNF 発現が有意に増加した。(3) PC12 細胞における GDNF レセプター (GFR $\alpha 1$ 、RET および NCAM) の遺伝子発現を半定量的 RT-PCR 法を用いて確認した。GDNF で刺激した PC12 細胞では、非刺激群と比較して神経様突起の伸長が有意に促進し、神経細胞様細胞分化が促進した。この GDNF による効果は、GDNF 中和抗体により非刺激群と同程度まで抑制された。IL-1 β -CM で刺激した PC12 細胞は、非刺激群と比較して神経細胞様細胞分化が有意に促進した。この IL-1 β -CM による効果は、GDNF 中和抗体により非刺激群と同程度まで抑制された。2 週間培養後の PC12 細胞は、GDNF 刺激群ならびに IL-1 β -CM 刺激群において、Gap-43 および Sprr1A の遺伝子発現が有意に上昇し、これらの効果は GDNF 中和抗体により非刺激群と同程度まで抑制された。

【考察】傷害を受けた歯根膜組織における歯根膜細胞は GDNF を発現し、さらに IL-1 β で刺激したヒト歯根膜細胞由来の GDNF が PC12 細胞の神経細胞様細胞分化を促進したことから、GDNF は歯根膜組織において神経再生に機能的に作用する因子であることが示唆された。

【結論】(1) 傷害を受けたラット歯根膜組織における創部近傍の歯根膜細胞は、抗 GDNF 抗体および抗 IL-1 β 抗体に強い陽性反応を示す。(2) 炎症性サイトカインで刺激した HPDLCs は GDNF 発現を有意に上昇する。(3) IL-1 β にて刺激した HPDLCs の培養上清を用いて培養した PC12 細胞では、神経細胞様細胞分化が有意に促進し、また Gap-43 および Sprr1A の遺伝子発現が有意に上昇する。

破骨細胞原性に対する IL-15 と RANKL の相乗効果について

○菊池毅¹、岡部猪一郎¹、相野誠¹、神谷洋介¹、藤村岳樹¹、
後藤久嗣¹、岡田康佑¹、黒須康成¹、茂木眞希雄²、三谷章雄¹

¹愛知学院大学歯学部歯周病学講座 ²愛知学院大学薬学部生体機能化学講座

IL-15 and RANKL play an synergistically important role in osteoclastogenesis.

○KIKUCHI Takeshi¹, OKABE Ichiro¹, AINO Makoto¹, KAMIYA Yosuke¹, FUJIMURA Takeki¹,
GOTO Hisasi¹, OKADA Kosuke¹, KUROSU Yasunari¹, MOGI Makio², MITANI Akio¹

¹Aichi Gakuin University, School of Dentistry, Department of Periodontology

²Aichi Gakuin University, School of Pharmacy, Department of Medicinal Biochemistry

【目的】炎症性サイトカイン interleukin (IL)-15 は Periodontitis (PD) や Rheumatoid Arthritis (RA) の病態進行において重要な役割を担っていることが示唆されている。IL-15 は免疫細胞の活性化、増殖、生存に関与する事が示されているが、骨代謝に与える影響は不明な点が多い。そこで我々は IL-15 の receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) 誘導性破骨細胞分化ならびに活性化への影響について検討した。

【材料および方法】マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 細胞 (RAW 細胞) をリコンビナントマウス RANKL (rmRANKL)、リコンビナントマウス IL-15 (rmIL-15) にて刺激を行い培養 3 日目に tartrate-resistant acid phosphate (TRAP)、receptor activator of NF- κ B (RANK)、matrix metalloproteinase (MMP-9)、Cathepsin K などの破骨細胞分化・活性化マーカーの遺伝子発現量を定量 PCR 法 (qPCR) にて測定した。また、RANK のタンパク発現をウェスタンブロッティング法にて検討した。さらに培養上清中の MMP-9、Cathepsin K 産生量を Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法にて測定した。培養 5 日目に TRAP 染色を用いて、破骨細胞形成状態を多核の破骨細胞数の計測およびフュージョンインデックス (3 核以上の TRAP 陽性細胞数/全体の TRAP 陽性細胞数) で確認した。また、Hydroxyapatite resorption assay を用いて、破骨細胞の機能を確認するため吸収窩の数と面積について測定した。Extracellular signal-regulated kinase (ERK)、p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)、c-Jun N-terminal kinase (JNK)、Nuclear factor κ B (NF- κ B) などの破骨細胞分化に関する細胞内情報伝達因子のリン酸化についてウェスタンブロッティング法にて検討した。同細胞内情報伝達因子の特異的阻害薬を用い IL-15 の重要なシグナルカスケードの同定を一部行った。

【結果および考察】rmIL-15 単独刺激により破骨細胞形成数の増加を、わずかながらも認めた。rmIL-15 と rmRANKL の共刺激により rmRANKL 単独刺激時よりも統計的に有意に TRAP、RANK、MMP-9、Cathepsin K の遺伝子発現量と破骨細胞形成数およびフュージョンインデックスの増加を認めた。また、Hydroxyapatite による吸収窩の数と面積の有意な増加を認めた。rmIL-15 刺激は、ERK のリン酸化亢進を強く誘導した。MEK1/2 を阻害する事により rmIL-15 による破骨細胞形成能が低下した。これらのことから、rmIL-15 は、単独でもわずかながら破骨細胞形成を誘導すること、rmIL-15 併用により rmRANKL 誘導性破骨細胞形成を有意に増強することおよび rmRANKL 誘導性破骨細胞機能の顕著な増強を誘導することが示唆された。また、rmIL-15 の作用に関して、ERK の細胞内情報伝達経路が非常に重要であることが示唆された。

【結論】

IL-15 は、RANKL 誘導性破骨細胞原性を相乗的に促進し、PD や RA のような炎症性骨吸収を伴う疾患において、重要な役割を担う可能性が示唆された。IL-15 の産生・機能を調節することで、これら疾患の病態を改善する可能性が考えられる。

アメロチン遺伝子欠失マウスはエナメル質石灰化不全を呈する

日本大学松戸歯学部歯周治療学講座¹, 日本大学松戸歯学部口腔科学研究所²
○中山洋平^{1,2}, 岩井泰伸¹, 小方頼昌^{1,2}

Amelotin-deficient mice show enamel hypomineralization
Department of Periodontology¹, Research Institute of Oral Science²,
Nihon University School of Dentistry at Matsudo
○Yohei Nakayama^{1,2}, Yasunobu Iwai¹, Yorimasa Ogata^{1,2}

【研究目的】

アメロチン (AMTN) は、エナメル質形成の成熟期エナメル芽細胞から分泌され、成熟期エナメル芽細胞層内基底層および萌出後の歯肉付着上皮内基底層にその発現が認められるエナメルタンパク質である。概知であったアメロジェニン (AMEL), アメロブラスチン (AMBN) といったエナメルタンパク質とは発現時期および局在が異なるのが特徴である。しかし、エナメル質の形成、成熟および構造、歯周組織の発生および恒常性に対するアメロチンタンパク質の機能はまだ分かっていない。AMEL, AMBN などのエナメルタンパク質の遺伝子欠失および過剰発現マウスの研究が盛んに行われ、それらの表現型はいずれもエナメル質形成不全や石灰化不全を呈することが知られている。そこで今回、AMTN 遺伝子欠失マウス (ko マウス) の表現型を組織学的に分析し、エナメル質形成および成熟への影響を組織学的に分析し、考察したので報告する。

【材料および方法】

まず最初に、AMTN 遺伝子翻訳開始点を含む Exon2 を *LacZ/neo* 遺伝子に置換し、AMTN 遺伝子ヘテロマウス (het) を作成し、het マウス同士を交配させて AMTN ko マウスを得た。Genotyping は、マウスから抽出した DNA を用いて、サザンブロット解析および PCR 解析によって行った。Wild type (wt) マウスおよび AMTN ko マウスの下顎切歯を用いて、パラフィン包埋による脱灰組織切片を作製し、HE 染色法および免疫染色法により、組織学的差異および他のエナメルタンパク質の局在の差を調べた。さらに走化型電子顕微鏡分析 (SEM 分析) にて、矢状断および水平断方向の断面を観察することによって、エナメル質形成各段階におけるエナメル質の厚さおよびエナメル小柱構造を分析した。透過型電子顕微鏡分析 (TEM 分析) においては、水平断方向の断面を観察することによって、アメロチンタンパク質の局在するエナメル芽細胞層の内基底層を観察した。

【結果および考察】

AMTN ko マウスの下顎切歯は均一な灰白色を呈し、著しい咬耗認めた。HE 染色法では、AMTN ko マウスの下顎切歯水平断切片のエナメル空隙に、エナメル基質が長期にわたり、エナメル質形成成熟期まで残存していた。免疫染色法において、AMEL, AMBN, エナメルリン (ENAM), オーダム (ODAM) およびマトリックスプロテアーゼ20 (MMP20) の発現パターンは、wt および ko マウスにおいて差は認めなかったが、カリクレイン4 (KLK4) の局在は、wt マウスと比較すると、ko マウスで遅延して認められた。SEM 分析の結果、HE 染色法の結果と同様に、AMTN ko マウスにおいて、エナメル質中にエナメル基質残存を認めた。さらに、エナメル質表層に近い小柱構造を比較すると、AMTN ko マウスは wt マウスに比べて、不均一な疎な構造を呈していた。また、TEM 分析では、AMTN ko マウスにおいて、エナメル質形成成熟期までに及んで、エナメル芽細胞基底層に沿ったエナメル基質の残存認めた。エナメル芽細胞の形態的特徴に差を認めなかった。

これらの結果から、AMTN ko マウスのエナメル質は、エナメル基質の残存によるエナメル質石灰化不全を認め、それは、KLK4 の発現の変化によって引き起こされたエナメル基質のエナメル芽細胞への再吸収の遅延とエナメル質中の残存が関与していることが示唆された。

高グルコースは NF- κ B 経路を介してヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞分化を抑制する

¹大阪歯科大学 歯周病学講座, ²大阪歯科大学 口腔病理学講座
○嘉藤弘仁¹, 田口洋一郎¹, 野口正皓¹, 山内伸浩¹, 富永和也², 田中昭男², 梅田 誠¹

High glucose concentration inhibits osteoblastic differentiation in human periodontal ligament stem cells through NF- κ B signal pathway

Osaka Dental University, ¹Department of Periodontology, ²Department of Oral Pathology
○Hirohito Kato¹, Yoichiro Taguchi¹, Masahiro Noguchi¹, Nobuhiro Yamauchi¹, Kazuya Tominaga², Akio Tanaka², Makoto Umeda¹

【目的】

ヒト歯根膜幹細胞 (hPDLSCs) は歯周組織再生に重要な役割を担うことが明らかになってきた。糖尿病は高血糖状態が慢性化し、様々な臓器に障害を引き起こす疾患であり、糖尿病は歯周病の重要なリスクファクターのひとつであるともされている。また nuclear factor kappa b (NF- κ B) は硬組織形成阻害に関与しており、糖尿病とも関係していると報告されている。しかし、糖尿病が歯周組織再生に及ぼす影響やその分子メカニズムは十分に解明されていない。そこで、本研究では4種のグルコース濃度に調整した培地を糖尿病モデルとして実験に使用し、hPDLSCsの細胞増殖と硬組織分化誘導の発現、NF- κ B 経路への影響について検討を行った。

【材料および方法】

hPDLSCs はヒト抜去歯の歯根膜より剥離・細切し、酵素処理により得られた初代培養細胞で、間葉系幹細胞マーカー (STRO-1, SSEA-4) の免疫組織化学的染色にて分離・同定を行った。hPDLSCs を4種のグルコース濃度 (5.5 mM, 8.0 mM, 12.0 mM, 24.0 mM) に調整した糖尿病モデル培地で培養し、細胞増殖、Runx2 mRNA の発現、Alkaline phosphatase (ALP) 活性、ALP 染色、Osteocalcin (OCN) 産生量、ギ酸抽出によるカルシウム析出量の測定、および Alizarin red 染色による石灰化物形成能について検討を行った。さらに western blot 法により I κ B α , NF- κ B タンパク発現を検討し、糖尿病モデル培地によって誘導される NF- κ B 経路の関与を検討した。また糖尿病モデル培地が NF- κ B 経路に及ぼす影響について NF- κ B 経路阻害剤 (BAY-117082) を用いて同様の実験を行い、検討を行った。なお、本実験は大阪歯科大学医の倫理委員会 (110764 号) の承認を得て行った。

【結果】

- 1.細胞増殖能は培養開始 1, 3, 5, 7 日のいずれにおいても高グルコース群で有意に抑制された。
- 2.Runx2 mRNA の発現は培養開始 7 日において高グルコース群で有意に活性化された。
- 3.ALP 活性, ALP 染色は培養開始 14 日において高グルコース群で有意に抑制された。
- 4.OCN 産生量は培養開始 21 日において高グルコース群で有意に抑制された。
- 5.カルシウム析出量と石灰化物の形成量は培養開始 21 日において高グルコース群で有意に抑制された。
- 6.I κ B α , NF- κ B タンパク発現は高グルコース濃度群で有意に増強した。
- 7.BAY-117082 によって、高グルコース濃度による細胞増殖と骨芽細胞分化の抑制を有意に改善した。

【考察】

以上の結果より、高グルコース濃度によって、hPDLSCs の細胞増殖、中期~後期の骨芽細胞分化を抑制し、NF- κ B 経路を活性化させることが示唆された。また、高グルコース濃度による hPDLSCs の細胞増殖、骨芽細胞分化の抑制は NF- κ B 経路によって制御されることが示唆された。したがって、糖尿病による高血糖状態は NF- κ B 経路を介して、歯周組織の再生を阻害する可能性が示唆された。

Osterix の下流にある ZBTB16 はヒト歯根膜由来間葉系幹細胞における 骨芽細胞分化を制御する

1: 東京医科歯科大学 歯周病学分野 2: 東京女子医科大学 先端生命医学研究所

3: 東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター

○鬼塚理^{1,2}, 岩田隆紀², 朴聖俊³, 中井謙太³, 大和雅之², 岡野光夫², 和泉雄一¹

Zinc finger and BTB domain containing 16 as a downstream target gene of Osterix regulates osteoblastic differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells

1: Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences
Tokyo Medical and Dental University

2: Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University

3: Human Genome Center, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

○Satoru Onizuka^{1,2}, Takanori Iwata², Sung-Joon Park³, Kenta Nakai³,
Masayuki Yamato², Teruo Okano², and Yuichi Izumi¹

【目的】間葉系幹細胞(MSCs)は骨芽細胞分化誘導培地(OIM)で培養することにより骨芽細胞へと分化することが知られている。その分化の過程に関してはさまざまな転写因子が関与していると考えられているが、未だそのメカニズムは不明な点が多い。そこで我々は次世代シーケンサーを用いて、ヒト歯根膜由来間葉系幹細胞(hPDL-MSCs)をOIMで培養した群と通常培地で培養した群とで網羅的遺伝子発現解析を実施し、誘導培地により発現が大きく変動した遺伝子を選別したところ、転写因子である zinc finger and BTB domain containing 16(ZBTB16)の発現がOIMにより著しく上昇していることがわかった。そこで本研究ではMSCsの骨芽細胞分化におけるZBTB16の役割と既知の遺伝子群との関連性を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】ヒトの抜去歯牙より歯根膜を採取し、酵素処理により単離したhPDL-MSCsを用いて実験を行った。3種類以上の異なる検体より得られたhPDL-MSCsは10%FBS含有 α -MEMにて培養され、継代数3から6の間で使用した。OIMは上記の培地に82 μ g/mLのL-ascorbic acid phosphate magnesium salt、10mmol/Lの β -glycerophosphateと10nmol/Lのdexamethasoneを添加したものを使用した。ZBTB16の発現を調べるため、hPDL-MSCsを4, 7, 14日培養の後、qRT-PCR法とWestern blotting法を行った。次にsiRNA transfectionによりZBTB16の発現をノックダウンし、同遺伝子が骨芽細胞分化に及ぼす影響を、骨芽細胞分化マーカーであるAlkaline phosphatase(ALP)活性試験により確認した。siZBTB16によるhPDL-MSCsの石灰化結節形成の影響はAlizarin Red Sの染色により確認した。さらに骨芽細胞分化において重要な転写因子であるとされるOsterixをsiRNAによりノックダウンし、ZBTB16の発現を確認した。またChromatin immunoprecipitation(ChIP) assayによりOsterixとZBTB16との関連性を調べた。

【結果】hPDL-MSCsを通常培地で培養した際にZBTB16はmRNA、タンパク質の発現共に検出出来なかったが、OIMで培養した際には同遺伝子の発現を検出し、経時的にその発現は上昇した。さらにsiZBTB16をhPDL-MSCsに導入することで、コントロール群と比較してALP活性の低下と石灰化結節の形成低下を認めた。またsiOsterixを導入することでコントロール群と比較してZBTB16のmRNAとタンパク質の発現は著しく低下した。さらにOsterixの抗体を用いてChIP assayを行ったところ、OsterixはZBTB16のプロモーター領域に結合することが確認された。

【結論】今回の研究により、ZBTB16は分化誘導時に顕著に発現していること、またノックダウンすることにより骨芽細胞への分化が減少することから、OIMを用いた分化誘導において骨芽細胞分化を正に制御しており、また新たな骨芽細胞分化マーカーとなりうることが示唆された。さらにOsterixの発現が減少することで、ZBTB16の発現も減少することと、転写因子であるOsterixがZBTB16のプロモーター領域に結合することから、ZBTB16の骨芽細胞分化への影響はOsterixにより制御されていることが示唆された。

真菌由来代謝産物(+)-terrein は RANKL 誘導性破骨細胞分化を抑制する

¹岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野, ²岡山大学病院 歯周科

○中川沙紀¹, 大森一弘², 山本総司¹, 小林寛也¹, 後藤絢香², 中村亜里紗¹, 山本直史², 高柴正悟¹

(+)-terrein suppresses receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL)-induced osteoclastogenesis

¹Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences, and ²Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital, Okayama, Japan

○NAKAGAWA Saki¹, OMORI Kazuhiro², YAMAMOTO Satoshi¹, KOBAYASHI Hiroya¹, GOTO Ayaka²,
NAKAMURA Arisa¹, YAMAMOTO Tadashi², TAKASHIBA Shogo¹

【目的】

歯周炎は、歯槽骨を破壊する骨吸収性疾患であり、その罹患率の高さを考えると国民病の一つと言える。超高齢化社会を迎えた我が国において、口腔機能を維持することは健康寿命を延伸する上でとても大切である。そのためにも、成年期・高齢期における歯の喪失原因第1位である歯周炎の効率的な予防・治療法を開発することが求められ、感染と炎症を制御して歯周組織の破壊を抑制する薬剤の開発が継続している。

真菌の一つである *Aspergillus terreus* が産生する代謝産物(+)-terrein は、抗炎症効果を有することが示唆されている。我々は、歯肉線維芽細胞において、有機化学的に合成した(+)-terrein が炎症性サイトカインの一つである interleukin-6 (IL-6) の細胞内シグナル伝達を抑制し、血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor; VEGF) の産生をも抑制することを報告した (Mandai H, Omori K *et al*, *Bioorg Med Chem*, 2014)。IL-6 は歯周炎や関節リウマチといった炎症性骨吸収を主病態とする疾患の発症と進展に深く関与していることが報告されており、炎症性骨吸収の進行を抑制する上で非常に重要なターゲット因子の一つである。しかし、IL-6 の細胞内シグナル伝達を抑制する(+)-terrein が、炎症性骨吸収に関与する破骨細胞の分化に及ぼす影響は不明である。

本研究では、(+)-terrein が、receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) 誘導性の破骨細胞分化に及ぼす影響を、マウス骨髄由来マクロファージ様細胞 (mouse bone marrow-derived macrophages; mBMMs) を用いて検討した。

【材料および方法】

細胞および培養: 雄性マウス (BALB/c, 4~12 週齢) の大腿骨および頸骨から骨髄細胞を採取した。採取した骨髄細胞は、10% ウシ胎児血清 (FBS) およびマクロファージコロニー刺激因子 (M-CSF, 50 ng/ml) を含有する α MEM (Invitrogen) を用いて、37 °C, 5% CO₂ 存在下で3日間培養した。3日間の培養後、培養皿底面に付着した樹状様細胞を破骨細胞前駆細胞である mBMMs として、以後の実験に用いた。

(+)-terrein の合成: (+)-terrein は、Altenbach らの報告を一部改変し、有機化学的に合成したものを用いた。なお、合成した(+)-terrein の構造は、核磁気共鳴装置およびエックス線結晶解析装置を用いて解析し、天然由来の(+)-terrein と同じ構造であることを確認している (岡山大学大学院自然科学研究科 萬代大樹博士提供)。

細胞毒性の検討: (+)-terrein の mBMMs に対する細胞毒性の検討は、MTS assay を用いて評価した。すなわち、mBMMs を 1.0×10^4 /well で 96well 細胞培養プレートに播種した後、(+)-terrein (0.001-1,000 μ M) を添加して24時間後の細胞活性を、市販の MTS アッセイキット (Promega) を用いて測定した。

破骨細胞分化に及ぼす(+)-terrein の影響の検討: mBMMs は 2.0×10^4 /well で 48well 細胞培養プレートに播種した。そして、RANKL (100 ng/ml) および M-CSF (100ng/ml) を添加して破骨細胞分化を誘導した。この実験系に(+)-terrein (0.1-10 μ M) を、① RANKL と同時、② RANKL 添加の24または48時間後、に作用させて、破骨細胞分化に及ぼす影響を検討した。破骨細胞分化への影響は、分化開始4日後の破骨細胞を酒石酸抵抗性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色によって評価した。

統計解析: 各実験結果の差の検定には Student's *t*-test を用い、P 値が 0.05 未満の場合を有意差ありと判定した。

【結果】

mBMMs に対して、(+)-terrein は以下の作用をもたらした。

1. 100 μ M 以上で、細胞活性を抑制した ($p < 0.05$)。
2. 10 μ M で RANKL と同時添加すると、破骨細胞分化を抑制した ($p < 0.05$)。
3. さらに、RANKL 誘導開始後 (24 および 48 時間後) においても、10 μ M で破骨細胞分化を抑制した ($p < 0.05$)。

【考察・結論】

(+)-terrein に RANKL 誘導性の破骨細胞分化を抑制する効果が有ることが示唆された。(+))-terrein には IL-6 の細胞内刺激伝達系を抑制する効果もあることから、慢性炎症と骨吸収を主病態とする歯周炎の治療薬または予防薬としての可能性が示唆された。

再構成歯胚を用いた接合上皮の起源の探索

昭和大学歯学部歯周病学講座
○氷室 沙羅, 相澤 怜, 関 辰明, 山本 松男

Reconfirmation of the origin of the junctional epithelium by using the bioengineered tooth germ

Department of Periodontology, Showa University School of Dentistry
○Sara Yajima-Himuro, Ryo Aizawa, Tatsuki Seki, Matsuo Yamamoto

【背景】歯周病は、歯垢中に含まれるブラク細菌由来物質の刺激で歯周組織に炎症が惹起され、エナメル質に直接付着する接合上皮が破壊されることから発症する。接合上皮の起源については、口腔粘膜とはその由来が異なり、歯原性上皮由来であると推察されていたが、接合上皮は生体内で最も固いエナメル質近傍の極めて狭い空間に位置する上に、未だに特異的のマーカが明らかにされていないことから、詳細な解析は行われていないのが現状であった。そこで、我々は、東京理科大学総合研究機構辻研究室で開発された再構成歯胚技術を応用し (Nature Methods 2007 4:227-230, Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 106:13475-80)、歯原性上皮細胞のみを GFP で標識し、接合上皮の形成過程を観察することで、その起源を明らかにした。すなわち、GFP トランスジェニックマウスの歯原性上皮組織と同系野生型マウス間葉組織から歯胚を再構成し、同系成獣の口腔内に移植し、再構成歯の萌出過程を観察した。その結果、萌出した再構成歯の接合上皮部分のみが GFP 陽性となった。このことは、エナメル質を形成した歯原性上皮が口腔上皮と癒合し、1 次接合上皮を形成することを直接示す根拠となった。(Sci Rep. 2014 4:4867)

【目的】今回、我々は、野生型マウス (WT マウス) の歯原性上皮組織と GFP トランスジェニックマウス (GFP マウス) の間葉組織から歯胚を再構成し、同系成獣の口腔内に移植し、再構成歯の萌出過程を観察することによって、接合上皮の起源が歯原性上皮由来であることを再確認することとした。

【材料および方法】WT マウス歯胚 (E15) より歯原性上皮組織を、GFP マウス歯胚 (E15) より間葉組織を採取し、組織再構成を行い、上皮が WT 由来、間葉が GFP (+) 由来のキメラ歯胚を作成した。この歯胚を、事前に上顎第一大臼歯を抜歯し、治癒を確認した GFP マウスの上顎第一大臼歯相当部に移植・萌出させた。その後、WT 細胞の局在を観察することにより、接合上皮の由来を追求した。さらに、天然歯の接合上皮と再構成歯胚由来の接合上皮で、機能的に差異があるか確認するため、天然歯の接合上皮で過去発現が確認されている S100A8 の発現を解析した。

【結果】移植後 50 日 (萌出完了) で、再構成歯が咬合面に達した。このとき形成されていた接合上皮は、WT 由来細胞で構成されており、GFP 陽性細胞を含めなかった。このことより、再構成歯由来の接合上皮は、歯原性上皮由来であることが示された。また、再構成歯、天然歯ともに、S100A8 は接合上皮の先端で発現が確認された。

【考察】以前より、接合上皮の起源は、歯原性上皮の一種である退縮エナメル上皮であると推察されていたが、歯原性上皮、接合上皮の特異的のマーカが存在しないため、これまで確定的な報告はなかった。本研究で我々が用いた再構成歯胚技術は、歯原性上皮のみをモニターすることが出来るため、本研究の目的を遂行するにあたり、非常に有効な手段であった。また、少なくとも接合上皮における S100A8 の発現において、天然歯と再構成歯で差異はなかった。しかし、これだけで、天然歯由来の接合上皮と再構成歯由来の接合上皮に構造的・機能的な変化が無いとはいえない。今後、さらなる詳細な解析が必要である。

【結論】再構成歯胚由来の接合上皮は、歯原性上皮由来である。

青色 LED 光が歯周病原細菌と歯肉線維芽細胞に与える影響

日本歯科大学生命歯学部 歯周病学講座
○石黒一美, 大久保美佐, 倉治竜太郎, 藤田美也子, 沼部幸博

Effects of blue-light LED on gingival fibroblasts and periodontal bacteria
Department of Periodontology, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
○Hitomi Ishiguro, Misa Okubo, Ryutaro Kuraji, Miyako Fujita, Yukihiro Numabe

【目 的】

青色 LED (light emitting diode) 光は、殺菌作用を有することが知られている。歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (以下、*P. gingivalis*) は黒色色素産生菌であり、光感受性物質となるポルフィリン顆粒を有するため、光増感剤を併用せずに、青色 LED 光照射のみで殺菌効果が得られることが知られている。一方、強い青色 LED 光には視細胞障害作用を有していると報告されている。そこで、口腔内で安全に使用可能な照射条件を探索するため、青色 LED 光 (波長 : 405nm) 照射による *P. gingivalis* 殺菌作用と歯肉線維芽細胞に対する細胞毒性を検討した。

【材料および方法】

1. *P. gingivalis* の菌液調整

P. gingivalis (ATCC33277 株) は血液寒天培地にて嫌気培養後、コロニーを hemine / menadione 含有 Brain Heart Infusion (BHI) 液体培地に移し、48 時間 嫌気培養した。その後、遠心分離して *P. gingivalis* を集菌し、PBS にて洗浄、光電比色計にて O.D. = 0.3 (測定波長 : 600 nm) に調整したものを菌液として用いた。

2. 歯肉線維芽細胞の培養

ヒト正常歯肉線維芽細胞株 (以下、Gin-1 (株) DS ファーマバイオメディカル) を使用した。Gin-1 を 96 well プレートに 1,500 cells/well になるよう播種し、10%FBS 添加 DMEM/F12 培地で 24 時間培養した。

3. 青色 LED 光 (波長 405nm) の照射条件

照射出力 0.1、0.2、0.3 W として、それぞれ単位面積当たりのエネルギーが 10、20、30 J/cm² となるように照射時間を変え、9 通りの照射条件とした。

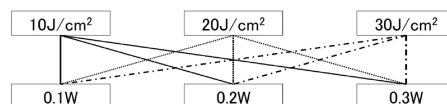


Fig.1 Irradiation conditions of blue-light LED

4. *P. gingivalis* 殺菌能の評価方法

LED 照射後、希釈した菌液を血液寒天培地に塗布し、7 日間嫌気培養後にコロニー数を計測した。

5. 細胞毒性の評価方法

LED 照射後 48 時間培養し、Cell Counting Kit-8 ((株) 同仁化学研究所) を用いて通法に従い評価した。すなわち、Cell Counting Kit-8 溶液を添加し、炭酸ガスインキュベータ内で 2 時間静置、マイクロプレートリーダーにて吸光度 (測定波長 : 450 nm) を測定した。

6. 統計学的解析

Mann-Whitney の U 検定を用い、有意水準 5% とした。

【結 果】

1. *P. gingivalis* の殺菌作用

すべての照射条件においてコロニー数が有意に減少し、青色 LED 光による殺菌作用が得られた。

2. Gin-1 細胞に対する細胞毒性

20 J/cm²・0.3 W と 30 J/cm² ではすべての照射出力で生細胞数が減少し、細胞毒性が見られた。

【考察および結論】

青色 LED 光は光増感剤と併用しなくても *P. gingivalis* に対する抗菌作用を有している。しかしながら、照射出力、単位面積当たりのエネルギーが大きくなると細胞毒性が強くなることが明らかとなった。これらのことから、口腔内で用いる場合には安全性を考慮し、適切な照射条件を更に検討する必要があることが示唆された。

ヒト口腔上皮細胞と歯肉線維芽細胞において低酸素環境が誘導する遺伝子発現の比較

徳島大学大学院医歯薬学研究部歯周歯内治療学分野

○木戸淳一, 板東美香, 中島由紀子, 梶浦由加里, 稲垣裕司, 生田貴久, 坂本英次郎, 成石浩司, 永田俊彦

Comparison of hypoxia-induced gene expression in human oral epithelial cells and gingival fibroblasts

Department of Periodontology and Endodontology, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School

○ KIDO Jun-ichi, BANDO Mika, NAKAJIMA Yukiko, KAJIURA Yukari, INAGAKI Yuji, SAKAMOTO Eijiro, NARUIISHI Koji, NAGATA Toshihiko

【目的】

歯周ポケット内では嫌気性歯周病原細菌が生存することから低酸素環境であると考えられる。生体が低酸素環境に暴露されると Hypoxia-inducible factor (HIF) を介して炎症や血管新生などの反応が生じる。歯周ポケット周辺の組織中にも HIF が存在し、低酸素環境が歯周組織に対して炎症などの影響を及ぼしていると推察される。私たちは、低酸素環境と歯周病原細菌リポ多糖が、口腔上皮細胞において炎症関連因子や血管新生因子などの遺伝子発現を増加させることを報告した(平成 26 年度日本歯科保存学会春季学術大会)。しかしながら、歯周組織破壊が進行する過程で低酸素症の影響は結合組織にまで及ぶと考えられる。そこで本研究では、低酸素環境が口腔上皮細胞および歯肉線維芽細胞の遺伝子発現に及ぼす影響について比較検討を行った。

【材料と方法】

ヒト口腔上皮細胞(TR146 細胞)および歯肉線維芽細胞を通常の条件でサブコンフレントまで培養し、その後低酸素環境下にて(1% O₂)24 時間培養した。培養細胞から通法に従って RNA を抽出し、DNA マイクロアレイ分析(Human Gene 1.0 ST Array: Affymetrix)および RT-PCR 分析を行い、低酸素環境による口腔上皮細胞と歯肉線維芽細胞での遺伝子発現の変化を比較検討した。

【結果】

炎症関連遺伝子の IL6 では、低酸素環境によって線維芽細胞で発現が増加する一方、上皮細胞では逆に減少した。IL8 は、低酸素環境により上皮細胞で発現が増加し、線維芽細胞で減少した。また、TGFB や TNFA は上皮細胞で発現が上昇したが、線維芽細胞では変化は認められなかった。さらに、低酸素環境により上皮細胞で CCL20 や同 28 の発現が増加したが、IL1B および複数の CXCL は両細胞とも遺伝子発現の著しい変化は認められなかった。血管新生や拡張に関連する因子として、VEGFA は上皮細胞と線維芽細胞で低酸素環境によりその遺伝子発現が増加し、ADM(adrenomedullin)と ANGPTL4(angiotensin-like 4)は両細胞で発現増加がみられ、特に上皮細胞において著しい増加を示した。細胞接着関連因子では、低酸素環境により線維芽細胞の ICAM1 や ITGB8(integrin8)の発現の増加がみられ、上皮細胞では CLDN(claudin)1 と同 16 の発現低下が認められたが、CDH(cadherin)群では両細胞において著しい発現変化はなかった。細胞外基質では、低酸素環境により上皮細胞の FN(fibronectin)と laminin(LAM)B3 の発現が軽度増加したが、COL(collagen)や TNC(tenascin C)の発現変化は上皮細胞および線維芽細胞ともに認められなかった。MMP, AST や cathepsin などの酵素の遺伝子については両細胞ともに低酸素環境による著しい発現変化は認められなかったが、グルコーストランスポーターの GLUT1 遺伝子(SLC2A1)は、両細胞において低酸素環境による発現増加がみられた。

【考察】

低酸素環境は、血管関連因子については口腔上皮細胞と歯肉線維芽細胞で類似した遺伝子発現の増加を引き起こすが、炎症や組織破壊については異なる遺伝子発現調節を介して誘導する可能性が示された。歯周病において低酸素環境は、歯周ポケット周辺の複数の細胞に対して、複雑な反応と経路を介して歯周病病態に影響を及ぼしていると考えられる。

歯周炎と血液・尿中バイオリジカルマーカーとの関連解析

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野¹, 口腔保健学分野²

○中島 麻由佳^{1,2}, 多部田 康一¹, 宮内 小百合¹, 杉田 典子¹, 小松 康高¹, 本田 朋之¹,
高橋 直紀¹, 宮澤 春菜¹, 有松 圭¹, 皆川 高嘉¹, 松田 由実^{1,2}, 佐藤 圭祐^{1,2},
山崎 和久², 吉江 弘正¹

Clinical analysis of the relationship between periodontitis and Biological markers

Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science¹,

Laboratory of Periodontology and Immunology, Division of Oral Science for Health Promotion²,

Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Nakajima M^{1,2}, Tabeta K¹, Miyauchi S^{1,2}, Sugita N¹, Komatsu Y¹, Honda T¹, Takahashi N¹, Miyazawa H¹,
Arimatsu K¹, Minagawa T¹, Matsuda Y^{1,2}, Sato K^{1,2}, Yamazaki K², Yoshie H¹

【研究背景および目的】

歯周炎罹患に伴う局所の炎症応答及び全身的な応答を反映して、炎症性サイトカイン等のバイオリジカルマーカーが変動することが報告されている。また、特に血中バイオリジカルマーカーは歯周炎と糖尿病、動脈硬化性疾患等の全身疾患との関連において、バイオリジカルマーカー自体が生体分子として機能することで疾患の発症や進行に関与する可能性が示唆されている。歯周病の検査において、バイオリジカルマーカーの検査を応用することは、歯周炎に伴う生体応答を定量的に評価できるだけではなく、全身疾患のリスク評価をも可能とし、全身への影響を考慮した治療方針の立案・選択に有用な情報をもたらす可能性を持つ。さらに、バイオリジカルマーカーはその検査の簡便性から歯科医の検査によらない歯周炎罹患のスクリーニング等への応用も期待される。

そこで今回、一般健診項目に加えて新たなバイオリジカルマーカー群と歯周病検査結果との関連解析を行い、歯周炎罹患と関連するバイオリジカルマーカーの検索を行った。

【材料および方法】

被検者は、企業健診において本研究に同意を得た男性 109 人を対象とした。一般健診項目のための問診・採血・採尿を実施後、歯周病検査・縁下プラーク及び唾液サンプルの採取を行った。縁下プラークは歯周病検査における Probing Depth (PD) の最深部を対象として 45 号のペーパーポイント (2 本) を用いて採取した。唾液は、検査用ガムを 5 分間咀嚼した刺激時唾液を 1ml 採取した。

被検者を PD4mm 以上の部位を有する Periodontitis 群と全歯 PD3mm 以下である Healthy 群に分類し、各群における血液・尿中マーカー及び縁下プラーク・唾液中の細菌検出率等に関して比較を行った。また、血液・尿中バイオリジカルマーカーと歯周病検査・細菌検査値等との相関分析を行った。統計分析には、対応のない t 検定または Welch の t 検定、Pearson の積率相関を用いた。

【結果と考察】

Periodontitis 群と Healthy 群において年齢・BMI・喫煙状況について有意差は認められなかった。Healthy 群と比較して、Periodontitis 群の血液バイオリジカルマーカーでは酸化 Low Density Lipoprotein (LDL)_{LDL_{small dense}}、高感度 CRP に加えて LDL 受容体分解因子である Proprotein Convertase Subtilisin Kexin 9 (PCSK9) が有意に上昇していた。尿中マーカーでは慢性腎臓病患者において尿細管機能障害の診断に用いられる β 2-microglobulin/Creatinine (β 2-MG/Cre), α 1-MG/Cre, N-acetyl- β -D-glucosaminidase/Cre, Liver-type Fatty Acid Binding Protein/Cre 等のマーカーが有意に上昇した。また、PCSK9 と Bleeding on Probing (BOP) 陽性率及び平均 PD, α 1-MG/Cre と平均 PD に有意な相関が認められた。さらに、PCSK9 濃度を指標として歯周炎罹患の有無について ROC 曲線を作成すると、従来の口腔細菌検査及び血清中細菌抗体価よりも高い Area Under the Curve (AUC=0.754) が得られた。

【結論】

歯周炎罹患と関連する血液・尿中バイオリジカルマーカーが存在する。歯周炎による全身応答の評価及び歯周炎罹患を反映する血中バイオリジカルマーカー開発の可能性が示唆された。

高精細多孔チタン膜による顎骨増生に関する研究

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⁾ 口腔機能形態学講座総合歯科診療部²⁾, 福島県立医科大学附属病院歯科口腔外科³⁾、東北大学大学院歯学研究科口腔機能形態学講座口腔システム補綴学分野⁴⁾

○石幡浩志¹⁾, 遠藤直樹²⁾, 須藤瑞樹¹⁾, 向阪幸彦¹⁾, 小松秀裕¹⁾, 丸山顕太郎¹⁾, 遠藤 学³⁾, 佐々木啓一⁴⁾, 長谷川 博³⁾

Guided bone regeneration by using precision microperforated titanium membrane

Division Periodontology and Endodontology¹⁾, Comprehensive Dentistry²⁾, Advanced Prosthetic Dentistry⁴⁾, Tohoku University Graduate School of Dentistry, Department of Dentistry and Oral Surgery, Fukushima Medical University Hospital³⁾

○Hiroshi ISHIHATA¹⁾, Naoki ENDO²⁾, Mizuki SUTO¹⁾, Yukihiko SAKISAKA¹⁾, Hidehiro KOMATSU¹⁾, Kentaro MARUYAMA¹⁾, Manabu ENDO³⁾, Keiichi SASAKI⁴⁾ and Hiroshi HASEGAWA³⁾

【緒言】骨増生術(GBR)において、移植骨の固定・維持にチタンメッシュが用いられている。一方で、チタン材表面に細胞オーダーの微細トポグラフィーを構築して、細胞付着を促進している。本研究は微細貫通孔を高密度に形成したチタン薄板の生物学的効果を検証すると共に、この新規材料をGBRに適用した際の有用性を評価した。

【材料と方法】超短パルスレーザー加工法により、厚さ20 μ mの純チタン製薄板に、孔径20 μ mの小孔を、40000個/cm²(孔間距離50 μ m)の密度で形成、実験群として供した。コントロールとして、Frios® Boneshield (FBS: DENTSPLY 社, 厚さ20 μ m, 孔径40-60 μ m, 孔間距離250 μ m以上)を用いた。各材料にMC3T3-E1(マウス頭蓋冠由来)細胞を播種して3日、および1週間培養、材料表面上における細胞付着・増殖能についてSEM像による観察を行った。次に動物試験を東北大学動物実験専門員会の承認の下で実施した。ビーグル犬(雄: 14M, n=2)に対し塩酸メドミジンおよびミダゾラム併用、筋肉内投与にて鎮静後、人工呼吸下にてイソフルラン0.5~5.0%により麻酔状態を維持した。左右下顎第4小臼歯を抜歯後、近遠心径10mm, 高さ8mm, 頬舌幅5mmの歯槽骨欠損窩洞を作製した。腸骨より自家骨を採集、ボーンミルにて粉砕し顆粒状にした自家骨を左右の窩洞に填入した左右部位を実験群とFBSで各々被覆した上、チタンスクリューで固定した。術後16週目に動物を安楽死した上で、填入部位を含む顎骨を摘出し固定、マイクロCTによる断層画像を取得したのち、ピラヌエバ染色により組織標本を作製、骨再生効果について検討した。

【結果】

3日間培養後におけるSEM像では、実験群、コントロールとも材料上に多数の細胞が存在していたが、実験群では貫通孔をアンカーとして細胞体を付着する特徴が観察された。1週間後では、実験群では夥しい数の細胞が付着し、貫通孔を横断あるいは孔内に遊走した細胞が観察された。コントロールでは付着細胞数の大幅な増加は認められず、専ら貫通孔の辺縁に付着するのが特徴であった。動物試験では剖検時において両群とも移植した自家骨の定着が認められた。移植創とチタン膜の癒着は見られなかった。実験群では移植骨による増生ボリュームが概ね維持され、血流を伴う良好な骨質が認められた。コントロールでも移植骨による骨増生が認められたが、1例ではチタン膜の変形による歯槽粘膜の裂開が生じ、骨増生量の減衰が認められた。X線像では、実験群における骨増生部は骨稜と骨髄の形成による改質が進捗している一方、コントロールでは受容創と移植骨との一体化が認められるものの、実験群と比べると増生量はやや少なく、骨移植部の骨稜形成は途上であることが認められた。組織像では実験群にて新生骨形成に伴う外縁部の皮質化と骨髄様構造の形成が明瞭であった一方、コントロールでは移植骨の残遺が見られ、実験群に匹敵する明瞭な骨稜改質には至らなかった。

【考察】

GBRの際に広く用いられるチタンメッシュは、移植骨を長期にわたり安定して維持できる利点がある一方、撤去時において周囲組織との癒着が避けられない。また、栄養透過性を有するポリマー製のバリアメンブレンは長期間の使用が困難なため、規模の大きい骨増生には適用が困難である。本研究で開発された材料は良好な栄養透過性と組織バリア機能の両立を目指したものであり、GBRにおける長期安定性を有しながら、撤去時における組織癒着を抑止する効果が期待されている。本実験では既に臨床応用されているチタン膜(Frios® Boneshield)と同様の使用法で、自家骨移植によるGBRに有効であることが示された。実験群において骨増生の成績がコントロールより優勢であったのは、開発品の貫通孔密度が大きく上回ることに加え、微細トポグラフィーによる細胞付着の促進効果が顕れたためと思われる。コントロールでは、GBR手術後に被験動物の咀嚼によってチタン膜の変形が生じた事例が見られた一方、開発品には、スペースメイキングの際に形状が維持されるよう、純チタンフレーム補強が講じられていたことで、咀嚼に伴う外力に対し、骨増生ボリュームをある程度維持する耐久性を保持していたと考えられる。

【結論】開発した多孔純チタン膜は、GBRへの適用が有効であると思われる。

S-PRG フィラー抽出液由来イオンによるマウス歯周炎モデル抑制機構の解析

東北大学大学院歯学研究科 口腔修復学講座 歯科保存学分野

○小林 洋子、兼平 正史、半田 慶介、齋藤 正寛

TOF-SIMS Analysis of the Ligature-induced Mouse Periodontitis Model treated with S-PRG Filler Eluate

Division of Operative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○IWAMATSU-KOBAYASHI Yoko, KANEHIRA Masafumi, HANDA Keisuke and SAITO Masahiro

【研究目的】

抗菌性歯科材料を用いて口腔内の細菌活性を抑制することで、う蝕および歯周炎の予防を目指した保存治療技術が開発されている。これらの歯科材料の中でも S-PRG フィラー(松風社製)は、コンポジットレジンなどに配合することにより、フッ素、ストロンチウム、ボロン、ナトリウム、アルミニウム、ケイ素イオンを徐放・再取り込みが可能であり、プラーク形成の阻害や歯周病原菌 (*P. Gingivalis*, *F. Nucleatum*) の活性化を抑制することが知られている。

我々はこれまで、マウス第二臼歯に結紮を行うことで迅速な骨吸収を伴う歯周炎モデルを用いて、S-PRG フィラー抽出液による *in vivo* での歯周炎予防効果について報告した(第141回日本歯科保存学会、2014)。本研究では、S-PRG フィラー由来イオンの歯周炎抑制機構を解析する目的に、飛行時間型質量分析計(TOF-SIMS)を用いて S-PRG フィラー抽出液中に含まれるイオンがどのように歯周組織内に分布しているかについて検討したので報告する。

【材料および方法】

①S-PRG フィラー抽出液の作製：S-PRG フィラー抽出液は、等量の蒸留水中で24時間、室温にて攪拌した後、濾過ならびに遠心により上清を分離することで作製した。

②マウス歯周炎モデル：生体内で歯周炎を再現するために、生後8週齢のC57BL/6マウス下顎第二臼歯歯肉溝に全身麻酔下で実体顕微鏡を用いてS-PRG フィラー抽出液を浸漬した5-0絹糸(フィラー糸)を挿入・結紮し、さらに術後4、8、12日にS-PRG フィラー抽出液をフィラー糸に滴下した。コントロール群では、S-PRG フィラー抽出液浸漬なしの絹糸(普通糸)を用い、抽出液の滴下は行わなかった。手術14日後に屠殺、下顎骨を摘出し、マイルドホルムにて固定を行った。

③試料作成：摘出した下顎骨は非脱灰のまま樹脂包埋し、下顎第二臼歯の近遠心根が露出するまで研削したのち、耐水研磨紙#1200を用いて研磨した。

④TOF-SIMS 分析：TOF.SIMS5(ION-TOF GmbH)を用いて Bunching mode(High mass resolution mode)で組織上のイメージング分析を行った。一次イオン種には発生量の多いBi⁺を選択し、エネルギー：25keV、電流：1.25pA、分析範囲：500×500μm²と設定した。また、チャージ補正用電子銃を併用し、金属イオンのイオン化率を上げるため、02ページを行いながら分析した(真空度2.0E-6mbar)。

【結果】

①TOF-SIMS 分析によりM2歯根周囲の組織上で、S-PRG フィラーに含まれる6つのイオンの解析が可能であった。特にストロンチウムイオンは硬組織に分布がみられ、ナトリウムイオンは主に歯根膜中に分布していた。ボロンイオン、アルミニウムイオンならびにケイ素イオンは硬組織・軟組織ともに散在性に分布していた。

②マウス歯周炎モデルにおいて歯槽骨吸収に差のみられたM2周囲ならびにM2分岐部において、S-PRG フィラー抽出液を浸漬した糸で結紮した群では、コントロール群と比べて、ボロンイオンのシグナル分布の範囲が広がった。

【考察】 本研究では、非脱灰研磨標本のTOF-SIMS分析によりS-PRG フィラー抽出液に含まれる各種イオンの解析が可能にした。また、マウス歯周炎モデルにおいてボロンイオンの分布に差が見られたことから、歯槽骨吸収抑制機構に同一イオンが関与している可能性が示唆された。今後さらに、各種イオンの定量化ならびに歯周炎モデルを引き起こす細菌叢に対するS-PRG フィラーの影響の解析等が必要であると考えられる。

【結論】 S-PRG フィラー抽出液由来金属イオンは歯周組織の硬組織および軟組織に取り込まれ、抗菌効果を発揮している可能性が示された。

組織再生用ナノ酸化グラフェンスキャフォールドによる骨新生効果

¹北海道大学大学院歯学研究科歯周・歯内療法学教室, ²北海道大学大学院歯学研究科学術支援部

³北海道大学大学院医学研究科組織細胞学分野

○西田絵利香¹, 宮治裕史¹, 滝田裕子², 岩永敏彦³, 加藤昭人¹, 川浪雅光¹

Bone inductive effect of nano-graphene oxide scaffold for tissue regeneration.

¹Department of Periodontology and Endodontology, ²Support Section for Education and Research, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine. ³Laboratory of Histology and Cytology, Hokkaido University Graduate School of Medicine.

○Erika NISHIDA¹, Hirofumi MIYAJI¹, Hiroko TAKITA², Toshihiko IWANAGA³, Akihito Kato¹
and Masamitsu KAWANAMI¹

【研究目的】

厚さ 1 ナノメートルの単層カーボンシートであるナノ酸化グラフェン (GO) は、電気的特性、タンパク吸着性等の理工学的特性を有しており、近年では様々な生物学的特性も報告され、歯周組織等の再生医療分野への応用が期待されている。そこで我々は GO を用いた組織再生用スキャフォールドを作製、その生物学的特性評価と、イヌ抜歯窩モデルにおいて骨新生効果を検討した。

【材料および方法】

Hummers-Offeman 法によるグラファイトの酸化と化学的剥離により作成した GO (nanoGRAX(R), 三菱ガス化学)と、N-メチルピロリドンを用いて nano-GO 分散液を作製した。GO スキャフォールドは、コラーゲンスキャフォールド (テルダーミス(R), オリシパステルモバイオマテリアル) に GO 分散液を浸透させ、溶媒を除去洗浄することで作成した。GO の付着量は 1.4~2.2wt%の濃度範囲で設定した。SEM 観察、圧縮強度試験、コラゲナーゼ耐性試験、カルシウム吸着試験、MC3T3-E1 細胞を用いた細胞培養試験で GO スキャフォールドの特性評価を行った。次にラット結合組織内へ埋植して生体親和性試験を行った。ラットへの埋植後 10 日目の炎症反応を観察するとともに、GO スキャフォールドへの細胞や組織のイングロースを DNA 量測定並びに免疫組織学的染色にて評価した。またビーグル犬の前臼歯部抜歯窩に GO スキャフォールドを埋入後、2 週間後の骨新生について組織学的に評価した。なお動物実験は北海道大学動物実験委員会の審査承認を受けて行った (北海道大学動物実験委員会, 承認番号 13-76)。

【結果と考察】

SEM 観察の結果、GO はコラーゲンスキャフォールドの線維表面に薄く均一に付着しており、スキャフォールドの構造や内部空間は十分に維持され、高気孔性を維持していた。GO 分散液の濃度依存性に GO スキャフォールドの圧縮強度、コラゲナーゼ耐性およびカルシウム吸着量が増加した。細胞培養試験において、GO スキャフォールドはコントロール (テルダーミス) に比較して有意な細胞増殖効果を示した。

ラットにおける生体親和性試験の結果、GO スキャフォールドはペルオキシターゼ染色で陰性であり、活発な細胞のイングロースを認め、スキャフォールドに含まれる DNA 量は GO 濃度依存性に上昇した。コントロールではイングロースはほぼ生じなかった。免疫染色の結果、GO スキャフォールド内部にはマクロファージ、線維芽細胞がイングロースしており、血管平滑筋細胞、血管内皮細胞による管腔構造も認め、血管新生が起きていると考えられた。細胞や血管のイングロースはスキャフォールドの生体埋入後の自己組織化に有効であると思われた。

イヌ抜歯窩に埋入した結果、GO スキャフォールドでは抜歯窩内に多くの骨新生を認めた。一方コントロールでは抜歯窩の大部分は結合組織で満たされていた。新生骨形成率は GO スキャフォールドで 37%, コントロールで 3% であり、約 12 倍であった。抜歯窩に GO スキャフォールドを埋入することで生体活性が向上して、骨新生のための自己組織化が促進されたと考えられた。

【結論】 GO スキャフォールドは良好な生物学特性を有しており、抜歯窩へ埋入すると骨新生を促進した。

ダイレクト・コンバージョンによる機能的なヒト骨芽細胞の創出

京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学¹⁾

京都府立医科大学大学院医学研究科免疫学²⁾

○山本健太^{1,2)}、山本俊郎¹⁾、佐藤良樹^{1,2)}、大迫文重¹⁾、雨宮傑¹⁾、金村成智¹⁾

Direct conversion of human fibroblasts into functional osteoblasts

Department of Dental Medicine¹⁾ and Immunology²⁾,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

○Kenta Yamamoto^{1,2)}, Toshiro Yamamoto¹⁾, Yoshiki Sato^{1,2)}, Fumishige Oseko¹⁾,
Takeshi Amemiya¹⁾, and Narisato Kanamura¹⁾

【目的】

歯周病に伴う歯槽骨吸収による歯牙の喪失、顎骨内腫瘍や顎骨壊死に対する手術後の著しい顎骨欠損などは、患者のQOLとADLを著しく低下させる。骨芽細胞は骨形成を担い、骨組織再生に寄与する細胞である。もし同部位に患者由来の骨芽細胞を体細胞より効率良く誘導し骨病変部に移植することが出来れば、これら疾患に対する効果的な治療法となりうると思われる。自家骨芽細胞は、現状では間葉系幹細胞(MSC)から誘導することができるが、細胞採取に侵襲を伴い、また得られる幹細胞数が不十分な例が多い。一方、最近になって心筋細胞、軟骨細胞などが、線維芽細胞からiPS細胞を経由することなく直接誘導(ダイレクト・リプログラミングまたはダイレクト・コンバージョン)でできることが示された。そこで本研究では、細胞採取が容易な体細胞であるヒト線維芽細胞より機能的な骨芽細胞の直接誘導を試みた。

【材料および方法】

ヒト線維芽細胞にレトロウィルスベクターを用いて数種の転写因子の遺伝子(Runx2, Osterix, Oct4, L-MycまたはOct4, L-Myc)を導入し、石灰化誘導培地にて培養した。得られた細胞の性質を、石灰化基質産生能(Alizarin Red S染色, von Kossa染色)、骨芽細胞関連遺伝子発現(Real-time RT-PCR、DNAマイクロアレイ)、骨芽細胞特異的タンパク質発現(免疫蛍光染色)にて*in vitro*での評価を行った。また一過性の導入遺伝子発現による直接誘導の可否についてドキシサイクリンドライブシステムを用いて検討するとともに、誘導細胞が直接誘導であるかどうかを多能性マーカーであるNanogの発現を観察すること(Real-time RT-PCR、免疫蛍光染色)で確認した。

さらに、得られた誘導細胞を、免疫不全マウスの人為的骨欠損部位へ移植した。移植部位大腿骨を取り出した後、μCT撮影および組織切片作成を行い、*in vivo*における骨形成能も検討した。

【成績】

誘導した細胞は、骨芽細胞特異的遺伝子およびタンパクを強力に発現しており、石灰化基質の産生を行うとともに、正常骨芽細胞に類似した遺伝子発現プロファイルを示した。そしてその誘導効率は約80%とかなりの高効率を示した。また誘導した細胞を移植した群では、線維芽細胞を移植した群と比べ、骨欠損部に顕著な骨再生が観察された。なお、誘導過程において多能性マーカーを発現することはなく、一過性の導入遺伝子発現によっても骨芽細胞は誘導されることも示された。

【考察および結論】

ヒト骨芽細胞の直接誘導はこれまでに報告がなく、今技術の確立は極めて独創的かつ先進的なものである。今後この技術を発展させることで新規骨再生療法の一つとなり得る可能性が考えられる。また本研究の成果は、再生医療への応用のみならず、研究用骨芽細胞として用いることで、さまざまな骨疾患を対象とした、発症・進展機序の解明、薬剤の副作用解析、新規薬剤の開発などの用途にも有用であろうと考えられた。

IL-6 レセプター阻害による関節リウマチ患者の歯周炎症の改善

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野¹

新潟大学医歯学総合病院 歯科総合診療部²

○小林哲夫^{1,2}、小島杏里¹、島田惇史¹、吉江弘正¹

Interleukin-6 receptor blockade ameliorates periodontal inflammation in patients with rheumatoid arthritis

Division of Periodontology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences¹

General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital²

○Tetsuo Kobayashi^{1,2}, Anri Kojima¹, Atsushi Shimada¹, Hiromasa Yoshie¹

【目的】

関節リウマチ (RA) 患者では歯周炎の罹患率は健常者と比べて高いことが知られている。RA と歯周炎は病態が類似しており、共通する病因の 1 つにインターロイキン 6 (IL-6) の過剰産生が示唆されている。近年、IL-6 レセプター (IL-6R) 阻害薬トシリズマブ (TCZ) により RA の臨床的改善が認められることが多数報告されてきている。演者らは、これまでに、TCZ 投与中の RA 患者では対照 RA 患者と比べて歯周組織の炎症・破壊レベルが減少することを報告した (*J Periodontol* 2014)。しかしながら、TCZ 投与前後において歯周組織状態を経時的に観察した報告は未だない。そこで今回、歯周炎を併発している RA 患者を対象に、TCZ 投与前後における歯周臨床指標、RA 指標、血清サイトカイン濃度、および血清炎症マーカーについて比較・検討を行った。

【材料および方法】

1. 対象：新潟大学歯学部倫理委員会・新潟県立リウマチセンター倫理委員会の承認のもと、同センターを受診し、インフォームドコンセントが得られ、TCZ 投与予定の歯周炎併発 RA 患者 20 名を対象とした。
2. プロトコル：投与直前 (ベースライン) と投与 3、6 カ月後に、歯周検査、RA 検査ならびに血清検査を行った。
3. 検査：歯周検査では、歯肉炎指数 (GI)、プロービング時出血 (BOP)、プロービング深さ (PD)、臨床的アタッチメントレベル (CAL)、RA 検査として、疾患活動度 (DAS28)、疼痛・腫脹関節数、Visual Analogue Scale (VAS)、血清検査として、リウマトイド因子 (RF)、抗環状化シトルリン化ペプチド抗体 (抗 CCP 抗体)、C 反応性蛋白 (CRP)、マトリックスメタロプロテアーゼ-3 (MMP-3)、IL-6、可溶性 IL-6R (sIL-6R)、可溶性 glycoprotein 130 (sgp130)、TNF- α 、IL-17、免疫グロブリン G (IgG)、serum amyloid A (SAA) の血清濃度を各々 ELISA 法にて測定した。
4. 統計解析：Friedman test、Wilcoxon signed rank test にて統計解析し、 $P < 0.01$ にて有意差ありとした。

【結果および考察】

研究期間中、対象者の口腔内・RA 状態で副作用は認められなかった。ベースラインと比べて TCZ 投与 3、6 カ月後にプラークコントロールレベルは同等で RA 投薬も一定であったにもかかわらず、GI、BOP、PD、CAL、DAS28、RF 濃度、抗 CCP 抗体濃度、CRP 濃度、MMP-3 濃度、TNF- α 濃度、IgG 濃度、SAA 濃度が各々有意に低下した。一方、IL-6 濃度は 3 カ月後に、sIL-6R 濃度は 3、6 カ月後に各々有意に増加したが、sgp130 濃度と IL-17 濃度は一定であった。したがって、TCZ 投与により血清中の IL-6 および sIL-6R 濃度は一時的に増加するものの、TCZ と sIL-6R の複合体の過飽和により IL-6 trans-signaling が抑制され、その結果、他の炎症マーカー濃度が減少し、歯周組織の炎症や RA 活動度の改善がもたらされたことが考えられる。歯周局所の炎症への影響については歯肉溝浸出液を解析しておらず、今後の検討課題である。

【結論】

TCZ 投与により RA 患者の歯周組織の炎症は改善することが示唆された。

会員外共同研究者：中園 清博士、村澤 章博士、伊藤 聡博士、小林大介博士 (新潟県立リウマチセンター)

S-PRG フィラーの生体活性を有する歯科材料への応用のための細胞生物学的評価

1) 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学

2) 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

○新谷耕平¹⁾, 川木晴美²⁾, 森田侑宜¹⁾, 玄 太裕¹⁾, 近藤信夫²⁾, 堀田正人¹⁾

Cell based evaluation of S-PRG filler for application to the bioactive dental materials

1) Department of Operative Dentistry Division of Oral Functional Science
and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

2) Department of Oral Biochemistry, Division of Oral Structure, Function and Development
Asahi University School of Dentistry

○SHINTANI KOHEI¹⁾, KAWAKI HARUMI²⁾, MORITA YUKI¹⁾, GEN TAIYU¹⁾, KONDOH NOBUO²⁾, HOTTA MASATO¹⁾

【研究目的】

S-PRG (surface pre-reacted glass ionomer) フィラーは、表層から表面改質層、ガラスアイオノマー相、ガラスコアの3層構造からなる白色のフィラーである。このフィラーのガラスアイオノマー相からはフッ化物イオン (F⁻) をはじめ、ストロンチウム (Sr²⁺)、ナトリウム (Na⁺)、アルミニウム (Al³⁺)、ホウ酸 (BO₃³⁻)、ケイ酸 (SiO₃²⁻) 等の種々のイオンが放出される特性をもつ。これら、放出されるイオンの効果により抗菌性や歯質再石灰化等の効果が報告されつつある。そこで我々はこの特性を発揮する新たな歯科材料を開発するために、S-PRG フィラーより各種イオンを溶出させた抽出液に対するヒト歯髓由来細胞の応答性を培養系で評価した。

【材料および方法】

S-PRG フィラー抽出液は株式会社松風より提供を受けた。抽出液と培養液 (D-MEM) を1:1で混合し、さらにD-MEMを用いて1/2, 1/4, ... 1/512 ... と段階的に希釈し実験に用いた。96 well 培養プレートにヒト歯髓由来幹細胞 (hDPSC) を4 x 10³/wellの密度で播種し、S-PRG/D-MEM 培地を用いて培養24時間後、72時間後の細胞毒性および細胞増殖を評価した。さらに、培養7日後のアルカリホスファターゼ (ALP) 活性染色を行い分化誘導能についても評価した。対照群には通常のD-MEMを用いた。

【結果】

S-PRG フィラー抽出液の細胞毒性とhDPSCの細胞増殖を検討した結果、培養24時間後では1/100以下に希釈した場合で細胞毒性が認められなくなり、培養72時間後では1/500以下の希釈培地で細胞毒性が認められず細胞増殖も対照群と同等となった。そこで、1/8 希釈培地、1/64 希釈培地、1/512 希釈培地を用いて7日間培養後にALP活性染色を行ったところ、培養72時間後でも細胞毒性を示さない濃度である1/512 希釈培地でALP活性が認められた。

【結論および考察】

S-PRG フィラー抽出液にはホウ酸イオンが含まれており、これが抗菌性に寄与していると考えられている。一方で、抽出液を培養に用いた場合、細胞毒性を示すと考えられたことからD-MEMで段階的に希釈した培地を用いてhDPSCを培養し、S-PRG フィラー抽出液の細胞毒性の発現と、その作用の減弱についてスクリーニングを行った。そして、今回実験に用いた抽出液では1/500以下に希釈することで細胞毒性が緩和される一方で、ALP活性を上昇させることを見出した。以上より、S-PRG フィラー抽出液を細胞毒性が緩和される濃度に希釈しても石灰化等の作用が期待できることが示され、S-PRG フィラーそのもの、あるいは抽出液を応用した新たな歯科材料開発の可能性が示唆された。

歯周病原細菌計測システムの開発に関する研究

北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 歯周歯内治療学分野¹,

北海道医療大学歯学部 口腔機能修復・再建学系 生体材料工学分野²

○金田 研郎¹, 門 貴司¹, 根津 尚史², 伊藤 大輔¹, 市岡 勇輝¹, 遠藤 一彦², 古市 保志¹

A study on the development of a measurement system for periodontal pathogens.

Division of Periodontology and Endodontology¹, Division of Biomaterials and Bioengineering², School of Dentistry, Health Sciences University Of Hokkaido

○Kenro Kanada¹, Takashi Kado¹, Takashi Nezu², Daisuke Ito¹, Yuki Ichioka¹, Kazuhiko Endo², Yasushi Furuichi¹

【緒言】歯周病は複雑な構成の細菌叢と宿主との相互作用から生じるとされている。近年、歯周病の診断や治療の評価のために、歯周ポケット内に存在している菌を定性および定量化する様々な手法が開発されている。それらの手法の中で現在はペーパーポイントによって採取した検体をPCR法によって測定する方法が主流となっている。PCR法は目的菌の菌種に特異的なDNAを増幅し、既知のコピー数から定量的に測定する方法である。しかしながらサンプリング手技は経験やテクニックに左右されやすく、また検査結果の取得に数日を要する。歯周ポケット内の細菌種の特定や細菌数の定量が簡便かつ迅速に測定可能となれば、歯周病の診断や治療の評価に有用となる可能性が高い。

【目的】本研究では、特定の細菌もしくはその反応物質を簡便かつ迅速に定量する生体内情報モニターを開発することを目的とした。細菌が放出するタンパク質、細菌本体もしくはその反応物質に対する抗体をチタン表面に固定し、チタン表面における抗原抗体反応を使った計測システムの開発を目的とした。その第一歩として、チタン表面にCarboxy-EG₃-HPA (HPA) を結合させ、抗体のFc部を結合させるProtein Aを固定化する実験を行った。

【材料と方法】

実験1：チタンとHPAの結合の確認（チタン表面へのカルボキシ基の導入）

X線光電子分光分析 (ESCA) の試料として JIS 第2種の純チタンディスク (直径 5mm)、フーリエ変換赤外分光分析 (FT-IR) の試料としてチタン粉末を用意した。それぞれの試料を 0.1mmol/l HPA の THF 溶液に浸漬し、室温で溶媒を除去した。HPA を結合させたチタンはメタノール中で5分間超音波洗浄し、乾燥させた後に ESCA および FT-IR を用いてチタン表面の分析を行った。

実験2：チタン表面に結合した HPA に対する Protein A の結合の確認と最適濃度の検索

HPA を結合させたチタンディスクは、Protein A をそれぞれ 1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 25 μ g/ml, 50 μ g/ml を含有した 1.47% 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド溶液に 4℃で 72 時間浸漬し、表面に導入した HPA のカルボキシ基と Protein A のアミノ基を脱水縮合させ、ペプチド結合を形成させることによって Protein A をチタンディスク表面に固定した。固定化した後、脱イオン蒸留水で5分間超音波洗浄した。その後 ESCA を用いて N 1s スペクトルを測定し、チタン表面に固定された Protein A の量を評価した。

【結果および考察】

実験1：ESCA の結果では、HPA を結合させたチタン表面から、133.9eV の位置に HPA のリン酸基に由来する P 2p の明瞭なピークが確認され、533.5eV の位置に HPA のリン酸基に由来する O 1s の明瞭なピークが確認されたことから、チタン表面に HPA が結合していることが確認された。また、285.5eV に C 1s のピークが見られたことから、カルボキシ基がチタン表面に導入されていることが確認された。さらに FT-IR の結果では、C=O の伸縮振動 ν (1733 cm^{-1}) に由来する吸収ピークが見られた。これらの結果から、HPA がチタン表面に結合していることが確認され、加えてチタン表面にカルボキシ基が導入されていることも確認できた。

実験2：HPA を介して Protein A を固定化させたチタンディスクを ESCA を用いて分析した結果、N1s のピーク強度は Protein A の濃度依存的に上昇し、10~25 μ g/ml で一定値に達した。この結果から、HPA を介してチタン表面に Protein A を固定化させる際の最適濃度は、25 μ g/ml であることがわかった。

【結論】HPA をチタン表面に対して結合させ、チタン表面にカルボキシル基を導入できることが明らかとなった。また、HPA を介して Protein A を固定化する際の最適濃度は、25 μ g/ml であることが確認された。

Er: YAG レーザーによるインプラント周囲病変に対する効果：

臨床的、細菌学的、生化学的マーカーに関する研究

新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野

○小松 康高

Efficacy of Er: YAG laser in the treatment of peri-implant disease: a study of clinical, microbiological and biochemical markers.

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

○Yasutaka Komatsu

【目的】

Er: YAG レーザーのインプラント周囲病変に対する効果を、臨床的、細菌学的、および生化学的マーカーにおいて、テトラサイクリン軟膏の局所注入と比較検討すること。

【材料と方法】

インフォームドコンセントの得られた、インプラント周囲病変（粘膜炎＋周囲炎）を有する患者、レーザー群 18 名、テトラサイクリン軟膏群 19 名を対象とした。Baseline 時に臨床パラメーター、ポケット内細菌、インプラント周囲溝浸出液(PICF)中の生化学的マーカー検査を行った後、各々単回、レーザー群はポケットに対し、Er: YAG レーザーを照射、軟膏群はテトラサイクリン軟膏を注入した。ポケット内細菌は PCR インベーター法、末端断片長多型解析法 (T-RFLP) (網羅的解析) にて各々解析した。また、PICF 中の生化学的マーカーとして、IL-1 α , β , IL-6, 8, TNF- α , CRP, MMP-1, 3, 9, 13 の測定を行った。1 ヶ月、3 か月後に再評価した。なお、本研究は、新潟大学歯学部、朝日大学歯学部、大阪歯科大学歯学部倫理委員会にて研究プロトコル承認の上、行われた。

【結果と考察】

①ポケット内細菌は、軟膏群で術後に、総菌数と *T. forsythia* の減少傾向が認められた。一方、レーザー群では術前後で有意差は認められなかった。

②網羅的細菌解析では、グラム陰性、陽性細菌に分けて解析した結果、軟膏群ではともに術後に有意に減少したが、レーザー群では有意差は認められなかった。

③PICF 中の生化学的マーカー解析では、2 群間の比較において、3 か月で、レーザー群で軟膏群よりも MMP-9 が有意に低かった (P=0.009)。

レーザーによるバイオフィーム破壊が PICF 中の生化学マーカーの変化に関係している可能性が考えられた。

【結論】 Er: YAG レーザーは、インプラント周囲病変に対して PICF 中の生化学的マーカーの改善により、臨床的効果が期待できる可能性が示唆された。

双生児法を用いた肥満と歯周炎の関連性の解析

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)

顎口腔機能再建学講座 (歯科補綴第二教室)

○三木康史¹、山下元三¹、東山弥生¹、池上久仁子¹、津島賢一朗¹、久保田実木子¹、鈴木美麻¹、岩山智明¹、藤原千春¹、
北垣次郎太¹、柳田学¹、野崎剛徳¹、池邊一典²、北村正博¹、前田芳信²、
村上伸也¹ 大阪大学ツインリサーチグループ³

Cross sectional study between obesity and periodontal disease among elderly twins

1) Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry 2) Department of Prosthodontics,

Gerodontology and Oral Rehabilitation, Osaka University Graduate School of Dentistry 3) Center for Twin Research, Osaka

University Graduate School of Medicine

○Koji Miki, Motozo Yamashita, Yayoi Higashiyama, Kuniko Ikegami, Kenichiro Tsushima, Mikiko Kubota, Mio Suzuki, Tomoaki Iwayama, Chiharu Fujihara, Jirouta Kitagaki, Manabu Yanagita, Takenori Nozaki, Kazunori Ikebe, Masahiro Kitamura, Yoshinobu Maeda and Shinya Murakami, Osaka University Twin Research Group

〔研究目的〕 歯周炎は、歯周病原性細菌が歯周組織局所に感染することで発症し、その病態形成には、加齢の過程で暴露される様々な環境因子が関与する。これまでに我々は、一卵性双生児者 (MZ) ならびに二卵性双生児者 (DZ) における表現系の類似度を比較・解析する双生児法により、歯列解剖形態については遺伝的要因が大きい一方、残存歯数を指標とした歯周病の重篤度は遺伝的要因よりも環境要因の影響が大きいことを報告してきた (平成25年度歯科保存学会春季学術大会)。その一方、歯周炎の病態パラメータであるブローピング時の出血 (BOP) 陽性部位率、4mm以上歯周ポケット部位率、*P. gingivalis* に対する血清抗体価のペア間ばらつきは、MZ群においてDZ群よりも有意に小さく、歯周組織の炎症状態やそれに伴う生体応答には遺伝的要因が関与することを明らかにした (平成26年度歯科保存学会秋季学術大会)。近年、歯周炎と2型糖尿病、心臓血管疾患等の全身疾患との関連性が示唆されているが、肥満はこれらの慢性疾患発症のトリガーとして喫煙につぐ重要なリスクファクターであることが明らかとされており、ペリオドンタルメディスン病因論の観点からも歯周炎との関連が注目されている。しかしながら、肥満と歯周炎の因果関係、相互の作用機序は未だ多くが不明である。本研究においては、歯周炎とメタボリックシンドロームの関連性を明らかにする為に、遺伝的背景が同一あるいは関連が強い一卵性・二卵生双生児者を対象とし、歯周炎の病態パラメータと各種の肥満度指数との関連について解析、検討を行った。

〔材料と方法〕 大阪大学大学院医学研究科ツインリサーチセンターにおいて検診を受けた双生児のうち、卵生診断された148組を被験者とした。そして、各被験者に対し、以下の①～⑦の検査を実施し、各双生児ペア間における級内相関係数の検定を行った。(①残存歯数 ②ブローピング深さ (PPD) ③BOP ④平均歯槽骨吸収率：パノラマレントゲン写真をもとに、Scheiのルーラーを用い歯槽骨の吸収率をスコア化 (1, 2, 3, 4)。⑤歯周病原性細菌に対する抗体価検査：凍結保存末梢血血清を用い*P. gingivalis* (*P. g.*) に対する抗体価を測定。⑥血漿中の生化学検査：HbA1c、総コレステロール (Tcho)、トリグリセリド (TG)、HDLコレステロール、LDLコレステロール、空腹時血糖 ⑦身長、体重、BMI指数、腹位)。これらのメタボリックシンドロームに関わる指数と、歯周炎の炎症に関わる指数を相対化処理 (ペア内で高い値を示す人と低い値を示す人の群) し、各群の平均値と標準偏差を比較することで、ペア間のばらつきを評価した。

〔結果〕 双生児集団の特徴は、平均年齢 58.1 歳 (21-88 歳)、(MZ: 130 組、DZ: 18 組、男: 95 人、女: 201 人、喫煙経験: 無: 198 人 有: 52 人 喫煙者: 34 人 無回答: 12 人) 平均残存歯数 22.7 本、平均歯槽骨吸収率スコア 1.67、平均 PPD 2.67mm であった。*P. g.* 血清抗体価を測定した双生児のペア間 (MZ: 103 組、DZ: 17 組) において、糖尿病や脂質のマーカートとの有意な相関は認められなかった。なかでも Tcho、TG、LDL コレステロールと *P. g.* 血清抗体価に関しては MZ、DZ いずれのペア間においても負の相関の傾向がみられた。

〔考察並びに結論〕 今回の得られた結果からは、脂質代謝の生化学マーカーと、歯周病原性細菌の感染既往を反映する歯周炎マーカーとの相関は弱いと考えられた。

〔謝辞〕 本研究は大阪大学ツインリサーチグループによる総合的研究 (文科省特別経費) の一環として実施されたものであり、その御支援に感謝を申し上げます。また、血漿成分の生化学検査についてはバックマンコールターの御支援に感謝申し上げます。

自己血由来多血小板フィブリン膜と β -TCP による歯周組織再生効果：症例シリーズ

新潟大学大学院医歯学総合研究科、¹⁾摂食環境制御学講座歯周診断・再建学分野、²⁾顎顔面再建学講座歯科薬理学分野
○奥田一博¹⁾、中島 悠¹⁾、小林美登¹⁾、神谷真菜¹⁾、堀水 慎¹⁾、川瀬知之²⁾、吉江弘正¹⁾

Platelet-rich fibrin membrane combined with beta-tricalcium phosphate for treatment of infrabony defects in chronic periodontitis: clinical case series

¹⁾Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science and ²⁾Division of Dental Pharmacology, Department of Tissue Regeneration and Reconstruction, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences.
○Kazuhiro Okuda¹⁾, Yu Nakajima¹⁾, Mito Kobayashi¹⁾, Mana Kamiya¹⁾, Makoto Horimizu¹⁾, Tomoyuki Kawase²⁾ and Hiromasa Yoshie¹⁾

【目的】

自己血由来多血小板フィブリン (platelet-rich fibrin: PRF) 膜を β -第三リン酸カルシウム(beta-tricalciumphosphate: β -TCP) とともに歯周骨内欠損に応用し、1 年予後について臨床効果と安全性について検討した。尚、本研究は新潟大学歯学部倫理委員会の承認済み(24-R24-01-18)で患者には書面をもって十分に説明し、本研究への参加に自発的同意を得た。

【材料と方法】

(1)対象：新潟大学医歯学総合病院に入院する慢性歯周炎患者のうち、歯周基本治療を完了して同意の得られた 13 名を被験者とした。6 mm 以上のポケット(probing depth: PD)と 6 mm 以上の付着レベル(clinical attachment level: CAL)、規格エックス写真より 3 mm 以上の骨内欠損を示す 13 部位を被験部位とした。

(2)PRF 膜の作製法：患者末梢血 8.5 ml を採取し、MEDIFUGE(製造元 Silfradent srl、販売元 (株)コアフロント)にて 3000 rpm 約 10 分間遠心を行った。血清部に出来たゲル状のフィブリンを滅菌ディッシュ上で切り出した後に、特製 PRF 圧延器 (YSEC (株)山之内製作所) で厚さ約 1 mm になるように成形した。 β -TCP は、CERASORB[®]M (製造元 CURASAN AG、販売元 (株)白鵬)を用いた。

(3)評価項目：炎症評価としてプラーク指数(plaque index: PI)、歯肉炎指数(gingival index: GI)、プロービング時の出血(bleeding on probing: BOP)を測定し、臨床評価として PD、CAL、エックス線写真から計測した骨欠損深さ(radiographic infrabony defect depth: IBD)を計測した。評価は、ステントおよびバイトブロックを用いて半規格化して測定した。

(4)術式：歯肉溝切開による全層弁を形成・剥離後、徹底して病巣を搔爬して骨欠損を明示した。骨欠損部に β -TCP を填入しその上を被覆するように PRF 膜を設置して緊密に縫合した。

(5)予後：術後 14 日目に抜糸を行い 3 か月までは 2 週毎、その後 1 か月毎に専門的清掃を行い、3 か月、6 か月、1 年目に評価を行った。

【結果】

観察期間中、炎症は厳密にコントロールされ、評価ポイント間で PI, GI, BOP に差は認められなかった。さらにすべての症例について有害事象は生じなかった。臨床評価についてのデータは下記に示す。

Clinical Index	Baseline	3	6	12	Baseline vs 12Months	Δ Baseline and
		months	months	months	: p-value	12 months
PD (mm)	7.9 $\pm$ 1.6	3.2 $\pm$ 0.9	3.2 $\pm$ 0.6	3.1 $\pm$ 0.3	p <0.01	4.8 $\pm$ 1.6
CAL (mm)	9.5 $\pm$ 1.9	6.8 $\pm$ 1.3	6.6 $\pm$ 1.3	6.6 $\pm$ 1.3	p <0.01	2.9 $\pm$ 2.1
IBD (mm)	5.1 $\pm$ 1.9	2.2 $\pm$ 1.1	2.0 $\pm$ 1.1	1.9 $\pm$ 1.0	p <0.01	3.2 $\pm$ 1.2

【考察】

良好な臨床効果が得られた要因として PRF 膜の主要成分であるフィブリンネットワークが血小板を凝集し PDGF アイソフォームを高レベルで放出し、これらが細胞増殖及び血管新生を誘導 (Kobayashi et al., *Biologicals*, 2012; 40: 323-329.) したことに加え、フィブリンが創傷治癒を促進する骨帯として作用した可能性が考えられる。さらに β -TCP がスペースメイキングを維持するスキャフォールドとして作用し骨伝導能を発揮したことが考えられる。

【結論】

歯周骨内欠損部に自己血由来多血小板フィブリン膜と β -第三リン酸カルシウムをともに用いたところ 1 年予後で安全性と臨床の有効性が確認された。

ラット実験モデルを用いた歯周炎とインプラント周囲炎の病理組織学的比較

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻 展開医療科学講座 歯周病学分野

○高森雄三、中村弘隆、藏本明子、吉村篤利、鶴飼 孝、尾崎幸生、白石千秋
山下恭徳、泉 聡史、小林弘樹、小山美香、原 宜興

Histopathological studies on periodontitis and peri-implantitis in rat model

Department of Periodontology, Unit of Translational Medicine, Course of Medicine, and Dental Sciences, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○TAKAMORI Yuzo, NAKAMURA Hirotaka, KURAMOTO Akiko, YOSHIMURA Atsutoshi, UKAI Takashi, OZAKI Yukio
SHIRAIISHI Chiaki, YAMASHITA Yasunori, IZUMI Satoshi, KOBAYASHI Hiroki, OYAMA Mika, HARA Yoshitaka

【目的】

歯周炎とインプラント周囲炎の臨床症状は類似しているが、病理組織学的には異なる組織破壊像を示すといわれている。しかし両者の相違を詳細に比較した報告は少なく、その要因の一つに適切な動物実験モデルが確立していないことが挙げられる。当講座では、事前に lipopolysaccharide (LPS) で免疫感作を行ったラットの歯肉溝へ、LPS を頻回滴下することで、アタッチメントロスと歯槽骨吸収を誘導できる実験的歯周炎モデルを作製している。今回そのモデルを、ラットの抜歯窩に埋入したインプラントに応用して、実験的に誘導した歯周炎とインプラント周囲炎における組織破壊の相違を比較検討した。

【材料と方法】

ラットを、LPS の腹腔内投与により免疫感作を行う群 (I 群) と、免疫感作を行わない群 (nI 群) に分けた。そしてそれぞれの上顎右側第一臼歯を抜歯後、インプラントを即時埋入 (IP 側) して 4 週間の定着期間を設けた。上顎左側第一臼歯は天然歯のまま (NT 側) とした。次に、それぞれの群のラットの半数に対して、歯肉溝およびインプラント周囲溝へ LPS を 3 日間滴下した (LPS 群)。残りの半数には、LPS の代わりに PBS を滴下した (PBS 群)。なお滴下開始直前の群も作製し、これを baseline 群とした。3 日目の滴下 1 時間後に上顎骨を摘出後、パラフィン標本作製し、組織学的計測、Azan 染色、破骨細胞観察のための酒石酸耐性酸フォスファターゼ染色、および免疫複合体を検出するための免疫組織学的染色を行った。

【結果】

NT 側では I-LPS 群、nI-LPS 群のいずれの歯肉溝底も cemento-enamel junction に一致しており、アタッチメントロスは認めなかった。IP 側では、base line 群、nI-LPS 滴下群、I-PBS 滴下群の間では顕著な相違はなかったが、I-LPS 滴下群においてのみ、インプラント接合上皮の下方伸長、結合組織への多数の炎症性細胞浸潤、骨吸収を観察した。他の 4 群と比較して I-LPS 群では、インプラント第一スレッドからインプラント接合上皮の最根尖側までの距離が最も短く、骨吸収が有意に強く、炎症性細胞数ならびに破骨細胞数も有意に多かった。base line 群を Azan 染色で観ると、NT 側では歯頸部から歯肉の三方向へ走行する密なコラーゲン線維を認めたが、IP 側では骨膜側一方向のみで配列も疎であった。免疫組織学的染色では、I-LPS 群の IP 側において、インプラント接合上皮内、その直下結合組織に顕著な集積を認めたが、NT 側においては接合上皮内にわずかに認めるのみであった。

【結論および考察】

我々の以前の研究では、LPS 感作ラットの歯肉溝に LPS を滴下して歯槽骨吸収を起こすのに 10 日を要した。今回 3 日間の LPS 滴下では、NT 側の歯槽骨吸収およびアタッチメントロスを認めなかったが、IP 側では接合上皮の深部増殖と強い骨吸収を認めた。これは、インプラント周囲炎が歯周炎よりも早期に発症しうることを示唆していると思われる。その原因として、接合上皮下のコラーゲン線維の走行がインプラント周囲組織では一方向かつ疎であるなど、抗原の侵入に対する防御機構が弱いことが関連していると考えた。結果、抗原が拡散して免疫複合体が広範囲で形成され、古典経路の活性化、種々の炎症性サイトカインの放出、好中球浸潤の促進が誘導され、組織破壊が引き起こされたものと思われる。

今回の動物実験モデルは、インプラント周囲炎発症段階から病理組織学的に天然歯と同時に同条件で比較できる。このモデルを用いて、インプラント周囲炎の特徴の詳細をさらに明らかにすることで、インプラント周囲炎発症予防や治療に大きく貢献できると考えられる。

歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* の新規検出キットの臨床における有用性

東京歯科大学歯周病学講座¹, 東京歯科大学歯周病学講座¹, 日本大学松戸歯学部歯周治療学講座², 鶴見大学歯学部歯周病学講座³, 新潟大学大学院医歯学総合研究科 摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野⁴, デンカ生研株式会社 試薬研究開発部⁵, 昭和薬品化工株式会社⁶

○高山沙織¹, 今村健太郎¹, 齋藤淳¹, 井上英子², 中山洋平², 小方頼昌², 白川哲³, 長野孝俊³, 五味一博³, 両角俊哉⁴, 秋石和宏⁵, 渡辺香里⁶, 吉江弘正⁴

Clinical evaluation of a novel detection kit for *Porphyromonas gingivalis*

Department of Periodontology, Tokyo Dental College¹, Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo², Department of Periodontology, Tsurumi University³, Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences⁴, Reagent R&D Department, Denka Seiken Co., Ltd.⁵, Showa Yakuhin Kako Co., Ltd⁶

○TAKAYAMA Saori¹, IMAMURA Kentaro¹, SAITO Atsushi¹, INOUE Eiko², NAKAYAMA Yohei², OGATA Yorimasa², SHIRAKAWA Satoshi³, NAGANO Takatoshi³, GOMI Kazuhiro³, MOROZUMI Toshiya⁴, AKIISHI Kazuhiro⁵, WATANABE Kaori⁶, YOSHIE Hiromasa⁴

【目的】

歯周病原細菌の検査は、歯周治療における適切な抗菌薬の検討、歯周外科治療の要否の判断、また歯周治療後の評価において重要項目であるといわれている。これまで臨床では様々な細菌検査法が用いられてきたが、コストや操作性などに問題があり、チェアサイドで簡便に歯周病原細菌を検出できるシステムの開発が求められてきた。*Porphyromonas gingivalis* は種々の歯周炎の発症と進行に深く関与している。そのため、本菌の有無を歯周治療の早期に判断することは、その後の処置方針を決定する上で意義がある。

今回、歯肉縁下プラーク中の *P. gingivalis* をチェアサイドで容易に検出、半定量することのできるイムノクロマト法を用いた新規キットが開発された。我々はその臨床における有用性を検討した。

【材料および方法】

本研究は東京歯科大学、日本大学松戸歯学部、鶴見大学歯学部の倫理委員会の承認を得て行った。各施設を訪れた慢性歯周炎患者 63 名、および 28 名の健常者から本研究への参加の同意が得られ、被験者とした。初診時、臨床パラメータを計測、その約 2 週間後に歯肉縁下プラークを採取した。各歯周炎患者のブロービングデプス(PPD) 4~5 mm の部位および 6~9 mm の部位の計 2 部位からペーパーポイントを用いて採取、各健常者では最深のポケット 2 部位から採取した。*P. gingivalis* の検出には、外膜タンパク OMP40 に対するモノクローナル抗体 2 種を使用したイムノクロマト法による新規検出キットを使用した。本キット内抽出補助具を用いて細菌懸濁液を作成後、デバイスに滴加し、15 分後に *P. gingivalis* の有無の確認、陽性の場合には半定量を行った。また、残液中の同菌の定量を PCR-Invader 法を用いて行った。

【成績】

各群の全額における平均 PPD および BOP 率を比較すると、健常群と比較して歯周炎群で有意に高く、各プラーク採取部位における全ての臨床パラメータは、歯周炎群の方が有意に高かった。歯周炎群における *P. gingivalis* の検出では、本キットスコアと PCR-Invader 法で得られた細菌数との間に、強い正の相関が認められた。カットオフ値をキットスコア 0.25 および PCR-Invader 法 5 copies / μ L とすると、本キットの感度は 96%、特異度 92%、陽性的中率 90%、陰性的中率 97%、一致率 94%であり、検出限界は約 10^4 copies / sample だった。また本キットから得られた任意のスコア範囲で各検体を群分けしたところ、細菌数は各群間で有意に異なった。歯周炎群の 76%の被験者において本キットにより *P. gingivalis* が検出され、キットスコアと平均 PPD および臨床的アタッチメントレベルとの間には、有意な正の相関関係が認められた。

【考察および結論】

本キットは、歯肉縁下プラーク中 *P. gingivalis* の検出について、PCR-Invader 法とほぼ同等の結果を示した。また、*P. gingivalis* 数は異なるキットスコアの群間で有意に異なっていたことから、本キットを用いて同菌を半定量することは可能であり、歯周治療前後での細菌数変化の評価などにも有効であると考えられる。得られたスコアが歯周パラメータとの相関を示したことから、本キットが臨床において簡便、迅速な *P. gingivalis* の検査として有用であることが示唆された。

歯磨剤に配合される抗炎症剤がヒト由来細胞の サイトカイン産生に与える影響

サンスター株式会社

○木平 成子、田代 亜衣香、林 よし子

The effects of anti-inflammatory agents on cytokine production in cell lines
Sunstar Inc.

○Seiko Kinohira, Aika Tashiro, Yoshiko Hayashi

【背景および研究目的】歯周病は、細菌の感染によって引き起こされる炎症性疾患である。その進行過程において、様々なサイトカインが働くため、歯周病を予防するには、サイトカインを制御することが重要である。各種抗炎症剤はサイトカインに影響を与えることが知られているが、最適な抗炎症剤を選択するためには、炎症反応における多種類のサイトカインの挙動やそれらに対する抗炎症剤の特徴を包括的に把握する必要がある。これまでに IL-6 や IL-8 などの代表的なサイトカインについては、歯肉線維芽細胞やマクロファージにおいて、LPS 刺激により惹起され、抗炎症物質により抑制されることが知られている。しかし、その他を含む多種類のサイトカインについて、多種類の細胞を用いて、包括的に抗炎症物質の効果を調べた報告はない。そこで、ヒト歯肉線維芽細胞 (HGF-1)、ヒト歯肉上皮細胞 (Ca9-22) およびヒトマクロファージ (THP-1) において、2 種類の歯周病菌由来 *Actinobacillus actinomycetemcomitans* および *Prophyromonas gingivalis* の LPS (A.a.-LPS、P.g.-LPS) の刺激応答または歯磨剤に配合される 6 種類の抗炎症剤に対する多種類のサイトカイン産生の変化を調べる目的で本研究を実施した。

【材料および方法】《LPS 刺激に対する応答》HGF-1 または Ca9-22 をそれぞれ 10%FBS 含有培地を用いて、適当な濃度で 96-well プレートに播種し 24 時間前培養した。2 種類の LPS (A.a.-LPS、P.g.-LPS) 1 $\mu\text{g/mL}$ を添加し 24 時間培養後、17 種類 (IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17、G-CSF、GM-CSF、IFN- γ 、MCP-1、MIP-1 β 、TNF- α) のサイトカイン産生量を測定した。THP-1 を 100 nM Phorbol 12-myristate 13-acetate を用いて、ヒトマクロファージ様細胞へと分化させた後 1%FBS 含有培地に置換し 24 時間前培養した。その後 2 種類の LPS (A.a.-LPS、P.g.-LPS) 1 $\mu\text{g/mL}$ を添加し 12 時間培養後、上記 17 種類のサイトカイン産生量を測定した。
《抗炎症剤によるサイトカイン産生の変化》HGF-1 または THP-1 を上記と同様に前培養し、6 種類の抗炎症剤 (ϵ -アミノカプロン酸: ϵ -AC、アラントイン: ALA、グリチルリチン酸ジカリウム: GK2、グリチルリチン酸モノアンモニウム: GMA、 β -グリチルレチン酸: β -GR、トラネキサム酸: TXA) を添加し 24 時間培養した。A.a.-LPS 1 $\mu\text{g/mL}$ を添加し、HGF-1 は 24 時間、THP-1 は 12 時間培養後、上記 17 種類のサイトカイン産生量を測定した。

【結果】HGF-1 および THP-1 において、A.a.-LPS 刺激に対して、多種類のサイトカインにおいて応答が見られたが、Ca9-22 ではほとんど見られなかった。6 種類の抗炎症剤は、少なくとも 1 種類以上のサイトカインの産生を抑制したが、そのサイトカインの種類や抑制率は様々であった。HGF-1 において、 ϵ -AC、GK2、GMA、 β -GR および TXA は、9-13 種類のサイトカイン産生を有意に抑制した。その中でもステロイド様抗炎症剤である GK2、GMA および β -GR の抑制したサイトカインの種類数が多く、抑制率も高かった。一方、THP-1 において、ALA、GMA、 β -GR および TXA は 4-8 種類のサイトカイン産生を有意に抑制した。その中でも GMA および TXA の抗炎症効果が高かった。また GK2 は G-CSF、MIP-1 β および TNF- α の産生を有意に促進した。

【結論および考察】各種抗炎症剤のサイトカイン産生に対する影響は、細胞や抗炎症剤によって様々であることが分かった。働く細胞やサイトカインは歯周病患者それぞれにおいて異なることから、更なる研究を進めることで、歯周状態により、最適な抗炎症剤を用いた歯周病予防が出来る可能性がある。

405nm の励起蛍光によるプラークの質的評価について

昭和大学歯学部歯科保存学講座総合診療歯科学部門

○伊佐津克彦、瀧野浩之、勝又桂子、山田理、池田 哲、高島英利、長谷川篤司

A qualitative evaluation of the plaque by a 405nm light-induced fluorescence system

Department of Conservative dentistry, Division of Comprehensive Dentistry,
Showa University School of Dentistry

○ISATSU Katsuhiko, TAKINO Hiroyuki, KATSUMATA Keiko, YAMADA Michi, Kunii Maiko,
Satoshi Ikeda, Hidetoshi Takashima, HASEGAWA Tokuji.

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

従来、付着しているプラークの評価は染めだし液などを用いて行うのが一般的であるが、高齢者や在宅看護の受診者では染色後の清掃が決して容易ではない。そこで、近年、染め出しなしにプラークの蛍光特性を利用するプラーク認識システムが開発、市販に至っている。我々は第 132 回大会で、この光誘導蛍光システムによるプラークの検出は、プラーク染めだし液に比較し鋭敏でないものの、その有効性について発表した。また、第 135 回大会では、光誘導蛍光システムによるプラークの評価が歯周病原性細菌の検出に関連し、質的な評価に応用できる可能性を報告した。

本研究では、臨床でのプラークの質的評価を検討する目的で、励起蛍光で赤色を呈するプラークが、歯周病原性細菌の活動度および臨床症状との関連性について比較検討した。

【材料と方法】

対象と方法：3 ヶ月以内に、抗菌薬を服用していなく、スケーリング・ルートプレーニングを受けていない患者を対象として行った。口腔衛生指導を目的に来院した際に、患者の上顎、下顎の前歯部唇側面に存在するプラークを検体とした。これらの患者の上顎、下顎の前歯部唇側面に存在するプラークにレーザーポインター (Up 社、照出波長 405nm、出力 1mW) を励起蛍光として照射して赤色の励起蛍光を呈するプラークを識別し、患者を赤色励起蛍光を呈するプラークを有する患者群 (FP 患者群) と、同プラークを有さない患者群 (NFP 患者群) に分類した。一方、FP 患者群の同一口腔内でも、赤色励起蛍光を呈するプラーク (FP 群) と蛍光を呈さないプラーク (NFP 群) を識別し、それぞれをプローブにて採取して検体とした。

口腔内細菌の量的検討：一口腔単位で細菌カウンター (Panasonic 社製) を用い、口腔内の細菌数はレベル 1~7 の 7 段階で評価し、FP 患者群と、NFP 患者群の口腔内細菌数を計測し比較した。

プラークの質的検討：FP 患者群の口腔内から得られたプラーク検体 FP と NFP を用いて各プラークの歯周病原性を評価した。すなわち、バナペリオ (BANAMet LLC 社) を用いて各プラークの歯周病原性細菌由来のペプチダーゼ活性を陽性、偽陽性、陰性の 3 段階で検出、評価した。

臨床的評価：プロービングポケット深さ、プロービング時の出血の有無、エックス線による骨吸収の程度を評価した。

【結果および考察】

バナペリオは、歯周病の活動度との関連性が報告され、*Porphyromonas .gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* が持つ BANA 分解活性を検出する体外診断薬である。今回、405nm 励起蛍光で口腔内プラークが赤色に認識される FP 群で、バナペリオで陽性だと判定されることが多かった。これらのことと、*Pgingivalis*, *Pintermedia* の存在比が高い時に、405nm 励起蛍光で口腔内プラークの赤色による評価の差が高かった以前の報告とを併せると、405nm 励起蛍光を用いた口腔内プラークの質的評価は有効であると考えられる。今後、さらなるプラーク細菌の量的、質的検討を行うことで、405nm 励起蛍光を用いたプラークの評価が臨床で有用になると考えられた。

幅広段差植毛歯ブラシのプラーク除去効果について

¹鶴見大学短期大学部歯科衛生科, ²小林製薬株式会社

○小林一行¹, 渡辺孝章¹, 早坂奈美², 国友栄治², 玉木裕子¹, 松田裕子¹

Plaque removal efficiency of step bristle toothbrush with a wide head

¹Department of Dental Hygiene, Tsurumi Junior College, ²KOBAYASHI Pharmaceutical Co., Ltd.

○KOBAYASHI Kazuyuki¹, WATANABE Takaaki¹, HAYASAKA Nami², KUNITOMO Eiji²,
TAMAKI Yuko¹, MATSUDA Hiroko¹

【研究目的】

歯周病の予防や治療には、原因であるプラーク除去が必要不可欠であり、特に機械的な方法である歯ブラシを用いたプラークコントロールが重要である。歯ブラシの刷毛部形態および植毛状態はプラーク除去効果に大きく関わる部分であり、これを改良した様々な形態の歯ブラシが開発され研究が行われているが、臨床報告は少ない。そこで本研究は、幅広段差植毛歯ブラシ(生葉極幅ブラシ：小林製薬、大阪)の使用による歯肉の炎症改善度、プラーク除去効果および使用感について、従来の平切り植毛歯ブラシと比較検討した。

【材料および方法】

被験者は、某製薬会社研究所の研究員で歯肉に炎症があり、実験の趣旨を説明し同意が得られた23名とした。幅広段差植毛歯ブラシ群11名(男性8名、女性3名、平均31.45±8.32歳)、平切り植毛歯ブラシ群12名(男性11名、女性1名、平均34.50±7.19歳)の2群に分け調査を行った。また、ブラッシング指導は、個別にリーフレットおよび顎模型を用い十分な説明を行った。歯ブラシ刷毛部の仕様は、幅広段差植毛歯ブラシ：毛穴配列6列(つま先とかかと部分に向かって減少：つま先部2列、かかと部3列)、毛の長さ13mm(テーパー付与)、10mm。平切り植毛歯ブラシ：毛穴配列3列(つま先部は2列)、毛の長さ10mm。毛のかたさ(座屈強度)は59 N/cm²とし同等とした。

歯肉の炎症改善度を調べる目的でブラッシングを2週間実施(スクラッピング法、5分間、2回/日)、術前・術後のGingival Index (GI)を評価し、術前に対する術後のGIの割合から歯肉の炎症改善度を比較検討した。また、プラーク除去効果を調べる目的でブラッシングを1日停止した後、術前の0' LearyらのPlaque control record (PCR)を測定し、5分間スクラッピング法でブラッシングを実施、術後のPCRを測定して術前に対する術後のPCRの割合からプラーク除去効果を比較検討した。併せて両歯ブラシの使用感についての質問紙調査を実施し比較検討した。

【成績】

歯肉の炎症改善度について、幅広段差植毛歯ブラシ群、平切り植毛歯ブラシ群、両群ともに2週間のブラッシング後ではGIの有意な減少が認められ、歯肉の炎症は改善した(幅広段差植毛歯ブラシ群:0.69±0.32 → 0.41±0.25、平切り植毛歯ブラシ群:0.71±0.19 → 0.39±0.13; Wilcoxon signed-rank test, p<0.01)。また、両群間の歯肉の炎症改善度に有意差は認められなかった。プラークの除去効果について、幅広段差植毛歯ブラシ群と平切り植毛歯ブラシ群間に有意差は認められなかった(幅広段差植毛歯ブラシ群:45.48±15.25%, 平切り植毛歯ブラシ群:40.97±16.25%)。歯ブラシの使用感についての質問紙調査では、すべての項目で幅広段差植毛歯ブラシ群が平切り植毛歯ブラシ群に比べ満足度が高かった。

【考察・結論】

幅広段差植毛歯ブラシの歯肉の炎症改善度およびプラーク除去効果は、従来の平切り植毛歯ブラシと同等であった。幅広段差植毛歯ブラシは、ヘッドの幅の広さおよび段差植毛であることからプラークを短時間で効率よく除去できることが報告されている。本研究では報告されている幅広段差植毛歯ブラシと刷毛部の植毛配列が異なることや段差がより大きいために短い植毛の毛先が隣接面に入りにくいこと、また、長い植毛にテーパーが付与され先端が細くなっていることが清掃効果に影響したと考えられる。幅広段差植毛歯ブラシの使用感が良好であることは、毛先の適切な歯面への接触、使用時間の維持を可能とし、より確実なプラークコントロールの実践に有効と考える。

税務署職員における口腔衛生指導(航空自衛隊隊員との比較) 第3報

奥羽大学歯学部口腔衛生学講座¹⁾、歯科保存学講座²⁾、薬理学講座³⁾
○車田文雄¹⁾、長岡正博³⁾、廣瀬公治¹⁾、齋藤高弘¹⁾、佐藤穂子²⁾、佐々木重夫²⁾、木村裕一²⁾

Oral hygiene guidance for Tax office staff (compared with JASDF staff) III

Dept. Preventive Dentistry and Conservative Dentistry and Pharmacology Dentistry OHU University
School of Dentistry
○Fumio KURUMADA, Masahiro NAGAOKA, Kimiharu HIROSE, Takahiro SAITOH, Yasuko SATOH,
Shigeo SASAKI, Yuichi KIMURA

【 緒 言 】

先の第142回本学会を含め、3年前から当学会にて、一連の部隊口腔衛生について発表してきた。そこで前々回、職場における集団口腔健康管理の目的で、航空自衛隊第27警戒群大滝根山分屯基地の隊員等の対照群として、同じ国家公務員で勤務定時制である国税局職員の齲蝕活動性を調べる機会を得たので、その結果を発表した。そして前回、そのデータを基に各々の歯周病活動性試験の傾向を発表した。そこで今回は、齲蝕誘発性の抑止に関する歯垢非形成食品に着目して、2職場間の1ヶ月間の昼食データを基に食餌指導を実施し、若干の知見を得ることができたので、ここに報告する。

【 方法および結果 】

＜予定献立表より＞

- ① 航空自衛隊第27警戒群大滝根山分屯基地における献立(10月の昼食)1
- ② 福島県内の某税務署における献立(9月の昼食)

上記献立より、土、日、祝日を除く昼食について、食事のバランス、カロリー、塩分摂取量、歯垢非形成食品の摂取状況を調査し、なおかつ、バランスにおいては「飯塚・矢崎の分類」により、データを分析した結果、

食事のバランスでは、航空自衛隊の方が税務署より釣り合いが取れており、食事自体のメニューの工夫が凝らされていた。カロリーでは、自衛隊は「戦闘食」で1回の食事が約1,100キロカロリーの摂取と定められており、必然的に税務署よりは多めであった。塩分摂取量においては、各食事で自衛隊が3.1～9.9gの範囲であったのに対し、税務署は2.4～5.8g(定食)と少なかった。

歯垢非形成食品においては、バランスの面からしても、自衛隊の方が「野菜類、漬け物、味付けとしての酢等」が充実されており、繊維類の摂取、唾液の中和作用および分泌作用のある食材が積極的に取り込まれていた。

【 考察および結論 】

1. 食事のバランスにおいては、自衛隊では栄養士の資格の持つ隊員自らが献立を作成し、また調理に携わる隊員への指導が徹底しているために、部隊の食事に対する声の反映につながり、調和の取れた食事内容がうかがわれた。
2. カロリーでは、自衛隊は「戦闘食」で1日の食事が約3,300キロカロリーの摂取と定められており、必然的に税務署よりは多めであるが、それを消費するだけの業務を行っているため、問題ない熱量と考えられる。
3. 塩分摂取量においては、自衛隊の方が税務署より約1.5倍多めではあったが、上記の如く、業務によっては身体を動かす部署では必要量とも推測できた。また今回、税務署でのメニューでは「定食」をデータに入れたが、麺単品のメニューもあるため、塩分摂取量は2.8～7.9gとなり、さらにその麺に「ご飯付きセット(いなり寿司、おにぎり、ミニカレー、半炒飯等)」の摂取であれば、4.0～9.0gとなり、塩分の過剰摂取が危惧された。
4. 歯垢非形成食品においては、自衛隊の方では「野菜類、漬け物、味付けとしての酢等」が充実されており、生野菜の繊維類および漬け物ならびに咀嚼回数の多い食材摂取での大まかな歯垢除去、また味付けとしての酢の使用で、唾液の中和作用および分泌作用のあるメニューが積極的に取り込まれていたことにより、齲蝕活動性の低下につながることが示唆された。

シナリオベース実習を用いた体験先導型臨床基礎教育の教育効果

九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野

○諸富孝彦, 西藤法子, 吉居慎二, 平田-土屋志津, 鷺尾絢子, 市丸-末松美希, 中川愛加,
中山皓平, 大塚麻衣, 藤元政考, 松山篤史, 浦田真梨子, 花田可緒理, 宮原宏武, 北村知昭

Educational effects of the experience-led learning with scenario-based pre-clinical training

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

○MOROTOMI Takahiko, SAITO Noriko, YOSHII Shinji, HIRATA-TSUCHIYA Shizu, WASHIO Ayako,
ICHIMARU-SUEMATSU Miki, NAKAGAWA Aika, NAKAYAMA Kohei, OTSUKA Mai, FUJIMOTO Masataka,
MATSUYAMA Atsushi, URATA Mariko, HANADA Kaori, MIYAHARA Hirotake, KITAMURA Chiaki

【目的】 本学では歯科医学・医療を統合的に教育することを目的として、臨床基礎教育のうち歯の治療学、部分欠損補綴治療学、口腔機能再建治療学、口腔インプラント学および口腔外科学の各実習に共通の1人の仮想患者を設定し、初診から終診までの治療を想定したシナリオベース実習を導入し、株式会社ニッシンと共同開発した統合モデル iDSimを用いて実習を行っている。当科が担当する「歯の治療学」（う蝕学、保存修復治療学、歯内治療学および歯冠補綴学概論）は、3年次前期に学習する学生にとって最初の臨床基礎教育科目である。本科目の受講にあたり学生は1. 予習として実習毎の課題に関して自己学習レポートとして提出し、2. シナリオベースの体験実習を受講し、3. 実習後に内容に即した講義を受け、そして4. 治療技術習熟のために定着実習を行うという、講義に先駆け実習を行う体験先導型臨床基礎教育を実施している。今回、平成26年度および27年度の「歯の治療学」講義・実習最終回に実施したアンケート調査をもとに、歯の治療学におけるシナリオベース実習と体験先導型教育法の有効性について検証した。

【対象と方法】 本研究の主旨を説明し、同意を得られた第3学年の全学生（26年度：94名、27年度：97名）を対象として「歯の治療学」講義・実習最終回にアンケート調査を行った。アンケートでは1）講義前に実習を行うことについて、2）シナリオベース実習について、3）本教育カリキュラムの他教科への導入について、4）実習前に行う予習と自宅学習について、5）使用するノートブック（サブテキスト・実習書）についての各項目を調査した。

【結果および考察】 74.9%の学生が「実習が先が良い」と回答し、そのうち85.3%が「既に実習で体験した内容を講義で確認するため理解しやすい」と答え、42.7%が「実習中に理解できなかったことがあると、集中して講義を聴くことができる」と答えた。一方、「講義が先が良い」と答えた25.1%の学生のうちの83.3%が「知識を身につけた上で実習を受けたかった」と回答し、64.6%が「実習前に講義が無いと、実習の目的や内容が理解できず身が入らない」と答えた。シナリオベース実習については81.7%が「シナリオがあった方がよい」と回答した。その理由としては多くの学生が「臨床時のことが想定でき、治療を意識して実習に取り組めた」と記載した。このようにシナリオベース実習を用いた体験先導型教育についての評価は高い反面、他の教科にも導入して欲しいとの回答は59.7%にとどまった。予習に関しては「予習を行うことが苦痛だった」に「（強く）そう思う」と回答した学生は33.5%で「（全く）そう思わない」との回答（33.0%）と近似していたが、「予習に積極的に取り組めた」との問いには「（強く）そう思う」と回答した学生が「（全く）そう思わない」より多かった（60.2%/10.5%）。また「学習内容が記憶に残りやすい」にも肯定的な回答が多かった（58.1%/13.1%）。さらにシナリオをベースとした予習により「臨床の場で遭遇するような、患者の訴えや症状から疾患を想起する訓練となった」との問いに対して45.0%が肯定的であり、否定的な意見（22.5%）を上回った。以上から、講義・実習に先立ち予習を行わせることは学生にとって有用であることが示唆された。一方、「予習を行うことを通して、疑問を自分自身で解決することができるようになった」との問いには肯定的/否定的な回答が同数であり（28.3%/28.3%）、「講義以外でも自己で学習する習慣が身についた」に対しては肯定的な意見を否定的な意見が上回ったことから（22.5%/36.6%）、学生に自主学習の習慣を習得させるには至らなかった。「予習のみではその日に行う実習内容が理解できなかった」「予習課題の問題設定が曖昧で、何を調べればよいのか分からなかった」「予習課題についてもっとヒントが欲しい」の各の問いに「（強く）そう思う」と回答した学生の割合は、平成26年度と比較し27年度で低下した。27年度の予習課題を、小問に分けるなど正解を導きやすいように改善した結果と思われる。

【結論】 シナリオベース実習と体験先導型教育は臨床基礎教育法として有効であることが示唆された。

重度歯周疾患患者における
長期歯牙凍結保存後の意図的再植術 10 年経過の予後

日本大学松戸歯学部 再生歯科治療学講座

○牧村 英樹、小島 早絵、菊地 信之、長濱 文雄、和田 守康

Prognosis of replantation after 10 years for long term cryopreserved
incisor teeth in a patient with serious periodontitis

Departments of Renascent Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Hideki MAKIMURA, Sakie KOJIMA, Nobuyuki KIKUCHI, Fumio NAGAHAMA, Moriyasu WADA

【緒言】

われわれは、イヌ実験において、凍結再植歯を病理組織学に検討を行った結果、凍結期間 6 ヶ月において、歯根膜様の膠原線維の梁状骨の形成を認め、再植歯表面において、その数の減少を認めたものの、セメント芽細胞の存在と骨芽細胞の出現も認められたことから、再植歯の歯根膜組織において、6 ヶ月の長期的な凍結保存は有効であることを考え、今回、臨床に応用した。患者は上顎左右中切歯ともに最深部のポケット 7mm、動揺Ⅱ度、X線診では根長 1/2 の歯槽骨の喪失を認めた。所見でも、側方運動時に上顎左右中切歯に早期接触を認めたため、上顎左右中切歯限局の咬合性外傷を原因とする重度歯周病と診断した。咬合調整、スケーリング→SRP、RCTをおこなったが、動揺もおさまらず歯肉の退縮もあり、歯周病の顕著な改善が認められなかったため、抜歯を選択して抜歯窩の治癒を待ってから Br、義歯、インプラントなどの治療法に加えて、凍結した歯牙の再植術を提案し患者が再植術を希望したため再植術を行い再植後 1 年、3 年、5 年、10 年と臨床的検討を行った結果、若干の知見を得たので報告する。

【症例と経過】

主訴：上顎左右中切歯の動揺、出血排膿と左下 7 付近の疼痛

診断：術前検査の歯周精密検査では、上顎左右中切歯ともに最深部のポケット 7mm、動揺Ⅱ度、X線診では根長 1/2 の歯槽骨の喪失を認めた（右図）。所見でも、側方運動時に上顎左右中切歯に早期接触を認めたため、上顎左右中切歯限局の咬合性外傷を原因とする重度歯周病と診断した。

治療方針：咬合調整、スケーリング→SRP、RCTをおこなったが、動揺もおさまらず歯肉の退縮もあり、歯周病の顕著な改善が認められなかった。これらの歯頸部歯肉ラインや骨欠損形態から推測すると、GTRを含む Fop などを行ってもこれ以上の歯肉の左右非対称退縮が生じる可能性が高いため、抜歯を選択して抜歯窩の治癒を待ってから Br、義歯、インプラントなどの治療法に加えて、凍結した歯牙の再植術を提案した。

これらの選択肢の中からできれば自分の歯を生かして審美的にして欲しいという患者の希望もあり本症例では歯牙を凍結後再植し、咬合の改善をはかることにした。

治療計画：上顎左右中切歯を抜去、凍結保存後骨の状態を見て再植し、上部構造物装着を行う。

【考察及び結論】

本症例では、凍結歯の再植 1 年、3 年、7 年後、10 年後の各種検査において予後は良好であった。

これは、抜去時に歯根膜細胞の傷害を最小限に抑えられた事と、プログラムフリーザーを用いて緩速凍結を行ったことにより、歯根膜細胞の傷害を最小限にできたことが良好な結果につながったのではないと思う。

しかしながら置換性歯根吸収が発生した場合は、数年後に脱落する可能性もある。移植歯は、完全な歯根膜治癒が得られれば一生、正常歯と同様に機能することが可能とも考えられている。また、歯根膜傷害や完全な歯根膜治癒が認められない場合、再植歯に部分的に骨癒着が生じる可能性も考えられるが、骨癒着には歯根吸収を伴わないこともあり、その場合には歯根吸収が遅いことが報告されており、今回のケースではまだ歯根吸収や骨癒着の症状は確認されていないため、あと数年以上は臨床的な実用に耐えうる可能性があると考えられた。したがって、長期歯牙凍結保存後の意図的再植術は有用であることを示唆しているが、今後歯根膜の吸収やアンキローシスなどがいないか、特に歯周組織の経時的変化に注目して、長期的な経過観察を行い、更なる長期的な凍結保存を行った再植歯の組織学的研究と、歯根膜細胞の再生力を得る凍結方法および凍結温度、凍結保存液、凍害防止剤の研究が必要であると思われる。

平成 27 年 11 月 1 日 発 行

編集兼発行者

制 作 者

印 刷 所

発 行 所

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会理事長

興 地 隆 史

一般財団法人 口腔保健協会

<http://www.kokuhoken.or.jp/>

三 報 社 印 刷 株 式 会 社

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会

〒 170-0003 東京都豊島区駒込 1-43-9

(一財) 口 腔 保 健 協 会 内

電 話 03 (3947) 8891

F A X 03 (3947) 8341

特定非営利活動法人 日本歯科保存学会賛助会員名簿

賛 助 会 員 名	郵便番号	所 在 地	電話番号
アグサジャパン株式会社	540-0004	大阪府中央区玉造 1-2-34	(06)6762-8022
医 歯 薬 出 版 株 式 会 社	113-8612	東京都文京区本駒込 1-7-10	(03)5395-7638
イボクラールピバデント株式会社	113-0033	東京都文京区本郷 1-28-24 4F	(03)6903-3535
長 田 電 機 工 業 株 式 会 社	141-8517	東京都品川区西五反田 5-17-5	(03)3492-7651
カボデンタルシステムズジャパン株式会社	140-0001	東京都品川区北品川 4-7-35 御殿山トラストタワー 15F	(03)6866-7480
クラレノリタケデンタル株式会社	100-0004	東京都千代田区大手町 1-1-3 大手センタービル	(03)6701-1730
小 林 製 薬 株 式 会 社	567-0057	大阪府茨木市豊川 1-30-3	(072)640-0117
サンメディカル株式会社	524-0044	滋賀県守山市古高町 571-2	(077)582-9981
株 式 会 社 ジ ー シ ー	113-0033	東京都文京区本郷 3-2-14	(03)3815-1511
株 式 会 社 松 風	605-0983	京都市東山区福稲上高松町 11	(075)561-1112
昭和薬品化工株式会社	104-0031	東京都中央区京橋 2-17-11	(03)3567-9573
スリーエムジャパン株式会社	158-8583	東京都世田谷区玉川台 2-33-1	(03)3709-8233
タカラベルモント株式会社	542-0083	大阪府中央区東心斎橋 2-1-1	(06)6212-3619
デンツプライ三金株式会社	106-0041	東京都港区麻布台 1-8-10	(03)5114-1005
株式会社東洋化学研究所	173-0004	東京都板橋区板橋 4-25-12	(03)3962-8811
株式会社トクヤマデンタル	110-0016	東京都台東区台東 1-38-9 イトーピア清洲橋通ビル 7F	(03)3835-2261
株 式 会 社 ナ カ ニ シ	322-8666	栃木県鹿沼市下日向 700	(0289)64-3380
株 式 会 社 ナ ル コ ー ム	271-0091	千葉県松戸市本町 20-8 松戸本町第2ビル 7F	(047)364-7656
株 式 会 社 ニ ッ シ ン	601-8469	京都市南区唐橋平垣町 8	(075)681-5719
日本歯科薬品株式会社	750-0015	山口県下関市西入江町 2 番 5 号	(0832)22-2221
ネオ製薬工業株式会社	150-0012	東京都渋谷区広尾 3-1-3	(03)3400-3768
白 水 貿 易 株 式 会 社	532-0033	大阪府淀川区新高 1-1-15	(06)6396-4455
ビ ャ ス 株 式 会 社	132-0035	東京都江戸川区平井 6-73-9	(03)3619-1441
フ ィ ー ド 株 式 会 社	220-6119	横浜市西区みなとみらい 2-3-3 クイーンズタワー B19F	(045)662-4590
ヘレウスクルツァージャパン株式会社	113-0033	東京都文京区本郷 4-8-13 TSK ビル 2F	(03)5803-2151
マ ニ ー 株 式 会 社	321-3231	宇都宮市清原工業団地 8-3	(028)667-1811
株 式 会 社 茂 久 田 商 会	650-0047	神戸市中央区港島南町 4-7-5	(078)303-8246
株 式 会 社 モ リ タ	564-8650	大阪府吹田市垂水町 3-33-18	(06)6388-8103
株 式 会 社 モ リ ム ラ	110-0005	東京都台東区上野 3-17-10	(03)3836-1871
株 式 会 社 ヨ シ ダ	110-0005	東京都台東区上野 7-6-9	(03)3845-2931

(五十音順)

謝 辞

日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会（第 143 回）を開催するにあたり、下記の団体・企業等から多大なご協力を賜りました。ここに記し、御礼申し上げます。

日本歯科保存学会 2015 年度秋季学術大会（第 143 回）

大会長 松島 潔

後援・協力 団体等一覧

日本歯科医学会

公益社団法人 東京都歯科医師会

一般社団法人 千葉県歯科医師会

一般社団法人 文京区歯科医師会

一般社団法人 小石川歯科医師会

公益社団法人 松戸歯科医師会

協賛企業等一覧 （五十音順）

医歯薬出版(株)

Ivoclar Vivadent(株)

ウエルテック (株)

ウルトラデントジャパン(株)

(株)オーラルケア

長田電機工業(株)

カボデンタルシステムズジャパン(株)

キノエネ中島印刷(株)

クインテッセンス出版(株)

グラクソ・スミスクライン・コンシューマーヘルスケア・ジャパン(株)

クラレノリタケデンタル(株)

ケン・デンタリックス(株)

小林製薬(株)

(株)コムネット

(株)サンギ

サンスター(株)

サンデンタル(株)

サンメディカル(株)

(株)ジーシー

(株)ジェニシス

(株)松風

昭和薬品化工(株)

(株)シンワ歯研

スリーエムジャパン(株)

タカラベルモント(株)

ティーアンドケー(株)

デンツプライ三金(株)

(株)トクヤマデンタル

(株)ニックス

(株)ニッシン

日本アイ・エス・ケイ(株)

日本歯科薬品(株)

日本メディカルテクノロジー (株)

ネオ製薬工業(株)

パナソニック(株)

ピーロート・ジャパン(株)

(株)日向和田精密製作所

ヒューフレディ・ジャパン(株)

(株)ヒョーロン・パブリッシャーズ

(株)プロラボ・コンサルティング

ヘレウスクルツァージャパン(株)

ペントロン ジャパン(株)

マニー(株)

(株)メニコン

(株)茂久田商会

(株)モリタ

(株)モリムラ

(株)ヤマト

(株)USEN

(株)ヨシダ

ライオン歯科材(株)

(株)YDM

**The 143rd Meeting
of the Japanese Society of Conservative Dentistry, 2015**

The 143rd Meeting of JSCD, 2015

Nov. 11 (Wed)

(Nihon Daigaku Kaikan)

15 : 00-18 : 00 JSCD Director and Trustee Meeting

Nov. 12 (Thu)

(Bunkyo Civic Hall)

9 : 10-	Registration	1F Main Hall Entrance
9 : 30- 9 : 40	Opening Ceremony	Room A (1F Main Hall)
9 : 40-11 : 10	JSCD-KACD Joint English Oral Session	
		Room A (1F Main Hall)
11 : 10-12 : 10	Invited Lecture	Room A (1F Main Hall)
	“Introduction of NDBE (National Dental Board Examination) of Korea” Prof. Dong-Hoon Shin, President of KACD	
14 : 10-14 : 50	Poster Presentation (KACD)	B1F Poster Place
15 : 00-16 : 30	60th Memorial Lecture	Room A (1F Main Hall)
18 : 00-18 : 30	Ceremony for 60th Anniversary	Tokyo Dome Hotel
18 : 30-20 : 00	Welcome Party	Tokyo Dome Hotel

Nov. 13 (Fri)

(Bunkyo Civic Hall)

9 : 10-	Registration	1F Main Hall Entrance
9 : 30-10 : 30	Poster Presentation	B1F Poster Place
10 : 30-12 : 30	Symposium	Room A (1F Main Hall)
13 : 30-14 : 30	Special Lecture	Room A (1F Main Hall)
14 : 30-16 : 50	Oral Presentation	Room A (1F Main Hall)
14 : 30-16 : 30	Oral Presentation	Room B (2F Small Hall)
16 : 50	Closing	

Guideline for Presentation

The 17th Joint-Scientific Meeting between Japanese Society of Conservative Dentistry and Korean Academy of Conservative Dentistry

(Bunkyo Civic Hall, Tokyo, Japan)

Nov. 12 (Thu)–13 (Fri), 2015

Modes of presentation

JSCD-KACD joint meeting general session will include presentation in the following modes :

Invited Lecture and English Oral Session

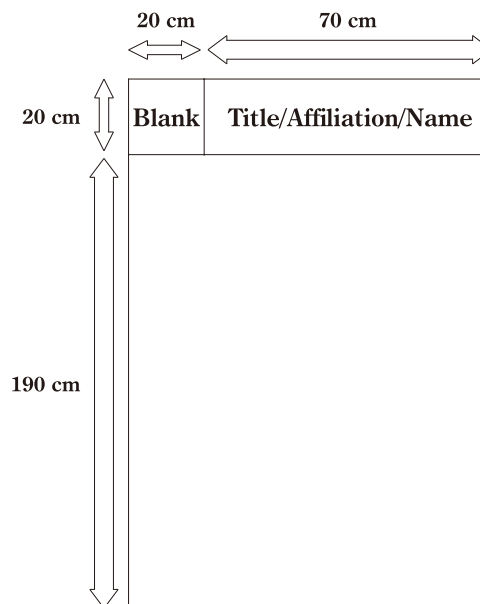
- Presentations shall be made using an LCD projector. Only one projector can be available.

The Scientific Meeting Secretariat will provide a computer running Microsoft Windows and PowerPoint, Japanese editions 2003, 2007, and 2010. Please use the standard Windows fonts. Audio and movies cannot be included. Macintosh is cannot be used.

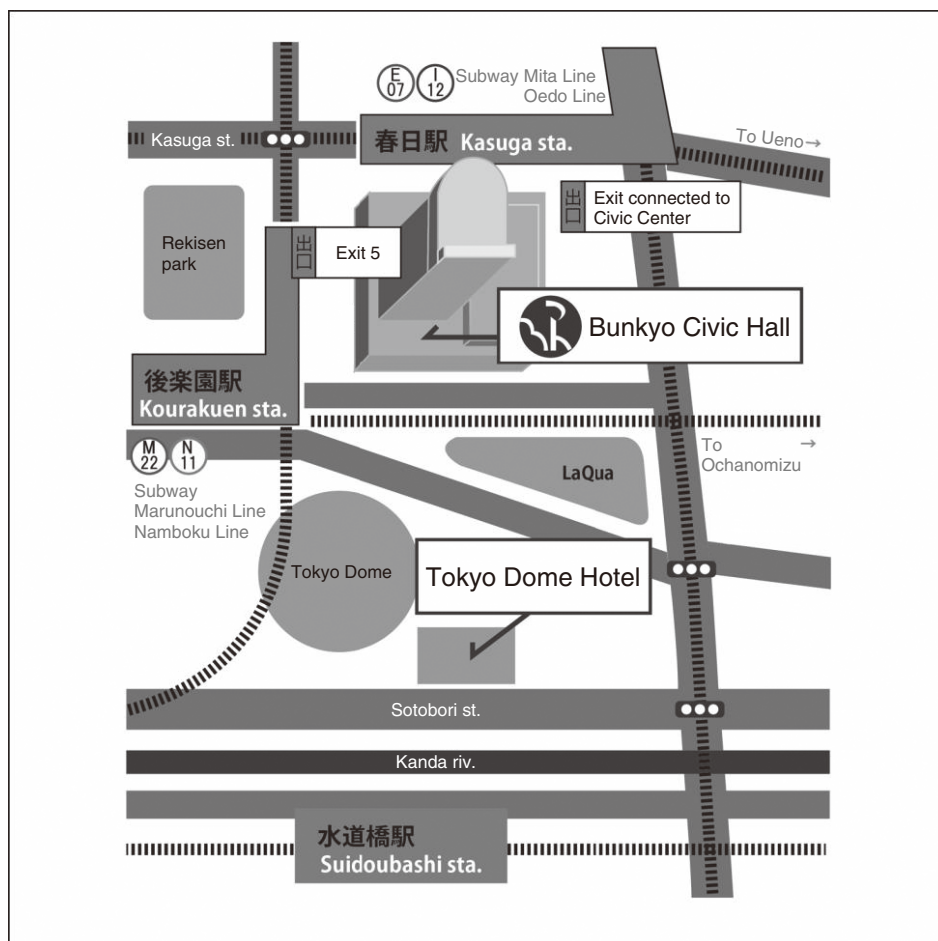
- On the day of the Scientific Meeting, please bring your presentation files on either a CD-R or USB memory drive, to the PC Reception at least one hour before your lecture starts, to check that the data can be read.
- (English oral session) One presentation should be held in 10 minutes (included 2 minutes discussion after presentation).

Poster Presentation

- Poster should be prepared from 9 : 10 am to 10 : 00 am, Nov. 12 (Thu).
- Poster should be presented on a poster board in the B1F Poster Place.
- Presenter should be prepared from 2 : 10 pm to 2 : 50 pm in front of own poster for discussion.
- Dimension of the poster is within 90 (width) × 210 (height) cm (See right).
- Letter-size of the title is more than 4 (width) × 4 (height) cm.
- Presenter's photo should be attached in the poster, 8 (width) × 10.5 (height) cm.
- Posters will be available for viewing from 10 : 00 am to 5 : 00 pm on Nov.12, and taken off from 5 : 00 pm to 5 : 30 pm on Nov.12.



Surrounding Area Map



Bunkyo Civic Hall

1-16-21 Kasuga, Bunkyo-ku, Tokyo 112-0003

TEL : +81-3-5803-1100

Tokyo Dome Hotel

1-3-61 Koraku, Bunkyo-ku, Tokyo 112-8562

TEL : +81-3-5805-2111 FAX : +81-3-5805-2200

Subway Marunouchi Line, Namboku Line : Directly connected to Korakuen Station

Subway Mita Line, Oedo Line : Directly connected to Kasuga Station

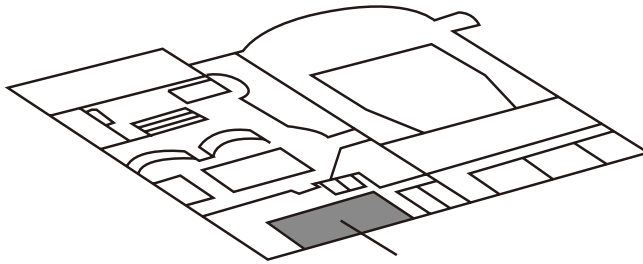
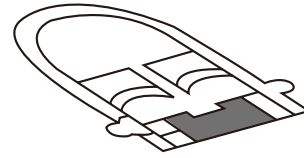
JR Chuo Line, JR Sobu Line : 10 minutes from Suidobashi Station, East exit

Floor Guide

26F

Sky Hall

- KACD anteroom
- JSCD Trustee anteroom



Room B

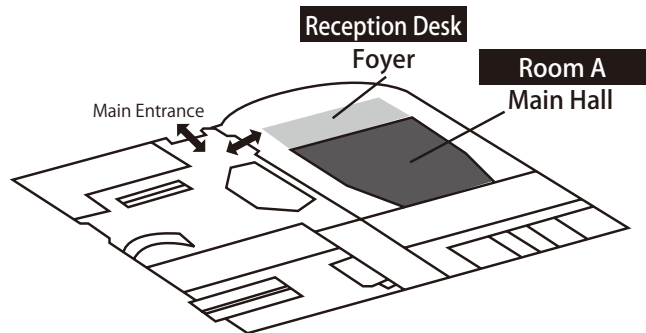
2F

Room B (Small Hall)

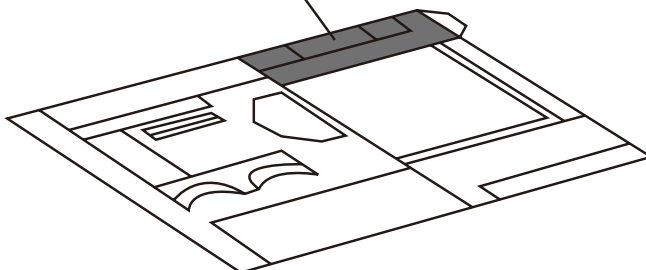
1F

Room A (Main Hall)

Reception Desk (Foyer)



Poster Place



B1F

Poster Place

発行所

東京都豊島区駒込一―四三―九
一般財団法人 口腔保健協会内
特定非営利活動法人 日本歯科保存学会

編集発行人
作

興地隆史
一般財団法人 口腔保健協会

