

着色表層下脱灰病巣に対するオフィスブリーチング剤の再石灰化促進効果  
神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔機能修復学講座 う蝕制御修復学分野<sup>1</sup>,  
顎顔面機能再建学講座 放射線応用科学<sup>2</sup>

○國松 雄一<sup>1</sup>, 飯塚 純子<sup>1</sup>, 石澤 将人<sup>1</sup>, 谷口 紀江<sup>2</sup>, 向井 義晴<sup>1</sup>

**Remineralization of stained subsurface enamel lesion promoted by in-office bleaching agent.**

Division of Cariology and Restorative Dentistry, Department of Oral Function and Restoration<sup>1</sup>,  
Department of Radiopraxis science<sup>2</sup>, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University.

○KUNIMATSU Yuichi<sup>1</sup>, IIZUKA Junko<sup>1</sup>, ISHIZAWA Masato<sup>1</sup>, TANIGUCHI Motoe<sup>2</sup>,  
MUKAI Yoshiharu<sup>1</sup>

【研究目的】

歯科分野における審美的要求の高まりから、ブリーチングを行う機会が多くなっている。临床上、う蝕を形成していないホワイトスポットやブラウンスポットといった初期う蝕がブリーチングの対象歯となることがある。エナメル質に認められる褐色斑（ブラウンスポット）は表層下脱灰病巣の形態をとるのみならず内部に有機質が侵入しており、それらが再石灰化を妨げる可能性が報告されている。そこで、赤ワインに浸漬して作製した着色表層下脱灰病巣モデルにおいて、オフィスブリーチング剤を用いた再石灰化の促進効果を Transverse Microradiography (TMR) にて評価することとした。

【材料および方法】

ウシ下顎中切歯歯冠部より 4×4 mm のエナメル質のブロックを切り出し、耐水研磨紙 2000 番まで研磨した。耐酸性バーニッシュにて 2×3 mm の被験歯面を規定し、0.1 %フッ化ナトリウム溶液（フッ化ナトリウム洗口液 0.1 %、ジーシー）を 1 分間作用させた。水道水、脱イオン水にて洗浄後、以下の 3 群に分けた。なお各群の試料数は 6 とした。1) 表層下脱灰病巣作製群 (D 群) : エナメル質ブロックを 1 ブロックあたり 10 ml の赤ワイン (SUNRISE Cabernet Sauvignon, メルシャン株式会社 pH 約 3) に 37°C の環境下で 5 日間浸漬した。2) 表層下脱灰病巣作製→再石灰化処理群 (DR 群) : 1) の浸漬終了後、28 日間再石灰化処理を行った。3) 表層下脱灰病巣作製→ブリーチング→再石灰化処理群 (DBR 群) : 1) と同様にして表層下脱灰病巣を作製後、オフィスブリーチング剤である TiON (ジーシー) の適用 3 回を 1 セットとして 2 セット行い、2) と同様に 28 日間の再石灰化処理を行った。脱水、レジン包埋し、150 μm の薄片を切り出し TMR 撮影を行った (PW 3830, PANalytical 管電圧 25 kv, 管電流 15 mA, 照射時間 20 分)。その後分析用ソフト (TMR2000, Inspektor) を用いて平均ミネラルプロファイルを作製し、平均ミネラル喪失量 (IML) と表層および病巣体部のミネラル密度を測定した。統計処理には one way ANOVA および Tukey Test を用い、有意水準 5 %にて行った。

【結果】

作製した表層下脱灰病巣モデルは、被験歯面および断面観察においても色素の侵入を認めた。TMR 分析の平均ミネラルプロファイルより、D 群はミネラル密度約 22 vol%の軽微な表層を認め、表層下脱灰病巣の形態をとっていることが確認できた。また IML については、DR 群が 7,972 vol%×μm、DBR 群が 6,441 vol%×μm となっており、両者の間に有意差を認めなかったものの、ブリーチングを行った DBR 群で再石灰化が促進される傾向がみられた。

【考察】

RAMAN 分析により着色表層下脱灰病巣モデルの表層にワイン由来の有機質が侵入していること、またブリーチングによりそれらが除去できることを本学会第 142 回学術大会において報告した。今回、表層が明瞭な着色表層下脱灰病巣を作製する目的で、フッ化物の前処理後にワインに浸漬する方法を用いた。実験結果より、非漂白再石灰化群に比較して漂白再石灰化群で再石灰化が促進する傾向がみられたことから、病巣中の有機質を除去することにより再石灰化が促進する可能性が示された。

【結論】

赤ワインに浸漬して作製した着色表層下脱灰病巣モデルに対し、オフィスブリーチングを行うことにより再石灰化が促進する可能性が示された。

## 音波式電動歯ブラシによるプラーク除去効果

<sup>1)</sup> 昭和大学歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門、<sup>2)</sup> 歯科理工学部門  
○宮本淳子<sup>1)</sup>、京泉秀明<sup>1)</sup>、真鍋厚史<sup>1)</sup>、宮崎隆<sup>2)</sup>

### Plaque removal effect by the sonic toothbrush

Department of Conservative Dentistry, <sup>1)</sup>Division of Aesthetic Dentistry and Clinical Cariology,  
<sup>2)</sup>Division of Biomaterials and Engineering, Showa University School of Dentistry  
○MIYAMOTO Junko<sup>1)</sup>, KYOIZUMI Hideaki<sup>1)</sup>, MANABE Atsufumi<sup>1)</sup> and MIYAZAKI Takashi<sup>2)</sup>

#### 【目的】

プラークコントロールは齲蝕・歯周病の予防と治療に重要な役割を果たしている。その一つに、ブラッシングがあり、手用歯ブラシと電動歯ブラシを使用して行う。手用歯ブラシは色々な種類が販売され、毛の形状と毛の硬さにそれぞれ特徴を持っている。電動歯ブラシには超音波式電動歯ブラシや音波式電動歯ブラシがあり、今回使用するソニッケアーの電動歯ブラシ（フィリップス）は音波式電動歯ブラシである。この歯ブラシの特徴は、音波水流を発生させ歯垢を効率的に除去することが出来る。そこで歯肉縁下と歯間隣接面の清掃性向上を目的として、顎模型の人工歯に人工プラークを用いて、手用歯ブラシと音波式電動歯ブラシで歯肉縁下と歯間隣接面のプラーク除去効果を比較検討した。

#### 【材料と方法】

in vitro における歯肉縁下部の人工プラーク除去効果を判定するために、顎歯列模型 (P15FE-D0T. 2 (GSE), ニッシン) と模型専用歯垢の人工プラーク (ニッシン) を用いた。まず顎模型の上顎第一大臼歯を歯肉位置でマーキングし、マーキング位置と歯間隣接面に人工プラークを塗布し、上顎第一大臼歯を所定の位置へ再度挿入し、ネジで固定した。使用した音波式電動歯ブラシは Sonicare (R) FlexCare Platinum、ブラシヘッドはダイヤモンドクリーン ブラシヘッド スタンダードサイズ、手用歯ブラシは歯科用 DENT. EX Slimhead II 33M (ライオン) を用いた。ブラッシングは上顎第一大臼歯を対象とした。音波水流の影響を受けやすいように 37°C 水面下でのブラッシングを行い、音波式電動歯ブラシではスクラビング法操作による荷重約 90gf で、刷掃時間を 2 分間・4 分間の 2 段階とした。又、手用歯ブラシではバス法を用い、荷重約 200gf で 2 分間・4 分間と設定し、プラーク除去率を比較検討した。マーキング位置から縁下部へのプラーク除去位置を 6 ヶ所で計測し、更にプラーク除去前後の規格写真を用いて、歯間隣接面のプラーク除去を比較した。なお、人工歯は各歯ブラシについて 5 個とした。

#### 【結果および考察】

音波式電動歯ブラシの結果は、Fig. に示すように歯間隣接面 2 分間ではコンタクト下部のプラークが除去できていなかった。4 分間では 2 分間に比較してそのプラークがほとんど除去されていた。歯肉縁下は、2 分間、4 分間どちらもほとんど変化はなかった。

手用歯ブラシの結果は、Fig. に示すように 2 分間、4 分間ともにコンタクト部及び、鼓形空隙 (コンタクト下部) のプラークが除去できていなかった。

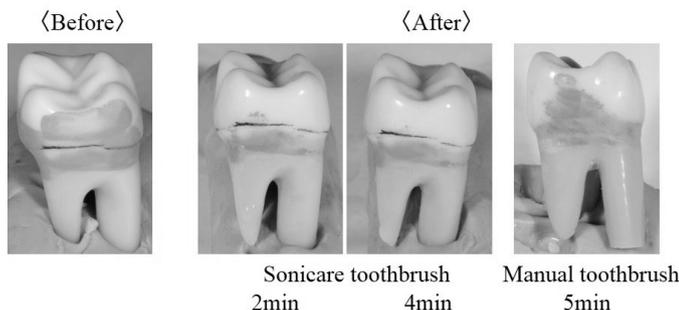


Fig. Results of plaque removal

#### 【結論】

人工プラークの除去効果は、音波式電動歯ブラシおよび手用歯ブラシでは音波式電動歯ブラシの方が歯間隣接面において除去効果に優れていた。

### 新規フッ素系薄膜樹脂材がバイオフィルムの付着性と脱離性に与える影響

<sup>1</sup> 神奈川県立歯科大学大学院歯学研究科口腔科学講座クリニカル・バイオマテリアル, <sup>2</sup> 口腔機能修復学講座う蝕制御修復学,  
<sup>3</sup> 口腔機能修復学講座顎口腔機能回復補綴医学, <sup>4</sup> 口腔科学講座微生物感染学, <sup>5</sup> 東京理科大学工学部工業化学科,  
<sup>6</sup> 神奈川県立歯科大学歯科再生医学研究所, <sup>7</sup> 横須賀・湘南地域災害医療歯科学研究センター, <sup>8</sup> 日本大学松戸歯学部保存修復学講座  
○寺中文字子<sup>1,6,7</sup>, 富山 潔<sup>2,6,7</sup>, 大橋 桂<sup>1,6,7</sup>, 三宅 香<sup>1,6,7</sup>, 清水統太<sup>3,7</sup>,  
浜田信城<sup>4,7</sup>, 好野則夫<sup>5</sup>, 向井義晴<sup>2,6,7</sup>, 寺中敏夫<sup>2,6</sup>, 平山聡司<sup>8</sup>, 二瓶智太郎<sup>1,6,7</sup>

#### Effects of newly developed treatment agent on biofilm attachment and detachment formed on glass

<sup>1</sup> Div. of Clinical Biomaterials, Dept. of Oral Science, <sup>2</sup> Div. of Cariology and Restorative Dentistry, Dept. of Oral Function and Restoration, <sup>3</sup> Div. of Prosthodontic Dentistry for Function of TMJ and Occlusion, Dept. of Oral Function Restoration, <sup>4</sup> Div. of Microbiology, Dept. of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, <sup>5</sup> Dept. of Industrial Chemistry, Tokyo University of Science, <sup>6</sup> Institute of Oral Regenerative Medicine, Kanagawa Dental University, <sup>7</sup> Institute for Research of Disaster Dental Medicine in Yokosuka and Shonan, <sup>8</sup> Dept. of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo.

○TERANAKA Ayako<sup>1,6,7</sup>, TOMIYAMA Kiyoshi<sup>2,6,7</sup>, OHASHI Katsura<sup>1,6,7</sup>, MIYAKE Kaori<sup>1,6,7</sup>, SHIMIZU Tota<sup>3,7</sup>, HAMADA Nobuhiro<sup>4,7</sup>, YOSHINO Norio<sup>5</sup>, MUKAI Yoshiharu<sup>2,6,7</sup>, TERANAKA Toshio<sup>2,6</sup>, HIRAYAMA Satoshi<sup>8</sup> and NIHEI Tomotaro<sup>1,6,7</sup>

【研究目的】近年、我が国では高齢化が進み、高齢者の中には十分な口腔清掃が難しく、口腔内清掃不良による肺炎や誤嚥性肺炎の発症、また、歯肉退縮による根面齲蝕の発生も増加してきている。我々は、歯面ならびに材料表面の表面自由エネルギー (SFE) を低下させ、かつ耐酸性を付与することが可能な歯面改質剤を開発し、プラークの付着、形成ならびに歯質脱灰を抑制して、齲蝕および歯周疾患を予防することを目的として研究を進めてきた。中でも高い撥水・撥油性、および耐酸性を有するシランカップリング剤 1H,1H,2H,2H-henicosafuorododecyl-triisocyanatosilane (10F2S-3I) で改質されたガラスならびにコンポジットレジン表面は、齲蝕原性菌である *S.mutans* の付着抑制および脱離効果が高いことを報告した。本研究の目的は、10F2S-3I および新規フッ素化アルキル基含有アクリレート材ヘプタデカフルオロデシルヒドロキシエチルメタクリレート heptadecafluorodecylhydroxyethylmethacrylate (FF01) で改質ガラス面上に形成されるバイオフィルムの付着性と脱離性を、ポリマイクロバイアル (PM) バイオフィルムモデル (Exterkate *et. al.*, Caries Res., 2010) を用いて検討することである。

【材料および方法】 1 mol/L NaOH と 1 mol/L HCl に各一昼夜浸漬したガラス試片 (φ 12 mm, Menzel, Braunschweig, Germany) を 3 mmol/L に調製した 10F2S-3I (I 群) および FF01 (F 群) 中にそれぞれ 1 時間浸漬して改質した。実験群は、改質 (I 群・F 群) および未改質 (C 群) のガラス片をそれぞれ 1 被験者から採取した刺激唾液を 50 倍希釈して加えた buffered MacBain medium に浸漬し、37°C で 10 時間嫌気培養後、唾液を含まない新たな培地に移して 14 時間、同様に培養し、PM バイオフィルムを形成させた。培養後 Cysteine Peptone Water (CPW) による洗浄 (W 群)、および未洗浄 (N 群) の組み合わせにより WC 群、WI 群、WF 群、NC 群、NI 群および NF 群の 6 群に分け、W 群の試料は、CPW 中で静かに上下して洗浄した。その後、全ての試料をそれぞれ CPW 中に移し、超音波振動下で試料から細菌を剥離、分散した。得られた菌液を CPW にて段階希釈し、血液寒天培地を用いて嫌気条件下 37°C、4 日間培養してコロニー形成単位 (CFU) を算定した。算定値の比較は有意水準 5% で One-way ANOVA および Tukey の検定を用い、PM バイオフィルムの付着性と脱離性を比較検討した。また、培養前の試料表面に蒸留水およびジヨードメタンをそれぞれ滴下し、室温 25°C の環境下で自動接触角計 (DCA-VZ 型、協和界面科学) を用いて試料に対する接触角を測定し、得られた接触角値から SFE 算出ソフト (FAMAS, 協和界面科学、埼玉) を用いて、Owen と Wendt の理論式より SFE を算出した。さらに、培養終了後のガラス片を臨界点乾燥し、走査型電子顕微鏡 (以下 SEM と略す: JSM-820, 日本電子) を用いて加速電圧 5.0kV で試料表面を観察した。

【結果および考察】 各実験群の CFU は、WC 群、NC 群、NI 群および NF 群間には差が認められなかったのに対し、WI 群および WF 群は WC 群に比較して有意に低かった ( $p < 0.05$ )。これは培養終了後、CPW による弱い洗浄でも 10F2S-3I および FF01 改質面からバイオフィルムが容易に脱離したためと考えられた。各実験群の SFE は、表面改質を行った I 群と F 群の SFE は 50 mN/m 以下であり、C 群と比較して有意に低い値であった ( $p < 0.05$ )。また、ガラス片に付着した PM バイオフィルムの表面観察により、WI 群および WF 群では、他群と比較して細菌が多く脱離しているのが観察された。以上の結果より、10F2S-3I と FF01 による表面処理は、PM バイオフィルムを容易に脱離しやすい性状に改質することが示唆された。

【結論】 10F2S-3I および FF01 はガラス面を改質し、PM バイオフィルムの脱離を容易にし、口腔内環境を良好に保つ改質剤となる可能性が示唆された。

## スミヤー層除去効果を有する化学的-機械的齶蝕除去剤開発への検討

<sup>1</sup>奥羽大学歯学部歯科保存学講座保存修復学分野

<sup>2</sup>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<sup>1</sup>, 木村裕一<sup>2</sup>, 菊井徹哉<sup>1</sup>

### Evaluation for development of a chemo-mechanical caries removal reagent with smear layer removing

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

<sup>2</sup>Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry

○YAMADA Yoshishige<sup>1</sup>, KIMURA Yuichi<sup>2</sup>, KIKUI Tetsuya<sup>1</sup>

#### 【緒言】

従来の回転切削器具を使用する齶蝕除去では、時に切削熱切削や切削圧により、歯髄疾患を誘発させる危険性がある。そのため回転切削器具に頼らず齶蝕除去を行う方法が、歯科用レーザーをはじめ幾つか臨床応用がなされている。それらの中でわれわれは化学的-機械的齶蝕除去法による齶蝕除去に注目し、生体に為害性の無い薬剤を主体とした齶蝕除去試薬(BO試薬)を試作しこれまで研究成果を報告した。本試薬は齶蝕軟化象牙質の除去効果には優れているが、切削時に窩洞内に蓄積するスミヤーの除去効果は軽微であるため修復処置前の窩洞面にはエッチング処理が必要となる。本研究では齶蝕除去試薬内にエッチング効果を有する幾つかの酸を含有させることで、齶蝕除去後の窩洞内に蓄積するスミヤー層が除去できるかどうか、またそれらの試薬を使用することで齶蝕除去時間を短縮することができるかについて検討した。

#### 【材料および実験方法】

歯頸部に齶蝕を有するヒト抜去歯 20 本を使用し、4 本ずつ 5 グループに分類した。グループ分類の詳細として、それぞれの試料は 5%リン酸を含有した試薬による齶蝕除去(グループ 1)、20%リン酸を含有した試薬による齶蝕除去(グループ 2)、5%クエン酸を含有した試薬による齶蝕除去(グループ 3)、20%クエン酸を含有した試薬による齶蝕除去(グループ 4)、従来の齶蝕除去試薬による齶蝕除去(グループ 5)とした。全ての試料に対して齶蝕除去に要した時間を計測し統計的に検討した。その後、窩洞面を実体顕微鏡および走査型電子顕微鏡(SEM)にて詳細に観察した。

#### 【結果】

齶蝕除去に要した時間は従来の試薬および各種酸を含有させた試薬のそれぞれの全てのグループで75秒から90秒の間であり、従来の齶蝕除去剤と比較して齶蝕除去時間の短縮は認められなかった。各グループの窩洞表面を実体顕微鏡にて観察した結果、全ての試料は類似した表面が塑造な状態を呈していたが、破折や亀裂などの問題となる所見は認められなかった。SEM 所見では、5%および20%濃度の各種酸を含有させ試薬において窩洞表面のスミヤー層の除去が確認された。スミヤー層の除去は 20%リン酸含有、クエン酸含有の試薬において顕著に認められたが、5%濃度のリン酸含有、クエン酸含有試薬においても大部分のスミヤー層の除去が確認された。

#### 【考察】

試薬にリン酸やクエン酸を含有させても齶蝕除去時間には顕著な違いは確認されなかった。またそれぞれの酸の濃度の違いも齶蝕除去効果には影響を与えなかったことから、酸の含有は齶蝕除去効率とは直結しないことが示唆された。スミヤー層除去に対しては、齶蝕除去の過程で窩洞表面にスミヤー層が蓄積しなければエッチング操作の省略が可能となり、かつ接着性の高い修復処置が期待できる。エッチング操作の省略は時間の短縮だけでなく、エッチング後の洗口も省略できるため、洗口が困難な在宅患者等に対する処置としても有利となると推察される。本研究結果のSEM所見では、20%濃度の酸を含有した試薬を使用した試料において、歯質が過剰に脱灰しているようにも観察された。同様に 5%濃度の酸を含有した試薬においても、歯質脱灰の至適濃度より高い可能性が危惧される。そのため本試薬の齶蝕除去剤等に酸を含有させる場合は可能な限り濃度を低くすることが望まれる。今後はさらに低濃度の酸を含有した試薬を試作し検討することで、歯質に安全かつスミヤー層の除去効果の高い齶蝕除去剤の開発が期待できる。

#### 【結論】

化学的-機械的齶蝕除去剤に酸を含有させることは、齶蝕除去時間には影響を与えなかったが、齶蝕除去後の窩洞表面へのスミヤー層の蓄積を防止する効果が向上することが確認された。今後はさらなる低濃度の酸を含有する試薬による検討が必要である。

## Biphasic Calcium Phosphate-based Cement の材料学的特性

日本大学松戸歯学部保存修復学講座<sup>1</sup>, 日本大学歯学部<sup>2</sup>, 菅原歯科<sup>3</sup>, 藤川歯科医院<sup>4</sup>  
○平山聡司<sup>1</sup>, 岩井啓寿<sup>1</sup>, 菅原明喜<sup>2,3</sup>, 藤川謙次<sup>1,4</sup>, 平野文香<sup>3</sup>

### Physical Properties of Biphasic Calcium Phosphate-based Cements

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo<sup>1</sup>,  
Nihon University School of Dentistry<sup>2</sup>, Sugawara Dental Clinic<sup>3</sup>, Fujikawa Dental Clinic<sup>4</sup>  
○Satoshi Hirayama<sup>1</sup>, Hirotoishi Iwai<sup>1</sup>, Akiyoshi Sugawara<sup>2,3</sup>, Kenji Fujikawa<sup>1,4</sup>, Ayaka Hirano<sup>3</sup>

【緒言】現在、骨移植材として市販されているリン酸カルシウム系セメントは、ほとんどの粉部が2種類以上のリン酸カルシウム及びカルシウム化合物から成り立っている。このような粉体は、求められる物性に合わせて各々の成分の粒径や配合比を調整して粉碎し、かつ、十分混合し均一にしても粉部自体の粒度分布は多峰性を示してくる。それ故、このような材料は物性が各々の成分だけでなく粒度分布からも強く影響を受けるため、均一で安定した製品を作る事が困難であり、結果として高コスト化に繋がる問題があった。このような状況下で、近年開発された Biphasic Calcium Phosphate-based Cement (BCP-cement) は、粉部が $\alpha$ -Tricalcium Phosphate ( $\alpha$ -TCP) と Tetracalcium Phosphate (TTCP) が同じ粒子中に均一に分散して単峰性粒度分布を示す均一二相性の特徴を有している。また、液部は酸性リン酸カルシウム溶液 (Acidic Calcium Phosphate Solution: Ca-P 溶液) から構成されており、その練和ペーストは優れた操作性と硬化時間可変性及び形状賦形性・保持性並びに流出抵抗性等の性質に加えて、硬化後 Hydroxyapatite (HA) へ転化することから骨や歯の硬組織代替材としての応用が期待されている。本研究では、BCP-cement の材料学的特性を評価と臨床応用の可能性について検討する。

【材料と方法】BCP-cement の粉部は $\alpha$ -TCP と TTCP (Ca/P 比:1.8、平均粒径 10.723 $\mu$ m) に練和溶液減水剤として Trisodium Citrate (3Na-citrate) を一定量混合して作製し、また、液部は Ca-P 溶液 (pH 2.1) を蒸留水で 3.0 倍 (1 : 3.0)、3.5 倍 (1 : 3.5) および 4.0 倍 (1:4.0) に希釈したものに Polyvinylpyrrolidone (k25) を流出抵抗剤として 0.75wt%混入して作製した。BCP-cement は、P/L 比 3.0 で 30 秒間練和して、以下の実験に供した。

- 1) 硬化時間の測定: 各試料に対する硬化時間を Gilmore Needle にて温度 37°C、相対湿度 50%の条件下で硬化時間を測定した。
- 2) ダイアメトラル引張強さ (DTS) の測定: 試料作製に当たっては、各々の溶液で練和したペーストをガラス製モールド (直径 6.0 mm×高さ 3.0 mm) に充填し 37°Cの湿箱中に 4 時間保管した。次いで、硬化体をモールドから取り出し 30 ml 蒸留水中に 37 °Cで 20 時間浸漬したものを試料として供した。DTS は、万能試験機 (TG-5KN, Instron) を用いクロスヘッドスピード 10 mm/min で測定した。
- 3) X 線回折: DTS 測定後の試料を速やかにアセトンに 1 時間浸漬し、デシケーターで乾燥させた後に粉碎して粉末 X 線回折 (Multi-Flex, Rigaku) を行った。
- 4) 走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察: DTS 測定後の試料を速やかにアセトンに 1 時間浸漬し、デシケーターで乾燥させた後に試料の表面と破断面を SEM (JSM-6340, JEOL) にて観察した。

【結果と考察】BCP-cement 練和物は、溶液中でも極めて良好な形状保持性と流出抵抗性を示した。BCP-cement の硬化時間の平均は、1 : 3.0 で 5 分 24 秒、1 : 3.5 は 7 分 39 秒および 1 : 4.0 は 9 分 6 秒であった。DTS の結果は、1 : 3.0 で 3.4 $\pm$ 0.3 MPa、1 : 3.5 で 3.5 $\pm$ 0.3 MPa、1 : 4.0 で 3.1 $\pm$ 0.1 MPa であり、溶液の違いによる有意差は認められなかった。練和後 24 時間までの試料に対する X 線回折の結果では、全ての試料が練和後 24 時間でほぼ HA へ転化する事が確認されたが、一部未反応の $\alpha$ -TCP の残存が認められた。また、破断面の SEM 観察でも針状及び柱状 HA 結晶の析出が確認された。以上の特性から勘案して、BCP-cement の臨床応用には Ca-P 溶液の 1:3.5 希釈のものが物性、操作・硬化時間および HA 転化率等の観点から理想的と考えられた。

### 【結論】

- 1) BCP-cement は、既存のリン酸カルシウム系材料には見られない十分な材料学的特性を有する事が明らかになった。
  - 2) BCP-cement は、短時間で HA へ転化・置換することより硬組織疾患の臨床応用も可能と判断された。
- BCP-cement は、良好な材料的特性を有する事より骨移植材等の臨床にも応用可能と判断された。  
(本研究の一部は、メディカルユアードエイと太平洋化学産業の援助によって行われた。)

## Zn 置換 Hydrotalcite の歯周病関連細菌から産生される硫化水素の吸着効果

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学<sup>1)</sup>  
大阪市立大学大学院工学研究科機械物理系専攻・材料物性工学分野<sup>2)</sup>  
○森田侑宜<sup>1)</sup>, 藤井和夫<sup>1)</sup>, 横川善之<sup>2)</sup>, 堀田正人<sup>1)</sup>

Adsorption capability of zinc-substituted hydrotalcite on hydrogen sulfide by periodontal disease-related bacteria

<sup>1)</sup>Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry, <sup>2)</sup>Graduate School of Engineering, Department of Mechanical & Physical Engineering Osaka City University

○MORITA YUKI<sup>1)</sup>, FUJII KAZUO<sup>1)</sup>, YOKOGAWA YOSHIYUKI<sup>2)</sup>, HOTTA MASATO<sup>1)</sup>

### 【緒言】

歯周病関連細菌によって生じる揮発性硫黄化合物 (Volatial Sulfur Compounds, 以下, VSC) は口臭の原因となることが知られている。一方, 我々は VSC を吸着する材料 (VSC 吸着材) として Hydrotalcite の研究を行っている。Hydrotalcite はアニオン交換機能を有する層状複水酸化物 (MgHDT:  $[\text{Mg}^{2+}_{1-x}\text{Al}^{3+}_x(\text{OH})_2]\text{CO}_3^{2-x/2} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) である。この MgHDT を使用し, 500°C に熱処理 (MgHDT500:  $[\text{Mg}^{2+}_{1-x}\text{Al}^{3+}_x(\text{OH})_2]\text{CO}_3^{2-x/2}$ ) とすると VSC 吸着効果が増強されることをすでに報告している。しかし, この MgHDT500 は大気中保管で経時的に吸着力が低下し, 湿気を含む雰囲気や水中でも, 徐々にその効果を失っていくことが課題であった。

そこで今回, 組成の Mg を Zn に置換させた Hydrotalcite (ZnHDT:  $[\text{Zn}^{2+}_{1-x}\text{Al}^{3+}_x(\text{OH})_2]\text{CO}_3^{2-x/2} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ) を合成し, 液体培地中の歯周病関連細菌から産生される硫化水素の吸着効果について検討した。

### 【材料および方法】

VSC 吸着材として, MgHDT を電気炉にて 500°C で 30 分間熱処理した MgHDT500 と, Mg を Zn に置換した (ZnHDT) を合成し, 使用した。供試した細菌は, 歯周病関連細菌の *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25611 (*F. nucleatum*) である。

培養方法は, 0.5% 酵母エキス, 5μg/ml ヘミン, 0.5μg/ml メナジオンを含む Brain Heart Infusion 培地 (BHI 培地, BD) を用い, 48 時間嫌気培養した培養菌液 2ml に, 含硫アミノ酸である 0.05% L-cysteine (L-cys) を添加し, あらかじめ 1 日嫌気状態にしておいた 40ml の培地に接種した。その後, アシストチューブ (アシスト) に吸着材なしのもの と MgHDT500 と ZnHDT をそれぞれ 0.01g 入れ, さらに培養した菌液を 2ml ずつ分注した。また, 細菌からの産生物質 (硫化水素) が外気に逃げるのを防ぐためにシリコンゴム (AS ONE) をアシストチューブに被せ, 37°C で嫌気培養を行った。

硫化水素測定の際には, アシストチューブ内の気体をガスタイトシリンジ (1005LTN PT#5, hamilton) にて 3ml 採取し, 直ちにガスクロマトグラフ (GCMS QP5050A 島津製作所) に注入し, 硫化水素のピーク面積を算出し, 濃度測定を行った。測定時間は 2 時間おきに 8 時間行い, 合計 3 回実施した。また, 得られた値は, 一元配置分散分析 (ANOVA) と多重比較検定 Fisher' PLSD test ( $p < 0.05$ ) を用いて有意差検定を行った。

### 【結果および考察】

VSC 吸着材の MgHDT500, ZnHDT を添加した試料の硫化水素濃度は VSC 吸着材なしの試料に比べて, 有意に低下が認められた。また, ZnHDT は MgHDT500 に比べて, 硫化水素濃度の有意な低下を認めた。このように ZnHDT は液体培地である液相中の揮発性硫化化合物である硫化水素の濃度低下を生じさせ, VSC 吸着性は著しく高かった。

これらのことから, ZnHDT は口腔内の液相, 高湿気相の環境下においても VSC 吸着能が高いと考えられ, 口臭予防として有用であり, 期待できると思われた。

エナメル質最外層の結晶の層構造について

鶴見大学歯学部 保存修復学講座<sup>1)</sup> 口腔解剖学講座<sup>2)</sup>,  
○浅田 由佳<sup>1)</sup>, 千葉 敏江<sup>2)</sup>, 下田 信治<sup>2)</sup>, 桃井 保子<sup>1)</sup>

On The Structural Crystal Layer of The Outermost Tooth Enamel Surface

Department of Operative Dentistry<sup>1)</sup> Department of oral anatomy<sup>2)</sup>,  
Tsurumi University School of Dental Medicine  
○Asada Yuka<sup>1)</sup>, Chiba Toshie<sup>2)</sup>, Shimoda Shinji<sup>2)</sup>, Momoi Yasuko<sup>1)</sup>

研究目的:

現在、ヒトの歯のエナメル質は「口腔内で脱灰と再石灰化を繰り返す」とする概念に基づいて、さまざまな研究が進められている。この概念に従えば、口腔内の唾液とバイオフィルムに晒されたエナメル質の結晶は、唾液とバイオフィルムの影響により Ca や P などの無機イオンと pH に依存してその結晶状態は変化すると考えられ、顎骨中で形成されたエナメル質のアパタイト結晶も、唾液とバイオフィルムの影響によりアパタイト以外のリン酸カルシウム結晶に変化するなど、常に結晶状態は変化し続けていると考えられる。

林ら<sup>1)</sup>は、エナメル質最外層について、秒単位の結晶状態の変化を観察し、低 pH 環境下で歯質界面にアパタイト以外のリン酸カルシウム結晶が沈着することを報告した。このことは形成期に沈殿したアパタイト結晶も、食事や飲料の影響により瞬時にアパタイト以外の結晶構造に変化する可能性を示している。

本研究では、未萌出のエナメル質部分、口腔内に萌出し唾液に晒された部分のエナメル質、そして歯質の実質欠損を伴わない白斑状の脱灰を呈するエナメル質の三者についてエナメル質最表層の結晶学的分析をおこない、それぞれのエナメル質最外層の結晶形態について定性的に明らかにした。

材料および方法:

鶴見大学歯学部修復学講座所蔵の 10%ホルマリン溶液に浸漬固定ヒト永久歯を用いた。本研究で用いた抜去歯は、鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認を得た (承認番号: 1041)。試料は 1 昼夜水洗し、歯軸に対して水平方向に切断し、光学顕微鏡および反射電子像にて観察した。その後上昇エタノール系列で脱水し、プロピレンオキサイドで置換し、エポキシ樹脂で包埋、観察面を鏡面研磨して電子プローブマイクロアナライザー (以下 EPMA) で、反射電子像 (以下 BEI) および Ca, P の元素分析により Ca/P 比を求めた。また、分析面の超薄切片を作製し、透過型電子顕微鏡 (以下 TEM) で結晶形態を観察した。

結果

白斑を呈するエナメル質の断面を光学顕微鏡および BEI で観察すると、表面下脱灰の最外層には、高石灰化を呈する透明性の高い層と、さらにその外層の不透明な層の 2 層が明確に区別された。この最外層の薄く不透明な層は、萌出し唾液に晒されたエナメル質と歯肉溝に面するエナメル質の表層にも同様に認められた。BEI ではこの不透明な層は一様に高反射電子密度の層として観察された。この層の Ca/P 比はアパタイトの 1.67 と異なり、それ以下の 1.10 前後の値を示し、TEM でアパタイト結晶に典型的な六角形の結晶像とは異なる結晶像も多数、観察された。

考察:

本研究で観察されたエナメル質最外層の 2 層構造は、唾液やブラーク直下と表面下脱灰層とでそれぞれ異なる pH とイオン強度により構成され、別の対流が生じているために形成されると考えられた。すなわち、口腔内および歯肉溝に面するエナメル質の最表層は常に唾液やバイオフィルムの影響により無機イオンおよび pH の変化に応じた対流が存在し、白斑部位の表面下脱灰内部では前者とは異なるイオン強度および pH による対流が生じていると考えられるからである。以上のように、低 pH の微小環境下では、エナメル質の最外層界面に酸に難溶性のアパタイト以外の結晶が沈着し、一定の層 (Acid Registrant Crystal Layer) を形成すると考えられた。

参考文献:

1) Oki Hayashi, Toshie Chiba, Shinji Shimoda and yasuko Momoi: Demineralization and Remineralization Phenomena of Human Enamel in Acid Erosion Model. Journal of Hard Tissue Biology 25(1)2016. 27-34

ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP の影響  
大阪歯科大学 1) 歯科保存学講座 2) 生化学講座

○岩佐 一弘 1)、小正 玲子 1)、竹内 撰 1)、谷本 啓彰 1)、合田 征司 2)、砂田 和久 1)、大前 正範 1)、山本 一世 1)

**Effects of iE-DAP in human dental pulp fibroblast like cells**  
Department of 1) Operative Dentistry, 2) Biochemistry Osaka Dental University

○Kazuhiro IWASA<sup>1)</sup>, Reiko KOMASA<sup>1)</sup>, Osamu TAKEUTHI<sup>1)</sup>, Hiroaki TANIMOTO<sup>1)</sup>, Seiji GODA<sup>2)</sup>,  
Kazuhisa SUNADA<sup>1)</sup>, Masanori OMAE<sup>1)</sup>, Kazuyo YAMAMOTO<sup>1)</sup>

【研究目的】

歯髓は常時、物理・化学的刺激下のもと歯を維持するために、象牙質への栄養補給、歯髓保護、修復象牙質の形成などの役割を果たしている。可逆性歯髓炎は原因を除去することにより正常な歯髓に回復し得るため、歯髓に存在する細胞における炎症の進行過程や発症機序を解明することは歯髓の存在のために重要であると考えられる。歯髓炎の多くは、齶蝕の進行により象牙質深部に侵入した細菌による感染症であるという観点から、自然免疫に関するレセプターによって認識され、炎症反応が惹起される。また、刺激を受けた歯髓組織では細胞外マトリックス分解酵素である matrix metalloproteinases (MMPs) が産生され、歯髓組織を破壊し病態が進行する。その際、炎症性サイトカインが関与していることは広く知られている。今回、細菌のペプチドグリカンの構造の一部である D-glutamy-meso-diaminopimelic acid (iE-DAP) に対する自然免疫レセプターである Nucleotide-binding oligomerization domain protein (NOD)1 に着目し、ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP 刺激による MMPs 産生について検討を行った。

【方法】

本研究に参加同意を得た患者の抜去歯より歯髓組織を採取・培養し、3~10 世代目をヒト歯髓由来線維芽細胞として本研究に使用した。ヒト歯髓由来線維芽細胞を 24well plate に  $5.0 \times 10^5$  cells/well になるよう播種し、24 時間培養後、iE-DAP を 0ng/ml, 2.5ng/ml, 5ng/ml, 10ng/ml, 25ng/ml, 加え、刺激を行った。刺激終了後、上清中の MMPs の産生を Western Blotting, Gelatin zymography にて検討した。次に、ヒト歯髓由来線維芽細胞を 6 well plate に  $3.0 \times 10^5$  cells/well になるよう播種し、24 時間培養後、iE-DAP を各種各条件下で刺激を行った。刺激終了後、細胞を回収し BD FACSVerser (BD Biosciences, San Jose, CA) を用いてアポトーシスと細胞増殖について検討した。

【結果】

- 1) ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP 刺激において細胞増殖に影響は認められなかった。
- 2) ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP 刺激においてアポトーシスに影響は認められなかった。
- 3) ヒト歯髓由来線維芽細胞における iE-DAP 刺激において MMP-1, 3 の産生は濃度依存的に増強したが、MMP-2 の産生に変化は認められなかった。

【結論】

ヒト歯髓由来線維芽細胞において iE-DAP 刺激によりアポトーシスに影響は認めなかったが、マトリックス分解酵素であるコラゲナーゼ群 MMP-1, 3 の産生は濃度依存的に上昇した。また、ゼラチナーゼ群 MMP-2 の産生は無刺激時においても産生は確認され、iE-DAP 刺激による影響は認められなかった。

### 頭頸部がんに対する放射線治療後に多発性のう蝕を発症した一例

岡山大学病院<sup>1</sup>むし歯科、<sup>2</sup>頭頸部がんセンター、<sup>3</sup>総合歯科、

<sup>4</sup>岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野、<sup>5</sup>岡山大学病院 形成外科

○松崎一田中久美子<sup>1,2</sup>、小野瀬里奈<sup>3</sup>、大原直子<sup>4</sup>、西山依理子<sup>4</sup>、山路公造<sup>4</sup>、鳥井康弘<sup>3</sup>、木股敬裕<sup>2,5</sup>、吉山昌宏<sup>1,4</sup>

#### A Case of Multiple Dental Carious after radiation therapy for Head and Neck Cancer

<sup>1</sup>Caries Department, <sup>2</sup>Head and Neck Cancer, <sup>3</sup>Comprehensive Dental Clinic, Okayama university Hospital, <sup>4</sup>Department of Operative Dentistry, Field of Study of Biofunctional Recovery and Reconstruction, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences <sup>5</sup>Plastic Surgery Department, Okayama university Hospital

○Matsuzaki-TANAKA Kumiko<sup>1,2</sup>, ONO Serina<sup>3</sup>, OHARA Naoko<sup>4</sup>, NISHIYAMA Eriko<sup>4</sup>, YAMAJI Kozo<sup>4</sup>, TORII Yasuhiro<sup>3</sup>, KIMATA Yoshihiro<sup>2,5</sup>, YOSHIYAMA Masahiro<sup>1,4</sup>

#### 【諸言】

放射線治療の晩期有害事象である放射線性う蝕は、唾液腺の唾液分泌能の低下により口腔内の自浄作用や免疫作用が低下し、また口腔内の pH が酸性に傾くことでう蝕が発生しやすい環境になり、一気に増加するといわれている (Horiot JC, et al. Radiother Oncol. 1983)。一方、う蝕は、①宿主、②細菌、③食物の3つの因子から成る Keyes のう蝕病因論に、④時間のファクターを加えた4つの因子 (Newbrun の輪) が複雑に作用して発生する。臨床では放射線治療により生じた宿主因子である唾液分泌能がクローズアップされることが多いが、う蝕の発症およびう蝕治療後の二次う蝕発症を予防するためには、細菌、食物、時間因子についても詳細な検討を行う必要がある。

今回われわれは、上咽頭癌に対する化学療法および放射線治療後に、多数歯の咬合面象牙質う蝕に罹患した、いわゆる放射線性う蝕が疑われた患者に対し、①宿主、②細菌、③食物、④時間因子について精査を行い、二次う蝕罹患リスクを低減する方法を検討しながら治療を行ったので、その概要を報告する。

#### 【症例提示】

症例は64歳、男性。2013年に当院頭頸部がんセンター初診、上咽頭癌 (T3N2bM1、頸部転移) に対し、化学療法 (TPF 6コース、Cmab+FP 3コース、Cmab+TS-1 1コース) および化学放射線療法 (TS-1 併用 2Gy/1回、計 60Gy) を受け、並行して当院予防歯科で口腔ケアを継続して受けていた。プラークコントロールは良好 (むし歯科初診時 PCR 8%) であったにもかかわらず、咬耗によりエナメル質が損耗した象牙質に多発性のう蝕が認められたため、2015年8月にむし歯科へ紹介となった。

う蝕修復処置と並行して、①宿主因子 (唾液腺の投与線量、唾液分泌検査、唾液緩衝能試験) ②細菌因子 (う蝕活動性試験) ③食物因子 (食生活の問診) ④時間因子 (食生活の問診、う蝕活動性試験) について精査を行った。

#### 【考察と結論】

本症例では、両側耳下腺および顎下腺に耐容線量 (50Gy) をこえる放射線が投与されていた。これにより唾液腺機能が低下、本来唾液が有している緩衝能も低下 (唾液分泌量: 正常値の 1/3) していた。また、細菌の酸産生が高かった。さらに、放射線治療の晩期有害事象である味覚低下が生じていたため、糖や酸性食品を長時間かつ多量に摂取していた。そのため、口腔内の酸性環境が緩衝されない食生活をおくっていた。これらの4つの因子が相互的に作用し、象牙質が露出した咬合面にう蝕が多発したと考えられた。

本患者の場合、放射線治療後の唾液腺機能低下に伴う宿主因子と細菌因子は改善が困難だが、食物因子と時間因子は甘味制限などの食事指導で改善可能である。しかし、本患者は遠隔転移を伴う進行期 (Stage IVC) のため、5年生存率は50%以下であることを考慮する必要がある。味覚障害を有する本患者に対して過度の甘味制限を課すことは、QOLの低下を招いてしまう可能性があるため、砂糖と酸性食品の代替となる食品の提案、摂取頻度の改善を提案した。

いわゆる放射線性う蝕に対しては、唾液分泌能の低下に伴う自浄作用や免疫能の低下など、宿主因子が誘因としてクローズアップされる。しかし、本症例では、改善困難な宿主因子と細菌因子に加え、食物因子および時間因子が、咬耗によりエナメル質が損耗した咬合面の象牙質う蝕発生に関与していた。このことから、頭頸部がんに対する放射線治療後の患者に対しては、宿主因子のみならず、他の因子についても精査を行うことで正確に診断を行い、適切な指導を行うことが重要と考えられた。

## S-PRG フィラー含有ルートキャナルシーラーの骨形成への影響

明海大学 歯学部 機能保存回復学講座 保存治療学分野

○日下洋平、小林健二、小谷依子、横瀬敏志

### Influence to osteogenesis of endodontic sealer containing S-PRG filler

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

○KUSAKA Yohei, KOBAYASHI Kenji, KOTANI Yoriko, 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。そこで今回、S-PRG 含有のルートキャナルシーラーの効果を検討する目的で、ラット脛骨に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するとともに EPMA による特性エックス線像から各元素の定性分析を行った。

**【材料および方法】**実験動物には 6 週齢の雌 SD 系ラット 14 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 フィラー含有ルートキャナルシーラー (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(φ1mm)を用い、注水下で皮質骨を穿孔し実験に供した。移植する試料は SP、CN とも練和直後に移植したグループ (練和群) と練和を行わず粉末のみを移植したグループ (粉末群)、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て、H-E 染色を行い、組織学的に観察した。次いで、シーラーを球形に整形後に移植したラットから 2 週後に脛骨を摘出し、ホルマリン固定後脱水し、レジン包埋し、エックス線マイクロアナライザー (EPMA JSM-6010LA : 日本電子社) にて定性分析を行い、各元素の分布状態を解析した。

**【結果および考察】**練和群と粉末群において、SP では残留しているシーラー周囲に骨形成が誘導されているのに対し、CN では骨形成の誘導が確認されなかった。硬化群では SP ではシーラーの周囲に骨形成が誘導されている所見が認められたが、CN では骨形成は認められず、炎症性細胞の浸潤を含む線維性結合組織が認められた。今回の結果では、練和群と粉末群よりも硬化群でより顕著な骨形成がみられたが、このことは骨形成にはある程度の停滞性のある足場が必要なのではないかと考えられた。EPMA の特性エックス線像による定性分析の結果から、SP の表層周囲で Ca と P が高い濃度で検出され、骨形成が誘導されていることが認められた。これに対して CN では表層周囲には骨形成は認められなかった。今後、EPMA の特性エックス線像による定性分析における試料の作成条件などの検討が必要であると思われた。

**【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及び定性分析の結果、S-PRG フィラーが新たな骨形成を誘導している像が認められた。以上の結果より、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シーラーの評価:—物理的特性, 封鎖性および除去性—

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野<sup>1</sup>

ながよし歯科医院<sup>2</sup>

鞍手北歯科医院<sup>3</sup>

○鷲尾絢子<sup>1</sup>, 吉居慎二<sup>1</sup>, 諸富孝彦<sup>1</sup>, 永吉雅人<sup>2</sup>, 西野宇信<sup>3</sup>, 北村知昭<sup>1</sup>

### The properties of New Bioglass Sealer:—Physical Properties, Apical Sealing Ability, and Retreatability—

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Science of Oral Functions, Kyushu Dental University<sup>1</sup>,

Nagayoshi Dental Clinic<sup>2</sup>,

Kurate Kita Dental Clinic<sup>3</sup>

○WASHIO Ayako<sup>1</sup>, YOSHII Shinji<sup>1</sup>, MOROTOMI Takahiko<sup>1</sup>, NAGAYOSHI Masato<sup>2</sup>, NISHINO Takanobu<sup>3</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

#### 【研究目的】

根管充填用シーラー (以後シーラー) に求められる性質として, 良好な操作性・封鎖性に加え, 根尖部歯周組織への高い生体親和性があげられる. その一方で, 再歯内治療の可能性も考えると除去性を有することも必要不可欠な性質である. 現時点でこれらの所要性質を完全に満たす理想的なシーラーは存在しない. バイオマテリアルとしてのシーラーの開発を目標として, 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 (以後 NSY-222) を開発し本学会でも報告してきた (第 142 回日本歯科保存学会春季学術大会, JBMR part B. 2015;103(2):373-80). 今回, NSY-222 がシーラーに適した物理的特性を有していることを確認するために ISO 適合性試験を行った. さらに, 根管充填法の違い (シングルポイント法, マルチポイント法) による NSY-222 の封鎖性および除去性に及ぼす影響について既存のシーラーと比較検討した.

#### 【材料および方法】

<ISO 適合性試験> 歯科用根管充填シーラーの国際規格 (ISO6876 : 2012) に則って, NSY-222 の稠度, 操作時間, 硬化時間, 被膜厚さ, 崩壊率, および X 線造影性の試験を行った.

<封鎖性試験> ヒト歯を用い, 根尖側から長さ 1.0 cm の根管形成・洗浄乾燥後, 各種シーラーを用いて根管充填を行った. 擬体液 (SBF) に根尖部のみが浸漬するように被験歯を固定し, 歯冠側に銅フタロシアンニテトラスルホン酸四ナトリウム溶液 (以後色素液) を注入した. 経過日数ごとに SBF 中に漏出した色素液量を吸光度計 (測定波長: 630 nm) にて測定した.

<FE-SEM 観察> 牛歯を用い, シーラーを充填した歯根を歯軸に垂直に切断し SBF 中に浸漬した後, ミクロトームを用いて切片を作製し, シーラー/歯質界面部や象牙細管内部を電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM) で観察した.

<除去性試験> ヒト歯を用い, 根尖側から長さ 1.0 cm の被験歯の根管形成・洗浄乾燥後, 各種シーラーを用いて根管充填 (シングルポイント法, マルチポイント法) を行った. 37°C, 5 % CO<sub>2</sub>, 湿度 100 % で 4 週間インキュベート後, 根管充填材を GPR (MANI) で除去し, GPR が作業用に到達する時間を測定するとともに, 根尖孔穿通および再根管拡大形成の可否を確認した.

#### 【結果】

NSY-222 はシーラーの ISO の要求事項を満たしていた. 封鎖性試験では SBF 中への色素液漏洩量は経日的に減少し, FE-SEM 観察により, 牛歯根管の象牙細管内には NSY-222 によって析出したハイドロキシアパタイト (HAp) 様の結晶構造 (タグ様構造) が観察された. また, NSY-222 の除去性試験では, いずれの根管充填方法においても除去可能で, 根尖孔穿通および再根管拡大形成が可能であった.

#### 【考察】

NSY-222 は ISO の要求事項を満たしており, シーラーに適した物理的性質を有していることが示唆された. さらに封鎖性試験結果から, NSY-222 では良好な根管封鎖性が得られ, その要因としては NSY-222 によって形成されたタグ様構造の関与が考えられた. また, 除去性試験の結果から, NSY-222 は再歯内治療時に除去することが可能であることが示唆された.

#### 【結論】

新しく開発されたバイオガラス配合シーラーは, 歯内療法時の根管充填に応用されるシーラーとして期待される.

試作リン酸化プルラン含有 MTA 根管充填用シーラーの封鎖性に及ぼす根管洗浄剤の影響

1 北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室、2 生体材料工学教室  
○大島理紗<sup>1</sup>、菅谷 勉<sup>1</sup>、下地伸司<sup>1</sup>、竹生寛恵<sup>1</sup>、川浪雅光<sup>1</sup>、吉田靖弘<sup>2</sup>

**Influence of root canal irrigants on sealing ability of  
phosphorylated pullulan-MTA root canal sealer**

1 Department of Periodontology and Endodontology, 2 Department of Biomaterials and Bioengineering,  
Division of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine  
○Risa Oshima<sup>1</sup>, Tsutomu Sugaya<sup>1</sup>, Shinji Shimoji<sup>1</sup>, Hiroe Takefu<sup>1</sup>, Masamitsu Kawanami<sup>1</sup> and Yasuhiro Yoshida<sup>2</sup>

【研究目的】

Mineral trioxide aggregate(MTA)は、硬組織形成能があり、穿孔部の封鎖や逆根管充填などに用いられているが、歯質と接着しない上に操作性が悪く根管充填への応用は困難である。一方、リン酸化プルランはハイドロキシアパタイトに接着することから、MTA にリン酸化プルランを添加することで、歯質接着性と硬組織形成能を有する根管充填材の開発が可能と考え、試作を行った。しかし、MTA は EDTA によって硬化が阻害され、またリン酸化プルランは次亜塩素酸ナトリウムで溶解することから、試作シーラーの封鎖性は根管洗浄剤の影響を受ける可能性がある。そこで本研究の目的は、根管洗浄剤が、試作リン酸化プルラン含有 MTA 根管充填用シーラーの封鎖性に及ぼす影響について検討を行うことである。

【材料および方法】

実験試料：冷凍保存した牛歯の軟組織、セメント質を除去して歯冠を切断後、歯髄を除去して1歯根から6個の象牙質片(5×5mm)を作製した。その後#600の耐水研磨紙で研削して被着面とし、次の方法で処理を行った。①水洗・乾燥、②17%EDTA(5分間)→水洗・乾燥→10%NaOCl(1分間)→水洗・乾燥、③10%NaOCl(1分間)→水洗・乾燥、④17%EDTA(5分間)→水洗・乾燥、⑤10%NaOCl(1分間)→乾燥、⑥17%EDTA(5分間)→乾燥。試作リン酸化プルラン含有 MTA シーラー(ジーシー)を処理後の象牙質片で挟んで圧接し、37℃、湿度100%で硬化後、塩基性フクシンに48時間浸漬した。

エポキシ樹脂包埋し、試料中央で切断してデジタルマイクロスコープ下で被着面の観察および色素侵入率を計測した。統計学的分析はKruskal-Wallis test, Dunnett's testを行った。比較対照にはNEX MTAセメント(ジーシー)、チャンネルスN(昭和薬品化工)を用いて、②の処理方法で行った。

【結果と考察】

試作リン酸化プルラン含有 MTA シーラーの色素侵入率は、いずれの象牙質面処理方法でも小さく0~9.2%(中央値)であったのに対し、NEX MTAは100%、チャンネルスNは23.0%で、試作シーラーはMTAやチャンネルスNより有意( $p<0.05$ )に小さかった。また、試作シーラーはいずれの象牙質処理方法でも色素侵入率に有意差( $p>0.05$ )は認められず、根管洗浄剤による封鎖性への影響は、臨床的には無視できると考えられた。

試作シーラーの封鎖性は高く、操作性は一般的なシーラーと同様の特性を有しているうえに、MTA含有量も多いことから、根管充填用のシーラーとして高い機能が期待できると思われた。

【結論】

試作リン酸化プルラン含有 MTA シーラーと象牙質面との界面への色素侵入率は、EDTA や次亜塩素酸ナトリウムによる洗浄の影響は受けず、NEX MTA やチャンネルスNよりも有意に低かった。

## ラット臼歯における MTA による直接覆髄後の Glucose Transporter-2 の 免疫組織化学および遺伝子発現の解析

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  
○遠間愛子、大倉直人、枝並直樹、竹内亮祐、吉羽永子、吉羽邦彦

### Immunohistochemical and Gene-expression Analysis of Glucose transporter-2 Following Direct Pulp Capping with Mineral Trioxide Aggregate in Rat Molars

Division of Cariology, Department of Oral Health Science,  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
○TOHMA Aiko, OHKURA Naoto, EDANAMI Naoki, TAKEUCHI Ryosuke, YOSHIBA Nagako, YOSHIBA Kunihiro

#### 【背景・目的】

生命を維持する上で重要なグルコースは、組織再生・修復時においても損傷した組織タンパク質合成に関与する。グルコースを輸送する細胞膜輸送担体の1つとして知られている glucose transporter (GLUT) 2は、近位尿細管、小腸上皮細胞、肝細胞や膵ランゲルハンス島β細胞に発現しており、低親和性でありながら高容量のグルコースの取り込みやインシュリンの分泌に関与している。一方、歯の発生過程における GLUT2 の報告では、歯胚の上皮細胞や間葉細胞に発現しており、主に栄養供給路として機能を発揮していると考えられるが、歯髄における GLUT2 の局在や機能は十分解明されていない。そこで本研究では、歯髄損傷治癒時における GLUT2 の機能的意義を追究する端緒として、直接覆髄を施されたラット臼歯における GLUT2 の局在および mRNA 発現解析を行った。

#### 【材料と方法】

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した(承認番号:27 新大研第 79 号1)。全身麻酔下で8週齢雄性 Wistar 系ラットの上顎左側第一臼歯をラウンドカーバイドバーで露髄させ、露髄面を次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水で交互洗浄後、滅菌生理食塩水にて洗浄、止血した後、MTA (White ProRoot MTA; Dentsply Tulsa Dental)により覆髄処置を施し、その後フロアブルコンポジットレジンで充填封鎖を行った。覆髄3、5および7日後に還流固定を行い、上顎骨ごと摘出し、10%EDTA 溶液で脱灰後、4μm のパラフィン切片を作成し、GLUT2 と nestin(象牙芽細胞マーカー)の発現を酵素抗体法あるいは蛍光抗体法で観察した。さらに、覆髄後に被験歯のみを抜歯し、RNA 抽出キット (TRIzol, Life Technologies)で mRNA 抽出後、逆転写を行い cDNA を作製した。この cDNA 0.5μg を用い、GLUT2 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 で経時的に解析した。なお、対照群として未処置の上顎右側第一臼歯を使用した。

#### 【結果】

GLUT2 に対する正常歯髄での免疫陽性反応は、歯冠および歯根部の象牙芽細胞に発現することが確認された。覆髄後3日目では MTA 直下から歯髄内全体にかけて楕円形、紡錘形あるいは不定形の GLUT2 陽性反応が認められた。5日後では修復象牙質様基質が形成され始め、不整ではあるものの、その直下では象牙芽細胞様細胞に対して GLUT2 陽性反応を認め、7日後になると、円柱形に整列した象牙芽細胞様細胞にその陽性反応が認められた。nestin との蛍光二重染色では、覆髄部直下に nestin 免疫陽性反応と共発現する GLUT2 の陽性反応を認めた。さらに、覆髄後の GLUT2 mRNA 発現レベルは未処置歯群と比較し、3、5、7日後と経時的に有意に増加した(P<.05)。

#### 【考察】

正常歯髄において GLUT2 は象牙芽細胞に発現していることに加え、MTA 覆髄後では nestin 陽性細胞に一致して GLUT2 陽性反応が認められることから、象牙質形成に必要なグルコースの供給経路の1つとして機能しているだけでなく、修復象牙質形成過程における象牙芽細胞様細胞への分化にも GLUT2 が関与している可能性が示唆される。さらに経時的な遺伝子発現の増加から、GLUT2 が歯髄組織創傷治癒に関与するとともに、時空間的な制御も行われている可能性が考えられる。

#### 【結論】

ラット臼歯では、GLUT2 は正常歯髄において象牙芽細胞で発現が観察されるとともに、MTA 覆髄後ではその直下において nestin 陽性細胞と一致する発現が観察され、さらに、GLUT2 の mRNA 発現が経時的に亢進することが示された。

## ラット臼歯における Mineral trioxide aggregate による直接覆髄後の Glucose Transporter-1 の免疫局在および遺伝子発現解析

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  
○竹内亮祐、大倉直人、枝並直樹、遠間愛子、吉羽永子、吉羽邦彦

### Immunolocalization and Gene Expression Analysis of Glucose Transporter-1 after Direct Pulp Capping with Mineral Trioxide Aggregate in Rat Molars

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

○TAKEUCHI Ryosuke, OHKURA Naoto, EDANAMI Naoki, TOHMA Aiko, YOSHIBA Nagako, YOSHIBA Kunihiko

#### 【目的】

グルコースは生命を維持するうえで必須のエネルギー源であり、細胞膜輸送体の一つとして知られる glucose transporter (GLUT)ファミリーがその輸送を担っている。なかでも GLUT1 は骨芽細胞へのグルコースの取り込みに寄与しており、骨芽細胞の分化および骨形成の促進に関与している。さらに、骨芽細胞の分化に必須の転写因子である runt-related transcription factor 2 (RUNX2) が GLUT1 の発現を促進させ、骨芽細胞の分化と骨形成を制御していると考えられている。また、歯の発生において GLUT1 は、歯原性上皮や間葉において発現を認め、歯の発生の初期段階での歯の形態や大きさの決定に重要な役割を担うと考えられているが、歯髄における GLUT1 の局在や機能はいまだ不明である。そこで本研究は、歯髄創傷治癒、特に修復象牙質形成過程に焦点を当てた GLUT1 の機能的意義を追究する緒端として、ラット臼歯における直接覆髄後の GLUT1 の局在および mRNA 発現解析を行った。

#### 【材料および方法】

全身麻酔下で8週齢雄性 Wistar 系ラットの上顎左側第一臼歯をラウンドカーブバイドバーで露髄させ、露髄面を次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水で交互洗浄後、滅菌生理食塩水にて洗浄、止血した後 MTA (White ProRoot MTA; Dentsply Tulsa Dental) により覆髄し、その後フロアブルコンポジットレジンで充填封鎖を行った。覆髄3、5および7日後に還流固定を行い、上顎骨ごと摘出し、10%EDTA で脱灰後、4 μm のパラフィン切片を作成し、GLUT1、RECA-1 (血管内皮細胞マーカー) および S-100タンパク β 1 サブユニット (S-100: 神経線維マーカー) の発現を酵素抗体法あるいは蛍光抗体法で観察した。さらに、覆髄後に被験歯のみを抜歯し、RNA 抽出キット (TRIzol, Life technologies) で mRNA 抽出後、逆転写を行い cDNA を作製した。この cDNA 0.5 μg を用い、GLUT1、RUNX2 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 で経時的に解析した。対照群として未処置の上顎右側第一臼歯を使用した。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: 27 新大研第 79 号 1)。

#### 【結果】

正常歯髄における GLUT1 免疫陽性反応は、象牙芽細胞、血管内皮細胞および神経線維に観察された。RECA-1 および S-100 との免疫蛍光二重染色では、RECA-1 あるいは S-100 陽性反応と一部一致する GLUT1 陽性反応を認めた。また、MTA 覆髄 3 日後での免疫染色では、MTA 直下から歯髄全体にかけて楕円形、紡錘形および不定形の GLUT1 陽性反応が認められた。5 日後では露髄部直下に被蓋硬組織が形成され、GLUT1 陽性の象牙芽細胞様細胞が確認された。7 日後では、厚みのある被蓋硬組織に沿って円柱状に配列した GLUT1 陽性の象牙芽細胞様細胞が認められた。さらに、覆髄後の GLUT1 および RUNX2 の mRNA の発現量は未処置歯群と比較してともに 3、5 および 7 日後と有意に増加した ( $P < .05$ )。

#### 【考察】

正常歯髄において GLUT1 は象牙芽細胞、血管内皮細胞および神経線維に発現しているだけでなく、MTA 覆髄後においても GLUT1 陽性細胞が確認されたことから、GLUT1 は歯髄組織全体におけるグルコース輸送経路の 1 つである可能性が示唆されるとともに、歯髄損傷後の創傷治癒過程においてもその役割を担っている可能性が示唆される。さらに、覆髄後の GLUT1 と RUNX2 の遺伝子発現の経時的増加から、修復象牙質形成過程における GLUT1 の象牙芽細胞様細胞の分化と基質形成への関与も推察される。

#### 【結論】

ラット臼歯の正常歯髄では、GLUT1 は象牙芽細胞、血管内皮細胞および神経線維に発現が観察された。また、MTA 覆髄後では被蓋硬組織に沿って配列した象牙芽細胞様細胞にその発現が観察されるとともに、GLUT1 および RUNX2 の mRNA 発現量が経時的に増加することが確認された。

## 石膏添加型試作ケイ酸カルシウムの覆髄材としての物理的性質

- 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
- 3) 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科理工学分野

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

### Physical properties of experimental calcium silicate with plaster 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 Yumiyo<sup>1)</sup>, Hori Masaharu<sup>1)</sup>, Kawano Satoshi<sup>1)</sup>, Kawaki harumi<sup>2)</sup>, Tamaki Yukimichi<sup>3)</sup>, Yoshida Takakazu<sup>1)</sup>

【目的】 MTA (Mineral Trioxide Aggregate) は日々の歯科臨床で高い評価を得ている。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ている。演者らは MTA の効能の主体となるケイ酸カルシウムに注目し、第 143 回日本歯科保存学会学術大会において、炭酸カルシウムと珪藻土からケイ酸カルシウムを人工的に合成し、ヒト歯髄由来幹細胞 (hDPSCs) に対して細胞毒性を示さず細胞増殖を阻害しないケイ酸カルシウムが簡便に得られることを報告した<sup>1)</sup>。しかしながら、試作ケイ酸カルシウム粉末のみを純水で練和した場合、硬化時間や強度の面で汎用性に乏しいと考えられた。そこで今回は、機械的強さや操作性の向上と硬化時間短縮のために石膏を添加した試作ケイ酸カルシウムの物理的性質を検討したので報告する。

【材料および方法】 前報<sup>1)</sup>に準じ、試薬の炭酸カルシウム (CaCO<sub>3</sub>, ナカライテスク) と珪藻土 (SiO<sub>2</sub>, ナカライテスク) を重量比 5:1 で混合し、純水を加えた後に電気炉にて 1300°C で焼成した。得られたケイ酸カルシウム焼結塊を粉碎し、粉末状として実験に供した。得られた粉末の成分同定には、試料水平型多目的 X 線回折装置 (Ultima IV, Rigaku) を用い、回折角 (2θ: 10-60 度) で結晶の同定を行った。さらに機械的強さの向上、硬化時間の短縮を目的として、純度 100% 硬質石膏 (下村石膏) を、ケイ酸カルシウム粉末と硬質石膏の重量比 3:1 (以下 A 群)、2:1 (以下 B 群)、3:2 (以下 C 群) で配合した。これらの混合物を混水比 0.4, 0.45, あるいは 0.5 で練和し、ガラス板上に静置した直径 6 mm、高さ 12 mm のテフロンモールド内に填入し円柱状試験片を作製した。試験片は 24 時間室温で硬化させた後に万能試験機 (AUTOGRAPH, 島津) を用いて圧縮試験を行い、圧縮強さを求めた。対照として市販の水酸化カルシウム覆髄剤 (Dycal, デンツプライ三金、以下 D 群) を用いた。硬化時間の測定は JIS (T 6603-1994) に準じて行った。圧縮試験と同様に各種石膏添加型試作セメントを所定の混水比で練和し、練和物をガラス板上に静置した内径 10mm、高さ 5mm のアクリルリング内に填入した。練和開始より 2 分経過後にリングに填入した試料を温度 37±1°C、湿度 95% 以上に保った恒温器内に静置した。質量 100g、先端径 2 mm のピカー針を試料表面に静かに落とす操作を繰り返し、表面に針痕がつかなくなるまでに要した時間を測定した。この操作を 3 回繰り返し、平均時間を分単位で表し硬化時間とした。対照には添加した硬質石膏を所定の混水比により練和して作製した試験片 (以下 P 群) を用いた。

【結果】 圧縮強さの検討では、C 群が 12±3MPa と最も大きな値を示した。また石膏添加型試作ケイ酸カルシウムはいずれの群も対照とした D 群よりも低い値を示した。硬化時間については、石膏添加型試作ケイ酸カルシウムのいずれの群も対照とした硬質石膏のみの P 群に比べ硬化はやや遅いが、3 群ともほぼ同様の硬化時間であり、市販の MTA の硬化時間 (約 165 分<sup>2)</sup>) と比較して十分に短縮されており、操作性が向上した。

【考察および結論】 試作ケイ酸カルシウムを純水で練和することで水酸化カルシウムの生成を確認できたことから MTA に類似した効果が期待できる。また、添加した石膏の作用により硬化体の圧縮強さが向上し、硬化時間も短縮され、操作性が改善したことから、覆髄材としての臨床応用が可能であると考えられた。

### 【文献】

- 1) 林佑美代他. 試作ケイ酸カルシウムの覆髄材としての特性. 第 143 回日本歯科保存学会特別号 P-82.
- 2) Shahi S et al. The Effect of Different Mixing Methods on Working Time, Setting Time, Dimensional Changes and Film Thickness of Mineral Trioxide Aggregate and Calcium-Enriched Mixture. Iran Endod J. 2015. 10:248-251.

## 新規ケイ酸カルシウム系セメントの開発

—水分量がセメントの硬化時間に及ぼす影響—

- 1 山本貴金属地金株式会社, 2 北海道医療大学歯学部 口腔構造・機能発育学系小児歯科学分野,  
3 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  
○加藤喬大<sup>1</sup>, 松浦理太郎<sup>1</sup>, 安楽照男<sup>1</sup>, 榊原さや夏<sup>2</sup>, 遠藤一彦<sup>3</sup>

## The development of new calcium silicate-based cements

—Influence of water-powder ratio on setting time of cements—

Yamamoto Precious Metal Co., Ltd.<sup>1</sup>, Division of Pediatric Dentistry<sup>2</sup>, Division of Biomaterials and Bioengineering<sup>3</sup>,  
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido

○Takahiro Kato<sup>1</sup>, Ritaro Matsuura<sup>1</sup>, Teruo Anraku<sup>1</sup>, Sayaka Sakakibara<sup>2</sup>, Kazuhiko Endo<sup>3</sup>.

### 【目的】

プロルート MTA (デンツプライ三金) に代表されるケイ酸カルシウム系セメント (MTA セメント) は, 抗菌性, 封鎖性, 生体親和性, 硬組織誘導性などの優れた機能を有しており, 直接覆髄, 穿孔封鎖, 逆根管充填など様々な用途で使用され, 良好な臨床成績が報告されている. しかし, 水和反応に要する時間が長く, 硬化時間の短縮が課題となっている. また, MTA セメントの圧縮強さは, 歯質やガラスアイオノマーセメントと比べると低く, 強度の改良も求められている. 本研究では MTA セメントの主成分である白色ポルトランドセメントに対して球状シリカ微粒子とジルコニア微粒子を添加した新規 MTA セメントを試作し, 練和時の蒸留水の比率が硬化時間に及ぼす影響を調べた. また, 試作 MTA セメントの圧縮強さを測定し, 市販品と比較検討を行った.

### 【材料および方法】

- 1) 硬化時間: JIS T6522 を参考にし, 試作 MTA セメント粉末に蒸留水を 15, 20, 22, 25, 27, 30, 35, 40 mass% となるように添加し, それぞれをガラス板上に採取し練和した. 1 分間練和し, 直径 1 cm 深さ 2 mm の型に充填し, 試料に先端が直径 2 mm の針で 100 g の荷重を付与し, 練和開始時から針痕が生じなくなるまでの時間を硬化時間とした.
- 2) 圧縮強さ: JIS T6610 を参考にし, 試作 MTA セメントに 20 mass% の蒸留水を添加し 1 分間練和した. 市販品 (A, B, C, D) は添付文書に記載されている方法に従い練和した. 練和後, 練和泥をステンレス鋼製の分割型 (直径 4 mm, 高さ 6 mm) に充填し, 温度 37°C, 相対湿度 100% の環境下で 2 時間静置した. その後, 試料を型から取り外し, 37°C の蒸留水中に 1 日または 1 週間浸漬し, 小型万能試験機 (Ez-Graph, 島津) を用いて圧縮強さを測定した.

### 【結果および考察】

試作 MTA セメント練和泥の水分量が 15 mass% では水分が足りず試験片の作製ができなかった. 水分量が 20~30 mass% では 1 時間以内で硬化し, 水の増加に従い硬化時間が長くなった (Fig.1). また, 水分量が 35 mass% 以上では試験片にクラックが入った. これは, 35 mass% 以上では, 水和反応に必要な水分量と比べて過剰であったためと考えられる. 圧縮強さは, 製品ごとに大きく異なり, 1 日後と 1 週間後の圧縮強さは A と B は変化が大きく, C と D は変化が小さいことがわかった (Fig.2). 各セメントの硬化性の違いは, セメント粉末の成分・組成が影響していると考えられる. 試作 MTA セメントは水和反応が速く, 1 日後の圧縮強さが約 100 MPa に達することがわかった.

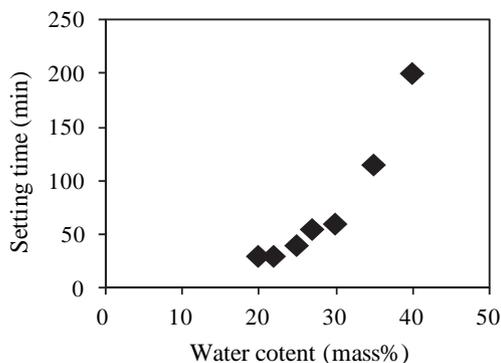


Fig.1 Influence of water content on setting time of cements

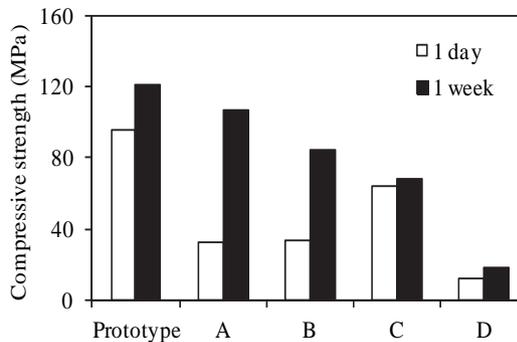


Fig.2 Compressive strength of cements

## 血清中への浸漬がユージノール濃度を低減した 酸化亜鉛ユージノールセメントの物性に及ぼす影響について

<sup>1</sup>日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座、<sup>2</sup>日本歯科大学

○前田 宗宏<sup>1</sup>、橋本修一<sup>2</sup>、勝海一郎<sup>1</sup>

### Physical properties of the zinc oxide

### low concentration eugenol mixture immersed in serum

<sup>1)</sup> Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo

<sup>2)</sup> The Nippon Dental University

○ Maeda M<sup>1</sup>, Hashimoto S<sup>2</sup> and Katsuumi I<sup>1</sup>

#### 【はじめに】

第 141, 142 回の本学会において、酸化亜鉛ユージノールセメントの液成分であるユージノールに脂肪酸などを加えることでユージノール濃度を低減させ、水酸化カルシウムを添加した試作酸化亜鉛ユージノールセメント (OSP セメント) の物性について報告した。今回は、ラットから採取した血清中に試作 OSP セメントを浸漬した際の物性変化について検討した。なお、本研究は日本歯科大学生命歯学部動物実験委員会の承認を得て行った。

#### 【材料および方法】

##### 1. 血清の採取

7 週齢の Wistar 系雄性ラット 2 匹に対し腹腔内麻酔 (ペントバルビタールナトリウム 45 mg/kg) を行い、奏効後に頸動脈から血液を採取した。遠心管内の血液を 3000rpm, 30 分間遠心分離して血清 13ml を得た。

##### 2. 試作低濃度ユージノールセメントの組成

試作粉末 (和光純薬) の全量は 1.004g とした。

粉末 1: 酸化亜鉛 0.45 g、ロジン 0.20 g、水酸化カルシウム 0.20 g、硫酸バリウム 0.15 g、酢酸亜鉛 0.004 g

粉末 2: 酸化亜鉛 0.50 g、ロジン 0.20 g、水酸化カルシウム 0.10 g、硫酸バリウム 0.20 g、酢酸亜鉛 0.004 g

液剤: オレイン酸 (和光純薬) 1 容、イソステアリン酸 (和光純薬) 1 容、プロピレングリコール (和光純薬) 2 容の比率で混和した 17ml の溶液 (OSP) に、3ml のユージノール (Sigma, USA) を加え液剤を調製した (OSP-ユージノール)。粉末 1, 2 と OSP-ユージノールをそれぞれ粉液比 5 で練和した (OSP セメント 1, 2)。

##### 3. セメントの物性試験

###### 1) 辺縁封鎖性試験

内面を粗造にした内径 5 mm、長さ 40 mm のガラス管に練和直後の練和物を 20 mm の長さまで填塞した。室温で 30 分間放置後、ラット血清中にガラス管の先端 5mm が漬かるように懸垂し 100% 湿度、37°C の恒温恒湿器内で 24 時間静置した。血清から試料を取り出した後、1% メチレンブルー水溶液中に浸漬し 100% 湿度、37°C で 24 時間保持した。蒸留水で洗浄しガラス辺縁への色素浸透距離をノギスで計測した。各条件につき 3 試料ずつ行った。コントロールとして、恒温高湿器 (37°C、100%湿度) 中に 24 時間静置した後に 1% メチレンブルー水溶液中に浸漬した OSP セメントを用いた。

###### 2) 硬化度の測定

内面を粗造にした内径 8 mm、長さ 5 mm のガラス管をガラス板上に置き、各セメントを填塞した。室温で 30 分間放置後、ラット血清中に試料を浸漬し、恒温高湿器 (37°C、100%湿度) 内で 24 時間保持後に測定用試料とした。先端径 1 mm、長さ 100 mm の測定針を装着したテクスチャーアナライザ (EZ Test: 島津製作所) の試料台上に試料の上面が測定針に接触するように固定後、1 mm/sec の速度で測定針が試料に進入する際の荷重変化を専用データ処理ソフト (TRAPEZIUM、島津製作所) で記録した。各条件につき 3 試料ずつ行った。コントロールとして、恒温高湿器 (37°C、100%湿度) 中に 24 時間静置した OSP セメントおよび蒸留水中に浸漬した OSP セメントを用いた。

#### 【結果および考察】

1. 血清に浸漬した OSP セメント 1, 2 は、恒温高湿器内で硬化させた群に比べて色素の侵入が認められた。
2. 血清に浸漬した OSP セメント 1, 2 の硬度は恒温高湿器内で硬化させた群に比べ硬度が増加した。
3. 血清に浸漬した OSP セメント 2 の硬度は蒸留水浸漬群に比べて硬度が増加する傾向が認められた。

今回の実験結果から、ユージノール濃度を低減させた試作セメントは血液存在下で硬度が増加したが、これにより辺縁封鎖性は低下していく可能性が示唆された。

## オートクレーブ滅菌象牙質顆粒の骨補填材としての機能評価

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<sup>1)</sup> 川木晴美<sup>2)</sup> 田中雅士<sup>1)</sup> 河野 哲<sup>1)</sup> 近藤信夫<sup>2)</sup> 吉田隆一<sup>1)</sup>

### Evaluation of autoclave sterilized dentin particles 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 Kumio<sup>1)</sup> Kawaki Harumi<sup>2)</sup> Tanaka Masashi<sup>1)</sup>

Kawano Satoshi<sup>1)</sup> Kondoh Nobuo<sup>2)</sup> Yoshida Takakazu<sup>1)</sup>

#### 【研究目的】

歯周病や根尖病変、あるいは腫瘍による骨欠損等、歯科領域において、骨再生療法を適用する症例が増加している。このような場合、自家骨移植の代替材料としてハイドロキシアパタイト(以下HA)、 $\beta$ -リン酸三カルシウム(以下 $\beta$ -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、自家移植へ供給可能な生体材料としての可能性を有している。我々は、抜歯後凍結保存された歯を骨補填材として利用することを想定し、操作性への考慮から、象牙質を顆粒状に加工した後にオートクレーブ滅菌を行って応用する方法を考案した。また、この方法では象牙質の含有する各種有機質成分が失活することが予想されるため、あらかじめ幹細胞と滅菌象牙質顆粒とを共培養し、幹細胞の産生分泌する細胞外基質成分を含むハイブリッド材料の作成を試みた。その結果、滅菌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や、ハイブリッド材料に含まれる幹細胞が実験動物への埋植 4 週間後も生存し骨芽細胞様細胞に分化することを報告してきた。今回は既存の骨補填材を比較対照として滅菌象牙質と幹細胞からなるハイブリッド材料のヌードマウス皮下への埋植後 6 週間の動態と、滅菌象牙質顆粒に生理活性物質を有する有機質成分が残存しているかどうかの検討を行った。

#### 【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 $-80^{\circ}\text{C}$ 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を 7 日間培養し、ハイブリッド骨補填材を作製し、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(20 mg/匹)を埋植し、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。また、象牙質顆粒よりタンパク質試料を抽出して SDS-PAGE による評価を行った。

#### 【結果】

埋植後 6 週間で、骨補填材のみを埋植した群に比べ、ハイブリッド材料を埋植した群で、コラーゲンに富む組織が形成されており、特に象牙質顆粒とのハイブリッド材料埋植群でのみ一層の骨様組織の形成がみられた。また、タンパク質試料の解析では、未滅菌象牙質試料の電気泳動パターンと比較して滅菌象牙質試料では低分子化がみられるものの、一部では未滅菌象牙質試料より得た泳動パターンと同等のものもみられた。

#### 【結論および考察】

滅菌象牙質顆粒ハイブリッド材料埋植群が骨様の組織誘導に優れており、象牙質顆粒にはオートクレーブ滅菌後もなんらかの作用を発揮する成分が残されている可能性が示唆され、象牙質顆粒は、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。また、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。

## 魚コラーゲンペプチドの骨再生への有用性

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

### Usefulness of Fish Collagen Peptides for Bone Regeneration

Department of Cariology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○YAMADA Shizuka, IKEDA Takeshi, YANAGIGUCHI Kajiro, YAMAMOTO Kohei and HAYASHI Yoshihiko

#### 【緒言】

超高齢社会の到来により、骨粗鬆症の増加が懸念されている。高齢者においては骨折や、骨欠損を生じたとしても、骨粗鬆症により完全な治癒にいたらない場合がある。また、歯科領域においては、近年インプラントが盛んに行われているが、高齢者では、その埋入部分の骨の厚さや強度の不足のため、治療が困難となることもある。そのため、骨再生剤の開発・研究は急務となっている。1980年代後半から世界的に猛威を振るい、大きな社会問題となった牛海綿状脳症(BSE)や口蹄疫を含む人畜共通感染症の流行は、医療薬品の原材料について再考を要する問題として一石を投じた。今回、牛や豚由来の代替物として、魚の皮や骨由来のコラーゲンペプチド(Fish Collagen Peptide: FCP)を用いて、骨窩洞へ直接填塞のち骨再生過程を観察し、骨再生剤としての有用性を検討した。

#### 【材料と方法】

FCPは、焼津水産化学工業株式会社(静岡)から供与されたものを使用した。FCPには、500~10 kDaの分子量が含まれている(その大部分は分子量3 kDa)。

このFCP100%の粉末をラットの顎骨欠損部へ填塞し、FCPの骨組織再生効果を観察した。なお、動物実験は長崎大学における動物実験指針に基づいて行われた。

まず、ラットにペントバルビタールナトリウムの腹腔内麻酔を施した後、下顎骨下縁に沿って皮膚切開を行い、骨膜を剥離し、骨面を露出させ、下顎骨下縁とオトガイ孔の間の骨表面から滅菌した#1 スチールラウンドパーを用いて円筒形の骨窩洞を形成した。窩洞内を十分な滅菌生食水で洗浄し、止血を確認後、左右一対の窩洞にFCPを可及的に緊密に填入したのち、皮膚弁を戻し、縫合した。左右のもう一対の窩洞はコントロールとした。術後1, 4, 8, 12および24週間経過時に各々のラットを全身麻酔下で屠殺し、パラホルムアルデヒドおよびグルタルアルデヒドを用いて灌流固定した。その後、試料の固定、アルコール脱水を行い、エポキシレジンに包埋した。厚さ約2 $\mu$ mの準超薄切片を作製し、トルイジンブルー染色後、光学顕微鏡にて観察を行った。なお、顕微鏡観察の倍率は100倍とした。

#### 【結果とまとめ】

術後1週目では、FCP填塞群、コントロール群ともに炎症性細胞浸潤はほぼ消失していたが、FCP填塞群は脈管系新生が旺盛であり、線維芽細胞の増殖も認めた。コントロール群は脈管系新生が散見できる程度であり、細胞成分は希薄であった。4週目において、FCP填塞群では窩洞周辺部および深部において骨芽細胞および破骨細胞が見られた。また、窩洞入口に骨膜と接して極性をもった骨芽細胞が見られ、その内側には一部骨梁形成が認められた。一方、コントロール群では、FCP填塞群同様、窩洞周辺部および深部で一部類骨組織が見られたが、窩洞中央部には骨梁形成は認められなかった。8週目においては、FCP填塞群でかなり骨性修復が進行していたが、コントロール群では、窩洞の骨性閉鎖は未完了であった。12週目では、FCP填塞群の窩洞入口は層板骨によって完全閉鎖していた。一方、コントロール群では、窩洞入口は線維性組織による閉鎖が見られたが、骨性修復は不完全であった。24週目では、FCP填塞群は、ほぼ完全な膜性骨化が完了していた。コントロール群は、窩洞入口においてほぼ骨性閉鎖を認めたが、内部には骨髄組織が存在しているが、まだ完全には骨化していなかった。

以上の所見をまとめると、骨欠損部の創傷治癒は、観察したいずれの時期においてもコントロール群に比べて、FCP填塞群の方が進行していた。これらの結果から、FCPは早期に骨欠損部の修復による骨再生を促進させることを明らかにできた。低分子化した魚コラーゲンペプチドは、BSE感染の危険性がなく、安価である。その上、骨欠損部を直接填塞するという簡便な方法により、骨欠損修復を促進させることができる点でも、FCPは今後、臨床応用への可能性が十分ある生体材料と考える。

## 急性歯髄炎により誘導される歯痛錯誤の末梢神経機構

<sup>1)</sup> 日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座

<sup>2)</sup> 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門

○古宮 宏記<sup>1</sup>, 清水 康平<sup>1,2</sup>, 大原 絹代<sup>1</sup>, 小林 寛<sup>1</sup>, 會田 泰代<sup>1</sup>, 小木曾 文内<sup>1,2</sup>

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

Department of Endodontics<sup>1</sup>,

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

○Hiroki Komiya<sup>1</sup>, Kohei Shimizu<sup>1,2</sup>, Kinuyo Ohara<sup>1</sup>, Hiroshi Kobayashi<sup>1</sup>, Yasuyo Aida<sup>1</sup>  
and Bunnai Ogiso<sup>1) 2)</sup>

#### 【研究目的】

急性歯髄炎が発症した際に隣在歯あるいは対合歯に引き起こされる歯痛錯誤は、適切な診断と治療を行う上で大きな問題となる。このよう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は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、ラットをイソフルラン(1~4%)にて麻酔した。その後、同側顎二腹筋に双極電極を挿入し筋放電量が安定するまで静置し、同側上顎第二臼歯 (M2) をポピドンヨードにて十分消毒した後、歯科用電動式ハンドピース(Tas-35LX, OSADA)と滅菌歯科用スチールバー(ISO No. 1/008~1/012, JOTA, Switzerland)を用いて露髄(歯冠中央部 0.5 mm)させ、Capsaicin (3.0 μM, Wako) に浸漬した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)を用いて Capsaicin 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。

また、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 0.375 mg/kg, ミダゾラム 2 mg/kg, ベトルフェール 2.5 mg/kg)にて深く麻酔し、通法に従い灌流固定を行った。その後、同側三叉神経節を摘出し、連続組織標本を作製後、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 Gap 結合の構成タンパクである 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。

さらに、歯髄炎モデルラットの TG 内に Cx43 阻害薬(Gap26)あるいはその溶媒である 0.1M phosphate buffered saline を、CFA 投与前3日より7日間持続投与し、M2 への Capsaicin 刺激後の反射性顎二腹筋活動をそれぞれ経時的に計測し、筋活動量の解析を行った。

#### 【成績】

M1 への CFA 投与3日目において、M2 への Capsaicin 投与による反射性顎二腹筋活動は投与後2分間で CFA 群の方が Vehicle 群に比べ有意な増加を示した。さらに、M1 への CFA 投与および M2 への FG 投与3日目で、Cx43 を発現している GFAP 陽性細胞によって囲まれた 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。また、M2 への Capsaicin 投与による反射性顎二腹筋活動は TG 内への Gap26 投与により有意に抑制された。

#### 【考察及び結論】

以上の成績から、M1 歯髄炎により M2 に痛覚過敏が引き起こされることが示された。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され、結果的に M2 の痛覚過敏が引き起こされたと考えられる。さらに、活性化型 Satellite 細胞の拡散には Satellite 細胞に存在する Cx43 が関与する可能性が示された。

## NSAIDs の COX 阻害活性非依存的な細胞機能修飾に関する検討

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野  
○松山篤史, 平田-土屋志津, 鷺尾絢子, 諸富孝彦, 北村知昭

### Functional Modification of Cells by Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Independent of Cyclooxygenase-Inhibiting Activity

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,  
Kyushu Dental University

○MATSHUYAMA ATSUSHI, HIRATA-TSUCHIYA SHIZU, WASHIO AYAKO,  
MOROTOMI TAKAHIKO, KITAMURA CHIAKI

【研究目的】非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) は, シクロオキシゲナーゼ (COX) を阻害することによりアラキドン酸からプロスタグランジン (PG) 類の合成を阻害して, 解熱, 鎮痛, 抗炎症作用を現す. リウマチ, 頭痛, 歯痛, 術後痛などに対し, 日常の医療現場で頻繁に用いられる. 一方, NSAIDs には, COX-2 選択阻害剤 celecoxib などのように血管新生の阻害を介した抗腫瘍活性など, 解熱・鎮痛・抗炎症以外の作用が期待されているものも少なくない. 同じ NSAIDs に異なる作用が存在することから, それらの作用機序は COX 阻害を介さないことが予想される. 本研究では, これら NSAIDs の新規標的の同定を目指し, 骨芽細胞分化をモデルシステムとして用いながら, celecoxib をはじめとする NSAIDs の COX 阻害以外の効果の有無について検討した.

【材料および方法】マウス頭蓋冠由来骨芽細胞様細胞株 MC3T3-E1 は 10% 牛胎児血清含有  $\alpha$  MEM で継代培養し, 10 mM  $\beta$ -グリセリン酸, 50  $\mu$ g/ml アスコルビン酸を添加した上記培地により分化を誘導した. 分化誘導培地は 2 日毎に交換し, 誘導開始 7 日目に ALP 活性を測定し, 骨芽細胞分化の指標とした. 各 NSAIDs は, 分化誘導培地に添加して影響を調べた. NSAIDs の細胞内シグナル経路への影響は MC3T3-E1 及びマウス筋芽細胞株 C2C12 を用いて検討した. 一晚の血清飢餓処理後に insulin や BMP-2 で 10 分間刺激した細胞の溶解液を調製し, 抗リン酸化抗体 (Akt, ERK, Smad1/5) を用いたウエスタンブロット法により解析した. NSAIDs は細胞を刺激する 1 時間前に細胞に添加した. 関連遺伝子の発現量は, 細胞から総 RNA を調製用カラム (タカラバイオ) で調製し, RT-PCR 法で, またタンパク質量は, ウエスタンブロット法にて解析した. MC3T3-E1 における PGE<sub>2</sub> 分泌量は, 細胞を PBS で洗浄後に NSAIDs 含有または不含有の増殖用培地を添加し, 1~3 時間後インキュベーション後に培養上清を回収, ELISA 法 (Cayman chemicals) により測定した.

【結果】NSAIDs として, celecoxib, valdecoxib, diclofenac, 及び etodolac が細胞機能に及ぼす影響を検討した. MC3T3-E1 の骨芽細胞分化において, 用いた濃度では celecoxib 及び valdecoxib は分化に伴う ALP 活性の上昇を強く抑制したが diclofenac 及び etodolac は影響しなかった. COX 阻害活性を持たない celecoxib 誘導体 2,5-dimethyl (DM)-celecoxib は ALP 活性の上昇を抑制した. MC3T3-E1 において insulin 刺激によって惹起される Akt, ERK のリン酸化は celecoxib および DM- celecoxib の影響を受けなかった. 一方, C2C12 において celecoxib および DM-celecoxib は BMP-2 刺激によって惹起される smad のリン酸化を抑制した.

【考察】COX 活性が骨芽細胞の分化に重要な役割を持つことは知られているが, celecoxib は同程度の COX 阻害作用をもつ他の NSAIDs と比較して, 骨芽細胞分化を強く抑制し, かつ COX 阻害活性の低い誘導体 DM-celecoxib も骨芽細胞分化抑制効果を有していた. 細胞内リン酸化シグナル経路に対する抑制効果を認めたことを考えあわせると, celecoxib は他の NSAIDs と異なる, COX 活性阻害作用に非依存的な作用機序を有することが示唆された.

【結論】骨芽細胞の分化モデルを用いた実験から, NSAIDs のうち celecoxib は COX 阻害以外の作用機序を通じて細胞機能を修飾することがわかった. 直接の作用点解明を通じて, 新たな疾患への応用や薬物の開発につなげていく.

## Lipopolysaccharide 刺激がヒト歯髄細胞の硬組織形成に及ぼす影響

東京歯科大学歯科保存学講座

○杉内 亜紀奈、高田 佳奈、田宮 資己、佐野 陽祐、  
村松 敬、古澤 成博

### Effects of lipopolysaccharide stimulation in human dental pulp cells form hard tissue

Department of Endodontics and Clinical Cariology, Tokyo Dental College

○Akina Sugiuchi, Kana Takada, Yoshiki Tamiya, Yousuke Sano,  
Takashi Muramatsu, Masahiro Furusawa

#### 【目的】

歯髄細胞は齶蝕や歯髄炎の際に口腔内細菌由来毒素による刺激を受けている。グラム陰性菌の細胞壁成分である lipopolysaccharide (以下 LPS) は、細胞膜表面の toll like receptor 4 (TLR4) を介して細胞内シグナルを活性化させ、MAP キナーゼ経路の活性化を導くことが知られている。近年 LPS 刺激が NF- $\kappa$ B 経路を通して、糖タンパクである Wnt5a の発現を増強させることが明らかとなってきたが、歯髄細胞における硬組織形成との関係性については明らかとなっていない。また、細菌刺激により歯髄には第三象牙質の形成が見られるが、LPS や Wnt シグナルとの関係性については不明な点が多い。本研究では、LPS 刺激がヒト歯髄細胞の硬組織形成に及ぼす影響を調査することを目的とし、歯髄細胞に LPS を添加した際の TLR4、interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、interleukin 6 (IL-6) および、Wnt5a、alkaline phosphatase (ALP)、Runt-related transcription factor 2 (Runx2) の変化を比較検討した。

#### 【材料および方法】

本研究では培養したヒト歯髄細胞 (HDP-TERT, 広島大学・高田隆教授より供与) を用いた。細胞は  $\alpha$ -MEM に 10%FBS、penicillin-streptomycin (100 IU/mL)、 $\beta$ -glycerophosphate (10mM)、アスコルビン酸 (50 $\mu$ g/mL)、デキサメタゾン (10nM) を添加した硬組織誘導培地に  $1 \times 10^4$  cells/ml の密度で 35mm dish に播種し、24 時間後、1  $\mu$ g/ml の *E. coli* 由来 LPS (Sigma-Aldrich) を添加、0、1、3、7、14、21 日間培養した。その後、RNA を抽出し、TaqMan Probe を用いた定量的 real-time PCR を行った。標的遺伝子は *TLR4*、*IL-1 $\beta$* 、*IL-6* および *Wnt5a*、*ALP*、*Runx2* とし、それぞれ遺伝子発現の変化について観察した。なお内在性コントロール遺伝子には *GAPDH* を用い、対照群としては LPS の代わりに  $\alpha$ -MEM を添加し、同様に RNA 抽出を行ったものを用いた。また、ALP に関しては細胞を RIPA Buffer で回収後、Lab Assay™ ALP (Wako) を用いて 405nm の吸光度を測定し、ALP 活性を評価した。

#### 【結果】

HDP-TERT に対して定量的 Real-Time PCR を行い、各日で mRNA の発現量を LPS 非添加群と比較したところ TLR4、IL-1 $\beta$ 、IL-6 はそれぞれ LPS 添加群で 1 日目が高い発現量を示した ( $P < 0.05$ ;  $n=3$ )。Wnt5a の発現量は 14 日目で非添加群の 2 倍を示し ( $P < 0.01$ ;  $n=5$ )、ALP、Runx2 は、非添加群の 10 倍、4.7 倍 ( $p < 0.01$ ;  $n=5$ ) と、明らかな上昇が認められた。なお、ALP 活性も LPS 非添加群と比較し 21 日目で明らかな上昇が認められた ( $P < 0.01$ ;  $n=5$ )。

#### 【結論】

今回、炎症性サイトカインと硬組織形成マーカーの mRNA の変化を検討した結果、LPS は TLR4 を介して歯髄細胞の炎症を惹起し、Wnt シグナルを通して硬組織形成を誘導している可能性が示唆された。

## Streptococci 由来 Histon-Like DNA binding Protein (HLP)刺激の 単球様細胞 (THP-1) における Mincle 発現への影響

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  
○平尾功治、湯本浩通、細川由樹、松尾敬志

**Expression of MINCLE on human monocytic cell line (THP-1) stimulated  
with *Streptococcal* Histon-Like DNA binding Protein (HLP)**  
Tokushima University Graduate School, Institute of Biomedical Sciences,  
Oral Science, Clinical Dentistry, Department of Conservative Dentistry  
○Kouji HIRAO, Hiromichi YUMOTO, Yuki HOSOKAWA and Takashi MATSUO

### 【目的】

歯髄炎は齶蝕に継発する感染症であり、発症すると早期に歯髄組織に不可逆性の変化を引き起こし、抜髄処置が必要となる。我々はこれまでに、NOD1, NOD2, TLR2, TLR4 といった自然免疫レセプターが歯髄象牙芽細胞や線維芽細胞に発現し、各々のリガンドは種々のサイトカインやケモカインを産生誘導させることを報告した。近年、新たな自然免疫関連レセプターとして Macrophage-inducible C-type lectin (Mincle)が注目されている。Mincle は結核菌やカンジダの構成成分を認識する他、細胞が感染等により壊死すると放出される Spliceosome-associated protein 130 (SAP130)も認識し、種々のサイトカインの産生を増強する。歯髄炎においても感染後、比較的早期に歯髄壊死が生じる事より、その進行に Mincle が関与している可能性が示唆される。

Streptococcus 属の Histon-Like DNA binding Protein (HLP)は、Streptococci 内で高度に保存されており、我々は Streptococci 由来 HLP 刺激が、ヒト単球系細胞 (THP-1 細胞)の炎症性サイトカイン産生を増強することを報告している (Cellular Microbiology, 2008)。そこで本研究では、歯髄炎の病態メカニズム解明するために、*S. mutans* や recombinant S-HLP ならびに LPS や Pam3CSK4 といった細菌関連分子が THP-1 細胞の Mincle 発現に与える影響を調べた。

### 【材料と方法】

Streptococci の *hlp* 遺伝子をクローニング後、大腸菌で発現誘導させ rS-HLP を精製した。THP-1 細胞を *S. mutans* 生菌・死菌ならびに LPS, Pam3CSK4, rS-HLP にて4時間刺激し、total RNA を抽出・精製後、Mincle の mRNA 発現を real-time PCR 法にて解析した。また、各シグナル阻害剤添加1時間後に rS-HLP を4時間刺激させた THP-1 の Mincle mRNA 発現を real-time PCR 法にて解析し、シグナル伝達系物質のリン酸化をウエスタンブロット法を用いて確認した。

### 【結果】

う蝕病原細菌 *S. mutans* 生菌刺激により、THP-1 細胞の Mincle mRNA 発現の増加が認められたが、死菌での刺激においては Mincle mRNA の発現増加は認めなかった。また、LPS, Pam3CSK4, rS-HLP 刺激によっても、THP-1 細胞の Mincle mRNA 発現は濃度依存的に優位に増加した。さらに、rS-HLP の作用は Polymyxin B を添加しても変化なく、LPS のコンタミネーションはないことが確認された。各種シグナル阻害剤にて前処理後、rS-HLP にて刺激を行った THP-1 細胞の Mincle mRNA 発現は、PI3K 阻害剤である LY294002 処理群において Mincle の mRNA 発現が有意に抑制された。また、ウエスタンブロット法において rS-HLP 刺激 30 分、60 分後に Akt のリン酸化が認められることを確認した。

### 【考察】

う蝕病原細菌 *S. mutans* 生菌や細菌関連分子 (PAMPs)、さらに rS-HLP 刺激によって THP-1 細胞において Mincle の発現が増強すること、またその発現は PI3K-Akt 経路によって制御されていることが明らかとなった。これらの結果は、歯髄炎の進行は Mincle を介して急速に進行する可能性があること、また Mincle 発現を PI3K-Akt 阻害剤によって抑制することで、Mincle によって産生される炎症性サイトカインを減少させ、歯髄炎の進行を防止できる可能性を示唆するものである。

## Phosphophoryn の持つ抗炎症作用の検討

広島大学 大学院医歯薬保健学研究院 歯髄生物学研究室  
○中西 惇、鈴木 茂樹、小武家 誠司、吉田 和真、永安 慎太郎、柴 秀樹

### Anti-inflammatory effects of phosphophoryn

Department of Biological Endodontics, Institute of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University  
○Jun Nakanishi, Shigeki Suzuki, Seiji Kobuke, Kazuma Yoshida, Shintaro Nagayasu, and Hideki Shiba

#### <研究目的>

歯髄はエナメル質・象牙質あるいはセメント質・象牙質で構成される硬組織に囲まれ、これらの硬組織によって外界からの物理的・化学的刺激から遮断された環境下において恒常性が維持されている。齲蝕、アブフラクション等の歯牙硬組織疾患によってエナメル質、象牙質が欠損し象牙質表層が口腔内に露出すると、象牙細管を通じて歯髄組織が口腔内常在細菌および温熱刺激などにさらされる。しかしながら、露出象牙細管を通じ外界からの刺激に暴露された歯髄において、急性歯髄炎が必ずしも発症するとは限らず、自発痛や冷温水痛などの症状がない状態で経過をたどる場合があることが臨床的に多く認められる。そこで我々は、歯髄組織や象牙質内に存在する何らかの因子が反応性象牙質形成による歯髄組織の物理的保護のみならず、炎症初期反応を抑制することによって歯髄組織における急性炎症の発現を抑制するメカニズムが存在すると仮説した。

Phosphophoryn (PP) は Dentin sialophosphoprotein (DSPP) がプロテアーゼによって分解されて生じる象牙質や歯髄組織に最も多量に存在する非コラーゲンタンパク質である。PP はセリン-セリン-アスパラギン酸 (serine/asparatic acid rich repeats: SDrr) の長い繰り返し配列をそのアミノ酸配列中に含み、この配列中のセリンは高度にリン酸化修飾を受けることから象牙質の石灰化に中心的な役割を果たしている。また、生体内で分解された PP は骨芽細胞等に対し細胞接着能を有することから象牙質や骨組織再生誘導材としての利用が期待されている。PP は象牙芽細胞から分泌され、象牙質のみならず歯髄組織の細胞外基質中にも存在すること、また象牙質の脱灰時には、象牙質中から溶出した PP が象牙細管を介して歯髄組織に流入していると想定されることから、PP を含む歯髄組織が外界から刺激を受けた際の歯髄組織恒常性の維持に関与している可能性がある。そこで PP が炎症抑制作用を有する因子と考え、LPS 刺激によってヒト単球系細胞 THP-1 細胞から分化させたマクロファージ培養系において、炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  発現に及ぼす recombinant PP (rPP) の影響を調べた。

#### <材料および方法>

THP-1 細胞を 10%FBS 添加 RPMI 培地にてサブコンフルエントまで培養後、継代し、実験に供した。24 well プレート 1well あたりに phorbol myristate acetate (PMA) 30.8 ng/ml および THP-1 細胞が  $1 \times 10^5$ /ml の濃度となるように調整した細胞懸濁液 500 $\mu$ l を加えて 24 時間培養し THP-1 細胞をマクロファージへ分化誘導した。24 時間後に THP-1 細胞を無血清 RPMI 培地で洗浄後、LPS を 1 あるいは 10 ng/ml の濃度となるよう添加した。LPS 刺激と同時に rPP を 6  $\mu$ g/ml の濃度となるよう添加した。刺激 24 時間後に培養上清を回収し、培養上清中の TNF- $\alpha$  量を Human TNF- $\alpha$  ELISA Development Kit (PromoKine)を用いて測定した。

#### <結果>

1 および 10 ng/ml の LPS は濃度依存的にマクロファージからの TNF- $\alpha$  分泌を有意に促進した。rPP は、1 および 10 ng/ml LPS 刺激によって増加した TNF- $\alpha$  の分泌量を減少させた。

#### <考察および結論>

本実験結果から rPP は LPS 刺激によってマクロファージから分泌された TNF- $\alpha$  量を減少させた。PP は歯髄中に豊富に存在しており、また歯髄炎は歯髄組織への外部刺激に対する樹状細胞等の免疫応答によって惹起されることから、象牙質歯髄複合体内に特異的にかつ多量に存在する PP による抗炎症作用が、閉鎖環境にある歯髄の炎症を抑制するメカニズムに寄与している可能性が示唆された。

### 歯髄細胞における $\beta$ ig-h3 の発現および機能について

<sup>1</sup>九州大学大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、<sup>2</sup>九州大学病院 歯内治療科、<sup>3</sup>九州大学病院 口腔総合診療科  
○芹田俊<sup>1</sup>、友清淳<sup>1</sup>、長谷川大学<sup>1</sup>、濱野さゆり<sup>1</sup>、杉井英樹<sup>1</sup>、  
吉田晋一郎<sup>1</sup>、水町博之<sup>1</sup>、御手洗裕美<sup>1</sup>、和田尚久<sup>3</sup>、前田英史<sup>12</sup>

#### The expression and function of $\beta$ ig-h3 in dental pulp cells

<sup>1</sup>Department of Endodontology and Operative Dentistry, Kyushu University, <sup>2</sup>Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, <sup>3</sup>Division of General Oral Care, Kyushu University Hospital  
○Suguru Serita<sup>1</sup>, Atsushi Tomokiyo<sup>1</sup>, Daigaku Hasegawa<sup>1</sup>, Sayuri Hamano<sup>1</sup>, Hideki Sugii<sup>1</sup>,  
Shinichiro Yoshida<sup>1</sup>, Hiroyuki Mizumachi<sup>1</sup>, Hiromi Mitarai<sup>1</sup>, Naohisa Wada<sup>3</sup>, Hidefumi Maeda<sup>12</sup>

#### <研究目的>

直接覆髄後の歯髄組織において、象牙芽細胞によって修復象牙質が形成されるが、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。今回筆者は骨芽細胞の分化を抑制するタンパクとして知られている  $\beta$  ig-h3 に着目した。 $\beta$  ig-h3 は RGD 配列を有する細胞接着性タンパクであり (Skonier et al., 1994)、歯根膜細胞の骨芽細胞様分化を抑制することが報告されている (Ohno et al., 2002)。しかしながら歯髄細胞における  $\beta$  ig-h3 の発現および機能については明らかになっていない。そこで本研究では、ラット歯髄組織切片およびヒト歯髄細胞 (HDPC) を用いてこれらの検討を行った。

#### <材料および方法>

(1) 免疫組織化学的染色: Wistar ラット (8 週齢、雄性) の上顎第一臼歯を露髄後、MTA セメントで覆髄した。2 週飼育後に固定脱灰し、パラフィン包埋して矢状断切片を作製し、歯髄組織における  $\beta$  ig-h3 の発現を解析した。(2) 免疫蛍光抗体法: 本研究への同意が得られた患者の抜去歯より歯髄組織を採取し、10% Fetal Bovine Serum 含有の  $\alpha$ -MEM にて 4-7 継代培養した細胞を HDPC-3R (23 才、男性) として用いた。HDPC を固定し、免疫蛍光抗体法により  $\beta$  ig-h3 の発現を解析した。(3) RT-PCR 法: HDPC におけるレセプター遺伝子の発現を半定量的 PCR 法によって解析した。また 2 mM  $\text{CaCl}_2$  を加えて象牙芽細胞様分化誘導した HDPC、および IL-1 $\beta$  を添加した HDPC における  $\beta$  ig-h3 の遺伝子発現、またリコンビナントヒト  $\beta$  ig-h3 (rh  $\beta$  ig-h3) を加えた HDPC における象牙芽細胞関連遺伝子発現を定量的 PCR 法で解析した。(5) アリザリンレッド-S 染色: HDPC に rh  $\beta$  ig-h3 を加えた場合の石灰化物形成に与える影響を解析した。(6) WST-1 アッセイ: HDPC に rh  $\beta$  ig-h3 を加えた場合の増殖に与える影響を解析した。なお本研究は九州大学大学院歯学研究院倫理委員会ならびに九州大学動物実験委員会の承認を得て実施された。

#### <結果と考察>

ラット臼歯の正常な歯髄組織において象牙芽細胞を含む歯髄細胞に  $\beta$  ig-h3 が発現していた。一方で直接覆髄モデルの歯髄組織において、修復象牙質直下の象牙芽細胞ならびに近傍の歯髄細胞の  $\beta$  ig-h3 発現が低下していた。また HDPC は  $\beta$  ig-h3 を発現しており、HDPC を象牙芽細胞様分化誘導した結果、コントロールと比較して有意に  $\beta$  ig-h3 遺伝子発現が抑制された。さらに HDPC に IL-1 $\beta$  を添加して培養した結果、 $\beta$  ig-h3 の遺伝子発現が抑制された。これらの結果から、非炎症下では象牙芽細胞は、 $\beta$  ig-h3 を発現しているが、修復象牙質形成時には  $\beta$  ig-h3 の発現を減弱することが示唆された。そこで  $\beta$  ig-h3 の機能解析を行った。まず HDPC における  $\beta$  ig-h3 のレセプター (インテグリン  $\alpha$ v、 $\beta$ 3、 $\beta$ 5) の遺伝子発現を確認した。次に HDPC に rh  $\beta$  ig-h3 (10  $\mu$ g/ml) を加えて培養した結果、HDPC の石灰化物形成能および象牙芽細胞関連遺伝子発現が抑制された。一方で増殖には影響を及ぼさなかったことから、これらの抑制効果が増殖の抑制によるものではないと考えられる。以上の結果から、象牙芽細胞は  $\beta$  ig-h3 の発現を通して象牙質形成を制御している可能性が推察された。

#### <結論>

HDPC は  $\beta$  ig-h3 を発現しており、 $\beta$  ig-h3 によって HDPC の石灰化が抑制された。

### 培養ヒト歯髄に対する prostaglandin EP2 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<sup>1</sup> 枝並直樹<sup>1</sup> 竹内亮祐<sup>1</sup> 遠間愛子<sup>1</sup> 吉羽永子<sup>1</sup> 吉羽邦彦<sup>1</sup> 小田陽平<sup>2</sup> 興地隆史<sup>3</sup>

#### Effect of prostaglandin EP2 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 Ohkura<sup>1</sup>, Nagako Yoshida<sup>1</sup>, Kunihiro Yoshida<sup>1</sup>, Yohei Oda<sup>2</sup> and Takashi Okiji<sup>3</sup>

#### 【研究目的】

Prostaglandin (PG) E<sub>2</sub> は炎症、痛み、組織修復などで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、PGE<sub>2</sub> は特異的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 PGE<sub>2</sub> 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 PGE<sub>2</sub> 特異的レセプターの1つである EP2 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 添加によって培養ヒト歯髄組織で EP2 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 EP2 を介した PGE<sub>2</sub> 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 EP2 アゴニストを作用させ、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】

矯正治療で要抜歯と診断された 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)。抜去歯は厚さ 1mm にスライスした後、EP2 アゴニスト (butaprost: 1mM) もしくはコントロールとして EP2 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、CO<sub>2</sub> 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 μg を用い、血管新生マーカーとして vascular endothelial growth factor A (VEGF-A)、fibroblast growth factor 2 (FGF-2) 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 CD31 (血管内皮細胞マーカー) の発現を蛍光抗体法で観察した。

#### 【結果】

Butaprost 添加条件での mRNA 発現レベルは、コントロールと比較して VEGF-A および FGF-2 でそれぞれ 22.4 倍、68.7 倍に有意に亢進した。また、butaprost 添加条件での CD31 陽性反応は血管新生初期に認められる tip-cell 様の組織像を呈し、butaprost 非添加の組織と比較して長く、かつ多数の傾向を示した。

#### 【考察】

象牙芽細胞と血管内皮細胞に発現している EP2 が butaprost と結合することで、VEGF-A ならびに FGF-2 の mRNA 発現が亢進するとともに、CD31 陽性 tip-cell 様細胞の出現から EP2 が血管新生に関与している可能性が示唆された。また、EP2 は筋線維芽細胞から FGF-2 の産生を促し、オートクライン的に活性化する経路が存在しており、ここにも関与している可能性が示唆された。

#### 【結論】

Butaprost の添加によって、培養ヒト歯髄で VEGF-A および FGF-2 の mRNA 発現が亢進するとともに、CD31 陽性 tip-cell 様構造の出現が観察された。

実験的歯髄炎における炎症進展時の骨髄細胞動態に関する研究  
神奈川歯科大学大学院歯髄生物学講座  
○武藤徳子, 石井信之

The study of the role of bone marrow cells in pulp infection.  
Department of Pulp Biology and Endodontics, Kanagawa Dental University  
○MUTOH Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【目的】

歯髄組織における炎症の進展と防御は、周囲を硬組織に囲まれている構造から血液供給が必要な役割を担っている。演者らは歯髄が感染後に回復する場合は、歯髄象牙質界面に樹状細胞の集積が認められ、回復が望めない時は同部位に破骨系細胞が認められることを報告した。歯髄組織への細胞供給源となる骨髄組織は、血液幹細胞の再生、血液細胞の生成およびリンパ系前駆細胞を胸腺や脾臓へ送出する機能を持つことが報告されている。しかし、歯髄炎の発症により骨髄組織における細胞の動態は明らかにされていない。口腔常在菌に対する宿主の免疫応答が歯髄炎の進行に密接に関係することが示されていることから、本研究は、歯髄再生における骨髄組織の免疫応答を明らかにすることを目的として、歯髄炎から再生に伴う炎症性細胞の同定、動態およびその相関関係を組織学的に解析した。

【方法】

BALB/c マウス♀7w (n=18) を麻酔下にて右側上顎第一臼歯近心隣接面を注水下でタービンにてグループ状に窩洞形成後露髄させ、口腔常在菌による感染を惹起した。露髄処置による歯髄感染直後から 24、72h、5d、1、2 および 3W 後に 4%Paraformaldehyde にて灌流固定後、24h 浸漬固定し、EDTA 脱灰後の試料を採取し凍結切片を作成した。解析方法として HE 染色を用いて歯髄炎から炎症が拡大する際の細胞動態を、また抗 TLR2, 4 ポリクローナル抗体および活性化マクロファージのマーカーである抗 CD64 抗体を用いて免疫組織染色を行い、TLR 発現細胞の同定を行った。また未処置歯をコントロールとした。さらに、露髄面に覆髄材を充填し、その歯髄組織及び骨髄組織の経時的变化を組織学的に解析した。

【結果と考察】

窩洞形成後の組織変化は、コントロール群と比較して歯髄感染後 24h において根尖歯周組織の毛細血管は多数の血球成分の滲出所見が認められた。歯髄感染後 5d の根尖歯周組織において毛細血管の新生が認められ、同様の組織所見は 2W まで継続して認められた。

歯髄炎の発症時における歯槽骨吸収と自然免疫応答の関与を TLR 産生細胞の動態により解析した結果、歯髄感染 24h 後の根尖歯周組織に TLR2 陽性細胞の集積が認められ、その発現は 1W まで確認された。術後 1W の根尖孔直下の毛細血管では血管壁から滲出したと考えられる多形核白血球やマクロファージに TLR4 陽性所見が認められた。また、歯髄感染 24h 後の根尖周囲の歯槽骨骨髄組織においては、多数の TLR4 陽性細胞の発現が認められた。骨髄内の TLR4 陽性細胞は形態学的に骨髄細胞のみならず、多形核白血球であり同様の所見は 5d 後まで強陽性像が認められた。これらの組織学的所見から自然免疫から獲得免疫への移行に TLR シグナルが深く関わっていることが示唆された。

【結論】

露髄により細菌感染した歯牙の根尖歯周組織および周囲歯槽骨髄組織は、感染後 24 時間で TLR2, 4 陽性細胞の集積が認められ、TLR シグナルを介した自然免疫応答が炎症の進展及び防御メカニズムに関与している可能性が示された。

## ラット歯根未完成歯の抜髄後に行ったリバスクラリゼーションの組織学的観察

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<sup>1)</sup>、新井恭子<sup>2)</sup>、北島佳代子<sup>2)</sup>、山田理絵<sup>2)</sup>、五十嵐 勝<sup>1, 2)</sup>

### Histological observation of revascularization after pulpectomy of immature rat teeth

1) Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University

Graduate School of Life Dentistry at Niigata

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

○IINO Hanae<sup>1)</sup>, ARAI Kyoko<sup>2)</sup>, KITAJIMA Kayoko<sup>2)</sup>, YAMADA Rie<sup>2)</sup> and IGARASHI Masaru<sup>1, 2)</sup>

#### 【諸言】

歯根未完成歯は、根尖孔がラッパ状に開大した短根状の歯から、歯根長は完成したものの根尖狭窄部が未だ形成されていない形成途上にある永久歯をいう。一般にう蝕の進行により歯髄が感染し、根管歯髄まで急性炎症が波及している急性全部性歯髄炎では、抜髄法が適応となる。歯根未完成歯においても同様な処置が必要であるが、根尖の位置が定まらないため、根尖部付近まで抜髄した後、アペキシフィケーションに準じて水酸化カルシウム貼薬が施される。根尖部周囲に生活組織が残存しているため、治療後は歯根尖の継続した成長が期待できるが、貼薬を行った根管は太いまま残存するといわれている。一方、近年歯根未完成歯の無髄歯に対する歯髄再生療法の一つとされているリバスクラリゼーションでは、根管内に血餅を誘導し、血餅上部に貼薬することにより、その後根管内に硬組織の形成がみられ、歯根の成長も期待できるとされている。本研究は、歯根未完成歯生活歯髄の抜髄後、リバスクラリゼーションを施した場合の、根管および根尖歯周組織の創傷部治癒経過を組織学的に観察をする目的で行った。

#### 【方法】

実験動物として6週齢のWistar系雄性ラット(n=14)を使用し、被験歯を上顎右側第一臼歯とし近心根を用いた。全身麻酔後に手術台に固定し、ラバーダム防湿と、術野の消毒を行った。ダイヤモンドポイントで髓室開拓し、歯冠部歯髄の除去をマイクロエクスカーターにて行い、6%次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水で髓室内の交互洗浄を行った。近心根根管口を確認後、作業長3.5mmで#10、15、20のHファイル及び抜髄針を用いて根部歯髄除去後、NiTiファイル(PROTAPER® F1、DENSPLY)で根管拡大を行った。根管内に残存する歯髄組織をHファイルやクレンザーで完全に除去し、髓室内の交互洗浄と根管内の生理食塩液洗浄を行った。近心根管の止血確認後、#10のHファイルで根尖を刺激して出血させ、根管口部まで血液を満たした。血餅形成確認後、MTAを血餅上部に貼付し、その上部をレジン系裏層材で裏層後、コンポジットレジン充填を行った。近心根以外の根管は生活断髄を行った。術後2週、4週に4%パラホルムアルデヒド溶液にて全身灌流固定を行い、被験歯を根尖歯周組織を含めて摘出し、さらに浸漬固定を行った。試料を10%EDTAで脱灰し、通法に従いパラフィン包埋後、厚さ6μmの連続切片を作製し、HE染色、AZAN染色、Gram染色を施し顕微鏡にて観察した。なお、本研究は日本歯科大学新潟生命歯学部動物実験倫理委員会の承認(承認番号NDUN-189)を得て実施された。

#### 【結果】

実験期間中にコンポジットレジンが脱離した1例を除いて術後2週、4週ともに根管組織および根尖歯周組織に炎症所見、感染所見はみられなかった。根管内に明確な残髄所見はなく、拡大は根管壁面の状態から根尖孔付近まで行われたと考えられる。2例で歯根の歯頸側1/3の分岐側にストリップパーフォレーションがみられたが根尖歯周組織は治癒しており根尖への影響はないと考えた。術後2週では根尖部に線維性組織の形成がみられた。術後4週では根管内の線維性組織は一部に局限してみられ、根管口部から根尖部までの根管壁には骨様硬組織形成がみられた。術後2週よりも術後4週でセメント質の肥厚がみられた。

#### 【考察】

ラット歯根未完成歯の抜髄根管に血餅を満たし、MTAにて被覆することにより根尖部組織に継続する線維性組織を経て骨様組織硬組織形成が起こることが示された。また根尖歯周組織に炎症所見、感染所見はなく、良好な術式であったと考えられる。今後は免疫染色を用いて根管内の組織を詳細に検討する予定である。

## ラット培養歯髄細胞の dentinogenesis における ectodin と wnt シグナルの影響について

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、山崎崇秀、鈴木瑛子、高橋淳哉、石岡和仁、藤原ひかり、横瀬敏志

### Study of ectodin exerting dentinogenesis via wnt signal pathway in rat dental pulp cells.

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

○UEDA Takayuki, KADOKURA Hiroshi, YAMAZAKI Takahide, 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、様々な転写調節因子の発現をコントロールしている。これまでに我々は象牙芽細胞の分化と象牙質形成に ectodin と wnt シグナルが深く関与することを明らかにしてきた。今回さらに ectodin ならびに wnt シグナルが象牙質形成にどのように関わるかを調べる目的でラット培養歯髄細胞に対し ectodin を knock down して実験をおこなった。

(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法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, wnt10, axin2 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) KD 群における ectodin mRNA の発現は Cont 群に比較して有意に減少し、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抑制され DSPP, BGP の発現も Cont 群に比較して有意に抑制された。これに伴い wnt10a の発現も抑制されたが axin2 の発現は変化が認められなかった。これらの所見から ectodin の発現を抑制すると象牙質形成が抑制され、このメカニズムには wnt10a 以外にも他の wnt シグナルが関与することが示唆された。

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

## 象牙芽細胞様細胞の生存における細胞封入型デバイスの影響

九州歯科大学口腔保存治療学分野<sup>1</sup>

NsGene Inc., USA<sup>2</sup>

○西藤法子<sup>1</sup>, 鷲尾絢子<sup>1</sup>, 諸富孝彦<sup>1</sup>, 花田可緒理<sup>1</sup>,

Wahlberg Lars<sup>2</sup>, Emerich Dwaine<sup>2</sup>, 北村知昭<sup>1</sup>

### Effects of Cell Encapsulation Device on the Viability of Odontoblast-like Cells

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University<sup>1</sup>

NsGene Inc., USA<sup>2</sup>

○SAITO Noriko<sup>1</sup>, WASHIO Ayako<sup>1</sup>, MOROTOMI Takahiko<sup>1</sup>, HANADA Kaori<sup>1</sup>,

WAHLBERG Lars<sup>2</sup>, EMERICH Dwaine<sup>2</sup>, KITAMURA Chiaki<sup>1</sup>

【目的】これまでに我々は歯髄の局所的再生療法の確立を目指し、冠部歯髄除去後の残存歯髄から象牙質-歯髄複合体の再生を誘導する研究を進めてきた。局所的歯髄再生療法を実現するためには炎症制御や細胞生存に関与する各種因子を持続的に局所に供給する必要がある。従来から、必要な因子を分泌する細胞を多孔性カプセルに封入し体内罹患部位に埋入する研究が進められているが、近年、米国 NsGene 社により GDNF 等の因子を恒常的に分泌する細胞を免疫遮断性カプセルに封入したデバイスが開発され、アルツハイマー病やパーキンソン病の進行抑制治療法として臨床治験が進められている。本デバイスはカプセル内に封入した細胞から分泌された因子が標的部位に放出されるように設計されている。今回我々は、このデバイスから分泌される因子が象牙芽細胞様細胞の生存に与える影響について検討した。

【材料と方法】実験には、NsGene 社より供与された GDNF を大量分泌するよう遺伝子組替えした細胞 (NGC03125 細胞) と遺伝子組替え前のヒト網膜色素上皮細胞 (ARPE19 細胞) の各々をカプセル (直径 0.4-0.7 mm, 長さ 4.0-7.0 mm) に封入した 2 種類のデバイス、およびラット切歯歯髄より樹立した象牙芽細胞様細胞株 (KN-3 細胞) を用いた。各デバイスは Human Endothelial SFM 無血清培地で維持し、KN-3 細胞は  $\alpha$  MEM 培地にて FBS 存在下で継代維持した。各デバイスからの GDNF 分泌は ELISA 法にて検出した。次に、各デバイスの維持培地を用い、維持培地に含まれる分泌物が KN-3 細胞の生存に及ぼす影響を確認した。KN-3 細胞を 24-well plate に播種し付着を確認後、各維持培地を KN-3 細胞の培地に FBS の最終濃度が 0.1%, 全培養液の 50% になるよう各々調整して添加した。一定期間毎に刺激培地を交換して 7 日間培養後、Trypan Blue 染色により生細胞数の割合を算出した。さらに上記条件で 7 日間培養した細胞を 1%FBS 存在下で培養することで刺激終了後の細胞生存能を Trypan Blue 染色により確認した。

【結果および考察】ELISA 法の結果から、デバイスからの GDNF 分泌は無血清培地中においても 12 か月にわたり継続することが確認された。また Trypan Blue 染色の結果から、各維持培地の添加により、無血清に近い環境下においても KN-3 細胞の生存が維持されることが確認された。一方、デバイスの維持培地を添加しなかった場合は細胞生存が抑制されていた。さらに刺激終了後の細胞を 1%FBS 存在下で培養したところ細胞の増殖が確認された。以上の結果は、NGC03125 細胞および ARPE19 細胞を封入した各デバイスからの分泌物が KN-3 細胞の生存維持に有効であり、その効果は GDNF を含めた多様な因子の影響であることを示唆している。

【結論】NGC03125 細胞および ARPE19 細胞を封入した各デバイスからの分泌物は、象牙芽細胞様細胞の生存維持に有効である。

### 歯髄幹細胞および象牙芽細胞における simvastatin ならびに bFGF の効果

鶴見大学歯学部歯内療法学講座<sup>1)</sup>

京都大学再生医科学研究科生体材料学分野<sup>2)</sup>

○森戸亮行<sup>1)</sup>、吉田拓正<sup>1)</sup>、湯本琴美<sup>1)</sup>、田畑泰彦<sup>2)</sup>、細矢哲康<sup>1)</sup>

Effect of simvastatin and basic fibroblast growth factor on human dental pulp stem cells and odontoblast

1) Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine

2) Department of Biomaterials, Field of Tissue Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University,

○MORITO AKIYUKI<sup>1)</sup>, YOSHIDA TAKUMASA<sup>1)</sup>, KOTOMI YUMOTO<sup>1)</sup>, TABATA YASUHIKO<sup>2)</sup>, and HOSOYA NORIYASU<sup>1)</sup>

#### 【緒言】

歯髄組織の再生においては種々の研究が行われており、なかでも pulp revascularization ならびに歯髄幹細胞移植などが注目されているが、解決が必要な問題も存在する。pulp revascularization においては、odontoblast 由来の象牙質/歯髄複合体の再生が明確に確認されず、骨様組織の形成なども報告されている。歯髄幹細胞移植においては、細胞回収や増殖等に高額な費用を要し、処理中の感染や細胞のがん化に対する問題などから、現状での日常臨床への応用は難しい。

本研究では、新たな手法による歯髄組織の再生を目的に、臨床応用が可能な basic fibroblast growth factor (bFGF) ならびに simvastatin を歯髄組織に適用し、機能を賦活することによる歯髄組織の再生を検討している。著者らは第141回本学会秋季学術大会において、bFGF がヒト歯髄幹細胞(hDPSCs)の増殖能を上昇させること、また simvastatin が象牙芽細胞様細胞の石灰化を誘導することを報告した。今回は、bFGF ならびに simvastatin による石灰化誘導への効果について報告する。

#### 【材料と方法】

被験細胞として、ヒト歯髄幹細胞 (hDPSCs) (DPSC090411-01, Veritas) を実験に供した。培養には、bFGF (0 - 250 ng/ml) および/または simvastatin (0-10 $\mu$ M) を基本培地 (DMEM、1% penicillin/streptomycin、10% FCS) に添加して使用した。培養期間は1, 3, 7, 14、ならびに21日であり、各期間において細胞を回収し種々の検索を行った。細胞増殖能に関してはDNA assay、分化能に関してはALP assay、Ca測定ならびにRT-PCR法による生化学的観察を行った。PCR法では、プライマーとして *dspp* ならびに *bmp2* を使用した。また hDPSCs を石灰化培地 (基本培地に 10mM  $\beta$ -グリセロリン酸、50 $\mu$ g/ml L-アスコルビン酸および 1.0x10<sup>-8</sup>M デキサメタゾン) を添加) により2週間培養し、得られた細胞に bFGF および/または simvastatin を作用させ生化学的観察を行った。また hDPSCs に骨形成タンパク質 (BMP2) を作用させ ALP 活性ならびに Ca 形成能を観察した。

#### 【結果】

細胞増殖能においては、hDPSCs に bFGF を作用させることで有効性が認められた。bFGF の濃度は 5 ng/ml で最も高い増殖能を示した。一方 simvastatin は、濃度依存的に細胞増殖能を低下させた。分化能においては、hDPSCs の ALP 活性ならびに Ca 濃度の上昇は培養14日目以降に認められた。石灰化誘導培地により得られた細胞は、象牙芽細胞のマーカーである *dspp* 遺伝子を発現し、さらに simvastatin 含有培地で培養することで *bmp2* 遺伝子の発現が認められた。BMP2 は hDPSCs に作用することで ALP 活性が上昇した。

#### 【結論】

bFGF は hDPSCs の増殖を促進し、simvastatin は *bmp2* 遺伝子を発現する象牙芽細胞様細胞の BMP2 発現を促し、BMP2 は hDPSCs の分化を導く。

## 歯根肉芽腫中の炎症性細胞における FOXO3A の発現

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

**Expression of FOXO3A in inflammatory cells of human periapical granulomas**  
Department of Endodontics<sup>1</sup> and Division of Advanced Dental Treatment<sup>2</sup>, Dental Research Center,  
Nihon University School of Dentistry

○Kae Ishii<sup>1</sup>, Keisuke Hatori<sup>1,2</sup>, Osamu Takeichi<sup>1,2</sup>, Kosuke Makino<sup>1</sup>, Takuya Yasukawa<sup>1</sup>, Bunnai Ogiso<sup>1,2</sup>

### 【背景】

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る Forkhead box O3A (FOXO3A) は、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。演者らは免疫組織学的手法により、口腔内の慢性炎症である歯根肉芽腫における FOXO3A タンパクの発現を確認し、歯根肉芽腫の病態に関与している可能性について第 143 回本学会で報告した。

### 【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慢性根尖性歯周炎で臨床的に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てホルマリン固定し、マイクロトームを用いて 4 $\mu$ m 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、病理組織学的に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 の発現を酵素抗体法および二重蛍光抗体法にて免疫組織化学的に検索を行った。併せてマーカーとして CD3, CD79 $\alpha$ および Neutrophil Elastase を用いて T リンパ球, B リンパ球および好中球における FOXO3A の局在を調べた。

#### 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<sup>®</sup>を用いて RNA を回収し、Takara Prime Script<sup>®</sup>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 Thermal Cycler Dice<sup>®</sup>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。また、T リンパ球, B リンパ球および好中球の核中において FOXO3A 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て有意に高かった。

### 【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の炎症性細胞において FOXO3A が発現し FASL の伝達機構の制御に関与していることが示唆された。

## 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<sup>1</sup>, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門<sup>2</sup>  
○工藤 洋<sup>1</sup>, 武市 収<sup>1,2</sup>, 羽鳥啓介<sup>1,2</sup>, 牧野公亮<sup>1</sup>, 勝呂 尚<sup>1,2</sup>, 小木曾文内<sup>1,2</sup>

### The expression of SIRT1 in human periapical granulomas

Department of Endodontics<sup>1</sup> and Division of Advanced Dental Treatment<sup>2</sup>, Dental Research Center,  
Nihon University School of Dentistry

○Hiroshi Kudo<sup>1</sup>, Osamu Takeichi<sup>1,2</sup>, Keisuke Hatori<sup>1,2</sup>, Kosuke Makino<sup>1</sup>, Hisashi Suguro<sup>1,2</sup>, Bunnai Ogiso<sup>1,2</sup>

#### 【背景】

SIRT1 は NAD<sup>+</sup>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によって様々な生物活性を示す。すなわち, SIRT1 は生体組織内での炎症やアポトーシスに影響を与え, 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。

慢性根尖性歯周炎は口腔内常在菌の混合感染によって根尖部歯周組織に生じる病変であり, SIRT1 が炎症性細胞の活性や根尖病巣の増大に深く関与している可能性がある。歯根肉芽腫は根尖部に肉芽組織を形成する難治性病変であり, 多数の幼若な毛細血管と炎症性細胞浸潤を特徴とする。創傷治癒過程においては血管新生が重要な要素であり, SIRT1 がこれを促進する可能性が示唆される。

#### 【研究目的】

歯根肉芽腫内での SIRT1 の発現や血管内皮細胞の成長や接着の因子である vascular endothelial growth factor (VEGF) および vascular endothelial (VE)-cadherin の遺伝子発現を検索し, 血管新生と SIRT1 の関連について検討する。

#### 【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, 臨床的に慢性根尖性歯周炎と診断され, 歯内外科処置または抜歯処置が適応とされた患者(n = 27)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 5 μm 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(n = 20)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常歯肉組織(n = 5)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. Real-time PCR 法

組織から mRNA を抽出し cDNA に変換後, SYBR Green I による Intercalator 法によりヒト SIRT1, VEGF および VE-cadherin 特異的プライマーを用いて遺伝子発現を検索した。

#### 【成績】

歯根肉芽腫中の SIRT1, VEGF および VE-cadherin 遺伝子の発現量は健常歯肉と比較して有意に高かった。

#### 【結論および考察】

以上の成績から, 歯根肉芽腫中の SIRT1, VEGF および VE-cadherin の発現遺伝子量は健常歯肉組織と比較して有意に高かったことから, SIRT1 遺伝子の発現が VEGF, VE-cadherin の遺伝子量増加に関与している可能性が示唆された。

反復制御エンドモーターの有用性  
— グライドパス形成時の切削効果 —

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学講座

○鈴木二郎, 藤巻龍治, 石井信之

Utility of the iteration control endo-motor

— Root canal preparation effect at the glide path —

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

OSUZUKI Jiro, FUJIMAKI Ryuji, TANI-ISHII Nobuyuki

【目的】

我々は、安全かつ効率的な根管形成を追求し、トルクリバースとは異なる反復制御方式によって駆動する Optimum Torque Reverse (OTR) エンドモーターが、ファイル最大トルク値を低下させファイルに対する応力を抑制することを、第 142 回および第 143 回本学会にて発表を行った。今回は、balanced force technique を応用した新機能のグライドパス用駆動方式を追加した改良型エンドモーターを用い、グライドパス形成時の有用性を評価することを目的とした。

【材料および方法】

研究には、プラスチック製湾曲根管模型（デンツプライ三金）50 本を 5 群に分け、グライドパス用ファイルとしてプログライダー（#016/.02 デンツプライ三金）、Endo Wave（#015/.02 モリタ）、対照として手用ファイルの C プラスファイル（#015 デンツプライ三金）を使用した。また、エンドモーターとして X smart plus（デンツプライ三金）および改良型グライドパス用モータ（モリタ製作所）、根管洗浄には蒸留水を使用した。

実験 1：作業時間の測定

プラスチック製湾曲根管模型を術者が視認できない状態で #10 K ファイル（マニー）にて作業長決定、精製水 1ml にて根管洗浄した後、下記実験に供試しグライドパス完了までの作業時間を測定した。なお統計学的解析については、Kruskal Wallis H-test および Mann-Whitney U-test 法による多重比較を行った。

I 群：プログライダーおよび X smart plus

II 群：プログライダーおよび改良型グライドパス用モータ

III 群：Endo Wave および X smart plus

IV 群：Endo Wave および改良型グライドパス用モータ

V 群：手用 C プラスファイル

実験 2：マイクロ CT を用いたグライドパス前後の根管形態評価

実験 1 に使用したプラスチック製湾曲根管模型を用い、グライドパス前後の根管形態をマイクロ CT（MCT-CB100MF HITACHI メディコ）管電圧 50Kv、管電流 100 $\mu$ A、拡大率 3.0 倍、ボクセルサイズ 43 $\mu$ m にて撮影し、CT 画像分析による根管体積変化による評価を行った。

【結果】

実験 1：作業時間に関してエンドモーター群（I～IV 群）は、手用ファイル群（V 群）に対して有意差を認められたが、エンドモーター各群間に有意差は認められなかった。また使用感アンケートでは、改良型グライドパス用モータ（II・IV 群）に好感触を示す者が最も多かった。

実験 2：マイクロ CT による根管形態評価

手用ファイル群（V 群）は、グライドパス後の根管全体における体積増加量が、エンドモーター群（I～IV 群）よりも少ない傾向を示した。

【考察および結論】

ファイルに過剰な力を加えずに本来の根管に近い形態で根管形成を行う、balanced force technique を応用した駆動方式をエンドモーターに採用することにより、臨床経験の浅い術者において、グライドパス作業時間は手用ファイルの使用より短縮し、グライドパス後の根管形態についても適切な根管形態が保持できることを確認した。

## ステンレスファイルと Ni-Ti ロータリーファイルを用いた根管拡大形成のマイクロ CT による比較

奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯周病学分野, \*歯内療法学分野  
○鳥居詳司, 高橋慶壮, 木村裕一\*

### Comparison of Root Canal Preparation between SS Files and NiTi Rotary System by Micro CT Scan.

Division of Periodontics, \*Division of Endodontics, Department of Conservative Dentistry,

Ohu University School of Dentistry

○Shoji TORII, Keiso TAKAHASHI, \*Yuichi KIMURA

#### [目的]

歯内療法, とりわけ根管治療の目的は, 根管本来の形態を保持し, ファイルや回転切削器具を用いて根管内壁を機械的に切削し, 化学的洗浄を併用して根管内の感染源を可及的に取り除き, 拡大形成した根管を3次的に緊密に封鎖することである。これまで, 20種類以上の術式が報告されているが, 術式が統一される傾向はみられない。1990年代から Ni-Ti ロータリーシステムが開発され, 第五世代まで開発が進められている。Ni-Ti ロータリーシステムは切削効率が高い反面, 患歯が板状の根や槌状根の場合, 根管の内壁を切削する効率が低いことが報告されている。また, 天然歯は患歯間の形態が大きく異なるため, 各根管形成法の比較・検討には適していない。本研究の目的は, 上顎犬歯の透明根管模型を試料として用い, ステンレス (SS) ファイルを用いた根管形成と第4世代の Ni-Ti ロータリーシステム (レシプロ運動) で根管形成した際の根管系内壁の形態変化, 切削面積および切削量に関して非破壊的構造解析装置 (以下マイクロ CT) を用いて解析し, 根管形成前後の形態変化を詳細に比較・検討することである。

#### [材料および方法]

上顎犬歯の透明根管模型 14本を試料に用いた。術者は歯内療法の臨床経験が20年以上の1名の歯科医師(KT)である。試料模型歯の先端から咬合面中心部に髄腔開拓を行い, JH01 バーで髄角を除去し, 歯軸と平行になるように軸壁形成を行った。根管形成には手用の SS ファイル (K ファイル, ジッペラー社) を用いた JH エンドシステム<sup>1)</sup> および第4世代の Ni-Ti ロータリーシステム Reciproc<sup>®</sup> (R25 25/08, ジッペラー社) を用いた。JH エンドシステムでは根尖孔部を#15で根管長に合わせ, 30度のねじれとかき上げ操作を行い#20まで形成し, 1mm引いた長さを作業長としてアピカルシートを形成した。その後, ファイル剛性の高いマニー社製の#25 ファイルをヨシダ社製のルーティに接続して, 根管内の洗浄と全周ファイリングを行った。レシプロ運動のシステムは#15まで穿通させ根尖孔から1mm上げた位置から Reciproc<sup>®</sup>でブラッシングモーションを行いながら形成した。各手技による根管の拡大形成時間をストップウォッチで測定した。

#### [結果]

SS ファイル (JH エンドシステム) あるいは Reciproc<sup>®</sup>で根管形成を行った際の作業時間は JH エンドシステムで平均 298秒, 一方 Reciproc<sup>®</sup>では 44秒 ( $p < 0.001$ ) であった。

マイクロ CT (TOSCANER-FTC32251  $\mu$ hd) 解析を行うため条件を設定し, 管電圧 110kV, 管電流 110 $\mu$ A, ビュー数 600 積算枚数 10枚 I.I.サイズ 6inch, スライス厚 0.066mm, スライスピッチ 0.040mm, 解像度 1024\*1024, 断面1画素サイズ 0.0429mm に決定した (共同研究者: 福島県ハイテクプラザ所属 五十嵐雄大氏の協力を得た)。

マイクロ CT を用いて被験試料の根管内壁の形成量をスライス幅 40 $\mu$ m で定量し, 根管上部 1/3, 中央部 1/3, 根尖部 1/3 の範囲で根管形成前後の根管形態の変化を計測し, SS ファイル群が Ni-Ti 群より有意に根管の内壁を切削できることがわかった ( $p < 0.001$ )。現在, 切削量および切削部位について解析中である。

#### [考察および結論]

Ni-Ti ロータリーシステムは手用 SS ファイルを用いた術式に比較して治療効率に優れるが, 楕円形根管の内壁を切削している割合が低かった。拡大形成前後の画像解析を進め, 彎曲している楕円形根管の根管形成において, 過剰に切削された部位と内壁の切削が困難な部位とを明らかにできる。本研究で確立した実験系を用いることで, 過去に発表された各種根管形成法のメリットとデメリットを科学的に評価できるとともに, 彎曲根管の内壁の均等な切削を行うための術式および MI 概念に基づいた歯内療法を実践する際の理論構築に有益な情報が得られる。

[文献] 1): 平井 順, 高橋慶壮 臨床歯内療法学 -JH エンドシステムを用いて- クインテッセンス出版 2005.

## テーパの異なるニッケルチタンファイルにおける機械的特性 — 回転疲労と曲げ疲労 —

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

○福森洋平, 西条美紀, 時田大輔, 宮良香菜, 海老原新, 興地隆史

Comparative evaluation of mechanical properties with different tapered nickel-titanium files  
- Cyclic fatigue and torsional load -

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

○FUKUMORI Yohei, NISHIJO Miki, TOKITA Daisuke, MIYARA Kana,  
EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

【研究目的】各種のニッケルチタンファイルの回転疲労, 曲げ疲労を比較検討した報告は多いが, 同じ号数でテーパの異なるファイルを比較検討した報告は少ない. 今回我々は EndoWave (FKG Dentaire Switzerland, 以下「EW」) 0.04 テーパー, 先端径 0.3 mm (以下#30/.04) と 0.06 テーパー, 先端径 0.3 mm (以下#30/.06) を使用し機械的特性を比較検討したので報告する.

【材料および方法】1群 (Group 1) に EW #30/.04, 2群 (Group 2) に EW #30/.06 を使用し, 各群とも 7 回ずつ試験を行った.

実験 1: 回転疲労試験: 直径 2.0 mm の 3 個のステンレススチールピンからなる自作回転疲労試験機にて実験した. ファイルは先端から 12 mm の位置のピンと 7 mm の位置のピンで固定し先端の位置から 2 mm の位置のピンを可動式ステージで移動させることでファイルを曲率半径 5 mm, たわみ角度 38°で曲げ, 固定した. エンジン(Dentaport ZX OTR Module, モリタ製作所)を回転速度 300 rpm で連続回転させ, ファイル破折までの回転数 (以下 NCF) を 37°C下で計測した. 潤滑材としてシリコンオイル (KF-96-100CS, 信越化学) を用いた.

実験 2: 片持ち梁式抗曲試験: Universal testing machine (Autograph AG-IS, 島津製作所) を用いた自作の片持ち梁式抗曲試験装置を使用した. ファイル先端から 7 mm の位置で把持し, 3 mm の位置に抗曲試験機のロードセルに固定した直径 5 mm の円柱型治具を設置し, この位置に荷重をかけ, 荷重およびたわみの関係を 37°C下で記録した. 可動式ステージは 1 mm/min で移動し, 最大たわみ量 3 mm とし, 弾性領域代表点として 0.5 mm および超弾性領域代表点として 2 mm のたわみ量のときの荷重を計測した.

統計学的解析: 実験 1 では Mann-Whitney U-test, 実験 2 では Student's t-test を用い有意水準 5%で解析を行った.

【結果】結果を Table 1, 2, 3 に示す. 同一小文字英字間に有意差を認めた.

【考察】実験 1 では 1 群の断面積が 2 群に比べ小さく剛性が少ないため, 1 群の NCF が有意に大きくなったと思われる. 実験 2 については, 1 群の方が 2 群に比べ, 径の 4 乗に比例することが知られる断面二次モーメントが小さく曲げやすいため, 1 群の荷重が有意に小さくなったと思われる.

【結論】本実験条件下では 0.06 テーパーに比べ 0.04 テーパーの方が回転疲労抵抗性が高く, ファイル表面にかかる応力が小さくなることで曲げ疲労抵抗性が高くなり, ファイル破折の危険性が少ないことが示唆された.

Table 1 NCF

	Mean	SD
Group 1	129.3 a	59.5
Group 2	45.9 a	15.0

Table 2 Bending load values at deflection of 0.5 mm (N)

	Mean	SD
Group 1	0.60 b	0.07
Group 2	1.07 b	0.19

Table 3 Bending load values at deflection of 2 mm (N)

	Mean	SD
Group 1	1.51 c	0.12
Group 2	3.15 c	0.25

\*Number of samples for each group =7, groups with same letters are significantly different

新型自動根管形成用エンジンによるグライドパス形成：根管形成能と回転疲労抵抗性の評価  
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

○西条美紀, 時田大輔, 宮良香菜, 海老原新, 興地隆史

Evaluation of shaping ability and cyclic fatigue resistance during glide path preparation  
with a prototype automatic root canal preparation system

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

○NISHIJO Miki, TOKITA Daisuke, MIYARA Kana, EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

【研究目的】近年, 切削回転と非切削回転の往復回転運動を繰り返すグライドパス形成機構 (Optimum Glide Path;以下 OGP) を備えた新型自動根管形成用エンジン (モリタ製作所) が開発されたが, その有用性はこれまで評価されていない。本研究の目的は, OGP によるグライドパス形成を根管形成能および回転疲労試験によって解析することである。

【材料および方法】

①根管形成能：模擬根管 (エンドトレーニングブロック S ; Dentsply Maillefer) を用い, EndoWave (FKG Dentaire ; 以下 NiTi) を OGP (300 rpm) で形成した群を Group1-a, 同一装置の連続回転 (300 rpm) で形成した群を Group1-b, ステンレススチール製 K ファイル (Zipperer ; 以下 SS) で turn & pull で形成した群を Group1-c とした。RC-Prep™ (Premier, Canada) で満たした状態で同一術者が Fig. 1 の手順で形成し, 作業時間を計測した (各 n = 7)。洗浄には蒸留水を用いた。さらに, 形成前後の根管模型をデジタルマイクロスコープ (VH-8000, キーエンス) で撮影後 Photoshop 7.0® (Adobe Systems) にて重ね合わせ, 根尖孔より 0 mm における内湾および外湾の根管幅径増加量を測定した。

Group1-a, b : SS#10 → NiTi#15 02 taper → NiTi#20 02 taper

Group1-c : SS #10 → SS#15 → SS#20

Fig. 1 Instrumentation sequence

②回転疲労試験 : OGP を用いた群を Group2-a, 連続回転を用いた群を Group2-b とした。自作の回転疲労試験装置を使用し, 曲率半径 5 mm, たわみ角度 60° の条件でファイルが破断するまでの時間 (以下「破断時間」とする) を計測した。両群とも NiTi #20 .02 テーパーを 300 rpm で回転させ, 7 本ずつ計測した。

③統計学的解析 : 切削量と作業時間は一元配置分散分析および Games-Howell 法, Bonferroni 法, また回転疲労試験では Student's *t*-test を用いて解析を行った。なお, 有意水準は 5% とした。

【結果】

①根管形成能 : 0 mm における内湾および外湾の根管幅径増加量を Table 1, 作業時間を Table 2 に示す。ファイルの変形破断は認められなかった。

②回転疲労試験 : 結果を Table 3 に示す。同一小文字英字間に有意差を認めた。

	Inner (mm±SD)	Outer (mm±SD)
Group1-a	0.00±0.00	0.03±0.03 <sup>a</sup>
Group1-b	0.00±0.00	0.07±0.03 <sup>b</sup>
Group1-c	0.00±0.00	0.24±0.04 <sup>ab</sup>

	Group1-a	Group1-b	Group1-c
Working time (sec±SD)	62.4±11.4 <sup>cd</sup>	33.9±3.8 <sup>de</sup>	80.2±12.8 <sup>ce</sup>

	Group2-a	Group2-b
Time to fracture (sec±SD)	256.1±45.3 <sup>f</sup>	45.3±16.6 <sup>f</sup>

【考察】Group1-a, b が Group1-c と比較して有意に外湾側切削量が少なかったのは, NiTi が SS と比較し根管追従性に優れているためと考えられる。Group1-a, Group1-b 間に有意差が認められなかったのは, 最終拡大号数が #20 .02 テーパーと小さく, NiTi の柔軟性により両群ともに外湾への切削を抑えることができたためと考える。また, Group1-a が Group1-b より有意に作業時間が長かったのは, 非切削方向への回転によるものと考えられる。さらに, Group2-a が Group2-b より有意に破断時間が長かったのは, 逆回転で金属内部に蓄積した応力を解放したためと考えられる。

【結論】OGP を用いて NiTi でグライドパス形成を行った場合, 連続回転と比較して, 根尖部における外湾側への変位量は同等で作業時間は延長するが, 回転疲労による破断時間は延長した。

### 新規根管消毒法に関する基礎的研究

#### -大気を利用したプラズマ発生装置を使用した根管消毒法の検討-

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座<sup>1</sup>、日本大学歯学部総合歯学研究高度先端医療研究部門<sup>2</sup>、日本大学歯学部細菌学講座<sup>3</sup>、日本大学歯学部総合歯学研究衛生体防御部門<sup>4</sup>、神奈川歯科大学大学院口腔科学講座光歯科医学分野<sup>5</sup>、長田電機工業株式会社<sup>6</sup>  
○平野 頼是<sup>1</sup>、林 誠<sup>1,2</sup>、田村 宗明<sup>3,4</sup>、吉野 文彦<sup>5</sup>、吉田 彩佳<sup>5</sup>、小林 慶美<sup>1</sup>、井比 陽奈<sup>1</sup>、増瀬 光暁<sup>6</sup>、小木曾 文内<sup>1,2</sup>

#### Preliminary study of novel root canal disinfective technique

#### -Study of the root canal disinfection method by plasma device apparatus using the air-

Departments of Endodontics<sup>1</sup>, Division of Advanced Dental Treatment<sup>2</sup>, Departments of Microbiology<sup>3</sup> and Departments of Immunology and Pathobiology<sup>4</sup>, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry, Photomedical Dentistry Division, Department of Oral Science, Kanagawa Dental University Graduate School<sup>5</sup>, Osada Electric Co.,Ltd<sup>6</sup>

○Yoriyuki Hirano<sup>1</sup>, Makoto Hayashi<sup>1,2</sup>, Muneaki Tamura<sup>3,4</sup>, Fumihiko Yoshino<sup>5</sup>, Ayaka Yoshida<sup>5</sup>, Yoshimi Kobayashi<sup>1</sup>, Haruna Ibi<sup>1</sup>, Mitsuaki Masubuchi<sup>6</sup>, Bunnai Ogiso<sup>1,2</sup>

#### 【研究目的】

根尖性歯周炎の主な原因として根管内の細菌およびその産生物などの病原性因子が挙げられる。感染根管治療の目的は病原性因子の除去と根管の緊密な封鎖であるが、根管形態が複雑な場合にはこれを完全に除去することは困難である。そのため、根管系を可及的な無菌状態にするため多くの消毒用薬剤が使用されてきた。しかし、薬剤漏洩などによる根尖周囲組織への局所的有害作用、発癌性や突然変異誘発性などが指摘されており、生体安全性が担保された新たな根管消毒法を検討する必要がある。演者らの研究室では、これまで超音波発振を利用した活性酸素の生成が、根尖性歯周炎の代表的な原因菌である *Enterococcus faecalis* に対して殺菌に効果があることを報告してきた。そこで本研究では、大気を利用したプラズマ発生装置により産生された活性酸素種（一重項酸素： $^1\text{O}_2$ ）の定量と *E. faecalis* に及ぼす殺菌効果について検討した。

#### 【材料および方法】

##### 1) プラズマ発生装置

プラズマ発生装置として、OSADA PLADIS（長田電機工業社製、OP-IV、出力 7.5kV）を使用した。

##### 2) 活性酸素の測定

24 ウェルプレート内に生成する活性酸素を測定するためのスピントラップ剤として 100  $\mu\text{M}$  2,2,6,6-Tetramethyl-4piperidinyl (4-Hydroxy TEMPO) : 50  $\mu\text{l}$ 、蒸留水 (DW) : 50  $\mu\text{l}$ 、Phosphate buffered saline (PBS) : 400  $\mu\text{l}$  を混和し、その溶液表面よりプラズマ発生装置ハンドピース先端が 1, 3, 5mm 離れた位置で、それぞれプラズマ照射を 1, 3, 5 分間行ったものを  $^1\text{O}_2$  測定用試料とした。試料は電子スピン共鳴 (ESR) 法を用いて測定されたスピニアダクトから信号強度 (signal intensity) を測定した。

##### 3) プラズマ照射による *E. faecalis* に及ぼす影響

根尖性歯周炎の代表的な原因菌である *E. faecalis* JCM5803 株を供試し、菌懸濁液作成後、2) の条件下にてプラズマ照射を行い、菌液を希釈し brain heart infusion 寒天培地に塗抹培養後、colony forming unit (CFU) を測定した。

#### 【結果および考察】

活性酸素測定の結果より  $^1\text{O}_2$  がプラズマ照射時間依存的に検出され、溶液面からの距離が短いものほどより高い信号強度が認められた。

プラズマ照射による *E. faecalis* の CFU は各実験条件で経時的に減少傾向にあり、プラズマ照射時間 5 分で最も高い殺菌効果が認められた。

#### 【結論】

以上の結果から、プラズマ発生装置の使用により、 $^1\text{O}_2$  の産生と *E. faecalis* の殺菌効果を示したことから、同装置を用いた新たな根管清掃、消毒法への可能性が示唆された。

## 歯根・歯槽骨が吸収した下顎第二大臼歯に対する智歯移植前の根管処置症例の考察

1) 岡山大学病院 歯周科, 2) 岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野,  
3) 現所属: 大阪歯科大学 口腔治療学講座

○海老沼孝至<sup>1)</sup>, 大森一弘<sup>1)</sup>, 前田博史<sup>2,3)</sup>, 下江正幸<sup>2)</sup>, 山本直史<sup>1)</sup>, 高柴正悟<sup>2)</sup>

## Canal Treatment of Mandibular Second Molar with Resorption of Root and Alveolar Bone before Wisdom Tooth Transplantation

1) Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital, 2) Department of Pathophysiology – Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, 3) Present: Department of Endodontics, Osaka Dental University  
○EBINUMA TAKAYUKI<sup>1)</sup>, OMORI KAZUHIRO<sup>1)</sup>, MAEDA HIROSHI<sup>2,3)</sup>, SHIMOUE MASAYUKI<sup>2)</sup>, YAMAMOTO TADASHI<sup>1)</sup>, TAKASHIBA SHOGO<sup>2)</sup>

### 【緒言】

日常診療において、根尖性歯周炎による歯根吸収や歯槽骨吸収には、しばしば遭遇する。吸収が高度な場合、吸収を止めることができずに、抜歯となることが多い。今回、近心根尖を中心とする歯根吸収と高度な歯槽骨吸収を来した37に対し、抜歯前根管治療によって歯槽骨を維持して38の移植を行い、良好な経過を経ている症例を経験したので、その病態考察と治療経過を報告する。

### 【症例】

**患者:** 32歳男性。主訴: 37の歯根吸収。現病歴: 平成23年9月、硬固物を咀嚼中に37の咬合時痛を自覚した。その後も咬合時痛が続いたため、10月下旬にかかりつけ医を受診し、37の歯根吸収を指摘された。専門医の診察を受けるように勧められ、11月中旬に精査・治療を希望して岡山大学病院を受診した。当院受診時、咬合時痛は消失していた。なお、事故、転倒などによる口腔顎顔面への外傷の既往はない。

**所見:** (口腔内所見) プラークコントロールは良好で、主訴である37周囲歯肉にも著明な炎症所見はなかった。35と45は先天欠如していた。そのため下顎大臼歯部の近心傾斜を来し、特に下顎左側大臼歯部の辺縁隆線の位置は不正であった。37は電気歯髄診にて生活反応を示さなかった。(X線所見) デンタルX線写真では、37近心根長の1/2に達する歯根吸収および根尖を中心とした一部境界不明瞭な透過像が見られ、37遠心隣接面部では歯髄腔に達するう蝕様透過像が存在した。CBCTでは、37根尖を中心とした空豆大の歯槽骨吸収像が見られ、頬舌側の皮質骨は根長の1/2まで消失していた。(歯周病原性細菌に対する血清IgG抗体価検査所見) *Tannerella forsythia* と *Prevotella intermedia* に対する抗体価が高値を示した。

### 【診断】

37 根尖性歯周炎, 歯根吸収, 根尖膿瘍

### 【病態】

37はう蝕による細菌感染が原因で歯髄が失活し、炎症性に根尖部周囲の歯槽骨吸収とそれに伴って歯根吸収が進行した。さらに、辺縁隆線の不正による外傷力が増悪因子となり、歯槽骨・歯根吸収を促進させた。

### 【治療経過】

初診から1ヵ月後: 37 髄腔開拓時、強烈的な腐敗臭があり、髄腔内は空洞で、黒褐色を呈していた。根管内細菌の嫌気培養では、*Streptococcus milleri* と *Prevotella spp.* が検出された。脂溶性で長期間安定性の高い水酸化カルシウム製剤である Vitapex<sup>®</sup> (ネオ製薬工業) を根管内に貼薬し、ベースセメント (松風) にて仮封を行った。同時に、36と37頰側をコバルトクロム線とGフィックス<sup>®</sup> (ジーシー) にて暫間固定した。2ヵ月後: デンタルX線写真にて37歯槽骨吸収像の改善傾向が僅かにみられた。10ヵ月後: 根管内細菌培養検査にて細菌は検出されなかった。1年5ヵ月後: 歯槽骨吸収像は境界明瞭となり、吸収像底部に骨硬化像が出現した。この時点で、歯槽骨吸収の改善が停止したと判断し、37抜歯と38移植を計画した。しかし、結婚等のイベントのため、患者は観血的処置の延期を希望した。3年後: 37を抜歯し、38を移植した。術後1ヵ月に根管充填を行った。移植歯の生着と自然挺出を待つ間、36のMTMを行い、近心傾斜の改善を図った。4年後 (移植後1年): 移植歯に臨床症状はなく、CBCTにて3次的に歯槽骨吸収像の回復が確認された。

### 【考察】

37の感染根管治療を継続したことで、根尖周囲の歯槽骨吸収が改善し、歯の移植に有利な受容床形態となったことが、38の移植の成功に寄与したと考える。今後は咬合性外傷に注意しつつ、定期的に経過観察を続けていく。

## 歯内歯を有する上顎側切歯の歯内治療 — Oehlers の分類 Type 3 の 2 症例 —

大阪歯科大学 口腔治療学講座  
○杉本貞臣、池永英彰、好川正孝、前田博史

### Endodontic Therapy for Maxillary Lateral Incisors with Dens Invaginatus — Two Cases Categorized as Type 3 Invagination Based on Oehlers Classification —

Department of Endodontics, Osaka Dental University  
○SUGIMOTO Sadaomi, IKENAGA Hideaki, YOSHIKAWA Masataka, MAEDA Hiroshi

【緒言】 歯冠部象牙質の一部が表層のエナメル質と共に歯髓腔内に深く反転、陥入した形態異常歯である歯内歯の歯内治療は一般に困難である。Oehlers による歯内歯の分類で Type 3 は陥入部が根尖歯周組織と交通しており、根管系は複雑な形態を呈する。したがって、緻密な歯内処置、とくに、緊密な充填処置が行われなければならない。

最近、我々は Oehlers の分類で Type 3 の歯内歯 2 症例を処置する機会を得た。1 症例はすでに他の医療機関で感染根管治療および歯根端切除とともに逆根管充填が施されていたが、根尖性歯周炎が再発した。他の 1 症例は、初めて根尖部に腫脹と疼痛を生じて来院し、過去に根管処置が施された経験はない。

これらの 2 症例の歯内歯の治療後の経過は良好であり、良好な予後が得られた処置の要点を考察したので報告する。

【症例 1】 24 歳女性。3 年前に右側顔面が腫脹し、抗菌剤を服用後に上顎右側側切歯の根管治療および歯根端切除を近医で行ったが、4 か月前に根尖部に違和感と圧痛を覚えて再び近医を受診し、本学附属病院歯内治療科を紹介され、来院した。初診時のデンタルエックス線写真および歯科用 CT 画像から、患歯が Oehlers の分類 Type 3 の歯内歯であること、根管と陥入部の充填、逆根管充填、そして、歯根遠心の瀰漫性透過像が認められた。歯内歯の陥入は直線的に根尖近くまで達する単純な形態で、根管充填材を除去して通法に従って感染根管処置を行い、ガッタパーチャポイントで陥入部を側方加圧充填した。一方、根管は通常の根管とは異なった特異な形状で、根管口を拡大して根管充填材の除去を容易にし、根管壁全周に十分なファイリングを行った。根管充填材除去時に遠心根管壁から少量の出血が認められ、すでにストリップパーフォレーションを生じていたと推察されたため、根管の充填には Mineral trioxide aggregate (MTA) を用いた。経過観察でエックス線的に透過像の縮小が認められ、予後は良好である。

【症例 2】 21 歳男性。2 週前に上顎右側側切歯口蓋側に腫脹とともに自発痛を生じたため、本学附属病院に来院し、口腔外科を受診した。初診時の諸検査を行ってパノラマエックス線写真を撮影した後、排膿のために口蓋側歯肉が切開され、抗菌剤が処方されている。その 10 日後に口腔外科から当科に歯内処置が依頼された。当科で撮影したデンタルエックス線写真で歯内歯の存在と小指頭大の透過像に含まれる根尖の吸収が確認された。陥入部にファイルを挿入して撮影したデンタルエックス線写真で陥入は湾曲して根尖付近に達していた。Oehlers の分類で Type 3 の歯内歯と判断し、通常感染根管処置を行った後に陥入部をガッタパーチャポイントで側方加圧充填した。一方、歯科用 CT 撮影によって根管口の形態が槌状で、根管の開口部の径は小さいことが明らかになった。そのため、アンダーカットを生じないように根管口を拡げ、根管壁に感染象牙質を残さないように化学的清掃と全周ファイリングを徹底した。その後、ガッタパーチャーポイントを使用して側方加圧充填を行った。臨床的症状は消失し、経過は良好である。

【まとめ】 歯内歯では根管および陥入部の拡大・形成および根管充填が困難で、根尖部を緊密に封鎖するために逆根管充填が併用されることもある。しかし、症例 1 のように、根管と陥入部の封鎖および根尖切除・逆根管充填を行っても予後が不良になって再治療を必要とすることも少なくない。根管治療の成功を導くためには、根管形態や歯内歯の分類を把握するうえで歯科用 CT 撮影による形状の正確な把握が必要である。また、通常の歯よりも根管は大きく、形態が複雑で、このような根管を緊密に充填する方法や根管充填材の選択も考慮しなければならない。

正常歯と同様に根管の緊密な封鎖が歯内歯の処置の成功に繋がる。歯内歯の陥入部と根管の形状を考慮した化学的・機械的根管処置での無菌化と緊密な封鎖とが二次的な感染を防止したことは明らかである。歯内歯の処置で緊密な封鎖を得るためには歯内歯の陥入部と根管の形状の把握が重要であり、それには歯科用 CT の使用が必須である。