

唾液タンパク質のエナメル質再石灰化への影響を想定した カゼイン含有再石灰化液による初期エナメル質う蝕に関する検討

東京歯科大学 保存修復学講座
○中村圭喜, 半場秀典, 石塚久子, 村松敬

Effects of casein containing remineralization solution on demineralized enamel
Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp biology, Tokyo Dental College
○Keiki Nakamura, Hidenori Hamba, Hisako Ishizuka, Takashi Muramatsu

<緒言>

初期エナメル質齲蝕ではエナメル質表層下が脱灰されるが、フッ化物を作用させることで再石灰化が促進される。多くの実験では唾液タンパクの存在が無視されて行われており、これを *in vitro* で再現するためには唾液タンパクを含む人工唾液や再石灰化液を使用すべきである。唾液タンパクに関してはエナメル質の再石灰化を抑制する報告と脱灰深部の再石灰化を促進する報告があるものの詳細は明らかとはなっていない。今回、唾液タンパクと挙動が類似しているカゼインを含有した再石灰化液を調製し、脱灰エナメル質に作用させた際のミネラル変化を3次元的かつ非破壊に観察可能なマイクロCTを用いて観察を行い、カゼインが脱灰エナメル質に及ぼす影響を検討した。

<材料および方法>

牛歯歯冠から精密低速切断機 (Isomet) にて $3 \times 3 \times 2$ mm のエナメル-象牙質ブロックを切出し、エナメル質表面を #2000 の耐水研磨紙にて研削した後、ネイルバーニッシュで辺縁を被覆し 2×2 mm の処理面を規定し試料とした。その後、脱灰液にて21日間の脱灰を行い、マイクロCTにて脱灰量を測定した後、再石灰化液により21日間の再石灰化を行った。再石灰化液はカゼイン 100 ng/mL (C10) と NaF を 1 ppm (F1) の含有の有無により C0-F0, C0-F1, C10-F0, C10-F1 の4群に分けて検討した。各試料を7, 14, 21日再石灰化後にマイクロCTにて撮影した。撮影した三次元データは TRI/3DBON, TRI/TMD (ラトック) にてミネラル変化を算出し、増加率を求めた。統計は one-way ANOVA with Dunnett's T3 検定を行なった ($n = 7$)。その後、試料表面の走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察を行なった。

<結果および考察>

C10-F1 は C10-F0 と比較して全期間において、高い再石灰化率が認められた ($p < 0.05$)。これは添加された F の効果と考えられる。C10-F0 は、C0-F0 (コントロール群) と比較して7日、14日において低い再石灰化が観察され ($p < 0.05$)、カゼインだけを含有した群では再石灰化に対して抑制的に働くことが示唆された。また C0-F1 群と C10-F1 群を比較すると21日において C10-F1 群が高い再石灰化が観察され ($p < 0.05$)、牛歯エナメル質脱灰部においてカゼイン単体では再石灰化抑制を示すが、F との共存下では抑制は起こらないことが示唆された。SEM 観察において処理面の割断面表層を観察したところ C0-F1、C10-F0、C10-F1 では表面に沈着物のような構造が観察された。

口腔内カメラの映像を見ながら行う窩洞形成

第3報：上下顎大臼歯遠心面の形成

藤江デンタルクリニック¹，鶴見大学歯学部保存修復学講座²，林歯科医院³

○藤江英宏^{1,2}，林心璣³，桃井保子²，山本雄嗣²

Cavity preparation with live video captured by an intraoral camera

Part 3: Preparation in distal surfaces of upper and lower molars

Fujie Dental Clinic¹,

Department of Operative Dentistry, Tsurumi University School of Dental Medicine²,

Hayashi Dental Clinic³

○FUJIE Hidehiro^{1,2}，HAYASHI Oki³，MOMOI Yasuko²，YAMAMOTO Takatsugu²

【緒言】

一般に、歯科治療は高い精度が求められる精密作業であるにもかかわらず、口腔内には直視ができない部位が多い。う蝕除去や窩洞形成など、歯の切削を行う際に直視できない部位は鏡視下で行われている。しかし鏡視での切削は直視よりも難易度が高い。今回の研究では、直視不可能な部位について、口腔内カメラの動画映像を見ながら切削する精度を鏡視下の切削と比較することを目的とした。(鶴見大学倫理審査委員会承認 受付番号 1521)。なお本研究に関連し、COIを開示すべき企業・団体はない。

【材料および方法】

鶴見大学歯学部所属の右利きの歯科医師 35 名(男性 23 名，女性 12 名)を対象とした。対象者は実験直前に口腔内カメラ(インシュタイン・ルミカ，アールエフ)の扱いを上下顎それぞれ 20 分間ずつ練習した。人工歯顎模型を装着したマネキン(シンプルマネキンⅢ，ニッシン)を、上顎咬合平面が床面と垂直になるように診療台に設置した。対象者の診療位置は 11～12 時とし、左上 6 の人工歯のスライスカットされた遠心面に描かれた X 型図形を切削する作業を 4 本連続で行った。切削目標は図形ラインの内側を全面削り、同時にライン外側は削らないこととした。切削作業に制限時間を設けなかった。切削にはエアタービンハンドピース(Super ZB Mini PAR-M-0，モリタ)に球状ダイヤモンドポイント(MI-F06R，松風)を用いた。なお、切削深さは評価対象から外した。切削は次に示す二通りの条件下で実施した。①鏡視下での切削，②左手に持った口腔内カメラで図形を撮影し、対象者から約 1m の位置に取り付けた液晶テレビ(アクオス LC19-P5，シャープ)でその映像を見ながら切削。なお、口腔内カメラの映像は作業しやすいように上下反転した。対象者の半数は鏡視で 2 本切削した後口腔内カメラで 2 本切削した。残りの半数は逆の順番とした。次に遠心スライス面に Z 型図形が描かれた左下 6 の人工歯を 4 本切削する作業を同様に行った。なお口腔内カメラの映像は作業しやすいように 180° 回転した。切削後、人工歯の遠心切削面をスキャナー(GT-S650，エプソン)で取り込み、パソコン画面上で切削の評価ならびに面積の算出を行った。「図形ラインの内側の削り残り面積」と「図形ラインの外側を削った(削り過ぎ)面積」の和を求め、口腔内カメラと鏡視で比較した。この面積の和が小さいほど切削精度が高いと評価する。

【結果】

「削り残り+削り過ぎ面積」は、上顎では口腔内カメラと鏡視でそれぞれ $1.74 \pm 0.85 \text{mm}^2$ と $2.31 \pm 1.00 \text{mm}^2$ であった。下顎では口腔内カメラと鏡視でそれぞれ $1.47 \pm 0.80 \text{mm}^2$ と $3.65 \pm 2.09 \text{mm}^2$ であった。ウィルコクソンの符号付順次検定(有意水準 5%)では、上下顎ともに口腔内カメラの方が「削り残り+削り過ぎ面積」が有意に小さかった。

【考察】

直前の 20 分間の練習のみで実施した口腔内カメラを用いた切削は、日常的に使用しているミラーよりも切削精度が高かった。口腔内カメラは 5～10 倍の拡大映像であるため、鏡視では観察困難な細部まで目視把握できたからではないかと思われる。また上下顎を比較してみると、下顎の方が口腔内カメラと鏡視との差が大きかった。下顎のミラー像は実物の向きと一致させることが困難であるのに対し、口腔内カメラでは映像を反転・回転できるため、下顎でも映像と実物の向きを一致させることができたのが一因であると考えられる。また、直視困難な部位で行われる他の様々な治療においても、口腔内カメラの映像を見ながら行うことで精度が高まる可能性が示唆された。

【結論】

直視が不可能である上下顎大臼歯の遠心面を切削する場合、口腔内カメラの練習量が少ない条件であっても、口腔内カメラを用いる方法の方が鏡視下で行う方法よりも精度が高いことが示された。

生体活性型接着性モノマーCMET は象牙芽細胞分化を誘導する

北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 口腔制御治療学分野
邱 友靖, 松田 康裕, 斎藤 隆史

CMET, bio-active adhesive monomer, induces odontoblast-differentiation *in vitro*.

Youjing QIU, Yasuhiro MATSUDA and Takashi SAITO
Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation,
School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Japan

Introduction:

In current adhesive dentistry, development of multifunctional materials possessing not only high adhesion performance and mechanical property but also remineralization activity, antibacterial action and so on, is an important issue for improvement of the durability of dentin-bond interface. We previously reported that CMET*, calcium salt of 4MET, induces dentin remineralization *in vitro*, and it significantly promotes shear bond strength to dentin, bending strength and compressive strength of resin-based coating material. Bio-active coating material, Bio Coat Ca (Sun Medical) containing CMET, mineral-inductive adhesive monomer was released in Feb. 2019. It is necessary for increasing added value of CMET in adhesive materials to search its further functions. The purpose of this study was to evaluate the effect of CMET on odontoblast-differentiation *in vitro*.

Materials and Methods:

MDPC-23 cells, a type of rat odontoblast-like cell line, were cultured in DMEM supplemented with 5% FBS. CMET was first dissolved in dH₂O with the concentration of 10 mg/mL, and then different concentration of CMET was added into the experiment groups from day one (100, 200, 300, 400, 500 µg/mL respectively). Addition of dH₂O was served as control. Cell proliferation was assessed using CCK-8 assay. Real time PCR for dentinogenesis-related gene expression was carried out on day seven of culture. Finally, the mineralization inducing capacity was evaluated using alizarin red staining at day seven and day eight. Briefly, induce media (10mM β-glycerophosphate, 50µg/mL ascorbic acid, and with or without 100nM dexamethasone) were incorporated into the culture media on day five. Statistical analysis was conducted using One-way ANOVA with post-hoc Tukey HSD Test.

Results and Discussion:

It was found that the addition of CMET slightly promoted the proliferation ability of MDPC-23 cells (CMET: 2.06 ± 0.16 versus control: 1.27 ± 0.14). The mRNA expression of rCOL1A1, rOCN was up-regulated by 1.39 times after seven days of culture in CMET treated group. Moreover, the gene expression of rDMP-1, rDSPP and rOPN was strongly enhanced by CMET at the concentration of 300 or 500 µg/mL (5.62, 4.91 and 3.86 times respectively). DSPP and DMP-1 are intensively involved in dentinogenesis. Thus, CMET facilitated odontoblast-differentiation. Finally, we found that the mineralization of MDPC-23 cells was significantly accelerated by the addition of CMET, the promote effect was in a dose-dependent manner and observably reached a maximum at the concentration of 500 µg/mL. Meanwhile, we found that dexamethasone enhanced the effect of CMET on cell mineralization.

Conclusion:

The findings indicate that CMET promoted proliferation, odontogenic gene expression and mineralization of MDPC-23 cells *in vitro*. The CMET, bio-active adhesive monomer possesses multi-functions including remineralization activity and dentin regeneration action etc. though its detailed mechanism needs further study.

*Japanese Patent Registration No.4969800; T.SAITO, S.ITO, Y.TUCHIYA, A. YAMAMOTO, A. KANEMATSU, T. YAMAMOTO

なぜ Regenerative endodontic procedures は多様な治癒形態を生じさせるのか：

ラット根末完成臼歯における免疫組織学的研究

1)新潟大学 医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野

2)新潟大学 医歯学総合研究科 口腔生命福祉学専攻 口腔生命福祉学分野

○枝並直樹¹, 白柏麻里¹, 吉羽邦彦², 大倉直人¹, 吉羽永子¹, 遠間愛子¹, 竹内亮祐¹, 野村由一郎¹

Why regenerative endodontic procedures induce various healing patterns: An immunohistochemical study in immature rat molars

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

2)Division of Oral Science for Health Promotion, Department of Oral Health and Welfare, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○EDANAMI Naoki¹, SHIRAKASHI Mari¹, YOSHIBA Kunihiro², OHKURA Naoto¹, YOSHIBA Nagako¹, TOHMA Aiko¹, TAKEUCHI Ryosuke¹ and NOIRI Yuichiro¹

【緒言】

Regenerative endodontic procedures (REPs)は、歯髄壊死・根尖性歯周炎と診断された根末完成歯の治療法として、従来のアペキシフィケーションより優れた治療法であると認識されつつある。一方で、近年の組織学的研究からは、REPsにより象牙質/歯髄複合体の再生が起こることは稀であり、ほとんどの場合は象牙質とは異なる硬組織形成による組織修復に至ることが明らかにされている。過去の報告をまとめると REPs による組織修復は以下の3種に分類される。すなわち、部分的な象牙質形成と根管内壁に沿って形成される有細胞性の硬組織(Dentin-associated mineralized tissue: DAMT)形成によるもの、DAMT 形成単独によるもの、DAMT 形成に歯槽骨の根管侵入を伴うものである。このような異所性の硬組織形成が生じる原因は、歯根膜細胞の根管侵入に一因があると考えられているが、その形成メカニズムの全体像はいまだ不明である。我々は、REPs 施術時に残存している根尖部組織の差異が、治癒形態の差異を生んでいるのではないかと推察し、ラット臼歯の歯髄および根尖組織を様々な程度に除去した後に REPs を行ったところ、3種の治癒形態すべてを認めた。そこで、さらに本研究では、各治癒形態について根管内の軟組織および DAMT の特性を組織学的・免疫組織学的に解析するとともに、REPs 施術時の組織残存量との関連性を検討することで、なぜ REPs 後に多様な治癒形態が生じるのかを解明することを目的とした。

【方法】

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した (SA 00213)。5 週齢の雄性 Wistar 系ラットに全身麻酔を施し、実体顕微鏡視野下で以下の処置を行った。下顎第一臼歯にラバーダム防湿を行い、直径 0.6mm のカーバイドバーを用いて髄腔開拓を行った。近心根管を様々な作業長で形成するとともに、1.5%次亜塩素酸ナトリウムによる根管洗浄を行った。ペーパーポイントを用いて止血を行った後に、根管内に CT 造影剤を填入した状態でマイクロ CT 撮影を行い、根尖部組織残存量を評価した。その後、根管を生理食塩水にて洗浄し、10 号 H ファイルでオーバーインスツルメンテーションを行うことで、根管内に血餅を形成させた。血餅上にケイ酸カルシウムセメントを貼付し、コンポジットレジンにて窩洞を封鎖した。処置 4 週間後にラットを灌流固定し、通法に従って組織切片を作製した後に、H-E 染色および抗 Dentin sialoprotein(DSP), Bone sialoprotein(BSP), Periostin, Cytokeratin 抗体を用いた免疫染色を行った。

【結果】

根管内の歯髄組織が一定以上残存するケースでは、象牙質と DAMT による治癒形態を示し、軟組織は歯根膜細胞マーカーである Periostin 陰性であり、DAMT は DSP 陽性・BSP 弱陽性であった。歯髄組織が根尖部付近まで除去されたケースでは、DAMT 単独による治癒形態を示し、軟組織が Periostin 陰性の場合と陽性の場合が存在した。前者では DAMT は DSP 陽性・BSP 弱陽性であるのに対して、後者では DSP 陰性・BSP 陽性であった。一方で、施術時に根尖を越えて組織が傷害されたケースでは DAMT と歯槽骨侵入による治癒形態を示し、軟組織は Periostin 陽性で DAMT は DSP 陰性・BSP 陽性であった。また DAMT と歯槽骨侵入を伴う治癒形態では、根尖部に上皮細胞マーカーである Cytokeratin 陽性細胞が認められなかった。

【結論】

REPs 後の治癒形態は、施術時における歯髄および根尖部組織の残存状態に影響されることが示された。また、歯根膜細胞の根管侵入が起こらなくても Osteodentin 様の DAMT が形成されることが明らかになった。さらに、歯根膜細胞の根管侵入が起こるとセメント質様の DAMT 形成が生じるが、必ずしも歯槽骨の根管侵入は伴わないことが明らかになった。一方で、歯槽骨の根管侵入は Hertwig 上皮鞘が傷害された場合に生じることが示唆された。

根尖性歯周炎の病因・病態に基づいた新規治療戦略の開発

¹東北大学大学院歯学研究科口腔修復学講座歯科保存学分野

²新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野

○長谷川達也¹、半田慶介¹、八幡祥生¹、田中利典¹、中野将人¹、野杵由一郎²、齋藤正寛¹

Development of novel treatment strategy based on pathogenesis and pathophysiology of apical periodontitis

¹Operative Dentistry, Department of Restorative Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

²Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Tatsuya HASEGAWA¹, Keisuke HANDA¹, Yoshio YAHATA¹, Toshinori TANAKA¹, Masato NAKANO¹, Yuichiro NOIRI², Masahiro SAITO¹

【目的】

根尖性歯周炎とは口腔内からの細菌感染を原因に根尖歯周組織の崩壊を伴う慢性炎症性疾患である。解剖学的な根管系の複雑さから、初回治療及び再治療の成功率は各々90%及び70%以下に留まっている。しかしながら循環器疾患、自己免疫疾患、内分泌疾患等の全身疾患を有するケースでは、治療抵抗性のため標準治療が奏功しない難治症例となり、未だ根本的な治療法が確立されていないアンメットメディカルニーズとしての取り組みが必要になる。そこで本研究はマウス根尖性歯周炎モデルを用いて根尖周囲組織で起こる局所炎症反応の病因・病態を解明し、抗炎症療法を基盤とする新規治療戦略を検討した。

【材料および方法】

本研究は「国立大学法人東北大学における動物実験等に関する規程」を遵守し、国立大学法人東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会の承認を得て実施した（承認番号：2019 歯動 037）。

- 1) 根管開放による根尖性歯周炎モデル：10 週齢雄マウスに腹腔内全身麻酔を施した後、マイクロスコープ下で下顎第一臼歯に対して 1/4 径ラウンドバーを用いて髓室開拓を行った。その後、#06 手用ファイルを用いて根管口明示を行い、術後 28 日まで口腔内環境に曝露させた。
- 2) 根尖病変関連因子の同定：1) の実験を実施後、術後 1, 3, 7, 14, 28 日に屠殺し、下顎骨を摘出し凍結粉碎した。その後 RNA 抽出および cDNA 生成を行い RT2 profiler PCR array (Inflammatory Cytokines and Receptors) を用いて病変形成過程で上昇する炎症関連遺伝子を同定し、同因子の動態を定量的に評価した。
- 3) CXCR3 non-competitive antagonist (SCH546738) の経口投与：露髄処理 1 日後から吸入全身麻酔下にてゾンデを用いて Antagonist を 1 日おきに 30mpk 経口投与した。術後 28 日に屠殺し、下顎骨を摘出し 4%PFA で 2 日間固定処理を行なった。その後マイクロ CT 解析 (TRI/3D-BON) にて病変形成過程を定量的に評価した。
- 4) 病変の組織学的解析：Morse 液にて脱灰後、凍結切片を作製した。免疫細胞の動態を解析するため、H-E 染色、抗 Cathepsin K 抗体を用いた免疫蛍光染色を行ない、共焦点レーザー顕微鏡 (LSM780) で解析した。

【結果】

PCR array の結果から炎症性サイトカインである IL-1 β の顕著な発現上昇に伴い、CCL5、CCL8、CXCL9 と CXCL10 を含むケモカインの上昇が認められた。これらは術後 14 日以降に発現が上昇し、28 日まで増加することから病変形成に関与する事が示唆された。これらの結果から CXCL9, 10-CXCR3 axis による病変形成関与を解析するために、Antagonist を経口投与した結果、Antagonist 投与群と非露髄 Vehicle 投与群との間で病変体積に有意差はなく、露髄 Vehicle 投与群と Antagonist 投与群との間には有意差 ($P < 0.05$) があることが確認された。H-E 染色および免疫蛍光染色の結果から、Antagonist 投与群は Vehicle 投与群と比較して、根尖周囲組織の骨破壊を抑制していることが確認された。

【結論】

今回の結果から根尖性歯周炎モデルにおいてケモカインが病変形成における炎症反応に関与する細胞の遊走を調整していることが判明した。またケモカイン受容体である CXCR3 の阻害が病変形成の進行を抑制することから、同分子が治療の新たな標的分子になりうる事が示された。今後、投与方法の検討やより詳細なメカニズムの解析を行うことで、治療抵抗性を示す難治性根尖性歯周炎の新規治療戦略に活用できる事が期待される。

歯髄炎誘導性舌痛覚過敏発症に対する三叉神経節内 TLR 4 シグナル伝達への Macrophage の関与

日本大学歯学部歯科保存学第II講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所機能形態部門²

○菅野浩平¹, 清水康平^{1,2}, 小木曾文内^{1,2}

Involvement of TLR4 signaling mediated by macrophage in tongue hyperalgesia

Department of Endodontics, Nihon University School of Dentistry¹

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

○Kohei Kanno¹, Kohei Shimizu^{1,2}, Bunnai Ogiso^{1,2}

【目的および背景】

歯髄に炎症が引き起こされると、歯痛だけでなく異所性に感覚異常を発症する症例に遭遇することがあるが、これは適切な診断と治療を行う上で大きな問題となっている。この様な疼痛異常の発症メカニズムとして、三叉神経節(TG)細胞に発現する Toll-like receptor (TLR) 4 の関与が考えられているが、その神経機構に関しては不明な点が多く残されている。そこで本研究では、歯髄炎によって舌に引き起こされる異所性異常疼痛に対して TG 細胞に発現する TLR4 の役割、およびそのシグナルに対する Macrophage の関与を検索することを目的とした。

本研究は日本大学動物実験委員会の承認 (AP17D021), (AP19DEN009-1) を得て行われた。

【材料および方法】

深麻酔下で雄性 SD ラットの左側下顎第一臼歯 (M1) を露髄させ、歯髄炎モデルを作製した。M1 露髄後 1 日目より、浅麻酔下にて露髄歯同側舌縁部に機械および熱刺激を与え、逃避反射閾値 (HWT) を計測した。一方で、舌を支配する三叉神経節細胞の標識を行うために 4% Fluoro Gold (FG; 10 μ l) を同側舌縁部に投与した。その 2 日後で M1 の露髄を行い、露髄後 1 日目でラットを灌流固定し、同側 TG を摘出した。その後、通法に従い免疫組織化学的検索を行い、TG 第三枝領域における FG 標識 Toll-like receptor 4 (TLR4) 陽性ニューロン数および FG 標識 Interleukin-1 receptor I (IL-1RI) 陽性ニューロン数、Macrophage のマーカーである Ionized calcium binding adaptor 1 (Iba1) 陽性細胞と共発現を示す Interleukin-1 β (IL-1 β) 陽性細胞数の変化を解析した。

また、三叉神経第三枝分岐部領域に Macrophage 枯渇剤を前投与した後に M1 の露髄を行い、同様に浅麻酔下にて露髄歯同側舌縁部に機械および熱刺激を与え、逃避反射閾値 (HWT) を計測した。その後、ラットを灌流固定し、TG 第三枝領域における FG 標識 TLR4 陽性ニューロンと共発現を示す IL-1RI 陽性ニューロン数の変化を免疫組織化学的に解析した。さらに、TLR4 拮抗薬である LPS-RS の三叉神経節内前投与による M1 露髄後の HWT、および FG 標識 IL-1RI 陽性ニューロン数の変化に対する影響を検索した。

【結果】

M1 露髄後 1 日目から 3 日目まで、同側舌縁部への機械および熱刺激に対する HWT は非露髄群と比較し有意に低下した。また、露髄後 1 日目において、FG 標識 TLR4 陽性ニューロン数および FG 標識 IL-1RI 陽性ニューロン数、TG 第三枝領域における Iba1 陽性細胞と共発現を示す IL-1 β 陽性細胞の発現領域は有意に増加した。

さらに、三叉神経第三枝領域への Macrophage 枯渇剤の前投与により、M1 露髄後 1 日目における同側舌縁部への機械および熱刺激に対する HWT 低下が有意に抑制されたが、FG 標識 TLR4 陽性ニューロンと共発現を示す IL-1RI 陽性ニューロン数に有意な差は認めなかった。また、TLR4 拮抗薬である LPS-RS の前投与により、M1 露髄後の機械および熱刺激に対する HWT 低下は有意に抑制され、また、FG 標識 IL-1RI 陽性ニューロン数は有意に減少した。

【結論】

以上の結果から、M1 歯髄炎に起因した三叉神経支配領域に発症する異所性痛覚過敏発症には、TG の第三枝領域における Macrophage の増加に伴う IL-1 β の産生亢進、それに伴う TG ニューロンにおける TLR4 および IL-1RI の発現増加が関与している可能性が示された。

新規 NIK 阻害剤の骨吸収阻害薬としての効果の検討

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野,

²九州大学口腔細胞工学分野, ³九州大学 OBT 研究センター

○高倉那奈^{1,2}, 自見英治郎^{2,3}, 松田美穂², 日浦史隆², 森馨代², 北村知昭¹

Examination of the Effect of a Novel NIK Inhibitor as a Bone Resorption Inhibitor

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University, ²Laboratory of Molecular and Cellular Biochemistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ³Oral health Brain health Total health Research Center, Kyushu University

○TAKAKURA Nana¹, JIMI Eijiro^{2,3}, MATSUDA Miho², HIURA Fumitaka², MORI Kayo², KITAMURA Chiaki¹

【目的】

現代社会では健康寿命が延伸し慢性疾患を抱えた患者が増加している。中でも慢性関節リウマチや骨粗鬆症等の骨吸収の亢進を伴う疾患が占める割合は高い。歯科における骨破壊を伴う疾患としては歯周病や根尖性歯周炎が挙げられるが、このような疾患において過度な免疫応答で増悪した骨吸収領域は通常の治療では治らないことも多い。骨吸収性疾患を治癒へと誘導するうえで免疫応答を適度に制御する必要があるが、この考え方は新たな骨吸収阻害薬開発の基盤となっている。これまでの研究結果より、我々は治療標的として、転写因子 NF- κ B の非古典的シグナル伝達経路に焦点を当てた研究を進めている。NF- κ B には I κ B α の分解を伴う古典的経路と NF- κ B inducing kinase (NIK) の活性化を伴う非古典的経路の2つの活性化経路が存在すること、破骨細胞分化誘導因子 receptor activator of NF- κ B (RANKL) はこの2つの経路両方を活性化することが知られている。我々は、自然発症型 NIK の点変異を有する *aly/aly* マウスが p100 から p52 のプロセッシングを抑制することで、破骨細胞数が有意に減少し、骨量が増加することを報告している。この結果は、NIK の機能を阻害することで骨吸収を抑制できることを示唆する。本研究では、新規 NIK 阻害剤 Compound33 (Cpd33) の破骨細胞形成および骨吸収機能に対する抑制効果について検討した。

【材料及び方法】

本研究は九州大学動物実験委員会の承認を得て行った (A30-217-0)。5-6 週令の雄性 C57BL/6J マウスの脛骨と大腿骨より骨髓細胞を調製し Cpd33 で前処理した後、M-CSF および RANKL 存在下で培養して破骨細胞を誘導した。培養 7 日目に酒石酸抵抗性酸性ホスファターゼ (TRAP) 染色を行い TRAP 陽性多核細胞を破骨細胞として計測した。また、カテプシン K や DC-STAMP などの破骨細胞分化マーカーの発現量の変化を Real-time PCR 法で確認した。骨髓細胞を Cpd33 前処理後に RANKL で刺激し経時的にタンパク質を回収した。Cpd33 による古典的・非古典的経路の活性化はウエスタンブロッティング法を用いそれぞれ I κ B α 分解と p100 限定分解の解析で評価した。NFATc1 発現量の変化もウエスタンブロッティング法にて評価した。加えて、マウス骨髓間質細胞株 ST2 細胞と骨髓細胞の共存培養における 1 α 25 (OH)₂D₃/デキサメタゾン誘導性破骨細胞形成に対する効果を検討するとともに、骨吸収に対する効果を Pit formation assay で検討した。また、閉経性骨粗鬆症に対する骨吸収抑制効果を卵巣摘出マウスモデルを用いて検討した。

【結果】

Cpd33 は骨髓細胞単独培養および共存培養のいずれにおいても細胞増殖に影響を与えず濃度依存的に破骨細胞形成と分化マーカーの発現を抑制した。また、Cpd33 は RANKL 刺激による I κ B α の分解には影響せず、p100 の限定分解プロセッシングを抑制した。さらに、成熟破骨細胞に Cpd33 を添加したところ、破骨細胞数に影響せずに吸収窩形成を抑制した。また、Cpd33 の全身投与は卵巣摘出による海綿骨減少を抑制した。

【考察】

Cpd33 は NF- κ B の非古典的経路を選択的に阻害し、細胞にダメージを与えることなく破骨細胞分化および骨吸収を抑制した。以上の結果は、骨破壊を伴う疾患において Cpd33 の骨破壊を抑制する薬剤としての可能性を示唆する。

【結論】

NIK 阻害剤 Cpd33 は NF- κ B の非古典的経路を選択的に阻害することで破骨細胞分化および骨吸収を抑制する。

歯肉幹細胞由来エクソソーム由来 miR-1260b は Wnt5a を介して歯根膜細胞における RANKL 発現を抑制する

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

○中尾雄紀、福田隆男、渡邊ゆかり、林千華子、四本かれん、大和寛明、田中麗、讃井彰一、西村英紀

Gingival MSC-derived exosomal miR-1260b inhibits RANKL expression in PDLCs by targeting Wnt5a

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

○Yuki Nakao, Takao Fukuda, Yukari Watanabe, Chikako Hayashi, Karen Yotsumoto, Hiroaki Yamato, Urara Tanaka, Terukazu Sanui, Fusanori Nishimura

[目的]

歯肉幹細胞 (GMSCs) は、採取が容易であり、他の幹細胞に比べてエクソソームの分泌量が多いという特性をもつ。先行研究において、TNF- α 刺激が GMSCs 由来エクソソームによる抗炎症性 (M2) マクロファージの誘導を促進することを確認した。すなわち、GMSCs 由来エクソソームに自然免疫を担う細胞に対して抗炎症効果を発揮すると考えられたが、歯周炎における歯槽骨吸収に対する影響は不明である。そこで本研究では、歯槽骨吸収に対しても治療効果が期待できるか否か検討することとした。本研究では、ヒト歯根膜細胞 (PDLCs) における骨吸収関連因子 RANKL 発現に着目し、GMSCs 由来エクソソームが RANKL の発現に及ぼす影響について、エクソソーム内包 miRNA に注目した検証を行った。

[材料及び方法]

ヒト GMSC を単離し、同細胞の培養上清から回収したエクソソーム、およびヒト初代 PDLCs 用いて、以下の実験を行った。

- ①GMSCsの幹細胞マーカーの発現状況の確認:Flow cytometry法
- ②GMSCs由来エクソソームの観察:電子顕微鏡撮影による粒子径と形態の評価
- ③PDLCsにおけるRANKL発現の検証(LPSおよびエクソソーム処理時):qRT-PCR法
- ④TNF- α 刺激により変動するエクソソーム由来miRNAのスクリーニング:マイクロアレイ解析
- ⑤エクソソーム由来miRNAの機能解析:標的miRNA mimicおよびコントロールmiRNA導入による性状比較
- ⑥シグナル伝達経路の検証:シグナル分子のqRT-PCR、ウェスタンブロッティング

[結果および考察]

ヒト GMSCs の幹細胞マーカー (陽性マーカー: CD90, CD105, CD73; 陰性マーカー: CD34, CD45, CD11b, HLADR) の発現が、Flow cytometry によって確認できた。GMSCs の培養上清からエクソソームを抽出し、エクソソームマーカー蛋白の発現 (CD63, CD81) を確認した。さらに電子顕微鏡撮影により、標準的なエクソソームの外径と形態が観察された。

ヒト PDLCs では、LPS 刺激により RANKL 発現が誘導されたが、GMSCs 由来エクソソーム処理によりその発現は、有意に抑制された。この効果は、GMSCs を TNF- α 刺激した後の上清より回収したエクソソームにより、著明に増強された。

GMSCs への TNF- α 刺激によるエクソソーム内包 miRNA の発現変動についてマイクロアレイ解析で検証した結果、TNF- α 刺激エクソソームにおける発現変動上位群 miRNA が確認された。これらの miRNA mimic を PDLCs へ導入した結果、miR-1260b による RANKL の発現抑制効果が確認された。miR-1260b は炎症歯肉において発現の減少が報告されているだけでなく、miRNA 標的検索 (TargetScan, miRanda) においても Wnt を標的遺伝子とすることが確認されている。以上の情報をもとに、PDLCs における miR-1260b の標的遺伝子について検討を行った結果、GMSCs 由来エクソソームは Wnt5a 発現を阻害することで、LPS 誘導性 RANKL 発現を抑制することが確認された。さらに、TLR シグナル依存性 RANKL 発現に重要な IRAK1 発現や JNK リン酸化も、miR-1260b mimic の導入により抑制された。

以上より、歯肉幹細胞由来エクソソームは、Wnt5a-IRAK1-JNK 経路の抑制を介して歯根膜細胞の RANKL 発現の抑制に働き、エクソソームに内包される miR-1260b がその活性の中心を担っていることが示唆された。(なお本研究は、九州大学医系地区倫理審査委員会の承認を得て実施した。許可番号: 29-124 号)

根尖が吸収された上顎中切歯における Apical Revitalization

¹大阪歯科大学 口腔治療学講座, ²大阪歯科大学 歯科保存学講座
○稲本 雄之¹, 吉川 一志², 山本 一世², 前田 博史¹

Apical Revitalization at a Maxillary Incisor with Apical Root Resorption

¹Department of Endodontics, Osaka Dental University

²Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○INAMOTO Takeshi¹, YOSHIKAWA Kazushi², YAMAMOTO Kazuyo², MAEDA Hiroshi¹

【緒言】

Pulp Revitalization は一般的に歯根未完成で根尖が大きく開口している症例に対して行われる処置である。今回われわれは、歯根完成後に根尖が吸収されている上顎中切歯の根管治療において、根尖部に限局した Revitalization (Apical Revitalization) が生じた症例を経験したので報告する。

【症例】

患者：13歳6ヶ月の女子。歯内治療科初診日：2017年12月12日

主訴：上顎右側中切歯根尖部の腫脹。

既往歴：3年前にバイクと接触して#11歯冠が破折、近医受診後に当院を紹介された。露髄は確認されず、保存修復科にてコンポジットレジン修復を行った。その後、埋伏#23の外科的牽引を含めて全顎的矯正治療を行った。(12歳2ヶ月まで、以後経過観察)

現病歴：自覚症状はなかったが、矯正科での経過観察中に根尖部の腫脹を発見された。

現症：根尖部に限局的な腫脹と軽度の圧痛がみられた。自発痛および打診痛はなく、歯髄電気診で生活反応は見られなかった。

エックス線所見：根尖部が吸収しており同部に透過像が認められた。

診断：根尖性歯周炎。歯冠破折部からの感染に起因すると考えられた。

処置および経過：浸潤麻酔下で髄室開拓を行ったところ、出血と疼痛が認められた。歯冠部の組織を次亜塩素酸ナトリウムで清掃後、根管口部に水酸化カルシウム製剤を貼薬した。次回来院時には腫脹は消失しており、歯髄電気診で生活反応がみられた。貼薬した水酸化カルシウム直下には血餅がみられたため被蓋硬組織の形成を期待して再度水酸化カルシウムを貼薬した。2ヵ月後の来院時には根管内の組織は壊死していたが、根尖側1/3の位置に被蓋硬組織が観察された。その後、被蓋硬組織から根管口までをガッタパーチャポイントで充填して舌面にはコンポジットレジン修復を行った。

経過：腫脹、発赤、疼痛など不快症状はなく経過良好と思われるが、吸収した歯根に再発育は認められない。

【考察】

本症例では Revitalization が根尖部に限局していたため、根管壁の肥厚は期待できず Revitalization の本来の目的は達成できなかったが、根尖性歯周炎は治癒して良好に経過している。

本症例において根尖は完成後に吸収されている。外傷、矯正治療や根尖性歯周炎など複雑な刺激が及んだ吸収であるが、根尖孔は歯根完成時よりも大きくなっていると考えられる。しかしながら、根未完成歯のラッパ状に開いた根尖と比較すると相当に小さい。根尖部のみに Revitalization が生じていたのは血流量が限られていたためであろう。根尖孔の大きさに応じて Revitalization の範囲が決定される可能性が考えられる。なんらかの原因で根尖孔が拡大している歯の根管治療において Apical Revitalization の概念を取り入れた治療も検討できるのではないだろうか。

非穿孔型の広範な歯根内部吸収を認めた上顎右側中切歯の1症例

新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野
○大墨竜也, 竹中彰治, 野杵由一郎

**Endodontic management of the maxillary right central incisor
with extensive internal root resorption without perforation**
Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○OHSUMI Tatsuya, TAKENAKA Shoji, NOIRI Yuichiro

【緒言】歯根吸収は、内部吸収と外部吸収に分類される。前者は、歯髄腔内から発症するもので、発症機構は正確には分かっておらず、慢性歯髄炎における炎症性肉芽組織中に、突然変異による破歯細胞が出現することにより吸収が起こると考えられている。抜髄により破歯細胞を除去しない限り進行は止まらず、通常このプロセスは無症候性で、日常的なX線検査で診断可能である。従って、臨床的には隣在歯等のX線検査で偶然発見されることが多い。吸収部の精査には歯科用コンビームCT(CBCT)が有用であり、治療方針の決定に大きく寄与する。本症例では、CBCT所見より、非常に広範囲な吸収にも関わらず、穿孔を認めなかったため、非外科的対応にて処置する方針とした。外傷性傷害に起因し、進行が非常に緩慢であった歯根内部吸収に細菌感染を伴った症例で、非外科的対応にて処置を行い、良好な治療経過を得たので報告する。

【症例】40歳、男性 主訴：上顎右側中切歯に内部吸収を指摘され、精査依頼。
埋伏智歯の確認のため、パノラマエックス線写真を撮影したところ、上顎右側中切歯に内部吸収を指摘され、2014年2月25日当科受診となった。15～16年前に自転車で転倒し、前歯部を強打、亜脱臼と思われる歯牙の変位があったため、自分の手指にて整復したとのことであった。患歯には、処置時期は明確ではないが、隣接面、唇面にコンポジットレジン修復がみられた。自覚症状はなく、水平垂直ともに打診痛はなく、患歯の頬側根尖相当部歯肉にSinus Tract認めた。歯周ポケットは全周3mm以内であった。口内法エックス線写真から、歯根根尖部に広範囲に渡る透過像が確認された。

【診断】歯髄壊死、慢性根尖膿瘍、内部吸収

【治療方針】感染根管治療後、吸収された髄腔をコアレジン等で充填し、可及的に、脆弱化した歯質のモノブロック化を図る。歯冠修復に関しては、歯冠形成を行うと歯頸部の歯質の厚みがさらに薄くなり、破折リスクが増強することを考慮し、コンポジットレジン修復の方針とした。

【経過・予後】術前にCBCTを撮影し、内部吸収が非穿孔性なのか、穿孔性なのかを確認した。

CBCT所見にて、内部吸収は広範囲におよび、根管壁は菲薄化していたが、穿孔は認めなかった。根管壁に穿孔がなかったため、通法に従い根管治療を行った。根管内に残存した壊死歯髄などの有機質を次亜塩素酸ナトリウムで溶解除去しつつ、顕微鏡下で、根尖へのアプローチを図った。歯面処理等が到達困難と思われる根尖部根管を含めた歯髄腔の根尖側およそ3分の1をオブチュレーションによりガッタパーチャを充填した。その上部をファイバーポストとポストレジンにて築造を行い、口蓋側の髄腔開拓部にコンポジットレジン修復を行った。

【考察・結論】本症例は内部吸収の範囲が非常に大きかったが、幸いにも、根管壁の穿孔を伴っていなかった。通常、内部吸収では、歯髄は生活反応を示すが、本症例では、歯髄は失活していた。隣接面や唇面にレジン充填が存在し、それらの修復物由来のマイクロリーケージにより歯髄感染が併発し、歯髄が失活することで、穿孔する寸前で内部吸収が停止したと推察される。空洞化した髄腔(根管)の脆弱化が容易に予想されたため、破折リスクも高いと考えた。その対策として、接着性修復によるモノブロック化を図ることで機械的物性の向上を図った。現在約5年経過したが、良好な予後である。

重度慢性歯周炎を有する血液透析患者に対して 包括的歯周治療を行った一症例

徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯周歯内治療学分野

○二宮雅美, 生田貴久, 成石浩司, 湯本浩通

A Case Report of Comprehensive Periodontal Treatment for Hemodialysis Patient with Severe Chronic Periodontitis

Department of Periodontology and Endodontology,

Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School

○NINOMIYA Masami, IKUTA Takahisa, NARUIISHI Koji, YUMOTO Hiromichi

【緒言】

慢性腎臓病 (CKD: Chronic Kidney Disease) の患者数は 1330 万人と推定され, 新たな国民病といわれている。そのうち末期腎不全により透析治療を受けている患者数は 2018 年に 33 万人を超え, 年々増加傾向にある。腎機能の低下は, 免疫機能の低下や口腔乾燥症, 骨ミネラル代謝異常 (CKD-Mineral bone disorder: CKD-MBD) を引き起こし, 歯周病の進行に関与することが示唆されている。今回我々は, 重度慢性歯周炎を有する透析患者に対して包括的歯周治療を行い, 口腔内環境が改善され長期間安定した歯周状態を維持している症例を報告する。

【症例】

患者は 58 歳女性。2006 年 2 月に, 咬合障害と歯肉出血を主訴として徳島大学病院・歯科に来科された。全身既往歴として, 高血圧と慢性腎不全があり, 2004 年 8 月から血液透析を受けている。数年前からう蝕や歯周病の進行により抜歯を受けてきたが, 痛みがなくなると放置していたため継続した歯科治療は受けていない。残存歯が少なくなっているために柔らかいものを飲み込むように食事をしているとのことであった。口腔内所見から, 残存歯は上顎 8 歯 (16,13,11,22,24~27), 下顎 7 歯 (48,43,31~34,37) で, 欠損部に義歯は装着されておらず, 過蓋咬合や 2 次性咬合性外傷が認められた。全顎的に歯肉の発赤腫脹や歯の動揺がみられ, 13,11,22,31,32,43 には根面う蝕が認められた。口腔清掃状態は PCR=100% と非常に不良であり, 4mm 以上の歯周ポケットは 63.1%, BOP 陽性率は 76.2% であった。サクソンテストによる唾液分泌量は 1.90 (g/2min) で基準値以下であった。X 線写真では, 全顎的に歯根長 1/2 以上の骨吸収が認められた。特に 32, 37, 48 は, 根尖に及ぶほどの重度の骨吸収が認められた。

【診断】 2 次性咬合性外傷を伴う重度慢性歯周炎

【治療経過】

術前に, 腎臓内科担当医に対して患者の病状や服薬の確認を行い, 「CKD 診療ガイドライン」にそって歯周治療を進めていった。歯周基本治療として, TBI (口腔保湿剤の併用も指導), スケーリング・ルートプレーニング, 25, 32, 37, 48 部の抜歯, 上下顎暫間補綴, 16, 13, 11, 22, 26, 27, 33, 34 部の歯内治療を行った。観血処置を行う際は透析日を避け, 事前に内科担当医に連絡して投薬の指示を受けた。抗菌薬は, 透析患者に対して投与量や間隔調整が不要であるアジスロマイシンを投与し, 鎮痛薬はアセトアミノフェンを投与した。また, 抜歯は 3 回に分けて行い創傷部位が小範囲になるよう配慮した。抜歯後は暫間補綴にて咬合拳上し, 過蓋咬合や咬合性外傷の改善を図った。その結果, 口腔衛生状態は改善し, 全顎的に認められた歯肉の炎症も顕著に改善した。基本治療後の再評価から 34 部には歯周外科治療を行った。口腔機能回復治療として上顎 16~27 部と下顎 43~34 部にブリッジを装着し, 下顎両側臼歯欠損部は部分床義歯にて咬合回復を図った。動的治療終了後は定期的に 3 か月に 1 回の間隔で SPT を 10 年以上継続している。

【まとめ】

本症例は, 慢性腎不全で透析治療を受けており, 口腔乾燥症や根面う蝕, 歯周病の進行が認められた。腎臓病と歯周病との関係について双方向性の関与が示唆されている。すなわち, 腎臓病は免疫機能の低下, 骨ミネラル代謝異常, 口腔乾燥症により歯周病の進行に関与することが指摘されており, 歯周病も腎機能の低下や腎性骨症, 腎性貧血の悪化に関与することが示唆されている。本症例も, 歯周病と腎臓病の進行が相互に悪影響を及ぼしていた可能性が考えられた。また, 患者は継続した歯科治療を受けておらず, 少数歯となった残存歯のみで食事をしていたことも咬合性外傷による重度の歯周組織破壊を引き起こしたものと推測された。動的治療終了後, 現在まで 10 年以上 SPT を継続しており, 透析 15 年以上経過した患者の病状も安定した状態で維持されている。

慢性根尖性歯周炎を有する下顎第二大臼歯槓状根に非外科処置にて対応した一症例

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)

○川西 雄三、前齒 葉月、林 美加子

Nonsurgical approach to C-shaped mandibular second molar with chronic apical periodontitis :A case report

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

○Yuzo Kawanishi, Hazuki Maezono, Mikako Hayashi

【緒言】 槓状根は複雑な根管形態を有していることが多く、感染源の残存により治療が困難となることも多い。今回は、十分な上部拡大を行い根管内の感染源を除去したことで良好な治癒経過を得られた症例を報告する。

【症例】

患者: 42歳 男性 **主訴:** 左下奥歯に鈍い痛みや違和感があり、噛むと少し痛い

現病歴: 約1年前から下顎左側大白歯部に鈍痛、むず痒い感じの違和感および咬合時痛が生じるようになった。症状の改善を認めないため、大阪大学歯学部附属病院保存科を受診するに至った。

現症: 下顎左側第二大臼歯の修復物に適合不良を認め、打診痛および咬合時痛を認めた。また、遠心に頬舌的に幅広い5mmの歯周ポケットを認めた。デンタルエックス線写真およびパノラマエックス線写真、歯科用コーンビームCT (以下CBCT) より下顎左側第二大臼歯根尖部に透過像を認め、根管充填状態は不良であり、根管内に破折ファイル様不透過像を認めた。また、下顎第三大臼歯の埋伏を認めた。以上より、下記の2つの可能性があると診断した。①

下顎左側第二大臼歯慢性根尖性歯周炎、②下顎左側第二大臼歯慢性辺縁性歯周炎 (下顎左側第三大臼歯埋伏を伴う)

治療方針: ①に対して下顎左側第二大臼歯の再根管治療を行う。症状の改善が認められない場合には②に対して歯周治療および、下顎左側第三大臼歯抜歯を考慮する。

治療経過: 下顎左側第二大臼歯の再根管治療を開始するため、修復物およびコアを除去したところ上部拡大が明らかに不十分であり、舌側に残存している壊死歯髄組織を認めた。ダイヤモンドバー、スチールバー、超音波装置を用いて十分な上部拡大を行い、超音波装置およびO・Kマイクロエクスカを用いて残存壊死歯髄組織およびガッタパーチャポイントの除去、根尖部の破折ファイル除去を行ったところ、主訴の改善を認めた。電氣的根管長測定を行い、WaveOne Goldにて45号まで根管拡大後、レントゲンの根管長測定を行い、continuous wave condensation technique¹⁾ 変法 (superendo α^2 , superendo β , キャナルシーラーN)にて根管充填を行った。経過良好であったため、根管充填9ヶ月後に全部金属冠にて最終補綴を行った。根管充填後に特記すべき症状は認めず、術後経過観察時のデンタルエックス線写真およびCBCTでは下顎左側第二大臼歯根尖部透過像の消失を認めた。なお、遠心に幅広い5mmの歯周ポケットを認めるが、現在BOPを含めた炎症所見を認めないため、3か月ごとの定期健診の際に経過観察している。

【考察、まとめ】 下顎第二大臼歯における槓状根の頻度はアジア人で多く、過去の報告では10~44.5%と述べられている。一方で、根管から根尖まで同一の形態であることは少なく、分岐や合流も多く、臨床的に苦慮することも多いとされている²⁾。また、槓状根では根管上部に比べ、根管中央部、根尖部にアンダーカットが存在し、感染源の残存につながるが多いため十分な上部拡大が必要となる。今回の症例では、再根管治療に際して十分な上部拡大を行い、残存壊死歯髄を含めた感染源の除去を可能にできたことが、良好な治癒につながったと考えられる。



Before the treatment

1 year after RCT

1) Buchanan L.S,et al. The continuous wave of condensation technique ; a convergence of conceptual and procedural advances in obturations. Dent Today 1994;13(10):80,82,84-85.

2) Jafarzadeh H.J,et al. The C-shaped root canal configuration: a review. J Endod 2007;33(5):517-23.

咬合性外傷を伴う重度慢性歯周炎患者に対して包括的治療を行った一症例

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周歯内治療学分野

○山下 恭徳, 吉村 篤利

A case report: comprehensive treatment of a severe chronic periodontitis patient with occlusal trauma

Department of Periodontology and Endodontology,
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Yamashita Yasunori, Yoshimura Atutoshi

【緒言】咬合性外傷を伴う慢性歯周炎患者には、しばしば著しい垂直性骨吸収と歯の動揺がみられる。本症例では、大白歯部に咬合性外傷が認められ、限局的な著しい歯周炎の進行が認められたが、咬合治療を含む包括的歯科治療を行うことで、歯周組織の改善がみられたので報告する。

【症例】患者: 54歳, 男性。主訴: 左上で噛みにくい。

【診断】咬合性外傷を伴う広範囲重度慢性歯周炎

【診査・検査所見】PD が 4mm 以上の部位は 33.9%, 6mm 以上の部位は 4.1%。26, 27 は中心咬合位および左右側方運動時の作業側, 平衡側で機能的動揺を認める。16, 15 に平衡側の干渉あり。多数歯に咬耗を認め、ブラキシズム, クレンチングの自覚を認めた。

デンタルエックス線所見: 16, 15, 26, 27, 47 に垂直性骨吸収, 27 の近心に根尖に及ぶ骨吸収, 26 近心に根分岐部病変様透過像, 16 近心に根分岐部病変様透過像あり。

CT 所見: 26 口蓋根と頬側遠心根の分岐部に透過像あり, 27 口蓋根の根尖吸収あり。

【治療方針・治療計画】歯周基本治療において, 口腔清掃指導とスクレーリング・ルートプレーニングを行うとともに咬合性外傷の認められた 16, 15, 26, 27 に咬合調整を行い, 咬合の安定を図る。歯周・歯内病変複合型と診断した 27 に歯内治療を行う。再評価後に深い歯周ポケットの残存した部位に歯周外科を行い, 26 は遠心頬側根をトライセクションし, 16 にはエムドゲインを応用した歯周組織再生療法を行う。遠心頬側根をトライセクションした 26 は 27 と連結してプロビジョナルレストレーションを作製し, 経過観察後に最終補綴を行い, SPT へ移行する。

【治療経過】歯周基本治療: 口腔清掃指導 (2013 年 11 月~12 月), 抜髄 (47, 26, 27) (47 は齶蝕除去中に露髄したため抜髄となった), SRP, 暫間被覆冠 (47), 暫間充填 (46), 咬合調整 (2014 年 1 月~2015 年 5 月), 再評価検査 (2015 年 5 月), 歯周外科治療 (16, 15, 26, 37, 46, 47): エムドゲインを用いた歯周再生療法 (16) (2015 年 7 月~8 月), 頬側遠心根トライセクション (26), 再評価検査 (2016 年 2 月), プロビジョナルレストレーション (47, 46, 26 と 27 は連結) (2016 年 3 月~2016 年 9 月), 最終補綴処置 (全部鑄造冠 (47, 46, 26 と 27 のブリッジ) (46 は広範囲の齶蝕のため全部被覆冠とした) (2016 年 10 月), メンテナンス / SPT (2016 年 10 月~)

現在, SPT 移行後約 3 年で, 歯周組織の状態は安定している。

【考察】本症例では, 初診時に上下顎の多数歯に咬耗を認め, ブラキシズム, クレンチングの自覚を認めたことから, 外傷性咬合が歯周炎の進行に関与していると考えた。咬耗が進む前の状態は不明だが, 咬耗による顎位の低下, 平衡側での大白歯の接触部位の変化など様々な要因が, 咬合性外傷を引き起こしたと考えられる。歯周基本治療では, 炎症の除去とともに咬合の安定を図った。咬合時に機能的動揺を認めた 26, 27 は抜髄して咬合面を大きく切削をしたが, 機能的動揺を認めなかった 16 に対しては咬合調整のみを行った。再評価後のプロビジョナルレストレーション (26, 27 の連冠, 46, 47 の単冠) 装着時に, 側方運動時に臼歯部が離開するよう作製した。最終補綴物装着後にナイトガードを作成し, 現在も使用していただいている。

27 について: 初診時に 7 mm のポケットがあり, コーンビーム CT 画像で口蓋根の根尖周囲の透過像と歯根の吸収が確認された。電気歯髄診では生活反応を示したため, 歯周・歯内病変複合型と診断した。そこでまず, 歯内治療を行い, 約 6 ヶ月後の歯周検査とエックス線写真により, 根尖周囲骨の回復が認められた後に SRP を行った。SPT 移行時の CT 撮影により, 根尖周囲には不完全だが骨の再生が認められた。歯根形態が複雑であるため, 今後も炎症と咬合の管理を注意深く行う必要があると考えている。

広汎型重度慢性歯周炎患者に対しリグロス®を用いた歯周組織再生療法を行い、 包括的歯科治療を行った一症例

東北大学大学院歯学研究科口腔生物学講座歯内歯周治療学分野
○須藤瑞樹、山田 聡

A case report of comprehensive periodontal therapy using REGROTH® for generalized severe chronic periodontitis

Division of Periodontology and Endodontology Tohoku University Graduate School of Dentistry
○Mizuki SUTO, Satoru YAMADA

【はじめに】広汎型重度慢性歯周炎患者に対して垂直性骨欠損部位にリグロス®を用いて歯周組織再生療法を行い、抜歯即時義歯により上顎前歯部の審美障害および臼歯部咬合を回復させた包括的歯科治療を行った症例を報告する。

【症例の概要】患者：62歳女性 初診日：2016年8月9日 主訴：近医で歯周病の治療、メンテナンスを行ってきた。しかし、歯周病が進行してしまっただけ専門的な治療を希望し当科来院。

全身既往歴：2002年に乳がんを発症し手術。乳管内腫瘍であったため抗がん剤・放射線治療は回避でき、その後2017年まで経過観察を行い、2018年の乳がん検診で再発はみられなかった。また2019年6月より高血圧症と診断されたためアムロジピン2.5mgを服用開始。投薬後は130mmHg/80mmHg位で推移している。

歯科的既往歴：30歳代から定期的に歯科医院を受診しその都度口腔清掃や必要な齶蝕治療などを受けていた。40歳代後半に歯周病により左右側下顎臼歯部を抜歯してインプラント治療を受けた。その後も定期的に歯科医院を受診していたが2015年に左側上顎小臼歯部も歯周病により抜歯してインプラント治療を行った。しかしその後2016年に歯周病の悪化、歯根破折等が生じたため専門的な治療を希望して当院受診となった。喫煙歴：なし 飲酒：機会飲酒

【診査・臨床所見】全顎的に多量のプラーク、歯石の沈着を認め、辺縁歯肉および歯間乳頭歯肉の発赤・ブロービング時の出血(BOP85.1%)を認めた。23・26歯周ポケットからは排膿を認め、12・13、11・12、23・24間で不適合な暫間固定がされていた。4mm以上の歯周ポケットは76.3%で特に上顎前歯部および43には6mm以上の歯周ポケットが認められた。17・27の欠損部は補綴されていなく、24・25、34・35・36、46・47の欠損部はインプラントによる補綴がされていた。X線の上では全顎的に軽度水平性骨吸収が存在し、11・22に歯根を取り囲む透過像を21・23・26に歯根破折を認め、43遠心には垂直性の骨吸収像を認めた。

【診断】広汎型重度慢性歯周炎、21・23・26歯根破折

【治療計画】1. 歯周基本治療(口腔清掃指導、スケーリング・ルートプレーニング、抜歯・治療用即時義歯) 2. 再評価 3. 歯周外科処置 4. 再評価 5. 口腔機能回復治療(補綴治療) 6. SPT

【治療経過】口腔清掃指導後、スケーリング・ルートプレーニング、11・21・22・23・26の抜歯および即時義歯装着を行い上顎前歯部の審美的回復・臼歯部咬合の回復を行った。患者のモチベーションは高く再評価時の0' LearyのPCRは4.8%とプラークコントロールは良好であった。歯周基本治療後、4mm以上のポケットが残存した43・44部位には歯周外科手術を行った。垂直性骨吸収を有する43は術前の歯周ポケット深さが5mm、術中の骨欠損の深さは5mmで3壁性の骨欠損であったためリグロス®を用いての歯周組織再生療法を行った。歯周組織の安定後、最終補綴として上顎欠損に新たに部分床義歯を装着し、再評価後にSPTへ移行した。なお、治療に用いた器具・機材および材料はすべて承認済の材料を用いた。発表に際し、患者の同意を得た。

【考察・結論】現在歯周組織はPCR値を含めて安定している。患者は一連の歯周治療に積極的かつ協力的であり、良好なラポールを形成している。歯周組織再生療法を施行した部位はデンタルX線上で垂直性骨欠損部の骨の新生が認められ、歯周ポケットも2mmと安定しており良好な経過が得られている。口腔機能回復治療として上顎に部分床義歯を装着したが、治療用義歯と比較して口蓋部を開放することで発音や違和感に対して考慮できる設計とした。また患者は2019年6月より高血圧症によりカルシウム拮抗薬を服用しているため歯肉増殖症に対して注意深く観察していく必要がある。本症例は良好な経過を経ているが今後も引き続き残存歯・インプラントに対してプラークコントロールを行い注意いSPTが必要であると考えられる。

Degree of Conversion of “Touch and cure” Resin-Cements: Micro-Raman Analysis.

Department of Restorative Dentistry, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University
 ○EAMSA-ARD Pimpinee, CHOWDHURY Abu Faem Mohammad Almas, MATSUMOTO Mariko, YAMAUTI Monica,
 SANO Hidehiko

Objective:

The aim of this study was to investigate the degree of conversion (DC) of three dual-cure resin-cements.

Methods:

Nine extracted non-carious human premolars were collected under protocol reviewed and approved by the Hokkaido University ethical committee (#2018-9). Flat 600-grit SiC-grounded dentin surfaces were randomly assigned according to three dual-cure resin-cements: G-CEM ONE (CSL), Panavia V5 (PVL) and RelyX Ultimate (RXL). The first two were “Touch and cure” system. The primer/adhesive was applied according to the manufacturers’ instruction without light-curing, followed by 4-mm resin-cement was built-up and light-cured from 5 directions for 20 seconds each. After water-storage (24h, 37°C), specimens were longitudinally sectioned to obtain 1-mm thick bonded dentin slabs exposing the resin-dentin interface. They were then sequentially polished with SiC and diamond pastes down to 1 μm particle size. DC of each specimen was evaluated by Micro-Raman spectroscopy (Renishaw InVia; Renishaw PLC, UK) at 3h and 72h after cutting. In each specimen, three lines (1 μm apart) were employed for evaluation, the central being located in line with the highest pulp horn. Each line started at 2 μm from the resin-dentin interface and tested twenty spots having 1-10μm intervals until 60μm interface distance. The intensities of band with aliphatic C=C, internal stable of aromatic C=C for PVL and RXL and aliphatic C-H for CSL were 1638, 1608 and 1455 cm⁻¹ respectively.

The correlation between DC and distance from resin-dentin interface were analyzed by Liner regression. The means of DC were analyzed by One-way ANOVA and Tukey test ($\alpha = 0.05$).

Results:

For PVL, no correlation was found between DC and distance. However, positive and negative correlations were found for CSL and RXL respectively. CSL demonstrated the highest mean DC statistically different from RXL and PVL in both testing time ($p < 0.05$). PVL showed the lowest DC. Within 60 μm from the interface, DC values of all cements did not show differences overtime.

Conclusions:

“Touch and cure” resin-cement, G-CEM ONE, showed the highest DC and its values were improving with the increasing distance from the interface.

Cement	Mean DC±SD in %	
	3h	72h
CSL	88.56±3.9 ^A	88.61±4.2 ^A
PVL	77.69±0.4 ^B	77.71±0.7 ^B
RXL	80.42±1.7 ^B	81.24±0.7 ^B

Different superscript letters indicate significant differences ($p < 0.05$)

MDP 含有ワンステップボンディング材の歯質脱灰能および歯質接着性

日本大学松戸歯学部保存修復学講座¹, 医療管理学講座²

○藤田(中島)光¹, 横田容子¹, 岩井啓寿¹, 内山敏一², 岡田珠美¹, 神谷直孝¹, 平山聡司¹

The demineralization capacity of MDP phosphate-based all-in-one adhesives and their bond performance

Department of Operative Dentistry¹, Department of Dental Practice Administration²,
Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○FUJITA-NAKAJIMA Kou¹, YOKOTA Yoko¹, IWAI Hiroto¹, UCHIYAMA Toshikazu², OKADA Tamami¹,
KAMIYA Naotaka¹, HIRAYAMA Satoshi¹

[研究目的]

演者らは、ワンステップボンディング材の歯質への接着機構を解明するため、これまで MDP の添加量の異なるワンステップボンディング材にエナメル質および象牙質粉末を相互作用させ、核磁気共鳴(NMR)法および波形分離法を用いて解析し、脱灰過程で生成される MDP-Ca 塩の分子種を同定後、生成された MDP-Ca 塩の生成量を決定してきた。

本研究では、市販のワンステップボンディング材の歯質脱灰能を定量的に評価するため、エナメル質および象牙質を脱灰する過程で生成される MDP-Ca 塩の分子種およびその生成量をこれまでに確立した分析手法を用いて決定し、ワンステップボンディング材に含有する HEMA が MDP-Ca 塩の生成速度に及ぼす影響と MDP-Ca 塩の生成量がエナメル質および象牙質接着性に及ぼす影響を検討した。

[材料および方法]

材料: MDP 含有の4種類の市販のボンディング材および試作ボンディング材1種を使用した。市販の HEMA 含有ワンステップボンディング材として、スコッチボンドユニバーサルアドヒーズ(3M ESPE)、クリアフィルトライエスボンドND(クラレノリタケデンタル)、クリアフィルトライエスボンドNDクイック(クラレノリタケデンタル)を、HEMA 非含有ワンステップボンディング材として G-ボンド プラス(GC)および試作ボンディング材を使用した。

反応生成物の解析: 各ボンディング材をエナメル質および象牙質粉末と1、30、60分間相互作用させ、得られたエナメル質および象牙質の反応残渣の NMR スペクトルを測定するとともに、NMR スペクトルを波形分離し、MDP-Ca 塩分子種を同定して、MDP-Ca 塩の生成量を求めた。また、測定で得られた反応生成物の解析は、Origin Pro 解析ソフトにて波形分離を行った。

せん断接着試験: ウシ前歯抜去歯の唇側エナメル質を #1000 シリコンカーバイトペーパーにて研磨し、新鮮なエナメル質および象牙質を露出させた後、試料片を埋没した。内径 3.2mm の穴の内面をワンステップボンディング材でメーカー指示処理後、エアブローを行い、10秒間光照射し、シリコンリングを固定し、コンポジットレジンを充填し光照射(20秒間)を行い、試験体を作製した。その後、24時間 37°C 水中保管後、サーマルサイクル 10000 回を行い、インストロン型万能試験機で、クロスヘッドスピード 1.0mm/min にて圧縮剪断接着強さを測定した。

[結果および考察]

ワンステップボンディング材に含有する HEMA が MDP-Ca 塩の生成速度に及ぼす影響を検討し、さらに MDP-Ca 塩の生成量がエナメル質および象牙質接着性に及ぼす影響を検討した結果、エナメル質および象牙質の脱灰過程を通して生成される MDP-Ca 塩の分子種は、HEMA 含有ワンステップボンディング材と HEMA 非含有ワンステップボンディング材とは異なり、HEMA 含有ワンステップボンディング材は MDP モノマーおよびダイマーのジカルシウムを生成するのに対し、HEMA 非含有ワンステップボンディング材は MDP モノマーおよびダイマーのモノカルシウムを生成することが判明した。また、ワンステップボンディング材のエナメル質接着は MDP-Ca 塩の生成量、つまりスマヤー層を含めた健全エナメル質を脱灰する能力に強く依存するのに対し、象牙質接着は MDP-Ca 塩の生成量に依存せず、スマヤー層の除去はワンステップボンディング材の接着強さを低下させることが解った。

[結論]

ワンステップボンディング材に含有される HEMA は MDP-Ca 塩の生成速度を遅延させることが明らかとなった。

本研究の一部は、文部科学省委託事業ナノテクノロジープラットフォーム課題として物質・材料研究機構の支援を受けて実施された。

新規 2 ステップボンディング材の接着性能

株式会社ジーシー

○小原由希, 有田明史, 熊谷知弘

Adhesion performance of novel 2-step adhesive

GC CORPORATION, TOKYO, JAPAN

○Yuki Ohara, Akishi Arita, Tomohiro Kumagai

【研究目的】

コンポジットレジンを用いた修復においてはボンディング材の接着力が重要である。2 ステップシステムは 1 ステップシステムよりも接着強さは高いが、手順が多くテクニックセンシティブである。特にエアブローにおいては、製品によって推奨されるエア圧が異なり、使用者によってばらつきが生じやすい。そこで弊社では、エア圧による接着強さの影響を受けにくい新規の 2 ステップボンディング材 (試作品, BZF-29) を開発した。本研究では, BZF-29 と既存製品の 2 ステップボンディング材 (製品 A) を用いてエア圧に対するせん断接着強さを評価した。

【材料および方法】

ウシ下顎前歯の歯冠部を SiC 製耐水研磨紙 (#320) にて注水下で研磨した。被着面をエア圧で乾燥させた後, プライマーを塗布し, 業者指示に従ってエア圧乾燥を行った。さらにボンディング材を塗布して各エア圧でボンドを均一に伸ばした。エア圧は業者指示の弱圧 (0.05 MPa) から 0.10, 0.15, 0.20 MPa に変えてそれぞれ試験体を作製した。内径 2.38mm のモールドを被着面に固定して G-ライトプライム II (ジーシー) で 10 秒光照射を行い, クリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル) をモールド内に充填して 20 秒光照射を行い硬化させた。これらの試験体を, 37°C 水中で 24 時間保管した後, 小型卓上試験機 (EZ-S, 島津製作所) を用いてクロスヘッドスピード 1mm/min でせん断接着試験を実施した (N=5)。得られた結果は Tukey の検定により統計処理を行った ($p < 0.01$)。また, せん断試験後に走査型電子顕微鏡 (TM3000, 日立ハイテクノロジー) を用いて CR 側の破断面を観察した。

【結果および考察】

エナメル質と象牙質に対するせん断接着強さを Fig. 1 に示す。エア圧に対する接着強さを比較すると, エナメル質においては, BZF-29 も製品 A もエア圧を変化させても接着強さに有意差はなかった。破断面を観察すると, BZF-29 はエア圧に関わらずエナメル質の凝集破壊が見られた。製品 A はエア圧が弱いときはエナメル質の凝集破壊が見られ, エア圧が強いほどエナメル質とボンディング材の界面破壊が増加した。エナメル質においてエア圧で接着強さに有意差がなかった原因として, 象牙質に比べて水分が少なく, エア圧を強くして膜厚が薄くなっても十分に硬化したためだと考えられる。象牙質においては, BZF-29 はエア圧を変化させても接着強さに有意差はなかった。一方で, 製品 A はエア圧が強いほど接着強さが有意に低下した。象牙質の破断面においては, BZF-29 も製品 A もエア圧が弱いと象牙質の凝集破壊が見られ, エア圧が強くなると BZF-29 はボンディング材の凝集破壊が増加し, 製品 A は象牙質とボンディング材の界面破壊が増加した。BZF-29 はエア圧を強くしても歯面とボンディング材の界面破壊でなくボンディング材の凝集破壊が増加したため, BZF-29 は象牙質界面での接着性が優れていると考えられる。

【結論】

BZF-29 はエア圧を変えても接着強さに有意差はなく, エア圧の影響を受けにくかった。よって, 臨床においても BZF-29 を用いることで安定した接着強さが得られると期待できる。

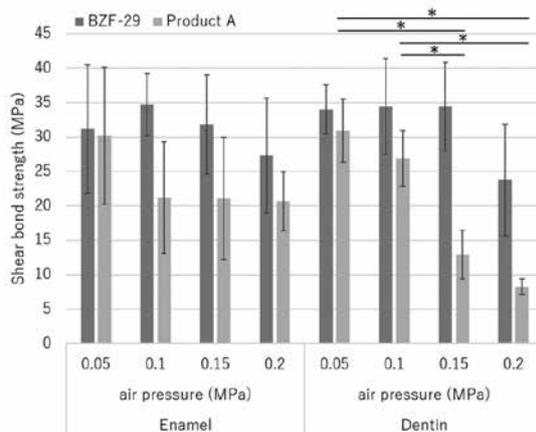


Fig. 1. Shear bond strength to enamel and dentin. Asterisks indicate significant difference.

プライマー処理を併用した新規セルフアドヒーズセメントの接着性について

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○岩崎和恵, 保尾謙三, 森川裕仁, 岩佐一弘, 廣田陽平, 横田啓太, 黄地智子, 中嶋國博, 竹内撰, 谷本啓彰, 吉川一志, 山本一世

Study on Bonding with Priming in the New Self-adhesive Resin Cement to Enamel or Dentin
Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○IWASAKI Kazue, YASUO Kenzo, MORIKAWA Yuto, IWASA Kazuhiro, HIROTA Youhei, YOKOTA Keita, OUCHI Satoko, NAKASHIMA Kunihiro, TAKEUCHI Osamu, TANIMOTO Hiroaki, YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

【目的】

近年, 前処理が必要でないさまざまなセルフアドヒーズレジンセメントが開発され, 臨床の場で使用されているが, プライマー処理を行わないため, 歯質, 特に象牙質との接着強さが低下することが報告されている。そこで, 今回我々は, GC社より新規開発されたセルフアドヒーズレジンセメントについて, プライマー処理の有無がエナメル質ならびに象牙質との引張接着強さに与える影響について検討を行った。

【材料および方法】

セルフアドヒーズレジンセメントとして SA ルーティング Multi (クラレノリタケデンタル, 以下 SA), プライマーとしてクリアフィルユニバーサルボンド QuickER (クラレノリタケデンタル, 以下 ER) を使用した, 新規セルフアドヒーズレジンセメントとして GOF-01-AM (GC, 以下 GO), プライマーとしてジーセム ONE 接着強化プライマー (GC, 以下 AE) を用いた。

抜去後冷凍保存したウシ歯のエナメル質および象牙質に平坦面を作製し, 耐水研磨紙#600 まで研磨を行い被着面とした。各被着面に内径 3mm の穴を開けたマスキングテープを張り付け被着面積を規定した。接着条件を, プライマー処理無し・SA (以下 nSA), ER によるプライマー処理有り・SA (以下 ESA), プライマー処理無し・GO (以下 nGO), AE によるプライマー処理有り・SA (以下 ASA) の 4 条件とした (n=5)。各被着面に, 業者指定の通りに接着操作を行い, クリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル, A3) をテフロンモールドに填塞・硬化させた GR ブロック治具を接着させた。24 時間 37°C 水中保管した後, 万能試験機 (IM-20, Intesco) を用いて CHS=0.3mm/min にて接着引張強さを測定した。統計処理は, 一元配置分散分析および Tukey の検定を行った (p<0.05)。本実験は, 大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得て行われた (承認番号 16-09004)。

【結果および考察】

実験結果を Fig. 1 に示す。エナメル質において, ESA は nSA に比べて, AGO は nGO に比べて有意に高い接着強さを示した。nSA と nGO の間に, ESA と AGO の間に有意差は認められなかった。象牙質において, nSA と ESA の間に有意差は認められなかったが, AGO は nGO に比べて有意に高い接着強さを示した。また, nSA と nGO の間に有意差は認められなかったが, AGO は ESA に比べて有意に高い接着強さを示した。これは, エナメル質では, 各プライマー処理の影響により接着値が上昇したと考えられる。また, 象牙質では, ER は SA への重合促進作用がある事に対して, AE は GO への接触硬化作用がある事により接着強さが上昇したと考えられる。

【結果】

新規セルフアドヒーズセメントは, 従来のセルフアドヒーズセメントと比べて, プライマー処理無しにおいて同程度の接着強さを示し, 象牙質においてはプライマー処理ありで有意に高い接着強さを示すことが示唆された。

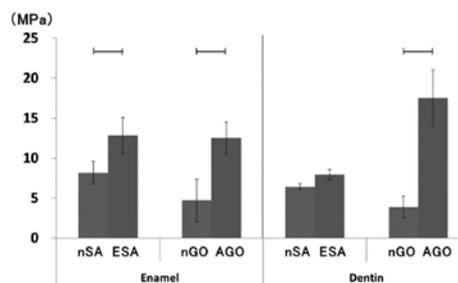


Fig. 1 Tensile bond strengths of each resin cements with non-priming or priming to enamel or dentin (P<0.05) —: significant different

唾液汚染被着面に対する汚染除去材の効果：接着強さからの検討

¹⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 生体材料学分野

²⁾ 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 総合歯科学分野

○入江正郎¹⁾, 岡田正弘¹⁾, 武田宏明²⁾, 鳥井康弘²⁾, 松本卓也¹⁾

Effect of shear bond strength to dentin substrate of self-adhesive resin cement on various cleaning procedures

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

²⁾ Department of General Dentistry,

○Masao IRIE¹⁾, Masahiro OKADA¹⁾, Hiroaki TAKETA²⁾, Yasuhiro TORII²⁾, Takuya MATSUMOTO¹⁾

【 緒言 】

近年、審美修復材料は従来の陶材に代わるべく、CAD/CAM の導入に伴い種々のセラミックス修復材料が登場して、その接着、維持の重要性はますます高まり、被着面汚染はより重要な問題である。そこで、今回は汚染除去材の効果、被着面に対する接着強さから検討したので報告する。

【 材料と方法 】

下記の Table に、汚染除去材とその手順を示した（唾液は演者のを使用した）。今回は被着面として最近のセラミックス 1 種 (IPS e.max: Ivoclar Vivadent), 合着用セメントとして Self-adhesive resin cement (SA Luting Multi, Kuraray Noritake Dental) 1 種を使用した。方法は、ISO の接着強さの測定指針 (ISO/TR 11405) を参考にして行なった。セラミックスをトリミングして被着面 (直径約 5 mm, 厚さ約 2 mm) を確保した。それぞれの被着面を、# 600 の耐水研磨紙で最終研磨後、4.5 % のフッ化水素酸水溶液 (IPS Ceramic Etching gel, 20 sec., Ivoclar Vivadent) で処理し、蒸留水で水洗、エアで十分に乾燥させた。その後、テフロンモールド (内径 3.6 mm, 深さ 2.0 mm) を固定し、このモールド内にセメントを用いてステンレスロッド (被着面は粒子径 50 μm のアルミナを 10 秒間噴射のサンドブラスト処理後、Alloy Primer, Kuraray Noritake Dental で被着面を処理) を接着させた。光照射 (20×2 秒間) して硬化させ、1 日間 37°C 蒸留水中浸漬後、せん断接着強さを測定した¹⁾。

【 結果と考察 】

下記の Table に 1 日後の接着強さを示す。IPS e.max に対して汚染されない場合 (Base) は 38 MPa を示し、これを基準とした。DC 200C で処理することにより、Base と有意差のない値を示し、他の 4 種と比較すると Ivoclean 処理とは有意な差がみられなかったが、その以外の処理法と比較すると有意に優れた値を示した。唾液汚染後直ちに乾燥した条件 (20 MPa) と比較すると、Multi Etchant 処理や K Etchant 処理では有意差のない値を示し、その効果は皆無に等しかった。特に、唾液汚染することにより、測定値 (N=10) の最低値が Base と比較してより低くなり、破断面を観察しても僅かながら剥離破壊が増え、それに伴い混合破壊数が減っているのがわかる。このようなことから接着信頼性が低下していることが想像される。本学倫理審査委員会 (研 1901-036) で承認を受けている。

Table Effect of shear bond strength to dentin substrate of self-adhesive resin cement on various cleaning procedures (MPa)

Cleaning procedure	Mean (S.D., n=10)	Range	Fracture mode [#]
Base	38.1 (5.0) a*	29.0 – 44.9	AF: 0, MF: 10, CF: 0
Saliva → dry	20.4 (3.4) d	16.5 – 21.0	AF: 6, MF: 4, CF: 0
Saliva → dry → DC-200C (10 sec., scrubbing Kuraray Noritake Dental) → washing → dry	32.1 (6.4) ab	23.4 – 43.4	AF: 1, MF: 9, CF: 0
Saliva → dry → Ivoclean (20 sec., Ivoclar Vivadent) → washing → dry	28.2 (6.4) b c	18.2 – 36.6	AF: 2, MF: 8, CF: 0
Saliva → dry → Multi Etchant (20 sec., scrubbing Yamakin) → washing → dry	25.1 (4.2) c d	18.8 – 33.4	AF: 3, MF: 7, CF: 0
Saliva → dry → K-ETCHANT Syringe (5 sec., Kuraray Noritake Dental) → washing → dry	24.1 (3.7) c d	18.2 – 28.2	AF: 0, MF: 10, CF: 0

[#]: AF: Adhesive failure at the bonding site, MF: Mixed failure, CF: Cohesive failure.

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

【 文献 】

1) Irie M *et al.*, Physical properties of dual-cured luting-agents correlated to early no interfacial-gap incidence with composite inlay restorations. *Dent Mater* 26: 608-615, 2010.

十分な光照射野の得られない特殊環境下における新しい光強度増幅法の開発

¹明海大学歯学部機能保存回復学講座オーラルリハビリテーション学分野

²明海大学 PDI 浦安歯科診療所

³明海大学保健医療学部口腔保健学科

○町谷 亜位子^{1,2}, 大塚 彩加², 田邊 千佳子², 石田 結^{1,2}, 中村 裕子^{2,3}, 吉川 正芳^{2,3}, 下島 孝裕^{1,2,3}

Development of novel method for optical amplification in unusual dark environment

¹Division of Oral Rehabilitation of Sciences, Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry

²Meikai University PDI of Clinical Dentistry in Urayasu

³Department of Oral Health Sciences, Meikai University School of Health Sciences

○MACHIYA Aiko^{1,2}, OHTSUKA Ayaka², TANABE Chikako², ISHIDA Yui^{1,2},

NAKAMURA Yuko^{2,3}, YOSHIKAWA Masayoshi^{2,3}, SHIMOJIMA Takahiro^{1,2,3}

【目的】

近年、光重合型レジンをを用いた接着システムは、機械的性質と操作性の向上により、光重合型コンポジットレジン修復をはじめ矯正治療におけるダイレクトボンディング法など臨床範囲が拡大している。光重合型レジンはその特性上、光照射距離および光強度に接着強さが依存することが知られている。しかし、小児や障害者歯科診療で開口量の得られない場合や、深い埋伏歯の開窓牽引の際のアタッチメント装着など、十分な光照射野が得られない中で操作を行わなければならない場面がある。そこで、本研究では、医療用チューブを用いて光強度を増幅する新しい手法を考案し、評価を行った。

【試料および方法】

実験 1

十分な光照射が行えない特殊環境下を想定し、直径 15mm の孔を有する厚さ 20mm の石膏型を作成した。孔には、反射防止材として内面に発砲ポリウレタンフォームを貼付した。孔に直径 10mm の医療用チューブを設置し、一方から歯科用 LED 光重合照射器 BlueLEXA1pha (ヨシダ社) を用いて、3 秒間光照射を行った。他方から RADIOMETER LM-100 (MONITEX 社) を用いて光強度を測定した (n=10)。得られた結果は、t 検定を用いて統計学的解析を行った (p<0.05)。

実験 2

医療用チューブを用いた新しい光照射システムを応用し、埋伏歯にアタッチメントを装着する新しいインスルメントを開発した。片頭エキスポローラー (シオタ社) を改良し、先端から 3cm の部位で 70-90 度に屈曲し、更に先端 1mm の部位で内側に 80 度屈曲し、埋伏歯用インスルメントを作製した。牽引用アタッチメントとして、リンガルボタン (トミーインターナショナル社) にワイヤーを結紮し、ヘッド部分に適合する医療用チューブを装着した。最後にインスルメントを医療用チューブ内に通し、埋伏歯モデル上で光照射を行い、光強度を測定した。

【結果および考察】

実験 1

測定された光強度は、コントロール (医療用チューブなし) で $440.8 \pm 6.6 \text{ mW/cm}^2$ (mean \pm SD), 医療用チューブを設置した群で、 $545.1 \pm 5.4 \text{ mW/cm}^2$ と、医療用チューブ群の方が優位に高かった。

実験 2

リンガルボタンに医療用チューブを挿入した事で、アタッチメントの接着対象面への誘導が安定し、光照射器の光源から接着対象面への有効な照射が可能となった。

【結論】

医療用チューブを用いた光強度増幅法は、接着対象面から距離が離れた条件下での光照射に有効である可能性が示唆された。また、この特性を活かし開発した埋伏歯用インスルメントは、深い埋伏歯のアタッチメント装着への有用性が期待できる。

自己接着型フロアブルコンポジットレジンの接着性

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⁾ 朝日大学²⁾
○清水翔二郎¹⁾, 井殿泰鳳¹⁾, 高垣智博¹⁾, 日下部修介¹⁾, 堀田正人²⁾, 二階堂 徹¹⁾

Tensile Bond Strength of Self-adhesive Flowable Resin Composite

¹⁾ Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry ²⁾ Asahi University
○SHIMIZU shojiro¹⁾, IDONO Taiho¹⁾, TAKAGAKI tomohiro¹⁾, KUSAKABE Shusuke¹⁾
HOTTA Masato²⁾, NIKAIIDO Toru¹⁾

【目的】

近年、歯科用接着材料の進歩は目覚しく、接着手順をより簡便な方法にするものが開発・臨床応用されている。ステップの簡略化を実現することによる利点は、チェアタイムの短縮化が可能になり、患者の負担も少なく、テクニカルエラーを減らすことが可能で、臨床操作が効率的であることは明らかである。また、経済的にもボンディングシステムを使用しないためコストパフォーマンスの高い処置が期待できる。しかし、これまで強固に接着するゼロステップコンポジットレジン接着システムは確立されていない。そこで、新たに自己接着型フロアブルコンポジットレジン (SI-R21701 F10, SI, 松風) が試作されたので、市販されている自己接着型フロアブルコンポジットレジンである Fusio™ Liquid Dentin A3 (FL, ペントロン) と従来型グラスアイオノマーセメントであるグラスアイオノマーFX ウルトラ (FX, 松風) およびフジ IX_{cp} エクストラ (FJ, ジーシー) の引張り接着強さを比較検討した。

【材料および方法】

引張り接着強さ試験は朝日大学歯学部倫理委員会の承諾 (承認番号 30036) を得た上下顎新鮮ヒト抜去歯のエナメル質および象牙質を用いて、#600 の耐水研磨紙で平坦化した被着面に対し直径 3.0 mm の穴をあけた両面テープを貼った。次にレジンを厚さ 0.5 mm 未満で填入してスライドガラスを用いて圧接して光照射し、内径 3.0 mm、深さ 2.0 mm のクリアレジンモールドを固定し、さらにレジンを填入し、光照射を行い重合させた。従来型グラスアイオノマーセメントは添付文書に従って練和し、シリンジを用いてセメント泥をクリアモールドに填入し硬化させた。試料数は 10 個とし、試料片は 37°C 湿度 99% のインキュベーターに 24 時間保管後、精密万能試験機 (オートグラフ AGS-X, SHIMADZU) を使用し、クロスヘッドスピード 0.5 mm/min の条件で引張り接着強さを測定した。さらに、サーマルサイクル試験 (TC, 4°C と 60°C に各 1 分間浸漬) を 50 回負荷した後の引張り接着強さを同様に測定した。得られたデータの統計学的処理は Kruskal-Wallis 検定 (P < 0.05) を用いた。

【結果】

引張り接着強さ (MPa) の平均値と標準偏差は、自己接着型フロアブルレジンの SI と FL ではエナメル質の 24 時間後で 6.5 ± 1.7, 3.9 ± 1.8 で最大値は 9.6, 6.8, 最小値は 4.1, 1.9 で、TC50 では 5.4 ± 2.0, 1.6 ± 1.0 で最大値は 7.9, 3.9, 最小値は 2.5, 0.7 であった。象牙質の 24 時間後は 7.3 ± 2.2, 4.7 ± 1.2 で最大値は 12.9, 7.5, 最小値は 4.6, 3.5 で、TC50 では 3.4 ± 1.7, 2.5 ± 1.0 で最大値は 7.2, 4.1, 最小値は 1.8, 1.6 で非常にばらつきが大きかった。有意差の検定を行ったところ、エナメル質の接着強さは TC50 において SI が FL に対して有意に高い値を示した。また象牙質では SI, FL とも TC50 が 24 時間後よりも有意に低い値を示した。グラスアイオノマーセメントの FX, FJ では自己接着型フロアブルレジンの SI や FL と比べると、エナメル質では TC50 が FL より FJ の方が有意に高い値を示した。象牙質では 24 時間後において SI が FX より有意に高い値を示した。

【考察およびまとめ】

自己接着型フロアブルコンポジットレジンの歯質接着強さについて検討したところ、現在、臨床応用されているワンステップボンディングシステムより接着強さは低いが、グラスアイオノマーセメントと同等以上の接着強さを示したことから、5 級窩洞や根面う蝕に用いることは可能と考えられた。グラスアイオノマーセメントと比べると練和が不要であるため、より迅速に填塞する必要がある小児の治療や訪問診療への応用が期待できると考えている。

S-PRG フィラー含有歯科矯正用レジンによるエナメル質脱灰抑制能

神奈川歯科大学大学院歯学研究科口腔統合医療学講座保存修復学分野¹⁾,

神奈川歯科大学短期大学部歯科衛生学科²⁾

○椎谷 亨¹⁾, 関端麻美^{1,2)}, 片岡あい子^{1,2)}, 向井義晴¹⁾

Effect of S-PRG Filler-containing Orthodontic Resins for Inhibition of Enamel Demineralization

Div. of Restorative Dentistry, Dept. of Oral Interdisciplinary Medicine, Graduate School of Dentistry¹⁾,

Dept. of Dental Hygiene, Junior College²⁾, Kanagawa Dental University, Yokosuka, Japan.

○SHIYA Toru¹⁾, SEKIBATA Asami^{1,2)}, KATAOKA Aiko^{1,2)}, MUKAI Yoshiharu¹⁾

【研究目的】 歯科矯正に用いるスプリントや機能的矯正装置, リテーナーおよび小児矯正における拡大床には, 常温および加熱加圧にて重合可能なレジンが用いられている. このようなレジンにエナメル質脱灰抑制能を付与することができれば, 矯正治療による齲蝕発生の可能性を下げることができると考えられる. S-PRG フィラーは, レジン系材料に配合することにより, 材料に近接する象牙質の脱灰を抑制することが知られている^{1),2)}. 今回の実験の目的は, S-PRG フィラー含有歯科矯正用レジンを試作し, 隣接するエナメル質脱灰抑制能を比較検討することである.

【材料および方法】 凍結保存したウシ下顎中切歯の歯冠 12 本を用意し, 中空ドリルを装着した卓上小型ボール盤 (E-Value DRILL-PRESS DP-375V, 藤原産業) にてエナメル質を表面に持つ直径 5 mm の歯片を打ち抜いた. エナメル質表面は 2,000 番の耐水研磨紙により研磨し, 直径 5 mm, 厚み 3 mm の円柱形試料を作製した. エナメル質表面は耐酸性バーニッシュにより被験面を 2×3 mm に規定した. S-PRG フィラー含有量の異なる 4 種類の歯科矯正用レジン硬化体 (0, 3, 5, 10 wt%, 直径 5 mm, 厚さ 7 mm) を試作し, それぞれに上述した円柱状エナメル質試料を挿入できる凹部を作製後, 同間隔に 3 個ずつ挿入した. エナメル質試料に隣接したレジン硬化体からの影響を検討するために, レジン硬化体の底面と側面に耐酸性バーニッシュを塗布した上で, 各々プラスチック容器の蓋の裏に両面テープにて固定した. プラスチック製容器上部より, 50 mM 酢酸 (1.5 mM CaCl₂, 0.9 mM KH₂PO₄, 50 mM acetic acid, pH 4.6) を 30 ml 注入し, 37 °C の恒温槽に静置し, 4 日間脱灰を行った. 脱灰終了時の溶液は, フッ化物イオン濃度測定に使用した. 脱灰期間終了後, レジン硬化体から撤去したエナメル質試料を脱水・レジン包埋 (Spurr Low-Viscosity Embedding Kit, Polysciences, USA) し, ダイヤモンドワイヤー式精密切断機 (Well 3242, Walter Ebner, Germany) を用いて, 厚さ 150 μm の薄切片を歯軸に沿って切り出した. 各切片は顕微エックス線装置 (PW3830, Spectris, UK) および High resolution X-ray glass plate (コニカミノルタ) を用いて, 13 段階のアルミステップウェッジとともに TMR 撮影 (管電圧 35kV, 管電流 15mA, 照射時間 15 分) を行い, 分析用ソフト (TMR2006 および TMR2012, Inspektor Research Systems, The Netherlands) を用いて, ミネラルプロファイルの作成およびミネラル喪失量の測定を行った.

【成績】 レジン硬化体中の S-PRG フィラー含有量が 0 および 3 wt% 群の一部では挿入したエナメル質試料表面の一部にエロージョンが観察されたが, フィラー含有率が増加するに従い脱灰病巣のエックス線不透過性は高く維持された. 0, 3, 5, および 10 wt% のレジン硬化体に挿入したエナメル質試料の平均ミネラル喪失量はそれぞれ 10,249, 9,871, 8,473, および 9,434 vol%×μm であった. また, 使用済脱灰溶液のフッ化物イオン濃度はそれぞれ 0.0105, 0.259, 1.14, および 1.64 ppm F であった (0 wt% については, F 測定限界の 0.02 ppm F 未満の数字).

【考察】 S-PRG フィラーが 0→3→5→10 wt% と増加するにつれて, ミネラル喪失量は減少し, エロージョンは生じなくなる傾向が見られた. この結果は, 矯正用レジン硬化体に含まれる S-PRG フィラーからリリースしたフッ化物イオンが脱灰抑制作用を誘導したものと考えられたが, 同時に徐放されるナトリウムイオンの酸緩衝能も脱灰抑制に寄与している可能性も考えられた.

【結論】 矯正用レジン中の S-PRG フィラー含有量が 0→3→5→10 wt% と増加するにつれて, エナメル質に対する脱灰抑制効果が確認できた.

【参考文献】 1) Shiiya T et al. *Am J Dent* 2012; 25: 347-350. 2) Shiiya T et al. *Dent Mater J* 2016; 35: 70-75.

長期浸漬後における各種フロアブルコンポジットレジンの曲げ強さ

昭和大学 歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門
 ○水上裕敬, 小林幹宏, 新妻由衣子, 菅井琳太郎, 真鍋厚史

Bending strength of various flowable resin composites after long term immersion

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

○Mizukami Hiroyuki, Kobayashi Mikihiro, Niizuma Yuiko, Sugai Rintaro, Manabe Atsufumi

【目的】

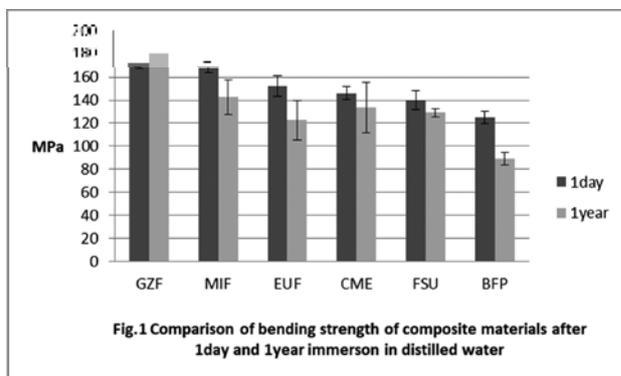
光重合型フロアブルコンポジットレジン(以下 FRC)は物性の向上に伴い、前歯部から臼歯部まで広く臨床で使用されている。一方、レジン系の修復材料は長期に観察をすると吸水により劣化し物性が低下することが報告されている。第 149 回日本歯科保存学会学術大会において FRC の成分と吸水量及び着色性の関係を比較し、Bis-MEPP をベースレジンとしたものが耐吸水性・耐着色性に優れることを報告した。そこで今回は、長期浸漬が直接修復法で用いられる FRC の材料学的性質に及ぼす影響について、3 点曲げ試験を用いて比較、検討したので報告する。

【材料および方法】

実験材料には、Gracefil Zero Flow (GZF, GC)、MI FIL (MIF, GC)、Estelite Universal Flow Super Low (EUF, Tokuyama)、Clearfil Majesty ES Flow Super LOW (CME, Kuraray Noritake Dental)、Filtek Supreme Ultra (FSU, 3M ESPE)、Beautiful Flow Plus X (BFP, Shofu)の 5 種類の FRC を用いた。試験片用金型を用いて各試験片 (n=5) を作製した。金型に FRC を填入し、両面を 9 回ずつ 10 秒間光照射した。重合後に耐水研磨紙#1000 にてばりを除去し 37°C の水中に試験片を 1 日、1 年間の条件で保存した。3 点曲げ試験の方法は JIS6514:2013 に準じた。試験片を試験機 (AG-IS, 島津製作所) に取り付け、クロスヘッドスピード 1mm/min にて曲げ試験を行った。曲げ強さ (σ) は $\sigma = 3FL/2bh$ の式によって算出した (σ : 曲げ強さ (MPa) F: 試験片に加えられた最大荷重 (N) l: 支点中心間距離 (mm) b: 試験直前に測定した試験片の幅 (mm) h: 試験直前に測定した試験片の厚さ (mm) }。得られた測定値は多重比較検定 (Tukey 法) を用いて統計学的分析を行った ($p < 0.05$)。また、すべての条件の試験片を白金-パラジウムにて蒸着した後、Scanning Electron Microscope (SU-70, 日立製作所) (以下 SEM) にて 10,000 倍で観察を行った。

【結果および考察】

曲げ試験の結果を Fig. 1 に示す。1 日後、1 年後どちらの結果も GZF が最も大きい曲げ強さを示し、1 年後の曲げ強さは他のいずれの FRC より優位に高い値を示した。1 日浸漬後から 1 年浸漬後の低下率を Table 1 に示す。GZF が最も低い値を示し、BFP が最も高い値を示した。GZF、CME、FSU は 1 日後、1 年後での曲げ強さに有意差は認めなかった。また、SEM 画像にて低下率の低いものは浸漬前後で表面の変化が少ない傾向を示し、低下率の高いものはフィラーが剥離・脱落した像を認めた。今回の結果より、各種 FRC の長期浸漬後の曲げ強さは組成・構造によって異なることが示唆された。



FRC	%
GZF	0
MIF	15.2
EUF	18.3
CME	8.6
FSU	7.8
BFP	28.4

支台築造用コンポジットレジンの機械的性質および その根管象牙質とファイバーポストに対する接着性に関する検討

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

○白土康司¹⁾, 辻本暁正^{1,2)}, 野尻貴絵¹⁾, 嶋谷祐輔¹⁾,
名倉侑子¹⁾, 高見澤俊樹^{1,2)}, 宮崎真至^{1,2)}, 日野浦 光³⁾

Mechanical property of resin core build-up materials and their bonding performance to root dentin and fiber posts

Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾,

Nihon University School of Dentistry, Hinoura Dental Clinic³⁾

○SHIRATSUCHI Koji¹⁾, TSUJIMOTO Akimasa^{1,2)}, NOJIRI Kie¹⁾, SHIMATANI Yusuke¹⁾,
NAGURA Yuko¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, HINOURA Ko³⁾

【研究目的】

これまで、ポスト材料としては金属やジルコニアの既製ポストあるいは金属鋳造体が用いられてきた。一方、近年ファイバーポストの臨床使用頻度が増加しており、これらは歯根破折の防止、審美性および金属アレルギー患者への対応として有効とされている。平成28年1月からファイバーポストと支台築造用コンポジットレジンを併用した支台築造が保険収載され、臨床家の支台築造用コンポジットレジンの基本的諸性質への関心が高まっている。

そこで、最近の支台築造用コンポジットレジンの機械的性質、根管象牙質あるいはファイバーポストに対する接着性を検討した。また、ファイバー引き抜き試験後の試片について、SEM観察を行った。

【材料および方法】

以下に供試した支台築造用コンポジットレジンを、接着システムおよびファイバーポストを示した (Table)。

Table: Materials used in this study

Resin Build-up Material/ Pre-treatment to dentin/ Fiber Post/ Pre-treatment to Fiber Post	Manufacturer
BeautiCore Flow Paste/ Beauti Dual Bond EX/ BeautiCore FiberPost/ Shofu Porcelain Primer	Shofu
Clearfil DC Core Automix ONE/ Universal Bond Quick/ Clearfil AD Fiber Post/ Universal Bond Quick + Porcelain Activator	Kuraray Noritake Dental
Core X Flow/ Prime&Bond Universal + Self-cure Activator/ X Post/ Prime&Bond Universal + Self-cure Activator	Dentsply Sirona
Estecore/ Bondmer Lightless/ Tokuyama FR Post/ Bondmer Lightless	Tokuyama Dental
Filtek BulkFill Flowable Restorative/Scotchbond Universal Adhesive/ RelyX Fiber Post/ Scotchbond Universal Adhesive	3M OralCare
FluoriCore 2/ XP Bond + Self cure Activator/ Fluoropost/ XP Bond + Self-cure Activator	Dentsply Sirona
i-TFC system Post Resin /i-TFC Bond/ i-TFC system Fiber Post/ i-TFC system Fiber Post Primer	Sun Medical
MultiCore Flow/ Adhes Universal/ FRC Poste Plus/ Monobond Plus	Ivoclar Vivadent
NX3/ OptiBond All-in-One/ BeautiCore FiberPost/ Silane Primer	Kerr
RelyX Ultimate/ Scotchbond Universal Adhesive/ RelyX Fiber Post/ Scotchbond Universal Adhesive	3M OralCare
RelyX Unicem 2 Automix/ Scotchbond Universal Adhesive/ RelyX Fiber Post/ Scotchbond Universal Adhesive	3M OralCare
UniFil Core EM/ G-Premio Bond +G-Premio Bond DCA/ GC Fiber Post/ G-Premio Bond +G-Premio Bond DCA GC	DCA GC

これらの材料を用いて、1) 支台築造用コンポジットレジンの曲げ強さ、2) 根管象牙質に対する剪断接着強さおよび3) ファイバーポストの引き抜き強さを測定するとともに、4) 引き抜き試験後の試片のSEM観察を行った。

【成績および考察】

支台築造用コンポジットレジンの曲げ強さは、硬化直後 (immediate) で 39.1-122.3 MPa, 24 時間後 (24h) で 108.0-172.8 MPa および 20,000 回の温熱負荷後 (TC) で 83.8-153.9 MPa を示した。根管象牙質に対する剪断接着強さは、immediate で 9.8-25.6 MPa, 24h で 15.3-25.5 MPa および TC で 11.3-22.2 MPa を示した。ファイバーポストの引き抜き強さは、immediate で 213.6-330.3 N, 24h で 229.3-385.1 N および TC で 203.8-391.0 N for TC を示した。また、支台築造用コンポジットレジンの曲げ強さは、根管象牙質に対する剪断接着強さおよびファイバーポストの引き抜き強さとの相関を認めた。

【結論】

支台築造用コンポジットレジンの曲げ強さ、根管象牙質に対する剪断接着強さおよびファイバーポストの引き抜き強さは、使用するシステムで異なることが明らかとなった。とくに、支台築造用コンポジットレジンは硬化直後ににおける機械的性質および接着性は低いくところから、慎重な臨床応用が望まれることが示された。

窩底部からの一括充填を可能にするグレースフィルバルクフローの粘度特性

株式会社ジーシー
 ○森俊樹, 上野貴之, 熊谷知弘

Viscosity property of GRACEFIL BulkFlo enabling bulk filling from the bottom of cavity to the occlusal surface
 GC Corporation, Tokyo, Japan
 ○Toshiki Mori, Takayuki Ueno, Tomohiro Kumagai

【研究目的】

CR 製品による大型窩洞の修復では積層充填法が用いられている。この手法では充填と照射を繰り返さなければならず、時間を要してしまうことが問題とされている。そこで近年では大型窩洞への一括充填が可能なバルクフィルコンポジットレジン (以下バルクフィル CR) が開発され、臨床応用がなされている。バルクフィル CR を用いた場合、その高い硬化深度により一括で窩洞に充填することができチェアタイムの大幅な短縮が可能となる。しかしながら、従来のバルクフィル CR 製品においては窩底から咬合面まで一括充填が可能な製品は少なく、多くの製品ではフロアブルライナーを一層充填した後に咬合面に適応できるバルクフィル CR を充填するか、窩壁への馴染みがよいフロアブルタイプのバルクフィル CR を充填した後に咬合面に適応可能な従来型の CR を充填する必要がある。

弊社の新製品グレースフィルバルクフローは咬合面に適用可能な強度を確保しつつ、適度な流動性と賦形性を両立したペースト性状を実現し、窩底部から咬合面までの一括充填が可能な設計となっている。具体的にはチキソトロピー性を付与することで、振動を与えることにより流動性が増し窩底部に馴染みやすくなり、且つ静置時には高粘度であることで咬合面において賦形しやすい設計となっている。本研究では剪断負荷をかけた際の粘度の変化挙動を測定することでグレースフィルバルクフローのチキソトロピー性を評価した。

【材料および方法】

試験にはグレースフィルバルクフロー(GBF) と従来型 CR 製品 MI フィル (MI Fil) , MI フローII(MI Flo II)を使用した。粘度の測定はレオメーター(Modular Compact Rheometer MCR102 / Anton Paar)によって行った。φ25 [mm]の回転式プレートの間に厚さ 0.5 [mm]となるように CR ペーストを充填し、25 [°C]で経時的に剪断速度を変化させながら粘度の測定を行った。(測定条件: 剪断速度 0.001-10 [s⁻¹] 対数傾斜 / データポイント 0.01-1 [s] 対数傾斜)

【結果及び考察】

粘度測定結果を Fig. 1 に示す。グレースフィルバルクフローは剪断速度 0.001 [s⁻¹]において、咬合面の付形が可能な MI フィルと同程度に高粘度 (約 47,000,000 [mPa・s]) であるが、速度を 10 [s⁻¹]まで上昇させると粘度の著しい低下が観察され、ライナー用途にも使用される低粘度の MI フローIIよりも低粘度 (約 31,000 [mPa・s]) になることが確認された。

グレースフィルバルクフローにおける大幅な粘度変化は高いチキソトロピー性を付与したことによって引き起こされている。このチキソトロピー性は含有するフィラーに対し適切なシランカップリング処理を施すことによって実現していると考えられる。

【結論】

本研究によりグレースフィルバルクフローは高いチキソトロピー性を持ち、負荷に応じて粘度が著しく増減することが確認できた。つまり、グレースフィルバルクフローは咬合面での賦形性を有しつつ、チップの先端やインスツルメント等で力を加えることにより低粘度となり窩底部の隅々まで空隙なく流し込むことが可能である。この最適な賦形性と流動性の両立により、窩底部から咬合面までの一括充填を可能にした。

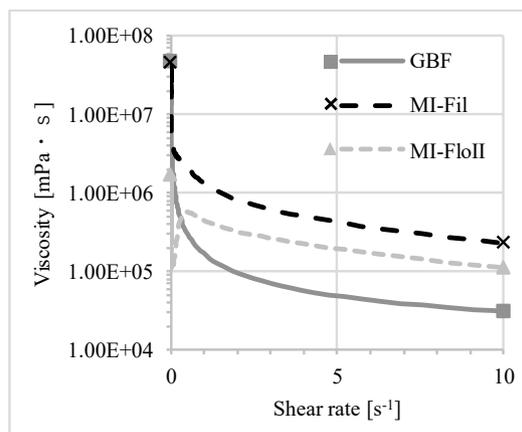


Fig. 1 Viscosity lowering by shear load in CR

音波式電動歯ブラシがバルクフィルコンポジットレジンの 光沢度および表面性状に与える影響について

昭和大学歯学部 歯科保存学講座 美容歯科学部門

○京泉秀明、寺島実華子、水上英子、真鍋厚史

Effect of the sonic toothbrush on glossiness and surface morphology of bulkfill composite resin

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

○KYOIZUMI Hideaki, TERASHIMA Mikako, MIZUKAMI Eiko and MANABE Atsufumi

【目的】

電動歯ブラシには、回転式、超音波式や音波式などがありそれぞれ特徴を持っている。今回用いた歯ブラシは音波式の電動歯ブラシ ソニックアー (フィリップス) で、音波水流を発生させ歯垢を効率的に除去することができ除去効果は非常に優れている。日本歯科保存学会 秋季学術大会 (第 147 回) 及び春季学術大会 (第 148 回) において、歯磨剤 (研磨材入り) を使用して音波式電動歯ブラシで荒研磨されたコンポジットレジンをブラッシングすると、光沢度および表面性状に良い影響を与えたことを報告した。

そこで今回は、一括充填が可能であるバルクフィルコンポジットレジンをを用いて、音波式電動歯ブラシがレジンの光沢度および表面性状に与える影響について検討した。

【材料および方法】

材料は、グレースフィル バルクフロー (GB, ジーシー)、ビューティフィル バルク (BB, 松風)、テトリック N-セラム バルクフィル (TB, イボクラール ビバデント) の 3 種類のバルクフィルコンポジットレジンを使用した。それぞれの材料は、直径 10mm 高さ 3mm の円柱状の試料とした。試料はシリコンカーバイトペーパー #1000 まで研磨を行い、相対湿度 100%、温度 37°C の恒温槽中に 1 時間放置した後、37°C の蒸留水中に 23 時間保管した。

音波式電動歯ブラシは、ソニックアー フレックスケアーブラチナ、ブラシヘッドはダイヤモンドクリーン ブラシヘッド スタンダードサイズ (フィリップス)、を使用し、ブラッシング圧は荷重約 100gf で、刷掃時間は 90 秒及び 180 秒まで行った。ブラッシング時の歯磨剤は、ルシェロホワイト (ジーシー) を使用した。スラリーは歯磨剤と蒸留水の割合が重量比 1 : 2 になるように調製した。試料の表面はブラッシング前後での光沢度計 (VG2000, 日本電色) を使用し、60 度鏡面光沢法にて光沢度を測定し、さらに形状解析レーザー顕微鏡 (UK-X250, キーエンス) にて表面粗さの測定を行った。試料数は各群 5 個とした。

【結果および考察】

光沢度の結果は、ブラッシング前では、ほとんど差はなかったが、GB は、90 秒ブラッシングをすると BB、TB よりも大きくなり 180 秒ではさらに大きくなった。BB は、90 秒、180 秒ブラッシングをしても変化が見られなかった。TB は 90 秒ブラッシングをするとブラッシング前より大きい値を示したが 180 秒ではほとんど変化はなかった。

表面粗さの結果は、ブラッシング前では、ほとんど差はみられなかったが、GB は、値が小さくなり、180 秒ではさらに小さくなった。BB、TB は、90 秒、180 秒においてほとんど変化はみられなかった。

一括充填可能なバルクフィルコンポジットレジンは、特に臼歯部などの深い窩洞においてチェアタイムの短縮に有効である。そのレジンに対して日常的にブラッシングを行うことを想定して、炭酸カルシウム入りの歯磨剤を使用して行った。そのため、GB は、ブラッシングによりレジンが摩耗されても表面に出てくる微細なフィラーによってつやが維持され、光沢度が高くなり表面粗さが小さくなったと思われる。そして、レジンのフィラーの種類、大きさ、含有量、マトリックスレジジンなど様々な要因で結果に違いがでたと思われる。

【まとめ】

音波式電動歯ブラシを使用して荒研磨のバルクフィルコンポジットレジンにブラッシングを行うと、GB では、90 秒、180 秒において、光沢度が大きくなり、表面粗さは小さくなった。BB は、光沢度、表面粗さともに変化はみられなかった。TB では、表面粗さの変化はみられなかったが、90 秒で光沢度が大きくなり 180 秒では変わらなかった。そして、90 秒および 180 秒のブラッシングを行うと光沢度および表面粗さは、3 種類のコンポジットレジンの中で GB が優れた結果となった。

“バルクベースハード ミディアムフロー”の重合収縮

サンメディカル研究開発部

○八尾勉、土川益司

Polymerization shrinkage of “Bulk Base Hard Medium Flow”

Sun Medical Co., Ltd. Research and development department

○Yao Tsutomu, Tsuchikawa Masuji,

[緒言]

大型の窩洞に一括に充填、裏層、修復できる材料は利便性が高くチェアタイムの軽減に繋がることから益々需要が高まっており、臨床家の要望に応えるべくして各社様々なタイプのバルク充填材料が開発上市されている。サンメディカルでは 2013 年に低重合収縮性と高い硬化性を特長に持つ光重合型レジン系裏層材「バルクベース」を上市し、2016 年には「バルクベース」の機械的強度を高めて適用範囲を拡大した「バルクベースハード」を上市した。「バルクベースハード」は賦形性を持たせたローフロータイプのフロアブルレジンであるが、この度我々は、新たに流動性を上げ歯質とのなじみをよくしたミディアムフロータイプの追加を行いラインナップの充実を図った。本報告の目的は、そのフロー性を追加したことで「バルクベースハード」の特長である低重合収縮性が損なわれていないか確認、評価することを目的とした。

[材料及び方法]

本実験ではバルクベースハードのローフローのユニバーサル(BHL)とミディアムフローのユニバーサル(BHM)を使用し、フロアブルレジンである Metafil Flow ミディアムフローA3(MF)と他バルク充填剤と比較評価した。重合収縮率は 3 種の手法で評価した。

1. ISO17304 準拠の重合収縮率の測定(測定法(1))

試験方法は ISO17304 を参考にして実施した。比重測定キット(SMK-401)を組み込んだ電子天秤(AUY120)を使用し照射器で重合させた硬化体およびペーストの密度を測定し、その密度差から重合収縮率を算出した。重合収縮率の計算式は「重合収縮率 = (重合後密度 - 重合前密度) / 重合後密度 × 100」

2. 乾式密度計による密度測定による重合収縮率の測定 (測定法(2))

直径 15mm、高さ 3mm のテフロン型に各レジンを充填し、照射器にて十分に重合させた。重合前のペーストおよび重合させた試験片の密度を乾式密度計(アキュビック II 1340、島津製)で測定し、その密度差から重合収縮率を算出した。重合収縮率の計算式は「重合収縮率 = (重合後密度 - 重合前密度) / 重合後密度 × 100」で行った。

3. コントラクションギャップの測定による体積収縮率測定(測定法(3))

内径 6mm × 高さ 5mm のセラミックチューブに各レジンを充填し、照射器にて十分に重合させた。上部厚み 2mm を切断し、耐水ペーパー#2000 にて研磨を行った後、超音波洗浄 30min 行った。洗浄後、顕微鏡(VX-900, キーエンス)にて切断面を観察し、チューブとレジンのコントラクションギャップ(ギャップ幅)を測定し線収縮率に換算後、体積収縮率を算出した。線収縮率の計算式は「線収縮率 = コントラクションギャップ(μm) / 6000 × 100」。体積収縮率の計算式は「体積収縮率 = 線収縮率 × 3」。

[結果]

収縮率の測定方法による各材料の重合収縮率の値はいずれの材料においても以下の関係を示した。

測定法(2) > 測定法(1) > 測定法(3)

また、いずれの重合収縮の測定方法においても BHL と BHM は同等の値を示し、他の製品より低い値を示した。従って、BHM は BHL と同等の低収縮性を示した。

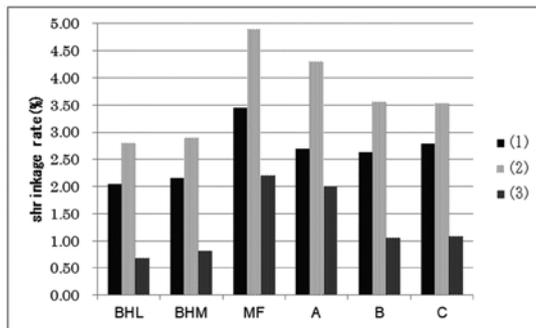


Fig1. Polymerization shrinkage rate

[結論]

今回追加したバルクベースハードのミディアムフロータイプはローフロータイプと同等の低重合収縮性を示された。この特性を活かした臨床使用への有用性が期待できる。

紅茶液に浸漬したバルクフィルコンポジットレジンの色変化

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⁾ 朝日大学²⁾
さくデンタルクリニック³⁾

○村瀬由起¹⁾, 高垣智博¹⁾, 作 誠太郎³⁾, 堀田正人²⁾, 二階堂 徹¹⁾

Color stability of bulk fill resin composite immersed in tea solution

¹⁾ Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science
and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry ²⁾ Saku Dental Clinic

³⁾ Asahi University

○MURASE Yuki¹⁾, TAKAGAKI Tomohiro¹⁾, SAKU Seitaro³⁾, HOTTA Masato²⁾, NIKAIDO Toru¹⁾

【目的】

近年、チェアタイムの短縮を目的として、深い窩洞に一括充填できるバルクフィルコンポジットレジンが臨床応用されている。バルクフィルコンポジットレジンの機械的性質、特に深い重合深度や低い重合収縮を示す報告がなされているが、変色に関する報告はほとんどない。そこで、バルクフィルコンポジットレジンの紅茶液浸漬による色彩変化をフロータイプとペーストタイプに分けて従来のコンポジットレジンと比較、検討を行った。

【材料および方法】

使用したバルクフィルコンポジットレジンには8色のフロータイプのBULK BASE HARD (デンチン、ユニバーサル)、BULK BASE (ミディアムフロー、ハイフロー)、ビューティフィルバルクフロー (デンチン、ユニバーサル)、GRACEFIL Bulk Flo (ユニバーサル)、SDR® Posterior Bulk Fill Flowable Base (ユニバーサル)、4色のペーストタイプのTetric® N-Ceram Bulk Fill (IVW, IVA)、BEAUTIFIL-Bulk (A, ユニバーサル) で、従来のフロータイプはBEAUTIFIL Flow Plus F00 (A3)、ペーストタイプはクリアフィルマジスティ ES-2 (A3) である。試料の大きさは直径5mm、高さ3mmの円柱状とし、表面はセルロイドストリップスにスライドガラスを圧接して、光照射し、光照射時間はそれぞれ各社の指示通りに行った。37℃蒸留水に24時間浸漬後、1回目の測色を実施し、次に37℃紅茶液に試料を7日間浸漬した後に2回目の測色を行った。測色の際は試料をキムワイプで清掃後、1試料について表面、裏面とも5点を微小面積分光色差計VSS400 (測定径0.7mm、黒色板背景) にて測色を行った。表色系は1976CIEL*a*b*で表示し、測定値から浸漬前後の色差値を算出した。また、表面と裏面の色差値について各材料ごとにt検定 ($\alpha=0.05$)を行った。

【結果】

バルクフィルコンポジットレジンフロータイプとペーストタイプに分けて37℃紅茶液浸漬前後の色差値(N=5)を比較した結果、表面の7日後の色差値(平均値【SD】)はフロータイプが従来型の1.71(0.28)に対して1.61(0.08)~5.77(0.15)、ペーストタイプは従来型の1.77(0.19)に対して1.84(0.99)~7.63(0.43)であった。一方、底面の7日後の色差値はフロータイプが従来型の1.85(0.49)に対して0.92(0.25)~4.74(0.16)、ペーストタイプは従来型の1.42(0.35)に対して2.16(0.35)~6.99(0.43)であった。また、表面と底面についてt検定を行った結果、有意差を示したのはフロータイプが8種類中7種類で、有意に色差値が上昇したのは1種類のみであった。ペーストタイプは4種類中4種類で、有意に色差値が上昇したのは3種類であった。

【考察およびまとめ】

バルクフィルコンポジットレジンのフロータイプとペーストタイプについて7日間、紅茶液に浸漬すると着色が認められた。セルロイドストリップスで圧接した表面は着色の程度は各種材料によって異なっており、従来型に比べると色差値は高値を示す傾向を示した。しかし、底面ではフロータイプは色差値が低下するものが多く、ペーストタイプは逆に上昇するものが多かった。

構造色を応用した試作フロアブルコンポジットレジンの色調適合性評価

日本大学歯学部保存学教室修復学講座

○黒川弘康, 瀧本正行, 下山侑里子, 斎藤慶子, 笠原悠太, 三枝 眞, 宮崎真至, 福本敬一

Evaluation of Color Matching Ability of Experimental Flowable Resin Composite Applying Structural Color

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

○KUROKAWA Hiroyasu, TAKIMOTO Masayuki, SHIMOYAMA Yuriko, SAITO Keiko,

KASAHARA Yuta, SAEGUSA Makoto, MIYAZAKI Masashi, FUKUMOTO Keiichi

【研究目的】

本研究の目的は、バイオミメテックス（生物模倣）である構造色を応用することで、単一ペーストで多様な症例に対して色調適合性を示すフロアブルレジンを開発するための基礎的データを得ることである。

構造色とは、特定の色素ではなく、光の波長あるいはそれ以下の微細な構造に基づく光の反射による発色現象であり、光の干渉と回折を生じさせる構造の繰り返しの幅が、反射光の波長を決定する因子となる。フロアブルレジンは、ペーストの操作性として流れを重要視するため、フィラー配合率はユニバーサルタイプのコンポジットレジンと比較して少ない。したがって、フィラー粒径だけではなくフィラー粒子間距離の等間隔性も反射光の波長に影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで、色調の異なる硬質レジン歯に規格窩洞を形成し、構造発色可能な粒径の球状フィラーの配合量を数段階に変化させて試作したフロアブルレジンを充填した際の、レジン充填部と窩洞周囲の硬質レジン歯との色調適合性について評価した。

【材料および方法】

粒径 260 nm の球状フィラーを 79 wt%含有することで構造発色するユニバーサルタイプのコンポジットレジンであるオムニクロマ（トクヤマデンタル）をベースとし、フィラー含有量を 70 wt%および 60 wt%と変化したフロアブルレジンを試作し、実験に供試した。対照として、顔料を含有するグレースフィルローフロー（ジーシー）のユニバーサルシェードを用いた。人工歯として硬質レジン歯（ゼンオパール, AU19, ジーシー）の上顎左右側中切歯を用いた。

1. 測定用試片の製作

シェード A2 および A4 の人工歯の唇側面中央付近に、直径 4 mm、深さ 1.5 あるいは 3 mm で、窩縁形態がバットジョイントの規格円形窩洞を形成した。この窩洞内面を、50 μm のアルミナ粒子を用いて 5 mm の距離から垂直に、サンドブラスト処理（0.2 MPa）を 5 秒間行った。次いで、ボンドマーライトレス（トクヤマデンタル）を用いて製造者指示条件で窩洞を処理し、各レジンを充填、透明マトリックスを用いて圧接しながら 30 秒間照射した。これらの試片を 37°C 精製水中に 24 時間保管した後、窩洞から溢出したレジンを SiC ペーパー #2000 を用いて研削した。次いで、レジン研磨用ペーストおよびバフディスクを用いて研磨を行い、これを測定用試片とした。

2. 色調適合性の評価

色調適合性の評価にはクリスタルアイ（CE100-DC/JP, オリンパス）を用い、レジン充填部と窩洞周囲の切縁側および歯頸側の人工歯の色調を確認することで ΔE 値を算出した。

【成績および考察】

オムニクロマはいずれの人工歯に対しても良好な色調適合性を示し、窩洞深さの影響は認められなかった。一方、試作フロアブルレジンでは窩洞が深くなることで、色調適合性が損なわれる傾向が認められ、特にフィラー含有量が低い条件で顕著であった。コンポジットレジンは半透明性という光学的性質を有することから、窩洞が深くなることで明度に変化し、一般的に色調適合性は低下する。したがって、試作フロアブルレジンでは、フィラー含有量の減少に伴い、重合後の透明性が変化するとともに、構造発色での分光反射率が影響を受けることで、窩洞が深くなる条件で色調適合性が低下したものと考えられた。一方、オムニクロマは、背景色が黒に近いほどペーストに入射した光が吸収され、フィラーの微細構造による構造色が顕著化することから、窩洞が深い条件においても良好な色調適合性を示したものと考えられた。

【結論】

フィラー含有量の違いは、フロアブルレジンの色調適合性に影響を及ぼすことが示された。

シェードガイドを用いた視感評価における歯の白さの認識

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学¹⁾

さくデンタルクリニック²⁾, 朝日大学³⁾

○日下部修介¹⁾, 清水翔二郎¹⁾, 作 誠太郎^{1),2)}, 二階堂 徹¹⁾, 堀田正人^{1),3)}

The Cognition of White tooth in Visual Assessment by Using VITA Classical Shade Guide

Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation,

Asahi University School of Dentistry¹⁾

Saku Dental Clinic²⁾, Asahi University³⁾

○KUSAKABE Shusuke¹⁾, SHIMIZU Shojiro¹⁾, SAKU Seitaro^{1),2)}, NIKAIIDO Toru¹⁾, HOTTA Masato^{1),3)}

【緒言】

近年、審美歯科治療が注目を集め、歯に対する審美的要求は高まっている。特に「白く美しい歯」に対する関心は高い。しかし、色彩の認識は主観的であり、白い歯か白い歯でないかの明確なガイドラインは示されておらず、その判断は歯科医師にとっても患者にとっても困難であり、時に歯科医師と患者との間に相違を認める。本研究では一般的、特に若い女性ほどの程度のものを白い歯として認識しているのかを知ることを目的としてシェードガイドによる視感評価実験を行い、測色値との関連性を検討した。

【材料と方法】

視感評価実験は、朝日大学歯科衛生士専門学校1年生82名を対象に行った。白い歯の認識度を測定するために、被験者には色サンプルとして、VITA (Lumin®Vacuum Farbskala)シェードガイド16色を使用し、人工太陽照明灯(SOLAX,100X,セリック)のもと、白い歯であると思うものを1分以内で選ばせて、各々白い歯か白い歯でないかを評価した(白い歯の認識度)。

またシェードガイドの歯の切縁部、中央部、歯頸部に対して各3か所を微小面分光色差計(VSS-400,日本電色工業)にて測定径0.7mm,45°双方向照明-垂直受光,C光源,2°視野で測色した。表色系は1976CIE L*a*b*で表示し、測色の結果、得られた値に対して、彩度($C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$),色相角($\tan^{-1}b^*/a^*$),色差($\Delta E^*_{ab}=(\Delta L^{*2}+\Delta a^{*2}+\Delta b^{*2})^{1/2}$)も求めた。色差はB1をコントロールとし、B1とその他のシェードを比較した。

なお、本研究は朝日大学歯学部倫理委員会の承認を得て実施したものである(承認番号31007)。

【結果】

白い歯の認識度は、B1:100%(82/82),A1:99%(81/82),C1:90%(74/82),D2:44%(36/82),B2:32%(26/82),A2:24%(20/82),A3:9%(7/82),C2:4%(3/82),D4:4%(3/82),D3:4%(3/82),C3:1%(1/82)であり、A3.5,B3,B4,A4,C4は0%であった。

シェードガイドの色彩は、切縁部ではL*が43.17~49.16, a*が-1.89~-0.74, b*が0.44~8.86, C*が1.53~8.92, 色相角が95.90~158.37°, 中央部ではL*が44.89~50.63, a*が-1.94~-0.30, b*が2.06~11.19, C*が2.57~11.21, 色相角が91.72~126.53°, 歯頸部ではL*が43.87~51.84, a*が-1.98~-0.26, b*が2.32~11.34, C*が1.53~8.92, 色相角が91.42~124.10°の間に分布した。色差は、切縁部では2.81~6.90, 中央部では0.99~10.55, 歯頸部では1.95~9.78の間に分布した。

【考察およびまとめ】

臨床において、患者の歯冠色として使用する頻度が多いシェード(A3,A3.5など)は白い歯とは認識していないようであった。測色器は微小面積(0.1~0.7mmφ)の測定面積のためか、L*値かなり低い値を示していたが、各部において、白い歯の認識度が高いシェードほどL*値は高く、b*値は低い値を示した。また、C*は、特に中央部・歯頸部で白い歯の認識度が高いシェードほど低い傾向が見られた。色相角は白い歯の認識度が高くなるほど大きくなったが、切縁部・中央部・歯頸部とも大きな違いは認めなかった。色差は、82名中82名が白い歯と認識したB1に対する他のシェードの色差を計算した結果、白い歯の認識度が低くなるほど大きくなり、さらに切縁部・中央部・歯頸部の順で大きくなる傾向を示した。

以上より、シェードガイドを測色することにより白い歯と認識しているもの(認識度の高いもの)は明度が高いだけでなく、黄味の少ないもの、彩度が低いものを選択していることが示唆された。

CAD/CAM レジンブロックのフィラー含有量の違いが シランカップリング剤含有自己接着性レジンセメントの接着強さに及ぼす影響

日本大学歯学部保存学教室修復学講座

○高橋奈央, 黒川弘康, 三枝 眞, 瀧本正行, 白土康司, 柴崎 翔, 宮崎真至, 天野 晋

Influence of Filler Contents of CAD / CAM Resin Block on Bond Strength of Self-adhesive Resin Cement Containing Silane Coupling Agent

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

○TAKAHASHI Nao, KUROKAWA Hiroyasu, SAEGUSA Makoto, TAKIMOTO Masayuki,
SHIRATSUCHI Koji, SHIBASAKI Sho, MIYAZAKI Masashi, AMANO Susumu

【研究目的】

CAD/CAM レジンブロック (以後, CAD/CAM ブロック) はフィラー含有量が 60wt%以上に規定されるとともに, 加熱加圧重合によるマトリックスレジン重合性の向上が図られていることから, 接着操作の前処理として, サンドブラスト後にシランカップリング剤を塗布することが推奨されている。一方, CAD/CAM ブロックのフィラー粒径, 形状および含有量は各製品間で異なることから, 製品によってシラン処理の効果が異なる可能性が考えられる。そこで, シランカップリング剤を含有した自己接着性レジンセメントの, 各種 CAD/CAM レジンブロックへの接着挙動について検討した。

【材料および方法】

シランカップリング剤含有自己接着性レジンセメントとして, SA ルーティング Multi (クラレノリタケデンタル) を, 対照として, レジンブロック用プライマーを併用することで, マトリックスレジンとの接着性に重点をおいたレジンセメントシステムであるブロック HC セム (松風) を用いた。

CAD/CAM ブロックとして, アークティカビタエナミック (カボデンタルシステムズ), エステライト P ブロック (トクヤマデンタル), カタナアベンシア P ブロック (クラレノリタケデンタル), 松風ブロック HC スーパーハード (松風) およびセラスマート 300 (ジーシー) を用いた。

1. CAD/CAM 試片の製作

CAD/CAM レジンブロックをジグに対して垂直にスライスした後, スライス面が平坦となるよう, 耐水性 SiC ペーパー#2000 を用いて厚さ 2.0 mm まで調整, 常温重合レジンに包埋したものを CAD/CAM 試片とした。

2. 接着試験用試片の製作

CAD/CAM 試片の露出面を SiC ペーパー#320 で研削した後, アルミナ粒子 (50 μm) を用いて 10 mm の距離から垂直に, サンドブラスト処理 (0.2 MPa) を 10 秒間行い, 3 分間超音波洗浄した。このサンドブラスト面に対して, 内径 2.38 mm の Ultradent 接着試験用治具を固定し, 練和したレジンセメントを充填, 60 秒間照射したものを接着試験用試片とした。なお, ブロック HC セムでは, サンドブラスト面を, HC プライマー (松風) を用いて製造者指示条件で処理した後に充填した。

3. 接着強さの測定

接着試験用試片を照射終了直後から, $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 相対湿度 $90 \pm 5\%$ の条件で 15 分および 24 時間保管した後, 剪断接着強さを測定した。また, サーマルサイクル 10,000 回負荷後の試片についても, 同様に接着強さを測定した。

4. 走査電子顕微鏡観察

CAD/CAM 試片とレジンセメントとの接合界面について, 通法に従って FE-SEM を用いて観察した。

【成績および考察】

供試したレジンセメントの接着強さは, 接着操作後の経過時間およびレジンブロックの種類によって影響を受けるものの, その傾向は製品によって異なるものであった。これらの要因としては, レジンブロック表面でのレジンセメントのヌレ性の違いあるいはレジンセメントの重合性などが影響したものと考えられた。

【結論】

シランカップリング剤含有自己接着性レジンセメントの接着強さは, レジンブロックの種類にかかわらず, 接着操作直後から安定した値を示し, その臨床有用性が示された。

CAD/CAM 用レジン材料の耐摩耗性について

¹ 日本大学歯学部保存学教室修復学講座, ² 総合歯学研究所生体工学部門, ³ 花園歯科医院
○大内 元¹, 田村友彦¹, 野尻貴絵¹, 嶋谷祐輔¹, 笠原悠太¹,
廣兼栄造¹, 高見澤俊樹^{1,2}, 宮崎真至^{1,2}, 山形哲則³

Wear behavior of CAD/CAM resin composites

¹Department of Operative Dentistry, Division of Biomaterials Science, ²Dental Research Center
Nihon University School of Dentistry, ³Hanazono Dental Clinic
○OUCHI Hajime¹, TAMURA Tomohiko¹, NOJIRI Kie¹, SHIMATANI Yusuke¹, KASAHARA Yuta¹,
HIROKANE Eizo¹, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2}, MIYAZAKI Masashi^{1,2}, YAMAGATA Tetsunori³

【目的】

近年, デジタルデンティストリーの進歩とともに, メタルフリー修復の要望から CAD/CAM 用レジンを用いた歯冠修復処置が広く行われている。しかし, 製品によってその組成および構造も異なるとともにそれぞれの特徴を有している。これまで, CAD/CAM 用レジンの基本的諸性質および接着性については, 多くの報告がされるものの, CAD/CAM 用レジンを使用した修復物の耐久性については, 不明な点が多いのが現状である。そこで演者らは, CAD/CAM 用レジンの耐久性について, 衝突摩耗試験からその耐摩耗性を評価した。また, 曲げ強さの測定を行うとともに摩耗試験後の表面性状について走査電子顕微鏡 (SEM) 観察することで考察資料とした。

【材料および方法】

供試 CAD/CAM レジンブロックとしては, エステライトブロック (ESB, トクヤマデンタル), 松風ブロック HC (SHC, 松風), セラスマート 270 (CRS, ジーシー) およびカタナアベンシアブロック (KTN, クラレノリタケデンタル) の 4 製品を用いた。また, 対照として充填用コンポジットレジンのエステライト Σ クイック (ESQ, トクヤマデンタル) およびクリアフィル AP-X (CFA, クラレノリタケデンタル) の 2 製品を用いた。

1) 衝突摩耗試験用試片の製作

各レジンブロックを厚さ 2 mm の板状に加工したものを衝突摩耗試験用試片とした。また, コンポジットレジンと同様の形状に成形したものに光照射を 30 秒間行い重合硬化させ, 24 時間大気中に保管したものをを用いた。

2) 衝突摩耗試験

摩耗試験には, 衝突摩耗試験機 (K655-06, 東京技研) を用いた。すなわち, アンタゴニストとしてステンレス球を用い, 37°C 水中下にて落下距離 5 mm, 水平往復距離 2 mm, 荷重 50 N の条件で, 2 回の落下と 1 回の水平往復を 1 サイクルとする衝突摩耗試験を 50,000 回行った。また, 摩耗試験終了後の試片については, レーザー顕微鏡 (VK-9710, Keyence) および付属のソフトから最大摩耗深さ (μm) および摩耗量 (mm³) を測定した。

3) SEM 観察

衝突摩耗試験後の試片のうち代表例については, イオンコーター (Quick SC-201, サンヨー電子) で金蒸着を行った後, SEM (ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて加速電圧 10 kV の条件で衝突摩耗後の表面性状を観察した。

4) 曲げ試験

曲げ強さ試験は, ISO 6872 に準じて行った。すなわち, 各試料を幅 4.0 mm, 長さ 14.0 mm, 厚さ 1.2 mm に整形し, 37°C 精製水中に 24 時間保管した。その後, 万能試験機 (Type 5500R, Instron) を用いて支点間距離 12.0 mm, クロスヘッドスピード 1.0 mm/min の条件で 3 点曲げ強さを測定するとともに, 応力-歪曲線から曲げ弾性率を算出した。

【成績および考察】

いずれの CAD/CAM 用レジンにおいても充填用コンポジットレジンと比較して, 摩耗深さおよび摩耗量は小さくなる傾向を示すとともに, その傾向は用いた製品によって異なるものだった。また, 摩耗試験終了後の SEM 観察からは, その表面性状は用いた製品によって異なっていた。このことは, フィラー含有量, 性状および粒度分布による違いが摩耗後の表面性状に影響したものと考えられた。曲げ試験においては, CRS が最も高い値を示した。これは含有されているフィラーに加えその表面処理による影響も寄与しているものと考えられた。

【結論】

CAD/CAM 用レジンを用いる製品によって耐摩耗性および機械的性質は異なるものであった。

低濃度フッ化水素酸の処理時間がCAD/CAM レジンブロックの接着強さに与える影響

昭和大学歯学部歯科保存学講座美容歯科学部門
○菅井琳太郎, 小林幹宏, 新妻由衣子, 水上裕敬, 真鍋厚史

Influence of application time by low concentration hydrofluoric acid to CAD/CAM resin block on shear bond strength

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

○SUGAI Rintaro, KOBAYASHI Mikihiro, NIIZUMA Yuiko, MIZUKAMI Hiroyuki, MANABE Atsufumi

【研究目的】

CAD/CAM レジンブロックである VITA ENAMIC (EN, VITA) に対する接着前処理としてフッ化水素酸 (HF) の使用が有効であると報告されている。HF の濃度について検討した結果、EN に対して低濃度の 0.5%HF がフロアブルコンポジットレジンとの接着性の向上に有効であることを報告した。また、日本歯科保存学会 2019 年度春季学術大会にて、EN は 0.5%HF での接着前処理がレジンセメントとの接着にも有効であり、4-META/MMA-TBB 系レジンである Super Bond C&B (SB, SUN MEDICAL) が高い接着性を示すことを報告した。

本研究では 0.5%HF による処理時間の違いがレジンセメントの接着性に及ぼす影響について検討することで、最適な処理時間を考察することを目的とした。

【材料および方法】

本実験において CAD/CAM レジンブロックの EN を使用した。レジンセメントおよびシランカップリング剤として SB と PZ PRIMER (SUN MEDICAL) を使用した。

EN を厚さ 2 mm に切り出した後、被着面を耐水研磨紙 #600 で研磨した。アクリルリングに化学重合レジン Palapress Vario (KULZER) にて埋入固定した。被着面積を規定するために直径 6 mm, 厚さ 0.05 mm の穴の開いたテープを貼付した。0.5%HF 処理時間の条件は 0 秒 (コントロール), 15 秒, 30 秒, 45 秒, 60 秒, 75 秒, 90 秒の 7 条件とした。厚さ 2 mm, 直径 8 mm の円盤状試料を EN で作製し、被着面と同条件の処理を施した。作製した円盤状試料を SB 塗布後の被着面に 2 kg の荷重で圧接させ接着させた。

作製した試片について 24 時間 37°C 水中浸漬させたのち、10,000 回のサーマルサイクル負荷 (5°C, 55°C) したものを接着試験用試片とした。接着試験用試片は万能材料試験機 (type 5500R, Instron) を用いてクロスヘッドスピード毎分 1.0 mm の条件下で剪断接着試験を行った。得られた接着強さの値は Tukey's multiple comparison test を用いて、有意水準 0.05 の条件で統計学的分析を行った。剪断接着試験後に破断面の破壊形態を界面破壊, 混合破壊, 凝集破壊の 3 つに分類した。また、HF 処理前後の被着面を走査型電子顕微鏡 (SEM) にて観察した。

【結果および考察】

剪断接着試験の結果より、15 秒と 90 秒の条件が他の条件に比較して低い値を示した。剪断試験後の破壊形態は、15 秒の条件で界面破壊を多く認めた。SEM による HF 処理後の被着面観察では、表面性状の微細な構造変化を認めたが 15 秒の条件では構造変化は微量であった。

【結論】

低濃度フッ化水素酸の処理時間が CAD/CAM レジンブロックの接着強さに与える影響を検討した結果、他の条件に比較して 15 秒と 90 秒で接着性の低下が認められた。したがって、EN に対する 0.5%HF 処理時間は 30 秒から 75 秒が有効であることが示唆された。

新規セルフアドヒーシブレジンセメントの各種 CAD/CAM 用メタルフリー修復材料に対する接着性能

日本歯科大学生命歯学部 接着歯科学講座

○中澤美和, 村田卓也, 林 孝太郎, 嶋田智重, 河本 芽, 岡田美里, 前野雅彦, 柵木寿男, 奈良陽一郎

Bonding performance of a new self-adhesive resin cement to various CAD/CAM metal-free restoratives

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

○Nakazawa Miwa, Murata Takuya, Hayashi Kotaro, Tokita Chic, Komoto Mei, Okada Misato, Maeno Masahiko, Maseki Toshio, Nara Yoichiro

【目的】優れた審美性を有するメタルフリー修復物の装着に際しては、確実な接着に基づく歯質との一体化が要求されることから接着性レジンセメントが用いられる。本研究では、前処理不要の新規セルフアドヒーシブレジンセメントの各種 CAD/CAM 用メタルフリー修復材料に対する引張接着強さ(TBS)を測定し、その接着性能について検討した。

【材料および方法】新規セルフアドヒーシブレジンセメントには、長鎖シランカップリング剤 LCSi とリン酸エステル系モノマーMDP を配合することによって被着体前処理を不要とした SA Luting Multi (Kuraray Noritake Dental, SA)を用いた。対照には、前処理を必要とする代表的な接着性レジンセメントシステム2種、すなわちメタルフリー修復材料に対し、シランカップリング剤と MDP を含有した Clearfil Ceramic Primer Plus による処理を経てセメンティングする PANA VIA V5 (Kuraray Noritake Dental, PV)、およびシランカップリング剤と MDP 含有の汎用性オールインワンアドヒーシブ Scotchbond Universal を用いた処理後にセメンティングする RelyX Ultimate (3M, RU)を用いた。一方、被着体とした CAD/CAM 用メタルフリー修復材料には、酸化ジルコニウムブロックの Lava Esthetic (3M, Z)、シリカ基材のセラミックブロック2種、すなわち長石系の VITABLOCS Mark II (VITA, V)、二ケイ酸リチウム含有の IPS e.max CAD (Ivoclar vivadent, E)、ハイブリッド型レジンブロックの CERASMART 300 (GC, C)を選択した。また、被着体の対照には、本学部研究倫理委員会(NDU-T-2016-06)の承認を経て、ヒト抜去健全大白歯の歯冠部水平断象牙質(D)を用いた。なお、SA による D への測定では、セメント泥のみによる TBS 値に加え、Clearfil Universal Bond Quick ER の前処理を経た SA 値(D+ER)を、また PV による D 値測定では、PANA VIA V5 Tooth Primer の前処理を経て行った。接着試験試料の作製は、直径 2.4 mm の円形開孔部を有する厚さ 70 μm のアルミ箔テープによって被着面規定し、製造者指定の術式の下、規格化レジン硬化体を接着させた。ついで 37 °C 水中 24 時間保管後に、1.0 mm/min 条件下の TBS 値を測定(n=6)し、得られたデータは一元配置分散分析、Tukey の検定による統計学的分析を行った。

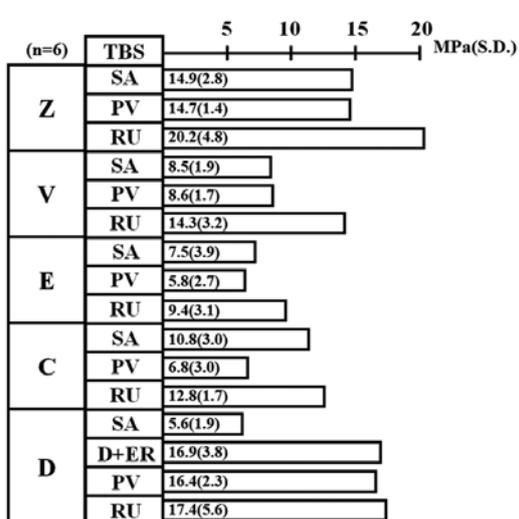


Fig. 1 TBS of three adhesive resin cement systems to four restoratives and human coronal dentin

【成績と考察】 Fig. 1 に、3 種セメントシステムによる 5 種被着体に対する TBS 値を示す。分析の結果、SA の 4 種 CAD/CAM ブロックに対する TBS 値は、PV と同等または有意に大きく、RU による E・C と同等の値を示した。また SA の D に対する TBS 値は、前処理を加えること(D+ER)によってセメント単独使用より有意に増大した。また各セメントの 4 種ブロックに対する TBS 値は、システムにかかわらず、D 値と同等または有意に小さい値であった。以上から、SA の CAD/CAM 用メタルフリー修復材料に対する前処理不要の自己接着能は、臨床的に許容できるレベルと考えられた。また、レジン接着システムによる前処理は、接着向上に有意義と推察できた。

【結論】 新規セルフアドヒーシブレジンセメントの各種 CAD/CAM 用メタルフリー修復材料に対する接着性能は、前処理を必要とする代表的な接着性レジンセメントシステムに匹敵することが明らかとなった。

紫色 LED 照射と *in vitro* 培養による歯間プラークの菌叢変動

¹大阪歯科大学大学院歯学研究科歯科保存学専攻, ²大阪歯科大学歯学部細菌学講座,

³大阪歯科大学歯学部歯科保存学講座

○王丹¹, 南部隆之², 吉川一志³, 沖永敏則², 山本一世³

Shift of microbial community structure of interdental plaque under purple LED irradiation *in vitro*.

¹Department of Operative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Osaka Dental University. ²Department of Bacteriology, Osaka Dental University. ³Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University.

○Dan Wang¹, Takayuki Nambu², Kazushi Yoshikawa³, Toshinori Okinaga², Kazuyo Yamamoto³

【研究目的】

ヒト口腔内には 100 種類以上、数千億の細菌が生息している。近年、その細菌群のバランス変化が、齲蝕や歯周病などの口腔の疾患、また糖尿病、脳心臓血管疾患などの全身疾患に強く関連していることが分かってきた。次世代シーケンズ技術の確立により細菌パターンを解析する技術は急速に進歩してきたが、細菌パターンを健康型へと変える方法については、ほとんど検証されていない。多くの細菌は、細胞内にヘム前駆体としてプロトポルフィリン IX (PpIX) を蓄積している。PpIX は、紫色光 (400~410 nm) の照射を介して殺菌力を有する一重項酸素を発生することから、この系を用いた光線力学的療法が緑膿菌感染症などで検証されている。口腔細菌の一部は、PpIX 依存的に光殺菌されることが知られているが、紫色光の口腔細菌叢への影響は明らかになっていない。そこで本研究では、プラークを用いた *in vitro* 培養系と次世代シーケンズ技術を組み合わせ、紫色光による細菌叢の変動を解析した。

【方法】

6名の被検者より採取したプラークを滅菌 PBS に懸濁し、嫌気環境にてサンプルを均一化した。12穴プレートに分注後、紫色 LED (ピーク波長 400~410 nm) を 5, 10, 25, 50 J/cm² にて各ウェルに照射した。サンプルを SHI 培地と混合し、37°C の嫌気環境で 20 時間振盪培養した。DNA 抽出と 16S rRNA 遺伝子 V3-V4 領域の PCR 増幅の後、次世代シーケンサー-MiSeq にて配列解読を行った。得られた配列から CLC Genomics Workbench を用いて operational taxonomic unit (OTU) テーブルを作成し、R スクリプトにて α 多様性、 β 多様性、OTU レベルでの変動に関して統計解析を行った。本研究は、大阪歯科大学医の倫理委員会の許可 (承認番号第 111002 号) の下で実施された。

【結果および考察】

光照射により α 多様性 (Shannon effective, Simpson effective) の有意な減少が観察され、プラーク菌叢は光殺菌感受性の異なる細菌群から構成されていることが示唆された。ノンメトリック多次元尺度構成法と PERMANOVA 解析により、光照射強度依存的に有意に β 多様性が変化することが明らかとなった。また、光照射強度の増加に伴って、Bacteroidetes 門と Fusobacteria 門の著しい減少と Proteobacteria 門の増加が確認された。OTU レベルでの解析では、光照射により歯周疾患への関与が示唆される *Prevotella* 属細菌群や *Fusobacterium nucleatum*, また口臭との関連が指摘されている *Solobacterium moorei* の減少が認められた。このように、本実験条件において紫色 LED 照射により菌叢が大きく変化したことから、継続してサンプル数の追加による解析解像度の改善と OTU レベルでの統計解析を進めているところである。

【結論】

in vitro 菌叢培養系において、紫色 LED 照射によりプラーク菌叢が有意に変化することが明らかとなった。また、光照射に伴って減少した細菌群の中に歯周病原菌や口臭原因菌が含まれていることを確認した。

抗バイオフィーム効果を有する結核菌細胞表層糖脂質誘導体ビザンチン(Viz-S)の初期定着菌群に対する付着減弱効果

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯蝕学分野、²京都薬科大学薬学部 微生物・感染制御学分野
○長谷川泰輔¹、竹中彰治¹、小田真隆²、磯野俊仁¹、Naksagoon Traithawit¹、永田量子¹、鈴木裕希¹、大墨竜也¹、野村由一郎¹

Vizant in affects to bacterial surface properties of early colonizer.

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

²Department of Microbiology and Infection Control Science, Kyoto Pharmaceutical University

○HASEGAWA Taisuke¹, TAKENAKA Shoji¹, ODA Masataka², ISONO Toshihito¹, NAKSAGOON Traithawit¹, NAGATA Ryouko¹, SUZUKI Yuki¹, OSUMI Tatsuya¹, NOIRI Yuichiro¹

【目的】

我々は、殺菌に頼らない口腔バイオフィーム制御法の開発に取り組んでいる。結核菌細胞表層糖脂質誘導体ビザンチン (Viz-S)は、非特異的に細菌菌体の表面性状を変化させるとともに、特に *Streptococcus* 属の付着を減弱させることで、口腔バイオフィームが剥離し易くなることを報告した (第 145, 146 回および 148 回)。本研究では、Viz-S がヒトのエナメル質において、口腔バイオフィーム形成の初期段階である付着・定着に関与する口腔細菌に与える影響について検討した。

【材料および方法】

使用菌株は、初期定着菌群である *Streptococcus oralis* ATCC 35037、*S. gordonii* ATCC 10558 および *Actinomyces naeslundii* ATCC 12104 を用いた。実験に先立ち、各細菌に対する Viz-S の最大発育阻止濃度 (MIC)および最小殺菌濃度 (MBC)を測定した。すべての細菌の増殖を抑制せずに、抗バイオフィーム効果を有する 50 μ M の Viz-S を最大濃度として使用した。

《実験 1 : Viz-S 処理した口腔細菌のハイドロキシアパタイトディスクへの付着抑制効果》Brain Heart Infusion (BHI)培地中で培養を行い、対数増殖期の細菌懸濁液 (OD₆₀₀=0.025)に 0~50 μ M の Viz-S を添加し、10 分培養を行った。ハイドロキシアパタイトディスク (HA; オリンパスマテリアル社)を装着したフローセル(CFCAS0003, IBI Scientific 社製)内に無刺激唾液を送り込み、1 時間静置した。Viz-S 処理後の細菌懸濁液を毎分 2ml の速度で 20 分間灌流後に HA を回収し、コロニーカウント法にて付着細菌数を計測した。

《実験 2 : 菌体表面性状の解析》対数増殖期の細菌懸濁液を洗菌後、0~50 μ M の Viz-S を添加し、10 分間作用させた。その後、200 μ l の n-ヘキサデカン添加して 15 分静置した後、親水層部分の吸光度を計測し、菌体表層の疎水性を評価した (Microbial adhesion to hydrocarbons [MATH]テスト)。

《実験 3 : 遺伝子発現解析》Viz-S の各細菌に対する付着関連遺伝子の発現への影響を解析するため、各細菌を 4 時間培養後の浮遊菌を Directo-zol RNA MiniPrep (Zymo Research 社製)を用いて mRNA を抽出後、cDNA を合成した。16S rRNA を内部標準として、遺伝子発現量を Real-time PCR 法で解析した。

【結果および考察】

各 ATCC 株に対する MIC は 500 μ M 以上、MBC は 1mM 以上であった。50 μ M の Viz-S に 10 分作用させた各細菌の HA 上への付着は、コントロール群 (0 μ M)と比較して、最大 82%減少した。50 μ M の Viz-S 存在下では各細菌とも菌体表層の疎水性率(% \pm SD)が低下し、それぞれ、*S. gordonii* (18.6 \pm 16.2)、*S. oralis* (14.7 \pm 11.4)、*A. naeslundii* (9.05 \pm 4.47)であった (p <0.01, Kruskal-Wallis H test, Dunnett's post-hoc test)。50 μ M の Viz-S 存在下における各細菌の 4 時間培養後の付着関連遺伝子の発現レベルを解析した結果、*gtfR* (*S. oralis*)および *cshA* (*S. gordonii*)の発現が有意に減少した (p <0.05)。これらの結果から Viz-S は菌体表面性状を親水性に変化させるとともに、付着関連遺伝子の発現に影響を与えることで初期定着菌群の界面への付着を減弱させると考えられた。

【結論】

50 μ M の Viz-S は初期定着菌群に殺菌効果はないが、細菌表面性状を親水性に変化させるとともに、付着関連遺伝子の発現を低下させて、初期定着菌群のハイドロキシアパタイトへの初期付着を減弱させることが示唆された。Viz-S は、口腔細菌叢を変動させずに、バイオフィームの初期形成を抑制する新しい制御材としての可能性が示された。

本研究の一部は、科学研究費補助金 (19H03958H)の補助を受けて実施された。

イオン放出型ガラスアイオノマーセメントとフッ素徐放性コンポジットレジンの
Streptococcus mutans に対する抗菌性

日本大学松戸歯学部保存修復学講座

○岡田珠美、藤田(中島)光、伏見幸男、庫山未希、岩井啓寿、神谷直孝、平山聡司

Antibacterial properties of *Streptococcus mutans* to ions releasable glass ionomer cement
and fluorine sustained-release composite resin.

Dept. of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry at Matsudo
OOKADA Tamami, FUJITA-NAKAJIMA Kou, FUSHIMI Sachio, KURAYAMA Miki, IWAI Hirotooshi,
KAMIYA Naotaka and HIRAYAMA Satoshi

【研究目的】

残存歯数増加に伴い高齢者における根面う蝕の有病率は 80 歳台で 70%に達している。根面う蝕は頬舌側面だけに留まらず環状に進行し、防湿が困難な部位に及ぶこともあって充填材料としてコンポジットレジンを選択した場合、歯質接着性の低下など良好な予後が期待できない場合がある。近年、根面う蝕をターゲットとしたイオン放出型充填用ガラスアイオノマーセメントが開発された。この充填材料は亜鉛、フッ化物、カルシウムイオンを溶出し、抗菌作用と脱灰歯質の再石灰化効果を有することが報告されている。

そこで本研究は、う蝕原因菌である *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) に対するイオン放出型ガラスアイオノマーセメントとフッ素徐放性コンポジットレジンを用いて、その抗菌作用を比較検討した。

【材料および方法】

イオン放出型充填用ガラスアイオノマーセメントであるケアダインレストア (CAR, GC) とフッ素徐放性コンポジットレジンとしてビューティフィルフロー (BFF, 松風) を本実験に使用した。

CAR は製造者指示に従い練和し、ガラスチューブ (直径 8 mm、高さ 3 mm) に充填後、上下面をガラス練板で圧接し、37°C 恒湿器内で 1 時間静置した。BFF は同様にガラスチューブに充填し照射器 (ペンキュア、モリタ) で上下面から各 20 秒間照射後、37°C 恒湿器内で 1 時間静置した。その後、CAR と BFF 硬化体を Brain Heart Infusion (BHI, Difco) 液体培地に 23 時間浸漬させて、硬化体試料とした。

BHI 液体培地各 5ml に CAR と BFF 硬化体試料を 24 時間および 2 週間浸漬させたて抽出液を作製した。それぞれの抽出液に *S. mutans* (JC2) 株の前培養菌を各 10 μ l 播種し、37°C ローソク培養にて 18 時間培養した。さらにこの各抽出液を $\times 10^6$ 、 $\times 10^7$ および $\times 10^8$ に希釈し、それぞれを *mutans streptococci* 選択培地である Mitis-Salivarius (MS, Difco) 平板培地に各 100 μ l 播種して、37°C にて 48 時間培養した後の MS 平板培地上のコロニーを数えて CFU/ml を算定して抗菌試験とした (n = 3)。統計学的解析は t 検定 (P < 0.01) を用いて行った。

【結果および考察】

CAR 試料における *S. mutans* の CFU/ml は、浸漬 24 時間では $1.4 \pm 0.5 \times 10^7$ 、浸漬 2 週間では $5.4 \pm 3.3 \times 10^7$ であった。これに対し BFF における *S. mutans* の CFU/ml は浸漬 24 時間では $4.2 \pm 1.2 \times 10^8$ 、浸漬 2 週間では $2.2 \pm 0.7 \times 10^8$ であった。CAR と BFF の比較では、*S. mutans* の CFU/ml は浸漬 24 時間および 2 週間ともに CAR が有意に低下していた。

【結論】

以上の結果から、CAR は主たるう蝕原因菌である *S. mutans* に対して BFF よりも有意に高い抗菌性を示した。このことから根面う蝕に対しては、防湿状態に関わらずフッ素徐放性コンポジットレジンによる修復を選択するよりもイオン放出型充填用ガラスアイオノマーセメントによる修復を選択することが有用であることが示唆された。

UVA 活性リボフラビン処理によるヒト象牙質のう蝕進行抑制効果

1. 大阪大学大学院歯学研究科 口腔分子感染制御学講座(歯科保存学教室)
 2. 大阪大学歯学部附属病院 口腔総合診療部
- 天羽 萌¹, 上村 怜央¹, 内藤 克昭¹, 三浦 治郎², 林 美加子¹

Ultraviolet-A-activated riboflavin treatments inhibit caries progression of human dentin

1. Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Restorative Dentistry and Endodontology
 2. Osaka University Dental Hospital, Division for Interdisciplinary Dentistry
- Megumi AMO¹, Reo UEMURA¹, Katsuaki NAITO¹, Jiro MIURA², Mikako HAYASHI¹

[研究目的]

近年の超高齢社会において、高齢者のう蝕が急増していることが問題となっている。これは主に2次う蝕や根面う蝕によるものであり、このような象牙質う蝕の予防や進行抑制を行うことが高齢者の口腔保健を維持するうえで極めて重要である。我々はこれまでに、ビタミンB2であるリボフラビン溶液への浸漬と、それに続く紫外線の照射(以下、UVA 活性リボフラビン処理)によってヒト健全象牙質の脱灰抑制効果があることを発見した。[Uemura *et al.*: *Scientific Reports*, 2019] 今回はさらにこの UVA 活性リボフラビン処理を応用することにより、すでにう蝕が発症した状況を想定し、脱灰象牙質においても耐酸性の向上およびさらなる脱灰抑制効果が認められるかを検索した。

[材料および方法]

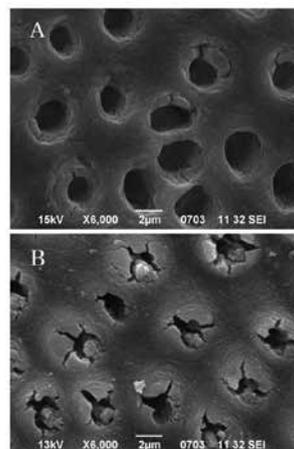
う蝕および破折のないヒト抜去大白歯 5本の歯冠中央部より厚さ 2.0 mm の円盤試料を低速精密切断機 (ISOMET2000, BUEHLER)を用いて採取した。頬舌方向に半切し、一方をコントロール群とし、他方をUVA 活性リボフラビン群とした。リボフラビン溶液は、リボフラビン-5'-モノホスファートナトリウム(東京化成工業株式会社)を蒸留水に溶解させて0.1%溶液を作製した。UVA照射は、LED紫外線照射装置(ZUV-C30H, オムロン)を用いて、波長365 nm, 出力 1600 mW/cm², 照射時間 10 分の条件で行った。全ての試料をあらかじめ 10 mL の脱灰溶液(50 mM 酢酸, 2.2 mM CaCl₂, 2.2 mM KH₂PO₄, pH5.0)に37℃条件下で3日間浸漬し、脱灰象牙質試料を作製し、走査型電子顕微鏡(Miniscop TM3000, HITACHI, 以下 SEM)にて術前における表面の観察を行った。その後、UVA 活性リボフラビン群に対してUVA 活性リボフラビン処理を実施し、全ての試料を再度 10 mL の脱灰溶液に37℃条件下で3日間浸漬し、試料を取り出し脱イオン水にて30秒水洗した後、1日間乾燥の後SEMにて脱灰面の変化および象牙細管の微細構造を観察した。得られた画像から、象牙細管の開口度によって開口、中間、閉鎖の3種類に分類し、閉鎖の割合をそれぞれの群において比較し分析した(Student-*t*検定, $\alpha=0.05$)。本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認下で実施した(H30-E36)。

[結果および考察]

SEM 観察において、脱灰領域を強拡大で観察するとコントロール群は象牙細管が大きく露出し開口しているのに対し、UVA 活性リボフラビン群では象牙細管の開口は小さく、UVA 活性リボフラビン処理によって、脱灰象牙質のさらなる脱灰を抑制することができることが形態学的に示された。象牙細管の開口が小さい割合はコントロール群では51.3%であるのに対し、UVA 活性リボフラビン群で96.2%であり、有意に開口が小さくなることがわかった。UVA 活性リボフラビン処理は健全歯質だけでなく、進行したう蝕を想定した脱灰象牙質に対してもさらなる脱灰を抑制する可能性があることが示唆され、う蝕の予防効果だけでなく、進行抑制効果もあることが考えられる。本研究の一部は科学研究費補助金(17H04382, 19K21379)の補助の下に行われた。

[参考文献]

Uemura *et al.*, UVA-activated riboflavin promotes collagen crosslinking to prevent root caries, *Scientific Reports*, 2019, 9 (1):1252



Representative SEM images
(A) Control group
(B) Riboflavin-UVA group

***Streptococcus mutans* レベルが異なるバイオフィームに対する緑茶の抗菌効果**

神奈川県立歯科大学大学院歯学研究科 口腔統合医療学講座 保存修復学分野¹,

口腔科学講座 微生物学分野², 組織学分野³, ACTA⁴

○富山 潔¹, 石澤将人¹, 渡辺清子², 河田 亮³,

高橋 理³, 浜田信城², Exterkate R.A.M⁴, 向井義晴¹

Antibacterial effect of green tea on polymicrobial biofilms with different levels of *Streptococcus mutans*

¹Dep. of Oral Interdisciplinary Medicine, Div. of Restorative dentistry, Dep. of Oral Science, Div. of ²Microbiology, ³Histology,

Graduate School of Dentistry, Kanagawa Dental University, Div. of Operative Dentistry,

⁴Dep. of Preventive Dentistry, Academic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA)

○TOMIYAMA Kiyoshi¹, ISHIZAWA Masato¹, WATANABE Kiyoko², KAWATA Akira³,

TAKAHASHI Osamu³, HAMADA Nobushiro², EXTERKATE R.A.M⁴, MUKAI Yoshiharu¹

【研究目的】 ヒトの体内や体表面のバイオフィームの動向を探る研究を行なう場合、唾液由来の細菌叢を有するバイオフィームを統一されたコンディションで毎回形成できる口腔外モデルを用いることにより、コントロール群を常に同じ細菌叢に保ちつつ他群と比較することが可能となる。このようなモデルを用いて、繰り返し迅速に分析を行なうことは重要である。緑茶に多く含まれるEpigallocatechin gallate (EGCG) は口腔内では *Streptococcus mutans* および *Streptococcus sanguinis* の抑制が報告されており、また病原性大腸菌O157:H7のバイオフィーム形成を阻害することも報告されている。本研究は、口腔内バイオフィームに対する緑茶カテキンの効果をAcademic Centre for Dentistry Amsterdam (ACTA) の多菌種バイオフィームモデル (polymicrobial biofilm (PM) バイオフィーム) 形成用 High-throughput model を使用して検討した。

【実験材料および方法】 [PM バイオフィームの形成] PM バイオフィーム形成用材料には直径 12 mm 厚さ 150 μm のガラス円板を用いた。 *S. mutans* の割合が異なる 3 被験者 (被験者 A: *S. mutans*: not detected, CFU/ml: 3.68×10^9 ; 被験者 B: *S. mutans*: 1.65×10^5 , CFU/ml: 5.67×10^9 , 被験者 C: *S. mutans*: 2.68×10^7 , CFU/ml: 7.30×10^9) から採取した刺激唾液を 50 倍希釈となるように unbuffered McBain 2005 (0.2% スクロース含有) 培養液に混入後、培養液の交換を 10 時間の時点で行ない、培養 24 時間の時点で各処理剤あるいは滅菌脱イオン水 (Cont) に 5 分間浸漬後、10 時間、14 時間毎に培養液を交換して 72 時間嫌気培養 (CO₂: 10%, H₂: 10%, N₂: 80%, 37°C) してバイオフィームを形成した。処理には、Corsodyl (0.2 vol% グルコン酸クロロヘキシジン, GlaxoSmithKline), カテキン含有量を同量に調整した緑茶抽出物 (リリース科学工業株式会社) を用いた。実験群は① 脱イオン水処理群 (cont), ② 0.2% グルコン酸クロロヘキシジン群 (CH), ③ 緑茶抽出液群 (G), の 3 群とした。[実験 1]: ガラス円板上に形成された 24 時間培養後のバイオフィームに対し 5 分間の各処理を行なった時点および、その後 48 時間培養を行なった時点で、LIVE/DEAD 染色を行ない、共焦点レーザー顕微鏡 (Nikon, PCM-2000) により生・死全細菌の分析を行った。生・死全細菌に対する死菌の割合は、One-way ANOVA および Tukey の検定により有意水準 5% にて統計学的分析を行ない、各処理剤が細菌細胞数に与える影響を比較検討した (n=6)。また、使用済み培養液の pH を測定した (n=10)。[実験 2]: 培養 72 時間の時点で次世代シーケンサー (MiSeq™, Illumina, USA) による細菌叢の網羅的分析は、バイオフィームから DNA 抽出後 (MORA-EXTRACT kit), 16S rDNA を標的とし、プライマーとして Pro341F-Pro805R を用いて、次世代シーケンス・アンプリコン解析を行った。サンプル間の比較解析は、主成分分析により行った。

【結果及び考察】 [実験 1]: G および CH 群の処理直後における使用済培養液の pH は、バイオフィームの病原性に関係なく cont に比較して有意に上昇し、その後 48 時間培養を継続すると、G 群の pH 下降は他群と比較し、有意に抑制された。72 時間の時点で全細菌細胞に対する死菌細胞の割合は、G 群 (70.8%) は CH (62.5%) 群より有意に高かった。[実験 2]: 唾液 A, B, および C 群において、G と Cont のバイオフィーム群集構造間には差が認められなかったが、CH と他群間には明瞭な差が認められた。また、G と Cont の構成菌は *Streptococcus salivarius* が主体であったが、CH 群では、*Haemophilus parainfluenzae* や *Streptococcus anginosus* の割合が増加していた。以上の結果から、緑茶は耐性菌などを増やさず、健全な細菌叢を維持しつつ、バイオフィーム形成を抑制できることが示された。

(本研究は、神奈川県立歯科大学 倫理委員会の承認を得て遂行された【研究倫理 審査番号 445】)

デュアルキュア型暫間修復材の耐久性および操作性について

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹⁾, 総合歯学研究所生体工学研究部門²⁾,
川本歯科医院³⁾, 佐藤歯科医院⁴⁾

○鈴木崇之¹⁾, 秋葉俊介¹⁾, 廣兼榮造¹⁾, 笠原悠太¹⁾,
高見澤俊樹^{1,2)}, 宮崎真至^{1,2)}, 川本 諒³⁾, 佐藤幹武⁴⁾

Durability, wear behavior, and handling properties of dual-cure provisional resin-based composites

Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾,

Nihon University School of Dentistry, Kawamoto Dental Clinic³⁾, Sato Dental Clinic⁴⁾

○SUZUKI Takayuki¹⁾, AKIBA Shunsuke¹⁾, HIROKANE Eizo¹⁾, KASAHARA Yuta¹⁾,
TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, KAWAMOTO Ryo³⁾, SATO Mikitake³⁾

【緒言】

暫間修復処置は、最終修復物が装着されるまで歯髄の保護、咬合・咀嚼機能の保持、審美性あるいは周囲軟組織との調和を図ることなどを目的として行われる。とくに、複雑な治療を必要とする症例では、暫間修復期間が長期にわたることがあり、暫間修復材には口腔内環境で一定期間機能するための耐久性が求められる。近年、無機質フィラーの添加とともに光照射によりオンデマンドで硬化が可能なデュアルキュア型暫間修復用レジンが市販されている。そこで演者らは、暫間修復用レジンの耐久性に関する研究の一環として、温熱負荷前後の機械的性質変化および耐摩耗性について検討した。また、操作性に関わるレジン硬化後の表面のべたつきについても検討を加えた。

【材料および方法】

デュアルキュア型の暫間修復材としてテンプスマート (TS, ジーシー), Luxatemp Automix solar (LS, DMG) および Integrity MULTI CURE (IM, Dentsply) の3製品を使用した。また、対照として化学重合型の Protemp 4 (P4, 3M Oral Care) を用いた。以下に示す項目について、光照射有り (DC 群) および光照射無し (SC 群) の条件について検討した。

1. 曲げ特性

ISO4049 の基準に従って2×2×25 mm の棒状試片を製作した後、24 時間水中に保管したものと、5~55℃のサーマルサイクル試験を5,000 および10,000 回行ったものについて、曲げ強さ、曲げ弾性率およびレジリエンス求めた。なお、試片の数はそれぞれ12 個とした

2. 破壊靱性試験

25×5×2.5 mm で長さ2.5 mm の切り欠き入りの試片を破壊靱性試験用試片とした。24 時間水中に保管したものと曲げ試験同様に温熱負荷後の試片について破壊靱性値を求めた。なお、試片の数はそれぞれ12 個とした。

3. 衝突摩耗試験

衝突摩耗試験に際しては、直径6 mm、高さ2 mm のテフロン型にレジンペーストを充填、重合硬化させた。摩耗試験には、衝突摩耗試験機を用い、衝突摩耗試験を10,000 回行った。また、摩耗試験終了後の試片については、最大摩耗深さ (μm) および摩耗量 (mm³) についてレーザー顕微鏡を用いて測定した。なお、試片の数はそれぞれ12 個とした。

4. べたつき試験

硬化直後のレジン表面のべたつきを RHEONER II CREEP METER (山電) を用いて評価した。すなわち、練和開始から4 分後の試片をクリープメーターに設置し、先端が平坦な治具が試片表面から離れる際の応力を測定することによって、硬化レジン表面のべたつき度とした。なお、試片の数はそれぞれ6 個とした。

【成績および考察】

ベースラインの曲げ強さは、いずれの暫間修復材料においても DC 群は、SC 群に比較して有意に高い曲げ強さを示した。温熱負荷後では、供試した製品の多くがその回数の増加に伴って曲げ強さが低下する傾向を示した。一方、破壊靱性試験においては、供試した製品のいずれにおいても、各 TC 条件で比較すると、DC 群と SC 群間で有意差はなかった。摩耗試験の結果からは、最大摩耗深さおよび体積摩耗量ともに、TS を除いて同様な傾向を示し、DC 群は SC 群に比較して高い耐摩耗性を示しました。べたつき試験の結果からは、いずれの製品においてもべたつき度は TS に比較して有意に高い値を示した。

【結論】デュアルキュア型暫間修復用レジン硬化時の光照射は、その機械的性質および耐摩耗性の向上に寄与することが明らかとなった。

リン酸化ポリビニルアルコールのガラスイオノマーセメントへの応用

1 産業技術総合研究所 健康工学研究部門, 2 岡山大学大学院医歯薬総合研究科免疫病理学,
3 岡山大学歯学部先端領域研究センター, 4 北海道大学歯学研究科生体材料工学教室
○1,2 吉原久美子, 3 長岡紀幸, 4 吉田靖弘

Application of phosphoric-PVOH for glass ionomer cement

¹National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Health Research Institute,
²Okayama University, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences,
Department of Pathology & Experimental Medicine, ³Advanced Research Center for Oral and Craniofacial
Sciences, Okayama University, ⁴Department of Biomaterials and Bioengineering, Graduate School of
Dental Medicine, Hokkaido University

○Kumiko YOSHIHARA^{1,2}, Noriyuki NAGAOKA³, Yasuhiro YOSHIDA⁴

【研究目的】

従来型ガラスイオノマーセメントは、生体親和性を有していることや、歯質接着性やフッ素徐放性といった性質から臨床で用いられている。一方で、硬化時間が長い、硬化中に感水すると劣化する、強度が小さい、歯質接着強さも大きくないといった欠点がある。ガラスイオノマーの強度を向上させるために、これまで粉末のガラスの検討や添加材料の検討がなされてきたが、ガラスイオノマーセメントの液の検討はあまり行われていない。

歯質アパタイトや金属への化学的な接着能は、カルボン酸よりもリン酸のほうが強いことが報告されている。本研究では、ポリビニルアルコール (PVOH) をリン酸化したリン酸化ポリビニルアルコールを合成し、それを従来型ガラスイオノマーの液に添加することにより、ガラスイオノマーセメントの歯質接着性、機械的強度への影響を検討した。

【材料および方法】

ポリビニルアルコールをリン酸化し、リン酸化ポリビニルアルコールナトリウム (P-PVOH-Na) を得た。さらにナトリウムを除去することで、酸性のリン酸化ポリビニルアルコール (P-PVOH) を得た。

ガラスイオノマーセメントは、フジ IX GP Extra (ジーシー) を用いた。ガラスイオノマーセメント液に、P-PVOH-Na もしくは、P-PVOH を添加し、溶解させ試作ガラスイオノマーセメント液とした。

接着試験はヒト抜去大白歯 (岡山大学生命倫理審査委員会, 承認番号: 研 16-020) をエポキシ樹脂に包埋し、それぞれ被着象牙質を露出後、#600 で研磨後し被着面とした。被着面に直径 3.4 mm のモールドを置き、それぞれの試料を充填し硬化後、モールドから除去し 37°C 水中保管した。24 時間水中保管後、せん断強さ試験を行った。また、機械的強度試験として、3 点曲げ試験を行った。2 x 2 x 25 mm のシリコンモールドにそれぞれのガラスイオノマーセメントを充填し、硬化後モールドから外し、24 時間水中保管後、曲げ強さを測定した。

各接着材に対し抜去歯 4 本を用い、象牙質—ガラスイオノマーセメント界面観察を行った。サンプルは脱水処理後、エポキシ樹脂包埋を行い、界面を走査電子顕微鏡で観察した。

【結果】

酸性リン酸化ポリビニルアルコール (P-PVOH) 添加品はコントロールのフジ IX GP Extra よりも接着強さが優位に高く、P-PVOH-Na 添加品はコントロールよりも低下した。機械的強度も、酸性リン酸化ポリビニルアルコール (P-PVOH) 添加品が、コントロールのフジ IX GP Extra や P-PVOH-Na 添加品よりも優位に高かった。

走査電子顕微鏡での象牙質/ガラスイオノマーセメント界面観察では、いずれも界面で接着していることが観察された。

【考察および結論】

酸性リン酸化ポリビニルアルコールを従来型ガラスイオノマーセメントの液部に添加することで、ガラスイオノマーセメントの機械的強度と歯質接着性を向上させることができた。一方、酸性でないリン酸化ポリビニルアルコール (P-PVOH-Na) は、優位に接着強さや機械的強度が低下したことから、ポリビニルアルコールのリン酸基が、歯質への接着やアルミノシリケートガラスとの反応による強い架橋構造を構築し、強度の向上に寄与していることが示唆された。

試作覆髄剤のカルシウムイオン徐放について

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野
○西谷登美子、岩田知幸、伊藤誠之、永山雅大、山下未来、
達山祥子、勝俣愛一郎、星加知宏、西谷佳浩

Releasing of calcium ion of experimental pulp capping materials

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

○Nishitani Tomiko, Iwata Tomoyuki, Ito Masayuki, Nagayama Masahiro, Yamashita Miki,
Tatsuyama Syoko, Katsumata Aiichiro, Hoshika Tomohiro, Nishitani Yoshihiro

【研究目的】

う蝕治療においては、覆髄後の辺縁漏洩による細菌感染のリスクを避けるという観点から、レジンによる接着修復時の覆髄は不要とされている。しかしながら、覆髄剤による薬理作用は失われることになる。また有病高齢者のう蝕治療ではう蝕を残置せざるを得ない状況もあり、覆髄剤の有用性は今後益々期待されると考える。本研究は、歯質接着性および石灰化促進作用・抗菌性を有する覆髄剤と、その覆髄剤と一体化して重合硬化する充填材料を検討し、新たなコンポジットレジン修復法を開発することを目的として、試作覆髄剤からのカルシウムイオン徐放について検討を行った。比較として市販の覆髄剤についても評価を行った。

【材料および方法】

Proroot MTA (デンツプライ) にメタクリル酸 2-ヒドロキシプロピル (和光) を重量比 6:4 または 7:3 で配合してスーパーボンドキャタリスト V (サンメディカル) にて重合させた試作覆髄剤を実験に供した。市販の覆髄剤についてはメーカー指示に従って試料を作製した。全ての試料はテフロンモールド内で相対湿度 100% の保管箱に入れて 24 時間 37°C インキュベーター内で静置・硬化させ、セラカルについては 2 方向から 40 秒ずつ照射し、直径 7.0 mm、厚さ 1.0 mm のディスクを 4 枚ずつ作製した。得られたディスクを各覆髄剤で 1 グループ 2 枚の 2 グループに分け、蒸留水 1000 μ l に 24 時間浸漬した群と 72 時間浸漬した群の上清を回収 (500 μ l ずつ回収し 10 倍希釈) してカルシウムイオン濃度をイオンクロマトグラフィー (ICS-1600: サーモフィッシャーサイエンティフィック) を用いて測定した。

【結果および考察】

試作覆髄剤を含むすべての覆髄剤からカルシウムイオンの徐放が確認され、24 時間後から 72 時間後にかけて徐放量は増加していることから、持続的な徐放性を有していることが示唆された。MTA の重量比が異なる 6:4 群と 7:3 群間では、MTA の配合量が多いグループでカルシウムイオンの徐放が多かった。覆髄剤からのカルシウムイオンの徐放は MTA の配合量のみならず、MTA の水和反応性が徐放性に影響すると考えている。これまでに本研究に供した試作覆髄剤の歯質接着性、良好な辺縁封鎖性については報告しており、今後は接着性を維持した上で、MTA とモノマーの配合を詳細に検討する必要があると考えている。

【結論】

本研究の条件下においては、72 時間後まで試作覆髄剤を含むすべての覆髄剤からカルシウムイオンの徐放が確認された。

本研究は JSPS 科研費 JP17K11710 の助成を受けたものです。

演題発表に関連し、開示すべき利益相反関係にある企業はありません。

高機能歯みがきジェルにおけるフッ化物リリースと歯質強化能の評価

株式会社ジーシー

○横沼 久美子、鈴木 利弥、山中 克之、熊谷 知弘

Evaluation of fluoride ion release and enamel strengthen on high functional toothpaste gel GC CORPORATION

○Kumiko Yokonuma, Toshiya Suzuki, Katsuyuki Yamanaka, Tomohiro Kumagai

【目的】

8020 達成者の増加に伴い、60 代以上のう蝕の罹患率が上昇している。これは歯周病に罹患した後に歯肉退縮を起こし、歯根面が露出しているためである。このような症例に最適な高機能歯みがきジェル (GC41) を開発した。本研究では、開発した GC41 のフッ化物リリース力および歯質強化能を評価することを目的とした。

【材料と方法】

〔フッ化物リリース力試験〕

GC41 を 1g 自立式チューブに採取した。その上にジェル形態が崩れないように静かに蒸留水を 9 ml 注ぎ、10 秒・30 秒・60 秒・180 秒間浸漬した各蒸留水の上澄み液を採取し、フッ素電極を用いて蒸留水に溶出したフッ化物濃度を測定した。24 時間静置したサンプルの評価では、比較対照試料としてルシエロペースト (RP)、ルシエロポイントケアジェル (PC) を設定した。24 時間静置した試料の比較では、統計解析に Steel-Dwass 法を用いた。

〔歯質強化試験〕

被験試料は GC41、比較対照試料は RP、2000ppmNaF 水溶液とし、各試料を 3 倍希釈した。陰性対照試料は蒸留水とした。牛歯エナメル質を耐水研磨紙#1500 まで研磨後、初期のビッカース硬度を測定した。歯磨剤希釈液に 3 分間浸漬させ、水洗・乾燥後に脱灰液に 16 時間浸漬させ、脱灰後のビッカース硬度を測定した。再石灰化液に 37°C6 時間浸漬させ、歯磨剤希釈液に 3 分間浸漬させ、水洗後に再石灰化後のビッカース硬度を測定した。

牛歯試験片を 4 領域に分割し各被験材料を同一の牛歯内で評価した。統計解析に Steel-Dwass 法を用いた。

【結果と考察】

フッ化物リリースにおいては 10 秒 1.9ppm (±0.16), 30 秒 2.7ppm (±0.23), 60 秒 3.7ppm (±0.28), 180 秒 6.3ppm (0.52) で 10 秒からでもフッ化物イオンリリースが確認できた。

また 24 時間静置においては RP を 100 とした場合、GC41 は 221 で PC は 39 であり、それぞれの間で統計学的有意差が認められた (図 1)。これはジェルの構造が 3 次元網目構造になっているため、イオンリリース力が高いと推察した。歯質強化試験においては、再石灰化後のビッカース硬度が GC41 は 55.2 HV (±24.1) 蒸留水は 30.5 HV (±9.2), RP46.5 HV (±9.6), 2000ppmNaF 水溶液 3 倍希釈は 54.7 HV (±10.1) であり、蒸留水と各試料において統計学的有意差が認められた。これはフッ化物イオンの効果であると考えられるが、GC41 は粘度が高いため歯質に吸着しやすく NaF2000ppm と同等の傾向を示した。一方、NaF900ppm である RP はフッ化物リリース力が低いため、少し低い傾向になったと考えた。(図 2)

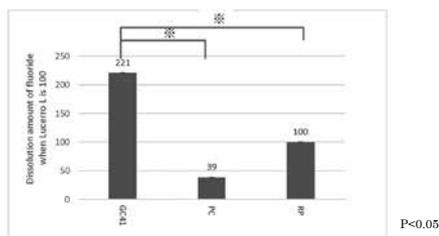


Fig.1 Enamel strengthen Test

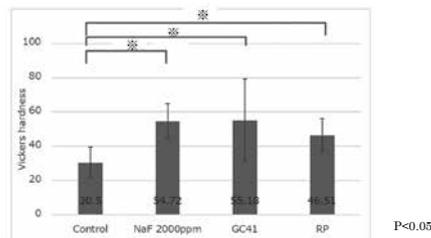


Fig.2 Elusion Amount of Fluoride ion

【結論】

GC41 は、比較対照試料と比べてフッ化物リリース力が高く、歯質強化に高い効果を示す歯みがきジェルである事が示唆された

アパタイト光触媒配合ホームホワイトニングジェル

¹朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯冠修復学

²朝日大学歯学部物理学分野 ³朝日大学

○越智葉子¹, 亀水秀男², 高垣智博¹, 日下部修介¹, 二階堂 徹¹, 堀田正人³

Home whitening gels containing apatite photocatalyst

¹ Department of Operative Dentistry, Division of Oral Functional Science and Rehabilitation, Asahi University School of Dentistry

² Department of physics, Asahi University School of Dentistry ³Asahi University

○OCHI Yoko¹, KAMEMIZU Hideo², KUSAKABE Shusuke¹, TAKAGAKI Tomohiro¹, NIKAIIDO Toru¹, HOTTA Masato³

【研究目的】

光触媒を利用したホワイトニング剤に優れた効果が見いだされていることから、光触媒がホームホワイトニングにも利用できると考えられる。ホームホワイトニングは一般に10%過酸化尿素を使用して漂白しており、1日2時間、2~4週間という長い時間と期間を必要としている。ホームホワイトニングシステムでの処理時間と期間の短縮が可能ならば、患者の負担は少なく済む。今回、ハイドロキシアパタイト(HAP)構造を有した光触媒を新規に合成し、その光触媒能について検討した。また、新規に合成したアパタイト光触媒を配合したホワイトニングジェルを試作し、アパタイト焼結体による着色モデルを用いて、そのホワイトニング効果についても検討した。

【材料および方法】

1.新規アパタイト光触媒の合成と調整: アパタイト光触媒は、Yb-HAP を使用した。Yb-HAP は電気炉にて 1,200~1,500°C, 4時間、大気下で加熱合成した。合成物を粉砕し、Yb-HAP 粉末として使用した。2.Yb-HAP 粉末の光触媒能: 光触媒能を検討するために可視光(白色光)による色素分解実験を行った。粉末を 10ml のメチレンブルー(MB)水溶液(濃度: 10ppm) の入ったガラス瓶に投入した後、ハロゲンランプ照射器により光照射を行った。各種時間(5~60分間)で照射後、MB 水溶液の濃度を測定し、照射時間と色素分解能(MB 水溶液の濃度変化)との関係を調べた。なお、濃度測定には、紫外可視分光光度計を用いた。3.アパタイト焼結体着色モデルの作製: 着色モデルには市販 HAP 焼結体 APP-100(10×10×2mm, PENTAX)を使用した。着色方法は HAP 焼結体を MB 水溶液に浸漬して行った。4.試作ホームホワイトニング用ジェル: アパタイト光触媒(5~10wt%), 保湿剤(87wt%), 溶剤(2.5wt%) その他(結合材等 0.5wt%) を混合してジェル状に調整した。5.ホワイトニング方法と測色方法: 着色した各 HAP 焼結体表面にジェルを塗布し、ハロゲンランプ照射器により光照射した。焼結体表面に垂直に 2~60 分間光照射した。焼結体の色調変化は、簡易測色計(RM200 X-Rite)を使用した。測色には、CIE 1976 L*a*b*表色系を用い、ホワイトニング効果は、色差 ΔE^*ab と L*, a*, b*値で評価した。

【結果】

各種温度で合成した Yb-HAP について、光照射時間と MB 水溶液濃度との関係を検討した結果(Figure 1), すべての合成物において光照射時間が多いほど、MB 水溶液の濃度は低下し、色素分解が促進されることがわかった。特に、1300°Cで合成した Yb-HAP では、光照射5分間で濃度が1/10になり、約20分間照射後、MB 水溶液はほとんど透明になった。また、着色モデルによるホワイトニング効果について検討した結果、光照射時間とともに L*値は増加し、-b*値の絶対値が減少した。それとともに色差 ΔE^*ab は増加し、60分間照射で6.4になった(Figure 2)。ホワイトニング2分間は、色差の増加が大きく、ホワイトニング効果が高いことがわかった。

【考察】

今回、色素分解実験では長時間の照射のため、汎用的なハロゲンランプ光(可視光)を使用した。LED 光(紫~青)に対しても同程度以上の効果が見られると考え、紫 LED 光による色素分解能および着色モデルに対するホワイトニング効果について検討する予定である。

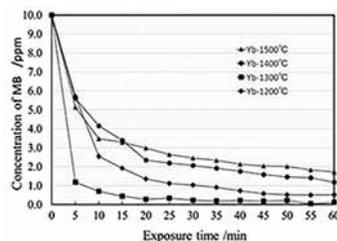


Figure 1 Residual concentration of MB treated with different Yb-HAP photocatalysts under visible light exposure

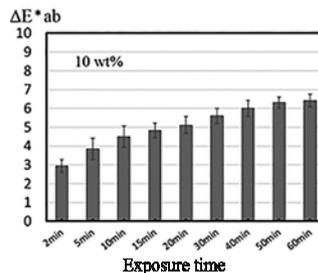


Figure 2 Changes in ΔE^*ab values due to exposure time

生理的咬耗による切縁・咬合面の象牙質露出に関する調査

新潟大学医歯学総合病院歯科総合診療部、*昭和村国民健康保険診療所
○石崎裕子、福島正義*

Survey on incisal and occlusal dentin exposure by physiological occlusal wear.
General Dentistry and Clinical Education Unit, Niigata University Medical and Dental Hospital
*Showa Village National Health Insurance Clinic
○ISHIZAKI Hiroko, FUKUSHIMA Masayoshi*

【研究目的】超高齢社会を迎え Tooth Wear は第三の歯科疾患として注目されている。しかし、生理的および病的 Wear の診断については不明な点が多い。8020 達成者は半数を越えており、Tooth Wear は多くなっていると思われる。本研究の目的は、生理的老化現象としての切縁および咬合面の咬耗による象牙質露出の頻度について調べることである。

【被験者および方法】平成 20 年～平成 25 年に歯科総合診療部および歯の診療室にメンテナンスで来院した患者で、下記の条件を満たし、研究協力の同意が得られた 29 名 (22～76 歳、男性 15 名、女性 14 名) から以下の資料を収集した (新潟大学歯学部倫理委員会承認番号 20-R36-08-10)。

<選択条件>①可撤性義歯を使用していない。②両側臼歯部に天然歯同士の咬合接触がある。③全歯が生理的動揺の範囲内である。④問診にて酸蝕症を疑わせる既往がない。⑤ブラキシズムや顎関節異常がない。

<資料収集内容>①象牙質露出部の記録 (プロトコール作成) ②口腔内写真 (10 枚法) ③咬合力測定 (デンタルプレスケール 50H タイプ R, FUJIFILM) ④歯列模型 (寒天アルジネート印象、硬石膏)

採取したデンタルプレスケール試料をオクルーザー (FDP703, FUJIFILM) にて解析し、咬合力 (N)、咬合接触面積 (mm²) を算出した。咬頭被覆修復 (アンレー、クラウン) のない歯を観察対象歯とし、各被験者の咬合面または切縁の象牙質露出歯率および被験者平均 Tooth Wear Index (Fares J, et al: Caries Res 43(2): 119-125, 2009) (以後 TWI) を算出し、年齢、咬合力および咬合接触面積との間の相関についてそれぞれ解析した。

【成績および考察】被験者の現在歯数は 24～31 歯で、そのうち観察対象歯は 16～30 歯であった。象牙質露出の見られた者は 29 名中 26 名であり、象牙質露出歯の保有率は 90%であった。20 歳・30 歳代ですでに象牙質露出がみられた。

Table. Rate of dentin exposure and Tooth Wear Index of subjects in each generation.

age	number of subjects	rate of dentin exposure (%)			mean rate of dentin exposure in subjects (%)	mean Tooth Wear Index	
		incisor	premolar	molar		Enamel	Dentin
20～29	4	41.7	3.1	9.7	21.8±17.3	3.5±0.8	1.8±1.4
30～39	3	34.4	21.7	18.2	26.8±43.5	2.6±0.7	0.4±0.3
40～49	1	16.7	0.0	25.0	14.3	2.0	0
50～59	3	82.4	28.6	31.8	53.6±17.3	3.4±0.3	1.1±0.9
60～69	10	65.8	34.7	23.5	55.1±32.4	3.4±0.5	1.3±0.9
70～79	8	81.3	41.1	52.2	60.3±25.9	3.2±0.4	0.8±0.8

象牙質露出は前歯からはじまり、臼歯へと拡大する傾向があった。象牙質露出歯率と年齢の間で相関が認められた ($r=0.51$ 、無相関の検定 $p=0.005$) が、咬合力 (417～2,192N) ($r=0.20$, $p=0.445$) および咬合接触面積 (11.8～67.0 mm²) ($r=0.29$, $p=0.368$) との間ではそれぞれ相関は認められなかった。また、TWI と年齢の間でも相関が認められた (Enamel: $r=0.75$, $p=0.00001$, Dentin: $r=0.48$, $p=0.008$) が、咬合力 (Enamel: $r=0.28$, $p=0.135$, Dentin: $r=0.32$, $p=0.087$) および咬合接触面積 (Enamel: $r=0.34$, $p=0.073$, Dentin: $r=0.34$, $p=0.068$) との間ではそれぞれ相関は認められなかった。被験者間で差が大きいことから、咬合力や咬合接触面積以外の要因が関連していることが推察された。

【結論】象牙質露出歯率は年齢とともに増加し、個人差が大きかった。今後、被験者数を増やした検討が必要である。

頭頸部癌化学放射線療法後に発症した放射線性う蝕の1例

¹岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野, ²岡山大学病院 頭頸部がんセンター
³岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 形成再建外科学

○松崎久美子^{1,2}, 大原直子¹, 澁谷和彦¹, 横山章人¹, 山路公造¹, 島田康史¹, 木股敬裕^{2,3}, 吉山昌宏¹

A Case of Radiation-Induced Dental Caries after Chemoradiotherapy for Head and Neck Cancer

¹ Department of Operative Dentistry, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ²Head and Neck Cancer, Okayama University Hospital, ³Plastic and Reconstructive Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
○MATSUZAKI Kumiko^{1,2}, OHARA Naoko¹, SHIBUYA Kazuhiko¹, YOKOYAMA Akihito¹, YAMAJI Kozo¹, SHIMADA Yasushi¹, KIMATA Yoshihiro^{2,3}, YOSHIYAMA Masahiro¹

【緒言】

放射線性う蝕は、頭頸部癌に対する放射線治療の晩期有害事象のひとつである。不可逆性の唾液腺障害とそれに伴う口腔内環境の悪化や食事内容の変化により、放射線性う蝕は一度発症すると、急速かつ多発的に進行してしまう。今回、中咽頭癌に対する化学放射線療法後に、急速かつ多発的に放射線性う蝕を発症した症例に対するう蝕処置およびケアダインスールド（ジーシー）を使用したう蝕抑制処置について報告する。

【症例】

患者は56歳、男性。2016年7月に当院耳鼻咽喉科初診、中咽頭癌（T2N2aM0、頸部転移、StageIVA）の診断に対し、関連病院で化学放射線療法（CDDP+5FU併用、60Gy/30回）が3次元原体照射で予定された。放射線治療に先立ち、関連病院の歯科で口腔内の金属除去後に暫間処置が行われたが、放射線性う蝕に関しての予防処置や患者教育は行われなかった。2016年12月、残存頸部リンパ節の転移巣に対し、当院で頸部郭清術が施行された。入院期間中、口腔内が暫間処置のまま放置されていたことから、むし歯科紹介となった。

以降は、2017年1月から3か月に一度、当院耳鼻咽喉科の受診日に当科で修復処置と歯内療法を、予防歯科で口腔ケアを施行していた。2018年2月に根管充填が終了し当科終診となり、さらに、2018年8月に発熱のため関連病院へ入院し、当院予防歯科受診が中断した。2018年11月に他歯の根管治療依頼で当科へ再紹介された際に4歯のう蝕が認められた。その後は継続して根管治療およびう蝕処置を施行していたが、2019年2月の再評価時に新たに17歯のう蝕が認められた。現在は、う蝕処置を行うとともに、放射線性う蝕に関する患者教育、専門的機械的歯面清掃、う蝕進行抑制のために亜鉛含有ガラス塗布材であるケアダインスールドの塗布を継続して行っている。

【考察および結論】

いわゆる放射線性う蝕は、短期間で急激に進行する。そのため、う蝕処置と並行して口腔衛生指導や食事指導などの患者教育とう蝕進行抑制処置が必須となる。う蝕抑制処置に関して、本症例に対してはケアダインスールドを使用した。これは、波長走査型光干渉断層計（第147回および第148回日本歯科保存学会学術大会）およびマイクロラジオグラフィーによる検討で、ケアダインスールドが象牙質脱灰抑制効果を有することが示唆されたためである。しかしながら、ケアダインスールドに関するう蝕抑制についての臨床報告は少ないため、今後厳重な経過観察が必要である。また、放射線性う蝕の治療に関しての臨床報告も少ないことから、前向きな臨床研究とともに、ケアダインスールド塗布後の象牙質接着に関する基礎研究も必要と考えられる。

高齢者型ロボット SIMROID を用いた齲蝕治療シミュレーション実習における 簡易シナリオの導入

¹⁾北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系 齲蝕制御治療学分野, ²⁾北海道医療大学歯学部総合教育学系
歯学教育開発学分野

○泉川昌宣¹⁾, 猪熊孝憲¹⁾, 諏訪涼子¹⁾, 油井知雄¹⁾, 松田康裕¹⁾, 伊藤修一²⁾, 斎藤隆史¹⁾

Introduction of simple scenario to clinical simulation training of caries treatment in SIMROID.

1) Division of Clinical Cariology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation, 2) Division
of Dental Education Development, Department of Integrated Dental Education,

School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, Japan

○Masanobu Izumikawa¹⁾, Takanori Inokuma¹⁾, Ryoko Suwa¹⁾, Tomoo Yui¹⁾, Yasuhiro Matsuda¹⁾, Shuichi Ito²⁾
and Takashi Saito¹⁾

【緒言】

診療参加型臨床実習の前段階としてのシミュレーション実習の重要性が高まっている。しかし従来のシミュレーション実習の実態としてはマネキンを使用した模型実習である。したがって、患者のストレスや不快感などを再現可能な歯科教育用ロボットを使用したシミュレーション実習の開発が今後さらに必要と思われる。また超高齢社会の到来とともに歯科診療所に来院する患者の 1/3 以上が 65 歳以上の高齢者であり、診療参加型臨床実習においても様々な機能低下を来した高齢者に対する安全性の確保が重要である。本学では、高齢者型ロボット SIMROID を多職種連携シミュレーション実習室に整備導入し、臨床実習前教育に活用している。しかし限られた実習時間内でより多くの学生に実習させるため、高齢者型ロボットを術者が操作するのみで今後教育効果の向上を図る必要がある。本研究では、高齢者型ロボットでの実習において問題思考型の簡易シナリオを導入しその効果について検証を行うことを目的とした。

【材料および方法】

本学歯学部 5 年生に対して「歯科用レーザーを用いた高齢者の齲蝕治療実習」において高齢者型ロボット (SIMROID, モリタ製作所) を使用した実習を行った。上顎前歯部に根面齲蝕付き人工歯を有する顎模型 (HN. C-50, ニッシン) を装着し Er:YAG レーザー (Erwin AdvErL Evo, モリタ製作所, チップ C600F) を使用して齲蝕検知液を併用し齲蝕除去を行う実習である。本実習の問題思考型の簡易シナリオを以下のように構築した。①来院の背景、口腔内状態、検査・診断内容は予めゼミ形式で説明する。②高齢者型ロボット SIMROID に顎模型 HN. C-50 を装着し、C600F チップを装着した Erwin AdvErL Evo で根面齲蝕を除去する。③高齢者 SIMROID の操作は教員が行い、処置開始から 3 分経過後に左手を挙げる操作を行う。学生が挙手に気付けば「口をゆすいでもいいですか。」と発言させる。④学生が挙手に気付かなければ 1 分後にもう一度左手を挙げさせ、さらに気付かない場合は、1 分後に「痛い」と SIMROID に発話させる。⑤終了時に処置中の対応や実習成果についてフィードバックを行う。実習終了後にアンケート調査を行い、本実習システムの効果の検証を行った。

【結果】

学生 31 名から回答を得た。処置時間は平均 16.7 分、染色回数は平均 3.2 回であった。本実習の有効性について「有効と思う」と回答した学生は 61.3%であった。SIMROID の口腔内が患者の口腔内に近いと感じた学生は 64.5%で、SIMROID を用いた本実習が患者への対応の訓練になると回答した学生は 71%であった。診療中の患者の挙手という簡易シナリオを使用することに関しては 81%が有益性が高いと回答した。再度 SIMROID を使用した実習を行いたいと回答した学生は 74%であった。実習中に SIMROID が手を挙げたことに気付いた学生は 57%であった。ほとんどの学生は処置の中断・声掛けを行ったが、そのうち 2 名は「何もしなかった」と回答した。SIMROID の挙手に気付かなかった理由として「処置に夢中になってしまった」が挙げられた。

【考察】

高齢者ロボット SIMROID を使用することによって、マネキンでの実習に比べ、より日常の診療に近い状態での実習が可能である。しかし、医療面接から処置後の説明までを行うと一人当たり多くの時間を費やし、限られた時間内では一部の学生しか本実習を行うことができない。従来の実習では SIMROID の開閉口や顔面の傾き等を術者が操作するのみであったが、今回、診療中の患者の挙手という簡易シナリオを作成し実習に導入したことで、処置中に口腔内以外の患者の挙動に気を配ることの重要性を認識させ、高齢者に対する医療安全確保に対する訓練として有効性が高いことが示唆された。

アメロゲニンと生体活性ガラスを併用した骨組織再生療法の開発

福岡歯科大学口腔治療学講座 歯科保存学分野

○松本典祥, 松崎英津子, 島山純子, 牛尾悟志, 松本和磨, 松雪 稜, 小嶺文誉, 二階堂美咲,
水上正彦, 河村 隼, 泉 利雄, 阿南 壽

Development of bone regeneration therapy by combination of amelogenin and bioactive glass

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College
Noriyoshi Matsumoto, Etsuko Matsuzaki, Junko Hatakeyama, Satoshi Ushio, Kazuma Matsumoto,
○Ryo Matsuyuki, Fumitaka Komine, Misaki Nikaido, Masahiko Minakami, Jun Kawamura,
Toshio Izumi, Hisashi Anan

【目的】

アメロゲニン (AME) はエナメルマトリックスデリバティブ (EMD) の約 90%以上を占める最も豊富な構成物質で、様々な分子量のタンパク質が会合して存在している。また、最近の研究により、AME はエナメル質の形成のみならず、歯周組織においても生理活性を有することが明らかとなっている。

一方、生体活性ガラス (BAG) はハイドロキシアパタイトと同様にリン酸カルシウム系材料の一つである。BAG は生体親和性と硬組織形成促進能を有することから、歯科領域においても骨補填材としての有用性が示唆されている。この BAG を骨組織が再生するための足場 (scaffold) として応用し、歯周組織再生因子である AME と併用することで、より高い骨形成能が得られる可能性が推察される。

そこで今回、AME と BAG の併用による効率的な骨再生療法の開発の可能性について検討するため、ラット頭蓋骨骨欠損モデルを用いて実験を行い、エックス線学および組織学的に解析した。

【対象および方法】

本研究は福岡歯科大学動物実験委員会の許可を得て、動物実験に関する指針を順守して行った (承認番号 15015)。10 週齢の Wistar 系ラットの頭蓋骨に直径 5 mm の骨欠損窩洞を作製した。その後、ラットを 4 群に分け、窩洞に何も入れないコントロール群、AME のみを埋入した AME 群、BAG のみを埋入した BAG 群、AME と BAG を混入した AME+BAG 群をそれぞれ作製した。術直後、術後 2 週、4 週、8 週でマイクロ CT 撮影を行い、エックス線学的に検討すると共に、骨欠損窩洞における水平面での硬組織の割合を定量的に解析した。また、通法に従ってパラフィン包埋薄切標本を作製した後、ヘマトキシリン・エオジン染色およびマッソントリクローム染色を行い、組織学的に観察を行った (各群 n 数=4)。

【結果】

定量的解析の結果、コントロール群では実験期間を通して硬組織形成量の増加は認められなかった。AME 群は経時的に増加傾向を示したが、他の群に対して有意差は認められなかった。BAG 群は実験期間を通してコントロール群に対して有意な硬組織形成量増加を示した。また、AME+BAG 群は術後 4 週目と 8 週目に、コントロール群に対して有意な硬組織形成量増加を示した。しかしながら、実験期間を通じて、AME 群、BAG 群、AME+BAG 群間に有意差は認められなかった。

組織学的解析の結果、コントロール群では実験期間を通して硬組織形成は認められなかった。AME 群では術後 4 週目から骨欠損窩洞内に新生骨と思われる硬組織の形成が観察され、8 週目には厚い層板状の硬組織で骨窩洞が満たされた所見も観察された。BAG 群では術後 4 週目から BAG 粒子周囲に新生骨と思われる硬組織の形成が観察され、8 週目には骨欠損窩洞内に、BAG 粒子を取り込んだ硬組織の形成が島状に観察された。AME+BAG 群では同じく術後 4 週目から BAG 粒子周囲に新生骨と思われる硬組織の形成が観察され、8 週目にはまだ BAG 粒子の残存が認められるものの、厚い線維性の硬組織の形成が観察された。

【考察】

今回、AME と BAG の併用群は、硬組織形成量の定量的解析において有意差は認められなかったものの、AME 群、BAG 群と比較して増加傾向を示した。また、組織学的解析において、8 週目には厚い線維性の硬組織の形成が認められた。一方、AME は骨髄腔の少ない頭蓋骨において硬組織形成量が増加したことから、骨誘導能を有する可能性が示唆され、足場材として BAG を併用した新たな骨組織再生療法の開発に繋がる可能性がある。

BMP 配合アルギン酸ゲルを直接覆髄に用いた場合の硬組織形成

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 歯科保存修復学分野
○横山章人, 山路公造, 塩出信太郎, 大原直子, 松崎久美子, 島田康史, 吉山昌宏

Effects of direct pulp capping on hard tissue formation by using alginate gel containing BMP

Department of Operative Dentistry, Okayama University Graduate School
of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

○YOKOYAMA Akihito, YAMAJI Kozo, SHIODE Shintaro, OHARA Naoko,
MATSUZAKI Kumiko, SHIMADA Yasushi, YOSHIYAMA Masahiro

【目的】

Bone Morphogenetic Protein (BMP) は、硬組織形成に関与するサイトカインと考えられ骨再生や象牙質再生への応用が期待されている。またアルギン酸は創傷被覆材として臨床応用されており、生体親和性が高く組織形成や治癒の可能性が高い材料と考えられる。

本研究の目的は、アルギン酸ゲルを足場として BMP を配合し覆髄材として、直接覆髄に用いた場合の組織反応について検討することである。

【材料および方法】

実験動物は10週齢のWistar系雄性ラットを使用した。覆髄材はアルギン酸ゲルと、これにリコンビナントヒトBMP-2 (R&D Systems) を配合したもの (配合比 0.1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) を用いた。

ラットに全身麻酔を施した後、上顎第一臼歯をラウンドバーにて露髄し、次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水を用いて窩洞を交互洗浄した。アルギン酸ゲルで覆髄した群をAG群、BMP-2配合アルギン酸ゲルで覆髄した群をBMP群とした。スーパーボンド (サンメディカル) を用いて封鎖した。観察期間は1週および4週間とし、観察期間経過後、安楽死させ、上顎骨を一塊として取り出し固定を行った。そして通法に従って組織脱灰、パラフィン包埋を行った。その後組織法本製作後、HE染色を行い、光学顕微鏡を用いて組織学的観察を実施した。

なお、本研究は岡山大学動物実験委員会の承認 (承認番号: OKU-2015107, OKU-2018269) を得て実施された。

【結果と考察】

観察期間1週後は、AG群、BMP群ともに覆髄材が残存して観察された。観察期間4週後ではいずれの群も覆髄材は消失していた。BMP群では、露髄側に硬組織と考えられる組織像が観察された。その形成量はAG群と比較して有意に多く形成されていた ($p < 0.05$)。

これは、覆髄1週間後はまだ覆髄材が残存した状態であり、硬組織形成途中の過程である可能性が考えられる。4週間後では、BMP群、AG群いずれも、アルギン酸ゲルが組織形成の足場となり、組織形成とともに吸収消失された可能性が考えられる。さらにBMP群では、配合したBMP刺激により歯髄細胞から硬組織形成に関与する細胞への分化誘導が促進され、硬組織形成が促された可能性が考えられる。

以上より、本研究で用いたBMP配合アルギン酸ゲルは直接覆髄に有効である可能性が考えられる。

魚由来コラーゲンペプチドによるヒト歯髄由来幹細胞の骨芽細胞分化誘導能の解析

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周歯内治療学分野

○山田 志津香, 山本 耕平, 中園 史子, 杉本 浩司, 松裏 貴史, 柳口 嘉治郎, 吉村 篤利

Analysis of Osteoblast Differentiation Potency of Human Dental Pulp-derived Stem Cell by Fish Collagen Peptides

Department of Periodontology and Endodontology, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○YAMADA Shizuka, YAMAMOTO Kohei, NAKAZONO Ayako, SUGIMOTO Koji, MATSUURA Takashi, YANAGIGUCHI Kajiro, YOSHIMURA Atsutoshi

【緒言】

培養幹細胞を骨芽細胞に分化させるためには、維持培地にデキサメタゾン、 β グリセロリン酸ならびにアスコルビン酸を添加したもので培養するのが一般的である。しかし、これらの培地を作製するには手間がかかる上、一定の品質を保持するためには厳密な操作が必要となる。それを克服するために、既製の培地を購入すると莫大な費用がかかる。

Chao Liu らは、以前、加水分解された魚コラーゲン添加培地により、ラットの骨髄間葉系幹細胞を骨芽細胞に分化させることができることを報告した(Chao Li et al. *Biomacromolecules*, 15(1):436-443, 2014)。我々はこれまでの研究により、マウス頭蓋冠由来前骨芽細胞である MC3T3-E1 細胞を用いて、魚由来コラーゲンペプチド(FCP)がコラーゲンの生理的架橋形成を促すとともに石灰化関連遺伝子の発現を増強することで、細胞分化および石灰化を促進することを証明した(Yamada S et al. *Dent Mater J*, 32(1):88-95, 2013 および Yamada S et al. *Dent Mater J*, 32(2):233-240, 2013)。これらの結果に基づき、今回、FCP を添加した培地を用いてヒト歯髄由来幹細胞(HDPSCs)の骨芽細胞への分化誘導能について生化学的に検討した。

【材料と方法】

本研究では、株式会社ニッピより供与された分子量約 2.8kDa の FCP 粉末を使用した。智歯周囲炎により抜去された第三大臼歯中の歯髄から分離された HDPSCs は、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科の倫理委員会により使用が承認された(許可番号; 1286-8)。まず、HDPSCs を 6well 皿に 5×10^4 個/well 播種後、5%CO₂, 37°C下で 10%FBS 含有 DMEM を用いて培養し、サブコンフルエント後、培地を総濃度 0.2mg/mL FCP と 5mM β グリセロリン酸を添加した 10%FBS 含有 DMEM に交換し上記条件下で培養を行った。FCP 不含の 5mM β グリセロリン酸添加 DMEM で培養した HDPSCs をネガティブコントロールとした。ポジティブコントロールとして、Osteoblast-Inducer (OI) 試薬(TaKaRa Clontech, Japan) を添加した DMEM で HDPSCs の培養を行った。各群の培地は 3 日おきに交換した。培養 28 日目に、ホルマリン溶液で細胞固定後、Alizarin Red S 染色を行った。さらに、von Kossa 染色や Alizarin Red S 染色と異なり、細胞により沈着された石灰化塊中のヒドロキシアパタイト部分に特異的に蛍光染色液が結合することで、高感度に石灰化を評価できる OsteoImage™ Mineralization Assay (Lonza, USA) を用いて、培養 14 日目に上記 3 群の石灰化状況を確認した。各群の検出された相対蛍光強度は、one-way ANOVA により統計学的評価を行った。

【結果とまとめ】

Alizarin Red S 染色では、3 群全てで石灰化塊の形成が認められた。しかし、ポジティブコントロール(OI 試薬添加)群の石灰化塊の形成が最も多くみられ、FCP 添加群、ネガティブコントロール群と続いた。OsteoImage™ Mineralization Assay においても、Alizarin Red S 染色結果同様、OI 試薬添加群が最も高い石灰化度を示し、FCP 添加群、ネガティブコントロール群と続いたが、3 群間に統計学的有意差は認められなかった。我々は、2016 年に開催された IADR PBRG symposium および第 148 回日本歯科保存学会春季大会において、0.2mg/mL FCP は、石灰化関連遺伝子であるアルカリフォスファターゼ、オステオカルシン、RUNX2、ならびにコラーゲン翻訳後修飾酵素であるリシルヒドロキシラーゼ 2 の遺伝子発現を増強させることを報告し、FCP が HDPSCs を骨芽細胞に分化誘導する可能性を示唆した。今回の研究では、さらにタンパクレベルでの骨芽細胞への分化を確認するために Alizarin Red S 染色と OsteoImage™ Mineralization Assay を用いて検討した。その結果、デキサメタゾン、 β グリセロリン酸ならびにアスコルビン酸を含有する OI 試薬よりも劣るものの、低濃度の FCP は幹細胞を骨芽細胞へ分化誘導する能力を有することが実証された。

【謝辞】

この研究の一部は、科学研究費補助金(基盤研究 C, 課題番号: 16K11557)によって実施した。

Oxytocin は TNF- α 刺激ヒト歯髄幹細胞の CXCL10 産生を抑制する

¹⁾ 広島大学大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室

²⁾ 広島大学病院 口腔総合診療科

○熊谷友樹^{1,2)}、進藤 智¹⁾、村本顕至¹⁾、河口浩之²⁾、武田克浩¹⁾、柴 秀樹¹⁾

Oxytocin suppresses CXCL10 production in TNF- α -stimulated human dental pulp stem cells.

¹⁾ Department of Biological Endodontics, Graduate school of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University

²⁾ Department of General Dentistry, Hiroshima University Hospital,

○Tomoki Kumagai^{1,2)}, Satoru Shindo¹⁾, Kenshi Muramoto¹⁾, Hiroyuki Kawaguchi²⁾, Katsuhiko Takeda¹⁾, Hideki Shiba¹⁾

【緒言】

歯髄炎は、主にう蝕原因細菌の侵襲に対する歯髄の生体防御機構が発動することによって惹起される。すなわち、象牙質に侵入した細菌およびその細菌が産生する成分が象牙細管を通じて抗原となり、象牙質近傍の歯髄に分布している樹状細胞やマクロファージなどの免疫担当細胞が活性化されることによって歯髄炎が発症する。さらに、う蝕の進行に伴い、歯髄組織にリンパ球浸潤が顕在化するとともに、歯髄構成細胞である歯髄幹細胞から様々な炎症関連メディエーターが産生されることによって、炎症反応がさらに進展・波及する。CXCL10 は主に Th1 細胞浸潤に関与しているケモカインであり、歯髄炎病変局所において発現していることが報告されている。(Adachi T ら, J Dent Res. 86(12):1217-22. 2007)

Oxytocin は下垂体後葉ホルモンの一つで、視床下部室傍核および視索上核の大細胞性神経分泌ニューロンの細胞体で産生され、下垂体後葉に投射した軸索終末より血中に分泌される。Oxytocin の古典的生理的役割として子宮収縮作用、乳汁分泌作用が知られているが、近年では社会性行動や信頼関係形成にも関与していることが明らかになってきた (Donaldson ら, Science. 322 : 900-904, 2008)。また、鎮痛、抗炎症、ストレス緩和ならびに摂食抑制作用なども有することが示唆されている (Pettersson M ら, Peptides 22: 1479-1484, 2001) (Gutierrez S ら, Anesthesiology 118: 152-159, 2013)。Oxytocin は男性でも普遍的に発現していることが分かっており、骨モデリングを正に調節していることも報告されている (Tamma R ら Proc Natl Acad Sci U S A. 28;106(17) 2009)。血中のオキシトシン濃度については、関節リウマチモデルマウスにおいてその上昇が確認されている (Matsuura T ら, J Neuroendocrinol 27: 636-646 2015)。しかし、Oxytocin が歯髄の炎症に与える影響については明らかになっていない。

本研究では、炎症歯髄組織における Oxytocin の役割を明らかにするために、炎症性サイトカインである TNF- α 刺激ヒト歯髄幹細胞 (HDPSC) における CXCL10 産生に与える Oxytocin の影響をシグナル伝達経路も含めて検討した。

【材料および方法】

ヒト歯髄幹細胞 (HDPSC) は Lonza 社から購入し、10% FBS を含む MEM- α 培地にて培養を行い、実験には 5 から 10 代継代した細胞を供した。Oxytocin 存在下あるいは非存在下で HDPSC を TNF- α で刺激し、CXCL10 産生を ELISA 法にて、細胞内シグナル伝達 (MAPK-p38, ERK, JNK, NF- κ B, Akt) の活性化を western blot 法にて解析した。また、TNF- α 誘導 CXCL10 産生に関与するシグナル伝達経路を解明するためにシグナル伝達阻害物質にて処理後、TNF- α 刺激を行い、CXCL10 産生を ELISA 法にて検討した。

【結果】

Oxytocin は TNF- α 刺激 HDPSC の CXCL10 産生を抑制した。また、MAPK p38, JNK inhibitor, NF- κ B inhibitor および Akt inhibitor は有意に TNF- α が誘導した CXCL10 産生を抑制した。Oxytocin は TNF- α によって活性化された ERK のリン酸化を促進し、MAPK-p38, Akt のリン酸化を抑制した。また、JNK, NF- κ B p-65 のリン酸化には影響を与えなかった。

【考察および結論】

今回の結果から、Oxytocin は MAPK p38, Akt を介するシグナル伝達経路を阻害することによって、TNF- α 刺激 HDPSC の CXCL10 産生を抑制することが明らかとなった。血中に存在する Oxytocin が HDPSC からの CXCL10 産生を抑制することで Th1 細胞の浸潤を制御し、歯髄炎における炎症反応を制御している可能性が示唆された。

血管内皮細胞と共培養されたラット血管内皮細胞および骨髄間葉系幹細胞の
血管新生因子発現に nuclear factor kappa B 抑制が及ぼす影響

東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座歯髓生物学分野¹
新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野²

○Zar Chi Thein Zaw¹、金子友厚¹、Su Yee Myo Zaw¹、Phyo Pyai Sone¹、村野浩気¹、顧彬¹、岡田大和¹、末山有希子²、興地隆史¹

Effect of nuclear factor kappa B inhibition on angiogenic factor expression in rat dental pulp cells and bone marrow stem cells co-cultured with endothelial cells

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

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

○Zar Chi Thein Zaw¹、Tomoatsu KANEKO¹、Su Yee Myo Zaw¹、Phyo Pyai Sone¹、Hiroki MURANO¹、Bin GU¹、Okada YAMATO¹、Yukiko SUEYAMA²、Takashi OKIJI¹。

Introduction: We have previously reported that co-implantation of rat bone marrow mesenchymal stem cells (RBMSCs) and rat dermal microvascular endothelial cells (RDMECs) into pulpotomized pulp chamber of rat molars accelerated the regeneration/healing of the coronal pulp as compared with implantation of RBMSCs alone (1). We have raised a hypothesis that an endothelial cell-stem cell cross-talk involving the NF-κB signaling pathway plays a key role in the accelerated regeneration/healing. To examine this hypothesis, we have conducted a co-culture of stem cells from human exfoliated deciduous teeth (SHED) and human dermal microvascular endothelial cells (HDMECs) and found that co-culture upregulated angiogenic factor expression in both types of cells, and then blockade of NF-κB abolished the upregulation. Although dental pulp cells containing stem cells are one of good sources for tissue regeneration, it is still unclear whether dental pulp cells have a potential to cross-talk with endothelial cells. Thus, to understand the usability of rat incisor dental pulp cells (RIDPCs), we analyzed the effect of NF-κB blockade on angiogenic factor gene expression of RIDPCs co-cultured with RDMECs in comparison with co-culture of RBMSCs and RDMECs.

Materials and Methods: All experiments were conducted under the approval of the Animal Care Committee, Tokyo Medical and Dental University, A2019-193A, and Niigata University, 27-275-6. RIDPCs were isolated from maxillary incisor pulps of 5-week-old female Wistar rats (n=6), and cultured until the fifth passage. RIDPCs or RBMSCs (Lonza) were seeded onto the bottom of 6-well plates (0.1×10^5 cells/ml), and co-cultured with RDMECs (Cell Biologics; 0.1×10^5 cells/ml) seeded onto hanging cell culture inserts (0.4 μm pore size; Merck Millipore) for 4 days in the presence or absence of NF-κB decoy (50 nM, Gene Design). Total RNA was extracted from each cell and microarray analysis (Thermo Fisher Scientific) was performed for NF-κB, Bcl-2 related genes and Gro-alpha (rat CXCL1). Independent experiments of co-culture were conducted twice and data were analyzed using Transcriptome Analysis Console software 4.0 (Thermo Fisher Scientific).

Results: Treatment of the co-culture with NF-κB decoy down-regulated mRNAs for NF-κB, Bcl-2 related genes and Gro-alpha in RDMECs co-cultured with RBMSCs or RIDPCs and RBMSCs co-cultured with RDMECs. However, the NF-κB decoy-induced downregulation was not detected in RIDPCs co-cultured with RDMECs.

Discussion: These present findings suggested that NF-κB-dependent mechanisms are induced mainly by the stem cell-endothelial cell cross-talk and stem cell plays a pivotal role in the up-regulation of angiogenic response through the NF-κB dependent signaling pathway. RIDPCs did not respond to the NF-κB blockade, which could be because RIDPCs contained limited number of cells with stem cell property.

Conclusion: In the RBMSCs/RDMECs co-culture, blockade of NF-κB decreased NF-κB, Bcl-2 related genes and Gro-alpha in both types of cells. In contrast, in the RIDPCs/RDMECs co-culture, blockade of NF-κB did not decrease NF-κB, Bcl-2 related genes and Gro-alpha in RIDPCs.

1. Sueyama Y, Kaneko T, Ito T, Kaneko R, Okiji T. Implantation of endothelial cells with mesenchymal stem cells accelerates dental pulp tissue regeneration/healing in pulpotomized rat molars. *J Endod* 2017; 43: 943-948.

ヒト歯髄細胞における Semaphorin7A の炎症促進機能

広島大学 大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室

○西藤法子, 進藤 智, 平田-土屋志津, 中西 惇, 吉田和真, 武田克浩, 柴 秀樹

The proinflammatory function of Semaphorin7A in human dental pulp cells

Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences,
Hiroshima University

○Noriko Saito, Satoru Shindo, Hirata-Tsuchiya Shizu,
Jun Nakanishi, Kazuma Yoshida, Katsuhiko Takeda, Hideki Shiba

【目的】

齶蝕や歯の破折等が原因で感染が歯髄に波及すると自然免疫と獲得免疫反応によって歯髄に炎症が生じる。歯髄の炎症が可逆性・不可逆性であるかの判断は臨床症状に基づいて行われている。歯髄は歯の寿命に関わるため、臨床症状から可逆性と判断し、歯髄保存を試みる場合があるが、炎症を制御する効果的な治療方法がないため、根尖部歯周組織への炎症の波及を防ぐために抜髄に至る場合がある。そのため、歯髄保存を目的として予知性の高い歯髄保存療法の確立が必要であると考えられる。歯髄組織は歯髄神経細胞、歯髄細胞、血管を含め多様な細胞が存在するため、積極的な炎症制御によって歯髄を除去することなく炎症を収束させることも可能であると考えられる。そこで着目したのが神経軸索ガイダンス因子として同定され、セマドメインを有している Semaphorin7A (Sema7A) である。Sema7A は骨代謝、免疫、癌の形成などへの関与や炎症促進に寄与していること、象牙芽細胞にも発現しているということが現在までに明らかにされている。以上のことから Sema7A に着目した炎症制御による歯髄炎治療法の開発を着想した。本研究では、新たな歯髄保存療法の基礎研究として、ヒト歯髄細胞培養系を用いて、Sema7A の炎症反応における役割を検討した。

【材料と方法】

使用したヒト歯髄細胞は、広島大学病院歯科受診中の患者のうち歯科矯正治療のため便宜的に抜髄した歯の歯髄から採取した (広島大学疫学研究倫理審査承認番号: E-133)。ヒト歯髄細胞は 10%FBS 含有 α MEM 培地、37°C、5% CO₂ の環境下で培養し、実験には 5~10 代継代した細胞を実験に供した。ヒト歯髄細胞を Recombinant Sema7A (rSema7A) で刺激し、歯髄細胞の細胞増殖をクリスタルバイオレット染色、石灰化能を ALP 染色で検討した。また、*in vitro* 歯髄炎モデルとして、不可逆性歯髄炎で産生が上昇するメディエーターの 1 つである TNF- α で刺激した歯髄細胞培養系を用いた。炎症時の Sema7A の効果を検討するため、TNF- α と rSema7A で刺激した歯髄細胞の細胞培養上清中のサイトカインやケモカイン量を ELISA 法で測定した。また、歯髄細胞の TNF- α 受容体と Sema7A の発現、および炎症時の歯髄細胞内シグナル伝達経路を Western Blotting 法で解析した。

【結果】

Sema7A の歯髄細胞の細胞増殖に対しては、Sema7A の刺激後 48 時間において明らかな変化は認められなかった。無刺激状態の歯髄細胞において、TNF- α 受容体と Sema7A の発現を確認した。歯髄細胞を Sema7A で単独刺激した培養上清中には、無刺激と同様に炎症性サイトカインの分泌は認められなかったが、TNF- α と Sema7A で刺激した歯髄細胞の培養上清中の IL-6 と IL-8 量は、TNF- α 単独刺激と比べて増加した。また、Sema7A 存在下では TNF- α 刺激した歯髄細胞の I κ B- α の分解が促進され、ERK のリン酸化を促進する傾向が認められた。

【考察と結論】

歯髄細胞に TNF- α 受容体と Sema7A 自体の発現が認められたこと、および Sema7A 存在下のヒト歯髄細胞培養系において、TNF- α 誘導炎症性サイトカインの分泌量が増加したことから、歯髄炎において Sema7A の炎症促進への関与が考えられた。これらの結果から、Sema7A を標的とした積極的な炎症抑制が、歯髄の炎症の増強の抑制につながる可能性が示唆された。

GSK3 アンタゴニスト (Tidegrusib) による培養歯髄細胞の修復象牙質産生への影響の解明

¹松本歯科大学歯科保存学講座, ²明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野

○増田宜子¹, 横瀬敏志²

The Effect of GSK3 antagonist (Tidegrusib) on the reparative dentin formation of rat cultured dental pulp cells.

¹Department of Endodontology, Matsumoto dental university,

²Division of Endodontics and Operative Dentistry, Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry

○Yoshiko Masuda, Satoshi Yokose

(緒言) 歯髄細胞は様々な薬剤によって象牙芽細胞様細胞に分化し硬組織を産生することが知られている。

アルツハイマー病の治療薬であるタイドグルーシブ(Tideglusib)を用いた覆髄処置である。Tideglusib は、Wnt/ β -catenin Signaling に関与する GSK3 の inhibitor である。Tideglusib をマウスの覆髄剤として用いた In vivo の研究によると歯髄に覆髄剤として貼布すると最も優れた歯科材料である MTA よりも早期に多くの修復象牙質を産生することがわかった。そこでラット培養歯髄細胞に Tideglusib (50nM) を添加する実験を行った。48 時間の培養を 1 クールとした。Tideglusib を 48 時間継続的に添加した場合と 6 時間添加した後 42 時間は添加しない場合とで行い合計 8 クール行った。歯髄細胞の象牙芽細胞様細胞への分化と硬組織産生への影響を調べ第 149 回秋季学会にて Tideglusib を 6 時間添加したものは、48 時間添加したもの、Tideglusib 添加無しのコントロールと比較して ALP 活性が高く Von Kossa 染色にて nodule の形成が多く認められ、osteocalcin 遺伝子の発現が増加することを報告した。

(目的) 今回、6 時間添加したものが ALP 活性が高く Von Kossa 染色にて nodule の形成が多く認められた原因を探るため Wnt/ β -catenin Signaling に関与するリン酸化 β -catenin、 β -catenin の発現を Western blotting にて調べ、*dspp*、*Osteocalcin* 遺伝子の発現を real-time PCR にて調べることにした。

(方法) 動物実験は明海大学ラット下顎切歯の歯髄細胞を採取しコラゲナーゼ、トリプシン酵素、EDTA によって処理した後シャーレに播種し Primary culture を 37 °C、5 %CO₂ にて行った。培地には α -MEM、10% 子牛血清を加えたものを用いた。約 1 週間後にサブコンフルエントに達したら 6-well plate に継代した。2 日後の培地交換から石灰化誘導培地 (アスコルビン酸 50 μ g/ml, β グリセロリン酸 1.5 mM) を添加したものを用いた。48 時間毎に培地を交換した。8 クール行った後、Von Kossa 染色、ALP 染色を行った。6-well plate に継代後 1 クール後の細胞を採取し Western blotting を行った。一次抗体としてウサギ β -catenin 抗体、ウサギリン酸化 β -catenin (Phospho-Ser33) 抗体を用いた。尚、本実験は明海大学歯学部動物実験倫理審査委員会の承認 (承認番号 A1808) を得て実施された。

(結果と考察) Tideglusib を 6 時間添加したものは、48 時間添加したもの、コントロールと比較してリン酸化 β -catenin の発現が少なかった。Dspp 遺伝子の発現は、10 日では 6 時間添加したものが、48 時間添加したもの、コントロールと比較して著しく高かったが、20 日ではコントロールよりも減少していた。Osteocalcin 遺伝子の発現は 10 日では 6 時間添加したものが著しく高く 48 時間添加したものが最も低かった。20 日では 6 時間添加したものが最も低くコントロールが最も高かった。Western blotting の結果は 48 時間添加したものでリン酸化 β -catenin 蛋白の発現が増加していた。

歯髄細胞の象牙芽細胞様細胞への分化や硬組織産生において、Tidegrusib が 6 時間という短い時間で作用することが重要であり継続的に作用すると Wnt/ β -catenin Signaling で β -catenin のリン酸化が促進され分化や石灰化が抑制されてしまうことが示唆された。

ラット象牙芽細胞 (KN-3)における VEGF の石灰化誘導作用

¹徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯科保存学分野、²徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯周歯内治療学分野
○蔵本瞳¹、平尾功治¹、細川由樹¹、武川大輔¹、湯本浩通²、中西正¹

Effect of VEGF on the mineralization of rat odontoblastic cells (KN-3)

¹Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
²Department of Periodontology and Endodontology, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
○Hitomi KURAMOTO¹, Kouji HIRAO¹, Yuki HOSOKAWA¹, Daisuke TAKEGAWA¹,
Hiromichi YUMOTO² and Tadashi NAKANISHI¹

【緒言】

歯髄炎は、主に齶蝕細菌やその構成成分が象牙細管を通じて象牙芽細胞や歯髄細胞を刺激することで惹起され、その発症には自然免疫の関与が示唆されている。歯髄炎が進行すると歯髄組織に不可逆性の変化が生じ、最終的に歯髄除去療法の適応となるが、無髄歯の予後は必ずしも良好ではなく、破折などの転機をたどることも多い。そこで、歯髄保存の観点から新規歯髄保護療法の開発が望まれている。

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)は血管新生に関わる増殖因子として知られており、近年、歯髄幹細胞の活性化や象牙芽細胞への分化に加え、修復象牙質の形成にも関与するという報告がなされている (Zhang J *et al.* Mol Med Rep. 2016)。我々は、本学会 (第 146 回春季学術大会)にて、ポリフェノールの一種でプロポリス生理活性物質である Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)が、ラット象牙芽細胞株 (KN-3)の VEGF 産生を増強することを報告している。しかしながら、KN-3 細胞に対する VEGF の作用については未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、新規歯髄保護療法の開発を目的とし、VEGF が KN-3 細胞の石灰化に及ぼす影響について解析を行った。

【方法】

ラット象牙芽細胞株 (KN-3: 九州歯科大学、北村知昭教授・西原達次教授より恵与)を、非石灰化誘導培地 (10% FBS 添加 α -MEM 培地)にてサブコンフルエントまで培養後、ポリフェノール類 (EGCG、CAPE や Caffeic acid)で処理したのち、real-time PCR 法を用いて VEGF 受容体の mRNA 発現を解析した。さらに、石灰化誘導培地 (2% FBS、10 mM β -glycerophosphate ならびに 50 μ g/ml アスコルビン酸を添加した α -MEM 培地)でも同様に解析を行った。次に、VEGF (100 ng/ml)を添加した石灰化誘導培地にて KN-3 細胞を培養し、10、13、17 日目にアルカリフォスファターゼ (ALP)活性の測定ならびにアリザリンレッド染色を行った。なお、VEGF を添加しない石灰化誘導培地にて培養したものを Control とした。

【結果】

real-time PCR の結果、非石灰化誘導培地と石灰化誘導培地のどちらの培養条件においても、CAPE は KN-3 細胞における VEGFR-1 の発現量に影響を与えなかったが、VEGFR-2 の発現を増加させた。さらに、ALP 活性の測定結果より、培養開始 10 日目、13 日目までは Control 群と VEGF 処理群との間に ALP 活性の変化は認められなかったが、培養開始 17 日目では、VEGF 処理群において ALP 活性は有意に上昇した。また、アリザリンレッド染色においても同様に、10 日目、13 日目までは Control 群と VEGF 処理群との間に変化は認められなかったが、17 日目では、VEGF 処理群において Control 群と比較して強い染色が認められた。

【考察】

KN-3 細胞において、VEGF は ALP 活性の上昇および石灰化ノジュール形成を誘導することが示された。ALP 活性は早期象牙芽細胞の分化マーカーであり (Lee DH *et al.* Cell Biol Toxicol. 2006)、アリザリンレッド染色はカルシウムの沈着を染色することで象牙芽細胞の分化の指標として用いられている (Yeom KH *et al.* Int Endod J. 2016)。したがって、今回の結果は、CAPE によって誘導された VEGF が修復象牙質の形成に関与する可能性を示唆するものである。

セメント芽細胞の細胞分化における TGF- β の影響に関する研究

神奈川歯科大学口腔統合医療学講座¹ 歯髄生物学分野分野² 口腔科学講座

³大阪歯科大学 口腔生理学講座

○¹木庭大槻²渡辺清子³合田征治²浜田信城¹石井信之

The study on the effects of TGF- β on the cell differentiation of cementoblast cells

○¹Koba Taiki²Watanabe Kiyoko³Goda Seiji²Hamada Nobushiro¹Tani-Ishii Nobuyuki

¹Department of Pulp Biology and Endodontics,²Oral Science Kanagawa Dental University

³Department of Oral Physiology, Osaka Dental University

【緒言】

トランスフォーミング増殖因子 β (transforming growth factor- β ; 以下 TGF- β)は、細胞分化、遊走、接着、細胞外基質産生に関与するサイトカインである。歯周組織においては歯槽骨やセメント質中に存在し、歯周組織再生の増殖因子として関与することが報告されている。TGF- β は骨形成において重要な役割を担う増殖因子であるが、TGF- β の骨芽細胞分化への影響は、細胞の種類や BMP2 等の増殖因子の共存によって異なる応答が報告されている。また、ヒト歯根膜細胞では、ALP 活性の上昇と骨芽細胞への分化および石灰化が報告されているが、歯周組織再生における TGF- β の役割の詳細は解明されていない。さらに、セメント芽細胞(HCEM)における TGF- β の役割は明らかになっていない。そこで本研究では TGF- β 1 が、ヒトセメント芽細胞の細胞分化に与える影響を検討した。

【材料および方法】

ヒトセメント芽細胞(HCEM : 広島大学 高田 隆教授より供与)を 10 %添加 α -MEM 培地を用いて 6 穴プレートに播種(5×10^5 cells/well)し、セミコンフルエントになるまで培養後、FBS 濃度を 5% あるいは 2%に規定した。さらに、石灰化培地(50 μ g/ml Ascorbic Acid, 10 mM β -glycerophosphate, および 10^{-8} M Dexamethasone), 5 ng/ml TGF- β 1(Sigma) あるいはその両方を添加し、培養 3 日後、7 日後、ならびに 14 日後のサンプルに ISOGEN (NIPPON GENE) を 1 ml 加え、-80°Cに凍結後、解凍し 27 G 注射針を通し、0.2 ml クロロホルム添加後遠心(12000 rpm, 15min, 4°C)し水層を回収し、0.5 ml イソプロパノールを加え遠心(12000 rpm, 10 min, 4 °C)後、沈殿物に 1 ml 70 % エタノール加え遠心(75000 rpm, 5 min, 4 °C)し、沈殿物を風乾後、DEPEC にて溶解し、Nano Drop を用いて RNA 濃度を測定した。iTaq Universal SYBR Green One-Step Kit (BIO RAD)を用いて、Real Time PCR 法にて石灰化に関与する遺伝子である Alkaline phosphatase (ALP), Bone Shialo Protein(BSP)の発現量を確認した。また、Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を用いて各試料間の標準化をおこなった。

【結果】

セメント芽細胞の細胞分化への影響を TGF- β 1 刺激後、培養 3 日,7 日および 14 日後に RNA を回収し、ALP と BSP の発現を Real Time PCR 法にて測定した。

3 日,7 日および 14 日ですべて未刺激のコントロールよりも TGF- β 1 添加培地において ALP および BSP の発現が有意に高かった。また 3 日,7 日および 14 日ですべて、石灰化添加培地よりも石灰化 + TGF- β 1 添加培地のほうが ALP および BSP の発現が優位に高かった。

【結論】

TGF- β 1 は、セメント芽細胞の分化誘導に促進的に作用することが示された。

CEMP1 遺伝子を発現するヒト歯根膜由来初代培養細胞系の確立

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野

○門倉弘志、山崎崇秀、加藤昌佳、中込 恵、磯 英介、河野宗光、横瀬敏志

Establishment of a primary culture system of human periodontal ligament cells expressing CEMP1

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

○KADOKURA Hiroshi, YAMAZAKI Takahide, KATO Yuka NAKAGOMI Megumi, ISO Eisuke, KAWANO Munemitsu and YOKOSE Satoshi

【目的】根尖部歯周組織の破壊は根尖病変の発生につながり予後不良の場合は抜歯の適応になりうる。根管治療後の根尖部の良好な治癒形式は、根尖孔がセメント質様の硬組織により閉鎖される骨性癒痕治癒と考えられている。しかしながらこの骨性癒痕治癒を根尖孔に促す方法は確立されていない。そこで今回、我々はセメント質様硬組織形成のメカニズムを調べるための一つのツールとしてヒト歯根膜由来培養細胞を用いた細胞実験系の確立を目的として実験を行った。

【材料と方法】本実験は明海大学歯学部倫理審査委員会の承認を受けて行われた (A1616)。ヒト歯根膜 (hPDL) 細胞は、矯正治療目的で抜去された歯周病に罹患していない健全な歯から用意された。抜去歯を PBS にて 3 回洗浄し、歯根部より歯根膜組織を採取し、10% 子牛血清、ペニシリン・ストレプトマイシンを含む α MEM 培養液中に静置し out growth した細胞を継代培養して実験に用いた。これらの細胞を 6 multiple well plate に 10^5 /well で細胞を播種し 10% 子牛血清、ペニシリン・ストレプトマイシンを含む α MEM に 1 mM の β -グリセロリン酸と 50 μ g/ml のアスコルビン酸を添加した分化誘導培地にて培養した。形態学的観察として培養 5、7、14、21 日目の培養細胞のアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色と von Kossa 染色の 2 重染色を行った。分子生物学解析として培養 5、7、14、21 日目のセメント芽細胞の特異的マーカーである *cementum protein 1 (CEMP1)* の遺伝子発現をリアルタイム PCR で解析した。

【結果】形態学的観察では培養 5 日目では ALP 陽性細胞の数は少なかったが、培養 7 日目では ALP 陽性細胞は増加し培養 14 日目、21 日目でも ALP の染色性は認められた。また、培養 14 日目から von Kossa 染色陽性の石灰化結節が認められ、培養 21 日目では石灰化結節の形成は増加した。分子生物学的観察では培養 5 日目から CEMP1 の発現が認められ、培養 7 日目ではその発現は上昇し培養 14 日目でピークを迎えた。一方で培養 21 日目では培養 14 日目に比べ CEMP1 の発現は減少した。

【考察】これらの実験結果を考えると歯根膜組織に存在する幼弱な細胞がセメント芽細胞様細胞に分化しセメント質様組織を形成したことが示唆された。また、培養 14 日目に比較して培養 21 日目の CEMP1 発現の減少についてはさらなる研究が必要と考える。

【結論】本培養系はセメント芽細胞分化とセメント質形成のメカニズムを解析するために有用であることが示唆された。

NF-κB 阻害薬 MTI-II は p65-Smad4 複合体の Smad binding element への結合に関与する

¹広島大学 大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室、²東北大学大学院歯学研究科 歯内歯周治療学分野、

³大阪大学産業科学研究科 生体分子反応科学研究分野、⁴九州歯科大学 口腔保存治療学分野

○平田-土屋志津¹、鈴木茂樹²、岡本一起³、西藤法子¹、山田 聡²、柴 秀樹¹、北村知昭⁴

A Small Nuclear Acidic Protein (MTI-II, Zn2+ Binding Protein, Parathymosin) attenuates TNFα inhibition of BMP-induced osteogenesis by enhancing accessibility of the Smad4-NF-κB p65 complex to Smad binding element

¹Department of Biological Endodontics, Institute of Biomedical & Health Sciences, Hiroshima University

²Department of Periodontology and Endodontology, Tohoku University Graduate School of Dentistry

³Department of Biomolecular Science and Reaction, The Institute of Science and Industrial Research, Osaka University

⁴Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

○HIRATA-TSUCHIYA Shizu¹, SUZUKI Shigeki², OKAMOTO Kazuki³, SAITO Noriko¹,

YAMADA Satoru², SHIBA Hideki¹, KITAMURA Chiaki⁴

【目的】

慢性炎症は様々な疾患の発症・進展に関与し、炎症の持続は組織再生を抑制または遅延させる。根尖の抜いた根管における治療や歯根端切除時の根尖部骨欠損に対して、炎症を制御しつつ再生誘導環境への転換を導く薬剤の開発は、治療の予後予知性を高めることができ有益である。このような背景からこれまでに、炎症反応シグナルである NF-κB 経路と骨誘導シグナルである BMP-Smad 経路の相互作用に着目し、NF-κB サブユニットである p65 が Smad4 と結合することで BMP 経路を抑制していることを明らかにした (*Mol Endocrinol*, 2014)。

ステロイド受容体コアクチベーター Macromolecular Translocation Inhibitor II (MTI-II) は NF-κB 経路を抑制することで、ステロイド剤と同等の抗炎症作用を示す (*Endocrinology*, 2016)。また、TNFα は ascorbic acid および β-glycerophosphate による象牙芽細胞分化を抑制するが、MTI-II および MTI-II 酸性アミノ酸領域を利用したペプチド (MTI-II Peptide Anti-Inflammatory Drug; MPAID、特許番号: 4874798 日本査定済、US 7932226 米国査定済、特願 2014-257827) は、TNFα によるこの抑制を解除する (*J Cell Biochem*, 2016)。さらに、骨芽細胞において MTI-II および MPAID は NF-κB 経路を抑制することで TNFα 依存性炎症性サイトカイン発現を抑制することを報告してきた。そこで本発表では、MTI-II 発現および MPAID 投与が TNFα 存在下で BMP4 誘導性の骨芽細胞分化に与える影響ならびに TNFα 経路と BMP 経路の相互作用に与える影響とその分子メカニズムについて検討した。

【材料と方法】

1. 骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) を BMP4 (10 ng/ml) にて刺激し骨分化誘導を行った。誘導時に MPAID および TNFα (10 ng/ml) を添加し、骨芽細胞分化への MPAID および TNFα の効果を alkaline phosphatase (ALP) 活性および alizarin red S 染色で検討した。2. BMP/Smad の標的遺伝子である *Id1* の promoter 領域にルシフェラーゼ遺伝子を繋いだレポーター遺伝子 (埼玉医科大学 片桐岳信教授より供与) を MC3T3-E1 細胞に遺伝子導入し、MPAID および TNFα が BMP4 依存性 *Id1* 転写活性におよぼす影響を、刺激 12 時間後にルシフェラーゼ活性で定量した。3. MTI-II, Myc-p65 および FLAG-Smad4 を COS-7 細胞に遺伝子導入し、lysate を抗 FLAG 抗体で免疫沈降し、抗 Myc 抗体で検出を行うことで、MTI-II が p65 と Smad4 の直接的結合におよぼす影響を検討した。4. MTI-II を MC3T3-E1 細胞に遺伝子導入した後に BMP4 および TNFα で刺激し、p65 および Smad4 の Smad binding element (SBE) への結合を抗 p65、抗 Smad4 抗体を用いたクロマチン免疫沈降法でそれぞれ検討した。

【結果】

1. BMP4 で分化誘導した MC3T3-E1 細胞を TNFα で刺激することにより、ALP 活性の抑制ならびに alizarin red S 染色の低下を認めたが、MPAID 添加によりこれらは解除された。2. BMP4 で刺激した MC3T3-E1 細胞を TNFα で刺激すると *Id1* 転写活性が著しく抑制されたが、MPAID の添加により転写活性抑制が解除された。3. MTI-II は p65 と Smad4 の乖離を誘導せず、p65 と Smad4 は MTI-II 存在下で直接的に結合していた。4. Smad4 の SBE への結合は TNFα 刺激で抑制されるが、MTI-II 過剰発現により抑制が解除された。さらには、MTI-II を過剰発現することで、p65 の SBE への結合を認めた。

【考察】

MPAID は TNFα による BMP 誘導性骨芽細胞分化の抑制を解除し、MTI-II は p65 と Smad4 の直接的結合に影響することなく、p65 および Smad4 の SBE への結合を促進したことから、MTI-II および MPAID は TNFα 存在下で p65-Smad4 複合体の SBE への結合を誘導し BMP-Smad 経路を強固にすることで、骨芽細胞分化抑制を解除すると示唆される。

【結論】

MTI-II および MPAID は根尖歯周組織に生じた慢性炎症を抑制、かつ骨形成を促進する有用な薬剤となる可能性が示された。

糖尿病モデルラットを用いた修復象牙質形成時におけるマクロファージの挙動と細胞増殖の解析

- 1.新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔健康科学講座 う蝕学分野
 2. 新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野
- 遠間愛子¹、大倉直人¹、吉羽邦彦²、吉羽永子¹、枝直直樹¹、白柏麻里¹、竹内亮祐¹、野杵由一郎¹

Macrophage Behavior and Cell Proliferation analysis during dentinogenesis in Diabetic Model Rats

- 1.Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
 2. Division of Oral Science for Health Promotion, Department of Oral Health and Welfare, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan
- TOHMA Aiko¹, OHKURA Naoto¹, YOSHIBA Kunihiko², YOSHIBA Nagako¹, EDANAMI Naoki¹, SHIRAKASHI Mari¹, TAKEUCHI Ryosuke¹, NOIRI Yuichiro¹

【目的】

糖尿病患者では、マクロファージの食食能低下が免疫機能の低下を誘起し、創傷治癒を遅延させると考えられている。我々は、これまでにストレプトゾトシン (STZ) を用いた糖尿病モデルラットに mineral trioxide aggregate (MTA) 断髄を行った結果、MTA 直下で観察される修復象牙質の形成が阻害されていることを第 149 回日本歯科保存学会秋季大会で報告した。この形成阻害は、マクロファージの免疫機能の低下が関与しているという仮説の下、さらに組織の創傷治癒と密接に関連する細胞増殖にも関連があると考えた。そこで、2つの糖尿病モデルラットを用いて MTA 断髄後の修復象牙質形成過程におけるマクロファージの挙動と細胞増殖の様子を観察し、修復象牙質の形成阻害の起因の一端を解明することを目的とした。

【材料と方法】

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した (承認番号: SA 00066)。8 週齢の Wistar 系雄性ラット (対照群, n=6)、および Wistar 系雄性ラットに STZ (65mg/kg) を尾静脈から投与して作製した糖尿病ラット (8 週齢; STZ 群, n=3) と SDT fatty ラット (肥満 2 型糖尿病モデル; 8 週齢, SDT 群, n=3) を使用した。それぞれのラット群に対して上顎第一臼歯を用いた MTA 断髄後、1 週間目あるいは 2 週間目に灌流固定を行い、上顎骨ごと摘出した。その後 4 週間、EDTA 溶液を用いて脱灰、パラフィン切片作製後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色し、病理組織学的観察を行った。また各種抗体 (CD68:マクロファージマーカー、proliferation cell nuclear antigen [PCNA]と Ki-67: 細胞増殖マーカー)を用いて免疫組織化学的解析を行った。さらに MTA 断髄 1 週間後の STZ 群と対照群における断髄部直下での PCNA 陽性細胞数を計測し、それらの結果を Student の t 検定を用いて定量解析した。

【結果】

病理組織学的観察では、MTA 断髄 1 週間後に、STZ 群では MTA 直下に明らかな修復象牙質形成はみられず、炎症性細胞の浸潤が認められた。一方、対照群では修復象牙質が形成され、その直下に円柱形の象牙芽細胞様細胞層が認められた。また、STZ 群において CD68 陽性細胞が断髄部直下に集積し、それらの一部に Ki-67 陽性反応を認めたが、対照群では CD68 陽性細胞の明らかな集積像は観察されなかった。さらに、PCNA 陽性細胞数の比較解析では、STZ 群において対照群と比較して有意に陽性細胞数が多く観察された。MTA 断髄 2 週間後の SDT 群では、MTA 直下で修復象牙質が形成されず、同部において CD68 陽性細胞の集積を認めた。一方で、対照群では MTA 断髄 1 週間後よりも厚い修復象牙質層の形成を認め、CD68 陽性細胞は減少していた。

【考察】

糖尿病モデルラット STZ 群および SDT 群ともに修復象牙質形成が阻害され、また CD68 陽性のマクロファージが長期にわたって MTA 断髄面に集積して観察され、炎症の持続と治癒遅延が生じていることが推察された。さらに PCNA 陽性細胞数に関しても対照群と比較して有意に多く検出されたことから、組織治癒過程の生体反応の 1 つとして細胞増殖が継続されている可能性が示唆された。

【結論】

STZ 群および SDT 群では修復象牙質の形成が阻害され、さらに STZ 群では、MTA 断髄部直下で CD68 陽性細胞の一部に Ki-67 陽性反応を示した。また、PCNA 陽性細胞数は対照群と比較して STZ 群の断髄部直下で有意に多く観察された。

MTA はマクロファージからの炎症性メディエーター産生を calcineurin/NFAT シグナルを介して抑制する

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

MTA suppresses inflammatory mediator synthesis from macrophages via Calcineurin/NFAT signal

○Masashi Kuramoto, Nobuyuki Kawashima, Kento Tazawa, Keisuke Nara,
Mayuko Fuji, Sonoko Noda, Kentaro Hashimoto, Takashi Okiji
Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

【緒言】

Mineral trioxide aggregate (MTA) はポルトランドセメント由来のケイ酸三カルシウム、ケイ酸二カルシウムを主成分とする覆髄材で、直接覆髄において良好な臨床成績を示している。しかしながら、炎症歯髄の MTA に対する応答については知見に乏しい。我々は第 145, 146 回本学会において、マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 における Lipopolysaccharide (LPS) 刺激による炎症性メディエーター産生を MTA が抑制すること、炎症性メディエーター産生の抑制には MTA から放出されるカルシウムイオンおよび RAW264.7 上の Calcium-sensing receptor (CaSR) が関与していることを報告した。今回、炎症性メディエーター産生の抑制に関与するシグナルカスケードの詳細について検討したので報告する。

【材料および方法】

MTA 抽出液は ProRoot MTA (MTA、デンツプライシロナ) を使用し、直径 7.0 mm、高さ 4.0 mm のプラスチックチューブに練和した MTA を充填後、硬化した MTA を 10 mL の DMEM に浸漬、24 時間振盪後ろ過滅菌を行い、MTA 抽出液とした。

1. メディエーター発現解析: RAW264.7 (理研 BRC) は、24 時間の血清不含培地での培養 (starvation) 後、LPS (100 ng/ml) あるいは LPS および MTA 抽出液を添加した。抽出した RNA より cDNA を作製した後、*Interleukin 1a (IL-1a)* および *IL-6* の mRNA 発現について特異的プライマーを用いたリアルタイム PCR にて解析した。

2. カルシニューリン (Calcineurin: CN) /Nuclear factor of activated T-cells (NFAT) シグナル解析: CN/NFAT シグナルの阻害薬として Cyclosporin A (CsA, 1 μ M) を、促進剤として Phorbol myristate acetate (PMA, 50 ng/ml) +Ionomycin (3 μ M) を使用した。NFAT 転写活性は NFAT 結合領域をプロモーターに挿入したルシフェラーゼレポーターベクター-pGL3-NFAT (Addgene) にて測定した。CaSR アンタゴニストとして NPS2143 (5 μ M) を使用した。

3. *Early growth response 2 (Egr2)*、*Suppressor of cytokine signaling 3 (Socs3)*、*IL-10* mRNA 発現解析: RAW264.7 に MTA 抽出液を添加後、経時的に RNA を抽出し、*Egr2*、*Socs3*、*IL-10* の mRNA 発現をリアルタイム PCR にて解析した。

4. mEgr2 強制発現: RAW264.7 mRNA より作製した cDNA よりストップコドンを除いた mEgr2 ORF 全長を PCR にて増幅し、Gateway エントリーベクター (pENTR D-TOPO) に挿入後、タンパク発現ベクター (pEF Dest51) に組換え、pEF-Egr2 を作製した。pEF-Egr2 を FuGENE® HD Transfection Reagent にて RAW264.7 にトランスフェクションし、mEgr2 の強制発現を誘導した後、LPS 刺激し炎症性メディエーターおよび *Socs3*、*IL-10* の mRNA 発現をリアルタイム PCR にて解析した。

【結果および考察】

LPS 刺激によって亢進した炎症性メディエーター (*IL-1a*、*IL-6*) mRNA 産生は MTA によって抑制され、その抑制効果は CsA 添加によって解除された。また NFAT 転写活性は MTA により亢進し、NPS2143 および CsA の添加によって抑制された。すなわち、MTA の抗炎症作用は CaSR 下流で活性化される CN/NFAT シグナルが関与している可能性が示唆された。MTA 添加により *Egr2*、*IL-10*、*Socs3* の mRNA 発現が増加した。また、*Egr2* の強制発現は LPS によって亢進した炎症性メディエーター産生を抑制し、*IL-10*、*Socs3* の発現を誘導した。*Egr2* は CN/NFAT シグナル下流で発現誘導される遺伝子であり、*IL-10*、*Socs3* の発現誘導を介して MTA の抗炎症作用に関与している可能性が高いことが明らかになった。

【結論】

MTA は RAW264.7 細胞において LPS 刺激により誘導される炎症性メディエーター産生を抑制するが、その抑制は calcineurin/NFAT シグナルが関与している。calcineurin/NFAT シグナル下流の *Egr2* は、*IL-10*、*Socs3* を誘導し、炎症性メディエーター産生を抑制する。