

亜鉛ならびに銅が歯髄幹細胞の分化能に与える影響

鶴見大学歯学部歯内療法学講座

○藤井恵子、森戸亮行、梅本寛之、前田光平、関水健宏、小野 京、吉田拓正、細矢哲康

Effects of Zinc and Copper on the Differentiation Potential of Dental Pulp Stem Cells

Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine

OFUJII Keiko, MORITO Akiyuki, UMEMOTO Hiroyuki, MAEDA Kohei,
SEKIMIZU Takehiro, ONO Miyako, YOSHIDA Takumasa, HOSOYA Noriyasu

【緒言】

歯根完成後も加齢や種々の刺激により象牙質の形成は継続し、歯髄組織の変性や歯髄結石を認めることもある。これらの象牙質歯髄複合体における変化は、歯髄疾患の発症や根管治療の妨げの原因になることもある。歯髄結石は象牙芽細胞由来の真性歯髄結石と種々の刺激により発生する偽性歯髄結石に分類されるが、詳細な発生のメカニズムは解明されていない。Berès F.らの報告 (J Endod 42: 432-438, 2016) では、歯髄細胞が亜鉛および銅を異常に多く含有する無構造の歯髄結石を形成することを示しているが、歯髄結石を形成する細胞は明らかにされていない。

本研究の目的は、歯髄結石の形成において亜鉛ならびに銅との関連を調査するために、周囲環境における銅イオン濃度ならびに亜鉛イオン濃度の変化が歯髄幹細胞の挙動に与える影響を観察することである。

【材料と方法】

1. 歯髄幹細胞の培養

ヒト歯髄幹細胞 (HDPSCs; PT-5025, Lonza, Basal, Switzerland) は専用培地(PT-3005, Lonza)により、37 °C、5% CO₂ 存在下で培養を行い、3~5 継代培養を行って実験に供した。刺激培地として Lipopolysaccharide (LPS)を minimum essential medium eagle alpha modification (α-MEM)に添加、終濃度を 10μg/ml に調製し 37°C、5%CO₂ の環境下でプレインキュベートして用いた。HDPSCs を LPS 添加刺激培地で 2 時間培養した後、同培地から亜鉛イオンおよび銅イオン含有培地に置換し、石灰化物形成能に関する解析を行なった。

亜鉛イオンおよび銅イオン含有培地は、10%牛胎仔血清 (FBS) ならびに 2%ペニシリン-ストレプトマイシン含有 α-MEM に 2-150μM 硫酸亜鉛 (和光純薬) と 1.2-120μM 硫酸銅 (和光純薬) を添加して調製した。培養は 1, 3, 7 ならびに 14 日間行った。

2. 亜鉛イオンならびに銅イオンの影響に関する観察

1) アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性の測定

ALP 活性測定にはラボアッセイ ALP (和光純薬) を使用した。生成されたパラニトロフェノールはマイクロプレートリーダーを用い、波長 405nm にて吸光度を測定した。

2) カルシウム (Ca) 沈着量の測定

石灰化能に与える影響を解析するため、Ca 沈着量をカルシウム-C テストワコー (和光純薬) を用いて定量した。また組織内に沈着した Ca に対し、アリザリンレッド染色を行い実体顕微鏡により観察した。

【結果】

周辺環境における亜鉛イオンならびに銅イオン濃度の変化により、歯髄幹細胞の石灰化物形成能への影響が認められた。亜鉛イオンならびに銅イオン濃度の上昇により、明らかな ALP 活性の上昇とカルシウム沈着量の増加が認められた。また亜鉛イオン濃度の上昇では、ALP 活性の上昇とカルシウム沈着量の増加傾向が認められ、銅イオン濃度の上昇でも、わずかではあるが ALP 活性の上昇が認められた。

【考察】

歯髄幹細胞への影響は、亜鉛イオンならびに銅イオンの双方に関与していることから、両イオン間における関係および相互作用について、さらに解析を進める必要がある。また石灰化物の構造や構成成分についての詳細な分析を行なう所存である。

本研究において COI を開示すべき企業・団体等はない

新規象牙芽細胞マーカーとしてのチロシン水酸化酵素の可能性

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、²OBT 研究センター、

³九州大学病院歯内治療科、⁴口腔総合診療科、⁵口腔顎顔面病態学講座口腔病理学分野

○藤野翔香¹、濱野さゆり^{1,2}、芹田俊¹、友清淳³、長谷川大学³、

吉田晋一郎³、水町博之¹、御手洗裕美¹、和田尚久⁴、清島保⁵、前田英史^{1,3}

The possibility of Tyrosine Hydroxylase as a novel odontoblastic differentiation marker

¹Department of Endodontology and Operative Dentistry, Kyushu University, ²OBT Research Center,

³Department of Endodontology, ⁴Division of general dentistry, Kyushu University Hospital,

⁵Laboratory of Oral Pathology, Kyushu University

○Shoko Fujino¹, Sayuri Hamano^{1,2}, Suguru Serita¹, Atsushi Tomokiyo³, Daigaku Hasegawa³, Shinichiro Yoshida³, Hiroyuki Mizumachi¹, Hiromi Mitarai¹, Naohisa Wada⁴, Tamotsu Kiyoshima⁵, Hidefumi Maeda^{1,3}

【研究目的】歯の発生において象牙芽細胞は歯乳頭細胞から分化し、象牙質を形成する。また、歯の形成後も外部刺激により歯髓細胞から分化した象牙芽細胞は、デンチンブリッジを形成すると言われている。現在、これら象牙芽細胞に特異的なマーカーについての研究が進められている。これまでに、神経幹細胞のマーカーである NESTIN は、象牙芽細胞に発現するという報告(Terling et al., 1995)があることから、象牙芽細胞は神経と同じマーカーを発現することが示唆されている。本研究では、チロシンをドーパミンへと変換するカテコラミン合成酵素の 1 つであり、交感神経のマーカーであるチロシン水酸化酵素(TH)に注目した。これまでに、象牙芽細胞における TH 発現については明らかにされていない。そこで、本研究では象牙芽細胞の分化と TH の発現の関連性について検討した。

【材料および方法】(1)正常ラットの下顎第一臼歯(5 週齢、雄性)、上顎切歯(8 週齢、雄性)、ならびに歯胚(E14、E17、P10)を用いて TH 抗体による免疫組織化学的染色を行った。(2)矯正治療を目的に本院を受診し、本研究に同意を得られた 2 名の患者様より抜去歯を得たのち歯髓組織を採取し、10%Fetal Bovine Serum 含有の α -MEM (10%FBS/ α -MEM) にて 4-7 継代培養した細胞を本研究に用いた。これらの細胞を象牙芽細胞誘導培地(2mM CaCl₂ 含有 10%FBS/ α -MEM) にて 1 週間培養し、Alizarin red S 染色にて石灰化の解析を行った。同様の条件下で、定量的 RT-PCR 法にて TH および象牙芽細胞関連マーカーである NESTIN および Dentin Sialophosphoprotein (DSPP) の発現について比較検討した。また、TH 発現を調節する Nuclear receptor related 1 (NURR1) および Paired Like Homeodomain 3 (PITX3) の発現についても解析を加えた。(3)上顎第一臼歯を点状露髄させ MTA セメントにて直接覆髄後、3 日および 14 日間飼育したラットの上顎第一臼歯の組織切片を用いて TH 抗体による免疫組織化学的染色を行った。なお本研究は九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の許可を得て、患者様の同意の上で行った。

【結果】(1)TH 抗体を用いて、ラット第一臼歯の免疫組織化学的染色を行った結果、象牙芽細胞に強く発現が認められた。また、ラット切歯矢状断切片においては、象牙芽細胞へと分化が進むにつれ、TH の発現が亢進した。蓄状期および鐘状期前期のラット歯乳頭細胞では象牙芽細胞は観察されず、また TH の発現も認められなかった。しかしながら、生後 10 日では歯冠部に象牙芽細胞が出現し、TH の発現が認められた。(2)象牙芽細胞誘導培地で 1 週間培養したヒト歯髓細胞において、Alizarin red 陽性反応が認められ、さらに TH、NESTIN、DSPP、NURR1、PITX3 の遺伝子発現も control 培地と比較して有意に上昇した。(3)TH 抗体を用いて、ラット直接覆髄モデルの上顎第一臼歯の免疫組織化学的染色を行った結果、覆髄 3 日後では、露髄部直下に TH 発現陽性細胞は確認できなかったが、14 日後には露髄部にデンチンブリッジが形成され、その直下に TH 発現陽性細胞が認められるようになった。

【考察】本研究結果より、TH は歯胚形成期の象牙芽細胞の分化に伴い発現が亢進し、さらに、デンチンブリッジ直下に TH 発現陽性細胞が認められたことから、生理的に分化した象牙芽細胞だけでなく、病的に誘導された象牙芽細胞においてもその発現が促進することが示唆された。以上のことから、TH は新規象牙芽細胞のマーカーになりうるものと考えられる。

【結論】(1)象牙芽細胞への分化に伴い TH の発現が認められた。(2)ヒト歯髓細胞の象牙芽細胞様細胞への分化誘導によって、象牙芽細胞関連マーカーの遺伝子発現が上昇し、さらに TH およびその調節因子の遺伝子発現が促進した。(3)デンチンブリッジ直下に TH 発現陽性細胞が認められた。

謝辞:本研究にご協力頂いた和田裕子先生、長谷川佳那先生(口腔顎顔面病態学講座口腔病理学分野)に感謝致します。

象牙質骨補填材顆粒より溶出する有機成分の解析

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⁾ 河野 哲¹⁾ 近藤信夫²⁾ 吉田隆一¹⁾

Evaluation of soluble organic factors from the 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 Kumio¹⁾ Kawaki Harumi²⁾ Tanaka Masashi¹⁾

Kawano Satoshi¹⁾ Kondoh Nobuo²⁾ Yoshida Takakazu¹⁾

【研究目的】

近年、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、自家骨移植に代わる骨再生療法の需要が高まっている。骨再生に用いる材料として、リン酸カルシウム化合物をはじめとする様々な人工骨補填材が臨床応用されている。一方、象牙質は骨に類似した組織であり、矯正治療の為の便宜的な抜去歯や抜去後の智歯などを保存するトゥースバンクなども注目されているが、そのほとんどは有効に活用されていない。そこで、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。そして、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製を試みた。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。これらの効果を発揮する成分を探索するため、今回は象牙質中に最も多く含まれる I 型コラーゲンと、象牙質シアロタンパク質の糖鎖に焦点を当て、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。作製した象牙質顆粒を細胞培養培地あるいはタンパク質溶出バッファーにて懸濁し、象牙質からの溶出物を含む試料を用いてウェスタンブロットによる解析および、シアル酸検出を行った。

【結果】

滅菌後の象牙質から溶出したタンパク質を、新鮮象牙質を比較対照に SDS-PAGE にて検討したところ、滅菌象牙質ではタンパク質の溶出量が半減し、低分子化がみられたが、新鮮象牙質と同等の泳動パターンもみられ、断片化した I 型コラーゲンおよび象牙質マトリックスタンパク質等が検出された。また、象牙質顆粒浸漬培地からも、新鮮象牙質を用いた場合よりも溶出量は減少しているものの、シアル酸が検出された。

【結論および考察】

滅菌象牙質顆粒ハイブリッド材料が異所性に骨様組織誘導能を発揮することから、抜去歯の骨再生療法への活用が有望であり、体性幹細胞を象牙質・幹細胞ハイブリッド骨補填材として用いることの有用性が示を報告してきたが、今回の検討で、象牙質顆のオートクレーブ滅菌後も硬組織形成を促進する作用を発揮する成分の候補として、断片化した I 型コラーゲン鎖や象牙質シアロタンパク質の糖鎖等が溶出することが示された。

ガイドを使用した下顎切歯の髓室開拓位置による根管湾曲の変化

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座¹、歯科理工学講座²

○ 西田太郎¹、石田祥己²、小倉陽子¹、前田宗宏¹、宮坂 平²、勝海一郎¹

Changes of Root Canal Curvature in Access Cavity Preparation by the Direction on Mandibular Incisor Using the Preparation Guide

¹Department of Endodontics, ²Department of Dental Materials Science, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo

○Taro NISHIDA¹, Yoshiki ISHIDA², Yoko OGURA¹, Munehiro MAEDA¹, Taira MIYASAKA², Ichiroh KATSUUMI¹

【目的】

適切な髓室開拓窩洞の形成はその後の根管治療をスムーズに進めるための重要なステップとなる。近年、歯科用 CBCT の撮影画像データから 3D プリンタによる立体的な模型構築が可能となり、外科的アプローチの術前トレーニングなどにも応用されつつある。マイクロ CT による抜去歯の撮影データの解析を行ったところ、下顎切歯は根管舌側壁に象牙質の張り出しがあるため、歯冠舌側面からの髓室開拓では舌側の第二根管が発見しにくいと考えられた。本研究は、3D プリンタにより下顎切歯の髓室開拓窩洞形成ガイドを製作し、ガイドを基に新たな髓室開拓デザインによる根管湾曲の変化について検討を行った。

【材料と方法】

実験には、根管の解剖学的形態をあらかじめ把握した単根管性のヒト抜去下顎切歯を用いた。試料はマイクロ CT (ScanXmate-D100SS270, Comscan) を用い断層撮影を行い、三次元画像処理ソフト (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。唇舌的断面画像と近遠心的断面画像を作成し、歯冠側 1/2 における根管の湾曲度を計測した。三次元画像上で根管を抽出し、抽出した根管画像から歯軸方向に三等分する根管断面を作成した。作成した根管断面の中央を通過する直線を根管の軸方向とし、その延長線と歯冠表面の交差する点を唇側、切縁および舌側に分類した。三次元画像処理ソフト上で、根管の軸方向の延長線上に誘導孔を組みこんだブロック型髓室開拓窩洞形成ガイド (ACPG) のデータを作製した。ACPG のデータを光造形方式 3D プリンタ (Nobel 1.0, XYZ Printing) を用い、光硬化性樹脂 (Photopolymer Resin Clear, XYZ Printing) による造形を行った。ACPG 使用群では抜去歯との適合を確認後、歯に ACPG を固定し、#1557 サージカルバー (マニー) を用い、誘導孔に沿って髓角に到達するまで髓室開拓を行った (n=6)。コントロール群として、通法に従い歯冠舌側より根管に達する髓室開拓を行った (n=4)。

髓室開拓後、マイクロ CT を用い断層撮影を行った。三次元画像処理ソフト上で、唇舌的断面画像と近遠心的断面画像を作成した。髓室開拓窩洞を含む根管を開拓済根管とし、各断面画像上での歯冠側 1/2 における開拓済根管の湾曲出現数と湾曲度の変化を比較した。なお、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。

【結果】

根管の軸方向と歯冠表面の交差した点は、ACPG 群では切縁が 4 本、唇側が 2 本であった。コントロール群では切縁が 3 本、唇側が 1 本であった。開拓前の両断面画像では歯冠側に湾曲はみとめられなかった。開拓後の唇舌的断面画像では、ACPG 群では歯冠側に湾曲は認めなかったが、コントロール群では 4 本で歯冠側に湾曲が出現した。近遠心的断面画像では歯冠側に湾曲は認めなかった。唇舌的断面画像における湾曲度の変化の平均は 17.7 度 (SD:6.1) であった。

【まとめ】

ACPG を併用し髓室開拓が適切に行われることで、唇舌的な根管湾曲度が減ぜられる可能性が示された。根管湾曲度の変化を小さくすることで、根尖部での器具操作性が向上すると考えられる。ACPG の使用時には、髓室開拓用のロングネックの回転切削器具を必要とするため、形成時は確実なハンドピースの把持を行うなどの注意が必要である。今後さらに詳細な検討を行う予定である。

Er:YAG レーザーを用いた根管 MTA 充填材の除去可能性の検討

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
○山内慎也, 星原康弘, 八尾香奈子, 井手彩集, 渡辺聡, 興地隆史

Removal of Mineral Trioxide Aggregate Filling Material from the Root Canal Using Er:YAG laser irradiation

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

○YAMAUCHI Shinya, HOSHIHARA Yasuhiro, YAO Kanako, IDE Ayai, WATANABE Satoshi, OKIJI Takashi

【目的】

近年、根未完成歯のアペキシフィケーション、根尖の開大した症例の根管充填、あるいは穿孔封鎖に mineral trioxide aggregate (MTA) が有用との報告がみられる。ところが、経過不良などの理由でこれらの除去が必要となった場合に有効な手法に関する報告はほとんどない。一方、Er:YAG レーザーは硬組織の蒸散が可能であり、結石の破碎に有効であったという報告もある。そこで本研究では、Er:YAG レーザーにより根管内の MTA 充填材の除去が可能かどうかを検討した。

【材料および方法】

本研究は東京医科歯科大学倫理審査委員会の承認を得て実施された (承認番号 923)。10 本の単根ヒト抜去歯を歯根長 10 mm となるよう調整し、根尖部 3 mm を切断したのち、根管形成バー #3 (RTP リーマ, DENTECH, 先端径 1.48 mm) にて根尖まで根管形成を行い、MTA (ProRoot MTA, Dentsply Tulsa) を気泡が入らないように根尖から 3 mm 充填後、水硬性セメント (Cavition, GC) で仮封し、湿度 100%, 37 °C の恒温槽で保管した。その後、試料を無作為に以下の 2 群 (各 n=5) に分け、手術用顕微鏡 (OPMI pico with MORA interface, Carl Zeiss) で観察しながら MTA の除去を行った。すなわち Laser 群では、Er:YAG レーザー装置 (Erwin AdvErL, C600F, モリタ) を用い、350 mJ、10 pps の条件で注水下で MTA にレーザー照射した。また、超音波 (US) 群では超音波装置 (ENAC SE10, オサダ) に根管内異物除去用チップ (SC4, オサダ) を装着し、設定値 3 の条件で注水下で MTA を切削した。各群とも器具が根尖に達するまでの時間を計測した。その後、試料を垂直に切断し、実体顕微鏡 (VH-8000, Keyence) にて形態観察を行った。統計学的解析には t 検定を用い、有意水準を 5% とした。

【結果】

Laser 群 (601.8 ± 142.7 秒) は US 群 (989.0 ± 225.67 秒) に比較して根尖に器具が達するまでの時間が有意に短かった ($p < 0.05$)。形態観察においてすべての試料で穿孔や歯根破折等は認めず、Laser 群では根尖部まで概ね均等に MTA が除去されていたが、US 群では根尖に近づくに従い MTA の残存が増加するとともに、MTA が黒色に着色していることが観察された。

【考察】

手術用顕微鏡を用いることで穿孔を生じずに、Laser 群、US 群とも根管内の MTA を根尖まで除去することが可能であった。Er:YAG レーザーは水への吸収波長が高く、MTA 表面のヒドロキシ基や注水された水に吸収されて微小爆発を起こし、MTA の破碎を起こしていると考えられる。超音波切削においては、ダイヤモンド付超音波チップや最大出力設定値の高い大きなチップを用いることでより短時間で除去ができる可能性もある。また超音波切削された MTA が黒色に着色していたが、残存している MTA の指標とできる可能性もあり、Er:YAG レーザーと超音波を組み合わせた方法も有効である可能性が考えられる。しかしながら臨床応用に際しては、残存した MTA 充填材の除去手法、除去の際に発生する熱的な影響や根管象牙質への影響等についても慎重に検討する必要がある。

【結論】

本研究の条件下では、Er:YAG レーザーにより根管内の MTA 充填材を超音波より短時間で根尖まで除去することが可能であった。

**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および蒸気泡の挙動
-パルス数およびチップ形態による影響-**

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 歯髄生物学分野

○高野晃, 本郷智之, 八尾香奈子, 佐竹和久, 渡辺聡, 興地隆史

**Generation of apical pressure and vaporized cavitation bubbles during root canal irrigation activated by
Er:YAG laser : Effect of pulse number and tip configuration**

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

○KOUNO Akira, HONGO Tomoyuki, YAO Kanako, SATAKE Kazuhisa, WATANABE Satoshi,
OKIJI Takashi

【目的】 根管洗浄時に溢出した洗浄液による組織傷害への懸念から、洗浄中に根尖孔外に生じる圧力を解析した報告がなされている(佐竹他. 日レ歯誌 2014; 25: 70-74.)。また、近年 Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄(laser-activated irrigation, 以下「LAI」)の有効性が注目されている。我々はこれらの点に着目して、LAI で生じる根尖孔外の圧力や洗浄液の溢出量を検討し、これらが照射エネルギーやチップ設定位置に有意に影響されることを報告した(Yao et al. Photomed Laser Surg 2017 印刷中)。本研究では、LAI で生じる根尖孔外の圧力および根管内での蒸気泡の挙動に着目し、レーザーのパルス数および照射用チップの形態が及ぼす影響を解析した。

【材料および方法】 根管長 20 mm, 40 号 0.06 テーパーに調整したプラスチックピペットチップ(10 μ ロングチップ, 深江化成)を模擬根管とし、蒸留水を満たした状態で実験に供した。Er:YAG レーザー装置(Erwin AdvErL, モリタ製作所)および付属チップを使用し、チップ先端を根管模型底部から 15 mm の位置に固定して以下の条件でレーザー照射した。

実験 1. R200T チップ(円錐状, ϕ 200 μ m)を用いて、70 mJ および 1, 10, 25 pps の出力条件にて、各 20 秒間作用させた。

実験 2. R200T, R600T(円錐状, ϕ 600 μ m), C600F(平坦, ϕ 600 μ m)あるいは Brush チップ(ブラシ状)を用いて、70 mJ, 25pps の条件で各 20 秒間作用させた。根尖孔外に生じた圧力は、圧力計測装置(AP-12S, キーエンス)をビニールチューブで模擬根管的の根尖に接続し、各群 10 回ずつ計測した。また、模擬根管内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)で観察した。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】 根尖孔外の圧力はパルス数の増加に伴い上昇し、各群間で有意差を認めた($p < 0.05$)。また Brush チップおよび R200T は R600T と比較して根尖孔外の圧力は有意に小さかった($p < 0.05$)。R600T と C600F で圧力に有意差を認めなかった($p > 0.05$)。ハイスピードカメラ観察では、パルス数の増加に伴い蒸気泡の数が増加した。また、R200T および Brush チップでは R600T および C600F よりも小さい蒸気泡が発生する傾向を認めた。Brush チップにおける蒸気泡はチップ先端周囲に限局していた。

【考察】 LAI による洗浄液の根尖孔外への溢出については、シリンジ洗浄より根尖孔外に洗浄液が飛散していたという報告(George R et al. J Endod 2008; 34: 706-708.)が見られる一方、造影剤溶液中で LAI を行った 300 症例で根尖孔外への溢出を認めなかったとの報告(Peters H Clin Oral Invest 2013; 17: 2105-2112.)もあり、見解の相違がみられる。本研究では、先端形状が同一の場合、径が大きなチップで根尖孔外の圧力が大きかったが、同一径のチップでは先端形状(円錐型もしくは平坦)の圧力への影響はみられなかった。一方、小径のチップが束となった Brush チップでは根尖孔外の圧力が小さく蒸気泡の挙動が異なっていた。以上より、チップの形態により同一出力においても LAI の根尖孔外への溢出の可能性が異なると考えられる。また、パルス数が大きい場合など、照射条件によって根尖孔外へ洗浄液が溢出する可能性があり、臨床応用に際しては更なる検討が必要である。

【結論】 本実験条件では、Er:YAG レーザーを使用した LAI において、根尖孔外の圧力および蒸気泡の挙動はレーザーのパルス数およびチップ形態により異なっていた。

ヒト抜去歯 STL データから作製した樋状根管模型ブロックによる根管拡大形成の評価

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座

○関谷美貴, 前田宗宏, 勝海一郎

Evaluation of Root Canal Preparation Using the C-shaped Root Canal Model Block Made from the STL Data of the Human Extracted Tooth

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

○SEKIYA Miki, MAEDA Munehiro, KATSUUMI Ichiroh

【はじめに】

樋状根管は、日本人における出現頻度の高さと変異に富んだ複雑な根管形態により、歯内療法の難易度が高い歯種とされている。また、近年の歯科医療分野において、3D 技術の応用は目覚ましい進歩を遂げている。これまで、マイクロ CT で撮影したヒト抜去歯の画像データから、3D プリンタを用いて作製した樋状根管模型ブロックの精度や模型ブロックを用いた樋状根管の拡大形成法について、第 144, 145 回の本学会において報告してきた。今回は、新たに作製した樋状根管模型ブロックを用いて、樋状根管に対する手用ファイルと Ni-Ti ロータリーファイルの拡大形成法の評価を行った。

【材料と方法】

マイクロ CT (ELE-SCAN, 日鉄エレックス) を用いて断層撮影を行い、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) によって三次元画像構築を行ったヒト抜去歯の画像データから、Fan らの分類で C1 (分岐や分割のない連続した“C”を示す) の樋状根管形態に最も近い 1 歯を選択し、STL データを作成した。ヒト抜去歯の使用については、日本歯科大学生命歯学部倫理委員会の承認 (NDU-T2015-33) を得た。STL データをもとに模型ブロックの設計を行い、ヒト抜去歯のセメント-エナメル境から根尖までの根管形態を再現したエポキシ樹脂製の透明樋状根管模型ブロックを作製した。ブロックは、#15 の K ファイル (マニー) を用いて作業長を決定した後、根管形態を視認できないようにブロック外周に不透明テープを巻いた状態で、以下の 4 群に分け、各 5 本ずつ拡大形成を行った。

1. K ファイル (#15~40, マニー, KF 群)
2. Self-Adjusting File (ϕ 1.5mm 21mm, ReDent Nova, Israel, SA 群)
3. PROTAPER NEXT (X1 17/04, X2 25/06, Dentsply Maillefer, Switzerland, PN 群)
4. RECIPROC (R25 25/08, VDW, Germany, RE 群)

KF 群は、#15, #20, #25 で拡大形成した後、#30, #35, #40 でステップバック形成を行った。操作法は円周ファイリングを基本とし、湾曲部・狭窄部には選択的に回転操作を行った。SA 群, PN 群, RE 群は左右の C 字末端部からそれぞれファイルを挿入し、メーカー指定の方法で拡大形成を行った。拡大形成中は精製水で頻りに洗浄を行い、#15 の K ファイルを用いて目詰まりの有無を確認した。各ブロックは、拡大形成前後にマイクロ CT (ScanXmate-D100SS270, コムスキャンテクノ株式会社) で撮影を行った。画像処理ソフトを用いて拡大形成前後の画像を重ね合わせ、各群における根管壁切削面積を計測し、形成前の根管壁表面積における切削面積の割合を求めた。得られた結果は、角変換後に統計処理ソフト (SPSS22.0, IBM) を用いて、Tukey の検定により統計学的分析を行った。

【結果とまとめ】

形成前の根管壁表面積における切削面積の割合はそれぞれ、KF 群 : $58.46 \pm 3.33\%$, SA 群 : $50.40 \pm 5.02\%$, PN 群 : $34.05 \pm 2.17\%$, RE 群 : $27.35 \pm 1.10\%$ であり、KF 群 > SA 群 > PN 群 > RE 群の順に大きな値を示し、全ての群間で統計学的有意差が認められた ($p < 0.05$)。

本研究から、樋状根管のような複雑な根管形態の全周を切削するためには、意図的にファイルを動かすことができる KF 群が最も有用であり、次いで根管の形態に合わせてファイルの形状が変化する SA 群が効果的であることがわかった。また、1 本で根管形成が完了するシステムの RE 群よりも、複数本で根管形成が完了するシステムの PN 群の方が切削面積の割合が大きかった。しかし、いずれの拡大形成法も根管の未切削部位が存在したことから、臨床においては有機質溶解剤の併用が必要であることが示唆された。今後、3D 技術を応用した樋状根管の拡大形成法について、さらに詳細な検討を進めていく予定である。

扁平根管における拡大形成の評価

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座
○吉田和貴, 前田宗宏, 西田太郎, 勝海一郎

Evaluation of Oval Root Canal Preparation in Clinical Simulation

Department of Endodontics, The Nippon Dental University, School of Life Dentistry at Tokyo
○YOSHIDA Kazutaka, MAEDA Munehiro, NISHIDA Taro, KATSUUMI Ichiroh

【はじめに】

第 145 回の本学会において、エンジン用ファイルにより扁平根管の拡大形成を行ったところ、材質、断面形態が切削効率に影響を及ぼすことなどを報告した。今回は、ファントームに装着した顎模型に抜去歯を植立し、臨床を模した環境下での拡大形成法の評価を試みた。

【材料および方法】

実験には歯根が扁平傾向にあり単根管性のヒト抜去下顎小臼歯 16 本を用いた。抜去歯の使用に際しては、日本歯科大学生命歯学部倫理審査委員会の承認 (NDU-T2015-50) を得た。抜去歯を全顎模型 SC-41 (ニッシン) の下顎左右第二小臼歯部に埋入し、ユーティリティワックスで固定した。顎模型をファントームに装着し、下顎歯列が床と平行になるように調節した。術者の位置は 11~12 時とした。髓室開拓を行い、#10 の手用 K ファイル (マニー) で根尖まで穿通した。マイクロ CT (ScanXmate-D100SS270, コムスキャンテクノ株式会社) を用い、管電圧 100kV, 管電流 200 μ A, スライス厚 40.83 μ m の条件で根管拡大形成前の連続的な断層撮影を行った。作業長は解剖学的根尖から 1mm を減じた位置までとした。根管の拡大形成は以下の 2 群に分けて行った。

1. 手用 K ファイル群: ピーソリマ (マニー) #1 で根管上部を拡大後、手用 K ファイルにより #15~#40 までファイリング操作により拡大形成を行った。
2. K3XF ファイル (SybronEndo) 群: #25/10 で根管上部を拡大後、クラウンダウン法により最終拡大ファイル #40/06 までの拡大形成を行った。駆動装置としては X-スマートプラス (DentsplyMaillefer) を用い、回転数は 350rpm とした。

両群とも 10% 次亜塩素酸ナトリウム剤 (キャナルクリーナー, ビーブランド・メディコ・デンタル) を根管内に満たした状態で根管の拡大形成を行い、ファイルの交換ごとに蒸留水による根管洗浄を行った。根管洗浄および器具交換、清拭に要した時間を除いた各ファイルでの作業時間を合計し、計測値とした。根管拡大形成後にマイクロ CT 撮影を行い、根管拡大形成前後の根管を画像処理ソフト (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。切削された部位の表面積を切削前の表面積で除して根管壁面切削率を算出した。

【結果とまとめ】

1. 作業時間の平均値は手用 K ファイル群で左側 235.2 \pm 83.2 秒, 右側 229.0 \pm 30.4 秒であった。K3XF ファイル群で左側 93.5 \pm 22.8 秒, 右側 92.2 \pm 25.9 秒であった。
2. 根管壁面切削率の平均値は手用 K ファイル群で左側 68.2 \pm 4.9%, 右側 62.2 \pm 3.4% であった。K3XF ファイル群で左側 61.3 \pm 8.7%, 右側 54.7 \pm 4.9% であった。

K3XF ファイル群では手用 K ファイル群に比べて作業時間の短縮が認められた。根管壁面切削率において手用 K ファイル群が K3XF ファイル群より高値を示した。両群とも根管壁面切削率において左側が右側より高値を示した。

根管壁面切削率において K3XF ファイル群が低値を示したのは、K3XF ファイル群では根管の径によって早期に作業長に到達する場合、使用ファイル数が減少するためと考えられる。

今後、上顎においても検討を行う予定である。

OGPエンドモーターによる根管形成の評価
— 切削応力の電流値および可視化による評価 —

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学講座

○ 鈴木二郎, 藤巻龍治, 石井信之

Analysis of Root canal preparation by Optimum Glide Path device

— Evaluation by a current value of the cut stress and the visualization —

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

○SUZUKI Jiro, FUJIMAKI Ryuji, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】

根管形成時のグライドパス形成は、本来の根管形態維持と使用ファイルの破折防止に有効であることが報告されている。現在、グライドパス形成を目的とした専用ファイルや OGP (Optimum Glide Path) 機能を装備したエンドモーターが開発されている。本研究は、グライドパス形成時の OGP 機能と試作 EDTA ゲルを評価することを目的として、根管壁に対する切削時応力の電流値測定と歪応力可視化による解析を行った。

【材料および方法】

供試根管模型は、35 本のプラスチック製湾曲根管模型 (Dentsply Sirona) を 7 群に分け、Proglider (#16/.02 Dentsply Sirona) または MGP File (Morita Europe) を OGP 機能装備デンタポート (モリタ) に装着、各種 EDTA ゲル Glyde (Dentsply Sirona), RC-Prep (白水貿易) および粘稠性の異なる 4 種類の試作 EDTA ジェル (日本歯科薬品) を根管内に満たし、OGP モードまたは正回転にて駆動し下記実験に供試した。なお、対照には精製水を用いた。

実験 1: グライドパス形成時の切削応力に対するモーター電流値測定

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の #10 K ファイル (マニー) にて作業長を決定、精製水 1ml にて根管洗浄および乾燥後、各種 EDTA ジェルを併用したグライドパス形成を行い、各測定部位 -5mm, -3mm, -1mm および作業長位置でのモーター電流値を、データロガー (midi LOGGER GL820, GRAPHTEC) にて測定した。

実験 2: グライドパス形成時応力の可視化

実験 1 と同様にグライドパス形成を行い、プラスチック製根管模型の応力陰影を偏向歪検査装置 (MRV330) にて撮影した。

なお統計学的解析については、*Non-repeated measures AVOVA* および *Bonferroni* 法による多重比較を行った。

【結果】

1. 対照群と比較し EDTA ジェル群では、各測定部位でグライドパス形成時の電流値低下傾向が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。
2. 粘稠度の低い EDTA ジェルを根管内に満たしたものにモーター電流値低下傾向が認められたが、統計学的有意差は認められなかった。
3. 根管形成時応力陰影は、いずれの条件においても内側湾および外側湾で、ほぼ均等な陰影が認められた。

【考察および結論】

OGP 機能を有するデンタポートを使用して根管模型に対するグライドパス形成時のモーター電流値変化を測定し、同時に歪応力陰影による解析を行った結果、試作 EDTA ジェルは、粘稠度の違いによる応力抑制に有意差は認められなかった。本研究では、グライドパス形成時の切削応力解析を行ったが、グライドパスファイルは先端径およびテーパの低いファイルであり、OGP 機能を採用しての駆動条件下に置いては、湾曲部においても過度な応力は発生しないことが示された。

ニッケルチタンロータリーファイル HyFlex EDM の工学的特性

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
○木村俊介, 時田大輔, 牧圭一郎, 西条美紀, 宮良香菜, 海老原新, 興地隆史

Evaluation of mechanical properties of HyFlex EDM NiTi rotary instruments

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

○KIMURA Shunsuke, TOKITA Daisuke, MAKI Keiichiro, NISHIJO Miki, MIYARA Kana,
EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

【目的】

近年, NiTi 合金に対する熱処理が NiTi ロータリーファイルの破折抵抗性を向上させると報告されている. HyFlex EDM は, 熱処理の結果, 口腔内温度で主としてマルテンサイト相にあることを特徴とする CM wire を素材とし, これに独自の放電加工処理を施すことにより, 回転疲労抵抗力と柔軟性を向上させたファイルであるとされる. しかし, HyFlex EDM の機械的特性についての報告は少ない. そこで本研究では HyFlex EDM の回転疲労抵抗力および曲げ特性について, 各種 NiTi 合金を素材とする製品との比較により評価したので報告する.

【材料および方法】

1. 被験ファイル:

- HyFlex EDM OneFile (Coltene/Whaledent AG, Altstätten, Switzerland, #25, 0.08 テーパー, 以下「EDM」)
- HyFlex CM (CM wire 製; Coltene/Whaledent AG, Altstätten, Switzerland, #25, 0.08 テーパー, 以下「CM」)
- Twisted File (R 相 NiTi 合金製; SybronEndo, Orange, CA, USA, #25, 0.08 テーパー, 以下「TF」)
- K3 (従来型 NiTi 合金製; SybronEndo, Orange, CA, USA, #25, 0.08 テーパー, 以下「K3」)

2. 曲げ試験 (各 n=10): 自作型片持ち梁式抗曲試験機を用いた. ファイル先端から支点まで 7.0 mm および荷重点まで 2.0 mm の条件で変位量 0.5 mm および 2.0 mm における荷重量を計測し, それぞれ弾性領域および超弾性領域の代表点とした.

3. 回転疲労試験 (各 n=10): 自作型回転疲労試験装置を使用し, 曲率半径 5.0 mm, 湾曲角度 38° の条件で行った. エンジンには Dentaport ZX (J Morita, Kyoto) を使用し, 各ファイルを 300 rpm で回転させた. 潤滑材としてシリコンオイル (KF-96-100CS, 信越化学) を用いた. 破折に要するまでの時間 (s) を測定し, 破折までの回転数 (number of cycles to failure; NCF) を「NCF = 1 分間の回転数 (rpm) × 時間 (s) / 60」と定義し算出を行った.

4. 統計学的解析: Kruskal-Wallis 検定および Mann-Whitney U 検定 (Bonferroni 補正) にて有意水準 5% で解析した.

【結果および考察】

弾性領域の曲げ荷重は EDM が最も小さく, 次いで TF, CM, K3 の順で各器具間に有意差を認めた ($p < 0.05$). 超弾性領域の曲げ荷重は EDM が最小, K3 が最大で, それぞれ他の各器具との間に有意差を認めたが ($p < 0.05$), TF および CM 間で有意差は認めなかった ($p > 0.05$). 弾性領域および超弾性領域とも EDM, CM の曲げ荷重は TF, K3 と同等以下であったが, これは室温で主としてマルテンサイト相にあり小さい応力で変形する CM wire の特性を反映したものと考えられる. また, EDM の曲げ荷重は CM より有意に小さい値であったが, これは放電加工処理の効果や刃部形状の相違によると思われる. 一方, NCF について, EDM は他の各器具より有意に大きく ($p < 0.05$), また TF は K3 より有意に大きかった ($p < 0.05$). これは EDM の高い柔軟性によりファイルに加わる応力が減少し, 回転疲労の軽減が図られたためと考えられる.

【結論】

本実験条件下では, EDM は, CM, TF, K3 と比較して曲げ抵抗性が低く, 回転疲労破折抵抗性が高かった.

超音波チップから発生するキャビテーション効果の検討

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座

○小関亮介, 深井譲滋, 酒井きよ美, 三浦孝司, 高瀬俊彦, 岡部達, 松島潔

Investigation of cavitation effect generated from ultrasonic chip

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○OZEKI Ryosuke, FUKAI Joji, SAKAI Kiyomi, Miura Takashi,

TAKASE Toshihiko, OKABE Tatsu, MATSUSHIMA Kiyoshi

<緒言>

歯科臨床でハンドピース型超音波発生装置が多く使用され、歯内療法では、根管拡大、根管洗浄に用いている。歯科診療における超音波に期待している効果は、超音波スクレーラのように超音波振動させた器具の先端を直接対象物にあて、数多く錠打し破壊する効果があり、歯内療法では、超音波振動器に先端の細いステンレスチップなどを象牙質にあて切削に応用している。

一方、音波は粗密を繰り返す縦波である。超音波振動体を水中に入れると、水中の振動体の周囲で圧力差が生じ短時間に泡の発生と消滅が生じる。この現象をキャビテーション効果といい、泡の発生、消滅時に衝撃波が生じ、歯内療法では、複雑な形態を呈する根管内の洗浄に応用されている。根管洗浄には種々の洗浄液と超音波の併用が使用され、機械的清掃で除去しきれない細菌などを含む根管汚物である有機質あるいは象牙質切削片やそれが根管壁に擦り付けられたスメア層である無機質の除去に効果があるとされている。根管内で超音波を用いた時の衝撃波の発生・伝播に関する報告は見当たらない。そこで、本研究では、根管内で効果的に衝撃波が発生・伝播する状況を明らかにする目的で、超音波チップから発生した衝撃波を観察した。

<材料と方法>

超音波発生装置として、歯科用多目的超音波治療器ソルフィーF(モリタ製作所)を使用し、超音波発生装置の先端に根管治療用のスプレッター型のチップ(エンドチップE2,モリタ製作所)を装着した。試験管内壁にアルミホイルを貼り付け、試験管中に純水を満たし、超音波発生装置のチップをアルミホイルから1mmの距離を空けて、純粋中に15mm挿入し、チップをパワー値6,3分間超音波振動させ、作用後のアルミホイルをデジタルマイクロスコープ(キーエンス社製)で表面を観察した。デジタルオシロスコープGDS-1022(GW Instek)に超音波センサー(Muller Platte Gauge, Muller社製)を接続し、試験管の外側に固定し、圧力の測定を行った。

<結果および考察>

超音波チップ(パワー値6,3分間)から1mm離れたアルミホイルの表面に700 μ m程度の穴が開き、キャビテーションによって発生した衝撃波によって、破壊されていることが確認された。空気中で超音波の波形を捉え、30kHzの正弦波であることを確認し、この正弦波と水中で捉えた波形との差分を水中で生じた衝撃波として計算して得た。パワー値6では超音波による30kHzの波形の最大約80%の振幅、波長の不規則な衝撃波と思われる波形を観察した。パワー値4および2においては、30kHzの振幅は減少しているが、その振幅の70~80%の衝撃波とみられる波形を観察した。

最小出力で発生した超音波からも衝撃波と思われる波形を観察し、衝撃波が発生していることが確認された。これらの衝撃波が根管象牙質に及ぼす影響と根管壁に付着しているスメア層を含む汚物の除去の効率について検討をする予定である。

超音波チップから発生するキャビテーションのソノルミネッセンスによる検討

日本大学松戸歯学部歯内療法学講座

○船木弘, 渡邊昂洋, 五味博之, 喜多詰規雄, 上田幾大, 山浦賀弘, 神尾直人, 松島潔

Investigation of cavitation generated from ultrasonic chip by sonoluminescence

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○FUNAKI Hiroshi, WATANABE Takahiro, GOMI Hiroyuki, KITAZUME Norio,

UEDA Ikuo, KAMIO Naoto, MATSUHIMA Kiyoshi

< 諸言 >

超音波とは人間の耳には聞こえない高い振動数をもつ音波であり、一般的に周波数が 20 kHz 以上の音波とされている。歯科診療における超音波に期待している効果は、超音波スケーラのように超音波振動させた器具の先端を直接対象物にあて、数多く錐打し破壊する効果があり、歯内療法では、超音波振動器に先端の細いステンレスチップなどを象牙質にあて切削に應用している。一方、液体に超音波を照射すると、キャビテーション、すなわち、多数の気泡の発生とその圧壊現象が見られる。超音波洗浄機はこの効果を應用し、衝撃波の発生によって、直接振動体が触れない隠れた隅々まで洗浄することができる。歯内療法では、複雑な形態を呈する根管内の洗浄に應用されている。根管洗浄には種々の洗浄液と超音波の併用が使用され、機械的清掃で除去しきれない有機質や無機質の除去に効果が期待している。根管内に超音波を作用させたときのキャビテーション効果から発生する衝撃波についての検討はほとんどない。そこで本研究では、洗浄液内で超音波から発生するキャビテーション効果によって発生する衝撃波を視覚的に捉えるためにキャビテーションの際に発生する発光現象であるソノルミネッセンス (音響発光) を用いて検討した。さらに溶液の濃度が衝撃波の発生への影響についても検討した。

< 材料と方法 >

超音波発生装置として、歯科用多目的超音波治療器ソルフィーF (モリタ製作所) を使用し、超音波発生装置の先端にスプレッター型のチップ (エンドチップ E2, モリタ製作所) を装着した。試験管内壁にアルミホイルを貼り付け、中に純粋を満たし、超音波発生装置のチップをアルミホイルから 1 mm の距離を空けて純水中に 15 mm 挿入し、チップをパワー値 6, 3 分間超音波振動させ、作用後のアルミホイルをデジタルマイクロスコープ (キーエンス社製) で表面を観察した。

濃度の異なる溶液を使用するために、0, 5, 10, 15% のスクロース溶液を用意し、試験管中に溶液を満たし、同様に観察した。

溶液中に超音波振動によって発生するキャビテーションを測定するためにルミノールを用いたソノルミネッセンスを應用した。ルミノール 0.05%, 水酸化ナトリウム 0.5% になるように調整した溶液を試験管中に用意し、溶液中で超音波チップを振動させ、フェリシアン化カリウム溶液を滴下し、発光状態をデジタルカメラで記録し、観察した。

< 結果および考察 >

超音波チップ (パワー値 6, 3 分間) から 1 mm 離れたアルミホイルの表面に 100 μm 程度の穴が開き、キャビテーションによって発生した衝撃波によって、破壊されていることが確認された。キャビテーション効果によってラジカルが発生し、発生したラジカルがルミノール発光を励起するとされている。そこで本研究では、ソノルミネッセンスを用いてキャビテーションの実態を捉えようとした。チップ上方、すなわちハンドピースに近いほど、発光が強くキャビテーションが強く発生しているものと考えられた。スクロースの濃度の上昇に伴い、発光の強度が減少し、スクロースの濃度が高いほど、液体の密度が上昇し、流動性が減少したためと考えた。根管内の超音波チップの使用により、根管内に衝撃波が生じていると推測された。今後、衝撃波の発生にチップの形状、洗浄液の性質が及ぼす影響を検討し、効率的な根管洗浄の検討を行う。

ホルモクレゾール貼薬後の洗浄が象牙質面への接着に及ぼす効果

北海道大学大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室
○鷺巣太郎, 菅谷 勉

Effect of irrigation on bond strength to dentin after formocresol medication.

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido University
Graduate School of Dental Medicine.

○Taro Washizu, Tsutomu Sugaya

【目的】

根管治療ではさまざまな根管貼薬剤が用いられるが、根管貼薬剤は根管充填用シーラーの硬化や封鎖性に影響及ぼすことが報告されている。とくに、ホルモクレゾール (FC) はレジンの重合を阻害するため、スーパーボンド根充シーラーの接着を著しく低下させるが、FC を十分に揮発させると FC 未貼薬の場合と同等以上の引っ張り強さが得られることを、本学会第 145 回学術大会 (松本) において報告した。本研究では FC 貼薬後の象牙質面への接着性を回復するための効果的な洗浄方法について検討を行った。

【材料と方法】

ウシ下顎前歯 12 本を使用し、根尖より 10~15mm の位置で歯冠部を切除した。さらに歯軸方向に 4 分割し、耐水研磨紙#600 で平滑にして 5mm×5mm の象牙質片を作製した。作製した象牙質片を 17%EDTA と 10%次亜塩素酸ナトリウム (NC) で洗浄し、FC (ネオ製薬) を浸したガーゼ上に象牙質片を静置してサンプルチューブ内に 1 週間密封した。その後、次の方法で象牙質面を洗浄した。①NC 群: NC で 60 秒間洗浄後、歯面処理剤アクセル (サンメディカル) で 10 秒間洗浄した ②AC 群: アクセルで 30 秒間洗浄した。③FC 群: 洗浄しなかった。さらに④コントロール群は FC 貼薬を行わず 37°C、湿度 100%中に 1 週間静置した。4 群とも被着面を水洗・乾燥後、表面処理剤グリーン (サンメディカル) で 10 秒間処理、水洗、エアードライを行って、スーパーボンド根充シーラー (サンメディカル) をメーカー指示に従ってモノマー液、キャタリスト、ポリマー粉末を混和して被着面に塗布、PMMA レジンブロックを接着した。モノマーの揮発を防止するため、アルジネート印象材で全体を被覆し、24 時間後に、各試料中央部から 1mm×1mm のスティックを切り出し (各群 n=12)、クロスヘッドスピード 1mm/min で微小引張試験を行うとともに、破断様式の種類を行った。

【結果と考察】

微小引張強さは、コントロール群が 22.95±6.83MPa, NC 群が 15.11±6.19, AC 群が 19.85±5.74, FC 群が 5.7±2.1MPa, であった。FC 群は他の 3 群と比較し、有意に微小引張強さが低下し (p<0.05, Dunnet's test), 半数が微小引張試験の試料作製中に被着面からシーラーが脱離した。AC 群の微小引張強さはコントロール群と比較し有意差は認められなかったが、NC 群はコントロール群より有意に低かった (P=0.043)。破断面の種類は、コントロール群と AC 群ではシーラーと象牙質間の混合破壊が 8 個と最も多く認められ、NC 群ではシーラーと象牙質間の界面破壊 6 個と混合破壊が 5 個であった。FC 群は引張試験を行った 6 個すべてがシーラーと象牙質間の界面破壊であった。

本実験の結果、FC が象牙質表面に残存している場合、次亜塩素酸ナトリウムによる洗浄でも接着強さはある程度回復したが、アクセルを用いた方が効果は高かった。しかし、次亜塩素酸ナトリウムやアルコールを含有するアクセルでの長時間の洗浄は、接着の長期耐久性への影響する可能性があり、今後さらに検討することが必要と考えている。

【結論】

FC 貼薬後の象牙質面は、アクセルで洗浄することで、スーパーボンド根充シーラーの引張強さが向上することが示された

電解酸性機能水を利用した殺菌効果の検討

日本大学歯学部歯科保存第Ⅱ講座¹、病理学講座²、細菌学講座³
総合歯学研究所生体防御部門⁴、総合歯学研究所高度先端医療研究部門⁵
○岡村貞之介¹、浅野正岳^{2,4}、武市収^{1,5}、勝呂尚^{1,5}、田村宗明^{3,4}、今井健一^{3,4}、小木曾文内^{1,5}

Bactericidal Effect of acid electrolyzed functional water

Department of Endodontics¹, Pathology² and Microbiology³, Division of Immunology and Pathobiology⁴, Division of Advanced Dental Treatment⁵, Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry
○T.Okamura¹, M.Asano^{2,4}, O.Takeichi^{1,5}, H.Suguro^{1,5}, M.Tamura^{3,4}, K.Imai^{3,4}, B.Ogiso^{1,5}

[目的]

電解酸性機能水 (acid electrolyzed functional water ; FW) は様々な細菌に対して殺菌効果があるとされている。本研究の目的は、難治性根尖性歯周炎の原因菌の1つである *E. faecalis* (通性嫌気性グラム陽性の連鎖球菌) や齶蝕原因菌である *S. mutans*、および口腔内の常在真菌である *C. albicans* に対する FW の殺菌作用について、従来根管洗浄剤として用いられてきた次亜塩素酸ナトリウムやアルカリ電解水との比較を行うことである。また、この研究を通じて、FW の殺菌メカニズムの解明を試みる

[方法]

実験には、FW (pH 2.7、酸化還元電位 1,100 mV 以上、有効塩素濃度 20~30 ppm、三浦電子社製)を用いた。

1) FW の殺菌メカニズムの解明

1. FW の殺菌効果の比較

5×10⁸ CFU/ml の菌数に調整した *E. faecalis* の菌液 10 μl (JCM5803 株 理化学研究所バイオリソースセンター微生物材料開発室) を、FW 原液および蒸留水により段階的に希釈した FW (10、30、50、70、90 %になるよう希釈したもの) 1000 μl に懸濁し、30 秒間反応させた。懸濁液をそれぞれ 100 μl 採取し、Brain Heart Infusion (BHI) 寒天培地にプレーティング後、37℃恒温槽にて 48 時間培養した。培養後コロニー数をカウントすることで各希釈液における殺菌効率を検討した。

2. 各 FW 希釈液の pH 測定

FW の殺菌力の pH 依存性について検討する目的で、上記実験で使用した希釈液の pH を、pH メーター(HORIBA 社製) を用いて計測した。

3. 殺菌メカニズムの検討

pH および有効塩素濃度を様々に変化させた電解水を作製し、上記の 1. と同様の方法により殺菌メカニズムを検討した。

2) 殺菌効果の比較

上記に 1. の手法を用いて FW、次亜塩素酸ナトリウム、アルカリ電解水の *E. faecalis*、*S. mutans*、*C. albicans* に対する殺菌効果を比較した。

[結果]

1) *E. faecalis* に対して FW は遊離有効塩素濃度 40 ppm 以下、弱酸性領域の pH で殺菌効果が認められた。

2) *E. faecalis*、*S. mutans*、*C. albicans* に対して次亜塩素酸ナトリウムと FW は強力な殺菌効果を示した。

[考察]

FW の *E. faecalis* に対する殺菌効果は遊離有効塩素濃度 10~15 ppm で有効に発揮されていることが解った。しかし pH は弱酸性領域でも効果があると考えられた。次亜塩素酸ナトリウムは強力な殺菌効果を示したが細胞毒性やアレルギー一反応などの問題がある。FW は次亜塩素酸ナトリウムと遜色ない殺菌効果を示し、また生体に対し安全なことから、根管洗浄剤としてだけでなく消毒剤として使用し得る可能性があることが示唆された。

試作アルカリ性 EDTA 溶液を用いた根管洗浄効果に関する研究
—象牙質脱灰作用と抗菌効果—

神奈川歯科大学大学院歯学研究科 歯髄生物学分野¹⁾
神奈川歯科大学大学院歯学研究科 口腔科学講座 微生物感染学分野²⁾
神奈川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³⁾
○藤巻龍治¹⁾, 鈴木二郎¹⁾, 佐藤武則²⁾, 大橋 桂³⁾, 浜田信城²⁾, 石井信之¹⁾

Study on Root Canal Cleaning Effect Using Trial Alkaline EDTA Solution
- Dentin Demineralization Action and Antibacterial Effect -

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University¹⁾
Division of Microbiology, Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University²⁾
Division of Clinical Biomaterials, Department of Oral Science, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University³⁾
○FUJIMAKI Ryuji¹⁾, SUZUKI Jiro¹⁾, SATO Takenori²⁾, OHASHI Katsura³⁾, HAMADA Nobushiro²⁾, TANI-ISHII Nobuyuki¹⁾

【研究目的】

歯内療法における根管洗浄は、機械的に除去できない感染源を化学的に除去する重要な操作で、現在、有機質除去が可能な次亜塩素酸ナトリウム (NaClO) 溶液と無機質除去が可能なエチレンジアミン四酢酸 (EDTA) 溶液を用いた方法が推奨されている。しかしながら、複雑な根管系への応用性と優れた根管洗浄効果を併せ持つ洗浄液の開発が期待されている。

本研究は、アルカリ性 (pH 12.3) に調整した試作 EDTA 溶液の有用性を象牙質脱灰効果, *E. faecalis* に対する抗菌効果および *E. faecalis* バイオフィルムの除去効果を解析し評価した。

【材料および方法】

実験 1. 脱灰象牙質の電顕的評価

ヒト単根抜去歯 (倫理審査委員会承認番号 326) 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包埋した。耐水研磨紙を用いて表面が平面となるまで研磨を行い、象牙質表面にスミヤー層を実験的に付与した。サンプル面に試作 3% EDTA 溶液 (pH 12.3, 0.09 mol/l EDTA) を 60 分作用させた。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) にて観察を行い EDTA 溶液の脱灰状態について解析した。

実験 2. *E. faecalis* に対する抗菌効果とバイオフィルム除去効果

a. 殺菌効果

供試菌は *E. faecalis* ATCC 19443 株を用いた。BHI 液体培地で 37 °C, 18 時間嫌気培養した菌液 10 μl (10⁸ CFU/ml) に被験溶液を加えて作用させ、5 分後に 10 倍階段希釈液を BHI 寒天培地に塗抹し、5 日間嫌気培養後の発育コロニー数を算出し評価した。

b. バイオフィルム除去効果

円形カバーガラスを設置した 48 穴ウェルプレートで供試菌を 18 時間嫌気培養しバイオフィルム形成後、被験溶液を 5 分間作用させた。カバーガラスに付着したバイオフィルムを 1% クリスタルバイオレット液で染色後、アルコール中に浸漬して脱色し、バイオフィルムを含む染色液の濃度を波長 550 nm で吸光度測定した。

【結果】

実験 1. 電子顕微鏡観察により、3%EDTA 溶液 (pH 12.3) による過剰な脱灰象牙質は認められず、適切な象牙細管の開口とスミヤー層除去効果が観察された。さらに根管象牙質に 60 分間作用させた場合でも、脱灰を惹起しないことを確認した。

実験 2. 3%EDTA 溶液 (pH 12.3) は *E. faecalis* 培養菌に対して作用後 5 分で 98.9%の抗菌効果を示し、本菌バイオフィルムに対しても 72.0%の除去率を示した。

【考察および結論】

今回試作した EDTA 溶液で洗浄した抜去歯根管象牙質では、適切な範囲での無機質の脱灰作用とスミヤー層除去効果が認められ、さらに *E. faecalis* に対しても十分な抗菌効果とバイオフィルム除去効果を示した。以上の結果、本研究で供試した EDTA 溶液は根管細菌と感染象牙質の除去が期待できるものと示唆された。

ポリスチレン添加ユージノール濃度低減
酸化亜鉛ユージノールセメント (PS-OSP) の物性について

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、勝海一郎¹

Physical properties of the zinc oxide
low concentration eugenol mixture with polystyrene

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

²) The Nippon Dental University

○ Maeda M¹, Hashimoto S² and Katsuumi I¹

【はじめに】

第 141, 145 回の本学会において、酸化亜鉛ユージノールセメント (ZOE) 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) からのユージノール遊離量は 1/2 に低減されるが崩壊度が増加することなどを報告した。今回は、ポリスチレン (PS) を OSP セメントに添加したポリスチレン添加 OSP セメント (PS-OSP) の物性について検討した。

【材料および方法】

1. ポリスチレン添加 OSP セメント (PS-OSP) の組成および練和
酸化亜鉛 0.45 g, ロジン 0.2 g, 水酸化カルシウム 0.2 g, 硫酸バリウム 0.15 g, 酢酸亜鉛 0.008 g をオレイン酸 0.06563 ml, イソステアリン酸 0.06563 ml, プロピレングリコール 0.13125 ml の混液をペースト状とし、さらにユージノール 0.07 ml にポリスチレン 0.0175 g を添加した PS-ユージノール混液と練和した (粉液比 3.08)。
2. 試作低濃度ユージノールセメント (コントロール) の組成および練和
酸化亜鉛 0.45 g, ロジン 0.2 g, 水酸化カルシウム 0.2 g, 硫酸バリウム 0.15 g, 酢酸亜鉛 0.004 g をオレイン酸 0.06563 ml, イソステアリン酸 0.06563 ml, プロピレングリコール 0.13125 ml, ユージノール 0.0875 ml と練和した (粉液比 2.86)。
3. セメントの物性試験
 - 1) 硬化時間: 練和直後のセメントを内径 10 mm, 高さ 5 mm の円筒形プラスチック製容器に充填し、セメントの表面に直径 1 mm, 重量 1/4 lb のギルモア針を静置させ、針が侵入しなくなるまでの侵入深さを経時的に測定した。
 - 2) 崩壊度試験: 練和直後のセメントを内径 6 mm, 高さ 5 mm のシリコンチューブに充填後、37°C、100%湿度の恒温恒湿器内に 24 時間静置した。試料を取り出し、重量を計測した。重量既知のビーカーに蒸留水 50 ml 加え、試料を懸垂し恒温恒湿器内に 24 時間保管した。試料を取り出したビーカー内の水を 80°C で蒸発、放冷後、実験前後のビーカーの重量差を浸漬前の練和物重量で除し、崩壊率 (%) とした。測定は各セメントにつき 3 練和物ずつ行った。
 - 3) 硬化度の測定: 内面を粗造にした内径 8 mm, 長さ 5 mm のガラス管に各セメントを充填した。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 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させ、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 5 試料ずつ行った。
 - 4) 浸漬した外液の pH 測定: 各セメントを内径 5 mm, 長さ 5 mm のシリコンチューブに充填し、恒温高湿器 (37°C、100%湿度) に 24 時間静置した。試料を取り出し、0.5 ml の生理食塩液中に投入した。経時的に pH 試験紙 (Test Paper: ADVAMTEC) に外液を滴下し、pH 値を測定した。なお、測定は各条件につき 2 試料ずつ行った。

【結果および考察】

1. PS-OSP の硬化時間は 123 分を示した。これに対し、コントロールは 152 分と硬化時間が延長した。
2. PS-OSP の浸漬後 24 時間における崩壊度は、コントロールに比べて減少した。
3. PS-OSP の硬化度は、コントロールに比べて増大した。
4. 外液に浸漬した PS-OSP の pH 値は、浸漬開始から 5 分まで 7.6 であったが、10 分で 10.4, 20 分までの間に 11.4 に急激に上昇し、アルカリ側へシフトした。

OSP セメントに PS を添加することで、崩壊度の減少や硬化度の増大をもたらした物性の改善が認められた。PS-OSP を浸漬した外液は、浸漬直後からアルカリ側へシフトすることが確認され、ポリスチレンを添加しても OSP セメントの特性は保持されていた。

歯根膜細胞・骨芽細胞様細胞に対する新規バイオガラス配合シーラーの生体親和性

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

○鷲尾絢子, 吉居慎二, 市丸-末松美希, 諸富孝彦, 北村知昭

Biocompatibility of Newly Developed Bioactive Glass Sealer on Periodontal Ligament Cells and Osteoblast-like Cells

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

○WASHIO Ayako, YOSHII Shinji, ICHIMARU-SUEMATSU Miki, MOROTOMI Takahiko, KITAMURA Chiaki

【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・除去性に加え、根尖部歯周組織への高い生体親和性が根管充填後の理想的な根尖歯周組織の治癒を獲得する上で必要不可欠である。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, 144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の根尖歯周組織創傷治癒への影響を明らかにすることを目的として、NSY-222とともに既存の無機系シーラーを対象として、各シーラーが歯根膜細胞株と骨芽細胞様細胞株の細胞生存能と遊走能に及ぼす影響について比較検討した。

【材料および方法】

Transwellの下層wellに歯根膜細胞（HPDLC, 九州大学 前田英史先生より供与）と骨芽細胞様細胞（MC3T3-E1）を播種・培養後に既存の無機系シーラー（EndoSequence BC sealer, MTA フィラベックス）及びNSY-222を填入したinsertを挿入し、トリパンブルー染色により細胞生存能を、細胞遊走試験により細胞遊走能を測定した。

【結果】

細胞生存試験において、両細胞ともにMTA フィラベックス刺激群では細胞生存数は著しく低下したが、EndoSequence BC sealer 及びNSY-222刺激群では経時的に細胞生存数は増加した。細胞遊走試験において、HPDLCはMTA フィラベックス及びEndoSequence BC sealer刺激群では生存細胞が認められず細胞遊走能は測定できなかった。NSY-222刺激群では細胞遊走は認められるもののcontrolと比較して抑制されていた。MC3T3-E1はMTA フィラベックス刺激群では細胞は生存しているものの細胞遊走は認められなかった。EndoSequence BC sealer 及びNSY-222刺激群では細胞遊走は認められるもののcontrolと比較して抑制されていたが、HPDLCより遊走されていた。

【考察】

NSY-222は歯根膜細胞および骨芽細胞様細胞の生存能には影響しないこと、および両細胞の遊走能に影響を与えるものの阻害はしないことが明らかとなった。よって、NSY-222は生体親和性が高いと言われているEndoSequence BC sealerより生体親和性を有す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生体親和性を有するシーラーとして期待される。

新規バイオガラス配合根管充填用シーラーの根尖歯周組織に対する影響

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, 花田可緒理, 鷲尾絢子, 吉居慎二, 北村知昭

Effect of Newly-Developed Bioactive Glass Root Canal Sealer on Periapical tissue

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

○MOROTOMI Takahiko, HANADA Kaori, WASHIO Ayako, YOSHII Shinji, KITAMURA Chiaki

【目的】

根管充填に広く使用される根管充填用シーラー（根充用シーラー）に求められる性質は気密性や封鎖性，操作性，接着性，エックス線透過性，安定性，除去の容易性，そして組織親和性を有することなど多数が挙げられるが，現時点で全ての所用性質を高次元で満たす製品が存在するとは言えない．我々は骨伝導性や高い組織親和性を持ち骨補填材料等に用いられているバイオガラス（生体活性ガラス：Bioactive glass）の優れた性質に着目し，国内企業と共に開発したバイオガラス配合根充シーラーNSY-222の*in vitro*研究による性能評価につき，これまでの本学会学術大会にて報告してきた（第142回および第144回日本歯科保存学会学術大会）．また第145回日本歯科保存学会学術大会では，NSY-222を抜髄後のラット下顎第一臼歯根管内に填塞後1週間で組織学的に評価し，良好な生体親和性について報告した．今回，術後3週間での症例についても同様に評価を行い酸化亜鉛非ユージノール系根充シーラーとの比較検討した結果を報告する．

【材料および方法】

本研究は九州歯科大学動物倫理委員会の承認を得て行った（実験承認番号：14-016）．雄性7週齢のWistar系SPFラットに全身麻酔を施し専用固定台に固定後，スチールラウンドバー（#1/2）を用いてラット下顎左右第一臼歯の髓室開拓を行い，K-fileを用いて遠心根を抜髄後，#25まで根管形成を行った．続いて0.1%アドレナリン含浸ペーパーポイントを入管内に挿入して止血し，スメアクリン（日本歯科薬品）と歯科用アンチホルミン（日本歯科薬品）にて交互洗浄後，滅菌生理食塩水にて洗浄した．根管内はペーパーポイントで乾燥し，NSY-222および比較群として酸化亜鉛非ユージノール系根充シーラーを左右無作為に填塞した．髓室はSuper-Bond C&B（サンメディカル）にて封鎖し，咬合による影響を避けるため対合歯を削合した．処置後の実験動物には粉末飼料と水とを自由に与え，術後1週および3週目に全身麻酔下で灌流固定（4%パラホルムアルデヒド/PBS）を行った後に下顎骨を摘出し，再度4%パラホルムアルデヒド/PBSにより浸漬固定を行った．Morse's法により脱灰を行い通法通りにパラフィン包埋後，6 μm厚の連続切片を作成した．切片はヘマトキシリン-エオジン染色を施した後，光学顕微鏡を用いて観察した．

【結果】

術後1週間において，NSY-222填塞群では根尖周囲組織に軽度の炎症性細胞の浸潤が確認された．術後3週間目では，適切な作業長まで根管形成がなされた症例では炎症細胞の浸潤は消失するか，存在するものであっても僅かであった．また，根尖付近に石灰化組織様の構造物が認められる症例も存在した．一方，根管形成時に根尖孔外までK-fileによる機械的刺激を加えた症例では，炎症反応が継続していた．

【考察】

本研究の結果よりバイオガラス配合根充シーラーであるNSY-222は，臨床上高頻度で使用される既存の材料である酸化亜鉛非ユージノール系根充シーラーと比較しても，同等以上の組織親和性を示した．またNSY-222は根尖孔付近の硬組織形成を誘導し，根尖孔の閉鎖を促進する可能性が示された．以上の結果から，NSY-222は動物実験系においても根充シーラーとしての良好な性質を有することが示唆された．

【結論】

新規バイオガラス配合根管充填用シーラーNSY-222の生体親和性と有用性が示唆された．

MTA 含有根管充填用シーラーの根尖封鎖性に関する研究

神奈川県立歯科大学 大学院歯学研究科 歯髄生物学講座
○三輪知志、下島かおり、武藤徳子、石井信之

Comparison of Apical Sealing Ability of Calcium-Silicate-Based Root Canal Sealers

Department of Pulp Biology and Endodontics, Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University
○MIWA Tomoyuki, SHIMOJIMA Kaori, MUTO Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【研究目的】

近年、Mineral Trioxide Aggregate (MTA)を基剤とした根管充填用シーラーが開発され、欧米を中心に臨床応用されている。国内の保険診療において、MTA は直接覆髄の使用に限局されているが、国外では歯内療法専門医を中心に穿孔部封鎖、歯根破折等の偶発事故、および根尖部逆根管充填など広範囲に使用され、その臨床成績は極めて良好であることが報告されている。本研究は MTA を基剤とした根管充填用シーラーをシングルポイント根管充填と加熱垂直加圧根管充填に使用し、根管充填後の根尖封鎖性について比較検討することを目的とした。

【材料および方法】

MTA 基剤の根管充填用シーラーは、MTA-Fillapex (Angelus, Londrina,Bragil)、Endoseal (Maruchi, Wonju, Korea)を選択し、対照群として AH plus jet (Dentsply Shirona)を供試した。供試根管模型は、Jタイプ規格根管模型サーマフィルレーニング・ブロック・(Dentsply Shirona) 72 根管を使用した。供試根管をそれぞれ 12 根管ずつの 6 群に分類した。根管充填法はシングルポイント根管充填 (ガッタパーチャコーン 04, # 30 (Dentsply Shirona))と加熱垂直加圧根管充填 (ガッタコア (# 25 Dentsply Shirona) +Thermafil (Dentsply Shirona)) を行った。根管充填用シーラーをペーパーポイントで根管壁に塗布後、各種根管充填を行った。根管充填後、根管模型は 37℃、湿度 100% の恒温槽に 1 週間保存した。

- 1 群：MTA-Fillapex & シングルポイント根管充填 2 群：MTA-Fillapex & 加熱垂直加圧根管充填
3 群：Endoseal & シングルポイント根管充填 4 群：Endoseal & 加熱垂直加圧根管充填
5 群：AH plus jet & シングルポイント根管充填 6 群：AH plus jet & 加熱垂直加圧根管充填

根尖封鎖性の測定は、根管充填後の根管模型根尖孔部を残して模型根面部全周をネイル・バーニッシュで塗布した。すべての試料は 37℃、湿性条件化でメチレンブルー溶液に浸漬し 72 時間経過後に試料を溶液中から取り出し、根尖孔からの色素浸透距離を実体顕微鏡 Olympus SZX16 およびデジタルカメラ DP71 を使用し、PC 画面上で計測した。根尖封鎖性の根尖孔からの色素浸透距離測定結果は、一元配置分散分析後、Scheffe's F の多重比較検定(p<0.05)を行った。

【成績および考察】

各実験群の色素浸透距離を実体顕微鏡で測定した結果、以下の結果が得られた。

Single GPP			Thermafil		
AH plus	Endoseal	Fillapex	AH plus	Endoseal	Fillapex
0.00±0.00	1.34±0.49	0.44±0.18	0.00±0.00	1.69±0.56	0.55±0.15
Mean±SD (mm)					

MTA を基剤とした根管充填用シーラー MTA-Fillapex と Endoseal を側方加圧根管充填と加熱垂直加圧根管充填に使用し、根管充填後の根尖封鎖性について比較検討した結果、MTA-Fillapex が Endoseal と比較して根尖封鎖性は優れていた。また、MTA-Fillapex と Endoseal は根管充填法の相違による根尖封鎖性に有意差は認められなかった。

試作リン酸化プルラン含有 MTA 根管充填用シーラーによる根尖孔への硬組織形成

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

○河野通俊¹, 大寫理紗¹, 熊谷広道¹, 佐藤賢人¹, 工藤 愛¹, 中谷充宣¹,
前田良子¹, 大歳祐生¹, 下地伸司¹, 菅谷 勉¹, 吉田靖弘²

Hard tissue formation into apical foramen with trial 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

○Michitoshi Kouno¹, Risa Oshima¹, Hiromiti Kumagai¹, Takahito Sato¹, Megumi Kudo¹, Mitsunori Nakatani¹,
Nagako Maeda¹, Yuuki Ootoshi¹, Shinji Shimoji¹, Tsutomu Sugaya¹ and Yasuhiro Yoshida²

【研究目的】

Mineral trioxide aggregate (MTA) は抗菌性や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、歯質と接着せず操作性も悪いため根管充填への応用は困難である。そこで、ハイドロキシアパタイトに接着するリン酸化プルランを MTA に添加したシーラーを試作して検討を行ってきた。これまでに、試作シーラーは約 pH12 の高アルカリ性が持続すること、象牙質面に水分が存在していても高い封鎖性が得られることなどを報告してきた。本研究の目的は試作リン酸化プルラン含有 MTA 根管充填用シーラーのカルシウムイオン溶出量を計測し、血清に浸漬した場合の析出物を解析するとともに、イヌ抜髄根管を根管充填した後の根尖孔へのセメント質様硬組織の形成状態を組織学的に評価することである。

【材料および方法】

まず、試作リン酸化プルラン含有 MTA シーラー (ジーシー), AH プラス (デンツプライ), MTA フィラベックス (アンジェラス), NEX MTA (ジーシー) を硬化させ、脱イオン水に浸漬してカルシウムイオン溶出量を 12 週間計測した。さらに、ウシ胎児血清に 37°C で 24 時間浸漬した後、硬化体表面の析出物を X 線回折にて解析した。

次にビーグル犬前臼歯の抜髄を以下のように行った。まず、0.02 テーパー K ファイル (ジーシー) を根管内に挿入してデンタルエックス線撮影を行って、根尖孔への穿通を確認するとともに作業長を決定した。K ファイルで根管形成後、根管を超音波洗浄し、10% 次亜塩素酸ナトリウム溶液 (ネオクリナー, ネオ製薬) で洗浄、さらに注射用水で洗浄してペーパーポイントで乾燥した。その後試作シーラー, AH プラス, MTA フィラベックスのいずれかとガッタパーチャポイント (ジーシー) を用いて側方加圧充填法で根管充填を行った。窩洞をフジ XI GP (ジーシー) で充填し、デンタルエックス線写真撮影を行って根管充填状態を確認した。根管充填後 2, 6 週で、脱灰薄切標本を作製して、根尖歯周組織の炎症状態と根尖孔への硬組織形成状態を評価した。なお、本実験は北海道大学動物実験委員会承認 (14-0148) を得て行った。

【結果と考察】

カルシウムイオン溶出量は NEX MTA, 試作シーラー, MTA フィラベックスの順で高く、いずれも観察期間中溶出が持続したが、AH プラスでは検出されなかった。また、各硬化体を血清に浸漬後、AH プラス表面には析出物が検出できなかったが、他のすべての材料で炭酸カルシウムの析出が確認された。一方、根管充填後の根尖部歯周組織には、いずれのシーラーを用いた場合も炎症性細胞の浸潤はほとんどみられなかった。また、根尖孔部へのセメント質様硬組織の形成は、試作シーラーでは多数観察されたのに対して、AH プラスと MTA フィラベックスではほとんどみられなかった。これは、AH プラスはカルシウム溶出がなく析出物がなかったこと、MTA フィラベックスより試作シーラーの方が初期のカルシウム溶出量が多いためと考えられた。

【結論】

リン酸化プルラン含有 MTA 根管充填用シーラーは AH プラスや MTA フィラベックスに比較して、根尖孔へのセメント質様硬組織形成能が高いことが明らかとなった。

根管充填シーラーの違いによる術後疼痛発生頻度の比較検討

¹九州歯科大学口腔保存治療学分野, ²鞍手北歯科医院

○吉居慎二¹, 西藤法子¹, 諸富孝彦¹, 浦田真梨子¹, 鷺尾絢子¹, 宮下桂子¹, 松山篤史¹,
大塚麻衣¹, 藤元政考¹, 花田可緒理¹, 高倉那奈¹, 宮原宏武¹, 西野宇信², 北村知昭¹

Comparison of the Incidence of Postoperative Pain Caused by the Difference of Root Canal Filling Sealers

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

²Kurate Kita Dental Clinic

○YOSHII Shinji¹, SAITO Noriko¹, MOROTOMI Takahiko¹, URATA Mariko¹, WASHIO Ayako¹, MIYASHITA Keiko¹,
MATSUYAMA Atsushi¹, OTSUKA Mai¹, FUJIMOTO Masataka¹, HANADA Kaori¹, TAKAKURA Nana¹,
MIYAHARA Hirotake¹, NISHINO Takanobu², KITAMURA Chiaki¹

【背景】

根管充填は、根管拡大・形成、洗浄、および貼薬のプロセスを経て無菌的となった根管に細菌や各種の有害物質が侵入・貯留し根尖歯周組織を刺激する事のないよう、根管を生体に無害な物質で緊密に封鎖する事を目的として行われる。その際、一般臨床ではガッタパーチャポイントと併用して根管充填シーラーを用いる。根管充填シーラーには様々な種類のものがあるが、その使い分けに関しては臨床医の判断によるところが大きく、予後に関する臨床的な比較検討も行われていない。今回の研究では、我々が作成した歯内治療用クリティカルパス（矢野ら、日本歯科保存学会雑誌 2004）をベースとした感染根管治療後、現在の歯科医療で使用頻度が高い非ユージノール系シーラーあるいはレジン系シーラーを用いて根管充填まで至った歯に対してランダム化比較試験を行うことにより、根管充填後の疼痛評価を行うとともに術後性疼痛の発症要因を分析した。

【研究方法】

1. 被験者

九州歯科大学附属病院保存治療科を受診し、大白歯部において感染根管処置後に根管充填を行う患者の中で、本研究の主旨に同意の得られた患者を対象とした。なお、本研究は九州歯科大学研究倫理委員会の承認を得て実施された（承認番号：14-40）。

2. 治療法

根管充填の際に非ユージノール系シーラーとレジン系シーラーのどちらかをランダムにそれぞれの患者に割り当てた。根管充填前の処置（根管形成、EDTA 溶液・次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いた超音波による洗浄、水酸化カルシウム製剤を主体とする貼薬剤の選択）は、文献を基に術者間で統一した歯内治療用クリティカルパスに沿って実施した。

3. データ収集および解析方法

患者の来院ごとに臨床症状ならび個々の痛みに対する患者の主観を Wong-Baker FACES Pain Rating Scale (WBFP-R-scale) を用いて確認し、臨床データを記録・収集した。収集したデータを統計解析ソフト (SPSS: IBM 社製) を用いて解析し、根管充填シーラーの違いと術後疼痛発現頻度の相関関係を検討した。

【結果】

根管充填直後および1週間後には術後疼痛が発生した少数の症例が存在したが、2週間後には術後疼痛は消失していた。また、使用した根管充填シーラーの違いによって、根管充填直後から2週間後までの術後疼痛の発生頻度に差は認められなかった。一方、性差によって術後痛の発生頻度に影響が認められた。

【考察及び結論】

今回の結果は、根管充填シーラーの違いのみが術後疼痛を誘発する要因ではないことを示している。今後も症例数を増やしながら解析を続け、術後痛発生の要因の解析ならびに治癒率の差を検討していく予定である。

新規ケイ酸カルシウム系セメントの開発 (第3報)

—露光によるMTAセメントの変色について—

- 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¹, 松浦理太郎¹, 榊原さや夏², 遠藤一彦³

The development of new calcium silicate-based cements (Part3)

—Color change of the MTA cement by the light exposure—

Yamamoto Precious Metal Co., Ltd.¹, Division of Pediatric Dentistry², Division of Biomaterials and Bioengineering³,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido
○Takahiro Kato¹, Ritaro Matsuura¹, Sayaka Sakakibara², Kazuhiko Endo³

【目的】

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ている。

しかし, MTA セメントは, 経時的に黒く変色するという問題が報告されている¹⁾。この原因としては, 止血が不十分なことによる血液の付着や, 酸素遮断条件下における紫外線などの露光によって, 酸化ビスマスが金属ビスマスに還元されて黒く変色 (Bi₂O₃ (黄色) → Bi (黒色)) することが挙げられている¹⁾。この露光による黒変を防ぐために X 線造影材として, 酸化ビスマスの代わりに, 酸化ジルコニウムを添加した MTA セメントが開発されている。前々報²⁾では, 白色ポルトランドセメントに対してジルコニア微粒子と球状シリカ微粒子を添加した試作 MTA セメントについて, 練和時の水分率が硬化時間に与える影響を検証し, 水分率を少なくするほど硬化時間が短縮化されることを報告した。また, 前報³⁾では, 水分率が MTA セメントの圧縮強さに大きく影響することについて報告した。本報では, 露光を原因とした試作 MTA セメントの黒変について検討を行った。

【材料および方法】

白色ポルトランドセメントに対して, 酸化ジルコニウムもしくは, 酸化ビスマスを 20 mass%混合した 2 種類の試作 MTA セメントを作製し, 水分率 20 mass%で練和したものをシリコン製の型に充填し, 温度 37 °C, 相対湿度 100%の環境下で静置し, 硬化 (0, 0.5, 1, 2, 5, 24, 168 h) させ, 酸素を遮断するため, 試作 MTA セメントの上にグリセリンを塗布した。歯科診療用ライト (ルシエライト DL-720S, タカラベルモント社製), LED 照射器 (G-ライトブリマII, ジーシー社製), 太陽光 (直射日光) および紫外線ランプ (MHF-0100LR, モリテックス社製) を用いてそれぞれ, 10, 30, 60, 120, 300, 600, 1200, 1800 秒間照射した。

【結果および考察】

Fig には, 練和直後 (0 h) と硬化後 (24 h) の試作 MTA セメントについて, コンポジットレジンの光重合や日常生活での露光条件などを考慮して LED 光照射 60 秒間, 太陽光 600 秒間の露光後の写真を示す。

Fig に示すようにジルコニアを 20 mass%添加した試作 MTA セメントは, すべての条件で黒変は見られなかった。しかし, 酸化ビスマスを 20 mass%添加した試作 MTA セメントは, 露光により黒変が確認された。黒変は, 練和直後 (0 h) よりも硬化後 (24 h) の方が小さくなる傾向が確認された。このことから, 酸化ビスマスを含有する MTA セメントについては, 十分に硬化するまで露光を防ぐことで黒変を低減する可能性が示唆された。また, 一定の露光時間で比較すると, 歯科診療用ライト < 太陽光 < 紫外線ランプ < LED 照射器の順に黒変が大きくなった。

【参考文献】

- 1) Journal of Endodontics 2015 41(5); P737-741
- 2) 日本歯科保存学会 春季学術大会 2016; P114
- 3) 日本歯科保存学会 秋季学術大会 2016; P129

	Setting time (h)	Irradiation time (sec)		
		0	60 (LED light)	600 (Sun light)
Zirconium oxide (20 mass%)	0			
	24			
Bismuth oxide (20 mass%)	0			
	24			

Fig. Color change of the two experimental MTA cements after exposure to LED or sun light at different setting time.

粘土添加ケイ酸カルシウムセメントの水練和物及び硬化体の物性評価

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¹ 歯髄生物学分野、² 先端材料評価学分野
○姜 東勲^{1,2}、和田 敬広²、宇尾 基弘²、興地 隆史¹

Evaluation of mechanical and rheological properties of the clay added calcium silicate cement

¹Department of Pulp Biology and Endodontics, ²Advanced Biomaterials Department,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
○Donghoon Kang^{1,2}, Takahiro Wada², Motohiro Uo², Takashi Okiji¹

【研究目的】 Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は、優れた封鎖性や生体親和性から、穿孔部封鎖、逆根管充填及び直接覆髄などに応用されている。しかし、MTA は天然鉱物に由来するため、重金属などを含有し、細胞毒性や歯の変色などが懸念される。近年では、MTA の有効成分であるケイ酸カルシウムを合成することで、改良が試みられているが、その水練和物は、流動特性が不良で術野への移送や充填操作に難点があるため、練和物の流動特性の改善が要求されている。一方、建築や塗料分野では、粘土を応用してセメント練和物やペイントの流動性及び粘性を改善し、作業性の改善を図っている。ケイ酸カルシウム練和物でも同様に、粘土応用による流動特性及び操作性の改善が期待できる。本研究では、合成ケイ酸カルシウム粉末に粘土を添加し、その水練和物の流動特性を評価し、粘土添加による硬化体への影響を調べることにした。

【材料及び方法】 ケイ酸三カルシウム粉末 (TCS, 日本歯科薬品)、粘土 (ベントナイト; Bt, かねあつ釉薬) を用いた。TCS 粉末 (粘土非添加)、および全粉末重量に対して粘土を 10wt%、20wt%あるいは 30wt% 添加した TCS (それぞれ Bt10、Bt20、Bt30) を作製し、実験に供した。

練和物の流動特性を評価するために、二種類の方法で評価を行った。練和物の加圧による広がり試験では、各粉末を蒸留水で練和し (混水比=0.6)、その水練和物約 0.06g をスライドガラスにのせ、同寸法のスライドガラスに挟み、室温 (24℃) で 1kg 荷重を 1 分間かけ、練和物の広がりを評価した。また、シリンジ吐出性試験では、混水比=0.5 で蒸留水による練和物をシリンジ (1ml, SS-01T, テルモ) に入れ、小型卓上試験機 (EZ-LX, 島津製作所) を用いて、試験速度 15mm/min でピストンを押し下し、荷重変化と全練和物重量に対する吐出された練和物重量の比から、練和物のシリンジ吐出性を評価した。合わせて粘土添加した硬化体の機械的特性を、圧縮試験から評価した。内径 4mm、高さ 6mm の分離可能なステンレススチール製金型を用いて圧縮試験片を作成した (混水比=0.5)。試験片を 37℃ の蒸留水に浸漬し、1 日後、28 日後の圧縮強度を測定した。強度測定には小型卓上試験機 (EZ-LX, 島津製作所) を用いた (試験速度 0.75mm/min)。

統計分析には、一元配置分析を行い ($p < 0.05$)、多重比較検定法として Tukey-Kramer 検定を用いた。

【結果】 加圧による練和物の広がり、粘土 (ベントナイト) 添加によりその増大が認められ、コントロール (TCS) に対し、Bt10 では約 108%、Bt20 では約 127%、Bt30 では約 164% の広がりの上昇をみせた。シリンジ吐出性も、粘土添加によりその向上がみられ、コントロール (TCS) では吐出不可能 (吐出性 0%) であったものが、Bt10 ではシリンジに充填した練和物総重量の約 18%、Bt20 では約 33%、Bt30 では約 64% の練和物が、シリンジから吐出可能になった。したがって、粘土添加量が増えるにつれ、加圧による練和物の広がりやシリンジ吐出性の向上が認められた。また、1 日後圧縮強度は、Bt10 が TCS より有意に高かったが、それ以外では、各グループ間の有意差が認められなかった。28 日後圧縮強度は、各グループ間で有意差が認められなかった。

【考察】 10wt% の粘土添加により、圧縮強度が改善し、あわせて流動特性の改善が認められた。粘土はセメントの硬化反応への寄与はないものの、練和物の流動性向上により圧縮試験片の緻密性が改善され、圧縮強度が向上したものと推測される。

【結論】 適切な量の粘土添加により、圧縮強度を低下させることなく、ケイ酸カルシウムの水練和物の流動性が改善可能であることが示唆された。

S-PRG フィラー含有根管充填用シーラーの骨形成に対するストロンチウムの影響

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 of strontium 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

【緒言】近年開発された S-PRG フィラーは現在、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機能を有している。第 143 回、第 144 回日本歯科保存学会学術大会において、我々は S-PRG フィラー含有根管充填用シーラーをラット脛骨に埋入することにより骨形成が誘導される事を報告してきた。そこで、S-PRG フィラーから放出されるストロンチウムイオンが骨形成に対し影響を与えていると考え、ストロンチウムイオン徐放量を調整した S-PRG フィラー含有根管充填用シーラーをラット脛骨に移植し、組織学的観察を行い、その影響について検討した。

【材料および方法】実験材料は従来通りの S-PRG フィラー含有根管充填用シーラー（松風、以下 SP100）、従来型と比較しストロンチウムイオン徐放量を 0 にしたもの（SP0）、及び対照群としてキャナルス-N（昭和薬品、以下 CN）を用いた。それぞれの実験材料はメーカー指定の粉液比にて練和後、直径約 1mm の球形に成形を行い、完全硬化させた。実験動物には 6 週齢の雌 SD 系ラット 12 匹を使用し、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。全身麻酔下にてラット脛骨に実験材料を埋入し、1 カ月後に脛骨の摘出を行った。摘出した脛骨は埋入したシーラーを中心に長さ約 10mm の大きさにダイヤモンドディスクを用いてトリミングを行い、通法に従い固定及び脱灰後にパラフィン包埋し長軸方向に厚さ 4 μ m の連続切片を作製し、Hematoxylin-Eosin 染色を行い、組織学的に観察を行った。

【結果および考察】SP100 では脛骨内に埋入したシーラーの表層周囲に新たに骨形成が誘導されている所見が認められた。新たに形成された骨表層には骨芽細胞と思われる細胞も認められ、骨内に骨細胞の取り込みも認められた。シーラー周囲は多核細胞及び線維性結合組織により被包化されていたが、一部は被包化されず形成された骨組織と直接接する所見を認められた。CN では全周に渡ってシーラー粒子を取り囲むように強い炎症性細胞浸潤を含む線維性結合組織が認められた。SP のように被包化されたシーラー粒子に接するような骨形成や被包化されずに直接接する部位は認められなかった。SP0 では SP100 と同様に多核細胞及び線維性結合組織により被包化されていたが、骨形成量は SP100 と比較して少なかった。今回の結果では SP0 で骨形成は僅かながら誘導はされていたが、SP100 のような顕著な骨形成誘導を思わせる所見は認められなかった。ストロンチウムには過去の研究においても骨形成促進作用を有することが報告されており、今回の結果からもその影響が考えられた。また、S-PRG フィラーから放出されるイオンの中には骨形成に関与するとされているケイ酸イオンも含まれているが、組織学的観察にて SP100 と SP0 では骨形成誘導に差を認めたことから、ストロンチウムイオンは S-PRG フィラー含有根管充填用シーラーによる骨形成誘導に影響を与えている可能性が示唆された。

【結論】S-PRG フィラー含有根管充填用シーラーから放出されるストロンチウムイオンは骨形成誘導に影響を与えている可能性が示唆された。

リチウムイオン含有 S-PRG セメントの直接覆髄剤としての応用

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)

○マナーヒル・アリ、岡本 基岐、小道 俊吾、高橋 雄介、伊藤 善博、林 美加子

Application of S-PRG cement containing Li-ion as a direct pulp capping material

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

○Manahil.S.Ali, Okamoto.Motoki, Komichi.Shungo, Takahashi.Yusuke, Ito.Yoshihiro, Hayashi.Mikako

[Introduction]

The ultimate goal of direct pulp capping is to induce a tertiary dentin that has similar characteristics to the primary dentin using bioactive materials. S-PRG fillers have been reported that can release 6 kinds of ions including: F^- , Na^{+1} , Sr^{+2} , Al^{+3} , SiO_3^{-2} and BO_3^{-3} and they showed various effects like mineralization as well as anti-bacterial activity. Our previous study showed that S-PRG cement promoted tertiary dentinogenesis in rat molars when it was applied as a direct pulp capping material (Okamoto.M et al, Annual Meeting of the Japanese Society of Conservative Dentistry, 2014). On the other hand, another study reported that Li^+ can facilitate tertiary dentin formation by activating Wnt/ β -catenin pathway (Ishimoto.K et al, *J. Biol. Chem*, 2015). Our hypothesis in the present study states that incorporation of Li^+ into S-PRG cement may have synergistic effect in promotion of the healing process of wounded dental pulp tissue.

[Objectives]

The aim of this study is to evaluate the efficiency of a novel pulp capping material by incorporating Li^+ into S-PRG fillers in exposed pulp of rats *in vivo*.

[Materials and Methods]

This study was conducted under the approval of the Animal Care and Use Committee in Osaka University Graduate School Of Dentistry (approval No. 23-005-1). Silicate based cement test materials containing S-PRG fillers and $LiCl$ liquids in different concentrations (10, 100 and 1000 mM) were prepared (SHOFU).

Pulp exposure was prepared using sterile round burs (#1, Dentsply) using first molars of twelve Wistar rats under general anesthesia, and equipped with rubber dam (YDM). Then, the test cement was placed over the exposed pulp. MTA was used as a control. The cavity was sealed with glass ionomer cement (Fuji IXGP GC). After 4 weeks, the rats were sacrificed and the obtained maxillae were observed with micro CT (R-mCT2, Rigaku) to evaluate the quantity and quality of the newly formed tertiary dentin. For histological evaluation, they were fixed in 4% paraformaldehyde and decalcification were done using acetic acid. Then, the sections were stained by HE staining and observed by an optical microscope to assess the quality of the induced tertiary dentin (Nikon Eclipse TS100).

[Results]

Micro CT images showed complete dense tertiary dentin formation under the exposed areas in samples containing 10 or 100 mM of $LiCl$ incorporated into S-PRG cement. Histological HE stained sections showed newly thick formed tertiary dentin continuous with primary dentin. The quality and quantity of tertiary dentin formed by S-PRG cement containing Li^+ was similar to that formed by MTA.

[Conclusion]

Li^+ contained S-PRG cement promoted tertiary dentin formation in injured dental pulps. This novel combination showed potential to be a promised pulp capping material in clinical practice. Further studies to clarify the mechanism of actions are needed.

[Acknowledgements]

This study was partly supported by grants from JSPS KAKENHI (16K20453).

裂開状骨欠損が垂直歯根破折抵抗性に及ぼす影響

北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室
○中谷充宣, 槌本愛巳, 菅谷 勉

Influence of dehiscence bone defect on the resistance of vertical root fracture
Department of Periodontology and Endodontology, Hokkaido University Graduate School of Dental
Medicine
○Mitsunori NAKATANI, Ami TSUCHIMOTO, Tsutomu SUGAYA

【目的】

垂直性歯根破折の原因は多様であり、そのメカニズムについては十分に明らかになっていないのが現状である。垂直歯根破折が頬舌側面に生じている場合、頬側歯槽骨が裂開状に欠損している症例に遭遇することが多く、歯根破折の要因の一つとして歯槽骨形態の関与が考えられる。そこで本実験の目的は、裂開状骨欠損が破折抵抗性に及ぼす影響を明らかにすることである。

【材料と方法】

ブタ下顎骨(北海道畜産公社道央事業所より購入)の第1~4前臼歯をルートセパレーション後、歯根長を約11mmとして根管拡大し、歯頸部歯槽骨を成形して骨レベルを約10mmとした。さらに実験群には1歯面に深さ5mmの裂開状骨欠損を作製し、対照群には骨欠損は作製しなかった。次に、万能荷重試験機を用いて、根尖方向にヘッドスピード2mm/sで500Nの荷重を加えた。荷重回数0、5、10、以後10回毎または荷重中に大きく変位した場合に、マイクロスコプで根管壁と歯根上面および外側面を観察し、破折線が認められるまでに要した荷重回数を測定した。次に、骨と歯根を精密切断機で歯軸に垂直方向に1mm間隔で切断し、断面を光学顕微鏡観察して歯根膜の断裂がみられなかった試料のみを計測対象とした。計測は、根管壁の最も厚い部位と薄い部位の厚み、破折が生じた部位の厚みを計測するとともに、破折の生じた部位を頬舌側、近遠心側、その他の3群に、破折線の走行状態を完全破折、内側破折、外側破折の3群に分類した。さらに一部の標本はSEMで破折線の走行状態を観察した。

【結果と考察】

根管壁に破折線が確認できるまでの荷重回数は、実験群が対照群に比較して有意(Mann-Whitney U test, $p < 0.05$)に少なかった。また、破折線が生じた部位を分類した結果、歯根膜が断裂のない試料では、実験群が頬舌側面での破折が多かったのに対し、対照群には一定の傾向はみられず、両群間に有意差が認められた。歯根に根尖方向の荷重が加わると、歯根膜は歯根の沈下に抵抗して歯根を上外方に牽引する力が働き、それによって歯根を外側方向に引っ張る力が発生すると考えられるが、歯槽骨に欠損を作成した実験群では、歯根膜の牽引力が骨の残存する近遠心側に集中し、これにより骨欠損のある頬舌側もしくはその対側に亀裂が生じやすくなる可能性が考えられた。一方で、破折線は根管壁から生じてセメント質外表面に達していないものが両群で多数観察されたが、セメント質外表面から生じて根管壁に達していないものは実験群での1例のみであった。加えて、SEM観察の結果では、外側破折の試料では連続性がない微小な複数の破折線が多方向に走行しており、一部には微細な亀裂が多数みられたが、内側破折や完全破折の試料では破折線が直線的に走行しているものが多かった。歯根膜が断裂し歯根と歯槽骨の結合が失われた場合は、歯根膜断裂の無かった場合と比較して、根尖方向への荷重は歯根膜で緩衝される一方、歯根が歯槽骨に圧迫されて内側への圧縮力が働くため、破折線の走行状態に差が生じたのではないかと考えられた。

【結論】

裂開状骨欠損が存在すると垂直歯根破折に対する抵抗性が低下するとともに、骨欠損面またはその対側の根面に歯根破折が多発する可能性が示唆された。

日本人における手術用顕微鏡を用いたイスマスを有する症例における 歯根端切除術の短期成功率の調査

東京歯科大学 歯科保存学講座,

○関谷 紗世、宮吉 教仁、浅井知宏、堀内 章、山田 雅司、
藤井 理恵、森永一喜、村松 敬、古澤 成博

Outcomes of short-term follow-up cases having isthmus after endodontic micro surgery in Japanese patients

Department of Endodontics and Clinical biology, Tokyo Dental College

○SEKIYA Sayo, MIYAYOSHI Norihito, ASAI Tomohiro, HORIUCHI Akira, YAMADA Masashi,
FUJII Rie, MORINAGA Kazuki, MURAMATSU Takashi, FURUSAWA Masahiro

[目 的] 歯科用顕微鏡を用いた現代の歯根端切除術（エンドドンティックマイクロサージェリー：EMS）の予後は、従来の歯根端切除術（トラディショナルルートサージェリー：TRS）と比較して高い成功率を示すことが報告されている。そしてその成功には肉眼での確認が難しい根管やイスマスへの対応が影響するとも報告されている。今回我々は日本人の患者を対象に EMS 対象患者の内でのイスマスの発現率とその分類、またその処置歯の成功率を調査した。

[方 法] データは2013年3月から2016年3月までに受診した東京歯科大学千葉病院保存科の患者から集められた。独立した歯内療法分野由来の病変を選択して調査した。本研究は東京歯科大学倫理委員会に基づき同意が得られたものを対象とした。術前にCBCTを撮影してイスマスの存在を調査して分類を行った。全体で50人の53本の歯が含まれて一人の術者にて同一の術式で行われた。イスマスが観察された症例においては全て同一の術式で拡大を行った。治癒状態の評価は1年後に、臨床症状とエックス線写真で行った。症例の評価は歯内療法専門医と保存学会認定医の計3人でRadらの基準にて評価した。評価が分かれる場合は同一の評価が行われるまで討論した。その後成功率を算出した。得られた数値はFisher's exact testにて統計処理を行った。

[結 果] 施術した50人中41人(82%、46歯)がリコールに応じて受診した。臨床評価は全体でCOMPLETE HEALINGは76.1%(35/46)、INCOMPLETE HEALINGは17.4%(8/46)、UNCERTAIN HEALINGは2.2%(1/46)、UNSATISFACTORY HEALINGは4.3%(2/46)で、EMSの成功率は93.5%(43/46)であった。またイスマスは34.1%(14/41歯)で観察され、完全なイスマスは85.7%で、不完全なイスマスは14.2%であった。成功率は85.8%(12/14歯)であった。

[考 察]

短期（1-2年）経過においてのEMSを行った症例の成功率は93.4%と高く、過去の報告とも一致を示した。また、イスマスの拡大充填を行った症例においての短期成功率も85.8%と高く、逆根管充填時のイスマスの処置は有効であると考えられる。ただし微細な部位を拡大するために歯質強度の減弱などの不安要素も考えられるため、効率的な拡大法の検討や、長期における成功率の調査が必要であると考えられる。

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おける実態調査
-2014年度と2015年度の比較-

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

○稲本 京子、三輪 祐子、江幡 香里、江場 久哲、柴田 直樹、中田 和彦

Survey on new patients referred to the endodontic clinic of Aichi Gakuin University Dental Hospital
- Comparison of the finding of 2014 and 2015 -

Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○Kyoko Inamoto, Yuko Miwa, Kaori Ebata, Hisanori Eba, Naoki Shibata, 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、高次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。また近年、インターネットの普及により患者が医療情報を簡単に得ることができ、高度で質の高い歯科医療に対する需要は益々高まっている。このような傾向の中で、患者ニーズにあった医療を提供し、地域医療機関と円滑な病診連携を行っていくために、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、各種の医療情報を調査して、2014年度と2015年度の結果を比較し、その傾向を分析した。なお本研究は、愛知学院大学歯学部倫理委員会の承認（承認番号：412）を得ている。

【対象および方法】

2014年4月1日から2016年3月31日までの2年間のうちに、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1026名を対象とした。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】

2014年度と2015年度の調査結果は同様の傾向を示した。紹介患者の来院人数は、両年度とも約500名で、男女比は約3:7の割合で女性患者が多く、年齢構成は、30歳代と40歳代で全体の約50%を占めた。依頼部位は、上下顎第一および第二大臼歯が全体の約60%を占めた。臨床症状に関して、2014年度は27.2%、2015年度は33.3%の紹介状に症状の記載がなかった。紹介元で最も多く認められた臨床症状は、両年度とも「疼痛」であったが、「疼痛がある」と記載された紹介状のうち、2014年度は32.0%、2015年度は35.9%の紹介状に疼痛の具体的な性状についての記述がみられなかった。当院初診時での診査では、疼痛の性状の中で、両年度とも打診痛が最も多く（約57%）、次いで根尖部圧痛（約20%）であった。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。また、2014年度は31.2%、2015年度は33.8%の紹介状に、部位または病名の記載がなかった。部位および病名の記載のあった紹介状のうち、2014年度に25.7%、2015年度に29.2%に、紹介元と当科で診断名または診断部位の相違が認められた。紹介元で根管処置が困難な要因（根管閉鎖、根管内異物、穿孔等）があると診断され当院に紹介された患者は、両年度とも全体の3割程（2014年度：31.6%、2015年度：32.5%）であったが、そのうち6割弱（2014年度：52.8%、2015年度：58.9%）については、当科で実際に明確な原因が認められた。

【考察および結論】

今回の実態調査から、当科に期待されている役割は、精査と確定診断ならびに難症例への対応であることが判明した。2014年度と2015年度の結果に大きな差異はなく、今後もこの傾向は続くと思われる。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とした症例もあった一方、確実な齶蝕除去、隔壁形成、ラバーダム防湿の実施といった基本的事項を遵守した治療で十分対応が可能なものも多く認められた。その背景として、保険診療における根管処置の低点数も一要因と推測される。しかし、現代社会において求められる歯内治療を、安心、安全に提供していくためには、紹介元歯科医院に対して、当科での診療経過と結果の情報を確実にフィードバックし、卒後研修等を通じて、最新の機器・材料の情報のみならず、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。

失活した根未完成歯に対し Regenerative Endodontic Treatment を行った 4 症例

昭和大学歯学部歯科保存学講座歯内治療学部門
○高林正行、八幡祥生、鈴木規元

4 cases of Regenerative Endodontic Treatment for Necrotic Immature Permanent Teeth
Department of Conservative Dentistry, Division of Endodontology, Showa University School of Dentistry

○TAKABAYASHI Masayuki, YAHATA Yoshio and SUZUKI Noriyuki

【緒言】

われわれは、第 142 回日本歯科保存学会春季学術大会および日本歯科保存学会雑誌第 59 巻第 2 号において、失活した根未完成歯に対し AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure に基づいた Regenerative Endodontic Treatment (以下、RET とする) を行った症例を報告した。先の報告では下顎右側第二小臼歯の症例であったが、今回、昭和大学歯科病院歯内治療科において他の種々な部位に RET を行ったので報告する。提示した症例については、診療資料を個人が特定されない状態で研究発表に使用することについて本人および保護者に説明し、同意を得た。なお、本治療法は、昭和大学歯学部人を対象とする研究等に関する倫理委員会の承認を得ている(審査番号 2013-014)。

【方法】

全症例において、AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure に基づいた以下のプロトコールに従って治療を行った。初回治療時は、リドカイン塩酸塩・アドレナリン酒石酸水素塩注射剤 1.8 ml を用いて浸潤麻酔後にラバーダムを装着し、髄腔開拓を行った。根管壁に触れないよう、生理食塩水を用いて根管内の壊死組織を洗浄した。その後 1.5 %に希釈した NaOCl 20 ml で根管洗浄を行い、再度生理食塩水で洗浄した。根管内吸引およびペーパーポイントを用いて根管乾燥を行った後、水酸化カルシウムを貼薬し、水硬性セメントおよびグラスアイオノマーセメントを用いて二重仮封した。根管充填時は、メピバカイン塩酸塩注射液 1.8 ml を用いて浸潤麻酔後にラバーダム装着し、仮封材・貼薬剤の除去を行ったのち、EDTA 20 ml で根管洗浄を行い、根管内吸引およびペーパーポイントを用いて根管乾燥を行った。その後、直探針にて根尖部を刺激して出血を促し、根管内に血餅を誘導した。セメントエナメル境より約 3 mm 下の部位まで血餅が上がってきたところで、MTA セメントを約 3 mm の厚みで充填した。滅菌精製水にて湿らせた小綿球を静置し、水硬性セメントおよびグラスアイオノマーセメントを用いて二重仮封した。

【症例および経過】

1. 12 歳男性。患歯は中心結節の破折により感染を起こしたと考えられる下顎左側第二小臼歯。プロトコールに沿って根管充填まで行った。最終来院は根管充填後 20 ヶ月。臨床症状はなく、歯根に硬組織の添加を認め経過良好である。
2. 10 歳女性。患歯は外傷後の失活により感染を起こしたと考えられる上顎右側中切歯。プロトコールに沿って根管充填まで行った。最終来院は根管充填後 23 ヶ月。臨床症状はなく、根尖部透過像の改善を認め経過良好である。
3. 13 歳男性。患歯は口蓋側歯頸部の嵌入部から感染を起こしたと考えられる上顎右側側切歯。プロトコールに沿って根管充填まで行った。最終来院は根管充填後 14 ヶ月。臨床症状はなく、根周囲透過像の改善を認め経過良好である。
4. 7 歳男性。患歯は下顎右側中切歯。う蝕や外傷の既往はなく、感染経路は不明であった。プロトコールに沿って初回処置を行っても膿瘍が消失せず、根管充填まで 2 回の処置を要した。最終来院は根管充填後 13 ヶ月。臨床症状はなく、根尖部透過像の改善を認め経過良好である。歯冠は若干の変色を認めている。

【結論】

様々な歯種や要因にかかわらず、失活した根未完成永久歯に対する AAE Clinical Considerations for a Regenerative Procedure に基づいた Regenerative Endodontic Treatment は、有用な治療法であることがわかった。引き続き、適応可能と考えられる症例に対して治療・経過観察を行い、本治療法の効果、適応などを研究していく予定である。

垂直性歯根破折を伴う下顎大白歯に対する根管内接着法と意図的再植術の応用

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座
○新井恭子、北島佳代子、五十嵐 勝

Application of internal adhesive therapy and intentional replantation for mandibular molar with vertical root fracture

Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
○ARAI Kyoko, KITAJIMA Kayoko and IGARASHI Masaru

【緒言】垂直性歯根破折歯の保存療法は困難で、多くの場合、抜歯が適応される。近年、歯の接着修復材の開発が進んだことに伴い、破折歯を接着して保存する治療法が各種報告されるようになった。その1つにマイクロスコープの拡大視野下で破折線を確認しながら、破折面相当歯質を機械的に根管まで口腔内で除去し、ファイバーポストを併用したコアレジンを用いる接着法がある。今回、われわれは完全垂直破折を起こした下顎大白歯失活歯に対し、意図的再植術を併用した根管内接着法を行ったのでその術式と経過を報告する。

【術式】1. 浸潤麻酔後、歯根膜組織にダメージを起さないよう鉗子抜歯を行う。歯根表面の歯石や異物を debridement し、破折歯小片を氷冷した歯の保存液（ティースキーパー「ネオ」、ネオ製薬工業）に投入し、歯根膜組織の乾燥を防止する。2. 歯冠部を鉗子で把持し、破断面を貼り合わせ、破折片が復位することを確認する。3. 破折片の歯根膜部を保存液で湿潤したガーゼで包み、さらにガーゼ外面をパラフィルムで被覆する。4. マイクロスコープで観察しながら、根管口部から根尖孔部付近まで根管に沿ってダイヤモンドバーで拡大形成した後、根管内の破折面周囲歯質をカーバイトバー切削し、歯根表面の象牙質を薄く残存させる。5. 対向する破折小片も同様な切削を行い、髓室内と根管内に大きな空洞を形成し、破折小片が隙間なく復位することを確認する。6. コの字型の 0.9mm ワイヤを各根管に試適し、復位した歯の根管にスムーズに挿入できることを確認する。7. 根管内象牙質面に接着処理を施し、デュアルキュア型歯科用支台築造材料（クリアフィル DC コアオートミックス ONE、クラレノリタケデンタル）を空洞に充たし、さらにワイヤを根管内に埋め込んで照射し、破折片を固着する。8. 歯根尖 3mm を切断除去し、逆根管充填用窩洞を形成後、接着性レジンで逆根管充填を施す。9. 患歯を抜歯窩に再植し、咬合面を交差する単純縫合で歯を緩く暫間固定し、7日後に抜糸を行う。

【症例1】50歳の女性。下顎左側第一大臼歯に違和感があり来院した。瘻孔形成と近心根周囲の深いポケットがみられ、近心根の垂直性歯根破折と診断した。局所麻酔下で抜歯後、近心根の破折片を接着し、近遠心根ともに歯根尖切除と逆根管充填を行った後に再植した。約3か月の経過観察中で良好な結果を得ている。

【症例2】67歳の男性。ブリッジの支台である下顎左側第二大臼歯に違和感があり来院した。エックス線所見と分岐部ポケット形成から垂直性歯根破折と診断し、意図的再植術を併用した根管内接着法を行った。現在旧ブリッジを利用した固定を継続中で、約4か月経過しており良好な結果を得ている。

【考察】新鮮な破折症例で、破折面に細菌侵襲がないかあっても軽度な場合、根管内から破折線に沿って根表面まで根管象牙質を切削除去することは、破折面に存在する細菌数を激減させることができる。根管内の広い接着面を利用し、接着性レジンを用いることは接着力の増加が期待できる。また、近遠心根をワイヤで連結することにより、理工学的強度が増し、再度破折が生じることを防止可能で、破折歯を一つのブロックに戻す効果が十分に期待される。歯根表面に残っている歯根膜組織は再植後に歯の定位置への保持に効果的に働き、破折線が浅く存在するだけで歯周組織の破壊も適切な歯周管理により病的状態には陥りにくいと考えられる。本症例は経過観察の期間が短期間ではあるが、現在破折の再発や根尖病変の発現はなく、歯根尖切除した部位や根分岐部に骨の再生がみられる。以上のことから根管内接着法と意図的再植術を垂直性歯根破折歯に応用することによって、良好な成果が期待できることが示された。意図的再植術の予後判定には3年以上必要であるといわれていることから、今後さらに長期経過観察を行う必要がある。

水平破折歯治療後の長期経過症例

大阪歯科大学 口腔治療学講座
○池永英彰、杉本貞臣、宮本綾乃、中井啓介、好川正孝、前田博史

A case report

-Long time follow up for a maxillary central incisor with a horizontally fractured root-

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

【緒言】 歯冠部の変位が少なく、歯髄が生活反応を示す歯根破折の症例では、暫間固定をして歯髄処置を施さずに経過を観察することが多い。しかし、歯髄が生活反応を示しても、歯冠側 1/3 に生じる破折は歯根中央部から根尖側 1/3 での破折よりも歯肉縁に近いために歯肉溝からの感染を生じやすく、歯髄保存の可能性が低くなる。我々は、外傷によって歯根中央部に水平破折を生じた上顎左側中切歯の処置を行う機会を得た。歯髄は生活反応を示し、患者の希望に従って歯髄処置は行わずに暫間固定を行った。13 か月の経過観察期間を経て歯冠修復を行った時に歯髄の生活反応が確認できた。しかし、4 年後に歯冠側の破折片の歯髄が失活し、歯根側の破折片との間にできた離解部に化膿性炎症が発現したために歯冠側の破折片に感染根管治療を施した。その結果、増殖したと思われる骨様構造で、離解部が満たされたエックス線写真所見が得られ、現在まで患歯に臨床的な症状は認められていない。歯根破折を生じたときの歯髄処置を行う適切な時期、また、破折部位と歯髄処置の関わりを改めて考える目的で本症例報告を行った。

【症例】 交通事故による外傷で来院した 36 歳女性の上顎左右側中切歯を処置した。上顎右側中切歯の歯冠 1/4 が破折し、初診時の二等分法エックス線検査で左側中切歯の歯根中央部の破折が確認された。歯科用 CT エックス線写真検査で、右側中切歯の根尖部唇側歯槽骨に骨折が認められ、左側中切歯の唇側歯根中央から口蓋側歯槽骨縁に近接した歯根表面におよぶ破折が確認された。左右側中切歯の抜髄処置を考慮したが、患者の希望で暫間固定を行い経過観察することにした。3 か月を経過して、右側中切歯が打診に反応して疼痛閾値の上昇を認めたために抜髄処置を施した。1 年後の経過観察で左右側中切歯ともに自覚症状はなく、患歯の審美的な希望から歯冠修復を行った。左側中切歯の歯髄に生活反応が認められた。3 年後の経過観察で両側中切歯に自覚症状は認められなかった。二等分法エックス線写真では左側中切歯の破折した歯冠側歯根と根尖側歯根との間が離解していた。歯科用 CT エックス線写真検査でその離解部に新生骨の増殖を認め、左側中切歯は生活反応を示した。また、右側中切歯の根尖部歯槽骨の治癒が確認された。左右側中切歯に連結冠を装着した 4 年後に上顎唇側歯肉が腫脹し、排膿があった。左側中切歯の二等分法エックス線写真および歯科用 CT エックス線写真検査で、破折歯根の間の開大と透過像を認めた。歯冠側破折片の歯髄が失活したと判断し、患者の同意を得て感染根管治療を行った。修復した補綴物を除去せずに、根管処置は舌側から実施した。根管治療の結果、腫脹および違和感などの臨床症状は消失し、側方加圧充填を行った。根管充填後 6 年および 10 年後の経過観察での二等分法エックス線写真および歯科用 CT エックス線写真検査で、破折した歯根の離解部は新たな歯槽骨で満たされていた。また、自発痛、打診痛および根尖部歯肉圧痛はなく、歯の動揺は正常であった。

【まとめ】 二等分法エックス線写真で歯根中央付近での水平破折と診断した本症例は歯科用 CT エックス線撮影によって口蓋側での歯槽骨頂直下の歯根破折が明らかになった。歯肉溝に近い部位での歯根破折は感染の可能性があり、本症例では歯髄処置を施すことが妥当であった。しかし、炎症発現後に歯冠側根管の処置で炎症が消退し、治癒している。歯冠修復処置に伴う障害によって歯髄死が生じたため、歯頸部歯肉溝からの感染は否定できる。歯冠側破折片の保存とともに歯髄保存に努め、経過観察時の歯髄死に対して根管処置を行った今回の対応・治療は適切であったと考える。しかし、歯根破折はその部位によって処置の選択に苦慮することが多く、診断と経過観察には二等分法エックス線写真とともに歯科用 CT エックス線撮影で詳細な情報を得なければならない。歯髄の保存を第一に考え、歯髄死を生じた時に感染根管治療を行って、その後も長期間の経過観察を行う。また、患歯の機能を回復して長期に存続させることを第一に、個々の症例に対応する適切な治療の実施が肝要である。

レッジおよび穿孔を伴った上顎第一大臼歯の歯内治療：症例報告

愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座

○今泉一郎 江幡香里 白川 肇 中田和彦

Endodontic Treatment of a Maxillary First Molar with Ledge and Perforation: A Case Report

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

○Ichiro Imaizumi, Kaori Ebata, Hajime Shirakawa Kazuhiko Nakata

【緒言】

再根管治療を困難とする因子として根管形態の医原性変化（レッジ、ジップなどのトランスポーターション）が挙げられる。解剖学的な形態が維持されていない症例では、維持されている症例と比較して有意に再根管治療の成功率が低かったと報告されている。これは、本来の根管を一度逸脱して根管形成を行うとその形態変化を修正して感染源を完全に除去することが困難であることを意味している。今回、我々は上顎第一大臼歯の近心根にレッジおよび穿孔を伴った症例に遭遇し、歯科用コーンビーム CT(CBCT)およびマイクロスコープを用いて良好な治療成績が得られたので報告する。

【症例】

患者は、68歳の女性。約8カ月前に上顎左側第一大臼歯の慢性潰瘍性歯髄炎のため近在の歯科医院で抜髄処置を受けた。その後、打診痛が改善しないということで長期間の根管治療を経て紹介により愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科を受診した。来院時の現症は、自発痛(-)、打診痛(+)、根尖部圧痛(-)、歯周ポケット2mmであった。口腔内エックス線写真では、歯根膜腔の拡大と根尖部透過像は認められなかった。ラバーダム防湿下にてマイクロスコープ(OPMI 111/カールツァイス)を用い歯根破折・第四根管などの精査を行った。患歯は、3根管性で破折・亀裂および穿孔は認められなかった。電気的根管長測定器(Root ZX/モリタ)にて根管長を測定した際、3根管とも問題はないと判断して作業長を決定した。根管からの排膿と出血はなかったが口蓋根管の根尖部形成(拡大)時に僅かに痛みを訴えた。3~6%次亜塩素酸ナトリウム(アンチホルミン/日本歯科薬品)および3%EDTA(スメアークリーン/日本歯科薬品)を併用して超音波根管洗浄し、水酸化カルシウム製剤(カルシペックスブレーンII/日本歯科薬品)を貼薬し、水硬性セメント(キャビトン/ジーシー)とグラスアियोノマーセメント(フジIX/ジーシー)にて二重仮封した。3回目の治療時には、打診痛は軽減していたためガッタパーチャポイント(ガッタパーチャメインポイント/SybronEndo)とシーラー(キャナルスN/昭和薬品化工)にて側方加圧根管充填を行った。術後の口腔内エックス線写真から近心頰側根管の根管充填は根尖から約3mm不足していることが明らかとなり、穿孔が疑われたため患者に歯科用CBCT(アルファード/朝日レントゲン工業)撮像による精査の必要性を説明し同意を得た。歯科用CBCTによる三次元画像診断から上顎左側第一大臼歯の近心頰側根は、遠心に彎曲しており、根管は根管口1/3付近から逸脱して直線状に形成され根尖1/3の位置で穿孔していることが確認できた。その結果に基づき近心頰側根の未処置根管部分について、さらなる治療が必要であることを説明し同意を得た。歯科用CBCT画像から未処置根管の位置、彎曲方向などを詳細に検討した後、ガッタパーチャ溶解剤は使用せずにマイクロスコープ観察下にてエンドサクセスチップ(ET-18D/サテック)やロングネックのラウンドバー(#2/マニー)を用いて慎重にガッタパーチャを逸脱したと思われる位置まで除去した。その際、逸脱した根管から穿孔部までの根管充填材は除去しないように注意した。Dファイnder(#10/マニー)の先端部にプレカーブを付与し、歯科用CBCT画像診断の情報を基に未処置の根管を探索した。未処置の彎曲した根管を拡大形成し、ガッタパーチャを試適して口内法エックス線写真上で、作業長と方向を確認した後、側方加圧(充填)法にて根管充填した。

【考察および結論】

今回、歯科用CBCT画像診断で根管のレッジ形成による根管の逸脱および穿孔とその位置、未処置の根管の有無、根管の彎曲方向など治療方針の立案と未処置根管の探索に非常に有用であった。また、穿孔部の根管充填材を除去せず未処置の根管を探索するためにエンドサクセスチップを応用することは、必要最小限の切削にて未処置の根管を発見するのに非常に有効であった。

研修歯科医はどのような歯内療法を難しく感じるか —電子ポートフォリオの内容からの分析—

岡山大学病院 総合歯科

○塩津範子, 河野隆幸, 武田宏明, 野崎高儀, 渡邊 翔, 桑山香織, 鳥井康弘

What kind of Endodontic treatments do trainee dentists feel difficult in Okayama University Hospital? -Analysis using of documents in electric portfolio- Comprehensive Dental Clinic, Okayama University Hospital

○SHIOTSU Noriko, KONO Takayuki, TAKETA Hiroaki, NOZAKI Takayoshi,
WATANABE Sho, KUWAYAMA Kaori, TORII Yasuhiro

【緒言】

歯内療法は歯科医師臨床研修の到達目標における基本習熟コースの高頻度治療に含まれており、研修歯科医が習熟すべき治療の一つである。しかしながら、歯内療法のほとんどのステップは直視することが難しいため、臨床経験の少ない研修歯科医にとっては、他の高頻度治療に比較して難しいと感じることが多いと考える。岡山大学病院では、臨床研修に電子ポートフォリオを用いており、研修歯科医が治療を経験するたびに治療内容、感想、課題等を記載し、それに対して指導歯科医がフィードバックを行っている。今回、研修歯科医が入力した歯内療法分野に関連したポートフォリオを分析し、研修歯科医がどのような歯内療法の術式を難しく感じているかを検討した。

【対象および方法】

H26 年度および H27 年度に岡山大学病院で臨床研修を受けた 105 人の研修歯科医が、総合歯科で診療を行った際に入力したポートフォリオの中から歯内療法に関連したポートフォリオを抽出した。今回は、歯内療法の困難さを表現する単語として、「難しい、時間がかかった、失敗」の 3 単語を選択し、これらの 3 単語を含むポートフォリオを対象として以下の分析を行った。

1. 対象のポートフォリオを、治療内容によって抜髄（初回）、感染根管治療（初回）、拡大・貼薬、根管充填の 4 処置に分類し、それぞれの処置における 3 単語の出現頻度を比較した。
2. ポートフォリオの入力項目の一つである感想を、テキストマイニングソフト (WordMiner®, 日本電子計算株式会社) を用いて分かち書きを行い、構成要素（キーワード）を抽出した。
3. 3 単語と関連の深い構成要素を調べるために、3 単語と構成要素のクロス表からキーワードの出現頻度を調べた。また、3 単語を含むポートフォリオに有意な構成要素を調べるため構成要素の頻度による有意性テストを行った。

【結果】

1. 2 年間に研修歯科医 105 人が入力したポートフォリオ 8,087 件のうち、歯内療法関連は 702 件あった。そのうち「難しい、時間がかかった、失敗」の 3 単語を含むポートフォリオは 195 件あった。195 件のポートフォリオの中で、「難しい」を含むものは 125 件、「時間がかかった」を含むものは 63 件、「失敗」を含むものは 21 件あった。
2. 3 単語を含むポートフォリオが歯内療法関連ポートフォリオに占める割合は、拡大・貼薬の処置において最も多く 13.2%であった。抜髄（初回）、感染根管治療（初回）、根管充填は、それぞれ 3.6%、5.3%、5.6%であった。
3. 3 単語と構成要素のクロス表による集計結果から、「難しい」を含むポートフォリオでは「根管充填、拡大、根管治療」が、「時間がかかった」を含むポートフォリオでは「拡大、除去、根管充填」が、そして「失敗」を含むポートフォリオでは「拡大、根管充填、根管治療」といった構成要素が多かった。
4. 頻度による有意性テストの結果、「難しい」を含むポートフォリオでは「残存、綿栓、湾曲」が、「時間がかかった」を含むポートフォリオでは「天蓋、除去、歯髄腔」が、そして「失敗」を含むポートフォリオでは「ポイント、測定」といった構成要素が多かった。

【まとめ】

研修歯科医が困難と感じる歯内療法は拡大や根管充填、失敗したと感じる歯内療法は作業長に関わるものが多いことが示唆された。これらの処置を臨床経験が浅い研修歯科医が行う際は、十分に配慮する必要があると考える。

Col-GFP マウス歯周組織の組織学的解析

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)
○上田亜美、岩山智明、村上伸也

Histological characterization of periodontium of Col-GFP mice

Department of Periodontology, Graduate School of Dentistry, Osaka University

○Tsumami Ueda, Tomoaki Iwayama and Shinya Murakami

【目的】

歯根膜はセメント質と歯槽骨という2つの硬組織の間に存在する、非石灰化結合組織である。I型コラーゲンは歯根膜の主要な構成成分であり、歯根膜において最も高く発現している分子である。しかしながら、コラーゲンの代謝やコラーゲンを発現している細胞の正確な局在については未だ詳細に検討されていない。そこで我々は *collagen1a1* のプロモーターと転写制御領域の制御下で GFP を発現する Col-GFP マウスを用いて、*collagen1a1* 遺伝子の発現局在について検討した。

【材料と方法】

8週齢 C57BL/6J 野生型マウスの上顎骨を取り出し、剥離した歯肉組織、抜去後の歯根表面から採取した歯根膜組織から total RNA を抽出・精製した。次いで RT-qPCR 法にて細胞外基質の mRNA 発現を検討した。

Col-GFP マウスは University of California, San Diego の Brenner 教授から供与を受けた。

8週齢 Col-GFP マウス上顎骨を取り出し、凍結切片を作製することで組織学的解析を行った。上皮細胞、血管内皮細胞の描出には AlexaFluor 647 標識 Isolectin GS-IB4 を用いた。血管内皮細胞基底膜は抗ラミニン抗体を用いた蛍光免疫染色法を用いた。

同マウスの歯根表面から採取した歯根膜組織を採取し、*in vitro* 初代培養を行った。

【結果】

歯根膜組織では歯肉組織と比べ *Col1a1* および PLAP-1 (Periodontal Ligament Associated Protein -1) mRNA が有意に高く発現していた。

この結果と一致して、Col-GFP マウスの歯根膜組織全体に強い GFP 発現を認め、骨芽細胞、セメント芽細胞のみならず、歯根膜を構成する多くの細胞群が GFP 強陽性であった。また、歯槽骨内の骨芽細胞も GFP 陽性であった。一方で歯根膜内の毛細血管を構成する血管内皮細胞には GFP 発現は認めなかった。

歯髓組織においては、象牙芽細胞に GFP が強く発現し、その細胞突起は象牙細管中に伸びていることが確認された。

歯肉組織においては、歯肉上皮細胞には GFP 発現は認めず、上皮下の歯肉線維芽細胞に発現を認めた。

Col-GFP マウス歯根膜から採取した初代培養細胞は培養中も強い GFP 発現を維持していた。

【結論と考察】

歯根膜組織は同組織を構成する細胞の多くが I 型コラーゲンを転写レベルで常に高く発現しており、歯肉組織に比べて、細胞外基質を活発に形成していることが示された。Col-GFP マウスおよびその組織から単離した細胞は、その GFP 発現の強度によってコラーゲン産生レベルを評価できることから、歯周組織のコラーゲン代謝や石灰化機構を明らかにするためのモデルとして有用であることが示唆される。

本研究におけるすべての動物実験は、大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認を得て行った。承認番号:動歯-27-018-0)

インテグリンサブユニットの選択的制御による歯根膜細胞の遊走促進

¹⁾岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 病態機構学講座 歯周病態学分野

²⁾岡山大学病院 歯周科

○河村麻理¹⁾, 山本直史²⁾, 山城圭介¹⁾, 平田千暁¹⁾, 青柳浩明¹⁾, 井手口英隆¹⁾,
大森一弘²⁾, 高柴正悟¹⁾

Induction of Migration of Periodontal Ligament Cells by Selective Regulation of Integrin Expression

¹⁾Department of Pathophysiology - Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Sciences

²⁾Department of Periodontics & Endodontics, Okayama University Hospital

○Mari KAWAMURA¹⁾, Tadashi YAMAMOTO²⁾, Keisuke YAMASHIRO¹⁾, Chiaki HIRATA¹⁾, Hiroaki AOYAGI¹⁾,
Hidetaka IDEGUCHI¹⁾, Kazuhiro OMORI²⁾, Shogo TAKASHIBA¹⁾

【目的】

歯根膜は、結合組織付着によるメカニカルな防御機能に加えて、多分化能を有する幹細胞の供給源としての機能を有することから、歯周組織の恒常性維持や再生に重要な役割を果たす。これらの機能を発揮する起点となるのが歯根膜への歯根膜細胞の遊走と接着であるが、その制御メカニズムは未だ不明な点が多く、関与するシグナル分子の発現動態の解明が必要である。細胞と細胞周囲の微小環境との相互作用は細胞遊走・接着の制御に重要であり、種々の細胞外基質 (extracellular matrix : ECM) とインテグリンとの接着が細胞遊走の誘導に関与すると考えられる。また、細胞種特異的なインテグリン発現の制御は、様々な疾病治療のための標的分子として注目されている。従って、本研究では、歯根膜細胞が遊走時に発現する ECM とインテグリンサブユニットの解明と、さらにインテグリン発現の選択的制御が遊走能に与える影響の解明を図った。

【材料と方法】

1. ヒト抜去歯から分離した歯根膜細胞 (岡山大学研究倫理審査委員会 : 承認番号2070) とヒト歯肉由来細胞 (Ca9-22細胞) を、血清濃度0.1 %の培地で24時間培養後にmitomycin Cによって細胞増殖を阻害し、platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB, 10 ng/mL) によって細胞遊走を誘導した。
2. 遊走開始8時間後に歯根膜細胞が発現する細胞接着因子とECMの遺伝子プロファイル (84因子) をPCRアレイによって解析した。無刺激群と比較して2倍以上の発現変化を示すインテグリンサブユニットと、それらのリガンドECMの蛋白発現を免疫染色法によって調べた。
3. 上記で同定したintegrin $\alpha 3$ と $\alpha 5$ の中和抗体とintegrin $\alpha 3$ の阻害ペプチド (Wei *et al*, *Mol Biol Cell*, 2001) の刺激による細胞遊走の変化を調べた。すなわち、遊走開始38時間後にカルセイン染色した遊走細胞の面積をImage J softwareを用いて定量解析した。
4. One-way analysis of varianceとTukey-Kramer testを用い、 $P < 0.05$ を有意差ありと判定した。

【結果】

1. Integrin $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ の遺伝子発現量は、無刺激群と比較して約2倍増加した。一方、これらのリガンドECMであるcollagen type I $\alpha 1$, fibronectin 1, およびvitronectinの遺伝子発現量は変化しなかった。
2. Integrin $\alpha 3$ の蛋白発現は遊走する歯根膜細胞の細胞質端で、integrin $\alpha 5$ はその内方で発現した。一方、integrin $\alpha 3$ のリガンドであるvitronectinは細胞質周囲で、integrin $\alpha 5$ のリガンドであるfibronectinは遊走細胞周囲で発現した。
3. PDGF-BB刺激下でintegrin $\alpha 5$ を阻害すると歯根膜細胞の遊走面積は減少した。一方、integrin $\alpha 3$ を阻害すると、PDGF-BB刺激を行わずとも、PDGF-BBと同等に細胞遊走面積が増加した。また、integrin $\alpha 3$ の阻害はCa9-22細胞の遊走に影響しなかった。

【考察】

歯根膜細胞の遊走時に発現する integrin $\alpha 3$ と integrin $\alpha 5$ は異なる細胞局在を示し、細胞遊走へ相反する影響を及ぼした。すなわち、歯根膜細胞の遊走は、integrin $\alpha 5$ と fibronectin の接着によって促進され、integrin $\alpha 3$ と vitronectin の接着によって抑制されると考えられる。さらに、integrin $\alpha 3$ 阻害剤は、歯肉上皮細胞に影響を与えずに、歯根膜細胞の遊走を促進する可能性が示唆された。

【結論】

Integrin $\alpha 3$ は歯根膜細胞の遊走を抑制し、integrin $\alpha 5$ は遊走を促進する。そして、integrin $\alpha 3$ の阻害は、歯根膜細胞の遊走促進に有効である。

高グルコース環境と *Porphyromonas gingivalis* 刺激における ヒト骨髄間葉系細胞に対する vitamin E の影響

大阪歯科大学 歯周病学講座

○野口正皓, 田口洋一郎, 山脇勲, 片山暢仁, 高橋幸達, 梅田誠

Effects of vitamin E on human bone marrow-derived mesenchymal cells under high glucose concentration and *Porphyromonas gingivalis* infection

Department of Periodontology, Osaka Dental University, Osaka, Japan

○Masahiro Noguchi, Yoichiro Taguchi, Isao Yamawaki, Nobuhito Katayama,
Saitatsu Takahashi, Makoto Umeda

【目的】

酸化ストレスとは、生体の酸化反応と抗酸化反応のバランスが崩れ、酸化反応に傾いた状態であり、タンパク質、脂質、DNA 障害を介して、老化や癌、生活習慣病の病態に関与していると考えられている。インスリン作用が不足した状態である糖尿病においても酸化ストレスが亢進し、病態に影響していることが明らかにされてきた。また、細菌、ウイルス、真菌といった病原体の種類に関わらず、感染病態においても、一酸化窒素や活性酸素種が生成され、宿主の細胞や組織を損傷し酸化ストレスをもたらすと報告されている。

そこで、本研究ではペリオドンタルメディシンの1つで双方向性因果関係のある糖尿病と主要な歯周病原細菌の1つである *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) における酸化ストレスを制御し歯周病治療に応用するため、生体内の抗酸化剤として広く受け入れられている α -tocopherol (vitamin E) に着目し、ヒト骨芽細胞に対する高グルコース状態と *P. gingivalis* 刺激下における vitamin E の影響について検討した。

【材料と方法】

理化学研究所より購入したヒト骨髄間葉系細胞 (Yub621BMC) の3代目を1穴あたり 4×10^4 cell 播種し、vitamin E を 0, 0.1, 1.0, 10.0 μ M 添加した増殖培地で培養を行った。培養 1, 3, 6, 24, 72, 120, 168 時間後の細胞増殖と上清中の H_2O_2 濃度によって、vitamin E の至適濃度を策定した。

空腹時血糖値を参考に、通常グルコース群 (5.5mM)、コントロールされた糖尿病患者群 (8.0mM)、非コントロール糖尿病患者群 (12.0mM, 24.0mM) の4群にグルコース濃度を調整した 10%FBS 含有 Dulbecco's Modified Eagle's Medium 培養液に vitamin E を 1.0 μ M 添加し、培養 1, 3, 6, 24, 72, 120, 168 時間後の細胞増殖と上清中の H_2O_2 の濃度の測定を行った。

続いて、(株) サンスターより供与頂いた *P. gingivalis* ATCC33277 を MOI 0, 10, 100, 1000 の濃度で添加し、培養 1, 3, 6, 24, 72, 120, 168 時間後の細胞増殖と上清中の H_2O_2 の濃度を測定した。

【結果】

vitamin E 1.0 μ M 添加群で最も高い細胞増殖を示し、 H_2O_2 の産生が低かったため、vitamin E の至適濃度を 1.0 μ M とした。vitamin E 添加群は非添加群と比較して、高グルコース状態においては高い細胞増殖を示したが、 H_2O_2 は同程度の産生量であった。しかし、*P. gingivalis* 感染状態では vitamin E 添加によって細胞増殖は減少し、 H_2O_2 産生量の増加が認められた。

【考察】

以上のことから、vitamin E は *P. gingivalis* 感染状態では効果を示さないが、高グルコース状態では酸化ストレスを制御し歯周病治療に寄与すると示唆される。

酪酸長期間曝露は正常ヒト歯肉線維芽細胞に 細胞分裂抑制とアポトーシスを誘導する

¹京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学, ²宇治徳洲会病院歯科口腔外科, ³康生会北山武田病院歯科口腔外科

○白杉迪洋¹, 山本俊郎¹, 堀口智史¹, 中井敬¹, 佐藤良樹¹,
坂下敦宏^{1,2}, 中村亨^{1,3}, 大迫文重¹, 雨宮傑¹, 金村成智¹

Long-term exposure to butyric acid inhibits normal human gingival fibroblasts
cell division and induces apoptosis

¹ Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science, ² Department of Dentistry, Kouseikai Takeda Kitayama Hospital, ³ Department of Oral Surgery Dentistry, Uji Tokushukai Hospital

○ Michihiro Shirasugi, Toshiro Yamamoto, Satoshi Horiguchi, Kei Nakai, Yoshiki Sato,
Nobuhiro Sakashita, Toru Nakamura, Fumishige Oseko, Takeshi Amemiya, Narisato Kanamura.

【目的】

歯周病の病態と歯周ポケット内の酪酸濃度は相関し、病態が進行するほど濃度が高くなることが報告されている。この酪酸は *Porphyromonas gingivalis* や *Fusobacterium nucleatum* といった歯周病原菌が代謝産物として多量に産生するが、高濃度酪酸による歯周病病態進行のメカニズムはほとんどわかっていない。特に歯周組織に対する影響の報告は少なく、長期間曝露させた影響についての報告はほとんどない。歯周病は慢性疾患であり、歯周組織は高濃度酪酸に長期間曝露されていることが考えられる。そこで本研究では、高濃度酪酸を歯周組織に長期間曝露させた影響について解析することにより、歯周病病態進行メカニズムの一端を解明することを目的とした。

【材料と方法】

正常ヒト歯肉線維芽細胞はD-MEM (10% FBS 添加)で培養維持し、3-10 継代以内のものを実験に供した。各濃度酪酸 (0-15 mM) を正常ヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) に曝露させ、24、48、72 時間後に MTT assay による生細胞数の評価後、AnnexinV/PI 染色、Caspase8, 9, 3/7 活性試験を行いアポトーシスについて評価した。同様に HGFs を CFSE でラベル後に、酪酸曝露させ各タイムポイントで CFSE の蛍光強度をフローサイトメトリーで解析することにより、細胞分裂について評価した。また、酪酸が HGFs の mRNA 発現に及ぼす影響についてサイクリン (サイクリン A2、B1、D2、E2)、前炎症性サイトカイン (IL-1 β 、IL-6、TNF- α)、p53 及び Bak についてリアルタイム RT-PCR を行った。培養上清中の TNF- α について ELISA で解析を行った。さらに産生された TNF- α が及ぼす影響について調べるため、TNF- α 中和抗体存在下で酪酸刺激を行い、Caspase8 活性及び前炎症性サイトカイン mRNA を解析した。

【結果】

酪酸曝露 24 時間の段階では、これまでの報告にある通り、正常 HGFs の生細胞数に有意な差は認めなかった。しかし、48、72 時間曝露させることにより、2.5 mM 以上の濃度で生細胞数が減少した。5 mM 以上の濃度酪酸曝露により、24 時間以降の細胞分裂が停止しており、サイクリン A2、B1、E2 mRNA の発現量が著しく抑制されていた。また、酪酸濃度および時間依存的にアポトーシス細胞の割合が増加し、Caspase8, 9, 3/7 活性も認めた。内因性経路探索目的に DNA 損傷について解析を行ったが、double strand break は生じておらず、ミトコンドリアのシトクロム C 放出を促進する Bak の mRNA 発現量の亢進を認めた。酪酸刺激により HGFs の前炎症性サイトカイン mRNA 発現量は亢進しており、培養上清中に TNF- α 産生を認めた。TNF- α 中和抗体の存在下で、酪酸刺激を行ったところ、Caspase8 の活性化は認めず、また、IL-6 の mRNA 発現量も亢進されなかった。

【考察および結論】

高濃度酪酸を長期間曝露させることにより、正常ヒト歯肉線維芽細胞の細胞分裂停止とアポトーシスが誘導された。サイクリンの mRNA 発現量を抑制することで細胞分裂を停止させたと考察した。また酪酸は HGFs に外因性・内因性双方の経路でアポトーシスを誘導した。内因性経路については、酪酸は DNA に損傷を与えず Bak の mRNA 発現を亢進することによって Caspase9 を活性化し、アポトーシスが誘導されたと考えた。外因性経路については、酪酸刺激により産生された TNF- α が Caspase8 を活性化することでアポトーシスが誘導されたと考えた。また前炎症性サイトカイン発現の亢進に働き、炎症促進に寄与していると考えた。以上より、酪酸は長期間曝露により周囲の歯周組織の破綻をきたし、歯周病進行に関わっていると示唆された。

ヒト歯根膜細胞シートの成長因子産生に羊膜が及ぼす影響について

京都府立医科大学 大学院医学研究科 歯科口腔科学
○雨宮 傑, 足立哲也, 遠藤悠美, 市岡宏顕, 足立圭司, 大迫文重, 山本俊郎, 金村成智

The Influence to The Production of Growth Factor of The Human Periodontal-Ligament Cell Sheets by Amniotic Membrane.

Department of Dental Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine
○AMEMIYA Takeshi, ADACHI Tetsuya, ENDO Yumi, ICHIOKA Hiroaki,
ADACHI Keiji, OSEKO Fumishige, YAMAMOTO Toshiro, KANAMURA Narisato

【研究目的】

本研究の最終目的は、歯周組織再生に有効な新規培養細胞シートを開発することである。羊膜は抗炎症、感染抑制を有し、さまざまな細胞の培養基質としての有用性・有効性が注目されている生体材料である。われわれはこれまで、羊膜を基質に用いた培養ヒト歯根膜線維芽細胞 (hPDLF) シートを作製し、実験動物への移植にて新生骨 (歯周組織) 再生能を有することを報告してきた (第 141 回学術大会)。また、hPDLF の培養基質に羊膜を用いることで、ケモカイン SDF-1/CXCL12 や CXCL14 の産生が促進され、羊膜の有用性を見出した (第 144 回学術大会)。今回、羊膜が hPDLF の増殖・分化を誘導するシグナル (成長) 因子の産生に与える影響について検討を行い、若干の知見が得られたので報告する。

【材料および方法】

本研究は本学医学倫理審査委員会の許可を得たうえで実施した (RBMR-C-1111-2)。羊膜は、研究用ヒト羊膜 (再生医療支援機構・近畿羊膜バンク) を、細胞は hPDLF (Lonza 社) を利用した。上皮細胞を剥離・除去した羊膜上にて hPDLF 細胞を 3 週間の培養を行い、羊膜上培養細胞シートを作製した。得られた羊膜上培養 hPDLF シートより RNA を抽出し、マイクロアレイ法にて成長因子関連の遺伝子を網羅的に解析した。さらに培養上清中の成長因子を免疫学的で手法で解析した。なお、対照は、hPDLF 単独培養とした。

【成績】

マイクロアレイによる遺伝子解析を行った結果、対照群と比較して羊膜上培養 hPDLF シートでは、IGF-1、VEGF-A の各遺伝子が高発現していた。一方、Dkk-1 は遺伝子レベルでの発現の低下を認めた。また、培養上清中の IGF-1、VEGF-A、BDNF、NGF は有意に増加し、Dkk-1 は有意に減少していた。

【考察】

上記研究結果より、羊膜上培養 hPDLF シートは、自身が骨組織へ分化するだけでなく、成長因子 (IGF-1、VEGF-A、BDNF、NGF) やケモカインの産生を促すことが示され、細胞の局所への遊走や分化誘導することで周囲組織の再生に寄与できるものと期待される。また、培養細胞シートの上清中における IGF-1 の濃度は、対照群が継続的に減少するのに対し、約 3 週間維持されていた。さらには、培養細胞シートは間葉系幹細胞の骨芽細胞への分化を阻害する Dkk-1 の産生を抑制していたことで、効率的に骨芽細胞へ分化誘導するものと推測された。

【結論】

羊膜は hPDLF の培養に有用な基質であり、羊膜上培養 hPDLF 細胞シートは歯周組織再生への有効性がある可能性が示された。なお、本研究の一部は JSPS 科研費 (16K11695) の助成を受けた。

(参考文献)

1. Amemiya T, *et al.* Development of human periosteal-derived cell sheets cultured on an amniotic membrane substrate. 日歯保存誌. 59(5): 394-401, 2016
2. Amemiya T, *et al.* Autologous transplantation of oral mucosal epithelial cell sheets cultured on an amniotic membrane substrate for intraoral mucosal defects. *PLoS One.* 10(4): e0125391, 2015.
3. Adachi K, *et al.* Human periodontal ligament cell sheets cultured on amniotic membrane substrate. *Oral Dis.* 20: 581-590, 2014.

***Treponema denticola* に対する *Porphyromonas gingivalis* Hgp44 の付着ドメインの解明**

東京歯科大学 歯周病学講座¹

東京歯科大学 口腔科学研究センター²

○吉川 幸輝^{1,2}、喜田 大智¹、今村 健太郎¹、青木 栄人¹、勢島 典¹、齋藤 淳^{1,2}

Elucidation of the adhesion domain of *Porphyromonas gingivalis* Hgp44 for *Treponema denticola*

Department of Periodontology¹, Oral Health Science Center², Tokyo Dental College

○YOSHIKAWA Kouki^{1,2}, KITA Daichi¹, IMAMURA Kentaro¹, AOKI Hideto¹, SESHIMA Fumi¹,
SAITO Atsushi^{1,2}

【目的】 *Porphyromonas gingivalis* および *Treponema denticola* は主要な歯周病原細菌であり、慢性歯周炎において高頻度に検出される菌群 'red complex' に分類される。細菌が病原性を発揮するには目的とする部位に定着することが必要である。歯周病原細菌の定着には、歯面への早期付着後の細菌間の共凝集が関わっている。*T. denticola* は *P. gingivalis* と共凝集することにより、デンタルプラークに定着し、その病原性を発現する。*P. gingivalis* が産生するシステインプロテアーゼである Arg-gingipain (Rgp) は、歯周組織破壊の他に、赤血球凝集能や本菌の線毛形成に重要な役割を果たしている。RgpA は、プロテアーゼドメイン、赤血球凝集/付着ドメインによって構成されている。近年、この赤血球凝集/付着ドメインの一部である Hgp44 が *T. denticola* との共凝集において重要な付着因子であることが報告された。しかしながら、その Hgp44 のどの部分が共凝集に関連しているかは明らかにされていない。本研究の目的は *T. denticola* に対する *P. gingivalis* Hgp 44 の付着ドメインを明らかにすることである。

【材料および方法】

P. gingivalis ATCC 33277 の Hgp44 (アミノ酸配列1-419) を含む プラスミドベクター pET32Xa/LIC-Hgp44を template とし、PCR 法にて増幅後、PCR 産物を self ligation し、pHgp44₁₋₁₂₄、pHgp44₁₋₃₁₆、pHgp44₁₋₄₁₉ を作製した。これらのプラスミドを *Escherichia coli* DH 5α に形質転換し、60 µg/ml アンピシリン添加 LB 寒天培地にて37℃で培養した。得られたコロニーを 60 µg/ml アンピシリン添加 LB 液体培地に播種し、培養後、プラスミドを抽出した。これらを *E. coli* BL21Star (DE3) に形質転換し、100 µg/ml カルベニシリン添加 LB 液体培地にて培養した。菌液の sonication、遠心分離の後、沈殿を8M 尿素にて可溶化した。可溶化したリコンビナントタンパク質 (r-Hgp44₁₋₁₂₄、r-Hgp44₂₋₁₋₃₁₆、r-Hgp44₂₋₁₋₄₁₉) を Ni-Sepharose 6 Fast Flow で精製した。これらについて、SDS-PAGE および抗 *P. gingivalis* 全菌抗体、抗 His-tag 抗体を使用した Immunoblotting で発現を確認した。その後、r-Hgp44₁、r-Hgp44₂、r-Hgp44 の *T. denticola* ATCC 35405 への付着は、ELISA にて抗 *T. denticola* 全菌抗体、ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ウサギ抗体を用いて評価した。

【結果および考察】 SDS-PAGE の結果、r-Hgp44₁、r-Hgp44₂、r-Hgp44 は、目的の分子量であることを確認し、Immunoblottingで、単一のバンドとして認めた。ELISA では、r-Hgp44、r-Hgp44₂ の存在により、*T. denticola* の付着はコントロールに比べて有意に高い値を示したが ($p < 0.001$)、r-Hgp44 と r-Hgp44₂ との間には有意な違いは認めなかった。r-Hgp44₂ の存在により、*T. denticola* の付着は r-Hgp44₁ に比較して有意に高かった ($p < 0.01$)。r-Hgp44₁ とコントロールとの間には有意な違いは認めなかった。これらの結果から、Hgp44 遺伝子において付着に関わる主たるドメインは、アミノ酸配列の124-316間にある可能性がある。

【結論】 今回、*T. denticola* に対する *P. gingivalis* Hgp44 の主要な付着ドメインの候補を明らかにした。今後、予想される付着領域のアミノ酸配列をもとに合成ペプチドを作製し、*T. denticola* との付着を詳細に解析する予定である。*T. denticola* との共凝集に関わる *P. gingivalis* gingipain のドメインを特定し、それを阻害することによる歯周病の新規治療法の可能性を検討する。(会員外共同研究者：東京歯科大学微生物学講座 石原 和幸)

炎症性骨吸収における破骨細胞形成への T 細胞と骨膜構成細胞の関与

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯周病学分野
○小林弘樹, 鶴飼孝, 中村弘隆, 高森(藏本)明子, 高森雄三,
山下恭徳, 泉聡史, 小山美香, 白石千秋, 吉村篤利, 原宜興

Involvement of T cell and periosteum-forming cells in osteoclastogenesis in inflammatory bone resorption

Department of Periodontology, Nagasaki University Graduate school of Biomedical Sciences
○KOBAYASHI Hiroki, UKAI Takashi, NAKAMURA Hiroataka, TAKAMORI (KURAMOTO) Akiko, TAKAMORI Yuzo,
YAMASHITA Yasunori, IZUMI Satoshi, OYAMA Mika, SHIRAIISHI Chiaki, YOSHIMURA Atsutoshi, HARA Yoshitaka

<目的>

歯周炎における骨吸収は歯周病原性細菌の細菌感染が関与する炎症性骨吸収である。骨吸収は破骨細胞によって行われ、単球・マクロファージ系の細胞がマクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)と receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) の刺激により多核の破骨細胞へと分化する。当講座ではマウス歯肉に LPS を投与する炎症性骨吸収モデルを確立し、免疫応答に重要な役割を果たす T 細胞が破骨細胞形成を促進することを示した。T 細胞は RANKL を産生するが、骨膜中の骨芽細胞や線維芽細胞などの骨膜構成細胞も RANKL を産生する。これまでの炎症性骨吸収モデルでは骨膜構成細胞の関与を除外することができず、炎症性骨吸収における T 細胞と骨膜構成細胞の関与は明らかにされていない。本研究では、炎症性骨吸収において T 細胞と骨膜構成細胞の有無を実験的に作製した。すなわち、野生型マウスとヌードマウスに骨膜ありまたは骨膜なしの同系野生型マウス脛骨を移植し、炎症性骨吸収における破骨細胞形成への T 細胞と骨膜構成細胞の関与を病理組織学的に検討した。

<材料および方法>

(1) 実験スケジュール

8 週齢の雄の BALB/c の野生型マウス (W 群)、ヌードマウス (N 群) に、同週齢の野生型マウスの脛骨を摘出後に骨膜あり (+) または骨膜なし (-) の骨を背部皮下組織に移植し、W (+) 群、W (-) 群、N (+) 群、N (-) 群の計 4 群の実験群を作製した。移植直後から移植骨周囲に LPS を 4 回投与して炎症性骨吸収を惹起し、最終投与 24 時間後に屠殺、移植骨を皮膚と一塊にして摘出した。また、対照群として野生型マウスに移植のみを行う W (+) cont 群、W (-) cont 群を作製した。摘出した組織はバラホルムアルデヒドにて固定、EDTA にて脱灰した後、パラフィン包埋し、LPS 投与部位である移植骨中央部の組織を観察できる連続切片を作製した。

(2) 病理組織学的評価

移植骨周囲の病理組織学的観察および炎症性細胞数計測のためにヘマトキシリン・エオジン (H. E.) 染色を行った。炎症性細胞数は、移植骨中央部の結合組織中の 250 μ m \times 250 μ m の範囲の炎症性細胞数を計測した。また酒石酸耐性酸フォスファターゼ (TRAP) 染色を行い、移植骨表面の TRAP 陽性細胞を観察し、その細胞数を計測した。TRAP 陽性細胞は、移植骨中央の骨表面に存在する TRAP 陽性単核細胞と、2 核以上の核を有する TRAP 陽性多核細胞をそれぞれ計測した。

<結果>

H. E. 染色において、対照群では 2 群共に移植骨周囲の結合組織中に炎症性細胞浸潤を認めず、骨表面は平滑であった。実験群では全群に移植骨周囲の結合組織中に炎症性細胞の浸潤を認め、骨膜を有する W (+) 群、N (+) 群では骨膜中への炎症性細胞の浸潤はわずかであった。骨表面は W (-) 群、N (+) 群、N (-) 群では平滑な骨面であったが、W (+) 群では骨表面は不整になっており、吸収窩には多核の細胞を認めた。TRAP 陽性多核細胞は W (+) 群にのみ、TRAP 陽性単核細胞は W (+) 群で最も多く、次いで W (-) 群、N (+) 群の順であった。N (-) 群では TRAP 陽性細胞はわずかに観察された。

<考察>

炎症性骨吸収において、T 細胞と骨膜構成細胞の両者の存在が、それぞれの単独での存在よりも破骨細胞形成を促進させることが示唆された。

ナノハイドロキシアパタイト/コラーゲンの架橋剤の違いが 4-META/MMA-TBB レジン上への BMP による骨形成に及ぼす影響

北海道大学 大学院歯学研究科 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室
○前田良子, 佐藤賢人, 河野通俊, 工藤 愛, 菅谷 勉

Effect of crosslinking agent in nano-hydroxyapatite-collagen membrane with BMP application on bone formation on 4-META/MMA-TBB resin

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine.

○Nagako Maeda, Takahito Sato, Michitoshi Kouno, Megumi Kudo, Tsutomu Sugaya

【緒言】

4-META/MMA-TBB レジンは歯質に対する優れた接着性だけでなく、生体適合性にも優れ、骨にも樹脂含浸層を形成して接着すること、硬化したレジン上に増生した骨は軟組織を介することなく直接レジンと接することなどが報告されている。これらのことから骨欠損部に 4-META/MMA-TBB レジンを接着させ表面に骨を誘導することで、自在な形態の骨形成が可能ではないかと考えられる。一方、ナノハイドロキシアパタイト/コラーゲン膜は 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (EDC) やアスコルビン酸/銅を架橋剤として作製でき、生体適合性に優れ rhBMP-2 の担体として用いることが可能である。本研究の目的は、EDC またはアスコルビン酸/銅で架橋したナノハイドロキシアパタイト/コラーゲン膜を 4-META/MMA-TBB レジンに接着し、rhBMP-2 を含浸させて異所性に骨を誘導し、骨形成量およびレジンと新生骨との界面の状態を評価することである。

【材料および方法】

I 型アテロコラーゲンを塩酸に溶解し、塩化カルシウム、リン酸カリウム緩衝液およびトリス緩衝液を加えてインキュベート後、吸引ろ過して EDC またはアスコルビン酸/塩化銅で架橋し、水洗、凍結乾燥してナノハイドロキシアパタイト/コラーゲン膜とした。硬化させた 5×5mm の 4-META/MMA-TBB レジン (スーパーボンド) ブロックにメーカー指定の粉液比で混和したスーパーボンドを塗布し、さらに EDC またはアスコルビン酸で架橋したナノハイドロキシアパタイト/コラーゲン膜で被覆した。レジン硬化後に rhBMP-2 (Infuse) を膜に含浸させて移植試料とした。10 週齢ラット背部皮下結合組織内に試料を移植、観察期間を 4 週とし、脱灰薄切標本を作製してヘマトキシリンエオジン重染色して、スーパーボンドとナノハイドロキシアパタイト/コラーゲン膜との界面を観察するとともに、骨形成量を計測した。計測結果は 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 (14-016) を得て行った。

【結果と考察】

EDC 架橋、アスコルビン酸/銅架橋のナノハイドロキシアパタイト/コラーゲン膜のいずれもスーパーボンドとの界面に骨形成が認められたが、アスコルビン酸/銅架橋の方が骨基質とスーパーボンドとの接触はより多く観察された。新生骨は梁状で類骨を含んだ幼弱な骨で、骨形成量は EDC 架橋の方がアスコルビン酸架橋より有意に多かった ($p = 0.046$)。このことから 4-META/MMA-TBB レジン上に rhBMP-2 で誘導された骨は、直接レジンと接することが可能であること、担体に用いるナノハイドロキシアパタイト/コラーゲン膜は EDC 架橋の方が骨形成量は多くなるが、レジンとの界面における骨形成にはアスコルビン酸/銅架橋の方が有効である可能性が示唆された。

【結論】

rhBMP-2 で誘導された骨の量は、アスコルビン酸より 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩で架橋したナノハイドロキシアパタイトコラーゲン膜を担体にした場合の方が多かったが、スーパーボンド上への骨形成はアスコルビン酸/銅架橋の方が多かった。

***Porphyromonas gingivalis* 口腔感染のコラーゲン誘発関節炎モデルマウスの脊椎を悪化させる**

朝日大学歯学部口腔感染医療学講座歯周病学分野

○清水雄太、安田忠司、佐藤 匠、濱 拓弥、澁谷俊昭

***Porphyromonas gingivalis* oral infection exacerbates spine of collagen induced arthritis**

Division of Periodontology, Department of Oral Infections and Health Science Asahi University School of Dentistry

○SHIMIZU Yuta, YASUDA Tadashi, SATO Takumi, HAMA Takuya, SHIBUTANI Toshiaki

【目的】

歯周病は歯周病原細菌の感染によって惹起される慢性炎症であり、近年、関節リウマチ(Rheumatoid Arthritis; RA)との関連が指摘されている。RAの病因は不明な点が多いが、抗シトルリニン化ペプチド抗体(Anti-Citrullinated Peptide Antibody; ACPA)やリウマトイド因子(Rheumatoid Factor; RF)などの自己抗体が産生され、さらに環境因子が作用することでRA発症に至ると考えられている。歯周病とRAの病因の共通点として喫煙、感染症、生活習慣、ストレスなどが報告されている。このシトルリニン化タンパク(CP)に対する抗体(ACPA)やRFが臨床マーカーとなっている。CPは内因性のペプチジルアルギニン・デヒミナーゼ(Peptidylarginine Deiminase; PAD)だけでなく、(*Porphyromonas gingivalis*; *P.g*)菌が産生するPADによって生成されることによりフィブリンなどの蛋白質をシトルリニン化させ自己抗体産生を促しRAの発症や進行に関与していると考えられている。RA患者における*P.g*菌感染に関しては、本菌のDNAがRA患者の血清や滑液から高頻度に検出されたことやRA患者では健常者と比べ*P.g*菌に対する血清IgG抗体価が高いとする報告があるものの、その詳細なメカニズムは明らかでなく、歯周病とRAの関係を解明する上で重要である。これまでの研究から*P.g*菌感染がRAの増悪に与える影響についてRAモデルマウスとしてコラーゲン誘導性関節炎モデルマウス(Collagen Induced Arthritis; CIA)を用いた結果、膝関節の軟骨部における骨びらん像を示しさらに進行すると軟骨の消失、パンススの形成を認めMMP-13陽性細胞がパンスス周囲に発現した。本研究では*P.g*菌の口腔感染が脊椎に及ぼす影響を目的とした。

【材料および方法】

RAモデルマウスとしてCIAマウスの11週齢を用いた。実験群には*P.g*菌ATCC33277株(ATCC, Manassas, USA)投与群ならびに対照群としてCIA群、関節炎症状を引き起こさない非エマルジョン投与群の3群を設定した。*P.g*菌を2.5%CMC(Carboxy Methylcellulose)に懸濁して1日おきにマウスの口腔内に直接投与した。実験開始後45日目に血清、脊椎を採取し以下の項目について検討した。*P.g*菌の感染を確認するために血清抗体価をELISAにて確認した。またRAの臨床マーカーであるACPA、MMP-3量をELISA法にて解析した。下顎、脊椎は μ CTと組織学的に評価した。得られた値はt検定を用い統計処理を行った。

【結果】

Sarkarらの方法を用いた臨床的関節炎を評価した結果*P.g*菌投与群はCIA群と比較し関節炎指数の有意に増加を認めた。*P.g*菌の血清抗体価は*P.g*菌投与群において有意に増加した。血清中MMP-3濃度の測定から*P.g*菌投与群はCIA群と比較し産生量の増加を認めた。血清中ACPA濃度の測定から*P.g*菌投与群はCIA群と比較し産生量の増加を認めた。 μ CTによる解析ではCIA群と比較し*P.g*菌投与群において下顎歯槽骨の高度な骨吸収、脊椎では椎間腔の狭小化を認めた。サフラニンOによる組織所見からCIA群と比較し*P.g*投与群では脊椎の椎体終板にグリコサミノグリカンの減少を認めた。また線維輪において変形性脊椎症にみられる骨の異常増殖、靭帯石灰化を認めた。

【考察および結論】

RAの環境因子について以前は疫学的調査が中心であったが、近年は疾患感受性遺伝子との相互作用やACPAとの関連などの研究が進み、RAの発症機序に関しての知見が蓄積されつつある。本研究の結果は*P.g*菌の口腔感染が脊椎におけるRA病態の増悪を誘導することを示した。今後の課題としてさらに詳細なカスケードあるいは分子メカニズムを解明する必要がある。

本研究における動物実験は朝日大学動物実験倫理委員会の承認(16-006)を得て行った。

DNA チップを用いた歯周病原細菌の検出能の評価

株式会社ジーシー

○高山和人, 小田奈津季, 船橋英利, 熊谷知弘

Evaluation of Detectivity of Periodontopathic Bacteria Using DNA Chip

GC CORPORATION

○Kazuto Takayama, Natsuki Oda, Hidetoshi Funabashi, Tomohiro Kumagai

【緒言】

歯周病は国民の70%以上が罹患しているといわれる国民病の一つである。種々の研究より、歯周病に関連する細菌が多数報告されている。しかし、Socransky が言及したように、歯周病原細菌が口腔内にいきなり存在することはまれであり、歯面に付着した常在菌（初期付着菌）に *Fusobacterium nucleatum* が付着することにより、歯周病原細菌が付着し、歯周病が進行すると考えられている。

このように、歯周病の発症・進行には、口腔内細菌の存在バランス（細菌叢）が関わっていると考えられる。

DNA チップによる細菌検査では数十種類の細菌を一度に評価でき、細菌叢の情報を得ることが可能となる。このため、DNA チップを用いた検査により、詳細な歯周病原細菌検査が可能になることが期待される。

本研究では、DNA チップを用いて培養菌の検出を行い、DNA チップの基礎的な評価を目的とした。

【材料及び方法】

P. gingivalis JCM8525, *A. actinomycetemcomitans* JCM2434, *T. denticola* JCM8152 (いずれも国立研究開発法人理化学研究所バイオリソースセンターより購入) を培養し、QuickGene (KURABO) を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA を段階希釈し、DNA チップ（三菱レイオン）を用いて測定を行った。DNA 濃度と得られた蛍光強度についてプロットを行い、関係性を評価した。

【結果および考察】

それぞれの培養液から抽出した DNA の濃度は Pg : 8.88 ng/ μ L, Aa : 27.52 ng/ μ L, Td : 3.47 ng/ μ L となった。DNA 溶液を段階希釈し、DNA チップを用いて蛍光強度の測定を行い、X 軸に蛍光量、Y 軸に DNA 濃度の常用対数としてプロットしたところ、直線性が見られた。この時の直線の式は

$$\text{Pg: } y=1 \times 10^{-5}x+0.80$$

$$\text{Aa: } y=1 \times 10^{-5}x-0.14$$

$$\text{Td: } y=1 \times 10^{-5}x+0.76$$

となった。

これより、培養菌から抽出した DNA を用いて検量線を作製することが可能であることが示唆された。この方法で他の細菌についても検量線を作成し、定量性を持った検査が可能になるように検討を進める予定である。

【結論】

培養菌から抽出した DNA を用いて DNA チップでの測定を行った結果、DNA 濃度依存的に蛍光量に変化し、検量線を作成可能であることが示唆された。DNA チップの定量性が認められたため、歯周病の病態による細菌数の変化を評価できると考えられ、歯周病の管理に使用できることが期待される。

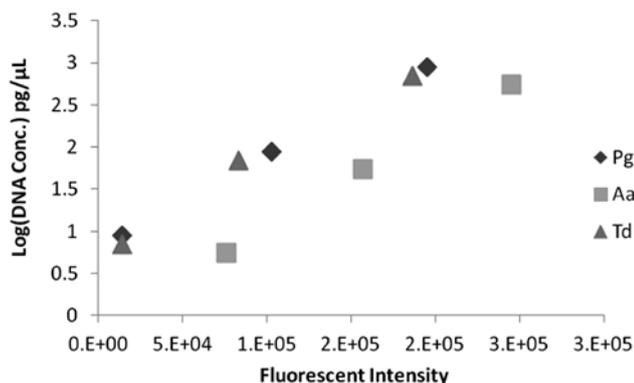


Fig: Correlation between fluorescent intensity and DNA concentration

Zn 置換 Hydrotalcite の歯周関連細菌に対する抗菌性

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⁾
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²⁾
○尾池和樹¹⁾, 森田侑宜¹⁾, 藤井和夫¹⁾, 作誠太郎¹⁾, 横川善之²⁾, 堀田正人¹⁾

Antibacterial effects of zinc-substitute hydrotalcite on periodontal disease-related bacteria

¹⁾ Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science
and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry
²⁾ Department of Mechanical & Physical Engineering, Osaka City University,
Graduate School of Engineering
○Oike Kazuki¹⁾, Morita Yuki¹⁾, Fujii Kazuo¹⁾, Saku Seitaro¹⁾,
Yokogawa Yoshiyuki²⁾, Hotta Masato¹⁾

【目的】

我々は口腔内に近い条件下で揮発性硫黄化合物(Volatile Sulfur Compounds 以下, VSC)の吸着能の優れたセラミック多孔体である Hydrotalcite (HDT) の開発に取り組んでいる。第 144 回日本歯科保存学会において、MgHDT: $[Mg_{1-x}Al_x(OH)_2][A^{n-}_{x/n} \cdot nH_2O](A^{n-}:CO_3^{2-}, x=0.33)$ の Mg を Zn に置換した ZnHDT: $[Zn_{1-x}Al_x(OH)_2][A^{n-}_{x/n} \cdot nH_2O](A^{n-}:CO_3^{2-}, x=0.33)$ が液体培地中の歯周病関連菌である *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25611 (*F. nucleatum*) から産生される H₂S 産生量を著しく抑制する効果があり、吸着能に優れることを発表した。今回、ZnHDT には吸着能だけでなく、抗菌作用もあるかどうか *F. nucleatum* に対する増殖度から検討した。

【材料および方法】

使用した各種 HDT は MgHDT と ZnHDT, MgHDT を電気炉にて 500°C で 30 分間熱処理したもの (MgHDT500) の 3 種類である。

F. nucleatum の培養方法は藤井らの方法に順じて、0.5% 酵母エキス、5 μg/mL ヘミン、0.5 μg/mL メナジオンを含む Brain Heart Infusion (BHI 培地, BD, 東京) を用い、48 時間嫌気培養した培養菌液 2 mL に含有アミノ酸である 0.05% L-システインを添加し、あらかじめ 1 日嫌気状態にしておいた 40 mL の培地に接種した。その後、アシストチューブに 4 mL ずつ分注後、MgHDT (0.04g)、MgHDT500 (0.04g)、ZnHDT (0.04g) を別々に加え、37°C で嫌気培養を行った。菌液を接種後、培養液の OD 値を分光光度計にて 600nm の波長により経時的な増殖曲線を求めた。また、細菌増殖曲線にて HDT を添加していない菌液の OD 値が 1.0 に到達した時間における各種 HDT を加えた菌液の生菌数を Colony Forming Unit (CFU/mL) にて算出した。

【結果および考察】

各種 HDT の *F. nucleatum* 発育に与える影響は、HDT なしと比べて、MgHDT と MgHDT500 の発育曲線はほとんど同じで、菌への発育の影響はほとんどなかった。ZnHDT は 4 時間後から発育の影響を認め、30 時間まで持続していた。また、ZnHDT は CFU においてもコロニー数の低下を認めた。*F. nucleatum* が産生した H₂S 濃度の著しい低下は、ZnHDT の硫化物に対する吸着性によるものと細菌の増殖を抑制する作用によることが本実験から示唆された。

【結論】

液相において VSC を効率的に吸着して除去できる Zn を含むセラミック多孔体の ZnHDT は、VSC を発生する細菌に対して抗菌性を示すことから、唾液や口腔内細菌の影響が考えられる口臭を抑制することに効果的であり、臨床応用に有用であることが示唆された。

S-PRG イオン溶出液による硫化水素抑制メカニズムの解明

¹⁾ 福岡歯科大学 総合歯科学講座, ²⁾ 福岡歯科大学 口腔保健学講座

³⁾ 大阪市立大学 工学研究院

○廣藤卓雄¹⁾, 谷口奈央²⁾, 榎尾陽介¹⁾, 横川善之³⁾, 米田雅裕¹⁾

Mechanisms for inhibiting hydrogen sulfide by S-PRG eluate

¹⁾ Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College

²⁾ Department of Preventive and Public Health Dentistry, Fukuoka Dental College

³⁾ Graduate School of Engineering, Osaka City University

○Takao Hirofuji¹⁾, Nao Taniguchi²⁾, Yosuke Masuo¹⁾, Yoshiyuki Yokogawa³⁾, Masahiro Yoneda¹⁾

【緒言】

S-PRG フィラーは生体機能性を持つと考えられる数種類のイオンを徐放することを特徴とする歯科材料である。これまでに我々は、S-PRG フィラーのイオン溶出液に歯周病原細菌のプロテアーゼ活性及びゼラチナーゼ活性の抑制作用、共凝集への阻害作用、口腔バイオフィルムの形成に対する抑制作用、成熟した口腔バイオフィルムに対する破壊作用があることを報告した。これらの性質から、S-PRG イオン溶出液は口臭のコントロールに有用であると予想し、本研究ではその効果とメカニズム解明を目的として、硫化水素に対する反応を調べた。

【材料と方法】

①溶出イオンの硫化水素発生に対する直接的反応の評価

優れた消臭作用を持つ Ag^+ や Zn^{2+} などの金属イオンは、抗菌作用の他に、硫化物イオンと化学的結合し揮発化を抑えることにより口臭を抑制すると考えられている。S-PRG 溶出イオンのうち Sr^{2+} や Al^{3+} に同じメカニズムによる口臭抑制作用があると仮定し、NaHS 溶液と SrCl_2 溶液あるいは AlCl_3 溶液を混合し、 H_2S 発生に対する影響を調べた。

②硫化水素発生装置を用いた S-PRG イオン溶出液滴下による液相と気相の硫化水素濃度の変化

硫化水素発生装置により H_2S 標準液を調製し、S-PRG イオン溶出液、S-PRG フィラー、球状シリカ、炭酸水素カリウムをそれぞれ添加し、3 時間攪拌し、1 時間ごとに気相と液相の H_2S 濃度をガスクロマトグラフィーあるいはメチレンブルー法にて測定した。また 3 時間後における液相の pH を測定した。

【結果と考察】

①溶出イオンの硫化水素発生に対する直接的反応の評価

S-PRG イオン溶出液は水に比べて H_2S 発生を約 25%抑制した。一方、溶出イオンを含む SrCl_2 溶液及び AlCl_3 溶液を加えても H_2S の発生は全く抑制されなかった。これらの実験結果から、S-PRG イオン溶出液による口臭抑制メカニズムは、溶出イオンの硫化物イオンへの化学的結合によるものではない可能性が出てきた。

②硫化水素発生装置を用いた S-PRG イオン溶出液滴下による液相と気相の硫化水素濃度の変化

S-PRG イオン溶出液、S-PRG フィラー、炭酸水素カリウムの反応液では気相の H_2S 濃度は低下し液相の H_2S 濃度は増加した。一方、球状シリカの反応液では H_2S 濃度は変化しなかった。反応 3 時間後の液相の pH を測定したところ、S-PRG フィラー及び炭酸水素カリウムの反応液では pH の上昇がみられ、球状シリカの反応液では pH の変化もみられなかった。これらの結果から、前者では pH が上昇することにより気相の H_2S 濃度が低下した可能性が示唆された。

【結論】

S-PRG イオン溶出液には水よりも優れた口臭成分の抑制能があり、そのメカニズムは溶出イオン種によるものではない可能性が高く、pH の上昇によるものであることが示唆された。

慢性歯周炎に対する抗菌的光線力学療法と局所薬物配送システムの臨床および微生物学的効果

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔生命科学専攻摂食環境制御学講座 歯周診断・再建学分野

²新潟大学医歯学総合病院予防・保存系歯科 歯周病科

○保莉崇大¹, 両角俊哉², 小松康高², 久保田健彦^{1,2}, 吉江弘正^{1,2}

Clinical and microbiological effect of antimicrobial photo dynamic therapy and local drug delivery system for chronic periodontitis

¹Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

²Division of Periodontics, Department of Preventive and Conservative Dentistry, Niigata University Medical & Dental Hospital

○Takahiro Hokari¹, Toshiya Morozumi², Yasutaka Komatsu², Takehiko Kubota^{1,2}, Hiromasa Yoshie^{1,2}

【研究目的】

これまでの歯周病治療は機械的療法（器具によるプラーク・歯石除去）や抗菌薬を併用する機械化学療法が主体であった。しかしながら、それらには疼痛や出血、耐性菌出現等の問題があり、新しい治療法の確立が期待されている。近年、光と色素の併用による光化学反応を利用した「抗菌的光線力学療法（Antimicrobial Photo Dynamic Therapy: a-PDT）」が新しい手段として注目を集めている。歯周ポケット内細菌を染色し光感受性を起こした後、これに反応する波長の光をアクチベーターとして照射することで活性酸素を発生させ細菌を死滅させる治療法である。これまで様々な基礎的・臨床的研究が行われ、その可能性が示唆されている。そこで本研究では、慢性歯周炎患者の歯周ポケットに対し従来の抗菌療法もしくは a-PDT を行い、その臨床および微生物学的効果を比較検討した。

【材料と方法】

新潟大学医歯学総合病院歯周病科および誠敬会クリニック（横浜市）を受診し、本研究の趣旨に同意した慢性歯周炎患者 30 名を無作為に 2 群に分けた（a-PDT 群：15 名、LDDS 群：15 名）。プロービングポケットデプス（PPD）5-8 mm の 2 部位を選定し、a-PDT（PeriowaveTM）もしくは LDDS（ミノサイクリン軟膏）によるポケット内処置を 2 週連続（計 2 回）行った。選定部位における歯肉溝滲出液（GCF）採取、縁下プラーク採取および歯周病検査は計 3 回（処置前、処置 1, 4 週後）行われた。得られた試料より GCF 中バイオマーカーを Multiplex Assay にて網羅的に解析した。また、modified Invader PLUS assay により主要な歯周病原菌数を定量した。本研究は新潟大学医歯学総合病院医薬品・医療機器臨床研究審査委員会により承認されたプロトコールに従って実施されている（NH25-010）。

【結果および考察】

臨床パラメーターの内、PPD と BOP 陽性率が a-PDT 群において 4 週後に、LDDS 群において 1, 4 週後に有意に減少した（ $P < 0.05$ ）。細菌マーカーでは、LDDS 群において *P.gingivalis* と *T.forsythia* 数が 1, 4 週後に、それら細菌の対総菌数比率が 1 週後に有意に減少した（ $P < 0.05$ ）。GCF 中バイオマーカーでは、LDDS 群において IFN- γ と IL-1 β が 1, 4 週後、TNF- α が 4 週後に有意に低下した（ $P < 0.05$ ）。

これらの変化に関し、LDDS 群においては薬剤滞留性や抗菌および抗コラゲナーゼ作用が影響したと考えられる。一方、a-PDT 群においては歯石の存在により歯周ポケット底部までは光が十分に到達しなかった可能性がある。

【結論】

本プロトコールにおいて、a-PDT は臨床パラメーターを有意に改善させたが、GCF 中サイトカインレベルには影響を示さなかった。

（会員外共同研究者：新潟大学医歯学総合病院インプラント治療部 清水太郎，医療法人社団誠敬会 誠敬会クリニック 吉野敏明，田中真喜，田中良枝）

大型太陽電池付酸化チタン電極内蔵歯ブラシのプラーク除去効果について

日本医科大学千葉北総病院 歯科
○藤川瑞穂, 村田侑加, 堀内亜悠子, 吉峰正彌, 鴨井久博

The effect of dental plaque removal by the use of the TiO₂ electrode built-in toothbrush with large-sized solar panel

Nippon Medical School Chiba Hokusou Hospital Dental Clinic
○Mizuho Fujikawa, Yuka Murata, Ayuko Horiuchi, Masaya Yoshimine, Hisahiro Kamoi

【目的】

口腔内疾患の発症や予防のために、日々のブラッシングによるプラークコントロールはとても重要である。1960年代に光触媒が発表されて以来、酸化チタン (TiO₂) は化学的安定性と光触媒機能によって有機物分解・抗菌・大気浄化・脱臭などの様々な分野に実用化されている。歯科においては、プラーク中のう蝕病原因子である *S.mutans* に対する TiO₂ の抗菌性に関する報告や、TiO₂ 配合歯磨剤がこれを減少させるう蝕予防効果があるとの報告がある。また、歯周病原性細菌として代表的な *P.gingivalis* に対する抗菌作用、*Candida albicans* に対する抗真菌効果も報告されている。また、TiO₂ の光触媒効果は、太陽電池を付与することで強化され、*S.mutans* の酸産生・付着の抑制が増強されることが報告されており、この TiO₂ の抗菌作用に着目した太陽電池付酸化チタン電極内蔵歯ブラシが、効果的なプラークコントロールに有効であることが示されている。

そこで今回、新たに大型太陽電池付歯ブラシを用いて、プラーク除去効果について多角的に有用性を評価する。

【対象および方法】

被験者は、口腔清掃方法に対して知識・能力を持つ条件を満たす男女年齢不問の10名を対象とした。被験歯は、Ramfjord 6歯 (16,21,24,36,41,44 または代替歯) とし、プラーク蓄積に著しく影響を及ぼす修復物がないものとした。

使用器具は、大型太陽電池付酸化チタン電極内蔵歯ブラシ SOLADEY N4[®] シケン (以下 N4)、従来型太陽電池付酸化チタン電極内蔵歯ブラシ SOLADEY 3[®] シケン (以下 3)、SOLADEY N4[®] と同様な形態で酸化チタン電極を内蔵していない歯ブラシ (以下 N4S) を使用した。研究方法は、ブラッシング時は歯磨剤を使用せず、5分間ブラッシングを行い、清掃後評価を行った。付着プラークの評価方法は、プラークの点数化は Rustogi Modification Navy Plaque Index を用い、歯頸部・平滑面・隣接面を9分割にし、頬側・舌側の測定をした。

また口腔内細菌レベルの測定には細菌数測定装置、細菌カウンタ[®] (パナソニック) を用い、歯ブラシ使用前後に測定した。統計解析は、t-検定を用いて、前後の測定値の比較および2群間の比較を行った。

【結果・考察】

プラーク除去率は、口腔内全体では N4>N4S>3 となった。頬側面、舌側面、隣接面において N4 で最も高い除去率が得られた。頬側平滑面、舌側平滑面、頬側歯頸部、舌側歯頸部においても同様の結果が得られた。

歯種別では、21 において N4S が高い除去率が得られたが、その他の歯では N4 で最も高い除去率が得られた。

ブラッシングが困難である上顎臼歯部舌側においては、N4S・3 の除去率が 20%代であるのに対し、N4 では約 43% の除去率を示された。口腔内の細菌数の減少は、N4 が最も減少傾向がみられ、N4S・3 で同様な減少がみられた。

これらの結果より、大型太陽電池付歯ブラシは、従来型太陽電池付酸化チタン電極内蔵歯ブラシや酸化チタン電極内蔵していない歯ブラシと比較して、口腔清掃効果が高いことが示された。特に、プラーク除去の困難な隣接面、歯頸部において、高い除去率を示したことから、歯ブラシの毛先による機械的な除去と共に、TiO₂ の光触媒作用による化学的な除去効果が影響したと考えられる。

今後、大型太陽電池付歯ブラシは、う蝕・歯周病予防のプラークコントロール効果への有効性に期待できることが示唆された。

血管内皮細胞に対する Nd:YAG レーザーの創傷治癒促進効果の検討

- 1) 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科歯周機能治療学 2) 日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座
3) 日本歯科大学新潟病院総合診療科 4) 日本歯科大学先端研究センター再生医療学
○外山淳史¹ 丸山昂介² 清水 豊^{2,3} 両角祐子² 佐藤 聡^{1,2,4}

Study of wound healing acceleration effect of Nd: YAG laser on vascular endothelial cells

- 1) Periodontology, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
2) Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
3) Comprehensive Dental Care at Niigata Hospital, The Nippon Dental University
4) Division of Cell Regeneration and Transplantation, The Nippon Dental University
○Atsushi Toyama¹, Kosuke Maruyama², Yutaka Shimizu^{2,3}, Yuko Morozumi², Soh Sato^{1,2,4}

【目的】

血管内皮細胞は、血管壁の最内層に存在している。血管作動性物質を放出し、血管壁の収縮や弛緩、血管壁への炎症細胞の接着、血管透過性、凝固や線溶系の調節等の重要な役割を果たし、創傷治癒の初期の段階で重要な役割を担っている。つまり、血管内皮細胞の活動を活性化させることは、組織の再生や創傷治癒において血管の健康状態の維持、改善に重要である。

また、Nd:YAG レーザーは、波長や出力を変化させることにより、生体に様々な効果をもたらすことが知られている。歯科診療の現場では、切開、止血、凝固や血流の改善・促進、抗炎症および創傷治癒促進効果、細胞賦活効果を目的として使用されている。近年では、ヒト歯肉線維芽細胞へ低出力で照射することにより細胞活性化の促進を認めた報告もあるが、細胞を用いた報告はまだ少ない。

そこで本研究では、Nd:YAG レーザーの照射出力・回数の変化に伴い、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) の生理学的変化について検討することとした。

【材料と方法】

HUVEC は EGM-2 培地を用いて 5%CO₂、37℃にて培養を行い、その後 1500cells/well に調整し、96well-plate に播種した。24 時間培養し Nd:YAG レーザーを照射した。本研究では、Nd:YAG レーザーはパルス発振で照射を行うインパルスデンタルレーザーを使用した。照射条件は、Pulse energy 0~200mJ Pulse rate 5PPS ワンショット照射 (1 秒間) とし、照射回数は 1 回、3 回、5 回とした。培養は 7 日間行い、その後、細胞増殖活性、形態変化について検討を行った。細胞増殖の評価は、Alamar Blue を用いたミトコンドリア還元染色を行った後に、蛍光プレートリーダーを使用し、蛍光度の測定を行った。細胞形態変化の評価は、倒立位相差顕微鏡にて観察を行った後に、ランダムに選択して撮影した画像を用いて、イメージングソフトウェアにて細胞長径を算出した。

【結果】

HUVEC はレーザー照射 1 回、3 回、5 回の群ともにコントロールと比較し、細胞増殖の活性を認めた。また、形態学変化では、コントロールと比較し、レーザーを照射した群では細胞長径の増加を認めた。

【考察】

本研究の結果より、Nd:YAG レーザーを低出力で照射することにより、血管内皮細胞の活性が増加し、創傷治癒の促進に効果があると考えられる。

糖尿病誘導ラットにおけるインスリン投与が実験的歯周炎に及ぼす影響

愛知学院大学歯学部歯周病学講座¹、内科学講座²、口腔解剖学講座³

○西川徹¹、成瀬桂子²、中村信久²、足立圭¹、鈴木佑基¹、
菊池毅¹、本田雅規³、松原達昭²、三谷章雄¹

Effect of insulin on the experimental periodontitis in diabetes rats.

Department of Periodontology¹, Internal Medicine², and

Oral anatomy³, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○Toru Nishikawa¹, Keiko Naruse², Nobuhisa Nakamura², Kei Adachi¹, Yuki Suzuki¹

Takeshi Kikuchi¹, Masaki Honda³, Tatsuaki Matsubara², Akio Mitani¹

【目的】歯周病は糖尿病合併症の1つであり、糖尿病と歯周病は密接に関連していることが知られている。我々はいくつかの糖尿病誘導ラット(DMラット)ならびにノーモラルラット(NLラット)の実験的歯周炎において、DMラットはNLラットに比べ歯周組織での炎症反応が増強し、ニトロ化反応産物である nitrotyrosine の顕著な増加を認め、糖尿病における歯周炎の悪化にニトロ化反応が関与していることを報告してきた(Nishikawa et al, *J Clin Periodontol* 2012)。ニトロ化反応の抑制が、糖尿病に合併する歯周炎の治療戦略となる可能性が考えられ、臨床的にも学術的にも重要な意義を有すると思われる。今回我々は、歯周炎を惹起させたDMラットにインスリン治療を実施し、ニトロ化反応ならびに歯周炎の抑制効果を検討した。

【方法】5週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットに streptozocin(STZ)(50 mg/kg)を腹腔内投与し、糖尿病を誘導した。STZ投与2週間後の血糖値が、200 mg/dl以上のラットをDMラットとして実験に用いた。NLラットおよびDMラットに対し、上顎右側第二臼歯の歯頸部にナイロン糸を結紮し、実験的歯周炎を惹起し、対側をコントロール側とした。DMラット半数の背部皮下にインスリンパレット(LINPLANT、LINSHIN Canada社)を挿入し、DM+インスリンラットとした。実験的歯周炎の評価として、歯肉における組織血流の測定(レーザー血流計オメガフロー、OMEGAWAVE社)、遺伝子発現解析、組織学的評価(H・E染色、免疫染色)、マイクロCT撮像を行った。さらにヒトマクロファージ細胞株 THP-1 細胞を用いて、LPS誘導炎症性サイトカイン発現に対するインスリンの効果を検討した。

【結果】NLラットに比較し、DMラットでは体重減少および血糖値とHbA1cの上昇を認めたが、DM+インスリンラットはDMラットと比べ有意な体重増加および血糖値とHbA1cの低下を認めた。歯肉における組織血流は、DMラット歯周炎側でNLラット歯周炎側と比較し低下していたが、DM+インスリンラット歯周炎側ではその有意な回復を認めた。TNF- α とiNOSのmRNA発現は、DMラット歯周炎側で顕著な増加を認め、DM+インスリンラット歯周炎側では有意な発現減少を認めた(TNF- α : DMラット歯周炎側, 3.0倍, DM+インスリンラット歯周炎側, 1.7倍; iNOS: DMラット歯周炎側, 7.3倍, DM+インスリンラット歯周炎側, 3.3倍 vs DMラットコントロール側)。H・E染色において、DMラット歯周炎側で顕著な炎症性細胞浸潤を認めたが、DM+インスリンラット歯周炎側では炎症性細胞浸潤の減少を認めた。また、免疫染色において、DMラット歯周炎側では多数の nitrotyrosine 陽性細胞を認めたが、DM+インスリンラット歯周炎側では nitrotyrosine 陽性細胞は有意に減少していた(DMラット歯周炎側: 41.5 ± 13.9 個/mm², DM+インスリンラット歯周炎側: 12.0 ± 5.9 個/mm²)。マイクロCT解析において、DMラット歯周炎側では顕著な骨吸収像を認めたが、DM+インスリンラット歯周炎側では骨吸収の有意な減少を認めた(CEJから歯槽骨骨頂部までの距離: DMラット歯周炎側, 3.3 ± 0.5 mm, DM+インスリンラット歯周炎側, 2.1 ± 0.3 mm)。THP-1細胞において、インスリンはLPSが誘導するTNF- α 及びiNOSのmRNA発現を有意に抑制した(LPS単独: TNF- α , 2.5 ± 0.5 倍; iNOS, 3.8 ± 0.5 倍, LPS+インスリン: TNF- α , 1.3 ± 0.2 倍; iNOS, 1.5 ± 0.3 倍)。

【結論】糖尿病誘導ラットにインスリン治療を行うことにより、血糖コントロールが改善するだけでなく、歯周組織の炎症反応が减弱し、ニトロ化反応が抑制され、さらに歯槽骨吸収も抑制された。また、THP-1細胞を用いた実験結果より、インスリンが直接的に炎症を抑制することが明らかとなった。すなわち、糖尿病患者の歯周炎に対して、インスリン治療は直接あるいは血糖コントロール改善を介して歯周炎改善効果を呈することが示唆された。

ヒト歯根膜由来細胞株の確立

-Down 症候群歯根膜由来細胞との SDF-1 発現解析-

昭和大学歯学部 小児成育歯科学講座,*口腔生化学講座,**スペシャルニーズ口腔医学講座障害者歯科学部門.
徳島大学歯学部小児歯科学分野. *岩手医科大学学生化学講座細胞情報学分野.

○浅川剛吉,*宮本洋一,*吉村健太郎,*笹清人,***長谷川智一,**馬目瑠子,*上條竜太郎,杉山智美,****帖佐直幸,
****石崎明,島田幸恵.

Establishing of expression on periodontal ligament cells derived from human teeth

- SDF-1 α regulation of expression on periodontal ligament cells derived from Down syndrome teeth-

Department of Pediatric Dentistry,*Department of Biochemistry,**Department of Special Needs Dentistry,
Division of Dentistry for Persons with Disabilities, School of Dentistry Showa University. ***Tokushima University
Department of Pediatric Dentistry. ****Division of Cellular Biosignal Sciences, Department of Biochemistry,
Iwate Medical University.

○Asakawa Takeyoshi,*Yoichi Miyamoto,*Kentaro Yoshimura,*Sasa Kiyoto,***Tomokazu Hasegawa,
Yoko Manome,*Ryutaro Kamijo, Tomomi Sugiyama,*Naoyuki Chosa,****Akira Ishizaki, Yukie Shimada.

【目的】歯根膜には多様な細胞が含まれておりヒト永久歯歯根膜から分離された Heterogeneous な細胞集団は骨様組織形成能を持ち多分化能を有することが報告されている(Eur J Orthod.1997,19(6):615-636.)。また、骨髄間質細胞誘導因子:Stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α)は造血幹細胞の骨髄へのホーミングに必修のケモカインであり、血管新生や歯周組織の恒常性の維持においても重要な因子である。さらに、Down 症の原因遺伝子である 21 番染色体トリソミーは、同染色体上にある DSCR-1 の活性を亢進させ、血管形成に関するカルシニューリンシグナル経路を阻害することで血管新生を抑制する。これは腫瘍による血管新生においても同様であり、結果として Down 症は、固形癌による死亡リスクが一般集団のわずかに 10%である(Nature. 2009, 459:1126-1130.)。

本研究では健康者永久歯歯根膜細胞を分離培養し、獲得した細胞株の分化能解析、また Down 症歯根膜由来細胞において SDF-1 の発現解析を行った。(昭和大学歯学部医の倫理委員会承認番号第 2013-007 号)

【対象と方法】①永久歯歯根膜由来細胞の分離(PDL) 不死化、Down 症歯根膜由来細胞(PDLDS)の分離: 矯正歯科治療のために抜去された永久歯から歯根膜細胞を無菌的に分離培養し Simian virus 40 Large T および human telomerase reverse transcriptase の発現ベクターを導入後 single cell cloning を行った。また、Down 症候群患者より歯科治療のために抜去した永久歯からも同様に歯根膜細胞を無菌的に分離培養した。

②石灰化能の確認: 石灰化誘導培地(10%FBS α MEM, dexamethasone, ascorbic acid, β -glycerophosphate)にて 4 週間培養後、Von kossa,ALP 染色にて確認した。

③脂肪細胞分化能の確認: 脂肪細胞誘導培地(10%FBS α MEM, dexamethasone, indomethacin, insulin, isobutyl methyl xanthine, IBMX)にて 2 週間培養後、Oil red O 染色にて確認した。

④SDF-1 α 発現解析: FGF-2 を 10ng/ml 投与後 48 時間後の SDF-1 α 発現の特徴について検討を行った。

⑤Population Doubling Level の確認

【結果】①Homogeneous なヒト永久歯歯根膜由来細胞(TAPDL1,2,3,4,5)を獲得した。②TAPDL1~5 において Vonkossa, ALP 陽性であった。③TAPDL1~5 において脂肪細胞への分化を確認した。④TAPDL1 において FGF-2 による SDF-1 α 発現の抑制を認めたが Down 症候群由来歯根膜細胞においては有意に発現が低かった(図 1)⑤TAPDL1~5 において Hayflick limit を超えて分裂を認めた(図 2)。

【考察】今回獲得した 5 つの clone について分化能の違いは認めず FGF-2 による SDF-1 α 発現の効果も同様であった。Down 症歯根膜由来細胞においては SDF-1 α の発現が低く Growth Factor の影響も認めないことから血管新生の抑制すなわち歯周組織における恒常性の維持に SDF-1 α も関与していると思われる。今後は Down 症モデルマウス (TS1Cje,TS2Cje)を用いてさらに詳細を解析する。

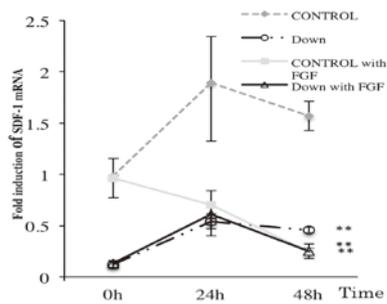


Fig.1

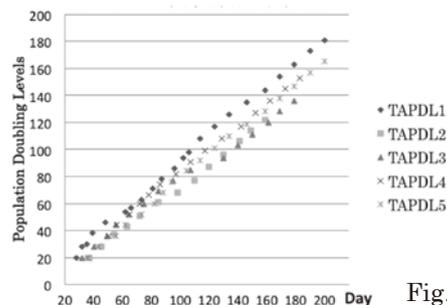


Fig.2

患者視点からの歯周組織再生療法の選択基準

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
○畑中加珠¹⁾, 下江正幸²⁾, 大森一弘¹⁾, 山本直史¹⁾, 高柴正悟²⁾

Patients' choice of method for periodontal tissue regeneration arisen by questionnaire

¹⁾ Department of Periodontics and Endodontics, Okayama University Hospital, ²⁾ Department of Pathophysiology - Periodontal Sciences, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○HATANAKA Kazu¹⁾, SHIMOE Masayuki²⁾, OMORI Kazuhiro¹⁾, YAMAMOTO Tadashi¹⁾, TAKASHIBA Shogo²⁾

【研究目的】

歯周炎によって失われた歯周組織の再生をより多く期待する際には、「歯周組織再生療法」が選択される。今日、「組織再生」に必要な3要素(細胞, 増殖因子, 足場)を利用した再生材料の開発が進み, 臨床応用されている。歯周組織再生療法には, 骨欠損の形態による適応の限定や高度な技術を必要とする場合がある。また, 他の生物由来物で生成されるために感染の危険が否めない材料や, 遺伝子組換えによって生成される材料もある。さらには, 保険収載されているものといないものが存在する。従って, 患者は治療法の選択に困惑することが考えられる。

そこで, 本研究は, 歯周炎患者を対象に歯周組織再生療法の選択に関するアンケート調査を行い, 患者視点からの歯周組織再生療法の選択基準について検討することを目的とした。

【方法】

匿名アンケート調査を実施した。対象者は, 平成27年9月29日から平成28年3月31日の間に, 岡山大学病院歯周科を外来受診した歯周炎患者から, ①自由意思による研究参加の同意を本人から口頭で取得可能な患者, および, ②同意取得時の年齢が20歳以上の成人患者を選択して, 歯周組織再生療法の解説, 質問, 回答の用紙を配布した。アンケートの項目は, ①年齢と性別, ②歯周外科処置経験の有無, ③11種類の再生療法の利点と欠点の表を見た上でそれらの療法を受け入れるか否か, あるいはどちらでもないからの3選択, ④意見の自由記述である。列挙した再生療法は, 自家骨, 他家骨, 異種骨, 人工骨, エムドゲイン(EMD), 塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF-2), 骨形成タンパクあるいは血小板由来増殖因子(BMP/PDGF), 多血小板血漿(PRP), 多血小板フィブリン(RPF), 歯周組織再生誘導法(GTR), さらに自己幹細胞移植の11種類である。提出された回答を統計解析した。

なお, 本研究は, 岡山大学医療系部局研究倫理審査専門委員会(研1509-002)の承認を受け実施した。

【結果】

男性134名(平均年齢64.9 ± 12.3歳), 女性274名(平均年齢63.1 ± 12.0歳), 未記入3名の合計411名から回答が得られた。歯周外科処置の経験は有136名, 無244名, 不明31名であった。治療法別に比較すると, 自家骨の移植およびPRPあるいはPRFは60%以上が受け入れると回答し, 他家骨および異種骨は60%以上が受け入れないと回答した。また, 全体の64%が安全面を判断基準として重視すると記述していた。さらに, 性別で比較すると, いずれの治療法においても男性の方が受け入れるとの回答が多かった。選択した総数で比較してみると, 若い年齢層は受け入れるが多く, 歯周外科処置経験が有の者は受け入れないが少なかった。

【考察および結論】

本研究は, 主に再生材料の原料について利点と欠点の表に記したため, 自己由来のものが受け入れられやすい結果になったと考えられる。このことは, 安全面を重視すると自由記述した者が, 治療効果や費用面を重視すると記述した者以上に多かったこととも合致する。また, 大学病院を受診している男性は治療への関心が高く, 歯周外科処置についても積極的に受容したと予想できる。一方で, 「どちらでもない」の選択やよく解らないという意見が多く見られたことから, 施行する際は患者への十分な説明が必要であることを改めて認識した。また, 歯周組織再生療法の具体的な内容については一般社会への認知度が低く, その啓発と普及が課題と感じた。

以上から, 歯周病患者は歯周組織再生療法において治療法を選択する際には, 安全面を最も意識していることが明らかになった。

広汎型侵襲性歯周炎患者において SPT 5 年経過時にみとめられた 界面活性剤を起因とする粘膜剥離の一症例

日本大学歯学部保存学教室歯科保存学第Ⅲ講座¹⁾

日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療部門²⁾

○高野 麻由子^{1), 2)}, 吉沼 直人^{1), 2)}, 菅野 直之^{1), 2)}, 佐藤 秀一^{1), 2)}

The short-term side effect to oral mucosa caused by oral rinse with surface-active agent during supportive periodontal therapy in a patient with aggressive periodontitis: a case report

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry¹⁾

Advanced Dental Treatment, Dental Research Center, Nihon University School of Dentistry²⁾

○Mayuko Takano^{1), 2)}, Naoto Yoshinuma^{1), 2)}, Naoyuki Sugano^{1), 2)}, Shuichi Sato^{1), 2)}

【緒言】

侵襲性歯周炎は、全身的に健康であるが急速な歯周組織破壊や家族内集積を認めることを特徴とする歯周炎である。特定の細菌の関与や生体防御機能および免疫応答の異常なども二次的特徴として定義されており、近年では自己免疫疾患等との関連性も報告されているが、その病態は未だ明らかでない。

歯周炎の主因子は大半のケースにおいてプラークであり、歯周治療においてプラークコントロールは必須項目である。プラークコントロールは物理的プラークコントロールと化学的プラークコントロールに分けられるが、ツールの選択を含む個々の患者に合った TBI は歯周治療の成功および長期予後を左右するといつて過言ではない。

演者らは、広汎型侵襲性歯周炎患者の SPT 移行 5 年経過時に粘膜剥離を観察し、洗口剤の適切な変更によって粘膜剥離の消失をみとめた 1 症例について報告する。

【症例】

患者は初診時 29 歳の女性で、体調不良時に出現する上顎右側第 1 大臼歯部の違和感を主訴として来院された。全身既往歴に特記事項はなく、喫煙歴もなく BMI は正常範囲内であった。初診時検査より広汎型侵襲性歯周炎と診断し、歯周基本治療、歯周外科治療後に再評価を行い、サポートィブペリオドンタルセラピー (以下、SPT) へ移行した。SPT 移行 5 年経過時に粘膜剥離を観察したため、歯磨剤および洗口剤の変更の有無を確認したところ、界面活性剤含有の洗口剤への変更の既往が確認された。界面活性剤を起因とする粘膜剥離である可能性を説明し、界面活性剤を含有していない洗口剤の使用を指示した。変更後、粘膜剥離は消失し、その後も粘膜剥離はみとめられず現在に至る。

【考察】

化学的プラークコントロールに代表される洗口剤は現在広く普及しており様々な種類が開発されている。それに伴い、界面活性剤を含有する洗口剤使用時の粘膜剥離が報告されている。その発生頻度は 0.001% 程度と言われ、稀であることから報告は少ないが、アレルギーとの関連が考えられている。今後、侵襲性歯周炎の病態解明のため、さらなる検証および報告が求められる。

インプラント周囲粘膜炎に対して再生療法にて対応した症例 12ヶ月予後

白井歯科
○白井 義英, 山田 実, 田幡 元, 藤木 傑

A clinical case of regenerative therapy for peri-implant mucositis. 12 months follow-up

SHIRAI Denal Clinic
○Yoshihide SHIRAI, Minoru YAMADA, Hajime TABATA, Suguru FUJIKI

【緒言】

口腔機能回復治療としてインプラントを選択する症例が増加してきている。また、治療後の歯周組織に炎症と咬合性外傷を誘発しないことが重要となる。しかし、インプラント治療の普及とともに症例選択の誤りや術後の管理等の問題から生じるインプラント周囲粘膜炎やインプラント周囲炎の発生頻度が高くなってきている。また、インプラント周囲炎の診断においても歯周病の診断に準じた検査・診断を正確に行い、それぞれの症状に応じて治療法も様々な方法が試みられてきている。そこで、今回は再生療法にて対応した症例について報告する。

【症例】

2015年4月17日に当院へインプラント植立部の疼痛を主訴として来院された37才の女性。全身既往歴に特記事項なし。初診時の状態は、インプラント植立部の疼痛と同部の裂開を認めた。

X線診査とボーンサウンディングから唇側歯槽骨の広範囲な欠損が確認された。

【経過】

一般的な歯周外科と同様に、まず、最初に検査・診断を行い、BOP(+)がみられた部位については患者自身による縁上プラークコントロールの大切さを十分に説明し理解してもらおう。患者によるプラークコントロールの実施と併行して術者による縁下プラークコントロールも行い、全顎にわたりBOP(-)となる様に外科処置前に口腔内環境を改善しておく。その後、再生療法を行う事を患者に説明し同意が得られた後に施術を行った。施術はインプラント汚染部の徹底したデブライメント(生理食塩水にて十分に洗浄)の後に、吸収性膜と β -TCPを併用しての再生療法を行った。

【予後】

術後5日間は抗菌薬(アモキシシリン 250mgx3)を服用、また、術後から含嗽剤にて毎食後に含嗽を実施してもらう。翌日には術野の縫合部に問題が生じていないか、また、炎症性反応が生じていないかの確認を行った。術後3週目に抜糸を実施するまでは週に1回の来院にて縫合部分に問題がないかを確認、また、術後2週目からは軟毛ブラシにてブラッシングも再開してもらう。その後は、月1回のペースで来院してもらい術部における変化が無いかを厳しくチェックする。少しでも、変化がみられれば対応が出来る状態にしておくことも大切であると思われる。術後6ヶ月のX線評価においてインプラント植立部の歯槽骨の不透過性が増大しているのを確認し、2次オペを行った。また、この時にも審美性を考慮して口蓋側から弁を剥離し、歯間部歯肉を温存させる様にした。その後は通法のインプラント治療と同様に暫間補綴物にて周囲組織の治癒を待ってから最終補綴物の装着を行った。

【考察】

今回の患者の様に、他医院にて1次オペが施されて数週間経過後の来院であった点とインプラントシステムも多種にわたる為に、事前に準備しておく物も多くなり難易度も高くなる様に思われた。さらには、上顎前歯部のため、審美的回復も要求されると思われる。

【結論】

インプラント患者の増大とともに既存骨のみでは植立する時に垂直的、水平的に不足する歯槽骨への対応が必要となるケースも多々観察される。インプラント埋入に先立ち骨造成を行うのが好ましいが、治癒期間の短縮からインプラント埋入と同時に骨造成するケースが多くなってきている様に思われる。この症例の様にインプラント植立して日時が経過してからの再生療法の場合は結果を左右する要因も多岐にわたると思われた。これにより、技術的にも高度なテクニックが要求されることと長期的にインプラントの安定と機能させるためにも患者自身によるプラークコントロールの動機付けが重要と考えられる。

限局性重度慢性歯周炎を有する患者の一症例

日本歯科大学生命歯学部 歯周病学講座¹, 五十嵐歯科室²
○五十嵐(武内)寛子^{1,2}, 沼部幸博¹

A case of localized severe chronic periodontitis

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

2 Igarashi Dental Office

○Hiroko Igarashi-Takeuchi^{1,2}, Yukihiro Numabe¹

[はじめに] 限局性重度慢性歯周炎患者に歯周外科手術を行い良好な治療経過を得ている症例を報告する。

[初診] 50歳女性、初診日2015年4月9日 主訴：先日テレビで見たフラップ手術を受けたい。歯科的既往歴は、抜歯や根管治療の原因は覚えていないがだいぶ前から全顎的に歯ぐきが腫れて出血し重たい感じがする。口腔衛生指導を受けた経験あり。口腔清掃状況は1回/日の歯ブラシ、歯間ブラシを使用中。歯周病を指摘されたことはない。全身の既往歴の特記事項なし。喫煙歴なし。

[診査・検査所見] 視診にて11および21に歯間離解、12および43の交叉咬合を認める。下顎前歯部の歯肉に発赤、腫脹を認める。4mm以上の歯周ポケットは32%、特に6mm以上の歯周ポケットは13部位に認められ、BOPは28%であった。デンタルエックス線において臼歯部に高度な骨吸収を認めた。特に17-15, 36, 37, 47には6mm以上の歯周ポケットが存在した。

[診断名] 限局型重度慢性歯周炎

[治療方針] 1)歯周基本治療 2)再評価 3)歯周外科治療 4)再評価 5)口腔機能回復治療 6)再評価 7)SPT

[治療経過・治療成績]

1) 歯周基本治療：バス法による歯みがきの習慣づけと歯間ブラシのサイズの検討と動かし方の指導を中心とした口腔衛生指導および歯周基本治療を行った。

2) 再評価

3) 歯周外科手術：歯周組織検査にてBOP陽性部位および4mm以上の歯周ポケットを認めた17-14, 34-37, 47-45部に対しフラップ手術を行った。

4) 再評価

5) 補綴治療：再評価にて4mm以上の歯周ポケットは0部位となったことから右側下顎臼歯部に補綴処置を行った。歯間ブラシによる清掃がしやすい設計とした。

6) 再評価

7) SPT：病状は安定しSPTへ移行し3ヶ月ごとに来院中である。

[考察] テレビで歯周病を知りフラップ手術を希望され来院したことから、当初から患者のモチベーションは高く一連の歯周治療に対し協力的であった。さらに歯周病のメカニズムを指導することによりモチベーションの維持が継続されていると考えられる。初診時のO'Leary PCRは65%であったが2回目の計測時には19%に減少したことは、正しい清掃補助器具の使用法の指導が効果的であったことを示唆すると考えられる。臼歯部に認められた骨欠損に対し、特に17, 16に関しては歯周外科手術による歯周ポケットの消失に加え、歯周治療により炎症が除去され歯周組織の抵抗性が増加したことにより歯周ポケットが4mm以下になったと考えられる。

本症例は良好な経過を経ているが、長期的な安定を維持するため今後も注意深いSPTを行っていく必要がある。

歯肉縁下細菌と血清抗体価による慢性歯周炎進行の予知判定:24ヵ月多施設前向きコホート研究

¹新潟大学医歯学総合病院予防・保存系歯科歯周病科, ²慶應義塾大学医学部歯科・口腔外科学教室, ³鹿児島大学大学院医歯学総合研究科先進治療科学専攻顎顔面機能再建学講座歯周病学分野, ⁴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, ⁵九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, ⁶大阪歯科大学歯周病学講座, ⁷愛知学院大学歯学部歯周病学講座, ⁸松本歯科大学歯科保存学講座, ⁹日本歯科大学生命歯学部歯周病学講座, ¹⁰日本大学歯学部, ¹¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生体支持組織学講座歯周病学分野, ¹²日本大学松戸歯学部歯周治療学講座, ¹³文教通り歯科クリニック, ¹⁴神奈川歯科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, ¹⁵東京歯科大学歯周病学講座, ¹⁶日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座, ¹⁷奥羽大学歯学部歯科保存学講座歯周病学分野, ¹⁸北海道大学大学院歯学研究院口腔健康科学講座歯周・歯内療法学教室, ¹⁹鶴見大学歯学部探索歯学講座, ²⁰岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻病態機構学講座歯周病態学分野, ²¹新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔生命科学専攻摂食環境制御学講座歯周診断・再建学分野

○両角俊哉¹, 中川種昭², 野口和行³, 原 宜興⁴, 西村英紀⁵, 梅田 誠⁶, 野口俊英⁷, 吉成伸夫⁸, 沼部幸博⁹, 伊藤公一¹⁰, 和泉雄一¹¹, 小方頼昌¹², 三邊正人^{13,14}, 齋藤 淳¹⁵, 佐藤 聡¹⁶, 高橋慶壮¹⁷, 川浪雅光¹⁸, 花田信弘¹⁹, 高柴正悟²⁰, 吉江弘正^{1,21}

Subgingival pathogen and serum antibody to assess the progression of chronic periodontitis : a 24-mo prospective multicenter cohort study

¹Division of Periodontics, Department of Preventive and Conservative Dentistry, Niigata University Medical & Dental Hospital, ²Department of Dentistry and Oral Surgery, School of Medicine, Keio University, ³Department of Periodontology, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Department of Periodontology, Unit of Translational Medicine, ⁴Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, ⁵Section of Periodontology, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ⁶Department of Periodontology, Osaka Dental University, ⁷Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, ⁸Department of Periodontology, School of Dentistry, Matsumoto Dental University, ⁹Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo, ¹⁰Nihon University School of Dentistry, ¹¹Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, ¹²Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, ¹³Bunkyo-Dori Dental Clinic, ¹⁴Division of Periodontology, Department of Oral function and Restoration, School of Dentistry, Kanagawa Dental University, ¹⁵Department of Periodontology, Tokyo Dental College, ¹⁶Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of life Dentistry at Niigata, ¹⁷Division of Periodontics, Department of Conservative Dentistry, Ohu University School of Dentistry, ¹⁸Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Health Science, Hokkaido University Graduate School of Dental Medicine, ¹⁹Department of Pathophysiology-Periodontal Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ²⁰Division of Periodontology, Department of Oral Biological Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Toshiya Morozumi¹, Taneaki Nakagawa², Kazuyuki Noguchi³, Yoshitaka Hara⁴, Fusanori Nishimura⁵, Makoto Umeda⁶, Toshihide Noguchi⁷, Nobuo Yoshinari⁸, Yukihiro Numabe⁹, Koichi Ito¹⁰, Yuichi Izumi¹¹, Yorimasa Ogata¹², Masato Minabe^{13,14}, Atsushi Saito¹⁵, Soh Sato¹⁶, Keiso Takahashi¹⁷, Masamitsu Kawanami¹⁸, Nobuhiro Hanada¹⁹, Shogo Takashiba²⁰, Hiromasa Yoshie²¹

【研究目的】 歯周治療において SPT へ移行する際の判断基準は、臨床症状やエックス線画像に基づいているのが現状であり、必ずしも実際の病態を反映しているとは言えない。我々はこれまでに唾液中細菌と血清抗体価の組み合わせによる歯周炎進行指標を報告している (Morozumi et al. J Periodont Res 2016)。そこで本研究では、口腔内最深部の歯肉縁下細菌と血清抗体価による歯周炎進行指標の可能性を評価した。

【材料と方法】 研究プログラムは 17 の日本歯周病学会認定研修施設にて実施された (各施設倫理委員会にて承認済み)。歯周基本治療もしくは歯周外科治療を終えた 40~70 歳の慢性歯周炎患者 163 名を 24 ヶ月モニタリングし、3 ヶ月おきに PMTC を中心としたフォローアップを、6 ヶ月おきに全顎的歯周検査を行った。進行の定義は過去の文献に倣い、24 ヶ月以内に 1 ヶ所でも 3 mm 以上のクリニカルアタッチメントロスが認められた場合とした。口腔内で最深の歯周ポケット 1 部位からペーパーポイントを用いて縁下プラークを計 4 回 (ベースライン, 6, 12, 24 ヶ月)、市販キットを用いて指先から微量の血液を計 2 回 (ベースライン, 24 ヶ月) 採取した。縁下プラーク中の総菌数および主要歯周病原菌 (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) 数は Invader PLUS assay 変法にて定量し、3 菌種に対する血清抗体価は ELISA 法により解析した。得られたデータは臨床データと併せ時系列・横断的に分析された (マン・ホイットニー検定, フィッシャーの直接確率計算法)。

【結果】 プログラムを完遂した 124 名中、62 名が進行していた。歯周炎の進行に対し、各検査項目について ROC 曲線を用いてカットオフ値を決定し、感度や特異度を算出した。その結果、*P.gingivalis* 数が全顎的歯周炎進行の診断指標として有意に有用であった ($p < 0.001$, カットオフ値 $\log_{10} 1.370$, 陽性的中度 0.708)。

【結論】 最深歯周ポケットにおける *P.gingivalis* 数は歯周炎進行の予知において有用である可能性が示唆された。

共同研究者: 角田衣理加, 中村利明, 吉村篤利, 前田勝正, 藤瀬 修, 上田雅俊, 河野智生, 福田光男, 横井 隆, 高橋美穂, 深谷千絵, 関野 愉, 菅野直之, 小林宏明, 高井英樹, 中山洋平, 高野聡美, 山田 了, 大井麻子, 奥田倫子, 横山智子, 阿部祐三, 鈴木史彦, 菅谷 勉, 野村義明

航空自衛隊隊員における口腔保健指導（国税局職員との比較）

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⁾、佐藤穂子²⁾、佐々木重夫²⁾、木村裕一²⁾、長岡正博³⁾

Oral hygiene guidance for JASDF staff (compared with Tax office staff)

Dept. Preventive Dentistry and Conservative Dentistry and Pharmacologic Dentistry OHU University
School of Dentistry

○Fumio KURUMADA, Yasuko SATOH, Shigeo SASAKI, Yuichi KIMURA, Masahiro NAGAOKA

【 緒 言 】

先の第145回本学会を含め、5年前から当学会にて、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一連の口腔衛生について発表してきた。前々回は、ストレス及び疲労に効果があるといわれる3大栄養素の摂取、すなわち「タンパク質・ビタミン・ミネラル」に着目し、歯垢形成食品および歯垢非形成食品と関連させて食餌指導を実施した結果を発表し、前回は、「食事バランスガイド」を活用し、両者の食べた料理でわかる個人の食事バランスについて、その知見を報告した。今回は、齲蝕誘発性の抑止に関係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口腔保健指導を実施した結果について、若干の知見を得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（某月の昼食）
- ② 福島県内の某税務署における献立（某月の昼食）

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. 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。
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. 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」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が多い食材摂取することで、大まかな歯垢除去が出来るようになり、その自浄作用によって齲蝕活動性の低下につながる事が考えられた。
4. また、同様に歯垢非形成食品である調味料の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事が示唆された。
5. すなわち、自衛隊では栄養士の資格を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、メニューが充実されており、生野菜の繊維類および漬け物ならびに咀嚼回数が多い食材を摂取することにより、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から、前回同様、齲蝕活動性の低下につながる事が示唆された。

京都大学霊長類研究所のチンパンジー1 個体に生じた 外傷歯に対する歯科処置と術後 6 年の経過

¹鶴見大学歯学部保存修復学講座

²京都大学霊長類研究所人類進化モデル研究センター ³京都大学霊長類研究所思考言語分野

○齋藤 渉¹ 兼子明久² 宮部貴子² 友永雅己³ 桃井保子¹

6-Year Follow-Up of Dental Treatment for a Traumatized Tooth of a Chimpanzee in Primate Research Institute Kyoto University

¹Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine

²Center for Model Human Evolution Research, Primate Research Institute, Kyoto University

³Language and Intelligence Section, Primate Research Institute, Kyoto University

○SAITO Wataru¹, KANEKO Akihisa², MIYABE-NISHIWAKI Takako², TOMONAGA Masaki³ and MOMOI Yasuko¹

【目的】

チンパンジー (Pan troglodytes) は、その遺伝子塩基配列の約 98%がヒトと一致し、ヒトに最も近い動物である。チンパンジーは高い知性を有する霊長類であり、その肉体的、行動的特徴の多くがヒトと一致するため、口腔疾病に関しても一致する点があると推察する。しかし、チンパンジーの口腔状態に関するデータは少なく、その治療例の報告も少ない。本研究では、口腔疾病に関してヒトと同様のアプローチを行い、その治療方法の確立を目指し、チンパンジーの QOL 向上に寄与することを目的とする。

私たちは第 134 回日本歯科保存学会学術大会において、京都大学霊長類研究所が飼育するチンパンジー 9 個体の口腔健康状態とそのうち 1 個体に対する歯科処置について報告した¹⁾が、本発表ではその処置の術後 6 年の経過について報告する。

【方法】

本研究は京都大学霊長類研究所 (愛知県犬山市) の共同利用・共同研究として実施された (京都大学霊長類研究所動物実験委員会承認番号 2016-073)。同研究所が飼育するチンパンジー 14 個体のうち、これまで 12 個体の口腔内診査 (視診、歯周ポケット検査、動揺度検査) を行い、歯科治療を要すると思われる個体をスクリーニングした。そのうち 1 個体 (処置時: 26 歳, 雌) の上顎左側中切歯に、外傷による髄腔露出を伴う歯冠破折および唇側歯肉にフィステルを認めた。デンタル X 線撮影を行った上で慢性根尖性歯周炎と診断し、通法通り根管治療を行った。X 線撮影で根管充填状態の確認した後、根面をコンポジットレジン充填した。その 8 ヶ月後および 6 年後に患歯の術後の経過観察とデンタル X 線撮影による検査を行った。

【結果と考察】

術前の X 線検査で根尖部歯根膜腔の拡大と根尖部の外部吸収を認めた。処置直後の X 線検査でガッタパーチャポイントによる緊密な根管充填を確認した。術後 8 ヶ月と 6 年での経過観察においてフィステルの消失が確認でき、X 線検査で根尖部の外部吸収の進行は認められず、周囲骨組織の不透過性の亢進が確認された。術後 6 年では残存歯質は黒褐色に着色していたが、歯質表層の軟化は認められなかった。レジン修復は辺縁の一部にわずかな破折を認める程度で脱落や大きな破折は認められず、連続したステップや辺縁着色も認めなかった。

以上から、チンパンジーの歯の破折と根尖性歯周炎に対して、ヒト歯と同じ処置が有効であることを確認した。本症例は喧嘩や転落等の外傷による破折に起因する根尖性歯周炎と思われる。ヒトに比べ極めて強い咬合力を有するチンパンジーに対して、接着性コンポジットレジン充填により根管治療後の根面をコーピング様に整復したことが、再破折と再感染を回避できた要因と考えている。

【結論】

チンパンジーの歯の外傷に起因する慢性根尖性歯周炎に対して、ヒト歯と同じ保存歯科治療が適応できることがわかった。

【参考文献】

- 1) 齋藤渉ら. 京都大学霊長類研究所のチンパンジーの口腔健康状態とそのうち 1 個体に対する歯科処置について. 第 134 回日本歯科保存学会学術大会 P88, 2011.

着色抑制紅茶に浸漬した歯の色調変化について 第一報 短期浸漬における評価

鶴見大学歯学部保存修復学講座¹⁾ キリン株式会社飲料技術研究所²⁾

○大森かをる¹⁾ 工藤あずさ²⁾ 堀 彩香¹⁾ 小川由佳¹⁾ 山本雄嗣¹⁾ 若林英行²⁾ 栗原 信²⁾ 桃井保子¹⁾

Study on tooth discoloration immersed in experimental stain-suppressive tea

Part 1 Evaluation after short-term immersion

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine¹⁾

Research Laboratories for Beverage Technologies, R&D Division, KIRIN Company, Limited²⁾

○OHMORI Kaoru¹⁾, KUDO Azusa²⁾, HORI Ayaka¹⁾, OGAWA Yuka¹⁾, YAMAMOTO Takatsugu¹⁾

WAKABAYASHI Hideyuki²⁾, KURIHARA Makoto²⁾ and MOMOI Yasuko¹⁾

【目的】

ポリフェノール類は歯に着色をきたす外因性因子である。このため、これを多く含む紅茶はコーヒーより歯を着色するとされ、歯のホワイトニングでは、施術直後に禁じられる飲食物の筆頭に挙げられている。そこで、私たちは歯への着色を抑制した紅茶の開発を目指し、今回は試作した紅茶にウシ歯を浸漬し歯面の色調変化を評価した。

【材料及び方法】

凍結保存したウシ前歯を室温で自然解凍し使用した。

ウシ歯は歯根を切断し根管口を封鎖後、歯冠部唇面の着色を超音波スケーラーで除去した後、研磨用ペースト（メルサージュ、松風）とラバーカップで研磨し試料とした。その後、試料を Table 1 に示す試作紅茶（EA および EB）、通常紅茶および蒸留水に浸漬し 37°C で保管した。浸漬液は 3 日毎に交換した。試料の測色は、分光色差計（SE2000、日本電色）と歯科用分光測色計（Crystaley、オリンパス）を用い、浸漬前、浸漬 1、3、7、14、21 日後に各試料の中央部で行った。色差（ ΔE ）は、分光色差計で測定した $L^*a^*b^*$ 値から算出した。結果の各浸漬期間における群間差は、分散分析と Tukey の多重比較で統計処理した（ $\alpha = 5\%$ 、 $n = 5$ ）。

【結果および考察】

色差の結果を Table 2 に示す。浸漬 3 日目まではいずれの浸漬液にも統計的有意差は無かったが、EA と EB の色差は Tea より小さい傾向にあり、特に EB の色差は DW に近かった。7 日目では、EB の色差が有意に Tea より小さくなった。14 日目と 21 日目では、EA と EB の色差は、ともに統計的有意差をもって Tea より小さくなり、DW とは有意差を認めなかった。同様に、視覚的および歯科用分光測色計の画像においても Tea との間に明確な差異が認められた。

今回添加したメタリン酸ナトリウム（ NaPO_3 ）はキレート効果を持ち、歯表面のポリフェノールの着色を除去すること、コラーゲンはポリフェノールと吸着することが知られている。これらを紅茶に直接添加することによって、歯の着色を抑制する効果があることが示唆された。

【結論】

試作した着色抑制紅茶に 21 日浸漬したウシ歯の色調変化を、通常紅茶に浸漬したものと比較したところ、有意に着色の抑制効果が認められた。

研究に関連し、COI を開示すべき企業・団体は、キリン株式会社である。

Table 1 Solution tested in this study

	Component	Code	Tannin Conc. (mg/100g)	pH
Experimental tea-A	Darjeeling tea (NaPO_3) _n	EA	40	6.2
	L-ascorbic acid			
Experimental tea-B	Darjeeling tea (NaPO_3) _n	EB	40	6.2
	Pig's Collagen			
Tea	L-ascorbic acid	Tea	40	5.7
	NaHCO_3			
Distilled water	—	DW	—	—

Stain-suppressive tea and tea are produced by KIRIN Company.

Table 2 Color difference (ΔE) between before and after immersion

	1 day	3 days	7 days	14 days	21 days
EA	5.25 (3.85) ^a	4.68 (3.49) ^a	5.43 (3.18) ^{ab}	6.96 (3.17) ^a	4.31 (2.51) ^a
EB	2.68 (0.21) ^a	2.20 (0.36) ^a	3.13 (0.58) ^a	5.34 (0.77) ^a	5.07 (0.44) ^a
Tea	6.95 (1.41) ^a	6.74 (1.26) ^a	14.20 (0.69) ^b	20.03 (0.29) ^b	18.58 (0.30) ^b
DW	2.64 (0.41) ^a	3.30 (1.26) ^a	2.56 (0.24) ^a	2.32 (0.46) ^a	3.28 (0.21) ^a

Means with the same alphabet are not statistically different ($p > 0.05$) within each period.

A molar with an endodontic-periodontal lesion beside an angular bony defect (case report)

○Yung-Show Chiang

*Department of Dentistry, Tainan Municipal Hospital
Taiwan Academy of Operative Dentistry*

I. Introduction:

The treatment of an endodontic-periodontal lesion is a challenge until now. In the case of the endo-perio lesion, the result of the endodontic therapy is usually pretty good. However, the prognosis of the tooth will depend on the severity of the periodontitis and the effect of periodontal treatment.

II. Case:

A 42-year-old healthy, nonsmoking female with a mesial bony defect on the right mandibular second molar was initially treated with phase I therapy. In the appointment of periodontal re-evaluation, a primary endodontic lesion with secondary periodontal involvement on the right mandibular first molar was found. After the endodontic therapy, the probing depth of the right mandibular first molar returned to normal. Afterward the periodontal surgery with bone graft on the right mandibular second molar was performed. Finally, the right mandibular first molar was restored with fiber posts and a monolithic zirconia crown.

III. Discussion:

It is difficult to make a differential diagnosis in an endo-perio lesion. In this case, there are chewing pain and thermal sensitivity on the right mandibular first molar with a deep composite resin on the distal surface. The composite resin was placed by a private practitioner 2.5 months previously. Besides, the periapical film revealed a mesial bony defect on the right mandibular second molar. The differential diagnosis is post-operative sensitivity or reversible pulpitis on the right mandibular first molar or acute periodontitis on the right mandibular second molar. The pulp capping or the root canal treatment on the right mandibular first molar might be indicated. The patient was initially treated with phase I therapy. 1 month later, the right mandibular first molar with nonvital pulp and DB and DL deep probing depth up to 10⁺mm and 9 mm was found. The periapical film revealed a distal bony defect with furcation involvement on the right mandibular first molar. It is like a primary endodontic lesion with secondary periodontal involvement on the right mandibular first molar. After the endodontic therapy, the probing depth of the right mandibular first molar returned to normal 2-3 months later. Nevertheless, there was an angular bony defect on the right mandibular second molar adjacent to the right mandibular first molar. Since the prognosis of the primary endodontic lesion with secondary periodontal involvement depends on the healing of the periodontal tissues, the periodontal surgery with bone graft on the right mandibular second molar was performed. At last, the periapical film revealed the bone refilled to the furcation of the right mandibular first molar.

IV. Conclusion:

Endo-perio lesions can have varied pathogeneses which range from simple to complex. Clinician should know the overall knowledge of the lesions to make a right diagnosis. The clinician must to perform the restorative, endodontic or periodontal therapy, either singly or with other specialists. Thus, a total patient care or a multi-disciplinary approach is able to achieve the good results for the lesions.