

根尖狭窄部を有する樹脂製根管模型上におけるエンドモーター駆動時の根管長測定精度

日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座

○関谷 美貴, 五十嵐 勝

The Accuracy of the Apex Locator Connected to the Endodontic Motor on Plastic Root Canal Model with Apical Constriction

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

○Miki SEKIYA, Masaru IGARASHI

【はじめに】

根管処置において apical limit を根尖狭窄部に設定するには、根管長測定を正確に行う必要がある。近年、ニッケルチタン製ファイルのエンジン駆動時に電氣的根管長測定器を連動させ、根管内のファイル先端位置を視覚的に確認しながら拡大形成を行うシステムが発表された。そこでは、ファイル先端が作業長基準点に到達すると自動的に停止または逆回転するため、過剰な拡大を防止し、根管長を測定しながら根管形成が終了することとなる。今回われわれは、根尖狭窄部を有する透明樹脂製根管模型を作製し、エンドモーター駆動時の根管長測定精度を評価した。

【材料と方法】

研究のために作製した根管模型は、高さ 14.5 mm のブロックで、解剖学的根尖孔を想定して基底面に $\phi 0.2$ mm の開孔部がある。基底面から根管内方 1 mm に $\phi 0.15$ mm の根尖狭窄部があり、歯冠側の根管は 0.02 テーパーが付与されている (※1)。すべての根管模型は、#10 のステンレススチール製手用 K ファイル (以下 SS-K file, READYTEEL フレクソファイル, ※2) を用いてネゴシエーションを行った。電氣的根管長測定器間に電流が流れる回路を確立した模型スタンド (※1) のラバーコネクター内に導電性ペースト (NP-1, ニッシン) を満たし、模型スタンドに根管模型を植立させた。電氣的根管長測定器 (Propex IQ, ※2) と連動させた X-Smart IQ (※2) を用いて、根管内に 3 種の根管洗浄液: ①0.9% 生理食塩液 (以下 NaCl, テルモ)、②3% 次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (以下 NaClO, クロロシッド J, ※3)、③18% EDTA (ウルトラデント EDTA18%, ※3) のいずれかを満たした状態で根管形成を行った。根管形成法は、A 群: シングルファイルシステム WaveOne Gold (※2)、B 群: マルチファイルシステム ProTaper Gold (※2)、C 群: SS-K file とした。A 群と B 群は X-Smart IQ にプログラム化されたファイルシークエンスに従いメーカー指定の操作法で、C 群はターンアンドプルで、以下の使用手順により各 25 サイズまで 6 本ずつランダムに根管形成を行った。

A 群: WaveOne Gold Glider (#15, 0.06) → WaveOne Gold primary (#25, 0.07)

B 群: ProGlider (#16, 0.02) → ProTaper Gold [S1 (#18, 0.02) → S2 (#20, 0.04) → F1 (#20, 0.07) → F2 (#25, 0.08)]

C 群: #15 SS-K file → #20 SS-K file → #25 SS-K file

各群のファイル先端がメーター上の作業長基準点に到達した位置でラバーストッパーを固定し、ファイル先端からラバーストッパーまでの距離を作業長とした。各根管模型と最終拡大ファイルをスキャナー (解像度: 720dpi, GT-X970, EPSON) で撮影し、画像処理ソフト (Photoshop CC, Adobe Creative Cloud) を用いて、根管長から作業長を引いた値をファイル先端から基底面までの距離として測定した。測定値は、統計処理ソフト (IBM SPSS Statistics 25, IBM) を用いて Kruskal-Wallis 検定で統計学的分析を行った。

【結果と考察】

各根管洗浄液における測定値は、3% NaClO 浴下で最もファイル間に差がなく、かつファイル先端位置が根尖狭窄部に近かった。また、各ファイルにおける測定値は、WaveOne Gold 群で最もバラツキが小さく安定した値が得られた。一方、ProTaper Gold 群と SS-K file 群では、0.9% NaCl と 18% EDTA 浴下でファイル先端位置が根尖狭窄部より 0.5 mm 程度基底面寄りであった。これらの違いについて、電氣的根管長測定における ± 0.5 mm の測定誤差は許容範囲であり、またすべての条件下でファイルが基底面から突き出した例はなかった。以上から、本研究で用いた根管長測定機能連動エンドモーターの精度は、測定値の誤差を許容できる位置に作業長基準点が設定されており、ファイルの種類やシステム、根管内容液に大きな影響を受けず、臨床上前問題なく使用できることが示された。

※1: ホクシンエレクトロニクス ※2: Dentsply Sirona, Switzerland ※3: ウルトラデントジャパン

直接覆髄後の歯髄組織における M2 マクロファージの集簇

¹九州大学 大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、²九州大学病院 歯内治療科、

³九州大学 大学院歯学研究院 OBT 研究センター

○門脇正敬¹、吉田晋一郎²、糸山知宏²、友清淳²、濱野さゆり^{1,3}、長谷川大学²、杉井英樹¹、前田英史^{1,2}

The accumulation of M2 macrophages in dental pulp tissue after direct pulp capping.

¹ Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ² Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, ³ OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu

University

○Masataka Kadowaki¹, Shinichiro Yoshida², Tomohiro Itoyama², Atsushi Tomokiyo², Sayuri Hamano^{1,3}, Daigaku Hasegawa², Hideki Sugii¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【研究目的】

抗炎症性サイトカインや成長因子を産生する M2 マクロファージは、皮膚や骨等の様々な組織の修復・再生に関与することが報告されている。一方、歯科領域においては、MTA 断髄後の歯髄組織において M2 マクロファージが集簇することが報告がされている (Takei et al., 2014) が、直接覆髄後の修復象牙質形成に及ぼす影響については十分な解明がされていない。そこで本研究では、直接覆髄後の歯髄組織における M2 マクロファージの集簇について検討することとした。

【材料および方法】

Wistar ラット (8 週齢、雄性) の上顎左側第一臼歯の近心隅角を点状露髄させて、MTA セメント (ProRoot MTA, Dentsply Sirona) を用いて直接覆髄を行った。1, 2, 3, 5, 7, 14 日後の歯髄組織における M2 マクロファージの発現について、M2 マクロファージ関連因子として代表的な CD206 を標的として、ウサギ抗 CD206 抗体 (Abcam) を用いた免疫組織化学的染色法により検討した。直接覆髄処置を行っていない健常歯髄組織を比較対照群として用いた。本実験は九州大学動物実験委員会の承認 (承認番号: A20-210-0) の下で行った。

【結果】

免疫組織化学的染色の結果、健常歯髄組織においては歯髄組織全体に CD206 陽性細胞が点在していた。一方、直接覆髄 1 日後では、露髄部近傍の歯髄組織において CD206 陽性細胞が増加していた。2 日後の露髄部近傍の歯髄組織における CD206 陽性細胞は、術後 1 日と比較して増加し、集簇した像が確認された。3, 5 日後の歯髄組織における CD206 陽性細胞数は術後 2 日と比較して変化は認められず、高い集簇性を示した。修復象牙質形成が開始した術後 7 日目には、露髄面直下の歯髄組織に CD206 陽性細胞の集簇が認められるようになった。さらに、修復象牙質形成が完了した 14 日後の歯髄組織においては、CD206 陽性細胞の集簇は減少し、健常歯髄組織と同程度の発現を示した。

【考察】

これまでに M2 マクロファージは、断髄 3 日後の歯髄組織において細胞数が増加し、14 日後には正常歯髄組織と同等の局在を示すことが報告されている (Ito et al., 2017, Takei et al., 2014)。本研究においても M2 マクロファージは、直接覆髄後の治癒が進むにつれて歯髄組織において集簇し、修復象牙質形成が開始する時期においては露髄面直下の歯髄組織においても細胞数の増加が認められ、修復象牙質形成が完了した歯髄組織においては健常側と同程度の局在を示したことから、M2 マクロファージが直接覆髄後の修復象牙質形成に関与している可能性が示唆された。

【結論】

直接覆髄後の歯髄組織において M2 マクロファージが集簇する。

高速上下運動コントラハンドピースを応用した根管治療

鶴見大学歯学部 歯内療法学講座¹⁾、医療法人松伯会 フラワーロード歯科²⁾
○吉田拓正¹⁾、宮本永浩¹⁾、鈴木計芳^{1,2)}、埜口五十雄^{1,2)}、田井康晴¹⁾、小野 京¹⁾、
山本祐子¹⁾、山崎泰志¹⁾、細矢哲康¹⁾

Root canal treatment using a contra-angle handpiece device with piston movement

Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine¹⁾, Flower Road Dental Clinic²⁾
○YOSHIDA Takumasa¹⁾, MIYAMOTO Nagahiro¹⁾, SUZUKI Kazuyoshi^{1,2)}, NOGUCHI Isoo^{1,2)}, TAI Yasuharu¹⁾,
ONO Miyako¹⁾, YAMAMOTO Yuko¹⁾, YAMAZAKI Yasushi¹⁾, HOSOYA Noriyasu¹⁾

【緒 言】

根管の穿通ならびに拡大形成は、手動あるいは機械的に根管切削器具を回転運動させて行われることが多い。手動で行う処置は、これまで患者に長時間の開口状態を強いていたが、NiTi ロータリーファイルの普及に伴って治療に要する時間は大きく短縮された。しかし回転運動による切削は、根管内での器具破折や歯根の微小亀裂などの偶発事故の危険に常にさらされている。今回、根管切削器具を高速で上下運動するコントラハンドピース（以下上下運動コントラ）を開発したので、実際に臨床に応用した症例に関して報告する。

【症 例】

今回は、地域医療機関と本学附属病院で行われた 9 症例について報告する。いずれも歯髄炎あるいは根尖性歯周炎と診断された症例である。

- <症例 1> 下顎右側第二大臼歯：70 歳、男性、狭窄傾向の強い未通の遠心根管（吉田拓正 / 本学附属病院）
- <症例 2> 上顎左側第二小臼歯：41 歳、男性、歯科恐怖症で短時間の治療が必要な患者（吉田拓正 / 本学附属病院）
- <症例 3> 下顎左側第一大臼歯：43 歳、女性、狭窄傾向の強い未通の近心根管（吉田拓正 / 本学附属病院）
- <症例 4> 下顎左側第一大臼歯：70 歳、女性、近遠心的に扁平傾向の強い遠心根管（宮本永浩 / 本学附属病院）
- <症例 5> 下顎左側第二大臼歯：55 歳、女性、湾曲傾向の強い近心根管（藤井 優 / 藤井歯科医院）
- <症例 6> 下顎左側第一大臼歯：79 歳、男性、狭窄傾向の強い 4 根管（内木唯詞 / ないき歯科クリニック）
- <症例 7> 下顎右側第一大臼歯：71 歳、男性、湾曲傾向の強い根管（尾島裕美子 / 志木おじま歯科）
- <症例 8> 下顎右側第二大臼歯：64 歳、女性、近遠心的に扁平傾向が強く太い遠心根管（笠村 / 笠村歯科）
- <症例 9> 上顎左側第一小臼歯：55 歳、男性、近遠心的に扁平傾向の強い単根管（丸山治子 / 国領歯科医院）

【考 察】

上下運動コントラは、2018 年に PMDA の認証（No.230ALBZX00028000）を受けた器材で、手用あるいは機械式根管切削器具が装着可能である。振幅は 1.35mm で基本的には 5,000 往復/分で根管拡大形成に使用するが、狭窄根管などに対しての穿通性も認められる。これまで、熟練を要した狭窄ならびに石灰化した根管に対する処置も、EDTA 溶液との併用により優れた有効性が認められた。特に、楕円あるいは扁平な根管に対する処置に優れており、根管の水平的形態を維持しつつ全周ファイリングが可能である。また、イスムスやフィンの処置にも極めて有効である。我々の研究では、NiTi ロータリーファイルと同等あるいはそれ以上の所要時間の短縮が認められた。さらに、回転運動に起因した根管壁の微小な凹凸が解消されることで清掃効果の向上が推測されるとともに、多くの術者が述べているように、根管充填時にガッタパーチャポイントの挿入が非常にスムーズである点は特筆できる。上下運動コントラでは、基本的には H ファイルの使用を推奨しているが、複数歯への使用でもピッチの伸びや短縮は全く認められず、回転運動に起因する根管内での器具破折の危険も大幅に減少できる。高速での上下運動から生じる振動や騒音に関しては、当初の予想に反して患者の反応は極めて良好で、強い自発痛や打診痛がない限りは疼痛に関する問題も生じることはないと考えている。

【結 論】

高速上下運動コントラハンドピースを根管治療に応用した 9 症例では、根管拡大形成において優れた効果が認められ、治療時間の短縮や偶発事故の防止にも有効であった。さらに患者の反応も良好であったことから、本器材の臨床的有効性が示唆された。

キャナルス®ペーストのユージノール放出量の検討

¹北海道大学大学院歯学研究院歯周・歯内療法学教室, ²北海道医療大学歯学部口腔機能修復・再建学系
歯周歯内治療学分野, ³北海道大学病院口腔総合治療部

○宮治裕史¹, 金本佑生実¹, 菅谷 勉¹, 薮 佳奈子², 田中佐織^{1,3}

Release assessment of eugenol containing canals® paste.

¹Department of Periodontology and Endodontology, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University, ²Division of Periodontology and Endodontology, Department of Oral Rehabilitation School of Dentistry, Health Sciences University of Hokkaido, ³Division of General Dentistry Center for Dental Clinics, Hokkaido University Hospital
○MIYAJI Hirofumi¹, KANEMOTO Yukimi¹, SUGAYA Tsutomu¹, SHITOMI Kanako², TANAKA Saori³.

【研究目的】

根管充填シーラーは、根管充填時に根尖部歯周組織に接触するため、優れた生体親和性を有することが望まれる。本年7月、酸化亜鉛またはユージノールを主成分とする2ペーストタイプの根管充填シーラーであるキャナルス®ペースト (CaNP) が上市された。我々は第151回日本歯科保存学会秋季学術大会において、CaNPの細胞親和性が、粉液タイプのキャナルス® (CaN) やニシカキャナルシーラー®ユージノール系ノーマルE-N (NS) より優れることを報告した。過去の研究において、CaNの細胞毒性発現は主成分のユージノール残留に起因することが報告されている(1)ことから、本研究ではCaNPからのユージノール放出量を測定し、CaNおよびNSと比較検討した。

【材料と方法】

被験根管充填シーラーとして、CaNP (昭和薬品化工)、CaN (昭和薬品化工)、NS (日本歯科薬品) の3種類を用いた。各シーラーを練和後、ステンレス製リング (φ10mm×1mm) に填入し、37°C、95%湿度で0、3、72時間静置した3条件の試料を作製した (N=6)。次に各試料を20mLの蒸留水に浸漬し、37°Cのウォーターバスにて保温した。1、3、7、14日後に蒸留水中に放出されたユージノール量を282nmの吸光度を用いて計測した。

【結果と考察】

各シーラー試料のユージノール放出量を図に示す。各試料とも1日後からユージノールが検出され、経時的に増加する傾向を示した。0時間 (填入直後) および3時間試料では、CaNのユージノール放出量はCaNPおよびNSの約1.5倍であり、有意差を認めた。72時間試料においてCaNのユージノールの放出量は減少したものの、CaNPおよびNSに比較して有意に多かった。練和後72時間では各シーラーとも硬化していることから、CaNは硬化に関与しない未反応のユージノールを多く含有し、細胞毒性を発現したと考えられた。一方で、NSのユージノール放出量はいずれもCaNPと同程度であったことから、NSの細胞毒性はユージノール以外の基材成分が関与した可能性が考えられた。

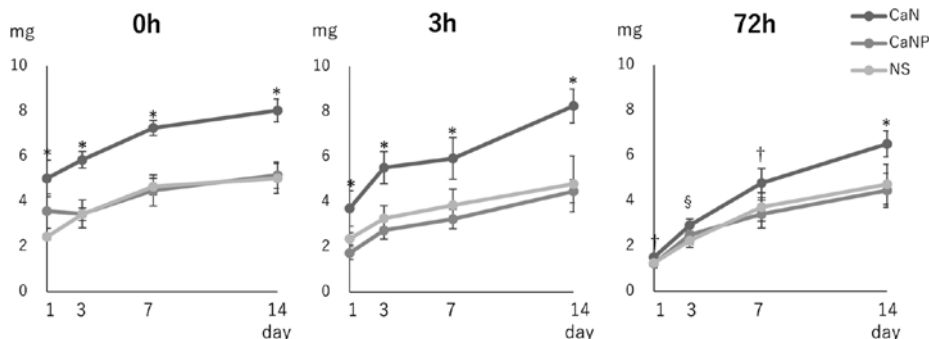


Fig. Eugenol release of different sealers. *, P<0.01, †, P<0.05, vs CaNP & NS, §, P<0.05, vs NS.

【結論】

CaNTのユージノール放出量はCaNより少なく、NSと同程度であった。

参考文献 (1) 荒木ら, 口病誌, 59, P701, 1992.

マウス歯髄血管再生療法の治癒過程における組織学的検討

東京歯科大学保存修復学講座

○駒田 朋昭、三友 啓介、村松 敬

Healing process of pulp revascularization therapy in mice

Department of Operative Dentistry, Cariology and Pulp Biology, Tokyo Dental College

○Tomoaki Komada, Keisuke Mitomo, Takashi Muramatsu

【目的】

根未完成歯に対する歯内療法として近年、歯髄血管再生療法（パルプ・リバスキラリゼーション）が行われるようになった。この療法の治癒形態としては組織学的に根管内への血管侵入、根尖部や根管壁へのセメント質添加が報告されている。しかしながら、治癒過程に関与する細胞群の由来、分化過程は具体的にまだ解明されていない。そこで本研究では、より詳細な経日的な治癒過程を明らかにするために、マウスによる歯髄血管再生療法の実験モデルを確立し、治癒過程における血管新生と硬組織形成を組織学的に検討することとした。

【材料および方法】

本研究は東京歯科大学動物実験委員会の承認を得て行った（承認番号：202302）。生後6週 of C57BL/6 雄性マウス(33匹)に対して、三種混合麻酔薬(MMB)にて腹腔内注射後、マウス開口器により開口状態を保持した。右側上顎第一臼歯(M1)に対してカーバイドバー(ZIPPERER 社)を用いて近心から露髄させ、直下の冠部歯髄を除去し、その後、近心根管に対して実体顕微鏡下に6号と8号のKファイルによる機械的清掃、また同根管を次亜塩素酸ナトリウム溶液とEDTAを用いて洗浄し化学的に清掃した。その後、8号のKファイルを近心根管内経由でアプローチして根尖孔外から出血させ、根管口部で滅菌ペーパーポイントを用いて止血、血餅を形成させた。次に血餅上部をMTAセメント(Bio MTAセメント、MORITA 社)で被覆し、さらにその上部および周囲をグラスアイオノマーセメント(Fuji IX GP、GC 社)で封鎖した。対照群は反対側の左側上顎第一臼歯(無処置)とした。術後7、14日にマウスを4%パラホルムアルデヒド溶液(pH7.4)にて灌流固定し、上顎骨を採取し、同固定液で24時間浸漬固定を行った。10% EDTAで1週間、4℃で脱灰後、パラフィン包埋し、厚さ5 μmのパラフィン切片標本を作製し、通法に従ってH-E染色を行い、万能写真顕微鏡(UPM Axiophoto2、Zeiss 社)で観察、撮影した。

【結果および考察】

術後7日目の近心根管内には血餅はみられず、紡錘形や多数の突起を有した線維芽細胞と拡張した毛細血管からなる幼若な肉芽組織が浮腫状を呈して充満している像が観察された。またマクロファージ様細胞も散見された。術後14日目の近心根管内は拡張した毛細血管や細胞成分に富んだ密な線維性結合組織の形成がみられ、根尖部付近では無構造様の壊死物質やその石灰化を思わせる像がみられたが、明らかな硬組織形成はみられなかった。これまで歯髄血管再生療法の動物実験は多くの場合、イスを用いて行われ、組織学的に根管内にセメント質形成がみられることが報告されている。近年ではマウスを用いた方法がXuら(J Endod 2016)によって報告され、根尖部根管内に石灰化物の形成がみられるとされているが、詳細な経日的組織学的変化の検討は行われていない。今回の実験結果からは組織学的には明らかな血管新生を伴った肉芽組織の形成がみられ、セメント質様の硬組織形成はみられなかったものの根尖部付近に石灰化物の形成を思わせる像がみられた点はマウスを用いた歯髄血管再生療法の治癒過程における組織学的検討が可能になると考えられた。

今後、詳細な組織学的検討をするために、術後の短期間ならびに長期間での追跡日数において血管形成と硬組織形成の検討を行い、マウス実験モデルを確立し、さらに治癒過程に関与する細胞のプロファイルを免疫組織化学染色等含めて検討する予定である。

専門外来へ紹介された要根管治療歯における垂直性歯根破折の頻度とその特定法

1) 昭和大学歯学部 歯科保存学講座 歯内治療学部門
2) 東北大学大学院歯学研究科 エコロジー歯学講座 歯科保存学分野
○戸部拓馬¹⁾ 八幡祥生²⁾ 馬場 聖¹⁾ 大田千明¹⁾
浦羽真太郎¹⁾ 高林正行¹⁾ 鈴木規元¹⁾

The Frequency and Diagnostic Methods of Vertical Root Fracture Referred to Specialized Outpatient

1) Division of Endodontology, Department of Conservative Dentistry, Showa University School of Dentistry
2) Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry
○Takuma Tobe¹⁾ Yoshio Yahata²⁾ Satoru Baba¹⁾ Chiaki Ota¹⁾ Shintaro Uraba¹⁾ Masayuki Takabayashi¹⁾ Noriyuki Suzuki¹⁾

【緒言】

近年、保存の可否の精査を含む根管治療を目的とした、昭和大学歯科病院歯内治療科への近隣歯科医院および院内他科からの診療依頼は増加傾向にある。一方で、歯科医師から専門外来における精査が必要と判断された歯が、実際にどの程度根管治療の適応となるのか、または垂直性歯根破折(以下 VRF)により抜歯の適応となるのかについては不明である。また VRF については、好発部位や特徴所見を調査する研究が主であり、臨床における VRF の同定方法に着目した研究は少ない。

【目的】

本研究は、昭和大学歯科病院歯内治療科へ依頼を受けた歯の経過を後方視的に調査し、VRF の頻度および同定に至るプロセスを明らかにすることを目的とした。

【方法】

本研究は昭和大学歯科病院の臨床試験審査委員会による承認を受けて行った(DH2018-034)。2017年2月1日から3月31日までの間に、根管治療を目的に昭和大学歯科病院歯内治療科を初回来院した患者症例のうち、他歯科医師からの依頼により受診した患者症例を対象とした。調査項目は主訴、現病歴、依頼元、臨床症状(自発痛・咬合痛・打診痛・根尖部圧痛・腫脹・瘻孔の有無)および歯髄診、歯周ポケット検査およびエックス線検査とし、2020年3月31日までを観察期間とした。なお抜歯の適応と判断された場合には上記の調査項目に加えその理由を、また VRF を認めた場合には、破折の位置や同定方法も調査対象とした。

また臨床症状、歯髄診、歯周ポケット検査およびエックス線検査の調査項目を説明変数に、VRF の有無を目的変数とし、二項ロジスティック回帰分析を行った($\alpha=0.05$)。統計解析には SPSS Statistics 26.0 を用いた。

【結果】

本研究にて調査対象となった患者の総数は 344 名だった。そのうちドロップアウトは 19 名であり、最終的に 325 名の患者から 412 歯が対象となった。

抜歯の適応と判断されたものは 91 歯 (22.1%) で、そのうち VRF は 45 歯 (10.9%) を占めた。VRF と判断された 45 歯のうち、根管内側から破折を同定した症例は 32 歯 (71.1%) だった。また、同定方法は歯科用実体顕微鏡が最も多く (34 歯, 75.6%)、次いで肉眼 (5 歯, 11.1%)、歯科用コーンビーム CT (4 歯, 8.9%)、デンタルエックス線検査または外科的診断(それぞれ 1 歯, 2.2%) の順だった。破折線の垂直的位置は歯根上部が 29 歯 (64.4%)、歯根中央部が 26 歯 (57.8%)、歯根下部が 17 歯 (37.8%) だった。また歯冠に破折線が認められたものは 7 歯 (15.6%) だった。破折線の水平的位置は頬唇側が 21 歯 (46.7%)、舌口蓋側が 19 歯 (42.2%)、遠心側が 14 歯 (31.1%)、近心側が 12 歯 (26.7%) だった。

二項ロジスティック回帰分析の結果、VRF 検出についての ROC 曲線から得られた AUC 値は 0.795 だった。自発痛・打診痛・根尖部圧痛・瘻孔の有無よりも、咬合痛・歯髄の生活性・腫脹・4mm 以上の歯周ポケットの有無の方が、有意な関連因子となった ($P<0.05$)。

【考察と結論】

専門外来へ依頼された歯のうち、抜歯の適応となったものは全体の 2 割を超えており、その約半数で VRF を認めた。二項ロジスティック回帰分析の結果から、術前の検査により VRF をある程度予測可能なことが示唆された。一方で、VRF の同定は 7 割以上が歯科用実体顕微鏡下で行われたことから、VRF の確定診断には専門的な器具機材を使用できる環境での介入が有効であることが示唆された。

加熱によるペーストタイプシーラーの理工学的性質の影響

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 歯髄生物学分野
○高野晃, 渡辺聡, 山内慎也, 興地隆史

Effect of heating on the physical properties of paste-type root canal sealers

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of
Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○KOUNO Akira, WATANABE Satoshi, YAMAUCHI Shinya, OKIJI Takashi

【諸言】

加熱ガッタパーチャ充填法においては加熱によるシーラー物性の変化が生じるという報告がある。従来の粉液混和とともにペーストタイプのシーラー製品が普及しつつあるが、加熱時の物性変化に関する知見は少ない。そこで本研究は、熱が各種ペーストタイプのシーラーの物性に及ぼす影響の検討を目的とした。

【材料および方法】

ペーストタイプの酸化亜鉛ユージオール系シーラーであるキャナルスペースト (CP: 昭和薬品化工) とニシカキャナルシーラーE-N (CSE: 日本歯科薬品)、エポキシレジン系ペーストタイプシーラーであるAH Plus (AH: デンツプライシロナ)、バイオガラス配合ペーストタイプシーラーのニシカキャナルシーラーBG (BG: 日本歯科薬品)、および粉液タイプの酸化亜鉛ユージオール系シーラーであるキャナルス (C: 昭和薬品化工) を被験材料とし、37℃および100℃条件下において硬化時間、フロー、被膜厚さを ISO6876:2012 に準じて測定した。同温度実験群には Kruskal-Wallis test または一元配置分散分析、post hoc test として Tukey 検定を、異なる温度間の比較には t-test を使用し統計解析した ($p < 0.05$)。

【結果】

硬化時間において、100℃環境では 37℃環境下と比較してすべてのペーストタイプシーラーは有意に硬化時間が短縮した ($p < 0.05$) もの、ISO 基準 (30 分<) に適合していた。フローについては、37℃環境下において CP は他の被験シーラーより有意に高値であり ($p < 0.05$)、また 100℃環境下では 37℃環境下と比較して、BG では有意に減少したが CSE, C では有意に増加した ($p < 0.05$)。被膜厚さにおいて、100℃環境下では 37℃環境下と比較して AH および BG で有意に増加したものの ($p < 0.05$)、すべてのシーラーは ISO 基準 ($< 50 \mu\text{m}$) に適合していた。

【考察】

加熱ガッタパーチャ充填法を行う際に使用する器材は 200℃前後での使用が推奨されているが、過去の研究において実際の温度は 200℃まで到達せず、約 100℃程度であったと報告されており、本研究では 100℃ 1 分間を加熱条件と設定した。加熱ガッタパーチャ充填法の際には、加熱時にシーラーの組成や硬化時間、流動性などの物性が変化すると報告があり、硬化時間の短縮は熱による化学反応や重合反応の促進によるものと考えられる。加熱によるフローの減少や被膜厚さの増加も、主として熱による硬化反応の促進に関連すると考えられるが、本研究では酸化亜鉛ユージオール系シーラーでこれらの変化が少ない傾向が示された。臨床においてはシーラーの選択に際し留意が必要である。

【結論】

本実験条件下では、加熱により全てのペーストタイプシーラーで硬化時間が短縮するとともに、酸化亜鉛ユージオール系以外のシーラーでフローの減少や被膜厚さの増加が生じた。

Mineral Trioxide Aggregate の硬組織形成作用におけるサイトカインの影響

鶴見大学歯学部歯内療法学講座

○服部 環、細矢哲康

Effects of cytokines on hard tissue formation of Mineral Trioxide Aggregate

Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine

○HATTORI Tamaki, HOSOYA Noriyasu

【目 的】

Mineral Trioxide Aggregate (MTA) は、穿孔封鎖、覆髄、逆根管充填などの様々な用途に適用されており、本邦でも直接覆髄材として薬機承認を得ている。すでに MTA に関しては世界的に数多くの研究が行われており、硬組織形成促進作用に関しても良好な報告が認められる。本研究では、さらに詳細な硬組織形成作用に関する調査として、硬組織形成を制御する重要な因子として考えられるサイトカインの影響を分析するために、Transforming growth factor- β (TGF- β) ならびに Bone morphogenetic protein (BMP) の効果に関してブタ歯髄細胞を用いて *in vitro* で検討した。

【材料および方法】

<試 料>

被験試料とした MTA (ProRoot® MTA, Dentsply Sirona)は、製造元の指示に従って蒸留水と混合し、シリコン製の型枠を用いて直径 10mm、厚さ 1.8mm のディスク状に成型した (MTA ディスク)。24 時間後、10% FBS 1% PS 含有 α -MEM に 3 時間浸漬して研究に供した。

<細胞培養>

不透明な MTA ディスク上での歯髄細胞の動向を観察するために、ブタ歯髄組織から分離して作製した不死化細胞 (PPU-7)に、赤色蛍光タンパク質遺伝子 DsRed を遺伝子導入した蛍光発色ブタ歯髄細胞 (PPU-7DsR)を作製し、10%FBS 1%PS 含有 α -MEM にて培養した。

6 well プレート各 well 内に置いた MTA ディスク上に、内径 6mm のシリンダーを静置し、シリンダー内に PPU-7DsR を播種し、1 時間後にシリンダーを取り除き 24 時間培養した。その後、各 well を TGF- β 群, BMP 群, TGF- β シグナル阻害剤 (SB431542)を添加した SB 群, BMP シグナル阻害剤 (LDN-193189) を添加した LDN 群, 10% FBS 1% PS 含有 α -MEM のみのネガティブコントロール群、石灰化誘導培地のコントロール群の 6 群に調整した。

(1) 細胞増殖の観察

上記方法にて培養し、培養 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14 日目に蛍光顕微鏡 (Biozero BZ-8000series, KEYENCE)にて観察し MTA ディスクを含めて撮影した。撮影画像の蛍光強度を、Image J を用いて数値化し細胞数を測定した。

(2) 遺伝子発現の解析

培養 14 日で total RNA を回収し、RT-PCR 法にて遺伝子発現の解析を行った。

(3) 統計分析

Steel 法による多重比較検定を行った ($p < 0.05$)

【結 果】

- (1) 培養 2 日目までは各群における増殖傾向に差は認められなかったが、TGF- β 添加群において 3~6 日目で蛍光強度が上昇し 6 日目を以降は低下した。BMP と LDN 群では、コントロールと同様に 3 日目を以降は緩やかに蛍光強度が上昇した。また SB 添加群では、3 日目を以降も変化はなかった。
- (2) TGF- β 群は、コントロールと比べ MAPT/TAU, DSPPv1 の発現が有意に高かった。SB 群はコントロールに比べ DSPPv1, MMP-11 の発現が有意に低かった。

【結 論】

本研究の結果から、TGF- β が MTA の硬組織形成促進作用を増強させることが示唆された。

支台築造用材料および根管充填用シーラーが根管深部の材料界面に与える影響

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

○三浦弘喜, 吉居慎二, 藤元政考, 鷺尾絢子, 諸富孝彦, 北村知昭

Effects of Abutment Construction Materials and Root Canal Sealers on the Material-Interface in the Deep Area of Root Canal

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

○MIURA Hiroki, YOSHII Shinji, FUJIMOTO Masataka, WASHIO Ayako, MOROTOMI Takahiko, KITAMURA Chiaki

【目的】支台築造体と根管充填材の界面は封鎖性や材料一体化を維持する上で重要である。ファイバーポストとコンポジットレジン（築造用レジン）による支台築造システムでは根管深部における築造用レジンの重合にファイバーポストの光透過性が影響するという報告がある。一方、近年の根管充填材は主役がガッタパーチャポイントからレジン系やバイオセラミックス系の根管充填用シーラー（根管用シーラー）へと移りつつある。今回、歯内治療後の根管を構成する築造用材料と根管充填材の関係を明らかにすることを目的に、ファイバーポスト光透過性と築造用レジンの重合状態、及び築造用レジンと根管用シーラーの界面における接着状態を評価した。

【材料と方法】[使用材料]ファイバーポストと築造用レジンそれぞれ i-TFC ルミナスファイバー/光重合型の i-TFC ルミナスコア LC フロー (Sun Medical), GC ファイバーポスト/デュアルキュア型の GC ユニフィルコア EM (GC), FibreKor Post/Build-It FR (PENTRON) を使用した。根管用シーラーはバイオセラミックス系のニシカキャナルシーラー BG (CS-BG, 日本歯科薬品), レジン系の Meta Seal soft (Sun Medical), ユージノール系のニシカキャナルシーラー E-N (CS-E-N, 日本歯科薬品) を使用した。[ファイバーポスト光透過性]各ファイバーポスト歯冠側から光照射器 (Radii Plus, SDI) にて光照射を行いファイバーポスト根尖側の光透過量 (単位: counts) をマルチチャンネル分光器 (FLAME-S-XR1-ES, Ocean Optics) を用いて測定した。[築造用レジンの重合状態]規格根管ポストモデル内でのファイバーポストを介した各築造用レジンの重量を光照射 (30 sec) 前後で比較分析した。[根管材料間の界面評価]ディスク状に硬化した根管用シーラー上に配置した規格根管ポストモデルに築造用レジン充填・ファイバーポスト挿入し直上より光照射 (30 sec) して 1 週間係留した後、万能試験機 (AGS-H, Shimadzu Corp) を用いクロスヘッドスピード 1.0 mm/min にてせん断強さを測定した。得られた結果は一元配置分散分析により統計処理を行なった ($p < 0.05$)。材料間の接着界面は走査型電子顕微鏡 (SEM; JCM-7000, JEOL Ltd.) を用いて観察した。

【結果】[ファイバーポストの光透過性]ファイバーポスト根尖側における光透過量は i-TFC ルミナスファイバーが他に比べ有意に高い数値 (5195 counts) を示し、FibreKor Post はほとんど光を透過しなかった (381 counts)。[築造用レジンの重量変化]光透過性の高いファイバーポストを併用した光重合型レジンではデュアルキュア型レジンと同等かそれより少ない重量変化率を示した。[築造用レジンと根管用シーラーの界面]せん断接着強さ測定ではどの築造システムにおいても Meta seal soft 群と CS-BG 群では接着しており、Meta Seal soft 群は有意に高いせん断接着強さを示した。一方、CS-E-N 群では接着していなかった。せん断試験で接着が認められた Meta seal soft 群と CS-BG 群の接着断面における SEM 観察では全ての支台築造システムとの間で接着層が認められた。

【考察】今回、ファイバーポストの光透過性と築造用レジンの重合状態は支台築造システムにより大きく異なること、根管用シーラーに対する接着評価ではデュアルキュア型築造用レジンによる支台築造システムと同等の接着強さを光透過性の高いファイバーポストと光重合型築造用レジンによる支台築造システムは示すこと、ファイバーポスト先端部の築造用レジンレジン系シーラーおよびバイオセラミックス系シーラーと接着するがユージノール系シーラーとは接着しないことが示された。以上の結果は、支台築造用材料の特性と根管用シーラーの種類は歯内治療後の根管封鎖性や材料の一体化の維持に影響することを示唆している。

【結論】支台築造用材料（ファイバーポストと築造用レジン）の特性と根管用シーラーの種類は根管内における材料間の界面状態に影響する。

マイクロスコープ臨床実習における2年間の教育方法の比較検討

朝日大学歯学部口腔機能修復学講座歯科保存学分野歯内療法学

○小島莉里, 木方一貴, 田中雅士, 赤堀裕樹, 長谷川智哉, 堺 ちなみ, 三上恵理子, 加藤友也,
瀧谷佳晃, 河野 哲

Comparative study of teaching methods for two years in microscope training for clinical trainees

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

○KOBATA Riri, KIHOKAZUKI, TANAKA Masashi, AKAHORI Hiroki, HASEGAWA Tomoya,
SAKAI Chinami, MIKAMI Eriko, KATO Tomoya, TAKITANI Yoshiaki, and KAWANO Satoshi

【目 的】

朝日大学歯学部では2018年度より保存科臨床実習中の5学年学生に対し、マイクロスコープを使用した体験実習(以下マイクロ実習)を実施している。本研究では、2年度にわたりそれぞれ異なる方法で実習を行い、学修効果に及ぼす影響を比較検討したので報告する。

【方 法】

マイクロ実習は5学年学生の保存科臨床実習生の希望者(2018年度23名, 2019年度27名)に対して実施した。顎模型に装着した上顎左側第一小臼歯の模型歯を用いて実習を行った。2018年度はまずインストラクターが瞳孔間距離、視度の調整方法、および焦点距離や倍率の調整方法を口頭にて説明を行い、模型歯の口蓋側根管口に最大倍率で焦点を合わせるまでの時間の計測を行った。その後、インストラクターによる焦点距離、倍率の調整方法、ミラーとレストの位置およびポジショニングなどのデモンストレーションならびにトレーニングを行い、再び同じ操作に要する時間を計測した。2019年度は、簡単な操作方法を記した教材で事前学修を促した後に前年と同様の計測を行った。次に学生10人程度でグループワークを行わせ、再び同じ操作に要する時間を計測した。その後、インストラクターによるデモンストレーションならびにトレーニング実施後にも計測した。なお、比較のためマイクロスコープ使用歴5年以上のインストラクターも同様の計測を行った。以上の計測した時間を比較検討しMann-WhitneyのU検定を用いて統計処理を行なった。

【結果および考察】

計測した結果をTable 1に示す。

Table 1 Results of focus times

	Methods	Focus time (Sec): Median (25%, 75%)
2018	After oral explanation	213.0 (128.0, 372.0)
	After demonstration and training	85.0 (57.5, 99.0)
2019	Previous learning	367.0 (186.5, 620.0)
	After group discussion	63.0 (38.0, 87.5)
	After demonstration and training	42.0 (35.0, 50.0)
Instructor		33.0 (28.5, 37.0)

事前学修、グループワーク後にデモンストレーションを行った後の結果が最も短く、インストラクターの結果と有意差は認められなかった。2018年度のデモンストレーション後の結果と2019年度のグループワーク後の結果は同程度であり、インストラクターの計測時間とは有意差を認めた。以上の結果より、グループワークとデモンストレーションで得られる学修効果は高く、また、それらを組み合わせることにより、更なる学修成果が得られることが明らかとなった。

キャナルス®ペーストの操作性評価とフローに関する検討

株式会社ジーシー 研究所

○小野 一弘, 三谷 将弘, 伏島 歩登志

Field evaluation and flow adjustment of canals®paste.

R&D Department, GC Corporation.

○ONO Kazuhiro, MITANI Nobuhiro, FUSEJIMA Futoshi

【研究目的】

根管充填シーラーは、練和開始から根管充填終了まで、術者が望む適度なフローを有することが望まれる。また、近年 ISO13485⁽¹⁾要求事項にユーザビリティが追加され、製品開発での操作性評価は必要不可欠なものとなってきた。我々は本年 7 月、酸化亜鉛またはユージノールを主成分とする 2 ペーストタイプの根管充填シーラーであるキャナルス®ペーストを開発した。開発中に、臨床家による操作性評価結果とペーストのフローとの関係について、知見を得たので報告する。

【材料と方法】

被験根管充填シーラーとして、キャナルス®ペースト（昭和薬品化工）を用いた。操作性評価は 2018 年 7 月と 2020 年 5 月の 2 回実施した。1 回目の調査対象が一般開業歯科医 33 名、2 回目 17 名で、1 回目の調査項目は容器チューブからの押し出し性、ペーストのかたさ・やわらかさ、練和しやすさ、ガッタパーチャポイントへの付着性、の 4 項目だった。評価方法は良い 5 点、やや良い 4 点、普通 3 点、やや悪い 2 点、悪い 1 点とし、合計得点から調査対象者の数を割った点数で 3.0 以上を適、3.0 未満を不適とした。なお、2 回目の調査は 1 回目の調査対象者の意見から、ペーストのかたさ・やわらかさの評価については「丁度良い」か「良くない」の 2 段階とし、A 材と B 材に分けて行った。チューブからの押し出し性の評価についても A 材と B 材に分けて行った。A 材と B 材のペーストのかたさに違いがあり、特に A 材がかたく押し出し性が悪いのが原因と考えられたため、フロー値を指標として改良を行った。フロー試験は ISO6876 Dentistry-Root canal sealing materials :2012 の 5.2 Flow⁽²⁾ を準用して行った。

【結果と考察】

操作性評価とフローの結果を表に示す。A 材を調製する練合機をより攪拌能力の高いものに変更し、製造条件を見直すことで、ペーストをやわらかくすることに成功し、A 材のフロー値は 11.8 mm から 16.9 mm に上昇した。このことにより、チューブからの押し出し性とガッタパーチャポイントへの付着性の評価に改善がみられた。A 材がやわらかくなって、B 材との練和性が良くなり、ガッタパーチャポイントへの付着性が改善されたと考えられる。

Table. The results of field evaluation and flow test of canals® paste

Field evaluation	Extrudability from the tube	The hardness and softness of the paste	Ease of kneading	Adhesion to gutta-percha points	Flow value of material A
1st evaluation (judgment)	2.8(nonconformity)	4.1(fit)	4.6(fit)	4.0(fit)	11.8 mm
2nd evaluation (judgment)	A 材 : 3.5(fit) B 材 : 4.2(fit)	Material A : just right 12/not good 5(fit) Material B : just right 10/not good 7(fit)	4.7(fit)	4.6(fit)	16.9 mm

【結論】

臨床家による操作性評価を行い、チューブからの押し出し性の改善にフロー値の評価を基にした工程設計が有効であった。

参考文献

(1)ISO13485, Medical devices, Quality management systems-Requirements for regulatory purposes :2016.

(2) ISO6876, Dentistry-Root canal sealing materials :2012.

Nd:YAG レーザーとレスベラトロールを用いた *Enterococcus faecalis* に対する光線力学療法の抗菌効果について

松本歯科大学¹ 歯科保存学講座, ² 口腔細菌学講座

○水谷莉紗¹, 三好弥恵¹, 宮國 茜¹, 中村圭吾¹, 岩崎拓也¹, 吉田明弘², 増田宜子¹

Photodynamic Therapy with Resveratrol and Nd:YAG Laser for Elimination of *Enterococcus faecalis*

¹Department of Operative Dentistry, Endodontology and Periodontology, ²Department of Oral Microbiology,
Matsumoto Dental University

○Risa Mizutani¹, Yae Miyoshi¹, Akane Miyakuni¹, Keigo Nakamura¹, Takuya Iwasaki¹,
Akihiro Yoshida², Yoshiko Masuda¹

レスベラトロールは赤ワインに多く含まれているポリフェノールである。レスベラトロールは DNA の修復、アポトーシス、代謝、炎症などの生物学的なプロセスを調整し、カロリー制限同様に健康を増進させることが知られている。近年レスベラトロールの歯髄幹細胞に対する抗炎症作用も報告されている (Feng-Ming Wang et al., Arch Oral Biol, 97: 116-121, 2019)。

【目的】*Enterococcus faecalis* は、難治性根尖性歯周炎症例でしばしば認められるグラム陽性菌である。今回、Nd:YAG レーザーを用いた光線力学療法において光増感剤として赤ワイン中のレスベラトロールを用いて *E. faecalis* の抗菌効果を解析した。

【材料と方法】*E. faecalis* (Amerikan Type Culture Collection BAA-2128™) とレスベラトロールを用い薬剤感受性試験 (希釈法) を行った。*E. faecalis* を BHI 培地 5 ml に 37℃にて 24 時間培養し MacFarland 比濁法によって 0.2 に調整した。レスベラトロールの溶媒として赤ワインを用いた。赤ワインにレスベラトロール (100 mM, 22.8 mg/ml) を添加した液 200 μ l を 1.5 ml のマイクロチューブに入れレーザーを照射した。

実験群①赤ワインのみ, ②赤ワインに Nd:YAG レーザーを 140 mJ/pulse, 10HZ, 1.4 W, 1 分間照射, ③赤ワインに 20 μ l のレスベラトロール (100 mM, 22.8 mg/ml) を添加し Nd:YAG レーザーを 140 mJ/pulse, 10 HZ, 1.4 W, 1 分間照射。レーザーの波長は 1064 nm で Fiber の直径は 0.4 mm を用いた。チューブの底から 6 mm の距離から菌液中に照射した。

これら菌液を用い希釈法にて抗菌力を評価した。2 倍希釈系列の①～③の薬剤を含む液体培地に *E. faecalis* (3×10^8 個/ml の菌液 8 μ l) を接種し、培養後、完全に発育が阻止された最小の濃度 (最小発育阻止濃度, MIC) を調べた。

さらに液体培地で培養した細菌の発育が認められなかった試験管から、それぞれの菌液を抗菌薬の入っていない BHI 寒天培地プレートに培養し細菌の発育が認められない最大希釈濃度 (最小殺菌濃度, MBC) を調べた。

【結果】実験群の MIC は①570 μ g/ml, ②570 μ g/ml, ③142.5 μ g/ml であった。MBC は①2280 μ g/ml, ②1520 μ g/ml, ③1368 μ g/ml であった。

レスベラトロールを添加しレーザーを照射すると抗菌効果が増加した。

【考察および結論】MIC と MBC の値が離れていることよりレスベラトロールは *E. faecalis* に対して静菌的に作用することが示唆された。以上の結果から根管洗浄の補助療法としてレスベラトロールを用いた光線力学療法の有効性が示唆された。

新規 Bioactive glass 配合セメントと既存の逆根管充填材との比較

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

²九州歯科大学健康増進学講座分子情報生化学分野

○村田一将¹, 鷺尾絢子¹, 古株彰一郎², Thira Rojasawasthien², 諸富孝彦¹, 北村知昭¹

The Comparison between Newly Bioactive Glass Cement and Existing Retro-Filling Materials

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,

²Division of Molecular Signaling and Biochemistry, Department of Health Improvement,
Kyushu Dental University

○MURATA Kazumasa¹, WASHIO Ayako¹, KOKABU Shoichiro², Thira Rojasawasthien², MOROTOMI Takahiko¹,
KITAMURA Chiaki¹

【目的】

近年の歯内療法領域の発展に寄与した技術革新のひとつである MTA (Mineral Trioxide Aggregate) を逆根管充填材として応用することによる優秀な臨床成績が数多く報告されており, その特性やメカニズム解析に関する研究が進められている. 一方で, 操作性の問題や長い硬化時間, 硬化時に十分な水分を必要とするなど, MTA には臨床上の課題もある. これまでに我々は, 企業との共同研究により根管用シーラーであるニシカキャナルシーラー-BG (以下, CS-BG, 日本歯科薬品) を開発・商品化した. 我々は, CS-BG の良好な特性を逆根管充填材へ応用することを目的に, CS-BG と混合することで充填物の粘稠性・硬化速度を変化させることのできる Bioactive glass 配合粉末(開発コード: NSY-224)を開発した. 今回, CS-BG に任意の割合で NSY-224 を練和した新規 Bioactive glass 配合セメント (CS-BG+NSY-224) の物理化学的特性および生体親和性を既存の逆根管充填材と比較検討した.

【材料と方法】

CS-BG の重量に対して NSY-224 を 0, 20, 40, および 60wt% の割合で練和し CS-BG+NSY-224 を作製した. 比較対照として逆根管充填材として実績のある White ProRoot® MTA (以下, MTA, DENTSPLY Tulsa Dental) および SuperEBA® (以下, EBA, Bosworth) を用いた. <物理化学的特性の評価> CS-BG+NSY-224 の物理化学的特性について, 表面性状, pH 変化, 耐 wash out, JIS の規格に基づいて硬化時間, ちょう度, 溶解度 (崩壊性), X 線造影性を検討した. MTA および EBA の物理化学的特性については, 表面性状, pH 変化, 硬化時間, 溶解度 (崩壊性), X 線造影性を検討した. <生体親和性の評価> ヒトセメント芽細胞 (HCEMs, 広島大学 高田 隆 教授 (現徳山大学学長) より供与) を Transwell の下層 well に播種・培養後, 各練和物を充填した insert を挿入した. 共培養後, トリパンプルー染色, ALP 染色, ALP 活性, およびアリザリンレッド S 染色の測定により, 細胞の生存, 分化に対する影響を評価した.

【結果】

<物理化学的特性> CS-BG+NSY-224 および MTA の表面には網状の結晶構造が析出しているのが観察されたが, EBA の表面には結晶構造の析出物は観察されなかった. pH 変化の測定では, 浸漬後 7 日目で CS-BG+NSY-224 は pH11.3, MTA は pH11.7, EBA は pH8.1 であった. 硬化時間は, CS-BG+NSY-224 (60wt%) は 8 分, MTA は 10 分, EBA は 1 分であった. 浸漬期間を通して CS-BG+NSY-224 および EBA の溶解率は 1%未満であったが, MTA の溶解率は 2.4%であった. また, CS-BG に対する NSY-224 の割合が大きいほど X 線造影性は低下したが, MTA や EBA の X 線造影性とは同程度であった.

<生体親和性> トリパンプルー染色, ALP 染色, ALP 活性, およびアリザリンレッド S 染色において, CS-BG+NSY-224 群では NSY-224 の混合割合による有意な差は認められなかった. 一方, 既存材料と比較したところ, 細胞生存数については CS-BG+NSY-224 群は EBA 群と比べて有意に高値を示し, MTA 群よりも高値を示す傾向が認められた. また, ALP 活性については群間で有意差はないものの MTA 群は他群よりも低値を示す傾向にあった.

【考察】

CS-BG+NSY-224 は CS-BG の基本的性質を維持していること, 既存材料と比較しても生体親和性に優れていることが明らかになり, 逆根管充填材として適切な物理化学的特性および生体親和性を有することが示唆された. また, MTA 群で見られた細胞生存数の低下は MTA の高い溶解率が要因であることが示唆された.

【結論】

新規 Bioactive glass 配合セメントは, 逆根管充填用バイオマテリアルとして有用である.

ニッケルチタン製ロータリーファイルによる根管形成で生じる応力に及ぼす 各種回転様式の影響

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 歯髄生物学分野
○大森智史, 牧圭一郎, 木村俊介, 中務太郎, 雲野颯, 西条美紀, 海老原新, 興地隆史

Effect of various rotational modes on the stress generation during nickel-titanium rotary root canal instrumentation

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

○OMORI Satoshi, MAKI Keiichiro, KIMURA Shunsuke, NAKATSUKASA Taro, UNNO Hayate,
NISHIJO Miki, EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

【目的】ニッケルチタン製ロータリーファイル (以下「NiTi ファイル」) を用いた根管形成中に生じる応力を軽減させ、ねじり破折のリスクを低下させることを意図して、正逆回転を組み合わせた回転様式が開発されている。Optimum Torque Reverse (OTR) モーションは、この種の回転様式の一種として TriAuto ZX2 (モリタ) に搭載されており、規定値以上のトルクを感知した際に 90° 逆回転し、その後はトルクに関わらず 180° 正回転を行う設計となっている。しかしながら、いかなる回転様式が有用であるかについては検討の余地が残されている。そこで本研究は、切削角度の異なる往復回転、OTR モーション、あるいは連続回転で NiTi ファイルを用いて根管形成を行い、形成中に生じる応力について評価することを目的とした。

【材料および方法】作業長 14 mm の直線透明根管模型 (END3L001, ニッシン) に対し、ProTaper SX (Dentsply Sirona) を用いて根管上部形成を行ったのち、手用ステンレススチール製 K ファイル (Zipperer) #10, 15 にてグライドパス形成後、改造した TriAuto mini (モリタ) と自作型自動根管形成・荷重/トルク解析装置 (以下「根管形成装置」) を用い、Vortex Blue (#20/0.04 taper, Dentsply Sirona) にて作業長まで形成した。その後、JIZAI (#25/0.06 taper, マニー) を根管形成装置に装着し、回転数を 300 rpm とし、2 秒間根尖側方向、1 秒間歯冠側方向に秒速 50 mm で上下動を繰り返すよう設定して作業長まで形成した。この際、回転様式を正回転 (以下「CW」) 150°, 逆回転 (以下「CCW」) 30° の往復回転 (以下「R1」), CW270°, CCW120° の往復回転 (以下「R2」), 連続正回転 (以下「CR」), OTR モーションの 4 群とし、各群 10 根管形成した。なお、NiTi ファイルはすべて単回使用とし、形成中に破折やレジン形成が生じた場合は、新しいファイルおよび根管模型と交換し、実験群より除外した。根管形成中は、根管内を RC-Prep™ (Premier, USA) で満たし、適宜蒸留水 1 ml にて洗浄、K ファイル #10 にて穿通確認を行った。荷重/トルク解析装置にて根管形成中の垂直荷重 (根尖方向、歯冠方向) とトルク (正回転方向、逆回転方向) の最大値を求めた。得られたデータを Kruskal-Wallis 検定および Dunn 検定を用いて有意水準 5 % で統計学的解析を行った。

【結果】OTR モーションは R1, R2 と比較し歯冠方向の垂直荷重、正回転方向のトルクで有意に小さな値を示した ($p < 0.05$)。また R1, R2, CR 間では、両方向の垂直荷重、正回転方向のトルクで有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。形成中に破折やレジン形成は認められなかった。

【考察】OTR モーションでは R1, R2 と比較し、歯冠方向の垂直荷重、正回転方向のトルクの低下を認めたことから、screw in force が減少していると考えられる。一方で R1, R2 は CR と比較し、screw in force の発生には違いが生じていないことが示された。OTR モーションでは往復回転と違い、トルクがかかった時に逆回転するため、過剰な食い込みが効果的に抑制され、screw in force が低下したと考えられる。

【結論】本実験条件下では、OTR モーションを用いることで往復回転と比較して、有意に screw in force の発生が抑制されることが示唆された。

Biphasic calcium phosphate cement の物質特性に関する基礎的研究

— 逆根管充填材として応用した際の辺縁封鎖性について —

日本大学歯学部歯科保存学第Ⅱ講座¹, 歯科理工学講座², 歯科補綴学第Ⅰ講座³,
日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門⁴, 生体工学研究部門⁵, 顎口腔機能研究部門⁶,
日本大学歯学部⁷, 菅原歯科⁸
○中村健志¹, 林 誠^{1,4}, 鈴木裕介^{1,4}, 安川拓也^{1,4}, 遠山由理香¹,
菅原明喜^{7,8}, 掛谷昌宏^{2,5}, 伊藤智加^{3,6}, 武市収^{1,4}

A study of material properties for biphasic calcium phosphate cement

— Marginal sealing ability for retrofilling material —

Departments of Endodontics¹, Dental Materials², Complete Denture Prosthodontics³,
Divisions of Advanced Dental Treatment⁴, Biomaterials Science⁵, and Oral and Craniomaxillofacial Research⁶,
Nihon University School of Dentistry⁷, and Sugawara Dental Clinic⁸
○Takeshi Nakamura¹, Makoto Hayashi^{1,4}, Yusuke Suzuki^{1,4}, Takuya Yasukawa^{1,4}, Toyama Yurika¹,
Akiyoshi Sugawara^{7,8}, Masahiro Kakutani^{2,5}, Tomoka Ito^{3,6}, Osamu Takeichi^{1,4}

【研究目的】

骨補填材として広く利用されているリン酸カルシウムセメント (calcium phosphate cement : CPC) は2種類以上のリン酸カルシウムおよびカルシウム化合物の powder からなり, 水分の介在により hydroxyapatite (HA) を生成することで知られている。CPC の powder は用途に合わせて各成分の粒径や配合比を調整し粉砕・混合するため粒度分布は多峰性となり, 材料学的特性に影響を及ぼしやすくなる。そのため, 均一で安定した powder を得ることは高コストにつながる事が指摘されてきた。近年, powder の粒子中に α -tricalcium phosphate (α -TCP) と tetracalcium phosphate (TTCP) が分子レベルで均一に分散し, 単峰性粒度分布を示す均一二相性の特徴を持ち, liquid は酸性に調節されたリン酸カルシウム溶液 (calcium phosphate solution : Ca-P soln) から構成される biphasic calcium phosphate (BCP) cement が新たに開発された。

本研究の目的は, BCP cement の歯内療法用セメントとしての可能性について検討することを目的とし, 逆根管充填材として応用した際の辺縁封鎖性について解析した。なお, 本研究は日本大学歯学部倫理委員会の承認 (許可番号 EP17D013-5) を得て行った。

【材料および方法】

供試材料として使用した BCP cement は歯内療法用セメントとしての操作性を考え, powder は α -TCP と TTCP (Ca/P 比 : 1.8) をステンレスボールミルにて平均粒径を $4.02\mu\text{m}$ に調整したものを, liquid は Ca-P soln (pH 2.1) を蒸留水で 3.5 倍に希釈した溶液を用いた。BCP cement は P/L 比 3.5 で 30 秒間練和して, メチレンブルー溶液を用いた逆根管充填材として応用した際の辺縁封鎖性試験を以下の方法で行った。

ヒト単根抜去歯を Ni-Ti ファイル (ProTaper Gold, デンツブライシロナ) を用いて SX から F3 まで拡大し, 根尖をダイヤモンドディスクにて 3mm 切断, レトロチップ (オサダエナックハンドピース, オサダ) を用いて 3mm の逆根管充填窩洞を形成した。その後プロテーパーゴールドペーパーポイント F3 (ProTaper Gold Paper Point F3, デンツブライシロナ) で乾燥し, 各被験材料をプラグーにて填塞した。

辺縁封鎖性試験には Split Chamber 法を用いて行った。すなわち, upper chamber に抜去歯を固定し, 1%メチレンブルー溶液を根管内に挿入した。また, lower chamber には生体内に即し, 擬似体液 (Hanks' Balanced Salt solution, Sigma-Aldrich) を入れた。漏洩の判定は擬似体液の色の変化により行い, 37°C , 湿度 100% の条件下で 3 週間観察した。なお, MTA cement (ProRoot MTA White, デンツブライシロナ) を填入したものを比較対象とし, 被験材料未填入のものを Positive Control (PC), 根尖部をネイルバーニッシュで被覆したものを Negative Control (NC) とした。

【結 果】

BCP cement 群 (n=5) と MTA cement 群 (n=5) では両群で実験期間内において漏洩は認められなかった。一方, すべての PC 群では 24 時間以内に漏洩が確認され, NC 群では実験期間内において漏洩は認められなかった。

【考察および結論】

本研究結果から, BCP cement は代表的な歯内療法セメントである MTA cement と実験期間内では同等の辺縁封鎖性を有しており, 逆根管充填材としての応用が可能であると考えられた。

高速上下運動コントラハンドピースを用いた根管形成における 根管象牙質切削片ならびに根管壁の観察

鶴見大学歯学部 歯内療法学講座¹⁾, 医療法人松柏会 フラワーロード歯科²⁾

○田井康晴¹⁾、鈴木計芳^{1,2)}、埜口五十雄^{1,2)}、吉田拓正¹⁾、小野 京¹⁾

宮本永浩¹⁾、山本祐子¹⁾、西澤美沙¹⁾、山崎泰志¹⁾、細矢哲康¹⁾

Observation of root canal dentin chips and canal walls on root canal preparation using a contra-angle handpiece device with piston movement

Department of Endodontology, Tsurumi University School of Dental Medicine¹⁾, Flower Road Dental Clinic²⁾

○TAI Yasuhiro¹⁾, SUZUKI Kazuyoshi^{1,2)}, NOGUCHI Isao^{1,2)}, YOSHIDA Takumasa¹⁾, ONO Miyako¹⁾
MIYAMOTO Nagahiro¹⁾, YAMAMOTO Yuko¹⁾, NISHIZAWA Misa¹⁾, YAMAZAKI Yasushi¹⁾, HOSOYA Noriyasu¹⁾

【緒 言】

根管の穿通ならびに拡大形成は、主に手動あるいは機械的に根管切削器具を回転運動することで行われる。根管象牙質の切削片や処置後の根管壁の状況は、根管切削器具の刃部形態や切削方法によって様々な様相を示す。さらに、根管清掃、根管充填ならびに歯根硬組織に与える影響も異なることが考えられる。近年、根管切削器具を機械的に高速で上下運動させるコントラハンドピースを開発し、治療時間の短縮とともに硬組織への負担軽減も期待されている。

本研究では、回転運動と上下運動による根管拡大形成で生じた象牙質切削片ならびに根管壁の状況を比較する目的で、ヒト抜去歯を用いて根管象牙質の切削片ならびに拡大形成後の根管壁の状態を観察した。

【材料と方法】

保存不可能と診断された、ヒト新鮮抜去歯 30 本を被験歯とした。被験歯は抜去後ただちに生理的食塩液に浸漬し、実験に供するまで約 4℃にて保存した。被験歯は無作為に各群 10 本ずつ分類し、臨床経験 5 年以上の本講座医局員 5 名によって、各群 2 本ずつ根尖狭窄部までを作業長として根管拡大形成を行った。根管拡大形成は、マニュアル群として、#15～40 K ファイル (Zipperer, VDW GmbH) を用いたバランストフォース法、NiTi 群として、NiTi ロータリーファイル (HyFlex EDM, Coltene) と専用モーター (X smart plus, Dentsply Sirona) による方法、コントラ群として、#25 H ファイル (MANI) と高速上下運動コントラハンドピースによる方法の 3 通りとし、それぞれの器材はメーカーの指示に従って使用した。拡大形成に伴って排出される象牙質切削片を回収し、歯根は長軸に沿って縦断して研究用試料とした。すべての試料は、通法にしたがって走査型電子顕微鏡にて形態学的観察を行った。本研究は鶴見大学歯学部倫理審査委員会の承認 (承認番号 No.1743) を得て行った。

【結 果】

マニュアル群の切削片は、大きいもので 0.2mm 程度の様々な大きさ、形態が認められた。特に引きちぎられたような塊り状の切削片が多く認められた。根管壁には根管軸に直交する方向の線状の切削痕に加え、様々な方向の切削痕がスミヤ層状に認められた。NiTi 群の切削片は、マニュアル群に比べ大きさのばらつきは少なかったが、やや大きめの類似した塊り状の形態を示すものが多かった。根管壁には根管軸に直交する線状の切削痕が認められた。コントラ群の切削片は、表面を薄く削り取ったような形態を示し、0.2～0.3mm 程度の蛇腹折り状態の切削片が多く認められた。根管壁には根管軸と平行に走る直線状の切削痕が認められた。

【考 察】

マニュアル群では、圧を加えての正回転、逆回転ならびに上下運動を繰り返す方法のため、様々な大きさと形態の切削片および根管壁の切削痕が混在したと考えられる。NiTi 群で用いたロータリーファイルは正回転のみで使用する機種のため、根管軸に直交する規則的な切削痕が認められたが、切削中の上下運動に伴う切削痕は認められなかった。コントラ群で認められた 0.2～0.3mm 程度の切削片は蛇腹折り状態のため、引き伸ばした長さは 1mm 程度に達すると推測される。本研究で用いたコントラハンドピースの振幅は 1.35mm であり、また H ファイルの刃部ピッチが約 1mm であることから効率的な根管形成が行われていたと思われる。

【結 論】

高速上下運動コントラハンドピースを使用することで、連続的に薄く表面を削り取った形態の根管壁切削片が認められ、さらに根管の矢状断的には、根管軸方向の起伏や凹凸が少ないことから、アンダーカットのない平滑な根管壁の根管形成が期待できる。

Aspirin のドラッグリポジショニングによる骨形成促進効果の検討

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

○平田-土屋志津¹、鈴木茂樹²、中西 惇¹、武田克浩¹、柴 秀樹¹

Effects of bone formation by drug repositioning of aspirin.

¹Department of Biological Endodontics, Hiroshima University

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

○HIRATA-TSUCHIYA Shizu¹, SUZUKI Shigeki², NAKANISHI Jun², TAKEDA Katsuhiko², SHIBA Hideki¹

【目的】

治療に反応せず治癒機転に至らない難治性の根尖性歯周炎や、歯根端切除術後などの広範囲な骨欠損を伴う症例に対して、局所の慢性炎症抑制と組織治癒としての硬組織再生を誘導する予知性の高い治療法の開発が望まれている。これまでに我々は、炎症のシグナル伝達経路である NF- κ B と骨誘導因子 BMP シグナルのクロストークに着目し、NF- κ B の選択的阻害剤を BMP と一緒にマウス筋膜下に移植すると BMP 単独の場合と比較して、骨形成が促進されることを明らかにした (*Mol Endocrinol*, 2014)。さらに、ステロイド剤と同等の抗炎症作用を示すステロイド受容体コアクチベーター Macromolecular Translocation Inhibitor II (MTI-II) が TNF α による BMP 誘導性骨芽細胞分化の抑制を解除することを明らかにした (*Mol Cell Biochem*, 2020)。今回着目した非ステロイド性抗炎症剤 (NSAIDs) の分類の一つであるサリチル酸系は、シクロオキシゲナーゼ活性を阻害し、プロスタグランジン (PGs) の産生を抑制することで鎮痛消炎作用を示すことが知られている。その中でも Aspirin は、古くから臨床の現場や市販薬として使用されており、さらに、NF- κ B の転写活性に重要である IKK 複合体の活性を阻害して NF- κ B シグナルを抑制することが報告されている。そこで本研究では Aspirin のドラッグリポジショニングに着目し、Aspirin の骨形成に与える影響を調べることで、炎症抑制・組織再生・鎮痛を同時に行う新たな骨組織再生療法の開発を目指すことを目的としている。

【材料と方法】

Aspirin (0.1-0.5 mM) で前処理したマウス骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1 細胞) を BMP2 (100 ng/ml) で分化誘導し、アルカリホスファターゼ (ALP) 活性の測定と、アリザリンレッド S 染色を行なった。次に、リアルタイム PCR によって、骨分化マーカーである Runx2、Osterix、および Osteocalcin の mRNA 発現量を調べた。さらに、BMP による異所性骨化におよぼす Aspirin の効果の検証をするために、BMP2 (1 μ g) のみ、BMP2 (1 μ g) + Aspirin (100, 300 μ g) をコラーゲンペレットに含有し、凍結乾燥したコラーゲンペレットをマウスの背部筋膜下に埋入し、2 週間後に μ CT 撮影にて骨形成量を比較した。

【結果】

BMP2 + Aspirin 群では、BMP2 単独群と比較して ALP 活性が促進された。アリザリンレッド S 染色では Aspirin 濃度依存的に染色物の量が増加した。また、Runx2、Osterix、および Osteocalcin の遺伝子発現量は BMP2 単独群と比較して BMP2 + Aspirin 群で有意に増加した。さらに、BMP2 + Aspirin 含有のコラーゲンペレットは、BMP2 のみのコラーゲンペレットと比較し、Aspirin 濃度依存的に異所性骨の形成が促進していた。 μ CT 画像でも Aspirin 含有コラーゲンペレットでは海綿骨が充実している様子が観察された。

【考察】

Aspirin は Osterix などの骨分化マーカーの発現増加を介して BMP による骨芽細胞分化を促進し、硬組織形成を誘導する可能性が示唆された。また、BMP による異所性骨化モデルにおいて、Aspirin は BMP による骨形成を促進することがわかった。このことから、非ステロイド性抗炎症薬 Aspirin がドラッグリポジショニングとして、炎症抑制・組織再生を同時に行う新たな硬組織再生療法として利用できる可能性が示された。

歯科用実体顕微鏡と試作根管内視鏡を接続した画像取得システムの開発

¹九州歯科大学口腔保存治療学分野, ²同志社大学理工学部インテリジェント情報工学科
³東京農工大学大学院工学府・機械システム工学専攻, ⁴早稲田大学大学院情報生産システム研究科
⁵西野歯科医院, ⁶ながよし歯科

○藤元 政考¹, 吉居 慎二¹, 奥田 正浩², 池沢 聡³, 植田 敏嗣⁴, 西野 宇信⁵, 永吉 雅人⁶, 北村 知昭¹

Development of Image Obtaining System by Root Canal Endoscope Connecting to Dental Operating Microscope

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

²Doshisha University Faculty of Science and Engineering,
Department of Intelligent Information Systems Engineering

³Tokyo University of Agriculture and Technology, Department of Mechanical Systems Engineering

⁴Graduate School of Information, Production and Systems, Waseda University,

⁵Nishino Dental Clinic, ⁶Nagayoshi Dental Clinic

○FUJIMOTO Masataka¹, YOSHII Shinji¹, OKUDA Masahiro², IKEZAWA Satoshi³, UEDA Toshitsugu⁴,
NISHINO Takanobu⁵, NAGAYOSHI Masato⁶, KITAMURA Chiaki¹

【目的】

現代歯内治療は歯科用実体顕微鏡や歯科用コーンビームCTを駆使することで診断・治療の精度が大きく向上したが、根管深部の破折や根管側枝等の検出は未だ困難で、治療中に行う根管内の状態把握も手指感覚に頼ることがほとんどである。これらの問題点を解決するために開発・製品化された歯科用内視鏡も複数あるが導入コストや消毒・滅菌等の問題で普及率は低い。これまでに我々は既存の歯科用内視鏡が抱える問題点の克服を目的とした根管内視鏡を新たに設計・開発しその有用性について報告してきた (Fujimoto *et al.*, IEEE Trans Biomed Eng., 2019; Yoshii *et al.*, JOE, 2018)。近年我々は、国内外で普及している口腔内カメラを根管内観察に応用することを目的として、試作根管内視鏡を口腔内カメラに接続するアダプターを新規に開発した (特許番号: 6593785 号)。今回、本アダプターを用いて既存の歯科用実体顕微鏡と試作根管内視鏡を接続し、その機能を評価・検証した。

【材料と方法】

実験には、イメージファイバ、屈折率分布型レンズおよび光ファイバで構成される試作内視鏡プローブ (Fujimoto *et al.*, IEEE Sensors J, 2016)、光路変更のためのプリズム、レンズ付きアダプター (特許番号: 6593785 号)、および歯科用実体顕微鏡 (マニー, 日本) を用いた。試作内視鏡プローブと歯科用実体顕微鏡をレンズ付きアダプターで接続したシステムを構築し、外部光源下でライン・ペア (LP) が描記されたテストターゲット (周波数変移ロンキー・ルーリング, エドモンドオプティクスジャパン, 日本) を観察することで本システムの分解能を評価した。観察時の試作内視鏡先端から観察対象までの作動距離は 0.32 mm に設定した。

【結果】

歯科用実体顕微鏡、試作内視鏡、およびレンズ付きアダプターを組み合わせて構築したシステムにより、歯科用実体顕微鏡鏡筒から内視鏡画像の観察が可能であった。また、歯科用実体顕微鏡に組み込まれている外付けカメラによって動画撮影を行ったところ、外部光源下で 10 から 35 LP/mm のライン・ペアが観察できた。

【考察】

現時点では、歯内治療中に根管深部の状態を把握するには、治療中断後にデンタルエックス線画像等から推測するか複数の問題点を抱えた既存の歯科用内視鏡で観察するしかない。今回、既存の歯科用実体顕微鏡と試作内視鏡、新規アダプターを組み合わせたシステムで根管内視鏡画像の観察と動画撮影が可能であることを明らかにした。以上の結果は、歯科用実体顕微鏡下の治療を中断することなく本システムにより根管口や髄床底などの広い範囲から根管深部の狭い範囲を精査できる可能性を示唆している。今後は、コントラスト解析による取得画像の分解能の定量的評価や、抜去歯を用いた歯の内部の観察実験を行う予定である。

【結論】

歯科用実体顕微鏡、試作内視鏡、および新規レンズ付きアダプターを組み合わせた本観察システムは有用である。

ブタ抜去歯を用いた新しい感染根管モデルの確立
-第2報：根管洗浄前後の根管壁表面における走査型電子顕微鏡所見-

愛知学院大学歯学部 歯内治療学講座
○藤田 将典、樋口 直也、堀場 直樹、中田 和彦

Establishment of Novel Infected Root Canal System Model using Swine Extracted Teeth
-Part2 : SEM Observation of root canal wall surface before and after root canal irrigation-
Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○FUJITA Masanori, HIGUCHI Naoya, HORIBA Naoki, NAKATA Kazuhiko

【目的】

根管内の無菌化は感染根管治療の成否に大きく関与するため、様々な薬剤や手法が検討されている。臨床応用前には抜去歯などを使用して、それらの有効性や安全性を評価することが必須である。しかし、ヒト抜去歯は、近年入手困難で、またその保存状態の差異が研究結果へ影響することも懸念される。我々は、安定的に入手可能で均一な保存条件下で扱えるブタの抜去歯を使用した新規感染根管モデルを作製し、細菌学的手法で感染根管モデルとしての有用性を検討し報告した(第150回本学会)。今回、本感染根管モデルについて、根管洗浄前および後に走査型電子顕微鏡(SEM)下で観察し、新たな知見が得られたので報告する。

【材料と方法】

1.感染根管モデルの作製

約6ヶ月齢のブタ下顎第1、2乳臼歯を歯冠中央部で頬舌心的に切断し、近心根と遠心根に分けて抜歯を行った。歯頸部で水平的に切断し、作業長が13mmになるように歯根部を調整して実験試料とした。通法に従いKファイルを用いて#60まで根管拡大形成を行った。3~6%次亜塩素酸ナトリウム溶液および3%EDTA製剤を根管内に満たし、それぞれ2分間処理した後、生理食塩水にて洗浄した。オートクレーブ滅菌後、即時重合レジンにて根尖孔を封鎖してPCRチューブに植立した。根管内にBHI液体培地を用いて調製した *Enterococcus faecalis*(ATCC19433株)の菌液($10^7 \sim 10^8$ CFU/ml)を満たし、21日間37℃下にて好気培養を行った。菌液の交換は7日間に3回行った。

2.感染根管モデルのSEM観察

培養開始21日後、5mlの次亜塩素酸ナトリウム溶液または生理食塩水にてシリンジ(23G洗浄針)を使用し、1分間根管洗浄を行った。洗浄後の根管内に生理食塩水を満たし、2日間37℃、好気条件下にて保管した。洗浄前、洗浄直後、洗浄2日後の感染根管モデルを歯軸方向に分割し4%パラホルム・5%グルタルアルデヒドにて固定した。試料は上昇エタノール系列で脱水および凍結乾燥後、導電処理を行った。その後、走査型電子顕微鏡(VE9800, KEYENCE)下で根尖部約3mm部分の根管表面を観察し、比較検討した。

【結果】

- 1) 洗浄前、生理食塩水による洗浄直後および2日後の試料において、根管表面にバイオフィームが観察された。
- 2) 次亜塩素酸ナトリウム溶液による洗浄直後の試料では根管表面にバイオフィームが観察されなかったが、洗浄2日後の試料において、再びバイオフィームが観察された。

【考察および結論】

本感染根管モデルでは、次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いて根管洗浄した直後は、根管表面にバイオフィームが観察されなかったにもかかわらず、2日間保管した後には再びバイオフィームが根管表面に観察された。これは、象牙細管内に侵入した *E.faecalis* が殺菌されないまま生存し、根管表面にバイオフィームを再形成したと推察される。

また今回の結果は、前回の細菌学的手法による結果(次亜塩素酸ナトリウム溶液を用いて根管洗浄した直後は、細菌が検出限界以下にまで減少したが、2日間保管した後には再び洗浄前と同等の細菌が検出された)とも整合する。

今回の知見からも本感染根管モデルは、新たな *in vitro* 実験系として有用であることがあらためて確認された。

※本発表において開示すべき利益相反関係にある企業はない

インドシアニンググリーン封入ナノ粒子と半導体レーザーを用いた抗菌光線力学療法の
Enterococcus faecalis バイオフィームへの殺菌効果 第2報 Live/Dead 染色後の観察

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座¹⁾、歯周病学講座²⁾

○樋口直也¹⁾、佐々木康行²⁾、藤田将典¹⁾、林 潤一郎²⁾、三谷章雄²⁾、福田光男²⁾、中田和彦¹⁾

Bactericidal effect for *Enterococcus faecalis* biofilm by aPDT with ICG nanosphere and diode laser
Part 2 Observation after Live/Dead staining

Departments of Endodontics¹⁾ and Periodontology²⁾, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○HIGUCHI Naoya¹⁾, SASAKI Yasuyuki²⁾, FUJITA Masanori¹⁾, HAYASHI Jun-ichiro²⁾, MITANI Akio²⁾,
FUKUDA Mitsuo²⁾, NAKATA Kazuhiko¹⁾

【目的】

根管内の無菌化は、感染根管治療の成否に大きく関与するため、さまざまな薬剤や手法が検討されている。これまで、我々は、生体に安全な光感受性物質であるインドシアニンググリーンを封入し、キトサンコーティングしたナノ粒子 (ICG-Nano/c) を作製し、半導体レーザー (波長 810nm) 照射により励起する抗菌光線力学療法 (antimicrobial photodynamic therapy : aPDT) の歯内治療への応用について検討してきた。本学会の第 150 回学術大会で報告したとおり、バイオフィーム状態の *Enterococcus faecalis* に対する殺菌効果は 90~95% レベルであり、浮遊状態に対する効果と比較して、約 1/100 であった。そこで今回、ICG-Nano/c と半導体レーザーを用いた aPDT による *E. faecalis* バイオフィームに対する殺菌効果の向上を目的に、照射条件を検討し、新たな知見が得られたので報告する。

【材料および方法】

1. 感染根管モデルを応用したコロニーカウントによる殺菌効果の評価

6ヶ月齢ブタの抜去した下顎第1, 2乳臼歯を近心根と遠心根に分割し、根管長が13mmになるように歯冠を切除した後、通法に従い、根管拡大形成 (#60) を行った。化学的清掃後、オートクレーブ滅菌を行い、即時重合レジンにてチューブに固定した。その後、*E. faecalis* を根管内に感染させ、3週間で根管壁にバイオフィーム形成を誘導した。この感染根管バイオフィーム形成モデルを、①aPDT群、②レーザー群 (ICG-Nano/c の代わりに滅菌生理食塩水を添加し、レーザーを照射した群)、③無処理群 (滅菌生理食塩水のみ) に分けた。レーザーの照射条件は、出力を以前の3倍となる2.1W、RPTモード (Duty cycle 50%, 100ms) とした。また、照射時間は以前と同様の5分としたが、今回は、連続照射から間欠照射 (60秒照射ごとに10秒間休止) に変更し、さらにエアブロー冷却 (2.0L/min) を追加した。照射プローブの位置については、これまで同様に試料から上方10mmに設置した。滅菌生理食塩水で洗浄後、ペーパーポイントを用いて釣菌し、段階希釈法でコロニーカウントを行い、比較検討した。

2. Live/Dead 染色後の蛍光顕微鏡下での観察

ガラス底ディッシュ中で3週間培養し形成させた *E. faecalis* バイオフィームに対し、上記と同様の照射条件で aPDT を行った。試料を滅菌水で洗浄し、Live/Dead 染色 (Thermo Fisher Scientific) を行った。その後、蛍光顕微鏡 (Keyence Z-9000) 下で観察を行い、細菌の生死を判定した。

【結果】

コロニーカウントによる評価では、レーザー出力を以前より増大したにもかかわらず、レーザー照射単独では殺菌効果は認められなかった。また、aPDT 群では、殺菌効果が以前の 90~95% から 99% 以上と大幅に向上した。しかしながら、同一条件における蛍光顕微鏡下での観察では、aPDT 群においても生菌が多く観察された。

【考察および結論】

ICG ナノ粒子とレーザーを用いた aPDT は、コロニーカウントの結果から、バイオフィームを形成した *E. faecalis* に対して殺菌効果を向上させることが可能であったが、蛍光顕微鏡下においては生菌が多く観察された。この矛盾する結果の原因として、aPDT 直後の試料中に浮遊物が存在していたことから、細胞外基質の溶解が生じ、aPDT 後の洗浄の際に表層部の失活した細菌が洗い流され、深層に生存していた菌が露出した可能性が考えられた。今後は、この浮遊物の解析とともに、今回の照射条件下における歯根表面の温度変化を評価していく予定である。

本演題発表内容に関連し、開示すべき利益相反関係にある企業などはない。

Streptococcus mitis の保有する MMP 様タンパク質の同定

大阪歯科大学 口腔治療学講座¹, 細菌学講座²

○麻生 浩章¹ 前田 博史¹ 南部 隆之² 沖永 敏則² 至田 宗泰¹

Identification of MMP-like Protein from *Streptococcus mitis*

Department of Endodontics¹, Department of Bacteriology²
Osaka Dental University

○ASO Hiroaki¹ MAEDA Hiroshi¹ NAMBU Takayuki² OKINAGA Toshinori² SHIDA Muneyasu¹

[緒言]

Streptococcus mitis は *S. pneumonia* と系統発生学的に非常に類似した細菌であり、口腔内常在菌でありながら易感染性宿主においては重篤な全身感染症の原因となる。このため、共生菌と病原菌の狭間に位置するユニークな細菌種と考えられている。口腔内では根面う蝕、あるいは感染根管からも分離されるが、病態との関連性は明らかにされていない。今回、*S. mitis* が象牙質コラーゲン成分の分解に関与することで、根面う蝕の病態、あるいは感染根管成立の病因になると仮説をたて、本菌種が保有する病原分子（マトリックスメタロプロテアーゼ様分子：MMP 様分子）の同定を試みた。

[材料および方法]

1. **データベース解析：** Human Oral Microbiome Database の *S. mitis* ゲノム情報からヒト MMP の相同性分子を検索した。
2. **遺伝子クローニング：** PCR 法で MMP 様遺伝子を増幅し、プラスミドベクター (pEU-E01-MCS) に組み込んだ。
3. **組み換え蛋白質の構築と精製：** コムギ胚芽無細胞蛋白質合成技術を応用し、組み換え蛋白質を合成し、GST タグを利用したアフィニティークロマトグラフィーによって精製した。
4. **MMP 様活性の測定：** Sensolyte(R) 520 Generic MMP Activity Kit *Fluorimetric* (Anaspec, Inc.) を使用し、*S. mitis* 菌体、ならびに組み換え蛋白質の MMP 様活性を測定した。

[結果]

1. *S. mitis* のゲノム遺伝子上に MMP の HEXXH motif を保有する MMP 様の遺伝子を同定した。このタンパク質の相同性分子は広く *Streptococcus* 属に保存されており、*S. pneumonia* のもつ MMP 様分子との相同性は 95.3% であった。
2. *S. mitis* の MMP 様遺伝子は全長 699bp で、アミノ酸配列から推測される分子量は約 26.6kDa であった。
3. クローン化した MMP 様遺伝子をコムギ胚芽無細胞蛋白質合成系に添加し、組み換えタンパク質の発現を確認した。GST タグが付加された精製組み換えタンパク質は SDS-PAGE 上で分子量約 53kDa の位置に確認できた。
4. 組み換えタンパク質は、ヒト MMP-8 の約 1/3 の MMP 様活性を示した。また *S. mitis* 菌体は、コラーゲナーゼ活性を保有することが示唆されている *Enterococcus faecalis* と同レベルの MMP 様活性を示した。

[考察]

ヒトの MMP と比較すると酵素活性は若干低いものの、*S. mitis* は MMP 様の分子を保有していると思われる。根面う蝕、あるいは感染根管内では、象牙質のコラーゲンに対する病原因子として機能している可能性がある。また、易感染性宿主における全身感染症の際にも病原因子となっている可能性があり、今後、より詳細な機能解析を必要とする。さらに相同性分子が広く *Streptococcus* 属に保存されていることから、う蝕、根管内細菌叢内での相同性分子の役割についても検討していきたい。

[結論]

S. mitis は MMP 様活性をもつ分子を保有していることが示された。

根管充填時の術後疼痛発症に対する Bioactive glass 配合根管用シーラーの影響

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野, ²三浦歯科医院, ³島田歯科医院,

⁴花田歯科医院, ⁵医療法人福和会別府歯科医院

○鷲尾絢子¹, 三浦弘喜^{1, 2}, 諸富孝彦¹, 市丸-末松美希¹, 宮原宏武^{1, 3}, 花田-宮原可緒理^{1, 4},
吉居慎二¹, 村田一将¹, 高倉那奈^{1, 5}, 赤尾瑛一¹, 藤元政考¹, 松山篤史^{1, 5}, 北村知昭¹

Effect of Bioactive Glass-based Root Canal Sealer on the Postoperative Pain after Root Canal Obturation

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University,

¹Miura Dental Clinic, ²Shimata Dental Clinic, ³Hanada Dental Clinic,

⁴Medical Corporation ⁵Fukuwakai Beppu Dental Clinic

○WASHIO Ayako¹, MIURA Hiroki^{1, 2}, MOROTOMI Takahiko¹, ICHIMARU-SUEMATSU Miki¹,
MIYAHARA Hirotake^{1, 3}, HANADA-MIYAHARA Kaori^{1, 4}, YOSHII Shinji¹, MURATA Kazumasa¹, TAKAKURA Nana^{1, 5},
AKAO Eiichi¹, FUJIMOTO Masataka¹, MATSUYAMA Atsushi^{1, 5}, KITAMURA Chiaki¹

【目的】

国内発の Bioactive glass 配合バイオセラミックス系根管用シーラーとしてニシカキャナルシーラー-BG (日本歯科薬品) が発売され2年が経過した。今回、本シーラーが根管充填時疼痛の発症に及ぼす影響について調査を行った。

【材料と方法】

2017年11月からの2年間に於いて、九州歯科大学附属病院保存治療科および一般開業歯科医院(1件)で診療を行う12人の歯科医師により抜髄あるいは感染根管処置が必要と診断され歯内治療に同意を得た患者で、当分野の歯内治療用クリニカルパスに則って治療を行い、ニシカキャナルシーラー-BGを用いて根管充填を行なった555症例を対象とした。対象症例の男女比、年代、治療部位、治療内容、根管充填方法、および根管充填時疼痛(根管充填中疼痛と根管充填直後疼痛)の発症率やその要因について調査・分析を行った(九州歯科大学倫理委員会 承認番号; 17-39)。

【結果】

調査期間における対象症例の男女の割合は、男性35%、女性65%であった。年代別では、10代1%、20代4%、30代10%、40代16%、50代21%、60代21%、70代22%、80代5%であった。治療部位は上顎前歯部22%、上顎小臼歯部13%、上顎大臼歯部19%、下顎前歯部8%、下顎小臼歯部15%、下顎大臼歯部23%であった。治療は、イニシャルトリートメントが38%、リトリートメントが62%であり、そのうち、抜髄処置が22%、感染根管処置が78%であった。根管充填法別では、側方加圧根管充填20%、マルチポイント法(加圧なし)55%、シングルポイント法24%、垂直加圧根管充填が1%であった。また、根管充填時疼痛の有無について調査した結果、根管充填中に違和感や疼痛を訴えた症例は5%であったが、充填直後に違和感や疼痛を訴えた症例は1.5%に減少し、さらに根管充填後7日以内には術後疼痛は消失していた。術後疼痛を生じた歯の処置内容を抜髄と感染根管処置とで比較したところ、根管充填中疼痛の発症においては有意差が認められたが、根管充填直後疼痛の発症においては有意差が認められなかった。

【考察】

以前に我々が報告した、慢性根尖性歯周炎に対する感染根管処置時の根管充填において根管用シーラーの違いが術後疼痛発症に及ぼす影響に関する臨床研究では、充填直後の疼痛発症率は非ユージノール系シーラー13.3%、レジン系シーラー10.0%であり両者に有意差はなかった(日本歯内療法学会雑誌39巻2号, 43-48, 2018)。今回の調査は分析方法が異なるため他の根管用シーラーを用いた根管充填直後の疼痛発症率と一概に比較できないが、得られた結果は高い生体親和性を有する Bioactive glass 配合根管用シーラーを用いた根管充填では術直後疼痛が誘発されにくいことを示唆している。

【結論】

Bioactive glass 配合根管用シーラーを用いた根管充填では術直後疼痛の発症率が低い。

使用済み根管形成用ファイル洗浄における過酢酸系除菌剤の効果

¹九州歯科大学附属病院歯科衛生室

²九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

○柴戸あゆち¹, 鷲尾絢子², 北村知昭²

Effects of Peracetic Acid on Cleaning of Used Root Canal Shaping Files

¹Dental hygienist section of Kyushu Dental University Hospital

²Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,
Kyushu Dental University

○SHIBATO Ayuchi¹, WASHIO Ayako², KITAMURA Chiaki²

【目的】

再利用されることの多い根管形成用ファイル使用後の適切な洗浄による汚染物や微生物数の除去は、感染対策上重要な課題である。根管形成用ファイルの洗浄・滅菌工程では、治療中のデイスポーザブル・スポンジの使用や洗浄剤を用いた超音波洗浄により、ファイルに付着した細菌、ウイルス、タンパク質(固化血液など)、および根管充填材(ガッタパーチャポイント、根管用シーラー)を物理的・化学的に可能な限り減少させることで、その後の滅菌工程における無菌性保証水準が高くなる。しかしながら、根管形成用ファイルの形状は複雑で使用後の付着物の性状も多様であり、洗浄度の目視確認も困難である。その結果、汚染物が付着したまま滅菌工程に進むと根管形成用ファイルに汚染物が固着し再利用できなくなる。今回、根管形成用ファイルに付着した汚染物の確実な除去を目的として、米国環境保護庁で認定され世界基準の高い安全性、非残留性、一定の品質が保証された除菌剤として使用されている過酢酸系除菌剤および次世代前処理専用洗浄剤を用い、付着汚染物の除去効果を検証した(九州歯科大学倫理委員会 倫理承認番号; 19-62)。

【材料と方法】

九州歯科大学附属病院において抜去されたヒト単根管歯を用いた。抜去歯は、感染防止を目的として高圧蒸気滅菌による滅菌し、歯冠部切断後にNi-Ti ローターファイル(EndoWave, MORITA Corp.)により根管拡大形成を行なった。根管拡大形成時の切削片が付着した使用済ファイルを室温にて静置後、削片付着状態を目視、実体顕微鏡、および走査型電子顕微鏡(SEM; JCM-7000, JEOL Ltd.)で観察した。その後、過酢酸系除菌剤(actril®, Medivators Inc.)あるいは次世代前処理専用洗浄剤(Intercept®, Medivators Inc.)を用いて使用済ファイルの超音波洗浄を10分間行なった。洗浄後の削片付着状態についても目視、実体顕微鏡、およびSEMで観察し、洗浄前後で削片の付着状態を比較検討した。

【結果】

目視および実体顕微鏡による観察では洗浄後のファイルには削片付着は観察されなかった。SEM観察では、Intercept®による洗浄後ファイルには付着削片がわずかに観察された。一方、actril®による洗浄後のファイルには削片の付着が全く認められなかった。

【考察】

今回の洗浄条件による洗浄前後での付着削片は、目視観察、および実体顕微鏡観察という日常の限られた方法での確認では、Intercept®およびactril®により除去されていることが示された。その一方、SEM観察との間で異なる結果を示したことより、根管形成用ファイル洗浄後の削片除去の有無を、さらに確実に評価できる方法が必要であることが示された。また、通常は削片除去後に使用する過酢酸系除菌剤(actril®)の単独使用により洗浄と除菌を同時に行える可能性が示唆された。

【結論】

過酢酸系除菌剤は根管形成用ファイルに付着した汚染物の確実な除去に有用である。

セメント芽細胞様細胞に分化するラッ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

○小林典加、門倉弘志、土屋隆子、横瀬敏志

Establishment of a Primary Culture System of Rat Periodontal Ligament Cells that Differentiate into Cementoblast-like Cells

Division of Endodontics and Operative Dentistry,

Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry

○KOBAYASHI Norika, KADOKURA Hiroshi, TSUCHIYA Takako, YOKOSE Satoshi

【目的】セメント質形成とセメント芽細胞への分化を理解することは、根尖部歯周組織の治癒解明のために有用である。多くの研究で使用されているヒト歯根膜細胞 (PDL) は実験の条件を揃えることが難しいため、実験動物歯根膜由来の培養細胞系が必要である。本研究では、セメント芽細胞様細胞に分化しセメント質形成を示すラット歯根膜由来初代培養系の確立を目的とし、ラット歯根膜細胞から初代培養を行い、これら培養細胞がセメント芽細胞様細胞に分化し、使用できるかどうかを検証した。

【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得て行われた (A2035)。ラット PDL 細胞は生後 5 週齢の雄 Sprague-Dawley ラット 5 匹の上顎臼歯を用いた。抜去歯は抜去後すぐに PBS にて洗浄し、10% 子牛血清、ペニシリン・ストレプトマイシンを含む α MEN 培養液中に静置し outgrowth 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 MEN に $300 \mu\text{g/ml}$ の β -グリセロリン酸と $50 \mu\text{g/ml}$ のアスコルビン酸を添加した分化誘導培地に培養した。またラット PDL 細胞と比較するため、ラット歯肉組織由来の歯肉繊維芽細胞 (GFs) も用いた。形態学的観察として 5、7、21 日目の培養細胞にアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色と von Kossa 染色の二重染色を行った。分子生物学解析として培養 21 日目の ALP、骨グラタンパク (BGP)、cementum attachment protein (CAP) 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 PDL 細胞培養 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 陽性細胞の数は急激に増加し 21 日目ではほとんどの PDL 細胞は ALP 陽性となり、von Kossa 染色陽性の石灰化結節が認められた。一方 GFs は培養 5、7 日目では ALP 陰性であったが 21 日目では少数の細胞が ALP 陽性になった。また GFs では von Kossa 染色陽性の石灰化結節が認められなかった。分子生物学解析では、ALP、BGP 発現レベルは PDL 細胞と比較して GFs でそれぞれ 22.3%、44.7% と少なかった。しかし CAP 発現レベルは PDL 細胞と比較して GFs はほぼ同じであった。

【考察】CAP はヒトではセメント芽細胞やセメント質に特異的なマーカーと考えられている。一方でラットを用いた研究において CAP は特異的であるという報告もあるが心臓や骨格筋に発現しセメント芽細胞、セメント質特異的ではないという報告もある。本研究結果では、CAP は PDL 細胞、GFs の両者に発現が見られ、特異的ではないという報告と一致する。そのため現時点でのセメント芽細胞様細胞を用いた研究では、いくつかの既存マーカーと石灰化結節の形成を多角的に分析する必要があると考える。本研究結果では、ラット PDL 細胞が ALP、BGP、CAP を発現し石灰化結節を形成しており、セメント質の形成を誘導できるセメント芽細胞様細胞集団が含まれていると示唆できる。しかしその背後にあるメカニズムを明らかにするにはさらなる研究が必要である。

【結論】本研究では、セメント芽細胞様細胞に分化するラット歯根膜由来初代培養系を確立した。本培養法は、セメント質形成とセメント芽細胞分化の研究に有用であると示唆される。

三次元的骨欠損形態評価システムの構築に基づく抜歯窩の治癒形態の解析

明海大学 歯学部機能保存回復学講座 保存治療学分野
○和田恵, 河野宗光, 横瀬敏志

Analyzing reconstructed three-dimensional models of the tooth extraction socket obtained from CBCT images
Division of Endodontics and Operative Dentistry Department of Restorative and Biomaterials Sciences Meikai
University School of Dentistry
○Kei Wada, Munemitsu Kawano, Satoshi Yokose

【目的】

抜歯窩の治癒は、その後の治療に大きな影響を及ぼす。特に、垂直性歯根破折や歯根嚢胞等により抜歯に至った症例は、重度の歯槽骨吸収を伴うことが多く、抜歯後の歯槽骨の治癒形態に影響を及ぼすことがある。抜歯後の治癒が不全である場合、歯槽骨の回復が不十分であることにより、その後の治療計画に影響を及ぼす。抜歯後の治療として、インプラント治療を考慮した症例では、骨増生のための手術が必要になる症例やインプラント治療自体が困難になる場合もある。このような症例は、今後のインプラント植立にあたり、骨欠損部の形態を客観的に評価する必要性がある。本報告では、抜歯後のインプラント植立前の歯科用コーンビームCTの画像を用いて、抜歯窩の骨欠損部を三次元構築モデル化し解析した。

【方法】

被験者は、歯根破折、歯根嚢胞、残根等の理由から上顎6番を抜歯後、インプラントを植立した患者9名とした。インプラント植立前に撮影した歯科用コーンビームCT(FineCube®, 吉田製作所)のデータを元に、三次元可視化解析ソフトウェアAmira(Thermo Fisher Scientific)を用いて抜歯窩の状態を解析した。撮影日時は、抜歯後1か月から年単位で、両隣在歯のメタルアーチファクトが著しく、抽出が困難な症例は除外した。抜歯窩については、抜歯窩の最下底部から両隣在歯の歯槽骨頂までを水平・近遠心・頬舌断面の三方向から、臨床経験3年と11年の歯科医師2名が話し合いの上で抽出した。抽出した抜歯窩の三次元モデルを構築し、体積、表面積、上顎洞底から抜歯窩の最上点および最下点、歯槽骨頂から抜歯窩の最短および最長の距離を計測した。抜歯窩後6か月未満の3症例と6か月以上の6症例について、Mann-Whitney U testを用い、有意水準5%にて統計学的解析を行った。本研究は、明海大学研究倫理審査委員会の承認を得て行った。(承認番号:A2009)

【結果および考察】

体積について抜歯後6か月未満と6か月以上で有意差を認めた。抜歯窩は、経時的に縮小を認めるものの、治癒については症例によって差があり、各症例での検討が必要となる。特に、上顎洞と抜歯窩との距離は、それぞれの症例の状況や解剖学的構造によって異なった。立体的な抜歯窩の体積、表面積、上顎洞底から抜歯窩の最上点および最下点、歯槽骨頂から抜歯窩の最短および最長の距離を算出することにより、新たな評価指標になる可能性がある。今回の報告では、抜歯窩の三次元モデルを作成して解析することにより、客観的にその状態を把握することができた。今後、インプラント埋入時に有用となる可能性が高い。また、視覚的に骨欠損部の把握が可能になることにより、患者に提示すれば、現状への理解がしやすくなると思われ、今後の治療について検討しやすくなると考えられる。今後、さらに、症例を蓄積し、患者の全身疾患との関連性についても検討していく予定である。

【結論】

歯科用コーンビームCT画像を用いて抜歯窩の骨欠損部を三次元構築することによって、立体的解析・評価が可能となり、今後、インプラント植立等に有用である可能性が示唆された。

セメント質剥離を伴う上顎左側中切歯に対して、外傷が歯周組織破壊を増悪させた症例

- 1) 日本鋼管福山病院・歯科
2) 広島大学大学院医系科学研究科歯髄生物学的研究室
○永原 隆吉¹⁾, 武田 克浩²⁾, 柴 秀樹²⁾

Periodontal tissue destruction exacerbated by traumatic injury at an upper left central incisor with cemental tear

- 1) Nippon Kokan Fukuyama Hospital, Dental.
2) Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University.
○Takayoshi Nagahara¹⁾, Katsuhiro Takeda²⁾, Hideki Shiba²⁾

【緒言】セメント質剥離は急速な歯周組織破壊を引き起こす。セメント質剥離の原因は不明であり、治療のガイドラインはない。セメント質剥離は高齢者に多発することが報告されており、全身疾患に配慮した歯科治療が必要となることが多い。本症例では、高齢者の糖尿病罹患患者の外傷によって増悪したセメント質剥離がある上顎左側中切歯の歯周組織破壊治療症例を報告する。

【患者】68歳男性。当病院内科から、歯周治療目的で紹介された。

【初診時の口腔内所見】┐1: 歯周ポケットは唇側近心部6mm, 口蓋側近心部8mmで、動揺度0度、デンタルX線写真では近心に垂直性骨欠損と歯根につながる線状の不透過像(セメント質剥離片)を認めた。

【外傷後の口腔内所見】初診から1か月後、上顎前歯部に外傷を受け、腫脹と疼痛を訴え緊急来院した。1┐1根尖部に波動を触知したため切開排膿処置をした。一週間後のデンタルX線写真では┐1近心部の垂直性骨欠損の範囲は拡大し、1┐根尖部にまで及んでいた。┐1: 歯周ポケットは唇側近心部8mm, 唇側中央部6mm, 口蓋側近心部11mmで、動揺度1に変化し、増悪していた。1┐: 歯周ポケットは最深部4mmで動揺度は0であった。1┐1に歯髄生活反応があった(歯髄電気診, 温度診)。

【全身疾患】糖尿病(HbA1c=8.1%), 高血圧症(当院内科, 加療)。

【診断】セメント質剥離を伴う重度歯周炎(┐1)。外傷(1┐1)。

【治療方針】セメント質剥離片の除去, 歯周外科治療, 歯髄生活反応検査による歯髄生活反応の確認

【治療経過】線状の不透過像(セメント質剥離片)の除去を目的に、ルートプレーニングを実施したところ、肉芽組織が付着した硬組織が摘出された。摘出後、線状の不透過像の消失をデンタルX線写真で確認した。次に、1┐1周囲の骨破壊範囲を把握するため、歯科用コーンビームCT撮影をした。┐1の1壁性骨欠損と交通した1┐の根尖部骨吸収があることがわかった。1┐1の歯髄生活反応を確認するとともに、全顎的な歯周治療を続けた。約1年後のデンタルX線写真で、外傷によって生じた1┐の根尖周囲の透過像は消失したものの、初診時に観察された┐1の垂直性骨吸収は残存し、歯槽硬線が消失していた。同部位の歯周ポケットは唇・口蓋側近心部8mmであった。1┐1の歯髄生活反応があることを再確認した。HbA1cは7.0%に改善し、糖尿病が良好にコントロールされていることを確認できたので、歯周外科治療を実施した。┐1近心部は1壁性の垂直性骨欠損で、根面にはセメント質剥離を疑う硬組織を観察できなかった。欠損部の肉芽組織を除去後、リグロス®を塗布し縫合した。採取した肉芽組織の病理組織検査では、線維性結合組織内に微小な硬組織片(セメント質または骨かの判定は困難)が多数散在し、その周囲には細菌の存在を疑う所見を認めた(グラム染色)。術後9か月、1┐1に歯髄生活反応があった。歯周ポケットは最深4mm、歯肉の著しい退縮はなく、デンタルX線写真上で歯槽硬線の明瞭化を認めた。しかしながら、骨頂までの骨再生は認められなかった。

【考察・まとめ】セメント質剥離による┐1の近心の骨吸収が、外傷によって1┐の根尖部までに急速に(約1か月)拡大した。セメント質剥離片を除去したことで外傷によって拡大した骨吸収は改善し、歯髄生活反応の確認の下、不要な根管治療を避けることができた。セメント質剥離がない場合と比べてセメント質剥離がある場合、外傷による歯周組織破壊がより急速かつ広範囲に及ぶ可能性が考えられた。歯周外科治療で採取した肉芽組織内にはセメント質剥離片を疑う微小な硬組織が残存し、その周囲には細菌を認めたことから、セメント質剥離の治療のポイントとして、セメント質剥離片とともに骨欠損部に存在する肉芽組織を完全に除去する必要がある。本症例では歯周組織再生療法を行ったが、垂直的な歯槽骨の増大までは得られておらず、スペースメイキングが必要であったかもしれない。

セメント芽細胞が歯根膜細胞のセメント芽細胞への分化に及ぼす影響の解析

大阪大学 大学院歯学研究科 口腔分子免疫制御学講座 歯周病分子病態学 (口腔治療学教室)

○下村純平、竹立匡秀、沢田啓吾、森本千晶、平井麻絵、
川寄公輔、村田真里、河上和馬、岩山智明、藤原千春、村上伸也

The role of cementoblasts in the differentiation of periodontal ligament cells to cementoblasts

Department of Periodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry

○Junpei Shimomura, Masahide Takedachi, Keigo Sawada, Chiaki Morimoto, Asae Hirai, Kohsuke
Kawasaki, Mari Murata, Kazuma Kawakami, Tomoaki Iwayama, Chiharu Fujihara, Shinya Murakami

[研究目的]

歯周組織の再生過程では、歯根膜細胞が歯周病により破壊された組織欠損部にて増殖、遊走したのち、セメント芽細胞や骨芽細胞に分化することで、組織再生が達成される。興味深いことに、セメント質の再生は、既存セメント質から連続的に形成されることが、これまでの非臨床研究における組織学的解析結果から明らかになっている。

そこで本研究では、セメント芽細胞が歯根膜細胞のセメント芽細胞への分化を制御しているという仮説に基づき、*in vitro* 共培養実験系にて両細胞間の相互作用について検討を行った。また、骨芽細胞分化において juxtacrine 効果が報告されている Wnt に着目し、同細胞間相互作用における役割について解析することを目的とした。

[材料および方法]

ヒト歯根膜細胞 (HPDL) は Lonza 社より購入し、ヒトセメント芽細胞 (HCEM) は広島大学の高田隆先生、北川雅恵先生より供与されたものを実験に供した。レンチウイルスにより HPDL に GFP を遺伝子導入し、この HPDL と HCEM を同一の培養皿で直接的に共培養後、HPDL のみをセルソーターにて分取し、その遺伝子発現を解析することにより、HCEM が HPDL の遺伝子発現に及ぼす影響を検討した。一方、transwell システムを使用して HPDL と HCEM を非接触環境で共培養し、HPDL の遺伝子発現を解析することで HCEM の液性因子が HPDL に及ぼす影響を検討した。HPDL と HCEM の細胞間シグナル伝達機構における Wnt シグナルの役割について解析するために、Wnt シグナル阻害剤である DKK-1 を含有した培地にて HPDL と HCEM を直接的に共培養し、HPDL の遺伝子発現を解析した。また Wnt3a を含有した培地で HPDL を培養し、その遺伝子発現を解析した。

[結果]

HCEM と直接的に共培養した HPDL において、HCEM のみで発現する *IBSP* 遺伝子の発現が誘導された。この *IBSP* 遺伝子の発現は、培養時間及び HCEM 含有比率依存的に上昇した。一方で、transwell システムを使用した間接的共培養では HPDL に *IBSP* 遺伝子の発現は誘導されなかった。また HCEM と直接的に共培養した HPDL において *AXIN2*、*LEF1* 等の Wnt 関連遺伝子の発現が亢進し、DKK-1 は HCEM との共培養により HPDL に誘導される *IBSP* 遺伝子の発現を有意に抑制した。さらに、HPDL を Wnt3a にて刺激することにより、*IBSP* 遺伝子の発現が誘導された。

[考察]

本研究結果より、セメント芽細胞は歯根膜細胞に直接接触することでシグナルを伝達し、歯根膜細胞のセメント芽細胞への分化を誘導していることが示唆された。そして、その分子機序として Wnt シグナルの関与が示唆された。

ヒト歯肉由来血管内皮細胞に対するニコチンと *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide の影響

1. 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科歯周機能治療学 2. 日本歯科大学新潟生命歯学部歯周病学講座
3. 日本歯科大学新潟病院総合診療科 4. 日本歯科大学先端研究センター再生医療学

○佐藤柚香里¹ 丸山昂介² 清水 豊^{2, 3} 両角祐子² 佐藤 聡^{1, 2, 3, 4}

Effect of Nicotine and *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide on Human periodontal gingival Endothelial Cell

1. Periodontology, Graduate School of Life Dentistry at Niigata, The Nippon Dental University
2. Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata
3. Comprehensive Dental Care at Niigata Hospital, The Nippon Dental University
4. Division of Cell Regeneration and Transplantation, The Nippon Dental University

○Yukari Sato¹, Kosuke Maruyama², Yutaka Shimizu^{2,3}, Yuko Morozumi², Soh Sato^{1,2,3,4}

【緒 言】

歯周病は、細菌性プラークによって引き起こされる感染症である。*Porphyromonas gingivalis* (*P.g*) は、慢性歯周炎で高頻度に検出される歯周病原細菌の1つである。*P.g* は、Lipopolysaccharide (LPS)・線毛・ジンジパイン・コラゲナーゼといった病原因子を有している。特に LPS は、炎症性サイトカインの誘導・骨吸収促進などを引き起こし、歯周組織破壊の発症・進展に関与していることが明らかになった。近年では、歯周病がメタボリックシンドローム・誤嚥性肺炎などの全身疾患との関連について重要視されてきた。さらには、歯周病に影響を与えるリスクファクターとして喫煙が注目されている。喫煙時に発生するたばこ煙に含まれるニコチンは、歯肉や口腔粘膜から取り込まれると、血管収縮を引き起こし、微小循環系機能が低下し、歯周組織の免疫応答に影響を及ぼすと考えられている。そのため、歯周病罹患時における喫煙は、歯周病の重症化を招く可能性がある。現在、喫煙と歯周病に関する基礎研究は数多く報告されているが、歯周組織の免疫応答に関与するヒト歯肉由来血管内皮細胞 (HGFEC) へのニコチンの影響について検討した報告はない。そこで本研究は、LPS 添加培地で培養した HGFEC を歯周炎モデルと想定し、ニコチンを曝露させ、HGFEC の生理活性に及ぼす影響について解明することを目的とした。

【材料および方法】

ヒト歯肉細胞は、抜去歯に付着した歯肉組織から獲得した。HGFEC は、獲得したヒト歯肉細胞から、抗 CD31 抗体コーティング・マグネットビーズを用いて分離培養した。HGFEC の培養液は、5 %FBS 含有血管内皮細胞用培養液にニコチン (10^{-8} M) を添加し、さらに *P.g* 由来 LPS (1μg/ml) を添加したものを使用した。評価項目は、細胞増殖、アポトーシス、血管内皮細胞の炎症マーカーである intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) の測定とした。細胞増殖では、培養 1, 2, 4, 6 日に Alamar Blue を用いたミトコンドリア還元染色を行った後に、蛍光プレートリーダーを使用し、蛍光度の測定を行った。アポトーシスでは、フローサイトメトリーを用いて培養 2, 6 日にアポトーシス陽性細胞の割合を解析した。培養 2, 6 日に ICAM-1 の発現を ELISA を用いて解析した。ネガティブコントロールは、ニコチンおよび LPS を添加していないもの(control)とし、ポジティブコントロールは、LPS のみを添加したもの(LPS)とした。対照として、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いた。統計は、一元配置分散分析を行い、Tukey 検定を用いた。本研究は、日本歯科大学新潟生命歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った (許可番号:ECNG-R-391)。

【結 果】

細胞増殖は、培養 2 日から 6 日の間において、増加を認めた。培養 6 日は、control と LPS, control と 10^{-8} M, control と 10^{-8} M+LPS において、細胞増殖の抑制を有意に認めた。アポトーシスは、培養 2 日, 6 日において、アポトーシス陽性細胞の割合に有意差を認めなかった。ELISA は、培養 2 日, 6 日において、ICAM-1 のタンパク質発現量の増加を認めた。培養 2 日は、control と LPS, control と 10^{-8} M+LPS, LPS と 10^{-8} M+LPS, 10^{-8} M と 10^{-8} M+LPS において、ICAM-1 のタンパク質発現量に有意差を認めた。培養 6 日では、control と LPS, control と 10^{-8} M, control と 10^{-8} M+LPS, LPS と 10^{-8} M+LPS, 10^{-8} M と LPS, 10^{-8} M と 10^{-8} M+LPS において、ICAM-1 のタンパク質発現量に有意差を認めた。

【まとめ】

喫煙者の血中ニコチン濃度である 10^{-8} M は、HGFEC のアポトーシスを誘導させず、細胞増殖を抑制させ、炎症マーカーである ICAM-1 の発現を促した。さらに、LPS とニコチンを同時に曝露させた場合は、細胞増殖を抑制させ、ICAM-1 の発現がより促進された。よって、歯周病感染を伴うニコチン摂取は、ニコチン非摂取と比較して、歯肉組織の微小血管における生理活性を抑制し、炎症反応をより亢進させ歯周病の病態悪化につながることが示唆された。

PCR を用いた *Porphyromonas gingivalis* 迅速検出システムの有用性

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 歯周歯内治療学分野
○秋月 皆人, 二宮 雅美, 植村 勇太, 生田 貴久, 成石 浩司, 湯本 浩通

Usefulness of rapid detection system of *Porphyromonas gingivalis* using PCR
Department of Periodontology and Endodontology, Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University
○Minato AKITZUKI, Masami NINOMIYA, Yuta UEMURA, Takahisa IKUTA, Koji NARUISHI,
Hiromichi YUMOTO

【研究目的】

歯周病は、歯周ポケットに形成されるプラーク中の歯周病原細菌が原因となって引き起こされる感染症で、炎症反応が進行した結果、歯周組織が破壊される疾患である。歯周治療の原則は、歯周病を引き起こした原因と増悪させたリスク因子を除去することから、主因である細菌性プラークのコントロールが全ての治療に優先される。口腔内に存在する数百種類の細菌の中でも、特に *Porphyromonas gingivalis* (Pg) は特有の生体等への付着・定着因子である線毛や数種の蛋白分解酵素を有していることから、極めて病原性が高いことが知られている。しかし、これまでの歯周病細菌検査は、唾液やペーパーポイントを用いて採取したプラークを外部業者に送付して行う委託検査によるものが主流で、コスト面の問題に加えて、結果も郵送で 10 日前後を要するため、検査当日に患者への即時的なフィードバックができないなどの課題もある。そこで本研究では、歯周病原細菌である Pg を PCR 法にて、チェアーサイドで 45 分間という短時間で検出できる口腔内細菌検出装置(orcea OR-1000・株式会社オルコア)と検出キット(PG-1000)を使用し、得られた結果を歯周病の臨床検査やこれまでの外部委託による細菌検査と比較検討することで、迅速検出システムの臨床現場での有用性を検討した。

【材料および方法】

本研究は、徳島大学病院医学研究倫理審査委員会の承認(番号 3689)を得て実施した。徳島大学病院・歯周病科を受診し、同意の得られた外来患者(2020 年 8 月時点で 74 名)を対象とし、歯周組織検査である歯周ポケット深さ(PPD), Bleeding on Probing (BOP)や動揺度を調べた。orcea による細菌検査では、患歯の歯間部分や分岐部に歯間ブラシ様の採取器具を挿入(3 往復)してプラークを採取した後、検出キット(PG-1000)を用いて調整し、口腔細菌検出装置(orcea OR-1000)により得られた検出値を記録した。外部委託による細菌検査には、ポケット底までペーパーポイント(#35)を約 10 秒間挿入して歯肉縁下プラークを採取し、サンプル採取したペーパーポイントを郵送にて外部委託検査(PCR Invader 法: BML)に供した。orcea による検出値と臨床検査値や外部委託による細菌検査結果との相関関係について統計解析を行った。

【結果】

PPD と BOP の状態によりグループ分けし、orcea による検出値の平均値を算出した結果、PPD 1-3mm かつ BOP(-) の場合は 843.6, PPD 4-5mm かつ BOP(-) の場合は 1037.5, PPD 4-5mm かつ BOP(+) の場合は 2358.9, PPD 6mm かつ BOP(+) の場合は 3560.5 であった。以前の報告(第 67 回日本口腔衛生学会; 2018 年)では、orcea による検出値(表示最大値: 5000) が 1000 以上の場合、90% が陽性を示したことから、本研究においても 1000 以上を陽性と判断し、PPD と BOP の状態によりグループ分けし、それぞれの陽性率も算出した。陽性率に関しては、PPD 1-3mm・BOP(-) の場合は 10%, PPD 4-5mm・BOP(-) の場合は 38.5%, PPD 4-5mm・BOP(+) の場合は 65.6%, PPD 6mm 以上・BOP(+) の場合は 90.5% であった。さらに、orcea による検出値と外部委託による細菌検査結果(Pg 菌数ならびに Pg 感染率: 総菌数に占める Pg の割合)の間に正の相関関係を認めた。なお、現在も臨床研究は継続しており、学会発表当日には、得られた直近の解析結果を報告する予定である。

【考察】

orcea による Pg 検出値は、PPD や BOP 等の歯周病の病態に関連していることが示唆された。さらに、外部委託による細菌検査結果(Pg 菌数や Pg 感染率)とも相関しており、その有効性が示された。以上の結果より、PCR による歯周病原細菌の迅速検査法は、サンプル採取も低侵襲かつ容易であり、また、歯周病治療時やメンテナンス・SPT 時にチェアーサイドにて歯周病原細菌 Pg の感染状態を即時に判定評価でき、患者への動機付け、TBI、抗生剤などの薬物投与、治療方針の決定や変更に対する一助となる可能性がある。

***Porphyromonas gingivalis* 由来メンブレンベシクルがヒト歯肉上皮細胞に及ぼす影響**

徳島大学大学院医歯薬学研究部歯周歯内治療学分野¹

徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔微生物学分野²

○植村勇太¹, 廣島佑香², 稲垣裕司¹, 湯本浩通¹

Effects of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles on human gingival epithelial cells

¹Department of Periodontology and Endodontology, ²Department of Oral Microbiology, Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University

○Yuta Uemura¹, Yuka Hiroshima², Yuji Inagaki¹, Hiromichi Yumoto¹

【研究目的】

細菌は様々なストレス環境下に置かれたとき、脂質二重膜から構成されるメンブレンベシクル (Outer Membrane Vesicle, 以下 OMV) を産生することが知られている。細菌が産生する OMV は、細菌の最外層構造や核酸、タンパク質、シグナル物質などを含み、細菌の病原性や耐性および生物間相互作用に関与することが報告されている (Kim JH. Semin. Cell Dev Biol. 2015, Ellis TN and Kuehn MJ. Microbiol Mol Biol Rev. 2010)。歯周病の主な病原性細菌の 1 つである *Porphyromonas gingivalis* も恒常的に OMV を産生し、歯周組織を構成する細胞に侵入して、細胞の増殖・分化を抑制することが報告されている (Cecil JD. Front Immunol. 2017, Bartuff JB. J Periodontol. 2005)。さらに、OMV には *P. gingivalis* 由来の様々な病原因子が含まれることが報告 (Liu J. J Proteomics. 2019, Veith PD. J Proteome Res. 2014) されていることから、歯周組織において炎症惹起や組織破壊など様々なダメージを与える可能性があると考えられるが、これまでに OMV が歯周組織に及ぼす影響についてはほとんど報告がなされていない。そこで本研究では、*P. gingivalis* 由来 OMV (Pg-OMV) がヒト歯肉上皮細胞に及ぼす影響とその機構について検討を行った。

【材料と方法】

P. gingivalis ATCC33277 株および gingipain 欠失株 (KDP136 : RGP/KGP 両欠損株) の培養液を遠心分離した上清から Total Exosome Isolation Reagent (Invitrogen) を用いてそれぞれ Pg-OMV および PgKDP-OMV を精製した。また、同様の方法で菌体を含まない培地から精製した試料を Med-OMV とし、Pg-OMV のコントロールとした。市販の *P. gingivalis* 由来リコンビナント LPS (Pg-LPS) のエンドトキシン活性を基準にして、細胞への OMV 添加容量を決定した。Pg-OMV および PgKDP-OMV を不死化したヒト歯肉上皮細胞 (OBA-9 細胞 : 大阪大学・村上伸也教授より恵与) に加えて培養し、通法に従い total RNA を抽出し、さらに培養上清を回収した。炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6 および IL-8) の遺伝子発現は real-time PCR にて、タンパク質産生は ELISA により定量した。また細胞内シグナル伝達経路については、リン酸化をウェスタンブロット法にて検出した。

【結果】

Pg-LPS (100 ng/ml) と同等のエンドトキシン活性を持つ Pg-OMV を OBA-9 細胞に添加した結果、添加 3 時間後の炎症性サイトカイン (IL-1 β , IL-6 および IL-8) の遺伝子発現は Med-OMV と比較して有意に上昇した。一方、細胞上清中のタンパク質発現では、IL-1 β に変化が認められなかったが、IL-6 および IL-8 は Pg-OMV 添加 6 時間後で Med-OMV と比較して有意に増加した。また、Pg-OMV 添加後の炎症性サイトカイン遺伝子発現は Pg-LPS 添加と比べて上昇し、さらに PgKDP-OMV 添加でも同等の発現を示すことが認められた。さらに、Pg-OMV および PgKDP-OMV は、OBA-9 細胞の ERK および JNK のリン酸化を亢進した。

【考察と結論】

ヒト歯肉上皮細胞において、Pg-OMV は Pg-LPS と比較して炎症性サイトカイン発現をより上昇させ、gingipain 欠失株から精製した OMV でも有意に炎症性サイトカイン発現を上昇させた。これらの結果より、Pg-OMV は LPS や gingipain だけでなく、他の病原性因子も含有しており、歯周組織において組織の炎症や破壊に影響を及ぼしていることが示唆された。

研究協力者 : 香川大学医学部医学科分子微生物学 多田彩乃

徳島大学医歯薬学研究部口腔微生物学分野 村上圭史、藤猪英樹

本研究は、徳島大学ダイバーシティ推進共同研究支援により行った。

iPS 細胞から歯根膜幹細胞様細胞への分化誘導能を有する転写因子の同定

¹九州大学 大学院歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野、

²九州大学大学院 歯学研究院 OBT 研究センター、

³九州大学病院 歯内治療科

○杉浦梨紗¹、濱野さゆり^{1,2}、友清淳³、長谷川大学³、吉田晋一郎³、杉井英樹³、前田英史^{1,3}

Identification of a transcription factor capable of inducing differentiation of iPS cells into periodontal ligament stem cell-like cells.

¹⁾Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation,

²⁾OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University,

³⁾Department of Endodontology, Kyushu University Hospital

○Risa Sugiura¹, Sayuri Hamano^{1,2}, Atsushi Tomokiyo³, Daigaku Hasegawa³, Shinichiro Yoshida³, Hideki Sugii³, Hidefumi Maeda^{1,3}

【研究目的】歯根膜幹細胞は、骨、セメント質および歯根膜組織の修復や再生に働くことが知られているが、歯根膜組織中に存在する数は極めて少ない。このため、現在、臨床へ応用できる十分な数の歯根膜幹細胞の獲得が求められている。当研究室では体細胞から樹立可能な iPS 細胞に着目し、iPS 細胞から誘導した神経堤細胞様細胞 (iPS-NC 細胞) を、特定のヒト歯根膜細胞 (HPDLC) 由来の細胞外マトリックス (ECM) 上で培養することで、歯根膜幹細胞様細胞へ分化誘導することに成功した (Hamano et al. 2018)。しかしながら、この HPDLC による分化誘導にかかわる転写因子については明らかになっていない。そこで本研究では、このような転写因子を同定することとした。

【材料および方法】本研究では、同意を得た 2 名の患者の抜去歯牙から得られた歯根膜組織を、10% Fetal Bovine Serum 含有の α -MEM (10%FBS/ α -MEM) にて継代培養し、HPDLC-3U (25 歳女性)、-3S (23 歳男性) として用いた。また、ヒト皮膚線維芽細胞 (SF、理研から購入) を対象群として以下の実験を行った。(1) CAGE 法を用いて HPDLC-3U、-3S、SF における転写因子の網羅的解析を行った。当研究室では既に、HPDLC-3U と比較し、HPDLC-3S および SF 由来の ECM は、歯根膜幹細胞様細胞への分化誘導能が低いことを明らかにしている (第 145 回学会秋季学術大会にて発表)。そこで、HPDLC-3U において有意に発現が高い転写因子 X を抽出した。次に、(2) 転写因子 X の siRNA を導入した HPDLC-3U の ECM 上に、iPS-NC 細胞を 2 週間培養し、得られた細胞の歯根膜関連因子 (Periostin, Osteoprotegerin, Type1 collagen, Periodontal ligament-associated protein 1) の遺伝子発現解析を定量的 RT-PCR を用いて行った。さらに、(3) pcDNATM6.2-DEST Mammalian Expression Vector (Thermo Fisher Scientific K.K.) に転写因子 X の coding sequence を組み込み、転写因子 X の発現ベクターを作製した。この発現ベクターを歯根膜幹細胞誘導能の低いヒト歯根膜細胞株 (2-23 細胞) に導入し、Western blotting 法を用いてタンパク発現を確認した。次に、この 2-23 細胞の ECM 上で、iPS-NC 細胞を培養し、得られた細胞の歯根膜関連因子の遺伝子発現解析を行った。なお本研究は九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得て、患者の同意の上で行った。

【結果】(1) HPDLC-3U における転写因子 X の発現は、SF の約 40 倍、HPDLC-3S の約 5 倍であった。(2) 転写因子 X の siRNA を導入した HPDLC-3U の ECM 上で iPS-NC 細胞を培養した結果、歯根膜関連因子の遺伝子発現が有意に低下した。(3) 転写因子 X を過剰発現させた 2-23 細胞においてタンパク発現の上昇を確認した。この 2-23 細胞の ECM 上で培養した iPS-NC 細胞では、コントロールと比較して歯根膜関連因子の遺伝子発現が促進した。

【考察】転写因子 X をノックダウンした HPDLC の ECM は、iPS-NC 細胞から歯根膜幹細胞様細胞への分化誘導能を低下させることが示唆された。一方、転写因子 X を過剰発現させたヒト歯根膜細胞株の ECM は、iPS-NC 細胞を歯根膜幹細胞様細胞へと分化誘導することが示唆された。以上のことから転写因子 X は、iPS-NC 細胞から歯根膜幹細胞様細胞への分化誘導能を有した ECM の発現を制御する可能性があることが示唆された。

多孔性ナノゲル架橋ハイブリッドゲルによる配向性を有する骨組織の再生

京都府立医科大学大学院医学研究科歯科口腔科学

○足立 哲也, 宮本 奈生, 足立 圭司, 山本 俊郎, 金村 成智

Oriented Bone Regeneration by nanogel-crosslinked porous gel

Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine

○Tetsuya Adachi, Nao Miyamoto, Keiji Adachi, Toshiro Yamamoto, Narisato Kanamura

(研究目的)

超高齢社会を迎えた我が国では、歯周病による歯槽骨吸収に対して間葉系幹細胞と足場材料を用いた歯周組織再生治療が期待されてきている。骨再生医療を確実に行うには、硬さとしなやかさを兼ねそろえた良質の骨組織を構築し、移植する必要がある。しかし、これまでの骨再生治療は、再生骨組織の骨質（生体アパタイトの配向性やコラーゲン架橋等）についてはあまり着目されてこなかった。

我々は多糖プルラン由来微粒子であるナノゲルを集積し、組織化することで新規足場材料“多孔性ナノゲル架橋ハイブリッドゲル (FD-gel : freeze-dry nanogel-crosslinked-porous gel)”を開発した。さらに、FD-gel 上で培養した骨芽細胞は結晶性の高いハイドロキシアパタイト (HAP) を形成することを見出した。本研究は、FD-gel を用いた細胞移植が新たな骨再生医療の基盤技術になり得るか検討した。

(方法)

我々の研究グループは、新規足場材料として天然多糖プルラン由来の FD-gel を開発した (佐藤等, Sci Rep. 2018)。本研究では、マウス間葉系幹細胞株 KUSA-A1 を FD-gel および市販されているウシ皮由来の Atelocollagen (AC) 上に播種し、骨誘導条件にて 3 次元培養した。1 週間後、足場材料の石灰化の状態や骨質を評価するため、様々な分光学的解析 (ラマン分光解析、カソードルミネッセンス解析、エネルギー分散 X 線解析) を行った。

(結果)

カソードルミネッセンス解析により、FD-gel 上では配向性を有する六方晶系の生体アパタイトの構築されるのを確認した。エネルギー分散 X 線解析では、FD-gel 上では AC よりも高い Ca と P のピークが普遍的に検出された。またラマン分光法では、HAP に帰属する $\nu_1\text{PO}_4^{3-}$ (960cm^{-1}) の鋭いピークが確認され、FD-gel は AC と比較して結晶性の高い HAP を構築できることが示された。

(考察)

FD-gel はその表面の化学的性状により、HAP 結晶の成長を強い力学機能を発揮する c 軸方向へ促すと考えられる。また、ラマン分光法やカソードルミネッセンスといった分光学的解析法を用いることで、これまで解析が困難だった骨質 (HAP 結晶性や配向性) を評価することが可能となった。FD-gel は、AC と比較して結晶配向性の高い剛性と弾性を併せ持つ再生骨組織の構築を誘導することから、骨質の低下した有病者や高齢者に対して、良質の骨組織を再生することが期待される。

(参考文献)

1. Fujii H, **Adachi T** et al. Cancer Science. 2014
2. Horiguchi S, **Adachi T** et al. Materials Science and Engineering C. 2019

Decorin が未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響

¹九州大学 大学院歯学研究院 歯科保存学研究分野、²九州大学病院 歯内治療科、

³九州大学 大学院歯学研究院 OBT 研究センター

○足立織利恵¹、杉井英樹¹、糸山知宏¹、友清淳²、濱野さゆり^{1,3}、長谷川大学²、吉田晋一郎²、Mhd Safwan Albougha¹、前田英史^{1,2}

The effect of decorin on the osteoblastic differentiation of immature human periodontal ligament cells

¹ Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ² Department of Endodontology, Kyushu University Hospital, ³OBT Research Center, Faculty of Dental Science, Kyushu University

○Ori Adachi¹, Hideki Sugii¹, Tomohiro Itoyama¹, Atsushi Tomokiyo², Sayuri Hamano^{1,3}, Daigaku Hasegawa², Shinichiro Yoshida², Mhd Safwan Albougha¹, Hidefumi Maeda^{1,2}

【研究目的】重度のう蝕、歯周炎、外傷等によって生じる歯周組織の欠損は、歯の喪失を引き起こす。そのため、歯根膜、骨、およびセメント質を含む歯周組織の治癒および再生を促す因子の開発が求められている。組織再生のためには、細胞、足場材、そして成長因子が必要であるとされているが、これまでに Decorin を含有した足場材が、骨折部における血管新生および骨の治癒を促進するという報告がされている。Decorin は、細胞外マトリックスの成分で、プロテオグリカンの一種である。その機能として、コラーゲン線維形成、創傷治癒、骨形成等に重要な働きを持つ分子であることが報告されている。しかしながら、Decorin が歯根膜を含む歯周組織に及ぼす影響については未だ明らかにされていない。そこで本研究では、歯周組織傷害部位における Decorin の発現様式、および Decorin が未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響について検討することとした。

【材料および方法】(1)歯周組織傷害部位における Decorin の発現について検討するために、SD ラット (5 週齢、雄性) の上顎左側第一臼歯口蓋側の歯根膜を含む歯周組織に直径 2 mm の傷害を与え、3 日後に抗 Decorin 抗体を用いて免疫蛍光染色を行った。(2)Decorin が未分化なヒト歯根膜細胞の骨芽細胞様分化に及ぼす影響を解析するために、当研究室にて樹立した未分化なヒト歯根膜細胞株 (2-23 細胞株; Hasegawa et al, 2018) を用いて以下の実験を行った。Decorin コーティング (0.5 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL) を行った 24-well plate 上で、石灰化誘導培地 (1.5 mM CaCl₂ 含有 10%FBS/αMEM) を用いて 2 週間培養した 2-23 細胞株における石灰化を、Alizarin-red S 染色法にて検討した。さらに、同条件下で 7 日間培養した 2-23 細胞株における骨関連遺伝子 bone morphogenetic protein-2, bone sialoprotein, osteocalcin, osteopontin の発現を、定量的 RT-PCR 法にて解析した。なお、本研究は九州大学遺伝子組み換え実験安全委員会 (承認番号: 27-76) および九州大学動物実験委員会 (承認番号: A19-306-0) の承認を得て実施された。

【結果】(1)傷害を与えたラット歯周組織の傷害部位およびその周囲の組織において、非傷害部位と比較して抗 Decorin 抗体の陽性反応の亢進を認めた。(2)Decorin をコーティングした 24-well plate 上で石灰化誘導培地にて培養した 2-23 細胞株では、非コーティング群と比較して Alizarin-red S 陽性反応が濃度依存的に上昇傾向を示し、2 µg/mL コーティング群で有意差を認めた。また、同様に 2 µg/mL コーティング群で、骨関連遺伝子発現が有意に上昇した。

【考察】本研究の結果から、歯周組織の炎症状態で Decorin の発現が促進することが示唆された。さらに、Decorin が未分化な歯根膜細胞の骨芽細胞様分化を促進することが示唆された。

【結論】(1)傷害を受けたラット歯周組織において Decorin の発現が上昇した。(2) Decorin は 2-23 細胞株の石灰化および骨関連遺伝子の発現を亢進した。

歯周病原菌代謝産物である酪酸が歯周組織に与える影響について

- 1) 京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学, 2) 三菱京都病院 歯科・口腔外科,
3) 京都中部総合医療センター 歯科・歯科口腔外科

○中川 真希¹, 白杉 迪洋^{1,2}, 大迫 文重¹, 雨宮 傑^{1,3}, 山本 俊郎¹, 金村 成智¹

Effects of butyric acid produced as a metabolite by periodontopathic bacteria on periodontal tissues.

- 1) Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science
2) Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Mitsubishi Kyoto Hospital
3) Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kyoto chubu medical center
○Maki Nakagawa¹, Michihiro Shirasugi^{1,2}, Fumishige Oseko¹, Takeshi Amemiya^{1,3}, Toshiro Yamamoto¹,
Narisato Kanamura¹

【目的】

歯周病原菌である *Porphyromonas gingivalis* や *Fusobacterium nucleatum* は代謝産物として多量の酪酸を産生する。酪酸は主に歯周ポケットにて増殖する歯周病原嫌気性菌によって産生されるため、歯周組織へ直接影響し、歯周病病態進行へ関与していることが考えられる。これまでに歯周病病態の進行により、歯周組織における酪酸濃度が上昇することが報告されているが、酪酸と病態進行の直接的な関係性については不明な点が多い。歯周病の進行には炎症性サイトカインなどの炎症性の反応だけでなく、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) 等のプロテアーゼが寄与していることが知られている。さらに歯周組織で産生された MMPs は関節リウマチや癌浸潤等の全身疾患とも相互関係にある可能性が報告されている。そのため、歯周組織で産生される MMPs は歯周病の進行および全身疾患に影響を与える重要な存在である。そこで本研究では、酪酸刺激がヒト歯肉線維芽細胞へ与える影響について MMPs 産生に着目し解析を行った。

【材料と方法】

正常ヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) は D-MEM (10% FBS 添加) で培養維持し、3-10 継代以内のものを実験に供した。HGFs に各濃度酪酸 (0, 1, 5, 10, 15mM) を曝露させ、以下の評価をおこなった。WST assay にて生細胞数の測定、酪酸が HGFs の mRNA 発現に及ぼす影響について MMP-1, 2, 3, 9, 10, TIMP-1, 2 を対象にしてリアルタイム RT-PCR を行った。培養上清中への MMP-1, 3, 10, TIMP-1, 2 タンパク質産生について ELISA 解析を行った。MMP-3, 10 タンパク質産生の評価については Western blotting も行った。さらにザイモグラフィを用いて、培養上清中の MMP-3, 10 活性について評価をおこなった。また、培養上清中のトータル MMPs 活性について SensoLyte (R) 520 Generic assay kit を用いて解析を行った。

【結果】

HGFs の増殖は酪酸濃度依存的に抑制された。酪酸刺激により HGFs の MMP-1, 3, 10, TIMP-1, 2 mRNA 発現量の亢進を認めた。また、培養上清中に MMP-1, 3, 10 タンパク質産生量の亢進を認めた。このタンパク質産生量は歯周病患者から検出される MMP-3 濃度と近似していた。一方で、TIMP-1, 2 は mRNA 発現の亢進は認めるものの、培養上清中へのタンパク質産生は認めなかった。また MMPs 活性についても、高濃度酪酸刺激群で活性の亢進が見られた。

【結論】

高濃度酪酸を長期間曝露させることにより、HGFs の MMP-3, 10 産生及び酵素活性の亢進を認めた。酪酸は HGFs の生細胞数を低下させることにより歯周組織を直接破壊するだけでなく、HGFs の MMPs 産生・活性を過剰に亢進することによっても歯周組織の破壊に寄与していることが示唆された。この産生過剰に産生された MMPs が関節リウマチ等の全身疾患に影響を及ぼす可能性も考えられる。今後さらに酪酸が歯周組織に与える影響について解析することにより、酪酸をターゲットとした歯周病の新規治療や全身疾患の予防法確立に貢献できる可能性がある。

審美を希望して歯科医院を来院した患者における 生活習慣及び口腔内状況と歯周病原細菌の関連に関する年齢別解析

- 1) ホワイトエッセンス株式会社 ヘルスケア事業部
- 2) 東京医科歯科大学大学院 歯学総合研究科 歯周病学分野
- 3) 総合南東北病院 オーラルケア・ペリオセンター
○中畑亜加音¹⁾、浅木隆夫¹⁾、和泉雄一²⁾³⁾

Age-based analysis of the relationship between lifestyle habits and oral conditions and periodontopathic bacteria in patients who visited dental clinics for the purpose of esthetics

- 1) WHITE ESSENCE CO., LTD.
- 2) Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences,
Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
- 3) Oral Care and Perio Center, Southern TOHOKU General Hospital
○Akane Nakahata¹⁾, Takao Asaki¹⁾, Yuichi Izumi²⁾³⁾

【背景・目的】

歯周病は年齢と共に発症リスクが上がる事が知られているが、加齢によるリスクと共に、年代別で見た生活習慣や口腔内の状況が歯周病原細菌の増殖にどのような影響をもたらすかは不明な点も多い。

歯のホワイトニング・自費のクリーニングをフランチャイズ展開するホワイトエッセンスでは、歯周病原細菌のひとつである *Porphyromonas gingivalis* (以下、P.g) を遺伝子検査で検出する「歯周病菌 DNA 検査」を、歯周病予防を目的としたメニューとして展開している。この被験者について、年齢による P.g への影響を昨年度の日本歯科保存学会 (日本歯科保存学会 2019 年度秋季学術大会 (第 151 回)) にて発表した。今回は更に被験者の人数を増やし、各年代別において、喫煙や肥満などの生活習慣病に繋がると言われている問診項目、唾液潜血検査による口腔内状況が、P.g 数にどう影響しているかを解析することを目的とした。

【材料・方法】

ホワイトエッセンス加盟医院に来院し、ホワイトエッセンスメニューである歯周病菌 DNA 検査 (対象菌種:P.g) を受諾・実施した被験者 2,256 名を対象とした。これら 2,256 名について、DNA 検査結果、問診情報 (年齢・肥満・喫煙習慣の有無)、唾液潜血検査結果 (ペリオスクリーン、サンスター社) を使用した。唾液中 P.g 数は、ガム咀嚼による刺激唾液と検体保存液 (DNA/RNA Shield (2X concentrate)、ZYMO Research 社) の混合物から DNA を抽出し、リアルタイム PCR 法により算出した値を使用した。唾液 1ml 中の P.g 数が 10,000 以上を「陽性」、10,000 未満を「陰性」として判定した。統計学的解析は、SPSS software を用いて Wilcoxon signed rank test を使用し、有意水準 0.05 の条件で解析を行った。検査結果を含む全ての情報は、既に連結不可能で匿名化され抽出した情報のみを用いて解析を行った。なお、歯周病菌 DNA 検査の受諾者からは、インフォームド・コンセントを受け検査を行っている。

【結果】

20-30 歳代、40-50 歳代、60 歳代以上の 3 つの年代層に分けて解析を実施した。肥満と指摘されていると問診票で回答した被験者は、そうでない被験者に比べ、40-50 歳代において有意に P.g 数が多いことが示された。一方、30 歳代以下及び 60 歳代以上では有意差は確認されなかった。喫煙習慣があると回答した被験者においては、喫煙習慣がないと回答した被験者に比べ、どの年代でも P.g 数が有意に多いことが示された。また、ペリオスクリーンでの唾液潜血検査が陽性となった被験者では、陰性被験者に比較し、40-50 歳代及び 60 歳代以上の被験者で有意に P.g 数が多い結果となった。

【考察】

喫煙習慣の有無による P.g への影響は、どの年代でも有意差が示されたことから、喫煙習慣は年齢に関わらず P.g 数を増加させるリスクファクターになる可能性が示唆された。また、唾液中潜血の有無は、40-50 歳代、60 歳代以上の年代で P.g へ有意差をもたらしたことから、唾液潜血は 40 代以上の中高年において P.g への影響をもたらす可能性が考えられる。肥満と P.g の関連では、40-50 歳代のみ有意差が確認されたことから、この年代での影響が高い可能性が考えられるが、今後被験者数を増やし解析を進めることで、他年代における傾向もより明らかになるのではないかと考えられる。

顎関節症を伴う歯内・歯周病変に対する歯周組織再生療法の一症例

- 1) 医療法人社団 内剛会 内田歯科医院 2) 川崎市歯科医師会 3) 鶴見大学歯学部歯周病学講座
○内田 剛也^{1), 2), 3)} 渡辺 寿邦¹⁾ 武笠 広伸¹⁾ 星野 淳一郎²⁾ 掛川 文子^{2), 3)} 五味 一博³⁾

Preiodontal Regenerative Therapy for Combined periodontic-endodontic Lesions with Temporomandibular Joint Disorder :A Case Report.

- 1)Uchida Dental Clinic, 2)Kawasaki Dental Association 3)Tsurumi University School of Dental
Medicine, Department Periodontology,
○Takeya Uchida^{1), 2), 3)}, Hisakuni Watanabe¹⁾, Hironobu Mukasa¹⁾, Hoshino Junichiro²⁾,
Ayako Kakegawa^{2, 3)}, Kazuhiro Gomi³⁾

キーワード：顎関節症、咬合性外傷、歯内・歯周病変、歯周組織再生療法

【はじめに】矯正治療で47部に移動した48の右側顎関節症に起因する外傷性咬合による歯内・歯周病変に対し、歯周組織再生療法を行い良好な結果の得られた一症例の術後2年を報告する。

【初診】2017年1月7日 35歳 女性

48の違和感とブラッシング時の出血を主訴に来院

【診査・検査所見】47の歯根破折による抜歯後に、矯正治療により47部に移動された48の頬側には8mmの歯周ポケットと著大な歯槽骨吸収を認め、他院で根管治療後に予後不良のため抜歯の判定を受けた。右側顎関節には相反性クリックが存在した。

【診断】咬合性外傷および48歯内・歯周病変Ⅲ型

【治療計画】1)歯周基本治療と顎関節治療、2)再評価、3)歯周組織再生療法、4)再評価、5)口腔機能回復治療、6)SPT

【治療経過】右側顎関節の復位性関節円板障害のために右側顎関節が負担するべき咬合力が48に外傷性咬合として荷重負担となっていることから、顎関節治療と歯周基本治療を並行して開始した。2017年6月に角化歯肉獲得のための遊離歯肉移植を行い2017年8月と2018年3月に歯周組織再生療法を行い、2018年12月よりSPT開始した。

【考察・まとめ】右側顎関節症の影響による咬合性外傷を有する48に対し顎関節治療と歯周組織再生療法を行い良好な結果を得た。顎関節症が歯周病の進行に直接関連しているという報告はないが、顎関節症が原因で咬合の不調和を生じ、局所的な外傷性咬合を生じた結果、歯内・歯周病変を生じ、重度の歯周組織破壊に進行してしまう可能性は否定出来ないと感じた。

イヌ歯根膜細胞を用いた炭酸アパタイトの歯周領域における有用性評価

株式会社ジーシー

○北村 和, 山中 克之, 伏島 歩登志

Evaluation of carbonate apatite in periodontal region using dog periodontal ligament cells.

GC Corporation

○Nagomi Kitamura, Katsuyuki Yamanaka, Futoshi Fusejima

【目的】

生体骨の70%は無機成分であり、炭酸基を4-8%含む炭酸アパタイト(CO₃Ap)である。我々はCO₃Apに着目し、合成CO₃Ap製人工骨の開発を進め、治験で有効性(骨の形成)・安全性を確認した¹⁾。2017年には本邦初となるインプラント適応を含む歯科領域(歯周外科・口腔外科)で適用可能な人工骨(サイトランスグラニュール)として薬事承認された。サイトランスグラニュールの歯周外科での有用性については、イヌ歯周欠損モデルにおいてCO₃Ap群で歯槽骨及び歯根膜、セメント質の再生を認め、またアンキローシスがなかったとの報告²⁾がなされている。しかし、CO₃Apが歯根膜細胞と接した際の影響については検証されていない。そこで、本研究では、CO₃Ap上での歯根膜細胞の挙動を確認する目的で、CO₃Apディスク上での歯根膜細胞の増殖・伸展の挙動を評価したので報告する。

【材料と方法】

CO₃ApディスクはCO₃Ap製人工骨と同じく石川らの方法である炭酸カルシウムを前駆体とした溶解析出反応を用いて作製した³⁾。CO₃Apディスクの構造はXRD, IRにて分析し、CO₃Ap製人工骨と比較評価した。

イヌ歯根膜細胞はビーグル抜去歯より採取した歯根膜組織を1mg/mlコラゲナーゼ溶液にて処理した後、10%FBS含有αMEM培地にて培養することにより得た。ディスクは培地5mlに7日間浸漬した群と未処理群を比較した。各ディスクにイヌ歯根膜細胞を播種(20,000 cell/cm²)し、1, 4, 7日後に10%中性ホルマリンで固定し、細胞核をHoechst 33342にて染色して蛍光顕微鏡で細胞数を計測した。また、Rhodamine Phalloidinを用いてアクチン線維を染色し、蛍光顕微鏡で細胞形態を観察した。

【結果と考察】

XRDの結果、CO₃ApディスクはCO₃Ap製人工骨と同様のスペクトルを示し、アパタイト構造を有することが確認された。IR分析の結果、CO₃ApディスクはCO₃Ap製人工骨と同様に炭酸基のピークを示した。以上の結果より、CO₃ApディスクはCO₃Ap製人工骨と同じく炭酸基を含むアパタイトであることが確認された。

イヌ歯根膜細胞の培養試験では、未処理群で細胞が増殖しなかったのに対し、培地5mlに7日間浸漬した群では、経時的に細胞が増殖し、培養7日後の細胞数は培養1日目の約5倍に増殖した。未処理群で細胞が増殖しなかったことについて、ハイドロキシアパタイトやCO₃Apは、培養液中のイオンやタンパク質を吸着することで細胞の増殖に影響を与えるとの報告⁴⁾があり、その影響で細胞が増殖しなかったと考えられる。また、比較対照とした細胞培養プレートの培養7日後の細胞数は培養1日目の約1.5倍であったため、CO₃Apディスクと比較して約1/3しか増殖しなかった。また、アクチン染色した細胞観察結果では、CO₃Apディスク上で培養されたイヌ歯根膜細胞の方が細胞培養プレートと比較して伸展している像を認めた(Figure)。以上の結果より、イヌ歯根膜細胞は培養器材や前処理条件の違いにより、増殖・伸展挙動が異なることが示された。CO₃Ap上では骨関連細胞の増殖・分化の促進に注目されがちであるが、歯根膜細胞に対しても増殖・伸展を支持することを示す結果となった。CO₃Ap埋植部では骨形成だけでなく、歯根膜組織の再生も促されるものと推察される。

【結論】

CO₃Apは歯根膜を含む歯周組織の再生に有用である理由として、CO₃Apが歯根膜細胞の増殖・伸展を補助することが一つの要因であることが示唆された。

【文献】

- 1) Kudoh K et al., *J Oral Maxillofac Surg.*, 2019; 77(5):985.
- 2) Sato N et al., *Dent Mater J.* 2020; 39(2):309-318
- 3) Ishikawa K et al., *Materials*, 3, 1138(2010).
- 4) Ishikawa I et al., *YAKUGAKU ZASSHI*, 129(3), 381-384 (2009)

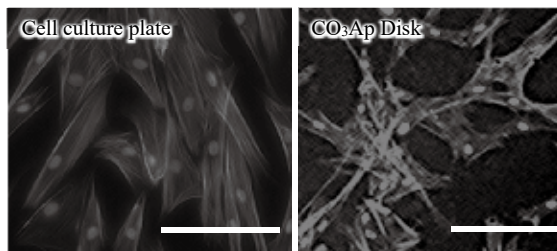


Fig. Fluorescence microscope image (Bar:100μm)

***P. gingivalis* LPS 存在下でのグルコース濃度がヒト骨髄間葉系細胞の硬組織分化に及ぼす影響**

大阪歯科大学 歯周病学講座

○武 慶超, 山脇 勲, 田口 洋一郎, 塩見 慧, 嘉藤弘仁, 中田貴也, 高橋貫之, 梅田 誠

Effect of glucose concentration in the presence of *P. gingivalis* LPS on hard tissue differentiation of human bone marrow mesenchymal cells

Department of Periodontology, Osaka Dental University

○Wu Qingchao, Yamawaki Isao, Taguchi Yoichiro, Shiomori Kei, Kato Hirohito, Nakata Takaya, Takahashi Tsurayuki, Umeda Makoto

【目的】糖尿病 (DM) は歯周病と最も関わりのある生活習慣病の一つで、DM 患者は、健康な人と比べ歯の喪失リスクが高くなると報告されている。DM は歯槽骨吸収が起こる慢性歯周炎のリスクと重症度を高め、慢性炎症は DM および DM 関連の合併症の発症や進展に寄与するといわれている。高血糖は DM の特徴であり、炎症性サイトカインの発現を上昇させることにより持続的な炎症に寄与する可能性がある。しかし、慢性歯周炎において *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide (*P. gingivalis* LPS) による刺激で DM が及ぼすメカニズムは不明のままである。ヒト骨芽細胞の硬組織分化に対する高グルコース濃度の効果を評価するために行われた研究の結果は、硬組織分化を促進するものもあれば、減退させるものもある。本研究では、*P. gingivalis* LPS による刺激下で、ヒト骨髄間葉系細胞における硬組織分化および炎症性サイトカインに対する高グルコース濃度の影響を明らかにするため、ヒト骨髄間葉系細胞に歯周病原細菌である *P. gingivalis* の LPS を持続的に投与し、培養液中のグルコース濃度による硬組織形成に及ぼす影響を検討した。

【材料と方法】空腹時血糖値を参考に、通常グルコース群 (5.5mM)、コントロールされた糖尿病患者群 (8.0mM)、非コントロール糖尿病患者群 (12mM, 24mM) の 4 群に濃度調整した培養液に、*P. gingivalis* LPS を 1.0μg/mL 添加し硬組織分化誘導を行った。その後培養 1, 2 週目の Alkaline phosphatase (ALP) 活性と炎症性サイトカイン発現、培養 3, 4 週目の Osteocalcin (OCN) 産生、細胞外マトリックスへの Calcium (Ca) の析出について測定し硬組織形成の検討を行った。

【結果と考察】12mM と 24mM の高濃度のグルコース添加では細胞増殖を増加させたが、ALP 活性は 12mM および 24mM の高濃度のグルコースでは減少することを示した。さらに、OCN 産生量と Ca 析出量は 24mM のグルコース濃度で減少した。炎症性サイトカイン (IL-1, IL-6 および IL-8) の発現量は 8.0mM および 12mM のグルコース濃度で減少し、24mM のグルコース濃度では増加した。また、硬組織形成に関わる転写因子である Runx2 の遺伝子発現量は 12mM のグルコース濃度では著明に増加したが、24mM のグルコース濃度になると急激に減少した。高濃度グルコース培養では、細胞増殖において *P. gingivalis* LPS による刺激下で細胞増殖を促進した。ただし高グルコース濃度下で急激に酸化ストレスが上昇すると、細胞毒性が増加し骨芽細胞の細胞内シグナル伝達を阻害されることによって、ALP 活性と OCN 産生量は 24mM のグルコース濃度で低下したと考えられます。

OCN 産生は高濃度グルコースによって通常増加し、OCN 産生が増加することで Ca 析出量も増加すると報告されている。しかし本研究では、*P. gingivalis* LPS による刺激によって OCN 産生量が抑制されることで、高濃度グルコース培養下においても Ca 析出量が減少した。また Runx2 の発現は、骨芽細胞へのグルコースの取り込みを促進しさらに OCN を生成すると言われているが、細胞周囲のグルコース濃度が高すぎたため細胞へのグルコース取り込みが減少し Runx2 の発現が減少したと考えられる。炎症性サイトカインの発現は、8.0mM および 12mM のグルコース濃度で減少した。BMMCs が 12mM という高濃度のグルコースを摂取され細胞活性を促進したが、24mM のグルコース添加により酸化ストレスが急激に上昇し、細胞毒性を高め炎症性サイトカインが増加したと考えられる。

【結論】*P. gingivalis* LPS 存在下において高濃度のグルコース状態ではヒト骨髄間葉系細胞の硬組織形成に悪影響を及ぼすが、高濃度であるがコントロールしている状態では、正常に硬組織を形成することができることが示唆される。

数値計算手法を用いた歯科用エアタービンの空力音響解析

大阪大学大学院 歯学研究科 口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学教室)¹
神戸大学大学院 システム情報学研究科 計算科学基礎講座 (計算流体研究室)²
大阪大学 歯学部附属病院 医療情報室³
○山田 朋美¹、李 崇綱²、野崎 一徳³、坪倉 誠²、林 美加子¹

Aeroacoustic noise prediction of a dental air-turbine using a high performance computing framework

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry¹

Department of Computational Science, Kobe University²

Division of Medical Information, Osaka University Dental Hospital³

○YAMADA Tomomi¹, LI ChungGang², NOZAKI Kazunori³, TSUBOKURA Makoto² and HAYASHI Mikako¹

【研究背景および目的】

歯科用エアタービンハンドピースの音は、歯科治療を代表する音である。多くの患者が歯科用エアタービンの音を不快に感じており、エアタービン音に不安や恐れを感じる患者は歯科治療を避ける傾向がある[1]。歯科用エアタービン内部のインペラー(羽根)は圧縮空気により回転するため、エアタービンの内部及び周囲には高速の空気の流れが生まれる。近年、様々な分野でスーパーコンピュータを用いた大規模な空力シミュレーションが行われている。空力シミュレーションでは、周囲の空間を細かい格子で区切り、各格子に出入りする空気の質量、運動量、エネルギーに関する式を立て、セルの数に比例する未知数を含む連立方程式を数値計算により解くことで、空気の流れを可視化し、開発に必要な評価等に役立てている[2]。歯科用エアタービンの空力音響解析ができれば、騒音発生のメカニズムの理解に役立ち、患者のための快適な音環境作りへ役立てることが期待できる。しかし300,000rpmを超える高速回転体の数値計算は簡単ではない。本発表では、歯科用エアタービンの内部および周囲の空力シミュレーションを高度な計測環境を構築する数値計算手法を用いて実現したので報告する。

【方法】

本研究では、産業用CTスキャンサービス(株式会社JMC, 装置: phoenix v|tome|x m300)により取得した歯科用エアタービンハンドピースのSTLデータをもとに、複雑な形状を計算モデルとして高精度に再現した。計算前の格子の作成にかかる時間を大幅に短縮し実環境における高速の乱流場の計算を進めるために、坪倉らが開発した新たなソフトウェアである階層直交格子フレームワーク CUBE を用いた。インペラー周辺の空間を0.025 mmの格子で区切り、1億セル以上の要素格子に対し高速回転運動と時間変化に対応する大規模計算を行った。数値計算による空力音響解析の精度を確かめるために、大阪大学歯学部附属病院の診療室にて歯科用エアタービン音の実測実験を行い、スペクトラムの特徴周波数を比較した。

【結果と考察】

歯科用タービン内部の複雑な形状のインペラー周囲およびタービンヘッド部を中心とする空力音響変動を予測した音圧分布シミュレーションに成功した。実測実験としてヘッド前方10センチの位置に設置したマイクロホンに収録した音の周波数解析により得られた特徴周波数値と、数値計算により予測した同部位の特徴周波数値はほぼ一致した結果となり、数値計算手法による予測精度が高いことが確認できた。数値計算に必要な格子を細かくしようとすれば計算性能の高いコンピュータを用いても膨大なリソースと時間が必要になるが、今回格子生成時間や計算資源を大幅に短縮しながら高精度に予測できるように構築したフレームワークが有効であることも確認できた。今後、歯科を受診する患者にとっての音環境改善のための研究に活かしていく予定である。

[1] Yamada, Kuwano, Ebisu. A questionnaire survey on the effect of the sound of dental drills on the feeling of patients in dental clinics. <https://doi.org/10.1250/ast.27.305>

[2] 理化学研究所 計算科学研究センター, 自動車の開発とスパコン.
<https://www.r-ccs.riken.jp/r-ccs/website/wp-content/uploads/2018/03/postk-jidousha.pdf>

本研究は、JSPS 科研費 基盤研究 (C) (一般) 19K10148 および大阪大学 研究大学強化促進費補助金 (異分野融合研究形成支援プログラム) の助成を受けて行ったものである。

研修医キャリア教育における資格保有の一考察 第5報 (Matching 合格へ導いた3例目)

奥羽大学歯学部口腔衛生学講座¹⁾、歯科保存学講座²⁾
○車田文雄¹⁾、佐藤穂子²⁾、佐々木重夫²⁾、山田嘉重²⁾、木村裕一²⁾

A study Dental intern of career education qualification —Part 5—(Third case that led to matching pass)

Dept. Preventive Dentistry and Conservative Dentistry OHU University School of Dentistry
○Fumio KURUMADA, Yasuko SATOH, Shigeo SASAKI, Yoshishige YAMADA, Yuichi KIMURA

【緒言】

先の152回本学会において、学生のキャリア教育の際に、キャリアコンサルタント国家資格を有する歯科医師(教員)が実施した学生の希望する研修医施設マッチング合格に向けての目標と対策、すなわち先事例では自衛隊歯科医官(初任実務研修)採用のための国家公務員試験(学科+面接試験)成功例のプロセスの二例目を報告したが、今回は、その3例目について希望研修施設においての具体的なキャリアデザインを描いて貰い、一次合格(現時点)までのコンサルティングをキャリアコンサルタント(歯科医師)が行い、その道程を考察したのでここに報告する。

【方法】(152回本学会の【方法】に準拠)

- ① 5年次院内生へ上記試験に関するキャリアガイダンスの実施。(自衛隊○○地方協力本部○○地域事務所所員：幹部自衛官からのアナウンス)。リクルーターとして母校卒の歯科医官および演者(元・歯科医官)からの説明。
- ② キャリアガイダンス終了後、入隊希望者への意思確認。(陸上・海上・航空自衛隊からの選択：各々、自衛隊中央委病院、横須賀病院、岐阜病院→入間病院+防衛医科大学校病院歯科口腔外科の研修施設選択を決める。)
- ③ 6年次の5月中旬の一次試験(筆記試験：国数理社英の国家公務員特別職・多岐選択問題および論述試験：専門科目)に向けて、約二か月間で合格可能なレベルに達するような指導。(過去問題を含めた傾向と対策)
- ④ 同年6月中旬の二次試験(面接試験+身体検査)に向けて、約一週間で合格可能なレベルに達するような指導。(模擬面接のロールプレイを含めた傾向と対策)及び心身の自己管理(一次試験前からセルフコントロール)。
- ⑤ 上記合格者(同年9月上旬発表)に対して、キャリア(自衛隊歯科医官の職歴)に関するモチベーション維持を図りながら、卒業試験ならびに歯科医師国家試験に向けての自己肯定感・自己効力感を涵養していく。

【結果】

上記ケースでは、1名受験→1名一次合格(50%内定合格率)である。(航空自衛隊採用：臨床研修医マッチングにおける最終合格になるため、現在二次合格待ちの状況である。)・・・コロナウィルス影響のため合格発表順延。

【考察】

1. 歯科医師のキャリアデザインにおいては例年と同様、年々その就職が、公務員志向へと高まってきている。当然ながら現時点では、29歯学部・歯科大学においても6学年の学修に関しては「公務員試験受験のための講座」が開設されていないのが現状であることに鑑み、今後、公務員試験を考える学生は、低学年から自己啓発の一環として、専門科目に支障を来さない程度に勉強していくことが望まれるのではないかと考える。その対応策として今回は国家公務員過去問題を前回よりさらに増やし、キャリアコン(歯科医師)自ら質問等に応じた事が功を奏したと考える。
2. 今回の受験生は航空自衛隊入隊希望だったため、航空を選択したエピソードを踏まえた面接を想定しながらの口頭試問を徹底した半面、小論文の対策まで手が及ばなかったため、今後の改善点として挙げられると考える。
3. 入隊後のキャリアデザインを受験生に描いてもらうこと、すなわち陸海空選択の意義、各研修施設の特徴、全国区への命令による異動等の事前キャリアプランニングをしてもらったことで、自律的な選択決定が出来たと考える。

【結論】

以上のことから、今回は一次合格(二次合格待ち)の段階による経過観察中ではあるものの、キャリアコンサルタントの有資格者(歯科医師の教員)が積極的にマッチング更には卒業試験および歯科医師国家試験を控えた学生への今後のキャリアデザインやライフプランニングに関わったことにより、前回同様、キャリアコンサルティングの目的でもあるところの生き生きとした前向きな就職活動の自己決定(受験生の弁)ができる道標を支援することができた。

歯肉がんの増殖と進行に関与する転写因子 AP2E の役割

日本大学大学院歯学研究科歯学専攻 応用口腔科学分野¹, 日本大学歯学部歯科保存学第Ⅲ講座², 日本大学歯学部第Ⅰ解剖学講座³, 日本大学総合歯学研究so機能形態部門⁴, 同高度先端医療研究部門⁵
○酒井嶺^{1,2}, 藤原恭子^{3,4}, 佐藤秀一^{2,5}

The role of AP2E in the proliferation and progression of gingival cancer.

Division of Applied Oral Science, Nihon University Graduate School of Dentistry¹

Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry²

Department of Anatomy, Nihon University School of Dentistry³

Division of Function and Morphology⁴, and Advanced Dental Treatment⁵, Dental Research Center, Nihon University School

○Ryo Sakai^{1,2}, Kyoko Fujiwara^{3,4}, Shuichi Sato^{2,5}

【目的】

口腔がんの治療は外科的な切除が主流であるが、顔貌の変形による飲食と会話能力の障害をとまなうことから、QOLの向上に向けて有効で、かつ副作用の少ない治療法の開発が求められている。これまでに、治療標的の探索や有効な診断マーカーの開発を目的として、口腔がんの発生と進展に関連するいくつかの分子メカニズムが解明されてきた。このうち、口腔がんを含む多くのがん組織や細胞において、転写因子 AP-2 epsilon (AP2E) の発現が低いほど生存率が低く、また AP2E の発現抑制によって抗がん剤耐性を獲得することが明らかになった。すなわち、AP2E はがん抑制遺伝子としての機能をもつと考えられるが、その詳細な機序については不明な点が多い。本研究では、口腔がんにおける AP2E の役割を解明することを目的とし、AP2E 遺伝子を過剰発現させたヒト歯肉がん由来細胞株の表現形質の変化について検討した。

【材料と方法】

ヒト歯肉がん由来細胞株 Ca9-22 に AP2E の配列を組み込んだプラスミドを導入し、AP2E を安定的に高発現するクローンを樹立した。コントロールとして、プラスミドのみを導入した細胞を使用した。これらの細胞の増殖速度とシスプラチン、酸化ストレス、低グルコースに対する耐性については、WST8 アッセイによって測定した。また、二重チミジン法で細胞周期を同期させたのち、その進行速度についてフローサイトメーターを用いて解析した。さらにウェスタンブロッティングによって細胞周期関連タンパクの発現と活性化状態を調べた。

【結果と考察】

AP2E 過剰発現細胞の増殖速度はコントロールと比較して顕著に低下した。しかし、シスプラチン、過酸化水素、低グルコース濃度に対する耐性については有意な変化はみられなかった。細胞周期の進行速度を解析した結果、AP2E 過剰発現細胞では M 期から G1 期に戻る速度が低下した。死細胞画分 sub-G1 の比率はコントロールと比較して違いがみられなかったことから、AP2E の過剰発現による増殖速度の低下は細胞死の誘導によるものではなく、細胞周期の遅れによることが明らかになった。この結果は、M 期後半における AP2E 過剰発現細胞の cyclin B1 の消失やヒストン H3 のリン酸化レベルの低下がコントロールと比較して遅れたことから裏付けられる。本研究から、AP2E は M 期の進行の制御に関与している可能性が示唆された。

PS リポソームと生体活性ガラスの併用が ラット頭蓋骨欠損部に及ぼす骨形成促進効果の解明

福岡歯科大学

口腔治療学講座 歯科保存学分野¹

口腔医学研究センター²

総合歯科学講座 総合歯科学分野³

○松本典祥¹, 松崎英津子^{1,2}, 水上正彦¹, 畠山純子³, 二階堂美咲¹, 廣瀬陽菜¹, 阿南 壽¹

Evaluation of the effects on bone formation using a combination of bioactive glass with phosphatidylserine liposomes in rat calvarial bone defects

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology¹,

Oral Medicine Research Center²,

Section of General Dentistry, Department of General Dentistry³,

Fukuoka Dental College

○Noriyoshi Matsumoto¹, Etsuko Matsuzaki^{1,2}, Masahiko Minakami¹,

Junko Hatakeyama³, Misaki Nikaido¹, Haruna Hirose¹, Hisashi Anan¹

【目的】

リポソームは、両親媒性脂質分子の二分子膜からなる微小胞であり、そのうち細胞膜リン脂質であるホスファチジルセリンを含有する PS リポソーム (PSL) は、マクロファージに貪食された後、プロスタグランジン E2 を産生し、抗炎症作用を示すことが報告されている。また、慢性関節リウマチの動物モデルにおいて、PSL は破骨細胞前駆細胞の成熟破骨細胞への分化を抑制し、骨破壊を抑制することが報告されている。一方、生体活性ガラス (Bioactive glass; BAG) は、その骨伝導能により、医療分野では骨補填材として用いられている。そこで今回、ラット頭蓋骨欠損窩洞における、PSL と BAG の併用による骨形成の過程で、マクロファージ系細胞の局在を確認するため、エックス線学および組織学的解析を行った。

【対象および方法】

実験には 10 週齢雄性 Wistar 系ラットを用い、頭蓋骨に直径 5 mm の穿通性の骨欠損窩洞を作製した。その後、骨欠損窩洞に、①PSL・BAG 併用群、②BAG 単独群、③骨欠損部に何も埋入しない対照群の 3 種類のモデルを作製した。処置後 2, 4, 8 週間後に標本を採取し、骨形成をマイクロ CT (SKYSCAN, Bruker Corporation 社製) にて解析した。次に組織標本作製し、HE 染色、ED1 免疫染色 (マクロファージのマーカー) およびマッソントリクローム染色 (コラーゲン線維) による組織学的解析を行った (福岡歯科大学動物実験承認番号: 13011)。

【結果】

マイクロ CT 解析では、処置後 4 週目に、PSL・BAG 併用群は BAG 単独群と比較して、骨欠損窩洞内における不透過像の面積が有意に高い値を示した。

組織学的解析では、処置後 2 週目の PSL・BAG 併用群で、BAG 粒子の周囲に、ED1 陽性を示す単核および多核の巨細胞が多く観察されるとともに、一部 BAG 粒子に接して ED1 陽性の多核の巨細胞が観察された。また、BAG 粒子の近傍には幼若な骨芽細胞を含有した新生骨の形成像が観察された。一方、BAG 単独群では、ED1 陽性を示す単核および多核の巨細胞が観察されたが、その局在部位は異なり、BAG 粒子から少し離れた位置に散在性に観察された。マッソントリクローム染色においては、処置後 2 週目の PSL・BAG 併用群で、BAG 粒子が濃染するコラーゲン線維に被包された像が多数観察された。処置後 8 週目においては PSL・BAG 併用群と BAG 単独群の両群において、一部 BAG 粒子を含有した成熟した新生骨形成像が観察されたが、興味深いことに、PSL・BAG 併用群では欠損部硬膜側上に新生骨のバリアー形成が認められた。一方、BAG 単独群で形成された骨組織は島状であり、骨組織で完全には被覆されておらず、線維性組織による治癒形態が認められた。

【考察と結論】

PSL・BAG 併用群では BAG 単独群と比較して、早期に骨組織形成が促進されたが、その作用には、BAG 粒子近傍で観察された ED1 陽性の多核巨細胞が関与している可能性が示唆された。今後、PSL が炎症における創傷治癒と骨形成に及ぼす影響について、硬組織再構築に重要な M1/M2 マクロファージ活性化に注目し、さらに検討を行う予定である。

新規 PTC ジェルのステイン除去性の評価

¹大阪大学大学院歯学研究科 先端機能性材料学共同研究講座

²大阪大学大学院歯学研究科 顎口腔機能再建学講座 (歯科理工学教室)

○神野 友樹¹, 壺井 莉理子¹, 北川 晴朗², 今里 聡^{1,2}

Evaluation of stain removal effects of novel PTC gels

¹Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Advanced Functional Materials Science

²Osaka University Graduate School of Dentistry, Department of Biomaterials Science

○Tomoki KOHNO¹, Ririko TSUBOI¹, Haruaki KITAGAWA², Satoshi IMAZATO^{1,2}

【目的】

歯面に沈着した外来性色素 (ステイン) は、ブラッシングでは除去しづらいため、Professional tooth cleaning (PTC) による除去が推奨されている。しかし、現在市販されている PTC 用ペーストやジェルを使用しても、強固に沈着したステインの場合は完全に除去するのに長時間を要することから、研磨材の含有率が高く、よりステイン除去効果の高い PTC ジェルが求められている。そこで本研究では、微細な二酸化ケイ素系粒子を高濃度に配合した PTC ジェルを試作し、そのステイン除去性を市販の PTC 用ペースト/ジェルと比較した。

【材料および方法】

1. 被験材料

被験試料として、微細な二酸化ケイ素系粒子を含む試作 PTC ジェル (GC, 以下 TC14)、および、比較対象として PTC ペーストルシェロホワイト (GC, 以下ルシェロホワイト)、コンクールクリーニングジェル<PMTC> (ウェルテック, 以下コンクール)、クリンプロクリーニングペースト PMTC 用 (3M ESPE, 以下クリンプロ) を使用した。

2. 不溶粒子数の測定

各ジェル/ペーストに含まれている不溶粒子数を測定するため、試料 5.0 g を 10 mL の蒸留水に溶解させ、遠心分離後に不溶な粒子の重量を測定した。ジェル/ペースト中の粒子密度をもとに不溶粒子全体の体積を算出し、さらに粒子径分布測定装置 (LA-960V2, 堀場製作所) を用いて測定した粒子のメジアン径をもとに粒子一個の体積を算出した。不溶粒子全体および一粒の体積をもとにジェル/ペーストに含まれる単位重量あたりの粒子数を算出した。

3. ステイン除去性の評価

牛歯エナメル表面を #2400 耐水研磨紙にて研磨後、5 wt% タンニン酸、5 wt% 硫酸アンモニウム鉄(II)、0.1 wt% アルブミン含有着色液に 10 分間浸漬し、エナメル質表面に色素を沈着させた。0.1 g の各ジェル/ペーストを試験片に塗布後、PTC カップ II (GC) を装着したハンディモータを用いて、回転数 1920 rpm、刷掃時間 30 秒間の条件で試験片表面の着色を除去した。水洗・乾燥後、分光色彩計 (CMS-35FS, 村上色彩技術研究所) を用いて試験片表面を測色し、試験前後の色差 ΔE^*ab を算出した。

【結果および結論】

TC14 に含まれる不溶粒子数は、ルシェロホワイト、コンクール、クリンプロと比較して有意に多かった (ANOVA, Tukey's HSD test, $p < 0.05$)。また、ステイン除去試験における TC14 での色差 ΔE^*ab は、他群と比較して有意に大きかった ($p < 0.05$, Fig. 1)。含有する粒子数が多い TC14 は、研磨材と歯面との接触頻度が高く、ステイン除去効果が高かったものと考えられる。

以上より、微細二酸化ケイ素粒子含有量の多い新規 PTC ジェルは、優れたステイン除去効果を発揮することが明らかとなった。

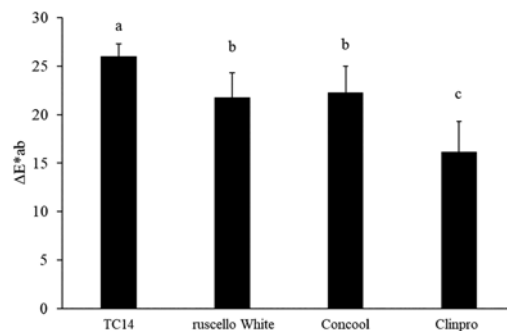


Fig. 1. Color difference in stain removal test.

No significant difference between the bars indicated with same letters (ANOVA, Tukey's HSD test, $p < 0.05$).