成人以降で外傷後に観察されたトランジェントアピカルブレイクダウン

ウインデンタルオフィス
○中田　貴

Transient apical breakdown following tooth luxation in adulthood: A Case report

WIN Dental Office
○Takashi NAKATA, DDS PhD

【緒言】トランジェントアピカルブレイクダウン（以下 TAB)とは、外傷により根尖において歯髄が断裂し、生活反応を示さなくなった後に、歯髄腔の狭窄や歯冠変色からの回復などを伴い、再び生活反応を示すようになる現象とされている。この現象は根尖未完成歯や若年者の永久歯の外傷後に観察される現象である。しかしながら、矯正力による歯の移動によっても起こり得る症例報告もある。本発表では成人以降で外傷後に観察された TAB の症例を提示する。
【症例】３３歳　男性　既往歴　特記すべき全身疾患なし　自転車走行中に転倒し、顔面を強打し、救急搬送された。歯槽骨および上顎骨骨折はなかったが、11 の振盪、21 の挺出性脱臼、22 歯冠破折を認めた。
【処置】外傷後に 21 を脱臼整復し、12-23 を矯正線および MMA-TBB レジンにて接着固定した。固定は１ヶ月後に解除し、経過観察を行った。経過観察中に EPT 測定と口腔内写真、デンタル X 線写真を撮影した。
【経過】受傷後、11,21 の根尖周囲の歯根膜腔は拡大し、EPT はマイナスを示し、歯冠の変色を認めた。経過観察６ヶ月後に 21 は歯冠変色が改善し、EPT はプラスに転じた。11 は EPT はマイナスのままで歯冠変色に変化を示さなかった。受傷後１年７ヶ月後も 21 は EPT 測定はプラスのままを示した。歯冠の変色は完全ではないが、ほとんど改善したままであった。歯髄腔は初診時に比較して明らかに狭窄し、根尖の形態の変化を示した。11 は歯冠変色が若干改善したように見えたが、EPT はマイナスを示したままであった。歯髄腔は若干の狭窄を認めたが、初診時からの経過はほとんど変化していなかった。歯髄の感染を示す根尖病変等の所見は認められなかった。
【考察】外傷後に観察される TAB は AndreasenJO,AndreasenFM.Textbookandcoloratlasof traumatic injuries to the teeth, 3rd edn や、本邦では外傷歯の診断と治療（月星光博著）に詳しく記載されている。外傷歯の診断と治療には、１５歳以下で歯髄の TAB による治癒を期待しており、年齢的には 20 歳までであろうと言及されている。これは、断裂した歯髄組織の修復あるいは再生による治癒には、血管の新生を伴う豊富な血流の回復が必要で、若年者の方が根尖口が開大していることもあり物理学的にも生物学的にも有利であることを示唆していると思われる。一方、成人期以降では根尖や歯髄腔の狭窄が加齢によって緩徐に進み、外傷後の血流回復には不利であることは言うまでもない。本症例は劇的にすべて改善したわけではないが、感染がなく血流回復あるいは修復の条件が整えば、若年者同様の現象が TAB が起こり得ることを示唆している。安直な診断や処置による根管治療、あるいは再根管治療を必要とする根尖病変の再発を考慮すると、本症例のような保存的な治療法も治療の選択肢として存在してもよいのではないかと考えられる。
【結論】成人以降の永久歯でも外傷後に TAB は起こり得る。



1 month　later following tooth laxation



19 months later following tooth luxation

抗炎症療法を機軸とした新規根管治療技術の開発

東北大学大学院 歯学研究科 エコロジー歯学講座 歯科保存学分野

○下山智義、辺見浩一、MOE SANDAR KYAW、八幡祥生、齋藤正寛

Development of new root canal treatment modalities based on anti-inflammatory therapy

Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

○Tomoyoshi Shimoyama, Kouichi Henmi, MOE SANDAR KYAW, Yoshio Yahata, Masahiro Saito

【目的】

根尖性歯周炎は、根管系の細菌およびその副産物が歯髄および根尖周囲組織に炎症-免疫反応を惹起し、顎骨吸収を引き起こす炎症性疾患である。近年、標準治療の奏功しない治療抵抗性の根尖性歯周炎について全身疾患による免疫機構の病的活性化との関連性が示唆されており、特に炎症性腸疾罹患すると根尖病変の顎骨吸収が増悪化することが報告されている。ここれらの知見は、根尖性歯周炎の治療には感染物質の除去以外に抗炎症療法が必要になることを示している。当教室では、根尖周囲局所の免疫調節を目的として、抗炎症薬の顎骨内局所薬剤輸送(Local Drug Delivery System、以下 LDDS）を可能とするため、水に吸収波長を有するパルスレーザーの照射に伴うアブレーションとキャビテーションを利用したレーザ LDDS の技術開発に取り組んでいる。本研究では、レーザ LDDS に、免疫調節作用を有するエリスロマイシンを用いた根尖性歯周炎に対する抗炎症療法モデル研究を行い、その効果検証を行うことを目的とした。

【材料および方法】

すべての動物実験は、「東北大学における動物実験および関連活動の規則」に準拠し、国立大学法人東北大学環境・安全委員会動物実験専門委員会によって承認され、実施した（承認番号 2020 歯動-032)。10 週齢の Wister ラットのオス下顎左右第一臼歯を用い、根尖病変モデルを作製した（過去の発表で説明は省略)。根管をペーパーポイントで乾燥後に LDDS を行なった。LDDS は薬剤を根管内に注入した後に Er:YAG レーザー（Erwin AdvErl EVO、コンタクトチップ R400T、モリタ製作所）の先端を根管口付近に設置し、30mJ、3pps で角根管 20 秒照射した。薬剤は、0.05%、0.5%、5%エリスロマイシンを使用し、対照群として、生理食塩水による LDDS（以下生食群）および未処置群（以下コントロール群）を設定した。LDDS 後、ペーパーポイントにて乾燥し、キャナルシーラーBG multi（日本歯科薬品）とガッタパーチャポイントを用いたシングルポイント法にて根管充填を行い、歯冠部はコンポジットレジンにて歯封鎖した。
根管治療４週間後に、顎骨を摘出し、μCT を撮影後に Amira3D（Thermo Fisher Scientific）を用いて病変体積計測を行った。病変体積の統計学的比較は Tukey 法による多重比較を行い、有意水準は 5%に設定した。摘出した顎骨は、薄切後に H-E 染色による炎症反応の評価を行った。

【結果】

μCT 解析の結果、ラット根尖性歯周炎モデルではエリスロマイシン投与群と比較して生食群、コントロール群ではにおいて根尖部の顎骨吸収が観察された。病変体積測定の解析結果から、0.5%および 5%エリスロマイシン群は生食群、コントロール群と比較して有意に根尖病変体積が縮小した(p<0.05)。一方で 0.05%エリスロマイシン群では 0.5%、5%エリスロマイシン群と比較して根尖病変体積の縮小量は少なかった。また、H-E 染色による組織学的所見からコントロール群と比較して 5%エリスロマイシン群で歯根膜と歯槽骨の破壊は少ない傾向を示した。また根尖部における炎症性細胞浸潤はエリスロマイシン投与群では生食群、コントロール群より減少している傾向を示した。

【考察・結論】

本研究結果より、歯内療法において感染物質を除去する標準治療に加え、抗炎症効果を有するエリスロマイシンを顎骨の病変内に拡散することで根尖病変における顎骨吸収を抑制できることが示された。これまでリンパ球、マクロファージの活性化と根尖性歯周炎における破骨細胞の活性化が示されているが、抗炎症療法によりこれらの免疫細胞の抑制が顎骨吸収の治療に有効性が示唆された。このような免疫調節を考慮した抗炎症療法は歯内療法分野において今後重要な役割を果たす可能性があり、新たな治療戦略の開発が期待される。

上下動振幅の大きさが Reciproc Blue を用いた根管形成に与える影響

東京医科歯科大学（TMDU）大学院医歯学総合研究科　口腔機能再構築学講座　歯髄生物学分野
○平野恵子，木村俊介，牧圭一郎，大森智史，山本里沙子，豊田康氣，海老原新，興地隆史

Effect of the amplitude of Up-and-down motion on root canal preparation with Reciproc Blue

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Sciences, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○HIRANO Keiko, KIMURA Shunsuke, MAKI Keiichiro, OMORI Satoshi, YAMAMOTO Risako, TOYODA Koki, EBIHARA Arata, OKIJI Takashi

【目的】根管治療において良好な予後を得るためには，根管の偏位が生じることなく，本来の根管形態を維持することが非常に重要である．ニッケルチタン製ロータリーファイル（NiTi ファイル）は彎曲根管への高い追従性や治療時間の短縮などが期待でき普及が進んでいるが，予期せぬ破折が生じることが問題とされており，その要因として術者による形成操作も大きく関与していると考えられる．形成操作に関するパラメーターとして上下動速度や挿入圧の影響を調べた報告はあるが，上下動振幅の影響に関する知見は乏しい．そこで本研究は，Reciproc Blue（R25, VDW；以下 RB)を用いて，上下動振幅の大きさが根管追従性や形成中に生じる応力に及ぼす影響を解析することを目的とした．
【材料および方法】J 字型透明根管模型（#10/17 mm, Dentsply Sirona）に対し，手用 K ファイル#10, #15 を用い，手動でグライドパス形成を行った．その後，自作型自動根管形成・応力解析装置に X-Smart Plus（Dentsply Sirona）を接続し，RB を用いて，Reciproc ALL モードにて根管形成を行った．上下動振幅の大きさを，上下動時間が 1 秒間根尖側－0.5 秒間歯冠側方向（RB-S 群），2 秒間根尖側－1 秒間歯冠側方向（RB-M 群），4 秒間根尖側－2 秒間歯冠側方向（RB-L 群）の 3 群に設定し（各 n = 10），形成中に生じる垂直荷重，トルクを応力解析装置で測定した．根管模型は，形成前後にデジタルマイクロスコープ（VH8000，キーエンス）にて 20 倍で撮影し，画像解析ソフト（Adobe Photoshop Elements 2021,Adobe）を用いて画像を重ね合わせた後，根尖から 0，0.5，1，2，3 mm の位置で［(外彎切削量－内彎切削量）÷形成後の根管の直径；0 に近いほど偏位が少ない］を求め，Centering ratio とした．垂直荷重およびトルクを一元配置分散分析，Centering ratio を二元配置分散分析にて有意水準 5%で統計解析した．
【結果】全群とも 1 根管でファイル破折が生じたが，レッジ形成は生じなかった．垂直荷重は，根尖側方向の最大値は RB-S ＜ RB-L （$p < 0.05$），歯冠側方向の累積値は RB-S ＜ RB-L，RB-M ＜ RB-L （$p < 0.05$）となった．RB-S と RB-M の間に有意差を認めなかった．トルクは，切削・非切削方向ともに 3 群間で有意差を認めなかった．Centering ratio は，根尖から 0，0.5，1，2 mm の位置では，RB-S は他の群と比較し有意に大きかった（$p < 0.05$）．
【考察】垂直荷重の最大値は，根尖側方向で RB-S ＜ RB-L となり，振幅を大きくすることでファイルを押し込む時間が長くなり，押し込んでいる間の負荷が大きくなったためと考えられる．歯冠側方向の垂直荷重累積値は RB-L 群が他群より有意に大きかったことから，大きい振幅ではファイルが根尖側方向に引き込まれる力の累積が大きくなり，過去の報告[1]と同様の傾向を示した．根管形成中にファイルと歯根象牙質に高い応力が生じていることが示唆される．また，各群でトルクに有意差を認めなかったが，これは Reciproc ALL モードでは定期的にねじり応力が解放されながら根管形成が行われるため，振幅の大きさの影響を受けないためと考えられる．Centering ratio は，根尖から 0，0.5，1，2 mm の位置で RB-S は他の群と比較し有意に大きかった．振幅が小さい場合，ファイルが引き抜かれ応力が解放される単位時間当たりの回数が多くなるため，スプリングバックによる外彎側の切削量が増加し，直線化傾向を呈することが推察された．
【結論】本実験条件の下では，RB の上下動の振幅を大きくすることで，根管形成中に生じる垂直荷重が増加するが，根尖部の偏位は低減できる可能性が示唆された．

1. Ha JH, Kwak SW. Stress generation during pecking motion of rotary nickel-titanium instruments with different pecking depth. J. Endod. 2017;43(10):1688-1691.

バイオアクティブガラスを配合した3Dプリント用光硬化性スラリーの開発と象牙質模倣材料への応用

[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
○森　涼[1,2]，鷲尾絢子[1]，池田　弘[2]，永松有紀[2]，北村知昭[1]

Development of Photocurable Slurry with Bioactive Glass for 3D Printing and Its Application in Dentin-Mimetic Materials

[1]Division of Endodontics and Restorative Dentistry, [2]Division of biomaterials, Department of Oral Functions, Kyushu Dental University
○MORI Ryo[1,2], WASHIO Ayako[1], IKEDA Hiroshi[2], NAGAMATSU Yuki[2], KITAMURA Chiaki[1]

【目的】歯内療法では、非外科的治療で改善しない根尖性歯周炎や歯根嚢胞を有する症例に対し、歯根端切除術が行われることがあるが、歯根端切除術が適応不可能な場合も多く存在する。そこで我々は歯根端切除術の適応拡大を目的として、複雑構造体の造形に長けている3Dプリントを用いて歯根端切除後の切除歯根再建を目指している。バイオアクティブガラス（BG）は優れた生体適合性を有し、歯内治療用材料として実績がある。また、ポリマー含浸セラミックスは、エナメル質や象牙質に近い力学的生体適合性を有することから、生体模倣材料として応用が期待されている。本研究では、BGを配合した3Dプリント用光硬化性スラリーを試作し、それを用いて3Dプリントで造形されたポリマー含浸セラミックス（3D-PICN）の物理科学的性質と力学的性質を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】BG配合3Dプリント用光硬化性スラリーは、BG粒子、アクリル系モノマー、有機溶媒、光重合開始剤、光吸収剤を所定の重量比になるよう自転公転ミキサーを用いて攪拌・混合することで得られた。調製したBG配合3Dプリント用光硬化性スラリーは、LCD液槽型光重合方式のELEGOO MARS PRO3を用いて印刷した。印刷に使用したSTLデータは、1 mm×1 mmの細孔を有する格子状構造体5 mm×5 mm×2 mmと、長方体1.2 mm×4 mm×14 mmとした。3Dプリント造形物は、イソプロパノールにて2分間超音波洗浄し、その後技工用光照射器にて表裏各5分光重合を行うことで二次硬化した。3Dプリント硬化体を電気炉にて850℃で1時間焼成し、3Dプリント多孔質BGを得た。これをシラン処理した後、アクリル系モノマー液に含浸させ、加熱重合を行うことで3D-PICNを得た。

BG配合光硬化性スラリーの粘性はレオメーターで測定、光硬化特性は3Dプリントの露光時間と硬化膜厚の関係性によって評価した。また、スラリーの印刷精度はマイクロスコープ観察による形状測定によって評価した。次に、3D-PICNの表面形態は走査型電子顕微鏡（SEM）で、力学的性質は3点曲げ試験とビッカース硬さ試験にて評価した。

【結果】BG配合光硬化性スラリーの粘性は、約1425 mPa・s（Share rate 10 s^{-1}）であり、この粘度は3Dプリントに適しているとされる3000 mPa・s以下であった。スラリーの硬化膜厚は露光時間の増加とともに増加し、2秒で約100 μm、4秒で約155 μm、8秒で約212 μm、10秒で約263 μmであった。3Dプリント硬化体は、3Dプリント中の脱落や印刷不良がほとんどなく、造形できることがわかった。3D-PICNは焼成によって約10%の線収縮を生じることがわかった。SEMによる微細構造観察から、3D-PICNはBG骨格とレジン骨格からなる共連続構造をもつことが明らかとなった。レジンを含まない3DプリントしたBGの曲げ強さは約84 MPa、弾性係数は約52 GPa、ビッカース硬さは約410であったのに対し、3D-PICNの曲げ強さは約151 MPa、弾性係数は約19 GPa、ビッカース硬さは約79を示した。

【考察】BG配合3Dプリント用光硬化性スラリーは、BG粒子がアクリル系モノマーに均一に分散することで、3Dプリントに適した粘性を示したと考えられる。また、スラリーは、重合反応が速いアクリレート系の多官能モノマーを用いることで、3Dプリントに適した重合硬化性を示したと推測される。3D-PICNは、焼成によって等方的に収縮するため、その収縮を考慮して印刷データをデザインすることで所望の形状の3D-PICNを造形できる可能性がある。さらに、3D-PICNは象牙質と同等の曲げ強さ、弾性率、ビッカース硬さを示し、象牙質の歯根再建材料として求められる力学的性質を有していることが確認された。

【結論】液槽型光重合方式の3Dプリンタで造形可能なBG配合3Dプリント用光硬化性スラリーを開発した。これを印刷して得られるBGベースのポリマー含浸セラミックスは象牙質に近い力学的性質を示した。

到達不可根管に対する高周波通電時の電極位置と時間が根尖性歯周炎の改善におよぼす影響

北海道大学 大学院歯学研究院 口腔健康科学講座 歯周病学教室
○黄　宗楷、佐藤　賢人、竹中　裕喜、菅谷　勉

The Influence of Electrode Positioning and Duration during High-Frequency Current Application on Improvement of Apical Periodontitis in case of Inaccessible Root Canal

Department of Periodontology, Division of Oral Health Science, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University
○Chung-Kai Huang, Takahito Sato, Hiroki Takenaka, Tsutomu Sugaya

【Background and Objective】

The treatment of apical periodontitis generally involves endodontic therapy, which includes the removal of infected dental tissue and filling of the root canal. However, in anatomically complex areas such as apical bifurcations and lateral branches, instruments often cannot reach adequately, making it difficult to completely eliminate bacteria. In these areas, root canal irrigation and medicament application are often insufficient, and apicoectomy or tooth extraction is frequently indicated. On the other hand, high-frequency currents can generate Joule heat due to the contact resistance of the electrodes, and in root canals filled with irrigants, heat can be generated at apical constrictions and lateral branches, allowing the root canal walls to be cauterized and organic matter to be eradicated. Therefore, even in areas where mechanical bacterial removal is difficult, it may be possible to sterilize the root canal and treat apical periodontitis.

【Materials and Methods】

In this study, experimental apical periodontitis was introduced by inducing bacterial infection of the root canals in beagle dogs (Approval number 21-0067). The potential for improvement of apical periodontitis was investigated by applying high-frequency currents without performing mechanical root canal enlargement at the apical region using X-ray images and histpathological examinations. Additionally, this study examined how the electrode position and the duration of current application affected the outcome of the treatment.

【Results】

In groups where high-frequency currents were applied, many cases showed reduction or disappearance of apical bone defects in radiographic images, and histological observations revealed the disappearance of inflammation in the apical periodontal tissues, as well as the elimination of bacteria in the main root canals and apical bifurcations. This demonstrated the effectiveness of high-frequency current application. Furthermore, it was found that when the distance between the file tip and the apical foramen was further, a longer duration of current application was necessary.

【Discussion】

The results suggest that the application of high-frequency currents within the root canal has the potential to improve the success rate of treating apical periodontitis even without mechanical root canal preparation in the apical region. High-frequency currents generate Joule heat in root canals filled with conductive irrigants. Thus, heat generated at apical constrictions and lateral branches allowed the root canal walls to be cauterized and organic matter to be eradicated. Therefore, even in areas where mechanical bacterial removal is difficult, it may be possible to sterilize the root canal and treat apical periodontitis.

【Conclusion】

Application of high-frequency currents within the root canal has the potential to improve the success rate of treating apical periodontitis even without mechanical preparation at the apical region.

象牙芽細胞のアデニル酸クラーゼ活性化は CALHM1 を介した Ca^{2+}流入を誘発する

1）東京歯科大学生理学講座，2）神奈川歯科大学麻酔科学講座歯科麻酔学分野
○木村麻記[1)]，黄地健仁[1)]，倉島竜哉[1)]，黒田英孝[1)2)]，澁川義幸[1)]

Activation of adenylyl cyclase induced Ca^{2+} influx via CALHM1 in human odontoblasts

1）Department of Physiology, Tokyo Dental College,
2）Department of Dental Anesthesiology, Kanagawa Dental University
○KIMURA Maki[1)], OUCHI Takehito[1)], KURASHIMA Ryuya[1)], KURODA Hidetaka[1)3)], SHIBUKAWA Yoshiyuki[1)]

【研究目的】

象牙芽細胞の細胞内 Ca^{2+}シグナルは反応象牙質形成や象牙質痛の発生に重要な役割を果たす。象牙質表面への刺激は象牙芽細胞の機械感受性チャネル活性化による細胞内 Ca^{2+}濃度増加を誘発する。この細胞内 Ca^{2+}濃度増加により pannexin-1 チャネルから ATP が、グルタミン酸透過性陰イオンチャネルからグルタミン酸が放出される。これら伝達物質が近傍の三叉神経節ニューロンの $P2X_3$受容体と代謝型グルタミン酸受容体に作用することで象牙質痛が生じる。一方、増加した細胞内 Ca^{2+}は Ca^{2+}排出系である Na^+-Ca^{2+}交換体と細胞膜 Ca^{2+}-ATPase により石灰化前線に排出されることで反応象牙質が形成される。これまでの我々の研究で、G_sタンパク質共役型受容体である cannabinoid 1 受容体の活性化が transient receptor potential vanilloid subfamily member 1 チャネルを活性化することが示唆された。これは、象牙芽細胞内 Ca^{2+}シグナルが細胞内 cAMP レベルにより調節される可能性を示唆する。しかしながら、詳細な象牙芽細胞内 cAMP シグナル経路、cAMP の細胞機能に対する役割、細胞内 Ca^{2+}シグナルと cAMP シグナルのクロストークは不明である。そこで、本研究はヒト培養象牙芽細胞（HOB 細胞）を用いてアデニル酸シクラーゼの活性化で生じる細胞内 cAMP シグナル、細胞内 Ca^{2+}シグナルとのクロストークを検討した。

【材料および方法】

HOB 細胞に mNeon Green-based cAMP sensor をトランスフェクションし細胞内 cAMP レベル測定を、fura-2 AM を負荷し細胞内遊離 Ca^{2+}濃度（$[Ca^{2+}]_i$）測定を行った。抗 calcium homeostasis modulator 1（CALHM1）抗体を用いて免疫蛍光染色を行った。CALHM1 をノックダウンした細胞は CALHM1 の short hairpin RNA（shRNA）をトランスフェクションすることで得られた。

【結果および考察】

細胞外 Ca^{2+}存在下で、アデニル酸シクラーゼを活性化する forskolin を投与すると細胞内 cAMP レベルが増加した。その増加はアデニル酸シクラーゼ抑制薬により有意に抑制された。細胞外 Ca^{2+}存在下での forskolin の投与は$[Ca^{2+}]_i$を増加したが、細胞外 Ca^{2+}を除去すると$[Ca^{2+}]_i$増加は見られなかった。Forskolin 誘発性$[Ca^{2+}]_i$増加はプロテインキナーゼ A 抑制薬の投与で抑制された。非選択的 Ca^{2+}チャネル阻害薬の Gd^{3+}、2APB、Zn^{2+}の投与は forskolin 誘発性$[Ca^{2+}]_i$増加を抑制した。免疫蛍光染色において、HOB 細胞は抗 CALHM1 抗体に免疫陽性反応を示した。CALHM1 をノックダウンすると HOB 細胞の forskolin 誘発性$[Ca^{2+}]_i$増加はコントロール群と比較して有意に抑制された。これらの結果から、象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼの活性化は細胞内 cAMP レベルを増加すること、プロテインキナーゼ A の活性化を介した細胞外からの Ca^{2+}流入を誘発することが示唆された。加えて、象牙芽細胞に CALHM1 が発現しており、アデニル酸シクラーゼの活性化で生じる Ca^{2+}流入は CALHM1 を介することが示唆された。

【結論】

象牙芽細胞のアデニル酸シクラーゼ活性化による細胞内 cAMP レベル増加は CALHM1 を介した Ca^{2+}流入を誘発することが示唆された。

歯髄創傷治癒を促進する機能ペプチドの抗炎症作用の評価

[1)]大阪大学大学院 歯学研究科 歯科保存学講座
[2)] Department of Oral Science and Translational Research, Nova Southeastern University, College of Dental Medicine
○中谷 公貴[1)]，岡本 基岐[2)]，渡邉 昌克[1)]，松本 紗也子[1)]，森山 輝一[1)]，何 璐彤[1)]，堅田 千裕[1)]，
高橋 雄介[1)]，林 美加子[1)]

Evaluation of anti-inflammatory effects of the functional peptide that promote pulp wound healing.

[1)]Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry
[2)] Department of Oral Science and Translational Research, Nova Southeastern University, College of Dental Medicine
○Nakatani Koki[1)], Okamoto Motoki[2)], Watanabe Masakatsu[1)], Matsumoto Sayako[1)], Moriyama Kiichi[1)], He Lutong[1)]
Katata Chihiro[1)], Takahashi Yusuke[1)], Hayashi Mikako[1)]

【目的】歯科臨床における歯髄保存療法の適応は、健全歯髄、歯髄充血、可逆性歯髄炎に限られており、不可逆性歯髄炎は適応外だとこれまで考えられてきた。この不可逆性歯髄炎に対して歯髄保存療法が実施できれば、根管治療の数を大幅に減少させることが可能となり、歯の寿命延伸にも大きく貢献することになる。われわれは、これまでに歯髄創傷治癒促進作用を持つ Protein S100A8 由来機能ペプチドの同定に成功し、本ペプチドが抗炎症作用をもつ可能性について報告した。そこで本研究では、本ペプチドの抗炎症作用を *in vitro* と *in vivo* にて検討することを目的とした。

【材料と方法】

(1) 歯髄細胞に対して機能ペプチドが与える影響の評価

ヒト歯髄幹細胞 (hDPSCs) (Lonza) に対してリポ多糖 (LPS) (1.0 μg/mL) 刺激をおこなった後、機能ペプチド (100 μg/mL) を作用させ、炎症性サイトカイン (インターロイキン (IL) -6, IL-8, IL-1β) と抗炎症サイトカイン (IL-4, IL-10) の mRNA の発現を定量ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) にて評価した (n=4)。

(2) う蝕由来歯髄炎に機能ペプチドが与える影響の評価

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 日齢の雄性 Sprague-Dawley ラット口腔内に *Streptococcus mutans* MT8148 菌液を接種後、高スクロース含有飼料を不断給餌し、う蝕および継発する歯髄炎を惹起した。マイクロ CT にて、う蝕様透過像が象牙質幅の 1/3 ～ 2/3 まで進行した moderate 群は可逆性歯髄炎、 2/3 を超える severe 群は不可逆性歯髄炎を発症することがこれまでの研究で確認されており、各々に対してう蝕除去後、機能ペプチドを用いた直接覆髄実験をおこなった。可逆性歯髄炎に対しては、ゼラチンスポンジに浸漬した機能ペプチド (100 μg/mL) 含有 PBS にて直接覆髄をおこない、コントロールとして、ゼラチンスポンジに浸漬した S100A8 (1 μg/mL) 含有 PBS、および PBS のみを用いた。不可逆性歯髄炎に対しては、機能ペプチド (100 μg/mL) 含有 PBS と ProRoot MTA (MTA) (Dentsply Sirona) を練和したものを用いて直接覆髄をおこない、コントロールとして精製水と MTA を練和したものを用いた。覆髄 4 週後に被験歯を顎骨ごと回収し、マイクロ CT にて第三象牙質形成量の評価をおこなった (n=7)。 その後、ヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色およびリンパ球などの炎症性細胞マーカーとして抗 CD43 抗体を用いて免疫組織化学染色を行い、炎症状態の評価を実施した。統計学的有意差は One-way ANOVA, Tukey 検定、および Kruskal-Wallis 検定を用いて評価した ($\alpha = 0.05$) 。

【結果・考察】LPS 刺激後の hDPSCs に機能ペプチドを作用させることで、炎症性サイトカインの mRNA 発現量は影響を受けなかったが、抗炎症性サイトカインの mRNA 発現量が有意に増加した ($p<0.05$)。可逆性歯髄炎罹患ラットを対象に機能ペプチドにて直接覆髄することでコントロールと比較して有意に硬組織形成が促進された ($p<0.05$)。また、S100A8、PBS にて覆髄したコントロール試料の H-E 染色では炎症性細胞浸潤を認めたが、機能ペプチドで覆髄をおこなった試料では炎症性細胞浸潤を認めなかった。不可逆性歯髄炎に対して機能ペプチドと MTA を併用して直接覆髄をおこなうと、MTA のみの場合と比較して、硬組織形成に有意差は認めなかったが、H-E 染色、および免疫組織化学染色において減弱した炎症反応が認められた。

以上より、本研究で用いた機能ペプチドは炎症歯髄組織に対して抗炎症性サイトカインの発現を増加させることで、歯髄炎に対する抗炎症作用を発揮し、硬組織形成を促進する可能性が示唆された。

本研究は JSPS 科学研究費補助金 (23K24526, 23K15999) の助成を受けたものである。

Tet off システム搭載の変異型 CDK4、サイクリン D1 発現レトロウイルスベクターを用いた無限分裂ヒト歯髄幹細胞の樹立とその特性評価

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 and Characterization of Immortalized Human Dental Pulp Stem Cells Using a Retroviral Vector Expressing Mutant CDK4 and Cyclin D1 in a Tet-off System

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。歯髄幹細胞研究は、乳歯・智歯から採取した初代細胞を用いることが多いが、ロット間差があり基礎研究には不向きである。また、初代細胞は、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。これまでに我々は、変異型サイクリン依存性キナーゼ４（CDK4^{R24C}：以下、変異型 CDK4)、サイクリン D1（Cyclin D1)、テロメア逆転写酵素(TERT)の 3 種類の遺伝子発現による K4DT 法という無限分裂方法を用いて、無限分裂ヒト歯髄由来幹細胞 hDPSC-K4DT の樹立に成功している。本研究では、ドキシサイクリン(DOX）という低分子化合物によって、変異型 CDK4 及びサイクリン D1 遺伝子発現（K4D）のオン/オフを可逆的に調節できる無限分裂ヒト歯髄幹細胞 Tet-off K4DT hDPSCs（以下、Tet-off K4DT）を新たに作製し、その細胞の特性について、hDPSC-K4DT(以下、K4DT)と比較、検討を行った。

【材料と方法】

1. 薬剤誘導型 K4D 遺伝子発現ウイルスベクターの構築：Tet off システム搭載の変異型 CDK4、サイクリン D1、EGFP、遺伝子を２A ペプチドで融合したトリプル遺伝子発現制御型レトロウイルスオールインワンベクターを構築した。
2. 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。無限分裂に至ったことを連続パッセージにより確認した。
3. Dox 添加による導入遺伝子発現制御の検出：DOX 依存的な変異型 CDK４、サイクリン D、EGFP の発現量の制御を RT-qPCR、ウエスタンブロット、蛍光強度にて検出した。
4. 染色体パターンおよび分化能力の検出：染色体の核型解析を行った。Tet-off K4DT 細胞の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、脂肪細胞、軟骨細胞への分化能をアリザリンレッド S 染色、オイルレッド O 染色、アルシアンブルー染色にてそれぞれ確認した。

【結果】

Tet-off K4DT 細胞は、連続パッセージ(P=28, 217 日間)を行ったところ、継続的な細胞分裂と強い細胞増殖能力を示した。染色体解析の結果、長期の細胞継代（P=18）を行った後でも、Tet-off K4DT 細胞は正常の染色体パターンを示した。また、FACS 解析にて Tet-off K4DT 細胞は、間葉系細胞マーカーである CD90 と CD44 は陽性、造血幹細胞マーカーである CD34 と CD45 は陰性を示し、ヒト歯髄幹細胞の幹細胞表面マーカーは維持されていることを示した。さらに、Tet-off K4DT 細胞は骨芽細胞、脂肪細胞、および軟骨細胞への分化能を有していることが示唆された。また、遺伝子導入した変異型 CDK4 とサイクリン D1 の発現は DOX 添加によって時間依存的に抑制されることが示された。

【考察】

本研究では、ドキシサイクリンによって無限分裂を誘導する遺伝子発現のオン/オフを可逆的に制御できる無限分裂ヒト歯髄幹細胞である Tet-off K4DT 細胞が樹立できたことを示し、染色体解析および分化能解析から Tet-off K4DT 細胞は、ヒト歯髄幹細胞が示す性質を保持した無限分裂細胞であることが示された。

【結論】

歯髄幹細胞を用いた細胞治療の進展に貢献しうる新たな無限分裂ヒト歯髄幹細胞が樹立できた。

【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。

N,N,N-Trimethyl chitosan exhibits antibiofilm activity on *Enterococcus faecalis* biofilm and cytocompatibility on human periodontal ligament fibroblasts

Department of Periodontology and Endodontology,
Tokushima University Graduate School of Oral Sciences, Tokushima, Japan

○ Raras Ajeng Enggardipta, Kanta Sato, Minato Akizuki, Mika Bando, Yuji Inagaki, Hiromichi Yumoto

【Background and Objective】

The irrigation procedure is an essential step in the endodontic treatment yet very challenging due to the complex anatomy of the root canals and the existence of the bacterial biofilms. *Enterococcus faecalis* is considered as primary causal agent in root canal treatment failure because of its biofilm formation ability and various virulence factors. Alternative irrigating materials have been developing to encounter the challenges and to achieve the major goals of endodontic treatment, ultimately to improve endodontic treatment success. Broad antimicrobial activity, effective on biofilm, alter virulence factors, biocompatible with periapical tissue, and do not interfere with cells viability are the ideal properties of irrigating materials. To improve the antibiofilm capacity while maintaining compatibility to surrounding tissues, the highly water soluble chitosan derivative, N,N,N-trimethyl chitosan (TMC), was evaluated in this study.

【Materials and Methods】

E. faecalis bacteria was grown in BHI medium with and without TMC for 24 h. The crystal violet (CV) technique was used to quantify biofilm formation, and the adenosine triphosphate (ATP) assay was performed to evaluate bacteria in the biofilm. The 2-week-old *Enterococcus faecalis* biofilm formed on the hydroxyapatite (HA) pellets surface was immersed for 30 sec in the TMC. Phosphate buffered saline (PBS) and 2.5% sodium hypochlorite (NaOCl) were used as negative control and positive control, respectively. The total *E. faecalis* biofilm biomass was quantified by CV staining and observed under scanning electron microscopy (SEM). The colony forming unit (CFU) counting was performed to assess bacterial viability in the biofilm, and the metabolic activity of *E. faecalis* biofilm were evaluated using ATP assay. To confirm the bacterial viability, the biofilm was observed under fluorescence microscope after staining with LIVE/DEAD Biofilm Viability staining and the taken images were analyzed using Fiji ImageJ software. The human periodontal ligament fibroblasts (HPdLFs) were seeded on a 96-well plate and incubated for 24 h prior to 5-min treatment with TMC. The cytotoxicity and proliferation of TMC on HPdLFs were detected using a Cell Counting Kit-8 assay after TMC treatment and the HPdLFs were cultured for further 24, 48, and 72 h.

【Results】

A significant effect of TMC on *E. faecalis* biofilm formation was observed. On the established *E. faecalis* biofilm, TMC interfered the total biofilm biomass, showed by the lower values compared with negative control ($p<0.05$). The CFU counting revealed that TMC exhibited antibiofilm activity against *E. faecalis* biofilm, which was significantly reduced the bacterial colony numbers. The decreased ATP production in TMC groups indicated the reduction of metabolic activity of *E. faecalis* in the biofilm. The analysis of live/dead cells in the biofilm using fluorescence staining confirmed the significant reduction of *E. faecalis* viability after TMC treatment ($p<0.05$). Cytotoxicity and proliferation assay on the cultured HPdLFs showed that 2.5% NaOCl group had the greatest cytotoxicity effect, while TMC groups possessed weaker cytotoxicity, and the lower concentration of TMC maintained HPdLFs viability until 72 h post TMC stimulation.

【Conclusions】

TMC inhibits *E. faecalis* biofilm formation, reduces *E. faecalis* viability in biofilm, and disrupts established *E. faecalis* biofilm, while maintains the HPdLFs viability. Collectively, this study shows the potential of TMC to be used as an alternative irrigating material due to its effectiveness against *E. faecalis* biofilm and cytocompatibility on HPdLFs.

研究協力者： 徳島大学大学院医歯薬学研究部口腔微生物学分野　住友倫子
徳島大学大学院医歯薬学研究部生体材料工学分野　関根一光，浜田賢一

Evaluation of periapical tissue reaction of the novel endodontic filling material

Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry,
Tohoku University Graduate School of Dentistry

○MOE SANDAR KYAW, YOSHIO YAHATA, MASAHIRO SAITO

Introduction: OdneFill (Odne AG, Switzerland) is a recently introduced innovative light-curing, injectable endodontic obturation material. It is made of hydrogel and has water-like viscosity and ultra-high hydrophilicity, allowing it to flow into complex anatomies such as isthmuses, deltas, and C-shaped canals. The aim of our study is to evaluate the periapical tissue response after root canal obturation using the novel OdneFill material, in comparison with existing materials, using a rat root canal treatment model.

Materials and Methods: All animal experimental procedures were approved by the Institutional Laboratory Animal Care and Use Committee of Tohoku University (No. 2023SHIDO-002). The pulp of mandibular first molars of 10-week-old male rats were removed and working length was established with an electrical apex locator (Triauto ZX II, Morita, Kyoto). We performed 0.5mm intentional over-instrumentation using nickel-titanium rotary files (RaCe EVO, FKG, Switzerland) up to #25 with 0.04 taper to evaluate the periapical tissue reaction. The samples were divided into 4 groups; Group 1 underwent only instrumentation, Group 2 had canals overfilled with OdneFill, Group 3 had canals overfilled with gutta-percha (GP) and AH Plus sealer, and Group 4 had sound teeth as control. Mandibles were dissected after 3, 28, and 90 days, and microcomputed tomographic scanning and 3D reconstruction were conducted to measure lesion volumes. The mandibles were then subjected to histological evaluation, and inflammatory changes were scored as follows: 0 (no inflammation), 1 (mild inflammation), and 2 (substantial inflammation). The data were analyzed with one-way ANOVA and Tukey's HSD ($alpha$ = 0.05).

Results: The periapical lesions were characterized by inflammatory cell infiltrations, including mononuclear cells and neutrophils, and widening of the periodontal ligament (PDL) space. At 3 days, the samples showed acute inflammation; however, there were no significant differences between OdneFill and AH Plus. At 28 days, inflammation significantly improved in the OdneFill group, while the AH Plus group still showed severe inflammatory cell infiltration. At 90 days, the microcomputed tomographic analysis of apical radiolucent volumes and the PDL space between the tested groups showed no significant differences.

Discussion: The acute inflammatory reaction observed at 3 days may be attributed to mechanical stimulation from over-instrumentation of the canals. Moreover, the increased severity of the inflammatory response in the AH Plus group at 28 days is likely due to biocompatibility issues related to toxic components such as epoxy resins and amines, which can irritate periapical tissues. In contrast, the lack of significant difference in bone resorption area between OdneFill and sound teeth at 90 days suggests that overfilled OdneFill material does not interfere with periapical bone healing. This was further confirmed by histological findings at 90 days, which showed that the extruded OdneFill material gradually resorbs and integrates with periapical tissue, while the GP and AH Plus sealer groups hindered periapical bone healing.

Conclusions: The novel OdneFill material is more biocompatible than AH Plus, highlighting its potential as an all-in-one injectable root canal filling material. Moreover, it is easily biodegradable and capable of reducing inflammatory bone resorption, even in cases of extrusion.

エアブローの強さがユニバーサルボンディング材のサーマルサイクル負荷後の象牙質せん断接着強さに与える影響

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科歯科保存学分野
○星加知宏，西谷佳浩

Effect of air blow strength on the dentin shear bond strength of universal adhesive agents after thermal cycle loading.

Department of Restorative Dentistry and Endodontology,
Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○HOSHIKA Tomohiro, NISHITANI Yoshihiro

【研究目的】

コンポジットレジンによる接着修復において，ボンディング層が厚いと審美性や物性に影響を与える可能性がある一方で，薄すぎると機械的強度や接着強さへの影響を及ぼすことが知られている．本研究では１ステップユニバーサルボンディング材において，ボンディング材塗布後のエアブローの強さの違いが接着性および界面構造へ及ぼす影響について検討を行った．我々は第159回日本歯科保存学会学術大会にて初期接着強さについて報告し，本研究ではサーマルサイクル負荷後の影響について検討を行った．

【材料および方法】

エアブローにはポータブル歯科ユニット長田デイジー（オサダ）の3Wayシリンジを用いた．接着システムには，クリアフィル@ユニバーサルボンド Quick ER（クラレノリタケデンタル．以下：UBE）とクリアフィル@ユニバーサルボンド Quick ２（クラレノリタケデンタル．以下：UB2）を用いた．ウシ下顎前歯象牙質面に対して通法通りボンディング材を塗布し，歯面から3Wayシリンジの距離を1cm，3cm，10cmの３段階に分け，エアブローを行った．光照射後，充填用コンポジットレジン：クリアフィル® マジェスティ® ES フロー Low A2（クラレノリタケデンタル．以下：MJ）および支台築造用コンポジットレジン：クリアフィル®DC コア オートミックス® ONE（クラレノリタケデンタル．以下：DC）を築盛し，接着試料体とした．37℃水中24時間保管後，あるいはサーマルサイクル（以下：TC）試験機を用いて5℃および55℃に設定された水中に10,000回および20,000回負荷した後、一部の接着試料体を用いて，せん断接着試験を行った．試料数を各５個とし，得られた結果はそれぞれTwo way ANOVA Tukey’s testを用いて有意水準5%にて統計処理を行った．

【結果】

せん断試験結果を図に示す．各エアブロー条件、TC条件下で２種のボンディング材によるせん断接着強さに統計的な差は認めなかった．TC負荷によりDC・UB2・3cmおよびMJ・UB2・3cm条件で接着強さの低下がみられた．

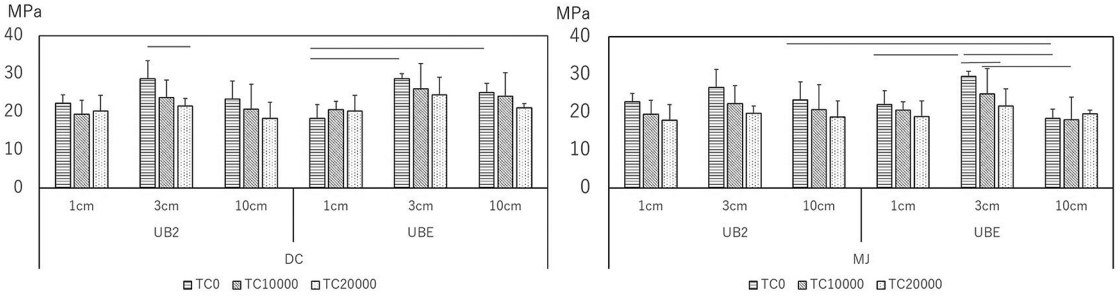


Fig. Shear bond strengths of two adhesive systems for various conditions.
Significant difference (P<0.05)

【考察および結論】

本研究では前研究を踏まえ,２種のボンディング剤を２種類のコンポジットレジンとウシ象牙質に対するせん断接着強さについて，エアブロー条件を変えることでボンディング飛沫厚さを設定し，TC負荷による耐久性について検討した．UB2はUBEと同等の操作でより薄い被膜厚さを示すと共に，初期およびTC負荷後も同程度のせん断接着強さを示したことから，より審美的にも有利な材料となる可能性が示唆された．

本研究ではクラレノリタケデンタル株式会社より材料の提供は受けましたが，COI（利益相反）関係はありません．

コンポジットレジンを用いた直接ならびに CAD/CAM 修復の接着強さを向上させるための象牙質窩壁前処理法

日本歯科大学　生命歯学部　接着歯科学講座
○杉山怜央，柵木寿男

Dentin cavity wall pretreatments to improve the bond strength of direct and CAD/CAM restorations using resin composite

Department of Adhesive Dentistry, School of Life Dentistry at Tokyo, The Nippon Dental University
○SUGIYAMA Reo, MASEKI Toshio

【目的】接着修復において、象牙質窩壁の性状は前処理によって影響を受け、修復内部の接着に異なる挙動を生じさせる要因と考えられる。本研究では、コンポジットレジンを用いた直接ならびに CAD/CAM 修復の接着強さを向上させる象牙質窩壁前処理法を明らかにするために、化学的／機械的な２種の前処理を施した試料における繰り返し荷重負荷後の窩底部象牙質微小引張接着強さ（μ-TBS）を測定し、量的質的な評価を行った。

【材料および方法】実験１：本学部倫理審査委員会の承認（NDU-T2022-31）を得たヒト抜去健全下顎大臼歯 18 本を規格化植立後に、複製窩洞形成器を用いて全試料に規格化 MOD 窩洞を形成した。これらを 0.5M EDTA pH8.0 溶液（武藤化学）による 60 秒間の化学的前処理を行った群（**C**）、グリシンパウダー：Q - Powder G Extra Fine（YOSHIDA）と歯面清掃器具：QUICK JET M（YOSHIDA）を用いて噴射する 60 秒間の機械的前処理を行った群（**M**）および象牙質窩壁非前処理群（**N**；対照）の３群に分けた。その後 Prime&Bond universal（Dentsply Sirona）による歯面処理後に、Neo Spectra ST Flow（Dentsply Sirona）、ceram.X Sphere TEC one（Dentsply Sirona）による３層分割積層法によって修復した。さらに、前処理を施した象牙質面の観察を走査電子顕微鏡、表面粗さ（**Sa**）測定を共焦点レーザー顕微鏡にて行った。
実験２：実験１と同様の方法で、窩洞形成、象牙質窩壁前処理を行った。その後、Neo Spectra ST Flow を併用した Prime&Bond universal による即時象牙質シーリング、CEREC Primescan AC / Primemill（Dentsply Sirona）によるスキャニング、修復物設計、Cerasmart 300（GC）のミリングを経て CAD/CAM レジンインレーを作製した。ついで、Calibra Ceram（Dentsply Sirona）による修復物の装着を行った。実験１と実験２の全修復試料は、37℃水中 24 時間の保管後、繰り返し荷重（157N×30 万回）が負荷された。その後、頬舌的に４回、近遠心的に２回の切断によって、１試料から断面積 1.0 mm^2 のビーム状試料３片を得て、μ-TBS 値（n=18）を測定した。また、測定後の全試料破断面は、光学顕微鏡 200 倍下にて観察した。得られた μ-TBS 値においては、一元配置分散分析、多重比較によって量的評価を、メジアンランク法による Weibull 分析によって質的評価を行った。**Sa** 値に対しては、一元配置分散分析、多重比較を行った。

【成績と考察】実験１：コンポジットレジン直接修復における３種前処理間の平均 **μ-TBS** 値および Weibull パラメーターの違いを Fig. 1 に示す。検定の結果、平均 **μ-TBS** 値は **N＜C≦M** を、平均 **Sa** 値は **M≦N＜C** を示した。したがって **C・M** では、接着強さ獲得に適した象牙質面の改質が成されたと考えられ、主たる要因はスミヤー層除去によることが示唆された。また、前処理法によって象牙質表面性状は異なることが判明した。一方、Weibull 係数（**Wm**）/累積破壊確率 10%推定応力値（**PF10**）は、**N≦C＜M** / **N＜C≦M** を示した。**M** の象牙質表面は **Sa** 値の結果から凹凸が少なく、前述の通りスミヤー層も除去されていることから改質効果が得られ、**M** は最も高い Wm 値を得たと推測される。良好な臨床的予後を得るためには、量的指標である μ-TBS 値と質的指標である **Wm / PF10** の調和が必要と考えられる。したがって本実験においては、象牙質窩壁へのグリシンパウダー噴射による機械的前処理が最も優れていた。
実験２：コンポジットレジン CAD/CAM 修復における３種前処理間の平均 μ-TBS 値および Weibull パラメーターの違いを Fig. 2 に示す。平均 μ-TBS 値は **N＜C≦M** を、**Wm / PF10** は、**C≦N≦M / N＜C≦M** を示した。実験１と比較して、**Wm** 値における有意差を認めなかった。これはレジン系装着材料の混和に伴う非均質性に影響を受け、M の効果が相殺されたからと推測された。また測定後の歯質側破断面は、実験１・２にかかわらず、**C・M** の象牙質/レジン間界面破壊を含む試料数が、**N** と比較して減少していた。

【結論】本実験の象牙質窩壁前処理は、コンポジットレジンを用いた直接ならびに CAD/CAM 修復の接着強さを向上させた。直接修復において、グリシンパウダー噴射による機械的前処理は、最も優れた効果を示した。CAD/CAM 修復において、２種の前処理は同等の効果を有していた。

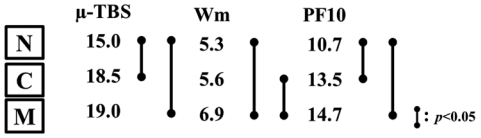


Fig. 1　Differences in mean μ-TBS and Weibull parameters to direct resin composite restorations among the three pretreatments

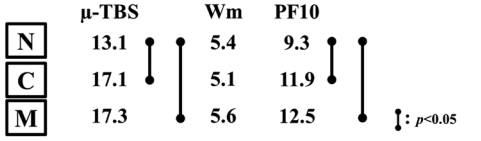


Fig. 2　Differences in mean μ-TBS and Weibull parameters to CAD/CAM resin composite restorations among the three pretreatments

う蝕検知液の使用による過剰切削への対応と残存象牙質の硬さ

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座
○清水明彦

Preventive measures against over-preparation by caries detector dye and hardness of remaining dentin

Department of Dentistry and Oral Surgery, Hyogo College of Medicine
○Akihiko Shimizu

【研究目的】

う蝕象牙質削除の指標として、我が国でう蝕検知液が開発され広く使用されている。一方、う蝕検知液の使用は過剰切削になり、深在性う蝕では露髄を招くなどとして、海外ではう蝕検知液の使用が疑問視されている。

う蝕検知液カリエスチェック（ニシカ）の場合、不染になるまでう蝕を削除すると、残存象牙質のビッカース硬さ HV*) は 32.7(SD:8.2)と報告されている。この硬さは、鋭利なスプーンエキスカベータでう蝕象牙質を削除したときのヌープ硬さ HK*) が 24.1(SD:3.9)であり、またう蝕象牙質の細菌侵入はヌープ硬さで 20 以内の領域であるなどの報告と照らし合わせれば過剰切削と思われる。

本研究の目的は、う蝕検知液による過剰切削への対応と、残存象牙質の硬さを調べることである。

【材料および方法】

咬合面、隣接面、あるいはその両面にまたがるう蝕を有するヒト抜去歯 5 本を用いた（兵庫医科大学倫理審査委員会承認番号 2259)。被験歯のう蝕象牙質中央部縦断面が露出するようにすり減らし、鏡面研磨した。

軟化の明瞭なう蝕象牙質を鋭利なスプーンエキスカベータ(CDR #1 & 2,YDM)で削除した。その後、う蝕検知液「カリエスチェック ブルー」（ニシカ）を塗布し、青く染まる部を削除した。

＜過剰切削への対応＞

カリエスチェックによる染色で、窩壁が全体として淡青色になり、その淡青色がさらに薄くなった段階で（窩壁の一部に青色が残っていても)、染色の評価は終了し、次は、エキスカの刃先に加える力と方向に注意しながら少しずつ象牙質を削除し、刃先に滑るような滑沢感が得られたところで、切削を終了した。

【成　績】

う蝕象牙質の切削が終了後、窩壁象牙質面から 50 μm 深部の象牙質のヌープ硬さを、微小硬度計(MVK-E、明石)を用いて測定した。計 104 ヵ所について測定した結果、平均値は 17.1 (SD:3.8) HK であった。

【考　察】

カリエスチェックの使用は、淡青色がさらに薄くなった段階で中止し、その後は刃先の鋭利なエキスカによる触診と慎重な切削を繰り返した結果、残存象牙質の平均ヌープ硬さは 17.1 であった。このように、う蝕象牙質削除の終盤まではカリエスチェックの染色性を利用し、その後はエキスカの刃先から得られる情報を活用しながら切削すれば、過剰切削にはならないことが示された。

次いでう蝕検知液のもう一つの課題、露髄について考察する。歯髄近傍の象牙質は、細管が太く(3~4 μmφ)、中層に比べ硬さも 1/2 あるいはそれ以下と軟らかいため、カリエスチェックで青く染まる。特に深在性う蝕では、青く染まった健全象牙質を、う蝕象牙質と誤認し露髄させてしまう可能性がある。この医原性露髄は、窩壁と歯髄(つまり髄角部歯髄)間の電気抵抗を測定すれば回避できるであろう（「電気抵抗値＞15 kΩ **)」であれば、窩壁－歯髄間に健全象牙質が存在する目安となる)。

【結　論】

う蝕検知液の使用は、窩壁歯質の淡青色が薄くなったところで中止し、その後は鋭利なエキスカで慎重に切削し、被切削象牙質面に滑沢感が認められたところで切削を終了すれば、残存象牙質のヌープ硬さは 17.1(SD：3.8)であり、過剰切削にはならないことが示された。

＊）象牙質の硬さ領域において、「ビッカース硬さ HV」と「ヌープ硬さ HK」はほぼ同じ値である（相関係数：0.998)。

＊＊）エンドドンティックメーター（コマツ）で 40 μA 未満なら、「電気抵抗値＞15 kΩ」である。

高繰り返し・パルス幅可変式 Er:YAG レーザー照射象牙質に対するコンポジットレジン修復の接着性について

大阪歯科大学　歯科保存学講座
○保尾謙三，岸田宏樹，諸頭秀俊，三浦樹，中嶋國博，上嶋実保，岩田有弘，山本一世

Study on adhesion of resin composite restorations to dentin irradiated by high repetition rate and variable pulse width Er:YAG laser

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University
○YASUO Kenzo, IWATA Naohiro, KISHIDA Hiroki, MOROTO Hidetoshi, MIURA Tatsuki, Nakashima Kunihiro, UESHIMA Miho, YAMAMOTO Kazuyo

【目的】

歯の硬組織の削除が可能な Er:YAG レーザー（以下レーザー）は広く臨床応用されている．我々は、第 159 回日本歯科保存学会で、ピークパワーが高くパルス幅が短い Hard mode，ピークパワーが低くパルス幅が長い Soft mode で照射可能かつ，繰返し速度も増加したパルス幅可変式レーザーにより，従来に比べてより歯質それぞれの性質に合わせた削除が可能なことを報告した．今回，高繰り返し・パルス幅可変式レーザーを用いたレーザー照射象牙質面に対するコンポジットレジン修復の接着性について検討を行ったので報告する．

【材料と方法】

高繰り返しパルス幅可変式レーザー照射装置として Adverl SH（モリタ製作所）を使用した．照射チップには CS600F を使用し，注水下で照射を行った．接着システムに 1 ステップセルフエッチングシステムとしてクリアフィル ユニバーサルボンド Quick ER（クラレノリタケデンタル，以下 ER）と光硬化型コンポジットレジンにクリアフィル AP-X（クラレノリタケデンタル，A3）を使用した．

被験歯として牛歯を用いレジン包埋後，モデルトリマーと耐水研磨紙にて＃600 まで研磨し，象牙質平坦面試料を作製した．レーザー照射はムービングステージを用いて照射範囲 4×4 mm に行った．照射条件を soft mode 50mJ 40pps（S50-40 群）・100mJ 30pps（S100-30 群），hard mode 50mJ 40pps（H50-40 群）・100mJ 30pps（H100-30 群）とし，レーザー非照射試料を control 群とした．接着面積を直径 3mm に規定したのち，接着システムを用いて業者指定の通りに接着操作を行い，コンポジットレジンを充填し光照射を行った．硬化後 37℃水中に 24 時間保管し，万能試験機（IM-20, Intesco）を用いて CHS=0.3mm/min にて引張接着強さを測定した．統計処理は，一元配置分散分析および Tukey の検定を行った（$p<0.05$）．本実験は，大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得て行われた（承認番号 23-06005）．

【結果と考察】

control 群の接着強さと比較して，H50-40 群は有意な低下が認められた．S50-40 群と H50-40 群の接着強さに有意差は認められなかった．また，control 群の接着強さと比較して，H100-30 群は有意な低下が認められた．S100-30 群と H100-30 群の接着強さに有意差は認められなかった．これは，照射出力が同じであれば、ピークパワーが低い Soft mode の方がレーザー照射象牙質に与える熱影響が低い可能性があるためと考えられる．

【結論】

高繰り返し・パルス幅可変式 Er:YAG レーザーを用いたレーザー照射象牙質に対するコンポジットレジンの接着性について，ピークパワーが低くパルス幅が長い Soft mode による照射が有効であることが示唆された．

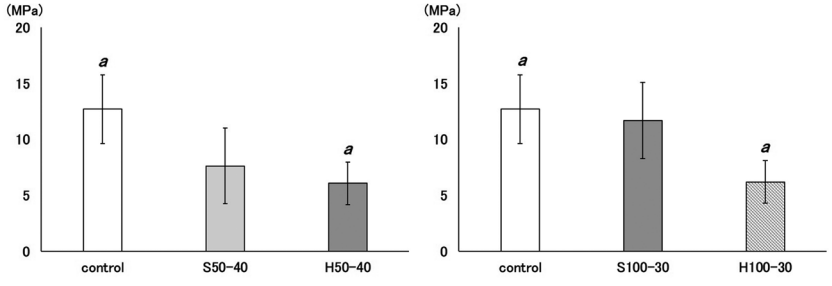


Fig.1 Tensile bond strengths of each laser irradiation conditions
(Same letters indicate significant difference, $p<0.05$)

フッ化ジアンミン銀の銀化合物析出およびレジン象牙質接着に及ぼす影響

[1]東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 う蝕制御学分野
[2]東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 先端材料評価学分野
[3]朝日大学歯学部 口腔機能修復学講座 歯科保存学分野 歯冠修復学
○藤森 亮平[1], 高橋 基[1], 平石 典子[1], 宇尾 基弘[2], 二階堂 徹[3], 島田 康史[1]

Effect of silver diammine fluoride on precipitated silver compounds and resin-dentin bond properties

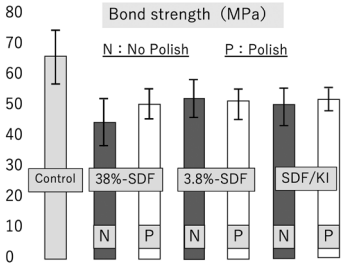
[1] Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
[2] Department of Advanced Biomaterials, Tokyo Medical and Dental University
[3] Department of Operative Dentistry, Asahi University
○ Ryohei Fujimori[1], Motoi Takahashi[1] Noriko Hiraishi[1], Motohiro Uo[2], Toru Nikaido[3], Yasushi Shimada[1]

【緒言】我が国は超高齢社会を迎え、歯肉退縮に伴う根面う蝕の罹患率が増加している。38%フッ化ジアミン銀（サホライド：SDF）溶液は、高濃度フッ化物と銀イオンを含有するう蝕予防・進行抑制剤である。SDF 塗布によるバイオフィルム形成抑制効果、再石灰化が報告されている一方で、コンポジットレジンの接着強さ低下が指摘されている。本研究では、SDF 系材料塗布後の修復治療を想定して、塗布歯面表層と 0.1mm 直下層における、銀イオンの析出量を誘導結合プラズマ発光分光分析法(Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy：ICP-AES)を用いて測定し、X 線吸収微細構造解析(X-ray Absorption Fine Structure：XAFS)を用いて析出された銀化合物種の同定を行った。さらに、塗布歯面表層と 0.1mm 直下象牙質における、微小引張り接着試験と、接着面のビッカース硬度を評価した。

【材料及び方法試料】歯根部歯周組織を除去したウシ切歯歯根から約 5.0×5.0mm の象牙質試験片を作製し、＃600 の耐水研磨紙にて平坦面を露出後、ダイヤモンドペースト 0.25μm まで研磨を行った。試料はサホライド液歯科用 38%（38%SDF、BeeBrand Medico Dental, Japan）、サホライド・RC 液歯科用 3.8%（3.8%SDF、BeeBrand Medico Dental, Japan）、 RivaStar (SDI, Australia)を塗布したものを作製した。38%SDF、3.8%SDF はそれぞれマイクロブラシにて 10 秒間塗布、塗布開始から 3 分後に 10 秒間水洗、10 秒間乾燥した。また RivaStar も同様に試料に 38%SDF 溶液を 10 秒間塗布した直後にヨウ化カリウム溶液を溶液の乳白色が透明になるまで塗布し、1 液目塗布開始から 3 分後に 10 秒間水洗、10 秒間乾燥した。これら SDF 系材料 3 種の処理群に対し、研磨なしの群（表層群）と表層下 0.1mm まで＃600 の耐水研磨紙にて研磨した群（研磨群）の計 6 群を作製した。表層と、表層下 0.1mm の象牙質に対し、ICP-AES を用いて銀濃度の測定、また XAFS を用いて析出された銀化合物の同定を行った。接着強さの評価には、表層群と研磨群に対し、クリアフィルメガボンド 2（クラレノリタケデンタル）にて歯面処理を行ない、クリアフィル AP-X（クラレノリタケデンタル、シェード A3）を充填した試料に対して、微小引張り接着強さ(μTBS)を測定した。表層群と研磨群の接着面に対し、ビッカース硬さ試験を行なった。全てのデータに対して各群の正規性と等分散性を確認し、一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合は多重比較検定（Bonferroni 法）を行なった。等分散性が認められない場合には Welch の分散分析を行い、有意差が認められた場合は多重比較検定（Games-Howell 法）を行なった。有意水準は 5%に設定した。

【結果及び考察】銀濃度は、表層群と研磨群ともに 38%SDF、RivaStar 、3.8%SDF の順に少ない傾向にあり、それぞれ研磨群は表層群より銀濃度は低下し、特に 38%SDF 群では、有意的に減少した。XAFS 分析から、RivaStar 群のスペクトルから AgI が生成されていることがわかり、SDF 群のスペクトルからは、組成状態の同定は困難であったが、銀複合体と思われる生成物が確認された。μTBS（図）は、38%SDF の表層群が他の群と比較して有意に低くなったが、研磨群では向上し、非塗布群と有意差がなかった。硬さ試験では、38%SDF 塗布群と RivaStar 塗布群が研磨群と表層群ともに非塗布群と比較して有意に硬さが向上した。

【結論】38%SDF の塗布後の歯面には 3.8%SDF、RivaStar と比較して銀化合物の析出・沈殿物が多く、レジン象牙質接着強度が低下する原因と考えられた。一方、表層 0.1mm を研磨で削合した場合、析出・沈殿の影響が少なく、レジン象牙質接着強度への影響が軽減することが示唆された。



NACP 溶液とフッ素含有接着剤の併用による脱灰象牙質への接着力と耐酸性の評価

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科　口腔機能再構築講座う蝕制御学分野
○ハン リン、井上 剛、陳 雪霏、島田 康史

Evaluation of Bond Strength and Acid-Base Resistant Zones in Demineralized Dentin Using NACP Solution Combined with Fluoride-Contained Adhesive

Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
○LIN FAN, Go Inoue, Xuefei Chen, Yasushi Shimada

緒言

近年、生物活性材料の再石灰化療法への応用に伴い、再石灰化性能を持つ歯科用接着剤が注目されている。フッ素含有接着剤により、象牙質への接着耐久性や耐酸性の向上、さらに、カルシウム含有プライマーと併用することで耐酸性の指標である Acid-Base Resistant Zone(ABRZ)が強化され、二次う蝕の予防に役立つことが報告されている。しかし、脱灰象牙質における接着強さや耐酸性に対する影響に関する研究はこれまでない。そこで本研究では、Nano-sized Amorphas Calcium Phosphate (NACP)溶液とフッ素含有接着剤を用いて、脱灰象牙質における微小引張り強さと ABRZ の形態を評価した。

方法

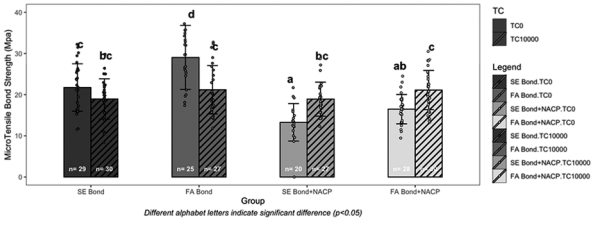
ウシ前歯歯冠（8 本）の唇側エナメル質を除去し、象牙質表面を＃600 耐水研磨紙で研削した。脱灰象牙質を作製するため 50ml の人工脱灰液（50mM acetic acid, 2.2mM $CaCl_2$, 2.2mM NaH_2PO_4, 10%NaOH, pH4.5）に 37℃、1000rpm の条件下で 5 日間浸漬後、象牙質表面を超音波洗浄した。NACP 溶液は MEK（Methyl Ethyl Ketone）に NACP を５重量%溶かした後、超音波で５分間処理し作製した。溶液は実験群として、プライマー＋フッ素非含有ボンド（SE Bond)、プライマー＋フッ素含有ボンド（FA Bond)、プライマー＋NACP 溶液＋フッ素非含有ボンド（NACP＋SE Bond)、プライマリー＋NACP 溶液＋フッ素含有ボンド（NACP+FA Bond）とした。被着面にプライマー塗布後、NACP 溶液は 20 秒間塗布 10 秒間乾燥、その後ボンドを業者指示通りに使用し、被着面の上に Clearfil AP-X を築盛、光重合後、37℃、12 時間水中保管群（TC0）と、サーマルサイクリング 10000 回群（TC10000）に分け、微小引張り試験の試料とした。得られたデータは Kruskal-Wallis 及び、Dunn's test を用い統計処理を行った（p=0.05)。ABRZ 観察においては、健全歯質および脱灰歯質に対し、各群、通法通りの処理を行い、接着界面の SEM 観察を行なった。

結果

微小引張り試験より、フッ素含有ボンド群（FA Bond）の接着強さは他群より有意に高く、NACP 溶液を併用すると接着強さは未使用群より有意に低下した。TC10000 群では、全ての群間で有意差がなかった。FA Bond 群は、TC10000 群の接着強さは同群 12 時間の結果より有意に低下し、NACP 溶液を併用した群は、サーマルサイクリング後に有意に高くなった。ABRZ 観察ではすべての群で ABRZ が観察された。健全歯質において、フッ素含有ボンド群の ABRZ 底部の肥厚が観察されたが、NACP 溶液の影響はなかった。一方、脱灰象牙質では、樹脂含浸層が健全歯質より厚くなり、FA Bond 群および NACP 溶液塗布群では ABRZ も肥厚して観察された。しかし、FA Bond 群では、ABRZ と樹脂含浸層の間クラックが観察され、NACP＋FA Bond 群では、クラックはなかった。

結論

脱灰象牙質に対して、フッ素含有接着剤は初期接着強さが高くなったが、熱負荷により低下することが分かった。NACP 溶液塗布により初期接着強さは低下するが、熱負荷により回復することが分かった。ABRZ の形態観察では NACP 溶液塗布とフッ素含有ボンドの影響により ABRZ が肥厚し再石灰化も起きる可能性が示唆された。



L-ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体メンブレンが抜歯後の上皮の治癒と歯槽骨保全に与える影響

[1]東北大学大学院歯学研究科エコロジー歯学講座歯科保存学分野
[2]神奈川歯科大学分子生物学講座口腔生化学分野
○高林正行[1]，Moe Sandar Kyaw[1]，八幡祥生[1]，半田慶介[2]，齋藤正寛[1]

Effect of L-lactide-ε-caprolactone copolymer membrane on epithelial healing and alveolar bone preservation after tooth extraction

[1]Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry, Graduate School of Dentistry, Tohoku University
[2]Department of Oral Biochemistry, Kanagawa Dental University
○Masayuki Takabayashi[1], Moe Sandar Kyaw[1], Yoshio Yahata[1], Keisuke Handa[2], Masahiro Saito[1]

【背景と目的】

抜歯後の歯周組織の保全は，インプラント治療の予知性を高めるために重要である．特に抜歯後の菲薄な歯槽窩周囲の骨組織は吸収しやすく，その保全のために人工骨とメンブレン(以下，膜)を用いたソケットプリザベーションが行われている．近年では，膜に創閉鎖の機能を持たせ，抜歯窩から膜を露出させるオープンヒーリングアプローチ(以下，OHA)という方法が提案されている．OHA に際しては，抜歯窩が上皮により閉鎖され，抜歯窩や人工骨への感染を排除する為，4 週間程度，膜の機能が維持される必要がある．近年開発された，L-ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体からなるサイトランスエラシールド(以下 Ela，ジーシー，東京)は従来の吸収性膜より吸収期間が長く，創閉鎖機能の向上から，OHA への有用性が期待される．本研究は吸収性膜である Ela，異種コラーゲン膜(バイオガイド，以下 Bio，Geistlich Pharma，Switzerland)，および非吸収性膜である d-PTFE 膜(サイトプラスト，以下 Cyt，Osteogenics Biomedical,USA)を使用し，OHA を行った際の上皮の治癒，歯槽骨保全に与える影響を明らかにすることを目的とした．

【材料および方法】

動物実験はヘルシンキ宣言に基づき，倫理的原則を遵守して実施した(承認番号 21-H082)．雌のビーグル犬 8 頭に対し下顎 P4 および上顎 P3 の抜歯後骨窩洞形成し，炭酸アパタイト製人工骨(サイトランスグラニュール S，以下 Gra，ジーシー)を補填した後，Ela，Bio または Cyt のいずれかの膜を使用した OHA を実施した(以下 Ela+Gra，Bio+Gra，および Cyt+Gra)．また，膜を使用せず人工骨補填のみを行った群(以下 Gra)と，人工骨補填と膜の設置を行わない群(以下 sham)をコントロールに設定した．膜の設置 2 週，6 週後に顎骨を摘出し，マイクロ CT による画像解析と HE 染色による組織解析を行った．マイクロ CT2 次元構築画像から歯槽骨高さの減少量の定量評価を行い，統計解析として Tukey 法による多重比較を実施した(有意水準 5%)．

【結果】

吸収性膜の Ela と Bio は肉眼的にすべての個体において 2 週でほぼ消失，6 週で消失していた．一方，非吸収性膜の Cyt は 6 週後でも脱落せず口腔内に露出していた．マイクロ CT の定量評価の結果，Ela+Gra は最も低い吸収量を示し，Ela+Gra は sham と Cyt+Gra と比較し，歯槽骨高さの減少量が有意に低い値だったことから，抜歯窩形態の維持に有用だった．一方，Ela+Gra，Bio+Gra および Gra 間には有意な差を認めなかった．組織所見から，Ela+Gra では，抜歯後 2 週の時点で抜歯窩上皮基底膜の連続性が確認され，良好な治癒傾向を示した．また，6 週時点では Ela+Gra，Bio+Gra，Gra，および sham において，上皮基底膜の連続性および，上皮の角化を認めた．Ela は，歯槽骨周囲に膜の一部が残遺されている像が見られたが，Bio では，膜はすべて吸収されていた．Gra は抜歯窩から人工骨の溢出を認め，その周囲に骨様組織の形成は認めなかった．また，Cyt+Gra においては，膜上および抜歯窩表層にバイオフィルムが沈着し，上皮の治癒は認められなかった．

【考察および結論】

非吸収性膜の Ela および Bio は，OHA に使用した際の抜歯窩保存に有用であることが示された．Ela と Bio を比較した際に，Ela は組織所見から膜が完全に分解しておらず，Bio より吸収が遅いことが明らかになった．6 週時点で組織内での分解が途上にある Ela は，4 週程度必要とする OHA の膜機能を十分備えていることが示唆された．一方，本実験条件下において Cyt は，バイオフィルムの沈着により治癒が阻害されていた．OHA において膜を除去するタイミングは，治療の成否に重要なファクターとなる．OHA によるソケットプリザベーションを行う際に吸収性膜，特に L-ラクチド-ε-カプロラクトン共重合体吸収性膜を使用することは，上皮の治癒，歯槽骨保全に対して有効となる．

免疫調節による新規歯周炎制御法の開発に向けた非抗菌性マクロライドの探索

[1]新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座う蝕学分野
[2]新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康口腔健康科学講座微生物感染症学分野
○齋藤瑠郁[1,2]，土門久哲[2]，竹中彰治[1]，野杁由一郎[1]

Analysis of immunomodulatory effects by non-antimicrobial macrolides towards the development of a novel method for controlling periodontitis.

1 Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
2 Division of Microbiology and Infectious Diseases, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
○Rui SAITO[1,2], Hisanori DOMON[2], Shoji TAKENAKA[1], Yuichiro NOIRI[1]

【目的】細菌感染性炎症性疾患である歯周炎では，歯周病原性細菌に対する過剰かつ持続的な免疫応答によって炎症性メディエーターが歯周組織局所に放出され，組織破壊が進行する．さらに，炎症性メディエーターが歯周組織から全身に拡散して遠隔臓器にも慢性炎症を誘発し，心血管系疾患や糖尿病などの非感染性疾患の発症や進行のリスクを高めることが示されている．したがって，歯周炎治療において宿主免疫応答を標的とすることは全身疾患との関連の観点からも有用と考えられる．本研究では，宿主免疫の過度な変調を防ぎ至適レベルに調節する「免疫調節作用」に着目した．同作用を有する薬剤としてマクロライド系薬が報告されており，非感染性炎症性疾患に対して臨床応用されている．しかし，既存のマクロライド系薬の使用には，薬剤耐性菌出現および増加のリスクが伴う．そこで，本研究では，北里大学大村記念研究所が保有するエリスロマイシン誘導体（EM 誘導体）ライブラリの中から，抗菌作用が無く免疫調節作用のみを持つ誘導体をスクリーニングし，その作用解析を行った．

【方法および結果】スクリーニングには 37 種類の EM 誘導体を用いた．EM 感受性黄色ブドウ球菌に各誘導体を添加して 24 時間培養後の濁度を測定したところ，25 種の誘導体は黄色ブドウ球菌に対する抗菌活性を示さなかった．続いて，サイトカイン産生抑制作用の有無を指標として，免疫調節作用を示す非抗菌性誘導体をスクリーニングした．ヒト単球系細胞株 THP-1 由来マクロファージ様細胞（THP-1 細胞）に各誘導体および大腸菌リポ多糖（LPS）を添加して培養し，培養上清中の TNF-α 濃度を ELISA で検索した．その結果，LPS のみを添加した群と比較して，誘導体 EM982 と LPS を添加した群で TNF-α濃度が有意に低かった．そこで，非抗菌性かつ免疫調節作用を示した EM982 を解析対象として実験を行った．炎症性サイトカイン IL-6，ケモカイン IL-8 ならびに抗炎症性サイトカイン IL-10 の濃度を ELISA で解析したところ，EM982 添加群ではこれらのサイトカイン濃度が低かった．そこで，サイトカイン産生抑制メカニズムの解析のため，各サイトカインの発現に共通する細胞内シグナル伝達経路に着目した．Toll-like receptor 4（TLR4）を強制発現し，分泌型アルカリフォスファターゼ（SEAP）遺伝子を導入した HEK293 細胞に LPS と EM982 を添加して培養し，転写因子 NF-κB または AP-1 の活性化に伴って分泌される SEAP の活性を測定した．その結果，LPS のみ添加した群と比較して，EM982 添加群では SEAP 活性が有意に低かった．したがって，EM982 は NF-κB あるいは AP-1 の活性化を抑制することを示唆した．NF-κB 上流に位置するシグナル伝達分子に対する EM982 の影響を real-time PCR およびウェスタンブロッティングにて解析した．その結果，EM982 はシグナル伝達分子の転写には影響を与えず，IKKβおよび IκBα のリン酸化を抑制した．

【考察】非抗菌性のエリスロマイシン誘導体 EM982 は，TLR4 シグナル伝達分子 IKKβおよび IκBα のリン酸化を阻害し，NF-κB の活性化を抑制することで，炎症性および抗炎症性サイトカイン産生を抑制することを示唆した．NF-κB が関与する細胞応答の多様さを考慮すると，EM982 はその他のさまざまな宿主免疫応答を制御できる可能性がある．また，EM982 は抗菌作用を欠くため，薬剤耐性菌を生じさせる懸念なく免疫調節薬として応用できる可能性が示された．

NASH-HCC モデルマウスにおける実験的歯周炎は肝細胞癌の病態進行に関与する

愛知学院大学歯学部歯周病学講座
○大野祐、菊池毅、鈴木祐希、後藤亮真、竹内大喜、林潤一郎、西田英作、
山本弦太、近藤駿、小野皓大、三谷章雄

Experimental periodontitis in NASH-HCC model mice is involved in the pathological progression of hepatocellular carcinoma.

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, Nagoya, Japan
○Tasuku Ohno, Takeshi Kikuchi, Yuki Suzuki, Ryoma Goto, Daiki Takeuchi, Jun-ichiro Hayashi, Eisaku Nishida, Genta Yamamoto, Shun Kondo, Kouta Ono, Akio Mitani

【目的】

日本での死因第一位は悪性新生物である。これまでに歯周病と種々のがんの関連性について疫学的報告はあるが、特に肝細胞癌と歯周炎との関連性について詳細なメカニズムの報告はない。今回は非アルコール性脂肪肝炎-肝細胞癌（NASH-HCC）モデルである STAM マウスに実験的歯周炎を惹起させ、歯周炎が肝細胞癌の病態進行に及ぼす影響を検討した。

【方法】

12 週齢の STAM マウスに対して、上顎両側第二臼歯部に絹糸(5-0)を結紮し、実験的歯周炎を惹起させた。実験的歯周炎の形態学的解析はμ-CT を用いて評価した。結紮後 4 週間で、血液の回収と肝臓における結節の数等を評価した。その後屠殺し、上顎骨と肝臓を回収、パラフィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色と免疫染色による病理学的解析を行った。また肝臓に関しては、ホモジナイズ後、RNA を抽出し、quantitative PCR(qPCR)法を用い、遺伝子発現解析を行った。採取した血液は遠心分離を行い、血清成分中のアンジオポエチン様タンパク質 2（ANGPTL2)のタンパク質産生量を ELISA 法にて確認した。

【結果】

STAM マウスに実験的歯周炎を惹起させることで、高度の歯槽骨吸収を認めた。また、HE 染色において歯周組織における炎症性細胞浸潤の増強を認め、免疫染色により ANGPTL2 陽性細胞の増加を認めた。

歯周炎群の肝臓組織において、直径 2㎜以上の結節の数と結節の最大径で有意な増加を認めた。また HE 染色により、コントロール群と比較し、実験的歯周病群において肝臓組織の線維化と脂肪化が進行していた。肝臓組織の遺伝子発現において、炎症性サイトカインと MMPs の遺伝子発現の増強を認め、TNF-αと MMP-9 において有意な発現増強を認めた。また、アディポカインである ANGPTLs において、ANGPTL2 と ANGPTL4 で有意な遺伝子発現の増強を認めた。次に血清成分を解析したところ、コントロール群と比較し、実験的歯周炎群において ANGPL2 の有意なタンパク質産生の増加を認めた。

【考察】

STAM マウスに実験的歯周炎を惹起させることにより、肝臓組織における結節の大きさが増悪していた。また歯周組織と肝臓組織において炎症性サイトカインと ANGPTL2 の発現増強を認めた。ANGPTL2 は TGF-βシグナル、Rac シグナル、MMPs の活性化により、種々の癌の遊走や浸潤を促進し、疾患の進行に関与しているとの報告がある。これまでに発表者は、慢性歯周炎患者の歯肉溝滲出液中の ANGPTL2 濃度が、健常者と比較して有意に増加していること、また ANGPTL2 が歯周炎における炎症反応を制御している可能性を報告した。本実験結果より、歯周組織における慢性炎症と ANGPTL2 が血流を介して、肝臓局所に対する炎症を増悪させ、肝細胞癌の病態を進行させる可能性があることを見出した。

【結論】

NASH-HCC モデルマウスにおいて、実験的歯周炎と ANGPTL2 は肝細胞癌の病態進行に関与する可能性が示唆された。

会員外共同研究者　野本周嗣（愛知学院大学歯学部外科学講座）

高血糖による歯肉におけるヒストン修飾の検討

[1]愛知学院大学歯学部歯周病学講座
○小島　健人[1]、林　愛理[1]、藤塚　公崇[1]、鈴木　結子[1]、川村　翔太郎[1]、近藤　駿[1]、澤田　憲孝[1]、後藤　亮真[1]
後藤　久嗣[1]、菊池　毅[1]林　潤一郎[1]、三谷　章雄[1]

Histone modifications in the gingiva due to hyperglicemia

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University, Nagoya, Japan

○Kojima Kento[1], Airi Hayashi[1], Hirotaka Fujituka[1], Yuiko Suzuki[1], Shoutaro Kwamura[1], Kondo Shun[1], Noritaka Sawada[1], Hisashi Goto[1] Takeshi Kikuchi[1], Junichiro Hayashi[1], Akio Mitani[1]

【目的】糖尿病患者は歯周病になりやすく、かつ重症化しやすいが、その原因は未だ不明な点が多い。近年、糖尿病合併症において見受けられるメタボリックメモリーという現象にエピゲノムが関与するとされる報告が見受けられ、糖尿病における歯周病の重症化の一因と示唆されている。本研究では、ヒストンメチル化に着目し、Stereptozotocin(STZ)誘導性糖尿病ラットの歯肉におけるヒストン修飾の確認とヒト歯肉線維芽細胞(hGF)における高グルコースによるヒストンおよび遺伝子発現への影響とヒストンメチルトランスフェラーゼ（HMT）阻害剤の効果について検討することを目的とした。

【方法】1) 6 週齢の雄の Sprague-Dawley ラット（SD ラット）に、糖尿病を誘発するために、STZ を腹腔内投与した。ＳＴＺ投与 4 週間後の歯周組織を採取し、臼歯部上顎骨を micro CT で撮影後、歯槽骨頂部からセメント-エナメル境までの距離を測定し、糖尿病の歯槽骨へ与える影響について評価した。また、ヒストンメチル化タンパク及び HMT の免疫蛍光染色を行い、非糖尿病群と比較検討を行った。 (2)高グルコース含有 DMEM（27.5mM）にて 7 日間培養した hGF のヒストン蛋白及び HMT について免疫蛍光染色を行い、正常グルコース群（5.5mM）と比較検討を行った。さらに高グルコース下で培養した hGF に対して、HMT 阻害剤である Shinefungin（2μM）を投与し、ヒストンメチル化タンパク及び HMT の発現を比較した。加えて、hGF における炎症性サイトカイン、MMPs および TIMPs の遺伝子発現を real-time PCR 法にて解析した。

【結果】(1) ラット歯肉組織において、高血糖群では通常血糖群と比較し、ヒストンタンパク及び HMT の蛍光強度の増大を認めた。また、歯槽骨吸収については有意な変化は認めなかった。(2) hGF において、高グルコース群では正常グルコース群と比較し、ヒストン蛋白及び HMT の蛍光強度の増大を認めた。さらに Shinefungin の投与により、高グルコース群で増大した蛍光強度の減弱を認めた。また、高グルコース群では正常グルコース群と比較し、炎症性サイトカイン及び MMPs の有意な遺伝子発現の増加を認めた。さらに Shinefungin の投与により、高血糖により増加した遺伝子発現の抑制傾向を認めた。

【考察】糖尿病は、歯肉組織におけるヒストン修飾を引き起こすことが示唆された。高グルコース条件下の hGF における炎症性遺伝子発現の変化にヒストン修飾が関与する可能性が示唆された。

デンタルバイオフィルム - 宿主間の相互作用の解明

新潟大学大学院医歯学総合研究科　口腔生命科学専攻　口腔健康科学講座　う蝕学分野
○外園 真規、髙橋 竜平、井田 貴子、永田 量子、Niraya Kornsombut、齋藤 瑠郁、 Jutharat Manuschai、佐藤大地、竹中 彰治、野杁 由一郎

Interaction between dental biofilm and host gingival model

Division of Cariology Operative Dentistry and Endodontics, Faculty of Dentistry & Graduate Scholl of Medical Sciences, Niigata University
○Maki Sotozono, Ryouhei Takahashi, Takako Ida, Ryoko Nagata, Niraya Kornsombut, Rui Saito, Jutharat Manuschai, Daich Sato, Shoji Takenaka, Yuichiro Noiri

【背景および目的】

口腔に生息する微生物が歯面に形成するデンタルバイオフィルム(Dental Biofilm： DB)は口腔感染症であるう蝕や歯周病の主因である。しかし、その一方で DB が宿主歯肉の恒常性や機能の維持に寄与しているとも考えられている。DB と宿主の共生関係解明のために、バイオフィルムと歯肉モデルを共培養する実験系が頻繁に用いられている。しかし、これらの報告では歯肉モデル側の変化が検討されているのみで、バイオフィルム側の検討は行われていない。そこで、本研究ではヒト口腔でハイドロキシアパタイト(HA)ディスク上に実験的バイオフィルムを形成できる *in situ* DB モデルを用いて作成した実験的 DB と歯肉モデルを共培養し、今まで検討されてこなかったバイオフィルム側の変化に注目し、DB-宿主間の相互作用を検討することを目的とした。

【方法】

歯肉線維芽細胞(ATCC-3397)および歯肉上皮細胞(ATCC-4061)を用いて Reconstructed Human Gingiva model (RHG)を培養した。その上に *in situ* DB モデル[1]を用いて形成した実験的 DB を設置し共培養した。また、control 群として細胞を含まないゲルと共培養した DB を単独培養 DB、滅菌した HA ディスクと共培養した単独培養 RHG を準備した。1、12、24 時間後に RHG および実験的 DB を回収し、実験的 DB を 16S rRNA シーケンス解析および共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)観察、RHG をリアルタイム PCR による遺伝子発現解析および組織学的観察に供した。本研究は、新潟大学倫理委員会(承認番号：2021-0041)および新潟大学遺伝子組み換え実験安全委員会(承認番号：SD0188)の承認を受け遂行された。

【結果および考察】

24 時間後に Veillonella 属は単独培養 DB と比較し、共培養 DB で有意に割合が高かった(Wilcoxon signed-rank test, P=0.047)。配列データに基づく PICRUSt2 による機能予測解析からは、RHG と共培養した DB においてアミノ酸合成や解糖系などに関する経路の有意な上昇が認められた。本研究の培養環境は閉鎖系であり、栄養源は限られているため、RHG の代謝産物が実験的 DB の代謝経路に影響した可能性が示された。

実験的 DB の CLSM 観察像から Imaris (Bitplane AG, Zurich, Switzerland) による画像解析を行った結果、共培養開始から 1 時間後に単独培養 DB において菌体外多糖、生菌、死菌の体積は単独培養 DB と比較し共培養 DB よりも高い傾向があった。単独培養 DB は RHG との栄養に関する競合がなく、さらに共培養開始直後、共培養 DB は RHG からの代謝産物を得られないため、共培養 DB と比較して単独培養 DB では栄養状態が良いために、バイオフィルム構成要素の体積に差が出たものと考える。

単独培養 RHG と比較して共培養 RHG では 24 時間後に抗菌ペプチド遺伝子である *LL-37*、*human beta defensin 1(hBD1)* 、*adrenomedullin (ADM)*の発現が有意に上昇した(Wilcoxon signed-rank test 、*LL-37*：P＝0.017、*hBD1* ：P=0.022、*ADM*：P＝0.007)。Hematoxylin-Eosin 染色の結果、単独培養 RHG と比較し共培養 RHG において上皮細胞層の肥厚が認められた。この結果は過去の報告と一致しており、DB が宿主上皮バリアの形成に寄与することが示唆された。

【結論】

本研究により、宿主歯肉モデルが *in situ* DB の細菌叢や代謝経路に影響を与える可能性が新規に示された。

[1] Sotozono M. et al. (2021) Impacts of sleep on the characteristics of dental biofilm. Sci Rep. 11:138.

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金(21K16990)、MSD 研究助成 (感染症領域) の補助のもと行われた。

歯内-歯周病変を有する歯の保存に関する予後因子の研究：後ろ向きコホート研究

[1]歯周病学分野、[2]歯髄生物学分野、大学院医歯学総合研究科、東京科学大学（IST）
○木村文彦[1]、三上理沙子[1]、水谷幸嗣[1]、城戸大輔[1]、武田浩平[1]、中川佳太[1]、竹村修[1]、小湊広美[1]、
齋藤夏実[1]、渡辺聡[2]、岩田隆紀[1]

Prognostic assessment of tooth survival for endo-periodontal lesion: A retrospective study

[1]Department of Periodontology, [2]Department of Pulp Biology and Endodontics,
Graduate School of Medical and Dental Sciences, Institute of Science Tokyo (IST)
○Fumihiko Kimura[1], Risako Mikami[1], Koji Mizutani[1], Daisuke Kido[1], Kohei Takeda[1], Keita Nakagawa[1],
Shu Takemura[1], Hiromi Kominato[1], Natsumi Saito[1], Satoshi Watanabe[2], Takanori Iwata[1]

【背景と目的】

歯内-歯周病変は歯の保存の予後を著しく低下させることが知られているが、その治療後の生存率について十分に調査されていない。また、現在の歯内-歯周病変の分類（World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases, 米国歯周病学会, 2017 年）は、歯周ポケットの拡がりを指標にしているが、この分類が歯内-歯周病変を有する歯の予後を予測する因子であるかは不明である。また、その他にも歯内-歯周病変を有する歯の予後を予測する因子についてはほとんど調査されておらず、不明な点が多い。そこで本研究の目的は、歯内-歯周病変を有する歯の生存率を調査し、歯内-歯周病変を有する歯の生存率の予後因子を分析することである。

【方法】

東京医科歯科大学歯学部附属病院歯周病外来（当時）を 2015 年 4 月から 2021 年 3 月までに受診した歯周病患者のうち、根管治療を行った 2,540 症例を対象とする後ろ向き研究を実施した。包含基準は、(1)20 歳以上、(2)デンタルエックス線写真にて根尖付近に至る骨吸収を認める、(3)根管充填から 12 か月以上通院を継続していることとした。除外基準は、(1)喫煙者、(2)全顎の歯周ポケット検査およびデンタルエックス線写真撮影が行われていない、(3)移植歯、(4)歯根破折などの明らかな歯根の損傷を認める歯、(5)対象歯の歯周ポケットが 4mm 以下であることとした。対象歯について、術前の歯周ポケット深さ、動揺度などを含む臨床情報を電子カルテより収集し、歯内-歯周病変の分類（2017 年）を行った。統計解析として、Kaplan-Meier 法および log-rank 検定を行った。また、歯内-歯周病変を有する歯の生存に関与する因子を探索するために、Cox 比例ハザードモデルを用いた。なお、本研究計画は東京医科歯科大学歯学部倫理審査委員会での承認を得ている（D2021-053）。

【結果および考察】

2,540 症例のうち、包含基準を満たした 187 症例（平均年齢 60.1±11.4 歳、男性 41.7%. 女性 58.3%）を対象とした。被検者の 94.1%が stageⅢおよび IV の歯周炎であった。被検歯は 26.2%が前歯、21.4%が小臼歯、52.4%が大臼歯であり、81.0%が未根管治療歯で、最深部の平均歯周ポケット深さは 8.7±2.2 mm であった。歯内-歯周病変の分類では 57.2%が Grade3 に分類された。

平均観察期間は 3.1±2.1 年（最短 1 年、最長 8.4 年）で、187 本中 117 本(62.6%)が最終観察時点で生存していた。Kaplan-Meier 法より 5 年生存率は 59.2%であった。Cox 比例ハザードモデルより、Grade2 以上の歯内-歯周病変(調整ハザード比：3.60, 95%信頼区間: 1.09-11.9, p=0.036)、年齢(調整ハザード比：1.03, 95%信頼区間: 1.01-1.06, p=0.005)、術前の 2 度以上の動揺(調整ハザード比：2.15, 95%信頼区間: 1.28-3.60, p=0.004)、初診時のポケット深さ(調整ハザード比：1.19, 95%信頼区間: 1.06-1.34, p=0.003)、が有意に歯内-歯周病変の予後に影響を与える因子であることが示唆された。

【結論】

歯内-歯周病変を有する歯に対して根管治療および歯周治療を行うことで一定程度の歯の保存が達成されることが示された。また、歯内-歯周病変の分類（2017 年)、年齢、術前の動揺度や歯周ポケット深さなどが歯内-歯周病変を有する歯の保存を予知する因子であることが示唆された。

がん化学療法に伴う口腔粘膜炎の疼痛緩和・発症制御を目指す新規口腔粘膜保護材の開発

[1)]岡山大学 学術研究院医歯薬学域 歯周病態学分野，[2)]岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 生体材料学分野，
[3)]サンメディカル株式会社 研究開発部，[4)]株式会社モリタ 商品企画戦略部

○大森一弘[1)]，入江正郎[2)]，伊東有希[1)]，小里達也[3)]，山本裕也[3)]，山元明里[3)]，高木智久[4)]，高柴正悟[1)]

Development of a Novel Oral Mucosal Protective Material to Alleviate Pain and Control the Onset of Cancer Chemotherapy-induced Oral Mucositis

[1)] Department of Periodontal Science, Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University,
[2)] Department of Biomaterials, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences
[3)] Division of Research and Development, SUN MEDICAL Co., LTD., [4)] Division of Product Planning & Strategy, J. Morita CORP.

OMORI Kazuhiro[1)], IRIE Masao[2)], ITO-SHINODA Yuki[1)], ORI Tatsuya[3)], YAMAMOTO Yuya[3)], YAMAMOTO Akari[4)], TAKAGI Tomohisa[4)], TAKASHIBA Shogo[2)]

【緒言】

がん治療（薬物療法や放射線治療）に伴う副作用の一つとして口腔粘膜炎がある。がん化学療法中患者の約40%，頭頸部がんに対する放射線治療患者のほぼ 100%に発症し，口腔粘膜面に形成される潰瘍による激しい接触痛を引き起こす。そして，口腔清掃不良に伴う口腔疾患（う蝕や歯周病）の悪化，また，口から食事を摂取することが困難となり，体力の低下やがん治療への意欲減衰を来たす。その結果，がん患者の生活の質（QOL）は著しく低下する。

口腔粘膜炎の原因は，抗がん剤や放射線の作用以外に，口腔内に残存する歯の切縁やう蝕および咬耗の進行に伴って形成される歯の鋭縁部への舌，口唇，口腔粘膜等の軟組織の持続的な接触（物理的な刺激），唾液分泌低下に伴う口腔バイオフィルムの感染等が挙げられる。本原因に対して，現状では医療従事者（歯科衛生士や看護師等）による保湿を中心とした口腔ケアの実施，患者自身が潰瘍面に塗布する粘膜保護材（エピシル®口腔用液）が臨床応用されている。しかし，対象患者数の激増に伴う人的資源の不足，エピシル®口腔用液の特性（短い効果持続時間，患者自身による頻回塗布の必要性と自己塗布困難部の存在）といった解決すべき課題がある。また，これら既存治療には口腔粘膜炎の疼痛悪化の一因となりうる「歯」そのものに対する改善効果はない。

発表者の研究開発チームは，口腔軟組織に対する持続的な歯の接触を保護するとともに，バイオクリーンルーム等の易感染条件下での使用を想定して，口腔バイオフィルムの形成抑制を目的に殺菌剤である塩化セチルピリジニウム（CPC）を緩徐に徐放できる新規口腔粘膜保護材（開発名：726X8-2，商品名：ソフトプロテクターCPC）を開発し，2023 年 5 月に医療機器の認証を取得した。

本発表では，ソフトプロテクターCPC の医療機器承認申請に先立ち実施した各種非臨床試験（安全性試験，有効性試験，安定性試験）の結果を示しながら，現在実施している特定臨床研究（探索的試験）の概略を示す。なお，本研究は AMED の課題番号 JP20lm0203147 および JP22ck0106785 の支援を受けた。

【材料・方法】

開発品：ソフトプロテクターCPC（医療機器承認番号：30500BZX00107000，サンメディカル株式会社）

非臨床試験：**安全性試験**（細胞毒性，感作性，刺激性／皮内試験，発熱性，急性全身毒性，亜急性全身毒性，遺伝毒性，埋植試験，使用模擬試験［歯髄・象牙質試験］；GLP 準拠）、
有効性試験（抗菌性試験，バイオフィルム抑制試験，CPC 溶出測定試験）、
安定性試験（保存安定性試験）

特定臨床研究：探索的試験（単施設，前向き，非盲検，層別無作為化，並行群間比較試験；jRCTs062220084）

【結果】

開発品（ソフトプロテクターCPC）の，以下の性質と効果を確認できた。

- 生物学的安全性（GLP 準拠）
- 口腔バイオフィルム関連細菌に対する抗菌作用
- 硬化体表面における *Streptococcus mutans* ATCC25175 のバイオフィルム形成抑制効果
- CPC の持続的な徐放性

【考察・まとめ】

がん化学療法中に口腔粘膜炎を発症した患者に対して，本開発品を接触痛の原因となる歯に充填するとともに，既存治療と併用することによって，疼痛制御によるがん患者の QOL 改善に寄与できる可能性があると考える。今後は多施設での検証試験を実施して，がん化学療法時の新たな口腔粘膜炎治療法の一つとして提案できるようさらに臨床エビデンスを蓄積していく必要がある。

会員外協力：堀田勝幸，吉田道弘，櫻井淳，本田成道，桑野友彰，馬奈木裕美，三浦善広，二村優次，森和男

ユニバーサルトレーを用いたホームブリーチの臨床評価

1 東京医科歯科大学大学院 う蝕制御学分野，2 徳島大学大学院医歯薬学研究部 再生歯科治療学分野，
3 昭和大学歯学部 歯科保存学講座 保存修復学部門
○大槻昌幸[1]，平石典子[1]，保坂啓一[2]，島田康史[1]，小林幹宏[3]，新妻由衣子[3]，菅井琳太朗[3]，
真鍋厚史[3]，田上順次[1]

Clinical Research on At-Home Bleaching Using Universal Tray

1 Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University
2 Department of Regenerative Dental Medicine, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
3 Department of Conservative Dentistry, Division of Operative Dentistry, Showa University School of Dentistry
○OTSUKI Masayuki[1], HIRAISHI Noriko[1], HOSAKA Keiichi[2], SHIMADA Yasushi[1], KOBAYASHI Mikihiro[3],
NIITZUMA Yuiko[3], SUGAI Rintaro[3], MANABE Atsufumi[3], TAGAMI Junji[1]

【目的】本研究は、既成のトレー、すなわちユニバーサルトレーを用いた 6%過酸化水素を主成分とするホームブリーチ材（UCT-601、オパールエッセンス Go、ULTRADENT JAPAN）の有効性と安全性を臨床的に評価するために行った。
【方法】本臨床研究は、東京医科歯科大学病院と昭和大学歯科病院において、それぞれの治験審査委員会の承認を得て、2020 年 3 月～8 月に臨床試験（治験）として実施した。両機関において口頭と書面にて同意が得られた被験者各 20 名を被験群 15 名と対照群 5 名に無作為に割り振った。被験群は、6%過酸化水素を主成分とするホームブリーチ材（UCT-601、オパールエッセンス Go）で 1 回 90 分、延べ 10 日間ホームブリーチを行った。対照群は、印象採得を行って調製した石膏模型上で製作したカスタムトレーを用いて、10%過酸化尿素を主成分とするホームブリーチ材（オパールエッセンス 10%、ULTRADENT JAPAN）にて、添付文書の記載内容にしたがって 1 回 120 分、延べ 14 日間ホームブリーチを行った。術前・術後に、シェードガイド（VITA Classical、VITA－白水貿易）を用いた視感比色法と歯科用測色器（VITA EZ シェード V、VITA－白水貿易）を用いた測色を行い、処置前後の歯の色調の変化を被験群と対照群で比較した。視感比色法では、シェードタブに明度順に番号を付し、対象歯に該当する明度のシェードタブの番号を明度とした。また、測色器で被験歯の歯冠中央での測色値 CIE L*a*b*から、術前・術後の色差を算出した。なお、処置期間中と処置後の有害事象について記録し、異常があった場合、適切な対応を行い、それを記録することにした。
【結果および考察】被験者は、被験群（男性 11 名、女性 19 名、平均年齢 41.5 歳）、対照群（男性 4 名、女性 6 名、平均年齢 39.1 歳）であった。被験群における処置後の検査が遅延した 2 症例を除外し、被験群 28 症例 295 歯、対照群 10 症例 93 歯を有効性の評価対象とした。また、すべての症例（被験群 30 症例、対照群 10 症例）を安全性の評価対象とした。被験群、対照群のすべての症例において、肉眼で明らかな漂白効果が確認された。視感比色法では、処置前の明度の平均は被験群 11.7±2.8、対照群 11.6±2.2、処置後は被験群 5.9±3.5、対照群 5.7±2.6 で、術前・術後の差は、被験群 6.0±2.8、対照群 5.9±2.9 であった。また、歯科用測色器での測色値から算出した術前・術後の色差の平均は、被験群 7.6±5.6、対照群 7.3±4.0 であった。以上から、被験群では対照群と同等の漂白効果が得られたものと判断した。なお、処置期間中・処置後において重篤な有害事象は認められなかったものの、比較的軽度の知覚過敏が被験群で 30 症例中 12 例（40%）、対照群で 10 例中 5 例（50%）に認められたが、観察期間中にすべて消退した。また、被験群のみに歯肉の口内炎、咽頭・喉頭の違和感が各 2 例認められたが、いずれも軽度なものであった。被験群で用いた UCT-601 は、製造・販売の承認を得て、オパールエッセンス Go として 2021 年に販売が開始されている。本製品は、ユニバーサルトレー（既成トレー）を採用しているため、カスタムトレーを製作する必要がなく簡便である。また、6%過酸化水素を主成分としており、これは、約 17%の過酸化尿素に相当する。そのため、90 分、10 日間処置を行うことで、わが国で普及している 10%を主成分とするホームブリーチ材で 120 分、14 日間処置を行うのと同等の漂白効果が期待できる。一方で、既成トレーは、カスタムトレーよりも歯列への適合が劣ることは否めず、漂白材の口腔内への漏出による軟組織への軽微な影響が生じる可能性があることを熟知して使用すべきと思われる。
【結論】ユニバーサルトレーを用いた 6%過酸化水素を主成分とするホームブリーチ材（UCT-601、オパールエッセンス Go、ULTRADENT JAPAN）の有効性と安全性を臨床的に評価したところ、対照としたカスタムトレーを用いた 10%過酸化尿素を主成分とするホームブリーチ材によるホームブリーチと同等の有効性と安全性を示し、その有用性が示された。

新規ホームホワイトニング材の漂白効果と知覚過敏についての臨床研究

日本大学歯学部保存学教室修復学講座
○須田駿一，髙見澤俊樹，庄司元音，青木良太，石井　亮，柴崎　翔，宮崎真至

A clinical study evaluating the whitening efficacy and tooth hypersensitivity of a newly development at-home whitening system

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry
○SUDA Shunichi, TAKAMIZAWA Toshiki, SHOJI Mone, AOKI Ryota, Ishii Ryo, SHIBAZAKI Sho, MIYAZAKI Masashi

【研究目的】

カスタムトレーを製作し，10%過酸化尿素を漂白材として用いるホームホワイトニングは，確実な漂白効果が得られるとともに知覚過敏の発生が少ないところから，ホワイトニングの第一選択肢とされている。一方，ホワイトニング時間あるいは期間を短縮したいという患者も多い。そこで，6%の過酸化水素を使用することでホワイトニング時間および期間の短縮を目的とした新規ホームホワイトニング材が開発された。しかし，その詳細については不明な点が多い。そこで，本臨床研究は 6%の過酸化水素配合新規ホームホワイトニング材の漂白効果および術中術後の知覚過敏の発生について把握することを目的とした。

【材料および方法】

1. 使用材料

6%過酸化水素配合新規ホームホワイトニング材（以後新規 HW 材，ジーシー）を用い，その効果について 10%過酸化尿素配合のティオンホームプラチナ（以後プラチナ，ジーシー）と比較，検討した。

2. 被験者の選定

臨床研究の開始にあたっては，日本大学歯学部倫理委員会の承認を取得した。被験者は令和 6 年 6 月から日本大学歯学部付属歯科病院に来院し，本研究の趣旨を説明した上で，同意を得られた 20〜37 歳の男性 20 名，女性 20 名の合計 40 名とした。選択基準としては，上顎 6 前歯および第 1 小臼歯に 6 歯以上ホームホワイトニングが可能な有髄歯があるとともに唇面 1/3 以上を含む歯冠修復がないものとした。また，齲蝕，重度の歯周疾患，重度の全身的慢性疾患の治療中，妊娠中または授乳中，無カタラーゼ症といったホワイトニング治療の禁忌症例およびその他歯科医師が不適当と判断したものに対しては除外対象とした。

3. ホームホワイトニング材の適用方法

被験者の上下歯列に適合したカスタムトレーを製作し，以下の条件でホームホワイトニングを行った。

・Group1（以後，G1 群）: 新規 HW 材 : 1 日 60 分間，10 日間連続でホームホワイトニングを行った。

・Group2（以後，G2 群）: プラチナ : 1 日 120 分間，14 日間連続でホームホワイトニングを行った。

なお，知覚過敏の評価はホワイトニング期間中における術中および術後 24 時間の Numerical Rating Scale（NRS）記録の集計結果から求めた。

4. 測色

測色装置として，非接触型歯科用分光光度計 Cristal-eye Spectrophotometer（OLYMPUS）を用いた。術前および術後に対象歯に対して歯面研磨ペースト（メルサージュファイン，松風）を用いて歯面清掃した後，上顎右側中切歯の歯面中央部の測色を行い，L*, a*および b*値を基に色差（ΔE^*_{ab} および ΔE_{00}）を求めた。

【成績および考察】

色調変化の測定結果において，ホワイトニング後の色差は G1 群および G2 群で違いは認められなかった。また，L*, a*および b*においては，いずれの群においても L*は上昇し，a*および b*は低下する傾向を示した。6%の過酸化水素配合新規ホームホワイトニング材は，これまでの 10%過酸化尿素を使用したホームホワイトング材“プラチナ”と比較して短時間かつ短期間で同等の漂白効果を得ることが可能であった。

【結論】

6%過酸化水素配合新規ホームホワイトニング材は従来の 10%過酸化尿素を配合した材料と比較して，短時間かつ短期間で生活歯の色調改善効果が得られることが示された。

バイオアクティブグラス添加フッ化物配合ヴァーニッシュの エナメル質における再石灰化能の評価

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科　口腔機能再構築講座う蝕制御学分野
○宮城 和彦、 井上 剛、 陳 雪霏、 島田 康史

Evaluation of Enamel Remineralization Using Fluoride Varnish with Bioactive Glass Additives

Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)
○Kazuhiko Miyagi, Go Inoue, Xuefei Chen, Yasushi Shimada

緒言

エナメル質の初期脱灰に対する治療は修復処置よりも再石灰化を促す非侵襲的治療が優先され、乳歯、永久歯共に歯冠部におけるう窩を伴わない病変に対しては、5% NaF Varnish の使用が推奨されている。これは、高いフッ化物濃度（22,600ppm）と歯の表面に留まる性状によりフッ化物を長期間放出することで脱灰表面に再石灰化を促す効果があるためと考えられ、より強い再石灰化能を有する材料の開発は、初期脱灰病変の治療効果をより高めるものとして期待される。バイオアクティブグラスは広範な臨床用途を持つバイオセラミック材料であり、歯科においても修復材料や根管充填用シーラーなど、さまざまな分野で活用されその効果が報告されているが、フッ化物配合ヴァーニッシュに添加して効果を評価した報告は少ない。本研究では、フッ化物配合ヴァーニッシュにバイオアクティブグラスを添加することによる脱灰エナメル質の再石灰化能を in vitro 下で評価することを目的とした。

方法

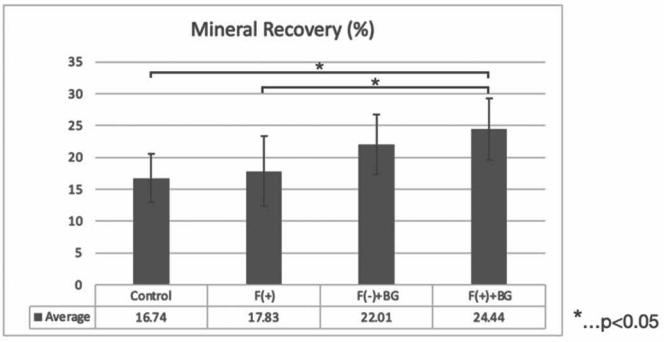
牛歯エナメル質ブロックを32個用いて、唇側面に4×2mm²の作業面を作製した。50mL の人工脱灰液（50mM acetic acid, 2.2mM $CaCl_2$, 2.2mM NaH_2PO_4, 10%NaOH, pH4.5）に 37℃、100rpm の条件下で 7 日間浸漬し、脱灰試料とした。実験群は、フッ化物未配合ヴァーニッシュ塗布群（以下コントロール群）、フッ化物配合ヴァーニッシュ（エナメラスト、ウルトラデント社）塗布群（以下 F(+)群）、フッ化物未配合ヴァーニッシュ＋バイオアクティブグラス（58S, ≥98%, ≤10μm particle size）25wt%塗布群（以下 F(-)+BG 群）、フッ化物配合ヴァーニッシュ＋バイオアクティブグラス（58S, ≥98%, ≤10μm particle size）25wt%塗布群（以下 F(+)+BG 群）の 4 群（各n=8）とした。全てのサンプルに対し 1 日 5 回の pH サイクルを 1 週間行った。マイクロ CT（inspeXio SMX 100-CT）にて試料の撮影を行い、脱灰部のミネラル密度（gAl/μm²）の変化を評価し、エナメル質表層の観察を目的に試料を半切し走査型電子顕微鏡（以下 SEM）による撮影を行った。統計分析では一元配置分散分析、Tukey HSD 検定を用いた。

結果

pH サイクル後のミネラル回復率は F(+)+BG 群（平均 24.44%）＞F(-)+BG 群（平均 22.01%）＞F(+)群（平均 17.83%）＞コントロール群（平均 16.74%）の順に増加し、コントロール群と F(+)+BG 群、F(+)群と F(+)+BG 群の比較において有意差が見られた（$p<0.05$）。また、F(+)+BG 群の脱灰深度が最も低い傾向を示した（平均 293.31μm）。SEM 観察ではバイオアクティブグラス添加群において、表層下脱灰内底部のエナメル小柱の形態変化が観察された。

結論

本研究の実験条件下において、フッ化物配合ヴァーニッシュにバイオアクティブグラスを添加することが脱灰エナメル質表面の再石灰化能を向上させる可能性が示唆された。



S-PRG フィラー含有矯正用レジンによるエナメル質酸蝕症の抑制効果

神奈川歯科大学歯科保存学講座保存修復学分野
○平岩昂樹，　椎谷　亨，　向井義晴

Inhibition of enamel erosion by orthodontic resin containing S-PRG filler

Department of Restorative Dentistry, Kanagawa Dental University
○HIRAIWA Takaki, SHIIYA Toru, MUKAI Yoshiharu

【研究目的】我々は，第 158 回日本歯科保存学会学術大会において，矯正用レジンに含有される S-PRG フィラーの含有量が 0→3→5→10 wt%と増加するにつれて，エナメル質に対する脱灰抑制効果が増強されることを報告した．今回，脱灰条件を変更し，酸蝕症に対する効果を検討した．

【材料および実験方法】

1. 凍結保存したウシ下顎中切歯の歯冠から，中空ドリルを装着した卓上小型ボール盤（E-Value Drill-Press DP-375V）にて直径 5 mm の歯片をくり抜いた．エナメル質表面は 2,000 番の耐水研磨紙にて研磨し，直径 5 mm，厚さ約 3 mm の円柱状試料を作製した．作製したエナメル質試料（16 個）は，DW 中にて 5 分間超音波洗浄し，脱灰試験面の規定の為に試料の周囲を 1 mm の幅にてネイルバーニッシュを行い，試験面の直径を 3 mm とした．16 個の試料を n = 4 ずつ 4 群に分けた．脱灰系は 2 つに分かれており，1 つの系（計 2 群）は酢酸への浸漬，もう 1 つの系（計 2 群）は清涼飲料水への浸漬とした．

2. S-PRG フィラー含有量の異なる 2 種類の歯科矯正用レジン硬化体（0 および 10 wt%，直径 46 mm，厚さ 7 mm）をそれぞれ 2 つずつ作製した．レジン硬化体には上述したエナメル質試料を挿入できる凹部が同間隔に形成してあり，各レジン硬化体に 4 個ずつ試料を装着した．歯片を組み込んだこれら各レジン硬化体（計 4 つ）を，別々のプラスティック容器の底部に固定後，酢酸脱灰溶液（50 mM 酢酸，1.5 mM $CaCl_2$，0.9 mM KH_2PO_4，pH 4.6），もしくは，市販清涼飲料水（ポカリスエット（大塚製薬）; pH 約 3.5（メーカー公表））を 15 ml ずつ注入し，中央に回転子（10×φ4 mm）を入れ攪拌を行いながら（250 rpm），37℃で 4 日間脱灰を行った．

・na 群：S-PRG フィラー未含有レジン硬化体に試料を装着し，酢酸（acetic acid）に浸漬
・np 群：S-PRG フィラー未含有レジン硬化体に試料を装着し，清涼飲料水（pocarisweat）に浸漬
・Sa 群：S-PRG フィラー10 wt%含有レジン硬化体に試料を装着し，酢酸（acetic acid）に浸漬
・Sp 群：S-PRG フィラー10 wt%含有レジン硬化体に試料を装着し，清涼飲料水（pocarisweat）に浸漬

3. 脱灰期間終了後，レジン硬化体から撤去したエナメル質試料を脱水，レジン包埋し，ダイヤモンドワイヤー式精密切断機(Well 3242)を用いて，厚さ 150 μm の薄切片を歯軸方向に切り出した．各歯片は Transverse Microradiography（TMR）撮影（管電圧 35 kV，管電流 15 mA，焦点−試片間距離 570 mm，照射時間 15 分，PW3830）後，分析用ソフト(TMR2006, 2012)を用いてミネラルプロファイルを作成し，ミネラル喪失量および病巣深度を測定した．4 群（na 群，np 群，Sa 群，Sp 群）間の比較には One-way ANOVA および Tukey の多重比較検定（有意水準 5 %）を用いた．

【結　果】平均ミネラルプロファイルにおいて Sa 群でのみ厚い表層が認められ他では認められなかった．平均ミネラル喪失量はそれぞれ na: 7,182 ± 275, np: 13,496 ± 414, Sa: 4,440 ± 461, Sp: 5,428 ± 453 (vol%×μm)であった. na-np 群, np-Sa 群，np-Sp 群，na-Sa 群，Sa-Sp 群において有意差が認められた（$p < 0.05$, n = 4）．また, 平均病巣深度は na: 141 ± 11, np: 207 ± 6, Sa: 144 ± 8, Sp: 169 ± 9 (μm)であり，na-np 群，np-Sa 群，np-Sp 群において有意差が認められた（$p < 0.05$, n = 4）．

【考　察】平均ミネラルプロファイルにおいて，Sa 群では厚い表層が認められ，ミネラル喪失量で na-Sa 群間および np-Sp 群間に有意差が認められたことから，矯正用レジンに S-PRG フィラーを 10%含有させることでエナメル質に酸蝕が生じないことが示唆された．S-PRG フィラーからはフッ化物イオンの他，ストロンチウムイオンやナトリウムイオンなどが放出される．ナトリウムイオンは酸性環境の中和に、フッ化物イオン、ストロンチウムイオンはカルシウムイオンやリン酸イオンと相まってフルオロアパタイト，ストロンチウムアパタイトとして再石灰化に寄与している可能性が考えられた．

新規自己接着性コンポジットレジン SA-100R の非切削エナメル質における接着性能評価

[1]東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科　う蝕制御学分野
[2]東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科　口腔医療工学分野
○[1]井上 剛、[1]ハン リン、[2]池田 正臣、[1]島田 康史

Adhesive evaluation of a new self-adhesive resin composite, SA-100R, on uncut enamel

[1]Department of Cariology and Operative Dentistry, Tokyo Medical and Dental University(TMDU)
[2]Oral Biomedical Engineering, Tokyo Medical and Dental University(TMDU)
○[1]Go Inoue, [1]Lin Fan, [2]Masaomi Ikeda, [1]Yasushi Shimada

緒言

最近の歯科矯正治療ではその簡便性や構築されたシステムにより、アライナーを用いた治療法が増えてきている。しかしながら、歯の凹凸を利用した矯正方法であることから、力の付加が難しく、大きく歯を移動することは難しいため、適応となる症例が限られていた。そこで、歯の表面にアタッチメントを付与することで、矯正力を大きくし、方向も調整できるように改善されてきている。アタッチメントには審美性の観点から、主にコンポジットレジンを用いることが多いが、通常の充填では歯面に接着剤を塗布し、その後コンポジットレジンを接着させることから、矯正治療終了後にアタッチメントを除去する際に、コンポジットレジンが残ったり、接着剤が広範囲に付着してしまい、着色の原因となることなどが問題となってくる。新規自己接着性コンポジットレジン（SA-100R）は接着剤を使用しない材料であり、適度な接着強さを有することが分かっており、このような治療用途に向いていると考えられる。そこで本研究では、SA-100R および接着剤/コンポジットレジン、およびアタッチメント作製専用材料を用いて、その接着強さと、除去後のエナメル質表面の状態変化を、微小剪断接着試験および走査型電子顕微鏡（SEM）を用いて比較検討することを目的とした。

方法

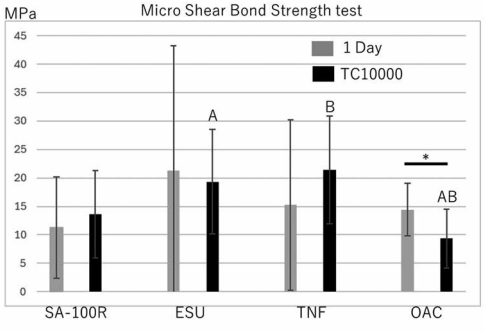
30 本のヒト歯歯冠部からエナメル質ブロックを切り出し、被着体とした。接着材料として、新規自己接着性コンポジットレジン（SA-100R、クラレノリタケデンタル社）、クリアフィルユニバーサルボンド Quick2+クリアフィルマジェスティ ES フロー Universal（ESU、クラレノリタケデンタル社）、アドヒースユニバーサル＋Tetric N-Flow A3（TNF、Ivoclar 社）およびオルソリーユニバーサルボンドフロー SE プライマー＋オルソリーアライナーコネクト（OAC、GC 社）を使用した。SA-100R、ESU および TNF 群はリン酸エッチング（16%）を 30 秒間行った後、SA-100R を除き、それぞれ業者指示通りに接着操作を行った後、タイゴンチューブを用いて充填操作を行った。得られた試料は、半分を 24 時間保管群（24h）とサーマルサイクル 10000 回群（TC10000）に分け、微小剪断接着試験を行った。統計分析では Wilcoxon rank sum test および Bonferroni の方法を用いた。接着試験後の表面は SEM 観察を行い、破断面形態の観察・比較も行った。

結果

微小剪断接着試験の結果、１日保管後ではどの群間でも統計学的有意差はなかった。TC10000 においては ESU および TNF と比較して OAC が有意に低かったが、SA-100R はどの群とも有意差がなかった。破断面形態の観察では、どの群も接着界面での破壊がほとんどだったが、SA-100R 以外の群では破断面周囲に広く付着した接着剤が観察されたり、エナメル質の破壊が起きている試料も観察された。

結論

本研究の実験条件下において、SA-100R は他の製品群と比較して十分な接着強さを有し、また破断面周囲のダメージや材料の残存が少ないことが確認された。



TiO_2含有試作ボンディング材に関する研究
-エナメル質に対する接着性ならびにNd:YAGレーザーを用いた除去性について-

大阪歯科大学　歯科保存学講座
○三木晃治,保尾謙三,澤井健司郎,森川裕仁,岩佐一弘,谷本啓彰,山本一世

Study of experimental adhesive containing TiO_2
- Adhesion to enamel and Nd:YAG laser-assisted debonding -

Department of Operative Dentistry, Osaka Dental University
○MIKI Koji, YASUO Kenzo, SAWAI Kenshiro, MORIKAWA Yuto, IWASA Kazuhiro,
TANIMOTO Hiroaki, YAMAMOTO Kazuyo

【目的】

近年レジンアタッチメントを用いたアライナー矯正が臨床で多く行われているが，レジンアタッチメントを除去する際に健全エナメル質を破壊してしまうことが問題視されている．そこで我々は，酸化チタンのレーザー光の吸収効率が高いことに着目し，酸化チタンを配合した試料ボンディング材のエナメル質に対する接着性，ならびに酸化チタン含有試作ボンディング材に対するNd:YAGレーザー（以下レーザー）を使用した除去性について検討した．

【材料と方法】

レーザー照射装置としてSTREAK1(アルテック)を用い，照射条件は200μs・800mJ・16ppsとした．接着システムにクリアフィル メガボンド2（クラレノリタケデンタル，以下MB），光硬化型コンポジットレジンにクリアフィル マジェスティESフロー(A2，クラレノリタケデンタル，以下ES)を使用した．

被験歯として牛歯を用いレジン包埋後，モデルトリマーと耐水研磨紙にて＃600まで研磨し，エナメル質平坦面試料を作製した．5・10・20wt%で酸化チタン(富士フイルム和光純薬)をMBに混和した試料ボンディング材を作製した．被着面積は直径1mmに規定し，通法通り接着操作を行い，ESを充填し光照射を行った．硬化後，37℃水中に24時間保管した．MBのボンディング材で接着したものをcontrol群とし，試料ボンディング材で接着したものをそれぞれ5・10・20群とした．接着操作後に，レーザー非照射のものをnon群とし，試料界面にそれぞれ15s，30sレーザー照射を行ったものを15･30群とし，万能試験機AGS-X(島津製作所)を用いてCHS=1.0mm/minにてせん断接着強さを測定した(n=10)．統計処理は，二元配置分散処理およびTukeyの検定を行なった($p<0.05$)． 本実験は，大阪歯科大学動物実験委員会の承認を得て行われた（承認番号23-06005)．

【結果と考察】

非照射群では，cont-non群と比べて10-non，20-non群は有意に低い接着強さを示したが，5-non，10-non，20-non群ではそれぞれ有意差は認められず，一定の接着強さを示した．レーザー照射群では，cont-non群と比べてcont-15，cont-30s群は有意に低い接着強さを示した．また，5-non群と比べて5-15，5-30群も同様であった．10-15，10-30，20-15，20-30群では，レーザー照射中または測定試料作製中にレジンが脱離した．

Nd:YAGレーザーは透明レジンへの吸収率はほぼ認められないが，controlでレーザー照射により接着強さが低下したのは，レーザーがESの色素に反応したためと考えられる．試作ボンディング材を用いた群でレーザー照射により接着強さが低下したのは，配合した酸化チタンにレーザー光が効率的にされたことにより熱反応が生じ，ボンディング層やコンポジットレジンが破壊されたためと考えられる．

【結論】

TiO_2含有試作ボンディング材はエナメル質に対する十分な接着性を有すること，ならびにTiO_2含有試作ボンディング材を用いたレジンアタッチメントの除去におけるNd:YAGレーザーの有効性が示唆された．

Table1 Shear bond strengths of each experimental adhesive containing TiO_2 to enamel for each laser irradiation time (MPa)

Concentration of TiO_2(wt%)	Irradiation time		
	Non-irradiation	15 s	30 s
Control	33.8 (5.9)^{abcdef}	11.6 (6.4)^{eghij}	3.3 (4.3)^{bklm}
5	26.5 (6.2)^{gkno}	4.8 (6.0)^{cnpq}	2.2 (5.0)^{dhors}
10	23.8 (5.7)^{eilpr}	*	*
20	21.6 (7.9)^{fimqs}	*	*

The same superscript letters indicate significant difference($p<0.05$)
*:Unmeasurable level due to loss of resin attachment during the laser irradiation or the preparation for adhesive test specimens