

新規ユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントの接着疲労耐久性

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⁾,
かなまる歯科クリニック³⁾, すずき歯科クリニック⁴⁾

○石井 亮^{1,2)}, 高見澤俊樹^{1,2)}, 須田駿一^{1,2)}, 河合良治¹⁾, 金丸壽良³⁾, 鈴木敏裕⁴⁾, 宮崎真至^{1,2)}

Shear Fatigue Bond Strength of an Experimental Resin Luting Cement Used with a Universal Adhesive

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

Nihon University School of Dentistry, Kanamaru Dental Clinic³⁾, Suzuki Dental Clinic⁴⁾

○ ISHII Ryo^{1,2)}, TAKAMIZAWA Toshiki^{1,2)}, SUDA Shunichi^{1,2)}, KAWAI Yoshiharu¹⁾, KNAMARU Toshiro³⁾,
SUZUKI Toshihiro⁴⁾, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}

【研究目的】

審美治療への関心の高まりから、歯冠色を有する間接修復物の使用頻度は増加している。これら修復物の安定した予後の獲得には、レジンセメントを介して支台歯と強固に一体化させることが重要となる。レジンセメントは、従来型マルチステップ、セルフアドヒーズブおよびプライマー併用型セルフアドヒーズブに大別される。近年、操作の簡便性と接着性の向上を図る手段として、ユニバーサルアドヒーズブを前処理に用い、接触重合効果によって初期接着性および接着耐久性を目的としたユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントが注目されている。さらに、接着操作の簡便化を目的として、歯面処理時のエアブローを省略しつつ、化学重合触媒を含有することによって接触重合を可能とした新規ユニバーサルアドヒーズブと、これを併用する新規レジンセメントが開発された。

そこで本研究では、新規ユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントの初期接着性能および接着耐久性を検討した。

【材料および方法】

供試したユニバーサルアドヒーズブ応用型レジンセメントとユニバーサルアドヒーズブの組み合わせは、ASAC-02+AFB-00 (AS+AF, GC), RelyX universal resin cement+ Scotchbond universal plus (RX+SU, Solventum) および SA luting multi+ Clearfil universal bond quick 2 (SA+CQ, クラレノリタケデンタル) とした。

1. 剪断接着強さ

被着体にはヒト抜去歯歯冠部象牙質を用いた (倫許 EP20D007)。接着試験用試片の製作に際しては、耐水性 SiC ペーパー#320 で研削し被着面とした。これらの被着面に対して、各製造者指示条件に従ってユニバーサルアドヒーズブを塗布し、エアブロー非実施条件と 5 秒間の中圧エアブロー条件の 2 条件とした。その後、直径 2.0 mm、高さ 4.0 mm のステンレスロッドに練和したセメント泥を塗布し、被着面に対して静置し、40 秒間光照射した。これらの試片を 37°C、相対湿度 100% の条件で 24 時間保管後、電気式疲労試験機 (ElectroPuls E1000 Machine, Instron) を用いて剪断接着強さを測定した。

2. 剪断疲労接着強さ試験

接着疲労耐久性試験に際しては、電気的疲労試験機および Staircase method を用いて行った。すなわち、得られた剪断接着強さの約 50% の荷重を、20Hz の条件で繰り返し 50,000 回施行し、この規定回数に達する前に試験片が脱落した場合は、初期荷重の約 10% を減じ、試験片が生じた場合は、逆に荷重を増加することで段階的にその荷重負荷を変動させ、最終的に試験片の脱落個数および負荷荷重からその疲労接着耐久性強さを計算式から求めた。

【成績および考察】

いずれの条件においても SU+RX は、剪断接着強さおよび剪断疲労接着強さにおいて有意に高い値を示した。また、ユニバーサルアドヒーズブのエアブロー条件については、いずれの製品においても条件間で値の差が認められたものの、AFB+ASAC はエアブローの影響を最も受けにくかった。

【結論】

供試したユニバーサルアドヒーズブに対するエアブロー条件は各材料の接着性能に影響し、条件間で差が認められた。一方で、AS+AF はエアブロー条件による影響が比較的小さく、臨床操作において安定した接着性能を示す可能性が示唆された。

新規ユニバーサルアドヒーズの初期歯質接着性能 —エアブロー法の違いによる影響—

日本大学歯学部保存学教室修復学講座¹⁾、総合歯学研究科生体工学研究部門²⁾、川本歯科医院³⁾、岩崎歯科医院⁴⁾

○渡部修平¹⁾、高見澤俊樹^{1,2)}、池田琴音¹⁾、武藤 玲¹⁾、黒川弘康^{1,2)}、
陸田明智^{1,2)}、宮崎真至^{1,2)}、川本 諒^{1,3)}、岩崎圭祐^{1,4)}

Immediate Bond Performance of a Newly Developed Universal Adhesive in Different Air Blow Methods
Department of Operative Dentistry¹⁾, Division of Biomaterials Science, Dental Research Center²⁾, Nihon University
School of Dentistry, Kawamoto Dental Clinic³⁾, Iwasaki Dental Clinic⁴⁾

○WATANABA Shuhei¹⁾, TAKAMIZAWA Toshiaki^{1,2)}, IKEDA Kotone¹⁾, MUTO Rei¹⁾, KUROKAWA Hiroyasu^{1,2)},
RIKUTA Akitomo^{1,2)}, MIYAZAKI Masashi^{1,2)}, KAWAMOTO Ryo^{1,3)}, IWASAKI Keisuke^{1,4)}

【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、歯面処理時に行うエアブローの省略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。とくに、充填直後には咬合調整および形態修正を行うことから、修復直後の歯質接着性については把握する必要がある。

そこで、この新規ユニバーサルアドヒーズの初期歯質接着性能とともに異なるエアブロー法が接着強さ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、検討した。すなわち、剪断接着強さ試験とともに接着界面の走査電子顕微鏡 (SEM) 観察および硬化アドヒーズ表面のヌープ硬さ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, Solventum)、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 (NA) 条件とマイルドエアを行う (MA) 条件の 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、100% 湿度下に 10 分間保管した後、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、同条件で行った接着試験の 24 時間保管後の接着強さの値 (第 163 回日本歯科保存学会発表) と比較した。

3. 硬化アドヒーズのヌープ硬さ

被着エナメル質面上に厚さ 300 μm の中央に直径 6 mm の穴が開いたテープを貼付し、露出エナメル質面に接着試験と同様な条件に従ってアドヒーズを塗布、10 秒間光照射を行い、ヌープ硬さ試験用試片とした。所定の保管期間 (10 分および 24 時間) が終了した試片に、微小硬度計 (HMV-2, 島津製作所) を用いて、荷重 98.07 mN、荷重保持時間 5 秒の条件でヌープ硬さを測定した。なお、試片の数は各条件について 12 個とした。

【成績および考察】

接着試験の結果から、いずれの歯質においても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。いずれのエッチングモードおよびアドヒーズにおいても、保管 10 分間の条件は 24 時間保管条件と比較して低い接着強さを示した。AFB は、他のアドヒーズと比較して高い初期接着強さを示すとともにエアブロー条件の NA と MA 間で有意差は認められなかった。

【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、高い初期歯質接着性能を示すことが明らかとなった。

化学重合型 1 ステップボンディング材におけるボレート触媒および
3D-SR モノマーが象牙質接着と ABRZ 形成に及ぼす影響

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
○畑山貴志¹, 井上 剛¹, 范 琳¹, 川口綾菜¹, 池田正臣², 島田康史¹

Effect of Borate Catalyst and 3D-SR Monomer on Dentin Bonding and ABRZ Formation of
Auto-Cured One-Step Self-Etch Adhesive

Cariology and Operative Dentistry, Institute of Science Tokyo¹⁾
Oral Biomedical Engineering, Institute of Science Tokyo²⁾

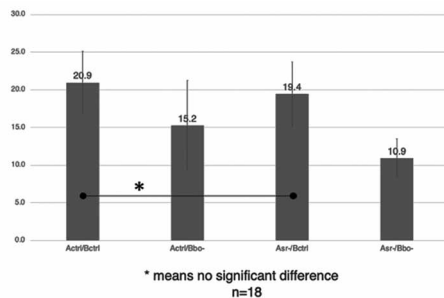
○HATAYAMA Takashi¹, INOUE Go¹, FAN Lin¹, KAWAGUCHI Ayana¹, IKEDA Masaomi², SHIMADA Yasushi¹

【緒言】近年、1 ステップセルフエッチングシステム (1-SEA) は臨床で広く普及している。中でも化学重合型 1-SEA は、光が届きにくい窩洞においても重合が可能であるため、その臨床的有用性は高い。特定の化学重合型 1-SEA (ボンドマーライトレス II : トクヤマデンタル) には、高い重合性能を発揮するためのボレート触媒や、架橋構造を形成する 3D-SR モノマーが含まれているとされるが、これら個々の成分が実際の象牙質接着強さや、接着界面の酸塩基抵抗層 (Acid-Base Resistant Zone: ABRZ) に及ぼす詳細な影響についての報告はない。本研究の目的は、ボレート触媒および 3D-SR モノマーの有無が、化学重合型 1-SEA の象牙質への微小剪断接着強さおよび ABRZ 形成への影響を検討することである。

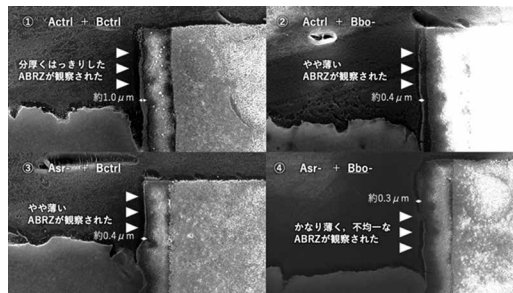
【材料及び方法】被験材料として、化学重合型 1-SEA であるボンドマーライトレス II (トクヤマデンタル) をコントロール群 (Actrl/Bctrl) として、以下の 3 種の試作ボンディング材: B 液からボレート触媒を除去した群 (Actrl/Bbo-)、A 液から 3D-SR モノマーを除去した群 (Asr-/Bctrl)、両成分を除去した群 (Asr-/Bbo-) を使用した。微小剪断接着試験では、ヒト抜去大白歯から象牙質平面を露出させ、各ボンディング材を業者指示通りに塗布後、内径 0.8 mm、高さ 1.0 mm のタイゴンチューブ (Saint-Gobain, Malvern, PA, USA) を用いてオムニクロマフロー (トクヤマデンタル) を円柱状に築盛し、20 秒間光照射を行った。37°C 蒸留水中に 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、破断面を SEM 観察した (n=18)。得られたデータについては、一元配置分散分析 (One-way ANOVA) を行った後、Tukey-Kramer 法 (Tukey's HSD test) を用いて多重比較検定を行った。ABRZ の評価では、厚さ 1.0mm の象牙質ディスクにボンディング材を塗布後、オムニクロマフローを全面に塗布し、象牙質ディスクで挟み、エポキシ樹脂に包埋し、24 時間静置した。その後、酸塩基処理 (pH 4.5 酢酸緩衝液 90 分間、5% 次亜塩素酸ナトリウム 30 分間) を行った。アルゴンイオンエッチング処理を施した後、SEM にて接着界面の ABRZ の観察を行った。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】微小剪断接着試験において、Actrl/Bctrl 群および Asr-/Bctrl 群は、ボレート触媒除去をした Actrl/Bbo- 群、Asr-/Bbo- 群と比較して有意に高い接着強さを示した (Fig.1) (p<0.05)。ボレート触媒を含まない群では接着強さが著しく低下したことから、本システムにおいてボレート触媒による重合促進が初期接着において支配的な役割を果たしていることが示唆された。一方、SEM による ABRZ 観察では、Actrl/Bctrl 群において厚く均一な ABRZ が観察されたのに対し、Asr-/Bctrl 群や Actrl/Bbo- 群では ABRZ が薄くなる傾向が認められ、両成分を除去した Asr-/Bbo- 群では ABRZ は極めて薄く不均一であった (Fig.2)。

【結論】化学重合型 1-SEA において、ボレート触媒は象牙質への接着強さ確保に不可欠な要素であり、3D-SR モノマーはボレート触媒と共に機能することで、より厚く均一な ABRZ の形成に寄与していることが示唆された。



(Fig.1) Micro-shear bond strength (μSBS) of each group.



(Fig.2) SEM images of ABRZ formation.

EDS マッピングを併用した FIB-TEM による象牙質接着界面境界の化学的同定

1. 徳島大学大学院医歯薬学研究部歯科保存学分野
 2. 徳島大学技術専門職員, 技術支援部常三島技術部門
- 井内 智貴¹ 伊田 百美香¹ 植木 智之² 保坂 啓一¹

Chemical Identification of the Dentin-Adhesive Interface Boundary Using FIB-TEM Combined with EDS Mapping

1. Department of Conservative Dentistry, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences
 2. Technical Support Division, Josanjima Technical Center, Tokushima University
- Tomoki Iuchi¹ Yumika Ida¹ Tomoyuki Ueki² Keiichi Hosaka¹

【緒言】

接着修復の長期的安定性は象牙質 - 接着剤 - コンポジットレジン界面の微細構造に強く依存する。しかし従来の超薄切片法では切削アーティファクトの影響により、界面の真のナノ構造を正確に評価することが困難であった。本研究では、FIB による部位特異的薄片化と TEM 観察を組み合わせ、象牙質接着界面の微細構造を高精度に観察するとともに、EDS マッピングを併用して界面境界の化学的同定を試みた。

【材料と方法】

抜去ヒト大臼歯 (承認番号: 4503) を用い、#600 耐水研磨紙により平坦象牙質面を形成した。SE BOND2 セルフエッチングプライマー (クラレノリタケデンタル) を 20 秒塗布・乾燥後、SE BOND2 アドヒーズを塗布し照射した (Pencure2000, モリタ)。Clearfil AP-X (クラレノリタケデンタル) を 2mm ずつ積層し、各層を光重合した。硬化後、試料を切断し、#600・1000・1500・2000 耐水研磨紙にて研磨後、6・3・1・0.25 μm ダイヤモンドペースト (Buehler) で鏡面研磨して界面を露出させた。研磨後の試料を FIB 装置に導入し、界面を含む領域を選択して Ga イオンビームにより薄片化し、TEM 用ラメラを作製した。TEM 観察により接着層、樹脂含侵層、象牙質の微細構造を評価した。さらに EDS を用いて Si、Ca、P などの元素マッピングを行い、各層の境界判定に用いた。

【結果】

FIB-TEM 観察では、接着層および樹脂含侵層内に多数の微小ボイドが確認され、特に接着層中央部および象牙質直上に高密度に分布していた。ボイドは球状・不定形・連結状など多様な形態を示し、局所的に界面の連続性を阻害していた。EDS マッピングでは、ボイド周囲で Si が消失し、当該領域がコンポジットレジンと接着層の境界に位置することが明確となった。また Ca および P は樹脂含侵層付近で急増し、接着層 - 象牙質境界を鋭敏に示した。これにより、形態観察のみでは困難であった界面境界の客観的同定が可能となった。

【考察】

観察されたボイドは、樹脂浸透不良、象牙質湿润状態、溶剤揮発不足、光照射条件、重合収縮応力など複数因子が複合して形成された可能性が高い。特に接着層中央部のボイドは溶剤残留や粘度上昇による流動性低下を示唆し、象牙質直上のボイドは脱灰深度と樹脂浸透深度の不一致に起因する可能性がある。また EDS による化学的裏付けは、ボイドの位置・起源を推定する上で極めて有用であり、FIB-TEM 単独では得られない情報を補完した。これらのボイドは長期的な界面劣化の起点となり得るため、その形成機序の解明は接着耐久性向上に不可欠である。

【結論】

FIB-TEM と EDS マッピングの併用により、象牙質接着界面の微小ボイドの存在とその層間位置を化学的に特定することが可能となった。本手法は接着界面の構造的弱点の解明に有用であり、接着耐久性研究に新たな視点を提供する。

接着操作時におけるエアードライが 歯科用ボンディング材のせん断接着強さに及ぼす影響

YAMAKIN 株式会社
○塩毛和樹, 水田悠介, 加藤喬大

Effect of air drying during adhesion on the shear bond strength of dental adhesives
YAMAKIN CO., LTD.

○Kazuki Shioke, Yusuke Mizuta, Takahiro Kato

【目的】

歯科用ボンディング材には、歯面の脱灰作用やぬれ性向上、ならびにボンディング材の均一化を目的として、水分やアルコール等の溶媒が配合されている。これらの成分が硬化後のボンディング層に残存してしまうと、重合阻害により接着不良を引き起こす可能性がある。そのため、ボンディング材塗布後の十分にエアードライすることによって溶媒を除去する必要がある。本研究では、臨床現場においてエアードライが不十分であった場合を想定し、試作ボンディング材と市販のボンディング材を用い、ボンディング材塗布後のエアードライの有/無の2種類の条件下にてエナメル質および象牙質に対して接着評価をおこなった。

【材料および方法】

ウシ下顎中切歯(牛歯)を湿式研磨にてエナメル質または象牙質を露出させた後、耐水研磨紙(P600)で研磨した。接着面積を直径2.0mmとし、中圧で約10秒間エアードライし、ボンディング材を塗布後、エアードライをおこなった場合(Air(+))とおこなわなかった場合(Air(-))の2種類の条件下にてボンディング材を硬化させた。コンポジットレジンを用いた円柱状(直径4.0×高さ4.0mm)に設置し、硬化したものをせん断試験片とした。せん断試験片を37°Cで蒸留水に24時間浸漬させた後、クロスヘッドスピード1.0mm/minでせん断試験をおこなった。ボンディング材は、試作ボンディング材(以下、TA)、当省市販ボンディング材A(以下、MA)および市販ボンディング材B(以下、MB)を用いた。TAとMAは接着成分として、リン酸モノマーおよびカルボン酸モノマーをどちらも含んでおり、TAの水分量はMAの約半分である。せん断接着強さの統計分析は、一次元配置分散分析およびTukeyの多重比較検定($p < 0.05$)。

【結果および考察】

エナメル質では、各ボンディング材ごとのエアードライの有/無において、せん断接着強さに有意な差は認められなかった。象牙質では、MA、MBにおいて、Air(-)はAir(+))と比較してせん断接着強さが有意に低下した。これは象牙質において、象牙細管からの水分補給がされやすいことでボンディング材の重合阻害もしくは、象牙質の過脱灰による接着強さの低下を示した可能性がある。また、水分量がMAの約半分であるTAはエアードライの有/無による有意な接着強さの差は認められなかった。

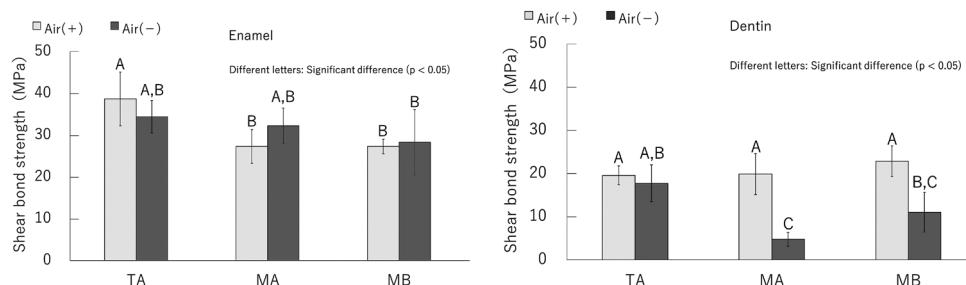


Fig. 2. Shear bond strength of each adhesive to tooth under two different conditions

【結論】

ボンディング材塗布後にエアードライをおこなわなかった場合、エアードライをおこなった場合と比較して、エナメル質に対してはせん断接着強さの低下は確認されなかったが、象牙質ではせん断接着強さの低下するボンディング材が確認された。このことから、特に象牙質に対しては、ボンディング材塗布後、十分にエアードライする必要性あることが分かった。また、ボンディング材の水分量を少なくすることで、エアードライ不足による象牙質の接着性能の低下を抑制できる可能性が示唆された。

Influence of SFRC Layer Thickness on Fracture Toughness in Bilayered Systems and Crack Propagation Visualized by SS-OCT

1) Cariology and Operative Dentistry, Institute of Science Tokyo

2) Oral Biomedical Engineering, Institute of Science Tokyo

○Jiaming ZHANG¹⁾, Takashi HATAYAMA²⁾, Tomoko TABATA¹⁾, Zijuan DU¹⁾,

Masaomi IKEDA²⁾, Yasushi SHIMADA¹⁾

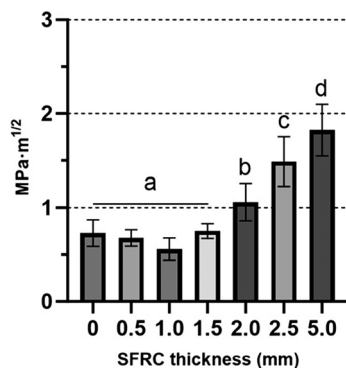
Objective: This study aimed to evaluate the influence of short-fiber reinforced composite (SFRC) layer thickness on crack propagation behavior in a bilayered resin composite system using Swept-Source Optical Coherence Tomography (SS-OCT)-based 3D visualization of crack morphology.

Materials and Methods: Short-fiber reinforced composite (SFRC; EverX Flow, GC, Japan) and particulate filler composite (PFC; GRACEFIL; GC, Japan) were used to fabricate bilayered single-edge notch beam (SENB) specimens. Standard specimens with dimensions of 2.5 mm × 5.0 mm × 25.0 mm were prepared using a custom-made split mold and the bilayered structure was fabricated via incremental filling and light-curing. A total of seven groups were investigated (n=10 per group), including five bilayered groups with different thickness ratios of SFRC:PFC (where SFRC thickness was 0.5 mm, 1.0 mm, 1.5 mm, 2.0 mm, and 2.5 mm) and two monolithic groups of SFRC and PFC as controls. A notch around 2.00 mm deep was cut on the PFC side using a low-speed diamond saw, and a razor blade with diamond polishing paste was used at the notch tip to create a sharp pre-crack of approximately 0.20 mm. The pre-cracked region was scanned using SS-OCT to visualize the 3D crack morphology. Subsequently, the total specimen thickness (W) and crack length (a) were measured using an optical microscope. Fracture toughness (KI) was calculated following a three-point bending test (span: 20 mm, crosshead speed: 0.1 mm/min). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA and Tukey's test ($\alpha = 0.05$).

Results: Monolithic SFRC exhibited significantly higher KI than monolithic PFC ($p < 0.05$) (Fig.1). In bilayered groups, no significant increase in KI was observed with an SFRC thickness of ≤ 1.5 mm. However, a significant stepwise increase was confirmed when the thickness reached ≥ 2.0 mm. None of the specimens containing SFRC material fractured into two halves upon failure. While monolithic PFC specimens fractured completely, crack arrest was observed in all bilayered specimens as the crack propagated into the SFRC layer. SS-OCT analysis provided a more accurate 3D assessment of the pre-crack front compared to conventional optical microscopy.

Conclusion: Bilayered systems with SFRC significantly alter crack propagation modes. A critical SFRC layer thickness (≥ 2.0 mm) contributes to enhanced fracture toughness through a crack-arrest mechanism. SS-OCT is effective for the precise 3D evaluation of crack propagation in composite materials.

*Same letters indicate no significant difference ($p > 0.05$). (n=10)



(Fig.1) The stress intensity factor (KI) value for each group

半導体レーザーを根面象牙質に照射した際の温度上昇の経時的変化

¹⁾ 東京科学大学大学院 歯学総合研究科 歯蝕制御学分野, ²⁾ アキおやこ歯科医院
○田端倫子¹⁾, 中根 晶^{1,2)}, 陳 雪霏¹⁾, 大槻昌幸¹⁾, 田村幸彦¹⁾, 島田康史¹⁾

Temperature rise in root dentin during Diode laser irradiation: A time-series analysis

¹⁾ Department of Cariology and Operative Dentistry, Graduate School of
Medical and Dental Sciences, Institute of Science Tokyo
²⁾ Aki Parents and Children Dental Clinic
○Tomoko Tabata¹⁾, Akira Nakane^{1,2)}, Xuefei Chen¹⁾, Masayuki Otsuki¹⁾,
Yukihiko Tamura¹⁾, Yasushi Shimada¹⁾

【緒言】

本邦では、高齢者の根面齲蝕が問題となっている。根面齲蝕の原因の一つには *Streptococcus mutans* などの齲蝕病原性細菌の存在がある。齲蝕病原性細菌の殺菌に半導体レーザーを応用した研究は、可視光線領域(主に 380~780nm)の報告が多数あり、近年では、近赤外線領域(主に 800~980nm)の報告もある。半導体レーザーは組織深達型レーザーであり、レーザー光はエナメル質や象牙質を透過してしまい、歯髄腔内の温度上昇の原因となっている。しかしながら、象牙質を透過した半導体レーザーにおける歯髄側の温度上昇における報告はあるものの、温度上昇の経時的変化に関する報告はない。そこで、本研究では半導体レーザーを照射した際の根面象牙質の温度上昇を経時的に計測し、その変化について検討を行った。

【材料及び方法】

ヒト抜去小臼歯の頬側歯根面象牙質から、3mm×3mm×1mm の象牙質プレートの作製を行った。使用したレーザー発振装置は、半導体レーザー(ダイオードレーザー Sheep810, 株式会社ユニタック, 広島)、ファイバーは、石英ファイバー(光プローブ Id-8, 株式会社ユニタック, 広島)、熱電対温度計は、デジタル K 型温度計(TM902C, Smgda)を用いた。照射条件は、照射モードは連続波、照射出力は 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 および 7.0W(パネル値)、照射距離は 0mm(接触照射)、照射時間は 10 秒間とした。象牙質プレートの頬側に半導体レーザーの石英ファイバー、歯髄側に熱電対温度計を設置し、定点照射を行った(n=3)。半導体レーザーを照射の際には動画撮影を行い、その後、1 秒毎の温度上昇の記録を行った。

【結果】

照射出力 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 および 7.0W(パネル値)において、定点照射における 10 秒後の温度上昇は、0.8, 0.8, 1.0, 1.0, 1.1, 1.7, 1.9, 1.8, 2.0, 2.1, 2.8, 2.9, 3.0 および 3.4°C であった。温度上昇は照射出力に依存して増大し、正の相関を示した。しかし、出力を 2 倍、3 倍、4 倍とした際の温度上昇値は、出力倍率に比例した増分とはならなかった。

【考察】

本研究において、10 秒間の定点照射でも温度上昇は 3.5°C 以下であった。使用した半導体レーザーの設定値の範囲内の出力においては、歯髄の不可逆的变化が起こると報告がされている温度上昇 5.0~5.5°C よりも低い温度上昇であった。しかしながら、これは象牙質を透過した半導体レーザー光による温度上昇のみであり、臨床においては生活歯の場合には歯髄が存在している。歯髄は細胞、血管、そして神経などで構成をされている。半導体レーザー光は歯髄赤血球中のヘモグロビンに吸収される。その際の温度上昇は 60~70°C と報告がされているため、同部位で更なる温度上昇が起こることが考えられる。そのため、歯髄方向への安易な半導体レーザーの照射は行わないことが良いと考えられる。

【結論】

半導体レーザーの照射出力の増大に伴い、象牙質透過 10 秒後の温度上昇および経時的変化は増加した。

(本研究は、東京科学大学歯学部倫理審査委員会の承認を得て行われた 承認番号 : D2013-022)

ナノ銀含有グラスアイオノマーセメントによる ヒト根面齲蝕象牙質内層における再石灰化評価

東京科学大学大学院 医歯学総合研究科 口腔機能再構築講座 う蝕制御学分野
○高松 杜博、井上 剛、陳 雪霏、島田 康史

Evaluation of Remineralization of Human Root Caries Affected Dentin using Nanosilver-containing Glass Ionomer Cement

Department of Cariology and Operative Dentistry, Institute of Science Tokyo
○Morihiro Takamatsu, Go Inoue, Xuefei Chen, Yasushi Shimada

【緒言】

近年、バイオアクティブを応用した歯質再石灰化療법이注目されており、高い効果を有する歯質接着性材料の開発が進められている。グラスアイオノマーセメント (GIC) は歯質接着性とフッ素徐放性を併せ持つ優れた修復材料であり、フッ化ジアンミン銀と GIC を併用することで、脱灰象牙質の再石灰化が促進されることが報告されている。一方で、さらなる機能向上を目指し、抗菌作用を有するナノ銀 (AgNPs) を添加した材料が注目されている。AgNPs 含有 GIC はその相乗効果により再石灰化をより効率的に促進することが期待されるが、ヒト根面齲蝕象牙質に対する再石灰化効果の研究はこれまでない。そこで本研究では、5wt%AgNPs 含有 GIC がヒト根面齲蝕象牙質内層の再石灰化に及ぼす影響を、Transverse Microradiography (TMR) を用いて評価した。

【方法】

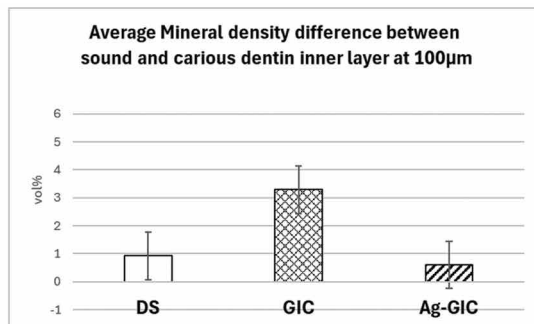
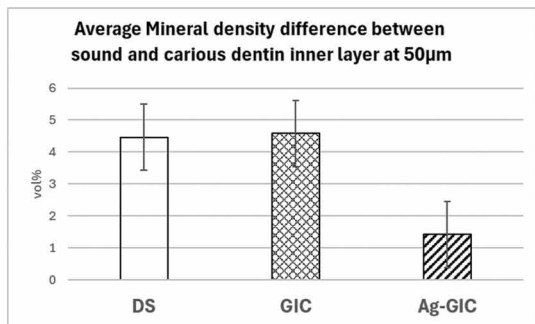
ヒト抜去根面齲蝕歯 12 本 (倫理審査承認番号 D2013-022 : 東京科学大学) に対して、齲蝕検知液を使用し齲蝕象牙質外層の除去をステンレスバーを用いて行った。得られた試料は無作為に 3 群に分け、窩洞内にデュラシール (DS 群)、GIC (GIC 群)、5wt%ナノ銀含有 GIC (Ag-GIC 群) を各 4 本ずつ充填した。DS 群は対照として設けた。また、それぞれ同じ歯の健全根面部に同程度の窩洞を形成し、DuraSeal を充填した (Sound 群)。各試料を人工唾液 (129.8mM KCl, 1.44mM CaCl₂, 0.88mM KH₂PO₄, 20.0mM HEPES, 10% KOH, pH7.0) 50mL に 37°C、100rpm の条件下で 1 週間浸漬後、エポキシ樹脂にて包埋した。その後各サンプルを切断、鏡面研磨し、厚さ約 200 μm の TMR 用切片を作製した。20kV、2.5mA、9 分間の条件下で TMR 撮影を行い、得られた透過像は、画像解析ソフト (ImageJ) を用いて窩底部から 50 μm、100 μm の深さでのミネラルプロファイルを解析した。解析により得られた GIC 群と Ag-GIC 群の深さの濃度値と健全部の濃度値との差 (ミネラル密度差) を算出し、これを評価指標とした。統計解析には対応のない t 検定 (Independent Samples Test) を用い、各群間の再石灰化効果を比較・分析した (p=0.05)。

【結果】

TMR を用いた健全部と齲蝕象牙質内層のミネラル密度差の比較において、100 μm の深さでは、GIC 群、Ag-GIC 群間に統計学的有意差は認められなかった。しかしながら 50 μm の深さにおいて、2 群間 (GIC、Ag-GIC) で比較した結果、Ag-GIC は GIC と比較してミネラル密度差が有意に低値を示した (p<0.05)。

【結論】

本研究の結果、5wt%AgNPs 含有 GIC は、齲蝕象牙質内層から 50 μm において、従来の GIC と比較して有意に高いミネラル増加を示した。このことから、AgNPs の添加は、根面齲蝕象牙質内層の強化および二次齲蝕予防において臨床的に有効な手法となる可能性が示された。



酸化グラフェンコーティングスキャフォールドと FGF2 の併用が ラット頭蓋骨欠損へ及ぼす影響

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北海道大学大学院 歯学研究院 口腔総合治療学教室,
⁴九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能修復学講座 歯科保存学研究分野

○孫 偉浩¹, 祐田 明香², 宮治 裕史³, 林 佳文¹, 御手洗 裕美², 原口 晃²,
王 恕心¹, 冉 子晴¹, 東條 紘樹¹, 前田 英史⁴, 和田 尚久¹

Effect of Graphene oxide coating scaffold combined with FGF2 on bone tissue healing in rat calvaria bone defect

¹Department of General Dentistry, Division of Interdisciplinary Dentistry, Faculty of Dental Science, Kyushu University, ²Division of General Dentistry, Kyushu University Hospital, ³General Dentistry, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University, ⁴Department of Endodontology and Operative Dentistry, Division of Oral Rehabilitation, Faculty of Dental science, Kyushu University,

○Sun Weihao¹, Asuka Yuda², Hirofumi Miyaji³, Lin Jiawen¹, Hiromi Mitarai², Akira Haraguch²,
Wang Shuxin¹, Ran Ziqing¹, Tojo Hiroki¹, Hirofumi Maeda⁴, Naohisa Wada¹

Background and objective: The Periodontal tissue plays an important role in the lifespan of the tooth. Periodontitis induces inflammation and destroys the periodontal ligament, cementum, alveolar bone and gingiva. Recently, various periodontal tissue engineering therapies contribute to the repair of periodontal disease. However, periodontal regeneration treatments have limited cases. In a previous conference, we demonstrated that the 0.0001 wt% Graphene oxide (GO) scaffold may provide Fibroblast Growth Factor-2 (FGF2) to the periodontal tissues. Moreover, FGF2 retained on 0.0001 wt% GO (0.0001 wt% GO-FGF2(+)) scaffold led to induction of cell proliferation, chemotaxis and osteogenesis differentiation of periodontal ligament (PDL) stem cells (The 161st Meeting of the Japanese Society of Conservative Dentistry. 2024). Thus, we hypothesized that the 0.0001 wt% GO-FGF2(+) scaffold might promote bone tissue healing. This study evaluated the effect of 0.0001 wt% GO-FGF2(+) scaffold on the healing of rat calvarial bone defects in vivo.

Materials and Methods: GO was provided by Nippon Shokubai Corporation (Osaka, Japan). We used collagen scaffold. This scaffold was immersed in GO solution and then freeze-dried. Subsequently, GO-coated scaffold was immersed in FGF2 solution. All animal procedures were conducted in accordance with the institutional guidelines for the care and use of Kyushu University (approval code: A24-364-3). Sprague Dawley rats were used in this study. The surgical procedure was performed according to a previous study (Santhakumar et al., 2021). After general anesthesia, a critical-sized calvarial defect with a 5 mm in diameter was created on each side. The four types of scaffolds (0 wt% GO-FGF2 (-), 0 wt% GO-FGF2 (+), 0.0001 wt% GO-FGF2 (-) and 0.0001 wt% GO-FGF2 (+)) were implanted in defects (n=6). For the control group was not implanted (no scaffold). At 8 weeks post-surgery, the cranial bones were extracted and assessed by micro-CT scanning. And then, samples were decalcified and embedded in paraffin. After thin slicing, the sections were stained with H.E. and Masson's trichrome staining and evaluated by a microscope.

Results: Micro-CT images showed that the newly formed bone tissue was apparent in all groups in rat calvarial bone defect. The 0.0001 wt% GO-FGF2 (+) significantly promoted bone healing compared to the other groups. Defect areas in the 0.0001 wt% GO-FGF2 (+) group were almost filled with newly formed bone with several high-density spots while the defect areas in the control group had many void areas. Based on micro-CT analysis, the ratio of newly formed bone volume to the total defect volume (BV/TV) was quantitatively evaluated. The BV/TV value in the 0.0001 wt% GO-FGF2 (+) group was markedly higher than that in the no scaffold and 0 wt% GO-FGF2(-) group. Histological analysis by H.E. staining exhibited more well-formed, bone-like tissue in the 0.0001 wt% GO-FGF2 (+) group than in the other groups. Consistently, Masson's trichrome staining demonstrated a greater extent of bone-like structures in the 0.0001 wt% GO-FGF2 (+) group. In contrast, the other group predominantly showed fibrous tissue in the void areas.

Conclusion: The 0.0001 wt% GO scaffold combined with FGF2 enhanced bone healing of calvarial bone defects in rats. This result suggested that 0.0001 wt% GO could be used as a therapeutic agent for periodontal regeneration.

歯周炎マウスモデルにおける ST 合剤(バクタ®)の予防効果に関する基礎的検討

広島大学大学院医系科学研究科歯周病態学¹, 広島大学大学院医系科学研究科口腔先端治療開発学²

○早川 敦子¹, 吉本 哲也², 伊藤 義生¹, 長谷 由紀子¹, 加治屋 幹人², 水野 智仁¹

A Basic Study on the Preventive Effects of Sulfamethoxazole-Trimethoprim Combination (BAKTAR®) in a Periodontitis mouse model

Department of Periodontal Medicine, Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University¹, Department of Innovation and Precision Dentistry, Hiroshima University Hospital²

○Atsuko Hayakawa¹, Tetsuya Yoshimoto², Yoshiki Ito¹, Yukiko Nagatani¹, Mikihiro Kajiyama², Noriyoshi Mizuno¹

【背景と目的】

超高齢社会において、有病高齢者や要介護高齢者では身体・認知機能の低下により機械的プラークコントロールの実施が困難となる。その結果、口腔内感染源の残存は歯周病の進行を招くのみならず、誤嚥性肺炎や菌血症等の全身疾患のリスク因子となる。したがって、歯周組織保存の観点から、従来の機械的デブライドメントに加え、内科的アプローチによる新たな歯周病管理法の開発が急務である。抗菌薬投与はバイオフィーム内細菌減少に有効であるが、薬剤耐性菌出現の懸念から antimicrobial stewardship の観点で慎重な適応が求められる。スルファメトキサゾール・トリメトプリム配合剤 (ST 合剤: バクタ®) は、細菌の葉酸合成経路における異なる 2 段階を同時阻害することで相乗的殺菌効果を発揮する広域スペクトラム抗菌薬である。ST 合剤は歯周病原細菌を含むグラム陽性・陰性菌に対して抗菌活性を有し、易感染性患者における感染予防で長期使用実績がある。そこで本研究では、機械的プラークコントロール困難な状況を想定し、マウス絹糸結紮性歯周炎モデルを用いて ST 合剤の歯周組織破壊抑制効果および全身への安全性を検証した。

【方法】

10~12 週齢の雄性 C57BL/6 マウスの上顎第二臼歯歯頸部に 5-0 絹糸を結紮し実験的歯周炎を惹起した。マウスを結紮群および非結紮群に無作為割付後、各群を ST 合剤投与群 (バクタ®経口投与) と対照群 (蒸留水投与) に分類し、1 日 1 回 5 日間投与した。体重変化を経時的に測定し、肝臓および腎臓を HE 染色により組織学的に解析した。マイクロ CT により CEJ-ABC 距離および歯槽骨喪失体積を定量化した。TRAP 染色により破骨細胞数を計測した。統計解析には one-way ANOVA および Tukey's post hoc test を用い、有意水準は 5%とした。本研究は広島大学動物実験委員会の承認 (A24-15-2) を得て実施した。

【結果】

体重推移に群間差は認められず、肝臓・腎臓の HE 染色像においても ST 合剤投与群で病理組織学的異常所見は観察されず、肝腎毒性は認められなかった。対照結紮群で著明な歯槽骨吸収が観察されたのに対し、ST 合剤投与結紮群では CEJ-ABC 距離の増大が有意に抑制された ($p < 0.05$)。3 次元の骨喪失体積評価においても、ST 合剤投与群は対照群と比較して約 50%の抑制効果を示した ($p < 0.05$) が、非結紮群レベルまでの完全な回復は認められなかった。TRAP 陽性破骨細胞数は対照結紮群で著増したが、ST 合剤投与により有意に減少し ($p < 0.05$)、破骨細胞の分化・活性化を部分的に抑制することが示された。

【考察と結論】

ST 合剤の経口投与は実験的歯周炎における歯槽骨吸収および破骨細胞活性化を有意に抑制した。ST 合剤は広域スペクトラムを有し、*P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* 等の歯周病原細菌に対しても抗菌活性を示す。本結果は、ST 合剤がバイオフィーム内病原性細菌を減少させることで、炎症性サイトカイン産生低下および破骨細胞分化抑制をもたらした可能性を示唆する。短期投与において肝腎機能への影響が認められなかったことは、臨床応用における安全性の基礎的知見として重要である。歯槽骨破壊の抑制は部分的であり、ST 合剤が機械的デブライドメントを完全に代替し得ないことも明らかとなった。これはバイオフィーム深層への薬剤浸透性の限界と考えられる。しかし、SRP 実施が困難な有病高齢者や要介護高齢者において、ST 合剤の全身投与が歯周組織破壊の進行を遅延させ、歯の保存期間を延長させる補助的治療手段となり得る可能性が示された。本研究は、機械的療法を中心とした従来の歯周治療に内科的アプローチを統合した包括的歯周組織保存戦略構築に向けた基礎的エビデンスを提供するものである。

天然由来レクチンと唾液の糖結合特性による口腔バイオフィルムの制御

¹⁾ 岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯周病態学分野, ²⁾ 岡山大学 学術研究院医歯薬学域 歯周病態学分野
³⁾ 岡山大学病院 歯科・歯周科部門, ⁴⁾ 岡山大学 学術研究院医療開発領域 歯科・歯周科部門

○中村 綾¹⁾, 伊東有希²⁾, 畑中加珠³⁾, 平井公人⁴⁾, 池田淳史⁴⁾,
大久保圭祐⁴⁾, 中村 心²⁾, 小野晋太郎²⁾, 大森一弘²⁾, 高柴正悟²⁾

Glycan-binding Properties of Natural Lectins and Saliva for Oral Biofilm Control

Department of Pathophysiology-Periodontal Science, ¹⁾ Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ²⁾ Faculty of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Japan.
Department of Periodontics and Endodontics, ³⁾ Okayama University Hospital, ⁴⁾ Field of Medical Development, Okayama University, Japan.

○NAKAMURA Aya¹⁾, SHINODA-ITO Yuki²⁾, TAKEUCHI-HATANAKA Kazu³⁾, HIRAI Kimito⁴⁾, IKEDA Atsushi⁴⁾,
OKUBO Keisuke⁴⁾, NAKAMURA Shin²⁾, ONO Shintaro²⁾, OMORI Kazuhiro²⁾, TAKASHIBA Shogo²⁾

【緒言】

口腔バイオフィルムは強固な三次元構造と高い薬剤耐性を有し、う蝕や歯周病の発症と進行に関与する。特に高齢者や要介護者では機械的除去が困難であり、口腔衛生管理を補完する新たな制御法が求められている。唾液は歯面にペリクルを形成し、その糖タンパク質の糖鎖構造を介して *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) などの初期付着やバイオフィルム形成に関与する。糖鎖を特異的に認識する *Agaricus bisporus* lectin (ABA) は、Galβ1-3GalNAc (Core1 構造) を認識し、*S. mutans* の付着を抑制することが報告されているが、ABA が結合する唾液糖タンパク質および初期付着抑制機構は解明されていない。本研究は、ABA と結合する唾液糖タンパク質を同定し、初期付着抑制効果との関連を明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

1. 唾液提供参加者、試料採取・処理

健康成人 17 名から安静時唾液を採取し、上清と沈殿に分画して使用した。使用時まで、-80°C で保存した。本研究は、岡山大学生命倫理審査委員会の承認 (研 2507-075) を得て実施した。

2. バイオフィルム付着抑制効果の評価

96 ウェル平底プレートに唾液上清または沈殿を 100 μL 添加し、37°C で 2 時間静置して被膜を形成した。リン酸緩衝溶液 (PBS) で洗浄後、ABA、糖タンパク質対照であるウシ胎児由来フェチュイン (各 100 μg/mL)、カチオン性殺菌剤である塩化セチルピリジニウム (0.01 %)、あるいは PBS を 37°C で 1 時間反応させた。1×10⁷ CFU/mL の *S. mutans* を加えて 18 時間培養し、0.1 % クリスタルバイオレット染色後、570 nm で吸光度を測定した。

3. ABA 結合タンパク質の検出

日間変動が小さい 1 名の唾液を用い、SDS-PAGE とレクチンプロットングで ABA 結合タンパク質を検出した。

4. ABA 結合タンパク質候補の選択と質量分析

レクチンプロットングで検出されたシグナルに対応するバンドを銀染色、CBB 染色、そして PAS 染色で確認後、切り出したゲルを用いて nanoLC/ESI-QTOF 質量分析を行った。

5. タンパク質同定解析

質量分析データは Mascot を用いて UniProt ヒトデータベースを検索し、Mascot Identity Threshold ($p < 0.05$) を満たすタンパク質を同定した。

6. レクチン結合候補タンパク質の機能評価

項目 2 の方法と同様に、ウシ顎下腺由来ムチンとヒト唾液由来 α アミラーゼを ABA と反応後、*S. mutans* の付着量を定量した。

7. 統計解析

2 群比較には Mann-Whitney *U* 検定、3 群以上には Kruskal-Wallis 検定と Dunn 法を用い、Spearman の順位相関係数で関連を評価した。有意水準は $p < 0.05$ とした。

【結果】

- 唾液上清分画では、全参加者において ABA 添加群の *S. mutans* の付着量が有意に減少した。一方、沈殿分画では抑制傾向があったものの、有意差はなかった。
- ABA による付着抑制効果には個人差があったが、唾液中総タンパク濃度との間に相関はなかった。
- ABA 結合タンパク質として MUC5B, MUC7, DMBT1, AMY1B を同定した。
- 精製ムチンおよび α アミラーゼ単独では、有意な細菌付着抑制効果はなかった。

【考察】

ABA は唾液上清分画中に含まれる可溶性唾液糖タンパク質との相互作用を介して、*S. mutans* の初期付着を抑制する可能性が示唆された。抑制効果に個人差があり、総タンパク濃度と相関しなかったことから、糖タンパク質量ではなく糖鎖構造の質的差が関与している可能性がある。また、ABA はムチン類および α アミラーゼに結合する可能性があるが、精製タンパク質単独で付着抑制効果は限定的であったことから、唾液ペリクルの糖鎖密度や構造が重要であると考えられる。

【結論】

ABA は唾液中の複数の糖タンパク質、特に高分子ムチン類の (MUC5B, MUC7, DMBT1) および α アミラーゼ (AMY1B) に結合し、これらとの相互作用を通じて *S. mutans* の初期付着を抑制する。

審美歯科治療における歯冠色選択支援を目的とした 深層学習による歯領域抽出の基礎的検討

¹九州歯科大学口腔保存治療学分野

²九州工業大学大学院工学研究院機械知能工学研究系

○鷲尾絢子¹, 大井航太郎², 村上駿介², 木原成海², 神谷亨²

Deep Learning-Based Tooth Region Extraction for Supporting Tooth Shade Selection in Aesthetic Dental Treatment

¹Division of Endodontics and Restorative Dentistry, Kyushu Dental University

²Department of Mechanical and Control Engineering, Kyushu Institute of Technology

○WASHIO Ayako¹, OI Kotaro², MURAKAMI Syunsuke², KIHARA Narumi², KAMIYA Tohru²

【目的】

近年、口腔の健康は医学的意義に加え、個人の外見や Well-being に影響を与える重要な要因として注目されている。歯冠色や歯列を含む口周囲の外観は、自己イメージや生活の質に大きく関与する一方、審美歯科治療における歯冠色選択は、シェードガイドによる微妙な色差の識別が難しく、患者が治療後の外観を具体的に想像できないことがある。また、歯科医師にとっても、治療後のイメージを患者と十分に共有することは容易ではなく、治療計画が経験や主観に依存し、心理的負担となる場合がある。そこで本研究では、治療後の外観を視覚的に共有可能とする画像処理システムの実現を見据え、歯冠色選択支援手法の基盤構築を目的とする。本報告ではその第一段階として、静止画、および動画を対象に、歯冠色処理に先立つ基礎技術である歯・口唇領域の自動抽出に焦点を当てて検討を行った。

【方法】

< 1 >九州歯科大学倫理委員会承認番号 ; 24-10 に準じて実施した。正面観の口腔内写真画像を対象に、十分なセグメンテーション性能を確保するため、画像の水平方向反転および画像中心を基準とした±5度の回転を適用し、データ拡張を行った。その結果、学習用画像数は拡張前の45枚から拡張後には180枚へと増加した。さらに、口腔内画像に一般的なアスペクト比を維持し、大きな歪みを生じさせないことを目的として、全画像を500×800ピクセルにリサイズした。それらの画像を既存モデルである Mask R-CNN, Deformable Convolutional Networks (DCN), Self Attention (SA), あるいは Fine-tuning (FT) を組み合わせた方法を用い、Intersection over Union (IoU) で歯領域の抽出精度を評価した。

< 2 >学習用データセットとして、大規模動画データセットである CelebV-HQ から動画を取得し、Labelme を用いて口唇の矩形領域を手動でアノテーションした。動画は、①すべての画像サイズが640×640ピクセルであること、②口角を含む口唇領域全体がすべての画像に含まれていること、③顔前方に遮蔽物が存在しないこと、④顔の動きが過度に速くないこと、のすべての条件を満たすように切り出した。さらに、手動アノテーションで設定した領域よりも上下左右に2%拡張した領域を用いた。既存モデルである YOLO11 に、出力領域の選択条件の変更を行い、Attention Gate (AG) のみを導入した場合、Iter-Fame Processing (IFP) のみを導入した場合、および AG と IFP の両方を導入した場合において、IoU, 未抽出率、および過抽出率を用いて、口唇の矩形領域の抽出精度を評価した。

【結果および考察】

< 1 >Mask R-CNN, DCN, SA, および FT のすべてを組み合わせた方法で、IoU 85.62%となり、歯領域の抽出精度が最も向上した。モデル精度のさらなる向上のために、ヒストグラム平坦化やガンマ補正といった前処理手法を適用することで画像コントラストを調整する必要がある。

< 2 >AG と IFP の両方を導入した場合は、IoU は 0.868, 未抽出率は 0.0383, 過抽出率は 0.131 を示し、既存モデルと比較して抽出精度が向上した。今後、データセット数の拡充、抽出精度を向上させるための補正手法の提案、およびモデル構造のさらなる改良が必要である。特に、顔の向き、大きさ、動きの多様性を考慮したデータを追加することで、安定した精度の確保が得られると考える。

【結論】

深層学習により、静止画、および動画から、歯領域及び口唇の矩形領域の抽出は可能である。

ヒト骨格幹細胞由来前駆細胞を用いた骨再生医療の製造・品質管理技術の開発

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 オステオレナト株式会社

○齋藤 麻梨奈¹, 鎌野 優弥², 原田 英太巴², Moe Sandar Kyaw¹, Evan Wijaksana¹,
Ahmed Nasser Mohamed Hassan¹, 北川 全³, 齋藤 正寛¹

Development of Manufacturing and Quality Control Methods for Bone Regeneration Therapy Using Human Skeletal Stem Cell-Derived Progenitor Cells

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

²Tohoku University Hospital, Endodontic clinic,

³Osterenatos Co., Ltd.

○Marina Saito¹, Yuya Kaman², Futaba Harada², Moe Sandar Kyaw¹, Evan Wijaksana¹,
Ahmed Nasser Mohamed Hassan¹, Akira Kitagawa³, Masahiro Saito¹

【背景】

歯内歯周病変などに伴う広範な顎骨欠損には周囲骨の再生が歯の保存に不可欠であるが、再生困難な水平性骨欠損を伴い垂直方向の骨造成を必要とするため、確実な治療法がないことが臨床上の課題となっている。大型骨欠損に対する治療は、骨補填材やメンブレンを用いたguided bone regeneration (GBR) で骨再生を期待するが、その再生効果には限界がある。我々は、骨補填材と骨再生能力を有する細胞を組み合わせた骨組織工学的アプローチがこの課題の解決につながると考えた。近年、造骨能力を有する骨格幹細胞 (skeletal stem cells: SSCs) が同定された。SSCsは長骨の成長板や骨膜に加え、頭蓋骨およびその骨膜にも存在することが報告されており、加えて近年では顎骨中にもSSCsが存在することが報告された。採取の容易さや口腔領域への適応性から、歯科領域の骨再生医療に適した細胞源として注目されている。そこで本研究ではSSCsを基盤とした再生医療等製品の開発を目的に、顎骨から臨床応用に向けた標準化された細胞調製プロセスおよび評価系の確立を試みた。東北大学歯学部倫理委員会の承認 (承認番号33028: ヒト顎骨由来未分化前骨芽細胞を用いた骨再生医療等製品開発のための基礎研究) のもと、ヒト顎骨組織からJaw bone-derived Alveolar Skeletal Stem Cell progenitors (JASC) を単離するためのプロトコルを、Good Manufacturing Practice (GMP: 医薬品製造管理基準) に準拠した成分から構成された培地を用いて確立した。そして得られたJASCを骨補填材と組み合わせ、腎被膜移植モデルを用いた造骨能力の評価を行い、骨再生医療を目的とした新規骨組織工学技術の開発を試みた。

【研究方法】

- JASCの培養: 歯根端切除術時にヒト顎骨由来骨膜および歯槽骨組織をボーンスクレーパーで採取し、コラゲナーゼ処理にて組織を消化後、GMP準拠に基づいて調製した培地にて分離培養を行った。得られたJASCはpopulation doublingによる細胞増殖試験、Giemsa染色およびSKY法による核型解析にて、生体外増幅能力と安全性の評価を行った。
- JASCの骨芽細胞分化能力: JASCをBMP-2含む骨芽細胞分化誘導培地にて10日間培養し、アルカリフォスファターゼ (ALP) 活性およびアリザリンレッド染色による石灰化能力の解析を行った。
- JASC-Bonarc[®]複合体の作製: JASCの骨形成能を評価するため、三次元骨補填材Bonarc[®]と組み合わせた複合体 (JASC-Bonarc[®]) を作製し、走査型電子顕微鏡 (SEM) により細胞の接着性を評価するとともに、細胞増殖試験を行った。
- JASC-Bonarc[®]複合体の骨形成能力: JASC-Bonarc[®]複合体を免疫不全マウス腎被膜下に移植し、移植後3ヶ月、6ヶ月にHE染色標本作製した。骨造成の有無を組織学的に評価し、さらにRNAシーケンスにて骨形成関連遺伝子の発現を解析した。

【結果】

10名の成人中高年齢層から採取した顎骨にコラゲナーゼ処理を行い、調製した培地で安定的にJASCを分離培養することができた。JASCは20回の細胞分裂が可能であり、また正常な核型を維持していることから、安全に生体外増幅できることが確認された。また、アルカリフォスファターゼ活性の上昇、およびアリザリンレッド染色陽性の石灰化結節を形成する骨芽細胞への分化能力を有していた。JASCはBonarc[®]に接着し増殖可能であるばかりでなく、JASC-Bonarc[®]複合体を免疫不全マウスの腎被膜下へ移植すると、3ヶ月後にBonarc[®]周囲に骨基質を形成した。さらに6ヶ月後には骨細胞を含む骨基質を形成し、DMP-1やFGF23を含むヒト骨細胞マーカーを発現していた。

【まとめ】

本研究の成果より、JASCは高い造骨能を有し、歯槽骨再生において有望かつ臨床的に実現可能な細胞源であることが示された。本研究で確立したGMP準拠の細胞調製プロセスは、SSCsを基盤とした再生医療等製品の实用化に向けた重要な基盤技術となり得る。今後は、臨床研究実施に向けてブタを用いた大型動物モデルによる前臨床研究を推進していく予定である。

断髄材料によるデンティンブリッジの機械的特性と形態学的評価

¹⁾昭和医科大学大学院歯学研究科歯内治療学分野

²⁾昭和医科大学大学院歯学研究科歯科理工学分野

³⁾昭和医科大学歯学部歯科保存学講座歯内治療学部門

○辻上陽平¹⁾, 渡邊知恵²⁾, 池田めぐみ³⁾, 戸部拓馬³⁾, 鈴木規元¹⁾, 柴田陽²⁾

Nanomechanical characterization of dentin bridge derived from the Vital Pulp Therapy material

¹⁾Department of Endodontology, Showa Medical University Graduate School of Dentistry,

²⁾Department of Biomaterials and Engineering, Showa Medical University Graduate School of Dentistry,

³⁾Division of Endodontology, Department of Conservative Dentistry, Showa Medical University School of Dentistry

○Tsujiyama Y¹⁾, Watanabe C²⁾, Ikeda M³⁾, Tobe T³⁾, Suzuki N¹⁾, Shibata Y²⁾

【緒言】

抜髄が行われた歯は歯髄・歯質を喪失し、歯根破折のリスクが上昇することが知られている。そのため近年、デンティンブリッジを形成し歯髄・歯質を温存する歯髄温存療法 (VPT) の重要性が高まっている。現在 VPT に用いられる薬剤には、水酸化カルシウム製剤 (Ca(OH)₂)、MTA セメント (MTA)、プレミックスタイプバイオセラミック材料 (BC) がある。デンティンブリッジに関して、組織学的特性については報告されているが、機械的特性についての報告はまだない。本研究では、3 種の異なる断髄材料により形成されたデンティンブリッジの機械的特性を評価し、原生象牙質との比較を行った。

【材料および方法】

6 週齢の雄性 C57BL/6J マウス 45 匹を使用し、無作為に 3 群に分けた。各群に対し、Ca(OH)₂、MTA、BC を使用して、上顎第一臼歯に直接覆髄処置を実施した。デンティンブリッジの誘導期間は、過去の報告に基づき 4 週間と設定した¹⁾。機械的特性に関して、荷重試験 (Nano DMA-III interfaced with TI 950 TriboIndenter) を実施し、またラマン分光分析 (RXN1) および走査電子顕微鏡 (TM3000) を介した元素分析 (SwiftED3000) により、両区画の構成成分を評価した。統計解析は、機械的特性の評価に Kruskal-Wallis 検定 (Bonferroni 補正) を、構成成分の評価には一元配置分散分析 (ANOVA) 後 Dunnett の多重比較検定を用いた。尚、本研究は昭和医科大学動物実験委員会の承認 (224028) のもとに実施された。

【結果】

Ca(OH)₂ によるデンティンブリッジの瞬間弾性応答 (E_0) は、MTA・BC によるデンティンブリッジよりも有意に低い値を示した。また、MTA によるデンティンブリッジの遅延弾性応答 (E_2) は、原生象牙質よりも有意に低い値を示し、その他のデンティンブリッジに関しても E_2 は低い傾向を示した。SEM 画像にて、原生象牙質では象牙細管の走行を認めただけに対し、デンティンブリッジでは共通して象牙細管の走行は認めず、結晶性の物質が観察された。また、元素分析では MTA・BC によるデンティンブリッジは Ca/P 比が原生象牙質よりも有意に高く、Si 含有率も Ca(OH)₂ によるデンティンブリッジよりも有意に高かった。ラマン分光分析では、すべての群に共通してデンティンブリッジは原生象牙質と比べてミネラルコラーゲン比が有意に低く、ペントシジゲン比は有意に高い値を示した。

【考察】

MTA・BC によるデンティンブリッジは原生象牙質と剛性の有意差は認められなかった。これは Ca 含有率が MTA・BC によるデンティンブリッジで高く、Ca の石灰化充進作用により低いミネラル比率を補償したと考えられる。また、Si は硬組織の機械的性質、さらにコラーゲンの修飾に作用するという報告がある。この報告から Si 含有量が多い MTA・BC によるデンティンブリッジは、時間経過に伴い機械的性質だけでなくコラーゲン修飾も含めて原生象牙質に近づくと考えられる。また、 E_2 は形態回復能力を表す一つの指標であり原生象牙質と比較するとデンティンブリッジは除荷時の回復が小さく、力の分散に弱くなっている可能性が考えられる。

【結論】

本研究にてデンティンブリッジは誘導する断髄材料の種類によって異なる機械的性質および組成比率を有することが明らかとなった。

失活歯露出根面の細菌侵入リスク因子の評価

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

Assessment of risk factors for bacterial penetration of exposed root surface in non-vital teeth

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】

高齢者における根面齲蝕の増加は周知の事実である。歯周病や加齢による歯肉退縮で口腔内に露出した歯根表面での齲蝕の発生と進行と考えられているが、歯冠部齲蝕とは異なった進行様式が指摘されている。齲蝕や歯周病は口腔局所の組織破壊だけでなく口腔内硬組織を介した細菌の生体内への侵入経路であり、特に免疫防御能の低下した有病高齢者では併存疾患の治癒遷延あるいは増悪に影響することから口腔管理においても、根面齲蝕の進行メカニズムを理解することは非常に重要である。

我々はこれまで、歯根象牙質経由の細菌侵入経路の探索モデルとして、ウシ歯根を用いた色素浸透法でのデジタル画像立体構築による解析を行ってきた¹⁾。その結果、象牙細管に沿って液相移動が歯根象牙質内の外来異物侵入の要因であると考えられた。本研究では色素溶液の酸性度が象牙質侵入に与える影響を検討した。

【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垂直に分割し歯根部を用いた。根管に規格根管形成($\phi=2\text{mm}$, $\text{depth}=10\text{mm}$, $n=11$)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)。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、窩洞以外のすべての部分をネイルパーニッシュで被覆した。染色液として Britton-Robinson 緩衝液で pH5.5 または 7.0 に調製した 0.1% トルイジンブルー- Britton-Robinson 緩衝液 (T-BRB-5.5 および T-BRB-7.0) を作製した。歯根試料を乾燥後、T-BRB-5.5 中に 6 試料(酸性条件群, group A)、T-BRB-7.0 中に 5 試料(中性条件群, group N)を 7 日間浸漬した(37°C)。浸漬後、各試料を歯軸方向に垂直に連続研削を行いながら、画像撮像した。得られた画像の色素特有成分の RGB 因子を抽出し数値解析により、各研削部位における色素浸透率(Dye Penetration Ratio, DPR)を算出した。各研削部位の DPR を酸性条件群と中性条件群間で Mann-Whitney の U 検定($\alpha=0.003$)で比較した。検定における仮説設定は、帰無仮説(H_0): 酸性条件と中性条件で DPR に差はない, 対立仮説(H_1): 酸性条件の DPR は中性条件より高い, とした。

【結果および考察】

酸性条件群、中性条件群ともに窩洞部位(一点鎖線で挟まれた区域)で色素浸透領域は増加し、根尖側方向の研削部位では徐々に減少した。計測開始面(歯頸部)より根尖側 2.8mm で DPR は最大となり、Group A で $12.7\% \pm 15.2\%$ 、Group N で $6.6\% \pm 6.9\%$ であった。Group A と Group N で色素浸透率に有意差は認められなかった($p>0.003$)。

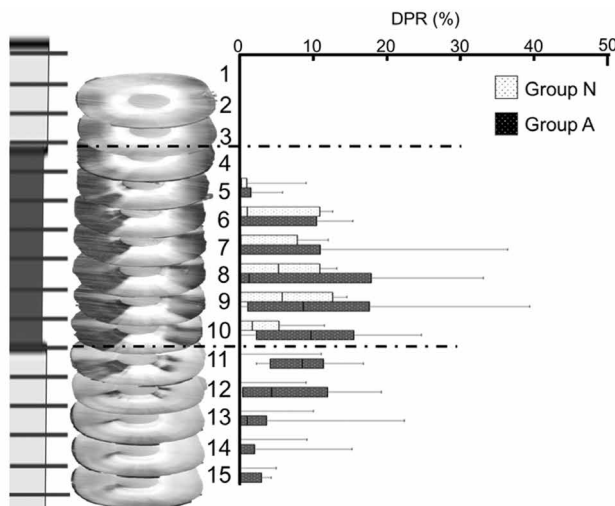


Fig.1 Dye penetration ratio

色素浸透は露出した象牙細管口から象牙細管に沿って歯髓側根尖側方向へと浸透することはこれまでの研究結果と同様であった。しかしながら、 H_0 を棄却できなかったことから、pH5.5の酸性条件が DPR に影響したかどうかは不明であった。今後は、液相移動を生じさせる要因(より強度な酸性条件、濃度勾配、温度勾配など)について検討予定である。

【文献】

1)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. 失活歯露出根面の感染経路としてのリスク評価. 日歯保存学会学術講演抄録 2026 ; 163 : 71.

Immunomodulatory Enhancement of Bone Healing Using carbonate apatite

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

○Ahmed Nasser Mohamed Hassan , Venkata Venkataih Suresh, Wang Shuai , Zheer Ali, Futaba Harada,
Moe Sander Kyaw , Masato Nakano, Yuya Kamano , Masahiro Saito

Introduction: Carbonate apatite, also known as Cytrans Granules[®] (Cytrans[®]), is readily replaced by newly formed bone owing to the substitution of hydroxyl groups with carbonate groups, resulting in a porous microstructure morphologically similar to human cancellous bone. Although Cytrans[®] has demonstrated favorable outcomes in small bony defects, inflammatory reactions following transplantation remain a concern, particularly immune responses mediated by macrophages and neutrophils. To broaden clinical applicability, further enhancement of its osteoconductive properties is required. This can be achieved by developing Cytrans[®] combined with immunomodulatory agents that attenuate foreign body-induced inflammation, establishing a microenvironment favorable for bone regeneration.

Materials and Methods: Inflammatory responses were evaluated using a subcutaneous ectopic transplantation model in 8-week-old C57BL/6 mice (n = 3). Samples were assigned to: untreated Cytrans[®] (control), tacrolimus-treated Cytrans[®], or dexamethasone-treated Cytrans[®]. Tissues were harvested at 1 day post-implantation and analyzed by histological examination using hematoxylin and eosin (H&E) staining. Bone healing was assessed using a critical-size calvarial defect model in 8-week-old Wistar rats (n = 3). Untreated Cytrans[®], tacrolimus-treated Cytrans[®], or dexamethasone-treated Cytrans[®] were implanted into the defects. Bone regeneration was evaluated at 3 and 6 months by micro-computed tomography (micro-CT) to assess bone volume and mineral density, and by histological analysis using H&E staining. All animal experiments were approved by the Center for Laboratory Animal and Gene Research, Tohoku University (approval no. 2023 dent-animal 020).

Results: In the subcutaneous model, Cytrans[®] induced acute inflammatory responses at 1 day post-implantation. In contrast, local administration of tacrolimus or dexamethasone with Cytrans[®] markedly reduced inflammatory cell infiltration compared with controls. In the rat calvarial defect model, micro-CT analysis demonstrated enhanced bone regeneration at 3 and 6 months in defects treated with tacrolimus-loaded Cytrans[®] compared with controls. Quantitative analysis revealed increased bone volume and bone mineral density in the tacrolimus-treated group. Dexamethasone-treated Cytrans[®] effect was less pronounced than with tacrolimus. Histological evaluation confirmed accelerated bone formation and more advanced defect closure in the tacrolimus-treated group, supporting the micro-CT findings.

Discussion: The inflammatory response observed around bone substitute materials and its attenuation by tacrolimus and dexamethasone support the concept that early immune modulation can improve the local healing microenvironment. Combining Cytrans[®] with immunomodulatory agents such as tacrolimus not only reduced inflammation associated with implantation but also enhanced bone regeneration in a rat critical-size calvarial defect model.

Conclusion: These findings indicate that immunomodulation of Cytrans[®] enhances its osteoconductive properties, thereby promoting more rapid and effective bone healing. This strategy may expand the clinical applicability of carbonate apatite-based bone substitutes

HEMA は IL-1 β 刺激により活性化された NF- κ B 経路を抑制することで ヒト歯肉線維芽細胞の炎症性メディエーター産生を減少させる

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 suppresses the production of inflammatory mediators in human gingival fibroblasts by inhibiting the NF- κ B pathway activated by IL-1 β stimulation

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えている。さらに、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は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。また、セラミック接着時に残存したレジンセメントから溶出するモノマーが歯肉の炎症に関与する可能性も近年報告されている (J Dent Sci. 2025; 20: 586-595)。

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知られている (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されている (Dent Mater. 2011; 27: 723-747)。

本研究では、歯肉の炎症に HEMA が影響を及ぼすか否かを明らかにするため、IL-1 β で刺激したヒト歯肉線維芽細胞 (HGFs) における炎症性メディエーター産生およびシグナル伝達経路の活性化に対する HEMA の影響を検討した。

【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 培地で培養した。コンフルエントに達した HGFs を HEMA (0.5、1、2、4 mM) で 24 時間処理し、Cell Count Reagent SF を用いて細胞障害性を評価した。

さらに、HEMA 存在下あるいは非存在下で HGFs を IL-1 β (10 ng/ml) で 24 時間刺激し、培養上清を回収し CCL2、CCL20、CXCL10、IL-6、IL-8 の産生量を ELISA 法で定量した。加えて、IL-1 β 刺激下におけるシグナル伝達経路 (p38 MAPK、ERK、JNK、Akt、NF- κ B) の活性化に対する HEMA の影響を western blot 法で解析した。NF- κ B 経路については核タンパクを抽出し、IL-1 β 刺激による NF- κ B p65 の核内移行に対する HEMA の影響を western blot 法を用いて確認した。また、抗酸化酵素であり NF- κ B 経路抑制に関与するとされる HO-1 発現についても western blot 法で解析した。

【成績】

4 mM 以下の HEMA は HGFs に細胞障害性を示さなかった。IL-1 β 刺激により誘導された CCL2、CCL20、CXCL10、IL-6、IL-8 産生は、HEMA 処理により濃度依存的に抑制された。HEMA は IL-1 β 刺激による p38 MAPK、ERK、JNK 経路の活性化には影響を与えなかったが、Akt および NF- κ B 経路の活性化を抑制した。さらに、4 mM の HEMA は IL-1 β 刺激による NF- κ B p65 の核内移行を抑制した。加えて、HEMA は HGFs における HO-1 発現を亢進させた。

【考察および結論】

本研究の結果から、HEMA は IL-1 β 刺激による HGFs の炎症性メディエーター産生を NF- κ B 経路の抑制を介して減少させることが明らかとなった。さらに、この NF- κ B 経路抑制には HO-1 発現の増加が関与している可能性が示唆された。以上より、歯肉の炎症部位に HEMA が存在すると歯周組織の免疫応答に影響を及ぼす可能性があると考えられた。

Leucine-rich alpha-2 glycoprotein 1(LRG1) が 歯周組織における上皮間葉転換に及ぼす影響

愛知学院大学歯学部歯周病学講座¹、朝日大学歯学部口腔感染医療学講座歯周病学分野²

○竹内大喜¹、大野 祐¹、山下美華¹、立川直遊¹、小野皓大¹、
西田英作¹、山本弦太¹、林潤一郎¹、菊池毅^{1,2}、三谷章雄¹

Effect of Leucine-rich alpha-2 glycoprotein 1(LRG1) on epithelial-mesenchymal transition in the periodontium

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University¹,

Department of Periodontology, Division of Oral Infections and Health Sciences, Asahi University School of Dentistry²

○Daiki Takeuchi¹, Tasuku Ohno¹, Mika Yamashita¹, Nayu Tachikawa¹, Kota Ono¹, Eisaku Nishida¹, Genta Yamamoto¹,
Jun-ichiro Hayashi¹, Takeshi Kikuchi^{1,2}, Akio Mitani¹

【研究目的】

歯周炎の進行において、上皮組織における細胞間接着や細胞機能の破綻が一因子として考えられており、近年では炎症性サイトカインや細菌由来因子が歯肉上皮細胞に上皮間葉転換 (EMT) を誘導し、細胞間接着の低下や遊走、浸潤能の亢進をもたらすことが報告 (Gonzalez DM et al. *Sci Signal*, 2014) されている。

Leucine-rich alpha-2 glycoprotein 1(LRG1)は、好中球、マクロファージ、肝細胞、および炎症組織の上皮細胞によって発現される糖タンパク質で、TGF-β シグナル経路に関与し、炎症や血管新生、組織修復など多様な生物学的機能を担う分子として注目されている。LRG1 は大腸がんや食道扁平上皮がんにおける EMT に関与していることが報告 (Zang J et al. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016) されている。また歯周病分野において、Zeynep らの研究では、歯肉溝滲出液と血清中の LRG1 濃度が歯周炎の臨床的パラメーターと正の相関を示すと報告 (Zeynep Yucel et al. *J Periodontol*, 2020) がある。一方で LRG1 の歯周炎病態形成における詳細な作用機序についての基礎的知見は未だ乏しい。本研究では、歯肉上皮組織における LRG1 の役割を明らかにする基礎的検討を行った。

【材料と方法】

①8 週齢 C57/BL6J マウスに 5-0 絹糸結紮を行い、実験的歯周炎を惹起させた。結紮 2 週間後に μ -CT にて歯槽骨状態を解析後、上顎骨の病理組織学的解析を行った。②歯肉上皮細胞 (Ca9-22) に対して recombinant human(rh) IL-6、*Porphyromonas gingivalis* LPS を用いて刺激し、LRG1 遺伝子発現とタンパク質産生を解析した。③Ca9-22 に rhLRG1 にて刺激を行い、上皮間葉転換 (EMT) 関連遺伝子発現を解析した。④Ca9-22 に rhLRG1 にて刺激を行い、TGF-β シグナル経路に関与する Smad2/3 のリン酸化および転写因子である Snail、ZEB1 の発現を解析した。本実験は、愛知学院大学動物実験委員会 (承認番号: AGUD5351) の承認を得て行われた。

【結果】

①実験的歯周炎群において、control 群と比較し、 μ -CT にて歯槽骨吸収が確認でき、H-E 染色において、歯周炎惹起部組織に炎症性細胞の浸潤を認めた。また LRG1 の免疫組織化学染色において、上皮組織と結合組織の境界領域における LRG1 タンパク質産生が増加していた。②rhIL-6 単独群と rhIL-6、*P.gingivalis* LPS の共刺激群において、control 群と比較し、LRG1 遺伝子発現の増強とタンパク質産生の増加を認めた。③rhLRG1 刺激群において、control 群と比較し、上皮系細胞マーカー遺伝子である CDH1、CLD、OCLD の遺伝子発現の低下を認め、間葉系細胞マーカー遺伝子である CDH2、VIM の遺伝子発現増強を認めた。④rhLRG1 刺激群において、control 群と比較し、リン酸化 Smad2/3 の増加を認め、下流転写因子である Snail、ZEB1 の発現が増加した。

【考察】

実験的歯周炎惹起により、歯周組織局所において LRG1 タンパク質の産生が増加し、この LRG1 産生の上昇は、歯肉上皮細胞における上皮間葉転換 (EMT) 関連遺伝子の発現変化に関連している可能性が示唆された。LRG1 は TGF-β 受容体と結合することで、Smad2/3 のリン酸化が促進され、Snail、ZEB1 といった EMT 誘導性転写因子の発現上昇が観察された。このことから LRG1 が TGF-β シグナル伝達経路を介して上皮細胞の性質変化に関与している可能性が示唆された。本研究の結果は、LRG1 が単なる炎症性マーカーにとどまらず、歯肉上皮細胞の機能的・形態的变化を惹起させ、組織恒常性の破綻に関与する可能性を示すものである。

プロスタグランジン D2 はメサンギウム細胞の DP1 受容体経路を介して線維化を促進することで歯周炎による糖尿病性腎症の増悪に寄与する

1 九州大学大学院歯学研究院口腔機能修復学講座歯周病学分野

2 九州大学病院歯周病科

3 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科歯周歯内治療学分野

○¹大塚 穂佳, ¹新城 尊徳, ²佐藤 晃平, ¹梁 尚陽, ¹瀬々 起朗, ¹山下 明子, ³岩下 未咲, ¹西村 英紀

Periodontitis-derived prostaglandin D2 may contribute to the progression of diabetic nephropathy by promoting fibrosis via mesangial DP1 signaling.

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

2 Periodontology, Kyushu University Hospital

3 Department of Periodontology and Endodontics, Nagasaki University Graduate School of Medical and Dental Sciences

○¹Honoka Otsuka, ¹Takanori Shinjo, ²Kohei Sato, ¹Naoaki Ryo, ¹Tatsuro Zeze, ¹Akiko Yamashita, ³Misaki Iwashita, ¹Fusanori Nishimura

【背景】本邦において慢性腎臓病 (CKD) 罹患者数は約 1300 万人と推定され、糖尿病を原疾患とする糖尿病性腎症 (DN) がその約 4 割を占める。過去の臨床研究より、歯周病の進行と高値 HbA1c は、それぞれ独立した腎機能低下のリスク因子となることが示されているが、実際に歯周病によって DN が増悪するか否かを実証した基礎研究は行われていない。これまでに我々は、実験的歯周炎に应答した糸球体中の造血管型プロスタグランジン (PG) D 合成酵素 (HPGDS) の発現上昇とそれに伴う PGD2 レベルの増加が、DN の増悪に寄与することを報告した (Sato et al., *J Clin Periodontol*, 2025)。しかしながら、HPGDS により合成された PGD2 が DN を増悪する分子機序は、いまだ不明である。PGD2 には 2 種類の受容体 (DP1, DP2) が存在し、それぞれ細胞内 cAMP の増減に働き、相反する細胞内経路を介して作用を発揮することが知られている。そこで本研究では、糸球体の線維化に重要な役割を持つメサンギウム細胞に着目し、同細胞における PGD2 作用が、どちらの受容体経路を介して DN 増悪に寄与するかを検証することとした。

【方法】*in vitro*: 通常・高血糖処理をしたマウスメサンギウム細胞株 CRL-1927 を DP1・DP2 それぞれの作動薬 (BW 245C・15R-PGD2) で刺激、あるいは同細胞をそれぞれの拮抗薬 (MK-0524・Setipiprant) で前処理し、PGD2 刺激条件下での線維化関連遺伝子・タンパク発現を qPCR 法とウェスタンブロット法にて測定した。*in vivo*: 13 週齢の KK-A^y マウスを結紮/非結紮群に分け、vehicle, DP1 アンタゴニスト (Laropiprant), DP2 アンタゴニスト (Setipiprant) を 30mg/kg 量で毎日経口投与した。3 週間後 (16 週齢時) に尿と腎臓を採取後、各群において尿中アルブミン/クレアチニン比および糸球体線維化領域を評価した。また、腎臓から糸球体分画を単離し、同分画における線維化関連遺伝子発現を qPCR 法により測定した。

【結果】*in vitro*: CRL-1927 では、高血糖処理によって colla1, col4a, fibronectin の遺伝子発現が上昇し、PGD2 および BW 245C の共刺激によりそれらの発現が有意に亢進した。一方、高血糖処理した同細胞への PGD2 刺激による fibronectin 発現の上昇は、MK-0524 の前処理により有意に抑制され、Setipiprant 前処理では変化は見られなかった。*in vivo*: Laropiprant を投与した結紮 KK-A^y マウスでは、vehicle 投与群と比較して UACR (尿アルブミン/クレアチニン比) が有意に低下していたが、Setipiprant 投与群では有意な減少は見られなかった。また Laropiprant 投与を行った結紮 KK-A^y マウスにおける糸球体線維化領域および糸球体での線維化関連遺伝子の発現は、vehicle 投与群と比較して減少し、有意に低下することが示されたが、Setipiprant 投与した結紮 KK-A^y マウスでは、有意な減少は見られなかった。

【考察】実験的歯周炎に应答した糸球体 HPGDS 発現増大により産生された PGD2 は、主に DP1 受容体を介してメサンギウム細胞の細胞外基質産生を亢進させ線維化を促進することで、DN 増悪に寄与することが示唆された。

Porphyromonas gingivalis 由来線毛が歯周組織破壊に与える影響の検討

愛知学院大学歯学部歯周病学講座¹, 朝日大学歯学部口腔感染医療学講座歯周病学分野²,
愛知学院大学歯学部微生物学講座³

○藤塚公崇¹, 菊池 毅^{1,2}, 林 潤一郎¹, 大森康世¹, 小島健人¹, 川村翔太郎¹, 鈴木結子¹,
林 愛理¹, 後藤亮真¹, 後藤久嗣¹, 長谷川義明³, 三谷章雄¹

Study on the effects of fimbriae derived from *Porphyromonas gingivalis* on periodontal tissue destruction

Department of Periodontology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University¹,
Periodontology, Department of Oral Infection Medicine, School of Dentistry, Asahi University²,
Department of Microbiology, School of Dentistry, Aichi Gakuin University³
○Hiroataka Fujitsuka¹, Takeshi Kikuchi^{1,2}, Jun-Ichiro Hayashi¹, Kosei Omori¹, Kento Kojima¹,
Shotaro Kawamura¹, Yuiko Suzuki¹, Airi Hayashi¹, Ryoma Goto¹,
Hisashi Goto¹, Yoshiaki Hasegawa³, Akio Mitani¹

【目的】

Porphyromonas gingivalis (*P.g.*)は複数の細菌によって引き起こされる歯周病の病因における基幹細菌と考えられている。*P.g.*の主要な病原因子には、線毛、リポ多糖 (LPS)、ジンジパインなどが知られており、歯周組織への付着、宿主の免疫反応への侵襲と攪乱、直接的な破壊、宿主の免疫からの逃避などその作用は多岐に渡る。線毛はタンパク質性の糸状構造物であり、*P.g.*は通常、長線毛である FimA 線毛と短線毛である Mfa1 線毛の2種類の線毛を発現している。これらは宿主組織への付着、バイオフィルムの形成、自己凝集、口腔内細菌との共凝集において重要な役割を果たすと考えられている。しかし *P.g.*線毛が歯周組織破壊に与える影響の報告は少なく、特に Mfa1 線毛は FimA 線毛と比べ、その作用機序には不明な点が多い。我々は以前に、Mfa1 線毛が歯肉線維芽細胞上の免疫細胞遊走及び細胞接着関連因子の発現調節や RANKL 依存性破骨細胞分化に関与していることを明らかとし、歯周組織破壊において一定の役割を担うことを報告している。一方、歯周病患者の歯肉サンプルや歯肉上皮細胞への *P.g.*感染において上皮間葉転換 (上皮系マーカーの発現が低下し、間葉系マーカーの発現を上昇させることで上皮細胞が間葉系細胞に形質変化し組織構造の破綻をきたす)がみられるとの報告がある。これらのことから *P.g.*線毛は歯周組織破壊に重要な役割を担っており、口腔内の生体バリアである歯肉上皮細胞の上皮間葉転換に寄与しているのではないかと考えた。本研究では、*P.g.*線毛が歯周組織破壊に与える影響および歯肉上皮細胞の上皮間葉転換への影響について検討することとした。

【材料と方法】

In vivo 実験として、C57BL/6J マウスの上顎第二臼歯に 7-0 絹糸を結紮すると同時に *P.g.*の①両線毛発現株 (ATCC33277 株)、②FimA 欠損株 (JI-1 株)、③Mfa1 欠損株 (SMF1 株)、④両線毛欠損株 (Δ mfa1 Δ fim)、を 2.5% CMC を含む滅菌 PBS にて懸濁し、 3.0×10^9 CFU/300 μ L を 1 日おきに経口感染させた。実験的歯周炎惹起から 8 日目において μ CT 撮像し、実験的歯周炎における各種 *P.g.*線毛調整発現株が歯槽骨吸収に与える影響の解析を行った。In vitro 実験として、ヒト歯肉上皮細胞株 (Ca9-22) を 12well Plate に 1.0×10^5 cells/well で播種後、IFN- γ (50ng/mL) を添加し 12h 培養を行った。PBS にて洗浄後、Mfa1 線毛、FimA 線毛、*P.g.* LPS (各 100ng/ml) 存在下で培養し、実験に供した。細胞増殖/細胞毒性に関して、Cell Counting Kit-8 を用いて評価した。細胞遊走能はスクラッチテストにて評価した。上皮系マーカーである E-cadherin、間葉系マーカーである N-cadherin、炎症性サイトカインである IL-8 の遺伝子発現は qPCR 法を用いて解析した。本研究は愛知学院大学動物実験委員会に承認された。(承認番号: AGUD511-3 号)

【結果と考察】

実験的歯周炎モデルにおいて、両線毛欠損株を経口感染させた群は両線毛発現株感染群ないしどちらか一方の線毛発現株感染群と比較し、感染 8 日目における歯槽骨吸収量が有意に減少した。Ca9-22 細胞を用いた細胞増殖/毒性解析では各種線毛刺激 48h にて Control 群と各種 *P.g.*線毛刺激群間で有意な差を認めなかった。スクラッチテストでは Control 群と比較し *P.g.*線毛刺激群で有意な細胞遊走能の上昇を認めた。各種線毛刺激 120h で E-cadherin の有意な遺伝子発現低下と Mfa1 線毛刺激により N-cadherin、IL-8 の有意な遺伝子発現増加を認めた。本研究の結果より *P.g.*両線毛が歯周炎における歯槽骨吸収に重要な役割を担っている可能性および *P.g.*線毛が歯肉上皮細胞の細胞間接着分子の発現調節を行い、細胞遊走能を向上させることで組織破壊を誘導している可能性が示唆された。

う蝕象牙質の硬さの主観的評価を数値化するための試み

兵庫医科大学歯科口腔外科学講座
○清水明彦

An Attempt to Quantify the Subjective Assessment of Hardness of Carious Dentin

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

【研究目的】

う蝕象牙質を削除する際、硬さは最も重要な尺度とされ、臨床では鋭利なエキスカベータ（以後「エキスカ」）でほとんど力を加えなくても容易に削除できれば soft、あまり力を加えなくても容易に削除できれば leathery、エキスカで削除する際にかなりの力が必要であれば firm、鋭利なエキスカでなければ削除できないものは hard とされている^{1,2)}。

しかしこのような主観的な硬さ判定法は、術者の感覚、臨床経験、力加減によって、また使用する器具の刃先の鋭利さによっても変わるため、ある臨床医は leathery と判定しても、別の臨床医は firm と判定するかも知れない。今回は、試作のハンディー硬さ測定器^{3,4)}の改良型を用いて、soft, leathery, firm, hard の硬さの数値化を試みた。

【ハンディー硬さ測定器（以後「本測定器」）の測定原理の概略】

本測定器は、パイプから圧子がわずかに突き出た構造であり、測定に際してはパイプが試料面に接触するまで圧子を押し付ける。すると圧子は、試料の硬さに応じてパイプの中に押し込まれ、硬さが数値化される。本測定器の初期設定は、圧子をガラス面に押し付けたときに、表示値が 150 ± 5 となるように圧子の突出長さを調整する。

【材料と方法、結果および考察】

軟らかい試料から硬い試料まで全部で 12 種類（なめし皮 5 種、プラスチック 6 種、フェルト 1 種）用意した。先ずすべての試料について本測定器が表示する数値を調べた。次いでプラスチック試料については、硬度計 (MVK-E, 明石) でビッカース硬さ Hv を調べた（プラスチック以外の試料はビッカース硬さの測定は不可）。

なめし皮 5 種の本測定器による表示値は 18~39 であった。この結果を参考に leathery は本測定器の表示値の範囲として 15~44 が適切であろうと考えた。よって、soft は表示値が 14 以下、firm は 45 以上となる。

プラスチック試料（6 種）の「ビッカース硬さ」が 3.0, 4.6, 6.3, 9.0, 12, 18 Hv、「本測定器の表示値」はそれぞれ 47, 61, 66, 77, 95, 106 であった。これらのペアデータから得られた指数近似曲線をもとに、本研究ではビッカース硬さ 10 Hv（即時重合レジン硬さ）を、便宜的に firm と hard の境界の硬さとした。よって、firm は本測定器の表示値の範囲は 45~84、hard は 85 以上となった。

今回の研究では、5 種のなめし皮の硬さが leathery に相当すると仮定し、さらにビッカース硬さ 10 Hv を firm と hard の境界の硬さと仮定することによって、soft, leathery, firm, hard などの臨床的な感覚を、本測定器を使用して客観的に数値化できる可能性が示された。

【まとめ】

現在う蝕象牙質の硬さは、臨床的な感覚によって soft, leathery, firm, hard などと表現されているが、本測定器を使用してこれらを客観的に数値化できる可能性が示された。

-
- 1) Innes N. P. T. et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Terminology, *Advances in Dental Research* 2016; 28(2): 49-57.
 - 2) Schwendicke F. et al. Managing Carious Lesions: Consensus Recommendations on Carious Tissue Removal, *Advances in Dental Research* 2016; 28(2): 58-67.
 - 3) 清水明彦 ハンディー型硬さ測定器の開発（試作）、日本歯科保存学会 2024 年度春季学術大会（第 160 回）プログラム、ポスター発表（P25）；抄録集 p. 71.
 - 4) 清水明彦 ハンディー型硬さ測定器（試作物）の構造と評価、日本歯科保存学会 2025 年度秋季学術大会（第 163 回）プログラム、ポスター発表（P32）；抄録集 p. 130.

***Streptococcus mutans* に対するホウ素の抗菌性と歯科材料表面の バイオフィーム形成阻害について**

¹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

²鶴見大学歯学部口腔内科学講座

³メドクインターナショナル、東京

○蔣 金娟¹, マティン カイルール^{1, 2, 3}, 田端 倫子¹, 島田 康史¹

Antibacterial Potential of Boron against *Streptococcus mutans* and Inhibition of Biofilm Formation on Dental Material Surfaces

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

²Oral Medicine and Stomatology, School of Dental Medicine, Tsurumi University

³Medoc International Co. Ltd., Tokyo

○Jinjuan Jiang¹, Khairul Matin^{1, 2, 3}, Tomoko Tabata¹, Yasushi Shimada¹

Objectives: Articles published in high-impact journals recently reported health benefits of incorporating boron (B) in biomaterials. These benefits included inhibiting bacterial growth while maintaining the natural biocompatibility of the element. As no reports available on the effectiveness of elemental B against cariogenic bacteria or biofilms, this study aimed to evaluate the effects of both against planktonic *Streptococcus mutans* and on its biofilm formation on dental material surfaces, primarily focusing on composite resin (CR) surfaces.

Materials and Methods: A laboratory strain, *Streptococcus mutans* MT8148 (*S. mutans*) was used in this study. After pre-culture and culture each time for 18 hours at 37 °C, *S. mutans* cells were washed and re-suspended in phosphate-buffered saline (PBS) to a concentration of 10⁹/mL colony-forming units (CFU/mL). More than 99% pure B powder, meanwhile, was added to deionized water and serial reduced concentration mixtures from 1000 µg/mL to 62.5 µg/mL were prepared. The live bacteria were incubated with different concentrations of B-mixtures at room temperature for 10 min. Using *S. mutans* in planktonic state *in vitro*, the bactericidal potential of B was evaluated via the standard CFU/mL counting method and BacLight live/dead double staining assay by fluorescence microscopy (FM). In addition, the *S. mutans* biofilms were formed inside an oral biofilm reactor (OBR) for 3 hours and 8 hours. Approximately 6 mm diameter flat surface CR (Flowable Restorative; Feltek, 3M) samples of uniform size were fabricated as biofilm substrates. Samples coated with B and samples made of CR mixed with B served as the two experimental groups, while those without B coating served as the control group. The samples were examined using scanning electron microscope (SEM) and swept-source optical coherence tomography (SS-OCT) and further analyzed by energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS). After separating the water-insoluble glucan and bacterial cells, the amount of biofilm on the entire sample surface was quantified by measuring the optical density (OD) using microplate reader. Finally, the data were evaluated and statistically analyzed using one-way ANOVA and Tukey's test.

Results: The FM images demonstrated that a large number of live (green) *S. mutans* cells with physiological chains were visible spreading all over the image, only a few dead cells (red) can be seen in PBS group. In B-treated groups, there was a trend of increasing number of dead *S. mutans* cells with the increase of B concentration. Dead or weakened *S. mutans* cells evidently clumped together while they were about to die. For the results of CFU/mL, colony numbers decreased with the increase of B concentration; 1000 µg/mL had a minimum number of colonies, reduced to nearly 76% compared to PBS. Representative SEM images of 3-hour biofilms showed that the surface of B-coated CR sample had smaller sized and morphologically deformed colony clusters. The surface of non-coated sample had larger sized and relatively condensed biofilm clusters. EDS analysis revealed the presence of B on the sample surface of B-coated experimental group, which accounted for approximately 50% (range: 34.47%~72.75%). In comparison, no B was detected on the surface of control group. SS-OCT images after 8-hour biofilm formation in OBR showed that the control group developed substantially thicker biofilms, featuring rough surfaces with visible voids and areas of considerable thickness. In contrast, the B-coated experimental group exhibited minimal biofilm growth and had much smoother surfaces. The amount of 8-hour biofilm in the B-coated group was remarkably less than that in the control group. Moreover, a significant reduction in the number of bacteria was observed for the B-coated group (OD₄₉₀=0.12±0.08) compared to the control group (OD₄₉₀=0.25±0.06) (p < 0.05).

Conclusions: The native elemental B has got rather mild and conditional bactericidal potential against planktonic *S. mutans*. In terms of bacterial adhesion and biofilm formation, B also has the inhibition potential. Research is being continued to acquire more evidence by designing multiple preclinical conditions to establish stronger clinical relevance.

マテリアルズインフォマティクスによるガラスアイオノマーセメントの 特性解析と設計最適化

¹北海道大学大学院歯学研究院 口腔保健科学分野 歯科保存学教室,

²CEU カーデナルヘレラ大学 バイオマテリアル教室

○樋谷賢太^{1,2}、佐野英彦¹、箕輪文子¹、星加修平¹、戸井田 侑¹、福山麻衣¹、
権 藝智¹、長川直樹¹、三宅 凜¹、友清 淳¹

Materials Informatics for Glass Ionomer Cements: Key Features and Design

¹ Department of Restorative Dentistry, Division of Oral Health Science, Faculty of Dental Medicine, Hokkaido University

² Dental Biomaterial and Minimally Invasive Dentistry, CEU Cardinal Herrera University

○Kenta Tsuchiya^{1,2}, Hidehiko Sano¹, Fumiko Minowa¹, Shuhei Hoshika¹, Yu Toida¹, Mai Fukuyama, Gon Geichi¹,
Nagakawa Naoki¹, Miyake Rin¹ and Atsushi Tomokiyo¹

【背景と目的】

マテリアルズインフォマティクス (Materials Informatics: MI) は、人工知能 (AI) や機械学習などの情報科学的手法を用いて、蓄積された実験・計算データから有用な知見を抽出し、材料の構造—特性—性能の関係を理解・予測することで、材料設計の効率化・高速化を可能とする学際的研究分野である。このため、MI は歯科材料研究においても有効な手法と考えられるが、その応用例は未だ限られている。そこで本研究では、フッ素含有リン酸カルシウム (FDCP) または亜鉛含有バイオアクティブガラス (BAG-Zn) を配合したガラスアイオノマーセメント (GIC) の物理化学的特性を評価するとともに、得られた実験データに基づく MI 解析を行い、適切な添加物配合量の予測ならびに各添加物が GIC の性質に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【方法】

2種類の GIC (フジIXGP、フジII LC) をベース材料とし、FDCP または BAG-Zn を 0、5、10、20% の割合で配合した試料を作製した。各試料を蒸留水中に浸漬し、浸漬後 1、7、28 日における pH、フッ素イオン放出量、カルシウムイオン放出量、および圧縮強さを測定した。得られたデータに対し、Python ならびに scikit-learn および SciPy を用いて、2変数線形性マッピング、機械学習による特徴重要度解析、パラレルコーディネート分析、ならびに階層的クラスタリング分析を実施した。

【結果】

2変数線形性マッピングの結果、BAG-Zn の配合量増加に伴い pH およびフッ素イオン放出量は増加した一方、FDCP の配合量増加により pH およびフッ素イオン放出量は低下し、カルシウムイオン放出量は増加した。また、FDCP は BAG-Zn と比較して配合量の増加に伴い圧縮強さを向上させたが、いずれの添加物においても過剰な配合は圧縮強さの低下を招いた。圧縮強さと最も強い正の相関を示した因子は、ベース材料としてフジII LC を使用することであった。機械学習による重要度解析の結果は、2変数線形性マッピングの傾向と概ね一致した。パラレルコーディネート分析から、pH およびカルシウムイオン放出量はベース材料や添加物の種類による影響を受けにくい一方、フッ素イオン放出量は添加物の影響を受けやすく、圧縮強さはベース材料の影響を強く受けることが示された。階層的クラスタリング分析により、本研究の試料群は、フジIXGP-10% または 20%BAG-Zn およびフジII LC-20%BAG-Zn から成るグループ X、その他のフジIXGP ベースのグループ Y、ならびにその他のフジII LC ベースのグループ Z の 3 群に分類された。特にフジII LC をベースとするグループ Z では、BAG-Zn の適切な配合範囲は 0-10%、FDCP は 10-20% であることが示唆された。

【考察】

本研究の結果から、pH およびフッ素イオン放出量の増加には BAG-Zn の添加が有効であり、カルシウムイオン放出量の増加には FDCP の添加が有効であることが示唆された。また、圧縮強さの向上にはベース材料としてフジII LC を使用することが有効であり、その際の添加物としては FDCP が適していることが示された。したがって、BAG-Zn 配合 GIC は歯髄に対する高い生体親和性や抗菌性を、FDCP 配合 GIC は従来の GIC の化学的性質を大きく損なうことなくカルシウムイオン放出量および圧縮強さの向上を示す可能性があると考えられる。さらに、パラレルコーディネート分析の結果から、FDCP または BAG-Zn のいずれを配合する場合においても、ベース材料としてフジII LC の使用が推奨される。一方、本研究では歯質への接着強さや化学結合状態の解析を行っていないため、今後これらの因子を説明変数として追加することで、より詳細な配合設計が可能になると考えられる。

【結論】

MI を用いることで、添加物の適切な配合割合や物理化学的特性への影響を効率的に予測できること、ならびに今後の GIC 改良に必要な実験指針を提示できることが示された。今後 MI を歯科材料設計に応用することで、より効率的かつ低コストで、臨床ニーズに即した研究・開発が可能となるのが期待される。

多光子顕微鏡を用いた *in situ* 脱灰モデルにおける象牙質構造変化の評価

¹⁾大阪大学大学院歯学研究科口腔分子感染制御学講座 (歯科保存学講座)

²⁾ Northwestern University Department Materials Science and Engineering

○小倉 萌々子¹⁾, Jumana Zaveri¹⁾, 神田 ひかる¹⁾, 内藤 克昭^{1,2)}, 林 美加子¹⁾

Evaluation of dentin structural changes in an *in situ* demineralization model using multiphoton microscopy

1. Department of Restorative Dentistry and Endodontology, Graduate School of Dentistry, The University of Osaka,

2. Northwestern University Department Materials Science and Engineering

○ OGURA Momoko¹⁾, JUMANA Zaveri¹⁾, KANDA Hikaru¹⁾, NAITO Katsuaki^{1,2)}, HAYASHI Mikako¹⁾

【目的】

近年、高齢者の要介護状態など在宅環境下での歯科治療は困難を極めており、とりわけ急増する根面う蝕については、簡便かつ確実なう蝕治療法の確立が求められている。象牙質う蝕に対する「削って詰める」治療から脱却するためには、う蝕進行における脱灰・再石灰化過程を動的に評価することが重要である。しかし、従来の研究の多くは一時点での静的解析にとどまっており、脱灰進行に伴う象牙質有機成分の構造変化を経時的に評価した報告は少ない。象牙質の脱灰過程を同一試料内で動的に評価するためには、生体深部を高分解能で観察可能な評価手法が必要である。多光子顕微鏡は、非侵襲的かつ高分解能で生体深部を観察可能であり、第二高調波発生 (Second Harmonic Generation; 以下, SHG) 信号を利用したイメージングにより、コラーゲン線維を無染色で可視化することができる。本研究では、多光子顕微鏡を用いて象牙質の *in situ* 脱灰モデルを構築し、SHG イメージングを用いて脱灰過程における象牙質構造変化を同一試料内で動的かつ非侵襲的に評価することを目的とした。

【材料と方法】

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理審査委員会の承認を得て実施した (承認番号 R6-E19-108)。健全象牙質を含むヒト抜去歯を、エナメル象牙質から歯冠側 1.5 mm、歯根側 0.5 mm の位置で歯軸方向に向かって垂直に切断後 (Isomet, Buehler)、厚さ 500 μm に切断、研磨 (Micro Cut #600, #1000, #2000, Buehler) し、厚さ 100 μm の象牙質薄片を作製した。試料をキャストインゴットでガラスボトムディッシュの底面に固定し、40 倍の油浸レンズ (Lambda S 40XC Sil) を用いた倒立型多光子レーザー顕微鏡 (A1R MP+, Nikon) にて観察した。健全象牙質の SHG 信号を取得した後、マイクロシリンジポンプに固定した 10 mL シリンジから、pH 1.8 に調製した乳酸 (FUJIFILM Wako) を 5.0 mL/h の速度で試料上に 30 分滴下し、脱灰を促した。滴下中、タイムラプス撮影を行い、SHG 信号の変化を動画で捉えた。撮影後、試料を精製水 (MilliQ, Merc) で洗浄し、不織布ワイパーで水分を除去し、同一試料の脱灰後の SHG 信号を取得した。象牙質に含まれるコラーゲンに起因する SHG 信号を画像解析ソフト (imaris, Oxford instruments) を用いて三次元的画像解析を行い、脱灰部と健全部を含む象牙質の構造変化を定量化し、解析した。また、SHG 信号のコントラストを反転させることで象牙細管構造を抽出し、脱灰に伴う象牙細管径の変化を定量化した。象牙細管径のデータは、Kruskal-Wallis 検定を用いて群間比較を行った ($\alpha = 0.05$)。

【結果および考察】

本研究により、多光子顕微鏡を用いた象牙質の脱灰条件下における *in situ* タイムラプス観察モデルを確立した。本モデルにより、同一試料・同一視野において、脱灰反応下での象牙質内部構造を連続的に観察することが可能となり、従来の固定標本による静的評価とは異なり、脱灰過程に伴う構造変化を動的に捉えることができた。脱灰の進行に伴い、象牙質の SHG 信号分布の変化が時間依存的に観察された。さらに、三次元的画像解析により象牙細管径を定量し、比較した結果、脱灰部の象牙細管径は健全部と比較して有意に増大していた ($p < 0.05$)。これらの結果から、本モデルは象牙質細管の微細な構造変化を定量的に評価可能であることが示唆された。

以上より、本研究で構築した *in situ* 評価系は、象牙質の脱灰過程における有機質および微細な構造変化を経時的かつ非破壊的に観察・評価可能なモデルであると考えられる。

(本研究は JSPS 科研費 JP24K02620, JP25K20283, Nakao Foundation Grants の助成を受けたものである。)