

新規 S-PRG フィラー含有自己接着型直接覆髄材の各種イオン徐放量

日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座

○佐藤 史明、鈴木 雅也、新海 航一

Amount of ion released from a newly developed self-adhesive resin for direct-pulp-capping containing S-PRG filler

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

○SATO Fumiaki, SUZUKI Masaya, SHINKAI Koichi

【研究目的】硬組織誘導効果を持つ機能性接着性レジン材料の開発を目的として、これまで当講座では自己接着型直接覆髄材 (Self-adhesive resin for direct-pulp-capping: SRD、Shofu) を試作し、ラット歯の歯髄反応を観察した。その結果、露髄部周囲に厚い象牙質橋の形成を認めたが、それらは真性象牙質ではなく、多くは骨様象牙質であった。その原因として S-PRG フィラーから徐放される BO_3^{3-} の急速な放出と、親水性モノマーの歯髄内部への浸透によるものであると考えられた (Dent Mater, 37: 972-982, 2021)。そこで、上記の改善を図るための新たな自己接着型直接覆髄材 (新規 SRD) を試作した。本研究は、新規 SRD の硬組織形成能をラット歯で確認する前に、材料学的評価を目的として各イオンのピーク徐放量と pH を測定した。

【材料および方法】新規 SRD は、S-PRG フィラーの含有率 0、10、20、30、40、50 および 60wt% と、親水性モノマー 30 または 40wt% を組合せた計 14 種類とした。イオン徐放量測定: カバーガラス上の金属製リング (直径 15mm、厚み 1mm) 内に新規 SRD を満たした後、カバーガラスで被覆して 3 分間光照射 (Solidilite V、Shofu) を行いディスク状の試料を作製した (n=10)。これを蒸留水中に 2 週間 (2w) と 4 週間 (4w) 浸漬後、 Na^+ 、 BO_3^{3-} 、 Al^{3+} 、 SiO_3^{2-} 、 Sr^{2+} は ICP 発光分光分析装置 (Shimadzu)、F は Orion Dual Star pH/イオンメーター (Thermo Scientific) で徐放量を測定した。pH 測定: pH メーター (LAQUAtwin typeB、Horiba) に新規 SRD を滴下し測定した。統計分析: 新規 SRD 間における各イオン徐放量の有意差は、各浸漬期間のイオンごとに Kruskal-Wallis と Steel-Dwass を用いて検定した ($p < 0.05$)。

【結果と考察】4w の各イオン徐放量 (ppm) を下表に示す。新規 SRD のイオン徐放量は、親水性モノマーの配合量が高い 40wt% の方が 30wt% より多い傾向を示した。また、水中浸漬期間が長くなるとイオン徐放量は増加した。S-PRG フィラー配合量が多くなると BO_3^{3-} や Sr^{2+} は増加する傾向を示したが、 Na^+ 、 SiO_3^{2-} は減少する傾向があり、 Al^{3+} や F は一定の徐放量を示した。pH はすべて中性であった。本実験では、従来 SRD からの改善点である親水性モノマーの配合量を減少させた結果、 BO_3^{3-} の徐放量は減少することが明らかとなった。イオン徐放量と pH の測定結果より、新規 SRD は直接覆髄材として使用した場合、良好な象牙質橋の形成が期待される。今後、新規 SRD の象牙質接着強さの測定とラットを用いた動物実験により直接覆髄効果の検討を行う予定である。

Amount of each ion released from each new SRD after water immersion for 4 weeks (ppm)

Hydrophilic Monomer (wt%)	Ion	S-PRG filler loadings (wt%)						
		0	10	20	30	40	50	60
30	Na^+	7.34±0.49	5.28±0.21	3.57±0.23	2.5±0.17 ^{ab}	2.02±0.12 ^c	2.23±0.2 ^{acd}	2.39±0.27 ^{bd}
	BO_3^{3-}	0	22.3±1.17	35.38±3.02 ^a	41.09±3.08 ^{ab}	42.45±2.82 ^b	49.98±3.34 ^c	50.4±4.8 ^c
	Al^{3+}	0.44±0.16 ^a	0.04±0.02	0.4±0.81 ^b	0.29±0.07 ^{abc}	0.28±0.07 ^{abcd}	0.29±0.11 ^{abcde}	0.18±0.08 ^{bcede}
	SiO_3^{2-}	3.64±0.51 ^{ab}	3.22±0.28 ^{ab}	3.41±0.64 ^{abc}	3.5±0.55 ^{abcd}	3.44±0.64 ^{abcde}	3.54±1.15 ^{abcdef}	3.88±0.39 ^{acdef}
	Sr^{2+}	0	0.36±0.62	0.72±0.17	1.25±0.28 ^a	1.41±0.27 ^{ab}	1.76±0.28 ^b	2.51±0.29
	F ⁻	0.02	1.53±0.08 ^a	1.38±0.08 ^b	1.3±0.05 ^{bc}	1.31±0.08 ^{bcd}	1.43±0.11 ^{abcd}	1.67±0.11 ^a
40	Na^+	16.15±0.73	9.64±0.36	6.51±0.23	4.4±0.36 ^a	3.97±0.24 ^{ab}	4.05±0.18 ^{abc}	4.61±0.41 ^{ac}
	BO_3^{3-}	0	29.55±0.97	47.86±1.33	61.1±2.63	70.2±2.54	77.38±1.78 ^a	80.08±5.91 ^a
	Al^{3+}	0.58±0.19	0.03±0.04	0.08±0.04	0.19±0.04 ^a	0.3±0.06 ^b	0.3±0.04 ^{bc}	0.22±0.07 ^{abc}
	SiO_3^{2-}	6.26±0.47 ^a	6.26±0.55 ^{ab}	5.74±0.54 ^{abc}	5.8±0.56 ^{abcd}	5.32±0.43 ^{cde}	5.44±0.26 ^{bcddef}	5.14±0.65 ^{cdef}
	Sr^{2+}	0	0.27±0.07	0.87±0.11	1.35±0.21	1.84±0.19	2.29±0.29	2.94±0.42
	F ⁻	0.03±0.02	2.41±0.08 ^a	2.14±0.09 ^b	1.85±0.13 ^c	1.8±0.11 ^{cd}	1.88±0.07 ^{cd}	2.28±0.12 ^{ab}

Values with the same small superscripts in the same row are not significantly different ($p > 0.05$)

歯科用セラミックスに対するレジンセメントの接着強さ: Dual-cure と Self-cure の比較

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⁾, 矢部 淳^{1, 2)}, 武田宏明²⁾, 鳥井康弘²⁾, 松本卓也¹⁾

Shear bond strength to modern ceramics for restoration: Dual-cure vs. Self-cure

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

²⁾Department of General Dentistry,

○Masao IRIE¹⁾, Masahiro OKADA¹⁾, Atsushi YABE^{1, 2)}, 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きた。そこで、最近のセラミックスの臨床応用への基礎的な情報を得るため、今回は各種レジンセメントのセラミックスに対する1日後とサーマルサイクル20,000回負荷(TC 20k)の接着強さを、Dual-cure vs. Self-cure で検討した。

【 材料と方法 】

Table に、使用した4種の Self-adhesive resin cement (SAC) と Adhesive resin cement (AC) 7種を使用、被着体のセラミックスとして今回は ACTIVA VITA Marl II (KAVO) 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。被着面を、320 番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、このモールド内に各セメントを用いてステンレスロッド (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) して硬化させた場合 (Dual-cure) と、37°C 恒温室に 8 分間保存して硬化させた場合 (Self-cure) の条件で、1 日間 37°C 蒸留水中浸漬後および TC 20k 後のせん断接着強さを比較した。

【 結果と考察 】

Table に結果のせん断接着強さを示す。各セメントそれぞれ ACTIVA VITA Marl II に対して 30-35 MPa を示した。いずれのセメントも dual-cure と self-cure を比較すると有意差が見られなかった ($p > 0.05$)。破断面を観察すると、多くで凝集破壊や混合破壊を示し、セメント自体の機械的強さの影響が大いに考えられた¹⁾。また、今回は統計的に比較しなかったが、1日後と TC 20k では、TC 20k の方が低い値を示し、吸水、加水分解によるセメント自体の機械的強さの低下が大きく考えられる¹⁾。演題発表に関しまして、開示すべき COI 関係にある企業はありません。

Table Shear bond strength to modern ceramic (ACTIVA VITA Marl II) of luting materials (MPa)

Cement / Pretreating agent (Manufacturer)	Mean (S.D., N=10)					
	After one-day storage Dual-cured vs. Self-cured		<i>t</i> -Test ^a	After TC 20k Dual-cured vs. Self-cured		<i>t</i> -Test ^a
Self-adhesive resin cement						
Rely Unicem 2 Automix / RelyX Ceramic Primer (3M)	31.9 (5.8)	28.6 (4.3)	NS	29.2 (4.2)	25.0 (5.7)	NS
SA Luting Multi / No pretreating (Kuraray Noritake Dental)	36.0 (6.6)	33.8 (2.7)	NS	29.1 (3.7)	31.3 (4.5)	NS
G-Cem ONE EM / G-Multi Primer (GC)	32.5 (5.9)	29.4 (3.9)	NS	29.5 (5.8)	27.5 (3.1)	NS
SpeedCEM Plus / Monobond Plus (Ivoclar Vivadent)	37.2 (8.0)	32.4 (3.5)	NS	30.6 (2.8)	29.1 (3.8)	NS
Adhesive resin cement						
RelyX Universal Resin Cement / Scotchbond Universal Plus Adhesive (3M)	35.9 (4.7)	38.0 (6.6)	NS	31.1 (4.7)	30.6 (5.4)	NS
ESTECER II / BONDMER Lightless II (Tokuyama Dental)	30.4 (4.9)	30.0 (4.2)	NS	29.3 (1.6)	25.8 (5.9)	NS
Panavia V5 / Clearfil Ceramic Primer Plus (Kuraray Noritake Dental)	29.4 (3.5)	30.9 (3.6)	NS	26.4 (3.9)	24.9 (3.7)	NS
Variolink Esthetic DC / Monobond Plus (Ivoclar Vivadent)	30.7 (3.9)	30.8 (4.3)	NS	33.6 (4.8)	31.5 (3.4)	NS
Nexus Universal Chroma / OptiBond eXTRa Universal (KAVO/Kerr)	38.0 (5.4)	35.3 (3.0)	NS	32.0 (5.0)	32.0 (3.4)	NS
ResiCem EX / BeartiBond Xtreme (Shofu)	35.1 (5.9)	31.9 (3.0)	NS	30.5 (3.4)	27.4 (4.9)	NS
Super-Bond Universal / M&C Primer (A+B) (SunMedical)	----	33.1 (3.8)		----	28.5 (4.0)	

^a: Significantly different by *t*-Test between the two results. NS: Not significant difference ($p > 0.05$)

【 文献 】

1) Irie M *et al.*, *Polymers* **2019**, 12, 2947; doi:10.3390/polym12122947

コンポジットレジンと CAD/CAM 用レジンプロックの歯ブラシ摩耗後の光沢度と表面粗さ

¹ 日本歯科大学新潟生命歯学部歯科保存学第 2 講座

² 日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科硬組織機能治療学

○鈴木雅也¹, 宮野侑子², 佐藤史明¹, 新海航^{1,2}

Gloss and surface roughness of resin composites with different viscosity and CAD/CAM resin blocks after toothbrush abrasion

¹Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University Life Dentistry at Niigata

²Advanced Operative Dentistry-Endodontics,

The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata

○SUZUKI Masaya¹, MIYANO Yuko², SATO Fumiaki¹, SHINKAI Koichi^{1,2}

【研究目的】

直接法用コンポジットレジン (CR) は、齲蝕治療だけでなく、変色歯・形態不良歯の改善、少数歯欠損修復 (ダイレクトブリッジ)、矯正治療後の歯冠形態の修正など、審美領域の改善が要求される治療において適応範囲が拡大している。また、CAD/CAM 用レジンプロックは保険収載以降、金属価格の高騰が追い風となり一般的な歯冠修復法として急速に普及した。これらレジン系修復材料は十分な数のシェードと、種々の透光性および不透明度を有しており、術直後 (研磨直後) はセラミック修復と同等の審美修復を提供できるようになった。しかしながら、臨床では経時的に光沢度の低下、摩耗、変色、外来性の着色を生じた修復物に度々遭遇する。そこで本研究はレジン系歯冠修復材料 (直接法用 CR、CAD/CAM 用レジンプロック) に歯ブラシ摩耗試験を行い、光沢度と表面粗さの変化について評価した。

【材料および方法】

実験材料には直接法用 CR のパテタイプ (グレースフィルパテ [GFP] : GC)、フロアブルレジン (グレースフィルゼロフロー [GFZ]、ローフロー [GFL]、フロー [GFF])、CAD/CAM 用レジンプロック (セラスマート 300 [CS3]、セラスマートプライム [CSP] : GC)、コントロールとして CAD/CAM 用二ケイ酸リチウムブロック (イニシャル LiSi [ILS] : GC) の計 7 製品を用いた (N=10)。各材料を 14(w)×7(d)×2(h)mm の試料に調整し、SiC ペーパー#600 から#2000 までを順次用いて研磨面を作製した。試料を歯ブラシ摩耗試験機 (K236、東京技研) に固定し、歯磨剤 (ホワイト&ホワイト : ライオン) 1 : 水 2 の溶液内に浸漬させた状態で研磨面を刷掃した (歯ブラシ、GUM バトラー#211、硬さ(ふつう) : サンスター)。刷掃条件は、ストローク幅 : 10mm、刷掃速度 (往復回数) : 2 回/1 秒、刷掃圧 : 200g、毛先の角度 : 90 度、刷掃回数 : 2 万、4 万、6 万および 8 万回とした。光沢度 (PG-II 型 : 日本電色工業) と表面粗さ (Surfcom 470A、東京精密) の測定は、摩耗試験直前と摩耗試験後に超音波洗浄で歯磨剤を除去後、乾燥した研磨面を計測した。各刷掃回数ごとの材料間の統計学的有意差について Kruskal-Wallis test と Post-hoc test として Steel-Dwass 法により検定した ($\alpha=0.05$)。なお、表面粗さの測定後に測色 (Easysshade V : VITA Zahnfabrik) と 8 万回刷掃後の試料表面を走査電子顕微鏡 (SEM、TM-4000Plus II : 日立) にて観察した。(日本歯科大学研究推進補助金 : N-19008、N-20013)

【結果と考察】

Table 1: Gloss values (GU)

	BL	20000	40000	60000	80000
ILS	72.1	58.8	58.9	59.4	60.4
CS3	64.9 ^a	42.8 ^a	33.6 ^a	26.3 ^a	22.8
CSP	64.3 ^a	49.6 ^a	43.9	40.4	37.6
GFP	60.8 ^b	28.6 ^b	21.5 ^b	18.4 ^b	16.7 ^a
GFZ	60.7 ^b	34.4 ^b	25.7 ^{ab}	21.2 ^{ab}	18.5 ^a
GFL	60.9 ^b	31.5 ^{bc}	22.8 ^b	18.5 ^b	16.1 ^a
GFF	60.4 ^b	28.4 ^{bc}	21.1 ^b	18.9 ^b	16.7 ^a

Table 2: Surface roughness (Ra)

	BL	20000	40000	60000	80000
ILS	0.06 ^a	0.06	0.05	0.07	0.08
CS3	0.08 ^a	0.29	0.48 ^a	0.67 ^a	0.85 ^a
CSP	0.07 ^a	0.18	0.38 ^a	0.59 ^a	0.75 ^a
GFP	0.08 ^a	0.87 ^a	1.44	2.16	2.78
GFZ	0.07 ^a	1.37 ^b	2.35 ^b	3.22 ^b	4.08 ^b
GFL	0.08 ^a	1.47 ^b	2.49 ^b	3.41 ^b	4.07 ^b
GFF	0.08 ^a	0.68 ^a	1.03	1.45	1.84

In the same column, values with the same superscripts indicate no significant difference

光沢度 (Table 1) と表面粗さ (Table 2) の結果を表に示す。二ケイ酸リチウムブロック、レジンプロック、直接法用 CR の順で光沢度はより低下、表面粗さはより増大した。光沢度は 4 種の直接法用 CR で早期 (2 万回) に著しい低下が生じたが、配合されたフィラーの粒径が小さい方が光沢度を維持する傾向がみられた。表面粗さは、直接法用 CR では粘度の低い GFF が最も小さく、次いでパテタイプの GFP であった。SEM 観察では、GFP で有機複合フィラーの脱落による陥没が観察された。直接法用 CR とレジンプロックのフィラーの形状・配合量に大きな違いはみられなかったが、レジンプロックで良好な結果を示したのは、マトリックスレジンの高い重合度が影響したと推察される。

新規フッ化物滞留徐放制御技術の歯磨剤への応用

ライオン株式会社 研究開発本部 1 口腔健康科学研究所 2 先進解析科学研究所 3 オーラルケア研究所

○藤木政志¹、赤羽千佳¹、橋本遼太²、小野真一²、今崎麻里³、山本幸夫¹

Study of Toothpaste Applying Fluoride Retention and Release Technology

1 Advanced Oral Health Science Research Laboratories,

2 Advanced Analytical Science Research Laboratories, 3 Oral Care Research Laboratories

Research & Development Headquarters, Lion Corporation

○FUJIKI Masashi¹, AKABANE Chika¹, HASHIMOTO Ryota², ONO Masakazu², IMAZAKI Mari³, YAMAMOTO Yukio¹

【研究目的】

歯磨剤に配合されるフッ化物のう蝕予防効果をより引き出すためには、歯磨剤使用後の口腔内にフッ化物が長く保持されることが重要である。しかしながら、一般的に歯磨剤に使用されているフッ化物はすすぎや唾液分泌によって口腔外に排出されやすい。これまでに、フッ化物を口腔内に高滞留させる手段の一つとして、歯面とフッ化物イオンに対して高い親和性を有するカチオン化セルロースの添加が知られており、第 154 回学術大会では、フッ化ナトリウムおよびカチオン化セルロースと併せてカルシウムとリン成分を加えることで、フッ化物を含むアモルファス構造が形成され、歯面に対するフッ化物の滞留量が増加することを報告した。そこで本研究では、当技術を応用した歯磨剤のウシエナメル質面に対するフッ化物滞留性およびフッ化物イオンの徐放性と、脱灰/再石灰化における寄与について評価した。

【材料および方法】

カチオン化セルロース(CC)とフッ化ナトリウム(F)を配合したモデル歯磨剤(CC+F 組成)および CC+F 組成にグリセロリン酸カルシウム(Ca)とピロリン酸四カリウム(P)を加えたモデル歯磨剤(CC+F-Ca-P 組成)を調製した。また、本検討には、ウシエナメル質を用い、アクリルリングに樹脂包埋・研磨し歯面を露出させた後、耐酸マニキュアを用いて 6 mm × 6 mm のウィンドウを作製したものを使用した。

フッ化物滞留性の評価では、人工唾液で歯磨剤を 4 倍に希釈した溶液にウシエナメル質試料を 3 分間浸漬し、超純水で洗浄した後、歯面のフッ化物を塩酸で抽出した。また、歯面に滞留したフッ化物の口腔内環境における徐放性を評価するために、滞留性評価と同様に歯磨剤を処理した歯面への人工唾液の滴下・回収を一定の速度で繰り返した。上記で得られた塩酸抽出液および回収した人工唾液中のフッ化物イオン濃度をイオン電極法で測定した。

エナメル質の脱灰/再石灰化進行に及ぼす影響の評価では、健全または初期う蝕形成後のウシエナメル質を歯磨剤の 4 倍希釈液に 3 分間浸漬し超純水で洗浄した後、pH 4.8 または pH 6.5 の人工唾液に浸漬し、脱灰の進行度を QLF(Quantitative Light-Induces Fluorescence)法を用いて測定した。

【結果および考察】

CC+F-Ca-P 組成では、CC+F 組成に比べて歯面に対するフッ化物の滞留量が有意に増加し(p<0.05, t-test)、CC+F-Ca-P 組成を処理した歯面からは、人工唾液が交換される過程で緩やかにフッ化物イオンが放出されることを確認した。また、再石灰化試験では、CC+F 組成と CC+F-Ca-P 組成で再石灰化促進率の差異は認められなかった。一方で、脱灰試験では CC+F-Ca-P 組成は CC+F 組成に対して有意に高い(p<0.05, t-test)脱灰抑制機能を示した。

CC+F 組成に Ca と P を加えたことでフッ化物の滞留性が向上したことから、CC、F、Ca および P は歯磨剤中においても結晶性の低いアモルファス構造を形成し、フッ化物を含む状態で歯面に滞留すると推察する。また、CC+F-Ca-P 組成を処理した歯面からフッ化物イオンが緩やかに放出されたことから、アモルファス構造の形成によりフッ化物の溶解性が制御されたと考える。前述のとおり、アモルファスの形成は、歯面に対するフッ化物滞留量の増加とともに、滞留後のフッ化物イオンの放出を可能としたため、エナメル質の脱灰進行過程で CC+F-Ca-P 組成は CC+F 組成よりも高い脱灰抑制機能を示したと考える。

以上より、既存の技術である CC と F の組合せに Ca と P を配合した歯磨剤は、高いフッ化物滞留性とう蝕予防に有効なフッ化物イオンの徐放性を兼ね備え、エナメル質の耐酸性向上に寄与することが示唆された。

HEMA フリー2 ステップセルフエッチングボンディング材における接着性の評価

株式会社ジーシー

○山下 美樹, 平野 恭佑, 伏島 歩登志

Evaluation of bond strength in HEMA-free 2-step self-etch adhesive

GC CORPORATION, TOKYO, JAPAN

○Miki Yamashita, Kyousuke Hirano, Futoshi Fusejima

【目的】

セルフエッチングタイプの2ステップボンディング材は、歯面処理を行う1ステップ目のセルフエッチングプライマーと、ボンディング層を形成し強度を発現する2ステップ目のボンドから構成されている。従来の2ステップボンディング材は、歯質への浸透性向上を図るために、プライマー及びボンドともに親水性モノマーである HEMA が配合されている。しかしながら、HEMA は歯質に対して高い親和性を有する一方で、高い吸水性を示すため湿潤な口腔内においてボンド層の吸水劣化やレジンアレルギーなどが懸念されている。

そこで弊社では、プライマー、ボンドともに HEMA フリーな新規2ステップボンディング材「G2-ボンド ユニバーサル」(G2B)を開発した。本研究では、プライマーとボンドが HEMA フリーな G2B、プライマーは HEMA フリーでボンドは HEMA 配合試作品 (H30)、プライマーとボンドともに HEMA が配合されている従来製品 (Product A) を用いて歯質への接着性を評価した。

【材料及び方法】

評価には G2B, H30, Product A を用いて、せん断接着試験を実施した。

ISO 29022:2013 を参考に、ウシ前歯歯冠部を用いて常温重合レジンに包埋した。#400 の SiC ペーパーで注水研磨し象牙質を露出させた。G2B と H30 は G2-ボンド ユニバーサル, Product A は付属の添付文書に従い、各ボンディング材を被着面に塗布した。内径 2.38 mm のモールドを被着面に固定し LED 光照射機 (G-ライトブリマII, ジーシー) を用いて 10 秒間光照射を行い、ボンディング材を硬化させた。ボンディング材硬化後は、コンポジットレジン (AP-X, クラレ) をモールド内に充填して 20 秒間光照射を行い硬化させた。37°C の恒温槽にて 24 時間水中浸漬させたのち、オートグラフ (AG-IS, SHIMADZU) にて測定した (n=15)。

結果について、各ボンディング材間で二元配置分散分析と Tukey 検定にて統計処理を行った (p<0.05)。

【結果及び考察】

せん断接着試験の結果を Figure 1. に示した。

H30 と Product A と比較して G2B は、有意に高い接着強さを示した。G2B は HEMA フリーであり吸水量が少ない^[1]ことより、強固なボンディング層が形成されたため高い接着強さを示したと考えられる。またプライマー、ボンドに限らず HEMA が配合されていると接着強さが低下したことより、ボンディング層が吸水劣化したことにより接着強さの低下が起こったと考えられる。

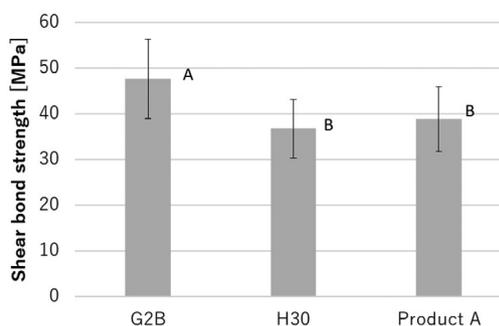


Figure 1. Shear bond strength test

【結論】

プライマーとボンドともに HEMA フリーである G2-ボンド ユニバーサルは、歯質に対して高い接着強さを示したことより、臨床においても優れた接着性能を示すことが期待される。

【参考文献】

[1] G2-ボンド ユニバーサルパンフレット

コンポジットレジンのユニバーサルシェードにおける色調適合性評価

株式会社 ジーシー
秋月 智大, 伏島 歩登志

Color Compatibility Evaluation of a Universal Shade Composite Resin

GC corporation
Tomohiro Akizuki, Futoshi Fusejima

I. 目的

市場ではシェード選択の簡便化や在庫管理の削減といった点から、ユニバーサルシェードのコンポジットレジンの広く受け入れられている。このことから直接充填用コンポジットレジンの多様な症例に使用可能なだけでなく、優れた研磨性、高い耐摩耗性を有しているグレースフィルシリーズ (GC) に、歯質の色を反映し幅広い色調に対応するユニバーサルシェードが新たに追加された。

本研究では人工歯にV級窩洞を形成し、ユニバーサルシェードのコンポジットレジンを充填した際の色調適合性について評価した。

II. 方法

窩洞を形成する人工歯にはゼンオパール 前歯 AU19 (GC) の A1, A2, A3, A3.5, A4, B1, B2, B3, B4, C1, C2, C3, C4, D2, D3, D4 色を使用し、コンポジットレジンはグレースフィルゼロフロー (GFZ, GC) のユニバーサルシェードを使用した。

高速分光光度計 (CMS-35FS, 村上色彩) を用いて、窩洞形成前の人工歯歯頸部を黒色基準板上で測色した (n=1)。測色後、測色部位にφ2.5 mm、深さ0.5mmのV級窩洞を形成した。コンポジットプライマー (GC) を用いてボンディング操作を行った後、GFZを窩洞に充填し、G-ライトブリマII Plus (GC) を用いて照射した。その後、表面研磨を行い黒色基準板上でコンポジットレジ充填部を測色し (n=1)、窩洞形成前の人工歯に対する充填後の色差 $\Delta E_{a^*b^*}$ を算出した。

III. 結果

いずれの人工歯の色調に充填しても $\Delta E_{a^*b^*}$ は0.4~1.8以内の値となった。

見た目と色差に関して $\Delta E_{a^*b^*}$ の値が2.7以下であれば目視での区別が難しくほぼ同等の色調と判断できる¹⁾ことから、GFZは良好な色調適合性を有していることが明らかとなった。

IV. 結論

本研究で用いた窩洞サイズにおいては、グレースフィルゼロフローのユニバーサルシェードはA・B・C・D色の窩洞に対する $\Delta E_{a^*b^*}$ の値が小さく、高い色調適合性があることが分かった。

V. 参考文献

1) Paravina RD, Pérez MM, Ghinea R: Acceptability and perceptibility thresholds in dentistry: A comprehensive review of clinical and research applications, J Esthet

早期硬化型新規水硬性仮封材における硬化性の評価

株式会社ジーシー

○勝又淳友, 星野智大, 町田大樹, 伏島歩登志

Evaluation of the hardening property about new hydraulic temporary filling material of fast set type

GC Corporation

○Atsutomo Katsumata, Tomohiro Hoshino, Daiki Machida, Futoshi Fusejima

【緒言】

仮封材にはセメント系仮封材, レジン系仮封材, 水硬性仮封材などが存在する. その中でも, 水硬性仮封材は練和不要で, 主成分である石こうと水の水和反応により硬化(口腔内では唾液中の水分で硬化)する操作が簡便な材料である. しかし, 充填後の初期硬化に時間がかかるため, 初期硬化途中に患者が舌で触るなどして変形し, 歯質と材料に間隙が発生してしまうといった辺縁漏洩のリスクが考えられる. そのため, 初期硬化性は辺縁漏洩防止に重要な物性であると考えられる. そこで, 初期硬化性を高めることで辺縁封鎖性を向上させた新規水硬性仮封材(CAVITON FAST)を開発した. 本研究では水硬性仮封材の水中浸漬による材料内部までの硬化特性を評価した.

【材料と方法】

材料は水硬性仮封材 ①CAVITON FAST(GC), ②CAVITON(GC), ③CAVITON EX(GC), ④製品 A, ⑤製品 B, ⑥製品 C を使用した.

試験方法はφ10mm, 高さ4mmの金属製リングに材料を充填し, その片面を37°C水中浸漬した. 水中浸漬30分後, サンプルにビカー針(断面積1mm²)を装着したオートグラフを用いて, クロスヘッドスピード1mm/minで針入させ, その時の試験力(N)を計測する(Fig.1). 水中浸漬をしていない未硬化面からビカー針を針入させ, 試験力を検出した位置で針入を停止し, その時の針入距離を計測した. 試験体の高さと同針入距離の差を硬化深さとして算出し, 試験体の高さを100とした時の硬化深さとして百分率で求めた(N=3).

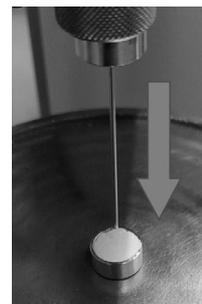


Fig.1 Vicat needle test by autograph

【結果と考察】

Fig.1より, CAVITON FASTは硬化深さ37%であり, 他サンプルと比較しても2倍以上大きな硬化深さを示し, いずれのサンプルよりも有意に高い値となった. これは硬化材である硫酸カルシウムと水の水和反応を向上させたことで反応スピードが向上したためと考えられる.

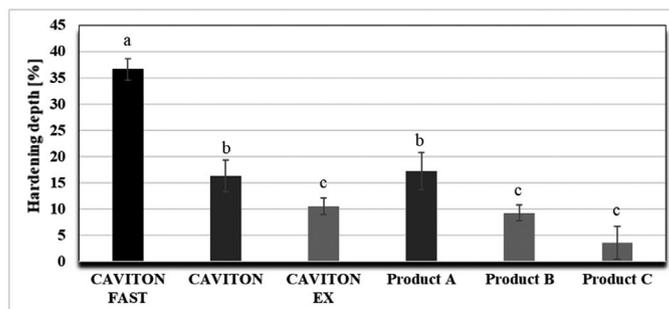


Fig.2 Depth of harden for each material

【結論】

新規水硬性仮封材であるCAVITON FASTは他の水硬性仮封材と比較して高い硬化深さを示したため, 硬化性の優れた材料であることが示唆された. 硬化深さが向上したことで, 口腔内への充填後の変形抑制・辺縁封鎖性の向上が期待できる.

充填用コンポジットレジン耐着色性評価

株式会社ジーシー
福與悠里, 伏島歩登志

Discoloration Resistance Property of Variable Composite Resins

GC Corporation
Y. Fukuyo, F. Fusejima

I. 目的

充填用コンポジットレジン(以下, CR)は, 前歯から臼歯まで幅広い症例の修復に用いられており, 十分な機械的強度だけでなく, 審美的な修復およびその持続性が求められる。CRは咬合に耐えうる機械的特性を有する一方で, 飲料や食品により着色しやすいことが知られている。修復部位の変色は, 特に前歯部の修復治療において患者の満足度低下の一因となると考えられる。本発表では, 各種CRを玉露茶に浸漬し, その色調の変化について報告する。

II. サンプル

本検証で使用した材料およびその組成を Table1 に示す。それぞれの組成は, 各材料の添付文書より引用した。

Table1 Material information

製品名	Lot	組成
G-aenial A' CHORD	2108311	Bis-MEPP 他
Product A	007E29	Bis-GMA, UDMA, Bis-MEPP, TEGDMA 他
Product B	012151	UDMA, TEGDMA 他

III. 方法

CRを金型(直径15mm, 厚さ1mm)に充填し, G-ライトブリマII Plus(株式会社ジーシー)により光照射して硬化体を作製した。耐水研磨紙を用いて表面の未重合層を取り除き, 試験片とした(n=5)。各試験片のL*値, a*値, b*値を分光測色計(日本電色株式会社)により測定し, 浸漬前のデータとした。試験片を玉露茶に浸漬し, 37°Cの恒温槽にて7日間静置した。浸漬後に試験片のL*値, a*値, b*値を再度測定し, 浸漬前後の色差(ΔE^*_{ab})を算出した。得られた結果は, ANOVA, Tukey's HSD test (p<0.05)により統計解析を行った。

IV. 結果と考察

各試験片の浸漬前後の色差を Figure 1 に示す。分子内にウレタン結合を含む UDMA や分子内に水酸基を含む Bis-GMA をモノマーとして使用している Product A, Product B は高い ΔE^*_{ab} 値を示した。これに対し水素結合性の官能基を持たない Bis-MEPP をモノマー主成分として使用している G-aenial A' CHORD は, 有意に低い ΔE^*_{ab} 値を示した。これらの結果から, 水素結合性モノマーを含まない CR は, 玉露茶に対して優れた耐着色性を有すると考えられる。

V. 結論

G-aenial A' CHORD のように, 水素結合性の官能基を持たないモノマーを主成分とする CR を用いた修復部位は, 食品による変色が抑制され長期的な審美性の維持が期待される。

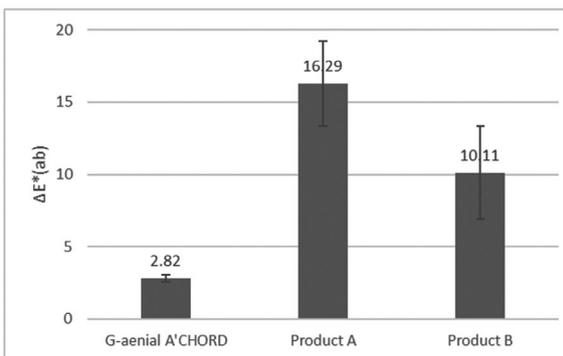


Figure1 Result of discoloration test; same superscript indicates no statistically difference (p<0.05).

フッ化物滞留徐放制御技術における吸着滞留挙動のメカニズム解明

ライオン株式会社 研究開発本部 1 先進解析科学研究所 2 オーラルケア研究所 3 口腔健康科学研究所

○小野真一¹、橋本遼太¹、今崎麻里²、赤羽千佳³、藤木政志³、柿澤恭史¹

Elucidation of the Mechanisms in Fluoride Retention and Release Technology

1 Advanced Analytical Science Research Laboratories, 2 Oral Care Research Laboratories,

3 Advanced Oral Health Science Research Laboratories

Research & Development Headquarters, Lion Corporation

○ONO Masakazu¹, HASHIMOTO Ryota¹, IMAZAKI Mari², AKABANE Chika³, FUJIKI Masashi³, KAKIZAWA Yasushi¹

【研究目的】

う蝕は幅広い世代における歯の喪失原因の一つであり、う蝕を予防するには、フッ化物の口腔内での滞留・徐放により再石灰化を促進、耐酸性を向上させることが有用である。しかし、一般的にフッ化物は、唾液分泌や吐き出し・すすぎ等の歯磨き行動により容易に口腔外へ排出される。前回の第154回学術大会にて、従来のフッ化物滞留技術であるカチオン化セルロース+フッ化ナトリウムに、カルシウム成分とリン成分を加えることで、フッ化物の滞留量が大幅に増加することを報告した。本研究では、フッ化物滞留徐放制御技術によるう蝕予防の理解に向けて、フッ化物イオンが滞留するメカニズムを検討した。

【材料および方法】

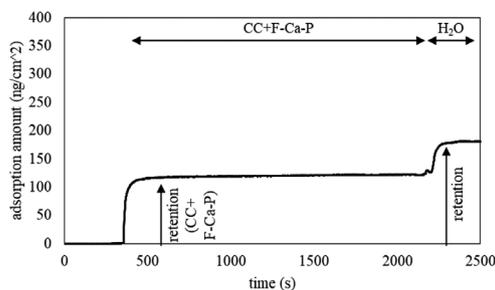
フッ化ナトリウム(以下F)とカチオン化セルロース(以下CC)の組合せをベースに、リン、カルシウムの供給源としてピロリン酸四カリウム(以下P)、グリセリン酸カルシウム(以下Ca)を加え、CC + F-Ca-P 溶液を調製した。まず、吸着挙動を評価するため、水晶振動子マイクロバランス法(QCM-D)によりヒドロキシアパタイト(HAp)基板上の吸着量を継時測定した。次に、CCとF-Ca-Pの相互作用を評価するため、水溶液中のCC及びF-Ca-P、CC + F-Ca-Pについて電気泳動光散乱法によりゼータ電位を測定した。

【結果および考察】

フッ化物滞留徐放制御技術において、CC、F-Ca-Pの吸着挙動をQCM-Dで測定した。まず、CCとF-Ca-Pを混合し送液した後、水を流した場合、CC + F-Ca-Pは素早く吸着して飽和状態となり、水を流した後も除去されずに滞留することが確認された (Fig. (a))。次に、CC溶液を送液した後、F-Ca-P溶液を送液し、最後に水を流したところ、CCは素早く吸着し、その後送液したF-Ca-Pは時間と共に吸着したが、水を流したことにより吸着物の大部分は除去されることが分かった (Fig. (b))。そこで、Fig. (a)とFig. (b)の吸着挙動が異なる原因を明らかにするため、溶液中でのCCとF-Ca-Pとの相互作用に着目した。CCとF-Ca-Pはその分子構造からいずれも電荷を有しており、溶液中で相互作用し表面電位の変化が予想される。この仮説を基に、ゼータ電位を測定したところ、F-Ca-P単独では負電荷、CC単独では正電荷を示したのに対し、CCとF-Ca-Pを混合すると電荷が中和されたことから、CCとF-Ca-Pの相互作用が示唆された。

以上の結果から、フッ化物の吸着促進には、溶液中でCCとF-Ca-Pを相互作用させた後、歯面へ吸着させることが重要であり、吸着したフッ化物は効果的な再石灰化促進や耐酸性向上に繋がるものと期待される。

(a) System A: CC and F-Ca-P were flowed simultaneously



(b) System B: CC and F-Ca-P were flowed in that order

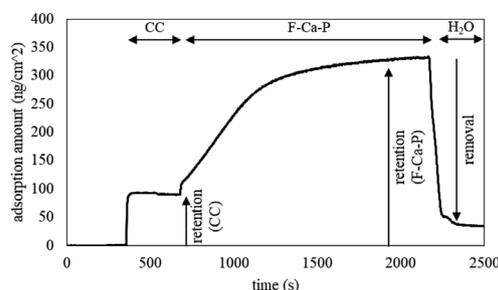


Fig. QCM-D results monitored for the retention and removal process of system A/B.

PIXE/PIGE によるう蝕評価法の *in vivo* モデルの構築

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⁾北海道医療大学歯学部 う蝕制御学分野 ³⁾朝日大学歯学部 歯科理工学分野

○神田 ひかる¹⁾, 山本 洋子¹⁾, 内藤 克昭¹⁾, 上村 怜央¹⁾ 松田 康裕²⁾, 奥山 克史³⁾, 林 美加子¹⁾

Development of an *in vivo* model for caries assessment using PIXE/PIGE

1. Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
2. Health Sciences University of Hokkaido Graduate school of Dentistry, Division of Clinical Cariology and Endodontology
3. Asahi University School of Dentistry, Department of Dental Materials Sciences
OKANDA Hikaru¹, YAMAMOTO Hiroko¹, NAITO Katsuaki¹, UEMURA Reo¹, MATSUDA Yasuhiro², OKUYAMA Katsushi³, HAYASHI Mikako¹

【目的】

う蝕を非侵襲的にマネジメントするために、バイオミネラリゼーションを促進する材料開発が進められている。我々は、従来より In-air micro-beam particle induced X-ray/ γ -ray emission (PIXE/PIGE)法を用いた歯質内の多元素分析について、*in vitro* 試料において定量測定が可能であることを報告してきた。本研究では、*in vivo* ラットう蝕モデルから得られた試料において、PIXE/PIGE 法を用いてバイオアクティブな材料からエナメル質および象牙質表層に浸透したカルシウム(Ca)、フッ素(F)、亜鉛(Zn)、ストロンチウム(Sr)の分布を評価した。

【材料と方法】

Sprague・Dawley系ラット(15日齢オス)に5日間抗生物質含有の飼料(テトラサイクリン, 4g/kg, 富士フィルム和光純薬)と水(ペニシリン, 1 ampoule/mL Meiji Seika フェルマ)を投与し、口腔常在細菌を抑制した。生後20日目より本抗生物質に耐性のある *Streptococcus mutans* MT8148R株を5日間摂取させ、口腔内に菌が定着したことを確認した。その後実験終了まで56%スクロース配合粉末飼料(Diet 2000, オリエンタル酵母)を与えて飼育し、う蝕の進行をマイクロCT(mR_CT2, RIGAKU)にて確認した。感染後1ヶ月間飼育することにより裂溝う蝕を誘発させたラットにおいて、上顎第一臼歯咬合面小窩裂溝部のう蝕をラウンドバーにて除去して窩洞を形成し、窩洞内に①ケアダイン レストア(GC社)(Zn群)および②Fuji VII(GC社)(F7群)を充填した。充填3ヶ月後に屠殺し、顎骨を摘出した。軟組織を除去後、上顎臼歯部を近遠心方向に厚さ500 μ mに切断し、測定試料とした。

エナメル質および象牙質表層を含む裂溝部位のCa、F、Zn、Srの面分析を、Yagiら⁽¹⁾の報告と同様に既報⁽²⁾に従いPIXE/PIGE法にて行った。表層がエナメル質(エナメル質部位と略)および象牙質(象牙質部位と略)各部位の50 μ mまでの積算イオン濃度を比較検討した。

本研究における全ての動物実験は大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の審査を受け、承認のもとに実施した(受付番号: 動歯R-02-007-0)

【結果および考察】

今回は *in vivo* ラットう蝕モデルから得られた試料において、*in vitro* 試料の実験と同様に、PIXE/PIGE法を用いて歯質内の多種のイオンを同時に測定できた。

エナメル質部位と象牙質部位の積算イオン濃度は、F7群のFでは有意差は認めなかったが、Zn群のF、ZnおよびF7群のSrでは象牙質部位の方が有意に高かった(Mann-Whitney *U* test ; $p < 0.05$)。またZn群のF、Znは象牙質部位において、F7群のF、Srはエナメル質部位、象牙質部位ともに有意差があった。Zn群とF7群のFは象牙質部位において有意差があった。これらはイオンや材料による影響と考えられる。

本研究により *in vitro* 試料にて従来利用されていた多元素分析の技術を *in vivo* 試料へ応用することが可能になった。今後はラットう蝕モデルを利用し、各種イオンのう蝕抑制効果のメカニズムを明らかとし、バイオミネラリゼーションの理解を促進する新規材料の開発に寄与したい。

【参考文献】

(1)Yagi et al : Sci Rep (2017) : 10.1038/s41598-017-14041-4

(2)H.Komatsu et al : Nucl Instr and Meth B 269 (2011) : 2274-2277

新規光重合型レジンセメントの接着性能に関する研究

¹ 北海道大学大学院歯学研究院 口腔健康科学講座 歯科保存学教室

² 北海道大学病院 生体技工部

○川村碧^{1,2}, 戸井田侑¹, 星加修平¹, 佐野英彦¹

Bonding performance of novel developed light-cured resin cement

¹ Department of Restorative Dentistry, Faculty of Dental Medicine and Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

² Department of Dental Medical Laboratory, Hokkaido University Hospital

○Midori KAWAMURA^{1,2}, Yu TOIDA¹, Shuhei HOSHIKA¹, Hidehiko SANO¹

【目的】前歯部修復ではラミネートベニアなど切削量の少なく、かつ審美的な要求に応える治療が一つの選択肢である。しかし、その際に用いられるデュアルキュア型レジンセメントを用いた場合、辺縁部において酸素重合阻害による重合度の低下が考えられる。今回クラレノリタケデンタルが新規開発した光重合型レジンセメント HL-100C (HL)はデュアルキュア型と比較すると、光照射直後の重合度が上昇によって良好な成績を示すことが考えられる。そこで本研究では CAD/CAM 用レジンブロックと象牙質との接着において、新規光重合型レジンセメントまたはコンポジットレジンを使用した接着強さを、微小引張試験にて従来のデュアルキュア型レジンセメントと比較検討した。

【材料および方法】CAD/CAM 用レジンブロックはカタナ アベンシア ブロック 2 (クラレノリタケデンタル) を使用した。レジンブロックを 1.5mm の厚さに切断、サンドブラスト処理後、被着面に表面処理材として K エッチャント シリンジ (クラレノリタケデンタル)、およびクリアフィル セラミック プライマー プラス (C:クラレノリタケデンタル) を使用した。また、う蝕を伴わない 18 本のヒト抜去大臼歯の象牙質を露出させ、研磨した後、被着面の表面処理材にパナビア V5 トゥースプライマー (T:クラレノリタケデンタル)、またはクリアフィル メガボンド 2 (M:クラレノリタケデンタル) を塗布した (本学倫理委員会承認番号: 2018 第 9 号)。ブロックと象牙質への接着には光重合型レジンセメントとして HL、デュアルキュア型レジンセメントとしてパナビア V5 (PV:クラレノリタケデンタル)、クリアフィル AP-X (AP:クラレノリタケデンタル) をレジンセメントとして使用し、それぞれ HL 群 (T+HL)、PV 群 (T+PV)、AP 群 (M+AP) とした。PV は光照射した。微小引張試験を行うのに際し、試料の高さを得るために試料のレジンブロック側に C と M を処理し、AP を高さ 2.5mm 築盛した。作製した試料を 37°C の蒸留水に 24 時間、または 7 日間保管した後、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 で微小引張試験を行った (n=15)。得られたデータは一元配置分散分析および Games-Howell の検定にて有意水準 5% で統計処理した。また、試験後の破断面は走査電子顕微鏡 (SEM) により観察を行った。

【結果および考察】微小引張試験の結果を Table 1 に示す。24 時間後では HL 群と AP 群が PV 群と比較し有意に高い値を示した。7 日後では AP 群が他群と比較し、HL 群が PV 群と比較して有意に高い値を示した。HL 群、AP 群は 24 時間後に最も高い接着強さを示し、PV 群は化学重合による重合度の上昇によって 7 日後に最も高い接着強さを示したと考えられる。また AP 群では、M が象牙質に対して直接法と同様の良好な接着強さを示したと考えられる。破断面分析ではすべての群においてレジンセメント内での凝集破壊が多かったものの、AP 群ではレジンセメントと歯質での混合破壊も認められた。

	MPa (Mean ± SD)	
	24 h	7 days
HL	60.32 (±11.28) ^a ———	53.81 (±9.56) ^A
PV	37.24 (±7.28) ^b ———	40.23 (±8.78) ^B
AP	72.07 (±21.10) ^a ———	67.24 (±13.82) ^C

Table 1 Results of micro-tensile bond strength. The different script letter indicates the statistically significant differences. Connected bar means there was no significant difference. ($p < 0.05$)

【結論】今回用いた、レジンセメントの接着性能を見ると、HL 群及び AP 群は、PV 群より高い接着強さを得られることが示唆された。

TMR-アクアボンド 0-n によるコーティングの耐久性評価

YAMAKIN 株式会社
○水田悠介、林未季

Evaluation of Durability for Coating with TMR-AQUA BOND 0-n

YAMAKIN CO., LTD
○Yusuke Mizuta, Miki Hayashi

【目的】

「TMR-アクアボンド 0-n」は接着性モノマーとして 10-メタクリロイルオキシテトラエチレングリコールジハイドロゲンホスフェート (M-TEG-P®) を採用したボンディング材である。M-TEG-P®は両親媒性であり、象牙細管内の水分の影響を受けづらく、強固な保護コーティング層を形成することが可能であることから、知覚過敏抑制材として効果的に機能すると考えられる。さらに、「TMR-アクアボンド 0-n」は歯科用シーリング・コーティング材としての認可も受けることで、2019 年 12 月に保険収載された象牙質レジンコーティングにも適用可能である。知覚過敏抑制材や象牙質レジンコーティングの用途を考慮すると、歯質表面に形成されるコーティング面は、十分な耐摩耗性や接着性を有する必要がある。

そこで本研究では、歯質表面に塗布した「TMR-アクアボンド 0-n」のコーティング面に対して、歯ブラシ摩耗試験およびサーマルサイクルを用いた接着試験をおこなうことで耐久性評価をおこなった。

【材料および方法】

歯ブラシ摩耗試験：ウシ下顎前歯の露出させた象牙質に「TMR-アクアボンド 0-n」を塗布し、エアブロー後に歯科用光照射器（ペンギン アルファ、ピヤス社製）にてハイパワーモードで 3 秒間光照射し、試験片とした。試験片を簡易歯ブラシ摩耗試験機に設置し、装置内を歯磨粉懸濁液で満たした。荷重 2.0 N、滑走速度 850 mm/s で歯ブラシを 10,000 回滑走した (ISO14569-1 参考)。ブラッシング後の試験片を流水洗浄し、メチレンブルー染色をおこなった。染色後の試験片の表面、および切断後の断面はデジタルマイクロスコープ (DHX-6000, キーエンス社製) にて観察した。

接着試験：ウシ下顎前歯の露出させた象牙質に「TMR-アクアボンド 0-n」を塗布し、エアブロー後にスタンダードモードで 10 秒間光照射することでコーティング面を作製した。得られたコーティング面はエタノール綿球で未重合層を除去した。印象材 (インプリント, 3M 社製) をコーティング面に 2 分静置し、除去・流水洗浄後に乾燥させた。次に、仮着材 (ハイボンドテンポラリーセメント ソフト, 松風社製) をコーティング面に適用し、37°C・湿潤条件下で 1 週間保存した後、仮着材を除去・清掃した。「TMR-アクアボンド 0-n」を適用し、スタンダードモードで 10 秒間光照射した。接着面に歯科用レジンセメント (KZR-CAD マリモセメント LC, YAMAKIN 社製) を充填し、光照射を行うことで試験片とした。作製した試験片は、1 日 37°C 水中保管後もしくは 5,000 回 (5, 55°C) のサーマルサイクルを行った。小型万能試験機 (Ez-Graph, 島津製作所社製) にてクロスヘッドスピード 1.0 mm/min で引張試験を行った。

【結果および考察】

ブラッシング後にメチレンブルー染色した試験片表面と断面を Fig. 1 に示す。ブラッシング後においてもコーティング面は均一な状態であった。また、メチレンブルーの侵入を防いでいることから十分な封鎖性を維持していることを示唆している。従って「TMR-アクアボンド 0-n」は優れた耐摩耗性を有していると考えられる。

さらに、1 日水中保管後の接着強さ (Ave. 9.0 MPa, S.D. 2.9 MPa) とサーマルサイクル後 (Ave. 9.6 MPa, S.D. 3.1 MPa) とでは有意差 ($p < 0.05$) が見られなかったことから、コーティング面は十分な接着耐久性を有していることが示唆された。

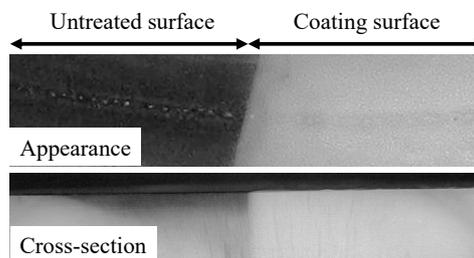


Fig. 1 Visual appearance and cross-section of TMR-AQUA BOND0n-coated bovine tooth dentin after staining with methylene blue

S-PRG フィラー溶出液は TNF- α 刺激ヒト歯肉線維芽細胞の MMP-1 分泌を抑制する

大阪歯科大学 生理学講座

○蘭 嵐、井上 博、合田征司

Surface pre-reacted glass-ionomer (S-PRG) filler eluate suppresses MMP-1 secretion by TNF- α -stimulated human gingival fibroblasts

Department of Physiology, Osaka Dental University

○Lan Lan, Hiroshi Inoue, Seiji Goda

【目的】

歯周炎は、歯の支持組織である歯周組織の劣化と破壊を特徴とする慢性炎症性疾患であり、重度の歯周炎は歯の喪失の主な原因である。TNF- α は組織損傷において主要な役割を果たす炎症性サイトカインの 1 つで線維芽細胞とマクロファージによって産生され、骨吸収の誘導などの多くの作用を引き起こす。TNF- α はマトリックスメタロプロテイナーゼ (MMP) の放出を促進することで歯肉の細胞外マトリックス (ECM) を破壊し急速な疾患の進行を誘発する。

S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、6 種類のイオン (Na, F, Al, B, Sr, Si) 徐放能を有する齶蝕抑制効果の高い材料として知られている。S-PRG フィラー溶出液は、S-PRG フィラーと α -MEM を懸濁させた後に上清をろ過して作製する。S-PRG フィラー溶出液には、S-PRG フィラーから溶け出した 6 種類のイオン (F, Na, Al, B, Sr および Si) が存在する。

本研究では、炎症性サイトカイン TNF- α で刺激したヒト歯肉線維芽細胞(HGF)における MMP-1 分泌に対する S-PRG フィラー溶出液の影響を検討した。

【方法】

(1) HGF を 12 well plate に 1.0×10^5 cells / well で播種し、各種濃度の S-PRG フィラー溶出液 (0.1, 0.5, 1.0 %) および 10 ng / mL の TNF- α で 24 時間刺激した。刺激後に上清を濃縮してサンプルを作成し、MMP-1 を Western Blotting にて確認した。

(2) (1)同様に HGF を播種し、S-PRG フィラー溶出液 (0.1%) で 30 分間前処理してから TNF- α (10 ng / mL) にて刺激した。各種シグナル伝達物質 (Akt, NF- κ B p65, p38, JNK)におけるリン酸化のタイムコースをウエスタンブロットティングにより検討した。

本研究は、大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った (承認番号 111111)。

【結果】

(1) TNF- α 刺激により増加した MMP-1 の分泌は TNF- α と S-PRG フィラー溶出液の共刺激により抑制された。

(2) S-PRG フィラー溶出液は TNF- α 刺激による Akt, NF- κ B p65, p38 のリン酸化レベルには影響を与えなかった。JNK のリン酸化は、TNF- α 刺激の 5 分後から確認され以後 60 分後まで観察された。JNK リン酸化のピークは TNF- α 刺激の 15 分後に確認され、その後リン酸化は時間とともに減少した。TNF- α および S-PRG フィラー溶出液との共刺激は、TNF- α 刺激と比較して JNK のリン酸化レベルを低下させた。

【考察】

以上の結果から、複数のイオンを含む S-PRG 溶出液が TNF- α 刺激 HGF からの MMP-1 の分泌を抑制する可能性が示唆された。また、その作用のメカニズムには JNK のリン酸化が関与している可能性が示唆された。

【利益相反】

本研究において開示すべき利益相反関係にある企業はない。

iE-DAP, MDP 刺激ヒト歯髓由来線維芽細胞の MMPs 産生に及ぼす S-PRG フィラー溶出液の影響

1)大阪歯科大学 歯科保存学講座

2)大阪歯科大学 生理学講座

○諸頭秀俊¹⁾, 井上 博²⁾, 小正玲子¹⁾, 吉川一志¹⁾, 合田征司²⁾, 山本一世¹⁾

**(Effect of S-PRG filler eluate on MMPs production
of iE-DAP and MDP-stimulated human dental pulp-derived fibroblasts.)**

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University¹⁾

Department of Physiology, Osaka Dental University²⁾

○MOROTO Hidetoshi¹⁾, INOUE Hiroshi²⁾, KOMASA Reiko¹⁾, YOSHIKAWA Kazushi¹⁾,
GODA Seiji²⁾ and YAMAMOTO Kazuyo¹⁾

【目的】

歯髓は常時、物理・化学的刺激から歯を維持するために、象牙質への栄養供給、修復象牙質の形成などの役割を果たしている。齲蝕の進行に伴い、齲蝕病原性細菌により歯髓組織に炎症が惹起される。炎症時の歯髓組織では、炎症の進行に伴いマトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)などのタンパク質分解酵素が産生される。

自然免疫機構は、細菌やウイルスなどの病原体の侵入に対して即座に反応する感染防御機構である。細菌のペプチドグリカンの構造である iE-DAP(γ -D-グルタミル-メソジアミノピメリン)のレセプターである NOD1, 細菌の細胞壁の構成成分である MDP(ムラミルジペプチド)のレセプターである NOD2 は、NOD 様受容体(NLR)は細部内に発現する自然免疫受容体ファミリーであり、自然免疫を制御する役割を担っている。

S-PRG (surface reaction-type pre-reacted glass-ionomer) フィラーは、6 種類のイオン(F, Na, Al, B, Sr および Si) 徐放能を有する齲蝕抑制効果の高い材料として知られている。

今回我々は、S-PRG フィラー溶出液が iE-DAP あるいは MDP 刺激ヒト歯髓由来線維芽細胞(HPF)の MMP-1 と MMP-3 分泌に及ぼす影響について検討した。

【方法と結果】

S-PRG フィラー溶出液は、S-PRG フィラーと MEM- α を懸濁させ上清をろ過して作製した。S-PRG フィラー溶出液には、S-PRG フィラーから溶け出した 6 種類のイオン(F, Na, Al, B, Sr および Si)が存在する。HPF を 24 well plate に 1.0×10^5 cells / well で播種し、iE-DAP あるいは MDP (0, 1, 5, 10, 20 μ g/ml)にて 24 時間刺激した。刺激後、上清を濃縮してサンプルを作成し、MMP-1 と MMP-3 を Western Blotting にて確認した。その結果、iE-DAP あるいは MDP 刺激時の HPF の MMP-1 と MMP-3 産生は共に 10 μ g/ml でピークが観察された。同様の方法で iE-DAP あるいは MDP 刺激時の HPF の MMP 産生に及ぼす S-PRG フィラー溶出液の影響を検討した。その結果、iE-DAP あるいは MDP 刺激により増加した MMP-1 および MMP-3 の産生は、iE-DAP あるいは MDP と S-PRG フィラー溶出液の共刺激により S-PRG フィラー溶出液の濃度依存的に抑制された。

本研究は、大阪歯科大学医の倫理委員会において承認を得た(大歯医倫 第 111112 号)。

【考察】

以上の結果から、iE-DAP あるいは MDP 刺激による HPF の MMP-1 と MMP-3 産生増強に対して、S-PRG フィラー溶出液刺激は抑制的に働く可能性が示唆された。

【利益相反】

本研究による利益相反はありません。

新規ユニバーサル・ボンディング材の象牙質接着性

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
○大原直子, 小野瀬里奈, 澁谷和彦, 横山章人, 松崎久美子, 山路公造, 吉山昌宏

Dentin bond strengths of new universal adhesive bonding agents

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

○OHARA Naoko, ONO Serina, SHIBUYA Kazuhiko, YOKOYAMA Akihito,
MATSUZAKI Kumiko, YAMAJI Kozo, YOSHIYAMA Masahiro

近年, 象牙質へのボンディング材の接着性や操作性は大きく向上しており, 1ステップ型が市場で中心となってきた。さらに, 国内外各メーカーより市販されている最新の1ステップ型は, ユニバーサル・ボンディング材と称されており, ワンボトルで幅広い用途や被着体に対応が可能となった。本研究では, 新規2種類のユニバーサル・ボンディング材の接着性能を検討することを目的として, ヒト抜去大白歯象牙質への初期接着性を微小引張接着試験により検討したので報告する。

【材料と方法】

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科の倫理審査委員会の許可(承認番号189号)を得て, 本研究を実施した。ヒト健全抜去大白歯歯冠部の象牙質平坦面を耐水研磨紙#600にて研削し被着面とした。新規ユニバーサル・ボンディング材としてビューティボンド Xtreme (BBX, 松風) とクリアフィル®ユニバーサルボンド Quick ER (QER, クラレノリタケデンタル) を使用した。歯面処理は各社の説明書のとおり実施した。BBX は塗布後, 弱圧から強圧のエアードライ, 光照射, ビューティフィル II (松風) を築盛し接着試料とした。QER は塗布後,マイルドエアードライ後, 光照射, クリアフィル AP-X (クラレノリタケデンタル) を築盛し接着試料とした。両者とも37°C水中24時間保管後, 被着面が1mm²になるように短冊状に切り出し, クロスヘッドスピード1mm/minで微小引張接着試験を行った。試料数は, 各群n=55(2歯)とした。また, 実体顕微鏡により破断面観察を行った。微小引張接着強さの統計的解析は, 有意水準5%にてt検定を用いた。

【結果と考察】

BBX と QER の微小引張接着強さは, BBX は 23.7 ± 9.2 MPa, QER は 20.9 ± 9.7 MPa であり, 有意差は認められなかった。破断面様式の解析では, BBX ではコンポジットレジンとボンドの界面破壊が45%を占めたのに対し, QER はボンドと歯の界面破壊が40%, コンポジットレジンとボンドの界面破壊が30%を占めた。BBX は耐酸性シランカップリング剤ARS, QER はリン酸エステル系モノマーMDPの配合により多用途への使用を可能にしている。象牙質接着性については両者とも同等であるが, 破断面様式の分布に若干の相違を認めたことは各システムの接着メカニズムの相違を表しているといえるかもしれない。

【結論】

BBX と QER はどちらも, 1ステップ型として良好な象牙質接着性を有していることが明らかとなった。今後は, 両システムの接着メカニズムの詳細や耐久性についても検討していく予定である。

本研究において, 開示すべき利益相反関係にある企業などはありません。

多菌種バイオフィームを用いた象牙質表層下脱灰病巣の再石灰化様相

神奈川県歯科大学 歯科保存学講座 保存修復学分野¹, 分子生物学講座 口腔細菌学分野²

○ 小浦裕菜¹, 富山 潔¹, 國松雄一¹, 石澤将人¹, 浜田信城², 向井義晴¹

Remineralization of dentin subsurface lesion with the polymicrobial biofilms

¹Dep. of Restorative dentistry, ²Dep. of Microbiology,
Kanagawa Dental University

○ KOURA Yuna¹, TOMIYAMA Kiyoshi¹, KUNIMATSU Yuichi¹, ISHIZAWA Masato¹, HAMADA Nobushiro², MUKAI Yoshiharu¹

【研究目的】 エナメル質あるいは象牙質齶蝕研究モデルの多くは酸による脱灰モデルである。我々は多菌種バイオフィームにより病巣を形成するモデルを作製し脱灰抑制に関する研究を行ってきた。本研究では多菌種バイオフィームを使用して形成した象牙質表層下脱灰病巣に対して、バイオフィーム残存下で培養環境を変化させることにより再石灰化環境が誘導できるか、また再度脱灰環境へ移行できるかをスクロース添加の有無やカルシウムおよびリン酸イオンの添加により検討した。

【実験材料および方法】 ウシ下顎中切歯の歯根部の歯頸部直下から8 mm 根尖側の位置を水平に切断し、得られた円筒状試片を2分割した後、表面を2000番の耐水研磨紙で研磨し、さらに直径6 mm 厚さ1 mm の円盤状象牙質試料を切り出した。試料2枚の表面が両側となるように貼り合わせ、バイオフィーム形成用試片とした。実験群は①表層下脱灰病巣群(cont), ②スクロース非含有再石灰化群(S(-)), ③スクロース非含有再石灰化脱灰群(S(-)de), ④スクロース添加再石灰化群(S(+)), の4群とした(各群n=6)。バイオフィームの培養には、1被験者から採取した刺激唾液を用い、バイオフィームモデルとしてAmsterdam Active Attachment Model(Exterkate RAMら, 2010)を使用した。培養液にはMcBain 2005(0.2% スクロース, 0.4 ppm F, 1.5 mM Ca, 0.9 mM P 含有)を用い、培養液の交換を10時間, 14時間の間隔で1日2回行なう連続嫌気培養を48時間行なった。この時点で表層下脱灰病巣が形成されていること(cont 群)をTransverse Microradiography(TMR)で確認後、cont 群以外の実験群に対してはバイオフィームを残したまま2種類の再石灰化培養液を用いて嫌気培養を継続した。すなわち、S(-)群では、McBain 2005(1.5 mM Ca, 0.9 mM P, 0.1 ppmF 含有)を用い、S(+)群では、McBain 2005(0.2% スクロース, 1.5 mM Ca, 0.9 mM P, 0.1 ppmF 含有)を用いて、培養液の交換を10時間, 14時間の連続嫌気培養により、336時間行なった。S(-)群およびS(+)群はその時点で培養を停止し、S(-)de 群は、その後48時間の追加培養(0.2% スクロース, 1.5 mM Ca, 0.9 mM P 含有 McBain2005)を行なった。それぞれ培養終了後の象牙質試片より厚さ300 μm の薄切片を作製し、TMRを撮影後、ミネラル喪失量(IML)および病巣深度(Ld)を測定(TMR2006, 2012, Inspektor), 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、各群の病巣を比較検討した。

【結果及び考察】 cont 群では表層ならびにその直下に透過像が観察され、多菌種バイオフィームによる表層下脱灰病巣の形成が確認された。S(-)群およびS(+)群はcont 群に比較しミネラル vol%の高い表層および病巣体部を示し、多菌種バイオフィーム環境下における再石灰化が確認された。また、これら2群はIMLおよびLdともにcont 群に比較し有意に低い値となった。再石灰化環境終了後、再度スクロース含有培地に移したS(-)de 群は、S(-)群に比較してIMLおよびLdの有意な増加が認められた。これらの結果から、多菌種バイオフィーム存在下で脱灰病巣が形成された後、栄養供給が停止され、唾液からカルシウムやリン酸イオンなどの無機イオンが供給されることにより再石灰化を誘導することができるモデルが確立できたと考えられる。一方、栄養供給の停止により再石灰化が誘導された後に再度栄養供給を再開することにより再度脱灰が進行したという結果は、休眠状態となった細菌が再度活性化したことを示唆するものと考えられた。再石灰化環境に口腔内状態を誘導できたとしてもバイオフィームの存在がある限り、栄養供給が再開された場合には細菌の酸産生活動が再開し脱灰状態に陥ることから、効果的な再石灰化を誘導できる抗菌剤の開発や評価に本 ex vivo モデルが有効であると考えられた。

【結論】 多菌種バイオフィームを用いて形成した象牙質表層下脱灰病巣に対して栄養供給の停止ならびに無機イオンを添加したバイオフィーム環境下で培養を継続することにより再石灰化の誘導が可能であり、その後栄養供給を再開することにより脱灰が再度進行するモデルを確立できた。

本研究は、神奈川県歯科大学 倫理委員会の承認を得て遂行された【研究倫理 審査番号 496】

本研究内容及び発表に際しての開示すべき利益相反関係にある企業などはない。

知覚過敏症罹患モデル象牙質を用いた TiO₂併用 Nd:YAG レーザー照射による象牙細管封鎖性について

大阪歯科大学 歯科保存学講座

○中田朋宏, 保尾謙三, 森川裕仁, 谷本啓彰, 岩田有弘, 吉川一志, 山本一世

Study on sealability of dentinal tubules irradiated by Nd:YAG laser with TiO₂ using a model of hypersensitive dentin

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University

○NAKATA Tomohiro, YASUO Kenzo, MORIKAWA Yuto, IWATA Naohiro, TANIMOTO Hiroaki, YOSHIKAWA Kazushi, YAMAMOTO Kazuyo

【研究目的】

レーザーを用いた象牙質知覚過敏症の治療法は、生体相互作用における光化学作用と光熱作用を利用し、知覚過敏の緩和を目的とした LLLT や、表面吸収性レーザーを用いた象牙細管の封鎖を目的とした HLLT など、幅広く実施されている。Nd:YAG レーザーは歯質に殆ど吸収されないことから、Nd:YAG レーザーを照射して象牙質表面を改質するためには、歯質を黒色に着色してレーザー光の吸収を高める必要があるとされている。一方、Nd:YAG レーザーはチタンに対して吸収が高いことから、酸化チタン (TiO₂) を光反応剤として用いて歯質の除去を行う方法が報告されている。本研究は、象牙質表面の象牙細管の封鎖を目的として、光反応剤である TiO₂ 乳液を併用した Nd:YAG レーザーを知覚過敏症罹患モデル象牙質に照射し、象牙質透過抑制率を測定したので報告する。

【材料および方法】

レーザー装置として、Nd:YAG レーザー STREAK-1 (ALTEK) を用いた。照射条件は、50μm-50mJ-50pps (以下、50-50) (100J/cm²), 100μm-100mJ-20pps (以下、100-20) (80J/cm²), 100μm-100mJ-99pps (以下、100-99) (396J/cm²), 200μm-300mJ-20pps (以下、300-20) (240J/cm²) とし、それぞれ 10 秒間照射した。照射に際し、TiO₂ 乳液: 10 倍希釈液 (H₂O₂) を注水した。

ヒト抜去歯を被験歯とし、モデルトリマーと耐水研磨紙 #600 までを用いて直径 8mm, 厚さ 1mm の象牙質ディスク試料を作製した。善入ら¹⁾ に準じて作製された装置を用いて、象牙細管内液を満たした試料ステージに試料を装着し、内圧を 25 mmHg に規定した。照射前後の象牙細管内液の移動量から象牙質透過抑制率を測定した (n=5)。その後、象牙質ディスク表面を SEM 観察にて観察を行った。一元配置分散分析および Tukey の分析により統計処理を行った (p<0.05)。

なお、本研究は大阪歯科大学医の倫理委員会の承認を得て行った (承認番号: 大歯医倫 110767 号)。

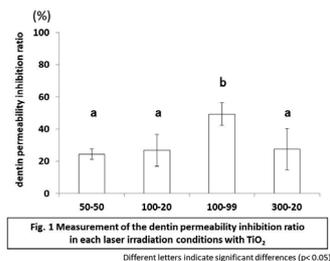
【結果および考察】

象牙質透過抑制率の結果を Fig. 1 に示す。100-99 は、50-50 と 100-20 と 300-20 と比べて有意に高い象牙質透過抑制率を示した。また、50-50 と 100-20 と 300-20 の象牙質透過抑制率に有意差は認められなかった。象牙質ディスク表面の SEM 観察像では、すべての条件において象牙細管の封鎖や一部に被膜による被覆が認められた。

これは、100-99 が最もエネルギー密度が高いことや、TiO₂ 乳液により照射された Nd:YAG レーザーが象牙質表面で吸収され反応したため、高い象牙質透過抑制率を示したと考えられる。

【結論】

光反応剤である TiO₂ 乳液を併用した Nd:YAG レーザー照射は、象牙細管の封鎖に有効であることが示唆された。



被着面の各種汚染に対する象牙質レジンコーティング法の効果

¹岡山大学病院 総合歯科, ²岡山大学学術研究院 医歯薬学域 生体材料学分野
○矢部 淳^{1,2}, 入江正郎², 岡田正弘², 武田宏明¹, 鳥井康弘¹, 松本卓也²

Effect of resin coating technique on various contaminations of adhesive surface

¹Comprehensive Dental Clinic, Okayama University Hospital,
²Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences.

○Atsushi Yabe^{1,2}, Masao Irie², Masahiro Okada², Hiroaki Taketa¹, Yasuhiro Torii¹, Takuya Matsumoto²

【 緒言 】

近年, 生活歯の間接修復法に際して, 歯髄保護, 修復物の辺縁封鎖性や窩壁適合性の向上, レジンセメント接着性の向上に期待し, 象牙質レジンコーティング法が使用される場面が増加している. その一方, 仮着材/仮封材の残留物, 滲出液, 唾液等による被着面への汚染は, セメント接着強さの低下につながるため臨床上の問題となっている. そこで今回は, 象牙質レジンコーティング法の適用と被着面の各種汚染がレジンセメント接着強さに与える影響を検討した.

【 材料と方法 】

レジンコーティング材料としてクリアフィル ユニバーサルボンド Quick ER (UBQ; Kuraray Noritake Dental), レジンセメントとして SA ルーティング Multi (Kuraray Noritake Dental)を使用した. また, 仮着材としてハイポボンド テンポラリーセメント (ハード) (Shofu), 仮封材としてキャビトン EX (GC)を使用した. 接着強さの評価は, ISO/TR 11405 を参考にして行った. 具体的には, ヒト象牙質の被着面を# 320 の耐水研磨紙で最終研磨後, 蒸留水で水洗し, エアードで十分に乾燥させた (未コーティング群). コーティング群は, ヒト象牙質に UBQ を塗布後エアブローし, 10 秒間照射した後にアルコール綿球にて未重合層を除去した. 汚染群として, 仮着材で即時重合レジン板 (ユニファスト II, GC) を被着面に仮着, もしくは仮封材を被着面に適用し, 1 週間 37°C 水中保管後, 仮封材と仮着材を除去し水洗乾燥させたサンプルあるいは, ヒト唾液またはヒト血漿で被着面を 10 秒間汚染後, 水洗乾燥したサンプルを用意した. 被着面に SA ルーティング Multi を用いてステンレスロッド (粒子径 50 μm のアルミナを 0.3 MPa で 10 秒間噴射しサンドブラスト処理) を 2 回 20 秒間照射して接着させた. 24 時間 37 °C の蒸留水中に浸漬後, せん断接着強さを測定した. 結果は, 汚染していないコーティング群を対照として Dunnett's Test にて統計分析をした.

【 結果と考察 】

Table 1 に結果を示す. 汚染していない場合, 未コーティング群と比較してコーティング群は 5% 有意水準で有意に高い接着強さを示した. また, コーティング群では, 汚染していない群と各種汚染群で接着強さに有意な差は認められなかった. 一方, 未コーティングの汚染表面に対しては 0.1% 有意水準において有意差を認めた. また, 未コーティング群では汚染群で接着強さが低下する傾向にあった. この結果は, UBQ を用いた象牙質レジンコーティング法の適用が, 被着面の汚染によるレジンセメント接着強さ低下を抑制する効果があることを示唆しており, 臨床応用への効果が期待される.

本演題内容は, 本学倫理審査委員会 (研 1901-036 および 1912-014) で承認を受けている.
演題発表に関しまして, 開示すべき COI 関係にある企業はありません.

Table 1. Shear bond strengths of self-adhesive resin cement to non-contaminated and contaminated human dentins [Mean (S.D.), MPa (n = 10)].

		Resin coated	Shear bond strength	Adjusted p-value
Non-Contaminated	Dentin(Control)	+	21.7 (6.2)	-
	Dentin	-	15.9 (2.0)	0.010 *
Contaminated	Temporary Cement	+	21.7 (2.4)	1.000
		-	13.0 (3.4)	< 0.001 ***
	Temporary Sealing Material	+	20.6 (3.5)	0.996
		-	11.1 (2.5)	< 0.001 ***
	Saliva	+	20.5 (4.7)	0.989
		-	8.9 (2.5)	< 0.001 ***
Blood Plasma		+	20.1 (5.2)	0.952
		-	10.3 (3.8)	< 0.001 ***

Comparison of means (Dunnett's test) for shear bond strength with regard to two dentin surface conditions

* : p<0.05 *** : p<0.001

手用 Ni-Ti ファイルと Ni-Ti ロータリーファイルのグライドパス時の形成能力の比較

東京歯科大学 歯内療法学講座

○井瀬 智之、山田 雅司、田宮 資己、岩澤 弘樹、中島 龍、古澤 成博

Comparison of shaping ability between Ni-Ti hand files and Ni-Ti rotary files during glide path

Department of Endodontics, Tokyo Dental College

○INOSE Tomoyuki, YAMADA Masashi, TAMIYA Yoshiki, IWASAWA Hiroki, NAKAJIMA Ryo,
FURUSAWA Masahiro

【目的】 Ni-Ti ロータリーファイルの使用には、そのガイド形成としてグライドパスを行うことが推奨されている。グライドパスには従来は手用ステンレススチールファイルを用いていたが、現在ではグライドパスが行えるロータリーファイルも販売されており、その有意性も報告されている。最近、マルテンサイト特性を有する手用 Ni-Ti ファイルが発売された。しかしながら、本ファイルのグライドパス形成に対する有用性を調査した報告は少ない。そこで今回我々は、手用 Ni-Ti ファイルと Ni-Ti ロータリーファイルで、グライドパス時の根管センタリング能力の比較を行うことと、その形成時間を比較して、手用 Ni-Ti ファイルでのグライドパスの有用性について検討を行った。

【材料および方法】 透明根管模型に対して、WaveOne® Gold Glider (Dentsply Sirona, Switzerland) と HandFlex (COLTENE Japan, Japan) #15/.04 を用いて、歯内療法専門医がグライドパスを行った群 (GGS 群、HFS 群) と、歯内療法専修医がグライドパスを行った群 (GGI 群、HFI 群) に分けて、その形成状態の観察と、センタリング能力とグライドパス形成終了までの時間を比較した。透明根管模型は、J 型エポキシレジン製透明彎曲根管模型 (彎曲度 30°、根尖孔径 #10、テーパー 02、根管長 16.5 mm : Endo training block canals, Dentsply Sirona, Switzerland) を各群 10 本ずつ用いた。WaveOne® Gold Glider は X-Smart plus (Dentsply Sirona, Switzerland) を使用してレシプロケーティングモーションで拡大し、HandFlex (#15/.04) はバランスドフォース法で拡大を行った。グライドパス形成終了後に、実体顕微鏡で撮影したデジタル画像を根管形成前後で重ね合わせて観察し、得られた画像データをコンピュータに取り込み計測を行った (Adobe Photoshop, USA)。根管模型の根尖孔から 1、3、5、7 mm の位置で内・外彎側の根管幅径増加量を測定して比較した。その後測定結果の統計処理を行った。

【成績】 グライドパス形成前後による根管模型の観察像は、いずれの群も従来の形態を保全して拡大できていた。HFI 群の根管幅径増加量は HFS 群より全体的に大きかった。また、形成時間は HFS 群より HFI 群が優位に長かった。GGS 群、GGI 群共に内彎と外彎の増加量の差は少なく、両群の形成量ともに差異は少なかった。また、形成時間は GGS 群より GGI 群が長かった。根管幅径増加量は HFI 群と HFS 群が GGI 群と GGS 群より大きく、形成時間は GGS 群と GGI 群が HFS 群と HFI 群より短かった。

【考察】 Ni-Ti ロータリーファイルでも手用 Ni-Ti ファイルでも、従来の根管形態を維持してグライドパス拡大を行えるが、手用 Ni-Ti ファイルの形成量は熟練度に影響された。作業時間はロータリーファイルの方が速く効率が良いと考えられた。

【結論】 手用 Ni-Ti ファイルを用いたグライドパス形成は、従来の Ni-Ti ロータリーファイルに比較して遜色なく、有用であるものと思われた。

Biodentine®のヒト歯根膜由来線維芽細胞に対する硬組織形成能の探索

¹⁾東京歯科大学 歯内療法学講座 ²⁾東京歯科大学 病理学講座
○江澤 奈穂¹⁾、中島 啓²⁾、古澤 成博¹⁾、松坂 賢一²⁾

The Effects of Biodentine® on the Mineralization abilities of HPLF

¹⁾Department of Endodontics, ²⁾Department of Pathology

Tokyo Dental College, Tokyo, Japan

○Naho Ezawa¹⁾, Kei Nakajima²⁾, Masahiro Furusawa¹⁾, Kenichi Matsuzaka²⁾

目的:

根管治療において、根管側壁等に穿孔した場合、予後不良に陥ることが多い。その際穿孔部封鎖材が応用されるが、Biodentine®は他の穿孔部封鎖材と比較し、操作性や生体親和性に優れていることから近年注目されている。さらに、本セメントはMTAと比較して、硬化時間が短く機械的特性も良好なことが示されている。本研究の目的は、Biodentine®とMTAに対するヒト歯根膜由来線維芽細胞の細胞動態、特に硬組織形成能を *in vitro* で探索することである。

材料と方法:

6 ウェル培養プレート内に硬化させた Biodentine®およびMTAのdisk(直径7mm 厚さ1mm)を浸漬し、ヒト歯根膜由来線維芽細胞(HPLF, ScienCell)を1ウェルあたり10万細胞播種し、専用の培養液にて培養を行った。なおdiskを浸漬せず細胞播種のみをコントロールとした(n=5)。disk上とdisk周囲のHPLFの存在を確認するため、細胞播種後3日、6日、10日、14日で位相差顕微鏡、SEMにて観察を行った。また細胞カウントにて細胞増殖率も評価した。材料の特性を比較するために、diskを浸漬した培地のCa溶出量、培地のpH測定、アリザリンレッドS染色を実施した。また、細胞播種後3日、6日、10日、14日で各々のmRNAを抽出し、qRT-PCR法によって *RANKL*、*RUNX2*、*OCN*、*OPG* mRNAの遺伝子発現を解析した。統計はOne-Way ANOVAを用い、 $p < 0.05$ で有意とした。同材料間の検査にはスチューデントのt検定を使用した。

結果および考察:

位相差顕微鏡とSEMでの観察でdisk上とdisk周囲にてHPLFを認めた。過去の研究で、Biodentine®は歯根膜の線維芽細胞に対する接着能力があると報告されており、Biodentine® disk上に伸展した紡錘形のHPLFが観察された。また細胞は1日目から5日目にかけて全ての群において増加傾向を示し、pH測定ではコントロール群と比較し、Biodentine®群で有意差を認め、アルカリ性を示した。Ca溶出量は、細胞の有無にかかわらずBiodentine®群で最大であり、有意差が認められた。Biodentine®群において、高アルカリ性を認めCa溶出量が最大となったのは、Biodentine®の練和がMTAと比較し少量の水で練和するため、ケイ酸カルシウムの占める割合が多くなることが推察される。また、液体成分である塩化カルシウムもCa溶出量に関与していると考えられる。ケイ酸カルシウムによる高アルカリ環境が細胞外環境へのカルシウムイオンの流入を増加させるとの報告や、Biodentine®の水和により、SiとCaがMTAよりも多く生成され、初期骨石灰化や新生骨の成長速度を速めるとも言われている。24日目のアリザリンレッドS染色ではBiodentine®群において広範に染まり石灰化を認めた。また、qRT-PCR結果ではBiodentine®群で14日目の *OPG* mRNAと *RUNX2* mRNAにおいて、有意差をもって高い値を示した。さらに、6日目の *OCN* mRNAにおいても高い値を示し有意差を認めた。今回の結果から、高アルカリ環境でBiodentine®やMTAが骨芽細胞の分化と活性化を誘導し、骨形成能を示すことが示唆された。

結論:

Biodentine®は、歯根膜線維芽細胞の骨芽細胞への分化を促進する働きがある可能性が示唆された。

接着性シーラーを用いた根管充填が垂直歯根破折の抵抗性に及ぼす効果

北海道大学 大学院 歯学研究院 歯周・歯内療法学教室
○河合 大史, 鷺巣 太郎, 菅谷 勉

Effect of resistance to vertical root fracture by root canal filling using adhesive sealer
Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science, Hokkaido
University Graduate School of Dental Medicine
○KAWAI DAISHI, WASHIZU TARO, SUGAYA TSUTOMU

【研究目的】

垂直歯根破折は歯頸部から根尖に向かって破折するだけではなく、根尖部から生じ歯冠側に破折していく症例も多い。根尖部から発生する破折への対策として、根管充填材を根管壁に接着することが有効と考えられる。本研究では接着性シーラーと、除去可能なポイントを併用した根管充填が破折抵抗性の向上に有効であるかを検討した。

【材料および方法】

成ブタの歯根を#80 まで根管拡大後、次の9通りの方法で根管充填を行った。S群：表面処理材グリーン＋スーパーボンド混和ラジオペーク。S-G群：S群＋ガッタパーチャポイント。S-F群：S群＋ノルマルヘプタンをプライマーとして塗付したフレックスポイント「ネオ」。S-T群：表面処理材グリーン＋ティースプライマー＋スーパーボンド混和ラジオペーク。S-T-F群：S-F群＋フレックスポイント「ネオ」。M群：メタシール Soft。M-G群：M群＋ガッタパーチャポイント。M-F群：M群＋フレックスポイント「ネオ」。C群：根管充填なし。

24時間後に歯軸に直交する方向で厚さ1.0mmに切断し、引張強さを計測した。破断部の断面積と根管壁全周の面積を合計して、引張強さを除して算出した値を破断強さとした。またシーラーの厚みを計測し、引張り強さとの関係を解析した。さらに根尖部から1.5mm, 3.0mm, 4.5mm, 6.0mmそれぞれの位置での破断強さを比較した。

【結果と考察】

ガッタパーチャポイントを使用したS-G群、M-G群を除くすべての群で、根管充填していないC群に対して有意に大きい破断強さを示し($p<0.05$)、接着性シーラーで根管充填を行うことは破折抵抗性の向上に有効であった。しかし、ガッタパーチャポイントを根管壁に接着させることは破折抵抗性の向上に貢献しないことが示唆された。また、最も高い破断強さを示したS-T群とS-T-F群は、C群の1.6倍の破断強さを示し、他のすべての群との比較で有意差($p<0.05$)が認められたことから、表面処理材グリーンとティースプライマーを併用してスーパーボンド単独で根管充填を行う方法、さらにフレックスポイント「ネオ」を併用して根管充填を行う方法は、破折抵抗性の向上に役立つと考えられた。また、シーラーの厚みや根尖からの距離と破断強さとの間には関連性は認められなかった。一方、S-T-F群ではスーパーボンドとポイントの界面破壊での破壊が多かったことから、フレックスポイント「ネオ」とスーパーボンドの接着強さを向上させることで、さらに破折抵抗性が高くなる可能性が考えられた。

【結論】

根管壁を表面処理材グリーンで処理後にさらにティースプライマーで処理し、スーパーボンド混和ラジオペークを根管内に満たす方法、さらにフレックスポイント「ネオ」を併用する根管充填方法は、未根管充填に比較して約1.6倍の破断強さを示した。

変異型 CDK4, サイクリン D1, TERT の 3 遺伝子導入による 無限分裂ヒト歯髄幹細胞の樹立

九州歯科大学 口腔機能学講座 口腔保存治療学分野
○折本 愛、北村知昭

Establishment of Immortalized Human Dental Pulp Stem Cells by Co-expressing CDK4^{R24C}, Cyclin D1, and TERT

Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions,
Kyushu Dental University
○ORIMOTO Ai, KITAMURA Chiaki

【目的】

歯髄幹細胞は、様々な組織に分化する能力を保持し、脱落した乳歯や智歯等の抜去歯から採取可能なため、入手しやすい細胞治療の細胞源としての期待が高まっている。初代培養細胞は、ある一定回数の細胞分裂後に細胞老化によって性質が変化するため、研究材料としての利用には限界がある。これに対し従来は SV40 もしくはヒトパピローマウイルスの E6E7 癌遺伝子を使用して無限に分裂できるように改変されてきた。しかしながら、従来の方法では遺伝子や染色体が変化し元の野生型細胞と性質が異なってしまうことが問題であった。本研究では、変異型サイクリン依存性キナーゼ 4 (CDK4^{R24C})、サイクリン D1 (CyclinD1)、テロメア逆転写酵素(TERT)の 3 種遺伝子を導入することで新しい無限分裂ヒト歯髄幹細胞 hDPSC-K4DT を樹立し、その細胞の特性について解析を行った。

【材料と方法】

1. 無限分裂するヒト歯髄幹細胞の作製: ヒト歯髄幹細胞 (PT-5025, Lonza, Tokyo, Japan) に、レトロウイルスを用いて変異型 CDK4、サイクリン D1、TERT を導入した。初代培養細胞と並行して連続パッセージによる細胞増殖能力評価を行った。
2. 導入遺伝子の検出: 発現カセット内部に設定した PCR プライマーを用いてゲノムにインテグレートしたことを確認した。CDK4 およびサイクリン D1 に特異的な抗体を用いてウエスタンブロットにてタンパク質レベルで導入遺伝子が発現していることを検出した。TERT はストレッチ PCR 法でテロメア配列の伸長活性を検出した。
3. 間葉系幹細胞マーカーの発現解析: 幹細胞表面マーカーをフローサイトメトリーにて、骨芽細胞と脂肪細胞への石灰化能・分化能をアリザリンレッド S 染色、オステオカルシンの免疫染色、オイルレッド O 染色にて確認した。
4. 染色体解析: 20 から 50 分裂の検体の G-banding 法を用いて染色体異常の有無を検出した。

【結果】

連続的な細胞継代を行った結果、3 遺伝子を導入し作出した無限分裂ヒト歯髄幹細胞 hDPSC-K4DT 細胞は、ヘイフリック限界の PD50 を越えても継続的に細胞分裂が行われ細胞増殖が有意に加速した。一方、2 つの遺伝子のみ(変異型 CDK4、サイクリン D1)を導入した K4D 細胞は、野生型細胞と比較し細胞増殖能力は高いものの、継代回数が 4 回を超えたところより増殖スピードは落ち始め野生型細胞と同様に継代 12 回目に細胞増殖を停止した。染色体解析の結果、hDPSC-K4DT 細胞は正常な染色体パターンを維持していた。また、フローサイトメトリーによる解析では、間葉系細胞マーカーである CD90 は陽性、造血幹細胞マーカーの CD34、CD45 は陰性を示し、ヒト歯髄幹細胞の幹細胞表面マーカーが維持されていた。さらに、アリザリンレッド S 染色、オステオカルシンの免疫染色、オイルレッド O 染色では hDPSC-K4DT 細胞が石灰化能、骨芽細胞、脂肪細胞への分化能を維持していることが示された。

【考察】

変異型 CDK4、サイクリン D1、TERT の 3 種類の遺伝子の発現により、分化能力および元の染色体パターンを維持したまま細胞分裂が劇的に加速される効率の良い無限分裂ヒト歯髄由来幹細胞 hDPSC-K4DT が樹立できた。hDPSC-K4DT 細胞はヒト歯髄幹細胞を用いた様々な研究に貢献すると考えられる。

【結論】

新たな無限分裂ヒト歯髄幹細胞 hDPSC-K4DT の樹立に成功した。

【謝辞】

本研究の実施にあたり、御指導賜りました岩手大学理工学部 福田智一教授と K4DT 無限分裂方法の考案者である国立がん研究センター 清野透プロジェクトリーダーに深く感謝申し上げます。

Bioactive Glass- β TCP 複合粒子の物理化学的特性と細胞適合性

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

²九州歯科大学口腔機能学講座生体材料学分野

○村田一将¹, 鷲尾絢子¹, 池田 弘², 北村知昭¹

Physicochemical Properties and Cytocompatibility of Bioactive Glass- β TCP Composite Particles

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry

²Division of Biomaterials,

Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

○MURATA Kazumasa¹, WASHIO Ayako¹, IKEDA Hiroshi², KITAMURA Chiaki¹

【目的】我々は、象牙質・歯髄複合体および根尖周囲組織の創傷治癒を誘導する生体材料の開発を目的として、生体適合性に優れた生体活性セラミックスである Bioactive Glass (BG) に着目し、BG 配合生体材料の開発を進めてきた。その成果の一部として、根管用シーラー、覆髄材、穿孔封鎖材、および逆根管充填材として臨床応用可能な歯内治療用の多用途製材・ニシカキャナルシーラーBG multi が製品化され臨床応用されている。しかしながら、象牙質・歯髄複合体および根尖周囲組織の損傷が広範囲の場合は、それらの生体材料での組織再生は困難であり、局所的再生誘導用生体材料の開発が求められる。BG は、生体内でその表層へのハイドロキシアパタイト (HAp) 形成が早く安定して誘導される一方で、完全には HAp へと置換されない。そこで、生体内で最終的に HAp へと置換される生体吸収性セラミックスの1つである β TCP に着目した。本研究では、BG と β TCP の特徴を併せ持つ複合粒子 (BG-TCP) を作製し、物理化学的特性を評価するとともに、細胞毒性と細胞分化への影響を評価した。

【材料と方法】<BG-TCP 複合粒子の作製> BG 粉末と β TCP 粉末を所定の比率で混合後、900°C で1時間焼成した。得られた焼結体を、乳鉢・乳棒を用いて粉碎し、BG-TCP 複合粒子 (BG-TCP) を作製した。BG-TCP の微細構造は、SEM 観察、エネルギー分散型エックス線分光分析 (SEM-EDX)、およびエックス線回折 (XRD) 法によって評価した。また、7日間浸漬した時の pH の変化を測定した。<BG-TCP 抽出溶媒の作製> BG-TCP 1 g に対して培地 10 mL を加えて 37°C・5% CO₂ にて静置し、24時間後に filtration することで BG-TCP 抽出溶媒 (100%試験液) を作製した。その後、100%試験液が 1/16, 1/12, 1/8, 1/6, 1/4, 1/3, および 1/2 の割合になるよう培地を加え、各希釈溶液を作製した。<細胞毒性評価> 象牙芽細胞様細胞 (KN-3 細胞) を播種から 4 時間後に BG-TCP 希釈溶液および 100%試験液で刺激し、培養 2 日目に CCK-8 assay で細胞毒性を評価した。<ALP 染色> KN-3 細胞を播種から 12 時間後に BG-TCP 希釈溶液および 100%試験液で刺激し、培養 7 日目に ALP 染色を行った。

【結果】<BG-TCP 複合粒子の作製> BG-TCP は、BG と β TCP が焼結した 1-10 μ m 程度の微粒子であり、BG は非晶質であるのに対し、BG-TCP および β TCP は結晶構造を示した。精製水浸漬 7 日目の pH は、BG が 10.5、BG-TCP が 9.7-9.9、 β TCP が 8.0 であった。<細胞毒性評価> BG-TCP 群は、BG 群と比較して細胞毒性が低下し、特に BG と β TCP を重量比 8:2 で混合し作製した複合粒子では、100%試験液刺激群と未刺激群 (Control) との間に有意な差は認められなかった。<ALP 染色> ALP 染色の染色強度は、いずれの材料においても、BG-TCP 希釈溶液および 100%試験液刺激群と、未刺激群 (Control) との間に明らかな違いは認められなかった。

【考察】BG と β TCP を混合し焼成することにより、マイクロサイズの結晶構造を有する BG-TCP の作製が可能であることが示唆され、pH は 9.7-9.9 で安定することが示された。また、BG-TCP は、BG と比較して KN-3 細胞に対する細胞毒性が低く、細胞の分化初期において明らかな影響を及ぼさないことが示唆された。

【結論】BG-TCP 複合粒子は、象牙質・歯髄複合体の局所的再生誘導に用いる生体材料の構成要素として有用である。

臨床経験年数の違いがトライオート ZX2 新規駆動形式を用いたニッケルチタンファイルによる 穿通法に及ぼす影響

¹九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野、

²九州大学病院 歯内治療科、³OBT 研究センター

○¹ 山下大輝、² 友清淳、^{2,3} 濱野さゆり、¹ 藤野翔香、¹ 杉浦梨沙、^{1,2} 前田英史

The effect of clinical experience on the negotiation by the new reciprocating system of Tri Auto ZX2 with a Ni-Ti file

¹ Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental Science,

² Department of Endodontics, Kyushu University Hospital, ³ OBT Research Center, Kyushu University

○¹ D. YAMASHITA, ² A. TOMOKIYO, ^{2,3} S. HAMANO, ¹ S. FUJINO, ¹ R. SUGIURA and ^{1,2} H. MAEDA.

【背景と目的】根管治療を行う際には、穿通を行うことで、作業長の設定や根尖病巣の排膿路を確保することが可能となる。現在までのところ、穿通には手用ステンレススチールファイルの使用が推奨されている。しかし、ニッケルチタンファイルを使用した穿通は推奨されていない。これは正回転のみを行うロータリーエンジンでは、穿通時にニッケルチタンファイルに多くのねじれ疲労が生じてしまい、容易に破折するためである。トライオート ZX2 に搭載された Optimum Glide Path (OGP) モードは、レシプロケーション運動を行うことで、回転させる際に生じるねじれ疲労を低減させることができる。トライオート ZX2 の新規駆動形式では、ねじれ疲労を OGP モードよりもさらに低減させることを目的として、累積回転角度が 360 度を超えない範囲でレシプロケーション運動させる駆動形式である。しかしながら、この新規駆動形式を使用した際に穿通までに要する時間の評価は行われていない。そこで本研究では、臨床経験年数の違う術者が新規駆動形式および OGP モードを用いて、ニッケルチタンファイルならびにステンレススチールファイルを使用した場合に穿通までに要した時間、また手用ファイルを使用した場合に要した時間を比較検討し、臨床経験年数がトライオート ZX2 新規駆動形式およびニッケルチタンファイルを用いた穿通時間に及ぼす影響を評価することとした。

【材料と方法】二重湾曲模型 (先端径 0.1mm: デンツプライシロナ株式会社) を、シリコンパテに埋没したのち、口角導子を装着したステンレススチール板上に配置した。以下の条件にて、電気的根管長測定機が APEX を示す位置まで拡大を行った。①手用ステンレススチールファイル (K ファイル#15: マニー株式会社) + 手動操作 (SS + Hand)、②ステンレススチールファイル (スーパーファイル#15: マニー株式会社) + トライオート ZX2 OGP モード (SF + OGP)、③ニッケルチタンファイル (プログライダール: デンツプライシロナ株式会社) + トライオート ZX2 OGP モード (PG + OGP)、④ステンレススチールファイル + トライオート ZX2 新規駆動形式 (SF + N-OGP)、⑤ニッケルチタンファイル + トライオート ZX2 新規駆動形式 (PG + N-OGP)。①-⑤を行う順番はランダム化した。術者は臨床経験 6 年以上 (8.1±2.2 年) の九州大学病院歯内治療科医局員 7 名および臨床経験 1 年未満の九州大学病院研修医 7 名とし、拡大開始から APEX への到達までに要した時間の計測を行なった。

【結果】経験者、研修医共に①が最も長い穿通時間を示した。経験者群では、②-⑤が①よりも有意に短い穿通時間を示した。OGP モードおよび N-OGP モードのいずれにおいても、PG と比較して SF が短い穿通時間を示す傾向にあり、最も短い穿通時間を示したのは④SF + N-OGP であった。一方、研修医群では①-⑤の間に有意差は認められなかったが、②-⑤が①よりも短い穿通時間を示す傾向にあった。OGP モードでは、PG と比較して SF が短い穿通時間を示す傾向にあったのに対し、N-OGP モードでは、SF と比較して PG が短い穿通時間を示す傾向にあった。また、最も短い穿通時間を示したのは②SF + OGP であったが、2 番目に短い⑤PG + N-OGP との差はほとんど認められなかった。ファイル破折は、研修医群の③PG + OGP でのみ、1 度生じたが、経験者、研修医共に N-OGP モードでは生じなかった。

【考察】トライオート ZX2 の OGP モードおよび N-OGP モードを使用した拡大により、経験年数にかかわらず、手用ファイルを使用した拡大よりも短時間で穿通できることが示唆された。また SF および PG のいずれを使用しても、ファイル破折が生じた根管以外の根管を全て穿通できたことから、ステンレススチールファイルだけでなく、ニッケルチタンファイルも穿通へ使用できる可能性が示唆された。

新規手用 Ni-Ti ファイルの操作法による彎曲根管形成への影響

東京歯科大学 歯内療法学講座

○古澤 誉彰、佐古 亮、番場 桃子、倉持 仁、中島 克真、伊藤 愛理、高橋 玲子、千葉 紗央里、
古澤 成博

The effect of root canal preparation technique using new type hand shaping Ni-Ti file

Department of Endodontics, Tokyo Dental College

OFURUSAWA Yoshiaki, SAKO Ryo, BAMBAMA Momoko, KURAMOCHI Jin, NAKAJIMA Kazuma, ITO Airi,
TAKAHASHI Reiko, CHIBA Saori, FURUSAWA Masahiro

【目的】根管治療を成功させるためには、根管切削器具による適切な根管の拡大・形成を行う必要がある。彎曲根管においては特に、根管形態の可及的保持、切削効率などを考慮し、使用する器具の材質や形成法を選択しなければならない。通常、彎曲根管をステンレススチール製ファイルで形成する際の操作法には、ファイリング、ターンアンドブル、バランスドフォースが適しているとされている。しかしながら、ファイル号数が大きくなるにつれ剛性が高まり、それらの操作法を用いても彎曲形態に追従しきれなくなることもある。その結果、レッジやステップ等の不正形態が生じやすいのは周知の通りである。一方、柔軟に屈曲し、根管の彎曲への追従性が高いとされる Ni-Ti 製の根管切削器具が登場して久しいが、そのファイル自体の切削効率の低さから、専用のエンジンに装着して使用するロータリーファイルが多く、ステンレススチール製ファイルに代わる切削器具として、広く一般に普及していない現状にある。近年、Ni-Ti 製ファイル自体の性質も変化してきており、この特性を利用した新たな手用形成ファイルが開発された。本研究では、同ファイルをこれまでの手用根管切削器具の操作法で用い、根管の偏位、形成にかかる時間などを計測、比較し、新たな器具に適する操作法を探索することを目的とした。なお、本実験に特記すべき利益相反はない。

【材料および方法】手用根管切削器具には、Ni-Ti ファイルである HandFlex (COLTENE Japan, Japan)、形成対象として透明根管模型 (NISSIN, Japan) を使用した。根管形成は、当講座所属の年数が一致しない 3 名の歯科医師が行い、操作法はターンアンドブル、バランスドフォース、ウォッチワインディングの 3 群とし、最終拡大号数を 35 号に設定した。各操作法で最終形成を終えるまでの時間を記録し、ステップなどの不正形態が生じて形成困難となった場合は、その時点で終了とした。さらに、根管形成前後の模型の画像を重ね合わせ(Adobe Photoshop, USA)、根管の偏位を画像解析ソフト (ImageJ, USA) で計測した。

【成績】形成に要した時間は、ターンアンドブルが最も短く 15 分で、最長となったのはバランスドフォースの 68 分であった。ほとんどの模型において目詰まりは認められなかったが、作業長の短縮が複数の模型において認められた。根管の偏位はターンアンドブルで特に認められ、バランスドフォースでは最も少なかった。さらに、内彎と外彎を比較すると、すべての群において外彎側で偏位する傾向が認められた。また、計測点ごとに比較した際は、根尖部では偏位が認められなかったが、根管口部付近では大きく認められた。

【考察】従来、Ni-Ti ファイルはエンジンに装着して使用していたが、今回新たな手用の Ni-Ti ファイルが発売され、実験を行った結果、操作感はステンレススチール製と比較して遜色なく良好であった。一方、形成法によって時間ならびに形成量に相違が認められた。すなわち、ターンアンドブルは形成にかかる時間は短縮されるものの形成量が多く、バランスドフォースは時間を要するにもかかわらず形成量が少ない傾向が示された。計測位置による偏位量の変化は、Ni-Ti ファイルに付与されている強度のテーパーによる影響から生じている可能性が考えられた。今後、ファイルに付与された形態の影響について検索するとともに、他種のファイルを用いた場合との比較などを行い、HandFlex の操作法として適切な方法について検討を行う予定である。さらに、本実験で使用した透明根管模型の硬さや HandFlex の切削能力を考慮すると、切削効率に関してはさらなる検討が必要と考えられ、天然歯を用いた追加実験が必要であると思われる。

光照射器の照射モードが根管深部における光重合型築造用レジンの重合に及ぼす影響

¹九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野, ²九州歯科大学健康増進学講座 LD 教育推進学分野,
³九州歯科大学口腔機能学講座生体材料学分野
○三浦弘喜¹, 村田一将¹, 吉居慎二², 池田 弘³, 北村知昭¹

Influence of Light-Irradiation Mode on Polymerization of the Photopolymerization Type Construction Resin in the Deep Root Canal

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Department of Oral Functions, ²Division of Promoting Learning Design Education, Department of Health Promotion, ³Division of Biomaterials, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

○MIURA Hiroki¹, MURATA Kazumasa¹, YOSHII Shinji², IKEDA Hirokshi³, KITAMURA Chiaki¹

【目的】歯内治療歯の予後に影響する根管内の高度な封鎖とモノブロック化を達成するには根管深部で支台築造用レジンの重合硬化が必要がある。これまで、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の重合システムが根管深部における重合硬化に有利であることを明らかにしてきた (Miura et al., Materials, 2021)。一方、照射時間短縮を目的とした高出力光照射器が臨床応用されているが、照射モード (光強度と照射時間) が根管深部における光重合型築造用レジンの重合状態に及ぼす影響は明らかにされていない。本研究では、高出力光照射器の光強度と照射時間の違いが根管深部におけるレジンの重合状態に及ぼす影響について、4種類の光重合型築造用レジンのファイバーポストの有無を実験条件として比較検証した。

【材料と方法】ファイバーポストは光透過性の高い i-TFC ルミナスファイバー (Sun Medical) 直径 1.0 mm テーパー型を、光重合型築造用レジンは i-TFC ルミナスコア LC フロー (Sun Medical) ; LC, i-TFC システム直接法ポストユニバーサル (Sun Medical) ; UN, i-TFC システム直接法ポストブルー (Sun Medical) ; BL, MI コア LC フロー (GC) ; MI の 4 種類を用いた。根管ポストモデルとして作製したテフロン製半円柱状モールド (直径 3 mm・深さ 15 mm) に各レジンを填入後にファイバーポストをモールド中央に 15 mm 挿入する群 (fiberpost:F 群) とファイバーポストを挿入しない群 (non-fiberpost:nF 群) の 2 群 (各試料の n=5) を作製した。G-ライトブリマ (GC) で各試料直上より 2 種類の照射モード (F3 モード: 2000 mW/cm² 3 秒, 10 モード: 1200 mW/cm² 10 秒×3) を用い光照射した。光照射後の総重量を測定した後、モールドから取り出した試料はアセトンに 30 秒浸漬し未重合層を除去・水洗乾燥して再度重量を測定し未重合層除去前後の重量変化率を測定した。乾燥した試料における重合レジンの長さを重合硬化深度として測定した。得られた結果は一元配置分散分析により統計処理を行った (P<0.05)。

【結果】重量変化率は、nF 群では F3 モード使用時は UN (93.1±3.6%)・BL (81.4±2.6%)・LC (57.3±2.8%)・MI (55.7±2.0%) となり UN が他に比べ有意に高く、10 モード使用時は UN (98.3±1.5%)・BL (97.6±1.3%)・LC (96.2±1.0%)・MI (74.7±1.8%) となり MI が他に比べ有意に低かった。F 群では F3 モード使用時は UN (90.5±3.6%)・BL (92.8±4.8%)・LC (85.2±3.7%)・MI (75.1±5.2%) となり MI が他に比べ有意に低く、10 モード使用時は UN (96.6±3.6%)・BL (97.8±0.5%)・LC (97.7±0.3%)・MI (91.2±1.2%) となり 4 種類のレジ間で有意差は認められなかった。照射モード間の比較では、F 群、nF 群ともレジンの種類に関係なく 10 モードが F3 モードよりも高い重量変化率を示した。重合硬化深度は照射モードに関係なく、nF 群では UN のみが、F 群ではすべての光重合型築造用レジンのファイバーポスト先端まで重合硬化していた。

【考察】今回、光重合型築造レジンの違いとファイバーポストの有無が根管ポストモデル深部におけるレジンの重合硬化に及ぼす影響を検証した。その結果、nF 群の UN が F3 モードで F 群同様の重量変化率を示したことから重合硬化は光重合型築造レジンの種類に依存すること、F 群の MI が 10 モードで UN 同等の高い重量変化率を示したことから光透過性の高いファイバーポストの使用と十分な時間の光照射が重要であることが示唆された。加えて、重合硬化深度の結果からも根管深部でレジンの十分な重合硬化を得るには光重合型築造用レジンの特性だけでなく、光透過性の高いファイバーポストの使用が重要であることが示唆された。

【結論】根管深部における光重合型築造用レジンの重合には光透過性の高いファイバーポストの使用が効果的であり、根管深部での重合硬化には光照射器の光強度よりも照射時間が影響する。

電氣的根管長測定可能な顎模型でのエックス線造影性に対する 導電性ペーストとKファイルの影響に関する研究

¹⁾日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第1講座、²⁾日本歯科大学大学院新潟生命歯学研究科 硬組織機能治療学、³⁾日本歯科大学新潟生命歯学部 歯科保存学第2講座、⁴⁾日本歯科大学新潟病院 総合診療科
○新井恭子¹⁾、鎗田将史²⁾、清水公太³⁾、佐藤友則¹⁾、横須賀孝史⁴⁾、北島佳代子^{1, 2)}

Study on the effect of two types of conductive pastes and K-file on X-ray contrast in a Lower Jaw Model for Electrical Root Canal Length Measurement Training

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

²⁾Advanced Operative Dentistry-Endodontics, The Nippon Dental University Graduate School of Life Dentistry at Niigata ³⁾Department of Operative Dentistry, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Niigata ⁴⁾Comprehensive Dental Care, The Nippon Dental University Niigata Hospital

○KYOKO Arai¹⁾, YARITA Masahumi²⁾, SHIMIZU Kota³⁾, SATOH Tomonori¹⁾, YOKOSUKA Takashi⁴⁾,
KITAJIMA Kayoko^{1, 2)}

【目的】 本学第4学年の歯内療法学実習では、電氣的根管長測定可能な顎模型と導電性ペーストを使用し、EMR時のKファイル挿入状態でのデジタルエックス線撮影を行い、根管長測定と作業長決定を行っている。Kファイル挿入時のエックス線画像ではエックス線造影性が変化し、人工歯歯根相当部と根尖周囲顎模型部との判別が術前に比べ困難になる傾向がある。本研究では、Kファイル挿入の有無と導電性ペーストの種類によるデジタルエックス線画像の歯根相当部と顎模型相当部の造影性の違いを比較し、作業長決定のための根尖部評価に与える影響について検討した。

【材料および方法】 顎模型は、本学実習で使用しているファントム用顎模型 (E50-NSC.92、ニッシン) を使用した。基底面が金属プレート製で、歯槽内に人工歯を植立し、根尖とプレート間に導電性ペーストを介在させることで電氣的根管長測定が可能となる。人工歯は下顎左側中切歯 (歯の全長 20.5mm、B-END3J001#31、ニッシン) を使用し、ユニファストラッド (ジーシー) で顎模型に固定した。導電性ペーストにはケラチンクリーム (フクダコーリン) と生理食塩液ととろみ調整用食品 (つるりんこ Quickly、クリニコ) を混和したものの2種類を使用した。デジタルエックス線撮影は、術前 (髓室開拓後) と、クランプを装着してEMRを行い、根管内にKファイル (ヨシダ) を20.0mm挿入した状態での撮影を行った。撮影条件は管電圧70kV、エックス線照射時間を0.05秒、0.08秒、0.10秒の3条件に設定した。コントロールとして導電性ペーストを充填していない状態での撮影を同様に行った。デジタルエックス線画像から、WinRoof (三谷商事) を使用して、切縁より18.5~19.0mmの歯根部25mm²と、根尖歯周組織に相当する顎模型部25mm²の造影性を輝度値 (0-255) ヒストグラムで表し、歯根部と模型部の輝度値の差の平均を求めた。輝度値の差が大きいほど歯根部と模型部の造影性の違いが大きくなり、根尖部の評価がしやすいことを示している。コントロール群 (C群)、ケラチンクリーム群 (K群)、生理食塩液ととろみ調整用食品群 (S群) で、髓室開拓後とKファイル挿入時の歯根部と模型部の輝度値の差の平均を比較し、次に各群のKファイル挿入時の輝度値の差の平均を比較し、t-検定を用いて造影性の違いを検討した。

【結果】 髓室開拓後とKファイル挿入時の輝度値の差の平均は、すべての群で有意差を認めた。各群のKファイル挿入時の輝度値の差の平均は、照射時間0.05秒では、C群28.7、K群9.1、S群11.6で、C群とK群、C群とS群の間で有意差を認めた。照射時間0.08秒では、C群29.7、K群15.0、S群21.3、照射時間0.10秒では、C群29.3、K群14.4、S群20.7で、照射時間0.08秒と0.10秒ではすべての群間で有意差がみられ、K群よりもS群の方が有意に大きい値となった。

【考察】 C群ではすべての照射時間で輝度値の差の平均が他の群に比べて大きく、歯根部と模型部の造影性の違いが大きいと根尖部が評価しやすい。また、すべての群で髓室開拓後の方がKファイル挿入時よりも輝度値の差の平均が有意に大きく、Kファイル挿入時には根尖部の評価が難しくなることが示された。さらに、K群とS群の比較から、導電性ペーストとして生理食塩液ととろみ調整用食品を混和したものを使用した場合、生理食塩液が顎模型内に留まり、電氣的根管長測定の実習を円滑に行うことができ、Kファイル挿入時のエックス線画像でも歯根部と模型部の造影性の違いが大きいと、歯根外形がわかりやすく、作業長決定に活用できることが考えられる。

【結論】 電氣的根管長測定が可能な顎模型に導電性ペーストとして生理食塩液ととろみ調整用食品を用いた場合、エックス線照射時間0.08秒と0.10秒に設定したときのエックス線画像では、ケラチンクリームを用いた場合より、造影性の違いが大きく、作業長決定のためのKファイル挿入時においても根尖部の評価が行いやすいことが示された。

ラットう蝕由来歯髄炎モデルを用いた leptin の局在評価

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)

○森山 輝一, 岡本 基岐, 松本 紗也子, 渡邊 昌克, 黄 海玲, 高橋 雄介, 林 美加子

Evaluation of the localization of leptin in a rat caries derived pulpitis model

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

○Moriyama Kiichi, Okamoto Motoki, Matsumoto Sayako, Watanabe Masakatsu, Huang Hailing, Takahashi Yusuke, Hayashi Mikako

【目的】

脂肪細胞由来の生理活性物質として知られている leptin は、全身では免疫反応や骨代謝において重要な役割を果たしている。一方、歯髄においても leptin や leptin 受容体を発現する細胞の存在が確認されており、*in vitro* の研究結果から歯髄幹細胞の象牙芽細胞様細胞への分化を誘導し、硬組織形成を促進することが報告されている。しかし、う蝕に罹患後、歯髄炎を発症した歯髄における leptin の機能はいまだに不明である。本研究では、う蝕由来のラット歯髄炎モデルにおいて、leptin および leptin 受容体の歯髄内での局在を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

本研究は大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認下で実施された (承認番号: 動歯 R-01-017-0)。

14 日齢の Sprague-Dawley ラット口腔内に *Streptococcus mutans* MT8148 菌液を 5 日間連続で接種し、その後、高スクロース含有飼料 (Diet 2000, 日本クレア) を与えてう蝕を誘発した。飼育を継続後、う蝕による歯髄炎を惹起させ、マイクロ CT (mR_CT2, Rigaku) により、う蝕深度を計測した。う蝕深度により、う蝕様透過像が象牙質の 1/2 まで進行した moderate 群 (n = 6)、1/2 以上に至る severe 群 (n = 6)、ならびに歯髄に到達した exposure 群 (n = 6) に分類した。対象群として健全ラット臼歯を用いた。う蝕深度を確認後、顎骨ごと回収し、抗 leptin 抗体 (Abcam) および抗 leptin 受容体抗体 (Abcam) を用いて免疫組織化学染色を行った。得られた組織像を光学顕微鏡 (BZ-X800, キーエンス) にて観察し、陽性細胞数の計測および群間比較を行った。統計学的有意差検定には One-way ANOVA, Tukey 検定を用いて評価した ($\alpha = 5\%$)。

【結果及び考察】

対象群において、髄角直下に leptin および leptin 受容体を発現する細胞がそれぞれわずかに観察された。同部位は咬耗によりエナメル質を早期に失うため、外的刺激が加わりやすく反応象牙質が形成されやすい部位であることと関連していると推察された。一方、moderate および severe 群では、う蝕直下の反応象牙質形成部位に一致した象牙芽細胞層に leptin および leptin 受容体を発現する細胞が観察された。severe 群では象牙芽細胞層に加え、歯髄腔のさらに内層にも leptin とその受容体が観察された。これらは対象群の同一部位と比較して有意に高い発現を示した ($p < 0.05$)。さらに exposure 群では、露髄部および壊死歯髄組織周囲に、他群と比較して有意に高い leptin および leptin 受容体を発現する細胞が観察された ($p < 0.05$)。これまでに leptin は、歯髄にて硬組織形成に関与することが示唆されており、本研究においても反応象牙質が形成された部位の直下にその発現が認められたことから、外来侵襲による歯髄の炎症反応や、それに対する防御機構の 1 つとして leptin が関与していると考えられ、従来の報告を裏付ける結果であった。今後、moderate, severe ならびに exposure 群において感染歯質を除去し、歯髄保存療法を行うことで、leptin および leptin 受容体を発現する細胞がどのように時間空間的に変化するかを観察し、う蝕に対する歯髄の防御機構における leptin の生物学的な役割を明らかにしていく予定である。

【結論】

ラットう蝕由来歯髄炎モデルにおいて、leptin および leptin 受容体を発現する細胞は、う蝕の進行に応じた特異的な局在を示した。これらの結果は、歯髄の創傷治癒過程における両者の役割を示唆するとともに、leptin が歯髄炎診断のバイオマーカー候補になりうる可能性を示すものである。

逆根管充填材が血管内皮細胞の増殖と管腔形成に及ぼす影響～第2報～

福岡歯科大学口腔治療学講座 歯科保存学分野¹, 福岡歯科大学口腔医学研究センター²,
福岡歯科大学総合歯科学講座 総合歯科学分野³

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

Effects of root-end filling materials on proliferation and endothelial tube formation in vascular endothelial cells

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College¹,
Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College²,

Section of General Dentistry, Department of General Dentistry, Fukuoka Dental College³

○Haruna Hirose¹, Etsuko Matsuzaki^{1,2}, Kazuma Matsumoto¹, Noriyoshi Matsumoto¹,
Seishiro Fujimasa¹, Misaki Nikaido¹, Masahiko Minakami¹, Junko Hatakeyama³, Hisashi Anan¹

【目的】

歯根尖切除法において実施される逆根管充填材では、優れた封鎖性に加えて、生体適合性すなわち治癒に関わる細胞の賦活化による能動的な治癒の促進があることは、治療に有用である。根尖部創傷治癒の過程で生じる血管内皮細胞による血管新生は、骨形成とも深く関与している。本研究では、逆根管充填材が血管内皮細胞の血管形成に及ぼす影響について、第1報(2021年度春季本学術大会)で実施した結果をもとに、さらに検討を加えたので報告する。

【材料および方法】

実験には、ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC: PromoCell, Germany)を使用した。第1報でパイロットスタディを実施した Mineral trioxide aggregate (MTA) (ProRoot MTA: Dentsply, Switzerland)、4-methacryloxyethyl trimellitate anhydride/methyl methacrylate-tri-n-butyl borane (4-META/MMA-TBB)レジン (Super-Bond: Sun Medical, Shiga, Japan)、Super EBA (Super EBA Cement: Bosworth, USA)に加え、今後逆根管充填材としての応用が期待される生体活性ガラス配合製材(CS-BG-multi: Nippon Shika Yakuhin Co., Ltd., Yamaguchi, Japan)を使用した。各材料 0.1gを硬化後、1日間または7日間浸漬した試料メディウム(20倍希釈)を用いて、HUVECの増殖、血管新生および血管内皮細胞増殖因子受容体(VEGFRs) mRNA発現に及ぼす影響について、1~7日間培養し検討した。

【結果】

浸漬1日間の全ての材料で、細胞増殖は培養1~3日目でコントロールと同程度であったが、培養7日目で、MTAおよびSuper EBAの細胞増殖が有意に少なかった。また、浸漬7日間の全ての材料で、細胞増殖は培養1~3日目でコントロールと同程度であったが、培養7日目で、Super EBAおよびCS-BG-multiが有意に少なかった。

血管新生において、浸漬1日間のサンプルにおいてMTAおよび4-META/MMA-TBBレジンコントロールと比較して管腔形成数が有意に多く、Super EBAは有意に少なかった。CS-BG-multiは、コントロールと同程度であった。浸漬7日間のサンプルにおいて、MTAはコントロールと比較して管腔形成数が有意に多く、分岐する幹となる部分が太く形成されていた。4-META/MMA-TBBレジンは増加傾向にあったが統計学的有意差は認められなかった。一方、Super EBAは有意に少なく、管腔の連続性が失われ、不完全な形状であった。CS-BG-multiはコントロールと同程度であった。

一方、浸漬1日間のサンプルにおいて、MTAはコントロールと比較してVEGFR-1、VEGFR-2 mRNA発現が増加傾向、4-META/MMA-TBBレジンは同程度であった。Super EBAではVEGFR-1mRNAは減少傾向を示した。CS-BG-multiは、VEGFR-1mRNAが増加傾向にあったが、統計学的有意差は認められなかった。

【考察】

MTAは、浸漬1日間のサンプルにおいて培養7日目で細胞増殖が有意に抑制されたが、浸漬7日間のサンプルでは培養7日目でコントロールと同程度であったことから、長期的な生体適合性は良好と考えられる。管腔形成数は浸漬1日間、7日間のいずれのサンプルでも有意に多く、すでに報告のある骨芽細胞増殖作用と相まって、逆根管充填後の歯槽骨再生促進に積極的に関与すると考えられた。4-META/MMA-TBBレジンは、コントロールと同程度の増殖を示し、血管新生も浸漬1日間のサンプルで有意に多かったことから、早期から生体適合性を発揮することが示された。Super EBAは、血管新生促進作用は少ないが、浸漬7日間のサンプルでは、浸漬1日間のサンプルと比較して管腔形成数が増加しており、さらに長期的な検討が必要である。一方、CS-BG-multiは、浸漬7日間のサンプルで、培養7日目の細胞増殖が少なかったものの管腔形成数はコントロールと同程度であり、血管内皮細胞への毒性は低いことが示された。今後、逆根管充填材としてのさらなる研究の発展が期待される。

5年臨床実習生に対するNi-Ti ファイル、垂直加圧根管充填法、 歯科用実体顕微鏡を用いた実習の教育実践報告

松本歯科大学歯科保存学講座

○三好 弥恵、岩崎 拓也、森川 雅己、増田 宜子

Educational practice report of training using Ni-Ti file, vertical pressure root canal filling method, dental stereomicroscope for 5 year clinical trainees

Department of Operative Dentistry, Endodontology, and Periodontology, Matsumoto Dental University

○Yae Miyoshi, Takuya Iwasaki, Masaki Morikawa, Yoshiko Masuda

【目的】 1990年～2010年の20年において歯内療法領域でもっとも顕著な進歩があった機器にNi-Ti ファイル、垂直加圧根管充填機器、マイクロスコープが挙げられる。これら新しい機器に触れることは歯内療法をこれから行う者にとっては非常に重要であると考えられる。松本歯科大学歯科保存学講座(歯内療法学)では、令和3年度より第5学年臨床実習生全員に対し模型歯を用いたNi-Ti ファイルによる根管拡大形成(以下Ni-Ti)、垂直加圧根管充填法(以下CWCT)および歯科用実体顕微鏡(以下マイクロスコープ)を使用した体験実習を実施した。今回は参加した学生からのアンケート評価と自由記載をもとにその学習効果を検討したため報告する。

【方法】 2021年度5年生臨床実習生66名を対象として、臨床実習第3クール期間中に1班およそ6～8名が歯内療法学で臨床実習を行う期間中に実施した。Ni-Ti 実習ではJIZAI(MANY)、Tri Auto ZX2(モリタ)を用いて模型歯S12A-500 #36(ニッシン)の根管拡大形成を行い、CWCT 実習ではNi-Ti 実習で根管拡大形成済みの模型歯にデュオペン・デュオガン(モリタ)を用いて垂直加圧を行なった。マイクロスコープ実習ではファントムマネキンを診療チェアに固定し、インストラクターが瞳孔間距離、視度調整方法および焦点間距離や倍率の調整方法を口頭にて説明したあと、外科用顎模型P15-00P.1(ニッシン)とマイクロサージェリーキット(YDM)を用いて外科的歯内療法を行うという想定のもと切開～縫合までの一連の術式の中の一過程をマイクロスコープM320(Leica)下で行なった。実習後、難易度や理解度といった5項目についてアンケート調査を行なった。

【結果】 アンケートの回答率は100%であった。『臨床実習の難易度』については62.2%の学生が「難しい」あるいは「やや難しい」と回答した。国家試験に役立つ内容である、将来の臨床で役立つと回答した学生は共に100%であった。また、『実際に自身がNi-Ti、CWCT、マイクロスコープを行なった際に「思っていたのと違う」と感じることはありましたか?』という質問に対しては、81.9%の学生が「感じた」「多少は感じた」と回答し、『マイクロスコープを用いた実習をもっと経験したいと思いますか?』という質問に対しては、98.5%の学生が「そう思う」「ややそう思う」という回答が得られた。

【考察】 今回の実習で行った内容は全て実際の診療で使用されているものであるが、多くの学生はこれらを実際に扱うことはほとんど無く、アシスタントの際に目にするか、講義の中で受動的に学ぶだけであった。従って、実際に見て、触れて、機器を扱うことで多くの学生達に「思っていたのと違う」事態が発生したのだと考えられる。アンケートに設けた自由記載欄には、「マイクロスコープ操作をしていると自分の手がどこにあるか分からなくなった」「思い通りに診療を進め期待する結果を得るには十分なトレーニングが必要であると感じた」との意見が多数見受けられた。また、この体験が興味や関心の向上へとつながりマイクロスコープを用いた実習をもっと経験したいという結果につながったのではないかとと思われる。

位置異常を伴う歯頸部外部吸収歯に対し、矯正と非外科的歯内治療にて対応した症例

日本大学松戸歯学部 歯内療法学講座
○神尾直人, 五明夏子, 倉持光成, 神尾素代, 松島 潔

Orthodontic and non-surgical endodontic treatment for external cervical resorption with malposition : A case report

Department of Endodontics, Nihon University school of dentistry at Matsudo
○KAMIO Naoto, GOMYO Natsuko, KURAMOCHI Kosei, KAMIO Motoyo, MATSUSHIMA Kiyoshi

緒言

歯頸部外部吸収はその進行の性質から侵襲性歯頸部吸収とも呼ばれ、ステージに応じて根管処置や外科的アプローチを伴う修復処置、もしくは抜歯が適用される。明確な病因は不明とされるが、矯正や外傷、ウォーキングブリーチ、歯周治療などが要因として挙げられることが多い。今回、低位萌出中切歯に生じた歯頸部外部吸収と、半埋伏側切歯に対し、矯正と非外科的歯内療法および歯冠修復を行い良好な経過を得た症例を経験したので報告する。

症例

10歳の女子。上顎右側前歯部の審美不良を主訴として日本大学松戸歯学部小児歯科へ来院した。埋伏上顎右側側切歯に対して開窓術を行った後、低位である上顎右側中切歯とともに牽引処置を行う予定としていた。矯正科にて治療計画説明のための来院時に中切歯の変色に気づきコーンビームCTを撮影したところ、中切歯歯冠部から歯根中央部に至る実質欠損を認めたため保存科へ依頼。Patelの分類3Dpの歯頸部外部吸収と診断した。なお、本症例を学術大会にて報告する旨を説明し、患者本人及びその保護者から同意を得た。

治療計画と経過

外部吸収の病状から麻酔抜髄・根管充填の必要性が推察されたが、適切な根管処置を行うには歯周組織との交通部の封鎖およびラバーダム防湿が必要であること、また外部吸収のさらなる進行は抜歯の適応ともなり得ることが想定された。よって可及的な根管処置を行うとともに外部吸収部の処置を優先し、矯正力を付与して位置異常の改善を最低限図った後に根管充填、歯冠修復を行うこととした。

保存科初診～3回目：唇面から吸収部位および髓室への開拓を行い、マイクロスコープ下で吸収部に充満した肉芽組織を超音波チップにて機械的・化学的に清掃した。麻酔抜髄後の根管は根管形態の保全のため可及的な拡大にとどめて暫間根管充填とし、歯周組織へ穿孔している部位をはじめとして吸収部位全体にガラスイオノマーセメントを充填して根管内外とを隔離し、矯正力の付与を開始した。

治療4～5回目：矯正治療と並行し防湿の条件をある程度整えた後、側方加圧根管充填を行った。動的処置終了後、ファイバーポストを併用しコンポジットレジンにて歯冠修復を行った。

半年後の経過観察にて予後良好のため、中切歯の形態修正を行うとともに矮小傾向のある側切歯のダイレクトベニア修復を行った。

考察

本症例は、病変の①高さは歯根上部1/2程度で、②歯髓腔の周囲270°以上に及び、③一部で歯髓腔に及ぶ外部吸収であったため、Patelの分類でグレード3Dpであると診断することができた。推奨される処置方針としては歯根吸収部位の非外科的修復+根管治療とされているが、低位歯のために吸収部の多くが骨縁下であることや、適切な根管治療を行うため、また主訴の改善のために牽引が必須であった。矯正科との連携により吸収部位の処置や牽引処置のタイミングを検討・実施することで、良好な予後を得ることができたと推察された。

IgA 腎症モデルマウスにおける歯髄損傷過程の組織学的解析

神奈川歯科大学歯科保存学講座 歯内療法学分野

○林 玲緒奈、山崎 詩織、糸永 和広、武藤徳子、石井信之

Histological analysis of pulp injury process in IgA nephropathy model mice

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○HAYASHI Reona, YAMAZAKI Shiori, ITONAGA Kazuhiro, MUTOH Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【目的】

自己免疫疾患モデルマウスにおける歯髄の損傷過程および根尖性歯周疾患の発症において、好中球が放出する細胞外トラップ (NETs) の組織恒常性における回復機構を解析することで新規治療法の開発につながる可能性がある。自己免疫疾患患者の好中球は NETs 産生が生じやすく、放出された NETs は免疫系を変化させ、自己免疫疾患の原因である可能性が報告されている。本研究は、自己免疫疾患モデルの HIGA マウス (IgA 腎症モデルマウス) を供試し、歯髄と根尖歯周組織の炎症過程における細胞動態を正常マウスと比較して解析した。

【材料および方法】

6 週齢雌性の HIGA マウスの上顎臼歯咬合面を露髄させ、口腔常在菌に暴露させ歯髄感染モデルを作成した。術後 5 日、1 週間、4 週間後に深麻酔下にて灌流固定後、パラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色にて炎症性細胞の動態を解析し、象牙芽細胞マーカーである抗 Nestin 抗体を用いて免疫組織学的解析を行った。さらに、Tunel 染色にて歯髄組織内の細胞のアポトーシスを解析した。なお、本研究は本学実験動物倫理委員会の承認 (21-008) を得ている。

【結果】

HE 染色では、BALB/C マウスと HIGA マウスの両群において術後 5 日で露髄面直下に限局した炎症性細胞の浸潤を認め、術後 1 週では歯冠歯髄全体に、術後 4 週では歯根歯髄の根尖におよぶ炎症性細胞浸潤を認めた。Nestin 染色では、BALB/C マウスと比較して HIGA マウスでは術後 5 日で髓床底から 歯根歯髄の根尖より 3 分の 1 に陽性所見が認められ、術後 1 週では 2 分の 1 にまで範囲が広がっていた。術後 4 週では陽性所見が認められなかった。Tunel 染色では、BALB/C マウスと比較して HIGA マウスでは術後 5 日、1 週で 露髄面周囲の歯髄組織に限局した緩徐な陽性所見が認められ、術後 4 週では 歯根全体へ広がるもコントロール群と比較してその発現は弱い所見であった。コントロール群は術後 4 週で歯冠、歯根歯髄組織全体で、陽性所見が認められた。Nestin 染色では HIGA マウスは術後 5 日で髓床底から歯根の根尖より 3 分の 1 に陽性所見 が認められ、術後 1 週では 2 分の 1 にまで範囲が広がっていた。術後 4 週では陽性所見が認められなかった。

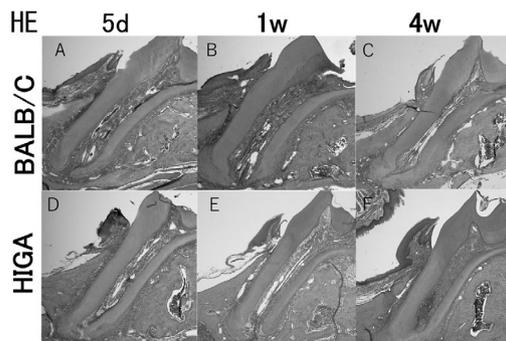


Fig. 1 (A, B, C, D, E, F) Hematoxylin-eosin staining

【考察】

BALB/C マウスと比較して、HIGA マウスでは循環障害による歯髄感染の進行遅延が示唆された。

関節リウマチモデルマウスにおける歯髄損傷過程の組織学的解析

神奈川県歯科大学歯科保存学講座 歯内療法学分野

○山崎 詩織、林 玲緒奈、糸永 和広、武藤徳子、石井信之

Histological analysis of pulp injury process in rheumatoid arthritis model mice

Department of Endodontics, Kanagawa Dental University

○YAMAZAKI Shiori, HAYASHI Reona, ITONAGA Kazuhiro, MUTOH Noriko, TANI-ISHII Nobuyuki

【目的】 自己免疫疾患モデルマウスにおける歯髄の損傷過程および根尖性歯周疾患の発症において、好中球が放出する細胞外トラップ (NETs) の組織恒常性における回復機構を解析することで新規治療法につながる可能性がある。自己免疫疾患患者の好中球は NETs 産生が生じやすく、放出された NETs は免疫系を変化させ、自己免疫疾患の原因である可能性が報告されている。本研究は、自己免疫疾患モデルの SKG/JcL マウス (自己免疫性関節炎リウマチ) を供試し、歯髄と根尖歯周組織の炎症過程における細胞動態を正常マウスと比較して解析した。

【材料および方法】 6 週齢雌性の SKG/JcL マウスの上顎臼歯咬合面を露髄させ、口腔常在菌に暴露させ歯髄感染モデルを作成した。術後 5 日、1 週間、4 週間後に深麻酔下にて 4%パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定、さらに 4 °C で 24 時間浸漬固定後に EDTA にて脱灰し、パラフィン切片を作成してヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色にて炎症性細胞の動態を解析した。また、象牙芽細胞マーカーである抗 Nestin 抗体を用いて免疫組織学的解析を行った。さらに、TUNEL 法にて歯髄組織内の細胞のアポトーシスを解析した。なお、本研究は本学実験動物倫理委員会の承認 (21-008) を得ている。

【結果】 SKG/JcL の HE 染色所見では、術後 5 日において BALB/C の方が歯冠部歯髄の炎症反応を強く認めたのに対し、7 日では BALB/C と同等の炎症性細胞浸潤を多く認めた。4 週では、SKG の方が炎症性細胞浸潤の範囲が拡大した。Nestin 染色所見では、術後 5 日および 7 日において髄床底から歯根全体にかけて Nestin 陽性細胞を認めた。4 週では、歯根尖 3 分の 1 に陽性反応を認めた。TUNEL 染色において、術後 5 日および 7 日において露髄面周囲歯髄組織から歯根中央にかけて陽性細胞が認められた。4 週間には中央から歯根尖 3 分の 2 までその範囲が拡大していた。

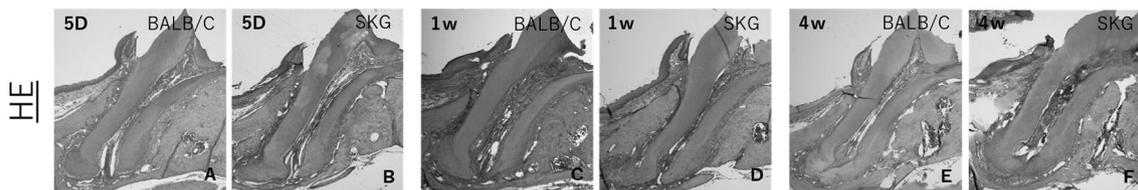


Fig.1 (A, B, C, D, E, F) Hematoxylin-eosin staining.

【考察】 BALB/C マウスと比較して、SKG/JcL マウスでは TUNEL 染色陽性細胞の発現範囲が広く、炎症性細胞浸潤も強い所見が認められ、SKG/JcL マウスは、歯髄感染の進行が速いことが示唆された。

2 根性口蓋根を有する 4 根性上顎第二大臼歯における再根管治療の一症例

福岡歯科大学口腔治療学講座 歯科保存学分野¹, 福岡歯科大学口腔医学研究センター²,
○松本和磨¹, 松崎英津子^{1,2}, 廣瀬陽菜¹, 阿南 壽¹

A case report: Retreatment of maxillary second molar with two palatal roots

Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College¹,
Oral Medicine Research Center, Fukuoka Dental College², Fukuoka Dental College³

○Kazuma Matsumoto¹, Etsuko Matsuzaki^{1,2}, Haruna Hirose¹, Hisashi Anan¹

【緒言】

上顎第二大臼歯の歯根と根管形態は、上顎第一大臼歯と比較して様々なバリエーションがあることが知られている。今回、2 根性口蓋根を有する 4 根性の上顎第二大臼歯に対して再根管治療を行う機会を得たので報告する。なお、発表に際し、患者本人に本症例の主旨を十分に説明し、同意を得ていることを附記する。

【症例】

患者:66 歳、男性。初診:2021 年 4 月。主訴:上顎左側第二大臼歯の咬合時違和感。全身既往歴:特記事項なし。生活習慣:喫煙なし。現病歴:2021 年 3 月、27 の咬合時違和感を主訴にかかりつけ歯科医院を受診したところ、エックス線所見において、通常とは異なる根形態を認めたことから、同年 4 月福岡歯科大学医科歯科総合病院保存科を紹介受診。臨床所見:27 は自発痛(-)、咬合痛(±)、打診痛(+)、根尖部圧痛(-)、瘻孔(-)であった。歯周ポケットは全周 3 mm、動揺なし。エックス線所見:27 は 4 根性であり、遠心側に未処置の根管を認めた。歯科用コーンビーム CT (CBCT) 所見:歯根は近心頬側根、遠心頬側根、近心口蓋根、遠心口蓋根の 4 つが存在しそれぞれ独立していた。遠心口蓋根の根管は未処置であり、近心口蓋根、遠心口蓋根の根尖部に透過像を認めた。上顎洞への近接や交通は認めなかった。

診断:27 慢性化膿性根尖性歯周炎

処置方針:27 再根管治療

【治療】

う蝕除去後、コンポジットレジンを用いて隔壁を形成しラバーダム防湿を行った。マイクロスコープ下にて髓床底を精査したところ、近心口蓋根の根管口から約 6 mm 遠心寄りに、遠心口蓋根の根管口が確認された。1 回目の治療で、通法に従い Ni-Ti ロータリーファイル(Hyflex EDM 40/04, 50/03; Coltene)を用いて、近心頬側根管#40、遠心頬側根管#40、近心口蓋根管#40、遠心口蓋根管#50 まで根管形成を行った。根管洗浄には 3% 次亜塩素酸ナトリウム(アンチホルミン; 日本歯科薬品)を用いた。根管貼薬には水酸化カルシウム製剤(カルシベックス; 日本歯科薬品)を用いた。10 日後、2 回目の治療時には主訴であった咬合時の違和感は消失し、その他の臨床症状も認めなかった。また、根管からの出血、排膿、浸出液も認めなかった。3% 次亜塩素酸ナトリウムおよび 3% EDTA (スミアクリーン; 日本歯科薬品)で根管洗浄を行い、ペーパーポイントにて根管乾燥後、ガッタパーチャポイント(ISO GT. 04 TAPER#40, 02 TAPER#50; モリタ)と根管用シーラー(ニシカキャナルシーラー-BG; 日本歯科薬品)を用いて、側方加圧充填法にて根管充填を行った。1 カ月後、臨床症状がないことを確認して歯冠修復処置に移行した。根管充填 8 カ月後、臨床症状はなく、エックス線写真で歯根膜腔の連続性を確認できたことから、予後良好と判断している。

【考察および結論】

過去の報告によると本症例のような 2 根性口蓋根を有する 4 根性上顎第二大臼歯は 1.2~1.6% とされている。本症例では、エックス線所見により、通常と異なる根数・形態を認めたため CBCT 撮影を実施したところ、口蓋側に分岐部を認め、2 根 2 根管性の口蓋根(遠心口蓋根は未処置)であることが確認された。CBCT 所見により得られた遠心口蓋根の根管口の位置情報に加えて、マイクロスコープ下での拡大視野を活用することにより、適切な根管治療を行うことができ、良好な結果を得ることができたと考えられる。現在、全顎的な歯周治療を並行して実施しており、引き続き経過観察を行いながら再評価後に最終補綴物に移行する予定である。

複雑な根管系を示す上顎第二大臼歯の根尖性歯周炎の治療において、CBCT の有用性が示された。

特異な形態を呈する歯内歯に対する臨床的考察

愛知学院大学歯学部歯内治療学講座
○柴田直樹, 稲本京子, 樋口直也, 諸富孝彦

Clinical considerations for rare types of dens invaginatus
Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University
○Naoki Shibata, Kyoko Inamoto, Naoya Higuchi, Takahiko Morotomi

【緒言】

歯内歯(陥入歯)は、エナメル質が象牙質の一部とともに歯髄腔側に陥入した形態異常で、その発現頻度は0.3~10%とされ、上顎側切歯に好発する。歯内歯はその複雑な形態から、治療の際には解剖学的形態の把握が不可欠である。Oehlersは主に陥入の深度によって歯内歯を3型に分類しており、60年以上経過した現在でもこの分類が広く用いられている。今回我々は、Oehlersの分類に類別することが困難な陥入の様態を示し、特異な形態を呈する2症例の歯内歯に対して評価・分析し、異なる対応を行ったので報告する。なお提示する症例は、症例報告に使用することについて患者本人および保護者の同意を得ている。

【症例・経過・予後】

症例① 患者: 14歳, 女子。 **既往歴:** 上顎左側側切歯の自発痛および根尖部歯肉の腫脹を自覚し、かかりつけ歯科医院を受診した。エックス線画像より複雑な根管形態が確認され、応急処置後、紹介により愛知学院大学歯学部附属病院歯内治療科を受診した。 **現症:** 当院初診時、 $\perp 2$ には自発痛、打診痛および根尖部歯肉の腫脹や圧痛は認められなかった。また、本来は基底結節である部位が咬頭のように隆起した歯冠の形態異常が認められた。 **口内法エックス線画像所見:** 歯冠部から歯根長の1/2付近まで達するエナメル質の陥入が確認されたため、歯内歯であることが示唆され、根尖部にはエックス線透過像が認められた。さらに、陥入部の近心側にも一つの陥入の存在が疑われた。 **歯科用コーンビームCT (CBCT) 画像所見:** 歯根の中央およびその近心側の2ヶ所にエナメル質の陥入が認められ、中央の陥入により本来の根管はその周囲に圧平され、桶状を呈していた。また、根尖部と歯根の近心側に骨吸収像が確認された。 **治療経過:** 歯科用実体顕微鏡を用いることによって、2ヶ所の陥入の様態および本来の根管の形態を確認することができた。陥入内部および根管を機械的、化学的に清掃した後、同部に対して側方加圧根管充填法を行った。術後の口内法エックス線画像では、根尖部および歯根の近心側の透過像は縮小傾向を示していたため、経過良好と判断した。

症例② 患者: 10歳, 女児。 **既往歴:** 上顎左側臼歯部の歯肉腫脹を自覚し、かかりつけ歯科医院を受診した。エックス線画像より第一大臼歯の形態異常が疑われ、紹介により本院歯内治療科を受診した。 **現症:** 当院初診時、 $\perp 6$ には自発痛および打診痛は認められず、頬側の根尖部歯肉に瘻孔が確認された。また、歯冠の口蓋側には大きなカラベリー結節が認められた。 **口内法エックス線画像所見:** 明らかなる蝕は認められず、主に近心頬側根の周囲にエックス線透過像が確認された。また、根分岐部付近に歯様の構造物が描出されていたため、癒合歯あるいは過剰歯の存在が疑われた。 **CBCT 画像所見:** 口蓋根付近にエナメル質の陥入が認められたため、歯内歯であると診断できた。陥入により口蓋根管は桶状に圧平されており、その陥入部は根分岐部から突出していた。また、口蓋根の根尖孔は広く開大し、陥入部および根尖周囲には骨吸収像が確認された。 **治療経過:** 複雑な根管形態と根尖孔の開大により、確実な根管処置は不可能と判断し、 $\perp 6$ 抜歯および $\perp 78$ の矯正的移动による咬合誘導が有益であると判断した。

【考察・結論】

歯内歯は陥入の様態が多様であり、Oehlersの分類への類別が困難なタイプも存在する。また、口内法エックス線画像のみでは陥入部や根管形態の把握が不十分となり、診断や治療方針の立案に苦慮する症例に遭遇することもある。そのため、CBCTによる3次元的画像診断を実施し、根管処置の難易度や確実性およびリスクを十分に検討したうえで、非外科的あるいは外科的な治療方針を選択すべきである。

歯内・歯周疾患について — 成因の異なる3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研究室
○永原 隆吉^{1), 2)}, 武田 克浩²⁾, 柴 秀樹²⁾

Three cases of endodontic-periodontal lesions

- ¹⁾ Dental Department, Nippon Kokan Fukuyama Hospital
- ²⁾ Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University
○Takayoshi Nagahara^{1), 2)}, Katsuhiko Takeda²⁾, Hideki Shiba²⁾

【緒言】歯内・歯周疾患は成因により3つ(I型:歯内疾患が初発で根尖孔等を通して歯周組織へ細菌感染が波及した場合, II型:歯周組織の細菌感染が根尖孔等を通じて歯髄へ波及し歯内疾患が継発した場合, III型:歯内疾患と歯周疾患がそれぞれ独立して発症した合併型)に分類される。本報告では成因の異なる歯内・歯周疾患症例を示す。【症例1:患歯57】74歳女性。糖尿病, 高血圧。57のプロービングの深さ(PPD, 6点法)は頬側近心部から⑧⑧⑥, 舌側近心部から④③④mm(○はBOP+), 動揺度2, 歯髄生活反応検査(冷刺激, 歯髄電気診査)で反応を示さなかった。デンタルX線画像(X線画像)から歯髄に近接したインレーを認め, 歯槽硬線が不明瞭で, 根尖部から歯槽骨頂まで歯根を取り囲むように透過性が亢進していたが, 歯槽骨頂レベルは維持されていた。歯周組織検査の結果は4-5mm以上PPD:31.7%, 6mm以上PPD:27.8%, BOP:63.5%, PISA:1341.5mm², PCR:94%, 歯肉の発赤と腫脹、歯の動揺および水平性骨吸収(57を除く)が全顎的に認められた(広汎型慢性歯周炎:StageIV/GradeC)。57の診断:広汎型慢性歯周炎に罹患し, 57には6mm以上の歯周ポケットが3点あるも, X線画像から, 歯内疾患(歯髄壊死)が初発で, 根尖孔等を通して歯周組織へ炎症が波及したI型と診断した。第一に感染根管治療を実施すると, 最深部PPDは6mmに減少した。さらに, スケーリング(SC)・ルートプレーニングを実施したところ, 全周3mm以下, 動揺度は1まで改善し, X線画像では, 根尖部から歯槽骨頂まで不透過性が亢進していた。I型は基本的に歯周治療を必要としない。本症例では, 排膿路としての歯周ポケットが形成された後, 長時間が経過し, ポケット上皮と根面にバイオフィルムが形成されたので, 歯周治療も必要だったと考える。【症例2:患歯47】41歳女性。47の歯肉は退縮し, 歯根が露出していた。最深のPPDは頬側近遠心部に④mm, 歯髄生活反応検査で反応を示さなかった。X線画像では, 遠心歯頸部にう蝕による透過像を認めるものの歯髄まで達していなかった。近心の歯槽骨骨頂レベルは1/2で, さらにその部位から垂直性骨吸収が根尖部まで達し, 根尖周囲に半円形の透過像が観察された。歯周組織検査の結果は4-5mm以上PPD:16.7%, 6mm以上PPD:0%, BOP:5.2%, PISA:88.7mm², PCR:11.7%, 歯肉の発赤と腫脹は顕著でなく, 全顎的な垂直性骨吸収と歯肉退縮を認めた。47の診断:広汎型侵襲性歯周炎(歯周炎の発症時期より診断)に罹患し, 47のX線画像から, 歯周疾患が初発で, 根尖孔を通して歯髄へ炎症が波及したII型と診断した。感染根管治療(2根管性)と歯肉退縮で露出していた近心部根面溝へのTBIとSCを併行して行った。その結果, 全周2mm以下にPPDが改善し, X線画像では根尖周囲の透過像は消失し, 歯槽硬線は明瞭化した。【症例3:患歯77】53歳男性。「根管治療開始後も膿が出る」と紹介を受けた。高尿酸血症, 高脂血症, 喫煙(20本/日)。77のPPDは頬側近心部から⑤⑬④, 舌側近心部から333mm(頬側中央から排膿), 動揺度は2だった。X線画像/CBCT画像は, 桶状根, 歯槽骨頂から根尖部周囲にわたる広範囲な透過像を示した。なお, 67には歯髄生活反応を認めた。歯周組織検査の結果は4-5mm以上PPD:5.6%, 6mm以上PPD:0.6%, BOP:6.2%, PISA:137.2mm², PCR:18.5%であった(限局型慢性歯周炎:StageIII/GradeC)。77の診断:辺縁から根尖部に及ぶ広範囲の歯槽骨吸収像が見られることから, III型と診断した。根管治療と歯周基本治療を実施したが, 頬側の近遠心部に3mm, 中央部に11mmのPPDが残存したため歯周組織再生療法を行った。術後約2年, 根尖部透過像は改善し, 頬側中央部PPDは5mmに減少していた。このように, II型とIII型は歯内療法と歯周治療の両方を行う必要がある。【考察・結論】歯内・歯周疾患の診断は, 患歯のX線画像/CBCT画像所見(辺縁から根尖部周囲の歯槽骨の透過性の亢進度, 吸収範囲等), PPD, 歯髄生活反応等とともに, 患歯周囲および全顎的な歯周組織の状態から総合的に行われるべきである。なお, 症例1から3の患者から学術大会等で臨床資料等を利用することの同意を取得済みである。

歯髄細胞へのストレスはアクアポリン9の発現を低下させる

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 歯科保存学分野¹ 歯科応用薬理学分野²

○高 裕子¹, 達山祥子¹, 富田和男², 星加知宏¹, 佐藤友昭², 西谷佳浩¹

Stress suppresses aquaporin 9 expressions in dental pulp cells

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, ²Department of Applied Pharmacology,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○TAKASHI Yuko¹, TATSUYAMA Shoko¹, TOMITA Kazuo², HOSHIKA Tomohiro¹, Sato Tomoaki², NISHITANI Yoshihiro¹

【研究目的】長期的な歯の機能保持のために歯髄の保存は重要であるが、歯髄炎が起こると、結果として抜髄となることが多い。歯髄炎の原因となる細菌学的、物理的、化学的刺激による炎症性変化のメカニズムを明らかにし、その原因療法を確立することで歯髄の保存を行うことができる。歯髄は周囲を硬組織に囲まれており、浮腫など組織圧に対して許容量に限界があるため、組織内の炎症性滲出が生じると間質圧が上昇しやすく、それが血管を圧迫して循環障害を招き、疼痛や壊死が起こる。水チャネルであるアクアポリン(AQP)は、水の動きを調整することによって、この炎症性変化に関係していると考えられる。当分野ではこれまでに、浸透圧ストレスにおける象牙芽細胞のAQPの発現について明らかにしてきた(Fujisawa *et al*, J Endod. 2012, Tokuda *et al*, Connect Tissue Res. 2015)。また、AQPは過酸化水素(H₂O₂)の透過性にも関与しており、がん細胞を用いた研究において、H₂O₂による酸化ストレス処理によりAQP発現が変化し、細胞死が制御されていることを報告している(Takashi *et al*, FRBM 2020)。一方、近年の報告ではコネクティブティマッピングを用いた歯髄炎の新規バイオマーカーとしてAQP9が同定され、検証されている(Al-Natour *et al*, Int Endod J. 2021)。これらのことから、歯髄細胞や歯根膜細胞に対してもH₂O₂や歯周病由来のリポ多糖(LPS)などのストレスを与えることによりAQP発現が変化し、細胞死が制御されているのではないかと仮説を立て、以下の実験を行った。

【材料及び方法】材料としてヒト歯髄由来細胞(DPCs: DV Biologics 社)とヒト歯根膜線維芽細胞(HPLF: ScienCell Research Laboratories)を用いた。酸化ストレス処理としてH₂O₂を25,50,100,200 μMの濃度で1時間処理し、その後H₂O₂を除いた培地で48時間培養し、CCK-8(Dojindo)を用いて細胞生存率を調べた。H₂O₂で影響がより大きかったDPCsについて、H₂O₂で50 μM,1時間処理後さらに1時間H₂O₂を除いた培地で培養した細胞を回収してRNAを抽出し、定量PCR法を用いて未処理との遺伝子発現変化について比較した。定量PCRは、AQP8,9について行った。さらに、H₂O₂と同様にDPCsとHPLFに対して*P.gingivalis*由来LPS処理を行い、細胞生存率と遺伝子発現変化について検討を行った。定量PCRはLPS処理を10 μg/mlで1時間行いH₂O₂処理と同様に処理2時間後に細胞を回収、その後RNAを抽出し、遺伝子発現変化を解析した。

【結果】H₂O₂処理により、25 μM以上の濃度で、未処理に比べ細胞生存率に有意な低下がみられた。またDPCsとHPLFでは、DPCsの方がH₂O₂に感受性を示した。DPCsを細胞生存率が50%となる濃度の50 μM H₂O₂で処理し、定量PCRにて遺伝子発現変化を調べたところ、AQP8については、50 μMのH₂O₂処理で有意な差は見られなかったが、AQP9では有意な減少が見られた。LPS処理を行うと、DPCsにおいて10 μg/mlのLPS処理では細胞生存率に有意な変化は見られなかったが、100 μg/ml処理で生存率に有意な低下が見られた。細胞生存率に有意な変化が見られない10 μg/mlの処理を行ったDPCsにおいては、AQP8,9の遺伝子発現は有意に減少していた。

【考察】H₂O₂やLPSといったストレスにより処理後2時間でAQP9の発現が減少した。これまでの研究結果により、がん細胞ではH₂O₂への感受性はミトコンドリアによって制御されており、その結果AQP3,5,8の発現が変化し細胞死が惹起されるという機序が示されている。本研究結果において、AQP9発現減少は外部ストレスに抵抗するために、外来刺激を抑制するための反応であると考えられ、ストレス抵抗性を制御する重要な因子であることが示唆された。今後はAQPのタンパク質発現や遺伝子発現における経時的変化の詳細な解析を行う予定であり、さらにメカニズムを明らかにしていくことで新たな歯髄保存治療を創出したいと考えている。

プラス帯電性オゾンナノバブル水のバイオフィームへの殺菌効果

¹愛知学院大学歯学部歯内治療学講座

²東京大学物性研究所

○藤田 将典¹, 大平 猛², 北方 恵美², 樋口 直也¹, 堀場 直樹¹, 諸富 孝彦¹

Disinfection Effect of Plus Charge Ozone Nano - bubble Water on Bacterial Biofilm

¹Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

²Institute For Solid State Physics, The University of Tokyo

○FUJITA Masanori¹, OHDAIRA Takeshi², KITAKATA Emi², HIGUCHI Naoya¹, HORIBA Naoki¹, MOROTOMI Takahiko¹

【目的】

次亜塩素酸ナトリウム液は優れた抗微生物作用と有機質融解作用を有していることから、効果的な根管清掃薬として頻用される。しかし、組織刺激性を併せ持ち根尖孔外への溢出などによる歯周組織への傷害が危惧される。そのため、安全かつ効果的な根管清掃薬の開発が望まれる。我々はこれまで、根管治療におけるナノバブル水の有用性を検証し報告してきた(第134, 141, 142, 151回本学会学術大会)。一方、歯周炎やインプラント周囲炎、骨髄炎においてオゾンナノバブル水による治療効果と安全性が報告されている。さらに近年、バブル表面がプラスの電化を帯びたプラス帯電性バブルが開発された。プラスに帯電することで細菌との結合性や組織への浸透性の向上が期待される。本研究ではプラス帯電性オゾンナノバブル水の *Enterococcus faecalis* への殺菌効果とバイオフィームモデルへの効果を検討した。

【材料と方法】

バブル水: 平均粒子径: 198.5nm, 濃度: 1.4E+8 Particles mL, 帯電極性: +, 帯電量: 平均+3.50 ± 0.09 mV (最大+11.5mV), 半減期: 180day<, 測定機器: Particle Metrix GmbH Germany. オゾン濃度: 1.31mg/l 計測機器: O₃-3F. 溶媒: 生理食塩水.

1. プラス帯電性オゾンナノバブル水の *E. faecalis* への殺菌効果の検討

E. faecalis (ATCC19433株)をBHI寒天培地に播種し1日間好気培養を行った。増殖した *E. faecalis* を生理食塩水5mlに回収しOD600値を測定後、濃度 1.0×10^6 /mlの菌液2mlを準備した。その菌液を2,500rpm, 10分で遠心分離後、上清を除去した。試験液2mlを1分間作用させた後、再度遠心分離を行い、上清を除去しMH液体培地を2ml加えた。段階希釈法により培養試験を行うとともに Microbial Viability Assay Kit-WST (同仁化学)を用いて代謝活性を測定した。

2. プラス帯電性オゾンナノバブル水のバイオフィームモデルへの殺菌効果の検討

BHI液体培地を用いて 1.0×10^7 /mlの濃度の菌液を作製し、Biofilm Viability Assay Kit (同仁化学)を用いてバイオフィームモデルを作製した。2日後および4日後に培地交換を行い、6日間培養を行った。バイオフィームモデルを生理食塩水で洗浄後、1分間試験液を作用させた。生理食塩水で2回洗浄し、付属のWST試薬を用いて代謝活性を測定した。

【結果】

1. *E. faecalis* への殺菌効果

培養試験においてプラス帯電性オゾンナノバブル水および次亜塩素酸ナトリウム液を作用させた群において検出限界以下となった。一方、アンピシリンを作用させた群ではコロニー形成が認められた。代謝活性試験においてプラス帯電性オゾンナノバブル水はアンピシリンを作用させた群と同等の代謝活性の低下を認めた。

2. バイオフィームモデルへの殺菌効果

プラス帯電性オゾンナノバブル水を作用させた群は、バイオフィームの代謝活性が次亜塩素酸ナトリウム液の群と同等の低下を認めた。一方、アンピシリンを作用させた群においては生理食塩水の群と同等の代謝活性が認められた。

【考察および結論】

E. faecalis のバイオフィームモデルにプラス帯電性オゾンナノバブル水を1分間作用させると、代謝活性は次亜塩素酸ナトリウム液に次いで低くなった。一方、浮遊細菌状態では一定の効果を示したアンピシリンはバイオフィームモデルにおいては効果を示さなかった。これはプラス帯電性オゾンナノバブル水がバイオフィーム内部に浸透し作用したためと考えられる。以上より、プラス帯電性オゾンナノバブル水の根管清掃薬としての可能性が示唆された。

水を混和したメタクリル酸エステル系接着性シーラーの生体親和性

北海道大学 大学院歯学研究院 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室
○鈴木 魁, 森 厚志, 菅谷 勉

Biocompatibility of methacrylic acid ester adhesive sealer mixed with water

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,
Hokkaido University Faculty of Dental Medicine
○Kai Suzuki, Atsushi Mori, Tsutomu Sugaya

【研究目的】 メタクリル酸エステル系接着性シーラーであるメタシール Soft ペースト (サンメディカル, MSSP) は、根管象牙質からガッタパーチャポイントまでを緊密な接着封鎖によって細菌の侵入を抑制することが報告されている。MSSP は、4-META と HEMA と水が成分中に含まれ、象牙質への浸透性だけでなく吸水性も高く、ある程度の量の水が混和しても封鎖性が低下しないことを報告した (第 151 回日本歯科保存学会 2019 年度秋季学術大会)。したがって、側枝や根尖狭窄部など乾燥が困難で水が残留している部位では高い封鎖効果が期待されるが、根管充填時に水が混入したシーラーが根尖孔から歯周組織に溢出した場合、炎症を誘発する可能性が危惧される。そこで本研究では、水を混和した MSSP を皮下結合組織内に埋入して、組織反応を評価した。

【材料および方法】 10 週齢の雄性 Wistar 系ラットを実験に供した。ラットに全身麻酔を行い、背部を切開、次の条件で練和したシーラーを皮下結合組織内に埋入し、ただちに切開部を縫合した。シーラーは MSSP, AH Plus (デンツブライシロナ), キャナルス N (昭和薬品化工) の 3 種とし、各シーラーに蒸留水を重量比で 1:0 または 1:0.3 の割合で混和して埋入試料とした。埋入はシーラーを練和直後または 24 時間硬化後に行った。

観察期間は 2 週とし、埋入したシーラーを周囲組織とともに一塊として摘出、通法によりパラフィン包埋後、厚さ 6 μ m の切片を作製し、H-E 染色を行って光学顕微鏡で評価した。評価方法は、組織とシーラーが接触している部位を 200 倍で無作為に 4 か所撮影し、炎症性細胞浸潤状態を、①炎症なし：炎症性細胞浸潤なし ②軽度：数層の炎症性細胞浸潤 ③中程度：10 層程度の炎症性細胞浸潤 ④重度：幅広い炎症性細胞の浸潤の 4 段階に分類した。なお、本実験は北海道大学動物実験員会の承認 (20-0115) を得て行った。

【結果と考察】 MSSP は、24 時間硬化後に埋入した場合では半数はまったく炎症がみられなかったが、水を混和するとわずかに炎症が増加した。練和後に直ちに埋入した場合は水の混和にかかわらず MSSP が小顆粒に分散していたが、周囲に炎症はほとんどみられなかった。AH Plus は、硬化後に埋入した場合は炎症がみられなかったのは 10% 以下であり、水を混和すると炎症は著しく悪化した。練和直後に埋入した場合、水の混和にかかわらず重度の炎症が 50% にみられた。キャナルス N は、硬化後に埋入した場合でも炎症がみられなかったものではなく、水を混和すると炎症がさらに悪化し、多くが重度炎症を示した。練和直後に埋入した場合はさらに炎症が強くなり、水を混和した場合にはほぼすべてが重度炎症を呈していた。

水を混和して練和直後に埋入した場合で 3 群を比較すると、AH Plus とキャナルス N が重度の炎症を誘発したのに対して、MSSP はほとんど炎症がみられなかったのは、親水性アミノ酸系重合開始剤により水があっても重合が阻害されなかったためと考えられた。このことから、MSSP は乾燥が不十分になりやすい側枝や根尖狭窄部からシーラーが溢出した場合でも、きわめて高い生体親和性を有するものと考えられた。

【結論】 MSSP は水の混和状態にかかわらず高い生体親和性を有することが明らかになった。

バイオセラミックス系根管用シーラー「ニシカキャナルシーラーBG」 を用いた根管充填症例の3年予後調査

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

○鷺尾絢子, 三浦弘喜, 末松美希, 村田一将, 相原良亮, 折本 愛, 藤元政考, 北村知昭

Three-year Follow-up of Cases with Bioceramics-based Root Canal Sealer, “Nishika Canal Sealer BG”

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

○WASHIO Ayako, MIURA Hiroki, SUEMATSU Miki, MURATA Kazumasa, AIHARA Ryosuke, ORIMOTO Ai,
Fujimoto Masataka, KITAMURA Chiaki

【目的】

2017年に国内初のバイオセラミックス系歯内治療用材料として製品化された「ニシカキャナルシーラーBG (現ニシカキャナルシーラーBG multi)」は抜髄等のイニシャルトリートメントから感染根管治療等のリトリートメントまで使用可能である。今回、2017年11月発売時からニシカキャナルシーラーBGを用いて根管充填を行った症例の予後に関する調査を行った。

【材料と方法】

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)を受診し、不可逆性歯髄炎あるいは根尖性歯周炎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ティカルパスに則った根管形成・洗浄・貼薬を実施しニシカキャナルシーラーBG (CS-BG)を用いて根管充填を行なった症例のうち、3年間の予後について追跡調査が可能であった100症例を対象とした。対象症例の処置時の性別、年齢、歯種、処置内容、根管充填後3年経過時の自覚・他覚症状の有無を評価した。症状を有する症例と抜歯に至った症例に関しては、その原因を調査した。(九州歯科大学倫理委員会 承認番号; 17-39)。

【結果】

調査対象100症例の内訳は、性別は男性32%・女性68%、年代は20代1%・30代1%・40代13%・50代18%・60代23%・70代36%・80代8%、歯種は前歯43%・小臼歯19%・大臼歯38%であった。処置内容は、イニシャルトリートメント症例27%、リトリートメント症例73%であった。3年経過時に機能している症例は92%、抜歯に至っていた症例は8%であった。機能している症例の中で、自覚・他覚症状を示さない症例は89%でいずれも治療開始時に保存可能と診断された症例であり、他覚症状を示した症例は3%でいずれも抜歯適応歯を患者希望により保存処置した症例であった。抜歯に至っていた8症例は全てリトリートメント症例で、4症例は歯根破折、他の4症例は抜歯適応歯を患者希望により保存処置した症例であった。

【考察】

バイオセラミックス系根管用シーラーであるCS-BGを用いた根管充填症例で3年予後調査が可能であった100症例のうち、治療開始時に保存可能と診断された89症例はいずれも自覚・他覚症状がなく経過良好であったことから、CS-BGは根管充填用材料として有用であることが示された。今後も引き続き長期間の臨床経過を追跡する予定である。

【結論】

根管充填症例の3年予後調査の結果は、バイオセラミックス系根管用シーラーであるニシカキャナルシーラーBGが有用であることを示している。

Effect of Root Canal Curvature Location and Preset Torque Settings on Torque/Force Generation and Shaping Ability of a Nickel Titanium Rotary Glide Path Instrument

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○Moe Sandar Kyaw, MAKI Keiichiro, KIMURA Shunsuke, Myint Thu, EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

Aim: The aim of the present study was to evaluate the effect of root canal curvature location and preset torque settings on the torque/force generation and shaping ability of the ProGlider nickel titanium (NiTi) rotary glide path instrument (Dentsply Sirona).

Materials and Methods: Mesial roots of human mandibular molars with a 25° to 35° curvature and mandibular incisors with curvature less than 5° (approved by the Institutional Review Board, TMDU, No. D2014-033-01) were selected based on the preliminary micro-computed tomographic (micro-CT) analysis of volume, curvature, and surface area of the canal. The samples were assigned to three groups according to the curvature location [apical curvature (curvature at apical 1-5mm), middle curvature (curvature at apical 5-9 mm) and straight canal; n = 39 each] and were further subdivided into three groups according to preset torque settings (1, 2.5 and 5 N·cm; n = 13 each). The root canals were instrumented with the ProGlider instrument. An automated root canal instrumentation device with a simulated pecking motion, i.e., down for 2 seconds and up for 1 second at 50 mm/min, was used and maximum torque and downward/upward force were recorded. Canal volume and centering ratios at 1, 3, 5, and 7 mm from the apical foramen were evaluated with micro-CT. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by the Bonferroni test ($\alpha = 0.05$).

Result: The straight canal group resulted in significantly less maximum torque, upward force, and volume changes than the apical and middle curvature groups ($P < 0.05$). No significant difference was found between the apical and middle curvature groups ($P > 0.05$). The straight canal group resulted in lower centering ratios (i.e., less deviation) than apical curvature group at 3 mm and apical or middle curvature group at 7 mm ($P < 0.05$). The different preset torque settings had no effect on torque/force values and shaping ability ($P > 0.05$).

Discussion: The curved canal groups generated significantly higher maximum torque and upward force than the straight canal group, most probably because friction between the file and canal wall increases as the angle of curvature increases (Ha Cheung *et al.* 2015). The straight canal group resulted in lower volume changes and centering ratios, which may be because NiTi instruments restore their original linear shape during instrumentation of canal curvature, creating more canal deviation (Paleker & van der Vyver 2016). The canal curvature location did not influence torque/force values and centering ratios, although the arc length of the canal and the diameter of the instrument at the point of curvature – which may affect the centering ability and stress generation – were most likely different. This may be related to the ProGlider instrument's high flexibility, which may reduce the degree of canal transportation and stress generation at the maximum point of flexure. No differences were detected among different torque-setting groups, which may be because the ProGlider instrument produced small torque values that seldom exceeded the preset value.

Conclusion: Under laboratory conditions using ProGlider instrument, the straight canal generated significantly less clockwise torque and screw-in force and better maintained the original shape than the curved canal. Different preset torque settings and curvature locations did not influence torque/force generation and shaping of the canals.

ラット上顎臼歯に充填された低濃度ユージノールを含む根管シーラーの根尖歯周組織骨塩量への影響

¹日本歯科大学生命歯学部歯科保存学講座, ²日本歯科大学生命歯科学講座,
³日本歯科大学生命歯学部歯周学講座, ⁴日本歯科大学
○西田太郎¹, 前田宗宏¹, 倉治竜太郎^{2,3}, 橋本修一⁴, 沼部幸博³, 五十嵐 勝¹

Influence of a root canal sealer containing a low concentration of eugenol filled into rat maxillary molar on the periapical bone mineral density

¹ Department of Endodontics, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo, ² Department of Life Science Dentistry, The Nippon Dental University, ³ Department of Periodontology, The Nippon Dental University School of Life Dentistry at Tokyo, ⁴ The Nippon Dental University
○Nishida Taro¹, Maeda Munehiro¹, Kuraji Ryutarō^{2,3}, Hashimoto Shuichi⁴, Numabe Yukihiro³ and Igarashi Masaru¹

【はじめに】

酸化亜鉛ユージノールシーラーの液成分であるユージノールに脂肪酸などを加えて、ユージノール量を低減した根管充填用シーラーを開発し、ラット臼歯感染根管治療モデルにおける根尖歯周組織硬組織の変化について報告した。今回、本シーラーをユージノール含まない対照シーラーと共に上顎臼歯の根管充填に使用した際の根尖歯周組織骨塩量の経時的変化を観察した。本研究は日本歯科大学生命歯学部動物実験委員会の承認（承認番号：20-18）を得て行った。

【材料と方法】

1. **低ユージノールシーラー (LES) の組成**：粉体 1.00 g (酸化亜鉛 0.40 g, ロジン 0.40 g, 硫酸バリウム 0.20 g) と液体 1.00ml (オレイン酸 0.75 ml, イソステアリン酸 0.10 ml, ユージノール 0.15 ml). **ユージノール不含シーラー (NES) の組成**：粉体 2.00 g (酸化亜鉛 0.80 g, ロジン 0.80 g, 硫酸バリウム 0.40 g) と液体 1.00 ml (オレイン酸 0.90 ml, イソステアリン酸 0.10 ml). それぞれ粉液比 2 : 1 で練和し、根管充填に使用した。

2. Wistar 系ラット (7 週齢, 約 230 g) に三種混合麻酔薬による腹腔内麻酔を行った。すべての処置はラバーダム防湿下で行った。まず上顎左側第一臼歯 (M1) にダイヤモンドポイント (ML-1L) で髓室開拓を行い、次に近心根の根管口を確認後、15-25 番の K ファイルを用い抜髄を行った。近心根は口腔内に曝露し、他の根管はボンディングレジン (ビューティデュアルボンド EX) とフロアブルレジン (ビューティコア LC ポストペースト) を用い封鎖した。術後、ラットは粉末飼料で 7 日間飼育した。

3. 近心根管開放から 7 日後に腹腔内麻酔を行い、次亜塩素酸ナトリウム溶液浴下で 15-40 番の K ファイルにより根管形成した。40 番のペーパーポイントで根管内の乾燥を確認した後、そのままフロアブルレジンで髓腔を閉鎖した群をシーラー未充填 (NS) 群とした。一方、NES あるいは LES を 40 番のガッタパーチャポイントに塗布し、シングルポイント法で根管充填を行い、前記と同様、髓腔を閉鎖した群を NES あるいは LES 充填群とした。これらの群は、処置後 7 日 (1-wk) もしくは 14 日 (2-wk) 間飼育した後、ペントバルビタールで安楽死を実施した。臼歯と歯周硬組織を含む上顎左側顎骨を摘出し、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液で 24 時間固定した。また、処置反対側の上顎右側顎骨を健常 (Nor) 群とし、前述と同様、1-wk と 2-wk に顎骨を取り出し、検体処理した。

4. マイクロ CT (Scan-Xmate-D100SS270, Comscantecno) で管電圧管電圧 80kV, 管電流 200μA, 解像度 24.1 μm/voxel で試料と BMD 解析用ファントムのマイクロ CT 撮影を行った。得られた断層画像は、三次元画像処理ソフト (TRI/3D-BON, Ratoc System Engineering) を用いて、三次元画像を再構築した。

5. ファントム画像から検量線を作成し、各試料のマイクロ CT 画像を BMD 画像に変換した。M1 および周囲歯周組織を関心領域とし、M1 の歯根周囲 13 voxels から歯根膜と歯根を除いた根尖周囲硬組織を測定範囲とし、骨塩量 (mg/cm³, vBMD) と骨密度 (% , BV/TV) を算出した。

【結果とまとめ】

1. BMD 解析の結果から、処置後 7 日目のシーラー未充填 (NS 1-wk) 群、ユージノール不含シーラー (NES 1-wk) 群および低ユージノールシーラー (LES 1-wk) 群の vBMD と BV/TV 値は、何れも健常 (Nor 1-wk) 群に比べて減少する傾向が認められた。2. 一方、充填処置後 7 日から 14 日経過すると、NES 2-wk 群や LES 2-wk 群の vBMD と BV/TV 値は、LES 1-wk 群や NES 1-wk 群の値に比較して増加する傾向が認められた。

本実験結果から、M1 近心根の根管治療後に根管充填を行うと、処置後 2 週間経過すると根尖周囲硬組織の低下した骨塩量と骨密度が上昇し、回復する傾向が示唆された。今後、詳細な検討を行う予定である。

Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄における破折器具根尖側での清掃性の評価

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
○劉嘉懿, 渡辺聡, 望月総太, 高野晃, 興地隆史

Evaluation of the ability of Er:YAG laser-activated irrigation to clean the apical area beyond the fractured instrument

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

○LIU Jiayi, WATANABE Satoshi, MOCHIZUKI Sota, KOUNO Akira, OKIJI Takashi

【目的】我々は、第 154 回本学会で Er:YAG レーザーを用いた根管洗浄法 (laser-activated irrigation; LAI) の根管清掃効果を洗浄液中の蒸気泡挙動を指標として解析し、破折器具より根尖側にも清掃効果を及ぼす可能性を報告した。一方、短いパルス幅および低出力で円錐形チップにより照射した際に生じる LAI の流体挙動は PIPS (photon induced photoacoustic streaming) と呼ばれ、高い清掃効果を有する可能性が示されている。本研究は、破折器具を有する根管に PIPS による LAI を行い、破折器具根尖側における清掃性を評価することを目的とした。

【材料および方法】

実験 1. 40 本の J 字型透明根管模型 (デンツプライシロナ) の模型基底部から 3 mm の位置に、#20 K ファイルまたは NiTi ファイル (WaveOne Gold Primary, デンツプライシロナ, #20/.07) の先端 3 mm を破折させた。次いで根管内に蒸留水を満し、LAI 群では Er:YAG レーザー装置 (Light Walker, Fotona) に付属チップ (PIPS400/14, Fotona) を装着して 20 mJ, 15 Hz の条件で 5 秒間照射した。PUI (passive ultrasonic irrigation) 群では超音波装置 (OSADA Enac 11W) に超音波ファイル (U ファイル, ピヤス, #15) を装着して設定値 3 で 5 秒間発振した (各群 n = 10)。レーザーチップは模型根管口付近、超音波ファイルは模型基底部から 8 mm の位置に固定した。ハイスピードカメラ (VW-9000, キーエンス) で撮影した動画をソフトウェア (Dipp-Motion V, ディテクト) にて解析し、破折器具根尖側領域の蒸気泡速度と数を求めた。統計学的解析には二元配置分散分析と t 検定を用いた ($\alpha = 0.05$)。

実験 2. 単根管性のヒト抜去歯根 30 本を用いた (倫理審査承認番号 D2014-033)。作業長を 15 mm に調整後、ProGlider (デンツプライシロナ, #16/.02) で根管形成し、根尖から 3 mm の位置に WaveOne Gold Primary の先端 3 mm を破折させた。試料を PIPS, PUI およびシリンジ洗浄群 (各 n=10) に分け、17% EDTA (30 秒照射, 60 秒静置を 2 回) → 蒸留水 (30 秒照射) → 3% NaOCl (30 秒照射, 30 秒静置を 3 回) の手順で根管洗浄した。また各群で 0.1 ml/s の速度でシリンジ洗浄を行った。LAI, PUI の設定は実験 1 と同一とし、レーザーチップは根管口の位置、超音波チップと洗浄針は作業長から 8 mm の位置に固定した。根管洗浄後、試料を歯軸方向に分割し走査電子顕微鏡 (JSM-7900F, 日本電子) にて根尖部を 1000 倍にて 4 部位撮影し、2 名の評価者により Hülsmann らのスコア分類に準じ清掃性を評価した。統計学的解析には Kruskal-Wallis 検定と Mann-Whitney U 検定 (Bonferroni 補正) を用いた ($\alpha = 0.05$)。

【結果】蒸気泡速度および数とも、NiTi ファイル群は K ファイル群より有意に高く ($p < 0.05$)、LAI 群は PUI 群より有意に高かった ($p < 0.05$)。また、LAI 群は PUI 群およびシリンジ洗浄群と比較して有意に清掃性が高かった ($p < 0.05$)。

【考察】レーザーのパルス幅を短くするとピーク出力の増加に伴う衝撃波が生じるとされ (Jansen *et al*, 1996)、PIPS による LAI は歯髄腔からの照射でも根尖付近に至る清掃性が示されている (DiVito *et al*, 2012)。本研究結果から、破折器具根尖側の清掃に PIPS による LAI が有用であることが示唆される。また NiTi ファイルは K ファイルよりピッチ幅が大きく、根管壁との空隙から根尖側への洗浄液の通過が生じたと推察される。根管破折器具の問題点は、それ自体の存在よりも根管清掃が困難なことにあるが、破折器具根尖側の化学的清掃が可能であれば、除去できない難症例の成功率向上に寄与する可能性が推察される。

【結論】本実験条件では根管破折器具より根尖側において、破折器具の種類によって清掃挙動が変わる可能性があるものの、PIPS による LAI は他の洗浄法よりも高い清掃性を示した。

難治性根尖性歯周炎における再活性化 Epstein-Barr ウイルスの影響

日本大学歯学部歯科保存学第II講座¹, 日本大学歯学部総合歯学研究所高度先端医療研究部門²

○宮田泰伎¹, 田村隆仁¹, 羽鳥啓介^{1,2}, 清水康平^{1,2}, 林誠^{1,2}, 武市収^{1,2}

Effects of reactivated Epstein-Barr virus on refractory apical periodontitis

Department of Endodontics¹, Division of Advanced Dental Treatment², Dental Research Center,
Nihon University School of Dentistry

○Taiki Miyata¹, Takahito Tamura¹, Keisuke Hatori^{1,2}, Kouhei Shimizu^{1,2}, Makoto Hayashi^{1,2}, Osamu Takeichi^{1,2}

【背景及び目的】

根尖性歯周炎は口腔内常在菌の感染によって惹起され、根尖部歯周組織の炎症や支持歯槽骨の破壊を誘発する。しかし根管治療を行っても、臨床症状が消退せず治療が長期化するケースがあり、炎症組織内部の病態は未だ不明な部分が多い。Epstein-Barr ウイルス (EBV) は、世界中の 90%以上の人々への感染が報告されている。EBV は潜伏感染するため直ちに病原性を示さないが、再活性化することにより様々なサイトカイン産生を誘導し、病原性を発揮する。EBV が再活性化すると、EBV 感染 B 細胞から BamHI fragment Z leftward open reading frame (BZLF)-1 遺伝子の発現が誘導され、EBV の再活性化マーカーとして用いられる。そこで本研究では、難治性根尖性歯周炎における EBV とインターロイキン (IL) -1 β の関与を免疫組織化学的検索及び Real-time PCR 法を用いて歯根肉芽腫における局在の検索を行うこととした。

【材料及び方法】

1. 試料採取・調整法：当科に通院し根尖切除法または抜歯が適応とされた患者から歯内外科処置時に摘出された根尖病巣を採取した。また、水平埋伏智歯の抜去時に採取した健常歯肉組織をコントロールとした (倫許 EP21D012)。摘出した組織を二分割し、一方を用いて 10%ホルマリン固定後、パラフィン包埋をおこなった。もう一方は液体窒素で凍結保存した。
2. 病理組織学的検索：パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色にて病理組織学的検索を行い、歯根肉芽腫と診断した組織を本実験に供試した。
3. Real-time PCR 法：凍結した試料から RNA を抽出し cDNA を作製後、Real-time PCR 法にて EBV の前初期遺伝子である BZLF-1 および IL-1 β の発現量を検索し、また Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) を用いてサンプル間の標準化を行った。
4. 免疫組織化学的検索：作製したパラフィン薄切切片を使用し、抗ヒト LMP-1 マウスモノクローナル抗体および抗ヒト IL-1 β ウサギモノクローナル抗体を用いた蛍光二重免疫染色を行った。
5. 統計学的分析：Real-time PCR 法の結果を基に、BZLF-1 と IL-1 β 間での相関関係をピアソンの相関係数を用い有意水準 0.05 で判定を行った。

【結果】

1. 病理組織学的検索では 25 サンプル中、20 サンプルが歯根肉芽腫であった。
2. Real-time PCR 法において BZLF1 と IL-1 β には相関関係がみられた。
3. 免疫組織化学的検索において、歯根肉芽腫では LMP-1、IL-1 β の発現を認めた。一方、健常歯肉では LMP-1 IL-1 β の発現を認められなかった。

【考察】

慢性炎症性疾患である歯根肉芽腫において再活性化した EBV は IL-1 β の産生を誘発する可能性が示唆された。

レジン複合型 MTA と高周波電流の直接覆髄への応用

北海道大学 大学院歯学研究院 口腔健康科学講座 歯周・歯内療法学教室
○伴 眞吾, 百海 啓, 菅谷 勉

Application of resin composite MTA and high frequency current to direct pulp capping

Department of Periodontology and Endodontology, Division of Oral Health Science,

Hokkaido University Faculty of Dental Medicine

○Shingo Ban, Kei Dohkai, Tsutomu Sugaya

【研究目的】

直接覆髄材として、現在 mineral trioxide aggregate (MTA) が広く使用されているが、歯質接着性がなく硬化時に血液汚染があると強度が低下したり、封鎖性が低下したりするなどの問題がある。近年、歯質への接着性を有するレジン複合型 MTA が上市され、MTA と同様の抗菌性、生体親和性、硬組織誘導能に加えて、MTA にはなかった歯質接着性を有することが報告されている。一方、高周波電流は古くから電気メスとして使用されており、切開だけではなく止血や殺菌にも用いられていることから、高周波電流を露髄部に用いることで、直接覆髄の成功率向上が期待される。また、高周波電流は硬組織形成の促進効果も報告されており、ラット頭蓋骨に作製した骨欠損に 520 kHz の高周波電流刺激を加えると、骨形成が著しく促進されることが明らかにされている。これらのことから、高周波電流は短時間で止血、殺菌できると同時に歯髄内でも硬組織形成を促進して、直接覆髄の成功率を向上させたり適応範囲を拡大できたりする可能性がある。そこで本研究は、直接覆髄にレジン複合型 MTA と高周波電流を併用することの有効性を明らかにする目的で行った。

【材料および方法】

5 週齢の Wistar 雄性ラットを用い、上顎左右第一臼歯近心咬合面を露髄させ、周波数 520 kHz, duty 比 70 %, 電圧 90 V の高周波電流を露髄面に 0.2 秒通電し、直接覆髄を行ってスーパーボンド (サンメディカル) で被覆した。直接覆髄日は露髄当日と 2 日後、覆髄材は MTA (ProRoot MTA, Dentsply Sirona) とレジン複合型 MTA (スーパー MTA ベースト, サンメディカル) とし、高周波電流通電の有無を組み合わせ合計 8 群で実験を行った。1, 3 週後にマイクロ CT 撮影を行い、脱灰薄切標本を作製して H-E 染色し、光学顕微鏡観察により組織学的に分類を行った。組織学的分類は、①近心髄角部、②髄腔近心部、③髄腔中央部、④髄腔遠心部、⑤歯根部に分けて、炎症性細胞浸潤の面積および象牙質様硬組織形成面積の割合で、それぞれ 4 グレードに分類し比較した。さらに最も露髄部位に近いデンチンブリッジの形成部位を比較した。なお、本研究は北海道大学動物実験委員会の承認 (19-0091) により行った。

【結果と考察】

スーパー MTA ベーストは ProRoot MTA より炎症が軽度であり、デンチンブリッジがより露髄部に近い位置で形成され、象牙質様組織の形成量も増加した。また、高周波電流を露髄部に通電してから直接覆髄することで、髄角部では歯髄の炎症が減少し変性が増加し、象牙質様硬組織は変性組織と混在して形成され、象牙質様組織の形成量も増加した。これは露髄部近傍で蒸散や熱変性によって殺菌されたことと、止血の効果と考えられた。さらに、露髄 2 日後に直接覆髄しても、高周波電流を露髄部に通電して直接覆髄することで、歯髄の炎症は大きく抑制された。

【結論】

スーパー MTA ベーストでは ProRoot MTA より炎症が少なく、デンチンブリッジが露髄部に近い位置で形成されるとともに、象牙質様組織の形成量が多かった。さらに高周波電流を露髄部に通電すると、炎症が減少し象牙質様組織の形成量が増加した。

メタゲノム 16S 解析法を用いた難治性根尖性歯周炎症例における摘出検体の細菌叢解析

- 佐竹和久¹, 下岸将博², 渡辺孝康³, 渡辺聡¹, 興地隆史¹
1. 東京医科歯科大学 (TMDU) 大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 歯髄生物学分野
 2. 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 口腔再生再建学分野
 3. 日本大学歯学部 基礎自然科学分野 (化学)

Microbiome analysis of samples obtained from treatment-resistant apical periodontitis with 16S rRNA gene sequencing

1. Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
2. Department of Implantology, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
3. Department of Chemistry, Nihon University School of Dentistry

○SATAKE Kazuhisa¹, SHIMOGISHI Masahiro², WATANABE Takayasu³, WATANABE Satoshi¹, OKIJI Takashi¹

【目的】

難治性根尖性歯周炎は感染根管治療での病変改善が難しく、その原因として根管の解剖学的形態の複雑さや、細菌の形成するバイオフィルムなどによる、機械的・化学的清掃の困難化が考えられる。根管はその内外で細菌の発育における環境が異なるため、それに伴って細菌叢の構成にも差が生じることが予想される。これまでに行われてきた根尖性歯周炎の細菌叢に関する研究では専ら、病変における根管内や歯根表面、肉芽組織などのうちの一部に限定して検体を取り扱われてきた。しかし、同一病変において複数の部位から検体を採取し細菌叢を比較した報告は極めて少ない。本研究は、異なる症状を呈した歯根尖切除症例における、根尖病変内の複数部位から得られた検体の細菌叢を比較することにより、難治性根尖性歯周炎の細菌叢の特徴を網羅的に分析することを目的とした。

【材料および方法】

東京医科歯科大学病院むし歯科・先端歯科診療センターにおいて歯根尖切除術を行った難治性根尖性歯周炎を有する患者 12 名を対象に、病変内の肉芽組織、歯根表面ブランク、切除した歯根尖、逆根管窩洞形成時に除去した根管充填材を検体として採取した。検体より細菌 DNA を抽出し、16S rRNA 遺伝子領域を PCR 法により増幅し、高速シーケンサーにより塩基配列情報を取得した。このデータをもとに、検体ごとの細菌叢の構成を門、属、種レベルにて推定し、主座標分析 (PCoA) にて検体間の細菌組成の多様性を比較した。また、瘻孔を有する検体と有しない検体との間で PERMANOVA 検定により、細菌叢の構成の類似性の程度を比較した。

本研究は、東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会の承認を受け遂行された (承認番号 D2018-035)。

【結果】

得られた塩基配列情報の分析において、門レベルでの細菌組成では *Firmicutes* 門, *Fusobacteria* 門, *Actinobacteria* 門, *Bacteroidetes* 門, *Proteobacteria* 門が全てのサンプルにおいて検出された。これらの 5 門は、多くの検体で 90% 以上の存在比率を占めていた。しかし、一部の検体では 50% 台に留まっており、それらの検体では *Chloroflexi* 門, *Spirochaetes* 門, *Synergistetes* 門などが 10% 以上を占めていた。

また PCoA 解析では、検体の属性における明確なクラスター形成を認めることは困難であったが、同一患者の検体においてはクラスター形成傾向が認められた。さらに、瘻孔を有する症例と有しない症例とでは、採取検体における細菌叢の構成が有意に異なっていた ($p < 0.05$)。

【考察】

本研究の対象とした難治性根尖性歯周炎症例においては、歯根周囲、歯根外表面、歯根内といった検体の属性に関わらず、同一病変ごとに特有な組成の細菌叢が形成される傾向が確認された。また、瘻孔を伴わない症例の細菌叢の構成と比較して、瘻孔が形成されることにより細菌叢の構成に変化が生じる可能性が示唆された。

【結論】

難治性根尖性歯周炎の細菌叢の構成において、同一病変では検体の属性によらず門レベルで一定の傾向が存在することが示唆された。また、瘻孔の存在が細菌叢の構成に影響を与えている可能性が示唆された。

歯髄血管再生療法の治癒過程における Type H 血管の変化

東京歯科大学保存修復学講座

○五十嵐 章智, 駒田 朋昭, 三友 啓介, 村松 敬

Changes of Type H vessels after pulp revascularization

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

○IKARASHI Takatoshi, KOMADA Tomoaki, MITOMO Keisuke, MURAMATSU Takashi

【緒言】

根未完成失活歯に対する治療法として、歯髄血管再生療法（パルプ・リバスキュラリゼーション）が近年行われている。本法の治癒形態として、組織学的に根管内への歯根膜由来細胞や血管の侵入と増生、そして新生硬組織の添加が報告されている。我々はマウスを用いた歯髄血管再生療法を行い、その治癒過程に関与する細胞の動態を検討してきた（駒田ら、第 153 回、第 154 回 日本歯科保存学会）。しかし、根尖より侵入した血管の増生過程および、血管と幹細胞、硬組織形成との相互作用はいまだ明らかではない。近年マウスにおいて血管マーカーである CD31 と Endomucin の両方に強陽性を示す毛細血管（以下、Type H 血管）が、血管周囲の骨前駆細胞とのニッチ形成、血管形成と骨形成のカップリングを行うことが報告されている（Kusumbe *et al.* Nature 507:323-328, 2014）。我々はこれまでにマウス歯髄に Type H 血管が存在し、象牙質形成への寄与や経時的な減少を報告してきた（三友ら、第 152 回、第 153 回 日本歯科保存学会）。そこで本研究では歯髄血管再生療法術後の治癒過程において根管内に Type H 血管の局在の変化と硬組織形成への寄与を形態学的、免疫組織化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：212301）。生後 5 週の C57BL/6 雄性マウスに対して、三種混合麻酔薬(MMB)を腹腔内注射後、右側上顎第一臼歯 (M1) に対してカーバイドバー (ZIPPERER 社) を用いて咬合面から露髄させた。近心根管に対して実体顕微鏡下にて 8 号の K ファイルによる歯髄除去および機械的清掃、次亜塩素酸ナトリウム溶液と EDTA を用いた化学的清掃を行った。その後、8 号の K ファイルを用いて近心根管経路で根尖孔外から出血させ、根管口部まで血餅を形成させた。次に血餅上部を MTA セメント (Bio MTA セメント, モリタ社) で被覆し、接着性レジンセメント (スーパーボンド, サンメディカル社) で仮封を行った。術後 1 時間、5 日、7 日後に 4% パラホルムアルデヒド溶液 (pH7.4) にて灌流固定し、上顎骨採取後浸漬固定を行った。モールス液で脱灰後、凍結切片標本作製し、H-E 染色および、抗 CD31 抗体 (Bioss 社)・抗 Endomucin (Emcn) 抗体 (Santa Cruz 社) を用いた二重蛍光免疫染色を行った。観察には共焦点レーザー顕微鏡 (LSM880 Airy NLO, Carl Zeiss 社) を使用した。また術後 7 日のマウスにカルセインを投与し、非脱灰凍結切片標本作製し、抗 Emcn 抗体を用いて蛍光免疫染色を行った。対照群は反対側の左側上顎第一臼歯 (無処置) 近心根とした。

【結果および考察】

術後 1 時間では、H-E 染色像において根管は血餅様構造物で満たされ、蛍光免疫染色像では Type H 血管は認められなかった。術後 5 日では、H-E 染色像において血餅様構造物は減少し、紡錘形を呈した線維芽細胞が根尖部より増生している像が認められた。蛍光免疫染色像では Type H 血管は根尖より侵入し、根管では微小な分枝の形成が認められた。術後 7 日では H-E 染色像において根管には血餅は認められず、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線維性結合組織が充満している像とわずかな石灰化物の形成が観察された。蛍光免疫染色像では、それに伴い Type H 血管の増生が観察された。カルセイン標識を行った標本では Emcn に陽性を示す毛細血管周囲に新生硬組織形成を認めた。

以上の結果から、歯髄血管再生療法後の治癒過程において Type H 血管は根管内に侵入し、新生硬組織形成に寄与することが示唆された。今後は Type H 血管と関連する幹細胞の由来、分化を検討する予定である。

歯髄創傷治癒を促進するタンパク質の機能部位の探索

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)

○渡邊 昌克、岡本 基岐、小道 俊吾、黄 海玲、松本 紗也子、森山 輝一、高橋 雄介、林 美加子

Search for the functional site of a protein that promotes pulp wound healing process

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

○Masakatsu WATANABE, Motoki OKAMOTO, Shungo KOMICHI, Huang HAILING,

Sayako MATSUMOTO, Kiichi MORIYAMA, Yusuke TAKAHASHI, Mikako HAYASHI

(研究目的)

歯髄はう蝕や外傷などの侵害刺激に対して、第三象牙質を形成するという創傷治癒機構を持つ。われわれの歯髄の創傷治癒メカニズムを検討した一連の研究において、象牙質の有機成分である象牙質基質タンパク質 (Dentin Matrix Components: DMCs) が Matrix metalloproteinase-20 によって分解を受け、生じた DMCs 分解産物中の Protein S100A7 (S100A7) および Protein S100A8 (S100A8) が歯髄の創傷治癒を促進することを明らかにした (Komichi *et al.* 2019)。ただし、タンパク質やその組換え体を覆髄材としてそのまま用いるには安全性や経済性において問題があるため、Protein S100 ファミリー (S100 ファミリー) 由来の機能ペプチドを包括的に探索し、覆髄材に応用することで、上記の問題点を解決することができると着想した。そこで本研究では、機能ペプチドを用いた生物学的覆髄材の開発を目指して、S100 ファミリーにおける機能部位の探索をおこなうことを目的とした。

(材料と方法)

1. S100 ファミリー由来機能配列の探索

S100 ファミリーの機能部位は、構造・機能が類似した同じファミリー内のタンパク質間において保存されている可能性が高いため、10 種類の哺乳類由来 S100 ファミリーのアミノ酸配列の比較・検討をおこなった (配列アライメント)。その結果、選出されたアミノ酸配列からなるペプチドを用いて、ヒト歯髄幹細胞 (hDPSCs) の石灰化能に与える影響についての評価をおこなった。コントロールとして、石灰化に影響を与えないランダムペプチドを用いた。

2. S100 ファミリー由来ペプチドが歯髄創傷治癒に与える影響の検討 (*in vitro*, *in vivo*)

実験 1 で高い石灰化誘導能を示した候補ペプチドが歯髄創傷治癒に与える影響を評価するため、hDPSCs に対する細胞毒性および細胞増殖能に与える影響の評価をおこなった。さらに、候補ペプチドを用いたラット直接覆髄実験 (大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会承認番号: 動 28-005-1) を実施し、第三象牙質形成能について検討した。なお、コントロールとして、PBS で覆髄をおこなった試料を用いた。

3. S100 ファミリー由来ペプチドが誘導する歯髄創傷治癒のメカニズム解析

実験 2 で良好な結果を示したペプチド存在下で hDPSCs を培養し、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法 (LC-MS/MS) を用いて、発現するタンパク質の同定ならびに定量をおこなった。比較対象として PBS 添加条件下で用いた hDPSC を用いた。

(結果と考察)

配列アライメントおよび hDPSCs を用いた石灰化評価試験により、機能ペプチドの候補として S100A8 由来の 2 種類 (No. 1, 2) と S100A9 由来の 2 種類 (No. 3, 4) が得られ (特願 2021-112587)、これらのペプチドはコントロールと比較して同等もしくは低い細胞毒性を示し (one-way ANOVA, Tukey test, $p < 0.05$)、細胞増殖能に影響を及ぼさない (Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$) ことが示された。これらのペプチドを用いてラット直接覆髄後、形成された第三象牙質の体積を定量した結果、No. 1 ペプチドは他のペプチドや PBS を用いて覆髄をおこなった試料と比較し、有意に多くの第三象牙質形成を認めた (Kruskal-Wallis test, $p < 0.05$)。LC-MS/MS で得られた結果を Gene Ontology 分類に基づいて検討した結果、No.1 ペプチドによって、Nuclear Factor-kappa B (NFκB) シグナル経路に関連するタンパク質の発現の上昇が認められ、一方 Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) シグナル経路に関連するタンパク質の発現減少が認められた。得られた機能ペプチドの S100A8 立体構造における位置を分子グラフィックスツールである PyMOL (Schrodinger, 米国) を用いて考察したところ、No. 1 ペプチドはタンパク質の表面に存在していることから、他の分子と直接結合することで相互作用し、歯髄創傷治癒促進機能を発揮する可能性が示唆された。

(結論)

Protein S100A8 由来の機能ペプチドが歯髄の創傷治癒を促進することが明らかとなり、次世代覆髄材開発へ向けての端緒が得られた。

レーザー照射によるラット歯髄細胞における石灰化促進作用

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野

○加藤 邑佳、横瀬 敏志

Laser irradiation induces mineralization nodules in rat dental pulp cell

Department of Restorative and Biomaterials Sciences Division of Endodontics and Operative dentistry

Meikai University School of Dentistry

○KATO Yuka, YOKOSE Satoshi

目的: 近年レーザー照射は、骨組織形成促進の作用を持つことが報告されている。そこで本研究は、口腔内において骨組織と同じく石灰化を伴う硬組織である象牙質にもレーザー照射が作用するのではないかと考え、ラット歯髄細胞に対するレーザー照射作用を探索した。

材料と方法: 実験は8週齢の雌SDラットを使用した。ラット下顎骨切歯より、Yokoseらの方法に従って、歯髄組織を取り出し、酵素処理法にて歯髄細胞を分離後、実験に使用した。培養培地は、10%仔牛の血清、 β グリセロリン酸、アスコルビン酸を含んだ α MEMを使用し、21日間培養した。その際、2日毎にメディアウムチェンジを行い、レーザーを照射するグループを作成した。使用したレーザーは、半導体レーザーFilio® (YOSHIDA社製)であり、波長は808nm、照射条件は次の通りである。

1. 2W×30S=60J(L1群)
2. 5W×10S=50J(L2群)
3. 5W×30S=150J(L3群)

の各条件でレーザーを照射した。

なお、コントロールとしてガイド光のみ照射した偽照射グループを作成した(対照群)。

培養21日後、アルカリフォスファターゼ染色およびVon Kossa染色の二重染色をして形態学的に石灰化結節形成を観察した。さらに、21日目培養歯髄細胞からRNAを抽出後、cDNAを作製し、Real-Time-PCRを行って生化学的観察を行った。象牙質マトリックスタンパク質のマーカである*Dspp*、*Bgp*、*Wnt*シグナル伝達経路のマーカである*Wnt10a*、*Axin2*、*Lef-1*、*Ectodin*の遺伝子発現をmRNAレベルで検索した。

なお、すべての実験は、明海大学実験動物倫理委員会(A2130)の承認を得て行った。

結果: 培養21日目のアルカリフォスファターゼ染色およびVon Kossa染色において、エネルギー依存的に強いアルカリフォスファターゼ染色および石灰化結節形成の増加を示した。また、全てのレーザー照射群において、対照群と比較して、象牙質マトリックスタンパク質のマーカである*Dspp*、*Bgp*のmRNA発現が有意に増加した。さらに、L3群はL1群、L2群と比較して*Dspp*、*Bgp*のmRNA発現が有意に増加した。このことから、レーザー照射群間では、照射エネルギー依存的に*Dspp*、*Bgp*のmRNA発現量の増加傾向を認めた。さらに、*Wnt*シグナル伝達経路のマーカである*Wnt10a*、*Axin2*の遺伝子発現は、対照群と比較してレーザー照射群で有意に増加した。一方で、*Lef-1*および*Ectodin*の遺伝子発現量に有意差は認めなかった。

考察: ラット歯髄培養細胞に対して、レーザーを照射することによって、形態学的・生化学的に石灰化を亢進することを認めた。また、全てのレーザー照射群において、対照群と比較して、象牙質マトリックスタンパク質のマーカである*Dspp*、*Bgp*のmRNA発現が有意に増加したことから、*Wnt*シグナル伝達経路のマーカである*Wnt10a*、*Axin2*の遺伝子発現が、対照群と比較してレーザー照射群で有意に増加したことから、レーザー照射が歯髄培養細胞に対して、*Wnt*シグナル伝達経路を介して、石灰化を促進したことが明らかとなった。

さらに今後は、歯髄組織に対するレーザー照射作用を解明するために、レーザー照射条件を増やし、さらなるデータの蓄積を行い、石灰化結節形成の作用機序を探ることが重要である。

結論: レーザー照射は、歯髄培養細胞に対して、*Wnt*シグナルを介して象牙質様石灰化結節形成を促進した。

歯根膜細胞が骨代謝に及ぼす影響について

明海大学歯学部機能保存回復学講座保存治療学分野
○小林典加、門倉弘志、横瀬敏志

Effect of periodontal ligament cells on bone metabolism

Division of Endodontics and Operative Dentistry,
Department of Restorative and Biomaterials Sciences, Meikai University School of Dentistry
○KOBAYASHI Norika, KADOKURA Hiroshi, YOKOSE Satoshi

【目的】歯根膜組織は歯根表面のセメント質と歯槽骨の間に存在し、セメント芽細胞や骨芽細胞の供給源として働くことが知られている。また歯根膜組織は歯根と歯槽骨との直接的な結合（アンキローシス）を抑制する機能も有し、骨代謝を制御していることは十分に考えられる。臨床的においても根尖性歯周炎等の治療における歯槽骨の再生療法では歯根膜細胞の作用は重要な要因となる。

本研究では歯根膜細胞が骨代謝に対してどのような影響を与えているかを調べるために、ラットの歯根表面から分離した歯根膜細胞とラット頭蓋骨から分離した骨芽細胞培養系を用いて形態学的、分子生物学的に解析したので報告する。

【材料と方法】本研究は、明海大学実験動物倫理委員会の承認（A2035）を得て行なった。実験動物は8週齢の雌SDラット8匹を用いた。

細胞分離：骨芽細胞はYokoseらの方法に従い、頭蓋骨を無菌的に摘出後トリプシンコラゲナーゼ酵素液を用いて分離し用いた。歯根膜細胞は、無菌的にラット下顎骨を摘出し可及的に歯肉組織を除去した後、両側臼歯抜歯を行なった。その後抜歯歯牙からディスペーゼ酵素液にて分離し用いた。

実験①歯根膜細胞を6穴プレートに播種し10%仔牛血清を含む α MEMにて培養を行なった。

実験②骨芽細胞を6穴プレートに播種し対照群には10%仔牛血清および無血清 α MEMを1:1で混和したものを用い、実験群では10%仔牛血清および24時間歯根膜細胞を培養した無血清 α MEMを1:1で混和したもの(Conditioned medium)を用いた。骨芽細胞には培地に β グリセロリン酸、アスコルビン酸を添加し分化誘導を行なった。培地は48時間に1回交換し21日間培養した。

実験①②の培養1、3週目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い形態学的に観察した。また実験①では歯根膜細胞からトータル RNA を抽出後、cDNA を作製し、Real-time PCR により骨代謝に関わる *Opg*、*Rank1* および *Scierostin*、*Wnt1*、*Bmp4* の mRNA の発現を調べた。また実験②では骨芽細胞から骨芽細胞の初期分化マーカーである *Alp*、*Type I collagen* の遺伝子発現を同様に探索した。

【結果と考察】実験①培養歯根膜細胞の ALP 染色の結果から1週目と比較して、3WでのALP染色性がわずかに増加していた。また培養歯根膜細胞の遺伝子発現を見ると、1週目に比較して3週目では *Wnt1* と *Bmp4* が上昇し、また *Opg/Rank1* の比率の値が亢進、さらに *Scierostin* の発現が有意に減少していることが明らかとなった。

実験②培養骨芽細胞の ALP 染色の結果から、培養1週目では対照群及び歯根膜細胞の Conditioned medium を添加した実験群での ALP 染色において染色性の差が見られなかったが、培養3週目では実験群の ALP 染色性が対照群に比較して強くなっているのが確認できた。さらに、リアルタイム PCR の結果から、培養1週目では実験群での骨芽細胞の *Alp* と *Type I collagen* の mRNA 発現は対照群と比較して差が見られなかったが、培養3週目ではこれらの遺伝子発現は実験群で有意に亢進していた。

これらの結果から、培養歯根膜細胞細胞は培養期間が亢進するに従い、骨形成を促進する因子を多く産生し、形成抑制因子の産生が減少することが示された。すなわち歯根膜細胞によって骨代謝が制御されている可能性が示唆された。

【結論】培養歯根膜細胞は骨代謝に作用することが示された。

6-MSITC は TNF- α が誘導するヒト口腔上皮由来細胞の IL-6 および CXCL10 産生を抑制する

徳島大学大学院医歯薬学研究部 再生歯科治療学分野
○下山 真弘、細川 義隆、細川 育子、保坂 啓一

6-MSITC suppresses TNF- α -induced IL-6 and CXCL10 production in human oral epithelial-derived cells

Department of Regenerative dental therapy, The University of Tokushima Graduate School
○Masahiro Shimoyama, Yoshitaka Hosokawa, Ikuko Hosokawa, Keiichi Hosaka

【研究目的】

歯周炎は歯周病原性細菌感染によって引き起こされる慢性炎症性疾患であり、宿主の過剰な免疫応答が歯槽骨吸収をはじめとする歯周組織破壊に関与していることが明らかになっている。また歯周炎病変局所での炎症性サイトカイン産生が歯周組織破壊の中心的役割を担っていることが示唆されている。

6-メチルスルフィニルヘキシリソチオシアネート (6-MSITC) はわさびに含まれるイソチオシアネート化合物である。これまでの研究によると、6-MSITC は抗がん作用や抗炎症作用などがあることがすでに報告されている。しかしながら、歯周炎治療に 6-MSITC を用いようとする試みはなく、歯周組織構成細胞に対する 6-MSITC の影響について調べた報告もない。

本研究では、6-MSITC が炎症性サイトカインの一つである TNF- α によってヒト口腔上皮由来細胞 (TR146) より誘導されるサイトカイン産生に及ぼす影響に関して検討を行った。今回は、炎症性骨吸収に関与するサイトカインである IL-6、Th1 細胞浸潤に関与するケモカインである CXCL10 産生に着目した。また、6-MSITC が TNF- α により誘導された IL-6 および CXCL10 産生に関与しているシグナル伝達経路に与える影響に関して明らかにすることも目的とし、細胞内シグナル伝達因子 (I κ B- α , NF- κ B p65, STAT3, p70S6K, S6) の活性化に及ぼす 6-MSITC の影響について検討を行った。

【材料および方法】

TR146 は Mark Herzberg 博士 (ミソネタ大学) から提供され、10%FBS を含む Ham' s F-12 培地にて培養し実験に用いた。まず、Cell Count Reagent SF (ナカライテスク) を用いて 6-MSITC の TR146 に対する細胞毒性試験を行った。その後、TR146 を 6-MSITC または NF- κ B 阻害剤 (SC514)、STAT3 阻害剤 (5, 15-DPP)、p70S6K 阻害剤 (LY2584702) 存在下あるいは非存在下にて TNF- α 刺激を行い IL-6、CXCL10 産生を ELISA 法にて、細胞内シグナル伝達因子 (I κ B- α , NF- κ B p65, STAT3, p70S6K, S6) の活性化を western blot 法にて解析を行った。

【成績】

6-MSITC は 25 μ M の濃度までは細胞傷害性がないことを確認した。6-MSITC は TNF- α が誘導した TR146 の IL-6 および CXCL10 産生を濃度依存的に抑制した。6-MSITC は TNF- α が誘導した I κ B- α 、NF- κ B p65、STAT3、p70S6K、S6 のリン酸化を抑制した。SC514 および 5, 15-DPP は TNF- α が誘導した TR146 の IL-6 および CXCL10 産生を抑制したが、LY2584702 は抑制を認めなかった。

【考察および結論】

今回の結果より、6-MSITC は TNF- α が誘導する NF- κ B および STAT3 のシグナル伝達経路の活性化を阻害することにより、TNF- α が誘導するヒト口腔上皮由来細胞の IL-6 および CXCL10 産生を抑制することが明らかとなった。このことにより歯周炎病変局所への 6-MSITC の投与によって歯肉上皮細胞のサイトカイン産生を抑制し、歯周炎病変局所での過剰な炎症反応を抑制できる可能性が示唆された。

細胞内グルコース欠乏によるヒト歯肉組織の恒常性とオートファジーに及ぼす影響

大阪歯科大学歯周病学講座

○李 潤伯, 嘉藤弘仁, 田口洋一郎, 梅田 誠

Intracellular glucose starvation affects gingival homeostasis and autophagy

Department of Periodontology, Osaka Dental University

○Runbo Li, Hirohito Kato, Yoichiro Taguchi, Makoto Umeda

【目的】

グルコースはすべての主要な細胞代謝のための最も重要なエネルギー源の一つとして機能する。ヒト歯肉線維芽細胞 (HGnFs) は解糖系経路を利用して細胞機能を維持しており、歯肉組織の創傷治癒に深く関与している。しかし、グルコースが欠乏する環境が歯肉組織の創傷治癒に与える影響を検討した報告は少ない。本研究では低グルコースモデル培地を用いて、低グルコース環境が HGnFs の増殖、遊走および細胞ストレスに及ぼす影響を検討すると同時に、HGnFs のグルコース代謝とオートファジーの関連に着目し、リン脂質結合反応系関連タンパクの解析を行った。

【材料及び方法】

グルコース濃度 100 mg/dL を生理的濃度として設定し、低グルコース群として 50, 25, 0 mg/dL のグルコース濃度に調整した DMEM で HGnFs (ScienCell 社から購入) を培養し、以下の評価を行った。

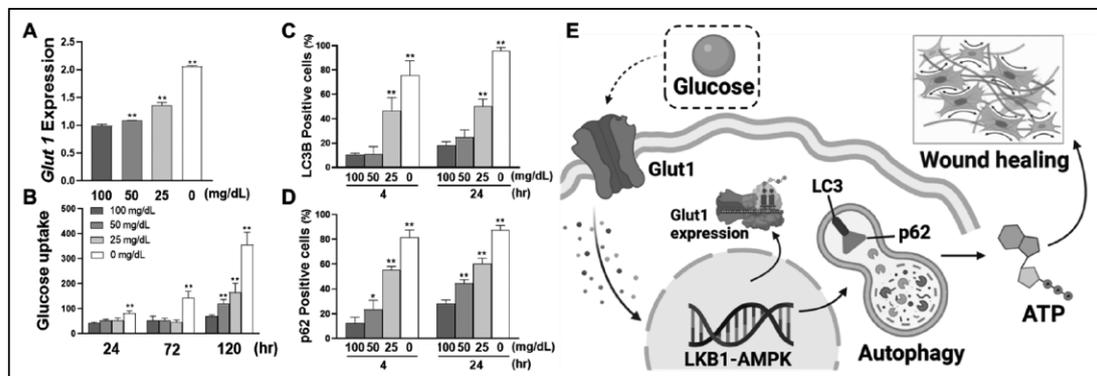
- ① HGnFs 創傷治癒能力の評価：細胞増殖，細胞遊走，I 型コラーゲン合成の評価
- ② 細胞ストレスレベルの検討：Lactate dehydrogenase (LDH) 放出量と Reactive Oxygen Species (ROS) 産生量の測定
- ③ HGnFs の低グルコース環境におけるグルコース取り込み能力の検討：GLUT1 発現解析，グルコース吸収量の測定
- ④ 低グルコース環境における HGnFs のグルコース代謝の評価：ATP 合成量と乳酸産生量の測定
- ⑤ 低グルコース環境が細胞エネルギーセンサーAMP 活性化プロテインキナーゼ (AMPK) 経路に及ぼす影響
- ⑥ オートファゴソーム認識タンパク LC3B と p62 の発現の検討

【結果と考察】

本研究では、72 時間以内の低グルコース群で LKB1-AMPK シグナル伝達経路を介して HGnFs の *Glut 1* mRNA の発現が増強したことから (Fig. A), 低グルコース環境では細胞内へのグルコースの取り込みを促進する可能性が示唆された (Fig. B)。また、乳酸と ATP は解糖過程の中間代謝産物と最終代謝産物である。グルコース量 50 mg/dL の群では 72 時間後に乳酸と ATP の産生量がコントロール群に比べ相対的に増加し、解糖活性を増強することで、細胞の増殖、遊走や I 型コラーゲン合成が促進されることが認められた。したがって、HGnFs の創傷治癒能力が活性化したと考えられる。一方、72 時間以上の低グルコース環境が継続することで、LDH や活性酸素などの細胞ストレスを誘発することも明らかになり、これらの細胞ストレスは HGnFs 創傷治癒能力を阻害すると考えられる。また、低グルコース環境により活性化した LKB1-AMPK シグナル伝達経路はオートファジーを誘導し、オートファゴソームに関連するタンパク質である LC3B と p62 の選択的分解により (Fig. C, D), ATP の合成を促進し、細胞の生存を図ることが明らかになった。

【結論】

歯周外科直後などの短期間の低グルコース状態では細胞のオートファジーが誘導され、細胞内へのグルコース吸収を促進することによって、ATP 合成を促進し、歯肉結合組織の創傷治癒が促進される可能性が示唆された (Fig. E)。



【文献】 **Li R, Kato H, Taguchi Y, Umeda M.** Intracellular glucose starvation affects gingival homeostasis and autophagy.

Sci. Rep 2022; 12: 1-10.

フェルラ酸の歯周病原細菌に対する抗菌活性の検討

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 歯周診断・再建学分野, ²新潟大学医歯学総合病院 歯周病科

³新潟大学大学院医歯学総合研究科 高度口腔機能教育研究センター

○Hnin Yu Lwin¹, 野中 由香莉^{1,2}, 松岸 葵¹, 日吉 巧^{1,3}, 湊 裕佳子¹, 多部田 康一¹

Analysis of antibacterial activity of ferulic acid against periodontopathogenic bacteria

¹Division of Periodontology, Niigata University Faculty of Dentistry & Graduate School of Medical and Dental Sciences, ²Division of Periodontics, Niigata University Medical and Dental Hospital

³Center for Advanced Oral Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○Hnin Yu Lwin¹, Yukari Aoki-Nonaka^{1,2}, Aoi Matsugishi¹, Takumi Hiyoshi^{1,3}, Yukako Minato¹, Koichi Tabeta¹

【Objective】

Ferulic acid is a phenolic compound that is abundant in grains such as rice and wheat. It has antioxidant properties and antibacterial activities against *E. coli* and *C. albicans* (Borges A, et al., Microbial drug resistance, 2013). It has been reported to alleviate the symptoms of diabetes and arteriosclerosis by ferulic acid, but its effect on periodontal disease is not clear. The aim of this study is to clarify the antimicrobial effects of ferulic acid against periodontopathogenic bacteria.

【Materials and Methods】

Porphyromonas gingivalis ATCC 33277, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Prevotella intermedia* ATCC 25611, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* JP2 and *Streptococcus mitis* ATCC 903 were treated with ferulic acid (Sigma-Aldrich) to investigate minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). The growth inhibition was evaluated by measuring the OD value at 595nm of culture medium. The inhibition of biofilm formation and eradication of established biofilm against *P. gingivalis* was evaluated by crystal violet staining. The human oral epithelial cell line was used to evaluate the cytotoxic activity of ferulic acid by the MTT assay.

【Results and Discussion】

The bactericidal activity of ferulic acid against *P. gingivalis* was showed from MIC and MBC data. It showed no antibacterial activity against *F. nucleatum*, *P. intermedia* and *S. mitis*. Ferulic acid significantly inhibited the growth of *P. gingivalis*. Also, ferulic acid inhibited the biofilm formation of *P. gingivalis*, but it didn't eradicate the established biofilm. Ferulic acid was not cytotoxic toward human oral epithelial cells in its respective bactericidal concentration. In previous literature, the antibacterial activity against *E. coli* was reported to be due to hydrophobicity changes, decrease of negative surface charge, and occurrence of local rupture or pore formation in the cell membranes (Borges A, et al., Microbial drug resistance, 2013). Further investigation of the antibacterial mechanism against *P. gingivalis* is necessary.

【Conclusion】

Ferulic acid showed bactericidal activity against *P. gingivalis* and inhibited the biofilm formation.

トリプシン様酵素活性測定による歯周病原菌数の定量と歯周病症状の評価

¹東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 歯周病学分野, ²株式会社 吉田製作所 R&D センター,
³東京歯科大学 微生物学講座, ⁴脳神経疾患研究所附属総合南東北病院 オーラルケア・ペリオセンター
○¹竹内康雄, ¹高松秀行, ²伊東 愛, ¹木内佑実音, ¹濱田悠也, ¹内藤貴大, ³石原和幸,
²細川真弓, ⁴和泉雄一, ¹青木 章, ¹岩田隆紀

The ability of trypsin-like enzyme activity test for the assessment of periodontopathic bacterial level and clinical periodontal condition

¹Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU), ²R&D Center, YOSHIDA Dental MFG. CO., LTD., ³Department of Microbiology, Tokyo Dental College, ⁴Oral Care Perio Center, Southern Tohoku General Hospital, Southern Tohoku Research Institute for Neuroscience
○¹Yasuo Takeuchi, ¹Hideyuki Takamatsu, ²Ai Ito, ¹Yumine Kiuchi, ¹Yuya Hamada, ¹Ryota Naito, ³Kazuyuki Ishihara, ²Mayumi Hosokawa, ⁴Yuichi Izumi, ¹Akira Aoki, ¹Takanori Iwata

【目的】

歯周病の診断や治療効果の判定は、ポケット深さやプロービング時の出血などの臨床的評価により行われるのが現状である。一方で歯周病の初発因子はプラークであり、細菌検査などによる評価が応用可能となれば、より意義があると思われる。歯周組織破壊の原因となる、宿主側免疫応答との均衡を崩す病原性の高い細菌叢では、特定のグラム陰性嫌気性菌の割合が増加していることが以前より知られている。また Red complex として知られる *Porphyromonas gingivalis* や *Treponema denticola* といった歯周病原細菌の産生するトリプシン様酵素の活性測定が、これら細菌の検出や歯周病の重篤度を知る手段として利用できることが報告されている。本研究では、新規に開発されたトリプシン様酵素測定試薬を用いて、歯周病検査に用いる上での臨床的特異性およびカットオフ値について検討した。

【材料および方法】

今回開発された OEC-01 試薬 (吉田製作所) は、歯周病原細菌由来のトリプシン様酵素により、含有成分のペプチド基質にメチルクマリンアミド (MCA) が加水分解され、7-アミノ-4-メチルクマリン (AMC) が遊離される。AMC は 365nm の励起光により蛍光を発することから、これを測定することで酵素活性を知ることができるものである。また本試薬の特徴として、既報の歯周病原細菌の中でも特に *P. gingivalis* に由来するトリプシン様酵素に対し反応することを確認している。本研究は、東京医科歯科大学歯学部倫理委員会の承認を得て実施した (受付番号 D2020-021 号)。30名の被験者 (健康者 10名, 歯周炎患者 20名, 平均年齢 49.2±19.0歳) を対象に、上顎前歯の単根歯におけるポケットの最深部位よりグレーシーキュレットを用いて歯肉縁下プラークを試料として採取した。OEC-01 試薬および専用の測定装置を用いて酵素活性を測定 (0~99 で表示) するとともに、qPCR 法を用いて *P. gingivalis* の菌数を測定した。また被験部位における歯周病の臨床的パラメーター測定 [プロービングポケットデプス (PPD), プロービング時の出血 (BOP), アタッチメントレベル (AL), 歯の動揺度, 歯肉炎指数 (GI)] を行い、酵素活性値との関連を検討した。

【結果】

歯肉縁下プラーク中の酵素活性値は、PPD と正の相関を示し、また BOP 陽性部位では陰性部位と比較して有意に高い数値を示した。歯周炎患者から採取したプラークでは健康者と比較して *P. gingivalis* 量、酵素活性値が高く、また *P. gingivalis* の菌数は酵素活性値と正の相関 (相関係数=0.6840) を示した。さらに OEC-01 試薬による酵素活性値から歯周炎の初期症状 (PPD ≥4mm) を推測可能かどうか、そのカットオフ値および診断能を ROC 曲線を用いて検討した。すると最も当てはまりのよいカットオフ値では、感度 (0.842), 特異度 (1.000) ともに高く、陽性的中率も 1.000 であった。

【考察および結論】

P. gingivalis は Keystone pathogen として、宿主免疫系を攪乱し、特異的な代謝物質を放出することで、正常な細菌叢を病原性の高いものへとシフトさせることが示唆されている。OEC-01 試薬を用いた装置はチェアサイドにおいてわずか数分で歯肉縁下プラーク中の歯周病原細菌 (特に *P. gingivalis*) 由来の酵素活性値を測定することができ、また酵素活性値は歯周病の症状と相関が高いことから、迅速な歯周病の診断や治療効果の判定などに応用できる可能性が示唆された。

インプラント周囲組織と歯周組織の血管内皮細胞の分析

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
○八板直道¹ 丸山昂介² 佐藤柚香里² 鈴木亮太郎¹
佐藤遥香¹ 両角祐子² 佐藤 聡^{1,2,3}

Analysis of vascular endothelial cell between peri-implant tissue and periodontal tissue

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
○Naomichi Yaita¹, Kosuke Maruyama², Yukari Sato², Ryoutaro Suzuki¹,
Haruka Sato¹, Yuko Morozumi², Soh Sato^{1,2,3}

【緒言】

インプラント周囲組織と歯周組織の大きな違いとして、歯根膜の有無が挙げられる。インプラント周囲組織には歯根膜が存在しないため、歯周組織と比較し、インプラント周囲組織の血液供給・血管内皮細胞の特徴が異なるのではないかと考えられている。しかし、インプラント周囲組織と歯周組織の血管内皮細胞を比較検討した報告はない。そこで本研究は、インプラント周囲組織の血管内皮細胞 (ARGEC) と歯周組織の血管内皮細胞 (TGEC) を比較し、その違いを分析することを目的とした。

【材料および方法】

本研究で用いた検体は、日本歯科大学新潟病院を受診している患者 5 名 (男性 3 名, 女性 2 名, 平均年齢 55 歳 ± 17.7 歳) より採取した。患者は全身疾患を有さず、喫煙歴のないものとした。ARGEC と TGEC は、インプラント治療の二次手術時に切除される歯肉組織より、抗 CD31 抗体コーティング・マグネットビーズを用いて分離を行い、獲得した。獲得した ARGEC と TGEC を使用し、細胞増殖、細胞間接着因子の発現および細胞間電気抵抗値の測定を行った。細胞増殖は、培養 1, 2, 4, 6, 8 日目に Alamar Blue を用いたミトコンドリア還元染色を行なった後に、蛍光プレートリーダーを使用し、蛍光度の測定を行った。細胞間接着因子の発現は、培養 2 日目と 6 日目に、Real-time PCR にて細胞間接着因子 (ZO-1, Occludin) の発現量を測定した。細胞間電気抵抗値は、培養 1, 2, 6 日目に Millicell ERS-2 抵抗値測定システムを用いて、経内皮電気抵抗値を測定した。細胞増殖、細胞間接着因子の統計学的分析は、Kruskal-Wallis 検定を行い、多重比較にて、Steel-Dwass 検定を行った。細胞間電気抵抗値の統計学的分析は、*t* 検定を行った。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-390)。

【結果】

細胞増殖は、ARGEC と TGEC とともに培養 2 日から 4 日にかけて増殖傾向を示した。培養 6 日目で、ARGEC と TGEC に有意な差は認められなかった。細胞間接着因子の発現は、ZO-1 と Occludin 共に、培養 6 日目で TGEC と比較し、ARGEC の細胞間接着因子の発現量が有意に増加した。細胞間電気抵抗値は、培養 6 日目で TGEC と比較し、ARGEC の細胞間電気抵抗値が有意に増加した。

【まとめ】

インプラント周囲組織の血管内皮細胞は、歯周組織の血管内皮細胞と比較し、細胞増殖では有意な差を認めなかったが、細胞間接着因子、細胞間電気抵抗値では、有意な差を認めた。このことにより、インプラント周囲組織の血管内皮細胞は、歯周組織の血管内皮細胞と比較し、細胞間の接着力が強く、物質透過性が低いことが示唆された。よって、インプラント周囲組織の血管内皮細胞は、歯周組織の血管内皮細胞と比較し、免疫応答に関する機能が低いと考えられる。今後は、ARGEC と TGEC の免疫応答に関する検討を行う予定である。

長崎県五島市住民を対象とした歯周病および咀嚼機能と糖尿病の 関連についての横断的研究

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科¹ 歯周歯内治療学分野,² 口腔保健学分野
○大平 真之¹, 北村 雅保², 樋口 賀奈子¹, 一瀬 早紀¹, 山下 恭徳¹, 尾崎 幸生¹,
五月女 さき子², 齋藤 俊行², 吉村 篤利¹

Cross-sectional study on relationship between periodontal diseases, masticatory function and diabetes mellitus: the Nagasaki Islands Study

¹Department of Periodontology and Endodontology and ²Department of Oral Health,
Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences

○Masayuki Oohira¹, Masayasu Kitamura², Kanako Higuchi¹, Saki Ichinose¹, Yasunori Yamashita¹,
Yukio Ozaki¹, Sakiko Soutome², Toshiyuki Saito², Atsutoshi Yoshimura¹

【目的】

多くの疫学研究で歯周病および咀嚼機能と糖尿病の関連性が示されている。歯周組織における炎症反応が、全身への軽微な慢性炎症として影響し、軽度～中等度歯周炎は糖尿病の進行リスクを上昇させ、重度歯周炎は血糖コントロールを悪化させると言われている。また、咀嚼機能が低下すると血糖コントロールが不良になり、血糖値が上昇することが報告されている。歯周病原細菌 *Porphyromonas gingivalis* はインスリン抵抗性を誘導することで、糖尿病に関与する可能性が示されている。しかし、これらの因子と糖尿病の関連については不明な点も多い。本研究では、五島市住民の健診結果から、歯周組織の状態、咀嚼機能および唾液中の歯周病原細菌レベルについての各評価項目と、血糖コントロールの関連について検討した。

【対象と方法】

長崎県五島市で、平成 29 年度に特定健康診査を実施した際に、長崎大学離島医療研究所による一般健診に加えて、希望者に口腔診査を実施し、唾液サンプルを採取した。非喫煙者かつ現在歯数が 20 本以上の受診者 455 人を対象として解析した。性別、年齢、肥満度指数 (BMI)、HbA1c の全身所見に加え、プロービングポケット深さ (PPD)、クリニカルアタッチメントレベル (CAL)、プロービング時の出血 (BOP)、Debris Index (DI)、Calculus Index (CI) の歯周組織検査結果、現在歯数、天然歯の機能的咬合単位 (n-FTU)、固定性補綴物を含む機能的咬合単位 (nif-FTU)、可撤性義歯も含む機能的咬合単位 (total-FTU) 等の咀嚼機能に関する測定項目を記録した。被検者から採取した唾液の一部から DNA を抽出した。その後、*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, および総細菌の菌量をそれぞれに特異的なプライマーとプローブを用いて、リアルタイム PCR 法にて測定した。2 群間の平均値の差は Student の t 検定、または Welch の t 検定で解析した。HbA1c と他の変数との関連は、Pearson の相関分析と単回帰分析で評価した。さらに HbA1c を従属変数として重回帰分析を行った。統計分析は JMP Pro 15.0.0 を用いて行い、 $p < 0.05$ を有意とみなした。本研究は長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の承認 (14051404-3) を得て行った。

【結果】

単相関分析の結果、年齢、BMI は HbA1c 値と有意な正の相関を示し、現在歯数、n-FTU、nif-FTU、total-FTU は HbA1c 値と有意な負の相関を示した。また、男性は女性よりも HbA1c 値が有意に高かった。唾液中 *P. gingivalis* 高レベル群、PPD ≥ 4 mm 群は、それぞれ唾液中 *P. gingivalis* 低レベル群、PPD < 4 mm 群よりも HbA1c 値が有意に高かった。他の歯周組織検査項目や唾液中 *A. actinomycetemcomitans* および総細菌のレベルと HbA1c 値に関連はみられなかった。単回帰分析の結果、性別、年齢、BMI、唾液中 *P. gingivalis* レベル、PPD、現在歯数、n-FTU、nif-FTU、total-FTU と HbA1c 値に有意な関連がみられたが、他の測定項目との有意な関連はみられなかった。性別、年齢、BMI を共変量とした重回帰分析の結果、唾液中 *P. gingivalis* レベルと HbA1c 値に有意な関連がみられたが、PPD、現在歯数、total-FTU との有意な関連はみられなかった。さらに、PPD、現在歯数、total-FTU を共変量とした重回帰分析においても、唾液中 *P. gingivalis* レベルと HbA1c 値に有意な関連がみられた。

【考察および結論】

本対象集団における重回帰分析の結果、歯周組織の状態、咀嚼機能および唾液中の歯周病原細菌レベルについての各評価項目のうち、唾液中の *P. gingivalis* レベルのみが HbA1c 値と有意に関連していた。唾液中 *P. gingivalis* レベルが一定値を超えると糖尿病の病態へ影響を及ぼす可能性が示された。

酸化チタン光触媒機能を応用した歯ブラシの効果と最適化

¹ 神奈川歯科大学歯学部分子生物学講座 口腔生化学分野, ² 分子生物学講座 口腔細菌学分野
○¹ 佐藤武則, ² 浜田信城, ¹ 半田慶介

Effect of toothbrush applied for photocatalytic function on titanium dioxide with solar panels

¹ Department of Oral Biochemistry, ² Department of Oral Microbiology, Kanagawa Dental University
○ Takenori Sato, Nobushiro Hamada, Keisuke Handa

【目的】

本研究はプラーク除去効果向上のため、光触媒機能を有する酸化チタン(TiO₂) 半導体を歯ブラシへ応用することを目的に *Streptococcus mutans* (Sm) と *Porphyromonas gingivalis* (Pg) に対する殺菌効果とバイオフィーム除去効果を接続した太陽電池の出力の違いにより評価するとともに、ヒト歯肉線維芽細胞への細胞傷害性について検討した。

【材料および方法】

1. Sm と Pg に対する殺菌効果

実験にはルチル型 TiO₂ 半導体と複数の太陽電池を接続した電気回路を用い、TiO₂ 半導体から放出される光触媒機能に着目した歯ブラシの効果を評価した。Sm と Pg を嫌気培養後、太陽電池と接続した TiO₂ 半導体を静置し、蛍光灯を 60 分間照射した。TiO₂ 半導体による殺菌効果は供試菌を含む液体培地のアデノシン三リン酸 (ATP) 量により評価した。

2. Sm と Pg バイオフィームに対する除去効果

カバーガラス上に形成させた両バイオフィームに太陽電池と接続した TiO₂ 半導体を作用させた後、除去したバイオフィームを含む懸濁液の濁度を評価した。さらに残留バイオフィームを Live/Dead 染色し、バイオフィーム中の生菌を蛍光顕微鏡観察した。

3. ヒト歯肉線維芽細胞に対する傷害性

神奈川歯科大学倫理委員会で承認 (承認番号 No.455) を得たヒト歯肉線維芽細胞を 20%ウシ胎児血清含有ダルベッコ変法イーグル培地にて細胞数 (3.0×10⁵ cell/well) に調整後、培地中に TiO₂ 半導体を静置して蛍光灯の光照射を行い細胞内の乳酸脱水素酵素活性を測定することで線維芽細胞の傷害性を評価した。

【結果】

太陽電池数の増加と作用時間の延長により Sm と Pg の ATP 活性量が減少した。Sm の殺菌効果は実験開始から 15 分後で 69%、60 分後で 100%、Pg に対しては実験開始から 15 分後で 70.4%、60 分後で 98.5%を示した。また Sm と Pg バイオフィームに対しても TiO₂ 半導体は殺菌効果と同様の効果が認められた。60 分間処理後の残留バイオフィームの Live/Dead 染色像では Sm と Pg バイオフィームの顕著な破壊が認められた。一方、ヒト歯肉線維芽細胞に対して太陽電池数の増加と作用時間の延長は細胞生存率を減少させたが、実験開始から 15 分間までは太陽電池数に関係なく細胞障害率は 5%以下で、60 分経過後も 10%程度であった。

【考察及び結論】

太陽電池より流れる微弱電流と酸化チタンの光触媒機能は Sm と Pg の単一菌体の破壊だけでなくバイオフィームへの浸透作用を示した。またヒト歯肉線維芽細胞に対する細胞傷害性は軽微で口腔内に作用した際の安全性が保たれることが明らかになった。以上の結果から本研究で供試した太陽電池と接続した酸化チタン半導体は歯ブラシへの装着により、プラーク除去効果が向上しう蝕や歯周病予防が期待できるものと示唆された。

Decorin によるヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化誘導に関する分子機構の解析

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²、兼子大志¹、友清淳²、濱野さゆり^{1,3}、長谷川大学²、小幡純子¹、
吉田晋一郎²、藤野翔香¹、Mhd Safwan Albougha¹、前田英史^{1,2}

Research on the biological mechanism of decorin-induced osteoblastic differentiation in human periodontal ligament stem cells

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
○Ori Adachi¹, Hideki Sugii¹, Tomohiro Itoyama², Hiroshi Kaneko¹, Atsushi Tomokiyo², Sayuri Hamano^{1,3},
Daigaku Hasegawa², Junko Obata¹, Shinichiro Yoshida², Shoko Fujino¹, 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同定が求められている。Decorin は、細胞外マトリックスの成分であるプロテオグリカン的一种で、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。これまでに、われわれは Decorin がヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化を促進することを報告した(第153回日本歯科保存学会秋季学術大会)。しかしながら、Decorin が傷害を受けた歯周組織の治癒に及ぼす影響およびヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化を誘導する分子機構については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、炎症状態下でのヒト歯根膜幹細胞における Decorin の発現、および Decorin がヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化を誘導する細胞内シグナル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 の発現様式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、1, 3, 5, 7, 14, 28 日後に抗 Decorin 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、さらに抗 Decorin 抗体陽性領域を定量化した。傷害を与えていない個体を control とした。(2)炎症状態下でのヒト歯根膜幹細胞における Decorin の遺伝子発現を解析するために、当研究室にて樹立したヒト歯根膜幹細胞株 (2-23 細胞株; Hasegawa et al, 2018) を用いて以下の実験を行った。24-well plate 上で 2-23 細胞株を培養し、炎症性サイトカインである IL-1 β (10 ng/mL) および TNF- α (10 ng/mL) にて刺激を行い、24 時間後の 2-23 細胞株における Decorin の遺伝子発現を定量的 RT-PCR 法にて解析した。(3) Decorin がヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化を誘導する分子機構を解析するために、以下の実験を行なった。石灰化誘導培地 (1.5 mM CaCl₂ 含有 10% FBS/ α MEM) を用いて、Decorin コーティング (2 μ g/mL) を行った dish にて 15 分間培養した 2-23 細胞株における p-ERK1/2, total-ERK1/2, p-Akt, total-Akt および β -actin のタンパク発現について、Western blotting 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骨および歯根膜組織において、傷害後 5 日で Control と比較して抗 Decorin 抗体の陽性領域が有意に増加した。(2) IL-1 β および TNF- α にて刺激を行った 2-23 細胞株において、IL-1 β 刺激群では非刺激群と比較して Decorin 遺伝子発現が有意に上昇し、さらに TNF- α 刺激群では上昇傾向を認めた。(3) Decorin コーティングした plate 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 p-ERK1/2 のタンパク発現が有意に上昇した一方で、p-Akt のタンパク発現は非コーティング群と比較して有意な差は認められなかった。

【考察】本研究の結果から、炎症状態下にある歯周組織において Decorin の発現は炎症初期である傷害後 5 日で最も促進することが明らかとなった。さらに、炎症性サイトカインにて刺激を行なった 2-23 細胞株において、Decorin の遺伝子発現が上昇したことから、Decorin がオートクライン、パラクライン的にヒト歯根膜幹細胞に作用している可能性が推察された。また、Decorin がヒト歯根膜幹細胞の骨芽細胞様分化を Akt ではなく ERK1/2 のリン酸化を介して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傷害後 5 日で Control と比較して抗 Decorin 抗体の陽性領域が有意に増加した。(2) 炎症性サイトカイン刺激を行なった 2-23 細胞株において Decorin の遺伝子発現が上昇した。(3) Decorin は石灰化誘導培地において培養された 2-23 細胞株において ERK1/2 のリン酸化を促進した。

酸化グラフェン超薄膜コーティングへの口腔洗浄含嗽剤の複合化による持続性抗菌効果

1 北海道大学大学院歯学研究院 歯周・歯内療法学教室, 2 北海道大学病院 口腔総合治療部

3 株式会社日本触媒 事業創出本部 研究センター

○宮治裕史¹, 金本佑生実¹, 浜本朝子¹, 西田絵利香¹, 加藤昭人¹, 菅谷 勉¹, 田中佐織^{1,2}, 郷田 隼³, 小野博信³

Graphene oxide ultra-thin layer coating conjugated with mouthwash agent for sustained antibacterial activity

1 Department of Periodontology and Endodontology, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University

2 Division of General Dentistry Center for Dental Clinics, Hokkaido University Hospital

3 Research Center, Nippon Shokubai CO., LTD

○MIYAJI Hirofumi¹, KANEMOTO Yukimi¹, HAMAMOTO Asako¹, NISHIDA Erika¹,

KATO Akihito¹, SUGAYA Tsutomu¹, TANAKA Saori^{1,2}, GOHDA Syun³, ONO Hironobu³

【研究目的】

酸化グラフェン (GO) は大きなアスペクト比 (厚さ 1 nm, 数 μm 角の大面积) のナノシート状物質で, 表面に豊富な官能基を有することから物質の吸着性に優れている. 我々はこれまでに, 歯表面の GO 超薄膜 (透明) コーティングを行った後に, 塩化セチルピリジニウム (CPC) との複合化を行うことで, 水洗しても CPC が流失せずに歯表面に保持され抗菌性が発揮されることを報告した¹. そこで今回, 広く歯科臨床応用されている口腔洗浄含嗽剤 (ネオステリングリーン (NG), 日本歯科薬品) を GO との複合化に用いた場合, GO 超薄膜コーティングに NG が保持され, 水洗しても抗菌性を持続的に発揮できるか検討した.

【材料と方法】

GO は改良ハマーズ法にてグラファイトから作製した. 石英ガラス基材に 0.1%GO 分散液を塗布, 常温乾燥後, 目視で GO が見えなくなるまで水洗した. 続いて 0.1%NG を GO 処理済みの基材に塗布し, すぐに十分に水洗して GO/NG 処理とした. 対照として, 未処理, GO 塗布水洗のみ (GO 処理), NG 塗布水洗のみ (NG 処理) の基材を用意した. 各基材の表面の SEM 観察, ラマン分光分析, 接触角測定を行い, GO 超薄膜コーティングの生成と NG の複合化について検討した. 続いて石英基材と同様の方法で, 48 ウェル培養プレート底面に GO/NG 処理 (NG 濃度; 0.1, 0.01, および 0.001%) を行い, 対照として NG 処理のプレートを用意した. *S. mutans* および *A. naeslundii* 懸濁液を各ウェルに播種して抗菌性を評価した. また, GO/NG 処理後の抗菌持続性について検討するために, GO/NG 処理 (NG 濃度; 0.01%) したプレートを 12 および 24 時間の水中保管後, 抗菌性を評価した. 次にトリミングしたヒト象牙質 (自主臨床研究承認 017-0222) の GO/NG 処理 (GO 塗布後強圧エアにて即時乾燥, NG 濃度; 0.01%) を行い, *S. mutans* を播種して抗菌性を評価し, 未処理, NG 処理の象牙質と比較検討した.

【結果と考察】

GO 処理によって石英基材表面に単層 GO が確認され, ラマン分光分析でも GO に特有なピークを同定したことから, 基材表面に GO の超薄膜が形成されたと考えられた. 接触角測定の結果, GO 処理基材は超親水性 (9.1 度) であったが, GO/NG 処理後は 50.0 度に変化したことから, 水洗しても NG が流失せずに基材表面に残留したと考えられた. 抗菌試験の結果, GO/NG 処理は NG 処理のみに比較して, NG 濃度 0.1, 0.01% において有意に抗菌性を示した. また水中保管後でも抗菌性を発揮した. GO/NG 処理を行った象牙質は, 他基材と同様に未処理や NG 処理のみに比較して有意に抗菌性を示した. GO はファンデルワールス力等により基材に強く付着して超薄膜を形成し, NG に含まれる抗菌有効成分の塩化ベンゼトニウムは 4 級アンモニウムカチオンであることから, GO 表面のアニオン性官能基との相互作用により GO 超薄膜と結合したと考えられた.

【結論】

GO 超薄膜コーティングに NG は容易に保持され, 水洗しても流失せずに抗菌性を持続的に発揮した.

【引用文献】

1. 第 64 回秋季日本歯周病学会学術大会, 2021 年 (P-26).

歯周基本治療前後における唾液中エクソソーム内の成分と臨床パラメーターの変化

¹ 日本大学松戸歯学部歯周治療学

² 日本大学松戸歯学部口腔科学研究所

○山口 亜利彩¹, 鶴屋 祐人¹, 高井 瑞穂^{1,2}, 高井 英樹^{1,2}, 中山 洋平^{1,2}, 小方 頼昌^{1,2}

Changes in salivary exosome components and clinical parameters before and after initial periodontal therapy

¹Department of Periodontology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo,

²Research Institute of Oral Science, Nihon University School of Dentistry at Matsudo

○Arisa Yamaguchi¹, Yuto Tsuruya¹, Mizuho Yamazaki-Takai^{1,2},

Hideki Takai^{1,2}, Yohei Nakayama^{1,2} and Yorimasa Ogata^{1,2}

【目的】エクソソームは、細胞から分泌される脂質二重膜からなる直径約 50-150 nm の小胞で、唾液や血液等の体液中に存在する。これまでの研究で、エクソソームは細胞間を移動し、タンパク質や RNA, miRNA 等の生理活性物質を輸送する事で、細胞間コミュニケーションにおいて大きな役割を担うことが解っている (Zhao M, et al. Arch Oral Biol, 105, 27-34, 2019)。歯周炎は、歯周病原細菌 (細菌因子)、環境因子 (喫煙、ストレス等) および宿主因子 (全身疾患等) によって引き起こされる炎症性疾患で、歯周組織の破壊と歯の喪失を引き起こす。現在の歯周組織検査は、プロービングポケット深さ (PPD)、クリニカルアタッチメントレベル (CAL)、Bleeding on probing (BOP) およびエックス線での歯槽骨の吸収状態で歯周組織の破壊の程度を評価しているが、歯周炎の活動性や治療の予後を正確に評価することには限界がある。以上のことから、唾液中のエクソソーム内の成分を歯周治療前後で比較することで、歯周炎の活動度および予後を予測できる可能性がある。本研究では、中等度～重度歯周炎患者 (ステージIII～IV) を対象に、歯周基本治療前後に唾液を採取し、歯周病臨床パラメーターの変化と唾液中のエクソソーム内の成分を比較し、歯周病バイオマーカーとしての有用性について解析を行った。

【材料と方法】

中等度～重度歯周炎患者 (ステージIII～IV) を対象に、初診時および歯周基本治療終了時に歯周組織検査を実施した。測定項目は PPD, CAL, BOP, 歯の動揺度, プラークコントロールレコード (PCR), Periodontal Inflamed Surface Area (PISA), Periodontal Epithelial Surface Area (PESA) である。また歯周基本治療前後に唾液採取用パラフィンワックスを噛んでもらい、唾液を採取した。採取した唾液を遠心して細胞残渣を除去後、エクソソーム精製用試薬 Exo-Quick TC (System Biosciences) を添加し、4°C で 12 時間インキュベート後遠心してエクソソームを精製した。エクソソームから全 RNA, 総タンパク質を抽出後、歯周基本治療前後の mir-142, mir-143, mir-144, mir-150, mir-200b および mir-223 の発現量をリアルタイム PCR で、C6, CD81, TSG101 および HSP70 の発現量の変化を Western Blot で解析した (本研究は日本大学松戸歯学部倫理委員会の承認を得た。承認番号 EC19-014)。

【結果と考察】エクソソームの精製に使用したエクソソーム単離用の化学沈殿試薬 Exo-Quick TC は、少量の唾液からのエクソソームの精製に適しており、効率的であるとされている (Zlotogorski - Hurvitz A, et al. Journal of Histochemistry & Cytochemistry (2015) 63(3), 181-189)。今回の実験でも遠心分離後にエクソソームが白色のペレットとして観察された。唾液中のエクソソーム内の mir-142, mir-143 および mir-223 の発現量は、歯周基本治療前と比べ治療後に有意に減少した。mir-144, mir-150, mir-200b の発現量に有意な差は無かったが、減少傾向にあった。エクソソーム中のタンパク質のうち、TSG101, CD81 のタンパク質量は治療後に減少傾向にあった。また、C6 のタンパク質量の変化は患者によって結果が異なり、歯周基本治療後に C6 の発現量が増加した患者群は、C6 の発現量が減少した患者群と比較し、歯周基本治療前の PISA が大きい傾向にあり、治療後も減少しづらい傾向にあった。今後は唾液中のエクソソーム内の成分と歯周病臨床パラメーターとの相関についてさらに解析を進めると共に、唾液中のエクソソーム内の成分が変化するメカニズムの解析を進める予定である。

SPOCK1 はシクロスポリンによる薬物性歯肉増殖症において
歯周炎症を介した歯肉肥厚と歯槽骨吸収を増大する

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
○今川 澤、新城 尊徳、山下 明子、佐藤 晃平、瀬々 起朗、西村 優輝、川上 賢太郎、岩下 未咲、西村 英紀

SPOCK1 enhances periodontitis-mediated gingival thickening and alveolar bone loss under cyclosporin-induced gingival overgrowth.

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

○Mio Imagawa, Takanori Shinjo, Akiko Yamashita, Kohei Sato, Tatsuro Zeze, Yuki Nishimura,
Kentaro Kawakami, Misaki Iwashita, Fusanori Nishimura

【目的】

生活習慣の欧米化による糖尿病やメタボリックシンドローム罹患者の増加を背景に、高血圧発症や腎・肝臓などの臓器不全リスクが増大している。一部の高血圧薬や臓器不全に対する移植治療の際に利用される免疫抑制剤は、副作用として薬剤性歯肉増殖症 (Drug-induced gingival overgrowth : DIGO) を起こすことが知られている。歯周炎症の存在は DIGO の進行に重要であり、仮性ポケットの増大の結果、しばしば難治性の歯周炎症を呈することが臨床経験的に知られている。このように難治性となった歯周炎は、歯周医学的な観点から全身的な問題となりやすいことが示唆される。したがって、DIGOにおいて歯周炎に起因した歯肉増殖に関連する要因と、それが既存の歯周炎においてどのような動態を取るかを理解し、歯周炎並びに歯肉増殖に対する新たな制御法を確立することは急務の課題である。

我々は、第 155 回日本歯科保存学会秋季学術大会にて、SPOCK1 過剰発現(*Spock1-Tg*)マウスを用いた実験より、SPOCK1 は歯周炎に伴う歯槽骨吸収と歯肉肥厚を増大することを明らかとした。一方で、DIGOモデルにおいて SPOCK1 が歯周炎症に伴う歯肉肥厚や歯周炎病態をどのように修飾するかは不明である。そこで、*Spock1-Tg* マウスにシクロスポリンを連日投与し、実験的歯周炎を惹起した際の歯槽骨吸収や歯肉増殖の変化について検討を行った。

【材料・方法】

①8 週齢の雄性 *Spock1-Tg* マウスに、50mg/kg 体重のシクロスポリン(CsA)の腹腔内(ip)投与を 1 日 1 回 7 日間行い、そこから上顎両側第 2 臼歯への 6-0 絹糸結紮による歯周炎を惹起した群 (Tg CsA+lig 群) と惹起しなかった群 (Tg CsA-lig 群) に分けた。絹糸結紮は 2 週間維持し、その間も毎日 50mg/kg 体重の CsA の ip 投与を継続した。同時に、雄性の同腹仔野生型 (WT) マウスについても、同様に CsA の ip 投与と絹糸結紮を行い歯周炎群 (WT CsA+lig) および非歯周炎群 (WT CsA-lig) を設定した。

②結紮 2 週間後に各マウスを安楽死させ、実体顕微鏡下で上顎臼歯部の咬合面・頬側面観の撮影を行い、Okanobu らの既報を参考に、第 2 臼歯の近遠心幅径を基準とした頬側歯肉の厚みと高さについて定量を行った。また、この定量結果を、CsA 非投与で絹糸結紮による歯周炎を惹起した WT・Tg マウス (WT lig+, Tg lig+) 群と、しなかった (WT lig-, Tg lig-) 群と比較した。さらに上顎の残余軟組織を除去し歯槽骨吸収量を実体顕微鏡下で評価・定量した。

**本研究は九州大学動物実験委員会、遺伝子組換え実験安全委員会の承認のもと実施した。

(承認番号 : A21-371-0, 2-15)。

【結果及び考察】

①WT lig-および Tg lig-群と比較して、WT CsA lig-および Tg CsA lig-群ではともに咬合面・頬側面観の歯肉肥厚度は明らかに上昇していたが、WT と Tg 間では有意差は見られなかった。一方で、WT lig+および Tg lig+群と比較して、WT CsA lig+および Tg CsA lig+群では、咬合面・頬側面観ともに歯肉肥厚度は顕著に増大しており、CsA 投与条件下でもなお Tg マウスで WT マウスよりも有意な歯肉肥厚度の増加がみられた。

②WT lig+と比較して WT CsA lig+群では、歯槽骨吸収は増加傾向にあった。Tg lig+と比較して Tg CsA lig+群でも、歯槽骨吸収は増加傾向にあった。また、WT lig+に対して Tg lig+群では有意な歯槽骨吸収の増大が見られていたが、WT CsA lig+に対して Tg CsA lig+群ではなお有意な歯槽骨吸収量の増大が見られた。

以上の結果より、SPOCK1 は CsA 投与下における歯周炎症に伴う歯肉肥厚と歯槽骨吸収を増大することが示唆された。

歯周病原細菌投与がラット骨格筋損傷治癒に与える影響

1) 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 スポーツ医歯学分野

2) 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 顎顔面補綴学分野

3) 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 歯周病学分野

○清水慎太郎¹⁾ 林 海里¹⁾ 田邊 元²⁾ 中禮宏¹⁾ 竹内康雄³⁾ 小林宏明³⁾ 上野俊明¹⁾

Effect of periodontal disease-derived antigen on healing of skeletal muscle damage in rats

1. Department of Sports medicine/ Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Science, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

2. Department of Maxillofacial Prosthetics/ Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Science, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

3. Department of Periodontology, Graduate School of Medical and Dental Science, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

○Shintaro Shimizu¹⁾, Kairi Hayashi¹⁾ Gen Tanabe²⁾, Hiroshi Churei¹⁾, Yasuo Takeuchi³⁾, Hiroaki Kobayashi³⁾, Toshiaki Ueno¹⁾

【背景】

骨格筋損傷は、アスリートや運動に励む学生の間で最も頻度が高い外傷である。損傷部の治癒促進や治癒阻害の因子を明らかにすることは、早期の機能回復・競技復帰を果たすために重要である。慢性的な高い炎症性サイトカインレベルは治癒阻害に働くことが報告されている。歯周病患者血中ではIL-6などの炎症性サイトカインレベルの上昇が認められ、歯周病の存在が筋損傷治癒を阻害する可能性も考えられるが、これまで歯周病罹患と骨格筋損傷治癒の関連についての報告はほとんどない。本研究では、歯周病により生じる全身への炎症波及が筋の損傷治癒にも影響を与えるとの仮説を調べるため、歯周病原細菌である *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) 投与がラットの骨格筋損傷治癒に与える影響について解析、検討を行った。

【方法】

8週齢の雄WTラット16匹を無作為に実験群と対照群に分けた(n=8)。実験群に対し *Pg* ATCC33277株の超音波破砕抗原を週1回(10⁹ cells/回)×3週間、腹腔内投与した。対照群には同量の生理食塩水を腹腔内投与した。3週後に両群の左足腓腹筋に対してCardiotoxin(CTX)を注射し、筋損傷を誘発した。CTX注射1・3・5・7日後に歩行動画を撮影し、歩行時の踵骨高の最小値を計測、治癒程度判定の参考とした。CTX注射7日後に腓腹筋を採取し組織標本を作製した。H-E染色画像から中心に核を有する筋細胞の断面積(CSA)を測定し、治癒程度を評価した。また抗原投与に伴う全身性炎症性サイトカイン上昇をCTX注射による炎症と区別するために、損傷を作製していない状態で両群から採血を行い(n=2)、血清中の *Pg* に対する血清抗体価、IL-6、TNF- α レベルをELISA法にて測定した。

本実験は東京医科歯科大学動物実験委員会の審査・承認を経た上で実施された(承認番号:A2020-182A)

【結果】

歩行時の踵骨最小高さは、実験群と対照群ともに損傷1日後で著しい低下を認め、その後経時的に回復する様相を示した。損傷後3・7日目の最小高さは、対照群と比較し *Pg* 群は有意な低値を示した。

損傷作製7日後の組織像では両群でともに損傷した筋細胞とその治癒過程が観察された。一方で中心に核を有する筋細胞の断面積は実験群で有意に小さい値であった。

血清中の *Pg* に対する血清抗体価、IL-6、TNF- α レベルは、対照群と比較し *Pg* 群で有意に高値であった。

【考察】

歩行動作解析と組織的評価から歯周病モデルラットでは腓腹筋の筋損傷治癒遅延が起きていることが示唆された。アスリートにおけるパフォーマンス維持のために、全身に悪影響を及ぼす歯周疾患のコントロールが必要だと考えられる。

Exosomes derived from human periodontal ligament stem cells promote bone formation of rat calvarial bone defects

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

○Mhd Safwan Albougha¹, Hideki Sugii¹, Orié Adachi¹, Atsushi Tomokiyo², Sayuri Hamano^{1,3}, Daigaku Hasegawa², Junko Obata¹, Shinichiro Yoshida², Tomohiro Itoyama², Shoko Fujino¹, Hiroshi Kaneko¹, Hidefumi Maeda^{1, 2}

【Objective】 Periodontal ligament stem cells (PDLSCs) have the multipotency to differentiate into many types of cells, such as osteoblasts, cementoblasts and chondrocytes, and have emerged as a good tools for periodontal regeneration therapy. Stem cells, including PDLSCs, may secrete a wide spectrum of factors that have the capacity to promote regeneration of the lost tissues. Among these secreted factors, exosomes are the most effective therapeutic vesicles for tissue regeneration as they contain mRNA, miRNA, non-coding RNAs, and growth factors. Previously, we reported that exosomes from PDLSCs (PDLSCs-Exo) promoted the osteoblastic differentiation of pre-osteoblasts (The 151th Meeting of the Japanese Society of Conservative Dentistry). However, the effects of PDLSCs-Exo on the bone formation were not examined. Thus, this study investigated the functions of PDLSC-Exo on bone formation using in vivo model.

【Materials and Methods】 We isolated exosomes from the culture medium of PDLSCs (cell line 2-23, which was established in our lab, Hasegawa et al., 2018). We performed in vivo study using a rat calvarial bone defect model (defect size; 5 mm in diameter, 12-week-old male rats). We evaluated the newly-formed bone after 6 weeks of treatment with PDLSCs-Exo (60µg/ml in 50µl hydrogel) by micro CT scanning and quantified the newly-formed bone area. The rats treated with PBS-Hydrogel were used as control. Furthermore, tissue sections were prepared for masson trichrome staining to evaluate the anatomical structures of the new formed bone. All procedures were performed in compliance with requirements of the Research Ethics Committee and the Institutional Animal Care and Use Committee at Kyushu University (approval number: 27-76 and A19-307-0, respectively).

【Results】 The quantification of newly-formed bone area by CT-scanning showed that PDLSCs-Exo treatment resulted in the significant increase of newly-formed bone area compared with the control group. In addition, the results of masson trichrome staining demonstrated that bone structure was observed in the PDLSCs-Exo group whereas the control group exhibited no bone structure in the defect site.

【Discussion】 Consistent with our previous study, the results of in vivo study showed that PDLSCs-Exo could effectively promote bone formation in the rat calvarial bone defect site. Taken together, we suggest that PDLSCs-Exo may be a promising cell-free therapeutic tool for the regeneration of bone defects.

【Conclusion】 PDLSCs-Exo showed the possible ability to enhance bone formation of defect site in rat calvarial bone in vivo.

巨大な歯石沈着の1症例

¹松本歯科大学病院 初診室 (口腔診断科・口腔診療科)、

²松本歯科大学院歯学独立研究科硬組織疾患制御再建学講座

○内田啓一^{1,2}、伊能利之¹、岩崎由紀子¹、喜多村洋幸¹、根津英之¹、森 啓¹、高谷達夫¹

A Case Report of a Giant Dental Calculus

¹Department of Oral Diagnostics and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University Hospital, ²Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine, Matsumoto Dental University

○Keiichi Uchida^{1,2}, Toshiyuki Inou¹, Yukiko Iwasaki¹, Hiroyuki Kitamura¹, Hideyuki Nezu¹, Hiroshi Mori¹, Tatsuo Takaya¹

【緒言】日本では近年、口腔衛生管理や予防歯科の意識が高まってきているので、著名な歯石沈着を伴う症例を経験することは比較的稀であると思われる。今回我々は、巨大な歯石沈着の1例を経験したので、その概要を報告する。また症例発表において、患者本人の同意を得ている。

【症例】患者は53歳の男性であり、上顎右側臼歯部の有痛性の腫脹を主訴として本学を受診した。数か月前から下顎の歯が脱落したが放置していたが、上顎右側臼歯部の有痛性腫脹を自覚したため精査治療のため受診した。また、患者よると20年以上歯科へ受診した経験はないとの事であった。受診時の口腔内所見は、極めて口腔内衛生状態は不良で強い口臭があり、多数歯に齶蝕と歯周疾患と高度な歯石沈着を認め、歯肉は発赤腫脹を伴っていた。下顎右側犬歯部から左側臼歯部に口腔底を覆うように、黄白色と茶褐色の層状顆粒状の歯石と思わる硬組織を認めた。口腔内の状況から判断して歯石が強く疑われたため、口腔内の状態を診ながら慎重に歯石除去を行った。その後、徹底した口腔衛生指導を行い、残存歯は保存不可能と判断し抜歯の必要性和その後の補綴処置の説明を行い、口腔衛生管理と治療を行っている。口腔内の状況と除去された硬組織の状態から、巨大な歯石と診断をした。

【考察】歯石沈着の要因としては、長期間にわたり歯科受診がないことから口腔衛生状況が極めて不良な状態が継続していたことが原因ではないかと推測できる。また、自浄作用の低下により口腔内細菌や歯周病関連細菌が大きく関わっていたのではないかと考えられた。現在この歯石と判断された組織はその成分を解析中である、

CBCTの有用性と適応の再検討

—保存治療においてトラブルとなった症例から—

¹松本歯科大学病院 初診室 (口腔診断科・口腔診療科)、

²松本歯科大学院歯学独立研究科硬組織疾患制御再建学講座

○内田啓一^{1,2}、森 啓¹、伊能利之¹、根津英之¹、喜多村洋幸¹、高谷達夫¹

Reviewing the usefulness and adaptability of CBCT -Case of trouble in conservative treatment-

¹Department of Oral Diagnostics and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University

Hospital, ²Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine

, Matsumoto Dental University

○Keiichi Uchida^{1,2}, Hiroshi Mori¹, Toshiyuki Inou¹, Hideyuki Nezu¹, Hiroyuki Kitamura¹, Tatsuo Takaya¹

【緒言】歯科用コーンビームCT (CBCT) は2012年に国民健康保険に採用され、現在では歯科領域の硬組織疾患を三次元的に観察し診断することが可能な画期的な画像診断装置として広く普及し、臨床においてもその有用性を十分に示している。しかしながら、臨床の場においてはその有用性や適応症例に悩むことがある。今回我々は、保存治療においてトラブルとなった症例から、CBCTの有用性と適応について再検討を行ったのでその内容を報告する。また症例発表において、患者本人の同意を得ている。

【症例】患者は44歳の女性であり、歯周治療を希望して2014年6月に本学へ来院した。数年前より下顎左側第二大臼歯の痛みがあったが放置していた。2013年近歯科医院を受診し歯周病の治療を勧められたが通院は行わなかった。その後、上下顎前歯部の動揺と排膿を認めるようになってきたので本学へ来院した。その後、本学にて歯周基本治療を開始し症状は改善傾向を認めていた。2019年10月中旬に上顎右側第一大臼歯部および第二大臼歯部に自発痛を認めたので、口内法エックス線画像で確認したところ上顎右側第一大臼歯部に根尖病変を認めたので根管治療を開始した。しかしながら、疼痛は改善せず瘻孔形成を認めため同部の精査のため2021年1月上旬にCBCT検査を行った。その結果、上顎右側第二大臼歯部の歯根膜腔と連続性に内部は均一な境界明瞭な透過像を認め、この病変は上顎右側第一大臼歯類側遠心根と連続していた。臨床症状と画像診断の結果、上顎第一大臼歯を抜歯することを患者に説明をおこなったが、患者は第二大臼歯部にも根尖病変が元からあったのに治療を行わなかったことと、CBCT検査を疼痛がある時に何故この画像検査を行わなかったのかと不信感を訴えた。その後、患者には今後の治療方針を丁寧に充分に行った結果、納得を得ることができたので抜歯を行い、上顎第一大臼歯部の歯内療法を継続し症状の改善傾向を認めた。

【考察・まとめ】CBCTは従来の口内法エックス線撮影やパノラマエックス線撮影では判別できない病変や解剖学的構造物との位置関係を明らかにできるため、口腔外科領域、歯周治療や歯内療法などにおいてすでに広く活用されている。しかしながら、歯科診療領域においてCBCTの撮影は第一選択ではなく、あくまでもパノラマエックス線検査等により病変の存在や範囲を確認、把握した上で、CBCTによる診断の必要があると思われる場合に撮影を行うのが原則とされている。今回の自験例においては、上顎右側第二大臼歯部の病変が口内法エックス線画像で的確に診断されなかったこともありこのようなトラブルとなったが、上顎右側第一大臼歯部の根管治療中に瘻孔形成を認めた時点で、難治性歯内療法 (根管治療) の診断としてCBCT検査を行っておけば、このような患者とのトラブルは回避出来たのかと思われる。しかしながら、現状ではCBCT検査の保険適応範囲にも地域差もあるようで、保険適用が認められるのは限られたケースということもあるようだが、もう一度CBCT検査の有用性を理解し治療においてより情報が多く得られ、QOLの向上やさらに患者への治療方針の説明においても、CBCT検査を適正に活用することが改めて重要であると思われる。

アパタイトコーティングによる象牙質耐酸性強化法の検討

東京歯科大学 衛生学講座
○岩崎美友, 佐藤涼一, 杉原直樹

Effect of Acid Resistance Strengthening Method of Dentin by Apatite Coating

Department of Epidemiology and Public Health, Tokyo Dental College

○IWASAKI Miyu, SATOU Ryouichi, SUGIHARA Naoki

【研究目的】

近年、高齢者の残存歯の増加や歯周病による歯肉退縮で、根面齲蝕の増加が問題となっている。しかし、根面齲蝕の予防には高濃度のフッ化物歯面塗布が有効とされているが、象牙質に最適化された予防法は確立されていない。そこで本研究は、生体親和性の高い新素材のバイオアパタイト (BioHap) に着目し、フッ化物歯面塗布法と併用したコーティングシステムを開発した。本研究の目的は、このシステムによる象牙質耐酸性強化の検討である。

【材料および方法】

本研究では、牛歯歯頸部唇側象牙質の表面に耐水研磨紙 (P4000 まで) で鏡面研磨を行ったブロックを試料とした ($n=9$)。実験群は、Control 群, APF 群, BioHap 群の 3 群とした。BioHap 群の処理はリン酸ジェル (pH1.0) と BioHap を混和したものを 1 分間塗布し, APF (9000ppmF, pH3.5) 溶液を 4 分間浸漬した。APF 群は APF 処理のみとし, Control 群はフッ化物応用なしで実施した。処理後, 0.02M HEPES 再石灰化溶液 (Ca:3mM, P:1.8mM, pH7.3) に 37°C, 1 時間浸漬した後, 0.1M 乳酸脱灰ジェル (Ca:3mM, p:1.8mM, pH5.0) にて 37°C, 24 時間浸漬を行った。耐酸性の評価には, 3D レーザー顕微鏡 (LEXT OLS4000, Olympus, 東京) を用いて段差量および算術平均粗さ (Sa) の測定と Micro-Vickers 硬さ試験機 (HMV-1, 島津製作所, 東京) を用いて硬さ (HV) の測定を行った。さらに走査型電子顕微鏡 (SEM) (SU6600, 日立, 東京) を用いて表面と断面の脱灰性状観察を行った。3 群間の比較には, 一元配置分散分析 (ANOVA) および Bonferroni 多重比較検定を用いた。

【結果および考察】

3D レーザー顕微鏡による非脱灰の対照面と実験面の段差量測定の結果, Control 群では $1.821 \pm 0.025 \mu\text{m}$ の脱灰による実質欠損を認めた。APF 群は $0.921 \pm 0.024 \mu\text{m}$, BioHap 群は $0.452 \pm 0.042 \mu\text{m}$ と各群間に有意差を認めた ($p < 0.001$) ことから, APF 群と比較してより強い脱灰抑制が見られた。3D レーザー顕微鏡による実験面の表面粗さ測定の結果, Control 群は $0.128 \pm 0.012 \mu\text{m}$, APF 群は $0.203 \pm 0.016 \mu\text{m}$, BioHap 群は $0.933 \pm 0.286 \mu\text{m}$ であり, BioHap 群と Control 群間および APF 群間に有意差を認めた ($p < 0.05$) が Control 群と APF 群間には有意差は認められなかった。Micro-Vickers 硬さ試験機による実験面の硬さ測定の結果, Control 群は $35.487 \pm 2.956\text{HV}$, APF 群は $42.349 \pm 3.845\text{HV}$, BioHap 群は $51.697 \pm 2.855\text{HV}$ と各群間に有意差を認めた ($p < 0.001$)。BioHap 群は, APF 群よりも強い脱灰抑制効果があると示唆された。表面 SEM 観察では, Control 群は脱灰による象牙細管の開口部の拡大を認めた。APF 群では象牙細管の開口部の縮小とフッ化カルシウム様結晶粒子の沈着を認め, BioHap 群は被膜形成ならび多量のフッ化カルシウム様結晶粒子とリン酸カルシウム様結晶粒子の沈着および象牙細管の閉鎖を認めた。断面 SEM 観察では, Control 群は, 象牙細管の拡大を認め, APF 群は, 歯質表層にフッ化カルシウム様結晶粒子の進入と耐酸性層の形成を認めた。BioHap 群は, 歯質表層にフッ化カルシウム様結晶粒子に加え, リン酸カルシウム様結晶粒子の進入と被膜形成を認めた。

【結論】

本研究により開発された BioHap を併用したコーティングシステムは, 象牙質耐酸性の向上が示唆された。今後, このシステムは根面齲蝕の予防として期待される。

歯根破折と下顎角との関連性

¹松本歯科大学病院 初診室 (総合診断科・総合診療科)、

²松本歯科大学院歯学独立研究科硬組織疾患制御再建学講座

○高谷達夫¹、内田啓一^{1,2}、伊能利之¹、喜多村洋幸¹、根津英之¹、岩崎由紀子¹、森 啓¹

¹Department of Oral Diagnostics and Comprehensive Dentistry, Matsumoto Dental University Hospital, ²Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine, Matsumoto Dental University,

○Tatsuo Takaya¹, Keiichi Uchida^{1,2}, Toshiyuki Inou¹, Hiroyuki Kitamura¹, Hideyuki Nezu¹, Yukiko Iwasaki¹, Hiroshi Mori¹

【緒言】歯根破折は様々な要因が複雑に絡み合って発生するものであり、歯根破折は臨床症状、口腔内精査、画像診断、近年ではマイクロスコープによる精査などにより診断することが可能である。また、歯根破折を起こす要因の一つとして顔貌がある。とくにいわゆるエラが張っており咬合力が強い傾向にある患者が発生するという報告がある。今回我々は、歯根破折を起こした患者のパノラマエックス線画像から下顎角を計測し、歯根破折と下顎角との関連性について検討を行い若干の知見を得たので報告する。また、パノラマエックス線画像の使用に関しては、患者の同意を得ている。

【検討方法】検討対象は歯根破折の疑いで2021年12月にパノラマエックス線検査を行った患者7名(男性:4名、女性:3名)である。撮影は通法の頭部の位置づけで、本病院放射線検査室の放射線技師によりパノラマエックス線検査装置(NEO DICOM Hyper-X; 朝日レントゲン, 京都, 日本)で行った。その後、DICOMデータからMATTILAの計測方法を用いて下顎頭後縁湾曲部を除く下顎枝後縁と下顎下縁平面とのなす角として下顎角の計測を行った。

【結果】患者の平均年齢は56歳(最高年齢72歳、最低年齢35歳)であり、歯根破折部は上顎右側第一大臼歯:2例、上顎右側第二大臼歯:1例、下顎左側第二大臼歯:1例、下顎右側第一大臼歯:2例、下顎右側第二大臼歯:2例であった。左右下顎角は右側では、最高124°、最低107°で平均角度は117.28であった。左側では最高127°、最低107°で平均角度は119.42であった。両側平均下顎角角度は116.91であった。また、両側が明らかに120°未満であったのは2例であった。

【考察・まとめ】通常の下顎角の計測は、頭部エックス線規格撮影で得られて側方エックス線画像から計測する。パノラマエックス線画像から計測する下顎角は、修正下顎角ともいう。この修正下顎角が120°未満になると歯牙破折が優位に増加するという報告があり、今回はこの報告をもとに検証的に最近経験した歯根破折の7症例のパノラマエックス線画像から計測を行った。平均両側平均下顎角角度は116.91であったが、歯根破折した左右部位別に検討してみると明らかに120°未満であったのは3症例であった。この結果では明らかに歯根破折がパノラマエックス線画像から計測される下顎角と相関していることは充分には検証は出来なかった。今後は歯根破折と下顎角との関連について、顔貌、咬合状態、咬合面状態、歯周病、ブラキシズムあるいは原因歯の歯科処置的誘因等の関連性を含めて検討を行う必要がある。

歯学部大学生の血圧とう蝕未処置歯数、歯周ポケット深さおよび Body Mass Index との関連：入学時および4年時の追跡調査

¹松本歯科大学歯科保存学講座 (歯周)

²松本歯科大学歯科放射線学講座

³メディケア歯科クリニック さいたま新都心

○佐故 竜介¹, 出分菜々衣¹, 田口 明², 尾崎 友輝¹, 上原龍一¹, 中村 卓¹,
窪川 恵太³, 吉成 伸夫¹

Association between Blood Pressure, Number of Untreated Dental Caries Teeth, Periodontal Pocket Depth and Body Mass Index in Dental University Students: Follow-up survey at the Time of Admission and in 4th Grade

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

² Department of Oral and Maxillofacial Radiology, Matsumoto Dental University

³ Medicare Dental Clinic Saitama Shintoshin

○Ryusuke Sako¹, Nanae Dewake¹, Akira Taguchi², Yuki Ozaki¹, Ryuichi Uehara¹,
Suguru Nakamura¹, Keita Kubokawa³ and Nobuo Yoshinari¹

目的：高血圧症は脳心血管疾患の最大の危険因子であり、血圧と歯周病との関連は以前より報告されている。本研究では、松本歯科大学歯学部生の入学時および4年時の学生に実施された健康診断および歯科検診の結果から、血圧と口腔因子との関連について明らかにし、さらに3年間での口腔因子および全身因子の変化について検討することを目的とした。

方法：対象は、松本歯科大学歯学部生101名（男性：54名，女性：47名，1年時の平均年齢20.3±2.7歳）であり，3年間の追跡調査を行った。健康診断にて，全身疾患の有無，身長，体重，Body Mass Index (BMI)，血圧（収縮期血圧：mmHg／拡張期血圧：mmHg）を調べ，歯科検診にて，現在歯数，未処置歯数，処置歯数，欠損歯数，DMFT指数，Community Periodontal Index (CPI) を調べた。血圧値分類は，①正常血圧（収縮期血圧：120mmHg未満かつ拡張期血圧：80mmHg未満）／正常高値血圧（収縮期血圧：120-129mmHgかつ拡張期血圧：80mmHg未満）群および②高値血圧（収縮期血圧：130-139mmHgかつ／または拡張期血圧：80-89mmHg）／高血圧（収縮期血圧：140mmHgかつ／または拡張期血圧：90mmHg以上）群の2群に分けた。また，CPIの結果から，Probing pocket depth (PPD) およびClinical attachment level (CAL) は4mm未満および4mm以上の2群に分けた。統計解析については，入学時および4年時における，血圧と口腔状態についてt検定およびカイ2乗検定を用いて分析した。さらに，入学時と4年時それぞれについて，二項ロジスティック回帰分析を用いて，血圧と関連する口腔因子および全身因子を分析した。最後に，多項ロジスティック回帰分析を用いて，3年後の血圧値が「変化なし群 vs. 改善群」および「変化なし群 vs. 悪化群」を比較し，関連する口腔因子および全身因子について解析した。なお，本研究は松本歯科大学倫理委員会の承認を得て実施した（承認番号0268）。

結果：血圧値分類が高値血圧以上の者では，1年時では未処置歯数が有意に多く，オッズ比1.339倍（95%信頼区間1.102-1.627, P=0.003），4年時ではPPD4mm以上が多い傾向にあり，オッズ比3.882倍（95%信頼区間0.863-17.453, P=0.077）であった。また，3年間で血圧が悪化した者では，BMIが増加しており，オッズ比1.711倍（95%信頼区間1.129-2.592）であった。よって，高値血圧以上では，口腔内の状況やBMIと関連することが示唆された。

結論：高値血圧以上の者では，未治療のう蝕残存数と関連がみられた。また，3年間で血圧が悪化した者はBMIが増加していた。

ラマン分光法によるう蝕の新規診断技術の開発とその展望

京都府立医科大学大学院 医学研究科 歯科口腔科学
 ○宮本 奈生、足立 哲也、山本 俊郎、大迫 文重、金村 成智

Development and Prospects of a New Diagnostic Technique for Dental Caries by Raman Spectroscopy

Department of Dental Medicine, Kyoto Prefectural University of Medicine

Graduate School of Medical Science

○Nao Miyamoto, Tetsuya Adachi, Toshiro Yamamoto, Fumishige Oseko, Narisato Kanamura

目的

日本人の歯の喪失の二大要因はう蝕と歯周病によるものであり、う蝕の早期治療は生活の質を維持するために不可欠である。これまでのう蝕の臨床診断は各歯科医師の主観的な評価に基づいて行われており、客観性に欠けていた。また微小なう蝕の診断は、視診やレントゲン撮影だけでは検出感度が不十分である。そのためう蝕診断技術の向上と予防のためには、誰もが定量的にう蝕の程度を診断できる高感度のデバイスの開発が期待される。

ラマン分光法は、試料に可視レーザーを照射し、発生するラマン散乱光の特性から物質の種類や状態を判定する分析法であり、非接触・非破壊に結晶性評価、残留応力分析、分子構造の化学的評価が可能となる。この特性はすでに進行したう蝕のみならず、初期のう蝕のエナメル質に生じる微妙な構造変化を解析するのに適している。

そこで本研究ではこの特性を利用してラマン分光法がう蝕の新規診断技術となり得るか検討した。

方法

歯周病患者より抜歯された廃棄予定の歯を被験歯とした。歯の表面の状態は、レーザーラマン顕微鏡で解析し、得られたラマンスペクトルより、う蝕部位のハイドロキシアパタイト (HAP) の局在を可視化した。う蝕周囲のエナメル質表面をラマン分光法と光学式う蝕検出装置で解析を行い比較した。また、歯の内部は、デンタル X 線装置とマイクロ CT 撮影装置で観察した。研究実施を行う上で本学医学倫理委員会の承認を得た (承認番号 ERB-C-136、RBMR17、RBMR19)。

結果

歯表面のエナメル質は、96%が化学式 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ で示されるハイドロキシアパタイト (HAP) で構成されている。以前の研究からう蝕によって脱灰されたエナメル質のラマンスペクトルでは、HAP に帰属する 960cm^{-1} のピークが低下することが報告されている (Adachi T et al. *Anal Bioanal Chem.* 2015)。う蝕部位のエナメル質の HAP のラマン散乱強度は健全歯と比較すると顕著に低下しており、これは従来の光学式う蝕検出装置による診断と完全に一致していた。さらにこのスペクトルを用いてエナメル質の健全部位と脱灰部位を明示する疑似カラー画像を作成し、 μm 単位のう蝕を可視化することに成功した (Fig 1)。またスペクトルの半値幅 (FWHM) より脱灰の重症度を定量評価し、脱灰の進行に伴い FWHM が増加することを見出した (Fig 2) (Miyamoto et al. *Materials.* 2020)。

結論

ラマン分光法および診断アルゴリズムによってこれまで評価困難であった微小なう蝕に対して、被曝を伴うことなく明瞭に可視化し定量的な評価が可能となった。この技術を応用し、口腔内に挿入可能なプローブ型の小型ラマン分光器が開発されれば、POCT での安全かつ高感度の革新的なう蝕の診断法に成り得る。

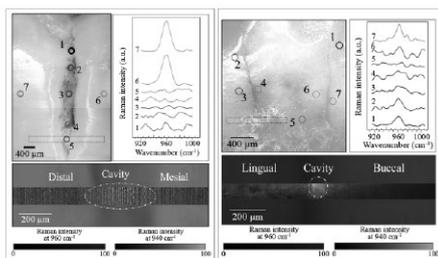


Figure 1. Raman analysis of the tooth sample

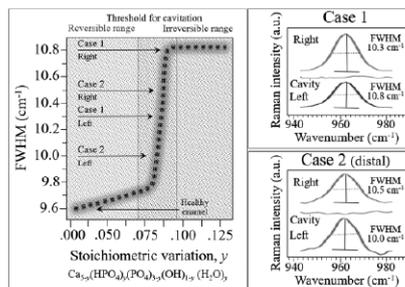


Figure 2. Relationship between the FWHM of the 960cm^{-1} Raman band of hydroxyapatite and the stoichiometry parameter

骨粗鬆症モデルラットに BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルを移植した場合の硬組織反応

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, 松崎久美子, 大原直子, 吉山昌宏

Effects of implantation of gelatin hydrogel containing BMP-2 on hard tissue formation in osteoporosis model rats

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

○YOKOYAMA Akihito, YAMAJI Kozo, MATSUZAKI Kumiko, OHARA Naoko, YOSHIYAMA Masahiro

【目的】

高齢化社会の到来により骨粗鬆症が年々増加しつつある。閉経後骨粗鬆症は、エストロゲン分泌低下により骨吸収が亢進することが知られている。一方 BMP (Bone morphogenetic protein) は硬組織形成に関与するサイトカインであり、特に BMP-2 は強力な骨誘導能を有する因子の一つである。

生体内で有効に作用するには適切な Drug Delivery System が必要と考えられ、薬剤徐放性キャリアとして効果が認められているゼラチンハイドロゲルに着目した。本研究は骨粗鬆症モデルラットを用いて BMP 配合ゼラチンハイドロゲルを移植した場合の骨形成反応を検討した。

【材料と方法】

本研究は岡山大学動物実験委員会の承認を得て実施した (承認番号 OKU-2020481)。

実験動物は、あらかじめ卵巣摘出を行った閉経後骨粗鬆症モデルラット (Ovariectomized rat, 以下 OVX ラット) および卵巣摘出を行わなかった正常ラット (Wistar 系雌性, 10 週齢) を用いた (各群 n=6)。材料はゼラチンハイドロゲル (メドジェルシート II, 新田ゼラチン) と、これに BMP-2 (R&D Systems) を配合したもの (配合量 1.0 µg/0.1 mg) を移植材とした。ラット口蓋部を全層弁剥離し既存骨に BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルを移植したものを BMP 群、ゼラチンハイドロゲルのみを移植したものを Gel 群とした。観察期間は 4 週間とし、組織学的手法により新生骨の厚さを計測し TNB (Thickness of new bone) を評価した。また大腿骨は DXA 法にて骨密度の評価に用いた。統計解析には Tukey-Kramer 法を用いた。

【結果と考察】

観察期間終了後、OVX ラット、正常ラットのいずれも TNB は、BMP 群が Gel 群と比べて有意に大きかった ($p < 0.05$)。また、OVX ラットの BMP 群は、正常ラットの BMP 群よりも有意に TNB が小さかった ($p < 0.05$)。

OVX ラット大腿骨の骨密度は、正常ラットと比較して低下する傾向があり、特に遠位端の海綿骨が豊富な部分 (骨幹端部) においては低下が認められた。

BMP 群が Gel 群よりも TNB が大きくなったのは、BMP-2 がゼラチンハイドロゲルから適度に徐放され、その周囲に存在する骨形成に関与する細胞が刺激され、骨形成が誘導されたことが考えられる。また、BMP-2 を含有しない Gel 群に新生骨形成が認められたのは、粘膜骨膜弁を剥離した際の骨膜反応やゼラチンハイドロゲルがスキャホールドの役割を担ったためではないかと考えられる。

BMP 群において OVX ラットが正常ラットよりも TNB が減少したのは、エストロゲンは骨芽細胞の機能や骨代謝に関与する因子であり、卵巣摘出に伴うエストロゲン欠乏により骨形成が抑制されたためではないかと考えられる。

以上の結果から、一定の限度はあるものの BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルの骨新生量増加の効果は OVX ラットにおいても有効であると考えられた。

【結論】

本研究で用いた閉経後骨粗鬆症モデルラットは、BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルを移植することにより、正常ラットよりは少ないものの新生骨量が増加することが示された。今後、骨粗鬆症においても BMP-2 配合ゼラチンハイドロゲルが骨再生治療に有効な方法として期待される。

本研究において、開示すべき利益相反関係にある企業などはありません。