

一般発表

バイオアクティブガラスエアアブレーション (Sylc) 単独および APF 併用による 深在性う蝕病変の再石灰化への影響

東京科学大学大学院医歯学総合研究科 口腔機能再構築学講座 う蝕制御学分野
○ヘルスベイヒ ヘバ, 井上 剛, 陳 雪霏, 島田 康史

Effect of Bioactive Glass Air Abrasion (Sylc) With and Without APF on the Remineralization of Deep Caries Lesions

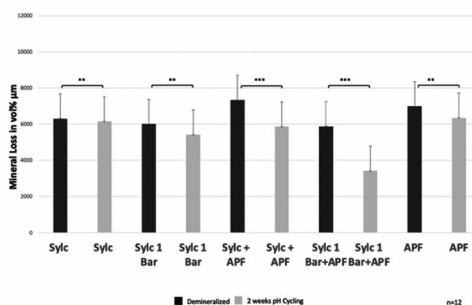
Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Institute Of Science Tokyo
○Heba Elsubeihi, Go Inoue, Xuefei Chen, Yasushi Shimada

Objectives: This study evaluated the remineralization effect of Sylc (bioactive glass) air abrasion, with and without Acidulated Phosphate Fluoride (APF), applied under both non-pressured and pressured conditions on demineralized bovine dentin after pH cycling.

Methods: Extracted bovine central incisor crowns were sectioned to obtain 20 standardized dentin blocks (5 mm × 4 mm × 2 mm). The blocks were embedded in epoxy resin and immersed in a demineralizing solution (2.2 mM CaCl₂, 2.2 mM NaH₂PO₄, and 50 mM acetic acid, adjusted to pH 4.5 with 10 M NaOH) to create artificial deep caries-like lesions approximately 300 μm deep. Specimens were randomly assigned to five groups, with surfaces treated using Sylc powder (Velopex, Ltd.) and APF gel, either alone or in combination: (1) Sylc applied manually; (2) Sylc applied at 1 bar pressure; (3) Sylc applied manually followed by APF; (4) Sylc at 1 bar followed by APF; and (5) APF alone. For Sylc application at 1 bar, the nozzle tip (0.6 mm) was held 4 mm from the surface at a 90° angle for 10 seconds (using approximately 0.5 grams of powder). APF gel (approximately 0.2ml) was applied for 4 minutes. Following treatment, all samples underwent a 14-day pH cycling regimen to simulate oral demineralization and remineralization conditions. Subsequently, three dentin slices approximately 220–240 μm thick were prepared from each specimen (n = 12) using a low-speed Isomet saw. Transverse microradiography (TMR) imaging was performed to evaluate mineral loss (ΔZ) before and after treatment. Specimens were imaged alongside a 12-step aluminum wedge, and digital analysis was conducted using ImageJ and TMR software. Statistical analysis was conducted using paired t-tests for within-group comparisons and one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test for between-group analysis.

Results: Following the 14-day pH cycling regimen, all treatment groups demonstrated a statistically significant reduction in mineral loss (ΔZ) compared to their respective demineralized baselines. The greatest remineralization effect was observed in the group treated with Sylc at 1-bar followed by APF application. Groups treated with Sylc agitated with APF or applied at 1-bar also showed notable improvements. While Sylc alone resulted in a modest reduction in mineral loss, all protocols demonstrated remineralization potential, confirming the added benefit of APF and air pressure in enhancing treatment efficacy.

Conclusion: Minimally invasive bioactive glass air abrasion using Sylc, especially when combined with APF and air pressure, enhances the remineralization of deep dentin lesions. These findings support the clinical use of such protocols in conservative caries management strategies.



Mineral loss (ΔZ) values for demineralized and 2-week pH-cycled surfaces across treatment groups.

ホームブリーチング材としての過酸化尿素による歯根象牙質再石灰化促進効果 —スクロース含有多菌種バイオフィームモデルを用いた検討—

¹ 神奈川歯科大学 歯科保存学講座 保存修復学分野, ² 分子生物学講座 口腔細菌学分野
○富澤 恵¹, 富山 潔¹, 小浦裕菜¹, 稲葉啓太郎², 浜田信城², 向井義晴¹

Effect of carbamide peroxide treatment as at-home bleaching agent on root dentin remineralization —A study using sucrose-containing polymicrobial biofilm model—

¹Dep of Restorative dentistry, ²Dep of Oral Microbiology
○TOMIZAWA Megumi¹, TOMIYAMA Kiyoshi¹, KOURA Yuna¹, INABA Keitaro², HAMADA Nobushiro², MUKAI Yoshiharu¹

【研究目的】

我々は、第162回保存学会において、多菌種バイオフィームによる象牙質表層下脱灰病巣の形成を行った後にバイオフィームを除去せずに再石灰化を誘導し、過酸化尿素にて処理を行うことで再石灰化が促進することを報告した。本研究の目的は、多菌種バイオフィームにより歯根象牙質に形成された表層下脱灰病巣を過酸化尿素で処理を行うことによるスクロース含有多菌種バイオフィームモデルでの再石灰化への影響を検討することである。

【材料および方法】

ウシ下顎中切歯の歯根部を歯頸部直下およびそれより 8 mm 根尖側の位置で水平切断し得られた円筒状試料を切断部より 1 mm の位置で切断を行い縦横 8 mm、厚さ 1 mm の象牙質プレートを作製した。作製した象牙質プレートから直径 6 mm、厚さ 1 mm の円盤状試料を切り出し、表面を#2,000 番の耐水研磨紙にて研磨した。ワイヤーを挟んで試料の表面が両側になるように接着剤で貼り付けた試料をバイオフィーム形成用被検体とした。処理剤には 25%過酸化尿素水溶液を McBain2025 (1.8 mM Ca, 0.9 mM P 含有) にて 5 倍希釈した 5%過酸化尿素溶液 (CP)、比較として滅菌脱イオン水を McBain2005 (1.8 mM Ca, 0.9 mM P 含有) にて 5 倍希釈した溶液 (DW) を用いた。実験群は、(1) 表層下脱灰病巣群 (Baseline lesion)、(2) 5%過酸化尿素水溶液群 (CP/Rem)、(3) 再石灰化群 (Rem) の 3 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時唾液を用い、バイオフィームモデルとして Amsterdam Active Attachment Model (Exterkate et al., 2010) を使用した。病巣作製のための培養液には McBain 2005 (0.2%スクロース, 0.4 ppm F, 1.8 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 回行う連続嫌気培養を 48 時間行った。その後は再石灰化期間とし、CP/Rem 群には CP 溶液, Rem 群には DW 溶液にて 1 日 1 回 30 分間浸漬処理を行い、バイオフィームを残したまま McBain 2005 (0.1%スクロース, 1.8 mM Ca, 0.9 mM P, 0.1 ppm F 含有) を用いて連続嫌気培養を 336 時間行った。培養終了後、象牙質試料より厚さ 300 μm の薄切切片を作製し、Transverse Microradiography (TMR) 撮影後にミネラル喪失量 (IML) および病巣深度 (LD) を測定 (TMR2006, 2012, Inspektor), Kruskal-Wallis 検定および Steel-Dwass 検定により有意水準 5%にて統計学的分析を行ない、各群の病巣を比較した。

【結果及び考察】

Baseline lesion 群では表層下脱灰病巣の形成が確認された。CP/Rem 群では Baseline lesion 群, Rem 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、病巣体部の再石灰化が認められた。また、CP/Rem 群は IML, LD 共に Baseline lesion 群, Rem 群と比較し低い値を示した。特に、CP/Rem 群の IML は Baseline lesion 群, Rem 群と比較し有意に低い値を示した。LD においても Baseline lesion 群と比較し有意に低い値となった。

本研究結果から、多菌種バイオフィームにより歯根象牙質に形成された表層下脱灰病巣に過酸化尿素にて処理を行うことで、スクロース存在下であっても活動性齲蝕を非活動性齲蝕へと変化させ再石灰化に寄与したと考えられた。過酸化尿素にはブリーチング効果のみならず、初期齲蝕のある根面象牙質に触れた際には副次的効果として再石灰化を促進させる可能性が示された。

【結 論】

多菌種バイオフィームにより歯根象牙質に形成された表層下脱灰病巣に対し、過酸化尿素にて処理を行うことでスクロース存在下であっても再石灰化を促進させることが示唆された。

本研究は、神奈川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 1062】。
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。

グラスアイオノマーセメントによる象牙質再石灰化の SS-OCT を用いた評価

1 東京科学大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野

○杜紫娟¹, 田端倫子¹, 平石典子¹, 蔣金娟¹, 張家銘¹, 島田康史¹

Evaluation of Dentin Remineralization with Glass Ionomer Cements Using SS-OCT

¹ Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of Sciences, Tokyo Medical and Dental University

○ Zijuan DU¹, Tomoko TABATA¹, Noriko HIRAISHI¹, Jinjuan JIANG¹, Jiaming ZHANG¹, Yasushi SHIMADA¹

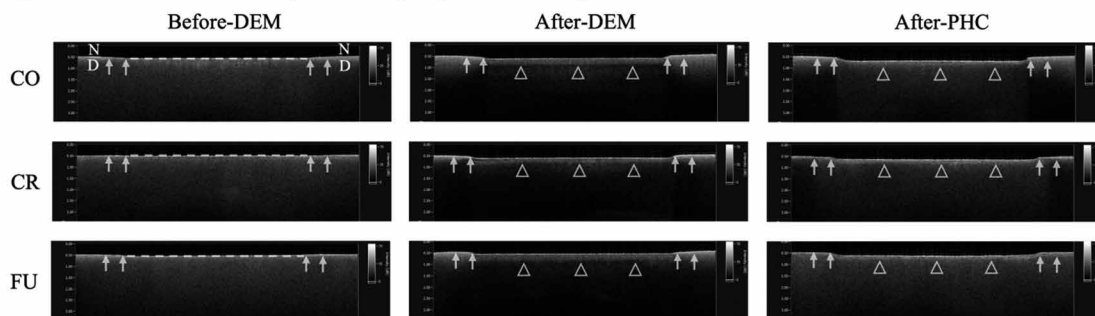
Objective: This study aimed to evaluate the remineralization effects of different types of glass ionomer cement (GIC) on demineralized dentin using swept-source optical coherence tomography (SS-OCT).

Materials and Methods: Sound bovine incisors were horizontally sectioned at the cervical margin and longitudinally halved to obtain 30 root dentin blocks (5×5×2 mm³). The dentin surfaces were polished and coated with acid-resistant varnish, leaving a 3×3 mm² window exposed. Specimens (n=10 per group) were randomly assigned to (a) negative control (no material, CO), (b) Caredyne Restore (CR), and (c) Fuji IX (FU). Thirty specimens were selected to perform SS-OCT imaging (n=10 per group) at three stages: before demineralization (before-DEM), after 3 days of demineralization (after-DEM), and after removal of the cements following 7-day pH cycling (after-PHC). Three regions of interest (ROIs) were selected, each with dimensions of 3000×100 μm², 3000×300 μm², and 3000×500 μm², to analyze the demineralization depth, attenuation coefficient, and integrated signal intensity. After SS-OCT observation, fifteen specimens were selected to be cleaned, dehydrated, and coated with osmium for surface evaluation using scanning electron microscopy (SEM). The other fifteen specimens were examined by transverse microradiography (TMR) to measure lesion depth. Statistical analyses were conducted using one-way ANOVA and repeated measures ANOVA ($p < 0.05$).

Results: For SS-OCT analysis, in the 500 μm depth of ROI, both CR and FU groups showed significantly lower demineralization depths after PHC compared to after DEM ($p < 0.05$), indicating remineralization. In contrast, the CO group exhibited significantly increased demineralization after PHC (Fig. 1). Among groups, CR demonstrated the lowest after-PHC demineralization depth. SS-OCT signal intensity profiles showed that cement groups after PHC exhibited intermediate attenuation compared to their before-DEM and CO after-PHC counterparts. The μts for the CR and FU groups after PHC were significantly lower than CO group. The average integrated signal intensities in the 500 μm depth of ROI for CR and FU were significantly lower than CO after PHC ($p < 0.05$). For TMR analysis, the lesion depths of the CR and FU groups were significantly lower than that of CO group ($p < 0.05$).

Conclusions: Both Caredyne Restore and Fuji IX enhanced remineralization of demineralized dentin. Caredyne Restore exhibited a stronger potential to reduce mineral loss compared to Fuji IX.

Fig. 1: The demineralization depth of each group at three time points



Dotted line-Baseline of dentin surface; Arrow-Nail varnish; Hollow triangle- Demineralized dentin; N-Nail varnish side; D-Dentin side.

老化耐性モデルを用いた口腔組織の分子構造解析

1: 京都府立医科大学 大学院医学研究科 歯科口腔科学, 2: Nova Southeastern University College of Dental Medicine
○足立 哲也¹, 足立 圭司¹, 金村成智¹, 山本 俊郎¹, 大迫 文重¹, 進藤 智²

Molecular structure analysis of oral tissues using aging resistance models

1 Department of Dental Medicine, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine
2 Nova Southeastern University College of Dental Medicine
○Tetsuya Adachi¹, Keiji Adachi¹, Narisato Kanamura¹, Toshiro Yamamoto¹, Fumishige Osako¹, Satoru Shindo²

【緒言】

最大寿命が約 37 年のハダカデバネズミは超長寿げっ歯類であり、各種組織や臓器の老化・機能低下が起こらない。こうしたハダカデバネズミの顕著な老化耐性を含む極めてユニークな生理機能を解明することは、抗老化・抗加齢を制御することに繋がるため、超高齢社会を迎えた我が国において極めて重要である。ハダカデバネズミの老化耐性には、細胞外基質(ECM)の構造が重要な役割を果たすことが知られているが、既存の解析法ではハダカデバネズミが生成する高分子ヒアルロン酸の識別は難しく、ECM の構成分子の生体内動態は不明のままであった。そこで、本研究は非破壊非染色で分子構造を可視化できる分光光学解析法(赤外分光およびラマン)と AI を組合せたデータ駆動型分析技術を導入することで、ハダカデバネズミの様々な ECM 構成分子(糖鎖・脂質・アパタイト等)を空間情報とともに解析を行った。

【材料と方法】

54 週齢のハダカデバネズミは熊本大学より入手した(熊本大学動物実験委員会承認: A2020-042, A2022-079)。コントロールとして、同じ週齢の C57BL/6 マウスを使用した。頭部を摘出し、単純エックス線撮影で歯冠・歯根の形態を観察、マイクロ CT で下顎頭の形態観察、骨密度の測定を行った。HE 染色で顎関節組織の形態観察を行い、分光学的手法(放射光赤外分光・ラマン分光)で ECM の分子局在を可視化した。FT-IR イメージングは、立命館大学 SR センター-BL-15 赤外顕微鏡を用いて取得した。スペクトル分析は材料解析アプリである WAVEBASE (トヨタ自動車)で行った。

【結果と考察】

エックス線写真より、ハダカデバネズミの切歯の歯冠、歯根はマウスよりも著しく長いことが明らかとなった。また、ハダカデバネズミの下顎頭は摩耗されず、形態が維持されていた。ハダカデバネズミの顎関節を構成する関節円板(顎の開け閉めをスムーズにするクッション)は、束状のコラーゲン線維とヒアルロン酸を有する軟骨様組織で構成されていることを見出した。この ECM 構造が咬合力を緩和し、下顎頭を保護していることが推察された。さらに、これまで研究者の勘で行われていた特徴量抽出を、AI が自動で行うことで解析時間の短縮とヒトでは判別できない微視的なスペクトルの変化を検出することに成功した。以上より、ハダカデバネズミにおける老化耐性の分子メカニズムの一端を明らかにした。本法で用いた動物モデルや解析技術は、様々な老化関連疾患の病態解明に資することが期待される。

【参考文献】

Adachi T., Imamura H, Yaji T, et al. Spectroscopic Analysis of the Extracellular Matrix in Naked Mole-Rat Temporomandibular Joints. Gels. 2025; 11(6), 414. doi.org/10.3390/gels11060414

【謝辞】

本研究を遂行する上でご指導、ご鞭撻をいただいた、熊本大学三浦 恭子 教授、Nova Southeastern University 河井 敬久 教授、北海道医療大学 柴田 俊一 教授、京都工芸繊維大学 朱 文亮 教授、関西医科大学 Giuseppe Pezzotti 教授に深謝の意を表す。また、本研究は JSPS 科研費 (18K09774, 25K 13052)、京都 4 大学連携研究(公募型)の助成によるものである。

失活歯露出根面の感染経路としてのリスク評価

岩手医科大学歯学部 歯科保存学講座う蝕治療学分野

○相上雄亮, 北條友宣, 東 兼司, 大塚泰寛, 鈴木大平, 浅野明子, 野田 守

Risk assessment of exposed root surface as an infectious pathway

Division of Operative Dentistry and Endodontics, Department of Conservative Dentistry,
School of Dentistry, Iwate Medical University

○Yusuke Aigami, Tomohisa Hojyo, Kenji Higashi, Yasuhiro Ootsuka, Taihei Suzuki, Akiko Asano,
Mamoru Noda

[目 的]

周術期口腔管理の主な目的の一つに、口腔経由の感染経路の遮断があげられる。失活歯の象牙質は生物学的防御機構を有しておらず、歯肉退縮などで歯根表面が口腔内環境に直接さらされると、開口した象牙細管を經由して細菌の侵入経路となる。本研究ではウシ歯根を用いて、歯根表面からの細菌侵入リスクを色素浸透法とデジタル画像立体構築により評価した。

[材料と方法] 本研究は岩手医科大学動物実験委員会の承認を受けて行った (#06-004)。

ウシ下顎前歯を歯頸部で歯軸方向に対して垂直に分割し歯根部を用いた。ウシ歯根部の根管に規格根管形成($\phi=2\text{mm}$, $\text{depth}=10\text{mm}$, $n=12$)後、築造用コンポジットレジンにて支台築造を行った(ボンドマーライトレスIIおよびエステコア, トクヤマデンタル)。

6 試料には、歯冠側より根尖方向に 1mm の位置に箱型窩洞を歯根全周に形成($\text{width}=2\text{mm}$, $\text{depth}=0.5\text{mm}$)した(窩洞群)。窩洞群は窩洞以外のすべての部分をネイルバーニッシュで覆った。残りの 6 試料を対照群とした。窩洞は形成せず、窩洞群と同様にネイルバーニッシュで覆った。バーニッシュ乾燥後、0.1% トルイジンブルー水溶液中に 7 日間浸漬した。その後、試料をダイヤモンドディスクで歯冠側から歯軸に垂直に研削(ISOMET, Buehler)しながら、 $300\mu\text{m}$ ごとにデジタルマイクロスコープ(ViTiny UM12, Microlinks Technologies)で撮像(4.5mm, 15images)分を撮像した。得られた画像を画像解析ソフト(Image J, ver1.53e, NIH)により色素浸透領域の定量評価を行った。測定領域は、根管から外側へ半径 0.5mm の環状領域を 12 等分した分割領域とした(図 1)。分割領域でそれぞれの着色率を計算し、75%以上の着色が見られた領域を「色素浸透あり」と判定した。また、同じ研削部位での窩洞形成群と窩洞非形成群の着色率を Mann-Whitney の U 検定($\alpha=0.003$)で比較し、窩洞の有無による根管象牙質への色素浸透の影響を調べた。



Fig.1 Measured sites of bovine tooth

[結果および考察]

窩洞群では窩洞を含む研削部位 (No.4 - 9: 歯根上端から歯根方向に 1.0 - 2.8mm の範囲) で色素浸透領域は増加し、窩洞よりも歯根方向の研削部位では徐々に減少した(図 2)。研削部位 No.9(切断面より根尖側 2.8mm)では、44/72 (61%) で「色素浸透あり」と判断され、最大値を示した。対照群では「色素浸透あり」と判定された領域はなく、同じ研削部位での窩洞群と対照群の着色率はすべての部位で有意差が認められた ($p<0.01$)。

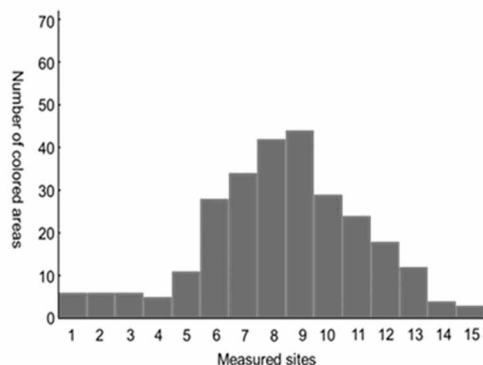


Fig.2 Number of colored areas

また、窩洞群での色素浸透は形成部位より約 1.2mm 根尖側にみられることから、象牙細管に沿った浸透であると思われる。また、一部の試料で微細な亀裂が存在した場合は、細管構造とは関係なく色素浸透が認められた。以上より、失活歯露出根面の象牙細管開口部より歯髓側へ細管構造に沿った液相移動により、自走能を持たない細菌でも、歯根表面から歯髓側へ侵入する可能性が示唆された。今後は、液相条件、液相移動条件などより詳細に、失活歯を介した感染経路について調査を行う予定である。

実験的慢性歯周炎は ANGPTL2 を介して大腸腫瘍の増悪に関与する

愛知学院大学歯学部歯周病学講座

○山下 美華、山本 弦太、勝又 皓大、立川 直遊、竹内 大喜、小野 皓大、
西田 英作、大野 祐、林 潤一郎、菊池 毅、三谷 章雄

Experimental periodontitis is involved in the progression of colorectal cancer via ANGPTL2.

Aichi Gakuin University, School of Dentistry, Department of Periodontology

○Mika Yamashita, Genta Yamamoto, Kodai Katsumata, Naoyu Tachikawa, Daiki Takeuchi
Kodai Ono, Eisaku Nishida, Yu Ono, Junichiro Hayashi, Tsuyoshi Kikuchi, Akio Mitani

【研究目的】

大腸がん(colorectal cancer : CRC) は、死亡原因として世界で 2 番目に多いがんである。疫学研究では、歯周病による CRC 発症の相対リスクは 1.45 倍であるとされており、実験動物を用いた研究においても、歯周炎が CRC を促進するという報告が増えてきている。しかしながら、CRC の発生における歯周炎の病因的役割については、まだ完全には解明されていない。一方、ANGPTL2 は、慢性炎症、血管新生を促進し、腫瘍の微小環境を悪化させる多機能分泌タンパク質であり、がんの進行に関与することが知られている。本研究で我々はこの ANGPTL2 に着目し、大腸がんモデルマウスに絹糸結紮ならびに歯周病原細菌の病原因子により実験的慢性歯周炎を惹起させ、歯周炎が大腸がんの進行、増悪に及ぼす影響について検討を行った。

【材料および方法】

6 週齢雄性 C57/BL6J マウスに発がん性物質であるアゾキシメタンを腹腔内投与、その後 2%デキストラン硫酸ナトリウム溶液を 1 週間、通常飲料水 2 週間の計 3 週間投与を 3 クール行った。歯周炎群は 5 週齢時に上顎両側第二臼歯へ 5-0 絹糸を用いて結紮を行った。その後 7 週齢時より結紮糸周囲肉内に *P. gingivalis* LPS (2.0μl/μg) 10μl を週 2 回投与した。対照群は結紮を行わず同部位への PBS 注入のみとした。実験的慢性歯周炎の誘導は屠殺時まで持続的に行なった。19 週齢時に屠殺を行い、歯周組織ならびに大腸がん病変部の組織学的・形態学的解析、ANGPTL2 など各種炎症性サイトカインの遺伝子発現、タンパク産生について検討した。統計解析には、Mann-Whitney の U 検定を用いた。本実験は、愛知学院大学動物実験委員会（承認番号：AGUD510-2）の承認を得て行われた。

【結果】

慢性歯周炎群は対照群と比較して、腫瘍体積は有意に増加した。また、実験期間を通して生存率の低下傾向を認めた。歯周組織の免疫組織化学染色の結果において、実験的慢性歯周炎の誘導により ANGPTL2 陽性細胞は有意に増加していた。また、ELISA による血清中の ANGPTL2 解析の結果、歯周炎群において有意な産生増加が確認された。一方、大腸腫瘍組織の組織学的解析では、慢性歯周炎群において顕著な異型性度と Ki67 陽性細胞増加を観察した。さらに免疫組織化学染色ならびに ELISA の結果、大腸腫瘍組織においても ANGPTL2 の有意な産生増加を認めた。

【考察】

本研究において、絹糸結紮と歯周病原細菌由来の LPS 投与により誘発した実験的慢性歯周炎が AOM/DSS 誘発性大腸がんモデルマウスの腫瘍の増大と腫瘍組織内の増殖マーカー Ki67 および ANGPTL2 の発現を著しく増加させることを明らかにした。本研究において慢性歯周炎群の歯周組織ならびに血清中の ANGPTL2 産生が有意に増加していたことから、大腸腫瘍の増大には歯周局所の ANGPTL2 が一つの因子として関与している可能性が示唆された。

本研究結果から、歯周炎によって増加した局所の ANGPTL2 が持続的に全身循環に入り、血流を介して他の臓器に影響を与える可能性が示唆された。

【結論】

慢性歯周炎が ANGPTL2 を介して CRC の進行を促進する可能性が示された。ANGPTL2 は、口腔と全身疾患をつなぐ分子メディエーターとして注目されるタンパク質であり、歯周治療・口腔ケアにより歯周組織の炎症を抑制することは、特に CRC のリスクが高い患者において、がんの進行を緩和する新しい戦略となる可能性がある。

実験的歯周炎・インプラント周囲炎モデルマウスにおける高血糖と全身性炎症の影響

広島大学 歯周病態学研究室
○目見田 匠 松田 真司 水野 智仁

Impact of hyperglycemia and systemic-inflammation in experimental periodontitis/peri-implantitis in mice

Department of Periodontology Hiroshima University
○Takumi Memida, Shinji Matsuda, Noriyoshi Mizuno

【目的】

糖尿病 (DM) はインプラント周囲炎の危険因子として広く認識されているが、DM におけるどのような全身的变化が口腔細菌叢のディスバイオシスを引き起こすのか、またそのディスバイオシスがインプラント周囲炎の病原性を惹起するのかは明らかでない。本研究では、糖尿病マウスモデルを用い、全身性炎症および高血糖が実験的インプラント周囲炎に果たす役割を検討した。

【方法】

4 週齢の WT (C57BL/6) マウス、db/db マウス (B6. BKS (D)-Lepr^{db}/J) を用い、結紮誘発性インプラント周囲炎を作製した。血糖値と体重は週 1 回測定した。左上顎第一・第二臼歯を抜歯し、6 週間後にインプラントを埋入、その 2 週間後に結紮を行った。対側上顎第二臼歯にも同時に結紮を行った。WT マウスはインプラント埋入群をコントロール群として使用した。DM マウスは以下の 5 群に分けた：インプラントのみの対照群 (Implant-only)、インプラント+結紮群 (Lig)、インプラント+結紮+Indomethacin 投与群 (INDO；全身性炎症抑制、1 mg/kg、週 1 回、腹腔内投与)、インプラント+結紮+Liraglutide 投与群 (LIRA；高血糖管理、400 µg/kg、毎日、皮下投与)、およびインプラント+結紮+INDO+LIRA 群 (INDO+LIRA)。骨吸収はマイクロ CT で評価した。血清 CRP 濃度は ELISA で測定した。インプラント周囲および歯周歯肉組織の炎症・骨代謝関連遺伝子発現は qRT-PCR で評価した。炎症細胞浸潤は HE 染色で、破骨細胞活性は TRAP 染色で解析した。さらに、RAGE また、各群から分離した細菌叢は 16S rRNA シークエンス解析を行い、全身への薬理的介入が口腔内細菌叢へ及ぼす変化を確認すると共に、口腔粘膜上皮細胞および脾細胞と共培養し、その病原性を評価した。本実験は、Nova Southeastern University の IACUC によって承認された。(承認番号；#2023.08.XH2)

【結果】

Liraglutide は血糖値を有意に低下させ ($p<0.05$)、Indomethacin は血清 CRP を低下させた ($p<0.01$)。結紮により歯周部位およびインプラント周囲部位で有意な骨吸収が生じ、インプラント側でより顕著であった ($p<0.0001$)。骨吸収および TRAP 陽性細胞数は Liraglutide 単独または併用群で有意に減少したが、Indomethacin 単独では効果が乏しかった。RANKL/OPG 比はインプラント側で高く、Liraglutide 群で抑制された。炎症性サイトカイン (IL-1 β , TNF- α , IL-17) は結紮により両部位で上昇し、Liraglutide 群で有意に抑制された。IL-10 および IL-1ra は歯周側で高く、インプラント側では結紮群で低下し、Liraglutide 投与により回復した。VEGF α は両側で低下し、Liraglutide 群で特にインプラント側で回復した。HE 染色では結紮により炎症細胞浸潤が増加し、Liraglutide 群で有意に減少した。終末糖化産物受容体 (Receptor for Advanced Glycation End-products: RAGE) 発現は結紮により両部位で上昇し、Liraglutide 群で有意に抑制された。16S rRNA 解析では、糖尿病コントロールと比較して結紮群で細菌叢多様性が変化し、歯周側で顕著だった。 β 多様性解析では、インプラント側で Liraglutide および併用群は WT との差が小さかった。機能解析では、結紮群由来の細菌叢は上皮細胞・脾細胞で TNF- α 産生を増加させたが、Liraglutide および併用群由来では抑制された。

【結論および考察】

本研究は、糖尿病マウスにおいて高血糖が全身性炎症よりもインプラント周囲炎の骨吸収、炎症反応、免疫異常、細菌叢病原性の変化に強く寄与することを示した。両部位で同様の傾向を示したが、インプラント周囲では骨吸収・破骨細胞形成、RAGE 発現がより顕著であった。血糖管理 (Liraglutide) はこれらの病理変化を有意に改善し、特にインプラント周囲で顕著な効果を示した一方、全身性炎症抑制単独では効果が限定的であった。本研究の結果は、インプラント周囲炎において高血糖が主要な病原因子になりうることを示唆している。

唾液と血液を用いた重度歯周病患者受診勧奨用アルゴリズムの開発

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 東北大学病院歯内療法科

³ 東京科学大学大学院医歯学総合研究科口腔機能再構築学講座歯髓生物学分野

○野口 知勢¹, 梶原 貴子², 齋藤 麻梨奈¹, 遠山 芙紗実¹, 原田 芙太巴², 中野 将人²,
鎌野 優弥², 八幡 祥生³, 齋藤 正寛¹

Development of an algorithm for recommending visits to the dentist for patients with severe periodontitis using saliva and blood

¹ Division of Operative Dentistry, Department of Ecological Dentistry, Tohoku University Graduate School of Dentistry

² Tohoku University Hospital, Endodontic clinic

³ Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Science, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Institute of Science Tokyo

○Tomose Noguchi¹, Takako Kajiwara², Marina Saito¹, Fusami Toyama¹, Futaba Harada², Masato Nakano²,
Yuya Kamano², Yoshio Yahata³, Masahiro Saito¹

【背景】

現在の日本では歯科保健を増進していく中で 8020 運動が健康増進法に取り組みられ、2016 年歯科疾患実態調査では 8020 運動は 50%を達成した。一方で歯周病罹患率は増加しており、2022 年歯科疾患実態調査では国民の 48%が 4 mm 以上の歯周ポケットを有していた。また、歯科健診制度において 20 代・30 代の健診制度が存在せず、40 歳から 70 歳を対象に実施される歯周疾患検診の推定受診率がわずか 5%にとどまっている。それゆえ、受診時には歯周病が一定程度進行していることが問題である。この課題の解決のため、骨太の方針 2023 で国民皆歯科健診の取り組み推進が記載された。これは、歯周病の重症化を予防することで全身疾患の増悪化を予防し健康寿命の延伸、健康格差の縮小、医療費の削減を図るという試みである。しかし、歯周病の診断には多くの検査を必要とし、1000 人以上規模を対象とした健診事業には不向きである。そのため、大規模な健診事業でも実施可能な簡便な新規検査方法の開発が必要である。

【研究方法】

1. 対象患者：東北大学歯学部倫理委員会の承認を受け(受付 36211)、東北大学病院歯内療法科、周術期口腔管理部および東京ミッドタウンデンタルクリニックの歯科診療所に歯周病と診断された 75 名を被検者とした。
2. 歯周病検査：被験者は歯周病精密検査(歯周ポケット測定, CAL 測定, BOP, 動揺度, PCR), 10 枚法デンタルエックス線撮影またはパノラマエックス線撮影および口腔内写真撮影を行い、歯周病の Stage と Grade 分類を行った。また血液検査も同時に実施した。
3. 唾液を用いた Red Complex の検出：被験者から採取した唾液から DNA を抽出し *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Filifactor alocis* の菌量を定量 PCR 法によって測定し、重度歯周病患者と軽度歯周病患者の口腔内細菌量の差を Mann-Whitney U test を用いて検証した(有意水準 $\alpha=0.05$)。
4. アルゴリズムの開発：Stage3 および Stage4 かつ Grade C をスクリーニングするアルゴリズムの作成を目的に歯周病原因細菌、血液検査項目を説明変数としたロジスティック回帰分析を行なった。診断精度の検証のために ROC 解析を行なった(有意水準 $\alpha=0.05$)。

【結果】

75 名の被験者の解析を行い、内訳は男性:37 人, 女性:38 人, 年齢:50.2 $\pm$ 12.0 歳, PPD:2.6 $\pm$ 0.6 mm BOP:29.4 $\pm$ 20.1%, PCR:44.3 $\pm$ 24.5%, 喫煙者率:10.6%だった。歯周炎精密検査の結果 Stage3 GradA は 6 人, 年齢:39.5 $\pm$ 6.8 歳, PPD:2.5 $\pm$ 0.1 mm, BOP:41.5 $\pm$ 18.8%, PCR:49.5 $\pm$ 26.4%だった。Stage3 GradC は 4 人, 年齢:55.5 $\pm$ 12.6 歳, PPD:2.7 $\pm$ 1.0 mm, BOP:36.6 $\pm$ 36.4%, PCR:41.5 $\pm$ 20.4%だった。Stage4 GradeC は 15 人, 年齢:60.2 $\pm$ 9.7 歳, PPD:3.3 $\pm$ 0.9 mm, BOP:30.0 $\pm$ 24.4%, PCR:54.1 $\pm$ 25.2%となった。唾液内の Red Complex を定量した結果, *Porphyromonas gingivalis* が重度歯周病患者群で有意に多く検出された。これらのデータを基に重度歯周病をスクリーニングするロジスティック回帰分析を行い, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* の細菌数, 血液検査項目の CRP, 白血球数, LDL, HDL, HbA1c が説明変数として作成したアルゴリズムを ROC 解析した結果, 感度; 0.789, 特異度; 0.875, AUC; 0.825 であった。

【まとめ】

唾液検査と血液検査の組み合わせにより、簡易的に重度歯周病をスクリーニングするアルゴリズムを開発した。この技術を用いることにより職域世代における国民皆歯科健診で求められる大規模な歯周病スクリーニング検査の基盤技術になる可能性が示された。

骨髄間葉系間質細胞集塊と Bio3D プリンタを用いて作製した移植体は ビーグル犬 1 壁性骨欠損モデルにおける歯周組織再生を誘導する

¹ 広島大学病院 口腔先端治療開発学研究室(口腔検査センター),

² 広島大学大学院医系科学研究科 歯髄生物学研究室, ³ 株式会社サイフューズ

○安田 雅空斗¹, 武田 克浩², 吉本 哲也¹, 森本 慎¹, 吉野 舞¹, 高井 治美³, 鳥井 蓉子³,
前川 敏彦³, 新谷 智章¹, 加治屋 幹人¹

Bio-3D printed grafts of clumps of MSCs/ECM complexes induce periodontal tissue regeneration in a beagle dog one-wall defect model

¹Department of Innovation & Precision Dentistry(Center of Oral Clinical Examination), Hiroshima University Hospital,

²Department of Biological Endodontics, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University, ³Cyfuse Biomedical K.K.

○Gakuto Yasuda¹, Katsuhiko Takeda², Tetsuya Yoshimoto¹, Shin Morimoto¹, Mai Yoshino¹,
Harumi Takai³, Yoko Torii³, Toshihiko Maekawa³, Tomoaki Shintani¹, Mikihiro Kajiya¹

【背景と目的】 重度歯周炎による歯周組織の喪失は不可逆的である。そこで、失われた歯周組織を再生させるために、生体外から機能的な細胞を補充する細胞治療の開発研究が盛んになされてきた。特に、自己増殖能・多分化能を有する間葉系間質細胞(Mesenchymal stromal cells (MSCs))を投与する研究が長年行われてきたが、決定的な組織再生効果は得られていない。私たちの研究室では、MSCs の細胞機能を効果的に発揮させることが可能な、人工材料を含まないスキャフォールドフリー細胞治療法の実現を目指し、MSCs と細胞自身が産生する細胞外基質(Extracellular matrix, ECM)からなる細胞集塊 Clumps of MSCs/ECM complexes(C-MSCs)を樹立した(Takewaki et al. J Dent Res, 2017)。さらに Bio3D プリンタ(Regenova®, Cyfuse Biomedical K.K.)技術を応用し、この C-MSCs を三次元的に積層・複合化することで、大規模な組織欠損部に対しても容易に移植可能で、移植された細胞が確実に定着し、適切な細胞分化能を発揮することで歯周組織再生を誘導する Bio 3D 移植体の開発を行ってきた。これまでに、免疫不全ヌードラット歯周組織欠損モデルを用いてヒト骨髄由来 MSCs から製造するヒト Bio 3D 移植体の歯周組織再生効果を確認した(第 24 回日本再生医療学会総会発表)。この技術を臨床応用するためには、さらにヒトへの外挿性が高い大型動物実験モデルでの有効性を示す必要がある。そこで本研究では、イヌ 1 壁性歯周組織欠損モデルに対して、自家骨髄由来 Bio 3D 移植体を製造・移植する実験によって、その歯周組織再生効果について示すことを目的とした。

【方法】 本研究は広島大学動物実験委員会において承認され、実施された(承認番号:A24-25-2)。ビーグル犬の腸骨より採取した骨髄液 5mL から MSCs を分離し、10%ウシ胎児血清(FBS)を含む DMEM 培地を用いて拡大培養を行った。次に ECM 産生を促すためアスコルビン酸を添加した培地を用い、24 穴プレートに 1.4×10^5 cells/well の密度で 4 日間高密度培養を行い、細胞シートを形成させた。形成した細胞シートを機械的に剥離し、浮遊培養することで自己組織化を誘導し、球状の細胞集塊 C-MSCs を作製した。さらに、イヌ 1 壁性骨欠損モデルに適合する Bio3D 移植体を作製するために、C-MSCs を Bio3D プリンタシステムの剣山に縦 5 個×横 5 個積層し、7 日間培養を継続した。隣接する C-MSCs 同士は互いに融合し、板状の Bio 3D 移植体を得られた。作製した C-MSCs と Bio 3D 移植体について、HE 染色および I 型コラーゲン(COLI)に対する免疫染色を行い、その組織学的特徴を比較検討した。加えて、MSCs を採取した個体と同一個体の下顎第一大臼歯の近心側に、1 壁性骨欠損(近遠心幅 5mm×深さ 6mm)を外科的に作製し、Bio 3D 移植体 5 個を直接移植した。移植後 4、6、8 週の時点でデンタル X 線規格撮影を行い、骨再生過程を経時的に評価した。移植後 8 週間後に屠殺し、マイクロ CT を用いて新生歯槽骨の三次元的な形態解析を行った。

【結果】 組織学的観察の結果、直径約 1mm の単体 C-MSCs は、細胞と COLI タンパク質を主成分とする ECM によって構築されていた。また 25 個の C-MSCs の積層・融合によって得られる大きさ約 $5 \times 5 \times 1$ mm の Bio 3D 移植体においても同様に、細胞と COLI タンパク質から成る組織構造が確認された。1 壁性骨欠損モデルにおける Bio3D 移植体の骨再生効果を、デンタル X 線画像で経時的に評価した結果、移植後 6 週後には、作製した欠損部に不透過物の形成が認められた。移植 8 週間後には、その不透過性の亢進および不透過物範囲の増大を認めた。さらに、移植後 8 週におけるマイクロ CT による三次元的画像解析では、欠損部周囲骨と連続する緻密な新生骨を認めた。

【考察および結論】 自己産生 ECM を足場とするスキャフォールドフリーの自家骨髄由来 Bio 3D 移植体は、大型動物の 1 壁性歯周組織欠損モデルにおいて良好な歯周組織再生を誘導した。以上のことから、Bio 3D 移植体はヒト重度歯周炎に対する新規歯周組織再生療法として有望であり、今後臨床応用される可能性が示唆された。

Bone Regenerative Potential of Exosomes Derived from Wharton's Jelly Mesenchymal Stromal Cells

○Shalina Ricardo^{1,4}, Yuya Kamano^{1,2}, Futaba Harada², Yoshio Yahata^{1,3}, Anggraini Margono⁴, Masahiro Saito¹

¹Departement of Operative Dentistry, Graduate School of Dentistry, Tohoku University

²Departement of Endodontics, Tohoku University Hospital

³Departement of Pulp Biology and Endodontics, Faculty of Dentistry, Institute of Science Tokyo

⁴Departement of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia

Background: Bone regeneration therapy has been approached using various methods such as grafting, scaffolds and growth factors. While these methods have shown some efficacy in treating small bone defects, there is still a pressing need for innovative technologies to enhance the regeneration of larger defects. Exosomes are biomolecular nanostructures released by a variety of cells that play an important role in cell-to-cell communication by delivering functional biomolecules. Among them, Wharton's Jelly (WJ) MSC-derived exosomes present a fascinating avenue of research with significant implications for acceleration of bone wound healing. However, their effectiveness in addressing the regeneration of large bone defects remains uncertain, warranting further investigation.

Objective: To evaluate the potential of WJ MSC-derived exosomes develop as a promising avenue for bone regeneration using in vitro osteoblast differentiation assay and a bone defect transplantation model.

Material and methods: All animal experimental procedures were approved by the Institutional Laboratory Animal Care and Use Committee of Tohoku University (No. 2023SHIDO-020-06)

Exosome preparation: WJ MSC-derived exosomes were obtained from Wharton Jelly of umbilical cord tissue and tetraspanin (CD 63, CD81 and CD9) were characterized using flow cytometry,

Osteogenic differentiation assay: Primary osteoblast cells treated with WJ MSC-derived exosomes at concentration of 0.5%, 1% and 5%. Mineralization activity was assessed by alizarin red staining and alkaline phosphatase (ALP) activity assays. Gene expression analysis was performed to assess the effect of WJ MSC-derived exosome on osteogenic marker genes (COL1A, BSP, OCN, OPN and Runx2).

Critical bone defect assay: Seven weeks old Wistar rats underwent a 5 mm diameter critical bone defect using a trephine burr. WJ MSC-derived exosomes were embedded in the lesions at 5%, 10% and 50% using a collagen sponge. At 2, 4 and 6 months post-implantation, bone volume were analysed using micro-CT and histological staining using HE was performed to assess new bone formation.

Results: ALP and Alizarin Red staining showed a markedly higher degree of mineralisation in the 5% WJ MSC-derived Exos group compared to the other groups. qPCR results revealed a dose-dependent increase in the expression of osteogenic markers including type I collagen, bone sialoprotein, osteocalcin, osteopontin and Runx2. Micro-CT analysis at 2, 4 and 6 months post-transplantation showed a significant increase in bone healing in the exosome-treated groups compared to the control group. Histological staining supported these findings, showing more extensive bone formation in the exosome-treated groups. Notably, the 50% concentration exhibit well organised bone matrix with superior integration of the surrounding tissue, further confirming the osteogenic potential of WJ MSC-derived exosomes at higher concentrations.

Conclusion: Wharton's Jelly MSC-derived exosomes effectively promote bone regeneration, offering a promising approach to enhance outcomes in endodontic surgery with large bone defects.

関節リウマチモデルマウスに対する直接覆髄における歯髄治癒過程

¹⁾ 神奈川歯科大学 歯科保存学講座 歯内療法学分野、²⁾ 日本歯科大学、³⁾ 日本歯科大学 総合診療科 1
○山根雅仁¹⁾、山崎詩織¹⁾、糸永和広¹⁾、石井信之²⁾、武藤徳子³⁾

Pulp Healing Process in Direct Pulp Capping in a Mouse Model of Rheumatoid Arthritis

¹⁾ Department of Endodontics, Kanagawa Dental University, ²⁾ Nippon Dental University, ³⁾ Division of General Dentistry 1, The Nippon Dental University Hospital
○YAMANE Masahito¹⁾, YAMAZAKI Shiori¹⁾, ITONAGA Kazuhiro¹⁾, Ishii Nobuyuki²⁾, MUTOH Noriko³⁾

【目的】

自己免疫疾患の関節リウマチ (RA) は自己の正常細胞や組織を抗原とした過剰免疫応答によって組織傷害を誘導し、慢性炎症と全身性免疫異常を特徴とする疾患である。自己免疫疾患が歯髄炎や歯周炎の進行に影響することが報告されているが歯髄炎の治癒過程におよぼす影響については十分に解明されていない。本研究は RA モデルマウスを用いて直接覆髄後の歯髄治癒過程に対する自己免疫疾患の影響を検討することを目的とした。

【材料および方法】

RA モデルマウス (SKG マウス; 実験群) と正常免疫機能マウス (BALB/c マウス; 対照群) を使用した (雌、各群 n=24)。6 週齢の SKG マウスにラミナリンを腹腔内投与し、関節炎の発症を誘導した後、8 週齢の各群マウスに三種混合麻酔薬の腹腔内投与による全身麻酔下でエアタービンにて両側上顎第一臼歯咬合面を露髄後、Mineral Trioxide Aggregate (MTA) を用いて直接覆髄を行いグラスアイオノマーセメントで仮封を実施した。術後 7 日目と 14 日目に深麻酔下にて 4% パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定を行い、被験歯を顎骨ごと摘出し、脱灰後、パラフィン包埋を行い、厚さ 4 μm の切片を作製した。歯髄炎における細胞動態を HE 染色にて行い、抗 Nestin 抗体 (象牙芽細胞)、抗 F4/80、抗 CD206 抗体 (マクロファージ) を用いて免疫組織学的解析を行い、さらに TUNEL 染色にてアポトーシス細胞の動態解析を行った。本研究は神奈川歯科大学実験動物倫理委員会の承認 (No.023-017) を得て実施した。

【結果】

直接覆髄後 7 日において、対照群と比較して RA 群では有意に覆髄面直下に炎症性細胞の浸潤を認めた一方で、象牙芽細胞は有意に減少した。アポトーシスは RA 群において術後 7 日から 14 日で有意に増加したが対照群は有意に減少した。マクロファージ (M1, M2) は直接覆髄後 7 日の RA 群で直接覆髄面直下から髄床底、歯根中央部まで陽性細胞が認められ 14 日に陽性細胞数が有意に増加した。対照群の陽性細胞は 7 日と比較して 14 日で有意に減少した。M2 マクロファージの動態は RA 群において術後 7 日で直接覆髄面直下の歯冠歯髄から歯根歯髄 1/3 まで陽性細胞が認められ、14 日で髄床底および歯髄腔全体に広がっていたが有意差は認められなかった。対照群の陽性細胞は術後 7 日で RA 群と比較して有意に多く、術後 14 日で有意に減少した。

【考察】

RA 群において炎症遷延とマクロファージの極性偏位が認められ、RA の特徴である慢性的なサイトカイン刺激によるマクロファージの活性化と組織破壊が歯髄組織においても同様に生じた可能性が示唆された。RA 群における Nestin 陽性象牙芽細胞の著明な減少は、Th17 細胞や自己抗体による幹細胞分化制御の破綻が関与する可能性が考えられた。7 日から 14 日におけるアポトーシスの経時的な変化は RA 群と対照群で相反する結果となった。RA では炎症の波及遅延が報告されており、アポトーシスのピークが遅延したことで 7 日の TUNEL 陽性細胞数において RA 群が対照群よりも低くなったと考えられた。マクロファージの極性解析において RA 群の 7 日から 14 日後で M1 型に偏位していることが明らかとなった。これは RA における局所の免疫応答性の破綻が歯髄治癒を阻害している可能性を示唆している。本研究により関節リウマチに代表される自己免疫疾患の炎症病態は歯髄組織の治癒を阻害し、象牙芽細胞再生阻害とアポトーシス増加、マクロファージの炎症性極性変化を通じて治癒過程を遅延・破綻させる可能性が示された。自己免疫疾患患者に対する直接覆髄を含めた歯髄保存療法を選択するにあたり、炎症の持続と治癒不全の影響を考慮する必要があることから、疾患特性を考慮した治療方略の検討が必要であると考えられる。

細胞接着分子 ICAM2 による歯髄細胞の象牙芽細胞様分化の制御

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
○田下滉大¹⁾, 長谷川大学²⁾, 黄玉鑫¹⁾, 趙赫¹⁾, 前田英史^{1,2)}

Regulation of odontoblast-like differentiation of dental pulp cells by ICAM2

¹⁾Department of Endodontology and Operative Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University,
²⁾Department of Endodontology, Kyushu University Hospital
○Koudai Tashita¹⁾, Daigaku Hasegawa²⁾, Yuxin Huang¹⁾, Zhao He¹⁾, Hidefumi Maeda^{1,2)}

【背景および目的】

細胞接着分子 Intercellular Adhesion Molecule (ICAM) は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜貫通型の糖タンパク質であり、組織の恒常性維持ならびに再生に関与することが知られている (Miao-Tzu et al., 2005)。しかしながら、歯髄組織における ICAM の役割については明らかになっていない。そこで本研究では、5 つの ICAM ファミリーメンバーのうち、骨代謝に関与することが知られている ICAM2 (Xianglan Li et al., 2012) に着目し、歯髄細胞および歯髄組織における ICAM2 の発現、ならびに ICAM2 が歯髄細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響について検討することとした。

【材料および方法】

(1) 歯髄細胞における ICAM2 の発現：本研究に同意が得られた患者の抜去歯より採取した初代ヒト歯髄細胞 (HDPC) における ICAM2 の遺伝子発現について、半定量的 RT-PCR 法にて解析を行った。また、タンパク発現については、抗 ICAM2 抗体を用いて蛍光免疫染色およびフローサイトメトリー分析を行った。**(2) 歯髄組織における ICAM2 の発現**：SD ラット (10 週齢、雄性) の上顎第一臼歯の組織切片を作製し、抗 ICAM2 抗体を用いて蛍光免疫染色を行った。**(3) 修復象牙質形成過程における ICAM2 の発現変化**：SD ラットの上顎第一臼歯の近心咬頭にラウンドバーにて露髄部を形成後、MTA にて直接覆髄を行った。覆髄後 1, 3, 5, 7, 14 日の覆髄部直下 (修復象牙質形成部位) における ICAM2 の経時的発現変化について、抗 ICAM2 抗体を用いた蛍光免疫染色にて解析した。**(4) ICAM2 が歯髄細胞の象牙芽細胞様分化に及ぼす影響**：siRNA により ICAM2 発現をノックダウンした HDPCs を象牙芽細胞分化誘導培地にて培養し、石灰化物形成能についてアリザリンレッド S (ARS) 染色、および象牙芽細胞分化関連マーカーを用いた定量的 RT-PCR 法により評価した。

(5) ICAM2 陽性歯髄細胞の培養上清が象牙芽細胞様分化に及ぼす影響：磁気活性化細胞分離法 (Magnetic cell sorting: MACS) を用いて HDPCs より ICAM2 陽性細胞ならびに陰性細胞の分離を行った後、それぞれの細胞の培養上清を含有した象牙芽細胞分化誘導培地にて HDPCs を培養し、その石灰化物形成能について ARS 染色により評価した。

本研究は、九州大学動物実験委員会 (承認番号：A26-181-0)、ならびに九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会 (承認番号：30-167) の承認を得て行った。

【結果】

(1) 遺伝子発現解析より、HDPCs による ICAM2 の発現を確認した。また、フローサイトメトリー分析より、HDPCs における ICAM2 陽性細胞数の割合は約 10%であった。(2) (3) 蛍光免疫染色より、ICAM2 は歯髄組織に発現し中でも血管ならびに象牙芽細胞に強く発現した。直接覆髄後の修復象牙質形成過程においては 3 日後に ICAM2 の発現が顕著に高くなり、その後正常レベルまで漸減した。(4) ICAM2 発現をノックダウンすることにより、HDPCs における ARS 陽性反応が亢進した。(5) HDPCs より分離した ICAM2 陽性細胞の培養上清により、HDPCs における ARS 陽性反応が低下した。

【考察】

直接覆髄後の修復象牙質形成過程において ICAM2 の発現が上昇することから、ICAM2 は歯髄において修復象牙質形成に関与することが示唆された。また、ICAM2 の発現低下により歯髄細胞の石灰化が亢進すること、ICAM2 陽性歯髄細胞の培養上清を添加することで歯髄細胞の石灰化が抑制されることから、ICAM2 発現歯髄細胞は歯髄において象牙芽細胞様分化を制御している可能性が示唆された。

【結論】

(1) ICAM2 はヒト歯髄細胞ならびにラット歯髄組織に発現する。(2) 直接覆髄後 3 日目において、覆髄部直下で ICAM2 発現が上昇する。(3) ICAM2 の発現低下により、ヒト歯髄細胞の象牙芽細胞様分化が亢進する。(4) ICAM2 陽性歯髄細胞の培養上清はヒト歯髄細胞の象牙芽細胞様分化を抑制する。

異種歯乳頭由来幹細胞を用いた再生歯内療法における有用性の評価

¹新潟大学 医歯学総合研究科口腔健康科学講座 歯学分野

²新潟大学 医歯学総合研究科口腔生命福祉学講座 口腔保健学分野

³福岡歯科大学 口腔治療学講座 歯科保存学分野

○高原信太郎¹, 大倉直人¹, Rosa Baldeon-Gutierrez¹, Susan Gomez-Kasimoto¹, Pemika Thongtade¹,
竹中彰治¹, 廣瀬陽菜³, 吉羽永子², 松崎英津子³, 野杵由一郎¹

Evaluation of the therapeutic efficacy of xenogeneic stem cells from apical papilla in regenerative endodontics

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

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

³Section of Operative Dentistry and Endodontology, Department of Odontology, Fukuoka Dental College

○Shintaro TAKAHARA¹, Naoto OHKURA¹, Rosa Baldeon-Gutierrez¹, Susan Gomez-Kasimoto¹, Pemika Thongtade¹,
Shoji TAKENAKA¹, Haruna HIROSE³, Nagako YOSHIBA², Etsuko MATSUZAKI³, and Yuichiro NOIRI¹

【目的】

根管治療歯は生活歯に比べ脆弱で、歯の喪失のリスクが高いことが知られている。近年、歯の構造強化と機能的回復を目指す再生歯内療法(Regenerative Endodontic Procedure: REP)が注目されている。中でも、自家由来の歯髄幹細胞(Dental Pulp Stem Cells: DPSCs)を用いた REP により、歯髄様組織の再生が可能であることが報告されている。しかしながら、自家 DPSCs の採取や保存には制約があり、希望するすべての患者に応用可能な治療法とは言いがたい。他方で、異種間葉系間質細胞(Mesenchymal Stromal Cells: MSCs)の有用性が再生医療分野で注目されている。また、歯乳頭由来幹細胞(Stem Cells from Apical Papilla: SCAP)は、歯の発生起源に由来し、高い再生能を有することから再生医療分野で注目されている。そこで本研究では、異種由来 MSCs としてマウス切歯 SCAP (mSCAP)を用い、ラット臼歯に対する REP を実施し、組織学的に評価することで、mSCAP による異種細胞移植が再生療法として有用か否かを検討した。本研究は科研費(25K13017, 19K10147, 21H0317B)の助成を受け遂行した。

【材料および方法】

本研究は新潟大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した(承認番号: SA01435)。根未完成歯である5週齢雄性 Wistar 系ラットを使用し、下顎左側第一臼歯の近心根に対して根尖孔まで歯髄を除去した後、培養した mSCAP 株をアテロコラーゲンと混合し、根管内に移植した(mSCAP 群)。また、比較群としてアテロコラーゲン単独移植群(Col 群)を作製した。処置後 28 日目に micro CT にて組織再生量を測定、脱灰切片を作製し、象牙質マーカー(Dentin sialoprotein)、象牙芽細胞マーカー(Nestin)、ならびに歯根膜マーカー(Periostin)による免疫組織学的解析によって治癒表現型を評価した。また、修復型マクロファージ(M2MΦ)マーカー(CD206)、MSCs マーカー[α-Smooth Muscle Actin (α-SMA), CD73, CD90, ならびに CD146]、神経マーカー(Neurofilament: NF および PGP9.5)による免疫組織学的解析を行い、M2MΦ および MSCs の遊走動態と根管内への神経再生の程度を評価した。

【結果および考察】

mSCAP 群および Col 群の両群において歯髄様組織の形成が確認されたが、mSCAP 群では Col 群と比較して再生組織量の増加傾向が認められた。M2MΦ および MSCs の根管内への遊走に関しては、mSCAP 群では根尖部における CD206 陽性細胞、α-SMA 陽性細胞、CD90 陽性細胞、および CD146 陽性細胞の出現が Col 群と比較して減少傾向を示した。CD73 陽性細胞は両群においてほとんど認められなかった。これらの結果は、mSCAP 群において M2MΦ および MSCs がすでに消退していることを示唆し、治癒過程が終盤に達している可能性を示した。さらに、NF 陽性細胞および PGP9.5 陽性細胞は、mSCAP 群において Col 群と比較して根管口側に多く分布する傾向を示し、mSCAP が神経再生に寄与した可能性を示した。以上の知見から、mSCAP は治癒の早期化に寄与したことが示唆されたが、組織再生量のさらなる増加には、他のアプローチとの併用が必要であると考えられた。

【結論】

異種 MSCs である mSCAP を用いた REP は、早期治癒および神経再生を伴う歯髄様組織の形成を促進する可能性が示されたが、組織再生量に関しては今後の課題が残された。

IGFBP3 はヒト歯根膜幹細胞における Smad2/3 経路を介したコラーゲン産生能と Akt 経路を介した骨分化能に関与する

¹九州大学大学院 歯学研究院 総合診療科学講座 総合診療科学分野

²九州大学病院 口腔総合診療科

³九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野

○王 恕心¹、御手洗 裕美²、冉 子晴¹、祐田 明香²、孫 偉浩¹、
林 佳文¹、原口 晃²、前田 英史³、和田 尚久¹

IGFBP3 regulates collagen production and osteogenic differentiation in human periodontal ligament stem cells via Smad2/3 and Akt pathways

¹Department of General Dentistry, Division of Interdisciplinary Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University

²Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital

³Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental science, Kyushu University

○Wang Shuxin¹, Hiromi Mitarai², Ran Ziqing¹, Asuka Yuda², Sun Weihao¹,
Lin Jiawen¹, Akira Haraguchi², Hidefumi Maeda³, Naohisa Wada¹

【Background】 Insulin-like growth factor binding protein 3 (IGFBP3), a member of the IGF system, is known to regulate some cell functions. In a previous conference, we have demonstrated that IGFBP3 was slightly expressed in E14 and E18 mouse tooth germs, and associated with cell proliferation, migration, and the expression of some PDL-related genes using IGFBP3 siRNA#1. We have also demonstrated that transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) induced IGFBP3 expression, and collagen production stimulated by TGF- β 1 was significantly downregulated in IGFBP3 knockdown PDL cells (The 159th Meeting of the Japanese Society of Conservative Dentistry). Nevertheless, the other functions and involvement of signaling molecules of IGFBP3 in PDL cells remain incompletely understood. This study aims to elucidate the precise roles of IGFBP3 in PDL function.

【Materials and methods】 We used a human PDL cell line (2-23 cells) that was previously established (Hasegawa, et al., 2018). For loss-of-function experiments targeting IGFBP3, we used two small interfering RNAs (siRNA#1 and #2). qRT-PCR was performed to analyze the mRNA expression of PDL-related genes; *Collagen IA2* (*COL-1A2*), *Smooth muscle actin* (*ACTA2*), *Collagen III* (*COL-3*), and *Periostin* (*POSTN*), and osteogenic makers; *Osteopontin* (*OPN*), *Bone sialoprotein* (*BSP*), and *Runt-related transcription factor 2* (*RUNX2*). Alizarin Red S staining was performed to analyze the effects of IGFBP3 on Ca²⁺-induced osteogenic differentiation (DM). To evaluate the effects on phosphorylation of Smad2/3 and Akt signaling pathway, we performed western blotting. All procedures were performed in compliance with requirements of the Institutional Review Board for Human Genome/Gene Research (approval number: 30-167), Research Ethics Committee (approval number: 27-76) at Kyushu University.

【Results】 We revealed that the mRNA expression which was upregulated by TGF- β 1; *COL-1A2*, *ACTA2*, *COL-3* and *POSTN*, was significantly downregulated in IGFBP3 knockdown group compared with control group. From western blotting analysis, phosphorylation of Smad2/3 was significantly downregulated in IGFBP3 knockdown group compared with control group. On the other hand, after culturing 2-23 cells with DM, osteogenic differentiation was induced in IGFBP3 knockdown group compared with control group, whereas significantly suppressed in 2-23 cells stimulated with recombinant IGFBP3. The mRNA expression of *OPN*, *BSP*, and *RUNX2*, was significantly upregulated in IGFBP3 knockdown group compared with control group. From western blotting analysis, phosphorylation of Akt was significantly upregulated in IGFBP3 knockdown group, while it was suppressed in recombinant IGFBP3 group compared with control group.

【Discussion】 IGFBP3 might be an essential factor involved in PDL homeostasis, regulating collagen production and osteogenic differentiation in human PDL cells. However, we could not analyze about precise experiment about signaling pathway, so further studies are needed.

【Conclusion】 In human PDL cell line, IGFBP3 plays a dual role by promoting collagen production and inhibiting osteogenic differentiation via Smad2/3 and Akt signaling pathways.

歯根膜細胞における RC3H1 の解析

大阪大学大学院歯学研究科 口腔治療学講座

○中谷 鞠子、山下 元三、田中 友晃、中村 友美、三木 康史、村上 伸也、竹立 匡秀

Analysis of RC3H1 in Periodontal Ligament Cells

Department of Periodontology and Regenerative Dentistry, Graduate School of Dentistry,
The University of Osaka

○Mariko Nakatani, Motozo Yamashita, Tomoaki Tanaka, Tomomi Nakamura, Koji Miki
Shinya Murakami, Masahide Takedachi

【目的】

病原体に対する免疫応答において中心的な役割を果たす炎症性サイトカインの遺伝子発現は、生体内で厳密に制御されている。炎症応答の開始や終結に際しては、遺伝子の転写のみならず、mRNA の安定性やタンパク翻訳を制御する転写後制御が重要である。RNA 結合タンパクの一つである RC3H1 (Roquin) は、炎症後期において TNF- α 、A20 などの NF- κ B 依存性炎症性サイトカインの mRNA の 3' 非翻訳領域のステムループ構造に結合することで分解を誘導することが明らかとなっており、その遺伝子変異は過剰な炎症性サイトカインの産生を介して自己免疫疾患の発症に密接に関係することが報告されている。しかしながら、歯周炎の病態における RC3H1 の役割について未だ十分に明らかとなっておらず、歯周組織の加齢性の慢性炎症に及ぼす影響は不明である。そこで本研究では、細胞老化を誘導したヒト歯根膜細胞 (HPDL) を用いて、加齢に伴う炎症性サイトカイン産生に及ぼす RC3H1 の影響について検討した。

【方法】

HPDL (Lonza 社) を継代培養することで複製老化を誘導し、老化歯根膜細胞を樹立、実験に供した。継代数の増加に伴う、あるいは IL-6 (1ng/ml) 刺激下での、RC3H1、p16^{INK4a}、A20、TNF- α の mRNA の発現量の変化を RT-qPCR 法を用いて検討した。さらに、HPDL を 44℃ で 30 分、60 分間培養することで熱ストレスを負荷し、細胞質内の RNA 分解の一つであるストレス顆粒の形成、分布と RC3H1 との細胞内局在について、ストレス顆粒構成タンパク G3BP1 と RC3H1 の細胞免疫染色法を用いて観察した。

【結果】

細胞増殖の停止と p16 の mRNA の増加により、継代数 30 以上の老化 HPDL に細胞老化が誘導されていることが確認された。HPDL の継代数の増加に伴って、細胞老化随伴分泌現象 (SASP; Senescence Associated Secretory Phenotype) 因子である TNF- α の mRNA の増加が認められた。その一方で、RC3H1 と A20 の mRNA の発現量に逆の相関が認められた。また、IL-6 による刺激によって RC3H1 の mRNA の増加が確認された。継代数の低い正常 HPDL では、熱刺激に応答してストレス顆粒の形成と RC3H1 のストレス顆粒への共局在がみられたが、老化 HPDL ではストレス顆粒の形成が低下し、RC3H1 のストレス顆粒への局在が減少していた。

【結論および考察】

本研究結果より、歯根膜細胞では RC3H1 が炎症関連遺伝子の発現を制御している可能性が示唆された。歯根膜細胞では、熱ストレスなどの環境ストレス応答に際して、核酸とタンパク濃縮により液-液相分離した状態であるストレス顆粒の形成と RC3H1 の局在が慢性炎症の収束には重要である可能性が示唆された。

新潟大学版う蝕リスク評価法を用いたう蝕予防管理の有効性

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

○佐藤莉沙子, 竹中彰治, 齋藤瑠郁, 野杵由一郎

Effectiveness of Dental Caries Management using a Modified Caries Risk Assessment at Niigata University.

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

○Risako Sato, Shoji Takenaka, Rui Saito, Yuichiro Noiri

【目的】 ICCMS (International Caries Classification and Management System)を用いたう蝕予防管理が日本でも認知され、患者のう蝕リスク評価法として、海外では様々なカリエスリスクアセスメント (CRA) ツールが提供されている。しかし、評価項目が日本の歯科事情に合わず、保健歯科診療で普及させるのは困難である。我々は、CRA のひとつである CAMBRA (Caries management by risk assessment, Featherstone J et al.)を日本人向けに改変した新潟大学版う蝕リスク評価 (以下、NUCRA) を作成し、独自のう蝕予防管理システムを構築した。本研究では NUCRA を用いたう蝕予防管理の有効性を、Cariogram 群 (Bratthall D et al.1997) および CRA を用いない患者 (対照群) と比較検討した。

【材料および方法】新潟大学医歯学総合病院歯の診療科に通院中の患者 45 名 (男性 15 名, 女性 30 名, 51 ± 18 歳) を被験者とした (倫理審査承認番号 2022-0247)。NUCRA 群, Cariogram 群, 対照群にランダムに割り付けし, NUCRA を用いてリスク分類を行った。初診時に, DMFT, DMFS の記録と, 5 分間の刺激唾液量を測定し, 唾液中の *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus* の細菌数を測定した (サリバチェックラボ, GC 社製)。歯磨きの回数, セルフケアツールの使用状況と食生活習慣を把握するためにアンケート調査を行った。2 回目の来院時に, 実験群はそれぞれの評価ツールを用いたう蝕予防管理計画を立案し, 行動変容の動機づけを行った。対照群は, 口頭のみで指導した。ハイリスク患者 (H) は 3 か月毎, ローリスク患者 (L) は 6 か月毎に再評価を行った。再評価時に実験群のハイリスク患者の露出根面はフッ化物歯面塗布を行った。

【結果】初回評価時の 3 群のリスク分類の内訳は, NUCRA 群 (H: 13 名, L: 2 名), Cariogram 群 (H: 10 名, L: 3 名), 対照群 (H: 16 名, L: 1 名) であった。1 年後のリスク分類はそれぞれ, NUCRA 群 (H: 13 名, L: 2 名), Cariogram 群 (H: 10 名, L: 3 名), 対照群 (H: 16 名, L: 1 名) であった。対照群のデータを, NUCRA および Cariogram にあてはめ, CRA の有効性を検証したところ, 術前にリスク因子 > 防御因子であった割合はそれぞれ 9 名 (NUCRA 群) および 11 名 (対照群) であったが, 1 年後には, 3 名 (NUCRA 群) および 3 名 (対照群) に減少した。Cariogram において, 術前のハイリスク患者の「う窩を避けることができる可能性」は, 53.4 ± 31.9 (Cariogram 群) および 49.3 ± 19.9 (対照群) であったが, 1 年後には 78.7 ± 19.8 (Cariogram 群) および 85.13 ± 8.11 (対照群) に有意に増加した ($p < 0.05$, フリードマン検定)。しかし, Cariogram 群と対照群間で有意差はなかった ($p > 0.05$, 二元配置分散分析)。唾液量, *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus* の細菌数の変化に有意差はなかった。

【考察】すべての実験群で 1 年後のう蝕リスクは改善傾向を示したが, 口腔健康管理に意識が高い患者には, CRA がなくても, う蝕と食生活習慣の関連性やフッ化物による歯質強化の有効性等の適切な知識を伝えることで, う蝕予防管理は可能であることが示唆された。一方で, CRA の使用は視覚的に分かり易く, 口腔の健康への関心が低い患者には効果的なツールであると考えられる。すべての実験群でう蝕原細菌数の有意な減少が認められず, う蝕リスクの改善とう蝕原細菌数は必ずしも相関しないと推察された。しかし, 今回の被験者は, 全体的に術前のう蝕原細菌が少ないことが影響している可能性がある。細菌検査は, 患者のう蝕リスクが, 食生活習慣によるものか, 潜在的に常在のう蝕原細菌が多いかを把握できる指標であり, 客観的な評価であるため, 行動変容 (食生活とフッ化物応用等) によるう蝕原細菌の減少を認識できた時に, う蝕の予防・管理, モチベーションの向上に寄与すると考えられる。

【結論】う蝕予防管理に CRA は必須ではなく, CRA を資料の一つとして, 患者がう蝕の発生に影響する個人のう蝕の病因を理解し, 行動変容を起こすことが重要である。

デュアルホワイトニングキットの臨床的効果に関する研究

日本大学歯学部保存学教室修復学講座

○須田駿一，高見澤俊樹，渡部修平，青木良太，笠原悠太，柴崎 翔，宮崎真至

A study on the clinical effects of dual whitening kit

Department of Operative Dentistry, Nihon University School of Dentistry

○SUDA Shunichi, TAKAMIZAWA Toshiki, WATANABE Shuhei, AOKI Ryota,

KASAHARA Yuta, SHIBAZAKI Sho, MIYAZAKI Masashi

【研究目的】

デュアルホワイトニングは、オフィスホワイトニングとホームホワイトニングを併用して行うホワイトニング法である。デュアルホワイトニングは、漂白期間の短縮および漂白効果の持続性が期待されている。最近、簡便にデュアルホワイトニングを施行する事を目的として、トレイ内にホワイトニング剤を充填したホームホワイトニングシステムと 35%過酸化水素を用いたオフィスホワイトニングシステムを組み合わせた製品が市販された。そこで、本臨床研究ではこの新しいデュアルホワイトニングキットを使用したホワイトニングの臨床的な効果について検討した。

【材料および方法】

1. 使用材料

オフィスホワイトニングシステムとして 35%過酸化水素配合のオパールエッセンス BOOST 35%（以後 BOOST, Ultradent Japan）、ホームホワイトニングシステムとしてユニバーサルトレーを採用した 6%過酸化水素配合のオパールエッセンス Go（以後 Go, Ultradent Japan）から構成されている、オパールエッセンスデュアルホワイトニングキットを用いた。また、被験者には術前に知覚過敏抑制材である UltraEZ（Ultradent Japan）を使用した。また、術後にはフッ素バーニッシュのエナメラスト（Ultradent Japan）を用いた。

2. 被験者の選定

臨床研究の開始にあたって、日本大学歯学部倫理委員会の承認（EP24D023）を取得した。被験者は令和 7 年 1 月から日本大学歯学部附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 24～59 歳の男性 17 名、女性 23 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、重度の全身の慢性疾患の治療中、妊娠中または授乳中、無カタラーゼ症などの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. ホワイトニング条件

以下の 2 条件で比較検討を行った。

- ・ Group 1：デュアルホワイトニングキットを使用し、BOOST を 15 分×3 回/日および Go を 90 分×4 日間行った。
- ・ Group 2：オフィスホワイトニング材のみを使用し、BOOST を 15 分×3 回/日行った。

4. 測色

色調変化の測色は、非接触型歯科用分光光度計 Cristal-eye Spectrophotometer（OLYMPUS）を用いた。術前に対象歯に対して歯面研磨ペースト（メルサーージュファイン，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。なお、測色は術前、オフィスホワイトニング術直後、およびオフィスホワイトニング 1 週間後に行った。

【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 Group 1 で高い結果となった。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。

【結論】

デュアルホワイトニングキットの使用は、オフィスホワイトニングのみを行った条件と比較して生活歯の色調改善効果が高かった。以上のように、デュアルホワイトニングの導入によって効果的なホワイトニングを行うことが可能であることが示唆された。

審美的歯冠色と肌色、皺・余剰皮膚との調和に関する調査研究

¹九州歯科大学 口腔保存治療学分野

²東京科学大学 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

³北海道大学大学院歯学研究院 口腔健康科学分野 歯科保存学教室

⁴愛知学院大学 歯学部 歯内治療学講座

○鷲尾絢子¹、八幡祥生²、川本千春³、友清 淳³、諸富孝彦⁴

A Study on the Aesthetic Harmony of Tooth Color with Skin Color and Wrinkles/Redundant Skin

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

²Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Science, Graduate School of Medical and Dental Science, Institute of Science Tokyo

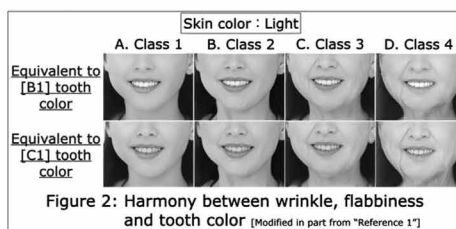
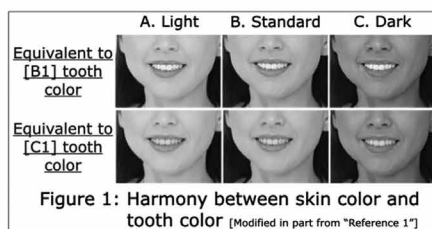
³Division of Oral Health Science, Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Graduate School of Dental Medicine, Hokkaido University

⁴Department of Endodontics, School of Dentistry, Aichi Gakuin University

○WASHIO Ayako¹, YAHATA Yoshio², KAWAMOTO Chiharu³, TOMOKIYO Atsushi³, MOROTOMI Takahiko⁴

【目的】歯の審美的要素の1つである歯冠色に対して、患者は「白い歯」を希望することが多いが、どのような色を「白い歯」と表現しているか、「自然で美しい歯の色」をどのように捉えているかは定かでない。また、複数の前歯部ベニア修復や補綴処置のシェードテイキングでは、患者の嗜好に委ねるところが多いが、本来、歯科医療従事者は客観的観点で患者に適した歯冠色を提案する必要がある。さらに、個人のイメージは顔全体のバランスであり、顔パーツ・肌色・加齢による肌状態（皺・余剰皮膚）に変化があるため、全ての人にとって「白い歯」が審美的な歯冠色であるとは言い難く、それらと調和のとれた歯冠色が存在すると推察される。そこで、本研究では、歯学部教員、歯学部学生、ならびに二国間（日本とフランス）を対象として、肌色、口唇周囲の皺・余剰皮膚と歯冠色の調和に関する審美感を明確にすることを目的に調査研究を行った。

【方法】本研究の主旨などに理解と同意を得た日本ならびにフランスの歯学部教員・学部学生を対象とした（九州歯科大学倫理委員会 承認番号；25-2, 25-3）。＜方法1＞審美的な歯冠色の認識を明らかにするために、明度で並べた VITA classical shade (VITA 社) を用いて、対象者に「白い」歯冠色と「自然で美しい」歯冠色の認識に関する調査を行った。＜方法2＞photo AC (AI 人物素材ベータ版) の実在しない人物のフリー素材画像を使用し、Photoshop で肌色、口唇周囲の皺・余剰皮膚と歯冠色を加工し (Figure 1, Figure 2), それらの調和に関する調査を Google フォームで行った。



“Reference 1: J. Kyushu Dent. Soc. 79(1); 0A00003: 2025.”

【結果】＜結果1＞白い歯冠色として「A1」「B1」を、自然で美しい歯冠色として「C1」「A2」「A3」を回答する割合が多かった。＜結果2＞日本の回答は、「B1」相当色に対しては明るい肌色を、「C1」相当色に対しては標準的肌色を調和がとれていると回答する割合が多い一方で、フランスの回答は、「B1」相当色に対しては明るい肌色を、「C1」相当色に対しては暗い肌色を、調和がとれていると回答する割合が多かった。また、両国の回答ともに、明るい肌色において、「B1」相当色は「C1」相当色よりシワ/タルミが少ない画像を調和がとれていると回答する割合が多かった。

【考察】「白い」歯冠色と「自然で美しい」歯冠色の捉え方は必ずしも一致しないこと、及び審美的な歯冠色の選択には、肌色、口唇周囲の皺・余剰皮膚は重要な要素となることが示唆された。

【結論】患者の審美的 QOL の向上において、歯科医療専門職は個々の肌色・口唇周囲の皺・余剰皮膚と調和のとれた歯冠色を患者へ提示する必要がある。

ダイオードレーザー照射における光透過性・温度上昇・組織加熱効果の基礎的検討

東京科学大学 歯科制御学分野
○赤羽根 広大、湊 洋祐、平石 典子、島田 康史

Fundamental study of light transmission, temperature rise, and tissue heating effects in diode laser irradiation

Institute of Science Tokyo
○Kodai Akabane, Yosuke Minato, Noriko Hiraishi, Yasushi Shimada

目的：

本研究では、ダイオードレーザー照射が生体組織に与える光学および熱的影響を明らかにするため、ガラスプレパラート、ウシ歯象牙質、および豚肉を用いた基礎実験を行った。特に、インドシアニンググリーン (ICG) の有無、チップ形状および炭化処理の影響について検討した。

方法：

光透過性の測定にはガラス製プレパラートを用い、レーザー出力 1.0W における透過光量を測定した。条件は以下の通り：プレパラートなし、プレパラートあり、MilliQ 水塗布、ICG 塗布。

温度上昇実験では、ウシ歯象牙質試料および市販の豚肉を用い、出力 1.0～2.5W にて ICG の有無による温度変化と物性変化（脱色・焦げ）を観察した。さらに、太径（7mm）および細径（0.4mm）チップの使用による温度変化、コルク炭化の有無による温度変化も比較した。豚肉では 1.0～3.0W の間で 0.5W 刻みで 12 秒間照射を行い、ICG の有無で表面温度を 0.05 秒間隔で計測した。

結果：

透過性実験では、ICG 塗布条件において透過光は約 0.01W 未満と極めて低く、光の大部分が吸収された。温度上昇実験では、1.0W で約 50～60℃、2.0W で約 70℃、2.5W 以上で煙や焦げを伴う熱分解が生じた。ICG は加熱を促進する一方で、急激な温度上昇を抑え、温度を一定に保つ効果がある可能性が示唆された。細径チップ単体では温度上昇は抑制されるが、コルク炭化させることで 250℃付近まで急激な加熱が認められた。豚肉においても ICG の有無による温度上昇傾向の差が明確であった。

結論：

本研究では、ICG の吸光特性と物性変化、チップ径および炭化処理の影響、ならびに模擬軟組織における温度変化を通じて、ダイオードレーザー照射の熱的影響を多角的に評価した。得られた知見は、安全かつ有効なレーザー照射条件の検討に資するものと考えられる。

フッ化スズの NMR 解析による化学的特性と細菌叢レベルでの抗菌性評価

東京科学大学大学院歯学総合研究科 歯制御学分野¹, 東京科学大学歯学部²,
東京科学大学総合研究院生体材料工学研究所無機生体材料学分野³,
理化学研究所生命医科学研究センター⁴
○安部俊太郎¹, 権藤理夢¹, 平石典子¹, RUJRAPRASERT Phakvalunch¹,
岡崎唯奈², 島袋将也³, 林文晶⁴, 島田康史¹

Stannous Fluoride: NMR Characterization and Antibacterial Activity by Microbiome Analysis

Department of Cariology and Operative Dentistry, Institute of Science Tokyo¹,
Faculty of Dentistry, Institute of Science Tokyo², Department of Inorganic Biomaterials, Institute of Science Tokyo³,
RIKEN Center for Integrative Medical Science⁴
○Shuntaro Abe¹, Tadamu Gondo¹, Noriko Hiraishi¹, RUJRAPRASERT Phakvalunch¹,
Yuina Okazaki², Masaya Shimabukuro³, Fumiaki Hayashi⁴, Yasushi Shimada¹

【諸言】

う蝕は歯面のバイオフィームおよび微生物叢に起因して発症・進行するため、その形成抑制は口腔衛生管理の重要課題である。フッ化物は再石灰化促進と脱灰抑制を目的に広く用いられ、なかでもフッ化スズ (SnF_2) は F^- による歯質強化と Sn^{2+} の抗菌性を併せ持つ点が特徴である。しかし、フッ化スズの化学的特性を精査し、その抗菌メカニズムを細菌叢の構造変化の観点から包括的に検証した研究は限られている。本研究では、唾液由来微生物を用いてハイドロキシアパタイトディスク上に模擬バイオフィーム環境を作製し、フッ化スズの抗菌性を評価し、バイオフィーム形成の抑制効果および構成細菌叢の変動に着目し、フッ化スズの抗菌メカニズムを微生物学的視点から明らかにすることを目的とする。

【材料及び方法】

フッ化スズ (SnF_2) 溶液中のフッ化物を ^{19}F NMR により分析し、比較群として 500ppm、50ppm、5ppm のフッ化ナトリウム (NaF) を使用した。健康な被験者 3 人から唾液を回収し (承認番号 D2021-085)、60%グリセロールにてストックし -80°C で保存し、実験に用いた。人工唾液培地を用いて嫌気条件下で、ハイドロキシアパタイトディスク上に 24 時間培養し、バイオフィームの初期形成を促した。その後 24 時間ごとにフッ化物を添加した培地に交換し、計 3 日間培養を行った。 NaF と SnF_2 各フッ素イオン濃度に調整し、バイオフィーム中の生菌数をルシフェラーゼアッセイにより定量評価した。培地同程度の生菌数を呈した低濃度の NaF と SnF_2 群で、細菌叢の組成を 16S rRNA アンプリコンシーケンスを用いて網羅的に解析し、フッ化物を添加しない群 (コントロール群) と比較した。さらに、カルシウム (5.88 mM) とリン酸 (4.12 mM) を含む溶液に、 NaF および SnF_2 由来の F^- (10 ppm) を添加し、生体模倣的沈殿法により得られた析出物を、固体 ^{31}P NMR にて解析した。

【結果及び考察】

溶液 NMR 測定の結果、 SnF_2 溶液中には遊離フッ化物イオン (F^-) に加え、一部 $[\text{SnF}_6]^{2-}$ 錯体も存在することが確認された。バイオフィーム中の生菌数を測定した結果から、 NaF と SnF_2 各フッ素イオン濃度に調整し比較した場合、 SnF_2 にバイオフィーム形成に抑制効果が確認された。バイオフィームを構成する細菌叢では、いずれの群においても *Enterococcus*、*Pseudomonas*、*Streptococcus* が比較的高い割合を占めていた。 NaF および SnF_2 の低濃度条件間では、構成比に顕著な変化は認められなかった。固体 ^1H - ^{31}P HETCOR NMR 解析により、 NaF および SnF_2 由来の F^- 添加によるアパタイト中の OH^- の F^- 置換を評価した結果、 NaF 群ではフルオロアパタイト形成が顕著であったのに対し、 SnF_2 群では置換が比較的少なかった。

【結論】

SnF_2 は NaF と異なり、水溶液中で $[\text{SnF}_6]^{2-}$ などの錯体を形成して自由 F^- 濃度を低下させるほか、スズの水酸化物を生成するなど、複雑な化学挙動を示す可能性がある。バイオフィーム中の生菌数の定量比較から、バイオフィーム抑制効果は F^- 単独ではなく Sn^{2+} との相乗的作用による可能性が示唆されたが、低濃度条件では構成細菌叢に明らかな影響は認められなかった。固体 NMR 解析では、 NaF 群で顕著なフルオロアパタイト形成が認められた一方、 SnF_2 群では F^- 置換が限定的であり、これは錯体形成による自由 F^- 濃度の低下に起因すると考えられた。以上より、 SnF_2 は NaF とは異なる機序で抗菌性および歯質への影響を示すことが示唆された。

ユニバーサルシェードコンポジットレジンホワイトニング後における色調追従性

¹⁾東京科学大学大学院医歯学総合研究科う蝕制御学分野,

²⁾ 東京科学大学大学院医歯学総合研究科口腔医療工学分野

○橋谷怜奈¹, 畑山貴志¹, 大槻昌幸¹, 池田正臣², 島田康史¹

Color Tracking Ability of Universal shade resin composite after tooth bleaching

¹⁾Cariology and Operative Dentistry, Institute of Science Tokyo

²⁾Oral Biomedical Engineering, Institute of Science Tokyo

○HASHITANI Rena¹⁾, HATAYAMA Takahi¹⁾, OTSUKI Masayuki¹⁾,

IKEDA Masaomi²⁾, SHIMADA Yasushi¹⁾

【緒言】

近年、単一シェードで幅広い歯の色調を再現できるユニバーサルシェードコンポジットレジン (以下, UCR) が広く臨床応用されている。UCR は材料固有の光学特性により色調適合性を発揮するが、ホワイトニングによって歯の色調が大きく変化した際の色調追従性に関する報告は少ない。本研究の目的は、オフィスホワイトニングの処置回数に応じた UCR の色調追従性を評価するとともに、その追従性がエナメル質の厚みが異なる咬合面側と歯頸側で差を生じるかを検討することである。

【材料及び方法】

UCR としてオムニクロマフローバルク (トクヤマデンタル: 以下 OCF) およびクリアフィルマジスティ ES フロー Low (U シェード) (クラレノリタケデンタル: 以下 MEU) を、対照として従来型の A2 シェードであるエステライトフロークイック (トクヤマデンタル: 以下 EFQ) を用いた。ヒト抜去大臼歯 30 本 (A3 シェード相当) を各群 10 本ずつ割り当てた。頬側面に窩洞 (直径 2.0mm, 深さ 2.0mm) を形成し、接着材 (ボンドマーライトレス II, トクヤマデンタル) にて歯面処理後、各レジンを一括充填し 20 秒間光照射した。37°C 水中にて 24 時間保管後、表面を研磨した。分光測色計 (WE シェード, ホワイトエッセンス) を用い、各試料の歯面 8 点とレジン充填部 8 点を測色した。その後、オフィスホワイトニングを計 3 回行い、各回終了後に同様の測色を行った。ホワイトニング前を OW0、1 回後を OW1、2 回後を OW2、3 回後を OW3 とする。評価には、各段階における歯面とレジン充填部の色差 (CIEDE2000: ΔE_{00}) を算出し、各段階での差を色調追従性 (Color Tracking Ability: CTA) とした。値が小さいほど追従性が高いことを示す。さらに、OW0 から OW3 までの CTA の変化について、測定点のうち咬合面側の 3 点と歯頸側の 3 点で比較評価した。本研究は東京科学大学歯学部倫理審査委員会の承認 (D2013-022 号) を得て行った。

【結果および考察】

3 回のオフィスホワイトニングにより、OW0-1 間の ΔE_{00} が 2.84 ± 0.97 、OW1-2 間の ΔE_{00} が 1.93 ± 0.38 、OW2-3 間の ΔE_{00} が 1.98 ± 0.7 であり、3 回のオフィスホワイトニングにより色調は A1 程度に改善した。色調追従性の各群の結果としては、OCF で CTA_{OW0-1} が 0.62 ± 0.25 、CTA_{OW1-2} が 0.42 ± 0.3 、CTA_{OW2-3} が 0.46 ± 0.27 、MEU で CTA_{OW0-1} が 1.13 ± 0.88 、CTA_{OW1-2} が 0.75 ± 0.44 、CTA_{OW2-3} が 0.95 ± 0.72 、EFQ で CTA_{OW0-1} が 0.82 ± 0.61 、CTA_{OW1-2} が 0.79 ± 0.41 、CTA_{OW2-3} が 0.57 ± 0.38 を示し、OCF が最も小さい値を示したが、統計学的に各群に有意差は認めなかった。一方、ホワイトニング全期間 (OW0-3) の CTA を部位別に比較したところ、咬合面側において OCF 群 (CTA_{OW0-3} = 1.04 ± 0.59) は MEU 群 (CTA_{OW0-3} = 2.43 ± 1.41) に対して有意に優れた色調追従性を示した ($p < 0.05$)。歯頸側では各群の間に有意差を示さなかった。ホワイトニング効果は歯頸側と比べてエナメル質が厚く明度が高い咬合面側でより顕著に現れる。OCF は光透過性が高く、周囲の色を反映する能力 (構造色) に優れるため、よりホワイトニング効果が高い咬合面側においても色調追従性が高かったと考えられる。対照的に、MEU 群は光拡散性が高く、自身の色調が合いやすい材料色自体を出すタイプであり、明度が高くなった咬合面側に適応できなかったと考えられる。

【結論】

ホワイトニング後の歯冠全体に対する色調追従性は、OCF、MEU、EFQ の 3 群間で統計的な有意差はなかった。しかし、ホワイトニング効果がより大きく現れる咬合面側においては、OCF は MEU に比べて有意に優れた色調追従性を示した。以上より、ホワイトニングによって大きな明度変化が予想される頬側の咬合面側や前歯切縁側において、OCF はより有効な選択肢となる可能性が示唆された。

超解像赤外分光イメージングによる レジン象牙質接着界面の分子分布および重合度解析

大阪大学大学院基礎工学研究科電子光科学領域¹, 徳島大学大学院医歯薬学研究部歯科保存学分野², 徳島大学ポストLEDフォトンクス研究所³, 理化学研究所光量子工学研究センター⁴

○加藤遼^{1,2,4}, 井内智貴², 伊田百美香², 米倉和秀², 中島正俊², 南川丈夫^{1,3},
田中拓男^{2,3,4}, 矢野隆章^{2,3,4}, 保坂啓一^{2,3}

Super-resolution infrared imaging of molecular distribution and polymerization at the resin-dentin interface

¹Graduate School of Engineering Science, Osaka University, ²Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, ³Institute of Post-LED Photonics, Tokushima University, ⁴RIKEN Center for Advanced Photonics

○Ryo Kato^{1,2,4}, Tomiki Iuchi², Yumika Ida², Kazuhide Yonekura², Masatoshi Nakajima²,
Takeo Minamikawa^{1,3}, Takuo Tanaka^{2,3,4}, Taka-aki Yano^{2,3,4}, Keiichi Hosaka^{2,3}

【緒言】接着修復治療において、良好な接着界面の形成は、長期的な接着耐久性の確保に極めて重要である。この接着界面の構造および機能の解析には、これまでマイクロラマン分光やフーリエ変換赤外分光 (FTIR) が用いられてきたが、前者は自家蛍光による干渉、後者は空間分解能が約 10 μm に制限されるという課題があった。したがって、接着界面や接着層内の微細構造に関する分子情報を高精度に取得するには不十分であった。本研究では、我々が近年開発した超解像赤外分光顕微鏡という従来の 10 倍以上の空間分解能を有する新たな観察技術を歯科材料に応用し、従来は困難であったレジン—象牙質接着界面におけるサブミクロンレベルでの分子分布および重合度の空間的変化を可視化することを目的とした。

【材料と方法】健全なヒト抜去大白歯を用い、#600 SiC 耐水研磨紙により流水下で平坦な象牙質面に仕上げた。クラレノリタケデンタル社製のクリアフィルメガボンド2を用いてメーカー指示に従って接着処理を施し、その上に同社製ハイブリッド型コンポジットレジン (クリアフィル AP-X) を築盛・光重合した。硬化後に接着界面を半割し、鏡面研磨を施した断面試料を作製した。作製した試料に対して、超解像赤外分光顕微鏡を用いて赤外吸収イメージングを行い、ポリマーおよびモノマーに起因する光信号情報を画像化した。これらのデータから重合度 (Degree of Conversion, DC %) を算出し、接着界面近傍における空間分布を解析・可視化した。

【結果と考察】赤外分光イメージングにより、接着材中のポリマーおよびモノマー分子の分布をサブミクロン解像度で可視化することに成功し、各領域における重合度 (DC %) を定量的に評価することができた。その結果、接着層内部において、特に象牙質への樹脂含浸層近傍で重合度が局所的に低下していること、および接着層中にマイクロボイドが存在する部位では、酸素阻害によると考えられる重合不良がマイクロメートルスケールで生じていることがわかった。これらの結果は、接着材内における分子構造の不均一性および界面領域での重合阻害が、接着不良や長期耐久性に影響する可能性を示唆している。

【結論】本研究により、超解像赤外分光顕微鏡を用いて、従来技術では困難であったレジン—象牙質接着界面における分子分布および重合度の空間的変化をサブミクロンレベルで可視化することに成功した。本技術は、接着材中の構造的不均一性や重合阻害領域の直接観察を可能にし、接着材の設計改善や接着操作の最適化に向けた有効な解析手法となり得る。今後は、本技術を歯科バイオマテリアル研究や新規接着システム開発に応用し、より信頼性の高い接着修復法の確立につなげていく。

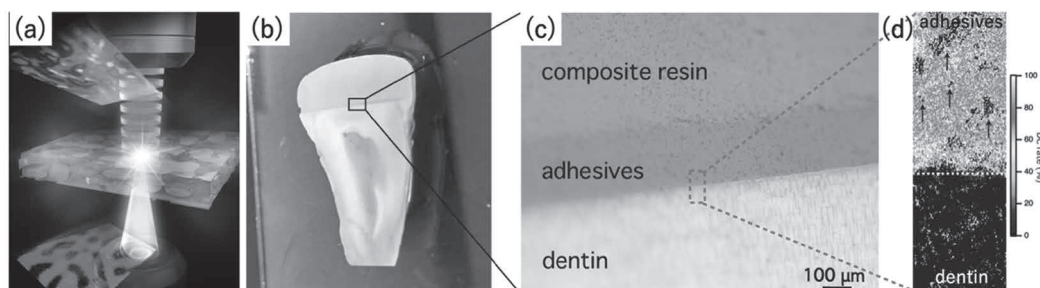


Fig. 1 (a) Illustration of super-resolution infrared imaging. (b) Extracted human dentin sample. (c) Optical image of resin-dentin interface. (d) Degree of conversion (DC) mapping

(徳島大学倫理審査委員会承認番号 : 329-9)

酸化ユウロピウムを混和した接着性レジンセメントの発光強度と機械的特性の評価

¹ 徳島大学大学院 医歯薬総合研究部 歯科保存学分野² 徳島大学大学院 ポストLED フォトニクス研究所医光融合研究部門○沖 若奈¹, 伊田百美香¹, 井内智貴¹, 松木優承¹, 保坂啓一^{1,2}

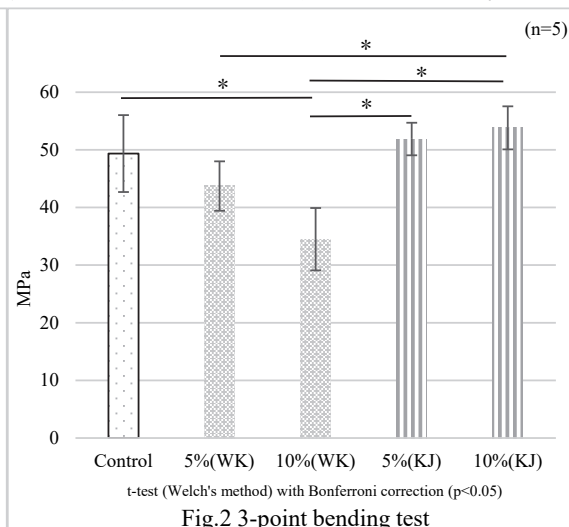
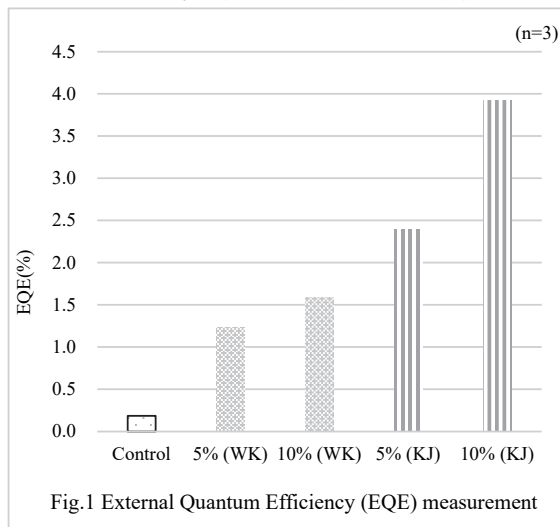
Effect of adding Europium Oxide on Fluorescence Intensity and Mechanical Strength of a Resin Cement

¹ Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima University – Department of Conservative Dentistry² Post-LED Photonics Research Institute, Tokushima University – Division of Fundamental Photonics○Wakana Oki¹, Yumika Ida¹, Tomoki Iuchi¹, Yusuke Matsuki¹, Keiichi Hosaka^{1,2}

【緒言】矯正治療におけるブラケットの装着や、歯周治療における暫間固定など、接着性レジンセメントを用いた治療では、治療終了時に接着材を確実に安全に除去することが求められる。しかし、接着材は歯質と光学的性質が類似しているため、従来のパーや回転器具による除去において視覚的識別が困難で、歯質損傷や除去精度低下が課題である。近年、一部のコンポジットレジンやレジンセメントには、希土類元素や無機蛍光体が微量に添加されており、紫外線 (UV) 照射下で青白く蛍光を発する性質を有することが報告されている。これにより接着材の視認性向上が期待されるものの、エナメル質自体も同様の蛍光性を示すことから、接着材との識別性には限界がある。一方、酸化ユウロピウム(III) (Eu_2O_3) は、UV 照射下に赤色の蛍光を発する無機蛍光体として知られ、液晶ディスプレイなどの分野で広く用いられているが、歯科材料への応用例はこれまで報告されていない。そこで本研究では、矯正用ブラケットの装着や暫間固定に広く用いられるレジンセメント「スーパーボンド」(サンメディカル) に着目し、UV 照射下での蛍光特性を付与するために、 Eu_2O_3 を添加した。 Eu_2O_3 の添加量が発光強度と機械的特性に与える影響について検証した。

【材料と方法】スーパーボンド EX ポリマー粉末 EX クリア (サンメディカル株式会社) に、蛍光体として酸化ユウロピウム(III) (Eu_2O_3 , 99.9%, 富士フイルム和光純薬: 以下“WK”/高純度化学研究所: 以下“KJ”) をそれぞれ 5wt%、10wt% 混合した粉末を作製した。この粉末に、スーパーボンド専用モノマー液およびキャタリスト V を加え、製品添付の標準手順に従って混和・重合し、試料を作製した。JIS 規格 (JIS T 6611) に基づき、3 点曲げ試験は 2mm×2mm×25mm の試料片を作製、24 時間 37°C 水中に保管し、試験機 オートグラフ AG-1kNX 形を用いてクロスヘッドスピード 0.75mm/min で測定した。光学的特性としては、直径 12mm×厚み 1mm の試料片を作製し、JASCO 日本分光 FP-8550 を用いて UV 光励起下 (395nm) における外部量子効率を測定した。

【結果と考察】 Eu_2O_3 含有量の増加に伴い EQE は上昇し、すべての蛍光体添加群でコントロール群より有意に高い値を示した (Fig.1)。三点曲げ試験では、すべての Eu_2O_3 添加群が JIS 規格 (20 MPa) を上回り、蛍光体を ~10 wt% 添加しても機械的強度の低下は認められなかった (Fig.2)。WK 群では添加量の増加に伴い強度が低下したが、KJ 群では一定量の添加では強度が維持された。WK と比較して KJ は粒子径が小さく、このことが光学特性や機械的特性に影響している可能性がある。蛍光体の設計、粒子構造、分散性は蛍光特性の発現に重要な役割を果たすと考えられる。



【結論】最適な混和条件下では、機械的強度を損なうことなく赤色蛍光を付与できる可能性が示された。粒子径や分散性を含む粒子特性は、光学性能と機械的耐久性の両立において重要な因子である。

【謝辞】本研究は文部科学省科学研究費補助金 (23K09202)、徳島大学研究クラスター (2202006, 2402003 および 2404003) の支援にて行われた。

1 ステップボンディング材の重合度変化と象牙質接着性能の評価

¹⁾東京科学大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野,
²⁾東京科学大学大学院医歯学総合研究科 口腔医療工学分野
 ○川口綾菜¹, 畑山貴志¹, 木部航太¹, 池田正臣², 島田康史¹

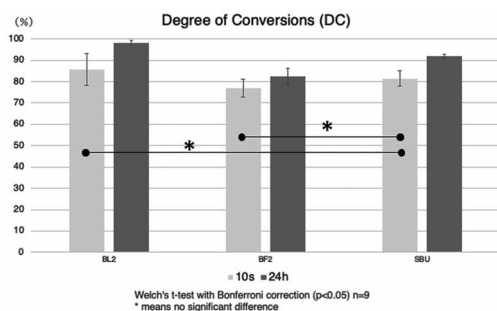
Changes in Degree of Conversion and Dentin Bond Strength of One-Step Self-Etch Adhesives
 Cariology and Operative Dentistry, Institute of Science Tokyo
 Oral Biomedical Engineering, Institute of Science Tokyo
 ○KAWAGUCHI Ayana, HATAYAMA Takashi, KIBE Kota, IKEDA Masaomi, SHIMADA Yasushi

【緒言】近年、1ステップセルフエッチングシステム (1-SEA) は、その優れた接着性能と簡便な操作性により、臨床で広く応用されている。主流は光重合型であるが、光照射が困難な環境下での使用も想定されるため、化学重合型 1-SEA の有用性を再評価する必要がある。従来の化学重合型は重合速度と重合率 (Degree of Conversion: 以下 DC) に課題があったが、近年登場した材料はこれを克服している可能性がある。しかし、最新の化学重合型 1-SEA について、重合開始直後から 24 時間後までの DC の変化を追った報告は少ない。本研究の目的は、化学重合型および光重合型 1-SEA の DC をラマン分光法にて評価し、重合開始 10 秒後と 24 時間後における変化を比較すること、さらに微小剪断接着試験にて象牙質への接着性能を併せて評価することである。

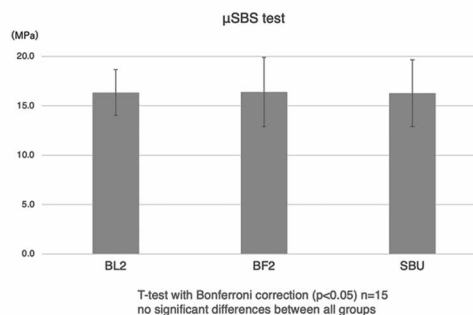
【材料及び方法】化学重合型のボンドマーライトレス II (トクヤマデンタル: BL2) と、光重合型のトクヤマボンドフォース II (トクヤマデンタル: BF2)、スコッチボンドユニバーサルプラスアドヒーズブ (ソルベンタム: SBU) を評価対象とした。ラマン分光分析では、各材料の薄膜試料を重合前・重合開始 10 秒後・24 時間後の 3 条件で分析した (n=9)。DC の群間比較には、Welch's t-test および Bonferroni 法による多重比較検定を用いた (p<0.05)。微小剪断接着試験では、ヒト抜去智歯 15 本から厚さ 2mm の象牙質ディスクを作製し、#600 耐水研磨紙で湿潤研磨した。各材料を業者指示通りに塗布後、コンポジットレジン (オムニクロマフロー, トクヤマデンタル) を円柱状 (直径 0.8mm, 高さ 1.0mm) に築盛し光照射した。試料を 37°C 蒸留水に 24 時間保管後、クロスヘッドスピード 1.0mm/min にて微小剪断接着強さ (μSBS) を測定した。試験後、走査型電子顕微鏡 (SEM) にて破断面形態を観察した。μSBS のデータは、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) および Bonferroni 法による多重比較検定にて分析した (p<0.05)。本研究は東京科学大学歯学部倫理審査委員会の承認を得て行った (承認番号: D2013-022)。

【結果と考察】ラマン分光分析において、重合開始 10 秒後の DC は、BL2 群が BF2 群に対して有意に高かったが、SBU 群との間に有意差はなかった (p<0.05) (Fig.1)。24 時間後には、全ての群間に有意差を認め、BL2 群の DC は他 2 群より有意に高かった (p<0.05)。一方、微小剪断接着試験では、3 群間に統計学的な有意差は認められなかった (p>0.05) (Fig.2)。本研究で用いた化学重合型の BL2 は、重合開始 10 秒後という極めて初期の段階で、光重合型である SBU と同等の高い DC を示した。これは BL2 の優れた重合開始能を示唆する。さらに 24 時間後には光重合型 2 種を上回る DC を達成しており、化学重合反応が継続することで最終的に高い DC に到達したと考えられる。

【結論】化学重合型 1-SEA である BL2 は、重合初期において光重合型 1-SEA の SBU と同等かつ BF2 以上の重合率を示し、24 時間後にはいずれの光重合型よりも高い重合率を達成した。また、象牙質への接着強さは光重合型と同等であった。以上から、BL2 は光照射が困難な症例においても、従来の光重合型 1-SEA と同等の性能を発揮できる可能性が示唆された。



(Fig.1) Degree of Conversion (DC)



(Fig.2) Micro-shear bond strength test

新規ユニバーサルアドヒーズへの エアブロー法の違いが歯質接着性に及ぼす影響について

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

○高見澤俊樹^{1,2)}、渡部修平¹⁾、安達英一¹⁾、進藤久美子¹⁾、池田琴音¹⁾、

武藤 玲¹⁾、鈴木総史¹⁾、宮崎真至^{1,2)}、川本 諒^{1,3)}

Influence of different air blow methods on bond performance of a newly developed universal adhesive

Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾, Nihon University School of Dentistry, Kawamoto Dental Clinic³⁾

○TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, WATANABA Shuhei¹⁾, ADACHI Eiichi¹⁾, SHINDO Kumiko¹⁾,
IKEDA Kotone¹⁾, MUTO Rei¹⁾, SUZUKI Soshi¹⁾, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, KAWAMOTO Ryo^{1,3)}

【研究目的】

近年、ユニバーサルアドヒーズの次世代とされる製品の開発、臨床応用が進んでいる。その中で、歯面処理時のエアブローを省略するとともに、化学重合触媒を含有することで接触重合を可能とした新規ユニバーサルアドヒーズが開発された。しかし、この新規ユニバーサルアドヒーズについては、開発から間もないこともあり、接着性を含めて不明な点が多い。

そこで、この新規ユニバーサルアドヒーズの歯質接着性能とともに異なるエアブロー法がその接着性に及ぼす影響について市販のユニバーサルアドヒーズと比較、検討することを目的とした。すなわち、剪断接着強さ試験とともに接着界面の電子顕微鏡 (SEM) 観察および硬化アドヒーズの表面自由エネルギー測定を行うことで考察資料とした。

【材料および方法】

1. 使用材料

供試材料として、新規ユニバーサルアドヒーズ AFB-00 (AFB, GC) を用いた。また、対照としたユニバーサルアドヒーズとして Scotchbond Universal Plus Adhesive (SUP, Solvntum)、Clearfil Universal Bond Quick 2 (CUB, Kuraray Noritake Dental) および Adhese Universal (Ivoclar Vivadent) を用いた。

2. 接着試験

接着試験は、ISO 29022 に準じて行った。すなわち、ウシ下顎前歯歯冠部の唇側エナメル質および象牙質を露出させた後、耐水性 SiC ペーパーの # 320 を用いて研削し、被着面とした。歯面処理条件としては、アドヒーズ塗布に先立ってリン酸エッチングを行う ER モードおよびリン酸エッチングを行わない SE モードとした。アドヒーズの塗布に際しては、いずれのアドヒーズにおいても塗布時間は製造者指示とした。一方、エアブローに関しては AFB のみエアブローを行わない条件 (NA) とマイルドエアを行う条件 (MA) の 2 条件とし、他のアドヒーズは MA 条件のみとした。次いで、アドヒーズ塗布面に照射、コンポジットレジンで充填し、接着試験用試片とした。これらの試片を 37°C の水中に 24 時間保管した後、剪断接着試験を行った。なお、試片の数は各条件について 12 個とした。

3. 硬化アドヒーズの表面自由エネルギー測定

全自動接触角計を用い、重合硬化させたアドヒーズ面に対して、セシルドロップ法で 3 種類の液滴を 1 μ L 滴下し、装置に付属するソフトウェアを用いて $\theta/2$ 法で測定を行い、水の接触角および表面自由エネルギーを求めた。なお、各条件における接触角試片の数は 10 個とした。

【成績および考察】

接着試験の結果から、歯質への接着強さの値は用いた接着システムおよびエッチングモードによって異なる傾向を示した。いずれの被着体にかかわらず AFB は、エアブロー条件の NA と MA 間で有意差は認められなかった。硬化アドヒーズの水接触角および表面自由エネルギーは、エナメル質および象牙質のいずれにおいても供試材料間で異なる傾向を示した。

【結論】

新規ユニバーサルアドヒーズの AFB は、エアブロー条件の影響が少なく十分な接着性能を示すことが明らかとなった。

レジンコーティング法がマルチステップレジンセメントの接着強さに及ぼす影響

¹ 東京科学大学大学院医歯学総合研究科 歯制御学分野

² 東京科学大学大学院医歯学総合研究科 口腔医療工学分野

○ 馮碩¹、佐藤隆明²、田端倫子¹、高橋礼奈¹、池田正臣²、島田康史¹

Influence of the resin-coating technique to multi-step resin cement on the bond strength

¹Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate School, Institute of Science Tokyo

²Department of Oral Biomedical Engineering, Graduate School, Institute of Science Tokyo

○ Shuo FENG¹, Takaaki SATO², Tomoko TABATA¹, Rena TAKAHASHI¹, Masaomi IKEDA², Yasushi SHIMADA¹

【Objective】

This study aimed to evaluate the influence of the resin-coating technique on the dentin bond strength of two multi-step resin cement, Estecem II and Panavia V5.

【Materials and Methods】

A total of 24 bovine dentin specimens were randomly assigned to four experimental groups according to the type of resin cement (Estecem II or Panavia V5) and the presence or absence of a resin coating (E+R, E-R, P+R, P-R). In the resin-coating groups, one-step self-etching adhesive and a flowable resin composite were applied over the dentin surface before cementation. The materials used for the resin-coating technique were from the same manufacturers as the respective resin cement ("Bond Force II & Estelite Universal Flow" or "Universal Bond Quick2 & Majesty ES Flow"). The CAD/CAM resin blocks (Cerasmart 300) were sliced to a thickness of 2 mm, treated with sandblasting, and applied either Bondmer Lightless II or Clearfil Ceramic Primer Plus. All specimens were bonded using Estecem II or Panavia V5, stored in water for 24 h, and sectioned into beam-shaped specimens for micro-tensile bond strength (μ TBS) testing. Half of the specimens from each group underwent immediate μ TBS testing, while the other half were subjected to thermocycling (10,000 cycles between 5°C and 55°C) before testing. The obtained data were confirmed normality using the Shapiro-Wilk test, homoscedasticity confirmed by the Levene test, and the results were analyzed by two-way analysis of variance (ANOVA) and t-test with Bonferroni correction. These statistical analyses were performed using the statistical software SPSS version 29 with the statistical significance set to $\alpha = 0.05$. Failure modes were analyzed using scanning electron microscopy.

【Results】

The μ TBS values did not show statistically significant differences between the resin-coating and no resin-coating groups for either Estecem II or Panavia V5. Whereas P+R showed significantly higher bond strength compared to E+R, regardless of thermocycling. No significant difference was found between E-R and P-R, while E+R and P+R showed a statistically significant difference.

【Discussion】

When using multi-step resin cement (Estecem II or Panavia V5), the resin-coating technique did not result in a statistically significant increase in bond strength. Hence, it was indicated that multi-step resin cement may achieve reliable bond strength without the resin-coating technique. The statistically significant difference observed in the E+R and P+R groups may be attributed to the materials used in the resin coating method (one-step self-etching adhesive or a flowable resin composite).

【Conclusion】

The resin-coating technique did not significantly enhance the dentin bond strength of either multi-step resin cement.

難治性根尖性歯周炎における根尖部バイオフィルムの細菌叢解析：根管内と根尖孔外の比較

¹大阪大学大学院歯学研究科歯科保存学講座

²新潟大学大学院医歯学総合研究科口腔健康科学講座 歯学分野

○朝日陽子¹、栗木菜々子¹、岡本基岐¹、前薮葉月¹、島岡 毅¹、

小野舜佳¹、野杵由一郎²、林 美加子¹

Comparison of the microbiota between intracanal and extraradicular biofilms in refractory apical periodontitis

¹Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Osaka University Graduate School of Dentistry, ² Division of Cariology, Operative Dentistry and Endodontics, Department of Oral Health Science, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○Yoko Asahi¹, Nanako Kuriki¹, Hazuki Maezono¹, Tsuyoshi Shimaoka¹, Syunka Ono¹, Yuichiro Noiri², Mikako Hayashi¹

[研究目的]

歯周病やう蝕、さらに根尖性歯周炎の主因は、デンタルバイオフィルムである。根尖部の根管内および根尖孔外に残存する細菌は、根尖性歯周炎の慢性化および難治化に関与すると考えられる。しかし、同一歯における根管内細菌叢と根尖孔外バイオフィルム細菌叢を比較した報告は少ない。そこで、本研究では、難治性根尖性歯周炎罹患歯における根尖部根管内および根尖孔外バイオフィルム細菌叢を次世代シーケンサーにて解析し、各部位の細菌構成の特徴を評価するとともに、抗生剤耐性遺伝子の発現状況について、比較検討した。

[方法]

・サンプルの採取

本研究は、大阪大学歯学研究科倫理委員会の承認(R1-E36)を受け、実施された。大阪大学歯学部附属病院保存科を受診し、感染根管治療により臨床症状や臨床所見の改善が認められず難治性根尖性歯周炎と診断された患者のうち、本研究に同意の得られた者を対象とした。歯根尖切除術あるいは意図的再植にて切除された根尖部を生理食塩水にて洗浄後、根尖付近を搔爬し根尖孔外バイオフィルムサンプルとした。また、残った根尖部歯片を凍結粉碎し、得られたサンプルを根管に残存細菌とした。

・細菌叢の解析

採取したサンプルからDNAを抽出し、16S rRNA 遺伝子 (V1-V2 可変領域) を標的とし、次世代シーケンサー (MiSeq, Illumina, USA) を用いて細菌叢の網羅的解析を行った。さらに、薬剤耐性遺伝子の有無および検出頻度を評価するため、qPCRによる解析を実施した。

[結果]

・細菌叢の構造

α 多様解析の結果、根管内および根尖孔外バイオフィルム間で細菌叢の多様性に有意差は認められなかった。一方で、同一歯から得られたサンプル間の β 多様性は、非同歯のサンプル間距離と比較し有意に低かった。根尖孔外バイオフィルムおよび根管に残存細菌において、*Fusobacterium* 属、*Porphyromonas* 属、*Tannerella* 属および *Bacteroides* 属の全細菌に対する相対的割合が高かった。全細菌に占める根管に残存細菌および根尖孔外バイオフィルムを構成する細菌種が共通して検出される割合はサンプル間の差が大きかったものの、根管に残存細菌においてより高い傾向を示した。一方、属レベルにおいて、根尖孔外バイオフィルムで優勢であった細菌が根管系の根尖付近においても上位を占めていた。

・薬剤耐性遺伝子の検出

検出された薬剤耐性遺伝子の種類および検出頻度にはばらつきがみられ、遺伝子ごとに検出率は異なっていた。同一歯における根尖孔外および根管の両部位から同一の遺伝子が検出されることもあれば、いずれか一方の部位からのみ検出された場合もあった。

[結論]

同一歯の根尖孔外バイオフィルムと根管内細菌叢を比較した結果、根尖孔の内外では異なった生態的ニッチが存在し、根尖孔外バイオフィルムと根管内バイオフィルムの細菌構成および薬剤耐性遺伝子の保有状況には一部差異が認められたものの、根尖部根管内バイオフィルム細菌叢と根尖孔外バイオフィルム細菌叢は関連することが示唆された。

本研究は JSPS 科研費 (23K09198) の補助の下に行われた。

生体活性および生体吸収性を有する セラミックス複合粒子の開発と特性評価

九州歯科大学口腔機能学講座口腔保存治療学分野

○村田一将, 鷲尾絢子, 折本愛, 北村知昭

Development and Evaluation of Bioactive and Bioabsorbable Ceramic Composite Particles

Division of Endodontics and Restorative Dentistry,

Department of Oral Functions, Kyushu Dental University

○MURATA Kazumasa, WASHIO Ayako, ORIMOTO Ai, and KITAMURA Chiaki

【目的】

象牙質・歯髄複合体および根尖周囲組織の再生誘導に特化した生体材料の開発を目的として、我々は生体活性セラミックスである Bioactive Glass (BG) を配合した生体材料に関する研究を進めている。BG は生体内で BG 表層へのハイドロキシアパタイト (HAp) 析出・形成が早期に誘導されるが完全に HAp へと置換されない。一方、生体内で最終的に HAp に置換されるバイセラミックスとして生体吸収性セラミックスがある。本研究では、生体活性および生体吸収性セラミックスそれぞれの特性を併せ持つバイオセラミックス複合粒子を新規に作製するため、生体活性セラミックスである BG と生体吸収性セラミックスである β -TCP を組み合わせたバイオセラミックス複合粒子 (BG-TCP) を作製し、材料的・生物学的な評価を行った。

【材料と方法】

<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、800, 900℃で1時間焼成し得られた焼結体を乳鉢・乳棒を用いて粉碎した。その後、粉碎物を篩にかけることで粒径が 70 μ m 以下の複合粒子 (BG-TCP) を作製した。**<複合粒子の物理化学的評価>** BG-TCP の微細構造は、SEM 観察、エネルギー分散型 X 線分光法 (SEM-EDX)、および X 線回折 (XRD) 法によって評価した。また、水溶液中での pH 変化を測定した。複合粒子表層における HAp の析出・形成能は、複合粒子を擬似体液 (SBF) へ一定期間浸漬後に試料表面への析出物を SEM 観察することで検証した。**<複合粒子抽出溶媒の作製>** BG-TCP 1 g に対して培地 10 mL を加えて 37℃・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て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 CCK-8 assay を用いて細胞毒性を評価した。**<ALP 染色>** 播種から 24 時間後に KN-3 細胞を BG-TCP 希釈溶液および 100%試験液で刺激して培養後、ALP 染色を行った。

【結果】

<複合粒子の物理化学的評価> 900℃で焼成した BG-TCP では、BG の結晶相転移によりケイ酸カルシウム系化合物が形成されていることが示された。さらに、BG-TCP を SBF に浸漬したところ、7 日目には表層に花弁状の HAp 様構造が析出し、28 日目には BG の割合が高い複合粒子で粒状の HAp 様構造の析出が観察された。また、pH 測定の結果、BG-TCP の pH は 9.7~9.9 で安定し、BG 単独の 10.5 に比べて低く、 β -TCP 単独の 8.0 より高い値を示した。**<細胞毒性評価>** CCK-8 アッセイの結果、 β -TCP の割合が高いほど細胞毒性が低下する傾向が認められた。**<ALP 染色>** ALP 染色による細胞分化評価では、BG-TCP と対照群との間に明らかな違いは見られなかったものの、 β -TCP の割合が高いほど染色強度が増加する傾向が示された。

【考察】

BG と β TCP を混合し焼成・粉碎することでマイクロサイズの BG- β TCP 複合粒子 (BG-TCP) 作製が可能であること、BG-TCP の pH は 9.7~9.9 で安定すること、900℃の焼成で BG-TCP 中の BG は結晶相転移を起こし、複合粒子表層にはケイ酸カルシウム系の化合物が生成することが示された。結晶相転移を生じた BG-TCP (900℃焼成群) においても、SBF に浸漬することで HAp 様構造物が析出することが観察されており、熱処理によってバイオセラミックスとしての性質を失わないことが明らかとなった。また、BG-TCP は、 β TCP の割合が大きいほど細胞毒性は低く、細胞の分化初期段階に明らかな影響を及ぼさないことが示唆された。

【結論】

生体活性および生体吸収性セラミックスの特性を併せ持つバイオセラミックス複合粒子 (BG-TCP 複合粒子) は、象牙質・歯髄複合体および根尖周囲組織の局所的再生誘導に用いる医用材料の構成要素として有用である。

熱処理加工ニッケルチタン製ロータリーファイルの挿入角度の違いが 動的回転疲労抵抗性に与える影響の解析

東京科学大学 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
○Yanshan Luo, 牧 圭一郎, 山本 里沙子, 豊田 康氣, 平野 恵子,
大森 智史, 木村 俊介, 海老原 新, 八幡 祥生

Effect of different insertion angles on the dynamic cyclic fatigue resistance of heat-treated NiTi rotary instruments

Department of Pulp Biology and Endodontics, Division of Oral Health Science, Graduate School of
Medical and Dental Science, Institute of Science Tokyo

○Yanshan LUO, Keiichiro MAKI, Risako YAMAMOTO, Koki TOYODA, Keiko HIRANO,
Satoshi OMORI, Shunsuke KIMURA, Arata EBIHARA, Yoshio YAHATA

Aim: The aim of this study was to investigate the effect of instrument insertion angles on the dynamic cyclic fatigue resistance of three heat-treated nickel titanium (NiTi) rotary instruments.

Methods: The following heat-treated NiTi rotary instruments with constant taper were tested (n = 30, each): JIZAI (MANI; off-center quasi-rectangular cross-section; JZ), Vortex Blue (Dentsply Sirona, Switzerland; convex triangular cross-section; VB), and VDW.ROTATE (VDW, Germany; S-shape cross section; RT). Each sample was #30/0.06 taper in size and 25 mm in length.

Dynamic cyclic fatigue test was conducted using a customized stainless-steel canal that allowed adjustment of the insertion angle ($\pm 60^\circ$, maximum $\pm 65^\circ$ rotation). The customized canal had a 60° curvature and 5 mm radius (size #27, 0.07 taper, 16 mm) was used. The handpiece (Tri Auto ZX2, Morita) moved an axial up-and-down of 4 mm amplitude at a speed of 300 mm/min. Each of the three NiTi rotary instruments was tested at three different insertion angles (0° , 10° , and 20° ; n = 10 per angle), positioned 1 mm from the canal orifice, under the rotational speed and torque settings recommended by the manufacturers (JZ and VB: 500 rpm, 3.0 N.cm; RT: 400 rpm, 2.0 N.cm). All groups were executed at body temperature ($37 \pm 1^\circ\text{C}$). The number of cycles to failure (NCF) was determined. The core diameter (Cd) of each instrument was determined using a 3D Optical Profilometer (VR-6000 Series, Keyence). Measurements were obtained beginning 2 mm from the tip and at subsequent 2 mm increments along the instrument up to 16 mm. Based on the results, approximate linear equations for the Cd were obtained for each instrument, and the Cd at the fracture surface of each instrument was estimated accordingly. Statistical analysis was performed using Kruskal-Wallis one-way ANOVA with Bonferroni test ($\alpha = 0.05$).

Results: There were no significant differences in NCF or Cd among different insertion angles within the same file system ($p > 0.05$). In all insertion angle group, VB exhibited significantly lower NCF values than RT ($p < 0.05$), and showed significantly higher Cd values than JZ and RT ($p < 0.05$). In 20° group, VB exhibited significantly lower NCF values than JZ ($p < 0.05$).

Discussion: Under the present experimental conditions, the degree of insertion angle did not significantly affect the dynamic cyclic fatigue resistance of the three heat-treated NiTi rotary instruments with different cross-sectional designs, even under the complex curvature simulating both coronal and apical bending. This indicates that geometric variations among these instruments may not play a decisive role when insertion angle is altered. This may be explained by the fact that all instruments tested were thermally treated. Their proprietary phase transformation behavior optimizes the microstructural phase composition at body temperature, which likely relieves residual tensile stresses generated during machining and inhibits crack initiation. In NCF results, VB exhibited relatively lower cyclic fatigue resistance than JZ and RT, which could be related to its convex triangular cross-sectional design. Such geometry tends to increase the metal mass at the core, thereby reducing overall flexibility and the capacity for uniform stress distribution. Consistently, the Cd analysis revealed that VB presented larger core diameters at the fracture sites compared with JZ and RT, further supporting the influence of cross-sectional design on cyclic fatigue performance.

Conclusion: Within the experimental conditions, variations in instrument insertion angles did not significantly affect the dynamic cyclic fatigue resistance of the three heat-treated NiTi rotary instrument. Clinicians may have some flexibility in accessing root canals with challenging angulations without compromising the fatigue resistance of instruments. In addition, geometrical differences might play critical roles in fracture behavior and should be considered when selecting instruments for curved canal or complex anatomy.

接合上皮細胞の修復材料への再付着に関する ODAM 関連複合体タンパクの効果

岩手医科大学歯科保存学講座う蝕治療学分野

○高満正宜¹, 池崎晶二郎², 野田守¹, 原田英光²

(1. 岩医大 歯 う蝕、2. 岩医大 解剖 発生再生)

Effect of ODAM associated proteins on reattachment of junctional epithelial cells to therapeutic restorative material

Division of Operative dentistry and Endodontics, Department of Conservative dentistry,
Iwate Medical University¹

Division of Developmental Biology and Regenerative Medicine, Department of Anatomy,
Iwate Medical University²

○Masayoshi Takaman¹, Syojiro Ikezaki², Mamoru Noda¹, Hidemitsu Harada²

背景:

接合上皮はエナメル質と密接に接着することで、口腔内の外来刺激に対する重要なバリア機能を担っている。しかし、コンポジットレジンなどの人工材料表面においては、接合上皮の安定した付着が得られにくく、術後の歯周組織破壊や炎症のリスクが指摘されている。そこで本研究では、接合上皮のエナメル質付着に関与する分子である ODAM (Odontogenic Ameloblast-Associated Protein) に着目し、ODAM がコンポジットレジン表面における接合上皮細胞の接着性および細胞機能に与える影響を明らかにすることを目的とした。

方法:

マウスエナメル上皮細胞株 (mHAT9d) に His-tag 付 ODAM 発現ベクターを遺伝子導入し、His-tag 精製カラムを用いて ODAM および共精製された分泌タンパク質との複合体を抽出した。この ODAM 複合体を直径 13mm、厚さ 2mm のコンポジットレジンディスク表面に滴下し、37℃で 30 分間インキュベート後、余剰液を除去して ODAM コート群とした。非処理のものを非コート群とした上で、接合上皮細胞株 (mHAT-JE01) を播種した。両群において、初期接着能、経時的な細胞増殖 (DsRed 蛍光強度による評価、Ki67 染色)、遊走能 (cell migration assay)、アクチンフィラメント形成 (Phalloidin 染色) を評価した。さらに、走査電子顕微鏡 (SEM) を用いて、細胞形態、細胞突起の数・形態、および突起先端のフィラーへの接着様式を観察した。

結果:

蛍光強度測定により、ODAM コート群は非コート群と比較して高い初期接着率と 24~72 時間後の細胞密度増加を示した。Ki67 免疫染色では、ODAM コート群において核内陽性細胞の割合が高く、細胞増殖が活発であることが示唆された。cell migration assay では、ODAM コート群での閉鎖速度が非コート群にくらべて早く、遊走能の促進が確認された。アクチン染色では、ODAM コート群においてアクチン線維の形成が顕著で、細胞骨格形成の活性化が示された。SEM 解析では、ODAM コート CR 表面では非コート群にくらべ、細胞突起が長く、かつ突起先端の多くが CR のフィラー粒子に明確に接着していた。これらの結果は、ODAM 存在下での細胞の接着・増殖・遊走・骨格形成が多面的に促進されることを示している。

考察:

本研究により、ODAM を含むタンパク質複合体を用いたコーティングが、コンポジットレジン表面における接合上皮細胞の接着、増殖、遊走を効果的に促進することが明らかとなった。本来、ODAM は接合上皮から分泌されるエナメルタンパクで、エナメル質表面において他の分泌タンパクとともに細胞接着のための基底膜を形成する。今回の結果から、ODAM 含有複合関連タンパク群が人工材料表面において細胞接着や増殖を促進し得るバイオアクティブな材料であることを示している。これを用いた表面機能化は、歯肉縁下修復やインプラント周囲封鎖など、歯周組織との調和が求められる臨床場面での新たな修復戦略につながる事が期待される。

HEMA はヒト歯肉線維芽細胞の MMP-1 および MMP-3 産生を誘導する

¹⁾徳島大学大学院医歯薬学研究部 歯科保存学分野

²⁾徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔保健支援学分野

○岡本梨沙¹⁾、細川義隆¹⁾、細川育子¹⁾、尾崎和美²⁾、保坂啓一¹⁾

HEMA induces MMP-1 and MMP-3 production in human gingival fibroblasts

¹⁾Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences,

²⁾Department of Oral Health Care Promotion, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences

○Risa Okamoto¹⁾, Yoshitaka Hosokawa¹⁾, Ikuko Hosokawa¹⁾,

Kazumi Ozaki²⁾, Keiichi Hosaka¹⁾

【研究目的】

近年、根面う蝕の増加に伴い、根面へのレジン充填の機会が増加している。また、歯肉縁下齶蝕に対しては、Deep Margin Elevation Technique などを用いたレジン充填法が提唱されている。過去の報告により、光重合型レジンから硬化後もモノマーが溶出することが明らかとなっており (Dent Mater. 2018; 34: 201-208)、特に歯肉縁下にレジンを充填した場合、溶出したモノマーが歯周組織構成細胞に影響を及ぼす可能性が示唆されている。

2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) は、レジン系材料に含まれる水溶性モノマーの一つであり、最も溶出しやすいモノマーであることが報告されている (J Dent Res. 1984; 63: 1087-1108)。さらに、局所において mM 単位で HEMA が溶出する可能性も示唆されている (Dent Mater. 2011; 27: 723-747)。

本研究では、溶出量が多いとされる HEMA に着目し、歯周組織構成細胞の一つであるヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) に対する影響を解析する。具体的には、軟組織破壊に関与するマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) -1 および MMP-3 の産生、ならびに炎症惹起に関与するサイトカインである IL-6 および IL-8 の産生に対する HEMA の影響を評価する。また、これらの因子の産生に関与していることが報告されているシグナル伝達経路、すなわち MAPKs (p38 MAPK、ERK、JNK) および Akt の活性化に対する HEMA の影響についても解析を行う。

【材料および方法】

HGFs は、American Type Culture Collection (ATCC) より購入し、10% FBS を含む DMEM 培地にて培養した。コンフルエントに達した HGFs に対し、HEMA (0.5 mM、1 mM、2 mM、4 mM) で 24 時間処理し、HEMA による細胞障害性については Cell Count Reagent SF を用いて評価した。

また、HEMA 処理後 24 時間の培養上清を回収し、IL-6、IL-8、MMP-1 および MMP-3 の産生量を ELISA 法にて定量した。さらに、HEMA 処理を行った HGFs におけるシグナル伝達因子 (p38 MAPK、ERK、JNK、Akt) のリン酸化については、western blot 法を用いて解析した。

加えて、これらのシグナル伝達経路が MMP 産生に関与しているかを検討するため、p38 MAPK 阻害剤 (SB203580)、ERK 阻害剤 (PD98059)、JNK 阻害剤 (SP600125)、および Akt 阻害剤 (10-DEBC hydrochloride) 存在下で HEMA 処理を 24 時間行い、MMP 産生への影響を解析した。

【成績】

4 mM 以下の濃度の HEMA は、HGFs に対して細胞障害性を示さなかった。4 mM の HEMA 処理により、IL-6 および IL-8 の産生は誘導されなかったが、MMP-1 および MMP-3 の産生は有意に誘導された。さらに、4 mM の HEMA は HGFs における p38 MAPK、JNK および Akt のリン酸化を亢進したが、ERK のリン酸化レベルには影響を及ぼさなかった。加えて、SB203580、PD98059、SP600125、および 10-DEBC hydrochloride は、HEMA によって誘導された MMP-1 および MMP-3 の産生を有意に抑制した。

【考察および結論】

本研究の結果より、HEMA は HGFs において MMP-1 および MMP-3 の産生を誘導し、この誘導には p38 MAPK、JNK および Akt のリン酸化亢進が関与していることが示された。したがって、歯肉縁下にレジン充填を行った際に HEMA が溶出し、HGFs に持続的に接触することで MMP-1 および MMP-3 の産生が促進され、歯周組織の軟組織破壊を引き起こす可能性が示唆された。

Porphyromonas gingivalis のイオン輸送性 ATPase が 外膜小胞に与える影響

大阪大学大学院歯学研究科 歯科保存学講座¹⁾, 総合歯科学講座 (口腔総合診療部)²⁾

○田中 伸武¹⁾, 大嶋 淳¹⁾, 阿部 翔太郎¹⁾, 森田 真吉¹⁾, 三浦 治郎²⁾,
島岡 毅¹⁾, 小野 舜佳¹⁾, 前歯 葉月¹⁾, 林 美加子¹⁾

The effect of ion-transporting ATPases of *Porphyromonas gingivalis* on outer membrane vesicle

Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Graduate School of Dentistry, The University of Osaka¹⁾

Department of Interdisciplinary Dentistry, Graduate School of Dentistry, The University of Osaka²⁾

○TANAKA Nobutake¹⁾, OHSHIMA Jun¹⁾, ABE Shotaro¹⁾, MORITA Masayoshi¹⁾, MIURA Jiro²⁾,
SHIMAOKA Tsuyoshi¹⁾, ONO Shunka¹⁾, MAEZONO Hazuki¹⁾, HAYASHI Mikako¹⁾

【背景と目的】

歯周病は歯周組織に慢性的な炎症を引き起こし、成人における歯の喪失の主要な原因の一つとされている。その発症および進行には、宿主の免疫応答のみならず、口腔内に常在する歯周病原性細菌の関与が重要である。なかでも、グラム陰性嫌気性桿菌である *Porphyromonas gingivalis* は、歯周ポケットから高頻度に検出されることから、病態の悪化に関与する「キーストーン病原体」として位置づけられている。そこで、本研究では、*P. gingivalis* のエネルギー代謝および膜輸送に関与するイオン輸送性 ATPase に着目した。これまでに、イオン輸送性 ATPase がインターフェロニンシグナルを抑制することで病原因子として機能していることを明らかにしており (第 161 回日本歯科保存学会 2024 年度秋季学術大会)、今回はその病原性発現機序のさらなる解明を目指し、外膜小胞 (OMV) に着目した検討を行った。

【研究の方法】

1. イオン輸送性 ATPase 欠損による *P. gingivalis* の形態および超微細構造の変化

P. gingivalis ATCC33277 株およびイオン輸送性 ATPase 欠損株の菌体の形態学的差異を評価するため、走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察した。また、野生株および欠損株のさらに微細な構造の比較をするため、透過型電子顕微鏡 (TEM) による形態観察を実施した。

2. イオン輸送性 ATPase 欠損による OMV の産生動態と機能的変化

まず、欠損株において、OMV の産生量、粒径に変化があるかを評価するため、OMV 分離キット (Funakoshi, Tokyo) を用いて OMV を精製し、NanoSight Pro (Malvern, UK) により粒子数および粒径の定量を行った。さらに、OMV の過剰産生の原因を探るべく、NPN、SYTOX-orange を用いて外膜および内膜の透過性の評価を行った。OMV に含まれるタンパク質構成についてはプロテオミクス解析を行い、構成成分の変化を検出した。また、野生株および欠損株から回収した OMV を菌体に添加して培養後、クリスタルパイオレット染色を行うことにより、バイオフィーム形成に及ぼす影響を評価した。

【結果】

1. イオン輸送性 ATPase 欠損による *P. gingivalis* の形態および超微細構造の変化

SEM および TEM 観察により、野生株と比較して欠損株に細胞形態における大きな変化は認められなかったが、OMV の増加を認めた。

2. イオン輸送性 ATPase 欠損による OMV の産生動態と機能的変化

欠損株では、野生株と比較して OMV の粒子数が有意に増加し、平均粒径は有意に小さかった。また、SYTOX-Orange 染色により、欠損株では内膜の透過性が亢進していることが示唆された。プロテオミクス解析により、欠損株の OMV では RagA や RagB を含む外膜タンパク質の量的変化が確認された。さらに、野生株由来 OMV の添加により、欠損株のバイオフィーム形成能が部分的に回復した。

【考察および結論】

P. gingivalis のイオン輸送性 ATPase を欠損することで OMV の増加を認めた。さらに、OMV のタンパク質の組成が野生株と異なることが確認された。これらの結果から、イオン輸送性 ATPase は *P. gingivalis* の OMV 形成および病原性維持に関与する重要な因子であり、歯周病の新たな治療標的として有望である可能性が示された。

本研究は JSPS 科研費 (24K19878, 24K22184) の助成を受けたものである